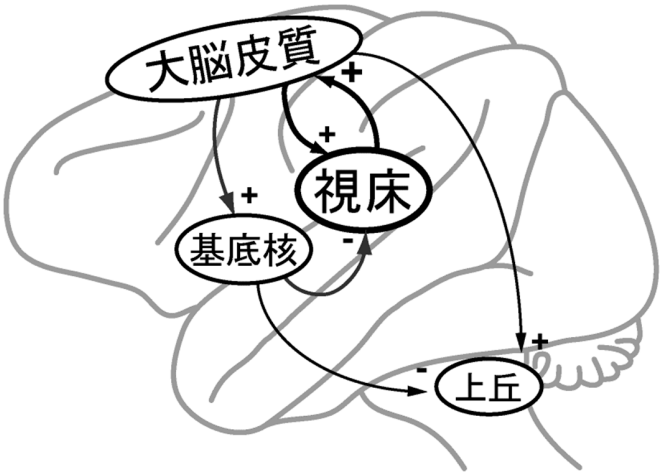
50　霊長類の大脳基底核ループにおける皮質視床路の役割	田中　真樹

【目的】大脳基底核ループの中で視床は単なる中継核とみなされてきた。しかし最近、大脳皮質からの興奮性入力と大脳基底核からの抑制性入力が視床で統合されることが鳥のさえずり学習において重要であることが示唆されている。本研究では、サルの運動性視床でみられる課題関連活動への皮質性入力の関与を光遺伝学の手法を用いて調べる。大脳基底核ループの動作原理の一端を明らかにし、疾患時の病態生理の理解に貢献できる。

【方法】眼球運動課題を訓練したニホンザルの補足眼野に、CMV プロモータ下で光感受性塩素イオンポンプ（ハロロドプシン、NpHR3.0）を発現する順行感染性のアデノ随伴ウイルスベクター（AAV2）を接種した。回復を待って、視床からの神経活動記録を開始した。行動課題としては、視床の関与が示されている時間生成課題を用いた。ベクター接種から約 1 か月後より単一ニューロン活動の記録中に光刺激を行い、皮質からの入力を終末で抑制した際の課題関連活動の変化を調べた。

【結果】多くのニューロンでは、光照射によって課題非関連のベースライン活動に変化を認めなかった。一方、一部のニューロンでは、サッカードに関連した応答に明らかな変化が見られ、運動方向選択的に活動が低下するものや、逆に活動が上昇するものなど様々であった。これらのことから、皮質視床経路は視床におけるゲイン調節に関与していることが示唆された。その詳細を調べるため、複数個体からのデータ収集を進めている。

大脳基底核ループと運動性視床



50. 霊長類の大脳基底核ループにおける皮質視床路の役割

田中　真樹

*北海道大学 大学院医学研究科 神経生理学分野

Key words：光遺伝学，運動性視床，補足眼野，眼球運動，ニホンザル

緒　言

大脳皮質と大脳基底核は視床を介したループ回路を構成し、状況に応じた行動選択や衝動性の抑制、報酬に基づいた強化学習などに関与することが知られている。その障害は、パーキンソン病やジストニアなどの基底核疾患における運動制御の異常、注意欠如多動症や強迫性障害、薬物依存などでみられる衝動性の亢進、さらに最近では統合失調症における意欲や動機づけの低下との関連が示唆されている。

これまで、大脳基底核ループの研究は、皮質線条体投射や基底核内経路の機能解明が強調され、本研究者らも淡蒼球を介した経路の機能解析を行ってきた［1，2］。一方、運動性視床は大脳基底核での処理結果を大脳皮質に伝達する中継路と一般にとらえられており、視床内での積極的な情報処理についてはほとんど知られていない。しかし、一部の鳥類（鳴禽類）では視床の運動信号は大脳からの下行性入力によって形成され、基底核からの抑制性入力が大脳ー視床間の神経活動のタイミング調節を行っている可能性が示唆されているし［3］、哺乳類でも、基底核の出力先である中脳上丘の運動信号は主として大脳からの入力によると考えられている。実際、申請者らはサルの運動性視床から大脳皮質と類似した運動関連応答が記録されることを報告してきたが［4〜6］、それらの信号の生成メカニズムは未だ明らかにされていない。

本研究では、光遺伝学の手法を用いてサルの運動性視床でみられる課題関連活動への大脳皮質入力の関与を調べた。共同研究者から提供を受けた順行感染性のアデノ随伴ウイルスベクター（AAV2）を補足眼野に接種し、ハロロドプシン（NpHR3.0）を発現させた。ハロロドプシンは黄色光で活性化される塩素イオンポンプであり、膜電位を低下させてニューロン活動を一時的に抑制することができる。光量を調節することで、サルの行動を変化させることなく局所回路による脳情報の生成機構を調べることが可能となる。実際、サルが眼球運動課題を行っている際に運動性視床から単一ニューロン活動を記録し、光照射により大脳からの入力を神経終末で遮断したところ、課題関連活動の減弱あるいは増強がみられた。光照射によって課題非関連のベースライン活動にはほとんど変化は見られず、皮質からの入力は視床におけるゲイン調節に関与する可能性が示唆された。

