

44002675

大脳基底核－脚橋被蓋核投射系による
筋緊張と歩行の統合制御様式

(研究課題番号10680758)

平成10～12年度科学研究費補助金

基盤研究(C)(2)

研究成果報告書

平成13年3月

研究代表者 高草木 薫

(旭川医科大学・医学部助教授)

は し が き

平成10年度から文部省科学研究費補助金（基盤研究C）の助成のもとに行われました『大脳基底核－脚橋被蓋核投射系による筋緊張と歩行運動の統合制御様式』は3年間の研究期間を終了し、ここに研究成果報告書をまとめることになりました。研究計画の全てが達成されたわけではありませんが、幾つかの新しい知見が得られたと考えております。報告書をまとめるにあたって各分野の専門家の先生方からの率直な御批判を頂ければ幸いです。

研 究 組 織

研究代表者；	高草木 薫	（旭川医科大学医学部生理学第2講座・助教授）
共同研究者；	幅口 達也	（旭川医科大学医学生理学第2講座・助手）
	杉本 純子	（旭川医科大学医学部生理学第2講座・助手）
	斎藤 和也	（旭川医科大学医学部生理学第2講座・助手）
研究協力者；		
	坂本 尚志	（旭川医科大学医学部生理学第2講座・教授）
	吉田 晃敏	（旭川医科大学医学部眼科学講座・教授）
	河野 透	（旭川医科大学医学部外科学第2講座・助手）
	小林 吉史	（旭川医科大学医学部耳鼻咽喉科学講座・助手）
	田中 肇	（旭川医科大学医学部小児科学講座・医員）
	原田 広文	（旭川医科大学医学部生理学第2講座・助手）
	長岡 泰司	（旭川医科大学医学部眼科学講座・大学院）
	佐藤 栄一	（旭川医科大学医学部眼科学講座・大学院）
	宋 文杰	（大阪大学工学部電子工学システム講座・助教授）
	伊佐 正	（生理学研究所・統合脳生理学講座・教授）
	今井 壽正	（順天堂大学医学部脳神経内科学講座・助教授）
	S. T. Kitai	（テネシー大学医学部解剖神経生物学講座・教授）

研 究 経 費

平成10年度	1,700 千円
平成11年度	800 千円
平成12年度	700 千円

研 究 発 表

1. 学 会 誌 等

- 1) Takakusaki, K. Reticulospinal control of interneurons in relation to the production of generalized motor inhibition in cats. Soc. Neurosci. abstr. p 915, 1998.
- 2) Takakusaki, K., Habaguchi, T., Sugimoto, J., Saitoh, K., and Sakamoto, T. Nigral innervation of the pedunculopontine tegmental nucleus (PPN) in relation to the control of postural muscle tone in cats. Neurosci. Res. (Supple 21) s 328, 1998.
- 3) Habaguchi, T., Takakusaki, K., Sugimoto, J., Saitoh, K., and Sakamoto T. Nigral innervation of the pedunculopontine tegmental nucleus (PPN) neurons that control postural muscle tone in cats. Soc. Neurosci. abstr. p 664, 1998.
- 4) Takakusaki, K., Habaguchi, T., and Sakamoto, T. GABAergic innervation of the pedunculopontine tegmental nucleus (PPN) in relation to the control of postural muscle tone in cats. Jap. J. Physiol., Vol.48, Suppl., S 498, 1998.
- 5) Habaguchi, T., Takakusaki, K., and Sakamoto, T. Neuronal mechanisms involved in postural atonia induced by stimulating the pedunculopontine tegmental nucleus in cats. Jap. J. Physiol., Vol.48, Suppl., S 497, 1998.
- 6) Shimohira M., Shiiki T., Sugimoto J., Ohsawa Y., Fukumizu M., Hasegawa T., Iwakawa Y., Nomura Y. and Segawa M. Videoanalysis of gloss body movements during sleep. Psychiatry Clin. Neurosci 52(2): 176-177, 1998.
- 7) 高草木 薫 大脳基底核-脳幹・脊髄系による姿勢筋活動制御の神経機構と分子機構。上原記念生命科学財団研究報告集, 12 : 218-220, 1998.
- 8) 斎藤 和也 嚥下口腔相における食塊移送能の検討 耳鼻と臨床 44 (3): 297-300, 1998.
- 9) 斎藤 和也 高齢者に対する嚥下障害の外科的治療 JOHNS 14 (12): 1753-1756, 1998.
- 10) 幅口 達也、宮津 誠、加茂 裕樹、保田 雅憲、矢倉 幸久、寺西 正、安藤 政克 人工骨頭置換術後に骨髄組織による肺動脈塞栓症を生じ死亡した一例。北海道整形災害外科雑誌41 (1): 56-58, 1998.
- 11) 幅口達也、高草木 薫、坂本 尚志 脚橋被蓋核刺激による筋活動の抑制と α 運動細胞の興奮性変化 J Physiol. Soc. Jpn. 60 (1): 82, 1998.
- 12) 高草木 薫、幅口 達也、長岡 泰司 基底核から脚橋被蓋核への GABA 作動性投射による筋緊張と歩行の制御 J Physiol. Soc. Jpn. 60 (1): 82, 1998.

- 13) 杉本 純子、大澤 由記子、福永 道郎、下平 雅之、松原 正明、山本 晴靖、小澤真津子、後藤 雄一、埜中 征哉 Succinate dehydrogenase deficiency (SDHD) の一例。脳と発達 30(2): 174, 1998
- 14) 杉本 純子、大澤 由記子、渡辺 章充、福永 道郎、長谷川 毅、下平 雅之、神山 潤、太田 禎久 特異な画像所見を呈し点頭てんかんと合併した結節性硬化症の一例—外科的治療に至るまでの臨床症状及び脳脊髄液変化の検討—。脳と発達30(総会号) : 249, 1998
- 15) Takakusaki, K., Sugimoto, J., Saitoh, K., and Sakamoto, T. Projection from the basal ganglia to the reticular formation in relation to the control of movements. *Neurosci. Res.* (Supple 23) S02-6 S6, 1999.
- 16) Sugimoto, J., Takakusaki, K., Habaguchi, T., Saitoh, K., Nagaoka, T., and Sakamoto, T. Effects of cholinergic agents microinjected into the caudate nucleus on behavior in cats. *Jap. J. Physiol.* Vol. 49, Suppl., S 170, 1999.
- 17) Habaguchi, T., Takakusaki, K., Sugimoto, J., Saitoh, K., and Sakamoto, T. The effects on forelimb and hindlimb a-motoneurons in general inhibition by stimulating the medullary reticular formation in decerebrate cats. *Jap. J. Physiol.* Vol. 49, Suppl., S 171, 1999.
- 18) Kohyama J., Sugimoto J., Itoh M., Sakuma H., Shimohira M., Hasegawa T., and Iwahara Y. REM sleep components predict the response to initial treatment of infantile spasms. *Epilepsia* 40(7): 992-996, 1999
- 19) Nagaoka T., Sakamoto T., Takakusaki K., Habaguchi T., Sugimoto J. and Yoshida A. Measurement of retinal blood flow in cats using a new Laser Doppler Velocimetry. *Jap. J. Physiol.*, Vol.49, Suppl., S 65, 1999.
- 20) 幅口 達也、高草木 薫、杉本 純子、斎藤 和也、坂本 尚志 延髄網様体刺激による前肢筋活動の抑制と α 運動細胞の興奮性変化 *J Physiol. Soc. Jpn.* 61 (1): 31, 1999.
- 21) Takakusaki, K., The medullary reticular formation produces parallel inhibitory effects on motoneurons and on interneurons in reflex pathways to MNs in cats. *Neurosci. Res.* (Supple 24) S151, 2000
- 22) Takakusaki, K., Saitoh, K., Satoh, E. and Sakamoto, T. The nigrosegmental systems involved in the control of locomotion and postural muscle tone in the cat. *Soc. Neurosci.* abstr. p1224, 2000.
- 23) Takakusaki, K., Sugimoto, J., Saitoh, K., Sakamoto, T. and Satoh, E. Basal ganglia control of muscle tone and locomotion in cats. *Jap. J. Physiol.* (in press).
- 24) Takakusaki K., Kohyama J., Matsuyama K., and Mori S. Medullary reticulospinal tract mediating the generalized motor inhibition in cats: I. Parallel inhibitory mechanisms acting on motoneurons and on interneuronal transmission in reflex pathways. *Neuroscience (in press)*

2. 口 頭 発 表

- 1) 高草木 薫、幅口 達也、坂本 尚志 黒質-脚橋被蓋核投射による歩行と姿勢筋緊張の制御。 第75回日本生理学会（金沢）1998年、3月28日
- 2) 幅口 達也、高草木 薫、坂本 尚志 脚橋被蓋核刺激による筋活動抑制の神経機構。 第75回日本生理学会（金沢）1998年、3月28日
- 3) 高草木 薫、幅口 達也、坂本 尚志 黒質-脚橋被蓋核投射による筋活動の制御。 第12回基底核研究会（滋賀）1998年、7月18日
- 4) 高草木 薫、幅口 達也、杉本 純子、斎藤 和也、坂本 尚志 黒質-脚橋被蓋投射系による姿勢筋緊張の制御機構 第21回日本神経科学学会（東京）1998年9月22日
- 5) 高草木 薫、幅口 達也、杉本 純子、斎藤 和也、坂本 尚志 黒質-脚橋被蓋投射系と運動の制御の制御機構。 生理学研究所研究会『哺乳類の中樞神経系における局所回路とその機能特性』（岡崎）1998年10月8日
- 6) Habaguchi T., Takakusaki K., Sugimoto J., Saitoh K., and Sakamoto T. Nigral innervation of the pedunclopontine tegmental nucleus (PPN) neurons that control postural muscle tone in cats. 28th Annual meeting of Society for Neuroscience (Los Angeles), November 9, 1998
- 7) Takakusaki K. Reticulospinal control of interneurons in relation to the production of the generalized motor inhibition in cats. 28th Annual meeting of Society for Neuroscience (Los Angeles), November 9, 1998
- 8) 杉本 純子、高草木 薫、幅口 達也、斎藤 和也、長岡 泰司、坂本 尚志 尾状核へのコリン作動薬微量注入が行動に与える影響。 第76回日本生理学会（長崎）1999年3月29日
- 9) 幅口 達也、高草木 薫、杉本 純子、斎藤 和也、坂本 尚志 除脳ネコの延髄網様体刺激による前肢 α 運動細胞に対する抑制。 第76回日本生理学会（長崎）1999年3月29日
- 10) 高草木 薫、杉本 純子、斎藤 和也、坂本 尚志 基底核による筋緊張と歩行運動の制御。 第79回日本生理学会北海道地方会（札幌）1999年9月4日
- 11) 杉本 純子、高草木 薫、斎藤 和也、長岡 泰司、坂本 尚志 尾状核へのコリン作動薬微量注入による行動変化。 第79回日本生理学会北海道地方会（札幌）1999年9月4日
- 12) Honma M., Mansur K., Nakajima K., Abe K., Takakusaki K. and Kiyama H. Expression of neurotrophin receptors in response to nerve injury alters along with development, and can be regulated by the ligand stimuli. 29th Annual meeting of Society for Neuroscience (Miami Beach), October 23, 1999

- 13) 高草木 薫 基底核-網様体投射系と運動の制御。 第22回神経科学学会シンポジウム「中枢神経系の微細構築と作動様式；運動制御の観点から」（大阪）1999年7月6日
- 14) 高草木 薫 基底核による筋緊張と歩行の制御。 第77回日本生理学会（横浜）2000年3月28日
- 15) 高草木 薫、斎藤 和也 基底核は歩行と筋緊張を制御する。 第15回大脳基底核研究会（茨木）2000年7月17日
- 16) 高草木 薫 筋緊張抑制の脊髄内神経機構。 第23回神経科学学会（横浜）2000年9月5日
- 17) 斎藤 和也、高草木 薫、伊佐 正 黒質網様部から中脳ドパミン細胞への抑制性投射における GABA_A、GABA_B 受容体の関与。 第80回日本生理学会北海道地方会（札幌）2000年9月9日
- 18) 高草木 薫、斎藤 和也、佐藤 栄一、坂本 尚志 基底核-脳幹系による歩行と筋緊張の制御様式。 第80回日本生理学会北海道地方会（札幌）2000年9月9日
- 19) 佐藤 栄一、高草木 薫、坂本 尚志 ネコ網膜血流量に対するニプラジロールの影響の解析。 第80回日本生理学会北海道地方会（札幌）2000年9月9日
- 20) Takakusaki, K., Saitoh, K., Satoh, E. and Sakamoto, T. The nigrothalamic systems involved in the control of locomotion and postural muscle tone in the cat. 30th Annual meeting of Society for Neuroscience. (New Orleans), November 7, 2000
- 21) 高草木 薫 基底核による歩行運動と筋緊張の制御。 第30回日本臨床神経生理学学会学術大会シンポジウム『歩行の臨床神経生理学』Keynote lecture, 2000年12月13日
- 22) Takakusaki K. and Saitoh K. Basal ganglia-Brainstem systems that control postural muscle tone and locomotion in cats. 2001 OKAZAKI COE International Symposium on Higher Nervous Control of Posture and Locomotion: Parallel and Centralized Control Mechanisms. March 19, 2001.

謝 辞

この研究の遂行にあたり、旭川医科大学以外の先生方から、非常に暖かい励まし、研究への御理解、そして研究手技に至まで御指導や御鞭撻を戴きました。この紙面をお借りして、ここに謝辞申し上げます。

宋 文杰 先生 (大阪大学工学部電子工学システム講座・助教授)

伊佐 正 先生 (生理学研究所・統合脳生理学講座・教授)

今井 壽正 先生 (順天堂大学医学部脳神経内科学講座・助教授)

Stephen. T. Kitai 先生 (テネシー大学医学部解剖神経生物学講座・教授)

研 究 成 果

目 次

1. 研究背景と目的

- 1-1 基底核疾患と運動障害
- 1-2 基底核の運動回路モデル
- 1-3 『基底核による筋緊張と歩行運動の制御』に関する作業仮説
- 1-4 脚橋被蓋核
- 1-5 除脳ネコと歩行誘発野
- 1-6 筋緊張の抑制神経機構
- 1-7 本研究課題の目的

2. 研究の結果；

『基底核－脚橋被蓋核投射系と筋緊張・歩行の制御様式に関する研究』

- 2-1 要旨
- 2-2 実験の方法
- 2-3 脚橋被蓋核領域における筋緊張の抑制野と歩行誘発野
- 2-4 筋緊張の抑制は脚橋被蓋核のコリン作動性細胞を賦活したものか？
- 2-5 脚橋被蓋核への GABA 作動性投射は筋緊張の制御に関与するのか？
- 2-6 黒質網様部刺激による筋緊張の制御
- 2-7 黒質網様部刺激による歩行運動の制御
- 2-8 黒質網様部－脚橋被蓋核投射系の機能的 topography と筋緊張と歩行運動の統合的制御

3. 研究の結果；

『基底核－脚橋被蓋核投射系による脊髄 α 運動細胞の活動様式に関する研究』

- 3-1 要旨
- 3-2 実験の方法
- 3-3 脚橋被蓋核領域への連続刺激により α 運動細胞に誘発される膜電位の変化
- 3-4 脚橋被蓋核刺激により α 運動細胞に誘発される抑制作用のシナプスメカニズム
- 3-5 脚橋被蓋核刺激により α 運動細胞に誘発される抑制シナプス電位
- 3-6 黒質-脚橋被蓋核-網様体脊髄路系による α 運動細胞活動の制御メカニズム
- 3-7 基底核による筋緊張と歩行運動制御のシナプス機構

5. 考察

- 4-1 ヒトの歩行運動を制御している神経機構は何処まで分かっているのか？
- 4-2 基底核による随意運動と筋緊張の制御
- 4-3 Parkinson 氏病の歩行障害と基底核による歩行の制御機構
- 4-4 運動細胞のシナプスレベルから見た「基底核-脚橋被蓋核系による歩行運動と筋緊張の統合的制御」
- 4-5 黒質網様部から脚橋被蓋核への GABA 作動性投射
- 4-6 脚橋被蓋核と中枢機能の統合制御
 - 4-6-1 脚橋被蓋核投射系と睡眠・覚醒・意識の制御
 - 4-6-2 黒質-脚橋被蓋核投射系と State-dependent motor behavior
 - 4-6-3 脚橋被蓋核と高次脳機能

5. 参考文献

6. 付録

1. 研究の背景と目的

1-1. 大脳基底核と運動

運動は意識に上る随意的な運動過程とそれに随伴する意識に上らない運動過程（非随意的運動過程）とがある。姿勢反射や筋緊張の設定などは後者に含まれ、歩行運動もその運動自体が目的にならない場合は後者に属すると考えられる。そしてこの2つの運動過程が時間的・空間的に統合されることにより、適切な運動行動が成立する。大脳基底核の損傷ではこの2つの運動過程に異常が認められる。多くの基底核疾患において共通する運動障害は、運動量の異常（運動減少・運動亢進）、筋緊張の異常（筋緊張低下、筋緊張亢進）、不随意運動（舞踏様運動・安静時振戦）などである。また、Parkinson 氏病では、さらに姿勢反射の異常や歩行運動の障害が観察される。これらの事実は、基底核が意識に上る随意運動の過程（運動の発動や運動量）と、意識に上らない運動の過程（姿勢反射、筋緊張の設定、歩行など）の双方の制御に関わることを示している。

基底核疾患は、Parkinson 氏病に代表される運動減少・筋緊張亢進症候群と、Huntington 舞踏病や Ballismus などの運動亢進・筋緊張減少症候群に大別される。図1は、筋緊張と運動量の関係を基底核疾患との対応において模式的に示したグラフである。このグラフから想像できることは、基底核は運動行動を発現する際に適切な運動量と筋緊張のレベルの調節に関与しており、基底核の機能が破綻した場合には、極めて対照的な運動機能の障害を誘発されることである。即ち、基底核は運動と筋緊張を統合的に制御する神経機構として重要な役割を担うと考えられうるが、その統合メカニズムがどのような仕組みで成り立っているのか、未だ明確な説明はなされていない。

1-2. 基底核の運動回路モデル

では、基底核疾患における運動障害は現在どのようなメカニズムで出現すると考えられているのだろうか？1990年の Trend in Neuroscience に2つの論文がある (Alexander and Crutcher 1990, DeLong 1990)。それまでの神経生理学や神経解剖学的知見を考慮した上で彼等が提唱した基底核の運動回路モデルは、基底核疾患における運動量の異常（運動減少・運動亢進）を説明する上で非常に画期的であった（図2）。

このモデルによると、基底核は大脳皮質から入力信号を受け、その信号は基底核内の神経回路網により処理され淡蒼球内節 (GPi) 及び黒質網状部 (SNr) からのGABA 作動性抑制出力に変換される。この抑制出力は、線状体（被殻・尾状核）からの直接路 (direct pathway) と淡蒼球外節・視床下核を経由して出力核に至る間接路 (indirect pathway) のバランスで決定される。さらに、この出力が視床-大脳投射系の活動を調節して随意運動を制御する。Parkinson 氏病では、中脳黒質のドーパミン細胞の変性により、間接路活動は亢進し直接路活動は低下する。その結果、GPi/SNr からの抑制出力が増大し視床-大脳投射系は抑制される。その結果、大脳皮質からの出力は減少し運動量が減少したり、運動のスピードが低下 (Hypokinesia, Bradykinesia) する。一方、Huntington 舞踏病では間接路の活動が低下するので GPi/SNr からの抑制出力が減少する。そのため、大脳皮質からの出力が増加し、運動量が亢進 (Hyperkinesia) し、不随意運動も誘発される。この10年間の研究の進歩に伴い、このモデルには徐々に変更が加えられている。しかし、その基本的なコンセプトは現在でも基底核疾患の病態を理解するうえで極めて有用である。

1-3. 『基底核による筋緊張と歩行運動の制御』に関する作業仮説

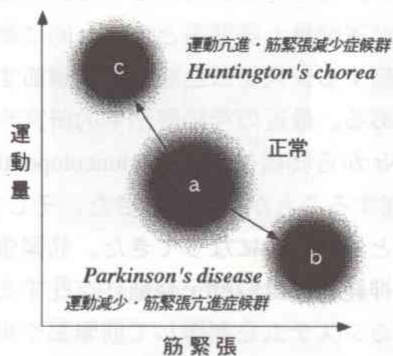


図1 基底核疾患における運動の異常。

基底核疾患は運動亢進・筋緊張減少症候群 (b) と運動減少・筋緊張亢進症候群 (c) の2大病態に分けることができる。従って、基底核は運動量と筋緊張の制御に関与すると考えられるに至った。

そして正常では適切な範囲に筋緊張と運動量が制御される (a) と考えられているが、この双方の因果関係を説明する理論的裏付けは未だ説明されていない。

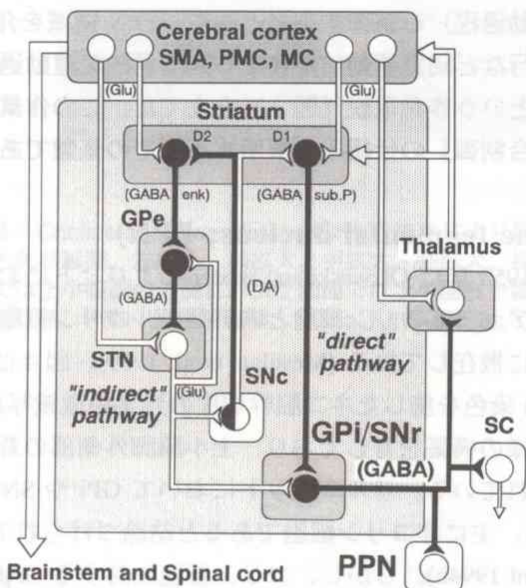


図2 基底核の運動回路モデル

DeLong (1990), Alexander & Crutcher (1990) が提唱した基底核の運動回路モデル。基底核は大脳皮質より入力を受けて、基底核内の直接路と間接路で処理された情報は、淡蒼球内節と黒質網様部から出力される。この出力の伝達物質は GABA である。基底核の出力は、視床-大脳投射系を介して大脳皮質の活動を制御する。

黒質緻密部のドーパミンは線状体の直接路・間接路の起始細胞に働き各々の経路の活動のバランスを調節している。パーキンソン氏病では、間接路の亢進と直接路活動の結果、基底核からの抑制出力が亢進する。

- | | |
|-------------|---------------|
| SMA: 補足運動野、 | GPI: 淡蒼球内節 |
| PMC: 運動前野、 | SNr: 黒質網様部、 |
| MC: 一次運動野、 | PPN: 脚橋被蓋核、 |
| GPe: 淡蒼球外節、 | SC: 上丘、 |
| STN: 視床下核、 | DA: ドーパミン、 |
| SNc: 黒質緻密部、 | GABA: γ-アミノ酪酸 |

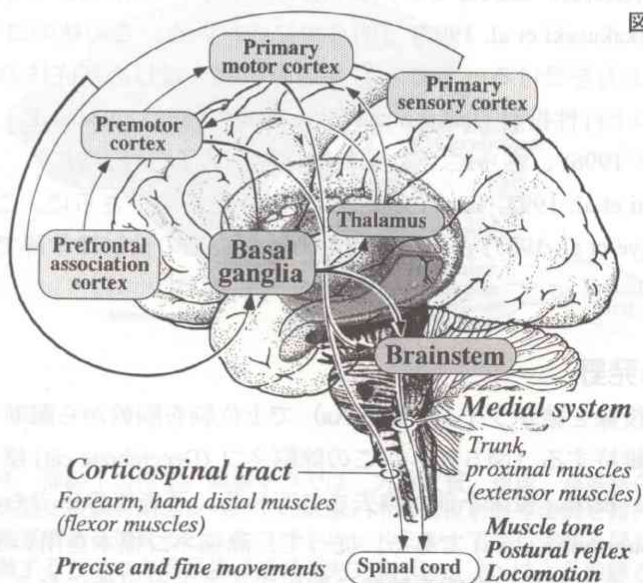


図3 基底核による運動の制御

基底核の入出力系の模式図と運動制御に関わる作業仮説。基底核は視床-大脳投射系の活動を制御し、高次脳機能・随意運動を制御する。運動皮質からの出力は皮質脊髄路を經由して脊髄に至るので、基底核-皮質系は、意識に上る運動過程、特に主に手の遠位筋による繊細な精緻運動の制御に関与すると考えられる。

一方、基底核から脳幹への経路は、内側下行路系を介して躯幹や下肢近位筋の伸筋活動を制御する。即ち、筋緊張の調節、姿勢反射などの意識に上らない運動過程や歩行の制御には基底核-脳幹系が関与する。運動前皮質からは脳幹網様体や中脳の脚橋被蓋核領域への投射も強く、内側下行路系の機能は、基底核-皮質系と基底核-脳幹系の双方により制御されると考えられる。

このモデルにおいて、基底核は視床-大脳皮質ループを介してどの様に筋緊張レベルを制御するのであろうか？この問題は未だ解決していない。そこで基底核による運動制御の仕組みを別な観点から眺めてみることにした。基底核が運動量と筋緊張とを統合的に制御するという前提に立つと、基底核の出力は運動量を調節するシステムと筋緊張を調節するシステムに対して同等に作用すると考えるのが適切である。最近の神経解剖学的研究や電気生理学的研究により、基底核の出力核である GPi/SNr から脚橋被蓋核 (Pedunclopontine tegmental nucleus; PPN) 領域に GABA 作動性投射が存在することが分かってきた。そして、この核からは脳幹網様体への豊富な線維投射があることも明らかになってきた。筋緊張レベルや姿勢反射、そして歩行運動を制御する基本的な神経機構は脳幹・脊髄に存在する。従って、私は「基底核の出力は脳幹から脊髄に下行するシステムを制御して筋緊張や歩行運動の制御に関与する」という着想に至った。そこで、私は『基底核の出力は、視床-大脳投射系を介して随意運動（意識に上る運動過程）を制御するとともに、PPN 領域を介して脳幹に至り、筋緊張レベルや起立・歩行など随意運動に随伴する非随意的な運動過程（意識に上らない運動過程）を制御する』という作業仮説（図3）を立てた。この作業仮説が『基底核による筋緊張と歩行運動の統合制御』の仕組みを解明する上での基盤である。

1-4. 脚橋被蓋核 (Pedunclopontine tegmental nucleus; PPN)

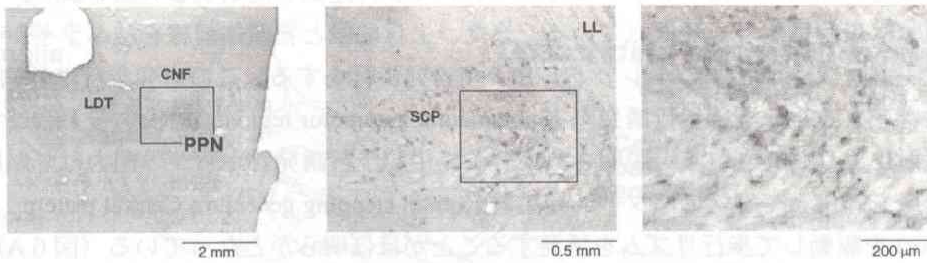
脚橋被蓋核は中脳・橋移行部に存在し、1953年に Olzweski and Bexter によりヒトにおいて最初に同定された核である。この核にはアセチルコリン細胞と非アセチルコリン細胞が混在し、これらの細胞が上小脳脚を囲む様に散在している (Mesulam et al. 1989)。図4はコリンアセチルトランスフェラーゼ (ChAT) 染色を施したネコ脳幹切片の光学顕微鏡写真である。この核はネコにおいてもヒトと同様の構築を有しており、上小脳脚外側部の背側から腹側にかけて ChAT 陽性細胞が染色されている。サルやラットにおいて GPi や SNr からこの核への GABA 作動性投射の標的は、主に非コリン細胞であると結論づけられている (Grofova and Zhou 1998, Lavoie and Parent 1994b)。しかし、コリン細胞に対する GABA 作動性抑制も、神経解剖学的研究 (Grofova and Zhou 1998) や脳幹スライスを用いた電気生理学的研究 (Kang and Kitai 1990, Takakusaki et al. 1997) で明らかにされている。この核のコリン細胞・非コリン細胞は基底核の出力を受け一方で、① 黒質緻密部をはじめ基底核の諸核と ② 視床非特殊核や上丘への上行性投射 (Jackson and Crossmann 1983, Lavoie and Parent 1994a, 1994b, Takakusaki et al. 1996)、さらに、③ 脳幹網様体への下行性投射 (Mitaini et al. 1987, Semba 1993, Lai et al. 1993, Takakusaki et al. 1996) を持つ。さらに、この核から脊髄にまで投射がある (Rye et al. 1987) という報告もあるが、この投射は希薄であると思われる。

1-5. 除脳ネコ標本と歩行誘発野

中脳レベル（上丘前縁と乳頭体後縁を結ぶライン；図5 Aa）で上位脳を脳幹から離断すると、この標本は反射直立姿勢を維持する（図5 Ba）。この除脳ネコ (Decerebrate cat) 標本では、大脳皮質、基底核の大部分、視床、視床下部が除去されている。基底核の中でも、唯一つ温存されているのが黒質 (Substantia nigra) である。従って、除脳ネコ標本を用いることにより、SNr から PPN 領域への出力系の機能を純粋に解析することが可能になる。

