

平成 21 年 3 月 31 日現在

研究種目：基盤研究（A）
 研究期間：2006～2008
 課題番号：18200027
 研究課題名（和文） 眼球サッケード運動制御と注意に関わる神経回路機能の多次元的理解
 研究課題名（英文） Multi-dimensional analysis of neural circuits controlling saccadic eye movements and visual attention

研究代表者
 伊佐 正（ISA TADASHI）
 生理学研究所・発達生理学研究室・教授
 研究者番号：20212805

研究成果の概要：

衝動性眼球運動（サッケード）は、我々が視野内の視覚対象に視線を注視させるために行う素早い眼球運動のことである。サッケードの生成には中脳の上丘が脳幹レベルの中枢として重要な役割を果たす。上丘からの出力は主にサッケードのベクトルを符号し、その信号は脳幹網様体にある神経回路を経て速度信号に変換されて運動ニューロンを活性化する。一方で、前頭眼野や頭頂連合野などの大脳皮質領域は上丘の活動を状況依存的に制御している。本研究課題では、マウスの上丘の脳スライス標本を用いて上丘の局所神経回路での情報処理の原理を明らかにすることを目的とし、浅層と中間層の間の相互作用、両層の中での水平性結合の機能および黒質網様部から中間層への GABA 作動性入力および脚橋被蓋核から中間層へのコリン作動性入力の作用を明らかにした。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	17,400,000	5,220,000	22,620,000
2007年度	12,600,000	3,780,000	16,380,000
2008年度	7,700,000	2,310,000	10,010,000
年度			
年度			
総計	37,700,000	11,310,000	49,010,000

研究分野：複合領域

科研費の分科・細目：神経科学・神経・筋肉生理学

キーワード：上丘、サッケード、スライス、フィールド電位、ホールセル記録、局所回路

1. 研究開始当初の背景

サッケード運動やそれに関連する注意や動機付けの機構はよく調べられており、行動中のサルの上丘の神経活動や上丘の浅層や中間層が他のどの領域と接続しているか、また上丘には他のどのような神経伝達物質系が入力しているかはよく調べられてきたが、上丘内部での情報処理機構や入力する神経伝達物質系の作用などについては不明な点が多かった。

2. 研究の目的

（1）上丘局所神経回路の構造と機能

上丘の局所神経回路における情報処理の基本原理を明らかにするために

- ①異なる層の間の相互作用を解析する
- ②同じ層内の水平方向での相互作用を明らかにし、空間内の異なる点を表現する部位同士の関係を明らかにし、注意の中枢機構における役割を検討する

③黒質網様部からの中間層への GABA 作動性入力および脚橋被蓋核から中間層へのコリン作動性入力の機能を明らかにする。

3. 研究の方法

GABA 作動性ニューロンが EGFP の蛍光を発する GAD67-EGFP ノックインマウスを用いて脳スライス標本を作成し、whole cell patch clamp 法と多チャンネル(64ch)フィールド電位記録法及び多チャンネル(64ch)電気刺激法を用いて層間および層内の水平方向の相互作用及び外部入力の作用を解析した。一部の実験では従来の冠状断切片に加えて、水平断切片を作詞して浅層ないしは中間層の層内の局所回路の構造を残す標本を作成して解析した。

4. 研究成果

①異なる層間の相互作用

上丘スライスを 150 ミクロン間隔で 8 x 8 に配置された 64 チャンネルのフィールド電気記録用の電極を搭載した dish の上に載せ、そして浅層に電気刺激を加えたところ、通常のリンゲル液の中では弱い陰性のフィールド電位が浅層の中においてのみ記録されたが、外液中に bicuculline(Bic) 10 μ M を投与するとまず、浅層で広範囲に陰性波が生じ、その際には中間層においては反転したかたちで陽性波が記録される。その後信号が中間・深層に伝播されるとともに長く持続する陰性波が水平方向で 500 ミクロン以上の幅広い範囲で生じ、次第により深層に伝播されていくことが明らかになった。(Phongphanphanee et al. J Neurosci 2008)。

