

平成 22 年 6 月 3 日現在

研究種目：特定領域研究
 研究期間：2005～2009
 課題番号：17021041
 研究課題名（和文） 統合的研究手法による眼球・上肢運動制御における大脳運動関連領域の機能解明
 研究課題名（英文） Integrative approach for the cortical control of eye and hand movements
 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（和文）：サルにおいて一次視覚野の損傷後、1～2カ月で障害視野への眼球のサッケード運動は回復する。その際、視覚情報は上丘を介して処理される。網膜から上丘浅層への視覚入力状況に応じて直接上丘中間層へ伝達され、さらに脳幹網様体のサッケード制御回路を直接駆動して超短潜時の express saccade を駆動できる。サルにおいて皮質脊髄路から手指筋の運動ニューロンへの直接経路を遮断しても、訓練によって1～2カ月で個々の指の独立制御による精密把持運動は回復する。その場合の機能代償は、運動ニューロンより数髄節吻側の脊髄固有ニューロンを介する経路によって行われる。

研究成果の概要（英文）：After the lesion of the primary visual cortex, visually guided saccadic eye movements towards the targets presented in the affected visual field recovers within 1-2 months in monkeys. After the recovery, the visual signal is processed mainly by the superior colliculus (SC). Under particular circumstances, the direct visual inputs from the retina to the superficial layer of the SC can directly activate the neurons in the intermediate layer of the SC and then the further activation of the saccade generator circuits downstream in the brainstem triggers ultra-short latency saccades named express saccades. After the lesion of the direct cortico-motoneuronal connections from the primary motor cortex to hand motoneurons, dexterous finger movements are once impaired but recover through training within 1-2 months in monkeys. Such recovery is contributed by the indirect cortico-motoneuronal pathway mediated by propriospinal neurons located a few segments rostral to motoneurons.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2005年度	9,900,000	0	9,900,000
2006年度	9,900,000	0	9,900,000
2007年度	9,900,000	0	9,900,000
2008年度	9,900,000	0	9,900,000
2009年度	9,900,000	0	9,900,000
総計	49,500,000	0	49,500,000

研究分野：複合領域

科研費の分科・細目：神経筋肉生理学

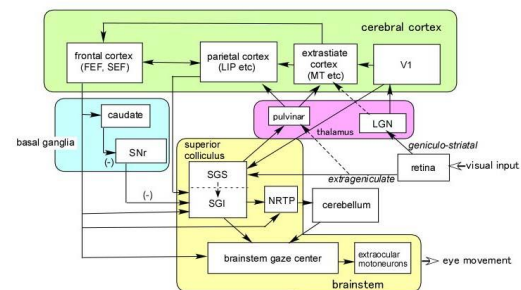
キーワード：大脳皮質、上丘、皮質脊髄路、脊髄固有細胞、サッケード、精密把持、サル

1. 研究開始当初の背景

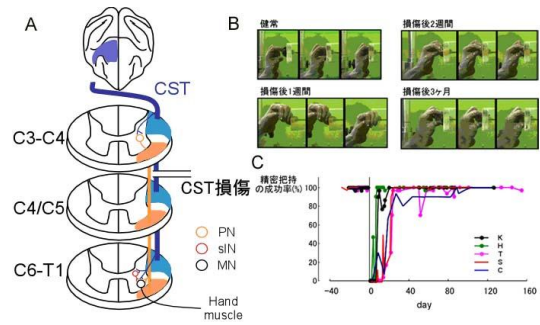
眼球のサッケード運動と手指の精密把持運動は霊長類に特有な精緻な運動制御系であり、多くの研究がなされてきたが、以外に基本的なことが分かっていない。

(図1)にサッケード制御に関する視覚—運動変換回路の概要を示す。特に、上丘(superior colliculus)から下流の運動出力系については、多くの知見が蓄積されているが、視覚入力系については不明確な点が多い。つまり、サッケードを誘発する視覚入力系として、網膜から外側膝状体(LGN)を介して一次視覚野(V1)に至る膝状体視覚系と網膜から直接上丘に至る膝状体外視覚系のいずれがどの程度重要なのか、一方V1から上丘浅層へも視覚信号が投射されており、上丘の視覚応答がV1を介するものなのか、それとも網膜からの直接入力によるのかも明らかでない。また、上丘の浅層(SGS)から中間層(SGI)への直接経路の存在を我々は明らかにしたが、それがどのような局面で機能しているのか? こういった問題を一次視覚野を損傷したサルの手指の精密把持運動とその際の上丘の神経活動記録によって明らかにすることを試みる。

