

氏 名 坂 谷 智 也

学位 (専攻分野) 博士(理学)

学 位 記 番 号 総研大甲第777号

学位授与の日付 平成16年3月24日

学位授与の要件 生命科学研究科 生理科学専攻

学位規則第4条第1項該当

学 位 論 文 題 目 Development of the high-speed video-
oculographic system and its application
to the study on the saccadic eye movements
in mice

論 文 審 査 委 員 主 査 教授 小松 英彦
教授 伊佐 正
教授 重本 隆一
教授 平野 丈夫 (京都大学)

Due to the increasing use of transgenic and knockout mice in neuroscience research, it is urgently necessary to develop the technique for quantitative measurement of behaviors in mice. The video-oculography is often used to measure the eye movements of mice, but due to its limitation in temporal resolution, its use was limited to analysis of slow eye movements such as vestibuloocular reflex and optokinetic responses. As a result, rapid eye movements such as saccades have not been properly analyzed in mice as yet. To overcome such difficulties, he has newly developed a video-oculography system with high temporal resolution (240 Hz) by combining high speed CCD camera with image processing software written in LabVIEW run on IBM-PC. By this recording system, the dynamic characteristics of the rapid eye movements (saccades) in alert, head-fixed mice (C57BL/6 strain) were investigated.

Mice spontaneously made rapid eye movements in the dark at the frequency of the several per minute with mean amplitude of 9 degrees mainly in horizontal direction. The peak velocity of saccades increased almost linearly against the saccadic amplitude with slope of 54 / sec, whereas the saccadic duration saturated at the level of 60 msec against larger saccades.

These saccade-like rapid eye movements could be induced by the electrical stimulations of the intermediate and deep layers of the SC in a head-fixed condition. Suprathreshold current stimulus evoked mainly contraversive saccades having a roughly constant vector depending on the stimulus sites in the SC. The amplitude and the direction of evoked saccades highly depended on the initial eye position in the orbit as well as on the stimulus sites in the SC, and evoked saccades were goal-directed in mice, suggesting that eye position signals might strongly affect the dynamics of saccades in this species. Though, most sites in the SC yielded contraversive characteristic saccades, from the antero-medial region, where the visual representation of the superficial layer shared the same location in the visual field with the opposite SC, ipsiversive saccades could be induced.

For further investigation of the mechanisms underlying saccades, especially molecular mechanisms of saccade generator circuitry, the dynamic characteristics of both the spontaneous and the electrically induced saccades were examined in mice lacking a GABA-synthesizing enzyme, glutamic acid decarboxylase (GAD) 65, and a functional role of the inhibitory neurotransmitter gamma-amino butyric acid (GABA) in the saccadic system was analyzed. The peak velocity of the saccadic eye movements was significantly higher and the amplitude of saccades tended to be smaller in GAD65 knockout mice than those in wild-type animals. Moreover, significant increase in fluctuations was observed in the eye position after the termination of saccades in the GAD65 knockout mice. Prolonged electrical stimulation of the SC often evoked oscillation-like eye movements after saccades in the mutant mice. Computer simulations based on the control system model with a negative feedback loop could attribute these experimental results to the increase in the efficacy of feedback loop in the saccade generator circuitry in the downstream of the SC in GAD65 knockout mice. These results support the hypothesis that the neural system underlying the saccade generation consists of a feedback loop, and suggest that GABA plays an

important role in stabilizing the saccade control system in the downstream of the SC.

The results presented in this study show that the newly developed video-oculographic system provides a powerful tool for analyzing dynamic characteristics of saccadic eye movements in mice. Furthermore, this study will provide a fundamental knowledge to study molecular basis of the oculomotor and, moreover, cognitive functions by using various lines of mutant mice.

論文の審査結果の要旨

申請者の研究は、マウスの眼球運動を高精度にリアルタイムで計測する技術を開発し、この技術を用いてマウスの急速眼球運動の特性を明らかにし、眼球運動制御に関わる神経回路の性質を明らかにすることを試みたものである。申請者はまずマウスの瞳孔を CCD カメラで撮影し、輪郭を抽出して、眼球の角度を 1° の精度で毎秒240コマという高速で on-line 計測するシステムを開発した。このシステムはこれまでマウスの眼球位置測定に用いられてきた方法に比べ、設置が容易であるにも関わらず高速かつ高精度を実現しているすぐれたシステムである。このシステムを用いて、申請者は自発サッケードおよび上丘を微小電気刺激して生じるサッケードの特性を詳細に調べた。その結果、眼球運動速度の時間経過はベル型を示すと共に、振幅と最大速度の間には強い正の相関関係があることがわかった。このような特性はサッケードの特性および制御系が詳しく調べられている霊長類と同様であり、サッケード制御に関わる神経回路がこれらの種の間で共通していることを示唆する。また上丘の各部の刺激によって生じるサッケードの方向や大きさは異なっており、上丘にはサルやネコと類似の眼球運動に関する地図が存在すること、ただし内側吻側部の刺激では刺激側と同じ方向へのサッケードが誘発される点はこれらの種と異なっていることが明らかになった。さらに申請者は抑制性神経伝達物質である GABA の合成酵素の一つである GAD65 の遺伝子を欠損したマウスの眼球運動を調べた。その結果、これらのマウスではサッケードの振幅が野生型のマウスに比べて小さく、かつサッケード終了時に眼球位置の振動が起きることが示された。これらの特性はサッケード眼球運動を生成する神経回路における負のフィードバックが強くなっていることを示唆する。このように本研究はさまざまな遺伝子操作が可能であるマウスにおいて、重要な行動指標であるサッケード眼球運動の計測を初めて可能にしたものであり、大きな意義を有している。また実際にこの方法を用いてマウスのサッケード眼球運動制御系の性質についても重要な知見が得られた。これらのことから申請者の論文は学位論文として十分にふさわしい内容であるものと審査委員会の委員全員一致で判定した。

学問的背景や今後の展望についてさらに口頭試問を行ったが、いずれに対する応答も満足すべきものであった。本論文は英語で書かれており、また本研究の一部は申請者を筆頭著者とする英文論文で専門の学術誌に採択されていることから、英語力も十分なものであると判定した。以上、総合的に判断し学位を取得するに足る水準に十分に達しているものと判断した。