

[生理学実験講座]

卵形囊神経選択的刺激法の進歩と新事実

内野善生・佐々木光美

(東京医科大学第二生理学講座)

はじめに

生体は運動時に眼球や頭頸部の位置を反射的に制御し、視覚情報を網膜上に正確にとらえると同時に、連続する運動に合せ姿勢を制御している。この反射機構には多くの神経機構が関与するが、ここでとり上げる前庭神経系は、半規管系と耳石器系とからなり、主な出力系である眼運動系と脊髄運動系との間で神経回路網を形成している。前・水平・後半規管神経の選択的

電気刺激法はCohenから(1964)により開発され、各半規管と外眼筋運動ニューロンおよび頸筋運動ニューロンとの結合様式が詳細に調べられ、興奮性結合については図1に、抑制性結合については図2にまとめられている(Uchino & Iisu' 1992 a b c)。図1・2は眼球が前方にあるネコの半規管系反射弓の模式図であるが、視軸の異なるネコとウサギの間で主結合は一致している。頸部の前後方向の回転ではネコ・ウサギ両動物とも垂直半規管が刺激され、代償性眼球

EXCITATORY VESTIBULO-OCULAR and/or VESTIBULO-COLLIC REFLEX PATHWAYS

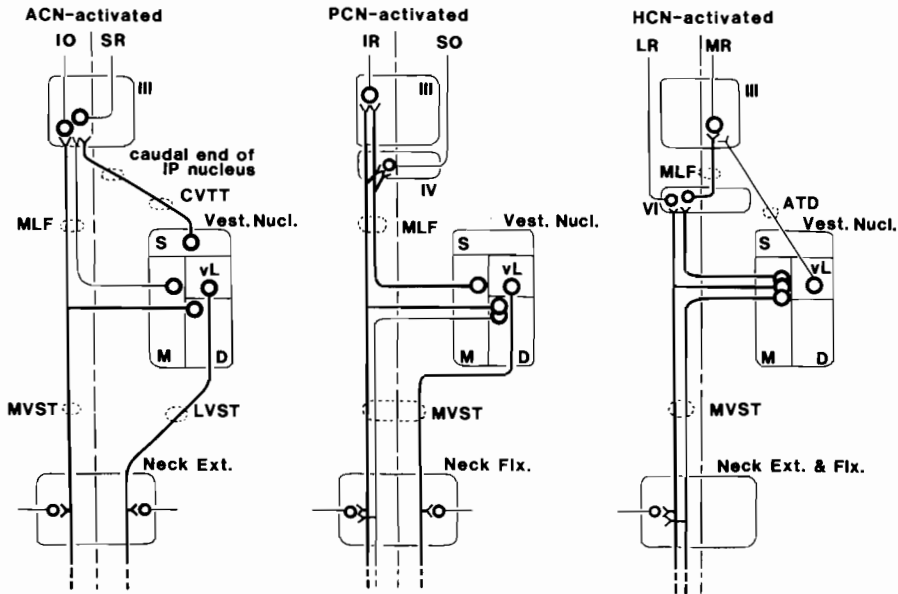


図1. 前庭動眼反射および前庭頸反射を中継する興奮性前庭二次ニューロンの主たる存在部位と軸索の走行経路

ACN-:前半規管系, PCN-:後半規管系, HCN-:水平半規管系, IO:下斜筋, SR:上直筋, IR:下直筋, SO:上斜筋, LR:外直筋, MR:内直筋, III:動眼神経核, IV:滑車神経核, VI:外転神経核, IP nucleus:脚間核, MLF:内側縦束, CVTT:交叉性腹側被蓋路, ATD:ダイテルス上行路, Vest nucl.:前庭神経核, S:上核, vL:外側核腹側部, M:内側核, D:下核, MVST:内側前庭脊髄路, LVST:外側前庭脊髄路, Neck Ext.:頸部伸筋, Neck Flx.:頸部屈筋(Uchino and Iisu, 1992 a, c より引用).

