

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 4 日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2017

課題番号：15K12620

研究課題名(和文) 遺伝子多型を手がかりとする瞬目発生の制御神経機構の解明

研究課題名(英文) Elucidation of neural mechanism of spontaneous blink generation by focusing on gene polymorphism

研究代表者

中野 珠実 (NAKANO, Tamami)

大阪大学・生命機能研究科・准教授

研究者番号：90589201

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：ヒトは眼球湿潤に必要な数の何倍も瞬きをしている。何のために頻回に瞬きをするのか、未だに大きな謎である。本研究は瞬きの頻度の大きな個人差に着目し、遺伝子多型を解析することで、その個人差を生み出す神経機構を明らかにし、さらに、自発性瞬目の機能的役割までも明らかにすることを目標として一連の研究を行った。その結果、ニコチン受容体に関連した遺伝子多型タイプにより瞬目率が異なること、大脳皮質の角回の灰白質の体積の量が瞬目率の個人差と正の相関があることを発見した。さらに、自律神経活動が瞬きに伴い大きく変化することを発見した。

研究成果の概要(英文)：It remains unknown why we generate spontaneous blinks every few seconds, more often than necessary for ocular lubrication. Thus, the present study aimed to reveal a functional role of this spontaneous blinks. By focusing on the gene polymorphism of the nicotinic receptor, we successfully identified the neural mechanisms underlying a large individual difference in the spontaneous blink rate. We found that people who have a transformation from C to T in the CHRNA4 gene, which is related to the nicotinic receptor, generate spontaneous blinks significantly more than people who have no transformation of this gene. In addition, the gray matter volume in the angular gyrus showed a positive correlation with the spontaneous blink rate. Furthermore, the autonomic nervous activity, such as instant heart rate and skin conductance level, showed a transient increase in association with the spontaneous blinks.

研究分野：認知神経科学

キーワード：注意 瞬目 ニコチン受容体

1. 研究開始当初の背景

自発的に生じる瞬きは非常に個人差が大きく、1 分間に数回しかしない人もいれば、40 回を優に超えるような人もいます。ヒトやサルにドパミン作動薬を投与すると瞬目率が急激に上昇することから、瞬目率の個人差は脳内のドパミン機能レベルを反映していると考えられてきた。しかし、瞬目率の個人差と相関するようなドパミン関連の遺伝子多型はこれまでひとつもみつかっていない。そこで研究代表者は、「煙草を吸うと瞬目率が上昇した」という 80 年程前の 1 例報告に着目した(Ponder&Kennedy,1928)。ニコチン依存症という病気が示すように、ニコチンは中脳ドパミン神経のプレシナプスであるニコチン性アセチルコリン受容体(ニコチン受容体)に結合し、ドパミンの放出を引き起こす。つまり、これまで報告されていたドパミン濃度と瞬目率の相関は二次的な現象であり、実はニコチン受容体を介した脳幹の脚橋被蓋核から中脳ドパミン細胞へのコリン伝達系が瞬目の発生を制御しているのではないだろうか。本研究では、この自発性瞬目の発生制御神経機構における「ニコチン受容体仮説」を検証することを目指した。

2. 研究の目的

本研究では、ニコチン受容体の機能の違いが瞬目率の大きな個人差を生み出しているか、を明らかにするために、ニコチン受容体をコードしている遺伝子の多型タイプと瞬目率の個人差の相関を調べる。つぎに、瞬目発生に伴う脳幹の神経活動の変化を、機能的核磁気共鳴画像 (fMRI) を用いて調べることで、アセチルコリン伝達系が瞬目の発生制御に果たす役割を明らかにする。さらに、脳の神経細胞の体積の個人差が自発性瞬目率の個人差と相関する部位を同定し、そこが瞬目の発生制御神経機構に関与しているか因果的方法を用いて検証する。さらに、情動や覚醒によって、自発性瞬目率は大きく変化する。この背景には、脳幹を介した自律神経活動と自発性瞬目の発生機構の相互作用関係がある可能性が考えられる。そこで、この仮説を検証するために、自発性瞬目の計測と一緒に、呼吸、心拍、汗腺の活動を計測し、瞬き前後でのこれらの自律神経関係の生体活動に変化が生じるかを調べた。

