

令和 4 年 6 月 7 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K06937

研究課題名(和文) 随意性急速眼球運動系における選択的経路遮断による小脳運動制御機構の解明

研究課題名(英文) Analysis of the neural circuit for cerebellar motor control in the saccadic system

研究代表者

高橋 真有 (Takahashi, Mayu)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・講師(キャリアアップ)

研究者番号：50581344

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：両側上丘(中脳にあるサッケードの中枢)から小脳虫部VII葉の眼球運動関連領域への入力路を同定したが、この部位は、小脳のzebrinの縦縞模様(+)(AldolaseC(+))の領域と一致しており、対側の下オリブ核内側副核(MAO)から登上線維入力を受けていた。また、視覚誘導性サッケードを訓練するためのシステム(Rex Systemを導入)を構築しさらにNewRexシステムへの改良を行った。アイコイルを用いたサッケード計測ではなく、回旋運動を含めた眼球運動を記録解析するため、高速赤外線ビデオカメラ(500Hz sampling)を用いた計測法を新たに開発した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

めまい疾患(眼振を有する)の病態解明において、眼球運動の中枢神経回路の解明は不可欠である。ヒトに近いサルにおいて、水平・垂直・回旋の三次元眼球運動をカメラによって計測し、正確に解析する必要があるため、そのための計測システム、解析プログラムの開発を行った。

また、小脳による眼球運動制御メカニズムは、未解明の部分が多いが、その一端を解明した。

研究成果の概要(英文)：We determined the input pathways from the bilateral superior colliculi to the oculomotor region in the vermis, lobule VII, in the cerebellum. This region was Aldolase C positive and received the climbing fiber inputs from the contralateral inferior olive (medial accessory olive).

We developed the new device for measuring and analyzing the torsional component of eye movements in monkeys using high speed infrared camera.

研究分野：神経生理学

キーワード：サッケード 小脳 上丘 回旋

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

小脳運動制御では、時々刻々に働く on-line 制御と、より長い時間単位で働く適応制御(運動学習)が知られ、これまで前庭動眼反射系での小脳適応制御の神経機構が詳しく解析されてきた。小脳患者では、随意運動時に正確で滑らかな運動が障害されるが、随意運動は生後長い間にわたる適応制御系による運動学習の結果、正確な運動が行えるように「on-line 制御回路」のパラメーターが適切に調整(scaling)されている。それ故成体では、この出来上がった小脳を含む「on-line 制御系」が適切に働き、運動制御が行われている。運動学習の研究は盛んに行われてきたが、この「on-line 制御回路」の解析が十分でなかったことが、小脳研究の一つの問題点である。教科書や総説では、小脳運動制御回路は解明済みのように記述されているが、随意性四肢・眼球運動では、神経回路とその動作原理は、未だに解っていない。

2. 研究の目的

本研究は、小脳による随意性運動制御の神経機構を明らかにするため、視覚誘導性サッケードを訓練したサルで、我々がこれまでネコ・サルを用いた電気生理及び解剖学的実験によって同定した小脳入出力回路に沿って、電気生理学的方法とウィルスベクターによる選択的経路遮断実験を組み合わせ、制御信号の小脳内の流れと役割を明らかにし、小脳の随意運動制御の動作原理を解明することを目的とした。また、サルの虹彩紋理はヒトよりも曖昧なため、ヒトで用いられているカメラシステムによる回旋性眼球運動の計測法はサルではうまく使えないのが現状である。従来のコイルシステムは、眼窩内にコイルを埋め込むため侵襲が非常に大きく、またノイズが入るため神経活動の同時記録には適さず、機械そのものも市販されなくなっている。そのため、サルにおけるカメラシステムを用いた回旋性眼球運動の計測法の開発を目指した。

3. 研究の方法

2頭の視覚誘導性サッケードを訓練したサルで、無菌下の手術で、上丘の電気刺激用と、虫部の記録用チェンバーを頭蓋に植え、以下の実験を行う。上丘同定のため微小電流刺激を行い、サッケードを誘発する部位に刺激電極を固定する。記録タングステン電極を背側から虫部第VII小葉の眼球運動領域に刺入し、記録を行う。左右上丘からの入力様式を解析し、その細胞のサッケード遂行時の spike 活動のタイミングを解析する。

また、iRec video システム(産総研・松田氏の計測系)を用いて眼球運動を測定し、得られた video 画像をオフラインで三次元(水平・垂直・回旋)解析を正確に行うためのプログラムを開発するため、モニター前においたチェアにサルを座らせ、Rex システム(NIH Eye Institute 作成)により視覚誘導性サッケードの視標を表示し、視覚刺激を行う。赤外線ライトを十分にあて、明るさを保ち、ノイズが最小限になるよう工夫した。

4. 研究成果

初年度は、2頭のサルに対して、チェアトレーニングを実施すると同時に、視覚誘導性サッケードを訓練するためのシステム(Rex System を導入)を構築して訓練を行った。また、アイ

コイルを用いたサッケード計測ではなく、回旋運動を含めた眼球運動を記録解析するため、高速赤外線ビデオカメラ（500Hz sampling）を用いた計測法を新たに開発した。回旋成分に関しては、On-line の解析は無理なので、Off-line で回旋眼球運動を解析する必要があるため、大容量の画像を高速で記録・保存するためのシステムを構築した。

