

星 英司

(公財)東京都医学総合研究所 認知症・高次脳機能研究分野・副参事研究員

霊長類の大脳—小脳—基底核ネットワークにおける運動情報処理の分散と統合

§1. 研究実施体制

(1) 星グループ

① 研究代表者: 星 英司 ((財)東京都医学総合研究所・認知症・高次脳機能研究分野、副参事研究員)

② 研究項目

・多点同時記録法による機能解析

(2) 南部グループ

① 主たる共同研究者: 南部 篤 (生理学研究所、教授)

② 研究項目

・生理学的手法を用いた構造解析

・パーキンソン病モデルサル作製の作製と電気生理学的解析

(3) 高田グループ

① 主たる共同研究者: 高田 昌彦 (京都大学霊長類研究所、教授)

② 研究項目

・順行性トレーシング法による構造解析

・神経路選択的操作モデルサル作製の作製

(4) 小林グループ

① 主たる共同研究者: 小林 和人 (福島県立医科大学医学部、教授)

② 研究項目

・より効率的なウイルスベクター系の開発

・神経路選択的操作モデルサル作製の作製

§2. 研究実施内容

本研究は、霊長類脳における大脳—小脳—基底核ネットワークと運動野の局所回路に注目する。これら2つのレベルにおける運動情報の伝達・処理機構を解析することにより、脳領域特異的に分散処理された運動情報が、運動関連領野間や局所回路における相互作用を介して最終的に統合されるメカニズムを解明すること、ならびに、その構造的基盤や機能異常のメカニズムを解明することを目指す。平成24年度に実施された研究内容と得られた成果について以下に述べる。

多点同時記録法による機能解析

各脳部位の機能特異性を明らかにするために、認知行動課題を遂行しているサルの前頭葉よりニューロン活動を記録し、活動と課題の要素との関連性を解析することを行った。特に、運動発現において中心的な役割を果たす高次運動野と前頭前野の機能分化を明らかにすることを目指した。

ヒトは目的を達成するために行為を選び取っているが、高次運動野と前頭前野の各領域がそれらをどのような領域特異性で反映しているかについては未知であった。そこで、目的と行為を切り分けることを可能とする認知行動課題をサル用に開発した(右上図)。サルの前にタッチモニターを置き、最初に色のついた画像(緑の円や、赤のダイヤなど)を、続いて、左右に並んだ2つのカードを見せ、1つを選んで押しってもらうというものであった。たとえば“緑の円”なら右のカードを、“赤いダイヤ”なら左のカードを押すと、ジュースが報酬として与えられた。指示によって選ぶカードの左右を決めても、その後2枚のカードは画面上の様々な場所に提示されたため、実際にカードが現れるまではサルは到達するカードの場所は決められなかった。こうした工夫は、カードの左右を決めること(目的)と、実際にカードに手を伸ばして押すこと(行為)を切り分けることを可能とした。



この課題を行なっているサルの前頭前野の神経活動を調べたところ、前頭前野の腹側部と背側部、そして、高次運動野の3つの領域は各々、以下の特徴を持っていることが明らかとなった。1) 前頭前野の腹側部は、画像の指示に基づいて行動の目的を決める。2) 前頭前野の背側部は、行為が完遂するまで忘れずに目的を保持する。3) 高次運動野は、目的から行為を選び取る。

本研究により、「目的を決め、それに則って行為を選び取り、実行する」という日々の行動の基本的な枠組みのなかで、高次運動野と前頭前野腹側部および背側部の3領域の役割分担を明確に定義づけることができた³⁾。これと並行して、ウイルスを使った越シナプス性神経路トレーシングによって、前頭前野腹側部から、前頭前野背側部を経由して高次運動野へ至る経路の存在を同定した²⁾。以上の2つの研究成果をまとめると、目的の決定から行為の選定へ向かう一連の情報処理過程に対応して、高次運動野と前頭前野の中に越シナプス性の広域神経ネットワークがあることが明らかとなった。

また、上記の課題を行なっているサルの大脳基底核・淡蒼球から記録されたニューロン活動を高次運動野と前頭前野の活動と比較した。その結果、淡蒼球は、目的を決定する過程に前頭連合野と同等な時間経過で関与するのに対して、行為を決定する過程には前頭連合野に遅れて関与す

ることが明らかとなった。この結果は、大脳基底核が認知的な意志決定過程と実際の行為の決定過程へ異なる関与を示している。

ここで説明した課題の他に3種類の認知行動課題を新たに設計し、課題毎に複数頭のサルに行動課題を学習させた。学習完了後、課題を遂行しているサルの運動関連領野から多領域・多点同時記録を行った。得られた神経活動データについて、種々の統計解析を行ったところ、各脳領域間で細胞活動特性が大きく異なる実態、ならびに、脳局所回路の情報処理のメカニズムについて興味深い知見が得られつつある。今後、こうした解析をさらに推進していくことによって、分散処理させた運動情報が統合される過程を明らかとする。

生理学的手法を用いた構造解析

大脳基底核からの出力と小脳からの出力が、視床、大脳皮質活動に与える影響について、電気刺激を用いて調べた。大脳皮質運動野刺激に対する逆行性応答により、視床-大脳皮質投射ニューロンを同定した後、小脳核、淡蒼球内節を刺激した。小脳核刺激では、興奮-抑制を示すのに対し、淡蒼球内節刺激では抑制-興奮のパターンを示した。刺激頻度を上げて行くと、小脳核刺激では単発刺激と比べて差はなかったが、淡蒼球内節刺激の場合は、遅い興奮が増強する傾向が見られた。記録部位を大脳皮質に移すと、小脳核刺激の場合は興奮が記録された。淡蒼球内節刺激の場合は、高頻度刺激において、視床の遅い興奮に対応する興奮性応答が記録できた。

