



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Studies on the roles of the primate globus pallidus external segment in voluntary eye movements
Author(s)	吉田, 篤司
Description	配架番号 : 2183
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第11936号
Issue Date	2015-06-30
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k11936
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/59686
Type	doctoral thesis
File Information	Atsushi_Yoshida.pdf



学 位 論 文

Studies on the roles of the primate globus pallidus

external segment in voluntary eye movements

(随意性眼球運動における霊長類淡蒼球外節の

役割に関する研究)

2015 年 6 月

北 海 道 大 学

吉 田 篤 司

学 位 論 文

Studies on the roles of the primate globus pallidus

external segment in voluntary eye movements

(随意性眼球運動における霊長類淡蒼球外節の

役割に関する研究)

2015 年 6 月

北 海 道 大 学

吉 田 篤 司

目次

発表論文目録および学会発表目録	1 頁
緒言	3 頁
略語表	13 頁
方法	14 頁
結果	21 頁
考察	38 頁
総括および結論	47 頁
謝辞	49 頁
引用文献	50 頁

発表論文目録および参考論文目録

本研究の一部は以下の論文に発表した。

- 1 . Yoshida A & Tanaka M
Two types of neurons in the primate globus pallidus external segment play distinct roles in antisaccade generation.
Cerebral Cortex in press.
- 2 . Yoshida A & Tanaka M
Enhanced modulation of neuronal activity during antisaccade in the primate globus pallidus.
Cerebral Cortex 19 (1) : 206–217. (2009)
- 3 . Yoshida A & Tanaka M
Neuronal activity in the primate globus pallidus during smooth pursuit eye movements.
Neuroreport 20 (2) : 121–125. (2009)
- 4 . Yoshida A, Tha KK, Fujima N, Zaitzu Y, Yoshida D, Tsukahara A, Onodera S, Shirato H, Terae S
Detection of brain metastases by 3-dimensional magnetic resonance imaging at 3 T: comparison between T1-weighted volume isotropic turbo spin echo acquisition and 3-dimensional T1-weighted fluid-attenuated inversion recovery imaging.
J Comput Assist Tomogr 37 (1) : 84–90. (2013)

本研究の一部は以下の学会で発表した。

- 1 . Yoshida A & Tanaka M
‘Two types of neurons in the primate globus pallidus external segment play distinct roles in antisaccade generation’
The 43th Annual Meeting of the Society for neuroscience, San Diego, November, 2013.

2. 吉田 篤司 & 田中 真樹
「即時的な行動選択に関わる淡蒼球の神経活動」
第 92 回日本生理学会北海道地方会,札幌, 2012 年 8 月.
3. Yoshida A & Tanaka M
‘Neuronal Activity during Rapid Action Selection in the Primate Globus Pallidus External Segment’
The 36th Annual Meeting of the Japanese Neuroscience Society,
Kyoto, June, 2013.
4. 吉田 篤司 & 田中 真樹
「即時的な行動選択と関連した淡蒼球外節の神経活動」
第 3 回日本社会神経研究会,愛知, 2013 年 11 月.
5. 吉田 篤司
「2 種類の神経活動から淡蒼球外節の機能を考える」
平成 25 年度生理研研究所研究会「グローバルネットワークによる脳情報処理」,愛知, 2014 年 1 月.

1. 緒言

自らの意志で運動や行動を行う際、我々の脳は視覚、聴覚、体性感覚などの外的情報や記憶、感情などの内的情報を統合的に処理し、適切な行動とタイミングを選択している。こうした運動の随意性制御には大脳基底核が関与することが知られている。大脳基底核は脳深部に存在する灰白質で、尾状核 (caudate nucleus)、被殻 (putamen)、淡蒼球 (globus pallidus)、視床下核 (subthalamic nucleus)、黒質 (substantia nigra) といった複数の神経核で構成され、その一部の障害によって随意運動の制御に異常をきたす。例えば代表的な大脳基底核疾患にパーキンソン病があり、これは黒質緻密部のドーパミン作動性ニューロンが脱落することにより生じる。よく見られる症状として無動や運動緩慢があり、運動を行うことができて正しい運動を正確な大きさ、タイミングで行うことが困難となる。また、ハンチントン病も大脳基底核疾患の一つであり、その症状として舞踏運動と呼ばれる不随意運動が有名であるが、この疾患では線条体ニューロンのうち淡蒼球外節へ投射するものが最初に変性し、淡蒼球内節や黒質網様部のニューロンの活動性が減弱した結果、視床の活動が上昇すると考えられている。

このような大脳基底核疾患の症状をうまく説明できるモデルとして、Albin や DeLong らは図 1 に示すような大脳基底核の直接路と間接路という概念を提唱した^{1,2}。このモデルによると、黒質緻密部のドーパミン作動性ニューロ

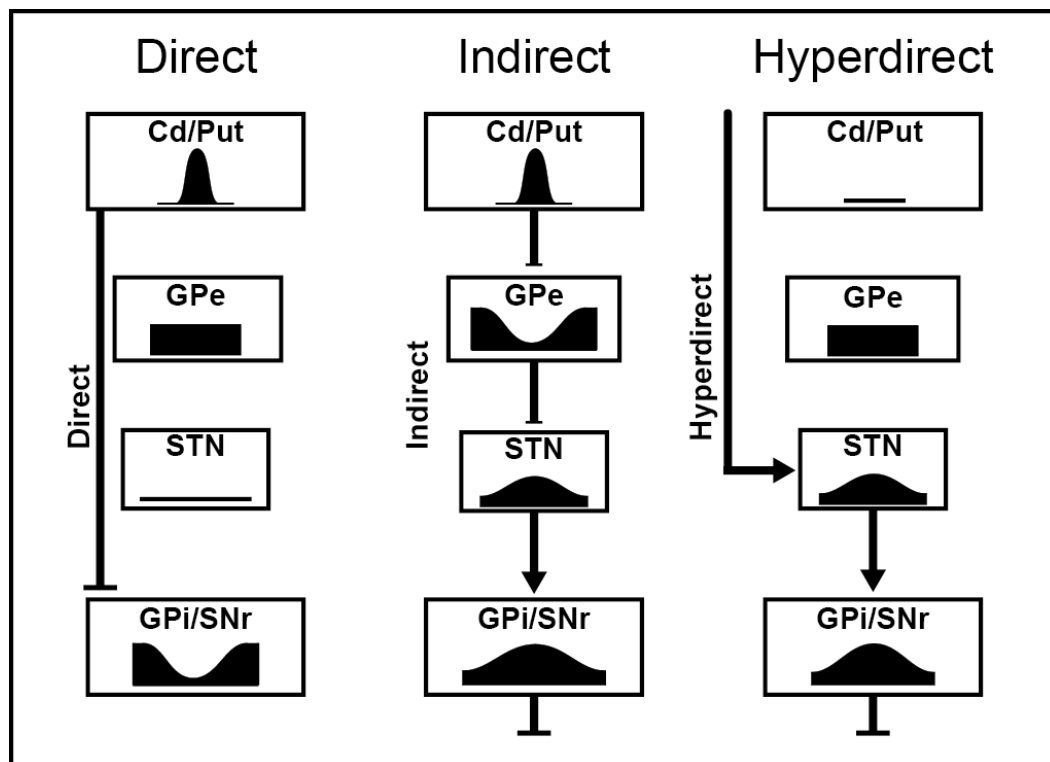


図 1 大脳基底核経路

それぞれの四角い囲いの中の図は大脳皮質からの入力時にどのような神経活動の変化が起きているかを模式図で表している。直接路は線条体（尾状核と被殻）から淡蒼球内節や黒質網様部に「直接」投射する。間接路では線条体から淡蒼球外節および視床下核を介して淡蒼球内節や黒質網様部に「間接」投射する。ハイパー直接経路は視床下核が入力部になっている。

Cd, 尾状核; Put, 被殻; GPe, 淡蒼球外節; GPi, 淡蒼球内節; SNr, 黒質網様部; STN, 視床下核。

ンが変性・脱落すると、線条体の GABA/サブスタンス P 作動性投射ニューロン（直接路のニューロン）への D1 受容体を介した興奮性入力消失し、これらの線条体ニューロンの活動が減弱する。その結果、淡蒼球内節や黒質網様部ニューロンの活動が亢進し、投射先の視床や上丘の活動を低下させる。その一方で線条体の GABA/エンケファリン作動性投射ニューロン（間接路のニューロン）への D2 受容体を介した抑制性入力消失することで、これらの線条体ニューロンの活動が亢進し、結果として淡蒼球外節のニューロン活動の減弱と視床下核のニューロン活動の亢進が起こり、淡蒼球内節や黒質網様部のニューロンの活動が亢進し、視床や上丘の活動が低下する。このモデルによってパーキンソン病の病態の一部などをうまく説明することができるが、これは非常に単純化されたモデルであり、これに矛盾する研究結果も多数報告されている。例えばこの仮説によれば、大脳基底核の投射先である視床を破壊するとパーキンソン病様症状が引き起こされると考えられるが、正常動物での破壊実験では目立った症状は発現せず、むしろパーキンソン病患者では視床を破壊することで症状が軽快する。また、仮説では線条体のみが大脳基底核の入力部とされているが、近年では視床下核も大脳基底核の入力部と考えられており、解剖学的にも神経生理学的にもその存在が示され、新たに大脳皮質から視床下核に直接投射するハイパー直接経路といった経路も提唱されている^{3,4}（図 1 右パネル）。これらの大脳基底核経路のそれぞれの機能は、Hikosaka らにより眼球運動課題を用いて入力部である尾状核、視床下核、出力部である黒質網様部に関しては詳細に調べられていたが、中

間部に存在する淡蒼球外節（globus pallidus external segment; GPe）についてはほとんど調べられていなかった。Albin らが提唱した仮説に従えば GPe は間接路を構成し、行動の抑制に関与する^{5,6}。GPe は線条体から抑制性の投射を受けていることから、同部の神経細胞は行動時には発火頻度を減少させると考えられる。しかしながら実際には行動中の動物の GPe より神経活動記録を行うと半分以上の神経細胞で発火頻度が上昇することが報告されている^{7,8,9,10}。解剖学的には GPe は視床下核（Subthalamic nucleus; STN）から興奮性を受けており、GPe に見られる発火頻度の上昇はこの興奮性入力増加によるものと考えられる（図 2）。

これまで GPe に上記のような 2 種類の神経活動があることは報告されてきたが、それらの機能についてはまだ明らかではない。以前私たちは GPe の機能を調べるために急速眼球運動（サッカード）遂行時の神経活動を調べた。ヒトと類似した脳構造を有し、複雑な行動課題を習得する事ができるニホンザルを実験動物に用いた。また、測定が容易であり、疲労が少なく繰り返し遂行することでき、定量的な解析が可能である眼球運動課題を用いた。具体的にはアンチサッカード課題という、突然現れる視標への反射的な眼球運動を抑制し、その視標とは 180 度反対方向へ眼球運動を行うという課題を用いた¹¹。この課題はこれまでも患者を対象とした臨床研究にも用いられており、主に前頭葉の障害とされる統合失調症や注意欠陥多動性障害や大脳基底核疾患であるパーキンソン病やハンチントン病などで成功率が低下することが報告されている¹²。2 頭のニホンザルの GPe から神経活動記録を行っ