方　法

被験体のニホンザルは文科省バイオリソース計画から入手し、動物の飼養と実験は本学動物委員会および遺伝子組換え実験委員会の事前の承認を得た上で行った。サルは自発的にチェアーに座るように訓練した後、全身麻酔下・無菌的操作によって眼球運動測定用のサーチコイルと頭部固定具をとりつけた。十分に行動課題を訓練した後、穿頭してチャンバーをとりつけ、皮質内微小電気刺激によって補足眼野を同定した。同部に CMV プロモータ下にハロロドプシンと黄色蛍光色素を発現する AAV2 ベクターを注入した。接種部位の近傍に水和マンガンを微量注入し、MRI 撮像によって位置を確認した（図 1）。

金属電極と光ファイバーを束ねた「オプトロード」を自作し、これを運動性視床に刺入して単一神経細胞外記録を行いながら黄色レーザー光の照射を行った。行動課題にはこれまで視床の関与が明らかにされている時間生成課題を用いた（図 2）［5，7］。同課題に応答するニューロンが記録される視床 VL 核、VA 核、CL 核、MD 核を中心に探索し、ランダムに選んだ試行内で持続的に光刺激を行うことで変化する成分を調べた。

*現在の所属：北海道大学 大学院医学研究院 神経生理学教室

実験制御とデータ収集は市販の Tempo システム（Reflective Computing 社）を用い、データ解析は Matlab（Mathworks 社）を用いた。実験終了後は脳組織標本を作製し、視床の記録部位の検索とともに遺伝子発現の確認を行った。生体を用いた実験はすべて北海道大学で行い、ベクターの開発と組織切片の作製は京都大学の共同研究者が担当した。

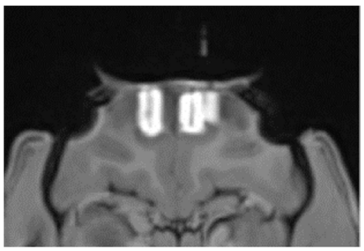


図 1. ベクターの接種部位

ウイルスベクターを接種した補足眼野の近傍に水和マンガンを注入し、直後に MRI 撮像を行った。マンガン注入部位を取り囲むように高信号域がみられる。画像の歪みはチタンネジとチャンバーによるもの。

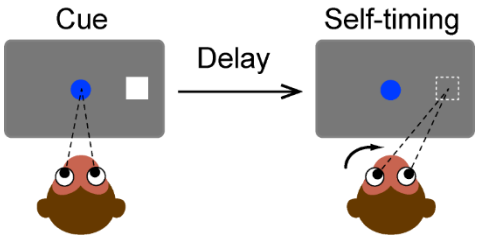


図 2. 時間生成課題

固視中に手がかり刺激を 100 ms 呈示し、1000 ms 後に自発的に記憶誘導性サッカードを行わせた。固視点は運動を開始するまで消えないため、サルは時間経過をモニターする必要がある。

結果および考察

図 3 に光刺激によって課題関連活動を変化させたニューロンの一例を示す。このニューロンは左右両方向のサッカードの最中に活動を上昇させたが、手がかり刺激の直後から 2500 ms にわたって持続的に光照射を行ったところ（青色）、右向きのサッカードでのみ神経活動の減弱が認められた（図 3A）。このような方向選択的な効果は、光照射による非特異的な影響（例えば、一過性の温度上昇）では説明できない。

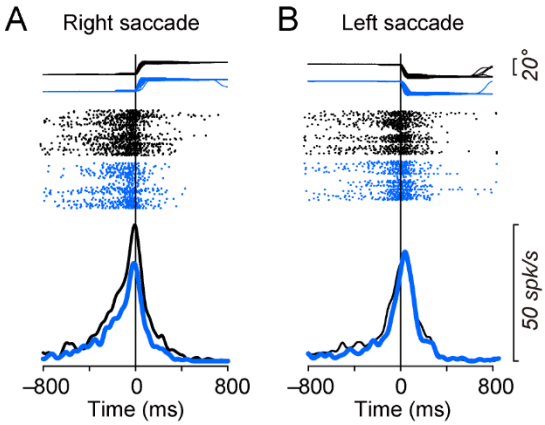


図 3. 光刺激によって方向選択的に活動を低下させた視床ニューロンの一例

ランダムに選んだ半分の試行では、持続的に光照射を行った（青色）。黒は光照射を行っていない対照課題。ラスターは活動電位が記録された時点を示し、各行が一回の試行となっており、データは右（A）または左（B）向きのサッカードの時点で揃えてある。下段にそれぞれの条件で計算した平均発火率の推移を示している。