INHIBITORY VESTIBULO-OCULAR and/or VESTIBULO-COLLIC REFLEX PATHWAYS

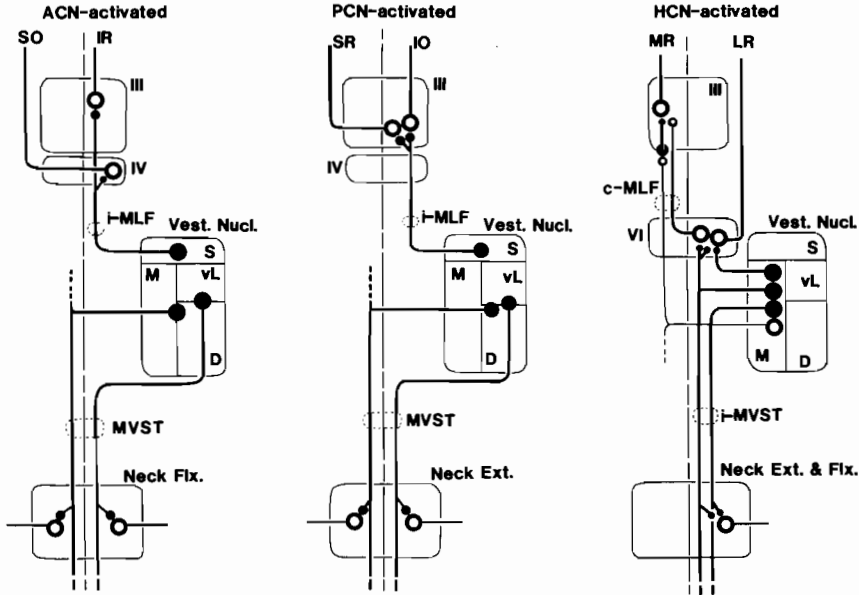


図2. 前庭動眼反射および前庭頸反射を中継する抑制性前庭二次ニューロンの主たる存在部位と軸索の走行経路
c-: 対側, i-: 同側, 他の略号は図1を参照(Uchino and Isu, 1992b, cより引用).

運動はネコでは垂直運動, ウサギでは回旋運動となる。これは各外眼筋の視軸に対する作用方向が異なるためであり, 半規管と筋の相対的位置関係はむしろよく似ている。したがって両者の主結合が一致するのは機能的にも矛盾しない。半規管系反射弓の神経機構に比較し, 実験手技の困難さから耳石器系(卵形囊神経・球形囊神経)に起因する神経機構について不明な点が多い。そこで耳石器の一つである卵形囊系反射弓の基本的入出力機構の解明に寄与した卵形囊神経の選択的電気刺激法の進歩と新事実について述べる。使用した動物はネコである。

背景

Suzuki ら(1969)は, ステンレス線(50 μ m)2本を張り合わせた刺激電極を用い, 卵円窓から直接卵形囊神経を刺激した。刺激には連続矩形波を使用し卵形囊一動眼反射を外眼筋の収縮として記録した。刺激時発生する眼球運動の基本パターンは刺激と同側眼球の上斜筋・上直筋・

内直筋が収縮することにより, 回旋運動と斜め上方への移動がおこる。反対側の眼球は下斜筋・下直筋・外直筋の収縮により, 回旋運動と斜め下方への移動がおこる。Jijiwa ら(1986)は卵形囊の局所刺激を試み, 有毛細胞の形態的極性とよく一致した眼球運動を観察している。Wilson ら(1977)は, 耳石器入力に起因する前庭一頸反射弓の神経機構の解明を目的に, 図3に示すような方法論で実験を行った。図3Aは内耳道直上の骨を部分除去した後, 耳石器神経の内, 球形囊神経(saccular nerve)だけを残し他の前庭神経全てを切断した模式図である。図3Bは同様の手法で卵形囊神経(utricular nerve)だけを残し, 他の前庭神経を切断した模式図である。図3A・Bの標本を作成し, 内耳を刺激することで, それぞれ球形囊神経と卵形囊神経を選択的に刺激することができるとした。

