

博士学位論文

予測性眼球運動制御の神経機構に関する研究

三木 俊太郎

中部大学大学院工学研究科情報工学専攻

目次

第1章	序論.....	3
1.1	生物の運動と予測	3
1.2	眼球運動と予測	4
1.3	本研究の目的.....	5
1.4	本論文の構成.....	6
第2章	眼球運動と小脳	8
2.1	はじめに.....	8
2.2	眼球運動.....	8
2.2.1	視運動性眼球運動 (Optokinetic response: OKR)	9
2.2.2	視運動性後眼振 (Optokinetic after nystagmus: OKAN)	9
2.2.3	OKR モデル.....	10
2.3	小脳.....	12
2.3.1	眼球運動学習と小脳.....	13
2.4	周期同調学習.....	14
第3章	実験方法	15
3.1	はじめに.....	15
3.2	被験体.....	15
3.3	金魚・コイの実験	15
3.3.1	実験装置.....	15
3.3.2	実験準備.....	18
3.4	ゼブラフィッシュ, メダカの実験.....	21
3.4.1	実験装置.....	21
3.4.2	実験準備.....	23
第4章	周期同調の諸特性.....	25
4.1	はじめに.....	25
4.2	両方向周期同調学習.....	25
4.3	方向選択性	27
4.4	非周期的刺激.....	31
4.5	オドボール課題.....	34
4.6	単眼性.....	40
4.7	学習時間と学習サイクル数.....	42
4.8	前庭刺激による周期同調.....	46
4.9	学習後暗所での眼球運動.....	48

4.10	矩形波以外の刺激による周期同調.....	50
4.11	ヒトの周期同調.....	52
4.12	まとめ.....	54
第5章	周期同調の開始予測と終了予測.....	55
5.1	はじめに.....	55
5.2	片方向刺激.....	55
5.3	ステップアップ刺激.....	58
5.4	刺激開始/終了タイミングのランダム化.....	60
5.5	各学習パラダイム中の各 OKR 成分の変化.....	62
5.6	まとめ.....	66
第6章	周期同調と小脳.....	67
6.1	はじめに.....	67
6.2	学習後小脳切除.....	67
6.3	学習前小脳切除.....	70
6.4	学習中の各 OKR 成分の変化.....	72
6.5	OKR モデルを用いた解析.....	74
6.5.1	モデル上における OKR の学習戦略.....	80
6.6	プルキンエ細胞活動.....	81
6.7	まとめ.....	84
第7章	動物種による周期同調の差.....	85
7.1	はじめに.....	85
7.2	魚類の周期同調.....	85
7.3	OKAN.....	88
7.4	OKAN Habituation.....	89
7.5	まとめ.....	91
第8章	前庭神経切断金魚の周期同調.....	92
8.1	はじめに.....	92
8.2	前庭神経切断金魚.....	92
8.3	周期同調学習.....	94
8.4	速度蓄積機構と周期同調の関わり.....	97
8.5	まとめ.....	97
第9章	結論.....	99

第1章 序論

1.1 生物の運動と予測

地軸の傾いた惑星が恒星の周りを公転することで季節が生まれ、惑星の自転は昼夜を生み出し、衛星の公転は海に潮汐を与え、大気的气圧差から生じる風は海洋に波を起こす。天体の運行から、音、光まで、自然の運動は回転や振動といった周期性に溢れており、そこから生まれた生物の運動に周期性が見られるのも不思議はない。地球で最初期に生まれた真核生物が鞭毛を周期的に揺らすことで移動を行ったように、生物の歩行や遊泳、呼吸、脈拍などの基本的な機能の多くは周期性を伴う。その後、生物は多数のニューロンから構成される神経系を利用し複雑で多様な運動ができるように進化した。しかし、環境内から得られる様々な感覚情報をもとに適切な運動を行う感覚-運動変換は、それを実行するニューロンの物理的特性から必ず遅れを伴い、理想とする運動は実現できない。このような問題を解決するために生物は未来を予測する機能を発達させた。つまり、“いつ”、“何が”起こるかを予測することで、運動の遅れを小さく、さらには外界の現象に先行した動作を可能にした。多くの自然現象、生物の行動には周期性が伴い、周期性があるということは次の行動のタイミングが予測できることに他ならない。実際に生物は、周期的なリズムのタイミングを読むことで遅れのない正確な運動を可能にしている。ヒトが音楽のリズムに乗れるように、サルやチンパンジーなどを始め、オウムやゾウといった生き物にも周期的な音や刺激に対して予測的な同期行動が見られる[22, 55]。これはリズムに合わせた音声コミュニケーションの能力と関係するという仮説もあるが、ゼブラフィッシュなどにも同じような行動が見られることから[62]、このような周期的な刺激に対する同期や予測運動機能は生物に普遍的に存在すると考えられる。

タイミングを予測するという事は、言い換えれば正確な時間感覚を有していることの証である。近年、科研費新学術領域「こころの時間学」(2013~2017年度、領域代表者：北澤 茂)、「時間生成学-時を生み出すこころの仕組み」(2018~2022年度、領域代表者：北澤 茂)に代表されるような、生物の時間感覚に関する研究が盛んに行われている。一言に時間と言っても生物、特にヒトにとって時間とは幅広い意味合いを持つ。たとえば、ストップウォッチで10秒を当てるような客観的時間や、過去を振り返り、未来を思うような主観的時間もヒトが有する時間感覚である。多くの言語に時制があるように、それはヒトの記憶、思考、判断などの高度な認知機能にも影響を及ぼしている。ヒト以外の動物種では、ヒトほどの複雑な時間感覚を有していないが、先に述べたように、オウムやゾウ、ゼブラフィッシュの運動には周期に合わせて未来を予測するような正確な時間感覚がある。“運動”とは時間経過に伴う物体の位置変化を表す言葉であり、運動について考えるとき、そ

