

「脳を創る」

平成 10 年度採択研究代表者

永雄 総一

(自治医科大学医学部 助教授)

「運動の学習制御における小脳機能の解明」

1. 研究実施の概要

霊長類や遺伝子操作マウスの眼球反射や自律反射を用いた実験から、運動学習記憶が小脳皮質に貯蔵されている直接的実験的根拠を得た。随意眼球運動の適応の実験結果から、大脳から出力される運動指令が小脳によって修飾されることで随意運動の学習が生じることを示唆する所見を得た。随意眼球運動の神経回路を、解剖や非侵襲的脳活動記録法などの方法で具体的に明らかにした。さらに微小電極を用いて動物から神経活動を記録し長期抑圧に関連した神経活動が観察されるかを検討するとともに、機能的 MRI を併用し人間における認知学習の制御に小脳と大脳がどのように関わっているかを検討するつもりである。

2. 研究実施内容

永雄のグループは、運動学習の記憶痕跡が小脳内に貯蔵されている直接的な根拠を見出した。3頭のサルで拡大レンズを装着した状態で2時間回転台にのせ正弦波状に回転させて前庭動眼反射の利得に適応を生じさせた直後、両側の小脳片葉に局所麻酔剤を投与し、一過性に小脳をシャットダウンすると、適応によって生じた利得の増加は完全に消失し適応前の状態に戻った。この結果は、適応の記憶は小脳皮質の外にあるという対立仮説を強く否定する。随意運動である滑動性追跡眼球運動の適応に、大脳皮質の前頭眼野と小脳が共同的に働くことが必要であるという実験的根拠を得た。2頭のサルに 0.5 秒程度動く小さな視標を注視させる時に、眼球運動の開始直後に視標を 0.2 秒程度加速すると、あたかも加速を予測するがごとく最初から速い速度で眼を動かすように適応が生じる。一側の前頭眼野の滑動性追跡眼球運動関連領域をムシモール投与により一時的に不活化すると、不活化した前頭眼野と同側及び対側に向かう滑動性追跡眼球運動の利得はともに 40%程度低下した。この時、同側方向への眼球運動の適応は正常におこったが、対側方向への適応は完全に消失した。前頭眼野は対側の小脳半球第 7 小葉を介して対側方向の眼球運動を制御するが、同側方向への眼球運動には小脳は関与しない。この結果は前頭眼野由来の眼球運動指令が小脳によって修飾されることにより滑動性追跡眼球運動に適応が生じることを示唆する。一方、大脳頭頂連合野である MT/MST 野も、前頭眼野と対側の小脳傍片葉に視覚情報を送り眼球運動の制御に関与するが、2頭のサルで小脳傍片葉をイボテン酸により破壊したところ、滑動性追跡眼球運動の利得が 30-40%低下したが適応には変化は見られなかった。滑動

性追跡眼球運動の適応に直接関係するのは、前頭眼野—小脳半球系であることが示唆された。永雄と山田のグループはサルを用いて系統解剖の実験を行い、前頭眼野と対側の小脳半球第 7 小葉、MT/MST 野と対側の傍片葉が、それぞれ傍内側橋核と外側橋核を介して特異的に結合していることを示した。永雄と糸原のグループはCキナーゼ γ サブタイプ遺伝子ノックアウトマウスを用いて、小脳のプルキンエ細胞で多く発現している γ サブタイプよりも、少量しか発現していない α サブタイプの方が眼球反射の適応に不可欠であることを示した。

藤田のグループは、随意性眼球運動のサッカードにおける文脈依存性運動学習と、2種類の上肢運動における文脈依存性多重学習の成立の経過を調べ、認知的なキューによって直ちに学習の切替が起こることを確かめた。これらは運動学習において適応的なモジュールが文脈に応じて脳内に生成されることと、文脈を形成する認知的キューとの対応関係は瞬時に組み換え可能であることがわかった。現在、これらを内部モデルの学習として理論的に整理している。また運動とキューの対応が端的であることが示されており、行動学的研究と理論的裏づけの展開を準備している。