一方、手指の運動制御系については、(図2A)にその運動出力系を示すが、一次運動野(M1)から手指の筋を支配する運動ニューロン(MN)への直接投射経路については比較的よく調べられている。しかし、M1から脊髄への投射経路は主に脊髄固有ニューロン(PN)が存在するVII層に終末しているが、この運動野から脊髄介在ニューロン系への投射経路の意義はわかっていない。また、一次運動野以外にも運動前野などからも脊髄への直接投射があるがその機能も明確でない。本研究では、皮質脊髄路から運動ニューロンへの直接経路を遮断したサルを用いて上記の問題の解明を試みる。



(図1) 視覚誘導性サッケード運動を制御する神経回路



(図2) A. 皮質脊髄路(CST)と脊髄の運動ニューロン(MN)や脊髄固有ニューロン(PN)との結合。B. 頸髄C4/C5でCSTを損傷した場合の手指の精密把持運動の回復。C. 5頭のサルでの精密把持の回復曲線。

2. 研究の目的

2. (1) 眼球のサッケード運動制御について、上丘の浅層(SGS)から中間層(SGI)への直接経路がどのような局面で機能しているのかを一次視覚野を損傷したサルの手指の精密把持運動とその際の上丘の神経活動記録によって明らかにすることを試みる。

2. (2) 手の運動制御系について、運動野から脊髄介在ニューロン系への投射経路の機能的意義を解明する。

3. 研究の方法

2. (1)については、一次視覚野を一側性に損傷したサルの手指の精密把持運動と、上丘の神経活動を解析する。

2. (2)については皮質脊髄路を頸髄C5レベルで切断したサルの手指の巧緻運動とその際の脳の活動を解析する。

4. 研究成果

(眼球サッケード運動系)

一次視覚野損傷後の視覚誘導性サッケード運動

これまで6頭のサルにおいて一次視覚野を一側性に吸引除去し、その後の視覚誘導性サッケード課題の機能回復を観察すると、損傷直後は障害側へのサッケードは遂行不能になるが、徐々に回復し、約2-3ヶ月でほぼ完全に視覚誘導性サッケードが遂行可能になる。しかし、この段階でも、障害側へのサッケードは不正確で、かつ指標の明るさの検出閾値が上昇している。つまり明るい刺激しか見ることができなくなっている。

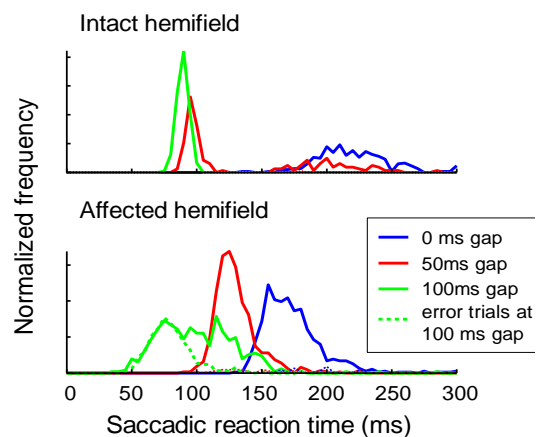
健常なサルを用いた近年の研究では、上丘へのムシモル注入による局所機能ブロックがサッケードに与える影響は、応答時間の延長

や振幅の低下に留まる事が報告されている。これは、前頭眼野 (FEF)、外側頭頂間野 (LIP) などの皮質野を介した入力、直接、脳幹のサッケード形成回路を駆動することができるためと考えられる。それに対して、V1 損傷後は、上丘が視覚情報の中継点としてサッケードの遂行に重要になることが予想される。我々は、サッケード機能回復への上丘の寄与を明らかにするために、ムシモル注入による上丘の抑制効果を調べた。その結果、健常側上丘へのムシモル注入後、サルは、注入部位に対応する視野に提示された視覚目標に対しても、サッケード可能であった。一方、損傷側上丘へのムシモル注入は、注入部位付近へのサッケードを完全に抑制した。この結果は、V1 損傷からのサッケード機能の回復において、上丘がより上位中枢に対する視覚入力経路として不可欠な役割を担っていることを示している。