これから時間の要素は切り離せない。多くの生物が持つ基本的機能の運動から、そこに内在する時間の要素に焦点を当て生物の時間生成機構を明らかにすることは、生物が普遍的に持つ時間感覚、ひいてはそこから高度に発達したヒトの時間感覚のメカニズムを明らかにする上で重要な手法であると考えられる。

1.2 眼球運動と予測

生物の運動は、捕食、逃避、移動などの能動的なものから、心臓を動かす心筋や内臓を動かす平滑筋の運動といった不随意的なものまで多岐にわたるが、その中でも運動の正確さが求められるものに眼球運動が挙げられる。カンブリア爆発は生物が眼を獲得したことで生じたという説もあるように[2]、生物にとって眼から外界情報を得ることはその生存のために非常に重要な機能である。眼の目的が外界の光学情報を得ることであるならば、眼球運動の目的は視対象に眼を向け、自らあるいは外界の動きに合わせて眼を動かすことにより網膜に外界の情報をブレなく正確に映すことである。視運動性眼球運動（Optokinetic Response : OKR）は視野全体が動いたときに眼が同方向へ動くことで網膜像のブレを抑える働きがあるが、ヒトでは約 180 ms[60]、金魚では約 80 ms の遅れがあり[42]、正確な運動は困難である。特に、左右水平方向に矩形波速度状の視覚刺激を与えると、刺激方向が急激に切り替わる際には眼球の追従が遅れるため、刺激方向の切り替わり直後はその分網膜像のブレが大きくなる。しかし金魚では、こうした刺激をしばらく与え続けると、刺激方向が切り替わる前に眼球速度が低下し始めるようになる[42]。これにより、刺激方向切り替わり直後に眼が視覚刺激を追従しやすくなり、網膜像のブレが低減される。この時、より長い周期の矩形波状刺激を与えると、元の刺激の方向切り替わりタイミングで眼球速度が減少する。これは周期同調（Period tuning）と呼ばれ、与えられた視覚刺激の方向切り替わりタイミングに合わせ、OKR のゲインを調節する運動学習の一種であると考えられる。

OKR 以外にも眼球運動の制御系にはその反応遅れ時間への対策として、視覚刺激に対する予測機能が備わっている。例えばヒトにおいて、注視対象物を追うように緩徐に生じる眼球運動である滑動性追従眼球運動（Smooth pursuit）を誘発する実験では、視標が左右方向へ時間的に正弦波状に周期的に動くとき、眼がそれを追従するために Smooth pursuit が生じる。このとき、眼の動きは視標の動きに対して遅れるが、周期的な刺激を繰り返し与えることにより刺激に対する眼球運動の位相差が徐々に小さくなることから、Smooth pursuit には外界の動きを予測して遅れを小さくする機構が存在すると考えられている[15]。また、視標が三角波状に左右方向へ動くとき、眼は Smooth pursuit により左右へ滑らかに動くが、この刺激をしばらく与え続けると視標の運動方向が切り替わる前に眼球速度が低下するようになる。つまり、視標の運動方向切り替わりタイミングに合わせ、次の運動方向へ予め眼を動かそうとする予測性の眼球運動が生じる[16]。また、このような予測性の眼

球運動は運動中のみでなく固視中にも生じる。すなわち、視標が一定時間中央に固定された後、一定速度で右に動くような刺激を繰り返し与えると、視標が動く前から右方向への眼球運動が生じることが知られている[23]。これと同じような予測性眼球運動は、注視対象が前後に移動したときに生じる輻輳・開散運動や、注意対象へ視線を高速に移動させる衝動性眼球運動（Saccade）でも生じる。輻輳・開散運動では、ヒトの被験者の左右眼に両眼視差による指標を与え、その視標の動きを周期的に変化させると、刺激が動く前から 0.3～0.4 deg 程度先行して輻輳角が変化するようになる[72]。Saccade では、ヒトの被験者に対し点滅する 2 つの指標へ交互に Saccade をさせた時、周期的でない Saccade に比べ反応遅れが大幅に短縮される[73]。

これらのように視対象が周期的に動く場合、眼はそのタイミングを予測することにより、遅れを短くし、さらには視標の動く変化前に予測性に動くようになる。これまで、このような眼球運動と予測に関する研究は数多く行われてきたが、その特徴として霊長類を被験体とした随意的眼球運動を対象としている点が挙げられる。しかし、ヒトをはじめとした霊長類は、その解剖学的、生理学的知見が豊富であるものの、侵襲的実験などへの敷居が高く、また随意的眼球運動では、意識的に眼球運動を調節できることから、実験によって生じた予測性眼球運動が意識的なものか、無意識なものかの区別が困難である。一方、金魚の OKR の周期同調は、魚類を被験体とした非随意的眼球運動の予測である。このような従来研究ではあまり対象とされてこなかった、霊長類以外による予測性非随意的眼球運動の研究は、従来の霊長類の予測性随意的眼球運動の研究では得られなかった新たな知見を示すことができると考えられる。