3. 研究の方法

(1) 実験 1 : ニコチン受容体の遺伝子多型と瞬目率の個人差の相関の検証
ニコチン受容体に関連した遺伝子多型と瞬目率の個人差に有意な相関があるかを明らかにするために、健常な成人から成る大規模集団を対象として、自発性瞬目の頻度を計測する。並行して、被験者の唾液サンプルから DNA を抽出し、ニコチン受容体の膜タンパクである 4 サブユニットをコードしている遺伝子 CHRNA 4 の遺伝子多型タイプを解析し、

両者の相関を調べる。瞬目率は 5 分程度の映像を自由に鑑賞しているとき(注意負荷条件)と、安静にして白い壁をみているとき(安静条件)の 2 条件で計測し、注意負荷の有無により、瞬目率と遺伝子多型の相関に違いがあるかを解析する。CHRNA4 遺伝子はエクソン上に 2 箇所の変位があることが知られている。近傍にある複数の遺伝子の変位の組み合わせをハプロタイプというが、最近はこのハプロタイプの方が 1 箇所の遺伝子変位の有無よりも大きな影響を及ぼすとして着目されている。実際、CHRNA4 のハプロタイプによって、ニコチン依存症のなりやすさが変わるという報告があることから、ハプロタイプによりニコチン受容体の機能が大きく変化する可能性が考えられる。そこで、本研究では、サンガー法を用いて CHRNA 4 上にある 2 箇所の遺伝子多型を解析することで、単独の遺伝子多型だけでなく、ハプロタイプにより瞬目率に違いがあるかも調べる。

(2) 実験 2 : 瞬目の発生に関連している脳幹領域の同定

実験 1 より、ニコチン受容体の活性が自発性の瞬目を引き起こすことが明らかになった場合、そのニコチン受容体を活性化させるアセチルコリンを放出する部位が瞬目の発生制御に関与していると考えられる。脳幹の脚橋被蓋核にはアセチルコリン産生細胞があり、そこから放出されたアセチルコリンが中脳のドパミン産生細胞のニコチン受容体に結合し、ドパミンが大脳基底核に放出される。瞬目率は大脳基底核のドパミン濃度と相関があることから、脚橋被蓋核 中脳 大脳基底核の神経ネットワークが瞬目の発生を司っている可能性が高い。そこで、本研究では、脚橋被蓋核に焦点を当て、その領域の神経活動が瞬目の発生に関連して増加しているかを調べる。具体的には、機能的核磁気共鳴画像法 (fMRI) を用いて映像を観察しているときの皮質下の脳の血流変化を計測し、並行して近赤外光カメラにより自発的に生じた瞬目のタイミングを解析する。そして瞬目のタイミングに揃えたときに、脳幹の血流が一過性に上昇しているかを明らかにする。

(3) 実験 3 : 瞬目の発生の個人差と相関する脳領域の同定

さらに、瞬目率の個人差と相関して脳の容積が変化している領域があるか、という全く別のアプローチから、瞬きの個人差を生み出す神経機構を明らかにすることにした。具体的には、健常な成人の脳の構造画像を MRI を用いて撮像し、正規化したあと、1 mm ボクセルごとの灰白質の体積を各被験者ごとに算出する (VBM 法)。さらに、映像を自由に視聴している状態での瞬きを計測することで、各個人の瞬目率を算出する。そして、瞬目率の個人差と、ボクセル内の体積が正あるいは負の相関する領域を同定する。

次に、この同定された脳の領域が本当に瞬きの発生に関与しているかを因果的に検証するために、経頭蓋時期刺激 (TMS) 法を用いて、同定された領域にシータバーストを 40 秒間繰り返し置き換え刺激するという刺激方法で一過性にその領域の活動を低下させ、そのときの瞬目率の変化を調べる。さらに、コントロール条件として、TMS のコイルを回転させて、実際には刺激が加わらない条件 (シャム刺激) でも刺激を行い、その時の瞬目率の変化と比較した。