新しい卵形囊神経選択的刺激の試み

図4は現在我々の試みている卵形囊神経選択

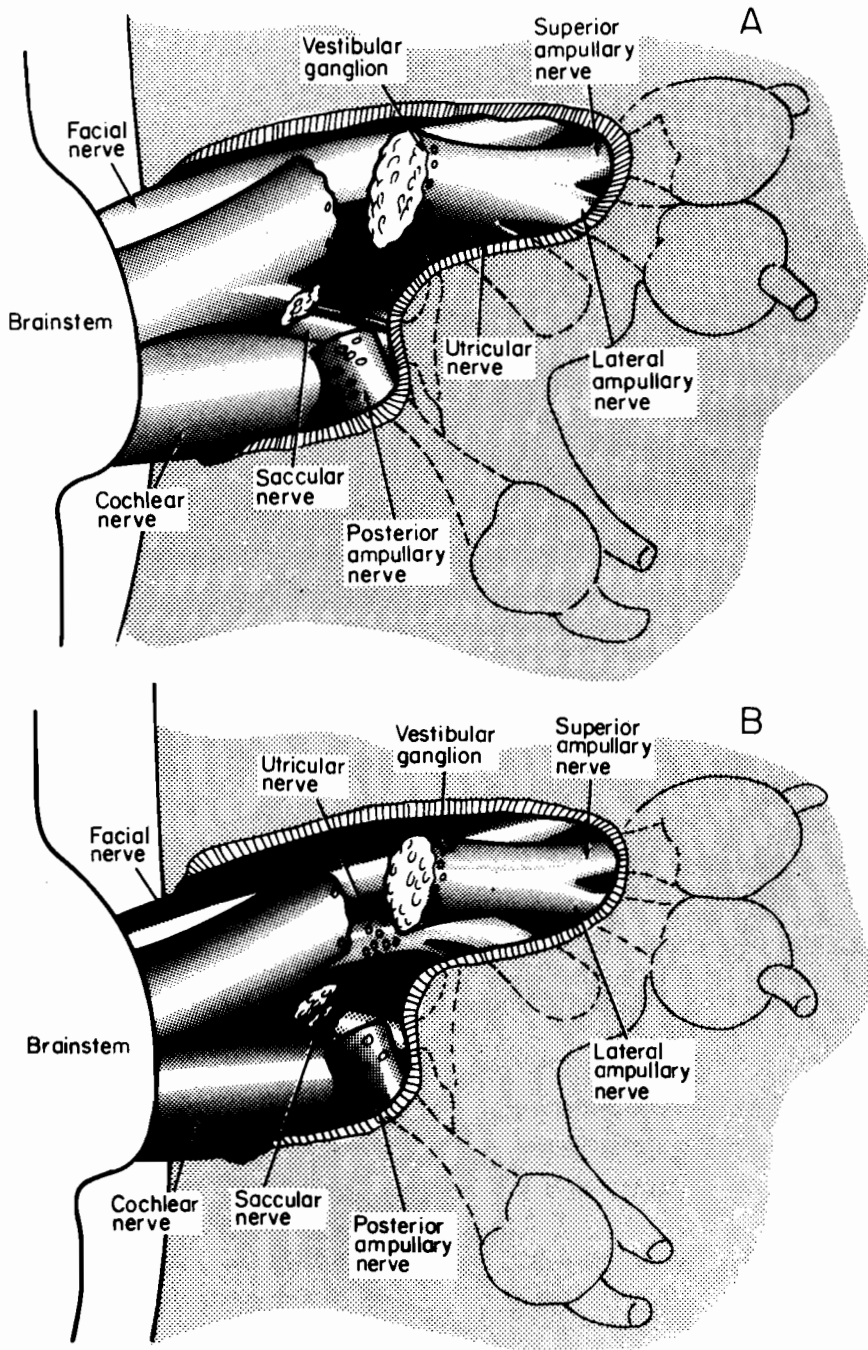
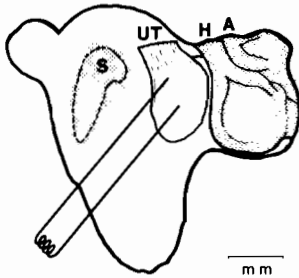


図3. 前庭神経のうち球形囊神経(A), 卵形囊神経(B)だけを残し他の前庭神経を切断する方法. A, Bとも右側背側から観察した模式図である.

