

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 15 日現在

機関番号：74415

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2011

課題番号：22700422

研究課題名（和文）

可逆的神経伝達阻止法による小脳運動学習機構の解析と解明

研究課題名（英文）

Analysis of Cerebellar Motor Learning by Reversal Neurotransmission Blocking Technique

研究代表者

和田 教男 (WADA NORIO)

(財)大阪バイオサイエンス研究所 システムズ生物学部門・研究員

研究者番号：90525958

研究成果の概要（和文）：運動学習の獲得・維持・表出の各過程における小脳皮質・その投射先である前庭核の役割を調べた。皮質から前庭核への情報伝達を遮断すると、学習スコアは上昇していかなかった。しかし情報伝達を回復させて再学習させると、学習スコアは高かった。反対に、情報伝達遮断前に学習を誘導し、その後情報遮断後に再学習を測定してみると、情報伝達を遮断しているにもかかわらず学習スコアは高かった。以上より、運動学習の表出には皮質は必要だが、一旦皮質が機能して運動学習を獲得・表出してしまうと皮質は必要でないことが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：To explore the mechanism of acquisition, retention and expression of motor learning, we investigated roles of the cerebellar cortex and the vestibular nuclei which receive information from the cerebellar cortex. When information transmission from the cerebellar cortex to the vestibular nuclei was blocked, score of motor learning was low. However, when the information transmission was recovered at the second learning test, the score was high. On the contrary, after inducing the motor learning at the first learning test of normal information transmission, the score remained high at the second learning test of blocked information transmission. These results suggest that the cerebellar cortex is necessary for expression of motor learning but not necessary for expression after establishment of the motor learning.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,900,000	870,000	3,770,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：脳神経科学・神経・筋肉生理学

キーワード：眼球運動 小脳顆粒細胞 プルキンエ細胞 小脳運動学習 前庭核

1. 研究開始当初の背景

(1) 小脳機能を評価する測定系として、反射性眼球運動が挙げられる。反射性眼球運動に

は、視刺激の動きを追従する視運動性反応 (OKR) と頭部回転が加えられたときに回転方向と逆に眼球を動かす前庭動眼反射 (VOR) と

反射性眼球測定系は反射という単純な運動であるため、入力である刺激と出力である眼球運動を定量的に測定することができる。

(2) 個体に数十分から数時間の視運動性刺激を与え続けると、平行線維と登上線維からの信号が前庭核とプルキンエ細胞に同時に入力し、次第に OKR のゲイン（刺激速度に対する眼球運動速度の比）増加が誘導され、小脳運動学習のモデルとなっている (Ito M, *Physiol Rev*, 2001)。VOR・OKR のゲイン変化は、翌日には消失するが(短期学習)。動物を暗室内で飼育しながら毎日刺激を行うと、さらに OKR のゲインがぞうかする(長期学習)。この現象は、「学習記憶の誘導と保持」として研究対象となり、短期学習における小脳皮質内の可塑性の変化によって「獲得」した記憶が投射先である前庭核へ移動した結果であると提唱されていた (Shutoh et al., *Neuroscience*, 2006)。しかし短期学習が不可能なミュータントでも長期学習は可能であること (Alphan et al., *Eur J. Neurosci*, 2002) から、小脳皮質、前庭核の獲得・保持・表出に関する役割は不明である。

2. 研究の目的

(1) これまでに申請者は、新しく可逆的神経伝達阻止 (Reversible Neurotransmission-blocking RNB)法を開発し (Yamamoto et al., *J. Neurosci*, 2003)、小脳学習機能を解析してきた。RNB マウスは、登上線維からの信号は変化せず、平行線維からのプルキンエ細胞への神経伝達のみを可逆的に遮断・回復できるマウスである (図 1)。