板東らのグループは輻輳眼球運動の学習について検討した。中心視差により誘発された輻輳運動の動特性に周辺視差が与える影響を、空間的・時間的に分析し、サッカード運動と対比した。20名の被験者について、周辺視差を中心視差に0.5-0.1秒だけ先行させた場合に中心視差誘導性輻輳運動の潜時に見られる変化を調べた。視覚刺激は、大スクリーンに2台のプロジェクターからリア投影フィールド順次式に偏光めがねを用いる方式で与えた。眼球運動は、赤外線リンバストラッカーにより測定した。主観的知覚をアンケートで調べた。立ち上がりの開ループ部分(150msec)の利得は8例中7例で周辺の視差変化幅が接近するほど有意に増大した。潜時は周辺視差が離反方向に運動する場合に有意な延長が認められた。背景が近くへ接近するほど中心視標の運動は小さく知覚されたが、輻輳の振幅や速度との関連はなかった。周辺視差の先行時間が0.2秒の時に短潜時(約60ミリ秒程度)の輻輳運動が誘発された。主観的に感じた輻輳刺激の大きさと、実際の運動の大きさととは解離していた。周辺視差の先行時間が0.2秒の時が有効であることから express-saccades と類似のメカニズムが推定された。これらの結果と従来得られたサルおよびヒトでの実験結果から、眼球運動の適応について、サッカード眼球運動、滑動性追跡眼球運動、輻輳眼球運動に以下の共通点が見出され、適応の責任領域が小脳であることが示唆された。

	適応によりゲインが増加	適応によりゲインが減少
サッカード眼球運動	速度不変、運動持続の延長	加速/減速の低下
滑動性追跡眼球運動	加速度の持続延長	加速度の大きさの減少
輻輳眼球運動	加速度の持続延長	加速度の大きさの減少

糸原らのグループは、学習と記憶を司る小脳神経回路を明らかにするため、マウスの遺伝操作手法の開発をした。リガンドを全身投与した場合にのみ酵素活性を獲得する Cre 酵素のトランスジェニックマウスを作製した。その内の1系統は主にプルキンエ細胞で組み換え酵素活性を発現した。

次に Cre の組み換えが生じた細胞でジフテリア毒素を発現するトランスジェニックマウス系統を作製した。これら両系統を交配したマウスでは、リガンドを投与するとプルキンエ細胞の脱落が生じ運動失調を示した。現在このマウスを用いて、瞬目条件反射の学習記憶の獲得と発現におけるプルキンエ細胞の役割を解析している。

山口のグループは、脳における運動プログラミング形成を視覚的に捉えるために、小脳プルキンエ細胞平行線維シナプスにおけるグルタミン酸受容体を可視化する試みを行った。その結果、培養プルキンエ細胞樹状突起棘突起にグルタミン酸受容体が局所的に表在化している事を明らかにした。また、小脳スライス標本を用いてグルタミン酸受容体活性調節にエクソ/エンドサイトーシスが寄与している事を見出した。

柳原のグループは、小脳プルキンエ細胞に多く発現している代謝型グルタミン酸受容体 1 型 (mGluR1) の役割を、自律神経系の心拍条件付けを用いて調べた。音刺激を条件刺激とし、尾部への電気刺激を無条件刺激とした心拍条件付け学習課題をマウスに課し、条件刺激に対する心拍の徐脈を観察した。mGluR1 遺伝子ノックアウトマウスは野生型マウスよりも大きな徐脈を呈し、小脳の mGluR1 のみレスキューしたマウスは野生型マウスの徐脈と差異が無かった。成熟した野生型マウスの小脳虫部に mGluR1 特異的阻害抗体を注入することにより条件付け徐脈の大きさが一過性に増大されることも観察された。以上の結果から、心拍条件付け学習における徐脈反応の大きさの調節に、小脳プルキンエ細胞の mGluR1 の活性化が関与していることが示唆された。

