「脳を知る」
平成７年度採択研究代表者

篠田　義一

（東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科システム神経機能学　教授）

「感覚から運動への情報変換の分散階層処理神経機構」

１．研究実施の概要

脳は重要な感覚情報である視覚入力を適切に取り込むため、種々の眼球運動サブシステムを使い分けている。目の前に興味のある対象物が現れる時に、急速なサッケードを、ゆっくり動く視覚対象物を目で追う時に、滑動性眼球運動や輻輳性眼球運動を、静止した視覚対象物を頭部が動く状況下で見る時に前庭動眼反射を使う。この時、脳は視覚と前庭の２種類の感覚情報を取り込み、網膜で検出された視覚速度情報を、空間内の視標速度情報及びそれを追跡する運動情報である視線情報に変換し、これらの情報を更に眼窩内の水平と垂直･回旋の眼球運動に変換させている。我々のチームは、これらの過程において前頭眼野、上丘、小脳、大脳基底核がどのような役割分担を果たすかを調べている。

２．研究実施内容

各研究グループ相互の関係は以下の通りである。サッケードは、外的刺激によって誘発されるstimulus-triggered saccadeと、内的刺激によって誘発されるinternally-initiated saccadeがある。前者として、視覚刺激によるvisually-triggered saccadeを、後者としてmemory-guided saccadeをモデルとして、その神経機構の解明を行っている。saccadeの発現とは、今、興味ある対象から次に現われた対象に興味を移す注意の移動のメカニズムとも言える。興味ある対象を注視している時（Fixation)、それに注意が持続していると同時に、他の刺激が加わっても視線を移動しないように眼球運動を抑制している（選択的注意)。他の興味ある対象が視野に現われ、そこへ視線を移すためには、この抑制をまず解除する（Release）ことが必要である。そして、次に視線の移動が起こり、また新しい興味ある対象に注視（Refocus）を行う。篠田は，この一連の過程にかかわる神経機構を、サルおよびネコを用いて前頭眼野－上丘ー眼運動細胞系で解析している。すなわち、上丘は、網膜上でとらえた物体位置の２次元空間情報（網膜座標系）をサッケードの方向と振幅（水平垂直眼運動細胞の発火頻度）（運動座標系）に変換する空間- 時間変換（spatio-tempral transformation）を行っているが、 これに関わる神経回路をネコで細胞内記録と経シナップス的染色，HRP細胞内染色法を用いて解析している。さらに固視中の眼球運動の抑制機構

を、訓練したサルの前頭眼野で解析している。又、この脳幹の出力系に対する小脳の制御機構を理解するため、この経路に対する小脳の結合関係を解析した。

visually-guided saccadeの潜時は200msecであるのに対して、memory-guided saccadeの際は、これが100 msecになる。この時、前述の固視の際の抑制解除に要する時間が不要と考えられ、regular saccadeに対し、express saccadeと呼ばれる。伊佐は、このexpress saccadeのメカニズムの解析を，Achニューロンを含む脚間核ー上丘系で、神経回路と薬理学的研究を、パッチクランプ法を用いてネズミの脳スライスで行い、さらにスパイク発火と行動との関係を訓練したサルで解析している。regularとexpress saccadeを比較しながらメカニズムを解析することにより、固視の際の抑制とその解除のメカニズムを明らかにしたいと考えている。

saccadeの発現は、大脳基底核による選択的抑制メカニズムにより調節されている。この抑制メカニズムは、短期的な作業記憶や空間的注意によって駆動される。memory-guided saccade課題を用いて、随意運動としてのsaccade 発現に大脳辺縁系からの「動機ずけ」がどのように作用するかを、彦坂が訓練したサルの大脳基底核、及び黒質の細胞活動を記録して解析した。

動く興味の対象を網膜の中心で捕えるために滑動性眼球運動が起こるが，これは強い注意を必要とし、静止物体の固視のメカニズムとの関連がどうなっているかは重要な問題である。これまで滑動性眼球運動の研究は，頭頂野MSTの系で進んできたが、前頭眼野が眼球運動だけでなく、視線（眼と頭の共同運動）制御に関係することを福島が明らかにした。固視時の抑制がsaccadeだけでなく滑動性眼球運動に起こるか否か，起こるとした時その相互作用を解析することにより滑動性眼球運動系の神経機構の解明が進むと考えられるので、福島と篠田で同一訓練サルを用いて、行動学的研究と解剖学的・生理学的研究を共同で行っている。

