

氏 名 高原 大輔

学位（専攻分野） 博士（理学）

学位記番号 総研大甲第 1440 号

学位授与の日付 平成 23 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 6 条第 1 項該当

学位論文題目 Organization of multisynaptic pathways from the
inferior temporal cortex to the dorsal premotor cortex
in macaques

論文審査委員 主 査 教授 伊佐 正
教授 南部 篤
教授 川口 泰雄
教授 高田 昌彦 京都大学
教授 蔵田 潔 弘前大学

(1) 研究の背景

我々が日常的に生活するうえで、視覚的に「知覚」し、それと連合した「動作」を適切に選択しなければならない。このように、視覚情報に基づいてそれと連合した運動情報を選択する情報処理を通常「条件付き視覚運動変換」と呼ぶ。この変換過程においては、知覚情報処理と動作選択という異なる2つのシステムを統合する必要があるため、大脳皮質連合野の機能的関与が必須であると考えられる。特に、その構造基盤については、複数のシナプスを介した大規模な神経ネットワークが関与している可能性が高く、従来の単シナプス性神経トレーサーによる解剖学的手法では解析することが困難であった。そこで本研究では、新たに導入された越シナプス性神経トレーサーである狂犬病ウイルスを用いてこの問題を克服することにより、条件付き視覚運動変換の構造基盤を解明することを目的とした。視覚物体の「知覚」には、側頭連合野の一部である下側頭皮質 (IT) が中心的な役割を果たすことがよく知られている。他方、動作選択には、前頭連合野に属する高次運動野が重要な役割を担っていると考えられるが、これまでの研究により、ブロードマンの6野に当たる背側運動前野 (PMd) が深く関与していることが明らかにされてきた。

しかしながら、単シナプス性神経トレーサーを用いた先行研究によると、PMdがITから直接入力を受け取らないことは明らかであり、両者がどのような経路を介して情報を伝達しているかについては依然として不明である。本研究では、以下の4つの理由から前頭前野を介する経路に注目した。①前頭前野、特にその腹側部 (PFv) はITから入力を受ける (Ungerleiderらによる報告)。②前頭前野は運動前野に出力を送る (Takadaらによる報告)。③PFvの損傷により条件付き視覚運動変換の学習に遅延が生じる (Wiseらによる報告)。④前頭前野において視覚情報と運動情報の両方を併せ持つ細胞活動が検出される (Millerらによる報告)。すなわち、出願者たちはITからPFvを経由してPMdに至る複数のシナプスを介した神経ネットワークが存在するという作業仮説を立て、これを検証するため、狂犬病ウイルスによる逆行性越シナプス性ニューロンラベルを含む先端的な神経解剖学的手法を用いて研究を行った。

(2) 実験方法と結果

注入部位：Hoshiらの先行研究によって、サルのPMdのうち弓状溝の genu から3mm 吻側にかけての領域に、視覚指示に基づく動作選択を反映する細胞活動が多数見出されたので、この領域をトレーサーの注入部位に選んだ。この領域はMatelliらの研究によるF2領域の吻側部に相当するので、本研究ではここをF2rと呼ぶことにする。

実験1：まず、F2rに直接入力している領域を同定するため、逆行性蛍光色素であるFast blue (FB) を2頭のニホンザルのF2rに注入した。その結果、前頭前野の背側部 (PFd; 特に8, 9, 46野背側部)、

F7 領域 (Matelli らの研究による)、前補足運動野 (pre-SMA) に強いラベルがみとめられた。このことから、F2r は PFd, F7, pre-SMA から直接入力を受けることが明らかになった。

実験 2 : F2r への多シナプス性入力を解析するため、狂犬病ウイルスを 1 頭のアカゲザルと 1 頭のニホンザルの F2r に注入した。狂犬病ウイルスは、注入後約 3 日で 2 シナプス性に結合した二次ニューロン、約 4 日では 3 シナプス性に結合した三次ニューロンまで感染が及ぶことが報告されている。ここでは、F2r に狂犬病ウイルスを注入して 3 日後に灌流固定を行うことにより、二次ニューロンまで感染させることを可能にした。抗ウイルス抗体を用いて作製した脳標本を免疫染色し、逆行性にラベルされた細胞体の局在分布を解析した結果、F2r に直接投射する PFd, F7, pre-SMA に多数のニューロンラベルが確認されるとともに、PFv (特に 45 野) にもニューロンラベルがみとめられた。すなわち、PFv がこれらの一次領域を介して 2 シナプス性に F2r に投射する二次領域であることが明らかになった。