Brainstem: 脳幹, Cochlear nerve: 聴神経, Facial nerve: 顔面神経, Lateral ampullary nerve: 外側(水平)半規管神経, Posterior ampullary nerve: 後半規管神経, Saccular nerve: 球形囊神経, Superior ampullary nerve: 前半規管神経, Utricular nerve: 卵形囊神経, Vestibular ganglion: 前庭神経節.

A. latero-ventral view of the left inner ear



B. dorso-ventral view of the left VIII nerve

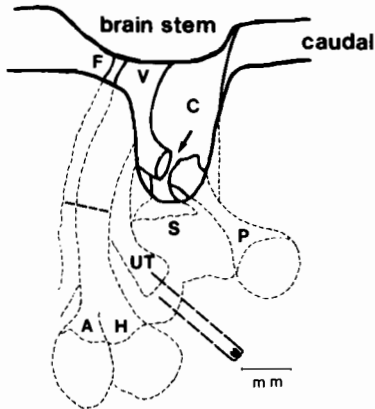


図4. 卵形囊神経選択的刺激方法

Aは腹外側から左内耳を観察した模式図。卵形囊神経(UT)だけを残し、水平半規管神経(H)、前半規管神経(A)と球形囊神経(S)は切断除去される(小さなドット)。卵形囊神経は双極性に刺激される。Bは背腹方向に第8神経を観察した図。後半規管神経(P)の選択的切断を矢印で示してある。Fは顔面神経、Vは前庭神経、Cは聴神経。

刺激方法の概略を示しており、左内耳腹外側から手術用顕微鏡を用い内耳を観察した模式図である(Sasaki et al.1991)。この図に示されている卵形囊神経に到達するには、まず、鼓室胞を破壊し、正円窓・卵円窓を直視下に観察する。卵円窓のアブミ骨は卵形囊神経保護の目的のため、通常手術の最後まで除去しない。正円窓・卵円窓周囲の骨組織をドリル及び歯科用骨鋭匙などで注意深く切除する。この目的のため我々はダイヤモンド技工師用の超低振動ドリルを使用している。骨周辺からの出血に対しては骨用ワックスあるいは自然止血を待つ。水平半規管

系神経(図4 AのH)と前半規管神経(図4 AのA)は眼科用メスで切断し、膨大部を含め除去する。水平半規管膨大部と卵形囊神経は結合組織で一部癒着しているが、これも同一メスで解離する。球形囊神経は骨鋭匙あるいは綿球で注意深く剝離切除する。後半規管神経は図4 Bで示すように切断するが、現在は図4 Aの下方に位置する後半規管膨大部と同神経を球形囊と同時に除去している。

卵形囊神経は電解研磨したタングステン電極を用い双極性に刺激する。両電極の間隔は約800 μ mとし、タングステン電極の被覆は先端約500~1000 μ m取り去っている。直視下で卵形囊神経に双極電極を刺入し、パラフィンワゼリン混合液で内耳を充満する。内リンパ液を含む分泌液は細くよじった脱脂綿で持続的に吸引している。

卵形囊神経刺激による前庭神経核内 電場電位と電流滑走

前庭神経全てを電気刺激すると前庭神経核内に電場電位が発生する。この電場電位は、前庭一次求心性線維の活動によるP波、前庭二次ニューロンの活動電位と興奮性シナプス後電位とからなるN₁波、三次ニューロンの活動によるN₂波とからなる(Shimazu & Precht 1965, 図5挿入図)。卵形囊神経選択的刺激によってもP波とN₁波が発生するが、N₂波は発生しにくく、発生しても振幅が小さい(Sasaki et al. 1991, Bolton et al. 1992, 図5挿入図)。P波は振幅が小さく前庭神経刺激閾値の決定には不向きであり、P波の発生閾値とほぼ等しいN₁波の発生をもって卵形囊神経閾値とすることが一般的であり、我々も卵形囊神経刺激強度の表示に(N₁波の閾値の何倍： xN_1T)を用いている(Shimazu & Precht 1965, Uchino et al. 1970, Sasaki et al. 1991)。卵形囊神経刺激によるN₁閾値は10~25 μ A (Sasaki et al. 1991)および3~15 μ A (Bolton et al. 1992)で初期の実験より最近の方法が進歩していることがわかる。N₁波の振幅は前庭神経外側核腹側及び下核吻