視覚誘導性サッケードの反応時間を注視点消灯後ターゲットを呈示するまでの Gap 時間を 0, 50, 100ms とランダムに変えた条件で測定し、健常視野と障害視野とで比較した。すると (図 3) のサルでは、健常視野では Gap 0ms では 150-250ms に分布していた反応時間が 50ms では 80-120ms (express saccade) と 150-270ms (regular saccade) という 2 峰性の分布を示すようになり、Gap100ms ではほとんど全てのサッケードが 80-120ms のいわゆる express saccade になるという顕著な Gap 効果が観察される。それに対して障害視野は、Gap 0 ms では 130-230ms 程度の反応時間 (健常視野よりむしろ短い) であったサッケードの反応時間が Gap 50ms では 100-170ms となり、さらに Gap 100ms では、50-160ms に分布するようになった。しかし短い反応時間のサッケードはターゲットを見ずに開始されている予測性サッケードである可能性が高い。そこでエラーになったサッケードの反応時間の分布を点線 (緑) でプロットすると (図 3) のようになり、50-80ms の間では正解とされたサッケードの反応時間の分布とほぼ完全に重なった。つまりこの範囲のサッケードはすべて予測性のサッケードであるといえる。しかし、80ms 以上の反応時間では正解のほうが増加しているため、この範囲ではサルは正しくターゲットの位置情報を利用してきていることがわかる。このことから障害視野での 80ms 程度の超短潜時のサッケードが起り得ることを示している。以上の結果をまとめると

- 1) 障害視野でも Gap 効果による反応時間の短縮は観測される。
- 2) 障害視野でも反応時 80-120ms の超短潜時のサッケードは起り得る。
- 3) 障害視野でのサッケードの反応時間の分布は健常視野のように 2 峰性にはな

らない。



(図 3) 上 : Gap サッケード課題。下 : 健常側 (intact hemifield) 及び障害側 (affected hemifield) への反応時間の分布。

以上の結果を総合すると、V1 損傷からの回復後、網膜から上丘への直接投射経路が中間層を直接活性化し、超短潜時の express saccade を誘発し得ることが明らかになった。

(巧緻な手指の運動)

(1) 神経回路の構造と機能

図 2 のように、サルにおいて大脳皮質一次運動野からの皮質脊髓路は、C6-Th1 髄節に分布する上肢筋運動ニューロンに投射するが、同時に、より吻側の C3-C4 髄節にある脊髓固有ニューロン (C3-C4PNs) を介する経路も存在することを明らかにした。

(2) 皮質脊髓路損傷後の機能代償機構

これまで、我々は 11 頭のサルに C4/C5 レベルでの CST 損傷の手術を行い、その損傷領域を検討した。その結果、うち 10 頭のサルで目的とする CST の完全損傷のモデルの作成に成功することができた。これら損傷の完全なサルでは損傷後一時的な手の麻痺がみられるが、約 1 ヶ月前後で完全に回復することが明らかになった。そしてこの機能代償過程に対する中部頸髄の脊髓固有ニューロン (C3-C4PNs) の関与を明らかにするため、2 頭のサルにおいて C2 レベルで CST を損傷し、回復過程を比較したところ、これらのサルでは切断後 3 ヶ月以上を経ても、精密把持の回復は部分的で、個々の指の独立制御も回復しなかった。これらの結果は損傷のレベルによって回復過程が異なること、さらに C3-C4PNs を介する経路が精密把持の機能回復に重要な役割を果たしていることを示している。

①皮質脊髓路の損傷後の精密把持運動の機能回復に関わる神経メカニズムの検討

次に我々は陽電子断層撮影装置 (PET) の

H₂¹⁵O を用いた脳血流測定法を用いて機能回復過程の脳活動の変化を解析することにした。サルには精密把持課題を行わせ、prehension task 中の血流分布から control task 中の血流分布を引くことにより到達一把持運動関連領域を求めた。3 頭のサルで、機能回復に関係している脳領域を特定するために、この CST 損傷モデルを用いて PET による脳機能イメージングを行った。手の運動の回復がまだ完全ではない術後 1 ヶ月における測定では、両側の一次運動野の活動の増大が認められたが、完全に回復した術後 3 ヶ月では、切断の反体側における一次運動野と両側の腹側運動損野の活動の増大が認められた。したがって、これらの領域が CST 損傷後の機能回復に貢献している可能性が示唆された。