篠田らは、サッケード発現の神経機構のうち、上丘からの速度情報を伝える経路と考えられる上丘から外転神経運動細胞への経路を同定してきたが、本年度は、上丘－垂直眼運動系について同様な解析を行った。滑車神経運動細胞は、同側の上丘から興奮を、対側から抑制を受け、いずれも２シナップス性であった。中継核を経シナップス的に染色し、興奮性細胞は、フォレルH野に、抑制性細胞は、カハール核にあることが明らかとなった。現在さらに他の垂直系の眼運動細胞への入力を解析中である。また、今後上丘からの位置情報を伝える系を解明する予定である。

滑動性眼球運動の出力系は、頭頂野にあるとされてきたが、本研究チームの福島らの詳細な研究から、そこの細胞は、滑動性眼球運動の視線信号を持つことが、訓練したサルを用いた研究で明らかとなった。そこで共同実験を行い、この部位にDBA注入を行い、脳幹への出力を同定した。橋核、橋被蓋網様核、Cajal核、前庭核に投射が認められた。現在頭頂野との関連を解析している。

小脳皮質は局所回路的には均一な構造をしているので、小脳皮質の機能的区分に寄与するのは小脳の主な入力である苔状線維と登上線維の投射様式によると考えられている。登上線維では縦方向のゾーン状の投射の存在が明らかになったが、苔状線維の投射様式はどのような基本構造が存在するのか未だ不明である。一方、小脳からの出力である小脳核は、小脳皮質から抑制性入力を受けるので小脳外から興奮性入力を受けるか否かが、機能的に重要である。苔状線維の小脳への基本的投射様式を明らかにするため、外側網様核(LRN)にDBAを電気泳動で微小注入し、単一LRN細胞を染色し、その軸索形態を連続切片を用いて再構築し、その小脳皮質・小脳核内での投射の全貌を解析し、苔状線維系投射の基本構造を明らかにした。単一LRN軸索の小脳皮質投射は、多くは両側性で、軸索本幹より５～９本の小脳皮質に投射し、終末の分布は複数の縦ゾーン状で、一本の一次分枝の投射範囲は矢状面内で広く、冠状面内で狭い構造になっていた。

同様な方法を用いて、単一登上線維の小脳における軸索投射の全貌を解析した。単一の登上線維は、92%が小脳核へ軸索側枝を出した後、小脳皮質で前後方向に広がり、数個の小葉に分枝しており、２～８個のPurkinje細胞に終止していた。

福島らは、脳は種々の眼球運動サブシステムを使い分け、それらを干渉させながら視覚情報を適切に取り込んでいる。例えば乗り物に乗りながら道を歩いているヒトを識別できるように、ゆっくり動く視覚対象（視標）からの情報は、その速度に合わせて空間内で眼球運動（視線運動）を行い、視標を網膜中心窩に維持し続けることにより適切に取り込まれる。このためには脳が空間での視標の方向と速度を計算し、それに合わせて視線信号を形成して、それが最終的に眼窩内眼球運動に変換されると解釈される。福島らの研究で、前頭眼野の滑動性眼球運動関連ニューロンの大多数（92%）は前庭入力を受け、そのうち66%は眼窩内眼球運動ではなく、視線運動に応答すること、半数のニューロンはスポットの網膜上での運動速度にも応答し、最適方向はあらゆる方向が再現されていることから、前頭眼野の滑動性眼球運動ニューロンは視線信号と視標の速度情報から、空間での実際の視標の速度を計算できることが示唆された。

これら領域をmuscimol 注入により不活性化すると、滑動性眼球運動の障害と、前庭刺激を与えた場合の視線運動の障害が平行して起こることから、前頭眼野の視線運動ニューロンが両者の障害に関わることが示唆された。さらに、補足眼野にも、滑動性眼球運動関連ニューロンが多数記録され、前庭入力を受け、視線に対応するニューロンも記録された。小脳虫部でも、滑動性眼球運動関連Purkinje細胞の大多数は前庭入力を受け、そのうち35%は視線運動Purkinje細胞で最適方向はあらゆる方向が再現されていた。小脳片葉・傍片葉のPurkinje細胞のうち垂直滑動性眼球運動に関連したPurkinje細胞の応答は、視線運動Purkinje細胞はわずか19%しかなく、大多数

は眼球運動に関連した。以上から、本研究では、前頭葉の眼球運動関連領域が視標の速度の計算、視線信号への変換、さらに視線運動の学習にも関わり、小脳特に片葉領域が、それらを眼窩内眼球運動に変換することに重要であると結論される。