1.3 本研究の目的

予測性運動には小脳、大脳基底核、運動野が関与していることがヒトを対象とした脳イメージング研究[58]により示唆されているが、これらの領域の相互作用により時間がどのようにして表現され予測性運動として出力されるのか、詳細な神経機構はいまだ明らかではない。金魚は眼球運動や前庭系について最もよく研究されている動物種の一つとして、小脳プルキンエ細胞[53, 61]、Area II ニューロン[6]、前庭ニューロン[52]の視覚・前庭信号の内容と解剖学的接続が解析されてきており、その眼球運動に関わる神経回路の構造的・機能的知見は過去 40 年にわたって蓄積されている。このように金魚は予測性の眼球運動学習機能を持ち、かつ眼球運動の制御に関わる解剖学的知見が豊富であることから、予測運動制御の脳内機構をより正確に理解するための良いモデル系であると考えられる。

本研究では、予測性眼球運動である周期同調を対象としての行動実験、電気生理実験を行う。周期同調の学習特性を明らかにし、その脳内情報処理の機構を神経回路構造に基づいて考察することにより、脳内で実現される運動タイミング学習の機構、及びそれを実現

する神経回路機構を明らかにすることを目的とする。

1.4 本論文の構成

本論文は9つの章から構成される (図 1.1)。

2章では、周期同調に関わる眼球運動、特に視運動性眼球運動 (OKR) の特性と眼球運動学習の中核である小脳について述べる。

3章では、実験に用いる被験体、実験装置、実験手法について述べる。

4章では、周期同調の詳細な特性を調べるため、種々の視覚刺激、学習パラダイムを用いた周期同調実験の結果について述べる。

5章では、周期同調についてその開始と終了、及びOKRの各成分を分割して評価した結果について述べる。これらの結果に対して定量的な解析を行うことで、異なる視覚刺激下での周期同調の発生条件を評価する。

6章では、周期同調の学習と小脳の関わりに着目し、周期同調の学習責任部位について検討する。小脳の物理的な切除による周期同調への影響を示すとともに、小脳プルキンエ細胞の細胞外電位記録を行い、周期同調発生中の小脳活動について評価する。

7章では、金魚以外の魚類による周期同調の学習結果の比較、検討を行い、学習に必要な生得的要素について述べる。特に動物種によって異なる眼球速度蓄積機構と周期同調の関わりについて考察する。

8章では、周期同調と眼球速度蓄積機構の関わりについて、前庭神経切断金魚を用いた実験の結果について述べる。前庭神経切断金魚と正常金魚の学習の差を比較することで、眼球速度蓄積機構と周期同調の学習について考察する。

9章では、本論文を総括する。

第1章 序論

- ・研究の背景
- 生物の運動と予測
- 眼球運動と予測
- 本研究の目的

第2章 眼球運動と小脳

- ・眼球運動を小脳に関する生理学的知見
- 眼球運動の種類と特性
- 緩急運動と小脳の関わり

第3章 実験方法

- ・被検体とその実験手法
- 金魚・コイの実験方法
- ゼブラフィッシュ、メダカの実験方法

周期同調に関する基礎的知見

第4章 周期同調の諸特性

- ・刺激に対する特性
- 両方向周期同調学習
- 方向選択性
- 非周期的刺激
- 前庭刺激による周期同調
- 矩形波以外の刺激による周期同調
- ・学習条件による特性
- オドボール課題
- 単眼性
- 学習時間と学習サイクル数
- 学習後暗所での眼球運動
- ヒトの周期同調

周期同調の学習を詳細に分類

第5章 周期同調の開始予測と終了予測

- 片方向刺激
- ステップアップ刺激
- 刺激開始/終了タイミングのランダム化
- 各学習パラダイム中の各OKR成分の変化

周期同調の学習責任部位

第6章 周期同調と小脳

- ・実験結果
- 学習後小脳切除
- 学習前小脳切除
- プルキンエ細胞活動
- ・解析結果
- 学習中の各OKR成分の変化
- OKRモデルを用いた解析
- モデル上におけるOKRの学習戦略

↓ 小脳以外の影響を評価

第7章 動物種による周期同調の差

- ・ 魚類の周期同調
- ・ OKAN
- ・ OKAN Habituation

↓ 学習メカニズムに関わる
↓ 脳内神経回路の評価

第8章 前庭神経切断金魚の周期同調

- ・ 前庭神経切断金魚
- ・ 周期同調学習
- ・ 速度蓄積機構と周期同調の関わり

第9章 結論

図 1.1 本論文の概要

第2章 眼球運動と小脳

2.1 はじめに

本章では，周期同調に関わる眼球運動として視運動性眼球運動（OKR）と視運動性後眼振（OKAN）について，その生理学的知見や数理モデルについて述べる．また，眼球運動学習の中核である小脳の構造とその学習理論について述べる．