一方、Bic 存在下でのバースト発火は GABA_B 受容体の拮抗薬である CGP によって顕著に増強された。このことは主に浅層に存在する GABA_B 受容体がバースト中に放出された GABA によって活性化され、バーストの持続時間を制限することを示唆した(Kaneda et al. J. Neurosci 2008a)。

一方、中間層から浅層への投射については、中間層を laser uncaging 法によって free なグルタミン酸を放出させて刺激したところ、浅層から視床への出力細胞において抑制性シナプス電流が記録された。また中間層の GABA 作動性ニューロンの中には浅層に投射する一群が見出されたことからこのような経路はサッケード指令に関する信号を受け取って浅層を抑制することにより、サッケード遂行に際して起きる視覚入力によって新たなサッケードが起きることを抑制する機能、つまりいわゆる「サッケード抑制」の機能を担っていることが示唆された(Lee et al. PNAS, 2007)。

② 水平方向の相互作用

浅層の水平断切片において 1 個の非 GABA 作動性細胞において whole cell 記録を行い、上述の周辺を系統的に刺激したところ、浅層においては記録された細胞を中心とする直径 300 ミクロン前後の範囲は興奮、その周辺は抑制といういわゆるメキシカンハット方の近傍興奮-周辺抑制の機構があることが明らかになった。膜電位固定を興奮性入力、抑制性入力の反転電位において行い、両者を分離したところ、興奮性入力と抑制性入力は重複するが、後者のほうがより広いことが明らかになった。(Phongphanphanee et al. 2008 学会発表済み、論文投稿準備中)。

③GABA およびコリン作動性入力の作用

一方、上丘の中間層へは黒質網様部より GABA 作動性入力があることが知られているが、これまで主に興奮性の出力細胞に入力するものと考えられてきた。それに対して今回我々は、GABA ニューロンが蛍光を発する GAD67-GFP ノックインマウスを用いて whole cell 記録法によって解析したところ、局所で結合を作る抑制性ニューロンに対しても黒質からの入力が入ることが明らかになった。この結果から、大脳基底核による上丘の制御は単に指向運動の開始を制御しているだけでなく、活動の時空間特性などをも制御している可能性が示唆された。(Kaneda et al. J Neurosci, 2008b)

一方、上丘中間層から反対側橋網様体に存在するサッケード生成回路へ投射する出力細胞を蛍光色素による逆行性標識によって同定し、カルバコール投与に対する応答を解析したところ、多くのニューロンが $\alpha 4\beta 2$ 型のニコチン受容体を介する内向き電流ないしは一部に細胞では M2 型ムスカリン受容体を介する外向き電流を見せたが全体としては興奮優位であった。以上の結果からコリン作動性入力はサッケードの生成を促進することが示唆された(Sooksawate et al. 2008)。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 20 件)

- ① Nishimura Y, Isa T , Compensatory changes at the cerebral cortical level after spinal cord injury. The Neuroscientist, in press.(2009) 有
- ② Nishimura Y, Morichika Y, Isa T. A common subcortical oscillatory network contributes to recovery after spinal cord injury. Brain,132: 709-721. (2009) 有
- ③ Isa T, Schwartz AB,. Introduction. Current Opinion in Neurobiology.(2008)有
- ④ Kaneda K, Isa K, Yanagawa Y, Isa T , Nigral inhibition of GABAergic neurons in mouse