伊佐らは、上丘中間層ニューロンからwhole cell 記録を行い、上丘中間層にはGABA受容体による抑制からの脱抑制が起きると、非線形的な入出力関係を示す「ゲート」機構が存在することを見出していた。そこでこのような非線形性が、中間層ニューロンのintrinsicな特性によるのか、それとも、シナプス機構や局所神経回路の構造によるのかを調べたところ、非線形的活性化は中間層ニューロンのintrinsicな特性によらないことが結論された。さらに中間層の隣接する２個のニューロンから同時にwhole cell記録を行い、細胞外液にbicucullineを加え、Mg^{++} 濃度を通常の1 mMから0.1 mMに下げると、これらのニューロンは、互いに直接結合していなくても、自発的に同期的に脱分極を繰り返し、この同期的脱分極はAPVの投与でNMDA受容体を抑制すると消失した。以上の結果から、上丘中間層は興奮性結合で結ばれた細胞集団から構成されており、GABAによる抑制が解除されると非線形的に同期して活性化する性質があること、またNMDA受容体もこれらのニューロン集団における興奮性シナプス伝達に関与し、非線形性の実現に寄与するということが明らかになった。

脚橋蓋核ニューロンのサッケード課題遂行中の活動の解析から、サッケード遂行に先行して一過性に活動を増加させるニューロン（burst type cells）と活動を減少させるニューロン（pause type cells）が見出された。これらのburst type cellはGAP期間中にも活動を増加させること、pause type cellはGAP期間中に活動を減少させる傾向があることがわかった。さらにこれらの運動の遂行・準備に関与する活動の他に、最初の注視点の点灯によって起きる活動の増加、また報酬に対する活動を示すニューロンも多く見られた。そしてこれら課題の過程に関与する活動と運動の遂行・準備に関与する活動が多くのニューロンに収束していた。従って、脚橋被蓋核のニューロンには、運動の遂行・準備と課題の状況・文脈を連合する過程に関与する可能性が示唆された。

彦坂らは、大脳基底核のニューロンがその選択的な抑制機構によって随意的眼球運動（サッケード）の発現を調節することを明らかにしてきた。その選択的抑制メカニズムは、短期的な作業記憶や空間的な注意によって駆動されることもわかった。その基本的なニューロン機構は、線条体（特に尾状核）から黒質網様部を介して上丘に投射する直列的な GABA 作動性の抑制性結合である。一方で、線条体には黒質のドーパミンニューロンからの強い投射があり、大脳皮質- 線条体結合の作用を修飾していると考えられている。しかし十分にコントロールされた行動学的実験は少ない。我々は、報酬を調整した記憶誘導性サッカード課題をサルに訓練して、基底

核の一部である尾状核のニューロン活動を調べた 。この課題（1DR）では、４方向のどれかに将来のサッカードの方向を示す予告刺激が与えられるが、そのうちの１方向に予告刺激が与えられたときにだけサッカードの後に報酬が与えられ、他の３方向では報酬が与えられない。これによって、動物の報酬への期待、動機づけなどを選択的に操作することができる。今年度は特に、尾状核の出力（投射）ニューロンと黒質ドーパミンニューロンの関係を、これらの課題を使って調べた。まず、報酬だけを単独に与えると、多くのドーパミンニューロンは強い興奮性応答を示したのにたいして、尾状核ニューロンは多くは反応しなかった。記憶誘導性サッカード課題でも違いが見られた。すでに報告したように、尾状核のニューロンの多くは、通常、反対側視野に呈示された予告刺激にたいして視覚応答を示した。しかし、1DR課題では、同じニューロンがその視覚応答性を大きく変化させ、特に将来の報酬を示す予告刺激にたいして強く反応するようになった。このような報酬予測性は黒質のドーパミンニューロンではより強く観察された。すなわち、ドーパミンニューロンは 1DR 課題では、予告刺激が将来の報酬を示すときにだけ、短い興奮性の応答をし、将来の報酬がないことを示すときには、やや抑制された。尾状核ニューロンとは異なり、予告刺激が視野のどこに現われるかということには無関係であった。これらの結果から、主に空間的情報を運ぶ大脳皮質－尾状核結合が、主に報酬の予告情報を運ぶ黒質由来のドーパミン性ニューロンからの結合によって、そのシナプス効率を可塑的に変化させることが示唆された。

３．主な研究成果の発表（論文発表）

○Izawa, Y., Sugiuchi, Y. and Shinoda, Y. Neural organization from the superior colliculus to motoneurons in the horizontal oculomotor system of the cat . J. Neurophysiol., 81, 2597-2611 (1999)