PPN の近傍には、中脳歩行誘発野 (Mesencephalic locomotor region; MLR) が存在する

A Coronal plane



B Parasagittal plane

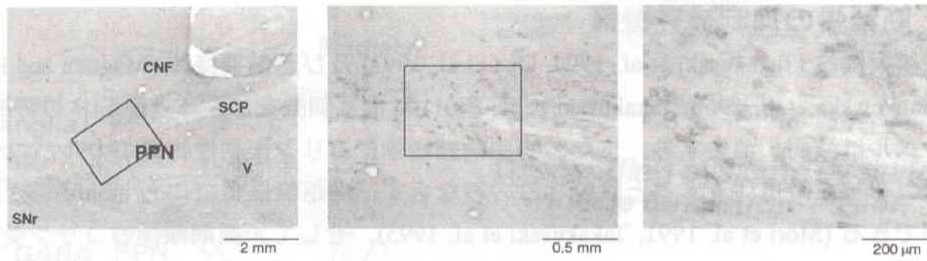
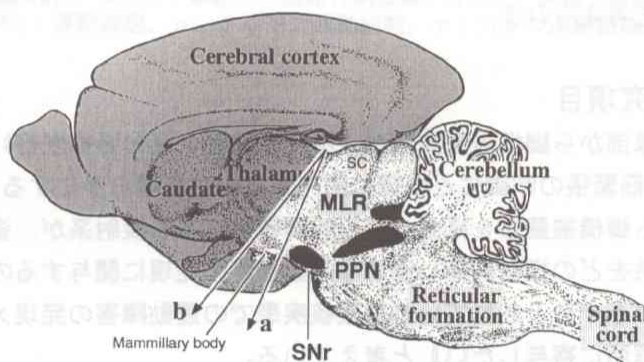


図4 Choline-acetyltransferase (ChAT) 染色により同定したネコ脳幹のコリン細胞。A, B は各々前額断面と矢状断面。左から、弱拡大、中拡大、強拡大。枠の領域を右側に示している。コリン細胞は前額断面では上小脳脚の外側に、矢上断面では上小脳脚を囲む様に分布している。LDT; 背外側被蓋核、CNF; 楔状核、PPN; 脚橋被蓋核、SCP; 上小脳脚、LL; 外側毛帯、V; 三叉神経核、SNr; 黒質網様部。

A



B

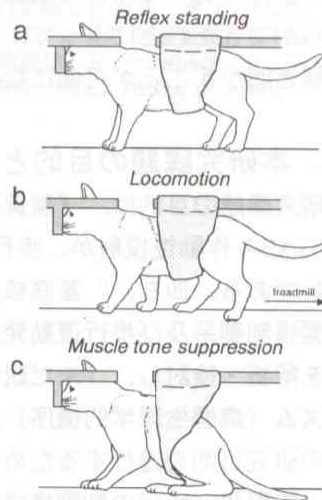


図4 除脳ネコ標本。除脳ネコでは、大脳皮質、視床、基底核の大部分が除去される。Aa は上丘前縁と乳頭体後縁を結ぶレベルでの除脳。ネコは反射直立姿勢を維持する (Ba)。中脳歩行誘発野に連続微小電気刺激を加えると、ネコはトレッドミル上で歩行運動を開始する (Bb)。また脚橋被蓋核の腹側部を刺激するとネコの筋緊張は減弱消失する (Bc)。Ab は上丘前縁と乳頭体前縁を結ぶレベルでの除脳。ネコはトレッドミル上でネコは自動的に歩行運動をする (Bb)。SC; 上丘、MLR; 中脳歩行誘発野。

(Shik and Orlovski 1976, Grillner et al. 1998)。ここに数十ヘルツの微小電気刺激 (10–50 μ A) を加えると、除脳ネコはトレッドミル上において歩行運動を開始する (図 5 Bb)。従って、この標本は歩行標本とも呼ばれている。また、上丘前縁と乳頭体前縁を結ぶライン (図 5 Ab) で除脳すると、ネコはトレッドミル上で自発歩行をする。この自発歩行は外側視床下部に存在する視床下部歩行誘発野 (Subthalamic locomotor region; SLR) から MLR への興奮性投射により誘発されると説明されている。中脳歩行誘発野からかの出力は延髄網様体脊髄路系を経由して脊髄のパターン発生器 (Spinal stepping generator; Central pattern generator) を駆動して歩行リズムを誘発することがほぼ明らかとなっている (図 6 A)。

1-6. 筋緊張の抑制神経機構

吻側橋網様核 (Takakusaki et al. 1994, Oka et al. 1993) 及び延髄網様体 (Magoun and Rhines 1946, Jankowska et al. 1968, Takakusaki et al. 2001) に電気刺激を加えると除脳ネコの四肢筋活動レベルは減弱・消失する。また、吻側橋網様体にコリン作動性物質のカルバコールやベサネコールを微量注入すると除脳ネコのみならず、中枢無傷ネコにも atonia を誘発することができる (Mori et al. 1991, Takakusaki et al. 1993)。そして、橋網様体のコリン受容性細胞の活動が延髄網様体脊髄路系を賦活して筋緊張の減弱を誘発することも明らかにされた (Takakusaki et al. 1994)。この網様体脊髄路系は、脊髄の抑制性介在細胞を介して α 運動細胞に抑制すると共に、 γ 運動細胞や脊髄反射経路を媒介する介在細胞にも同様の抑制をもたらすことが最近明らかとなった (Takakusaki et al. 2001) (図 6 B)。

また、PPN 領域には筋緊張抑制野が存在することも明らかとなってきた。除脳ネコでこの領域に連続微小電気刺激を加えると頸部 (Lai and Siegel 1991) や四肢 (Takakusaki et al. 1997b) の筋緊張が減弱する。従って、PPN からのコリン作動性の下行性投射がこの抑制性橋・網様体脊髄路系を賦活して筋緊張を減弱させるのか否かを明確にすることは、この課題の遂行において極めて重要な項目である。また、この様に、筋活動制御系の実体をほぼ明らかできたことによって、基底核の出力がどの様に筋緊張レベルの制御に関与するのかを解き明かすことが可能になると考えられる。

1-7. 本研究課題の目的と研究項目

本研究課題の目的は、『黒質網様部から脚橋被蓋核領域 (歩行誘発野と筋緊張抑制野) への GABA 作動性投射が、歩行と筋緊張の制御にどの様に関与するのかを明らかにすること』である。即ち、“基底核から脚橋被蓋核を経由して脳幹網様体に至る投射系が、姿勢筋緊張制御系及び歩行運動発動系をどの様に調節し適切な運動機能の発現に関与するのか”を解析・検討し、『未だ説明が不十分とされている基底核疾患での運動障害の発現メカニズム (病態生理学的機序) の解明に寄与したい』と考えている。

この研究目的を遂行するため、次の2つの研究に着手した。(1)「基底核-脚橋被蓋核投射系と筋緊張・歩行の制御様式に関する研究」には急性除脳ネコ標本を用いて、この系の機能が動物の behavior の制御にどの程度関与しているのかをまづ明確にしようと考えた。(2)「基底核-脚橋被蓋核投射系による脊髄 α 運動細胞の活動制御様式に関する研究」には急性除脳ネコの非動化標本を用いた。そして、腰・仙髄の α 運動細胞の細胞内活動を記録し、基底核による筋緊張と歩行運動の制御の仕組みが脊髄 α 運動細胞における膜電位レベルでどのようなシナプスメカニズムとして表現されるのかを解析した。

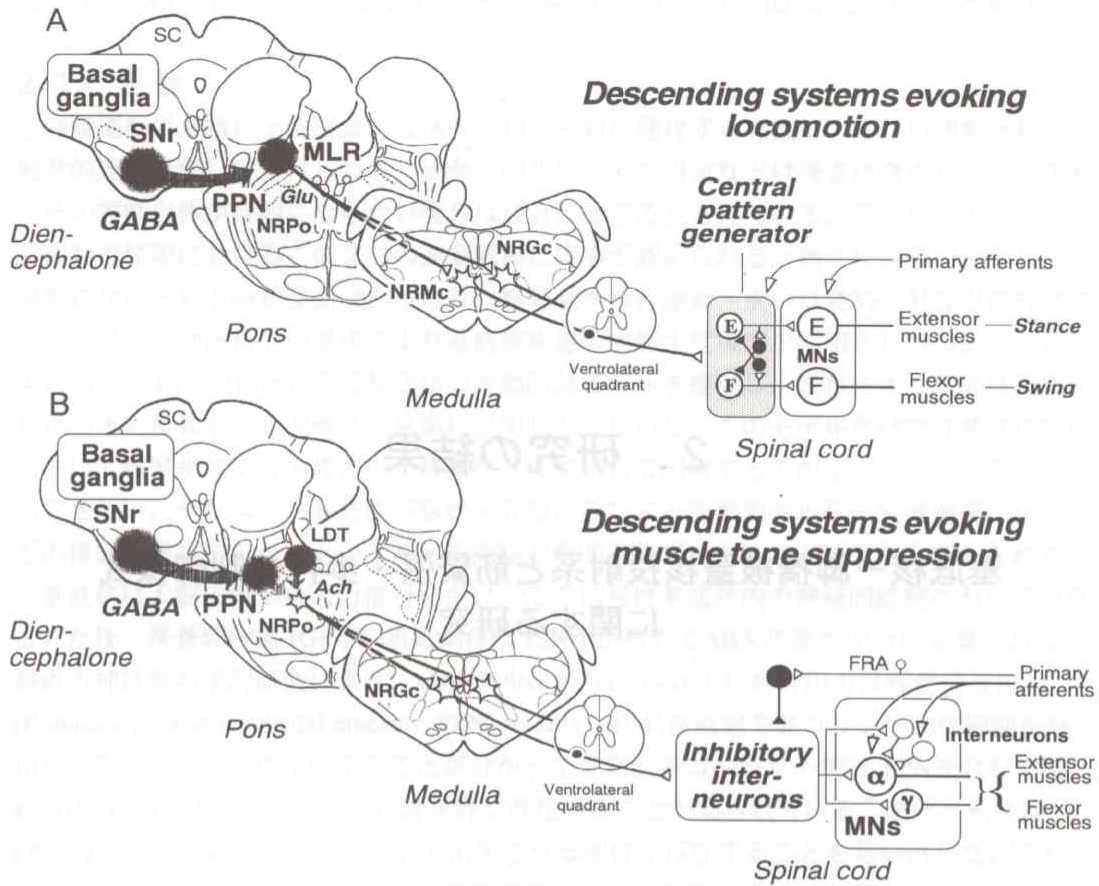


図6 歩行運動を誘発する脳幹脊髄神経機構(A)と筋緊張の抑制を誘発する脳幹・脊髄神経機構(B)。脚橋被蓋核領域の神経細胞群が各々の神経機構の活動を駆動する上で重要な働きを担う。また神経解剖学の成績から、双方の系は共に、基底核からのGABA作動性投射の制御下にあると考えられる。詳しくは本文参照。SC；上丘、SNr；黒質網様部、PPN；脚橋被蓋核、LDT；背外側被蓋核、NRPo；吻側脚網様核、NRGc；延髄巨大細胞性網様核、NRMc；延髄大細胞性網様核、E；extensor、F；flexor、MNs；運動細胞、 α ；アルファ運動細胞、 γ ；ガンマ運動細胞、FRA；flexor reflex afferent

2. 研究の結果

基底核—脚橋被蓋核投射系と筋緊張・歩行の制御様式に関する研究

2. 基底核—脚橋被蓋核投射系と筋緊張・歩行の制御様式に関する研究

2-1. 要旨

随意運動は意識に上る随意的な運動過程とそれに随伴する意識に上らない運動過程（非随意的運動過程）に分けられる。姿勢反射や筋緊張の設定などは後者に含まれ、歩行運動もその運動自体が目的にならない場合は後者に属すると考えられる。基底核疾患では、随意運動の発現におけるこの2つの運動過程に障害が認められる。例えば運動が減少したり、過剰になったり不随意運動であったり、筋緊張や歩行運動、或いは姿勢反射などの異常である。最近の神経科学の進歩により基底核疾患の病態生理機序が解明されつつある。1990年に Alexander や Delong らは基底核の運動回路モデルを提唱し、これにより基底核疾患における運動量異常の発現機序を見事に説明した。しかし、このモデルだけでは基底核疾患において筋緊張や歩行の異常がどのようなメカニズムで出現するのかを十分に説明することができない。それは、「基底核が脳幹・脊髄に存在する筋緊張や歩行の制御機構の活動をどのように調節するのか」という基本的問題が解明されていないことによると考えられる。

基底核は大脳皮質から入力信号を受け、その信号は基底核内の神経回路網において処理された後、淡蒼球内節 (GPi) や黒質網様部 (SNr) からの GABA 作動性出力に変換される。最近の神経解剖学的研究により、GPi や SNr からの GABA 作動性出力は脚橋被蓋核 (Pedunculopontine tegmental nucleus; PPN) のコリン作動性細胞や非コリン作動性細胞を経由してを介して脳幹に投射することが分かってきた。ネコやラットでは PPN を含む中脳網様体 (PPN 領域) には中脳歩行誘発野が存在することが知られている。また、私共は PPN 腹側部に筋緊張レベルを減弱・消失させる部位が存在することを見出した。そして歩行運動と筋緊張の制御は網様体脊髄路系を介して発現することも明らかとなっている。これらの成績に基づくと、「基底核の出力は PPN 領域 を介して脳幹網様体に至り、筋緊張と歩行運動の制御に関与する」と考えることが可能になる。

そこで本研究項目では、急性除脳ネコ標本（歩行標本を用いて）次の4項目について解析を試みた。(1) 脚橋被蓋核領域において、歩行誘発領域と筋緊張抑制領域はどのように分布しているのか？(2) 筋緊張の制御と歩行運動の制御には脚橋被蓋核から橋網様体へのコリン作動性投射はどのように働いているのか？(3) 脚橋被蓋核領域に対する GABA 作動性投射は筋緊張と歩行運動の制御にどのように関与するのか？(4) 基底核（黒質網様部）から脚橋被蓋核領域への GABA 作動性投射は筋緊張と歩行運動の制御に関与するのか？

解析の結果次の4点が明らかとなった。(1) 歩行運動と筋緊張の制御に関する機能局在が脚橋被蓋核領域において認められた。即ち、連続微小電気刺激を加えた場合、歩行を誘発する領域は楔核から脚橋被蓋核の背側部に分布し、筋緊張を抑制する領域は脚橋被蓋核の腹外側部に分布していた。脚橋被蓋核の中央部附近は歩行と筋緊張の抑制の双方を誘発した。(2) 脚橋被蓋核への電気刺激により誘発される筋緊張の抑制は、橋網様体へのアトロピンの微量注入によりブロックされた。しかし、歩行運動は抑制されず、むしろ促進された。従って脚橋被蓋核刺激による筋緊張の抑制は、橋網様体から下行する筋活動抑制系を介して発現するものと考えられる。また橋網様体へのコリン作動性投射は歩行パターンの制御にも関与すると考えられる。(3) 脚橋被蓋核領域に対する GABA 作動性投射は筋緊張と歩行運動の制御に関与することが明らかとなった。GABA の拮抗物質を脚橋被蓋核の背側から楔状核にかけての領域に微量注入した場合は歩行運動が、一方、脚橋被蓋核の腹

側部に注入した場合は筋緊張は消失した。脚橋被蓋核の中央部に注入した場合は歩行運動と筋緊張の消失が交互に出現した。(4) 基底核（黒質網様部）から脚橋被蓋核領域への GABA 作動性投射は筋緊張と歩行運動の制御に関与することが明らかとなった。SNr 内側部から中脳歩行誘発野への GABA 作動性投射は歩行運動を抑制し、SNr 背外側部からの GABA 作動性投射は筋緊張抑制系の活動を抑えることが分かった。これは SNr には歩行と筋緊張の制御に関する機能的 topography が存在することを示唆する。

これらの成績は基底核から脳幹への GABA 作動性投射が、筋緊張レベルの設定や歩行運動の調節に関与することを実験的に証明できたことを示すものである。即ち、大脳基底核は視床—大脳投射系（上行性投射）の活動を調節して随意運動を制御する一方で、脚橋被蓋核—網様体脊髄路系（下行性投射）の活動を調節して筋緊張や歩行などの随意運動に随伴する無意識の運動過程をも制御すると考えられる。

2-2. 実験の方法

図 7 には実験の方法を示した。この実験系では上丘前縁と乳頭体後縁を結ぶライン（図 7A）で脳幹を離断した除脳ネコ、及び、視床下部を温存した高位除脳ネコ（図 7B）を用いた。PPN 領域、SNr 付近に刺激電極を刺入し、また、薬物注入用の微小ガラス管を PPN 領域と橋網様体（吻側橋網様核；NRPo）に刺入した。除脳ネコの運動は、四肢伸筋の筋電図を導出・記録し、これを評価した。そして次の 4 項目の解析を試みた。

- (1) PPN 領域に微小電気刺激（10-100 Hz, 10-50 μ A, 5-10 sec）を加え筋活動抑制領域を同定した。その際、歩行誘発部位との関連に注意を払った。
- (2) この抑制作用が PPN から橋網様体へのコリン作動性投射を介しているか否かを調べるために、橋網様体に atropine（5-10 mM, 0.2-0.5 μ l）を注入し PPN 刺激の効果を解析した。
- (3) PPN 刺激による筋緊張の抑制や歩行誘発野刺激による歩行運動が、これらの領域に投射する GABA 作動系によりどの様に制御されているかを検討した。各々の領域に GABA 作動薬である muscimol（1-10 mM, 0.1-0.25 μ l）や拮抗物質である picrotoxin 又は bicuculline（2-10 mM, 0.1-0.25 μ l）を微量注入し、筋活動レベルや歩行運動がどの様に变化するのかを解析した。
- (4) 直接 SNr に微小電気刺激を加え（20-200 Hz, 10-60 μ A, 5-10 sec）、歩行誘発野刺激で誘発される歩行運動や高位除脳ネコでの自発歩行、さらには PPN 刺激で誘発される筋活動の抑制作用に対しての効果を解析した。

実験終了後、刺激電極の先端から 30 μ A, 40 sec の直流電流を流して刺激部位に microlesion を作成した。また、薬物注入部位を標識するために同量の 5% Fast green FCF（色素）を含んだ生理食塩水を注入した。その後、大量のネンプタル麻酔で実験標本を sacrifice して、脳幹を取りだし 10% ホルマリンで固定した。後に 50 μ m 凍結切片を作成し、組織学的に脳幹の刺激部位と薬物注入領域を検索・同定した。それらの部位は、Berman（1968）及び、Snider and Niemer（1961）のネコ脳定位アトラスに照合した。

2-3. 脚橋被蓋投核領域における筋緊張の抑制野と歩行誘発野

除脳ネコの橋・中脳移行部の前額断面上（図 8A）、楔状核（Cneiform nucleus; CNF）に刺激を加えると左右ヒラメ筋に相反する活動が誘発され、トレッドミルを動かすと歩行運動が誘発された（図 8Ba）。一方、PPN の腹外側部を刺激すると左右ヒラメ筋の活動は

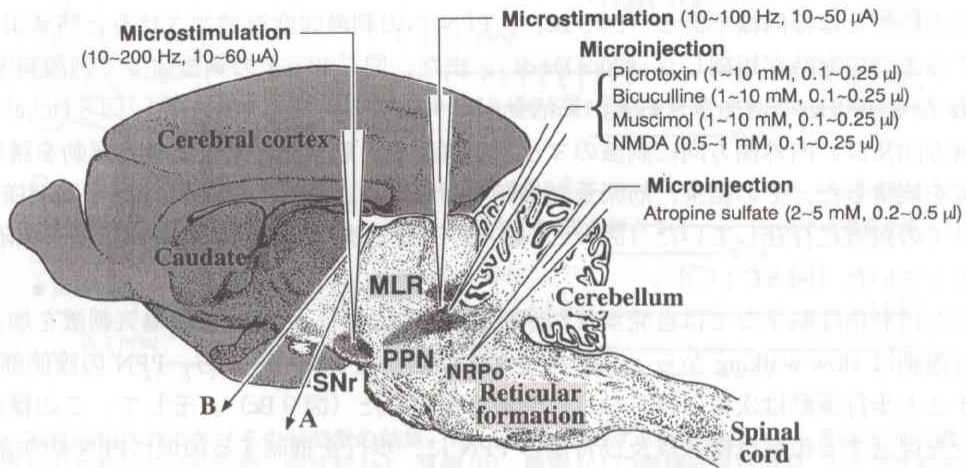


図7 実験の方法。Aは通常の除脳ネコ標本の切断レベル。Bは高位除脳ネコ標本での切断レベル。詳しくは本文参照。

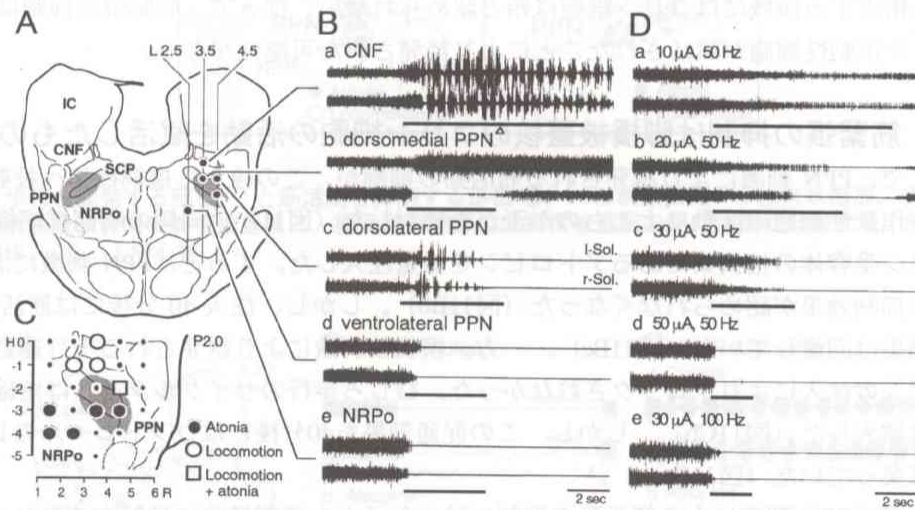


図8 A; 前額断面における刺激部位。B; 楔状核(a)、背内側(b)、背外側(c)、腹外側(d)の脚橋被蓋核、吻側橋網様核(e)の刺激で誘発される両側のヒラメ筋活動。記録の下の黒線は刺激の期間を示す。(a)の三角はトレッドミルを駆動したことを示す。C; 筋活動の抑制(●)、歩行(○)、歩行後の筋活動抑制(□)を誘発した部位。D; 刺激パラメータの変化に伴う筋活動の変化。(a~d)刺激強度の増加させた。(e)では刺激頻度を増加させた。

減弱・消失した (図 8 Bd)。また双方の中間部を刺激すると後肢の stepping が誘発されたが、筋トーンの減弱と共にこれは消失した (図 8 Bc)。この抑制作用は刺激停止後も持続していた。PPN 刺激による筋活動の抑制は、橋網様体に刺激を加えた際に出現する筋活動の抑制とほぼ同様である (図 8 Be)。PPN への刺激強度を増加させると筋緊張が消失するまでの潜時が短縮した (図 8 Da-d)。また、同じ 30 μ A の刺激強度で刺激頻度を 50Hz から 100Hz に増加させると、筋活動が消失までの時間は短縮した (図 8 Dc, e)。背腹側方向及び、内外側方向に刺激のマッピングを行い、筋緊張の消失と歩行運動を誘発する領域を検索した。その結果、筋緊張を抑制する領域は、PPN の腹外側部から橋網様体にかけての領域に存在していた (図 8 C; ●)。一方、歩行を誘発する領域は楔状核附近に分布していた (図 8 C; ○)。

また、高位除脳ネコでは自発歩行が誘発される (図 9)。楔状核に電気刺激を加えると歩行運動は slow walking から gallop へと変化した (図 9 Ba)。一方、PPN の腹側部を刺激すると歩行運動は次第に遅くなり、やがて停止した (図 9 Bc)。そして、この標本では歩行を促通する領域は楔状核及び背側の PPN に、歩行を抑制する領域は PPN 腹側部に分布していた (図 9 C)。

複数の標本 ($n=14$) において歩行誘発領域と筋緊張の抑制領域をプロットした (図 10)。最も弱い刺激で歩行を誘発する領域は楔状核及び背側の PPN に、そして筋緊張を抑制する領域は PPN 腹側部に分布していた。この筋活動を抑制する領域は、先のアセチルコリン染色を施した切片においてコリン細胞が豊富に分布する領域に一致する。一方、歩行誘発野に相当する領域にはコリン細胞は殆ど認められない。従って、筋緊張の抑制は、PPN のコリン作動性細胞が賦活されたことにより誘発された可能性がある。

2-4. 筋緊張の抑制は脚橋被蓋核のコリン細胞の活動を賦活したものか？

そこで、PPN 刺激により誘発される筋活動の抑制が、この核から橋網様体へ投射するコリン作動性細胞の活動によるものか否かを検討した (図 11)。同側の吻側橋網様核にムスカリン受容体の拮抗薬であるアトロピンを微量注入した。すると、PPN 刺激による筋活動の抑制効果が認められなくなった (図 11Bb)。しかし、注入 40 分後には筋活動への抑制効果は回復していた (図 11Bc)。一方、楔状核刺激により誘発される歩行運動は、アトロピンの注入によりブロックされなかった。むしろ歩行のサイクルタイムは短縮し、筋活動は増大した (図 11Cb)。しかし、この促通効果も 40 分後にはコントロールのレベルにほぼ戻っていた (図 11Ba, c)。

従って、PPN 刺激による筋活動の抑制には少なくとも橋網様体に投射するコリン作動系が関与すると考えられる。しかし、この成績は、PPN の非コリン作動性細胞が筋活動の抑制に関与している可能性を否定するものではない。また、歩行運動が PPN のコリン作動性細胞を賦活して出現するという Garcia-Rill (1990) らの主張を否定するものではない。むしろ、この成績は、橋網様体に投射するコリン作動系は歩行リズムの制御に関与することをも示唆する。

2-5. 脚橋被蓋核への GABA 作動性投射は筋緊張の制御に関与するのか？

では、PPN 刺激で誘発される筋活動の抑制は GABA 作動性投射の制御をうけるのだろうか？これを調べるため、まづ GABA 作動性物質である Muscimol を PPN に注入し

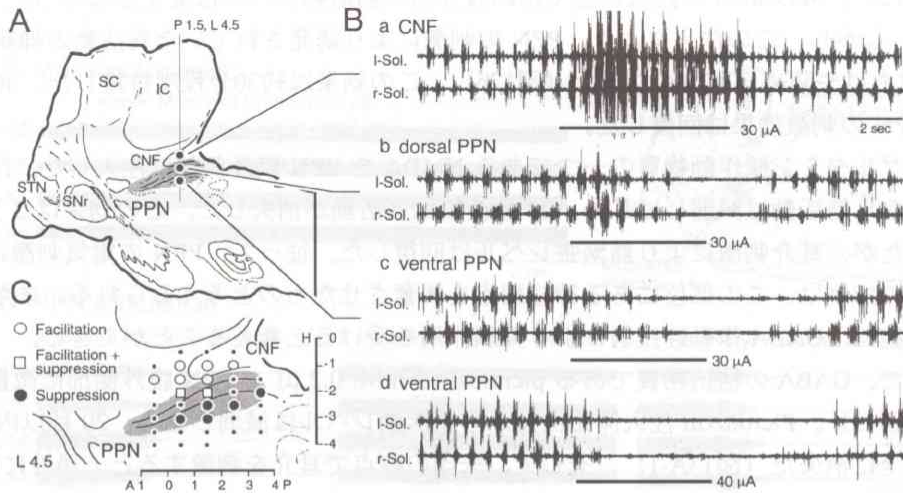


図9 高位除脳ネコにおける中脳刺激の効果。A；矢状断における刺激部位。B；各部位の刺激で誘発される左右ヒラメ筋活動。楔状核(a)、背側(b)、腹側(c)の脚橋被蓋核刺激。(d)では刺激強度を増加させた。C；歩行抑制●、促進○、促進後に歩行を抑制□した部位。STN；視床下核

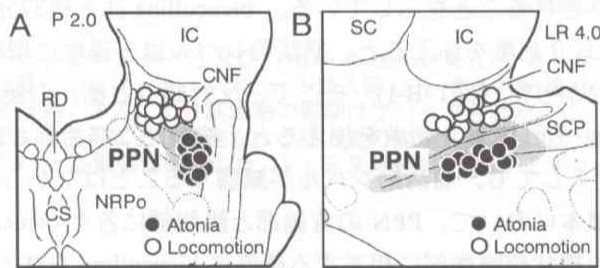


図10 歩行を誘発する部位○と筋活動を抑制する部位●。Aは前額断面、Bは矢状断面。歩行誘発野は楔状核及び背側の脚橋被蓋核に、筋活動抑制部位は脚橋被蓋核の腹外側部に分布する。RD；背側縫線核、CS；上中心核