- superior colliculus. *Journal of Neuroscience*, 28: 11071-11078. (2008)有
- ⑤ Yoshida M, Takaura K, Kato R, Ikeda T, Isa T, Striate cortical lesions affect deliberate decision and control of saccade: implication for blindsight. *Journal of Neuroscience*, 28: 10517-10530. (2008)有
- ⑥ Sooksawate T, Isa K, Isa T, Cholinergic responses in crossed tecto-reticular neurons of rat superior colliculus. *Journal of Neurophysiology*, 100: 2702-2711. (2008)有
- ⑦ Phongphananee P, Kaneda K, Isa T, Spatio-temporal profiles of field potentials in mouse superior colliculus analyzed by multichannel recording. *Journal of Neuroscience*, 28: 9309-9318. (2008)有
- ⑧ Endo T, Tarusawa E, Notomi T, Kaneda K, Hirabayashi M, Shigemoto R, Isa T, Dendritic Ih ensures high-fidelity spike responses of motion sensitive neurons in rat superior colliculus. *Journal of Neurophysiology*, 99: 2066-2076. (2008)有
- ⑨ Kaneda K, Phongphananee P, Katoh T, Isa K, Yanagawa Y, Obata K, Isa T, Regulation of burst activity through pre- and postsynaptic GABAB receptors in mouse superior colliculus. *Journal of Neuroscience*, 28: 816-827. (2008)有
- ⑩ Isa T, Ohki Y, Alstermark B, Pettersson L-G, Sasaki S, Direct and indirect cortico-motoneuronal pathways and control of hand/arm movements. *Physiology*, 22: 145-152. (2007)有
- ⑪ Pettersson L-G, Alstermark B, Blagovetchchenski E, Isa T, Sasaki S, Skilled digit movements in feline and primate - descending control and motor recovery after spinal cord injuries. *Acta Physiol. Scand.*, 189: 141-154. (2007)有
- ⑫ Alstermark B, Isa T, Pettersson L-G, Sasaki S, The C3-C4 propriospinal system in the cat and monkey; a spinal premotoneuronal centre for voluntary motor control. *Acta. Physiol. Scand.*, 189: 123-140. (2007)有
- ⑬ Nishimura Y, Onoe T, Morichika Y, Perfiliev S, Tsukada H, Isa T, Time-dependent central compensatory mechanism of finger dexterity after spinal-cord injury. *Science*, 318: 1150-1155. (2007)有
- ⑭ Sato A, Nishimura Y, Oishi T, Higo N, Murata Y, Onoe H, Saito K, Tsuboi F, Takahashi M, Isa T, Kojima T Differentially expressed genes among motor and prefrontal areas of macaque neocortex. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 362: 665-669. (2007)有
- ⑮ Nishimura Y, Onoe T, Morichika Y, Tsukada H, Isa T, Activation of parieto-frontal stream during reaching and grasping studied by positron emission tomography in monkeys. *Neuroscience Research*, 59: 243-250. (2007)
- ⑯ Sakatani T, Isa T, Quantitative analysis of saccade-like rapid eye movements in C57BL/6 mice. *Neuroscience Research* 58: 324-331. (2007)有
- ⑰ Lee PH, Sooksawate T, Yanagawa Y, Isa K, Isa T, Hall WC, Identity of a pathway for saccadic suppression. *Proceedings of National Academy of Sciences, USA* 104: 6824-6827. (2007)有
- ⑱ Sooksawate T, Isa T, Properties of cholinergic responses in neurons in the intermediate gray layer of rat superior colliculus. *European Journal of Neuroscience*, 24: 3096-3108. (2006)有
- ⑲ Tanaka H, Ikenaka K, Isa T, Electrophysiological abnormalities precede apparent histological demyelination in the central nervous system of mice overexpressing proteolipid protein. *Journal of Neuroscience Research* 84: 1206-1216. (2006)有
- ⑳ Isa T, Ohki Y, Seki K, Alstermark B, Properties of propriospinal neurons in the C3-C4 segments mediating disynaptic pyramidal excitation to forelimb motoneurons in the macaque monkey. *Journal of Neurophysiology*, 95: 3674-3685. (2006)有
- [学会発表] (計 41 件)
- ①伊佐正「Spinal cord interneuronal network and functional electrical stimulation of the spinal cord with chronically implanted electrodes.」日英ブレイン・マシン・インターフェース国際ワークショップ、有楽町朝日ホール、2009年2月12日
- ②伊佐正「脳・脊髄損傷後の機能回復過程の可視化」第3回分子イメージング研究シンポジウム、放射線医学総合研究所、2009年1月22日
- ③伊佐正「脊髄損傷後の機能回復戦略」神経科学セミナー、東京都神経科学総合研究所、2008年10月7日
- ④伊佐正「脳・脊髄部分損傷後の機能回復に関するBMIの応用に関する考え方」日本脳神経外科学会 第67回学術総会シンポジウム、盛岡グランドホテル、2008年10月1日
- ⑤伊佐正「機能回復と脳活動」第2回痛みの理学療法学研究大会、名古屋大学、2008年9月27日