2.2 眼球運動

左右の眼球にはそれぞれ 6 本の外眼筋が備わっており，これらの筋肉によって駆動される眼球の回転運動が眼球運動である．眼球運動の目的の一つは，外界や自らの動きに対して安定した視界を得ることにある．主な眼球運動として，頭部の動きを補正するように生じる前庭動眼反射（Vestibulo-ocular reflex: VOR），注意対象へ視線を高速に移動させる衝動性眼球運動（Saccade）などがある．また，視野内の注視対象物や景色の動きに対して緩徐に生じる眼球運動として，滑動性追従眼球運動（Smooth pursuit），視運動性眼球運動（Optokinetic response: OKR），輻輳・開散運動（Convergence・Divergence）などがある．VOR は，3 次元空間内の頭の動きを補償するように，水平，垂直，回旋性に生じる．随意的に生成される Saccade は，水平，垂直成分を持ち，通常，回旋方向には生成されないが，回旋性の VOR 時には，眼位をリセットするような不随意的な Saccade に類似した眼球運動が生じる．Smooth pursuit は，例えば，投擲されたボールや空を飛ぶ鳥など，視野内にある小さな注視対象物が左右，上下，あるいは斜め方向に移動するのを目で追う際の眼球運動である．これは，注視対象を見ようとすることによって随意的に生じる眼球運動であり，注視対象を網膜の錐体細胞密度の高い中心窩で捉え続けることで，その対象の高解像度な視覚情報が得られる．一方，注視対象の前後方向への動きに対して随意的に生じる眼球運動が輻輳・開散運動である．注視対象が自身に近づいてくるとき，両眼はそれぞれ対象を中心窩で捉えようとすることで内転する．この両眼の内転運動を輻輳運動，逆に対象が遠ざかり，両眼が外転する眼球運動を開散運動という．特定の対象を注視していないとき，例えば電車に乗って車外の景色をぼんやり見ているときなどに，視野全体の動きに合わせて生じる眼球運動が OKR である．これには，網膜全体に映る視野のブレを抑える働きがあり，視野内の特定の対象への視覚的注意によらず，不随意的に生じる反射性眼球運動である．OKR は，視界の上下，左右，斜め方向への動きだけでなく，視軸を中心とした回転にも回旋性眼球運動により追従する．

2.2.1 視運動性眼球運動 (Optokinetic response: OKR)

視野内の広範囲の景色が同一方向に動いた際、それと同方向に眼球が動く反射性眼球運動が生じる。刺激を追従するこの眼の動きは、ゆっくりとした動きで視対象を追従する緩徐相と、素早い動きで眼を逆側へ戻す急速相の 2 つに分けることができる。これら 2 つを合わせて視運動性眼振 (Optokinetic nystagmus : OKN) と呼ぶ。このうちの緩徐相のことを視運動性眼球運動 (Optokinetic response : OKR) と呼び、網膜像のブレを抑え視界の安定化を実現する。OKR システムは網膜像のスリップを最小化するように機能するフィードバック制御系であり、その遅れ時間は金魚の場合約 80 ms である[42]。

OKR のパフォーマンスは、通常次式で定義される OKR ゲインで評価される。

$$\text{OKR ゲイン} = \frac{\text{眼球速度}}{\text{視覚刺激速度}}$$

OKR ゲインは視覚刺激の周波数や最大速度によって大きく変化するが、通常 1 以下であり、視覚刺激に対して眼球速度の方が遅い。例えばヒトでは、白黒のパッチパターン刺激を左右水平方向に最大速度 8 deg/s で回転させると、0.1 Hz 以下ではゲインはほぼ 1 であり、0.2~0.4 Hz でわずかに減少し、それ以上の周波数では顕著に減衰する[60]。金魚の成魚の OKR ゲインは、最大速度 10 deg/s の正弦波刺激で 1 Hz 以下では 0.8 程度であるが、それ以上の周波数では減衰し、3 Hz では 0.3~0.5 程度であり[46]、視覚刺激の動きに対して網膜像のブレが生じる。しかし、視覚刺激を繰り返し与えることでゲインはほぼ 1 まで増加し、刺激をブレなく追従できるようになる。これが OKR 適応と呼ばれる運動学習であり、サル、マウス、ネコ、金魚などの様々な動物種で確認されている[14,35, 42, 47]。小脳を切除、あるいは薬理的に抑制することによって学習が阻害されることから、小脳は OKR 適応の重要な役割を担っていると考えられている[49]。

これらの OKR 適応実験では、主に正弦波速度状の視覚刺激を用いて学習が行われることが多いが、OKR はステップ速度状の刺激を与えることで、刺激に対して追従の早い Direct 成分と、その後の緩やかに眼球速度が上昇する Indirect 成分に分けて評価することができる [10]。

2.2.2 視運動性後眼振 (Optokinetic after nystagmus: OKAN)

OKAN とは、同方向に動く視覚刺激により OKR が一定時間生じた後、視覚刺激を消して暗所にすると、暫くの間 OKR 様の眼球運動が持続する現象である。速度蓄積機構 (Velocity storage mechanism: VSM) が眼球速度を蓄積することで、視覚入力が消滅した後も眼球速度を保持し続けると考えられており、その速度は VSM の時定数に従い減少していく。OKAN と同じ様に、頭部にステップ速度状の前庭刺激を与えたときの VOR も指

数関数的に減少し、この OKAN と VOR の時定数が同じであることから、これらは共通の VSM を利用していると考えられている[10]。また、OKAN は繰り返し計測することで、OKAN の時定数が短縮する Habituation と呼ばれる現象が知られている[12, 60]。金魚では8回目のOKANまで徐々に時定数が減少し、それ以降は一定の値のまま変化しない[42]。この Habituation は、VOR でも同様に生じ、繰り返しステップ速度状の前庭刺激を与えることで VOR の時定数が徐々に短くなる[12]。サルでは Habituation 発生後に小脳の一部を切除すると、生じていた Habituation が消失し、時定数が Habituation 前に戻る。さらにその後再度 OKAN を計測しても Habituation が生じないことから、小脳が VSM の時定数を調節する機能を持つと考えられている[12]。