(4) 実験 4: 自律神経の活動と自発性瞬目の関連の解明

自律神経活動は、大脳皮質からの入力を受けて、視床下部を經由して脳幹で制御されている。瞬きの発生も大脳皮質からの入力が脳幹に伝わることで生じる。瞬きが情動や覚醒によって発生パターンが変化するのは、大脳皮質あるいは皮質下のどこかで、両神経機構がインタラクトしている可能性が考えられる。そこで、長時間、映像や朗読を視聴しているときの自発性瞬目活動と自律神経活動 (呼吸、心拍、汗腺) を同時にモニタリングし、瞬きの発生をイベントのトリガーに設定して、瞬時心拍数や皮膚電気抵抗、呼吸率の時間的な変化を解析した。さらに、瞬きに伴う、光の ON/OFF がこれらの自律神経活動に影響を与えている可能性も考えられるため、暗闇の中で朗読音声を聞いているときの状態でも、同様の計測を行い比較を行った。また、随意的に瞬きを行った場合とも比較することで、脳のどのレベルで自律神経機構と瞬目制御神経機構がインタラクトしているかを同定するように試みた。

4. 研究成果

(1) 実験 1: ニコチン受容体の遺伝子多型と瞬目率の個人差の関連の検証

健康な成人 104 名の唾液あるいは頬の内側のサンプルを収集し、ニコチン性アセチルコリン受容体 4 2 をコードしている CHRNA4 という領域の遺伝子多型のタイプを調べた。同時に、8 分間の映像視聴時の瞬目率を計測した。104 名のうち、およそ半数は遺伝子変異が生じていなかったが、残りは、C が T に 1 つないし 2 つ置換していた。この割合は、アジア人の一般的な分布とほぼ同じであった。さらに、遺伝子多型タイプ別に瞬目率を比較したところ、C->T 置換がある群は、置換のない群に比べて 2 割も瞬きの発生頻度が有意に高くなっていた。アセチルコリン受容体は、注意・覚醒と深い関係のある神経伝達機構であり、また、黒質のドーパミン細胞のプレシナプス受容体である。これまでドーパミンが自発性瞬目の発生と深い関係があることが指摘されてきたが、本研究により、実はドーパミンではなく、アセチルコリンへの感受性の違いが瞬きの発生頻度を大きく変えるという新しい知見を得ることが

できた。上記の発見を英語論文にまとめて、国際誌に発表した。(Nakano et al., 2015 Sci. Rep)

この発見に基づき、ニコチンガム摂取により、瞬きの頻度に変化がでるかを調べたが、投与量が少なかったため、大きな影響は生じなかった。しかし、投与量を多くすると、副作用が大きくなるため、ヒトへの投与は困難であることが分かった。そこで、日常的に喫煙をしている人を対象に、喫煙前後での瞬目率の変化を調べた。その結果、一部の人では、喫煙後に瞬きが増加する傾向がみられた。しかし、個人差が大きく、統計的に有意差は認められなかった。

(2) 実験 2: 瞬目の発生に関連している脳幹領域の同定

皮質下、小脳、大脳基底核のあたりに焦点を当てて、fMRI を用いて、瞬きに応じた活動変化を示す領域を調べたところ、両側の海馬ならびに、小脳、眼窩前頭皮質、線条体、尾状核で瞬きに応じて活動の上昇が生じることが分かった。しかし、アセチルコリンが関係する脚橋被蓋核の活動の変化をとらえることはできなかった。

(3) 実験 3: 瞬目の発生の個人差と関連する脳領域の同定

瞬きの個人差と関連して脳の容積が変化している領域があるか、という全く別のアプローチから、瞬きの個人差を生み出す神経機構を明らかにすることにした。具体的には、54 名の健康な成人の脳の構造画像を MRI を用いて撮像し、さらに、映像を見ているときの瞬きの頻度も計測した。その結果、右の角回が瞬きの頻度の高い人ほど、灰白質の量が多いことを発見した。さらに、その領域を TMS を用いて阻害したところ、瞬きの頻度が低下することを示した。一方、シャム刺激のコントロール条件では、TMS による瞬目率の低下は生じなかったことから、右の角回が瞬目率の発生制御に深く関係していることが示唆される。上記の発見を英語論文にまとめて、国際誌に発表した。(Nakano, 2016, Cortex)

(4) 実験 4: 自律神経の活動と自発性瞬目の関連の解明

瞬きに加えて、心拍・呼吸・汗腺などの生体情報を同時に計測することで、自律神経の活動が瞬きの前後でどう変化しているかを調べる研究を行った。まず最初に、25 名の被験者を対象に、映像を自然な状態で見ている時の瞬きに応じて、瞬時心拍数がどのように変化するかを調べたところ、瞬き直後の数秒間の間、一時的に心拍数が有意に増加するという現象を発見した。そこで、映像ではなく朗読音声を聞いている時や安静状態でも同様の現象を