- ⑥伊佐正「損傷脳の生存戦略」第16回「脳の世紀」シンポジウム、有楽町朝日ホール、2008年9月4日
- ⑦伊佐正「損傷脳の生存戦略」国立精神・神経センター神経研究所 研究所セミナー、国立精神・神経センター、2008年7月22日
- ⑧伊佐正「損傷から立ち直るための脳の仕組み」第5回自然科学研究機構シンポジウム、国際フォーラム、2008年3月20日
- ⑨伊佐正「ブレインマシンインタフェイス研究の現状と展望」第47回日本定位・機能神経外科学会、アクトシティ浜松、2008年1月25日
- ⑩伊佐正「脳の損傷から立ち直るために」CREST 第3回公開シンポジウム、虎ノ門パストラル、2007年11月10日
- ⑪Laurent Itti, Masatoshi Yoshida, David Berg, Takuro Ikeda, Rikako Kato, Kana Tkaura, Tadashi Isa, 「Saliency-based of spontaneous saccades in monkeys with unilateral lesion of primary visual cortex.」第37回 Annual meeting of the Society for Neuroscience, 米国、2007年11月6日
- ⑫伊佐かおる、金田勝幸、柳川右千夫、小幡邦彦、伊佐正「黒質網様部から上丘中間層GABA 作動性ニューロンへの抑制性入力」第30回日本神経科学大会、パシフィコ横浜、2007年9月10日
- ⑬高浦加奈、吉田正俊、伊佐正「一次視覚野除去後の損傷視野内における視覚運動変換過程への上丘の寄与」第30回日本神経科学大会、パシフィコ横浜、2007年9月10日
- ⑭Masatoshi Yoshida, Kana Takaura, Tadashi Isa 「Neural correlate of residual vision in monkey with blindsight.」第11回 Association for the Scientific Study of Consciousness, 米国、2007年6月23日
- ⑮伊佐正「一次視覚野損傷後の視覚運動変換機構—盲視モデルとしての考察—」玉川大学脳科学研究所設立記念シンポジウム、玉川学園チャペル、2007年5月19日
- ⑯Takuro Ikeda, Tadashi Isa 「Role of striatal visual pathway in Inhibition of Return」第7回 Vision Science Society 年会、米国、2007年5月13日
- ⑰Masatoshi Yoshida, Kana Takaura, Tadashi Isa 「Is residual vision in monkeys with unilateral lesion in the primary visual cortex like normal, near-threshold vision?」第7回 Vision Science Society 年会、米国、2007年5月13日
- ⑱Laurent Itti, Masatoshi Yoshida, David Berg, Takuro Ikeda, Rikako Kato, Kana Tkaura, Tadashi Isa, 「Investigation of spontaneous saccades based on the saliency model in monkeys with unilateral lesion of primary visual cortex.」第7回 Vision Science Society

年会、米国、2007年5月11日

- ⑲ Tadashi Isa 「Top-down attention on the visuomotor processing without the primary visual cortex(V1): an experimental study in monkeys with unilateral lesion of V1」第7回 Vision Science Society 年会、米国、2007年5月11日

〔図書〕(計2件)

- ①Kiehn, O., Buschges, A., Duch, C., Grillner, S., Isa, T., Lansner, A., Pflugger, H.-J., Richter, D.W., Sillar, K.T., Smith, J.C., Sparks, D.L. Group report: Microcircuits in the motor system. "Microcircuits. The interface between neurons and global brain function." (eds. S. Grillner & A.M. Graybiel), pp77-104, The MIT Press.(2006)
- ② Isa T & Sparks D, Microcircuit of the Superior Colliculus: A Neuronal Machine that Determines Timing and Endpoint of Saccadic Eye Movements. Background paper for 93rd Dahlem Workshop on Microcircuits; The interface between Neurons and Global Brain Function, pp1-34.(2006)

6. 研究組織

(1)研究代表者

伊佐正 (ISA TADASHI)

生理学研究所・発達生理学研究系・教授

研究者番号：20212805

(2)研究分担者

金田勝幸 (KANEDA KATSUYUKI)

生理学研究所・発達生理学研究系・助教

研究者番号：30421366

(3)連携研究者

なし