○Wu, H.-S., Sugihara, I. and Shinoda, Y. Projection patterns of single mossy fibers originating from the lateral reticular nucleus in the rat cerebellar cortex and nuclei. J. Comp. Neurol., 411, 97-118 (1999)

○Shinoda, Y. Visualization of the entire trajectory of long axons of single mammalian CNS neurons. Brain Res. Bull., 50,387-388 (1999)

○Sugihara, I., Wu, H.-S. and Shinoda, Y. Morphology of single olivocerebellar axons labeled with biotinylated dextran amine in the rat. J. Comp. Neurol., 414, 131-148 (1999)

○Kakei, S., Hoffman, D.S. and Strick, P.L. Muscle and movement repressentations in the primary motor cortex. Science, 285,2136-2139 (1999)

○Lang, E. J., Sugihara, I., Welsh, J. P. and Llin, R. Patterns of spontaneous complex spike activity in the awake rat. J. Neurosci., 19,2728-2739 (1999)

○Suzue, T. and Shinoda, Y. Highly reproducible spatiotemporal patterns of mammalian embryonic movements at the developmental stage of the earliest spontaneous motility. Eur. J. Neurosci., 11,2697-2710 (1999)

○Fukushima K, Fukushima J, Sato T. Vestibular-pursuit interactions: gaze velocity and target velocity signals in the monkey frontal eye fields. Annals NY Academy of Science, 871, 248-259 (1999)

○Fukushima K, Fukushima J, Kaneko CRS, Fuchs AF. Vertical Purkinje cells of the monkey floccular lobe: simple-spike activity during pursuit and passive whole body rotation. J. Neurophysiol., 82, 787-803 (1999)

○Fukushima K, Sato T, Fukushima J, Shinmei Y, Kaneko CRS. Activity of smooth pursuit-related neurons in the monkey periarcuate cortex during pursuit and passive whole body rotation. J. Neurophysiol., 83,563-587 (2000)

○Takeichi N, Fukushima K, Sasaki H, Yabe I, Tashiro, K, Inuyama, Y. Dissociation of smooth pursuit and VOR-cancellation in spinocerebellar ataxia type 6. Neurology, 54, 860-866 (2000)

○Aizawa H, Kobayashi Y, Yamamoto M, Isa T: Injection of nicotine into the superior colliculus facilitates occurrence of express saccades in monkeys. J. Neurophysiol., 82 , 1642-1646 (1999)

○Saito Y, Isa T: Electrophysiological and morphological properties of neurons in the rat superior colliculus. I. Neurons in the intermediate layer. J. Neurophysiol., 82 , 754-767 (1999)

○Alstermark B, Isa T, Ohki Y, Saito Y.: Disynaptic pyramidal excitation in forelimb motoneurons mediated via C3-C4 propriospinal neurons in the macaca fuscata. J. Neurophysiol., 82 , 3580-3585 (1999)

○Sasaki S, Isa T, Naito K: Effects of lesion of pontomedullary reticular formation on visually triggered vertical and oblique head orienting movements in alert cats. Neurosci. Letts., 265 , 13-16 (1999)

○Sakai K, Hikosaka O, Miyauchi S, Sasaki Y, Fujimaki N, Puetz B : Pre-SMA activation during sequence learning reflects visuo-motor association. J.Neurosci., 19,RC1, 1-6 (1999)

○Nakamura K, Sakai K, Hikosaka O : Effects of local inactivation of monkey medial frontal cortex in learning of sequential procedures. J. Neurophysiol., 82, 1063-1068 (1999)

○Sakai K, Hikosaka O, Miyauchi S, Takino R, Tamada T, Iwata NK, Nielsen M: Neural representation of a rhythm depends on its interval ratio. J. Neurosci., 19, 10074-10081

(1999)
○Hikosaka O, Nakahara H, Rand MK, Sakai K, Lu X, Nakamura K, Miyachi S, Doya K : Parallel neural networks for learning sequential procedures. Trends Neurosci., 22, 464-471 (1999)
○Rand MK, Hikosaka O, Miyachi S, Lu X, Nakamura K, Kitaguchi K, Shimo Y : Characteristics of sequential movements during early learning period in monkeys. Exp. Brain Res., 131, 293-304 (2000)
○Sakai K, Hikosaka O, Takino R, Miyauchi S, Nielsen M, Tamada T: What and when: parallel and convergent processing in motor control. J. Neurosci., 20, 2691-2700 (2000)