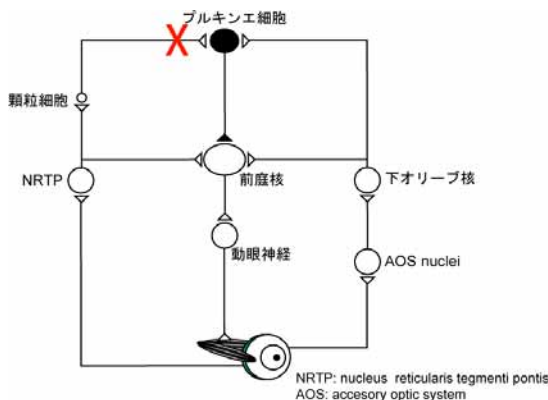


図 1 RNB マウスにおける OKR 回路

ゆえに、VOR・OKR 刺激においては、網膜誤差信号はプルキンエ細胞に伝達されていると考えられる。したがって、RNB マウスの遮断前(これは野生型マウスと同様の結果が予想される)、遮断中、回復後のそれぞれの状態から小脳プルキンエ細胞活動、VOR・OKR 刺激による眼球運動調節過程を観察することにより、プルキンエ細胞での情報処理、

運動学習における小脳皮質と前庭核の役割・機能についての知見が得られると予想される。

(2) 反射性眼球運動は、行動を環境変化に応じて変化させるための神経機構を探る上では優れた実験系であると考えている。従って、本研究から得られる知見は環境に応じて起こる行動変化の背景の神経機構に関して明快な具体例を示しうると考える。さらに RNB マウスを利用した本申請研究は独自に開発したもので、国際的に見ても独自性の高い成果が期待される。

3. 研究の方法

(1) OKR 測定は、図 1 の様にセットアップした。回転台 (図 2 A)・スクリーン (図 2 B) の刺激はコンピュータで制御した。赤外線 LED で眼球を照らし、CCD カメラでコンピュータに取り込んで眼球速度を計算した (図 2 C)。in vivo 神経活動を記録できるように電極を設置した (図 2 D)。マウスは、頭部にヘッドポストを留置し、計測器具に頭部を固定した (図 2 E)。

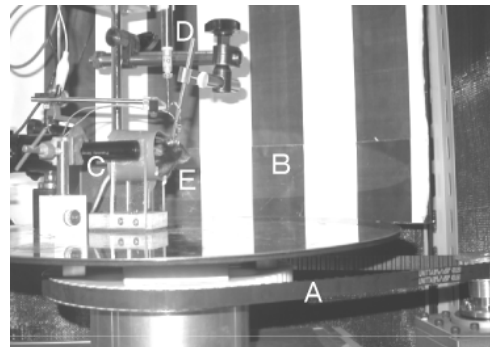


図 2 眼球運動及び神経活動測定装置

(2) 申請者が開発した可逆的神経伝達阻止 (RNB) マウスを用いて、OKR 学習と神経伝達との関係を測定した。遮断時、回復時の各条件下で OKR 学習を測定した。

神経情報伝達の遮断にはドキシサイクリン入の飼料・飲料水を与え、回復には通常飼料・飲料水を用いた。

5° 幅の白黒のストライプ模様を OKR 刺激として使用した。運動学習の誘導のために最大スクリーン速度 18°/秒、0.2Hz のサイン波刺激を 1 時間与え、それを 5 日間繰り返した。1 時間の刺激が終了するとすぐにマウスを暗室に入れ、暗室内で飼育した。

4. 研究成果

(1) 様々な速度・周波数のサイン波刺激に対しての眼球運動を測定し、基本となる OKR ダイナミクスを測定したところ、情報伝達遮断

中のRNBマウスは OKR ダイナミクスが野生型マウスと変化がないという結果を得た(図3)

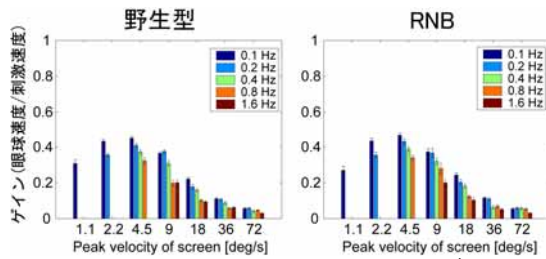


図3 神経伝達遮断下における OKR ダイナミクス

即ち運動学習を伴わない視運動性反射の伝達機構は維持されている事が示された。

(2)OKR 学習に関しては、スクリーン刺激を一時間与え続ける事で短期ゲインの変化(短期学習)を、さらに5日間暗室飼育しながら長期ゲイン変化(長期学習)を観察したところ、遮断中は RNB マウスは短期・長期 OKR ゲイン変化が誘導されず、伝達の回復後の再学習においては、高いゲインを示す、という結果を得た(図4)。