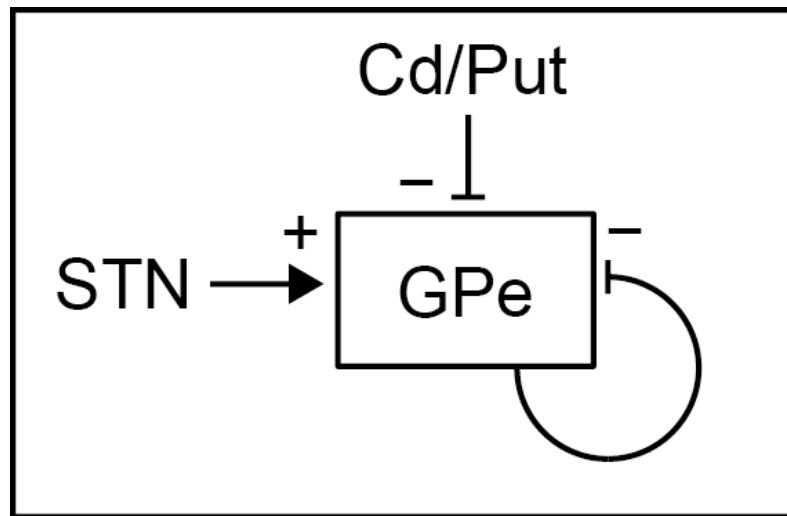


図 2 GPe の解剖学的結合図

GPe の神経細胞はグルタミン酸作動性の興奮性の投射と GABA 作動性の抑制性の投射を受けている。Cd, 尾状核; GPe, 淡蒼球外節; Put, 被殻。

たが、2種類の GPe の神経細胞（課題遂行時に発火頻度を増加させる神経細胞を **increase-type neuron**、減少させるものを **decrease-type neuron** と呼ぶことにする）はいずれもアンチサッカード遂行時には活動を大きく変化させた¹³。アンチサッカードを正しく遂行するためには提示された指標に対して反射的にサッカードすることを抑制した上でアンチサッカードそのものを生成する必要があるが、先行研究で認められた GPe の神経細胞はこれらの過程に関与している可能性がある¹⁴。実際に、先行研究では GABA_A 作動薬である muscimol を GPe に微小注入することによる不活化実験を行ったところ、アンチサッカード課題で反射的なサッカードを抑制できずにターゲットに眼を向けてしまう率が増加した¹³。しかしながらこの先行研究では GPe がアンチサッカードの遂行に重要な役割を果たしていることはわかったものの、GPe の2種類の神経活動それぞれにどのような役割があるかまでは明らかにできなかった。

本研究の目的はアンチサッカード生成における GPe の2種類の神経活動の役割を明らかにし、これにより大脳基底核経路の機能をより詳細に調べることである。サッカード生成とサッカード抑制に関連する神経活動を区別するために、以前の研究で用いたアンチサッカード課題やプロサッカード課題（提示されたターゲットに向かってサッカードする）に加えて NoGo 課題（提示されたターゲットへのサッカードを抑制し、中心点を固視し続ける）を用いた。また、最近の研究ではアンチサッカード課題中の抑制には2種類あり、全体的抑制と選択的抑制というものがあることが示唆されている¹⁵。全体的

抑制とはあらゆる運動の反応を抑制するものであり、すべての反応時間を延長させるものである。それに対して選択的抑制はある特定の反応を抑制するものである。最近の機能画像を用いた研究ではこれらの抑制は脳基底核の異なった経路によって制御されることが示唆されている。具体的には、直接路が選択的抑制に、ハイパー直接経路が全体的抑制に関与することが示唆されている^{16,17}。今回の研究ではこれらの2つの抑制を区別するために2つの条件下で課題を行った。1つ目の条件としては、ターゲットが現れる前に課題のルールを固視点の色で与えるもので、これを **Deliberate** 条件と呼ぶことにする（図 3A）。この条件では NoGo 課題は固視点や視覚刺激が提示される際にもただ中心点だけを見ていれば良く、先に述べた2つの抑制のうち全体的抑制に相当する。それに対して、もう一つの条件では課題のルールがターゲットの色で提示される。これを **Immediate** 条件と呼ぶ（図 3B）。**Deliberate** 条件では NoGo 課題時に提示される視覚刺激に対しては単に無視し、中心点の固視を続ければよいが良いが、**Immediate** 条件では一度視覚刺激に対して注意を向けなければならない。その際、視覚刺激に対する反射的なサッカードを選択的に抑制しなければならない。まとめると3つの課題を用いることでサッカード生成と抑制に関与する神経活動を評価し、2つの条件を用いることで全体的抑制と選択的抑制を評価した（図 4）。

私の今回の研究から行動時の淡蒼球外節の役割を示唆する所見を得ることができた。その結果は淡蒼球外節が間接路の一部にすぎないといったこれまでの考えに矛盾するものであった。これまで脳基底核の機能は直接

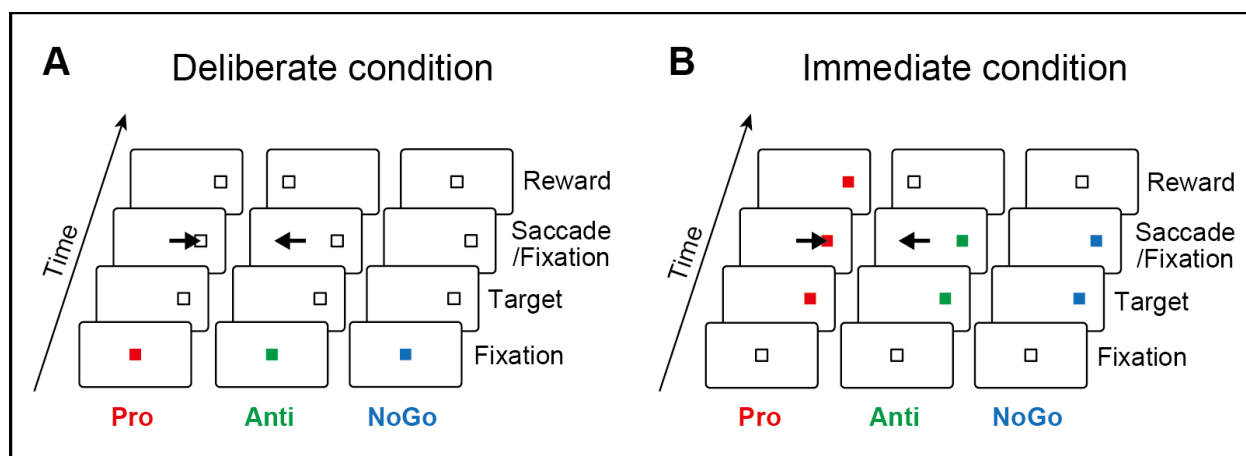


図 3 行動課題

(A) Deliberate 条件の時間系列。Deliberate 条件では固視点の色で課題のルールを指示した。固視点が消えると同時に左右どちらかにターゲットを提示した。サルが 400 ミリ秒以内にターゲットに対して反対にサックードするか（アンチサックード）、ターゲットに向かってサックードするか（プロサックード）、もしくは 400 ミリ秒以上固視を続けると報酬を与えた。(B) Immediate 条件では課題ルールをターゲットの色で提示した。そのためサルは事前にどの課題であるかは情報が与えられていないため行動を即座に選択しなければならなかった。これらの課題や条件はランダムに行われた。Anti, アンチサックード; Pro, プロサックード。

路、間接路、ハイパー直接経路といった経路をもとに説明されてきたが、今回の結果からはこれらの経路に加えて別の経路が機能している可能性を示唆するものであった。今後さらに基底核経路における情報処理の詳細が明らかになれば、基底核疾患の病態生理の理解も進み、例えば未だ機序の解明されていない基底核疾患への薬物療法や脳深部刺激療法などを最適化することができると期待される。

	Pro	Anti	NoGo
Deliberate			
Facilitation	+	++	-
Inhibition	-	++	+
			(Global)
Immediate			
Facilitation	++	++	-
Inhibition	-	++	++
			(Selective)

図 4 課題および条件と機能との対応表

それぞれの課題および条件をまとめている。それぞれにおいてはサッカードの促進または抑制が必要となる。特に 2 つの条件間では NoGo 課題遂行時に抑制の過程が異なっている。

略語表

本文中および図中で使用した略語は以下のとおりである。

AC	Anterior commissure (前交連)
Anti	Antisaccade (アンチサッカード)
Cd	Caudate nucleus (尾状核)
GABA	Gamma-aminobutyric acid (γ -アミノ酪酸)
GPe	External segment of globus pallidus (淡蒼球外節)
GPI	Internal segment of globus pallidus (淡蒼球内節)
Put	Putamen (被殻)
Pro	Prosaccade (プロサッカード)
SC	Superior colliculus (上丘)
SNr	Substantia nigra pars reticulata (黒質網様部)
STN	Subthalamic nucleus (視床下核)

2. 方法

本研究では、4頭のニホンザル (*Macaca fuscata*, 雄ザル X は 7 kg; 雌ザル S と U と V は 4-6 kg) を用いた。サルの飼育管理および以下に記載する実験手技は北海道大学動物委員会に事前に承認を得て、文部科学省ナショナルバイオリソースプロジェクトの指針を遵守して実験を行った。

被検体

最初にモンキーチェアに座るようにサルを訓練した。その後、全身麻酔下で頭部固定装置とアイコイルを取り付けた。麻酔は medetomidine ($40 \mu\text{g/kg}$) と midazolam (0.3mg/kg) の筋肉注射により導入を行い、気管内挿管後は isoflurane (1-3%) と笑気 (亜酸化窒素) を用いて麻酔を維持した。術後は pentazocine や ketoprofen を用いて鎮痛を行った。手術から回復したのち、サルに眼球運動課題を訓練した。訓練と実験は、暗室のなかでサルの頭をモンキーチェアに固定した状態で行った。行動課題の訓練終了後、全身麻酔下で頭蓋骨の一部を取り除き、電極刺入用のシリンダーを取り付けた。実験は手術から完全に回復してから行った。行動課題を行う動機づけのため、サルの摂水量を日常的に管理した。

視覚刺激と行動課題

行動課題は市販のプログラム環境 (TEMPO; Reflective Computing, St. Louis,

MO) で制御し、視覚刺激はサルの眼前から 38cm の距離に置かれた 24 インチの CRT モニターに提示した (GDM-FW900; Sony, Tokyo; refresh rate:60Hz)。それぞれの試行の固視点やターゲットには異なる色 (白、赤、緑、青) を用いた。実験開始前にはモニター上に既知の角度に視覚刺激を提示して、それをサルに固視させることで水平方向と垂直方向の眼球位置と眼球運動時に眼球コイル内に生じる誘導電位が比例するようにキャリブレーションを行った。視覚刺激が試行毎に提示され、サルは提示された視覚刺激から一定範囲内に、決められた時間以上視線を向けていれば水やジュースを報酬として得ることができた。

課題はアンチサッカードとプロサッカード、NoGo 課題の 3 つを用い、2 つの条件を用意した (図 3A と B)。それぞれの課題では画面の中心に固視点を提示することで開始した。初めに 1600 ミリ秒間固視点を提示し、サルはその固視点から 2°以内を注視し続けなければエラーとし、再度課題をやり直すように設定した。Deliberate 条件では固視点の色により課題のルールを呈示したのに対して、Immediate 条件ではターゲットの色により課題のルールを呈示した。固視点もしくはターゲットが赤色の場合はサルがターゲットに対してサッカード (プロサッカード)、固視点もしくはターゲットが緑色の場合にはターゲットと同じ距離の、反対の方向にサッカード (アンチサッカード)、固視点もしくはターゲットが青色の場合には、固視点が消え視覚刺激が提示されている場合にも中心点を見続けると報酬がもらえるようにした (NoGo 課題)。いずれ課題でも固視点はルール呈示期間の最後で消失し、

ターゲットは左右 2 方向に 12°の距離に提示した。サルはいずれの条件でも固視点が消えてから 400 ミリ秒以内にサッカード（アンチサッカードもしくはプロサッカード）するか、400 ミリ秒以上注視し続ければ報酬を得ることができた。ターゲットを中心として、アンチサッカード課題では 6°以内、プロサッカード課題では 3°以内、NoGo 課題では中心点を 5°以内を見ていれば正解とした。アンチサッカード課題や NoGo 課題ではターゲットが現れた 500 ミリ秒後に正解の場所にターゲットが提示された。正解したかどうかは、試行の終わりにりんごジュースが与えられるかや、高音の音刺激でサルにわかるようにした。

今回の研究では固視点やターゲットに白、赤、緑、青の 4 色を用いた。それぞれの輝度は 21.5 cd/m²、8.1 cd/m²、14.6 cd/m²、6.0 cd/m²、であり、スクリーンの背景の輝度（1.59 cd/m²）であった。また、コントラスト（ミケルソン・コントラスト）は $C_M = (A-B) / (A+B)$ として計算した。ここで A は固視点もしくはターゲットの輝度、B はスクリーンの背景の輝度であった。すべての課題でははじめに画面の中心に 1600 ミリ秒間の固視点が提示された。Deliberate 条件では固視点が、Immediate 条件ではターゲットが緑色（ $C_M = 9.18$ ）であれば、サルが 400 ミリ秒以内にターゲットから 180° 反対方向へサッカード（アンチサッカード）できれば正解とした。固視点もしくはターゲットが赤色（ $C_M = 5.10$ ）の場合はプロサッカードすることが、固視点もしくはターゲットが青色（ $C_M = 3.77$ ）の場合は、サルがターゲットの提示から 400 ミリ秒以上モニターの中心点を見続けることができれば正解とし

