

学位論文題名

覚醒ネコ一側小脳片葉の化学的不活性化による眼球運動障害

学位論文内容の要旨

視覚入力を適切に取り込むために脳が使う眼球運動サブシステムの一つに前庭眼反射 (Vestibulo-ocular reflex, 以下 VOR) がある。頭部の運動は、その方向の運動加速度が半規管や耳石器により検出されるが、これら前庭信号を伝える前庭一次神経線維は、頭部の運動速度にほぼ対応した信号を中枢に伝える。この速度信号が最終的に眼窩内の眼球位置に変換されるので、VOR には前庭速度信号を眼球位置信号に数学的に積分する中枢機構があると解釈され、この機構は前庭積分器と呼ばれた。さらに、この積分器は、両眼を共同的に動かす眼球運動サブシステム全てに共通であると考え、共通積分器と呼ばれた。これまでの研究で、垂直半規管からの信号変換には、垂直共通積分器がある Cajal 間質核と前庭神経核の交連性抑制回路が必要であると解釈されてきたが、小脳片葉がこの信号変換に関与する可能性も示唆されている。しかし、水平眼球運動系実験では、小脳片葉から記録された細胞の大部分は視線速度 Purkinje 細胞と呼ばれ、視線 (空間内眼球運動) の変化を伴わない VOR では応答しないため、小脳片葉は VOR ではあまり機能していないと解釈されてきた。これに対し、Fukushima らは、垂直系では小脳片葉 Purkinje 細胞は垂直半規管入力を受け、垂直 VOR の際に応答することを報告し、さらに、視運動眼球運動の際にも応答することから、小脳片葉が垂直半規管と視覚入力の時間的信号変換に関わる可能性を示唆した。

垂直眼球運動の神経積分機能における小脳片葉の役割を更に解明するためには、この領域の神経細胞体の不活性化により、どのような機能廃絶を起こすかを調べる必要がある。また、眼球運動は 3 対の外眼筋の働きにより行われるが、このうち垂直眼球運動に関わる上下斜筋と上下直筋はいずれも回旋成分をもつため、小脳片葉の回旋成分制御の理解は眼球運動を正しく理解するために必須になる。このため、本実験では、垂直回転刺激と視運動刺激に応答する Purkinje 細胞を、覚醒ネコの小脳片葉から記録し、それら応答領域に GABA 作動薬である muscimol を微量注入した。そして、垂直 VOR に関係する領域の神経細胞体のみを化学的に不活性化し、注入後に起こる眼球運動障害と眼球の回旋について調べた。

垂直 VOR および視運動性刺激時の Purkinje 細胞活動を記録した結果、大多数の細胞は、上向き回転および下向き視運動刺激に応答し、結果的に誘発された下向き眼球運動の速度と関係していた。ウサギやラットを用いた水平眼球運動系では、Purkinje 細胞は前庭入力と retinal slip 入力に応答すると報告されてきた。しかしながら、今回の実験では、

レーザー視標と共に視運動刺激を与えた時には、刺激に応答した規則的な細胞発射を認め、レーザー視標を静止させ眼球が静止している時には、視運動刺激を与えているにも関わらず、視運動刺激に応答する規則的な発射は消失した。これらは、正弦波状の垂直視運動刺激によって誘発された細胞応答が、retinal slip のような視覚入力単独では起こらず、むしろ結果として起こる垂直眼球運動に関係していることが示唆された。さらに細胞発射頻度と最大眼球速度の関係がほぼ正の相関を示したことは、この考えと矛盾しなかった。

その領域への GABA 作動薬 muscimol の注入によって、VOR 時および視運動刺激時の下向きの眼球運動障害と自発性衝動性眼球運動時の下向きの眼位保持障害を認めた。上向き回転刺激に応答した小脳片葉領域への muscimol の注入は、VOR および視運動性眼球運動時の下向きの眼球運動障害と、下向きの自発性衝動性眼球運動後の眼位保持障害をもたらした。VOR および視運動性眼球運動時の下向き成分の障害の原因が、上向きの drift 成分の加算によってもたらされている可能性については、上向きの drift の影響が少ない 20° 以上の上向き眼位で VOR の眼球運動速度の度数分布を調べた結果、眼位によらず非対称となったため、上向き drift 成分だけで下向きの眼球障害を説明することはできなかった。今回の小脳片葉不活性化による衝動性眼球運動の時定数 0.7 秒は、正常値より著しく短く、垂直積分器障害時の時定数の値に近似していることより、今回記録された小脳片葉領域もまた垂直系積分回路に組み込まれている可能性が示唆された。

さらに、上向き回転刺激に応答した小脳片葉領域への muscimol の注入により、2頭のネコに注入側の有意な内旋も認められた。これは、垂直眼球運動に関係する小脳片葉領域の不活性化が、回旋眼位にも影響を及ぼしたことを示す。Cajal 間質核および小脳片葉が正常に機能しているときには、Listing の法則により回旋障害は起こらないので、Listing の法則の維持に、少なくとも Cajal 間質核と小脳片葉が必要であることが確認された。さらに、Cajal 間質核が障害されたときと同様に、小脳片葉の障害により眼球の回旋異常を認めたことから、小脳片葉は Cajal 間質核とともに、回旋性眼球運動の神経積分回路に組み込まれている可能性が示唆された。