2.2.3 OKR モデル

Cohen ら[10, 57]により OKR および OKAN の数理モデルが提案されている。これは 3 つのパラメータと 1 つの積分器から構成される伝達関数モデルであり (図 2.1), OKR の Direct 成分と Indirect 成分, OKAN をよく再現できる。このモデルでは、出力である眼球速度は OKR の Direct 成分の Direct pathway と Indirect 成分の Indirect pathway からの出力の和で構成され、これら経路には視覚刺激速度と眼球速度の差分、つまり網膜像のブレ速度が入力となる。Direct pathway の G_1 はゲインであり、Direct 成分の立ち上がり量を決める。Indirect pathway はゲイン G_0 と積分器、ならびに積分器の時定数を決めるパラメータ H から構成され、この積分器と H が VSM に相当する。OKAN が生じる暗所は光作動スイッチにより表現される。網膜像のブレ速度入力消失すると、眼球速度は VSM の積分器からの出力となり、この出力が H によって減衰することで OKAN が再現される。

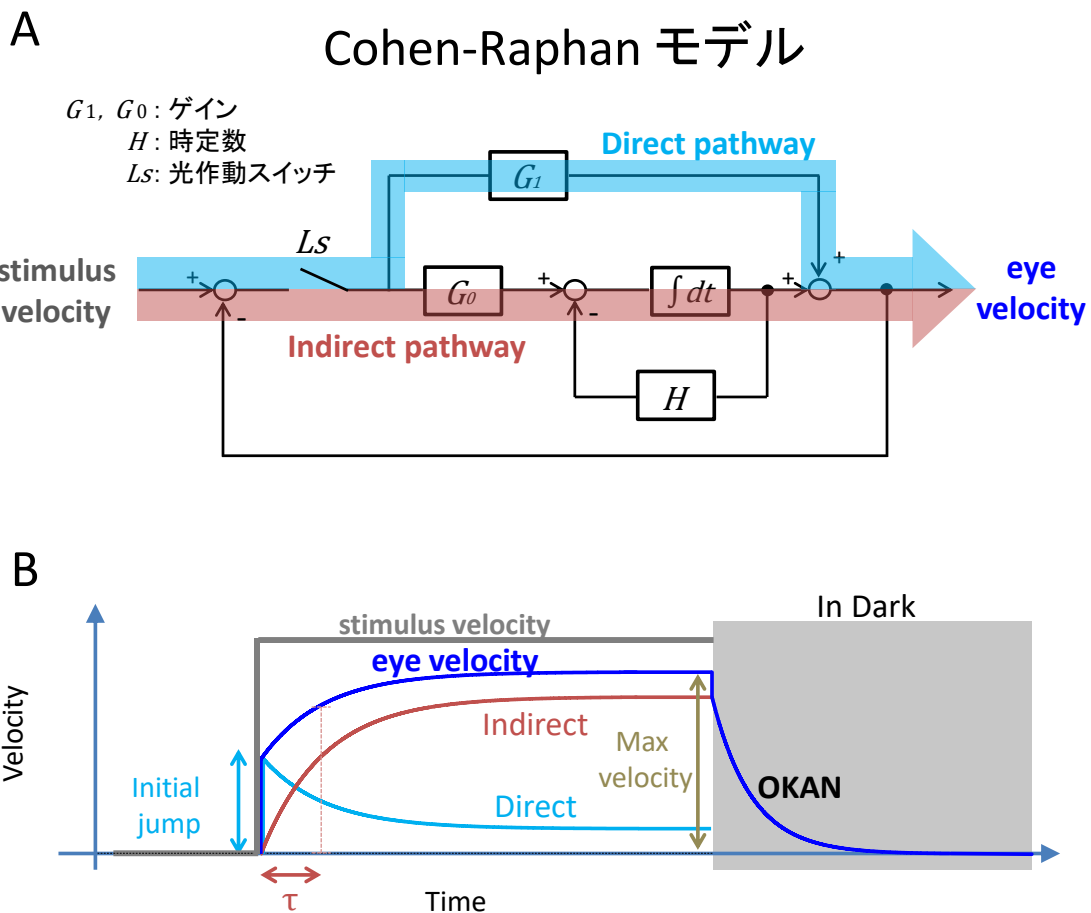


図 2.1 OKR モデル

A : Cohen らにより提案された OKR モデル[10, 57]. B : モデルのシミュレーション結果.

OKR モデルの視覚刺激速度を $x(t)$, 眼球速度を $y(t)$, 各々のラプラス変換を $X(s)$, $Y(s)$ とすると, モデルの伝達関数は以下の式で表される.

$$\frac{Y(s)}{X(s)} = \frac{G_1 + \frac{G_0}{s+H}}{1 + G_1 + \frac{G_0}{s+H}}$$

本研究で主に用いる視覚刺激は矩形波速度刺激であるため, 上記伝達関数の視覚刺激速度を V としたステップ応答を求めることで眼球速度のラプラス変換が以下のように求まる.

$$Y(s) = \frac{G_1 + \frac{G_0}{s+H}}{1 + G_1 + \frac{G_0}{s+H}} V$$

$$= \frac{G_1 H + G_0}{H + G_1 H + G_0} \frac{V}{s} - \left(\frac{G_1 H + G_0}{H + G_1 H + G_0} - \frac{G_1}{1 + G_1} \right) \frac{V}{s + H + \frac{G_0}{1 + G_1}}$$

上記の式を逆ラプラス変換すると以下の式が得られる。

$$y(t) = \frac{G_1 H + G_0}{H + G_1 H + G_0} V - \left(\frac{G_1 H + G_0}{H + G_1 H + G_0} - \frac{G_1}{1 + G_1} \right) \exp\left(-\frac{H + G_1 H + G_0}{1 + G_1} t\right) V \quad (2.1)$$