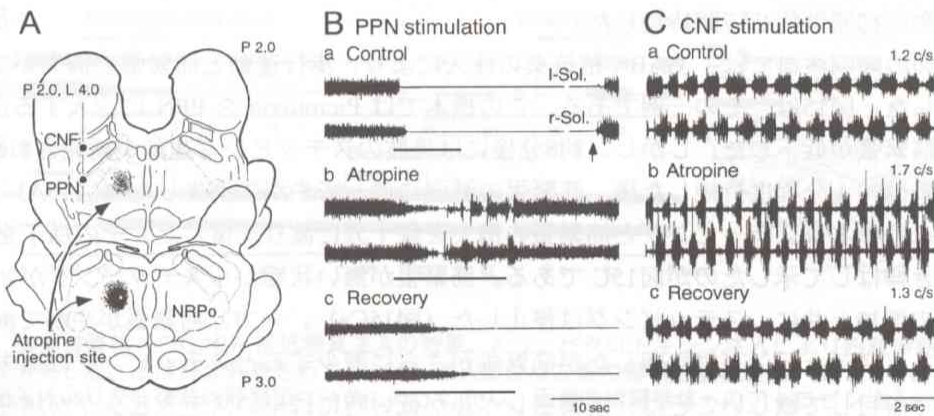


図11 吻側橋網様核へのアトロピン注入の効果。A；歩行誘発野(CNF)と筋活動抑制部位(PPN)、及びアトロピン注入領域。B-C；アトロピン注入前(a)、注入10分後(b)、注入40分後(c)における脚橋被蓋核刺激(B)と歩行誘発野刺激(C)の効果。橋網様核へのアトロピン注入により筋活動の抑制はブロックされたが、歩行運動は抑制されなかった。

た(図12)。Muscimolの注入単独では四肢伸筋の筋活動レベルは変化しなかった(図12A)。しかし、この注入により、PPNの刺激により誘発されていた筋活動の抑制(図12a)はもはや認められなくなった(図12b)。この効果は約30分程度持続した。40分後にはPPNの刺激効果は回復した。

次にグルタミン酸作用物質の一つであるNMDAをPPN腹外側部に注入した。注入開始直後から筋活動は減弱しはじめ、20秒後には筋活動が消失した。この効果は5分以上持続したが、耳介刺激により筋緊張レベルは回復した。従って、PPNの電気刺激による筋活動の抑制は、この部位にある神経細胞を興奮させたものと考えられる。また、その神経細胞は、GABA作動性投射により抑制作用を受けると考えることができる。

そこで、GABAの拮抗物質であるpicrotoxin 5 mM. 0.2 μ lをPPN腹外側部に微量注入した(図13)。Picrotoxin注入開始直後から筋活動レベルは減弱し始め、20秒以内に筋活動は完全に消失した(図13A-1)。そして、矢印の時点で耳介を刺激すると一過性に筋活動は誘発されたが、直後に消失した。20分後同様の操作をしても、このatoniaの状態は持続していた。このような筋活動の抑制効果は1時間以上持続した。しかし、80分後に加えた耳介刺激により筋活動は回復した。

図13Bは、PPNへのbicuculline注入で誘発された筋緊張の抑制が橋網様体へのatropine注入によりブロックされることを示している。bicuculline注入後37分に左の橋網様体にatropineを注入し、耳介刺激を加えると、筋活動レベルは一過性に増加した。しかし筋活動は完全に回復しなかった(図13B-1)。そこで、反対側(右側)の橋網様体に再度atropineを注入した。そして耳介刺激を加えると、持続的な筋活動が回復した。この後、bicucullineを再度注入しても、筋活動レベルが減弱することはなかった(図13B-2)。

図14では、同一標本において、PPNの背側部と腹側部に各々bicucullineを注入した。上小脳脚の背側かつ楔状核吻側部に相当する部位にbicucullineを注入すると、約10分後に四足歩行が誘発された。歩行誘発野にGABAの拮抗物質を注入した場合、歩行運動が誘発されることは既に報告されている(Garcia-Rill et al. 1984)。この歩行運動は1時間から2時間持続した。ところで、この記録直後、bicucullineをさらに1.5 mm腹側部に注入した。注入開始約30秒後から筋活動の減弱を伴って歩行運動は停止した。そして、この筋活動の抑制は約2時間持続した。

3頭の除脳ネコでは、GABA拮抗薬の注入により、歩行運動と筋緊張の消失が交互に出現した。図15は、その一例である。この標本ではPicrotoxinをPPNに注入すると、最初に筋緊張が低下した。しかし、約8分後には後肢のステップ運動が誘発された。その運動は約1分程度持続した後、筋緊張の減弱に伴ってやがて消失した(図15A)。そして、この標本はステップと筋緊張の消失を数十分に渡り反復した。その様子を時間軸を引き伸ばして示したのが図15Cである。筋緊張が無い状態からステップが始まり筋緊張の増加と共に、ステップは停止した(図15Ca)。一方、筋緊張がやがて減少してくるとステップは再開したが筋緊張がさらに減少するとステップは消失した。ここで着目して欲しいことは、筋緊張レベルが低い時には早いステップが誘発されており、筋緊張レベルが高くなるに伴って、ステップのサイクルタイムが延長しており1 cycleに占めるstance phaseが長くなることである。これは、GABA作動系が歩行リズムと筋緊張レベルを同時に制御していることを示している。

実験終了後、picrotoxinやbicucullineと同量の5% fast green溶液を同じ部位に注入し、

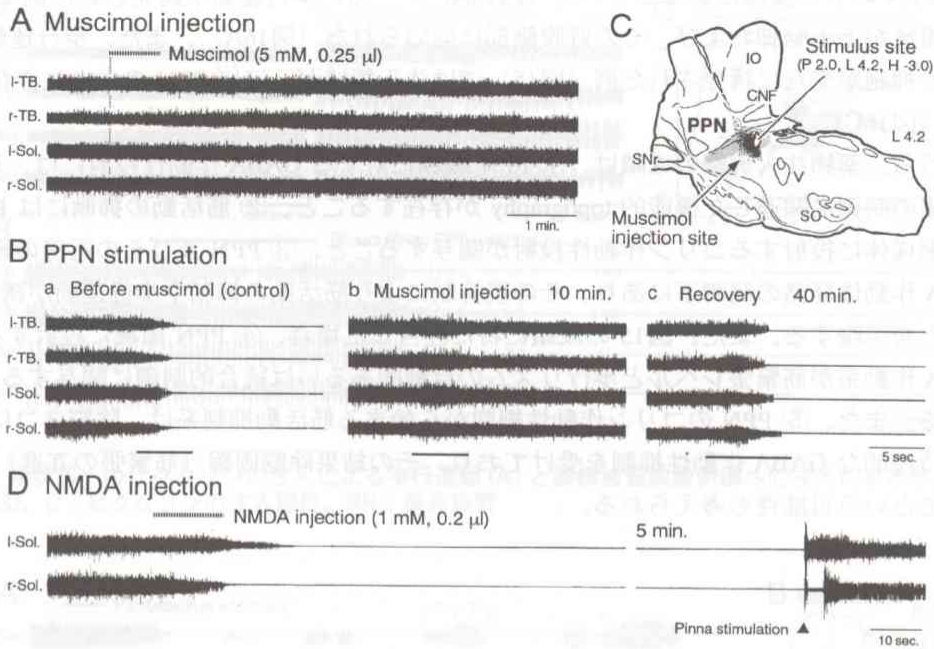


図12 脚橋被蓋核へのムシモール (A-C) 及び NMDA の注入効果 (D)。A ; ムシモールを注入しても四肢の筋活動レベルは変化しない。B ; ムシモール注入前 (a)、注入10分後 (b)、40分後 (c) における脚橋被蓋核への刺激効果。注入により筋活動の抑制はブロックされた。C ; ムシモール注入部位と刺激部位。D ; NMDA の注入により誘発される筋活動の抑制。注入は左の脚橋被蓋核。注入5分後、左の耳介を摘む (▲) と筋緊張は回復した。V ; 三叉神経核、SO ; 上オリーブ核。

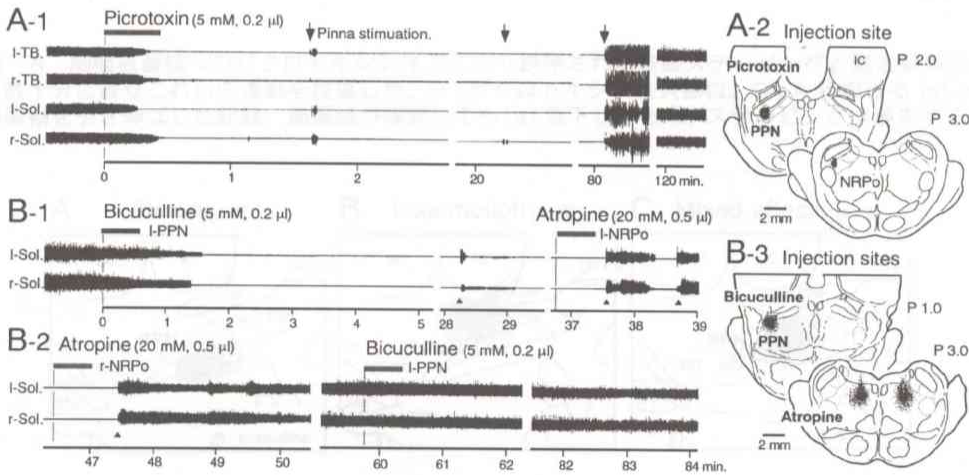


図13 脚橋被蓋核へのGABA 拮抗物質注入の効果。A-1 ; ピクロトキシン注入により四肢伸筋の筋緊張は消失した。↓は耳介刺激を示す。A-2 ; 注入部位は左側の脚橋被蓋核腹側。B-1, 2 ; ビククリン注入により左右後肢の筋緊張は消失した。しかし、両側の橋網様体へのアトロピン注入により筋活動レベルは回復した。B-3 ; ビククリン及びアトロピンの注入部位。

注入部位とその拡散領域を検討した(図16)。筋活動の抑制が誘発された例では、注入領域は PPN のやや腹側に集中していた(図16A)。一方、歩行運動が誘発された例では、注入領域が上小脳脚および、その背腹側部に認められた(図16A)。また、歩行運動と筋活動の抑制が交互に誘発された例(図15)では注入領域が、ほぼ PPN の中央に存在していた(図16C)。

これら、薬物注入実験の成績は、① PPN 領域に対する GABA 作動性投射には、歩行と筋緊張の制御に関連した機能的 topography が存在すること、② 筋活動の抑制には PPN から橋網様体に投射するコリン作動性投射が関与すること、③ PPN 及びその近傍の細胞が GABA 作動性経路の制御下にある、その脱抑制により筋活動の抑制や歩行運動が誘発されることを示唆する。また、図15の成績に特に注目した場合、④ PPN 領域に投射する GABA 作動系が筋緊張レベルと歩行リズムの自動的あるいは統合的制御に関与すると考えられる。また、⑤ PPN のコリン作動性細胞から始まる筋活動抑制系は、除脳ネコにおいては持続的な GABA 作動性抑制を受けており、その結果除脳固縮(筋緊張の亢進)が出現するという可能性も考えられる。

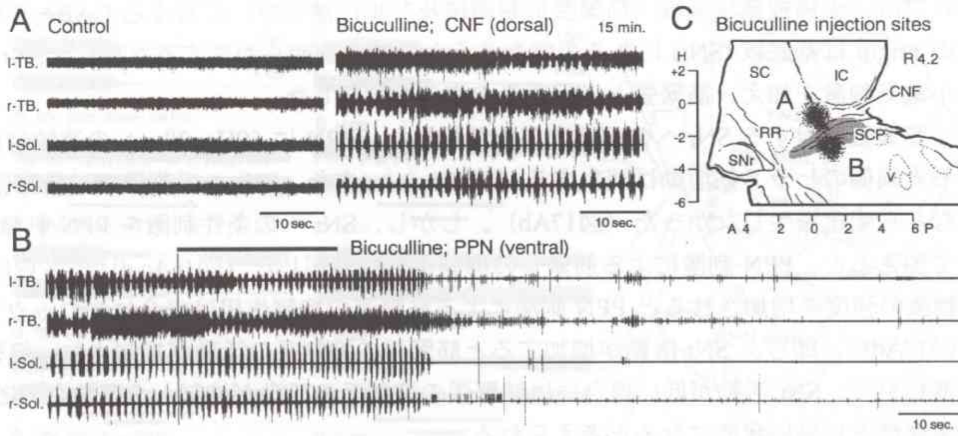


図14 楔状核へのビククリンの注入による歩行運動 (A) と脚橋被蓋核腹側部への注入による歩行の抑制 (B)。C ; ビククリンの注入部位。RR ; 後赤核野

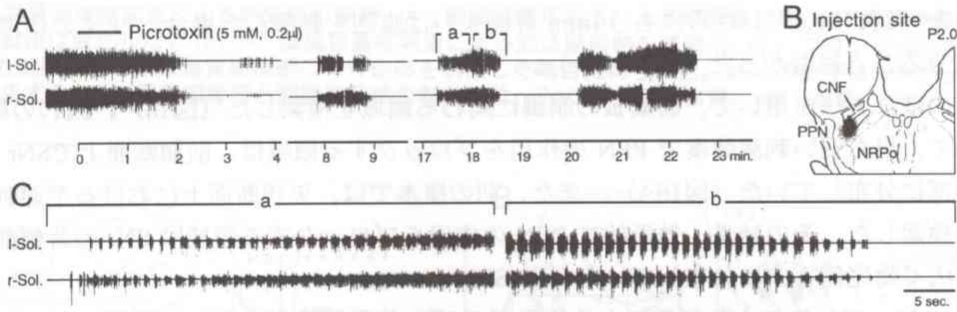


図15 A ; 脚橋被蓋核へのピクロトキシン注入により誘発された後肢ステップングと筋活動抑制の反復。数十分に渡りこれらの運動を反復した。B ; ピクロトキシン注入部位。C ; A における (a) と (b) の時間軸を引き伸ばした記録。筋緊張が増加しても (a) 低下しても (b) ステッピングは消失する。

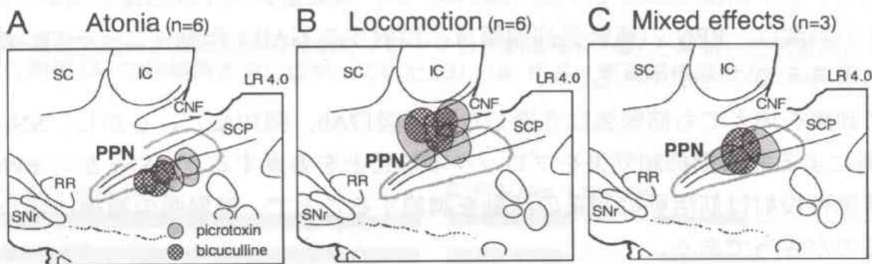


図16 GABA 拮抗薬の注入部位と誘発される運動パターン。A ; 筋活動の抑制、B ; 歩行運動、C ; 歩行運動と筋活動抑制の混合。

2-6. 黒質網様部刺激による筋緊張の制御

それでは、脚橋被蓋核領域（筋緊張抑制領域及び歩行誘発野）に対する GABA 作動性投射の origin は基底核 (SNr) にあるのであろうか？これを明らかにするために、SNr に直接微小電気刺激を加え、筋緊張と歩行運動の変化を解析した。

まづ筋緊張に対する SNr への刺激効果を解析した。PPN に 50Hz, 20 μ A の連続刺激を加えると両側のヒラメ筋活動は消失する (図17Aa)。また、SNr への刺激では筋緊張レベルになんら変化を生じなかった (図17Ab)。しかし、SNr への条件刺激を PPN 刺激に先行して加えると、PPN 刺激による筋緊張の抑制作用は減弱した (図16Ac-d)。さらに、SNr 刺激の強度を増加させると PPN 刺激による筋緊張の抑制作用は完全にブロックされた (図17Ad)。即ち、SNr 活動が増加すると筋緊張の抑制系の活動が抑制され、筋緊張は亢進し易く、SNr 活動が低い場合には筋緊張の抑制系の活動が抑制から開放されるため筋緊張が低下し易い状態になると考えられる。

この様な PPN 刺激の効果をブロックする領域を systematic に検索した (図17B)。黒質網様部の背外側部を刺激した場合には、PPN の刺激効果は完全にブロックされたが (図17Bc)、1mm 背側部、或は腹側部を刺激すると、PPN 刺激効果への抑制効果は不十分であった (図17Bb,d)。さらにもう1mm 背側或いは腹側を刺激した場合、PPN の作用を減弱させることはなかった (図17Aa, e)。

この様な方法を用いて、筋緊張の制御に関わる領域を検索した (図18)。図17の標本において、最も弱い刺激強度で PPN の作用をブロックする領域は、前額断面上で SNr の背外側部に分布していた (図18A)。また、別の標本では、矢状断面上における至適刺激部位を検索した。その結果、効果的に PPN の作用をブロックする領域は SNr の背側部において広く吻尾側方向に分布していた (図18B)。

図19 は、SNr に加えた刺激による作用が GABA 作動性投射を介して発現している可能性を示した成績である。PPN 刺激により筋緊張は抑制された (図19Ab)。しかし、PPN 刺激中に、SNr 刺激を加えると、SNr 刺激の期間にほぼ一致して筋緊張レベルが回復した (図19Ac)。また、PPN 刺激部位の近傍に bicuculline を微量注入すると筋緊張は消失した。そこで、SNr 刺激を加えてみた (図19B) が、筋緊張レベルは回復しなかった。従って、SNr の刺激は、PPN の筋緊張抑制領域へ投射する GABA 作動性ニューロンを介して発現すると考えることができる。

SNr に刺激を加えても筋緊張は亢進しない (図17Ab, 図19Aa)。しかし、SNr 刺激が PPN 刺激による筋活動抑制効果をブロックすることを考慮すると、SNr から PPN への GABA 作動性投射は筋活動抑制系の活動を調節することで、筋緊張の制御に関わっていると考えるのが妥当である。

2-7. 黒質網様部刺激による歩行運動の制御

次に、SNr への刺激がどの様に歩行運動を変化させるのかを検討した。図20では、視床下部を温存した除脳ネコにおいて、自発歩行に対する SNr の刺激効果を解析した。SNr を通過する軸上に背・腹側方向に刺激電極を 0.5 mm 間隔で進め、各々の部位に連続刺激 (100 Hz, 40 μ A) を加えた (図20A)。SNr 及び、その近傍に刺激を加えた場合に歩行運動に変化が見られた (図20B)。SNr の背側部、Horsley-Clarke 軸上、H-3.0 に刺激を加えると自発歩行は完全に抑制された。この抑制は刺激停止後も数秒間持続していた。そして、

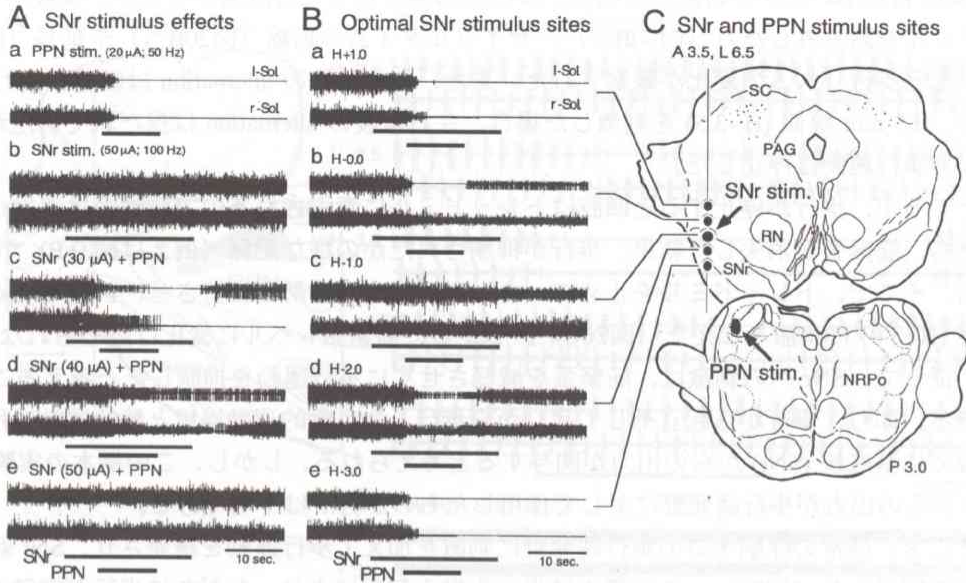


図17 黒質網様部刺激による筋緊張の制御。A；脚橋被蓋核刺激による筋緊張抑制(a)。黒質網様部刺激では筋緊張は変化しない(b)が、脚橋被蓋核刺激による筋活動抑制を減弱(c, d)、ブロック(e)する。B；最も効果的な作用は黒質網様部の背外側部を刺激した場合に得られた。a~eの数字は Horsley-Clarke 軸に対応する。C；黒質網様部と脚橋被蓋核の刺激部位。PAG；中心灰白質、RN；赤核

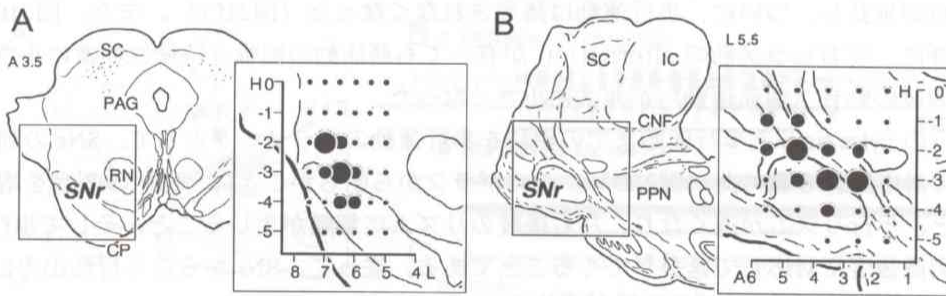


図18 脚橋被蓋核刺激による筋緊張の抑制をブロックした刺激部位(●)と減弱した刺激部位(●)は黒質網様部の背外側部(A)で吻尾側方向に広がっていた(B)。A, B 各々黒質網様部附近を右に拡大した。

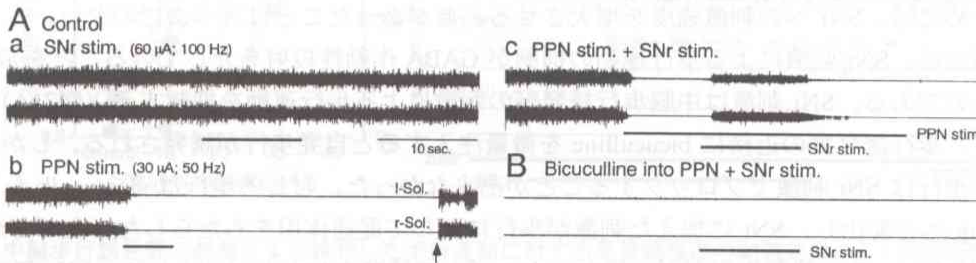


図19 黒質網様部の刺激は GABA 作動性投射を介することの証明。A；脚橋被蓋核刺激で誘発される筋活動の抑制(a)は、黒質網様部の刺激(b)でブロックされた(c)。B；脚橋被蓋核に Bicuculline (5 mM, 0.2 μl) を注入すると筋活動は消失した。その後、黒質網様部に刺激を加えても筋活動は回復しなかった。

0.5 mm 背側 (H -2.5) を刺激した場合、歩行が抑制されることは無かったが、後肢がトレッドミルを踏み外したり (図20B▽)、サイクルタイムの短縮 (図20B△) や延長 (図20B▲) など歩行リズムの変化が観察された。また、左右後肢の alternation は顕著に乱れた。一方、0.5 mm 腹側 (H -3.5) を刺激した場合、左右後肢の alternation は保たれていたが、やがて歩行運動は停止した。

ところで、歩行が停止すると四肢はトレッドミルに牽引されるので筋電図は消失し、あたかも、筋緊張が消失した結果、歩行が抑制されたかのような記録 (例えば図9B) が得られる。そこで、トレッドミルを止めて、ネコに反射直立姿勢を維持させ、再度 SNr の背側部 (H -3.0) に刺激を加えた (図20C)。しかし、筋緊張レベルに変化は認められなかった。従って、SNr への刺激は、筋緊張を減弱させずに歩行運動を抑制したと考えることができる。即ち、歩行から起立そして起立から歩行という動的運動過程と静的運動過程の切り替えに基底核 (SNr) からの出力が関与すると考えられる。しかし、この標本の実験では、SNr からの出力が歩行誘発野に対して作用したのか否かは不明である。

そこで、通常の除脳ネコの歩行誘発野に刺激を加えて歩行運動を誘発させ、SNr 刺激の効果を解析した (図21)。この標本は歩行中枢の刺激により、ただちに歩行が誘発され、その cycle time は約 1 秒であった (図21Ba)。次に SNr に刺激を加え、その刺激強度を次第に増加させた (図21C)。刺激強度を増加させると歩行リズムは次第に遅くなり、左右後肢の alternation が乱れた。時には、左右ヒラメ筋の co-contraction が生じ (図21Cb▲)、歩行リズムは顕著に乱れた (図21Ca~c)。そして、刺激強度の増加に伴い、歩行開始までの潜時が延長し、ついに、歩行運動は誘発されなくなった (図21Ce)。また、図21Cd に示す様に、左右ヒラメ筋の alternation が有っても筋活動の振幅と持続は非常に小さくなり、四肢の動き (関節運動) が非常に小さくなった。

歩行の cycle time と歩行開始までの潜時を歩行運動のパラメータとして、SNr の刺激強度との対応関係を調べた (図21D)。このグラフから明らかことは、SNr の刺激を増加させると、歩行リズムが遅くなり、左右後肢のリズムに解離が生じること、そして歩行の開始が刺激強度に対応して延長してくることである。従って、SNr からの下行性出力は、歩行の開始、停止、定常状態における歩行運動のリズム、左右肢の alternation など、様々な歩行運動の要素を制御していると考えられる。

歩行中枢に加えた刺激の強度が強くなる程、歩行のステップサイクルは早くなり、筋活動も増加する。図としては掲載していないが、この様な enhance された歩行をブロックするためには、SNr への刺激強度を増大させる必要があったことは言うまでもない。

図22は、SNr 刺激による歩行運動の抑制が GABA 作動性投射を介していることを示したものである。SNr 刺激は中脳歩行誘発野の刺激による歩行運動を抑制する (図21A)。また、歩行誘発野の近傍に bicuculline を微量注入すると自発歩行が誘発される。しかし、この歩行は SNr 刺激でブロックすることが出来なかった。むしろ歩行は slow walk から gallop へと変化し、SNr に加えた刺激が歩行に対して促通作用をもたらしたことが分かる (図22B)。この興奮作用がどのようなメカニズムで誘発されたかは別として、SNr 刺激による歩行の抑制は、歩行誘発野への GABA 作動投射を介して発現すると考えられる。

さらに、歩行運動を抑制する刺激部位を Systematic に mapping した (図23)。最も効果的に歩行運動をブロックした領域は、前額断面上で SNr の背内側部に分布しており (図23A)、矢状断面上では SNr の背側部において吻・尾側方向に広く分布していた (図23B)。

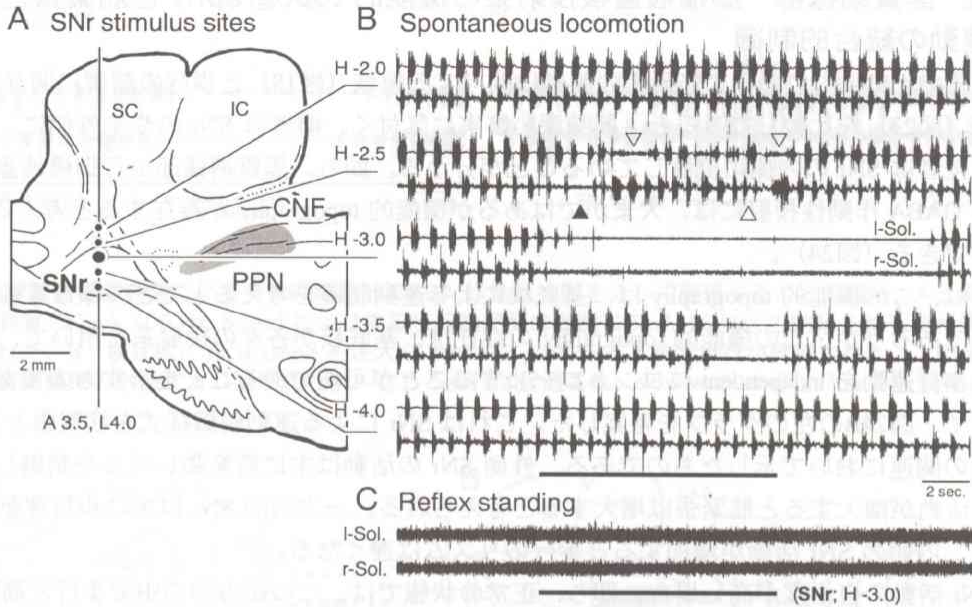


図20 高位除脳ネコにおける自発歩行と黒質網様部への刺激効果。A；矢状断面における刺激部位。B；各々の刺激による歩行運動の変化。記録は左右のヒラメ筋活動。▽；トレッドミルの踏み外し。▲；サイクルタイムの延長。△；サイクルタイムの短縮。C；反射直立時の黒質網様部刺激の効果。この刺激は歩行を抑制した(B)が筋緊張を変化させない(C)。黒質刺激のパラメータ；100 Hz, 40 μ A, 5-10 sec.