た。Deliberate 条件のターゲットや Immediate 条件の固視点は常に白色 ($C_M = 14.21$ 、図 3A と B) であった。

ニューロンの活動記録

単一ニューロン活動の細胞外記録には、タングステン電極を用いた (FHC, Bowdoin, ME)。23G のガイドチューブを刺入する時にはシリンダーに固定したグリッドシステム (Crist Instrument Co) を用いて刺入場所の調節を行い、電極はこれを通して脳内に刺入した。マイクロマニピュレーター (MO-97S; Narishige, 東京, 日本) を用いて遠隔操作で GPe まで電極を進めた。シリンダーは冠状断像にてサル S では垂直軸に対して平行に、その他のサルでは垂直軸に対して $38-40^\circ$ 外側に傾けて装着した。GPe ニューロンの活動電位幅 (action potential duration) は線条体と比較して短く¹⁸、GPe の背側を容易に同定することができた。単一ニューロンの分離には、市販のスパイク検出装置を用いた (MSD; Alpha Omega Engineering, Nazareth, Israel)。活動電位の起きた時間を眼球運動と視覚刺激のタイムスタンプと同時にファイルに記録した。

データ収集と解析

眼球位置の記録には電磁誘導式眼位測定装置 (MEL-25; 演算子工業, 千葉, 日本) を用いた。ニューロン活動と眼球位置のデータは 1 kHz のサンプリングレートで記録し、ファイルに保存した。解析には Matlab (Mathworks, Natick, MA) を用いた。解析ではサッカードもしくはターゲットの開始時にデータを揃えた。いくつかのアンチサッカード課題遂行時ではサルははじめ

にターゲットに対してサッカードを行ってしまうものの、その後方向を修正して 400 ミリ秒以内に間に合うようにターゲットの反対方向にサッカードすることがあった（このようなサッカードを **turn-around** サッカードと呼ぶ）。このような場合にはデータ上は正解になってしまう事例があったため、オフラインで解析を行い、**turn-around** サッカードが認められた場合には、これらのデータを不正解とした。

それぞれの課題が 10 試行未満のニューロンのデータは解析からは除外した。それぞれのニューロンの神経活動は、複数の試行で記録された活動電位の発火時間から平均発火頻度を計算した。解析には、1) 固視点提示直前の 300 ミリ秒（ベースライン）、2) ターゲット提示後の 250 ミリ秒（ターゲット呈示期間）、3) サッカード開始の 100 ミリ秒前からの 150 ミリ秒間（サッカード期間）、の 3 つの期間を用いた。2) のターゲット提示期間では、アンチサッカード課題遂行時の神経活動と NoGo 課題遂行時の神経活動を比較するために比較的長い期間を設定しているが、これはアンチサッカードの反応時間（潜時）が約 250 ミリ秒であり、NoGo 課題遂行時に必要となる反射的なサッカードの抑制はこの期間に起きていると想定したためにターゲット提示後の 250 ミリ秒を解析対象期間として設定した。アンチサッカード時に神経活動がベースライン（上記 1) の期間）よりも有意に変化しているものを「アンチサッカード関連活動」とした（**two-tailed paired t test**, $P < 0.05$ ）。また、これらのニューロンは神経活動の変化の仕方によって神経活動が増加するものを **increase-type neuron**、減少するものを **decrease-type**

neuron として 2 つのグループに分けた。それぞれの条件での神経活動の経時的変化はガウスフィルタ ($\sigma = 15$ ミリ秒) を用いたスパイク密度関数を計算することで定性的に調べたが、すべての定量解析はある特定の期間のスパイク数を元に行った。統計学的検定を行うために解析では ANOVA 解析、ならびに多重比較エラーを避けるために post hoc 検定を行った。

記録部位の確認

神経活動の記録部位はシリンダー装着後の MRI 画像にて再構成した。MRI は GE 社製 1.5 テスラ (GE Signa 1.5T) にて gradient echo 法による 3D T1 強調像 (1mm スライス厚)、fast spin echo 法による 2D T2 強調像 (1.5mm スライス厚) を撮影した。以前の研究¹³ に一致して多くのアンチサッカー関連ニューロンは前交連 (anterior commissure; AC) 近傍の GPe 腹側に存在していた (図 5)。

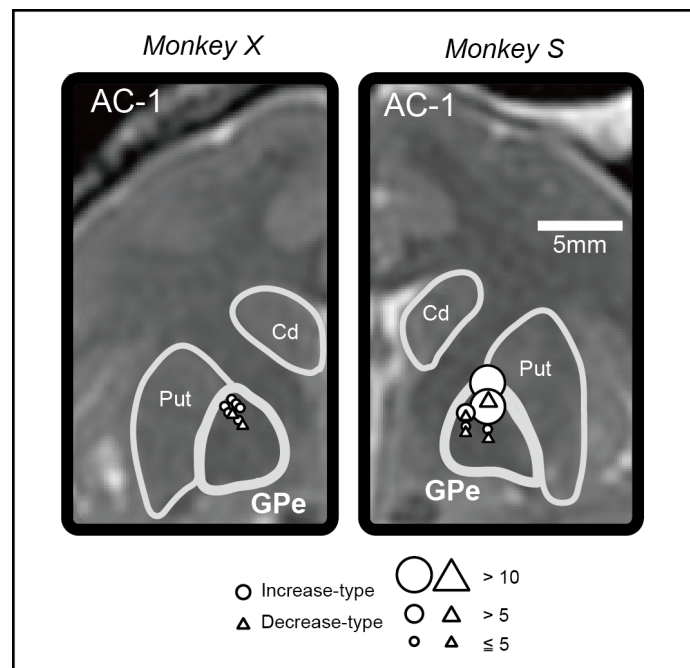


図 5 T2 強調冠状断像における課題関連神経細胞の記録部位

左の画像はサル X の左半球を示し、右はサル S の右半球を示している。丸は increase-type neuron を、三角は decrease-type neuron を表し、大きさは記録した個数を表している。いずれの冠状断像も AC から 1mm 後方のスライス面である。Cd, 尾状核; GPe, 淡蒼球外節; Put, 被殻; STN, 視床下核。

3. 結果

データベースおよび記録部位

サルがすべての課題、条件で十分トレーニングされた後にデータの収集を行った。表 1、2 はそれぞれの条件での 170 個の神経活動記録中の行動のデータをまとめたものである。すべてのサルはいずれの課題、条件下でも 88%以上の正解率であった。アンチサッカード課題のエラー試行には提示されたターゲットにサッカードしてしまったもの、400 ミリ秒以内にアンチサッカードできなかったもの、turn-around サッカードが含まれている。全体として、サッカードの潜時は課題間（プロサッカード 204 ± 56 ミリ秒とアンチサッカード 230 ± 51 ミリ秒）と同様に、条件間で統計学的に有意差があり（Deliberate 条件 192 ± 48 ミリ

秒と Immediate 条件 241 ± 50 ミリ秒、two-way ANOVA、 $P < 0.05$ ）、相互作用にも有意差を認め（ $P < 0.05$ ）、このことから 2 つのサッカード課題間の潜時の違いは Immediate 条件よりも Deliberate 条件で違いが有意に大きいことを表している。

サッカードに関連する神経活動を認めた GPe のニューロン 170 個から記録を行った（サル S 102 個、X34 個、U20 個、V14 個）。これらのニューロンのうち、3 分の 2 以上ではサッカード実行前や実行中に発火頻度が上昇する increase-type neuron であり（ $n = 117$, 70%）、残りは発火頻度が減少する decrease-type neuron であった（ $n = 53$, 30%）。それぞれのサルでの

	Antisaccade	Prosaccade	NoGo
サル S			
回数 (correct/all)	4539 / 4573	4548 / 4549	4570 / 4571
不正解率 (%)	0.7	0.0	3.8
反応潜時 (ms)	215 ± 30	188 ± 31	-
不正解時潜時 (ms)	139 ± 51	-	-
サル X			
回数 (correct/all)	1293 / 1296	1289 / 1292	1288 / 1425
不正解率 (%)	0.0	0.0	10.6
反応潜時 (ms)	300 ± 39	262 ± 22	-
不正解時潜時 (ms)	213 ± 36	-	-
サル V			
回数 (correct/all)	749 / 851	848 / 848	852 / 853
不正解率 (%)	11.7	0.0	0.0
反応潜時 (ms)	223 ± 52	182 ± 48	-
不正解時潜時 (ms)	149 ± 14	-	-
サル U			
回数 (correct/all)	426 / 428	425 / 425	435 / 440
不正解率 (%)	0.5	0.0	1.1
反応潜時 (ms)	224 ± 32	185 ± 26	-
不正解時潜時 (ms)	199 ± 44	-	-

表 1. Deliberate 条件時の行動潜時と正解率

	Antisaccade	Prosaccade	NoGo
サル S			
回数 (correct/all)	4549 / 4574	4569 / 4581	4581 / 4617
不正解率 (%)	0.5	0.3	0.8
反応潜時 (ms)	254 ± 30	247 ± 30	-
不正解時潜時 (ms)	157 ± 17	224 ± 21	-
サル X			
回数 (correct/all)	1288 / 1289	1293 / 1293	1293 / 1326
不正解率 (%)	0.0	0.0	2.5
反応潜時 (ms)	325 ± 30	324 ± 32	-
不正解時潜時 (ms)	-	-	-
サル V			
回数 (correct/all)	824 / 854	851 / 851	842 / 842
不正解率 (%)	3.5	0.0	0.0
反応潜時 (ms)	295 ± 40	193 ± 59	-
不正解時潜時 (ms)	206 ± 37	-	-
サル U			
回数 (correct/all)	423 / 425	427 / 427	428 / 434
不正解率 (%)	0.5	0.0	1.4
反応潜時 (ms)	274 ± 31	260 ± 37	-
不正解時潜時 (ms)	223 ± 29	-	-

表 2. Immediate 条件時の行動潜時と正解率

increase-type neuron の割合は 62-80% (increase-type/decrease-type、S70/32、X21/13、U16/4、V10/4) であった。

図 5 はサル X とサル S の MRI 冠状断像に記録部位を表したものである。ほとんどのサッカード関連ニューロンは AC から前後 2mm 以内の GPe の腹背側部位で見つかったが、これは以前の研究結果とも一致するものであった¹³。解剖学的な研究では GPe のこの領域には線条体の連合機能領域から投射を受けていることが報告されており^{19,20,21,22}、以前の報告や今回の記録部位は GPe からサッカード関連の神経活動を報告している他の研究の記録部位に比べ前方に位置していると思われた^{9,23}。

Increase-type neuron の特性

図 6 は 2 条件での 3 課題遂行時の increase-type neuron のデータの典型例である。上段は Deliberate 条件時、下段は Immediate 条件時の神経活動を示し、左側 2 パネルは記録半球と対側、もしくは同側の視野にターゲットを提示した時の神経活動のデータ、右側 2 パネルは記録半球と対側、もしくは同側の視野へサルがサッカードした時の神経活動のデータを示している。Deliberate 条件や Immediate 条件の右側のパネルに示すようにアンチサッカード直前の神経活動はプロサッカードよりも大きく (図 6A と B)、これは以前の報告¹³と一致している。また、アンチサッカード遂行時の反射的なサッカードの抑制に GPe が関与するかを調べるためにいずれの条件下でも NoGo 課題をランダムに行わせた。この課題ではアンチサッカード時と同様に視覚刺激に対

するサッカードを抑制しなければならないが、運動を行う必要はない。

Deliberate 条件下での NoGo 課題での神経活動は全体的な運動の抑制に関与すると考えられ、Immediate 条件では選択的な随意性サッカードの抑制に関与すると考えられる¹⁵。データをターゲット提示時に揃えた場合の NoGo 課題時の神経活動はいずれの条件下のアンチサッカード遂行時よりも小さく（図 6A と B の左 2 パネル）、この神経細胞はサッカードの抑制には関与している可能性は低いと考えられた。