以上の結果から、小脳片葉は、垂直 VOR および視運動性眼球運動の下向き眼球運動時の速度信号の形成と眼位保持、そして回旋性眼球運動の眼位保持に重要な役割を果たしていることが示唆された。これまでの覚醒サルの研究では、片葉と腹側傍片葉の両側の外科的障害により、注視麻痺、滑動性眼球運動障害、前庭眼反射障害、下向性眼振などが報告されているものの、回旋異常に関しては全く検討されておらず、報告もない。今後、霊長類であるサルで同様な実験を行い、小脳片葉の機能を明らかにする必要がある。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 松 田 英 彦
副 査 教 授 田 代 邦 雄
副 査 教 授 福 島 菊 郎

学 位 論 文 題 名

覚醒ネコ一側小脳片葉の化学的不活性化による眼球運動障害

前庭眼反射（以下VOR）は、頭部の運動加速度を半規管や耳石器が検出し、前庭速度信号から最終的に眼窩内眼球位置信号に変換する。これまでの研究では、垂直半規管からの信号変換には、垂直共通積分器があるCajal間質核と前庭神経核の交連性抑制回路が必要であると解釈されてきたが、小脳片葉がこの信号変換に関与する可能性が示唆されている。さらに最近の垂直系実験では、小脳片葉Purkinje細胞が垂直半規管入力を受け、垂直VORおよび視運動眼球運動の際にも応答することから、小脳片葉が垂直半規管と視覚入力の時間的信号変換に関わる可能性も示唆されている。本実験では、垂直回転刺激と視運動刺激に応答した小脳片葉領域にGABA作動薬であるmuscimolを微量注入し、この領域の神経細胞体を不活性化してどのような機能廃絶を起こすかを記録し、垂直眼球運動の時間的信号変換（神経積分機能）における小脳片葉の役割を調べた。

垂直VORおよび視運動性刺激時の小脳片葉Purkinje細胞活動を記録した結果、大多数の細胞は、上向き回転および下向き視運動刺激に応答し、結果的に誘発された下向き眼球運動の速度と関係していた。ウサギやラットを用いた水平眼球運動系では、Purkinje細胞は前庭入力とretinal slip入力に応答すると報告されてきた。しかしながら、今回の実験では、レーザー視標と共に視運動刺激を与えた時には、刺激に応答した規則的な細胞発射を認め、レーザー視標を静止させ眼球が静止している時には、視運動刺激を与えているにも関わらず、視運動刺激に応答する規則的な発射は消失した。これらは、正弦波状の垂直視運動刺激によって誘発された細胞応答が、retinal slipのような視覚入力単独では起こらず、むしろ、結果として起こる垂直眼球運動に関係していることを示唆した。

上向き回転および下向き視運動刺激に応答した領域へのmuscimolの注入によって、VOR時および視運動刺激時の下向き眼球運動障害と暗室下の下向き自発性衝動性眼球運動後の眼位保持障害を認めた。VORおよび視運動性眼球運動時の下向き速度成分の障害の原因が、上向きのdrift成分の加算によってもたらされている可能性については、上向

きdriftの影響が少ない 20° 以上の上向き眼位でのVOR眼球運動速度分布と比較検討した。その結果、統計学的に有意差は認められず、上向きdrift成分だけで下向き眼球運動障害を説明することはできなかった。今回の小脳片葉不活性化による衝動性眼球運動の時定数0.7秒は、正常値20秒より著しく短く、垂直積分器障害時の時定数に近似していた。さらに、上向き回転刺激に応答した小脳片葉領域へのmuscimolの注入により、2頭のネコに注入側の有意な内旋を認めた。これは、垂直眼球運動に関係する小脳片葉領域の不活性化が、回旋眼位にも影響を及ぼしたことを示す。Cajal間質核および小脳片葉が正常に機能しているときには、Listingの法則により回旋障害は起こらないので、Listingの法則の維持に、少なくともCajal間質核と小脳片葉が必要であることが確認された。さらに、Cajal間質核が障害されたときと同様に、小脳片葉の障害により眼球の回旋異常を認めたことから、小脳片葉はCajal間質核とともに、回旋性眼球運動の神経積分回路に組み込まれている可能性が示唆された。以上の結果から、小脳片葉は、垂直VORおよび視運動性眼球運動の下向き眼球運動時の速度信号の形成と眼位保持、そして回旋性眼球運動の眼位保持に必要であることが示された。

学位論文の公開発表に際し、副査の福島菊郎教授から、小脳片葉の不活性化による回旋眼位の異常が注入側と同側眼でのみ有意な内旋を示し、反対側の眼球では注入前と有意差を生じなかったことについて質問があった。申請者は、小脳片葉がより効果器である左右の眼球に対応した信号処理を行っている可能性と有意差が出なかったが対側の外旋も実験数を増やせば有意に出る可能性を述べた。さらに、副査の田代邦雄教授からは、小脳片葉の両側性の不活性化を行った場合に生じる予想結果について質問があり、申請者は、Cajal間質核不活性化実験での結果と同様に、両側不活性化では打ち消されて回旋異常は出ないと推定される旨の回答した。主査の松田英彦教授からは、小脳片葉の左右のアンバランスが生じたときに垂直眼位に与える影響などについて質問があった。申請者は、今回実験では両側の垂直眼位を同時に測定していないので断定できないが、垂直眼位異常が生じた可能性について述べた。申請者はいずれの質問に対しても自己の研究結果ならびに文献による最新の生理的知見をもとに適切な回答を行った。審査員一同は、本研究の成果を高く評価し、また研究者として誠実かつ熱心であり、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。