小脳機能を考えるとき、小脳制御の対象となる運動系の入出力回路の理解が必要不可欠である。これまでの実験データの解析を進め、両側上丘から小脳虫部 VII 葉への入力路を同定したが、この部位は、AldolaseC(+)の領域と一致し、対側 MAO から登上線維入力を受けていた。同定した神経回路の一部に関してまとめ、発表した（Takahashi and Shinoda, Neuroscience, 2020）。小脳内の信号の流れを決めるためには、それぞれの部位からの出力を同定することが必要であり、虫部 VII 葉のプルキニエ細胞は、室頂核後部に投射しており、同上の MAO の終止部と一致し、AldolaseC(+)の核内領域であった。室頂核前部は、AldolaseC(-)であった。次にこの部からの橋・延髄及び中脳への投射標的を同定するための実験を遂行中である。

2年目は、2頭のサルに対するトレーニングを継続して行っていたが、COVID-19 流行による緊急事態宣言の発令により一定期間、トレーニングができず、サルのパフォーマンスが落ちて、一定の成功率を得ることができないため、再トレーニングに取り組んでいるのが現状であった。3次元眼球運動を、埋め込みコイルを用いず、特に回旋運動をビデオで計測するため、2次元で得られたデータを3次元として解析するためのプログラムを作り、解析の精度を上げるために特注の赤外線ライトを導入してノイズを取るなど工夫をして、Listing 平面の SD を減少させるための改良を試みた。また、サルで小脳眼球運動関連領域にトレーサーを注入し、小脳入出力回路に関する急性実験のデータを増やそうと試みたが、染色過程に問題があり十分に染まらなかったが、今後の実験の参考データとして有用な所見が得られた。

小脳による制御を受ける側である脳幹のサッケードジェネレータについて、上丘頭側部領域から入力を受ける脳幹のオムニポーズニューロンと、上丘尾側部領域から入力を受ける抑制性バーストニューロンとの相互抑制の関係を、明らかにした（Takahashi et al., JN 2022）。また、斜行性サッケード生成のメカニズムについて、上丘ニューロンの枝分かれを電気生理学的に解析し、明らかにした。小脳により制御される側の脳幹出力神経回路図をほぼ解明できたと言える。

慢性サル実験の眼球運動制御システム（Rex System）を導入し、極めて優れたシステムで有効であるが、用いることのできるハードが入手不可となってしまうため、新たに代替可能なようにシステム再構築を行なった。ようやく、新しいシステムである、New Rex System の導入に成功した。

また、回旋性眼球運動のビデオによる解析が重要課題であり、3次元眼球運動を、ビデオを用いて計測する上で、特に回旋成分の精度を上げるためにどうするかが問題であった。精度が上がらない原因として、以下の3つが大きな問題点であると考えられた。すなわち、角膜の反射光をはじめとするノイズにより瞳孔中心の同定が不正確である点、瞳孔中心の移動に伴いカメラ上での虹彩紋理の見え方が大きく変化してしまう点、そしてヒトと異なり虹彩紋理のパターンに乏しく明るさの変化に弱い点である。これらの問題点に関して最新の研究をもとに改良を行い、回旋解析の精度の向上に努めている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Mayu Takahashi and Yoshikazu Shinoda	4. 巻 in press
2. 論文標題 Neural Circuits of Inputs and Outputs of the Cerebellar Cortex and Nuclei	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neuroscience	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neuroscience.2020.07.051	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Mayu Takahashi, Yoshikazu Shinoda	4. 巻 in press
2. 論文標題 Neural Circuits of Inputs and Outputs of the Cerebellar Cortex and Nuclei	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neuroscience	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Mayu Takahashi	4. 巻 249
2. 論文標題 Morphological and electrophysiological characteristics of the commissural system in the superior colliculi for control of eye movements	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Progress in Brain Research	6. 最初と最後の頁 105-115
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/bs.pbr.2019.04.027	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yoshikazu Shinoda, Mayu Takahashi, Yuriko Sugiuchi	4. 巻 249
2. 論文標題 Brainstem neural circuits for fixation and generation of saccadic eye movements	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Progress in Brain Research	6. 最初と最後の頁 95-104
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/bs.pbr.2019.04.007	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 高橋真有	4. 巻 37
2. 論文標題 眼球運動系と小脳	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Clinical Neuroscience	6. 最初と最後の頁 953-957
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計8件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 高橋真有
2. 発表標題 サッケードとVORの共通座標 (教育講演)
3. 学会等名 第58回日本神経眼科学会総会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 高橋真有、杉内友理子、篠田義一
2. 発表標題 水平性サッケードの開始と維持に関わる脳幹神経回路
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Mayu Takahashi
2. 発表標題 Common coordinate of eye movements shared by saccadic and vestibulooculomotor systems
3. 学会等名 第97回日本生理学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Mayu Takahashi
2. 発表標題 Frame of reference for saccadic eye movements
3. 学会等名 第42回日本神経科学大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高橋真有
2. 発表標題 垂直性眼球運動の神経経路とサッケード眼球運動の座標系
3. 学会等名 第78回日本めまい平衡医学会総会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高橋真有
2. 発表標題 サッケードの座標系について
3. 学会等名 第57回日本神経眼科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mayu Takahashi
2. 発表標題 Brainstem neural circuits of horizontal and vertical saccadic eye movements and their relation to quick phases of vestibular nystagmus
3. 学会等名 第46回国際平衡神経科学会総会（NES）（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mayu Takahashi
2. 発表標題 Brainstem Neural circuits for saccadic eye movements and their frame of reference
3. 学会等名 Neural Control of Movement (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関