神経活動の経時変化を調べるために、図 7 ではそれぞれの条件下での 3 課題時の 117 個の increase-type neuron の集団活動の時間経過を示しているが、図 7A と C はいずれの条件下でも NoGo 課題遂行時の神経活動はアンチサッカード施行時よりも小さいことが示されている。図 7B と D では個々のニューロンでアンチサッカード遂行時と NoGo 遂行時でターゲットが提示された後の 250 ミリ秒の平均神経活動を比較している。117 個の increase-type neuron のうち Deliberate 条件で対側にターゲットを提示した場合は 59 個（50%）、同側にターゲットを提示した場合は 55 個（47%）で有意差を認めた（two-way ANOVA , $P < 0.05$, followed by Scheffe's test, $P < 0.05$, 図 8A の赤丸）。Immediate 条件では対側にターゲットを提示した場合は 26 個（22%）、同側にターゲットを提示した場合は 23 個（19%）で神経活動に課題間で有意差を認めた（ $p < 0.05$, 図 8C 赤丸）。いずれのターゲットの提示位置、いずれの条件でもアンチサッカード遂行時でターゲット提示直後の集団活動は NoGo 遂行時よりも有意に大きく（paired t test, $P < 10^{-6}$ ）、このことから

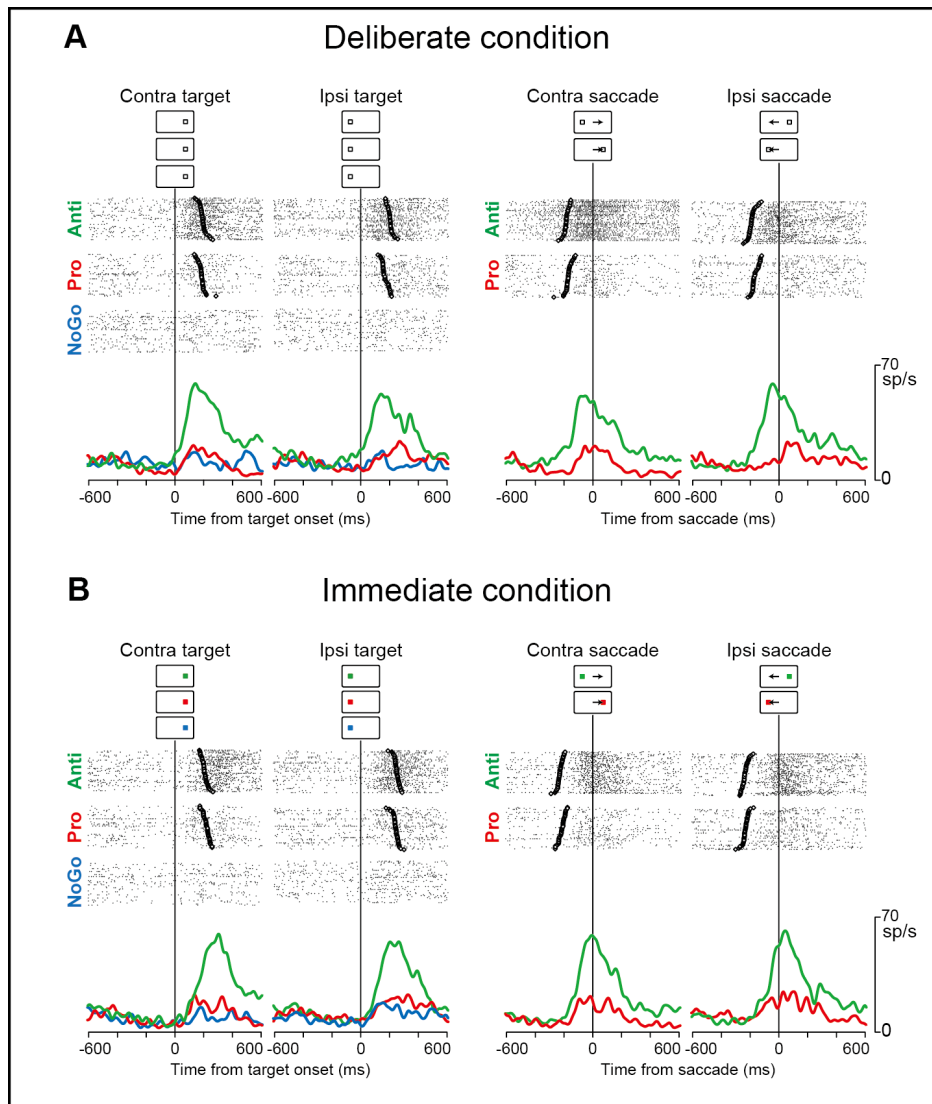


図 6 行動課題中の代表的な increase-type neuron の神経活動の比較

(A) は Deliberate 条件、(B) は Immediate 条件を表している。黒い点は活動電位が記録された時間を示し、1 行が 1 試行であり、データはターゲットの提示時もしくはサッカード開始時に揃えられている（縦線）。異なる色の実線は複数の試行での平均発火頻度を表している。ダイヤモンド型の印は、左 2 列はサッカード開始時間、右 2 列はターゲット提示時間を表している。Anti, アンチサッカード; Pro, プロサッカード。

これらのニューロンはサッカードの抑制には関与していないと考えられた。多くの神経細胞では **Deliberate** 条件ではアンチサッカード遂行時にターゲットの提示時よりも前に漸増性の神経活動を示しているが（図 7A）、ターゲットが提示される前の 500 から 1000 ミリ秒前ではサルは中心点を固視しているが、この時の神経活動は条件間や課題間で有意差を認めなかった（two-way ANOVA, $P = 0.66$ ）。このことから、はじめに固視を行っている際の神経活動は視覚刺激の違いを単に反映しているのではないと考えられる。アンチサッカード遂行時の神経活動がどの時点で NoGo 課題遂行時と異なっているのかを調べるために、ターゲットの提示前 600 ミリ秒から提示後 600 ミリ秒の間で、25 ミリ秒間の一定期間で課題間での神経活動に有意差があるかの検定を行い、対象となる期間を 1 ミリ秒ずつずらしながらこの期間で神経活動に有意差があるか検定を行った。図 7A と C の下にあるマゼンダ色の点は有意差のあった時点を表している（Mann Whitney U-test, $P < 0.05$ ）。連続した 10 回の時間幅で有意差を認めた場合に、はじめの 25 ミリ秒幅の中心を神経活動の変化が開始した時点と定義した。**Deliberate** 条件では対側にターゲットを提示した場合にはターゲット提示よりも 177 ミリ秒前、同側にターゲットを提示した場合には 124 ミリ秒前、**Immediate** 条件ではターゲットを対側に提示した場合には 27 ミリ秒後、同側に提示した場合には 49 ミリ秒後にアンチサッカードと NoGo 課題時の神経活動に有意な差を認めた。

アンチサッカード時に神経活動が上昇するのは **increase-type neuron** が随意的なサッカード生成に関与している可能性が考えられるため、サッカー

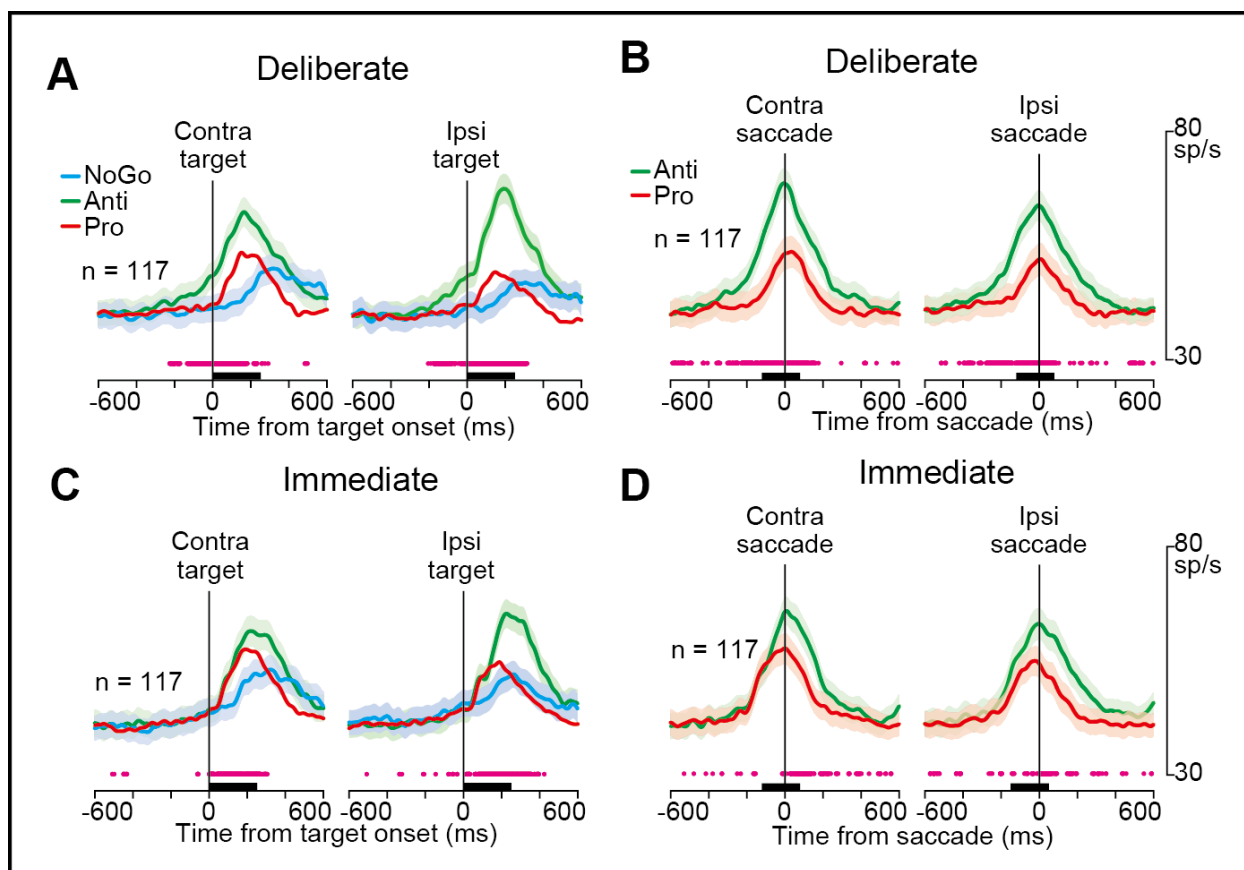


図 7 increase-type neuron の集団神経活動

(A,B) Deliberate 条件での集団活動の時間経過。(A) はターゲット提示時、(B) はサッカード開始時にデータが揃えられている。平均値に標準誤差を加減した領域を色付きで表している。グラフの下方にあるマゼンダ色の点はアンチサッカード課題遂行時の神経活動と NoGo 課題遂行時 (A)、もしくはプロサッカード課題遂行時 (B) の神経活動を 25 ミリ秒の間隔で比較し、有意差を認めたところを表している。(C,D) Immediate 条件での集団活動の時間経過。(A), (B) と同様に表わされている。

ド前後の神経活動を調べた。図 7B と D は 2 条件下でのサッカー時の 117 個の **increase-type neuron** の集団活動の時間経過を示している。いずれの条件下でも NoGo 課題遂行時の神経活動はアンチサッカー時よりも小さいことがわかった。**increase-type neuron** では特に **Deliberate** 条件ではプロサッカー時に比べてアンチサッカー時の神経活動は大きいことがわかった (図 7B) 。サッカー関連活動を定量的に調べるため、反対側もしくは同側へのサッカーの 100 ミリ秒前からの 150 ミリ秒間 (図 7B と D での太い黒線で表されている期間) の個々のニューロンの平均発火頻度を解析した。二元配置分散分析 (two-way ANOVA) と多重比較では **Deliberate** 条件では反対方向へのサッカーでは 30% ($n = 35/117$) 、同側では 23% ($n = 27$) 、**Immediate** 条件では反対方向へのサッカーでは 55% ($n = 64$) 、同側では 34% ($n = 40$) で、アンチサッカー時の神経活動とプロサッカー時の平均神経活動に有意差を認めた (Scheffe's test; 図 8B と D の赤丸) 。集団解析でもいずれの条件でもアンチサッカー時の神経活動の大きさはプロサッカー時に比べて有意に大きいことが示された (paired t test, $P < 10^{-4}$ (**Deliberate** 条件) 、 $P < 10^{-10}$ (**Immediate** 条件)) 。また、アンチサッカーとプロサッカーの集団活動がどの時点から有意に異なるかについては **Deliberate** 条件で対側へサッカーする際には 355 ミリ秒前、同側の場合には 263 ミリ秒前から、**Immediate** 条件では対側へサッカーする際には 21 ミリ秒前、同側の場合には 103 ミリ秒前から神経活動に有意差が認められた。**Increase-type neuron** がサッカー生成に関与するかを更に調べるために、反