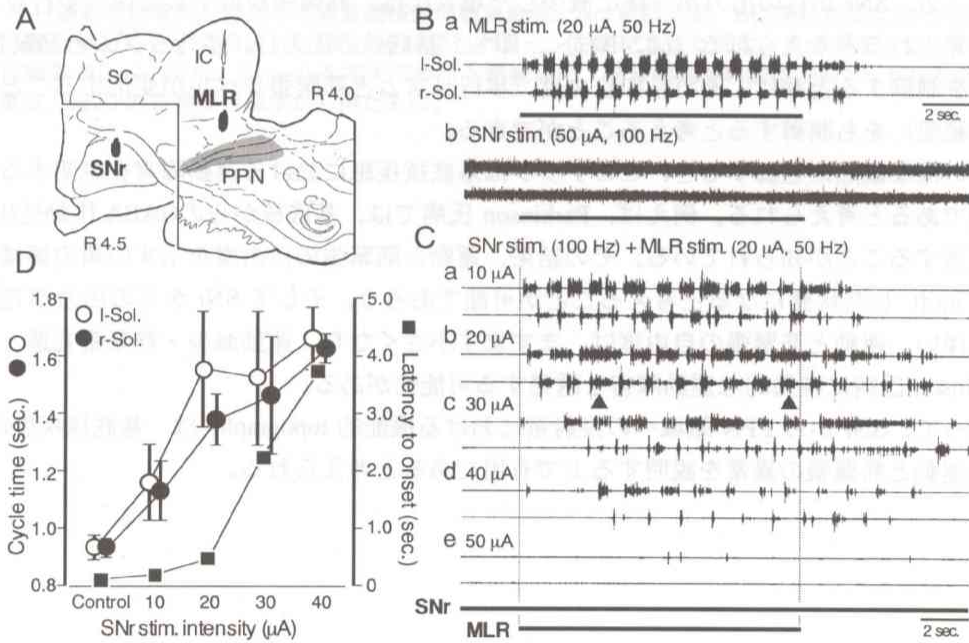


図21 中脳歩行誘発野の刺激により誘発した歩行運動に対する黒質網様部の刺激効果。A；矢状断面における刺激部位。B；左右のヒラメ筋活動に対する中脳歩行誘発野(a)と黒質網様部(b)への刺激効果。C；歩行運動に対する黒質刺激の効果。上から順に黒質への刺激強度を増加させている。黒質網様部への刺激は記録期間中持続的に加えている。縦の破線は歩行誘発野への刺激を加えている期間を示す。▲は、左右ヒラメ筋のco-contractionを示している。D；黒質網様部刺激による歩行パラメータの変化。○は左側、●は右側後肢のサイクルタイムの平均(10-20 steps)。縦線は標準偏差。■は刺激から歩行を開始するまでの潜時。

2-8. 黒質網様部—脚橋被蓋核投射系の機能的 topography と筋緊張と歩行運動の統合的制御

ここで、SNr 内において筋緊張の制御に関与する領域 (図18) と歩行の制御に関与する領域 (図23) を比較してみると、興味深い事実気付く。前者は SNr のやや外側に、そして後者は SNr の内側に位置していることが分かる。即ち、黒質網様部から脚橋被蓋核への GABA 作動性投射には、大まかではあるが機能的 topography が存在すると考えることができる (図24)。

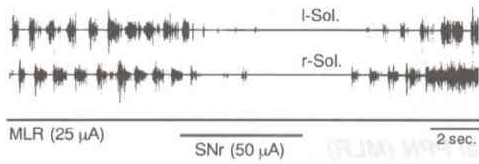
では、この機能的 topography は、基底核による運動制御を考える上でどのような意義を持つのであろうか？この機能的 topography の存在は、基底核が各々の投射系を用いて、筋緊張と歩行運動を independent にコントロールすることが可能であることを示すものである。そこで、図24Bの左のグラフを考案した。これは SNr による運動制御様式を筋緊張と歩行運動の関連において示したものである。外側 SNr の活動は主に筋緊張レベルを制御し、SNr 活動が増大すると筋緊張は増大すると考えられる。一方内側 SNr は主に歩行運動を制御し、内側の SNr 活動が増加すると歩行のリズムは遅くなる。

SNr 活動の自由度が高い場合、即ち、正常の状態では、この正方形の中で歩行と筋緊張のバランスがとれている。そして、SNr の出力は筋緊張が高いにも関わらず速い歩行や、筋緊張が低く遅い歩行も制御することができる。しかし、基底核からの出力、即ち内・外側の SNr 活動が非常に亢進する場合には、この正方形は右上に shift する。その結果、外側 SNr の活動亢進は筋緊張の亢進を、内側 SNr の亢進は遅い歩行をもたらすと考えられる。一方、SNr からの出力が一様に減少した場合には、筋緊張が低下して速い歩行リズムが誘発されると考えられる (図24B右)。即ち、基底核の出力は、歩行リズムと筋緊張レベルを制御すると共に、それらの自由度 (歩行リズムと筋緊張レベルが変化することのできる範囲) をも制御すると考えることができる。

この様な観点に立脚すると、このグラフは基底核疾患における運動障害を説明する上で有用であると考えられる。例えば、Parkinson 氏病では、基底核からの GABA 作動性出力が亢進することが知られている。その結果、運動と筋緊張の自由度を示す四角の領域が右上に shift した状態になると考えることが可能であろう。そして SNr からの出力が亢進するに伴い、運動と筋緊張の自由度は、ますます小さくなり、運動減少・筋緊張亢進という Parkinson 氏病に特異的な運動障害を誘発する可能性がある。

従って、SNr から PPN 領域への投射系における機能的 topography は、基底核疾患における運動と筋緊張の異常を説明する上で有用であると考えられる。

A Control



B Bicuculline into CNF

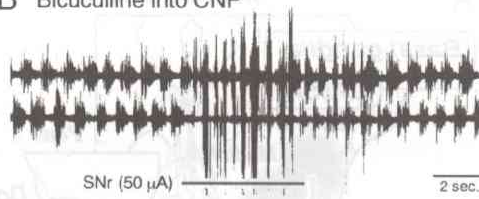
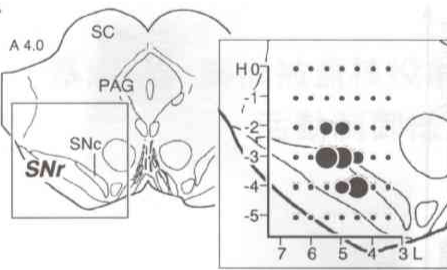


図 22 黒質網様部刺激による歩行の抑制は GABA 作動性投射を介して発現することの証明。A ; 黒質網様部の刺激 (50 μ A, 100 Hz, 5 sec) により中脳歩行誘発野の刺激 (25 μ A, 50 Hz) で誘発される歩行運動は抑制された。B ; 楔状核に bicuculline を注入 (5 mM, 0.2 μ l) すると、自発歩行が誘発された。この歩行運動は黒質網様部の刺激により抑制されず、むしろ歩行は促進され、slow walk から gallop へと変化した。

A



B

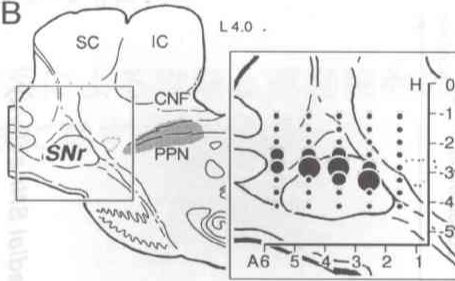


図 23 歩行運動を効果的に抑制した黒質網様部の刺激部位。Aは前額断面、Bは矢状断面における至適効果部位。●は歩行を完全に抑制した部位。●は歩行パターンを変化させた部位。Aの標本では、中脳歩行誘発野に刺激 (20 μ A, 50 Hz, 10 sec) を加えて歩行を誘発した。黒質網様部刺激は 100 Hz, 60 μ A, 20 sec. Bの結果は、図20の自発歩行標本から得たもの。

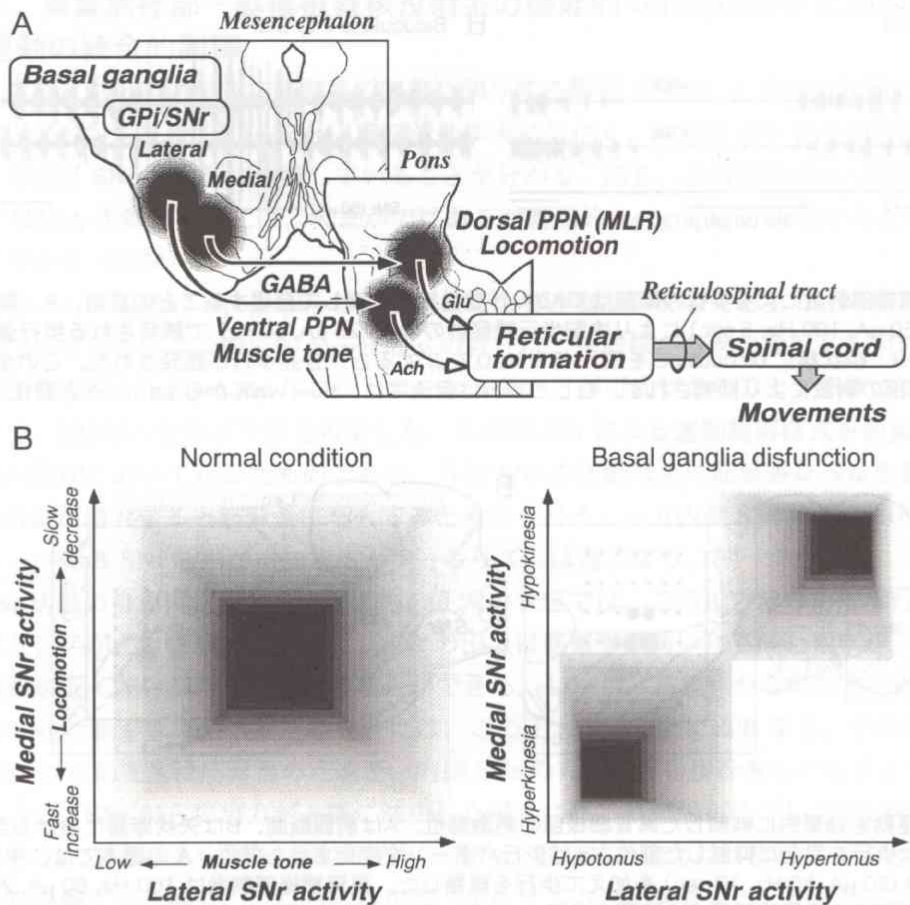


図 24 黒質網様部-脚橋被蓋核投射系の機能局在 (A) と歩行運動と筋緊張の統合制御のメカニズム (B)。詳細は本文参照

3. 研究の結果

基底核-脚橋被蓋核投射系による脊髄α運動細胞の活動制御様式に関する研究

3. 基底核—脚橋被蓋核投射系による脊髓 α 運動細胞の活動制御様式に関する研究。

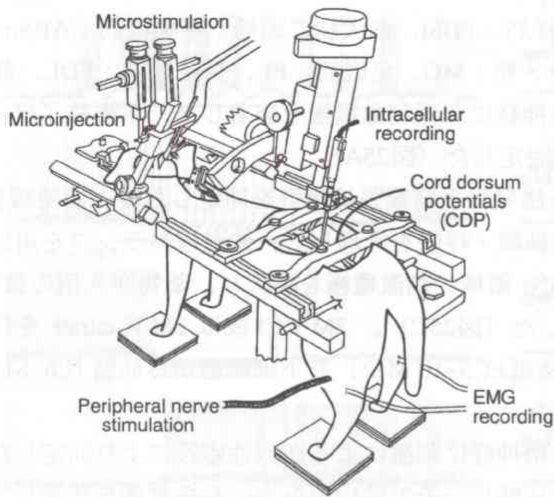
3-1. 要旨

先の基底核—脚橋被蓋核投射系と筋緊張・歩行の制御様式に関する研究では、基底核からの下行性投射が筋緊張と歩行運動の制御に重要な役割を担っていることを明らかにした。特に、筋緊張の制御に関して、① PPN 腹側部には筋緊張の調節に関わる領域が存在すること、②筋緊張の抑制にはこの核のコリン作動性細胞が関与すること、③ SNr からの GABA 作動性出力は筋緊張の制御に関与することが明らかとなった。では、これらの神経機構は如何なるメカニズムで制御されるのであろうか？運動を誘発する神経機構の活動は最終共通路である α 運動細胞に誘発されるシナプス後電位の変化として表現される。そこで、この研究項目では、除脳ネコの後肢筋を支配する α 運動細胞の細胞内電位を解析し、運動細胞の興奮性を制御するシナプスメカニズムの観点から、基底核による筋緊張と歩行の制御機構を評価しようと試みた。

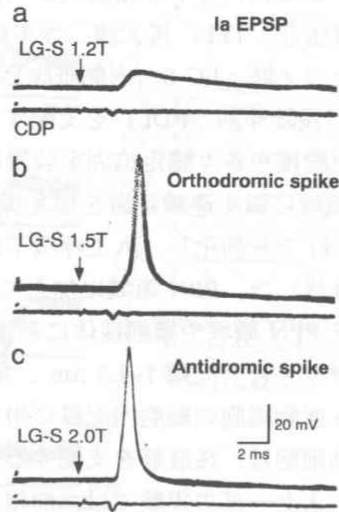
実験には、除脳ネコ標本 (n=14) を用いた。PPN 領域に刺激を加え筋緊張を抑制する領域を同定した後、標本を非動化し、人工呼吸化に呼吸・循環を管理した。そして、下部腰髄・仙髄から後肢筋支配 α 運動細胞の細胞内記録 (n=72) を試みた。その結果、(1) PPN 腹側部に 20-50 μ A, 50Hz の連続刺激を加えると、伸筋及び屈筋 α 運動細胞の膜電位は過分極側 (2-12 mV) に移行した。この過分極電位に伴い、膜抵抗及び Ia EPSP の振幅は各々約 30%減少し、運動細胞の発射活動も抑制された。(2) 次に、PPN に 20-50 μ A, 3 連発、5 ms 間隔の刺激を加え、各々の運動細胞に誘発されるシナプス後電位を解析した。PPN 刺激は様々な時間経過からなる EPSP と IPSP との混合性シナプス後電位を誘発した。しかし、全ての伸筋および屈筋運動細胞に対して、latency 約 30 ms, peak latency 約 50 ms, duration 約 25 ms の IPSP が誘発された。この IPSP の振幅は、橋網様体への atropine 注入や PPN 刺激部位の近傍への muscimol の注入により減少した。一方、PPN に bicuculline や picrotoxin を注入すると、この IPSP の振幅は増大した。(3) SNr に 20-60 μ A, 100Hz の連続刺激を加えても運動細胞の膜電位には如何なる変化も誘発されなかったが、PPN 刺激により誘発される IPSP の振幅を著明に減少させた。この SNr への刺激効果は、PPN への bicuculline や picrotoxin の注入によりブロックされた。(4) PPN 刺激、及び、SNr 刺激は共に、fictive locomotion におけるリズムカルな膜電位の oscillation を抑制した。PPN 刺激では、運動細胞の膜電位は過分極側に移行し、oscillation の脱分極相が抑制された。一方、SNr 刺激では、oscillation の過分極相が消失して膜電位は持続的に脱分極した。

これらの成績は、(1) PPN 刺激による筋緊張の抑制の背景には、後肢伸筋及び屈筋支配運動細胞に対するシナプス後抑制 (Postsynaptic inhibition) が作用していること、(2) PPN 刺激により誘発される IPSP はこの核から橋網様体へのコリン作動性投射が関与すること、そして、(3) PPN は SNr からの GABA 作動性投射の支配を受けることを示している。従って、除脳ネコの運動行動レベルで明らかにした基底核 (SNr) から PPN への投射系による筋緊張の制御メカニズムは、 α 運動細胞におけるシナプス機構のレベルにおいて証明されたと考えられる。さらに、(4) PPN 及び、SNr からの出力は歩行運動のリズム形成機序と運動細胞の興奮性の双方を制御すると考えられ、SNr から PPN への投射系が、筋緊張レベルと歩行運動の統合的制御に重要な役割を持つことが示唆された。

A Animal preparation (decerebrate cat)



B Identification of α -MN



C Electrode arrangement

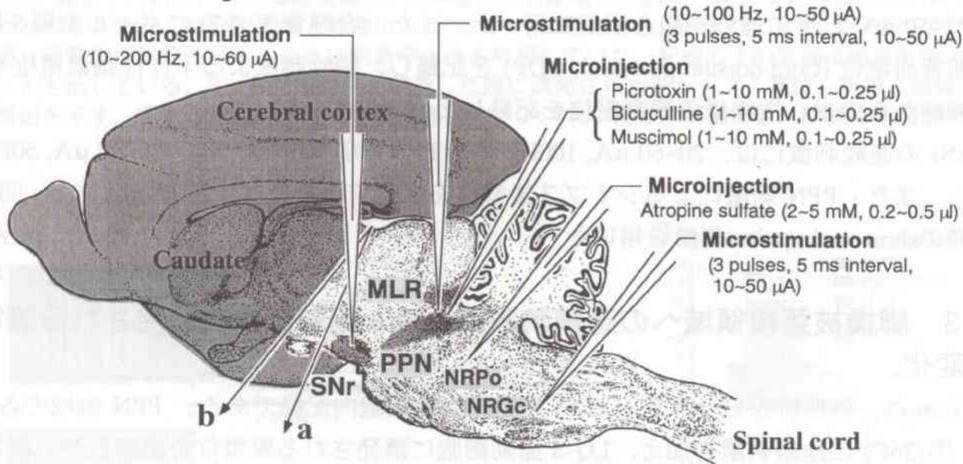


図25 運動細胞の細胞内記録を行うための実験方法。A；実験標本の全体像。脳定位固定装置に固定した除脳ネコ標本。脳幹には刺激電極と薬物注入用のガラス管を刺入してある。下部腰髄に運動細胞の細胞内記録用電極を刺入する。またその近傍から脊髓背面電位(CDP)を記録する。除脳ネコを非動化する前にヒラメ筋から筋電図を記録して、脳幹の刺激部位を同定する。B；運動細胞の同定法。末梢筋神経の刺激を強くしてゆくと、Ia EPSP (a)、順行性スパイク (b)、逆行性スパイク (c)の順で運動細胞の活動が観察される。下の記録は脊髓背面電位(CDP)。各々の数字はCDPで記録できる coming volleyの閾値を基準とした場合の神経刺激の強度。C；脳幹内における刺激電極と薬物注入用ガラス管のarrangement。a, bは各々上丘前縁-乳頭体後縁での除脳と上丘前縁-乳頭体前縁での除脳の切断レベルを示している。詳しくは本文参照。SNr；黒質網様部、MLR；中脳歩行誘発野、PPN；脚橋被蓋核、NRPo；吻側橋網様核、NRGc；延髄巨大細胞性網様核。

3-2 実験の方法

除脳ネコにおいて下部腰髄及び仙髄領域を露出した。また、後肢筋（大腿四頭筋；Q、大腿筋膜張筋；TFL、後大腿二頭半腱様筋；PBSt、前大腿二頭筋；半膜様筋；ABSm、外側腓腹ヒラメ筋；LG-S、内側腓腹ヒラメ筋；MG、足底筋；PL、長趾屈筋；FDL、前頸骨筋；TA、長趾伸筋；EDL）を支配する神経に双極刺激電極を装着した。手術終了後、頭部、胸椎及び腰椎を各々脳定位固定装置に固定した（図25A）。

PPN 領域に微小連続刺激を加え歩行誘発野と筋緊張抑制野を同定した後、筋弛緩薬 (Myoblock) で非動化し、人工呼吸下に循環・呼吸を管理した。体温は熱ランプを用いて 37°C に維持した。PPN 領域に加えて SNr 領域に刺激電極を刺入し、薬物注入用の微小ガラス管を PPN 領域や橋網様体に刺入した（図25C）。3M KCl 或は 2M K-citrate を封入した微小ガラス管（先端 1~1.5 μm 、電極抵抗 5~10 M Ω ）を下部腰髄から仙髄 (L6-S1) に刺入し、 α 運動細胞の細胞内記録に用いた。

α 運動細胞は、後肢筋を支配する末梢神経に刺激による逆行性応答により同定した（図25Bc）。また一部の試験では、前根を切断し、その前根中枢端に双極電極を装着し、その刺激による逆行性応答をもって α 運動細胞を同定し、末梢神経からの Ia-EPSP により運動細胞の種類を同定した (Eccles et al. 1965)。活動電位の振幅が 60 mV 以上、或は静止膜電位が -50 mV 以下の運動細胞を解析に用いた。また、脊髄背面 (L7) にボール電極を置き、脊髄背面電位 (Cord dorsum potential; CDP) を記録し、脳幹刺激による下行性軸索電位や、末梢神経からの求心性線維の興奮電位を記録した（図25B）。

SNr の連続刺激には、20~60 μA , 100Hz を、PPN の連続刺激には、20~40 μA , 50Hz を用いた。また、PPN 刺激によるシナプス後電位を誘発するために、20~50 μA , 5 ms 間隔、3 連発の short train pulse 刺激を用いた。

3-3 脚橋被蓋核領域への連続刺激により α 運動細胞に誘発される膜電位の変化。

図26は、外側腓腹ヒラメ筋 (LG-S) 運動細胞の細胞内記録である。PPN 領域の各部位に（図26C）に連続刺激を加え、LG-S 運動細胞に誘発される膜電位を記録した。楔状核への刺激により膜電位は最初脱分極側に移行し、それに続いて cycle time が約 2 秒のリズミカルな発射活動と膜電位の oscillation が誘発された（図26Aa）。次に、PPN の背側部の刺激では、膜電位は徐々に過分極側に移行し、それに伴い、cycle time が約 0.5 秒のリズミカルな発射活動と膜電位の oscillation が誘発された（図26Ab）。刺激停止後、膜電位は回復し、oscillation も消失した。一方、PPN の腹側部を刺激した場合、運動細胞の発射活動は停止し、膜電位は過分極側に移行した（図26Ab）。刺激停止後も膜電位はやや過分極側に移行した状態であり、活動電位の発射頻度も刺激前のレベルには満たない状態であった。さらに、1 mm 腹側部を刺激すると、膜電位は持続的に脱分極側へと移行した。

この結果を図 8 の筋活動のマッピングの結果と比較して欲しい。楔状核刺激によるリズミカルな運動細胞の発射活動は、fictive locomotion と呼ばれるもので、歩行運動に対応する運動細胞の活動を示している。運動細胞の活動は筋緊張レベルを反映するので PPN 腹側部の刺激による運動細胞の発射活動停止と過分極電位は、この部位の刺激により誘発される筋緊張の抑制に対応すると考えられる。そして、PPN 背側部刺激で誘発される運動細胞活動は筋緊張の低下を伴う早いリズムの後肢ステップ運動であると考えられる。

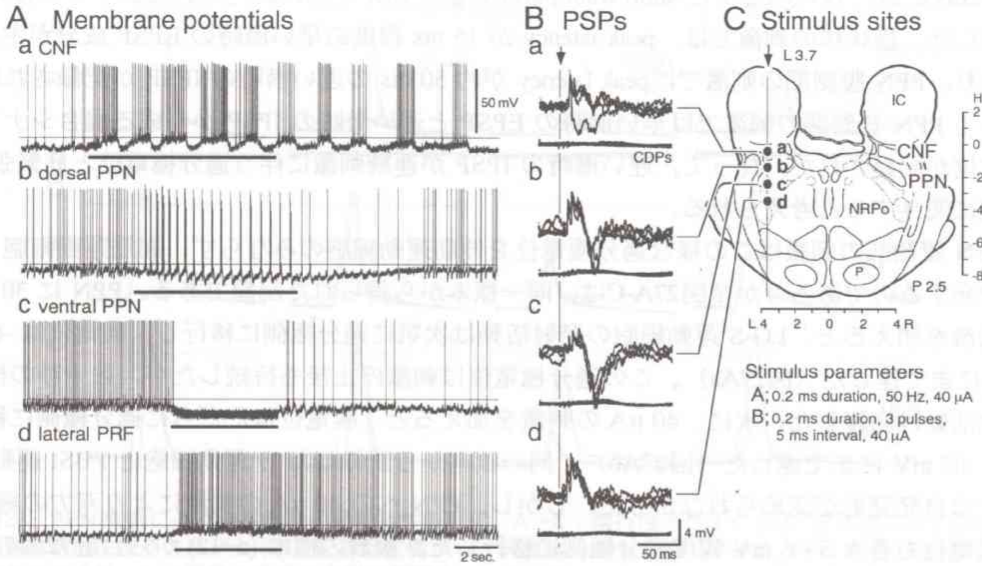


図26 PPN 領域の刺激による外側腓腹ヒラメ筋運動細胞の活動変化。A；上から楔状核 (a)、背側 PPN (b)、腹側 PPN (c)、外側橋網様体 (d) の刺激による膜電位の変化。楔状核刺激では、約 2 cycles/s のリズムカルな発射活動と膜電位の oscillation が誘発された。また、PPN 腹側部の刺激では、過分極電位が誘発された。これは刺激停止後も持続していた。記録の下の実線は刺激を加えていることを示している。B；各々の部位を刺激した際に誘発された後シナプス電位。矢印と破線は刺激の開始を示す。各々の記録の下段は脊髄背面電位。C；PPN 領域の刺激部位。詳細は本文参照。

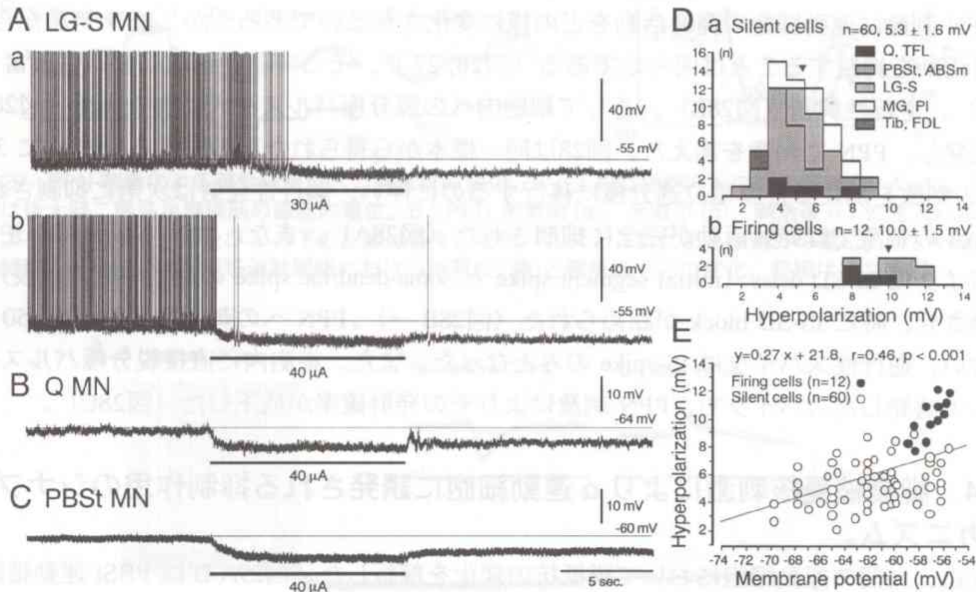


図27 PPN 刺激により後肢運動細胞に誘発される過分極電位。A、B、C、は各々外側腓腹ヒラメ筋運動細胞、大腿四頭筋運動細胞、後大腿二頭半腱様筋運動細胞の細胞内記録。各々の記録の下の実線は PPN 刺激を示している。D；PPN 刺激により誘発される過分極電位の大きさ。a, b は各々自発発射の無い細胞 (a) と自発発射のある細胞 (b)。E；PPN 刺激前の膜電位と PPN 刺激による過分極電位の関係。●は自発発射を持つ細胞、○は自発発射を持たない細胞。自発発射を持つ細胞の刺激前の膜電位はその細胞の発射閾値とした。詳細は本文参照。

図26Bには、各々の部位に short train pulse 刺激を加えた際に誘発されるシナプス後電位を示した。楔状核の刺激では、peak latency が 15 ms 程度の早い潜時の EPSP 成分が主体であり、PPN 腹側部の刺激では peak latency が約 50 ms の遅い潜時の IPSP が記録された。そして PPN 背側部の刺激では早い潜時の EPSP と遅い潜時の IPSP から成る混合シナプス電位が記録された。従って、遅い潜時の IPSP が連続刺激に伴う過分極電位と筋緊張の抑制に関与すると考えられる。

PPN 腹側部の刺激はこの様な過分極電位を伸筋運動細胞のみならず、屈筋運動細胞にも誘発するのであろうか？図27A-Cは、同一標本から得られた記録である。PPN に 30 μ A の刺激を加えると、LG-S 運動細胞の発射活動は次第に過分極側に移行し、膜電位は -62 mV にまで達した（図27Aa）。この過分極電位は刺激停止後も持続したが、数十秒の後に発射活動は回復した。次に、40 μ A の刺激を加えると、膜電位はただちに過分極側に移行し、-65 mV にまで達した（図27Ab）。同一標本から記録した Q 運動細胞と PBSi 運動細胞には自発発射が認められなかった。しかし、PPN への 40 μ A の刺激により双方の細胞の膜電位も各々 5 - 6 mV 程度過分極側に移行した。複数の標本 (n=12) から合計72個の運動細胞の膜電位を記録し、PPN 刺激 (40 μ A) で誘発される過分極電位の大きさを調べた。自発発射の無い細胞では、膜電位は平均で 5.3 mV (n=60)、自発発射を持つ細胞では、10.0 mV (n=12) の過分極電位が観察された（図27D）。図27E のグラフは、刺激前の膜電位と PPN 刺激による過分極電位の関係を示している。過分極電位の大きさは、PPN 刺激前の膜電位に依存しており、その膜電位が浅い程過分極電位が大きいことが伺われる (p<0.001)。またこのグラフの regression line を用いてこの過分極電位の平衡電位を算出すると、-80.7 mV になり、運動細胞における Cl⁻ イオンの平衡電位 (-80 mV) にほぼ相当する。