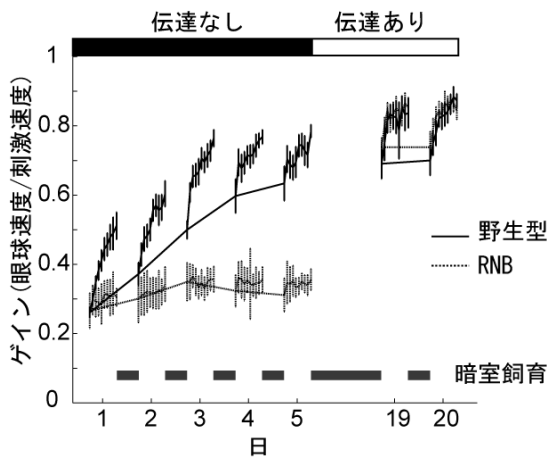


図4 遮断中・回復後における OKR 長期学習

また、20日の1時間のOKR学習刺激後に、様々な速度・周波数にのサイン波刺激に対するOKRダイナミクスを測定したところ、野生型と同等であり、正常な学習が成立していることが示された(図5)。

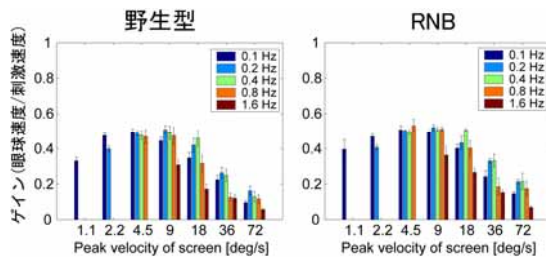


図5 20日後における OKR ダイナミクス

従って顆粒細胞からの伝達が短期及び長期の学習の表出に必須であるが、獲得と保持は機能している事が明らかにされた。

(3)今度は、まず遮断前に5日間のOKR長期学習を誘導し、その後暗室内で14日間飼育しながら神経伝達を遮断した後に再びゲインを測定した。その結果、RNBマウスのゲインは神経伝達を遮断しているにもかかわらず、野生型マウスと同様に高いゲインを示した(図6)。

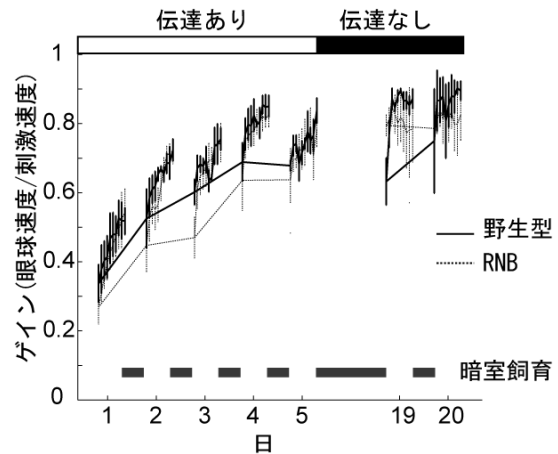


図6 遮断前・遮断後における OKR 長期学習

このことから、5日間の長期学習により前庭核でも可塑性が誘導され、その可塑性が誘導されると、OKRのゲイン変化には顆粒細胞からの神経伝達は必要ないことが明らかとなった。

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1件)

足田貴俊、木村健介、和田教男、船曳和雄、中西重忠、

Distinct Roles of Synaptic Transmission in Direct and Indirect Striatal Pathways to Reward and Aversive Behavior. *Neuron*, 査読有、66巻、2011、896 - 907

<http://www.cell.com/neuron/retrieve/pii/S089662731000379X>

〔学会発表〕(計0件)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕
出願状況(計0件)

名称:

発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

和田 教男 (WADA NORIO)
(財)大阪バイオサイエンス研究所 シス
テムズ生物学部門・研究員
研究者番号：90525958

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：