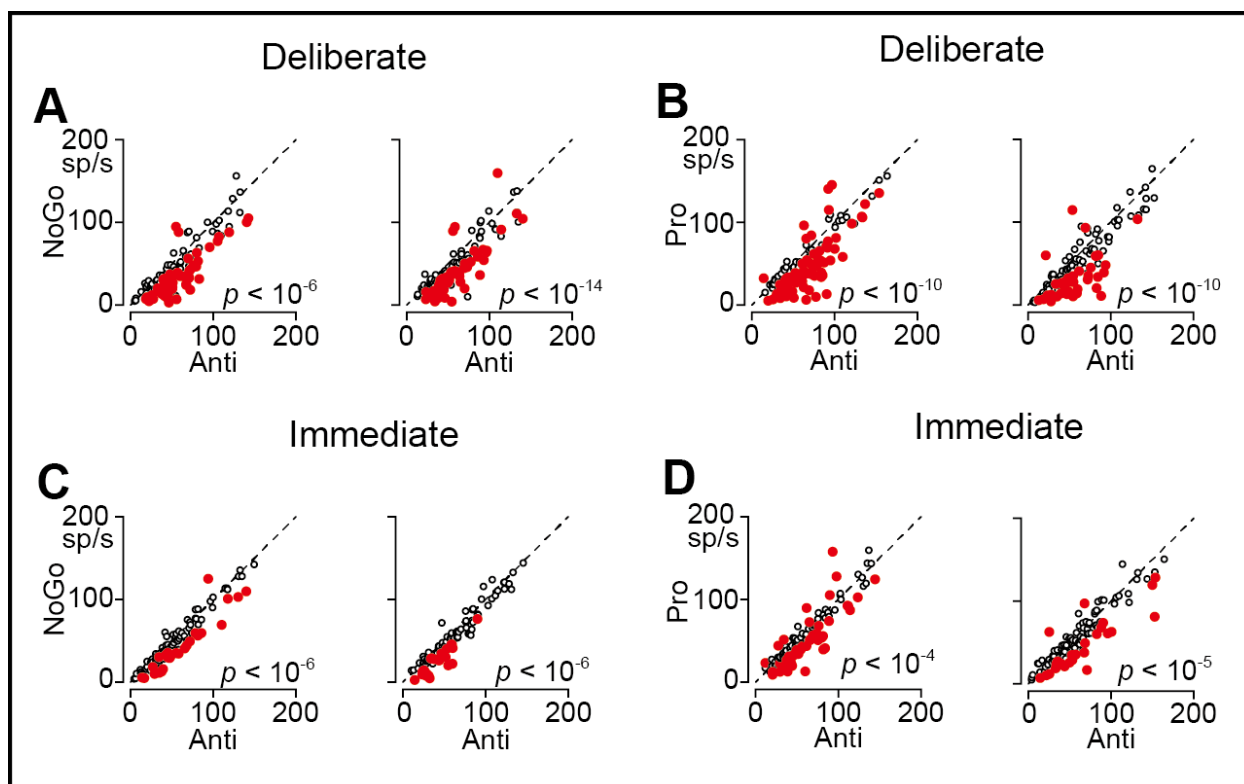


図 8 個々の increase-type neuron の神経活動比較

(A,B) 個々の神経細胞の **Deliberate** 条件でのアンチサッカード遂行時と NoGo 遂行時 (A) もしくはプロサッカード遂行時 (B) の発火頻度の比較。神経活動はターゲット提示後の 250 ミリ秒間 (図 7 (A) の黒線) もしくはサッカード開始前 100 ミリ秒から 50 ミリ秒後の 150 ミリ秒間 (図 7 (B) の黒線) の平均発火頻度が測定されている。赤色で示されたものは有意差を認めたデータである ($P < 0.05$)。 (C,D) 個々の神経細胞の **Immediate** 条件でのアンチサッカード遂行時とその他の課題との発火頻度の比較。

応潜時によりそれぞれのニューロンのデータを反応潜時が早かった時、遅かった時、それ以外の時と 3 等分にして、それぞれの集団神経活動と反応潜時の関係を調べた。図 9A と B は対側方向へのアンチサッカード遂行時でターゲットの提示時にデータを揃えた時の 3 つのグループの集団神経活動を表している。いずれの条件でもアンチサッカード遂行時の反応潜時が短いグループの神経活動は有意に最も大きかったが、プロサッカード遂行時ではいずれのグループも同様の神経活動に有意差は認められなかった。ターゲット提示時よりも 100 ミリ秒前から 150 ミリ秒間の神経活動と個々のサッカード時の反応潜時の順位相関をそれぞれのニューロンで計算したところ順位相関係数の平均値はアンチサッカードでは **Deliberate** 条件ではいずれの方向でも、**Immediate** 条件では反対方向のみで有意にゼロよりも小さかったが (one sample t test, $n = 117$, $P < 0.01$)、プロサッカードでは有意差は認めなかった。これらの結果からは **increase-type neuron** はアンチサッカードの促進に関与していることが示唆された。

Decrease-type neuron の特性

図 10 に **decrease-type neuron** のデータの代表例を示す。**Immediate** 条件での 3 つの課題の神経活動は同じように減少したが (図 10B)、**Deliberate** 条件ではアンチサッカード時の神経活動の変化が最も大きかった (図 10A)。以前の報告¹³と同様に、このニューロンでもターゲットが提示される前から神経活動を変化させているが、これはおそらくサッカードの方向は分からないがすでにアンチサッカードの準備を始めているためと考えられた。図 11A と C

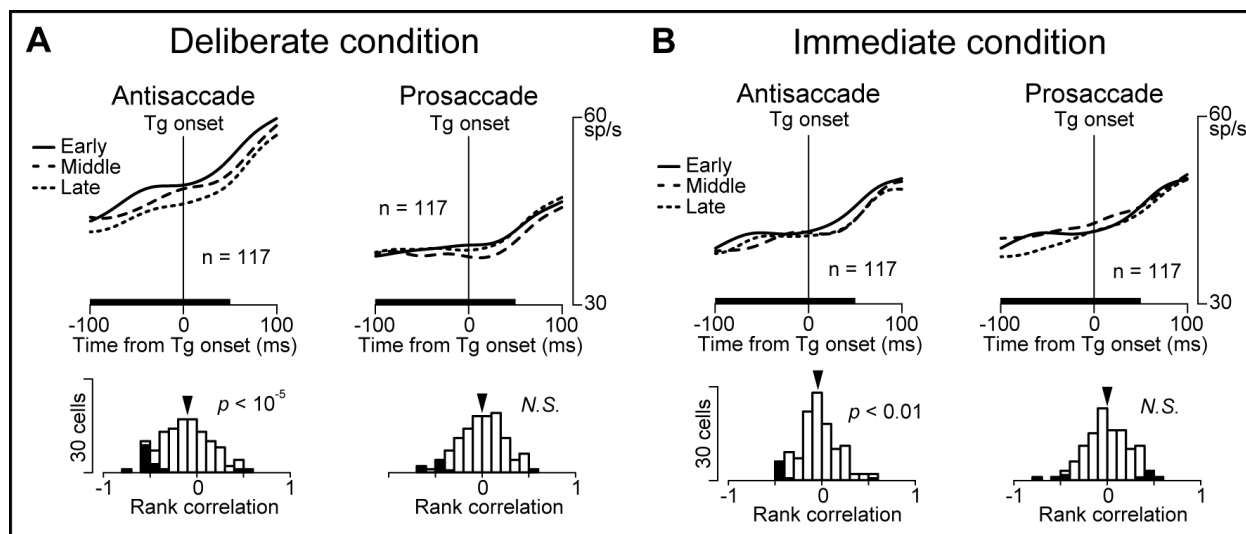


図 9 神経活動とサッカード潜時との相関関係

(A) **Deliberate** 条件での対側へのサッカード時の集団活動の時間経過。それぞれの神経細胞でのデータをサッカードの潜時に従って試行数が同数になるように 3 分割し、それぞれの集団活動を計算し、3 つの異なる線種で表した。下段のヒストグラムはそれぞれの神経細胞のデータで神経活動（ターゲット提示前の 100 ミリ秒から 50 ミリ秒後の 150 ミリ秒間（上段図の黒線の期間））と個々の試行時のサッカード潜時との間での相関係数を計算し、その合計を表している。それぞれのヒストグラムの上にある矢頭は平均値を表しているが、アンチサッカードでは 0 よりも有意に小さいが、プロサッカードでは有意差を認めなかった（one-sided t test, $P < 10^{-5}$ ）。(B) は **Immediate** 条件でのデータを示しており、詳細は (A) と同様である。

はそれぞれの条件下での 3 課題時の 53 個の decrease-type neuron の集団活動の時間経過を示している。increase-type neuron とは異なり (図 7C)、Immediate 条件では NoGo 課題の神経活動とアンチサッカード課題の神経活動は類似していた (図 11C)。次に個々のニューロンでアンチサッカード遂行時と NoGo 課題時でターゲットが提示された後の 250 ミリ秒 (図 11A と C の黒色の太線に期間) の平均神経活動を比較した。53 個の decrease-type neuron のうち Deliberate 条件では対側にターゲットが提示された時に 15 個 (28%)、同側に提示された時に 10 個 (19%) のニューロンで神経活動に有意差を認めたが、Immediate 条件では対側に提示された時が 5 個 (9%)、同側に提示された時が 2 個 (4%) のみ有意差を認めた (two-way ANOVA, $P < 0.05$, Scheffe's test, $P < 0.05$, 図 12A, C 赤丸)。集団解析では Deliberate 条件ではターゲット提示直後の NoGo 課題時の神経活動の変化はアンチサッカード課題時よりも神経活動が有意に小さいことが示されたが (paired t test, $p < 10^{-3}$ (同側)、 $p < 10^{-4}$ (対側))、Immediate 条件ではいずれの方向にターゲットが提示された時も 2 課題間の平均神経活動に有意差は認めなかった ($p = 0.32$ (対側) と $p = 0.29$ (同側))。このことから decrease-type neuron は選択的なサッカードの抑制に関与している可能性が示唆された (図 3)。increase-type neuron のように、decrease-type neuron もまたターゲットの提示前に神経活動を、特に Deliberate のアンチサッカード課題遂行時に変化させているが (図 11A)、ターゲットが提示される直前 (500 から 1000 ミリ秒前) の安定した固視の最中にはいずれの課題、条件でも神経活動の有意な変化は認めず、視覚刺激の