さらに、脳機能イメージングで明らかになった領域が、どの程度、手の運動の機能回復に関与しているかを検討するために、GABA 受容体のアゴニストである muscimol を微量局所投与することによる、可逆的な局所不活性化実験を行った。

まず、両側の一次運動野を運動前野腹側部を皮質内微小電流刺激法によってマッピングし、対部位局在を明らかにし、その上で反対側 M1 の手指領域に濃度 5・g/・1 のムシモルを 0.8 ないしは 1.5・1 注入すると、手術前でも手指の巧緻運動は著しく障害されたが、回復初期においてはその効果は一層顕著であった。このことはこの時期の回復は反対側 M1 の活動に非常に強く依存していることを示している。しかし興味深いことに回復安定期の注入の効果は手術前、回復初期より弱かった。このことは PET の結果に見られたように回復安定期には反対側 M1 の活動領域の増大と両側の PMv への活動増加の広がりが出ており、注入されたムシモルではこれらの領域の一部だけが機能ブロックされたためではないか、と考えられる。

一方、同側 M1 への注入であるが、手術前は 5.0・1 を注入しても全く効果は観察されなかった。しかし、回復初期では、回復してきた精密把持運動が一部障害を受けた。そしてこのような効果は回復安定期には消失していた。このように同側 M1 は回復初期に一過性に活動が増大し、機能回復に貢献していることが明らかになった。次に反対側 PMv については、実験を行った 2 頭のサルのうち 1 頭で回復初期に効果が観察されたが、個体間で差が観察された。そして同側 PMv への注入は、回復安定期に運動時間の遅延というかたちで再現性のある結果が観察された。以上の結果から回復初期においては両側一次運動野の活動、回復安定期においては反対側一次運動野の活動と同側の運動前野の活動といういずれも PET で観察された活動の増加が実際

に機能回復に寄与していることを示すことができた。

②機能回復過程での皮質-筋コヒーレンス、筋-筋コヒーレンスの変化

次に機能代償過程における神経回路の再組織化を機能的に評価するため、大脳皮質 M1、PMv の局所フィールド電位を記録し、手や腕の筋と活動との間のコヒーレンス（皮質-筋間コヒーレンス；cortico-muscular coherence = CMC）を解析した。まず健常なサル 3 頭で記録したところ、うち 2 頭で一次運動野の皮質内微小電流刺激法によって肩、肘、手首、指と定義された領域さらには一次体性感覚野や運動前野腹側部という広い領域から遠位の手指の筋に対して 20Hz 前後の β 帯域のコヒーレンスが記録された。一方、近位筋に対しては観察されなかった。そして CMC が M1 内の広範な部位から誘発されたことは、皮質内微小電流刺激によって定義された体部位局在マップよりも遥かに広範な領域のニューロン群が手指筋の制御に関与していることが推察された。そしてこの CMC は頸髄 C4/C5 レベルで皮質脊髓路を切断した後、3 ヶ月経過して精密把持の能力が相当程度回復しても回復しなかった。以上の結果から、CMC の生成には M1 から脊髓運動ニューロンへの直接結合が必要であること。皮質脊髓路損傷後の機能代償には脊髓固有ニューロン系などの間接経路が重要な役割を果たすが、間接経路によって CMC は誘発されないことが明らかになった。一方で、筋電図活動については、回復過程で元来拮抗筋同士であった筋活動が協同して活動するようになる傾向が観察された。そして筋-筋間コヒーレンス（musculo-muscular coherence；MMC）は 3 頭のサルにおいて機能回復とともに 30Hz 前後の β 帯域に観察されるようになり、増大し続けた。以上の結果から、皮質脊髓路損傷からの回復過程では、大脳皮質より下位のレベルの共通のオシレーターによって腕から手にかけての多数の筋が制御を受けるようになることで神経回路の再組織化が起きていることが示唆された。

結語

以上のように、V1 損傷後には上丘を解する視覚伝達経路によって視覚誘導性サッケードの機能代償が行われること、皮質脊髓路から運動ニューロンへの直接経路の損傷後は、一時的には両側の M1、安定期には反対側の M1 のより広範な領域から脊髓固有ニューロンを介する経路が機能を代償することが明らかになった。運動前野がどのように関与するかは今後の課題である。

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 32 件)