これが OKR モデルのステップ速度視覚刺激に対する眼球速度である。また式(2.1)から図 2.1B の OKR の初期眼球速度 I (Initial jump), 最大眼球速度 M (Max velocity), 時定数 τ が以下のように求まる。

$$I = y(t)|_{t=0} = \frac{G_1}{1 + G_1} V \quad (2.2)$$

$$M = y(t)|_{t=\infty} = \frac{G_1 H + G_0}{H + G_1 H + G_0} V \quad (2.3)$$

$$\tau = \frac{1 + G_1}{H + G_1 H + G_0} \quad (2.4)$$

OKAN は OKR 後の暗所で生じる眼球運動である。モデル上では Ls が切れ、視覚刺激入力と眼球速度のフィードバックがなくなることで暗所の状態が再現される。この時、眼球速度は積分器からの出力のみになり、その出力は H の負のフィードバックにより徐々に低下する。この OKAN の時定数は以下の式であらわされる。

$$\tau_{OKAN} = \frac{1}{H}$$

2.3 小脳

脳は大腦、脳幹、小脳の 3 つの主要な部分に分けられ、そのうち小脳は後頭葉の下、脳幹の後ろに存在する。ヒトの小脳は脳全体に対して約 10 分の 1 の体積しか占めないにも関わらず、その表面は小脳回と呼ばれるしわが寄って折りたたまれた小脳皮質により面積を増加させており、中枢神経系の全ニューロンの内約 80 % を占める[3]。

大腦と異なり、小脳は中央で分離されず虫部により左右小脳半球が繋がる。小脳皮質はどの領域でも一様な構造を持ち、共通の原理で働くと考えられている[32]。しかし、部位により入力と出力が異なっており、ヒトでは系統発生的に古い順に、前庭小脳 (Vestibulocerebellum)、脊髄小脳 (Spinocerebellum)、橋小脳 (Pontocerebellum) に区

分される。小脳片葉を含む前庭小脳は姿勢の制御や眼球運動の調節に関わり、内耳の前庭器と前庭神経核から入力を受け、出力を前庭神経核に送る。脊髓小脳は体幹や四肢の運動調節に関わり、脊髓からの入力を受け、脊髓の運動ニューロン、運動野への出力を行う。橋小脳は随意的な運動の組み立てや協調に関わり、一次運動野などの大脳皮質からの入力を受け取り、視床を介して大脳皮質へと出力を行う。

小脳は主に 5 種類の神経細胞で構成される。小脳皮質への入力は苔状線維 (Mossy fiber) と登上線維 (Climbing fiber) の 2 つがあり、小脳外への出力はプルキンエ細胞 (Purkinje cell) のみである。ゴルジ細胞 (Golgi cell) は顆粒細胞 (Granule cell) からの入力で興奮し、顆粒細胞を抑制する負のフィードバックにより顆粒細胞が興奮しすぎないようにする働きがある。籠細胞 (Basket cell) と星状細胞 (Stellate cell) は共に平行線維から入力を受け、プルキンエ細胞にそれぞれ抑制性入力をする。主にプルキンエ細胞の出力は小脳核を経由して小脳外へと出力されるが、小脳片葉では小脳核の代わりに直接前庭神経核へ出力される。また、魚類の小脳核は存在せず、代わりに Eurydendroid cell が小脳核の役割を担っている [29, 30]。1 個のプルキンエ細胞は多数の顆粒細胞と、1 本の登上線維の入力を受け、これらの 2 系統の入力に応じてプルキンエ細胞は単純スパイクと複雑スパイクを生じさせる。

2.3.1 眼球運動学習と小脳

自転車の運転やスポーツなどの運動は、はじめは誰も上手く行えないが、反復練習をすることで徐々に上手くなり、正確な動作ができるようになる。これを運動学習といい、小脳がその中核を担っている。小脳の学習機能は、平行線維とプルキンエ細胞間の伝達効率の変化である長期抑圧と長期増強により生じ [27, 31]、これらは登上線維と平行線維のプルキンエ細胞への入力タイミングの違いにより誘発されていると考えられている [32, 49]。登上線維からの誤差信号が複雑スパイクを発生させ、顆粒細胞とプルキンエ細胞間の伝達効率を変化させることにより、小脳からの出力を適切なものへ変化させる。このように、小脳は間違った運動指令を伝達する平行線維シナプスの信号伝達効率を抑制し、正しい出力を増強することで徐々に適切な運動指令のみを伝達するようになる。これが運動学習の基礎メカニズムである。

身体の運動と同じように眼球運動にも運動学習が生じ、この学習にも小脳が深く関与している。OKR では、小脳の物理的破壊 [47]、長期抑圧を阻害する薬物の投与 [35]、長期抑圧が消失したノックアウトマウス [36] で学習が消失することが示されている。同様に VOR や Saccade, Smooth pursuit でも小脳と学習の関連を示す研究報告があり [48, 51]、眼球運動学習においても小脳が中核的な役割を果たしている。

2.4 周期同調学習

眼球運動の主目的は、視覚対象物を網膜にブレなく映し続けることにある。視野全体が動く視覚刺激に対して OKR が生じることで、刺激を眼が追従し、網膜にブレなく映すことができる。しかし刺激の運動方向が急速に切り替わると、眼球速度の立ち上がりが遅い OKR では網膜像のブレが多く生じる。この視覚刺激の運動方向の切り替わりが周期的に生じる時、金魚は刺激の切り替わりタイミングを予測し眼球速度を調節する。つまり、刺激の運動方向が切り替わる直前に次の刺激の方向へ予め眼を動かすことで、刺激の運動方向切り替わり直後の追従性を上げ、網膜像のブレを減らす。この時、より長い周期の刺激を与えると刺激が継続して動いているにもかかわらず、眼は前に学習した周期に合わせて眼球速度を下げる。これを周期同調 (Period tuning) という[42]。