実験 3 : 実験 1 と実験 2 の結果を併せると、PFv から F2r に至る神経路が PFd, F7, pre-SMA のうち少なくとも 1 つを経由する可能性が示唆された。そこで、このことを確認するため、逆行性および順行性の二重標識実験を実施した。2 頭のニホンザルにおいて、F2r に FB を注入し、さらに、実験 2 で二次領域であると同定された PFv (特に 45 野) に biotinylated dextran amine (BDA) を注入した。3 週間の生存期間の後、FB でラベルされた細胞体と BDA でラベルされた線維終末の分布様式を解析した。その結果、F2r に投射している細胞体と PFv から入力する線維終末が、PFd (特に 8, 9, 46 野背側部)、F7、および pre-SMA のそれぞれでオーバーラップすることが観察され、このことから PFv から F2r への 2 シナプス性投射がこれらの領域を経由することが確認された。

実験 4 : 実際に F2r が IT から多シナプス性入力を受けていることを明らかにするため、2 頭のニホンザルの F2r に狂犬病ウイルスを注入し、4 日後に灌流固定を行うことにより、三次ニューロンまで感染させることを可能にした。その結果、一次および二次領域に多数のニューロンラベルが観察されるとともに、IT にも逆行性にラベルされたニューロンが分布していた。特に、上側頭溝 (STS) の fundus から lower bank にかけて強いラベルがみとめられた。従って、この領域が一次および二次領域を介して 3 シナプス性に F2r に投射する三次領域であることが明らかになった。さらに、実験 3 で PFv に注入された BDA によって逆行性にラベルされたニューロンの分布を側頭葉において解析したところ、F2r への狂犬病ウイルスの注入結果と同様に、STS の fundus から lower bank にかけて局在することが確認された。また、BDA でラベルされた細胞 (実験 3) と狂犬病ウイルスでラベルされた細胞 (実験 4) のいずれもが主に 3 層、他に 5、6 層に分布していることがわかった。すなわち、IT から F2r に至る神経路が PFv (特に 45 野) を介することが示された。

(3) まとめ

本研究の結果は、IT から PMd に至る多シナプス性神経路として、IT(STS 領域)→PFv(45 野)→PFd, F7, pre-SMA→PMd(F2r)という経路が存在することを明らかにした。このことから、これらの中継領域が条件付き視覚運動変換に特異的に関与すること、ならびに、条件付き視覚運動変換の神経メカニズムが物体知覚から運動選択に至るまでの階層的な情報伝達システムにより実現されることが示唆された。以上の成果に基づいて、今後新たな視点から条件付き視覚運動変換の神経メカニズムとその異常に関する研究が進展することが期待される。

博士論文の審査結果の要旨

我々が日常的に生活するうえで、視覚的に「知覚」し、それと連合した「動作」を適切に選択することは重要である。このように、視覚情報に基づいてそれと連合した運動情報を選択する情報処理を通常「条件付き視覚運動変換」と呼ぶ。この変換過程の構造基盤については、複数のシナプスを介した大規模な神経ネットワークが関与している可能性が高く、従来の解剖学的手法では解析することが困難であった。

視覚物体の「知覚」には、側頭連合野の一部である下側頭皮質（IT）が中心的な役割を果たすことがよく知られている。他方、動作選択には、これまでの研究により、ブロードマンの6野に当たる背側運動前野（PMd）が深く関与していることが明らかにされてきた。しかしながら、単シナプス性神経トレーサーを用いた先行研究によると、PMdがITから直接入力を受け取らないことは明らかであり、両者がどのような経路を介して情報を伝達しているかについては依然として不明である。

本研究では、以下の4つの理由から前頭前野を介する経路に注目した。①前頭前野、特にその腹側部（PFv）はITから入力を受ける（Ungerleiderらによる報告）。②前頭前野は運動前野に出力を送る（Takadaらによる報告）。③PFvの損傷により条件付き視覚運動変換の学習に遅延が生じる（Wiseらによる報告）。④前頭前野において視覚情報と運動情報の両方を併せ持つ細胞活動が検出される（Millerらによる報告）。

今回出願者は、ITからPFvを経由してPMdに至る複数のシナプスを介した神経ネットワークが存在するという作業仮説を立て、これを検証するため、狂犬病ウイルスによる逆行性越シナプス性ニューロンラベルを含む先端的な神経解剖学的手法を用いて研究を行った。注入後の生存期間に依存して越シナプス的に神経細胞をラベルする狂犬病ウイルスをマカクザルのPMd（F2r）に注入し、さらに別個体で従来の単シナプス性トレーサーをマカクザルのF2rと腹側前頭前野（PFv）に注入し、下側頭皮質（IT）から腹側前頭前野（PFv）を介してF2rに至る多シナプス性神経経路の解析を行った。

その結果、ITからPMdに至る多シナプス性神経経路として、IT(STS領域)→PFv(45野)→PFd, F7, pre-SMA→PMd(F2r)という経路が存在することを明らかにした。このことから、これらの中継領域が条件付き視覚運動変換に特異的に関与すること、ならびに、条件付き視覚運動変換の神経メカニズムが物体知覚から運動選択に至るまでの階層的な情報伝達システムにより実現されることが示唆された。

上記の結果は、条件付き視覚運動変換の構造基盤に新たな知見を与えるものであり、本論文は学位に値すると認める。