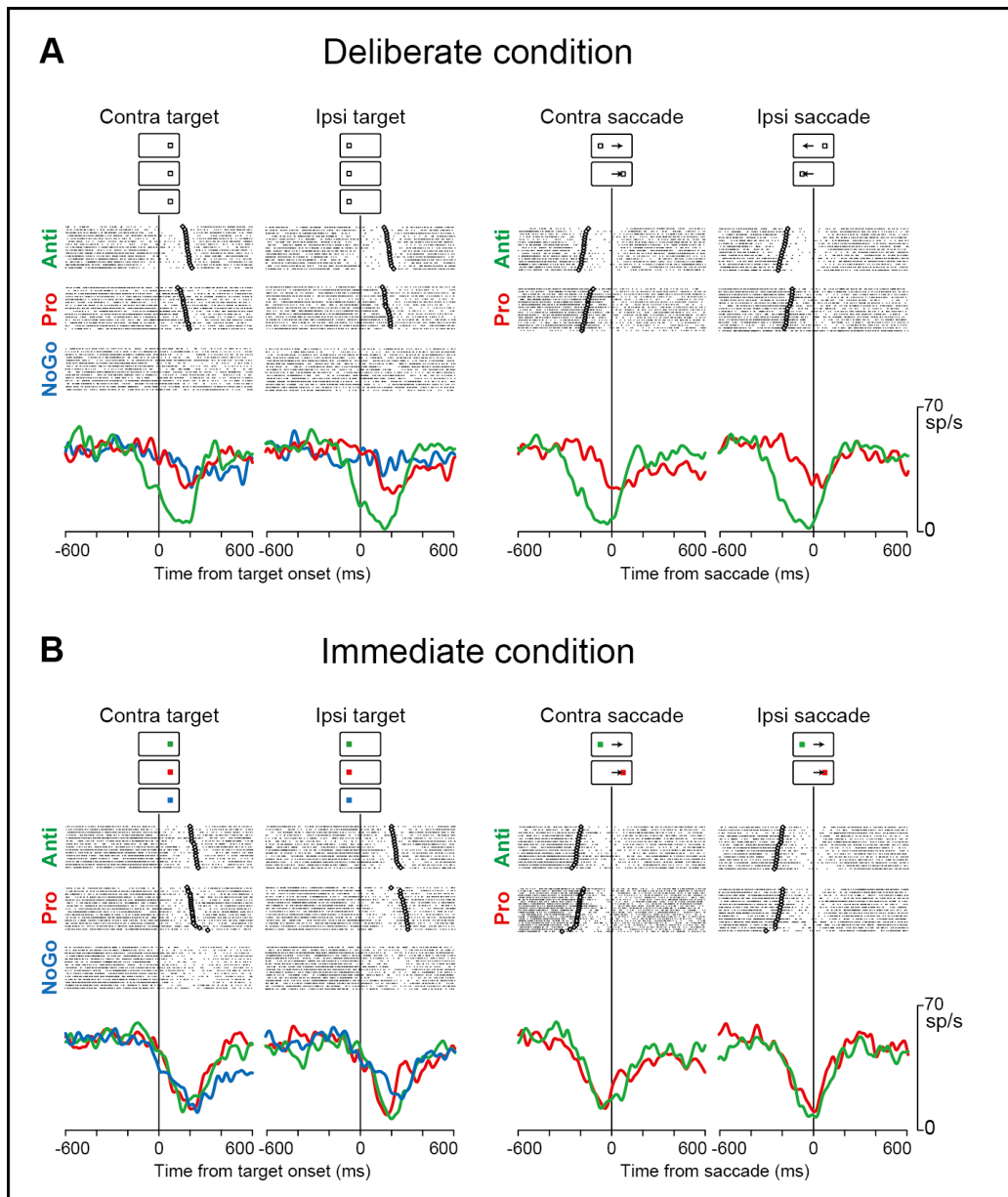


図 10 行動課題中の代表的な decrease-type neuron の神経活動の比較

(A) は Deliberate 条件、(B) は Immediate 条件を表している。詳細は図 6 と同様。

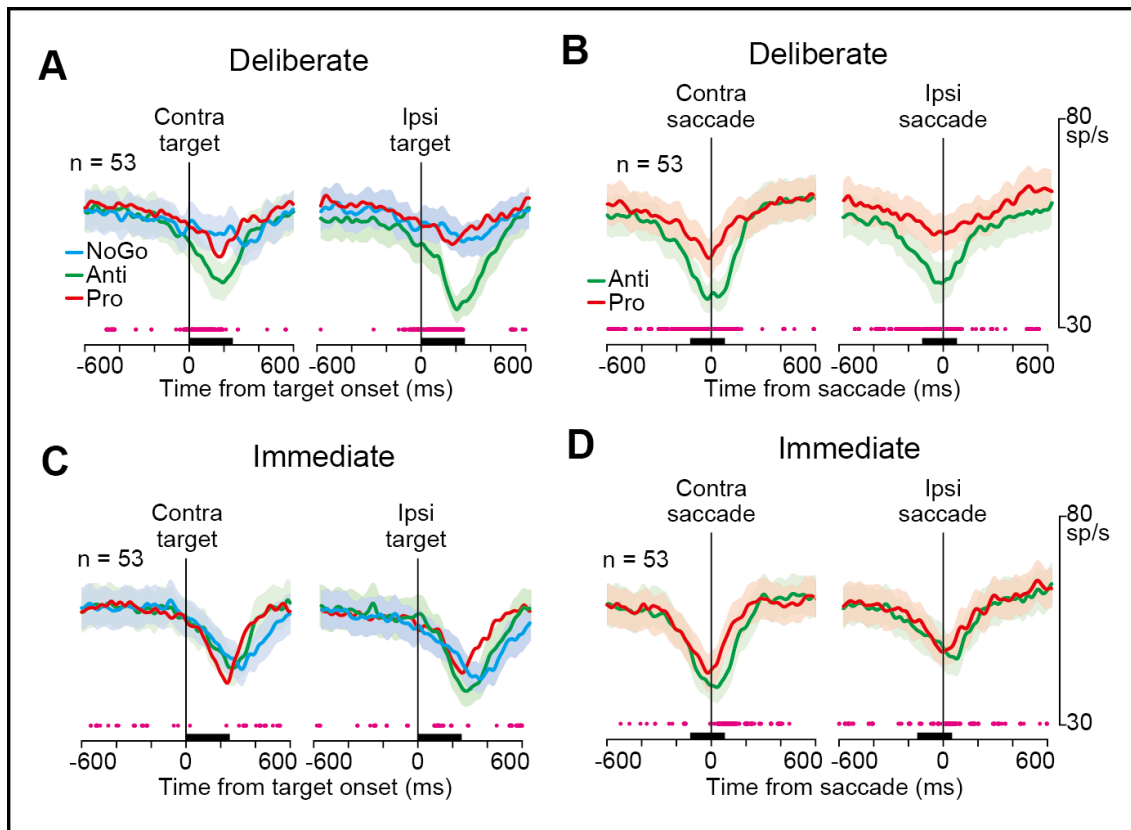


図 11 decrease-type neuron の集団神経活動

(A,B) Deliberate 条件のデータを、(C,D) Immediate 条件のデータを表している。詳細は図 7 と同様。特に Deliberate 条件での NoGo 課題時の神経活動変化は殆ど認めない (A) のに対して、Immediate 条件ではアンチサッカード遂行時と同様の神経活動の変化を示している (C)。

色の違いで神経活動が異なっているわけではないと考えられる (two-way ANOVA, $P = 0.48$)。図 10 のニューロンの例からも decrease-type neuron ではプロサッカー遂行時にも神経活動が減少しているが、すくなくとも Deliberate 条件ではアンチサッカー遂行時に比べるとプロサッカー遂行時の神経活動の変化は小さかった。図 11B と D ではそれぞれの条件下でのサッカー時の 53 個の decrease-type neuron の集団活動の時間経過を示している。以前の報告と同様に¹³、Deliberate 条件ではアンチサッカー時の神経活動の変化はプロサッカー時に比べて大きかったが (図 11B)、Immediate 条件時のアンチサッカー時とプロサッカー時の神経活動の変化は同様であった (図 11D)。サッカー関連活動を定量的に調べるため、反対側もしくは同側へのサッカーの 100 ミリ秒前からの 150 ミリ秒間 (図 11B と D での太い黒線で表されている期間) の個々のニューロンの平均発火頻度を解析した。二元配置分散分析 (two-way ANOVA) と多重比較では Deliberate 条件下では反対方向へのサッカーでは 25% ($n = 47$)、同側では 11% ($n = 21$) であり、Immediate 条件下では反対方向へのサッカーでは 27% ($n = 51$)、同側では 8% ($n = 15$) で、アンチサッカー時の神経活動とプロサッカー時の平均神経活動に有意差を認めた (unpaired t test, $P < 0.05$, 図 12B と D の赤丸)。集団解析では Deliberate 条件ではいずれの方向でもアンチサッカー時の神経活動の大きさはプロサッカー時に比べて有意に大きいことが示されたが (paired t test, $P < 10^{-3}$ (対側)、 $P < 0.05$ (同側))、Immediate 条件では有意差を認めなかった (paired t test, $P = 0.10$ (対側)、 $P = 0.86$ (同

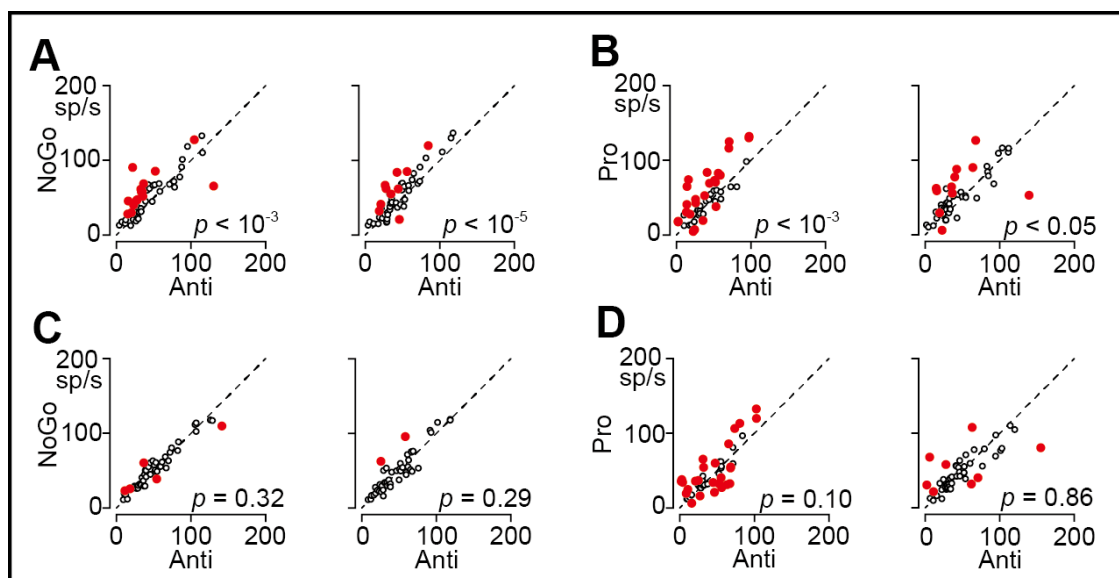


図 12 個々の decrease-type neuron の神経活動の比較

(A,B) 個々の神経細胞の Deliberate 条件でのアンチサッカード遂行時と NoGo 課題時 (A) もしくはプロサッカード遂行時 (B) の発火頻度の比較。

(C,D) 個々の神経細胞の Immediate 条件でのアンチサッカード遂行時とその他の課題との発火頻度の比較。詳細は図 8 と同様。

側))。increase-type neuron での解析 (図 9) と同様に、神経活動とサッカード潜時との相関解析を行ったが、decrease-type neuron ではいずれの条件、サッカード方向でも有意な相関を認めず、このことから decrease-type neuron はサッカードの生成には関与していないと考えられた。

Decrease-type neuron がサッカードの抑制に関与しているならば、正解時に比べてエラー時の神経活動の変化は減弱している可能性がある。Immediate 条件で NoGo 課題時に間違えてターゲットに対してサッカードしてしまった試行で解析を行ったが、ターゲット提示から 250 ミリ秒間での平均神経活動は対側と同側への間違ったサッカード時でそれぞれ 52.8 ± 4.4 スパイク数/秒 (標準偏差, $n = 15$) と 64.4 ± 5.2 ($n = 12$) であり、これらは正解時とは有意差は認められなかった (51.9 ± 4.1 と 62.2 ± 4.0 , paired t test, $P > 0.05$)。Deliberate 条件でも同様に有意差は認められなかった。おそらくは NoGo 課題時のエラー回数が非常に少なく、有意差が出なかったと思われる。

4. 考察

課題関連細胞と記録部位

今回の研究では課題に関連して神経活動を変化させる 2 種類の神経細胞を GPe で発見した。先行研究と同様に¹³、記録部位は GPe の背側領域の中でも前交連近傍の前方領域であった。これまでの解剖学的研究によれば、大脳基底核の入力部である線条体並びに視床下核は大脳皮質の広い領域から投射

を受けているが、その投射元により認知機能領域、体性感覚運動領域、辺縁系領域と分けられて考えられており、これらの領域には局在性が存在している^{9,20,24}。今回の研究の淡蒼球外節の記録部位は、背外側前頭前野ならびに内側前頭前野から投射を受けている背側尾状核や STN 腹側を介して信号を受け取っている領域であり、淡蒼球外節の認知機能領域と考えられている²²。よって今回の研究で主に神経活動記録を行った部位は単純な運動遂行よりも認知過程に関与していると考えられている^{25,26}。

神経活動に対する視覚コントラストや課題難易度の影響

GPe のほとんどの神経細胞は課題間で異なる神経活動を示した。例えば increase-type neuron の発火頻度の変化の大きさはアンチサッカードで最も大きく、NoGo 課題では最も小さかった。このような課題ルールに依存する神経活動の変化は視覚刺激のコントラストの違いによるものではない。例えば Deliberate 条件ではターゲットは常に白色であるが、ターゲットに対する反応は課題ルールにより異なった神経活動を認めた。また、Deliberate 条件では固視点の色は異なっているが、安定してサルが固視している間（ターゲットが提示される 100 から 500 ミリ秒前）では課題間では神経活動に違いを認めなかった。以上のことから視覚刺激のコントラストの違いが神経活動の変化に影響を与えている可能性は否定的と考えられた。