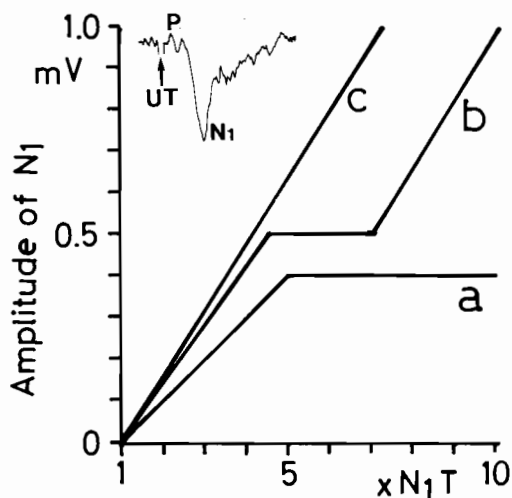


図5. 卵形囊神経刺激と N_1 電位の振幅

a 卵形囊神経刺激閾値の5倍の刺激強度 ($5xN_1T$) で N_1 電位(波)がプラトーに達し, b はプラトーに達した後, 再び N_1 電位の増大が $7xN_1T$ で始まり, c は N_1 電位のプラトーが少なくとも $7xN_1T$ までは存在しない. 挿入図は卵形囊神経刺激(UT)に伴う一次心性線維の活動によるP波と二次ニューロンの活動による N_1 電位(波)をあらわす. 下向きが陰性.

腹側で大きく, 実験結果の信頼性を高めるには実験開始時と終了時の, N_1 波閾値が同一であることが望ましい. 振幅については後述する.

P波の潜時については振幅が小さく, peakが不明である場合も多いので Positive 波から Negative 波へかわる時点を活動電位の到達時点と考え, P波の潜時としている. 潜時は 0.56 ± 0.6 ms $n=44$ (Uchino et al. 1992)である. N_1 波の潜時は 1.0 ± 0.1 ms $n=6$ (Sasaki et al. 1991)であるが最近の我々の仕事では 0.84 ± 0.10 ms $n=50$ (Uchino et al. 1992)である. この差は記録部位の違いによるものである.

卵形囊神経を電気刺激すると N_1 波の振幅は急速に増加し, 約 $4 \sim 5xN_1T$ の刺激強度で N_1 波の振幅がプラトーに達し (Bolton et al. 1992), この関係を模式化したものが図5—aである. 図5—aの標本の場合 N_1 閾値の $4 \sim 5$ 倍の強度で卵形囊神経全てを刺激していることを意味し, 10 倍以上の刺激でもプラトーは維持しているが, 標本によってはプラトーが中断

し再び振幅が増大する場合がある(図5—b). 図5—bの場合には約 $7xN_1T$ の強度で刺激部位に近い水平及び前半規管神経に電流滑走が起きたためと考えることが妥当であろう. 図5—cに示したようにプラトーがなく持続的に N_1 波の振幅が増大する場合には卵形囊神経の選択刺激の保障がなく, この標本での実験の継続は不可能である. プラトーの振幅はネブタール麻酔下で約 $300 \sim 400 \mu V$, 除脳標本で $500 \sim 700 \mu V$ となることが多いが記録部位による変動も考慮する必要がある.

この刺激方法による新事実

我々は耳石器系前庭動眼反射弓の基本的神経回路網の全貌を知る目的で図4に示す刺激方法を用い, 同側外転神経核運動ニューロンと, 対側滑車神経核運動ニューロンから細胞内記録を行った. 同側外転神経核運動ニューロンに対してはすでに Schwandt ら (1973) が明らかにしているように卵形囊神経を刺激すると短潜時のEPSPが発生した. このEPSPの潜時は 1.0 から 1.6 ms (1.2 ± 0.2 ms (SD) $n=13$) でEPSPの発生閾値は全て $2xN_1T$ 以下であった (Sasaki et al. 1991).