PPN 刺激は運動細胞の発射活動をどの様に変化させるのであろうか？PPN 刺激が自発発射活動を抑制することは明らかである（図26, 27）。そこで運動細胞に順行性興奮（図28A）、逆行性興奮（図28B）、そして細胞内への脱分極パルス注入による興奮（図28C）を誘発し、PPN に刺激を加えた。図28は同一標本から得られた記録である。PPN に 30 μ A の刺激を加えると膜電位過分極に移行するのに伴い、順行性発射は次第に抑制され、50 μ A の刺激では発射活動が完全に抑制された（図28A）。また、PPN の刺激は、逆行性スパイクに IS-SD delay (initial segment spike と soma-dendritic spike の連結時間の延長) を誘発させ、時に IS-SD block が認められた（図28B →）。PPN への刺激強度の増加 (50 μ A) に伴い、逆行性スパイクは IS-spike のみとなった。また、細胞内に直接脱分極パルスを注入して誘発したスパイクも、PPN 刺激によりその発射確率が低下した（図28C）。

3-4 脚橋被蓋核刺激により α 運動細胞に誘発される抑制作用のシナプスメカニズム。

次に、16個の運動細胞において膜抵抗の変化を解析した。図29A-B は PBSi 運動細胞の細胞内記録であり、PPN 刺激によりひき起される典型的な膜抵抗の変化を示している。記録電極から振幅 4 nA、持続 50 ms の過分極 - 脱分極パルスを注入し、ステップ状の膜電位変化を運動細胞に誘発した（図29B）。注入パルスと膜電位の変化からこの細胞の入力膜抵抗は、約 1.5 M Ω であった。そして PPN に刺激を加えると膜電位は過分極側に移行し（図29A）、これに伴い電流パルスによる膜電位の振幅、即ち入力膜抵抗は約 1.0 M Ω 程度にまで減少した（図29Bb）。刺激終了後、膜抵抗は速やかに回復した（図29Bc）が、

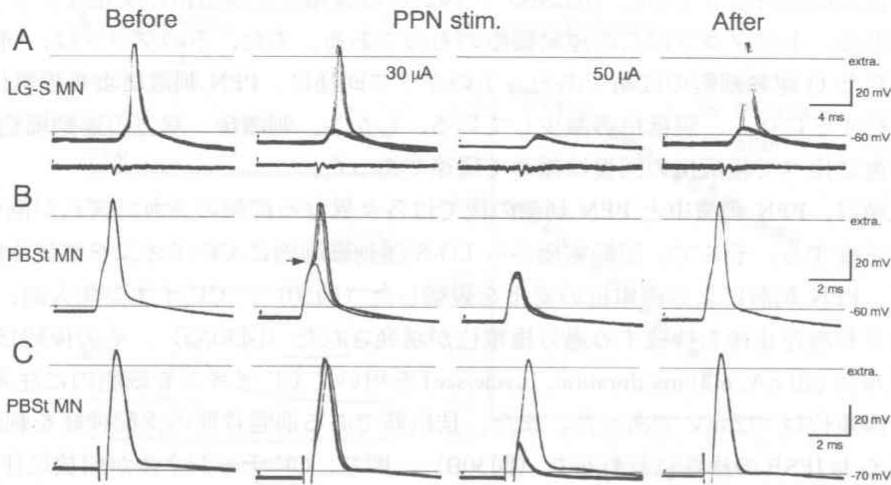


図28 PPN 刺激による運動細胞の発射特性の変化。A~C；順行性スパイク (A)、逆行性スパイク (B) 細胞内刺激によるスパイク (C)。記録は左側から、刺激前、PPN 刺激 (30 μ A)、PPN 刺激 (50 μ A)、刺激後の活動。A の記録の下段は脊髄背面電位。B の矢印は、IS-SD delay を示している。C の細胞では、持続 0.2 ms、強さ 12 nA の脱分極電流を注入してスパイクを誘発した。詳細は本文参照。

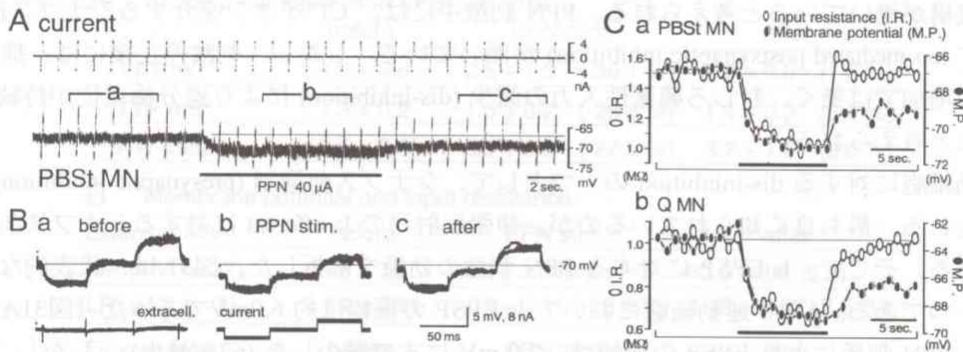


図29 PPN 刺激による運動細胞の入力膜抵抗の変化。A；上段は細胞内への注入電流 (± 4 nA)。下段は後大腿二頭筋半腱様筋の細胞内電位。B；PPN 刺激前 (a)、刺激中 (b)、刺激後 (c) の注入パルスによる膜電位変化。b 及び a の下の記録は各々、注入パルスとこれによる細胞外の電位。C；A の運動細胞 (a) 及び大腿四頭筋運動細胞における膜電位 (●) と膜抵抗 (○) の変化。詳細は本文参照。

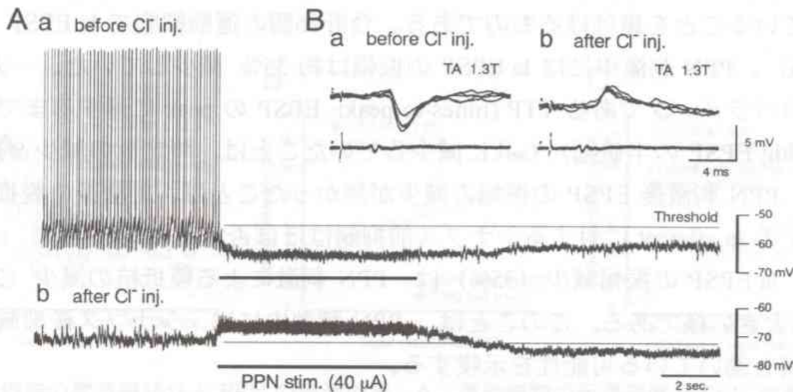


図30 運動細胞細胞への Cl^- イオン注入の効果。A；PPN 刺激による膜電位の変化 (a) と、 Cl^- イオン注入後の PPN 刺激の効果 (b)。記録の下の実線は PPN の刺激を示す。B； Cl^- イオン注入前 (a)、注入後 (b) の Ia IPSP。IPSP は完全に反転している。IPSP の下の記録は脊髄背面電位。詳細は本文参照。

過分極電位は依然持続していた (図29A)。図29Cは膜電位と膜抵抗の変化をグラフにしたものである。上のグラフはこの運動細胞のものである。また、下のグラフは、同一標本から得られた Q 運動細胞の成績である。上のグラフ同様に、PPN 刺激により膜電位が過分極に移行するに伴い、膜抵抗の減少している。しかし、刺激後、双方の運動細胞共に膜抵抗の回復に比べて膜抵抗の回復は極めて緩徐であった。

この成績は、PPN 刺激中と PPN 刺激の後では各々異なる抑制のメカニズムが働いていることを示唆する。そこで、記録電極から LG-S 運動細胞内に Cl^- イオンを電気泳動的に注入して、PPN 刺激による膜電位の変化を観察した (図30)。 Cl^- イオン注入前、PPN 刺激により刺激停止後も持続する過分極電位が誘発された (図30Aa)。その後約15分間、過分極パルス (10 nA, 600 ms duration, 1cycle/sec) を用いて Cl^- イオンを細胞内に注入した。注入後、膜電位は -72 mV であった。また、拮抗筋である前脛骨筋の支配神経を刺激して誘発される Ia IPSP の極性は反転した (図30B)。即ち、 Cl^- チャンネルが開放に伴い Cl^- イオンは細胞内から細胞外に移行したと考えられる。この様な状態で PPN を刺激すると膜電位は脱分極側に移行した。しかし、刺激停止後、膜電位は次第に過分極側に移行し -76 mV にまで到達した。

これらの成績を総合すると、PPN 刺激中と刺激後とは明らかに異なる抑制シナプス神経機構が働いていると考えられる。PPN 刺激中には、 Cl^- イオンを介するシナプス後抑制 (Cl^- ion mediated postsynaptic inhibition) が働いている。しかし、刺激停止後には、抑制入力増加ではなく、むしろ興奮性入力の減少 (dis-inhibition) により過分極電位が持続するものと考えられる。

運動細胞に対する dis-inhibition の一つとして、シナプス前抑制 (presynaptic inhibition) が考えられる。最も良く知られているのが、伸張反射弓の Ia afferent に対するシナプス前抑制である。そこで、Ia EPSP に対する PPN 刺激の効果を解析した。図31は、代表的な記録の一つである。LG-S 運動細胞において Ia EPSP の振幅は約 6.0mV であった (図31A上段)。PPN 刺激により EPSP の振幅は、2.0 mV にまで減少した (67%減少)。しかし、刺激停止後には、EPSP の振幅は、刺激前と同様に 6.0 mV 程度にまで回復した。図31Bは、Ia EPSP の declining phase を対数プロットしたものである。PPN 刺激により EPSP の declining phase の傾きが急峻になったことが分かる。これは、運動細胞膜の時定数が減少したことを意味しており、EPSP の振幅は減少と合わせて、PPN 刺激中にはシナプス後抑制が働いていることを裏付けるものである。合計16個の運動細胞で Ia EPSP の変化を調べた (表 1 A)。PPN 刺激中には Ia EPSP の振幅は約 35% 減少していた。一方、EPSP の時間経過のパラメータである TTP (times-to-peak; EPSP の peak に達するまでの時間) と HW (Half-width; EPSP の半値幅) も共に減少していたことは、時定数の減少と良く合致する。しかし、PPN 刺激後 EPSP の振幅の減少が無かったことは、刺激後の脱抑制のメカニズムとしての Ia afferent に対するシナプス前抑制はほぼ否定された。

ところで、Ia EPSP の振幅減少 (35%) は、PPN 刺激による膜抵抗の減少 (28.1% ; 表 1 B) よりも大きい様である。このことは、PPN 刺激中には、シナプス後抑制に加えてシナプス前抑制も働いている可能性を示唆する。

図32は運動細胞の電気膜特性と PPN 刺激による抑制効果についての関係を調べたものである。グラフ A には、運動細胞の軸索伝導速度と PPN 刺激による過分極電位の関係を、B には、入力膜抵抗と PPN 刺激による過分極電位の関係を各々示した。細胞体の大きさ

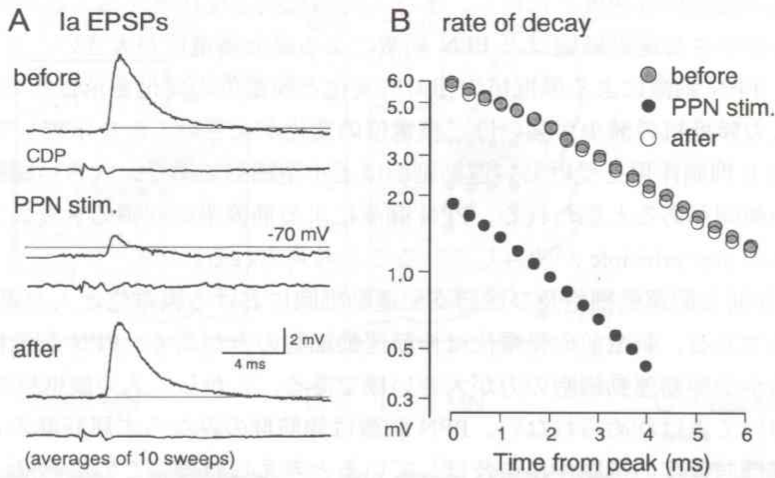


図31 PPN 刺激による Ia EPSP の変化。A ; 記録は外側腓腹ヒラメ筋運動細胞から得たもの。上段から PPN 刺激前、刺激中、刺激後の記録。下は脊髄背面電位。B ; Ia EPSP の declining phase の対数プロット。詳細は本文参照。

A Shape parameters of Ia EPSPs (n=16)

	before	PPN stim.	after
Vp (mV)	4.2 ± 2.6	2.5 ± 1.5 (-35.1 %)	4.8 ± 3.0 (1.8 %)
TTP (ms)	1.3 ± 0.2	1.0 ± 0.2 (-26.3 %)	1.4 ± 0.2 (5.4 %)
HW (ms)	3.5 ± 0.8	2.5 ± 0.6 (-27.5 %)	3.7 ± 1.0 (3.0 %)

B Membrane potential and input resistance

Extensor MNs	before	PPN stim.	after
MP (mV; n=37)	-58.6 ± 3.6	-65.3 ± 2.3 (6.7 mV)	-63.9 ± 3.6 (5.3)
I.R. (MΩ; n=8)	1.44 ± 0.61	1.03 ± 0.41 (-28.3 %)	1.49 ± 0.62 (2.8 %)
Flexor MNs	before	PPN stim.	after
MP (mV; n=35)	-63.0 ± 4.3	-68.2 ± 2.0 (5.2 mV)	-67.1 ± 4.6 (4.1)
I.R. (MΩ; n=8)	1.14 ± 0.36	0.82 ± 0.24 (-27.2 %)	1.15 ± 0.38 (0.8 %)

表 1 A ; PPN 刺激前、刺激中、刺激後における Ia EPSP shape index の変化 (A) と膜電位及び入力膜抵抗の変化 (B)。 () 内の数字は刺激前の値に対する相対的变化を示している。詳細は本文参照。

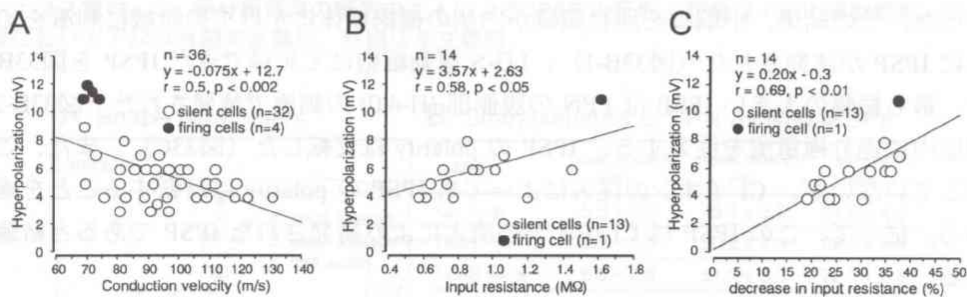


図32 運動細胞の電気膜特性と PPN の刺激効果。A ; 運動細胞の伝導速度と PPN 刺激による過分電位の関係。B ; 入力膜抵抗と PPN 刺激による過分電位の関係。C ; PPN 刺激による入力膜抵抗の減少と過分電位の関係。詳細は本文参照。

は、運動細胞の軸索伝導速度と比例し、また入力膜抵抗と反比例することから、各々のグラフは細胞体の小さな運動細胞ほど PPN 刺激による過分極電位が大きいことを示している。さらに、PPN 刺激による膜抵抗の相対的变化と膜電位の変化を示したのが C のグラフである。入力膜抵抗の減少が強いほど膜電位の変化が大きいことを示唆している。即ち、PPN 刺激により抑制作用を受け易い運動細胞ほど小型細胞であり、大きい細胞ほど抑制は受けにくい傾向があると思われる。PPN 刺激による筋緊張の制御のメカニズムにも運動細胞プールの size principle が関与していると考えられる。

表 1 B は、伸筋支配運動細胞及び屈筋支配運動細胞における膜電位と入力膜抵抗の変化を示したものである。刺激前の膜電位は伸筋運動細胞の方が高く、PPN 刺激による膜電位の過分極もやや伸筋運動細胞の方が大きい様である。しかし、入力膜抵抗の変化を見る限り両群において差は認められない。PPN 刺激は伸筋群のみならず屈筋群の α 運動細胞に対してもほぼ同程度の抑制作用を及ぼしていると考えられる。このことは、この核から始まる抑制系が屈曲—伸展運動の gain setting にも関与することを推定させる。即ち、拮抗関係にある運動細胞群の興奮性を対等に調節することにより、関節の屈曲—伸展運動時の緊張力を適切な度合い（強さ）に制御することができるのであろう。従って、この抑制系の働きは定常的な筋緊張の設定（静的運動の制御）のみにあらず、運動時における屈曲—伸展運動の調節（動的運動の制御）にも関与すると考えられる。

3-5 脚橋被蓋核刺激により α 運動細胞に誘発される抑制性シナプス電位。

次に私共が考えたことは、このようなシナプス後抑制を誘発するメカニズムが、① PPN のコリン作動性細胞を賦活して誘発されたものなのか？② 基底核からの GABA 作動性投射の支配下にあるのか？③ さらには、Magoun and Rhines (1946) 以来古くから指摘されている抑制性網様体脊髄路系を介して発現するものなのか？この 3 点について検討することであった。

図 26 に示した様に、PPN 刺激による膜電位の過分極には、遅い潜時の IPSP が関与している可能性がある。そこで、中脳橋移行部に限無く short train pulse 刺激を加えて、同様の IPSP が誘発される部位を検索した（図 33）。中脳橋移行部の矢状断面（図 33A-1）において、P2, P3 の track に沿って刺激を加えた場合に誘発されたシナプス電位を図 33A-2 に示した。Pbst 運動細胞に大きな振幅の IPSP を誘発したのは H-4.0 附近に刺激を加えた場合であり、この領域は PPN にほぼ一致する（図 33A-1）。前額断面上においても同様の解析を行った。その結果、小脳脚を囲む領域か内側の橋網様体にかけての領域に刺激を加えた場合に IPSP が誘発された（図 33B-1）。LG-S 運動細胞にて記録できた IPSP を図 33B-1 に示す。最も振幅の大きい IPSP は PPN の腹側部 (H-4.0) の刺激で誘発された（図 33B-2）。

細胞内に過分極電流を注入する、IPSP の polarity は反転した（図 33C）。また、ここには示していないが、Cl⁻ イオンの注入によっても IPSP の polarity は反転することを確認している。従って、この IPSP は Cl⁻ イオンの流入により誘発された IPSP であると結論付けられる。

PPN 刺激は、伸筋運動細胞のみならず屈筋運動細胞に対しても IPSP を誘発することに注目したい。図 34 は、IPSP の特徴を示したものである。shape parameters として、peak voltage（振幅）、peak latency（ピーク潜時）、half width（半値幅）を各々の IPSP において計測した（図 33A）。これをまとめたのが図 34B である。PPN の刺激には常に同じパラ

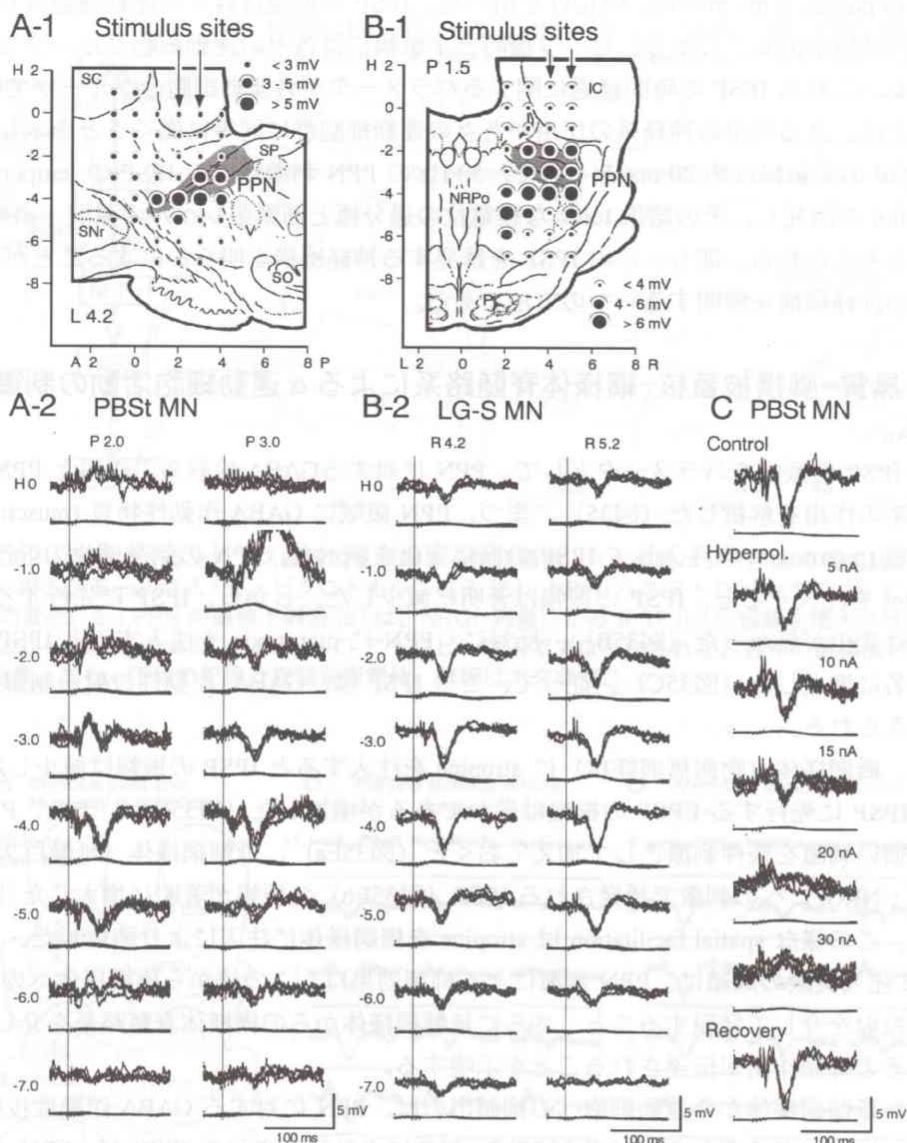


図33 PPN領域の刺激によるシナプス後電位。A-1、B-1は中脳橋移行部での刺激部位。大きい振幅のIPSPを誘発する部位を大きな●で表示した。A-2、B-2は、各々の断面上↓で示したの2つのtrackに沿って刺激を加えた時に運動細胞(A-2; PBSt運動細胞、B-2; Q運動細胞)に誘発された後シナプス電位。C; 過分極電流の細胞内注入によるIPSPの反転。記録はPBSt運動細胞。各々の記録において下段は脊髄背面電位。詳細は本文参照。

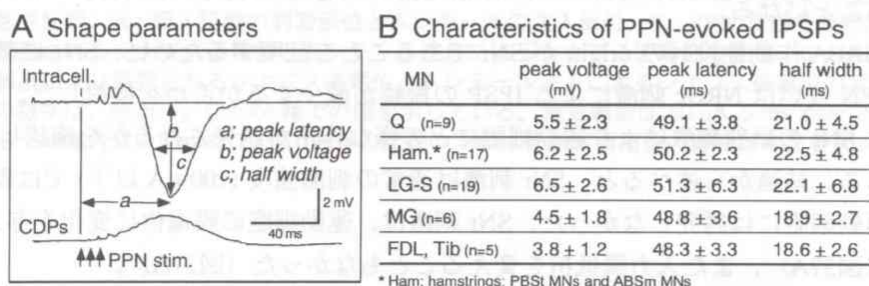


図34 PPN-evoked IPSPのshape parameters (A) とそれらの特徴 (B)。詳細は本文参照。

メータ (3 pulses, 5 ms interval, 40 μ A) を用いた。IPSP の振幅は各々の運動細胞のグループで多少の違いがある。しかし、ピーク潜時と半値幅には各々の運動細胞グループで殆ど同じである。これら IPSP の時間経過に関するパラメータが各運動細胞のグループではほぼ等しいことは、ある特定の神経系の作用が各々の運動細胞群に同等に働くことを示している。この IPSP の半値幅は約 20 ms あるので、50 Hz の PPN 刺激はこの IPSP の temporal summation を誘発し、その結果 tonic な膜電位の過分極と筋緊張レベルの減弱・消失を誘発すると考えられる。即ち、この IPSP を誘発する神経機構を明らかにすることが筋緊張の制御の神経機構を解明する一つの方法である。

3-6 黒質-脚橋被蓋核-網様体脊髄路系による α 運動細胞活動の制御メカニズム。

この IPSP の振幅をパラメータとして、PPN に対する GABA 投射系の作用と PPN からの出力系の作用を解析した (図35)。まづ、PPN 領域に GABA 作動性物質 (muscimol) や拮抗物質 (picrotoxin) を注入して IPSP の振幅変化を調べた。PPN の刺激部位の近傍に muscimol を注入すると、IPSP の振幅は著明に減少した。しかし、IPSP に先行する興奮性電位には変化が無かった (図35B)。反対に、PPN に picrotoxin を注入すると IPSP の振幅は著明に増大した (図35C)。従って、この IPSP は、GABA 作動性投射の制御下にあると考えられる。

一方、橋網様体 (吻側橋網様核) に atropine を注入すると IPSP の振幅は減少した。この時、IPSP に先行する EPSP の振幅は僅かであるが増加した (図35D)。また、PPN に極めて弱い刺激を条件刺激として加えておくと (図35Ea)、延髄網様体 (延髄巨大細胞性網様核; NRGc) への刺激で誘発される IPSP (図35Eb) の振幅が著明に増大した (図35Ec)。しかし、このような spatial facilitation は atropine を橋網様体に注入により消失した。これら atropine 注入実験の成績は、PPN 刺激による抑制効果は、この核から橋網様体へのコリン作動性投射を介して発現すること、さらに延髄網様体からの網様体脊髄路系を介して運動細胞にその抑制作用が伝達されることを示唆する。

では、延髄網様体から運動細胞への抑制出力は、PPN に対する GABA 作動性投射で制御されているのだろうか？ PPN 及び NRGc 刺激により誘発される IPSP が、PPN への muscimol 注入によりどの様に変化するかを調べた (図36)。PPN と NRGc を通過する track に沿って背・腹側方向に刺激を加えた。双方の刺激ともに、peak 潜時約 50 ms の IPSP を誘発した。Muscimol を注入すると、各々の刺激で誘発される IPSP の振幅は時間を追って減少した。即ち、延髄網様体からの抑制出力も GABA 作動性投射により制御されていることになる。

この GABA 作動性投射の origin が SNr であることを証明するために、SNr に刺激を加えて、PPN 或いは NRGc 刺激による IPSP の振幅が減少するか否かを検討した。しかし、その前に SNr の単独刺激により運動細胞にどの様な作用が誘発されるかを確認しておく必要がある。結論から述べると、SNr 刺激は通常の刺激強度 (100 μ A 以下) では際立った作用を運動細胞には誘発しなかった。SNr 刺激は、運動細胞の膜電位に変化を与えることは無く (図37A)、また入力膜抵抗を変えることもなかった (図37A)。

しかし、SNr 刺激は、PPN 刺激による IPSP の振幅を著明に減少させた。図38はその例である。PPN に刺激を加えると PBS 運動細胞及び LG-S 運動細胞には、早い潜時 (20 ms

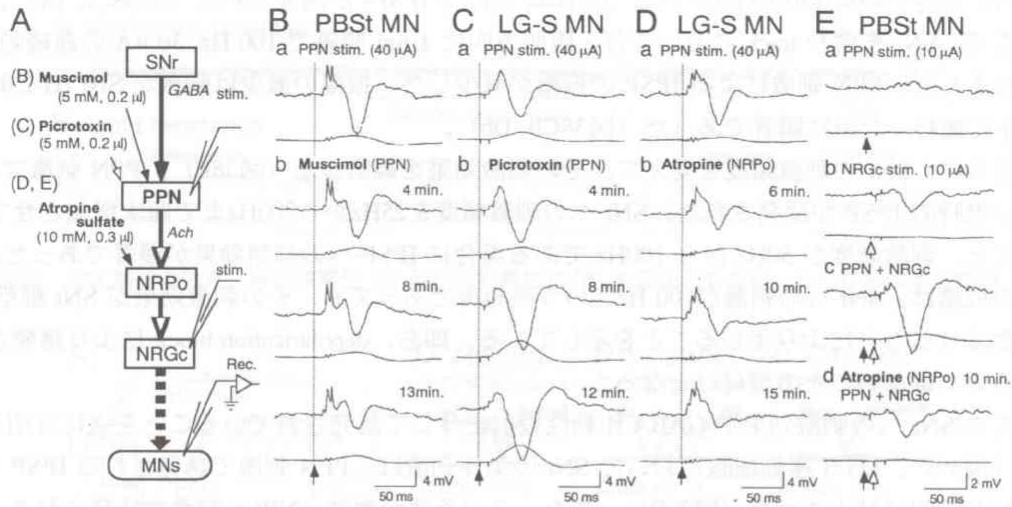


図35 PPN 刺激によるシナプス後電位を制御する神経機構。A；実験パラダイムの模式図。B-D；PPN へのムシモール注入 (B)、ピクロトキシン注入 (C)、NRPGc へのアトロピン注入 (D) による IPSP の変化。E；PPN の閾値下刺激 (a) は、NRGc 刺激による IPSP (b) の振幅を増大させた (c)。この spatial summation は、NRPGc へのアトロピン注入でブロックされた。各々の記録は10回の平均加算。また、下段の記録は脊髄背面電位。詳細は本文参照。