第3章 実験方法

3.1 はじめに

本研究では主に魚類を被験体として実験を行う。本章では実験に用いる被験体，実験装置および実験方法について述べる。

3.2 被験体

本研究では，主として金魚 (*Carassius auratus*)，ゼブラフィッシュ (*Danio rerio*)，メダカ (*Oryzias latipes*)，およびコイ (*Cyprinus carpio*) を被験体として用いる。コイ，ゼブラフィッシュ，メダカは金魚と同様に頑健な OKR を擁することが知られており，特にゼブラフィッシュやメダカは眼球運動学習の研究によく用いられている[5, 46, 62]。本研究で用いられる金魚は一般に和金と呼ばれる種で，体の形状はコイによく似ている。金魚とコイは生物学の分類でそれぞれコイ目コイ科コイ亜科のフナ属とコイ属に属している。金魚は体長 15 cm 程度，コイは体長 12 cm 程度の個体を使用した。生態も似ており非常にゆっくりとした泳ぎをしている。ゼブラフィッシュは遺伝子改変などのモデル動物としてよく用いられる種であり，金魚と同じコイ科に属するものの，体長は 4 cm 程度で，素早く俊敏に泳ぎ，金魚やコイとは生態や体格が異なる。メダカは体長 3 cm 程度で，体格や泳ぎなどの生態はゼブラフィッシュに非常に近いが，ダツ目アドリアニクチス亜目アドリアニクチス科メダカ亜科メダカ属に属し，分類的にはコイ目コイ科の金魚，コイ，ゼブラフィッシュとは遠い種である。実験ではこれらの種を大型の魚類（体長 12～15 cm の金魚，コイ）と小型の魚類（体長 3～4 cm のゼブラフィッシュ，メダカ）に分け，以下に述べるようにそれぞれ異なる実験装置，実験方法を用いる。

3.3 金魚・コイの実験

3.3.1 実験装置

金魚，コイの実験装置は，被験体を固定する水槽，視覚刺激投影装置，眼球運動計測装置，AD/DA 変換装置，およびデータの計測と視覚刺激の制御を行う PC により構成される（図 3.1）。以降の項で，これらの装置の詳細について述べる。

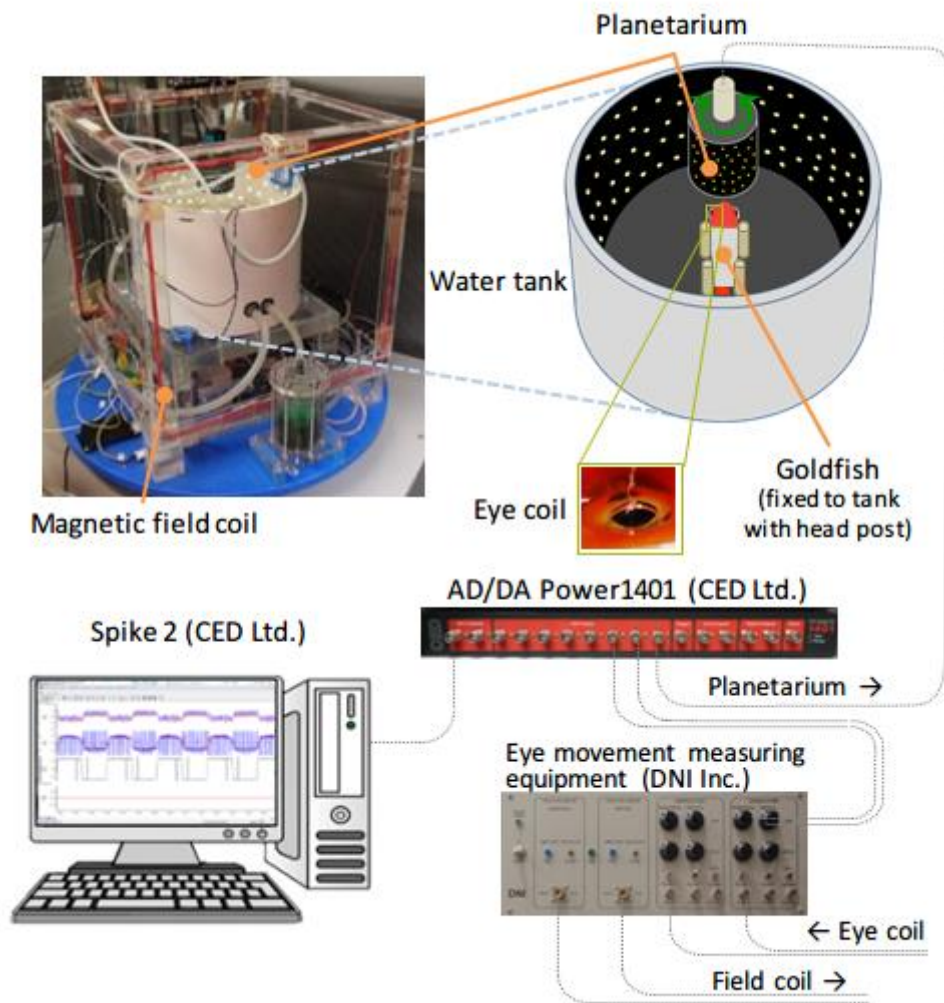


図 3.1 大型魚類の実験装置

実験水槽

実験水槽（図 3.2）は、直径 30 cm の水槽とその水質環境を維持する装置一式、および眼球位置計測用のフィールドコイル、視覚刺激投影装置のすべてがターンテーブルの上に設置された構成となっている。一回の実験は長時間に及ぶため、バイオフィルタによる水の濾過と酸素を供給するエアレーションにより、水槽内の水は金魚の生命維持に最適な環境に保たれる。