対側滑車神経核運動ニューロンには後半規管神経から2シナプス性興奮結合がありその潜時は $1.4 \sim 2.4$ ms (1.5 ± 0.2 ms (SD) $n=30$) であることが後半規管神経の選択的刺激法で調べられている (Uchino et al. 1980). 卵形囊神経刺激による対側滑車神経核運動ニューロンに対する効果は Baker ら (1973) により調べられ2シナプス性興奮結合であるとされている. 図4に示した方法を用い滑車神経核運動細胞から細胞内記録を行ったところ, 少なくとも記録した11個の運動ニューロンからは2シナプス性EPSPは記録されず, 潜時の遅いEPSPが記録された. 以上のことからおそらく卵形囊—対側滑車神経運動ニューロン間の2シナプス性神経回路は, あっても極めて弱い結合なのではないかと考えている (Sasaki et al. 1991).

我々は最近ロックフェラー大学 Wilson らと

共同で卵形囊系前庭—頸反射弓の基本的神経回路の解明を図4の方法を用いて行った。卵形囊—同側頸部伸筋運動ニューロンに対しては2シナプス性興奮性結合であり対側の頸部伸筋運動ニューロンに対しては3シナプス性抑制性結合であるとの結論を得た(Bolton et al. 1992)。この実験結果は1979年我々が図3の方法を用いて行った結論、すなわち同側及び対側頸部伸筋運動ニューロンに対してはそれぞれ2シナプス性抑制性と2シナプス性興奮性結合であるとの結論と大きく異なるものであった。この実験結果の差の生じる原因はすでに1979年に我々もその可能性を示唆しているが、手術後1~2ヶ月し、動物の回復を待って急性実験を行ったが、この間に神経の再生、あるいは中枢での plasticity を否定できない。又、卵形囊神経を残し近接する水平規管神経を切断する手技の時(図—3)、卵形囊神経損傷をおそれ、一部水平半規管神経が残存した可能性を否定できない。なぜならば水平半規管神経を電気刺激すると同側頸部伸筋運動ニューロンには2シナプス性 IPSP が、対側伸筋運動ニューロンには2シナプス性 EPSP が発生するからである。(Wilson & Maeda 1974)。

最近我々は図4と同様の方法を用い頸部屈筋運動ニューロンから細胞内記録を行い卵形囊—頸部屈筋運動ニューロン回路を明らかにした(Ikegami et al. in press)。同側の頸部屈筋運動ニューロンに対しては2シナプス性興奮性結合であり、対側のそれに対しては3シナプス性抑制性結合であった。驚くことにこの結合様式は前述した伸筋運動ニューロンの結合様式と同一であった。このことは機能的に考えると卵形囊神経のインパルスの発射頻度が増加すると同側頸部伸筋・屈筋とも緊張することを意味する。事実サルにおいて記録側への直線加速度が加わると75%の卵形囊一次求心性線維の発射頻度が増加するという(Fernández & Goldberg 1976)。これらの実験結果を考え合わせると少なくとも水平直線加速度が加わった時、卵形囊—頸反射は同側の頸部伸・屈筋の緊張度が増し、頸部の

位置を一定に保ち視覚の網膜上での安定化に寄与していると考えられる。

また最近 Graf と共同研究者(1992 a, b)は耳石器特に両側卵形囊神経だけを残し他の前庭神経を全て切断した動物(ウサギ)と両側耳石器だけを破壊した動物(モルモット)を作成し、頸椎の形状をX線撮影で観察した。その結果卵形囊を残した動物は安静時はもちろん、床を傾ける外乱を与えても頭頸部の位置を正常に保つことができるという(Graf et al. 1992)。一方耳石器を破壊した動物は顎を伸ばし、頭頸部を床に近づけるうづくまった体位を示すという(Graf et al. 1992b)。我々の今回の実験(Ikegami et al. in press)と前回の実験(Bolton et al. 1992)の結果は安静時のこれらの動物の姿勢をよく説明している。すなわち卵形囊からの自発発射が頸部屈筋・伸筋に持続的緊張を与え、前述した直線加速度を加えた時と同様、頭頸部の体部に対する位置を一定に保ち視覚の安定化に寄与していると考えられる。