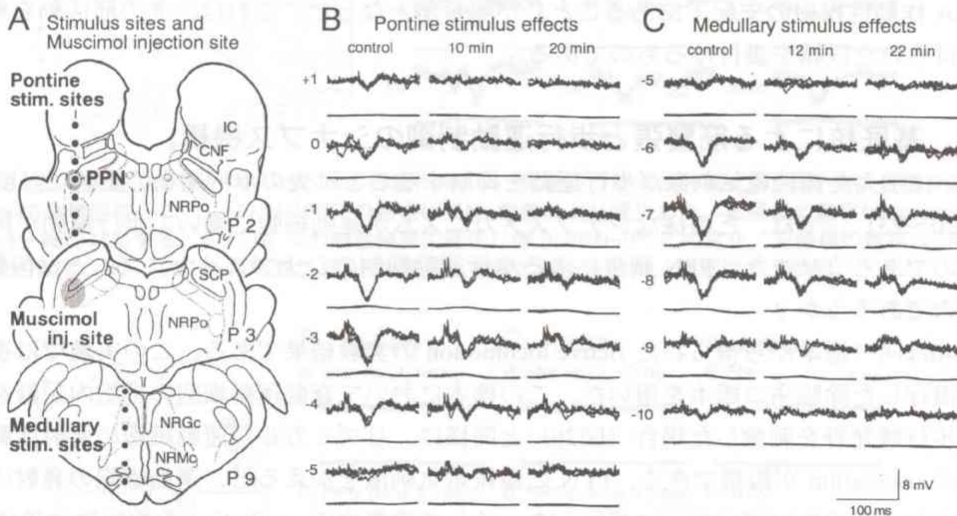


図36 PPN へのムシモール注入による PPN 及び NRGc からの抑制出力の減少。LG-S 運動細胞からの細胞内記録。A；橋・延髄の刺激部位とムシモールの注入部位。B；PPN 及びその近傍の刺激により誘発されるシナプス後電位とムシモール注入によるシナプス後電位の変化。C；内側延髄網様体の刺激により誘発されるシナプス後電位とムシモール注入によるシナプス後電位の変化。記録の左の数字は、Horsley-Clarke 軸での値を示している。電気刺激は 40 μ A, 5 ms interval, 3 trains。ムシモール注入は、5 mM, 0.2 μ l。各々の記録の下段は脊髄背面電位。詳細は本文参照。

以内)と遅い潜時(30-80 ms)の2つのpeakを持つIPSPsが誘発された(図38Ca, Da)。そこで、SNrを含むtrackにおいて背・腹側方向に1mm間隔で100 Hz, 30 μ Aの連続刺激を加えると、PPN刺激によるIPSPの振幅が減少した。振幅の減少は刺激がSNr(H-2.0~4.0)に加わった時に顕著であった(図38Cb, Db)。

さらに、SNrの刺激頻度を変えて、その刺激効果を観察した(図38E)。PPN刺激では遅い潜時のIPSPが誘発された。SNrへの刺激頻度を25Hzから200Hzまで順次増加させてゆくと、刺激頻度が50Hzから100Hzである場合にIPSPへの抑制効果が顕著であった。この成績は、SNrへの刺激が100 Hzという高頻度であっても、その刺激効果がSNr細胞を興奮させることにより生じることを示している。即ち、depolarization blockにより誘発されるのではないことの裏付けとなる。

このSNrへの刺激効果がGABA作動性投射を介して誘発されていることを次に証明した(図39)。LG-S運動細胞においてSNrの条件刺激は、PPN刺激で誘発されるIPSPの振幅を著明に減少させた(図39B)。また、この条件刺激は、NRGc刺激で誘発されるIPSPも同様に抑制した。そこで、PPNに低濃度のbicuculline(1 mM)を注入した。これにより、NRGcによるIPSPの振幅は僅かに増加する程度であったが、SNrの刺激はIPSPの振幅を著明に減少させることは無かった。

これらの実験から、『PPNからのコリン作動性投射を介して橋・延髄網様体脊髄路系を下行するシステムが筋緊張の抑制に関与すること、そしてこのシステムは基底核からのGABA作動性投射の支配下にあること』が明らかとなった。これは、先の筋活動を解析して得られた成績を裏付けるものである。

3-7 基底核による筋緊張と歩行運動制御のシナプス機構。

SNrに加えた連続電気刺激が歩行運動を抑制することは先の歩行運動の実験で証明した(図20~23)。では、どのようなシナプスメカニズムが運動細胞に働いて歩行運動が抑制されるのであろう？また、PPN刺激による歩行運動抑制のシナプスメカニズムとは何処が違うのであろうか？

図40は同一標本から得られたfictive locomotionの実験結果である。この実験では視床下部を温存した除脳ネコ標本を用いた。この標本において脊髄運動細胞の細胞内記録をすると、歩行誘発野を刺激した場合(図26)と同様に、リズムカルな運動細胞の発射活動と膜電位のoscillationが観察できる。PPNに連続電気刺激を加えると、運動細胞の発射活動は抑制され、膜電位は過分極側に移行した。そして膜電位のoscillationの振幅は次第に減少し、そのcycle timeも次第に延長した(図40A)。このoscillationをlocomotor driving potential(LDP)と呼んでいるが、この電位の振幅変化は脊髄のcentral pattern generator(CPG)の活動(歩行リズムを誘発する脊髄介在細胞群の活動)の変化と運動細胞の膜抵抗の変化を反映する。また、この電位の持続は、CPGの活動サイクルに大きく依存する。従って、PPN刺激に伴う歩行運動の抑制は、運動細胞に対するシナプス後抑制とCPGに対する抑制作用の双方によるためと考えられる。

一方、SNr刺激を加えた場合、運動細胞の膜電位は脱分極側に移行して、膜電位のoscillationが消失した。刺激終了間際になりoscillationが生じたが、刺激停止後もリズムカルなoscillationが回復するにはかなりの時間を要した(図40B)。注目すべき点は、oscillationの過分極相が消失したことである。従って、運動細胞は持続的な発射を呈する

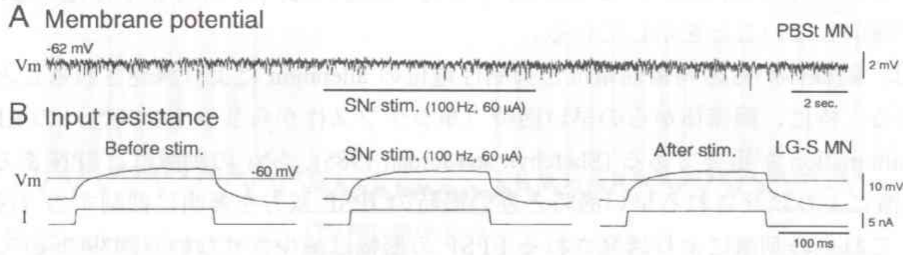


図37 SNr 刺激の効果。静止膜電位 (A) 及び入力膜抵抗 (B) を変化させなかった。詳細は本文参照。

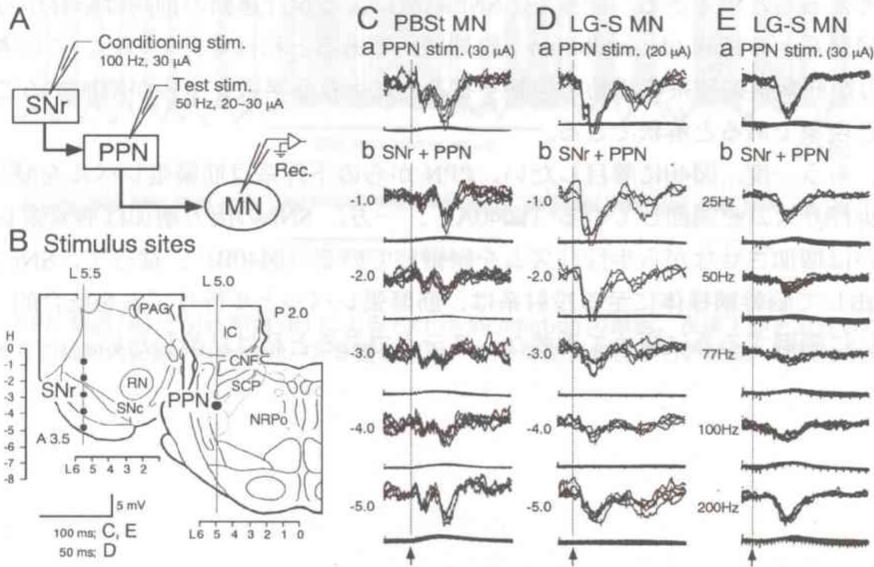


図38 SNr 刺激による PPN-IPSP への抑制作用。A ; 実験パラダイムの模式図。B ; SNr 近傍及び PPN の刺激部位。C, D ; PPN-IPSP の振幅は SNr 刺激により減少した。記録横の数字は Horsley-Clarke 軸に対応する。E ; SNr への刺激頻度の変化に伴う PPN-IPSP の変化。記録横の数字は SNr 刺激の頻度。50~100 Hz の刺激が IPSP の振幅を著明に減少させた。詳細は本文参照。

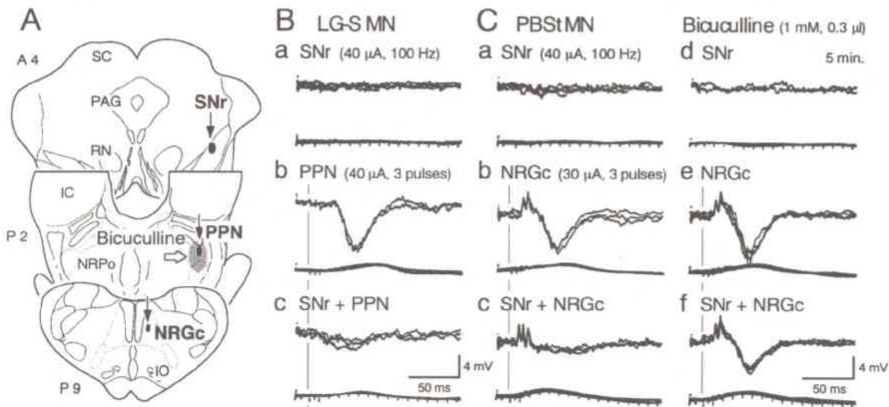


図39 SNr 刺激が PPN への GABA 作動性投射を介していることの証明。A ; SNr, PPN, NRGc の刺激部位とビククリン注入部位。B ; SNr 刺激 (a) は、PPN-IPSP (b) の振幅を著明に減少させた (c)。C ; SNr 刺激 (a) は、NRGc-IPSP (b) の振幅を著明に減少させた (c)。しかし、ビククリン注入後、SNr 刺激 (d) は、NRGc-IPSP (e) の振幅を減少させなかった (f)。詳細は本文参照。

ことになったと考えられるが、このことは、SNrの興奮により歩行運動が停止する際には筋緊張が減弱しないことを示している。

LDPは、網様体からの興奮性電位と抑制性電位の alteration により誘発されることが知られている。特に、網様体からの早い潜時（単シナプス性から2シナプス性）のEPSPとIPSPの alternation が重要である (Shefchyk and Jordan 1985)。SNrの刺激は、PPNあるいは、NRGc刺激により誘発される早い潜時と遅い潜時のIPSP双方を著明に抑制する（図38）。しかし、これらの刺激により誘発されるEPSPの振幅は減少させない（図39Cb-c）。即ち、SNrの刺激は locomotor driving potential の過分極相の生成にあづかるシステムの活動を抑制すると考えることができる。従って、SNr刺激による歩行運動の抑制は脳幹から脊髄に下行する抑制系への抑制 (dis-inhibition ; 脱抑制) であると私は考えている。この考え方は、SNrの出力が筋緊張抑制系の活動を抑制することにより筋緊張レベルが増加することと質的には同じ現象であると解釈できる。

ここで、もう一度、図40に着目したい。PPNからの下行系は筋緊張レベルを減少させながら、歩行リズムを調節している（図40A）。一方、SNrの出力増加は筋緊張レベルを維持あるいは増加させながら歩行リズムを制御している（図40B）。従って、SNrからPPNを経由して脳幹網様体に至る投射系は、筋緊張レベルと歩行リズムを統合的（或いは一元的）に制御する為に極めて重要なシステムであると私は結論したい。



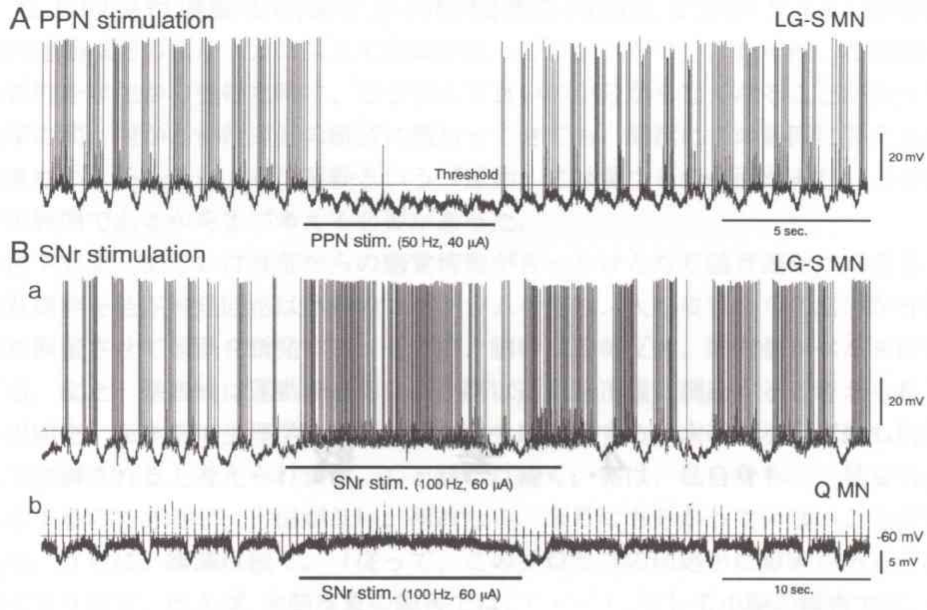
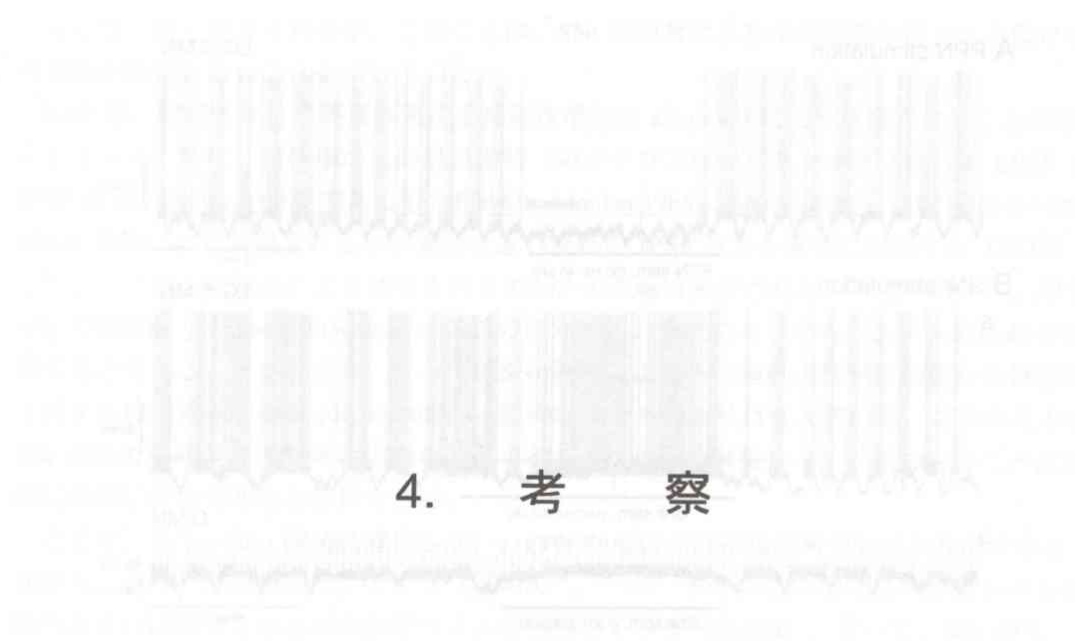


図40 PPN 刺激 (A) と SNr 刺激 (B) による Fictive locomotion の抑制。視床下部を温存した除脳ネコからの細胞内記録。A と B は LG-S 運動細胞、C は Q 運動細胞からの記録。詳細は本文参照。



4. 考 察

この結果より、本装置の動作は、理論的に説明される通りである。また、本装置の動作は、理論的に説明される通りである。また、本装置の動作は、理論的に説明される通りである。

4-1. ヒトの歩行運動を制御する神経機構は何処まで分かっているのか？

「歩行運動はどのようなメカニズムで制御されるのでしょうか？」。数年前、この極々ありふれた質問を学生から受けた時に、どう答えて良いのか分からなくなることがあった。この十数年の間、何かと歩行運動の研究に携わってきても、簡潔にこの質問に答えることが今もできない。そもそも、歩行運動という『運動』には幾つもの側面があり、どの側面についての質問であるかをまづ考える必要があった。

「意欲や意志、あるいは外部からの感覚情報がきっかけとなり随意運動は始まる。大脳皮質と基底核を結ぶ神経回路は運動のプログラムを作り、大脳皮質からの出力が脊髄の運動細胞を興奮させて運動を誘発する。その際、脳幹は姿勢反射、筋緊張レベルを自動的に設定する。また、基底核は運動を適切に、小脳は運動を正確に調節すると考えられる。」という説明を、医学部で生理学を学び始めた学生に講義する。次に「歩行運動も同様のプロセスで制御されると考えられます。」と話しは続く。実は、私自身も、一見妥当と思っただけで話しをするのであるが、自信がない。何故なら、余りにも分かっていないことが多いからである。さらに、講義は続く。「従って、このプロセスの何処かに障害があると歩行が出来なくなります。例えば、大脳皮質の障害では、・・・、そして小脳の障害では、・・・、さらに基底核の障害、特に Parkinson 氏病では、歩行運動の障害が重要な運動障害の一つです・・・」と。しかし、『Parkinson 氏病では、歩行運動の障害が重要な運動障害の一つであるにも関わらず、これがどのようなメカニズムで誘発されるのか？』未だ明確な説明がなされていない。

神経生理学で歩行運動の研究をしている人ならだれでも知っている筈の重要な歴史的な研究が2つある。一つは Shik らによる中脳歩行誘発野の発見 (Shik and Orlovski 1976) と、Grillner らによる central pattern generator の発見である (see Grillner 1981)。そして、敢てもう一つ加えることが出来るならば、運動と筋緊張の相互作用を実験的に証明した Mori らの研究である (see Mori 1987)。これらの研究以来、歩行の開始や停止のメカニズム、歩行リズムの発現神経機構、さらに中脳歩行誘発野への入出力系、網様体脊髄路系の働き・・・など、極めて多くの研究成果が得られている。一方で健常人 (Breniere and Cuong 1991, Elbe et al. 1994) や、Parkinson 氏病の患者における歩行障害の kinematics の解析などがなされている (Murray et al. 1978, Morris et al. 1994, 1996)。しかし、現段階では、動物における研究成績と臨床研究の成績は必ずしも適切に融合されていない様に私には思える。

最近、基底核と歩行の制御に関して極めて興味深い業績が公表されている。京都大学の柴崎教授のグループは、シングルフォトン断層法 (SPECT) を用いて、Parkinson 氏病患者の歩行中における脳血流の変化を解析した (Hanakawa et al. 1999)。彼等は、Parkinson 氏病患者に認められる逆説性運動 (Kinesie Paradoxiale) という現象に着目した。健常者が普通の床を歩く時には、一次感覚野の足の領域、補足運動野、線状体、小脳虫部、視覚皮質で血流が増大した (Fukuyama et al. 1997)。また、一定スピードでのトレッドミル上を歩行する場合には、上記領域に加えて内・外側の運動前野、前帯状回、頭頂葉上部及び脳幹背側の血流増加が認められた (Hanakawa et al. 1999)。一方、Parkinson 氏病患者に横線を引いたトレッドミル上を歩いてもらおうと、歩行障害 (小刻歩行) がほぼ正常に近い状態に回復するので、その前・後の血流を比較した。その結果、外側運動前野の血流が有意に増加することを見出した。従って、「Parkinson 氏病では視床-大脳投射系の活動が低下しているために、無動が生じて歩き難いが、特定の視覚入力外側運動前野の活動を賦活し、その結

果歩き易くなる」と彼等は結論付けている。即ち大脳皮質における visuomotor processing を促通することにより、Parkinson 氏病の歩行障害を回復させることが可能になるのかもしれない。

さらに、彼等の研究の中で興味深い成績がある。歩行運動時において脳幹背側の血流増加が認められた (Hanakawa et al. 1999) ことである。この領域は、動物 (ネコやラット等) で同定されている中脳歩行誘発野の領域に相当すると思われる。また、Masdeu ら (1994) は、中脳背側 (posterior midbrain) での出血により起立と歩行が出来なくなった (astasia and gait failure) 患者を報告している。その領域は、ほぼ脚橋被蓋核 (PPN) 領域に相当する (図 41)。従って、ヒトにも同様に歩行中枢に相当する神経機構が存在すると考えられるので、ネコやラットを用いた研究成績の基本的な部分はヒトの歩行運動の制御機構を説明する上で有用になると考えられる。

基底核による運動制御のメカニズムについてのこれまでの見解は、「基底核の出力は視床-大脳投射系を介して運動を制御する」というものである。しかし、近年、基底核と PPN 領域間の神経連絡が、様々な中枢機能の制御に関与している可能性が示されている (Garcia-Rill 1991, Garcia-Rill et al. 1996, Inglis and Winn 1995, Pahapill and Lozano 2000, Reese et al. 1995, Takakusaki et al. 1996, Winn et al. 1997)。そして基底核の出力核である GPi/SNr から PPN への投射系が歩行運動の制御に関与する可能性についても検討されている (Garcia-Rill et al. 1983)。そして本課題における研究成果は、「基底核からの上行性制御系に加えて、脳幹・脊髄へとつながる下行性投射系をも動員して運動を制御している」ことをほぼ証明できたと考えている。その中でも、「SNr からの GABA 作動性投射が、歩行運動のみならず、筋緊張レベルの制御に関わっている」ことを証明出来たことは、基底核による運動制御の仕組みを考える上で極めて重要なことである。

4-2. 基底核による随意運動と筋緊張の制御。

そこで、本課題で得られた成績と、臨床研究を含めて現在まで明らかになっている研究結果を総合して、図42の様な運動制御モデルを作ってみた。基底核は大脳皮質運動関連領域 (前頭連合野・一次感覚野を含む) から入力を受け、視床大脳投射系を介して運動前野と一次運動野に出力する (大脳皮質への出力) と共に、中脳の筋緊張抑制領域 (PPN) と歩行誘発野 (MLR) に投射する (脳幹への投射)。一次運動野と運動前野からは皮質脊髄路を經由して脊髄の運動細胞を興奮させ、随意運動が誘発される。また PPN や MLR からの信号は脳幹網様体 (RF) からの網様体脊髄路 (内側下行路系; medial system) を介して筋緊張レベルや歩行運動を制御する。一次運動野と運動前野からは脳幹への投射があり、この投射も筋緊張や歩行の制御に関与する。この様な前提に基づいて、基底核による運動制御の仕組みを考察したい。図42Bは基底核による随意運動と筋緊張レベルの制御メカニズムについて示したものである。基底核 (BG) から運動皮質 (CTX) への出力は、随意運動の運動量を制御する。そして基底核から PPN への投射は、筋緊張レベルを制御する。基底核出力細胞の発射頻度が正常の範囲で変動する時、運動量と筋緊張は中央の大きな■の中で変化する。しかし、Parkinson 氏病の様に基底核出力が増加する場合、視床大脳投射系の活動が抑制されるため運動量は減少する (akinesia, hypokinesia)。また、基底核から PPN への抑制出力は筋緊張抑制系の活動を低下させるため筋緊張は亢進する。さらに、基底核出力細胞の発射頻度は減少できないため (発射頻度の自由度の低下)、運動量と筋緊張の

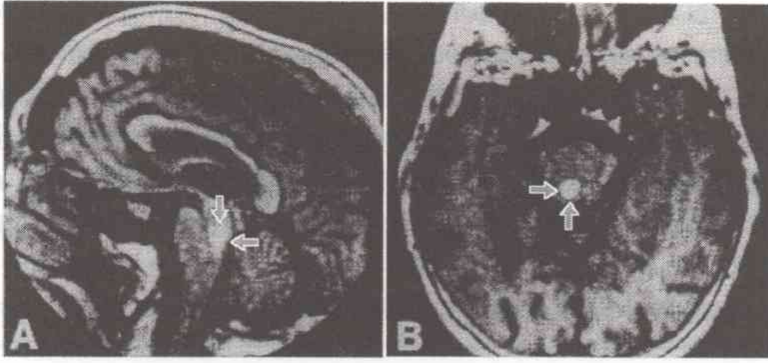


図41 橋・中脳歩行誘発野の梗塞（矢印）で起立及び歩行不能を呈した症例
Masduc JC et al. Annals of Neurology, 35: 619-621, 1994

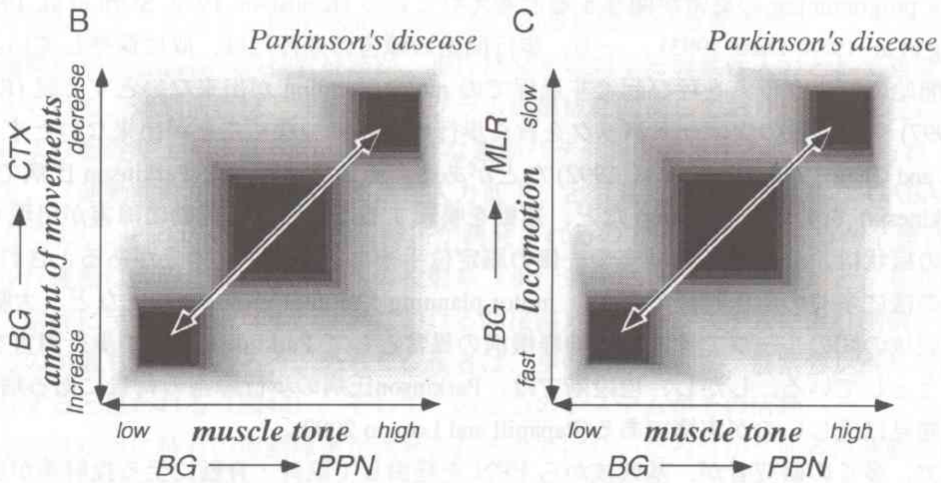
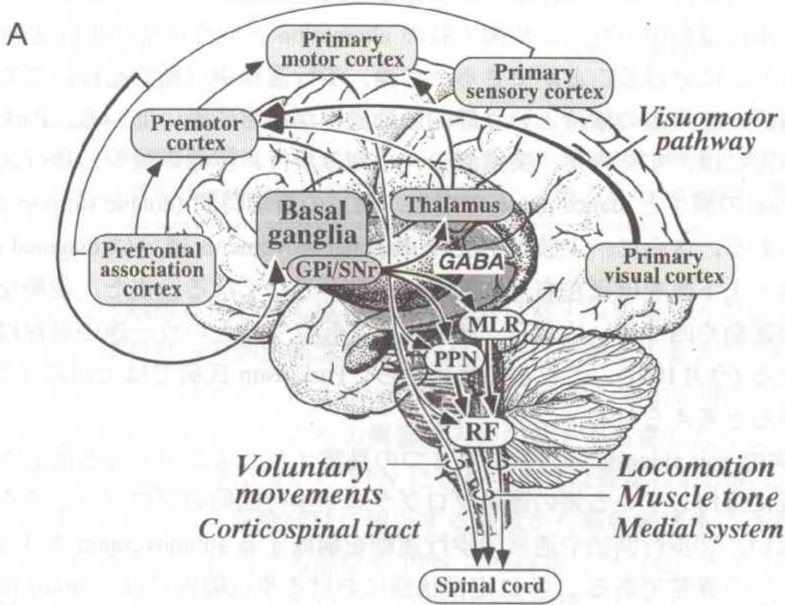


図42 基底核による運動の制御モデル。詳細は本文参照

可変範囲は縮小する(図42Ba)。一方、基底核からの抑制出力が低下する場合、例えば、Huntington 舞踏病では、視床大脳投射系の活動亢進のため運動量は増加し(hyperkinesia)、不随意運動(involuntary movements)も誘発され易い状態になる。さらに、基底核出力細胞の発射頻度は増加できないため運動量と筋緊張の可変範囲は縮小する(図42Bb)。即ち、基底核による大脳皮質活動の調節が随意運動を、基底核による筋活動制御系の活動調節が随意運動に随伴する筋緊張の設定を行なうと考えることができる。筋緊張の設定というプロセスが大脳皮質を介さずに基底核から脳幹への投射系で制御できることは、この運動が意識に上らない運動過程であることと関連すると私は考えている。