また、課題ルールによる神経活動の変化は課題の難しさを反映している可能性がある。3 つの課題で課題の難易度を合わせることは現実的には不

可能であるが、実験結果からは課題ルールによる神経活動の変化が単に課題の難しさだけによるものではないことが示唆されていた。例えば **decrease-type neuron** は **Immediate** 条件では課題間で同程度の神経活動の変化を示し、さらに、**Immediate** 条件でのすべての課題は **Deliberate** 条件での課題よりもより難しいはずだが、**increase-type neuron**、**decrease-type neuron** いずれでも 2 つの条件間での神経活動の変化は同様であった（図 7、図 11）。したがって、課題ルールによる神経活動の変化は視覚刺激コントラストの違いや課題の困難さを反映しているのではなく、行動の制御に必要な神経信号を反映していると考えられた。

GPe のサッカード信号の起源

GPe はこれまで間接路の一部と考えられ、線条体からの信号を受け、抑制性の出力として視床下核に信号を送っているとされてきた（図 13 の左から 2 番目のパネル）。線条体の神経細胞の発火頻度が比較的低いこと^{27,28}や線条体から GPe へは GABA 作動性の投射を送っていることを考えると、GPe の神経細胞は行動の際には神経活動を減少させると考えられるが、今回の実験ではアンチサッカードの遂行時に神経活動を変化する神経細胞を数多く発見したが、その半数以上は神経活動を増加させる **increase-type neuron** であった。この結果は以前から報告されている体性感覚運動に関連する GPe の神経活動記録の研究と一致している¹⁰。

サッカード時に増加する GPe ニューロンの活動はどのように生成さ

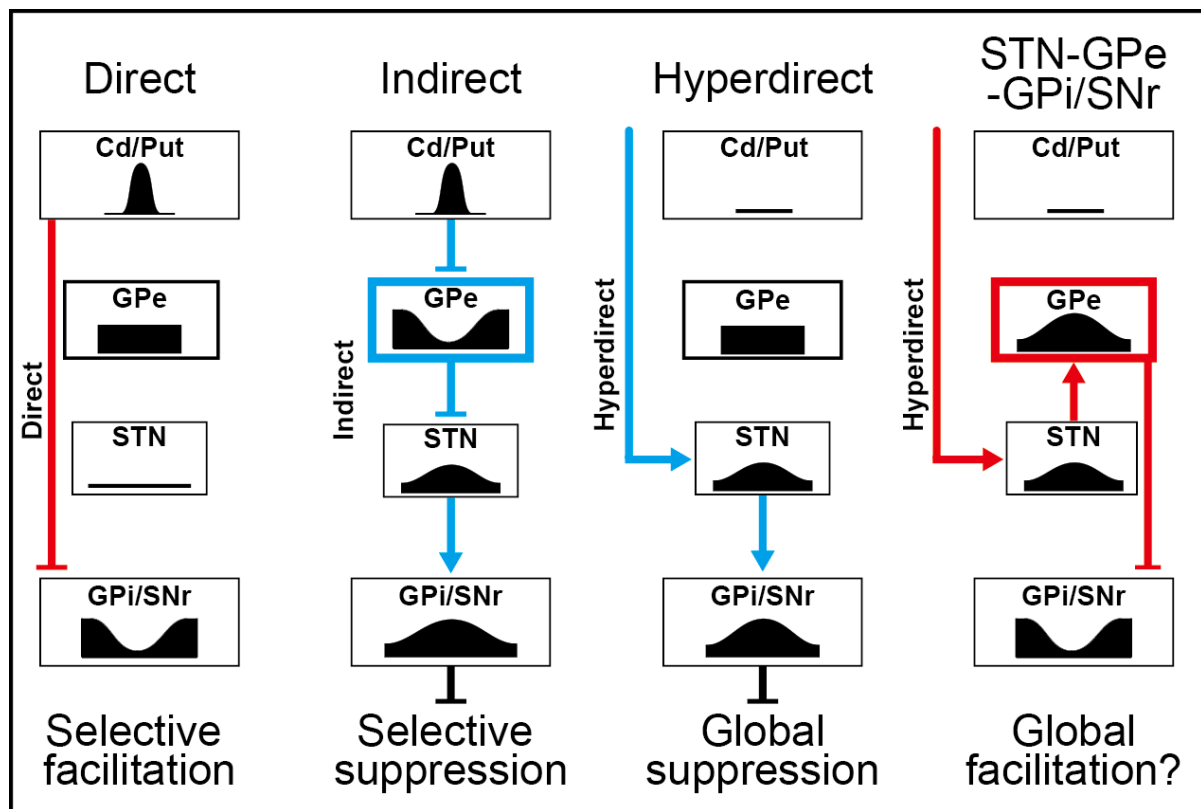


図 13 これまでに提唱されている大脳基底核経路と今回新たに提唱する基底核経路

それぞれの四角い囲いの中の図はサッカード時にどのような神経活動の変化が起きているかを模式図で表している。decrease-type neuron は間接路を介して Cd から直接的な投射を受けているのに対して、increase-type neuron は皮質-STN-GPe 経路を介して信号を受けている可能性がある。間接路やハイパー直接経路は反射的なサッカードを抑制し、直接路や皮質-STN-GPe 経路は随意的なサッカードを促進し、これらの経路はそれぞれ選択的な促進、または全体的な促進に関与しているのかもしれない。Cd, 尾状核; GPi, 淡蒼球内節; SNr, 黒質網様部; STN, 視床下核。

れるのであろうか。GPe は大脳基底核の多くの核より投射を受けており、いくつかの機序が考えられる。例えば、線条体から GPe への抑制の一過性の遮断や GPe 内での側方抑制解除、線条体-GPe-STN-GPe という経路を介したフィードバック経路など（図 2）が increase-type neuron に見られる神経活動の増加の起源である可能性が考えられる。しかし、先行研究では大脳皮質刺激後に観察される GPe 神経細胞の興奮性の活動は大脳皮質-STN-GPe 経路を介して生成されていることが示されている^{29,30}。また、最近では随意運動遂行時に GPe の神経活動が増加する際、その多くはグルタミン酸による興奮性の入力によるものであるのに対して、神経活動の減少は GABA による抑制性の投射を反映していることが報告されている³¹。また、解剖学的研究によって increase-type neuron は STN からグルタミン酸による興奮性入力を受けている可能性が示唆されている³²。STN は大脳皮質から直接入力を受けており^{33,34,35}、「ハイパー直接経路」を形成することで黒質網様体（SNr）や淡蒼球内節（GPi）の神経活動を上昇させている^{36,37}（図 13）。最終的には上丘（SC）や視床の神経活動を抑制するハイパー直接経路に加えて³、GPe の神経細胞は SNr や GPi に直接投射し³⁶、脱抑制の機序により SC や視床での神経活動を促進している可能性がある（図 13）。したがって、GPe での異なるタイプの神経活動は異なる機序から生じているのかもしれない。

GPe を介した 2 つの異なる経路の役割

GPe の異なる 2 種類の神経細胞が介在する経路の役割はなんであろうか？以

前の研究では行動の異なる側面を、それぞれの大脳基底核の経路が制御していることが示唆されている。例えば大脳基底核の直接路は目的とする行動の生成に関与すると考えられ³⁸、尾状核、黒質網様部、上丘の神経細胞は視覚誘導性サッカードと比較して記憶誘導性サッカード遂行時のほうが神経活動は大きいことが示されている^{39,40,41}。アンチサッカード遂行時に直接路の神経活動の変化が大きいことはこれまでに報告されており^{42,43}、これらの信号はアンチサッカードの生成に因果関係があることが示されている⁴³。アンチサッカード遂行時の尾状核の神経活動から **Watanabe** らは対側へのサッカードに対してより大きな神経活動の変化を示す **Cd** の神経細胞は直接路を介してアンチサッカードの生成を促進させ、同側へのサッカード時に神経活動を大きく変化させる神経細胞は間接路を介して反射性サッカードを抑制しているとの仮説を提唱している^{44,45}。この仮説に従えば、今回の研究で発見された **GPe** の **decrease-type neuron** は **Cd** から随意性運動の信号を受け取り、対側方向への反射性サッカードの抑制を行っているのかもしれない。一方で、**increase-type neuron** の神経活動とアンチサッカードの反応潜時の間にはいずれの条件下でも有意な負の相関関係を認め（図 9）、このことから **Cd** の神経細胞が対側方向へのサッカードでより大きな神経活動の変化を示すように^{28,46}、**GPe** の **increase-type neuron** がサッカードの生成の促進に関与していることが示唆される。しかし、残念ながら今回の研究からはこのような **GPe** の神経細胞が **Cd** の随意運動遂行に関与する神経細胞とどのような関係にあるのかはわからない。一つの可能性としては直接路と皮質

-STN-GPe-SNr/GPi 経路がともに SNr や GPi の神経細胞を抑制することで結果として下流の構造に対して脱抑制を起こしているのかもしれない(図 13)。

これに関連して、Isoda と Hikosaka はサルが反射的なサッカードから随意的なサッカードに切り替える際に腹側の STN には 2 つのタイプの神経細胞があることを発見している。その内の一つのタイプの神経細胞は行動を切り替える際に一過性の活動を示し、もう一方は反射的なサッカードを抑制する際に活動していた (no-go 関連神経細胞)。今回の研究での GPe の increase-type neuron は前者と関連があり、これらの神経細胞は随意的なサッカードの促進に関与している可能性がある⁴⁷。これに一致して、アンチサッカード遂行時に比べると活動は小さいものの increase-type 神経細胞はプロサッカード遂行時にも神経活動を変化させていた(図 7)。GPe の increase-type neuron による信号は全体としてアンチサッカードおよびプロサッカードといったサッカード全体を促進させているのかもしれないが、アンチサッカード遂行時に、より強く関与しているのかもしれない。逆に GPe の decrease-type neuron や STN の no-go 関連細胞は反射的なサッカードの抑制に関与しているのかもしれない。将来的にはこれらの仮説は異なる GPe の経路を薬理的に操作することで検証される可能性がある。

運動の全体的抑制と選択的抑制

GPe の信号がどのように必要としない運動を抑制しているのかを調べるために 2 つの異なる条件で NoGo 課題を用いた。Deliberate 条件では NoGo 課題で

サルは視覚刺激に対して単純に無視すればよいだけであるが、Immediate 条件では課題のルールを正しく認識するためには提示されたターゲットに対して注意を向けなければならない。したがって、Deliberate 条件に比べて Immediate 条件では反射的なサッカードを抑制することはより選択的であるはずである（図 4）。今回の実験結果からは、NoGo 課題遂行時の decrease-type neuron の神経活動の変化の大きさは Immediate 条件ではアンチサッカード遂行時の神経活動の変化と同様であったが、Deliberate 条件では NoGo 遂行時にわずかに変化するのみであった。これらの結果から、GPe の decrease-type neuron が関与する間接路は、不要な行動を選択的に抑制することに関与している可能性が示唆された。これは、間接路やハイパー直接経路がそれぞれ選択的抑制と全体的抑制に関与しているとする最近の仮説ともよく合致する^{16,17}。これを証明するためには、GPe のそれぞれのタイプの神経細胞がアンチサッカード生成時にどのように関与しているかの因果関係を調べるためにはさらなる研究が必要である。例えば GPe の increase-type neuron の神経活動は視床下核からの興奮性の投射により生じていると考えられるが、この興奮性投射を遮断するためにグルタミン酸作動性 NMDA (N-methyl-D-aspartate) 型受容体のアンタゴニストである CPP や AMPA 型受容体のアンタゴニストである NBQX を課題関連神経活動が記録された部位に局所注入することでどのような行動変化を観察する方法が考えられる。我々の仮説では increase-type neuron は行動の全体的な促進に関与すると考えているため、この仮説が正しければ反応潜時が全体に遅くなると考えられる。逆に

decrease-type neuron は線条体から GABA 受容体を介して抑制性の投射を受け、選択的な行動の抑制に関与していると考えているが、GABA-A 受容体のアンタゴニストである Gabazine を局所注入し、選択的な抑制ができず、指標に対して反射的なサッカードが生じれば我々の仮説が正しいことが証明されることが考えられる。