参 考 文 献

- Baker R, Precht W, Berthoz A (1973) Synaptic connections to trochlear motoneurons determined by individual vestibular nerve branch stimulation in the cat. *Brain Res* 64: 402-406
- Bolton PS, Endo K, Goto T, Imagawa M, Sasaki M, Uchino Y, Wilson VJ (1992) Connections between utricular nerve and dorsal neck motoneurons of the decerebrate cat. *J Neurophysiol* 67: 1695-1697
- Cohen B, Suzuki J-I, Bender MB (1964) Eye movements from semicircular canal nerve stimulation in the cat. *Ann Otol (St. Louis)* 73: 153-169
- Fernández C, Goldberg JM (1976) Physiology of peripheral neurons innervating otolith organs of the squirrel monkey. I. Response to static tilts and to long-duration centrifugal force. *J Neurophysiol* 39: 970-984
- Graf W, Waele C, Vidal PP (1992 a) Skeletal geometry in vertebrates and its relation to the vestibular end organs. In: *The head-neck sensory motor system*, eds by Berthoz A, Graf W and Vidal PP, Oxford Univ Press, New York, pp 129-134
- Graf W, Wang DH, Waele C, Vidal PP (1992 b) The role of otoliths in maintaining the upright posture of head-neck system in the guinea pig. In: *Vestibular and brain stem control of eye, head and body movements*, eds by Shimazu H, Shinoda Y.

- Japan Scientific Societies Press, Tokyo, and Karger Tokyo and Basel pp 79-90
- Ikegami H, Sasaki M, Uchino Y (in press) Connections between utricular nerve and neck flexor motoneurons of the decerebrate cats. *Exp. Brain Res.*
- Jijiwa H, Motooka T, Keino H, Watana S (1986) Functional organization of the cat utriculus studied with the vestibulo-ocular reflex induced by electrical stimulation. In: *Biological sciences in space*, eds by Watanabe S, Mitarai G, Mori S, pp 191-198
- Sasaki M, Hiranuma K, Isu N, Uchino Y (1991) Is there a three neuron arc in the cat utriculo-trochlear pathway? *Exp Brain Res* **86**: 421-425
- Schwindt PC, Richter A, Precht W (1973) Short latency utricular and canal input to ipsilateral abducens motoneurons. *Brain Res* **60**: 259-262
- Shimazu H, Precht W (1965) Tonic and kinetic responses of cat's vestibular neurons to horizontal angular acceleration. *J Neurophysiol* **28**: 991-1013
- Suzuki J-I, Tokumasu K, Goto K (1969) Eye movements from single utricular nerve stimulation in the cat. *Acta Oto-Laryngologica* **68**: 350-362
- Uchino Y, Ikegami H, Sasaki M, Endo K, Imagawa M, Isu N (1992) Utricular input to abducens motoneurons of the cat. *Neuroscience Res Suppl* **17**, 210
- Uchino Y, Isu N (1992 a) Properties of vestibulo-ocular and/or vestibulo-collic neurons in the cat. In: *The head-neck sensory-motor system*. eds by Berthoz A, Graf W, Vidal PP, Oxford Univ Press, New York, pp 266-272
- Uchino Y, Isu N (1992 b) Properties of inhibitory vestibulo-ocular and vestibulo-collic neurons in the cat. In: *Vestibular and brain stem control of eye, head and body movements*. eds by Shimazu H, Shinoda Y, Japan Scientific Societies Press, Tokyo and Karger, Tokyo and Basel pp 31-43
- 内野善生, 井須尚紀 (1992 c) 半規管系前庭神経核ニューロンの神経機構. *神経進歩* **36**: 854-871
- Uchino Y, Kudo N, Tsuda K, Iwamura Y (1970) Vestibular inhibition of sympathetic nerve activities. *Brain Res* **22**: 195-206
- Uchino Y, Suzuki S, Watanabe S (1980) Vertical semi-circular canal inputs to cat extraocular motoneurons. *Exp Brain Res* **41**: 45-53
- Wilson VJ, Gacek RR, Maeda M, Uchino Y (1977) Saccular and utricular input to cat neck motoneurons. *J Neurophysiol* **40**: 63-73
- Wilson VJ, Maeda M (1974) Connections between semi-circular canals and neck motoneurons in the cat. *J Neurophysiol* **37**: 346-357