4-3. Parkinson 氏病の歩行障害と基底核による歩行の制御機構

次に、基底核による筋緊張と歩行運動の制御について考察してみよう(図42Bb)。歩行運動は、①起立から歩行、歩行の停止という様な動的運動過程と静的運動過程の切り替えのプロセス、②歩行運動中のリズムや両下肢の alternation という定常的歩行運動過程の大きく2つのプロセスに分けることができる。勿論、歩行運動中(動的過程)であっても、③姿勢反射の調節と筋緊張の維持という静的運動過程が常に働いている。Parkinson 氏病における歩行障害には、すくみ足、突進減少、小刻み歩行、歩幅の減少、歩行スピードの低下、swing phase の減少と stance phase の増加、両足の着地時間(double support duration)の増加、などがある。さらに、上肢と下肢の diagonal movements 或いは diagonal pattern が障害され、躯幹・上下肢をほぼ左右対称的にしか動かせなくなる。また、姿勢反射障害も加わり、躯幹の運動や四つ這い位から、膝を立てて起立するという一連の過程は歩行運動以上に困難となる(今井1991)。これらの症状から、Parkinson 氏病では上記の3つの過程全てに障害があると考えられる。

Parkinson 氏病の gait akinesia の背景には2つの異常メカニズムがあると推定されている。それらは、①既に保持している筈の運動プログラムや歩行開始のプログラムを呼び起こすことができない。②歩行開始や通常の歩行運動を構成する submovement を正常に順序立てできないという異常である。特に定常状態における歩行障害には、motor planning と motor programming の異常が関与すると考えられている(Knutstson 1972, Stern et al. 1983, Fossberg et al. 1984, Dietz 1993)。一方、歩行開始の障害の過程には、既に保持している筈の歩行開始のプログラムを呼び起こす過程での motor planning が出来ないとする説(Rosin et al. 1997)や、感覚のフィードバックを旨く歩行の開始につなぐことが出来ないとする説(Rogers and Chan 1988, Horak et al. 1992)などがある。そして進行した Parkinson 氏病では、無動(akinesia)やすくみ(freezing)など、運動を喚起するための意志発動に障害が出現する。これらの症状は、dopamine の補充や一側の脳定位手術などが僅かに効果があるとされている。この様に多くの臨床神経学者が、motor planning や motor programming など、大脳皮質と基底核の間のループで営まれる神経機構の異常として Parkinson 氏病の歩行障害を理解しようとしている。しかし、現段階では、Parkinson 氏病の歩行障害の背景にある病態生理学的知見は乏しいのが実情である(Papapill and Lozano 2000)。

そこで、多くの研究者が、基底核から PPN を経由して脳幹・脊髄に至る投射系が歩行運動の制御に重要であると指摘する様になってきた。そして本研究では、SNr の出力が歩行パターンを変更させたり、歩行を停止させたりすることを実験的に証明することができた。では、本研究の成績が、Parkinson 氏病の歩行障害を説明するのにどの程度有効なのか

を検討したい。ネコにおける SNr 刺激の効果と、Parkinson 氏病の歩行障害を比較してみた(表2)。この表に示す様に SNr 刺激効果と、Parkinson 氏病の歩行障害とでは幾つかの共通点があることに気付く。従って、Parkinson 氏病における運動障害のメカニズムの一つとして「GPI/SNr から歩行誘発領域(図41)に対する GABA 抑制の亢進」を考慮しても矛盾は無い様に思われる。さらに(図42Cに示す様に)、基底核から脳幹(PPN, MLR)への抑制出力の増加により筋緊張の亢進を伴った歩行運動障害が誘発されると考えられる。

表2 Parkinson 氏病における歩行障害と除脳ネコの歩行運動に対する SNr 刺激の比較

Parkinson 氏病	SNr 刺激
すくみ足(歩行開始の遅延)	歩行開始の遅延
突進減少	
小刻み歩行	(ステップサイクルの減少)
歩幅の減少	四肢の可動性低下
歩行スピードの低下	ステップサイクルの延長
遊脚相の減少と着地相増加	遊脚相の減少と着地相増加
両足の着地時間の増加	両足の着地時間の増加
上肢と下肢のdiagonal patternの障害	左右肢のalternationの障害

本研究で用いた除脳標本においては、歩行誘発野に対する興奮性入力として電気刺激を用いている。歩行誘発野への刺激強度が低ければ、歩行を開始するまでの時間は遅延し、歩行のスピードも遅い。従って、Parkinson 氏病における歩行開始の遅延や歩行スピードの低下は、歩行を誘発するシステムへの興奮性入力の低下も考慮しなくてはならない。サルでは、大脳皮質の運動関連領域から PPN に対して豊富な線維投射がある(Matsumura et al. 2000)。ネコにおいては、運動前野に相当する領域から脳幹網様体には密な線維投射があり、さらに歩行誘発野に相当する部位や PPN にも線維投射が見られる(Matsuyama et al. 1997)。Hanakawa ら(1999)が示した様に、外側の運動前野の活動を visuomotor pathway の活動で補なうことにより、Parkinson 氏病における歩行障害が改善されることを考慮すると、運動前野から脳幹への投射経路が、歩行誘発系に対する興奮性入力として重要であると考えられる。運動前野は、運動のプログラムの構成に関係しており、この部位に加えた刺激により躯幹や上・下肢への stereotyped な運動パターンを表出することが知られている。従って、「運動前野から脳幹への興奮性入力低下」と「基底核からの過剰な GABA 抑制」の双方により、Parkinson 氏病の歩行障害が誘発されるのではないだろうか？換言すれば、歩行運動は大脳皮質から脳幹への投射系(歩行運動における直接路)と、基底核を経由して脳幹に至る投射系(歩行運動における間接路)の2つシステムにより制御されると考えるのが最も適切であろう。恐らく、後者は、歩行のみならず、筋緊張レベルの制御にも関与すると思われる(図42)。そしてこの2つのシステムがその活動バランスを失うとき、基底核疾患に特有の運動障害が誘発されるのではないだろうか？前者は運動の開始や停止という運動の随意的側面を司り、後者のシステムは servo-mechanism として働き、運動に伴う非随意的運動過程(意識に上らない運動)を制御することで、目的とする運動を適切に遂行できる様に脳幹・脊髄系を駆動すると考えてみたい。

ネコの皮質運動領域の神経細胞は単純な定常的歩行の際には強い発射活動を示さない (Armstrong and Drew 1984)。しかし、歩行の開始・停止、歩行中に障害物があった場合、そしてトレッドミルのスピードが変わった場合には非常に大きな活動の変化を示す (Drew 1993, Widajewicz et al. 1994, Kably and Drew 1998)。一方、脳幹網様体の網様体脊髄路細胞は、何れの場合であれ、歩行運動中には高い発射頻度で活動する (Drew et al. 1986)。ネコから得られた実験成績からも、歩行運動は皮質運動野の活動を必要とする随意性の強い過程 (歩行の開始・停止) と大脳皮質下の神経機構の活動により依存する意識に上らない定常的或いは自動的運動 (steady-state or automatic movements) 過程の双方の要素を持つと考えることができる。

この様に、運動を「随意的な過程」と「意識に上らない過程」とに分けて考えてみると、『自己意識と運動』の関係に言及できる。基底核の障害はまづ運動の障害として始まるが、その背後には運動以前の問題、即ち『自己意識と行動の解離の問題』が存在する。オリバー・サックスは著書 *Awaking* の中で、脳炎後 Parkinson 氏病の患者の内面をこう描いた。

「数えきれないほどの患者が僕にいう。『私が歩いているのでは無い。歩かされているのだ』『私は歩き出すことも、止めることもできない。ただ、じっとしてるか、際限無く加速するかどちらかなんだ。』」。正常では、自己意識と運動・行動が連結している。

Parkinson 氏病では、患者自身が意識の中でどんなに運動をしようと思っても、servo-mechanism としての基底核-脳幹系の活動が持続的な GABA 抑制から解放されず、適切な運動を開始できない。しかし、正常では基底核からの2つの出力系の活動が適切に制御されるおかげで、我々は『意志』に基づく『運動』をすることができるのであろう。さらに、基底核は前頭連合野までを制御の対象にすることで、『意志』さえもコントロールする様になった。基底核は、「意志の発動から運動の発現という一連の神経機構」を適切に連結させて我々の運動を支えている。

4-4. 運動細胞のシナプスレベルから見た「基底核-脚橋被蓋核系による歩行運動と筋緊張の統合的制御」

次に、電気生理学的観点から、基底核-脚橋被蓋核系による歩行と筋緊張制御のメカニズムを考察したい。脊髄 α 運動細胞におけるシナプス電位の解析から、① PPN 刺激は橋網様体へのコリン作動性投射を介して遅い潜時の IPSP が誘発されること (図35)、② この IPSP は、SNr からの GABA 作動性投射により抑制されること (図38-39)、③ 早い潜時の IPSP も SNr の刺激で抑制されるが (図38)、早い潜時の EPSP は抑制されない (図39) ことが分かる。図43は MLR を刺激して誘発される fictive locomotion の一例である。MLR に 50 Hz, 30 μ A の刺激を加え、LG-S 運動細胞で、fictive locomotion を記録した (図43A)。図43Bは、MLR 刺激に time-lock して誘発されるシナプス後電位である。膜電位の oscillation 即ち、locomotor driving potential (LDP) の脱分極相では EPSP が、そして過分極相では、IPSP が観察される。ゆう歩行誘発野への電気刺激は、網様体脊髄路系を介して脊髄の CPG を駆動し、この様な EPSP と IPSP の alternation を運動細胞に発生させ歩行運動を誘発する。LDP の振幅は CPG と運動細胞の膜抵抗に依存する。しかし、LDP の持続は CPG の活動のみに依存する。PPN に連続刺激を刺激を加えると膜電位が過分極側に移行し、CPG の振幅は減少し、CPG の持続時間は次第に増加する (図40A)。この膜電位の過分極の背景には遅い潜時の IPSP が関与している。即ち、PPN 刺激の場合、運動細胞

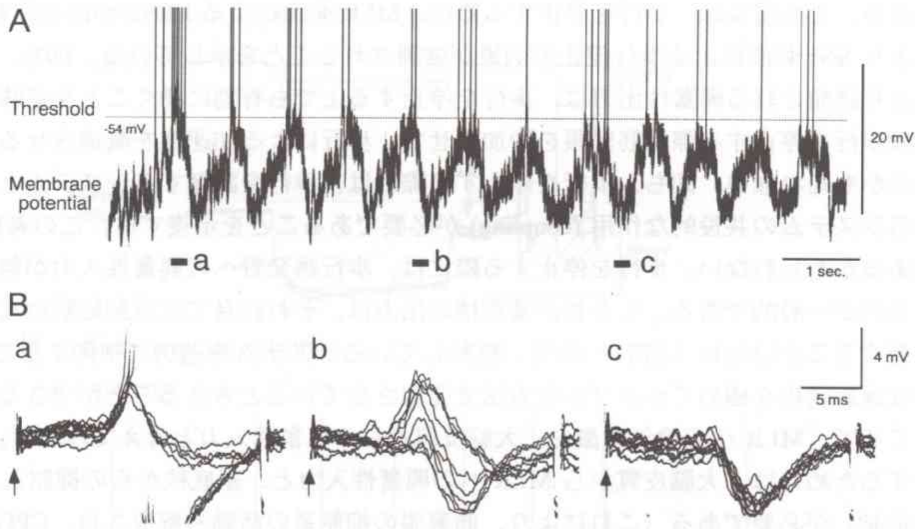


図43 MLR 刺激による fictive locomotion (A) と、MLR 刺激によるシナプス後電位 (B)。A は、LG-S 運動細胞の細胞内記録。MLR に 50 Hz, 40 μ A の刺激を加えて fictive locomotion を誘発した。B ; 左から、A における脱分極相 (a)、脱分極-過分極相 (b)、過分極相 (c) におけるシナプス後電位。MLR 刺激に time-lock した記録を10回重ね取りした。詳細は本文参照。

胞の興奮性低下と CPG の活動低下により歩行運動が停止する。これは、behavioral には、筋緊張が消失した結果、歩行が停止すること (図 9 Bc, d) を示している。

一方、SNr 刺激では、LDP の過分極相の振幅と持続が減少するために、oscillation が消失する (図 40B)。そのため、膜電位は脱分極側で維持されるので、運動細胞の興奮性は低下しない。これは、筋緊張レベルを保った状態で歩行が停止することを示している。ここで重要なことは、SNr への刺激は、コリン作動系を賦活して発生する遅い潜時の IPSP を抑制することである。従って、SNr 刺激による歩行停止のプロセスにおいては、筋活動の抑制系が都合良くブロックされていることになる。この抑制系のブロックは、伸筋運動細胞のみならず屈筋支配運動細胞においても同様に観察される筈である。従って、歩行運動中には屈曲-伸展をくり返していた関節運動が、SNr 刺激の刺激によって伸筋と屈筋の co-contraction が誘発され、関節は固定される。歩行運動の停止には、伸筋・屈筋かの相対的律動性活動が停止することに加えて、この関節の固定が極めて重要である。しかし、伸筋と屈筋の co-contraction が強い場合には関節の固定が強固になり過ぎる。安静時において常にこの様な状態であるのが筋固縮 (muscular rigidity) であり、SNr の活動亢進が rigidity を誘発することと、運動が困難になることは、この様な神経生理学的メカニズムから説明することができる。そして、『筋緊張の抑制系が活動できることは、運動を発現する上で極めて重要であること』も容易に理解できる。

ところで、SNr 刺激は早い潜時の IPSP をも抑制する。図 43 に示した様に、LDP の過分極相の形成にはこの早い IPSP が必須である。SNr 刺激は早い IPSP の形成に関与する網様体脊髄路-脊髄介在細胞系の活動を抑制することにより、LDP の振幅を減少させているものと考えられる。しかし、SNr 刺激は早い潜時の EPSP をブロックすることは無い。従って、SNr を刺激している期間中は、MLR 刺激は EPSP のみを運動細胞に誘発するこ

となる。この現象は、歩行を停止する際に、MLR 刺激による EPSP が温存されることで、より SNr 刺激による歩行停止の効果が強調されることを示している。即ち、MLR 刺激により誘発される興奮性出力は、歩行を停止する上でも有効に働くことを意味しており、これは歩行を停止する際に筋緊張を増加させて、歩行による加速度を減速させるための機構なのかも知れない。即ち、歩行を停止する際には、歩行を誘発するシステムとこれを抑制するシステムの共役的な作用 (coupling) が必要であることを示唆する。この考察は逆説的であるかもしれない。歩行を停止する際には、歩行誘発野への興奮性入力が無くなると考えるのが一般的である。しかし、基底核の出力は、それ自身では運動細胞になんら作用を誘発することはない (図37) ので、駆動しているシステムを適切に制御することで、複雑な運動過程を極めてシンプルな方法で発現させていると考えることができる。

ところで、MLR への電気刺激を、大脳皮質からの興奮性入力と考えてみよう。歩行を開始するためには、大脳皮質から MLR への興奮性入力と、基底核からの抑制入力の減少 (脱抑制) が必要である (これにより、筋緊張の抑制系の活動も解放され、CPG は駆動され易くなり、関節の伸展・屈曲も可能になる)。そして、歩行の停止には、基底核からの抑制入力と大脳皮質からの興奮性入力が必要ということになる。つまり、大脳皮質は歩行誘発野を興奮させることで、歩行の開始と停止を行っていると考えられる。これは裏を返せば、『歩行を誘発することが出来なければ、歩行を止めることが出来ない。』ことを示しており、Parkinson 氏病においては歩行の開始と停止の両方に異常が認められるメカニズムを非常にシンプルに説明することが可能になる。

この様に、『基底核から PPN 領域を介して脳幹へ至る投射系は、脳幹から脊髄への抑制系の活動をブロックする』という単純な strategy で、筋緊張レベルと歩行運動の統合的制御に関わっているが、その仕組みは極めて合理的であり、かつ精巧であることが理解できる。下の表3において、PPN 刺激と SNr 刺激による歩行抑制のメカニズムを比較した。

表3 運動細胞レベルでみた PPN 刺激と SNr 刺激による歩行抑制のメカニズム

	PPN 刺激	SNr 刺激
運動細胞の膜電位	過分極側に移行	脱分極側に移行
運動細胞の膜抵抗	減少 (シナプス後抑制)	不変～増加 (脱抑制)
LDP の振幅	減少 (脱分極相の減少)	減少 (脱分極相の減少)
LDP の持続	延長	延長
抑制系の活動	亢進	抑制
筋緊張レベル	低下	亢進

4-5. 黒質網様部から脚橋被蓋核への GABA 作動性投射

この研究の生命線とも言える神経接続は、SNr から PPN 領域への抑制性接続である。この接続を証明するために、ラット脳幹の *in vitro slice* 標本を用いた実験を展開している。本来ならば、研究成果の項で、書くべき内容であるが、データとして不十分な部分もあり、この項で実験成績の一部を紹介させて頂くことにする。

これまで示してきた研究結果は、SNr から PPN へのコリン作動性細胞に対して、GABA 作動性投射が存在することを示唆している。しかし、サルやラットにおいて Gpi や SNr

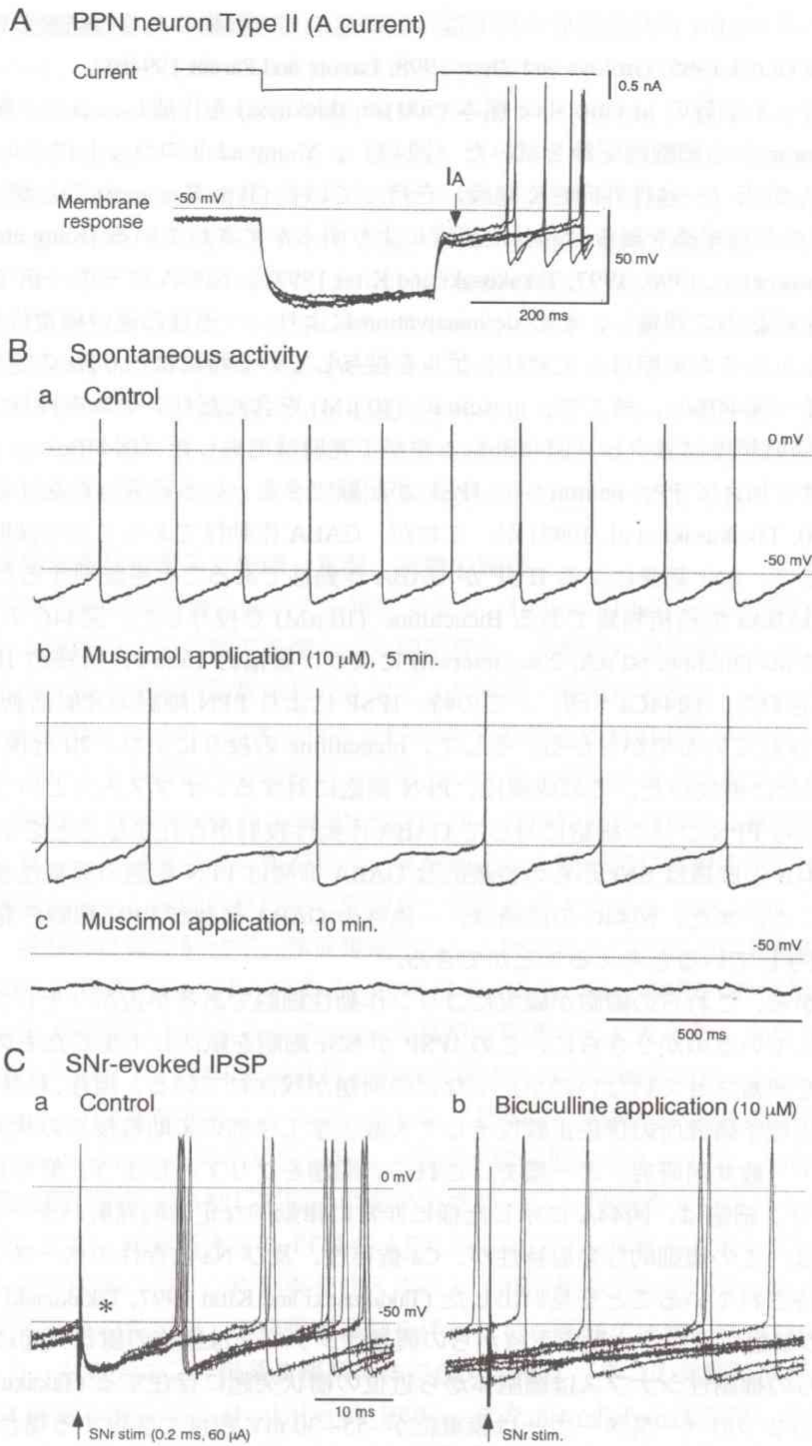


図44 ラット脳幹の *in vitro* slice 標本で記録した PPN Type II 細胞 (コリン細胞)。A ; Type II 細胞の同定。A 電流の存在が必須。B ; ムシモール注入による発射活動の抑制。a はコントロール、b, c は各々、ムシモール注入 5 分後と 10 分後の記録。C ; 黒質網様部刺激により誘発された IPSP (a) は、ビククリンの投与で消失した (b)。詳細は本文参照

からこの核への GABA 作動性投射の標的は、主に非コリン細胞であると結論づけられている (Mugnaini and Oertel 1985, Grofova and Zhou 1998, Lavoie and Parent 1994b)。

そこで、ラット脳幹の *in vitro* slice 標本 (500 μm thickness) を作成し、コリン細胞と思われる PPN neuron から細胞内記録を試みた (図44)。Young adult のラットにおいては、コリン細胞は A 電流 (一過性外向き K 電流) を持っている (Type II neuron) ことが、細胞内記録と ChAT の免疫組織を組み合わせた研究により明らかにされている (Kang and Kitai 1990, Takakusaki et al. 1996, 1997, Takakusaki and Kitai 1997)。図44A はその一例である。過分極パルスを細胞内に通電し、その de-inactivation により、一過性の過分極電位が記録できている (\downarrow)。この細胞は、正常リングルを投与している時には約 6 Hz の定常的発射を示している (図44Ba)。そこで、muscimol (10 μM) を含んだリングルを投与すると、PPN 細胞の発射頻度は減少し (図44Bb)、やがて発射は消失した (図44Bc)。

SNr に刺激を加えて PPN neuron から IPSP が記録できるという研究は存在する (Kang and Kitai 1990, Takakusaki et al. 1997) が、これが、GABA 作動性であることを証明した研究はない。そこで、SNr 刺激による IPSP が GABA 作動性であることを証明するために、リングル中に GABA_A の拮抗物質である Bicuculline (10 μM) を投与した。図44C の細胞では SNr 刺激 (0.2 ms duration, 60 μA , 2 sec interval) により、振幅約 15 mV、持続約 10 ms の IPSP が誘発された (図44Ca * 印)。この時、IPSP により PPN 細胞の発射活動のタイミングが reset されているのが分かる。そして、bicuculline の投与により、20 分後には、この IPSP は完全に消失した。この成績は、PPN 細胞に対するシナプス入力という点においても、SNr から PPN コリン細胞に対して GABA 作動性投射が存在することを示している。さらに、図44B の成績は SNr からの持続的な GABA 抑制は PPN 細胞の興奮性を定常的に変化させること、また、図44C の成績は、一過性の GABA 抑制が PPN 細胞の発射リズムの reset に関与していると考えられることができる。

しかしながら、これらの細胞が確実にコリン作動性細胞であるか否か？そして、脳幹網様体に投射しているのか？さらに、この IPSP が SNr 細胞を賦活して生じたものか (周囲の通過線維を興奮させていないのか)？などの問題が残されている。現在、私共 (高草木・斎藤) と、生理学研究所の伊佐正教授そして大阪大学工学部の宋助教授との共同研究 (生理学研究所・一般共同研究) の一環で、これらの問題をクリアーしようと努力している。

PPN のコリン細胞は、図44A に示した様に非常に律動的な定常的発射パターンを示している。私は、この規則的な発射特性が、Ca-依存性、及び Na-依存性のペースメーカー電流により維持されていることを見出した (Takakusaki and Kitai 1997, Takakusaki et al. 1997a)。この細胞に投射する視床下核からの興奮性シナプスは遠位の樹状突起に主に分布し、SNr からの抑制性シナプスは細胞体から近位の樹状突起に存在する (Takakusaki et al. 1997a)。上の2つのペースメーカーは膜電位が -55~-30 mV 程度で変化する場合に極めて効率良く働く。従って、細胞に興奮性入力が入っても定常的な発射頻度 (平均10Hz) を維持できるのであるが、細胞体への強力な抑制性入力があると、図44B, C に示した様に発射活動は容易に停止する。従って、SNr から PPN への抑制性入力は (他の領域からの興奮性入力に比較して)、コリン細胞の発射動態を制御する上で極めて重要である。そして、この核のコリン作動性細胞が中枢神経系の広汎な領域に投射することを考慮すると、SNr - PPN 系は、運動制御のみならず中枢神経系の様々な機能の制御する上で重要な役割を持つこと推測できる。

4-6. 脚橋被蓋核と中枢機能の統合制御

PPN からは、主に、① 視床の非特殊核群や視蓋領域、② 基底核領域、③ 脳幹網様体に投射がある (Jackson and Crossman 1988, Mitani et al. 1988, Semba et al. 1990, Steriade et al. 1990, Takakusaki et al. 1996, Tokuno et al. 1988)。従って、この核は、(1) 基底核-大脳皮質ループ及び網様体脊髄路系を介して運動の発現や姿勢筋活動の制御に関与するとともに、(2) 視床-大脳投射や網様体賦活系を介して意識レベルや睡眠・覚醒の調節にも関わっていると考えられている。さらにこの核には、コリン細胞の他に、様々な伝達物質を持つ細胞が存在している。それらは、グルタミン酸、GABA などのアミノ酸、substance-P などの神経ペプチドなどを含有する細胞である (Vincent et al. 1993)。そして、アセチルコリンとグルタミン酸の双方が同一神経細胞のなかに混在することなども明らかにされてきた (Lavoie and Parent 1994c)。この項では、これらの結果を踏まえた上で、本研究で明らかとなった研究成果を運動や睡眠・覚醒、そして高次脳機能との関連において考察してみたい。

4-6-1 ; 脚橋被蓋核投射系と睡眠・覚醒、意識の制御

PPN は睡眠や覚醒の制御においても重要である。Hobson (1986) らは覚醒時に発射頻度が低く、レム睡眠時に発射頻度を増大する細胞群と、覚醒時に発射頻度が高く、レム睡眠時に発射活動が低下する細胞群の相互作用により睡眠・覚醒が制御されると考えた (reciprocal interaction model)。前者の代表がPPN や背外側被蓋核 (LDT) のコリン細胞であり、縫線核群のセロトニン細胞や青斑核のノルアドレナリン細胞は後者に属する (Hobson et al. 1996)。Steriade (1988) らはネコのPPNとLDT から発射特性の異なる2種類のコリン細胞群を記録した。一方はスパイク幅が狭く、覚醒時とレム睡眠時に発射を示し (20-30 Hz)、特に徐波睡眠からレム睡眠の移行期に発射を一過性に増大させる (fast cells)。もう一方は幅が広く、覚醒時には発射せず、徐波睡眠からレム睡眠にかけて徐々に発射頻度を増加させる (< 10Hz) 細胞群 (slow cells) である。彼等は fast cells がレム睡眠への位相変化に関連し、slow cells が睡眠における各々の stage の維持に関連すると考えた。また Semba ら (1990) はPPN やLDT には視床非特殊核と脳幹網様体の双方に軸索を持つコリン細胞 (dual projecting neurons) が存在することを見出した。彼等はこの細胞が脳波の徐波成分を形成する thalamocortical neuron の活動を抑制し、脳波を脱同期させる一方で、脳幹網様体から下行する筋活動抑制系を駆動して筋活動を消失させ、レム睡眠を発現させると考えた。先にも記述したが、橋網様体にはPPN やLDT からのコリン線維が投射している。慢性無拘束ネコの橋網様体にコリン作動薬を注入すると、筋活動の消失だけではなく、注入後数分以内に皮質脳波の脱同期、急速眼球運動を伴ったレム睡眠が誘発される (Hobson et al. 1986)。一方、セロトニン作動薬を橋網様体に注入すると、ネコの覚醒時間が長く、徐波睡眠もREM睡眠も減少する (Iwakiri et al. 1995)。またmicrodialysis法を用いた研究により、橋網様体においてレム睡眠時にはAchレベルが高く、5-HTレベルが低いこと、覚醒時には反対に低Ach、高5-HTレベルになることなども明らかになった (Iwakiri et al. 1993, Kodama et al. 1990)。この様にPPNからのコリン作動性投射は睡眠・覚醒の制御に重要である。

4-6-2 ; 黒質-脚橋被蓋核投射系と State-dependent motor control

中脳歩行誘発野が同定されてから既に30年以上が経過していても関わらず、そしてヒトにおいても存在すると考えられる様になった現在においても (Masdeu et al. 1994; 図41)、

この領域の本体は如何なるものであるのか？、まだ、統一的な見解は無い。Garcia-Rillら(1996)は、歩行運動は PPN のコリン作動性細胞を賦活した結果誘発されるという見解を示したが、確証となる成績は乏しい。むしろ殆どの研究者は、歩行誘発野は楔状核 (Cneiform nucleus) やその周辺の網様体、そして一部脚橋被蓋核の非コリン細胞が関与するという考え方を示している (see Jordan 1998)。また、上に示した様に睡眠学者は、PPN 領域が、REM睡眠 (逆説睡眠；REM は rapid eye movement の略) の atonia や脳波の脱同期、そして PGO (ponto-geniculo-occipital wave) 波に関係するのではないかという見解を持っている (see Steriade and McCarley 1990)。