3. 研究実施体制

永雄グループ

- ① 永雄総一(自治医科大学医学部第一生理 助教授)
- ② 研究項目
 - ・ 霊長類、マウスを用いた眼球運動の神経生理学

藤田グループ

- ① 藤田昌彦(法政大工学部経営工学科 教授)
- ② 研究項目
 - ・ 四肢の運動学習の行動心理実験、計算論的裏づけ

板東グループ

- ① 板東武彦(新潟大学医学部 教授)
- ② 研究項目
 - ・ 眼球運動と小脳に関する人間を用いた非侵襲的脳機能計測

糸原グループ

- ① 糸原重美(理研脳科学総合研究センター チームリーダー)
- ② 研究項目
 - ・ 小脳新鋭回路の分子生物学的研究

山口グループ

- ① 山口和彦(理研脳科学総合研究センター 上級研究員)
- ② 研究項目
 - ・ in vivo 標本を用いた小脳の神経生理学

柳原グループ

- ① 柳原 大(豊橋技術科学大・体育保健センター 助教授)
- ② 研究項目
 - ・ 歩行運動と小脳に関する神経生理学

山田グループ

- ① 山田仁三(東京医科大学第二解剖 教授)
- ② 研究項目
 - ・ 霊長類の小脳-大脳の系統解剖学

4. 研究成果の発表

(1) 論文発表

- Shutoh H., Katoh A., Kitazawa H., Aiba A., Itohara S. and Nagao S.: Loss of adaptability of horizontal optokinetic response eye movements in mGluR1 knockout mice. *Neurosci. Res.* 42: 141-145 (2002)
- Kitamura T, Nagao S, Kunimoto K, Shirama K. and Yamada J: Cytoarchitectonic subdivisions of the parabrachial nucleus in the Japanese monkey (*Macaca fuscata*) with special reference to spinoparabrachial fiber terminals. *Neurosci. Res.* 39: 95-108 (2001)
- Fujita M., Amagai A., Minakawa F. and Aoki M.: Selective and delay adaptation of human saccades. *Cognitive Brain Res.* 13: 41-52 (2002)
- Sakaguchi Y., Akashi Y. and Takano M.: Visuo-motor adaptation to stepwise and gradual changes in the environment: Relationship between consciousness and adaptation. *Journal of Robotics and Mechatronics* 13: 601-613 (2001)
- Takagi M., Oyamada H., Abe H., Zee D.S., Hasebe H., Miki A., Usui T., Hasegawa S. and Bando T.: Adaptive change in dynamic properties of human disparity-induced vergence. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 42: 1479-1486 (2001)
- Takagi M., Trillenber P. and Zee D.S.: Adaptive control of eye movements in humans: control of smooth pursuit, vergence and eye torsion. *Vision Res.* 41: 3329-3342 (2001)
- Hayakawa Y., Takagi M., Abe H., Hasegawa S., Usui T., Hasebe H. and Miki A.: Cross-axis adaptation of pursuit initiation in humans. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 42: 668-674 (2001)
- Toda H., Yoshizawa T., Takagi M. and Bando T.: The properties of convergence eye movement evoked from the rostral and caudal suprasylvian cortex in the cat. *Neurosci. Res.* 39: 359-367 (2001)

- Kohara K., Ogura A., Akagawa K. and Yamaguchi K.: Increase in number of functional release sites by cyclic AMP-dependent protein kinase in cultured neurons isolated from hippocampal dentate gyrus. *Neurosci. Res.* 41: 79-88 (2001)
 - Agarwala K.L., Ganesh S., Suzuki T., Akagi T., Kaneko K., Amano K., Tsutsumi Y., Yamaguchi K., Hashikawa T. and Yamakawa K.: Dscam is associated with axonal and dendritic features of neuronal cells. *J. Neurosci. Res.* 66: 337-346 (2001)
- (2) 特許出願
なし