- ① Ikeda T, Yoshida M, Isa T. (2010) Functional differences between cortical and subcortical visual pathway in spatial attention: inhibition of return and attention capture. *Journal of Cognitive Neuroscience*, in press. 査読有
- ② Isa T, Hall WC (2009) Exploring the superior colliculus in vitro. *Journal of Neurophysiology* (review) 2581-2593 査読無
- ③ Isa T, Yoshida M (2009) Saccade control after V1 lesion revisited. *Current Opinion in Neurobiology* (review) 査読無
- ④ Higo N, Nishimura Y, Murata Y, Oishi T, Saito K, Takahashi M, Tsuboi F, Isa T (2009) Increased expression of the growth-associated protein-43 gene in the sensorimotor cortex of the macaque monkey after lesioning of the lateral corticospinal tract. *Journal of Comparative Neurology*, 516:493-506 査読有
- ⑤ Okada K, Toyama K, Inoue Y, Isa T, Kobayashi Y (2009) Different pedunculo-pontine tegmental neurons signal predicted and actual task rewards. *Journal of Neuroscience* 29:4858-4870 査読有
- ⑥ Nishimura Y, Isa T (2009) Compensatory changes at the cerebral cortical level after spinal cord injury. *The Neuroscientist*, 15:436-444 査読有
- ⑦ Nishimura Y, Morichika Y, Isa T, A common subcortical oscillatory network contributes to recovery after spinal cord injury. *Brain*, 132: 709-721. (2009) 査読有
- ⑧ Kaneda K, Isa K, Yanagawa Y, Isa T, Nigral inhibition of GABAergic neurons in mouse superior colliculus. *Journal of Neuroscience*, 28: 11071-11078. (2008) 査読有
- ⑨ 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) 査読有
- ⑩ Sooksawate T, Isa K, Isa T, Cholinergic responses in crossed tecto-reticular neurons of rat superior colliculus. *Journal of Neurophysiology*, 100: 2702-2711. (2008) 査読有
- ⑪ Phongphanphane 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) 査読有
- ⑫ 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) 査読有
- ⑬ Kaneda K, Phongphanphane 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) 査読有
- ⑭ 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) 査読有
- ⑮ 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) 査読有
- ⑯ 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) 査読有
- ⑰ 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) 査読有
- ⑱ 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) 査読有
- ⑲ Endo T, Yanagawa Y, Obata K, Isa T. (2005) Nicotinic acetylcholine receptor subtypes involved in facilitation of GABAergic inhibition in mouse superficial superior colliculus. *Journal of*

Neurophysiology 94:3893-3902 査読有

- ② Saito Y, Isa T (2005) Organization of interlaminar interactions in the rat superior colliculus. *Journal of Neurophysiology*, 93:2898-2907 査読有

[学会発表] (計 43 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
- ③ 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
- ④ 伊佐正 「脊髄損傷後の手指の巧緻運動の機能代償機構」第31回日本神経科学大会、東京国際フォーラム、2008年7月11日
- ⑤ 伊佐正 「脊髄損傷後の手指の巧緻運動の機能代償機構」神経組織の成長・再生・移植研究会、第23回学術集会、ホテルスプリングス幕張、2008年5月17日
- ⑥ 伊佐正 「脊髄損傷後の手指の巧緻運動の機能代償機構」第37回日本脊椎脊髄病学会、京王プラザホテル、2008年4月24日
- ⑦ 伊佐正 「ブレインマシンインタフェース研究の現状と展望」第47回日本定位・機能神経外科学会、アクティシティ浜松、2008年1月25日
- ⑧ asatoshi 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
- ⑨ Masatoshi 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
- ⑩ 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4件)

- ① Kaneda K, Isa T (2010) The Superior Colliculus. In “Handbook of Microcircuits.” eds G. Shepherd, S. Grillner. MIT Press., in press.
- ② Sakatani T, Isa T (2008) Superior colliculus and saccade generation in mice. In “*Eyes, Retina and Visual System of the Mouse*” (eds Calupa Leo.M. & Williams R), MIT Press, pp233-244.
- ③ 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)

[その他]

ホームページ等

URL: <http://www.nips.ac.jp/hbfp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

伊佐正 (ISA TADASHI)

生理学研究所・発達生理学研究室・教授
研究者番号: 20212805

(2) 研究分担者

遠藤利朗 (ENDO TOSHIKI)

生理学研究所・発達生理学研究室・助手
研究者番号: 30353436 (H17)