パーキンソン病モデルサルの作製と電気生理学的解析

MPTP 神経毒をマカクサルに投与し、パーキンソン病モデルを作成した。具体的には、麻酔下で内頸動脈をクランプし、総頸動脈に MPTP 水溶液を注入し、片側パーキンソン病を作成する。しかし、この方法では症状の調整は難しいので、動注に加え MPTP の全身投与(筋注)により症状をコントロールした。その後、視床下核に電極を刺入し電気記録により同定した後、高頻度電気刺激により症状が改善されるのか、調べた。

また、マカクサルに用いられている装置の改良を行うことにより、マーモセットからも覚醒下において、神経活動を記録する方法を確立した。とくに、大脳皮質運動野、感覚野のマッピング、皮質刺激の際の大脳基底核の活動記録などを行った。

順行性トレーシング法による構造解析

単一のサル(ニホンザルもしくはアカゲザル)の運動前野(PM;特に背側部)と補足運動野(SMA)の上肢領域を、皮質内微小刺激法により電気生理学的に同定し、それぞれの領域に異なる順行性神経トレーサーである BDA と WGA-HRP を注入した。このようなサルにおいて、PM と SMA の上肢領域から一次運動野(MI)の上肢領域への入力分布の層特異性を比較検討した結果、PM からの入力が MI の浅層(特に2層)を中心に分布するのに対して、SMA からの入力は層横断的かつカラム状に分布することが明らかになった。

より効率的なウイルスベクター系の開発、神経路選択的操作モデルサルの作製

神経細胞特異的逆行性遺伝子導入(NeuRet)ベクターについて、遺伝子導入効率を向上させるため、融合糖タンパク質 C 型(FuG-C)の改良を検討した。FuG-C の細胞外ドメインのN末端領域は狂犬病ウイルス糖タンパク質(RV-G)に由来し、そのC末端領域(16 アミノ酸)および膜貫通・細胞内ドメインは水泡性口内炎ウイルス糖タンパク質(VSV-G)に由来する。この RV-G と VSV-G の融合ジャンクションを至適化するため、ジャンクションを前後に移動させた融合糖タンパク質を作製し、ウイルスベクターの逆行性遺伝子導入効率を解析した。現時点で、VSV-G のC末端領域が 14 アミノ酸から 18 アミノ酸の範囲で、高い導入効率を示すことが判明した。今後、この範囲の中で、ジャンクションがどの位置になる時に最も導入効率が高くなるかを検討する予定である。また、NeuRet ベクターを利用して、マウスの小脳一視床路および視床皮質路への遺伝子導入に成功した。これらの動物は、今後、上記の神経路の学習行動における役割の解析を行うための有益な実験モデルとなる。

§3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

● 論文詳細情報

1. Inoue K, Koketsu D, Kato S, Kobayashi K, Nambu A, Takada M. (2012) Immunotoxin-mediated tract targeting in the primate brain: selective elimination of the cortico-subthalamic "hyperdirect" pathway. PLoS ONE. 7:e39149. (doi: 10.1371/journal.pone.0039149)
2. Takahara D, Inoue KI, Hirata Y, Miyachi S, Nambu A, Takada M, Hoshi E (2012) Multisynaptic projections from the ventrolateral prefrontal cortex to the dorsal premotor cortex in macaques - anatomical substrate for conditional visuomotor behavior. Eur J Neurosci. 36:3365-3375. (doi: 10.1111/j.1460-9568.2012.08251.x.)
3. Yamagata T, Nakayama Y, Tanji J, Hoshi E (2012) Distinct information representation and processing for goal-directed behavior in the dorsolateral and ventrolateral prefrontal cortex and the dorsal premotor cortex. J. Neurosci. 32:12934-12949. (doi: 10.1523/JNEUROSCI.2398-12.2012)
4. Nishizawa K, Fukabori R, Okada K, Kai N, Uchigashima M, Watanabe M, Shiota A, Ueda M, Tsutsui Y, Kobayashi K. (2012) Striatal indirect pathway contributes to selection accuracy of learned motor actions. J Neurosci. 2012 32:13421-32.
5. Lu X, Miyachi S, Takada M. (2012) Anatomical evidence for the involvement of medial cerebellar output from the interpositus nuclei in cognitive functions. Proc Natl Acad Sci U S A. 109:18980-4. (doi: 10.1073/pnas.1211168109)

6. Chiken S, Nambu A. (2013) High-frequency pallidal stimulation disrupts information flow through the pallidum by GABAergic inhibition. *J Neurosci.* 33:2268-80. (doi: 10.1523/JNEUROSCI.4144-11.2013)
7. Hirata Y, Miyachi S, Inoue KI, Ninomiya T, Takahara D, Hoshi E, Takada M. (2012) Dorsal Area 46 Is a Major Target of Disynaptic Projections From the Medial Temporal Lobe. *Cereb Cortex.* 2012 Sep 17. [Epub ahead of print] (doi: 10.1093/cercor/bhs286)
8. Sano H, Chiken S, Hikida T, Kobayashi K, Nambu A (2013) Signals through the striatopallidal indirect pathway stop movements by phasic excitation in the substantia nigra. *J Neurosci* (in press)

(3-2) 知財出願

- ① 平成 24 年度特許出願件数(国内 1件)