また、図 4 に示した例では、光照射をしたときにのみ、サッカードの直後に強い一過性応答が現れた（図 4A）。試行が始まる前に光刺激を与えたところ、ベースライン活動は変化しないか、わずかに低下した（図 4B）。これらのことから、光刺激の影響は状況依存的であり、課題関連活動のゲインを選択的に変化させるものと考えられる。また、皮質視床経路は興奮性（グルタミン酸作動性）であることから、光照射の効果は抑制性の介在ニューロンを介した脱抑制によるものと推察される。抑制性ニューロンが視床を取り囲む網様核にのみ限局しているげっ歯類と異なり、霊長類では視床そのものにも抑制性介在ニューロンがあることが示唆されており、これらが状況依存的なゲートの役割を果たしているのかもしれない。

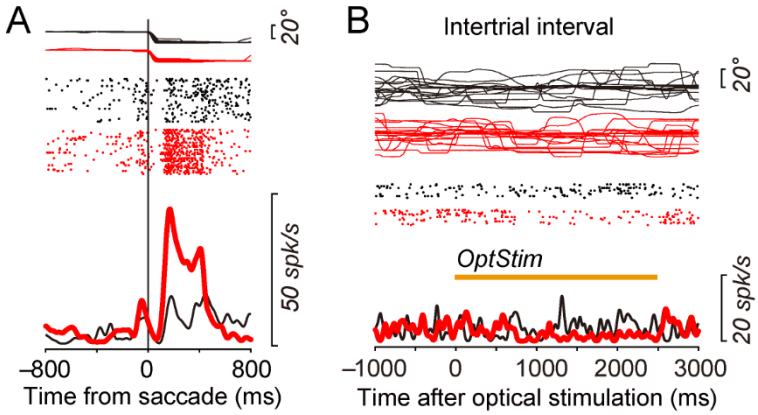


図 4. 持続的な光照射によって一過性の課題関連応答が出現した視床ニューロン

A）サッカード中に弱い抑制がみられるのみであったが、光照射によって抑制後の強いバースト活動が現れた（赤色）。

B）同じ光刺激を試行間に与えても、神経活動に大きな変化はみられない。

このように、実験は当初順調であったが、ベクター接種後 7 か月頃より光に対する反応性の低下がみられるようになり、眼球運動課題そのものの成績も徐々に低下した。約 1 年後に行った組織学的検討ではベクター注入部位の細胞脱落を認め、遺伝子の強発現によって何らかの細胞毒性が生じた可能性が考えられた。その後行った遺伝子導入実験で、同株のベクターを接種して少なくとも 1 か月の時点では細胞死を認めないことが確認できたため、約 6 か月以内でニューロン記録実験を終えることを目標に他個体で実験を進めている。

共同研究者・謝辞

本研究の共同研究者は、北海道大学大学院医学研究院の鈴木智貴助教、京都大学霊長類研究所の高田昌彦教授、井上謙一助教である。本稿を終えるに当たり、本研究をご支援いただきました上原記念生命科学財団に深謝いたします。

文　献

1） Yoshida A, Tanaka M. Enhanced modulation of neuronal activity during antisaccades in the primate globus pallidus. Cereb Cortex. 2009 Jan;19(1):206-17. doi: 10.1093/cercor/bhn069. Epub 2008 May 13. PMID: 18477689

2） Yoshida A, Tanaka M. Two types of neurons in the primate globus pallidus external segment play distinct roles in antisaccade generation. Cereb Cortex. 2016 Mar;26(3):1187-99. doi: 10.1093/cercor/bhu308. Epub 2015 Jan 9. PMID: 25577577

3） Goldberg JH, Fee MS. A cortical motor nucleus drives the basal ganglia-recipient thalamus in singing birds. Nat Neurosci. 2012 Feb 12;15(4):620-7. doi: 10.1038/nn.3047. PMID: 22327474

4) Tanaka M. Involvement of the central thalamus in the control of smooth pursuit eye movements. J Neurosci. 2005 Jun 22;25(25):5866-76. PMID: 15976075
5) Tanaka M. Cognitive signals in the primate motor thalamus predict saccade timing. J Neurosci. 2007 Oct 31;27(44):12109-18. PMID: 17978052
6) Kunimatsu J, Tanaka M. Roles of the primate motor thalamus in the generation of antisaccades. J Neurosci. 2010 Apr 7;30(14):5108-17. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0406-10.2010. PMID: 2037183
7) Tanaka M. Inactivation of the central thalamus delays self-timed saccades. Nat Neurosci. 2006 Jan;9(1):20-2. Epub 2005 Dec 11. PMID: 16341209