生じるかを調べたところ、やはり瞬き直後に心拍数の増加がみられたが、呼吸活動に変動は生じていなかった。さらに、暗闇の中で朗読を聴いてもらっても、同様の現象が生じることを確認した。つまり、瞬きに伴う視覚入力の変化がこのような現象を引き起こしているわけではないのである。さらに、汗腺の活動も瞬き直後に上昇をしたことから、自律神経の中でも、副交感神経ではなく、交感神経の活動がこの心拍数上昇のトリガーとなっていると推測される。上記の発見を英語論文にまとめて、国際誌に発表した。(Nakano & Kuriyama, International Journal of Psychophysiology 2017)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計7件)

Tamami Nakano, Chiho Kuriyama, Transient heart rate acceleration in association with spontaneous eyeblinks, International Journal of Psychophysiology, 査読有、121 巻、2017、56-62、DOI:10.1016/j.ijpsycho.2017.09.003

Mrinmoy Chakrabarty, Tamami Nakano, Shigeru Kitazawa, Short-latency allocentric control of saccadic eye movements, Journal of Neurophysiology, 査読有、117 巻、2017、376-387 DOI:10.1152/jn.00451.2016

Tamami Nakano, The Right Angular Gyrus Controls Spontaneous Eyeblink Rate: A Combined Structural MRI and TMS study, Cortex, 査読有、88 巻、2017、186-191 DOI:10.1016/j.cortex/2016.12.0.22

Kyohei Tatsukawa, Tamami Nakano, Hiroshi Ishiguro, Yuichiro Yoshikawa Eyeblink Synchrony in Multimodal Human-Android Interaction, Scientific Reports, 査読有、6 巻、2016、39718 DOI:10.1038/srep39718

Richard Wiseman, Tamami Nakano Blink and you 'll miss it: the role of blinking in the perception of magic tricks, PeerJ, 査読有、E1873、2015、1873 DOI:10.7717/peerj.1873

Tamami Nakano, Chiho Kuriyama, Toshiyuki Himichi, Michio Nomura, Association of a nicotinic receptor gene polymorphism with spontaneous

eyeblink rates, Scientific Reports, 査読有、5 巻、2015、8658 DOI:10.1038/srep08658

Tamami Nakano, Blink-related dynamic switching between internal and external orienting networks while viewing videos, Neuroscience Research, 査読有、96 巻、2015、54-58、DOI: 10.1016/j.neures.2015.02.010.

〔学会発表〕(計1件)

中野 珠実、The Neural mechanisms underlying interpersonal blink synchrony, 日本神経科学学会、2016 年 7 月 22 日、パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計2件)

名称:瞬きに基づく関心率の測定システム
発明者:中野 珠実
権利者:国立研究開発法人科学技術振興機構
種類:特許
番号:特許願 2018-055033
出願年月日:2018 年 3 月 22 日
国内外の別:国内

名称:瞬き制御によるコミュニケーション促進
発明者:中野 珠実
権利者:国立研究開発法人科学技術振興機構
種類:特許
番号:特許願 2018-055034
出願年月日:2018 年 3 月 22 日
国内外の別:国内

〔その他〕

・新聞報道
「教えて!理科シロ博士」特集記事、読売新聞、2017 年 10 月 13 日

「映像に句読点、脳をリセット」朝日新聞 2016 年 9 月 10 日朝刊

「An auditory component to autism」米雑誌 Scientific American, 2016 年 9 月 1 日

「まばたきに、脳に休息効果」日本経済新聞 2016 年 6 月 12 日朝刊

「手品トリック、いつ仕込んでいる?」朝

日新聞 2016 年 4 月 5 日朝刊

「Magicians trick you in the blink of an eye」英新聞 The Times, 2016 年 4 月 5 日

「ニコチン依存症体質 まばたき回数で推測」日本経済新聞 2015 年 3 月 3 日

「まばたきでニコチン依存症体質判明」NHK 放送 関西ニュース 2015 年 3 月 3 日

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

中野 珠実 (NAKANO, Tamami)
大阪大学・生命機能研究科・准教授
研究者番号 : 90589201