総括および結論

GPe は大脳基底核を構成する核の一つであり、広く受入れられている大脳基底核経路のモデルでは間接路の一部に位置付けられている。この仮説によれば、運動時に GPe ニューロンは活動を減少させると考えられるが、これまでの神経生理学的研究によって実際は多くのニューロンが活動を増加させることが報告されている。しかし、そうした GPe の神経活動の機能的意義は明らかにされていない。本研究では眼球運動を行動指標として、antisaccade 課題、prosaccade 課題 NoGo 課題といった行動課題と deliberate 条件と immediate 条件という 2 つの刺激提示条件を用いて 2 種類の GPe ニューロンの役割を検証した。その結果、2 種類の GPe ニューロンが NoGo 課題やアンチサッカード課題で異なった活動変化を示し、increase-type neuron ではいずれの条件でも antisaccade 課題時により大きく神経活動を変化させることからサッカードの促進に関与し、decrease-type neuron では immediate 条件にて antisaccade 課題時と prosaccade 課題時に同様の神経活動の変化を認めたことから反射的なサッカードの選択的な抑制に関与していることが示唆された。また、increase-type neuron は皮質-STN-GPe-SNr/GPi 経路から信号を受けていると考えられ、この経路はこれまでに提唱されてきた大脳基底核の直接路、間接路、ハイパー直接経路と並列に機能している可能性がある。

Albin や DeLong らが直接路、間接路といった大脳基底核回路のモデルを提唱して約 25 年が経過した。このモデルはこれまで広く受入れられ、大脳基底核の機能や基底核疾患の病態の多くが説明できるとされてきたが、

最近の解剖学・生理学的研究からはこのモデルに合致しない現象が数多く報告され、基底核疾患の症状でもこのモデルで説明できないものがあるため、近年ではその見直しが図られている。今回の研究結果は **GPe** が間接路の一部にすぎないといったこれまでの考えに矛盾するものであり、直接路、間接路、ハイパー直接経路といった経路に加えて皮質-STN-GPe-SNr/GPi といった経路が存在している可能性が示唆された。ただし、今回の研究結果は神経活動の観察および解析のみから得られたものであり、今後は神経活動と行動の因果関係を示すために薬剤の局所注入実験や局所電気刺激実験による検証が必要となる。また、今回はニホンザルを用いた基礎実験を行ったが、ヒトの脳機能やその病態を解明するためには臨床研究が不可欠である。今回の研究のように侵襲的な手法をヒトに用いることは不可能であるが、私は現在、放射線科診断科医として診療に従事するとともに脳画像を用いた臨床研究を進めており、今後は **MRI** を用いて今回得られた結果を検証していきたいと考えている。例えば神経活動は脳機能画像（functional MRI）、解剖学的連絡は拡散テンソル画像を用いて解析することが可能であり、病態解明を含めた臨床応用に繋げていきたい。また、現在パーキンソン病などの治療に脳深部刺激が用いられているが、その詳細な機序は解明されていない。近い将来、基底核経路や機能を明らかにすることで脳深部刺激の機序を解明し、より適切な刺激方法を提案することができると期待される。

謝辞

本学位論文を作成するにあたり、多くの方々にご協力いただきました。特に、田中真樹先生には、学部生時から大学院博士課程に至るまで研究方法のみではなく、研究に対する姿勢など多くを学ばせていただきました。心より感謝いたします。鈴木真理さん、森智子さんには動物の管理や手術の補助といったサポートをしていただきました。最後に、研究に関して様々な助言をいただきました神経生理学分野のすべての皆様に感謝いたします。この研究は、文部科学省と日本学術振興会からの支援を受けて行われました。

引用文献

1. Albin, R.L., Young, A.B. & Penney, J.B. The functional anatomy of basal ganglia disorders. *Trends Neurosci.* 12,366-375 (1989).
2. DeLong, M.R. Primate models of movement disorders of basal ganglia origin. *Trends Neurosci.* 13,281-285 (1990).
3. Nambu, A., Tokuno, H. & Takada, M. Functional significance of the cortico-subthalamo-pallidal 'hyperdirect' pathway. *Neurosci. Res.* 43,111-117 (2002).
4. Wichmann, T., DeLong, M.R., Guridi, J. & Obeso, J.A. Milestones in research on the pathophysiology of Parkinson's disease. *Mov. Disord.* 26,1032-1041 (2011).
5. Brochie, P., Iansek, R. & Horne, M.K. Motor function of the monkey globus pallidus. 1. Neuronal discharge and parameters of movement. *Brain.* 114,1667-1683 (1991).
6. Chan, C.S., Surmeier, D.J. & Yung, W.H. Striatal information signaling and integration in globus pallidus: timing matters. *Neurosignals.* 14,281-289 (2005).
7. Mitchell, S.J., Richardson, R.T., Baker, F.H. & DeLong, M.R. The primate globus pallidus: neuronal activity related to direction of movement. *Exp. Brain Res.* 68,491-505 (1987).
8. Turner, R.S. & Anderson, M.E. Pallidal discharge related to the kinematics of reaching movements in two dimensions. *J. Neurophysiol.* 77,1051-1074 (1997).

9. Shin, S. & Sommer, M.A. Activity of neurons in monkey globus pallidus during oculomotor behavior compared with that in substantia nigra pars reticulata. *J. Neurophysiol.* 103,1874-1887 (2010).
10. Goldberg, J.A. & Bergman, H. Computational physiology of the neural networks of the primate globus pallidus: function and dysfunction. *Neuroscience.* 198,171-192 (2011).
11. Hallett, P.E. Primary and secondary saccade to goals defined by instructions. *Vision Res.* 18, 1279-1296 (1978).
12. Everling, S. & Fischer, B. The antisaccade: a review of basic research and clinical studies. *Neuropsychologia.* 36, 885-899 (1998).
13. Yoshida, A. & Tanaka, M. Enhanced modulation of neuronal activity during antisaccades in the primate globus pallidus. *Cereb. Cortex.* 19,206-217 (2009).
14. Munoz, D.P. & Everling, S. Look away: the anti-saccade task and the voluntary control of eye movement. *Nat. Rev. Neurosci.* 5,218-228 (2004).
15. Abegg, M., Sharma, N. & Barton, J.J. Antisaccades generate two types of saccadic inhibition. *Biol. Psychol.* 89,191-194 (2012).
16. Majid, D.S., Cai, W., Corey-Bloom, J. & Aron, A.R. Proactive selective response suppression is implemented via the basal ganglia. *J. Neurosci.* 33,13259-13269 (2013).
17. Aron, A.R. From reactive to proactive and selective control: developing a richer model for stopping inappropriate responses. *Biol. Psychiatry.* 69,e55-68 (2011).
18. DeLong, M.R. Activity of pallidal neurons during movement. *J. Neurophysiol.* 34,414-427 (1971).

19. Haber, S.N., Lynd-Balta, E. & Mitchell, S.J. The organization of the descending ventral pallidal projections in the monkey. *J. Comp. Neurol.* 329,111-128 (1993).
20. Francois, C., Yelnik, J., Percheron, G. & Fenelon, G. Topographic distribution of the axonal endings from the sensorimotor and associative striatum in the macaque pallidum and substantia nigra. *Exp. Brain Res.* 102,305-318 (1994).
21. Francois, C., et al. Behavioural disorders induced by external globus pallidus dysfunction in primates II. Anatomical study. *Brain.* 127,2055-2070 (2004).
22. Parent, A. & Hazrati, L.N. Functional anatomy of the basal ganglia. II. The place of subthalamic nucleus and external pallidum in basal ganglia circuitry. *Brain Res. Brain Res. Rev.* 20,128-154 (1995).
23. Kato, M. & Hikosaka, O. Functional of the indirect pathway in the basal ganglia oculomotor system: visuo-oculomotor activities of external pallidum neurons. In: *Age-Related Dopamine-Deficient Disorders* (Segawa M, Nomura Y, eds) , pp 178–187. Basel: Karger. (1995).
24. Middleton, F.A. & Strick, P.L. Anatomical evidence for cerebellar and basal ganglia involvement in higher cognitive function. *Science.* 266,458-461 (1994).
25. Grabli, D., et al. Behavioural disorders induced by external globus pallidus dysfunction in primates I. Behavioural study. *Brain.* 127,2039-2054 (2004).
26. Saga, Y., et al. Representation of spatial- and object-specific behavioral goals in the dorsal globus pallidus of monkeys during reaching movement. *J. Neurosci.* 33,16360-16371 (2013).

27. Buser, P., Pouderoux, G. & Mereaux, J. Single unit recording in the caudate nucleus during sessions with elaborate movements in the awake monkey. *Brain Res.* 71,337-344 (1974).
28. Hikosaka, O., Sakamoto, M. & Usui, S. Functional properties of monkey caudate neurons. I. Activities related to saccadic eye movements. *J. Neurophysiol.* 61,780-798 (1989).
29. Nambu, A., et al. Excitatory cortical inputs to pallidal neurons via the subthalamic nucleus in the monkey. *J. Neurophysiol.* 84,289-300 (2000).
30. Kita, H., et al. Role of ionotropic glutamatergic and GABAergic inputs on the firing activity of neurons in the external pallidum in awake monkeys. *J. Neurophysiol.* 92,3069-3084 (2004)
31. Kaneko, N., et al. Glutamatergic and GABAergic control of monkey pallidal activity during performance of a motor task. *Japan Neurosci. Soc. Abstr.* 37,1.141 (2014).
32. Shink, E., Bevan, M.D., Bolam, J.P. & Smith, Y. The subthalamic nucleus and the external pallidum: two tightly interconnected structures that control the output of the basal ganglia in the monkey. *Neuroscience.* 73,335-357 (1996).
33. Nambu, A., Takada, M., Inase, M. & Tokuno, H. Dual somatotopical representations in the primate subthalamic nucleus: evidence for ordered but reversed body-map transformations from the primary motor cortex and the supplementary motor area. *J. Neurosci.* 16,2671-2683 (1996).
34. Inase, M., et al. Corticostriatal and corticosubthalamic input zones from the presupplementary motor area in the macaque monkey: comparison with the input zones from the supplementary motor area. *Brain Res.* 833,191-201 (1999).

35. Kelly, R.M. & Strick, P.L. Macro-architecture of basal ganglia loops with the cerebral cortex: use of rabies virus to reveal multisynaptic circuits. *Prog. Brain Res.* 143,449-459 (2004).
36. Smith, Y., Hazrati ,L.N. & Parent, A. Efferent projections of the subthalamic nucleus in the squirrel monkey as studied by the PHA-L anterograde tracing method. *J. Comp. Neurol.* 294,306-323 (1990).
37. Parent, A. & Hazrati, L.N. Functional anatomy of the basal ganglia. I. The cortico-basal ganglia-thalamo-cortical loop. *Brain Res. Brain Res. Rev.* 20,91-127 (1995).
38. Hikosaka, O., Takikawa, Y. & Kawagoe, R. Role of the basal ganglia in the control of purposive saccadic eye movements. *Physiol. Rev.* 80,953-978 (2000).
39. Hikosaka, O. & Wurtz, R.H. Visual and oculomotor functions of monkey substantia nigra pars reticulata. I. Relation of visual and auditory responses to saccades. *J. Neurophysiol.* 49,1230-1253 (1983).
40. Hikosaka, O. & Wurtz, R.H. Visual and oculomotor functions of monkey substantia nigra pars reticulata. III. Memory-contingent visual and saccade responses. *J. Neurophysiol.* 49,1268-1284 (1983).
41. Shires, J., Joshi, S. & Basso, M.A. Shedding new light on the role of the basal ganglia-superior colliculus pathway in eye movements. *Curr. Opin. Neurobiol.* 20,717-725 (2010).
42. Ford, K.A. & Everling, S. Neural activity in primate caudate nucleus associated with pro- and antisaccades. *J. Neurophysiol.* 102,2334-2341 (2009).

43. Watanabe, M. & Munoz, D.P. Saccade suppression by electrical microstimulation in monkey caudate nucleus. *J. Neurosci.* 30,2700-2709 (2010).
44. Watanabe, M. & Munoz, D.P. Neural correlates of conflict resolution between automatic and volitional actions by basal ganglia. *Eur. J. Neurosci.* 30,2165-2176 (2009).
45. Watanabe, M. & Munoz, D.P. Presetting basal ganglia for volitional actions. *J. Neurosci.* 30,10144-10157 (2010).
46. Lau, B. & Glimcher, P.W. Action and outcome encoding in the primate caudate nucleus. *J. Neurosci.* 27,14502-14514 (2007).
47. Isoda, M. & Hikosaka, O. Role for subthalamic nucleus neurons in switching from automatic to controlled eye movement. *J. Neurosci.* 28,7209-7218 (2008).