私共は PPN 領域において、歩行運動と筋緊張の制御に関与する部位には局在があることを示した (図10, 16) もの、図8, 9そして図16などの成績は、PPN の中央附近が歩行運動と筋緊張の抑制の双方に関与していることを示している。従って、この領域が筋緊張の制御と歩行運動のどちらに関係するのかという考え方はしない方が良いのでは無いかと考えている。これまで考察してきた様に、『歩行運動の開始・維持・停止のメカニズムと基底核-脚橋被蓋核系の関与』においては、歩行運動の全ての過程に筋緊張の制御が関わっている訳で、この領域は歩行と筋緊張の統合に重要な領域という見解を示しておきたい。

重要なことは、この領域が基底核からの支配を受ける状況が設定された場合には (覚醒時) 歩行運動が誘発され、睡眠時には REM 睡眠の発現に関わるということであろう。

PPN 刺激により誘発される遅い潜時の IPSP は、REM 睡眠時に橋・延髄網様体を刺激することにより誘発される IPSP と同様のものである (Fung et al. 1982, Chase et al. 1986)。覚醒時には、この IPSP の発現は抑えられている。電気生理学的研究により、橋網様体に投射するコリン作動系により筋緊張は消失し、セロトニン作動系により筋緊張が回復・増大することが明らかになっている (Takakusaki et al. 1993, 1994)。また、PPN に投射するセロトニン作動系 (Honda and Semba 1994, Steininger et al. 1997) は、この核のコリン細胞を抑制することも明らかとなっている (Leonald and Llinas 1994)。従って、覚醒時には、遅い潜時の IPSP を誘発する神経機構 (PPN のコリン細胞から始まる筋緊張抑制系) の活動性は低いことが推測される。そうだとすれば、覚醒時には、基底核から PPN のコリン作動性細胞に対する脱抑制が、運動を発現する際の筋緊張の制御に極めて重要となる。

一方、徐波睡眠時では、大脳皮質の活動低下に伴い、基底核から PPN への GABA 抑制が減少する。そして、モノアミン系の活動低下もこれに加わって PPN のコリン細胞活動が亢進し、筋緊張が消失すると考えられるのではないだろうか？睡眠・覚醒 (behavioral state) と、state-dependent な motor control を常に念頭において、この核の機能を探る必要がある。そして、基底核が PPN を target としている以上、この系が睡眠の制御にも関係していると考えられる。Parkinson 氏病では睡眠障害を併発することが多い (Lees et al. 1988)。上の様な考え方に立脚すれば、Parkinson 氏病の睡眠障害にも、基底核から PPN への抑制出力が亢進していることが原因かもしれない。

摂食物質である hypocretin (orexin) の異常が、Narcolepsy の背景にある (Nishino et al. 2000, Thomas et al. 2000)。視床下部由来の orexin 線維は、黒質緻密部 (SNc) や腹側被蓋野 (VTA)、そして PPN にも投射している。この疾患は、情動の強い変化により REM 睡眠様発作を誘発する (情動脱力発作)。そして、脳内 orexin level が低いために、容易にこの発作が誘発されると考えられており、基底核が情動の制御に関わることを考慮すると、基底核から PPN への投射系は、この疾患の病態発現に重要な意味を持つと推定できる。

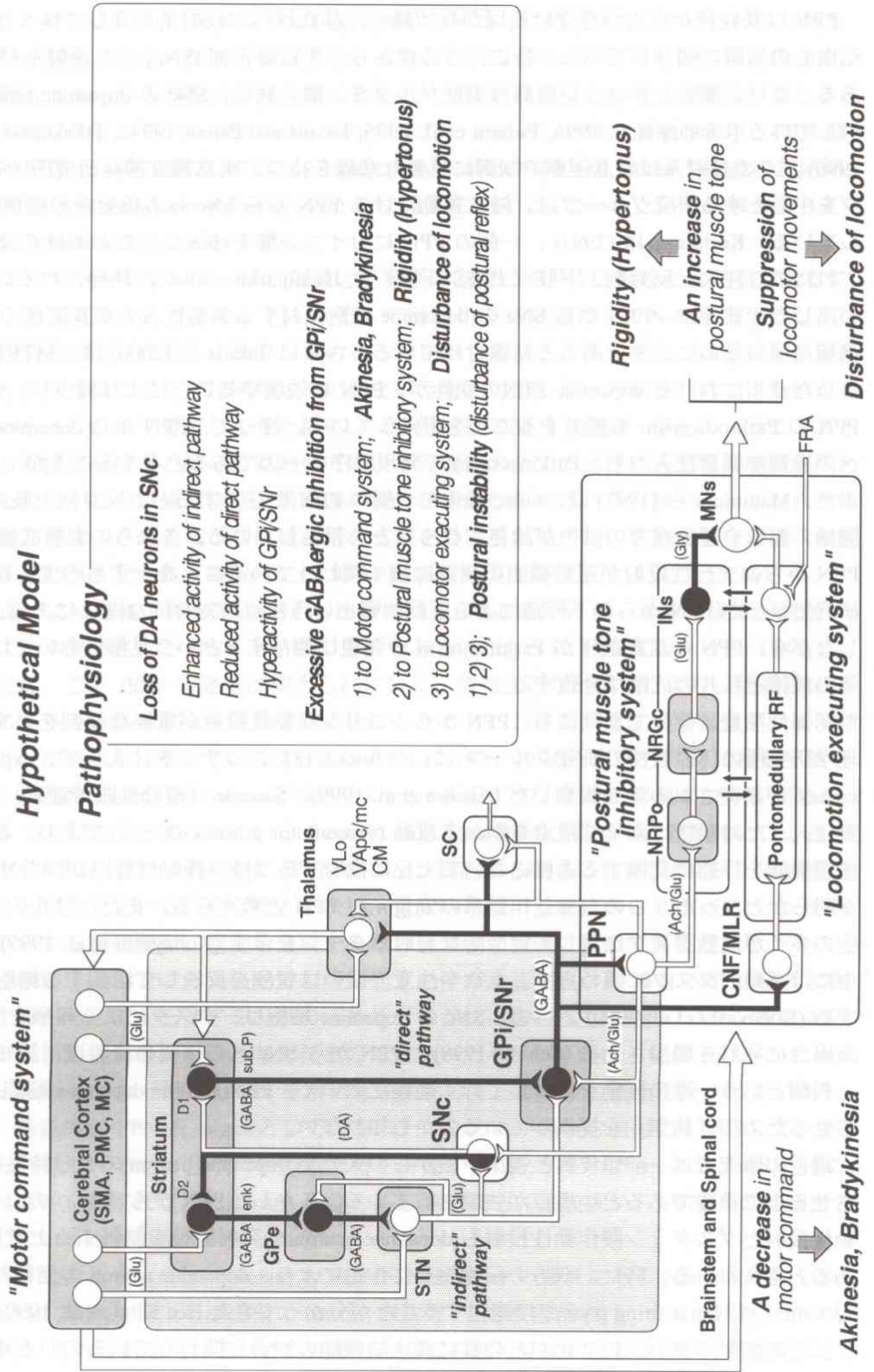
4-6-3 ; 脚橋被蓋核と高次脳機能

PPN は基底核から入力を受けるばかりで無く、基底核への投射系を介して様々な高次脳機能の制御に関与している。特に、この核から、黒質緻密部 (SNc) への投射系が重要である。コリン細胞と非コリン細胞 (主にグルタミン酸) 共に、SNc の dopamine 細胞に投射している (Charara et al. 1996, Futami et al. 1995, Lavoie and Parent 1994c, Takakusaki et al. 1996)。この投射系は随意運動の制御に重要な意義を持つ。東京都立神経研究所のスタッフを中心とする研究グループは、随意運動にける PPN から SNc への投射系の機構を解析している。Kojima らは (1997)、一側の PPN にカイニン酸を注入し、この部位を破壊した。これにより注入と反対側上下肢 (上肢>下肢) に Hemiparkinsonism が誘発されるのを見出した。彼等は、PPN から SNc の dopamine 細胞に対する興奮性入力が基底核の機能を適切に保つために必要であると結論付けている。さらに Takada ら (2000) は、MTPT を投与したサルにおける dopamine 細胞の変性が、PPN を破壊することにより減少し、かつ PPN の Parkinsonism も軽減することを報告している。従って、PPN から dopamine 細胞への過剰な興奮性入力も、Parkinsonism の発現機序の一因であると考えられる。また、Matumura ら (1997) は、muscimol を一側の PPN に注入すると、反対側上肢の運動開始の遅延や運動速度の減少が誘発されることを報告している。これらの実験成績は、PPN からの上行性投射が運動機能の制御に強く関わっていることを示すもので、私が本研究で扱った PPN からの下行路による運動制御という視点と対称的な関係にある。しかしながら、PPN の活動低下が Parkinsonism の発現に関与するという見解においては、彼等の成績と私共の成績は合致する。

認知や注意、そして意欲にも、PPN からのコリン作動性投射が重要な役割を果たす。生理学研究所の伊佐教授の研究グループは、サルの上丘にニコチンを注入して、express saccade が誘発されるのを観察した (Aizawa et al. 1999)。Saccade (滑動性眼球運動) は、視野に入った対象物に素早く視点を動かす運動 (visuomotor process の一つ) であり、認知や注意機能を行動に変換する過程において上丘に投射するコリン作動性経路が関与することが明らかとなった。このコリン作動系の origin が PPN と考えられる。また、サルの PPN 細胞の多くが運動タスクに対して定型的な発射パターンを示す (Kobayashi et al. 1999) が、中には運動のタスクに関わらず、意欲や注意、或いは報酬を反映して活動する細胞も存在する (Kobayashi et al. 2000)。一方、SNc の dopamine 細胞は、タスクによる報酬を予想した場合に発射を増加させる (Schultz 1998)。PPN から SNc への情報の流れは、認知-行動-報酬という一連の行動を学習して行く過程において、PPN 細胞が dopamine 細胞を活動させるための「鋳型」を提供しているのかも知れない。

最近の研究では、前頭皮質と視床下核からの入力が dopamine neuron の発射特性を変化させる上で重要であるという点が強調されている。しかし、PPN から SNc へのコリン作動性投射とグルタミン酸作動性投射も dopamine neuron の発射特性を制御する上で重要であると考えられる。特に、双方の伝達物質に作用により、dopamine neuron の発射パターンが tonic から burst firing pattern に変化することが分かってきた (see Kitai et al. 1999)。しかし、この発射パターンの変化がどの様に高次脳機能の制御に関わっているのかを理解するにはまだ時間が掛かりそうである。

Functional Pathophysiology of "Hypertonus-Hypokinetic Syndrome"



5. 参考文献

- Aizawa H, Kobayashi Y, Yamamoto M, Isa T (1999) Injection of nicotine into the superior colliculus facilitates occurrence of express saccades in monkeys. *J Neurophysiol* 82 : 1642-1646.
- Alexander, G.E. and Crutcher M.D. Functional architecture of basal ganglia circuits: neural substrates of parallel processing. *TINS* 13 (7): 266-271, 1990.
- Armstrong, D.M., and Drew, T. Discharges of pyramidal tract and other motor cortical neurones during locomotion in the cat. *J Physiol (Lond)* 346:471-95, 1984.
- Berman, A.L. The brain stem of the cat: cytoarchitectonic atlas with stereotaxic coordinates. University of Wisconsin Press, Madison, 1968.
- Breniere, Y., and Cuong Do. M. Control of gait initiation. *J. Mot. Behav.* 23: 235-240, 1991.
- Charara. A., Smith. Y., and Parent, A. Glutamatergic inputs from the pedunculopontine nucleus to midbrain dopaminergic neurons in primates: Phaseolus vulgaris-leucoagglutinin anterograde labeling combined with postembedding glutamate and GABA immunohistochemistry. *J Comp Neurol.* 364: 254-66, 1996.
- Chase M.H., Morales F.R., Boxer P., Fung S.J. and Soja P.J. Effect of stimulation of the nucleus reticularis gigantocellularis on the membrane potential of cat lumbar motoneurons during sleep and wakefulness. *Brain Res.* 386: 237-244. 1986.
- Delong, M. Primate models of movement disorders of basal ganglia origin. *TINS* 13 (7): 281-285, 1990.
- Dietz, V. Reflex behavior and programming in Parkinson's disease. *Adv. Neurol.* 60: 375-380, 1993.
- Drew, T., Dubuc, R., and Rossignol, S. Discharge patterns of reticulospinal and other reticular neurons in chronic, unrestrained cats walking on a treadmill. *J Neurophysiol.* 55: 375-401, 1986.
- Elbe, R.J., Moody, C., Leffler, K., and Sinha, R. The initiation of normal walking. *Mov. Disord.* 9: 139-146, 1994.
- Fossberg, H., Johnels, B., and Steg, G. Is parkinsonian gait caused by a regression to an immature walking pattern? *Adv. Neurol.* 40: 375-379, 1984.
- Fukuyama, H., Ouchi, Y., Matsuzaki, S., Nagahama, Y., Yamauchi, H., Ogawa, M., et al. Brain functional activity during gait in normal subject: a SPECT study. *Neurosci. Lett.* 228: 183-186, 1997.
- Fung S.J., Boser P.A., Morales F.R. and Chase M.H. Hyperpolarizing membrane responses induced in lumbar motoneurons by stimulation of the nucleus reticularis pontis oralis during active sleep. *Brain Res.* 248: 267-273, 1982
- Futami, T., Takakusaki, K. and Kitai, S. T. (1995) Glutamatergic and Cholinergic inputs from the pedunculopontine tegmental nucleus to dopamine neurons in the substantia nigra pars compacta. *Neurosci. Res.* 21, 331-392.
- Garcia-Rill E. The pedunculopontine nucleus. *Prog Neurobiol.* 36:363-89, 1991.
- Garcia-Rill, E., Reese, N.B., and Skinner, R.D. Arousal and locomotion: from schizophrenia to

narcolepsy. *Prog Brain Res.*107:417-34, 1996

Garcia-Rill. E., Skinner, R.D., Jackson, M.B., and Smith, M.M. Connections of the mesencephalic locomotor region (MLR) I. Substantia nigra afferents. *Brain Res Bull.* 10: 57-62, 1983

Grillner, S., Georgopoulos, A.P. & Jordan, L.M. Selection and initiation of motor behavior. In *Neurons, Networks, and Motor Behavior*. P.S.G. Stein, S. Grillner, A.I. Selverston & D.G. Stuart, Eds. MIT Press. Cambridge, MA. pp 3-19 (1998).

Grillner, S. Control of locomotion in bipeds, tetrapods, and fish. In: *Handbook of Physiology, The Nervous System, Motor Control*. (V.B. Brooks, ed), Bethesda, MD.: Am. Physiol. Soc., p 1179-1236, 1981

Grofova, I. & Zhou, M. Nigral innervation of cholinergic and glutamatergic cells in the rat mesopontine tegmentum: light and electron microscopic anterograde tracing and immunohistochemical studies. *J. Comp. Neurol.* 395, 359-379 (1998).

Hanakawa, T., Katsumi, Y., Fukuyama, H., Honda, M., Hayashi, T., Kimura, J., and Shibasaki, H. Mechanisms underlying gait disturbance in Parkinson's disease: a single photon emission computed tomography study. *Brain* :122:1271-82, 1999.

Hobson, J.A., Lydic, R. and Baghdoyan, H.A. Evolving concepts of sleep cycle generation: from brain centers to neuronal populations. *Behav. Brain Sci.*, 9: 371-448.1986.

Honda, T. and Semba, K. Serotonergic synaptic input to cholinergic neurons in the rat mesopontine tegmentum. *Brain Res.* 647: 299-306, 1994.

Horak, F.B., Nutt, J.G., and Nashner, L.M. Postural inflexibility in parkinsonian subject. *J. Neurol. Sci.* 111: 46-58, 1992.

Imai, H. Disorders of posture and locomotion in basal ganglia disease. *Adv. Neurol. Sci.* 35: 265-275, 1991.

Inguilis, W.L. and Winn, P. The pedunculo-pontine tegmental nucleus: where the striatum meets the reticular formation. *Prog. Neurobiol.* 47; 1-29, 1995.

Iwakiri, M., Matsuyama, K., Asanome, M. et al. Paradoxical sleep suppressing action of serotonergic systems projecting to the medial pontine reticular formation in freely moving cats (abstr.). *The Fourth IBRO World Congress of Neuroscience*, S 40.8, p 61, 1995.

Iwakiri, H., Matsuyama, K. and Mori, S. Extracellular levels of serotonin in the medial pontine reticular formation in relation to sleep-wake cycle in cats: a microdialysis study. *Neurosci. Res.* 18: 157-170, 1993.

Jordan, L. M. Initiation of locomotion in mammals. *Ann N Y Acad Sci.* 860:83-93, 1998.

Kitai ST, Shepard PD, Callaway JC, Scroggs R. Afferent modulation of dopamine neuron firing patterns. *Curr Opin Neurobiol.* 9(6):690-7. 1999

Kodama, T., Takahashi.Y. and Honda, Y. Enhancement of acetylcholine release during paradoxical sleep in the dorsal tegmental field of the cat brain stem. *Neurosci. Lett.* 114: 277-282., 1990.

- Jackson, A. and Crossman, A.R. Nucleus tegmenti pedunculopontinus: Efferent connections with special reference to the basal ganglia, studied in the rat by anterograde and retrograde transport of horseradish peroxidase. *Neurosci.* 10: 725-765, 1983.
- Jankowska E., Lund S., Lundberg A. and Pompeiano O. Inhibitory effects evoked by through ventral reticulospinal pathways. *Arch. Ital. Biol.* 106: 124-140, 1968.
- Kably, B., and Drew, T. Corticoreticular pathways in the cat. II. Discharge activity of neurons in area 4 during voluntary gait modifications. *J Neurophysiol.* 80: 406-24, 1998.
- Kang, Y. and Kitai, S.T. Electrophysiological properties of pedunculopontine neurons and their postsynaptic responses following stimulation of substantia nigra pars reticulata. *Brain Res.* 535: 79-95, 1990.
- Kobayashi, Y., Yamamoto, M., Isa, T. and Aizawa, H. Control of saccadic reaction time by pedunculopontine tegmental nucleus neurons in monkeys. *Soc. Neurosci. Abstr.* vol.25, 1652, 1999.
- Kobayashi, Y., Inoue, Y., Yamamoto, M., Aizawa, H. and Isa, T. Coding of multimodal signals in the pedunculopontine nucleus neurons related to performance of visually guided saccade task. *Soc. Neurosci. Abstr.* vol 26, 971, 2000.
- Kojima J, Yamaji Y, Matsumura M, Nambu A, Inase M, Tokuno H, Takada M, Imai H. Excitotoxic lesions of the pedunculopontine tegmental nucleus produce contralateral hemiparkinsonism in the monkey. *Neurosci Lett.* 226: 111-114, 1997.
- Knutstson, E. An analysis of parkinsonian gait. *Brain* 95: 475-486, 1972
- Lai, Y.Y. and Siegel, J.M. Pontomedullary glutamate receptors mediating locomotion and muscle tone suppression. *J. Neurosci.* 11; 2931-2937, 1991.
- Lai, Y.Y., Clements, J.R. and Siegel, J.M. Glutamatergic and cholinergic projections to the pontine inhibitory area identified with horseradish peroxidase retrograde transport and immunohistochemistry. *J. Comp. Neurol.* 336: 321-330, 1993.
- Lavoie, B. and Parent, A. Pedunculopontine nucleus in the squirrel monkey: distribution of cholinergic and monoaminergic neurons in the mesopontine tegmentum with evidence for the presence of glutamate in cholinergic neurons. *J. Comp. Neurol.* 344; 190-209, 1994a.
- Lavoie, B. and Parent, A. Pedunculopontine nucleus in the squirrel monkey: projections to the basal ganglia as revealed by anterograde tract-tracing methods. *J. Comp. Neurol.* 344; 210-231, 1994b.
- Lavoie, B. and Parent, A. Pedunculopontine nucleus in the squirrel monkey: Cholinergic and glutamatergic projections to the substantia nigra. *J. Comp. Neurol.* 344; 232-241, 1994c.
- Lees, A.J., Blackburn N.A., Campbell, V.L. The nighttime problems of Parkinson's disease. *Clin. Neuropharm.* 11(6): 512-519, 1988.
- Leonald, C.S., and Llinas, R. Serotonergic and cholinergic inhibition of mesopontine cholinergic neurons controlling REM sleep; an in vitro electrophysiological study. *Neurosci.* 59, 309-330, 1994.
- Magoun M.W. and Rhines R. An inhibitory mechanism in the bulbar reticular formation. *J.*

Neurophysiol. 9: 165-171, 1946.

Matsumura M, Nambu A, Yamaji Y, Watanabe K, Imai H, Inase M, Tokuno H, Takada M. Organization of somatic motor inputs from the frontal lobe to the pedunculopontine tegmental nucleus in the macaque monkey. *Neuroscience*. 98: 97-110, 2000.

Matsumura M, Watanabe K, Ohye C. Single-unit activity in the primate nucleus tegmenti pedunculopontinus related to voluntary arm movement. *Neurosci Res*. 28:155-65, 1997.

Matsuyama, K., and Drew, T. Organization of the projections from the pericruciate cortex to the pontomedullary brainstem of the cat: a study using the anterograde tracer Phaseolus vulgaris-leucoagglutinin. *J. Comp. Neurol*. 389: 617-41, 1997.

Masudeu, J.C., Alampur, U., Cavaliere, R., and Tavoulares, G. Astasia and gait failure with damage of the pontomesencephalic locomotor region. *Ann. Neurol*. 35: 619-621, 1994.

Mitani, A., Ito, K., Hallanger, A. E., Wainer, B. H., Kataoka, K., and McCarley, R. W. Cholinergic projections from the laterodorsal and pedunculopontine tegmental nuclei to the pontine gigantocellular tegmental field in the cat. *Brain Res*. 451; 397-402, 1988.

Mori S. (1987) Integration of posture and locomotion in acute decerebrate cats and in awake, freely moving cats. *Prog. Neurobiol*. 28: 161-196.

Mori, S., Sakamoto, T., Takakusaki, K. Interaction of posture and locomotion in cats: Its automatic and volitional control aspects. In : *Neurobiological basis of human locomotion* (M. Shimamura, S. Grillner and V.R. Edgerton eds), Japan Sci. Soc. Press, Tokyo, p 21-32, 1991.

Morris, M.E., Iansek, R., Matyas, T.A., and Summers, J.J. The pathogenesis of gait hypokinesia in Parkinson's disease. *Brain* 117: 1169-1181, 1994.

Morris, M.E., Iansek, R., Matyas, T.A., and Summers, J.J. Stride length regulation in Parkinson's disease. Normalization strategies and underlying mechanisms. *Brain* 119: 551-568, 1996.

Murray, M.P., Sepic, S.B., Gardner, G.M., and Downs, W.J. Walking patterns of men with parkinsonism. *Am. J. Phys. Med*. 57: 278-294, 1978.

Nishino S, Riehl J, Hong J, Kwan M, Reid M, Mignot E. Is narcolepsy a REM sleep disorder? Analysis of sleep abnormalities in narcoleptic Dobermans. *Neurosci Res*. 38:437-446, 2000

Oka, T., Iwakiri, H. and Mori, S. Pontine-induced generalized suppression of postural muscle tone in a reflexively standing acute decerebrate cat. *Neurosci. Res*. 17; 127-140, 1993.

Pahapill, P.A., and Lozano, A.M. The pedunculopontine nucleus and Parkinson's disease. *Brain* 123: 1767-1783, 2000.

Reese, N.B., Garcia-Rill, E., and Skinner, R.D. The pedunculopontine nucleus--auditory input, arousal and pathophysiology. *Prog Neurobiol*. 47:105-133, 1995.

Rogers, M.W., and Chan, C.W. Motor planning is impaired in Parkinson's disease. *Brain Res*. 438: 271-276, 1988.

Rosin, R., Topka, H., and Dichgans, J. Gait initiation in Parkinson's disease. *Mov. Disord*. 12: 682-690, 1997.

cytoarchitecture, cytochemistry, and some extrapyramidal connections of the mesopontine tegmentum. *J. Comp. Neurol.* 259: 483-528, 1987.

Shefchyk SJ, Jordan LM. Excitatory and inhibitory postsynaptic potentials in alpha-motoneurons produced during fictive locomotion by stimulation of the mesencephalic locomotor region. *J Neurophysiol.* 53:1345-55, 1985

Schultz. W. Predictive reward signal of dopamine neurons. *J. Neurophysiol.* 80: 1-27, 1998.

Semba, K. Aminergic and cholinergic afferents of REM sleep induction regions of the pontine reticular formation in the rat. *J. Comp. Neurol.* 330: 543-556, 1993.

Semba, K., Reiner, P.B. and Fibiger, H.C. Single Cholinergic mesopontine tegmental neurons project to both the pontine reticular formation and the thalamus. *Neurosci.* 38: 643-654, 1990.

Snider, R.S. and Niemer, W.T. A stereotaxic atlas of the cat brain. Chicago: University of Chicago Press, 1961

Shik, M.L. and Orlovski, G.N. Neurophysiology of locomotor automatism. *Physiol. Rev.*, 56: 456-501, 1976.

Steininger, T.L., Wainer, B.H., Blackely, R.D., and Rye, D.B. Serotonergic dorsal raphe nucleus projections to the cholinergic and noncholinergic neurons of the pedunculopontine tegmental region: A light and electron microscopic anterograde tracing and immunohistochemical study. *J. Comp. Neurol.* 382: 302-322, 1997.

Steriade M. and McCarley R.W. (1990) *Brainstem Control of Wakefulness and Sleep.* Raven press, New York

Steriade, M., Datta, S., Pare, D. et al. Neuronal activities in brainstem cholinergic nuclei related to tonic activation processes in thalamocortical systems. *J. Neurosci.* 10 (8), 2541-2559, 1990.

Steriade, M., Pare, D., Parent, A., and Smith, Y. Projections of cholinergic and non-cholinergic neurons of the brainstem core to relay and asociational thalamic nuclei in the cat and macaque monkey. *Neurosci.* 25: 47-67, 1988.

Stern, G.M., Franklyn, S.E., Imms, F.J., and Prestidge, S.P. Quantitative assesments of gait and mobility in Parkinson's disease. *J. Neurral. Transm. Suppl.* 19: 201-214, 1983.

Takada M, Matsumura M, Kojima J, Yamaji Y, Inase M, Tokuno H, Nambu A, Imai H. Protection against dopaminergic nigrostriatal cell death by excitatory input ablation. *Eur J Neurosci.* 12:1771-80, 2000

Takakusaki, K., Kohyama, J., Matsuyama, K. and Mori, S. Synaptic mechanisms acting on lumbar motoneurons during postural augmentation induced by serotonin injection into the rostral pontine reticular formation in decerebrate cats. *Exp. Brain Res.* 93: 471-482, 1993.

Takakusaki, K., Shimoda, N., Matsuyama, K. and Mori S. Discharge properties of medullary reticulospinal neurons during postural changes induced by intrapontine injections of carbachol, atropine and serotonin, and their functional linkages to hindlimb motoneurons in cats. *Exp. Brain Res.* 99, 361-374., 1994.

Takakusaki K., Shiroyama T., Yamamoto, T and Kitai S. T. Cholinergic and non-cholinergic tegmental pedunculopontine projection neurons in rats revealed by intracellular labaling. *J. Comp.*

Neurol. 371: 345-361, 1996

Takakusaki, K. and Kitai, S.T. Ionic mechanisms involved in the spontaneous firing of tegmental pedunculopontine nucleus neurons of the rat. *Neurosci.* 78; 771-794, 1997.

Takakusaki K., Shiroyama T. and Kitai S. T. Two types of Cholinergic neurons in the rat tegmental pedunculopontine nucleus: Electrophysiological and morphological characterization. *Neurosci.* 79: 1089-1109, 1997a.

Takakusaki K. , Hobaguchi T., Nagaoka T. and Sakamoto T. (1997) Stimulus effects of the pedunculopontine tegmental nucleus (PPN) on hindlimb motoneurons in cats. *Soc. Neurosci. Abstr.* 23: pp 762, 1997b.

Takakusaki, K., Kohyama, J., Matsuyama K. and Mori, S. Medullary reticulospinal tract mediation of generalized motor inhibition in cats: I. Parallel inhibitory mechanisms acting on motoneurons and on interneuronal transmission in reflex pathways. *Neuroci.* (2001, in press)

Kilduff, T.S. and Peyron, C. The hypocretin/orexin ligand-receptor system: implications for sleep and sleep disorders. *TINS.* 23: 359-365, 2000.

Tokuno, H., Moriizumi, K.V., Kudo, M. et al. A morphological evidence for monosynaptic projections from the nucleus tegmenti pedunculopontinus pars compacta (TPC) to nigrostriatal projection neurons. *Neurosci. Lett.* 85: 1-4.1988.

Vincent, S.R., Satoh, K., Armstrong, D.M., et al. Substance P in the ascending cholinergic reticular system. *Nature*, 306: 688-691, 1983.

Widajewicz, W., Kably, B., and Drew, T. Motor cortical activity during voluntary gait modifications in the cat. II. Cells related to the hindlimbs. *J Neurophysiol.* 72: 2070-89, 1994.

Winn, P., Brown, V.J., and Inglis, W.L. On the relationships between the striatum and the pedunculopontine tegmental nucleus. *Crit Rev Neurobiol.* 11:241-61, 1997.