

「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

運動学習と小脳の機能との関連付けるために、人間や猿を用いた認知課題を含む心理実験から、遺伝子操作マウスの反射やパターン運動の運動学習実験まで及ぶ広範囲の学習パラダイムを作成する準備を行った。またパラダイムの一部を用いて、運動学習の原因が小脳の神経伝達可塑性にある実験的根拠をいくつか得た。またモデリングやシュミレーションで実験結果を確認するための基礎データの採集を開始した。

2. 研究実施内容

- (1) 猿を用いて微小電極を用いた生理実験を行った。滑動性眼球運動速度に適応が実際に生じた時に小脳片葉と腹側傍片葉の単一プルキンエ細胞の神経活動を比較し、腹側傍片葉に適応に関係する神経活動が強くみられることを確認した。また理研脳科学研究センターと共同研究をおこない、遺伝子操作マウス（GFAP 欠損マウスや神経性一酸化窒素産生酵素（nNOS）欠損マウス、FYN 欠損マウス）の前庭動眼反射や視機性眼球反応の特性を解析し、NOS 欠損マウスでは視機性眼球反応の適応が減弱していることを見出した。さらに野生型のマウスで NOS 阻害剤を小脳に局所投与すると視機性眼球反応の適応が阻止されることも見出した。この2つの結果はともに視機性眼球反応の適応に小脳神経回路におけるシナプス伝達可塑性が強く関与していることを示唆する。東京医大と共同で解剖の研究を行い、ラットの片葉と傍片葉の解剖学的特徴を体系的にまとめた。
- (2) 視覚誘導性、記憶誘導性眼球運動、および上肢到達運動の学習制御メカニズムを調べる心理実験を行うための実験装置を構築した。上肢運動では手先位置を赤外線方式、眼球運動を EOG 方式で測定し、ビデオプロジェクタとレーザービームで被験者に視標を提示する。眼球運動でも同様のシステムを構築した。体性感覚と視覚の関係、運動と視覚情報の関係を操作して、それが適応の進み方に与える影響を今後調べていく予定である。
- (3) 輻輳眼球運動の動的適応に関する検討をおこなった。両眼視差のダブルステッ

プのパラダイムを用いて輻輳の初期加速度の動的な適応を正常被検者に誘発した。1 段目のステップで 2 m から 1 m へ視差が変化し、その 0.2 秒後にさらに近く (0.7 m : 増加パラダイム) あるいは遠く (1.4 m : 減少パラダイム) へと 2 段目のステップを呈示する装置を開発した。増加パラダイムと減少パラダイムの両者において、約 30 分繰り返し刺激を与えることで輻輳運動の立ち上がり加速に適応がみられた。増加パラダイムでは輻輳運動の初期加速の持続が延長し、減少パラダイムでは初期加速の大きさそのものが減少した。これらの結果は、今後ヒトのみならず動物を用いた輻輳運動の適応の実験モデルになると考えられる。次に、輻輳時に含まれる回旋運動についても検討した。正常被検者に対して等速度で接近する視標に対する輻輳と眼球回旋を同時に記録した。被検者間でかなり眼球回旋の大きさには差があるが、大きくても 3 ~ 4 度程度であった。眼球回旋は輻輳よりかなり遅れてピークに達した。

- (4) グリア繊維性酸性蛋白質 (GFAP) 欠損変異マウスおよび神経性一酸化窒素産生酵素 (nNOS) 欠損変異マウスの前庭動眼反射と視機性眼球反応の特性を解析した。nNOS 欠損変異マウスでは、視機性眼球反応の適応は大いに減弱していた。また、野生型マウス小脳片葉への NOS 阻害剤投与は視機性眼球反応の適応を阻止した。これらの所見は、遺伝学および薬理学の両面から一酸化窒素が小脳の可塑性に重要な役割を果たすとする考えを支持する。GFAP 欠損変異マウスは眼球運動特性およびその適応のいずれにも異常を示さなかった。一方、このマウスは瞬目条件反射学習に不全を示すとされており、この違いが何に起因するか今後検討する。
- (5) 1 型代謝型グルタミン酸受容体 (mGluR1) 欠損マウスの歩行運動を、トレッドミルを用いて解析した。歩行時の肢間協調性を肢運動の位相差から検討すると、前後の肢ともに左右の位相関係が野生型に比べて著しく崩れていた。また後肢にはトレッドミルのベルト速度に応じた歩行周期の調節も見られなかった。さらに微小電極を用いて、歩行時の小脳虫部と中間部のプルキンエ細胞の発火活動を記録した。安静時の発火頻度には欠損マウスと野生型には差は見られなかったが、歩行時には欠損マウスでは 100 Hz 以上に達する細胞が多数観察された。これらの所見は mGluR1 欠損マウスで小脳の長期抑圧が欠落することによく対応する。
- (6) 小脳皮質プルキンエ細胞におけるシナプス伝達の長期抑圧の基礎に、エンドサイトーシス/エクソサイトーシスによる受容体膜の制御が関与しているとの仮説を検証する予備実験をおこなった。小脳の神経細胞のかわりに、培養した海馬神経細胞オートプスを用いて解析した。フォルスコリンによる cAMP-PKA 系活性化の結果、増強されたシナプスエクソサイトーシスは、放出確率ではなく、

即時放出可能プールあるいは放出サイト数が上昇したことによることが、とモデルを用いた解析から推定されている。FM1-43等を用いた電気生理学的研究から、少なくとも放出サイト数が増加していることを、可視的に証明できた。さらに放出サイト数の増加は細胞外 Ca^{2+} 濃度にも依存することを見出した。今後、プルキンエ細胞樹状突起におけるエンドーサイトシスと長期抑圧の関係を解析する予定である。

- (7) ラット、猿を用いて小脳片葉、傍片葉、脳幹、大脳前頭葉の結合関係を順行性及び逆行性の標識物質を用いて解析した。大脳皮質前頭眼野、前頭眼前野と橋核の結合関係を調べ、大脳皮質から出力される眼球運動運動司令が小脳のどの領域に伝えられるかを解剖学的に検索した。ラットを用いた研究はほぼ完了したので、今後猿を用いてさらに検討する予定である。

3. 主な研究成果の発表（論文発表）

○Osanai R, Nagao S, Kitamura T, Kawabata I, Yamada J. Differences in mossy and climbing afferent sources between flocculus and ventral and dorsal paraflocculus. *Experimental Brain Research* (1999) 124:248-264.

他3件