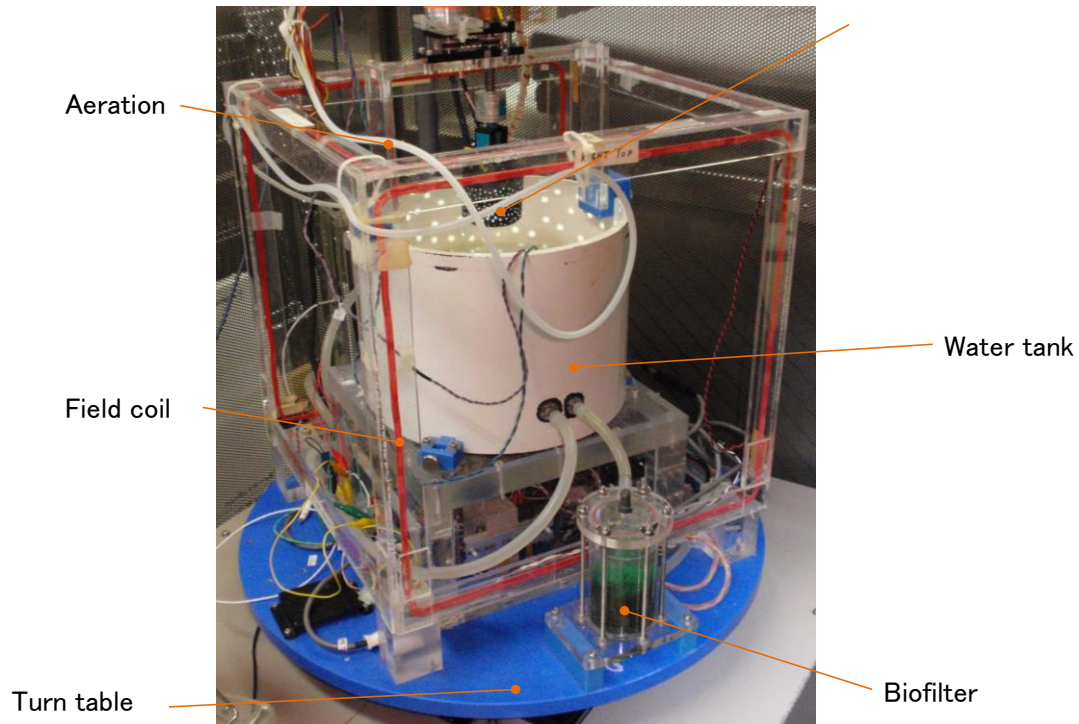


図 3.2 大型魚類の実験水槽

視覚刺激投影装置

視覚刺激投影装置（図 3.3）は水槽の中心上部に固定されており、中央のプラネタリウムからランダムドットの視覚刺激が水槽内壁に投影される。プラネタリウムはプーリで直結された DC モータが PC により制御され、水槽壁面の視覚刺激が回転する。視覚刺激の回転角度は装置上部に設置されたポテンシオメータ（CP-45H, 緑測器製）を用いて計測される。

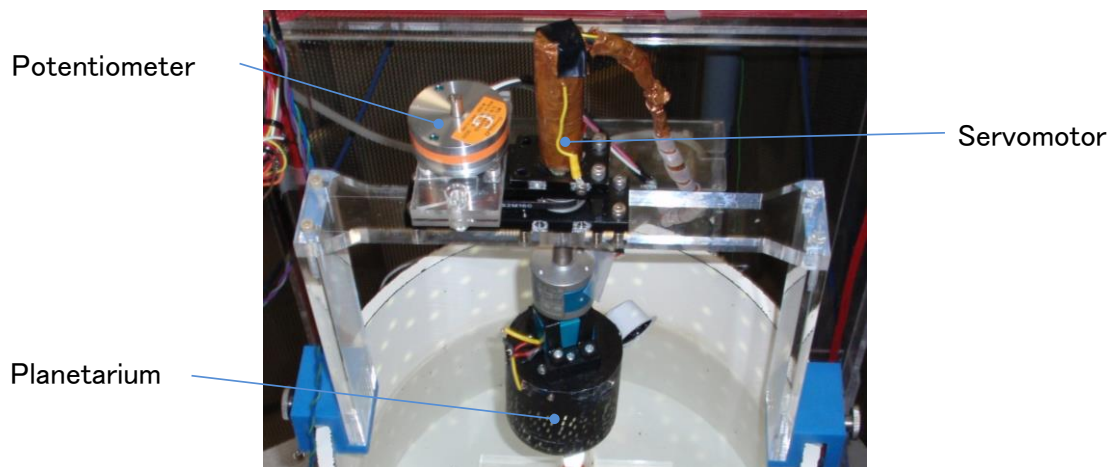


図 3.3 大型魚類の視覚刺激投影装置

眼球位置計測装置

金魚とコイの眼球位置計測にはサーチコイル法を用いる。サーチコイル法とは高周波の磁界内に置かれた導線コイルに磁界との角度に比例した同じ周波数の電位が生じることを利用し、眼球位置を計測する方法である[59]。ターンテーブル上のフィールドコイルには水平方向に 51kHz、垂直方向に 77kHz の磁界が発生しており、眼につけられたアイコイルに各周波数に応じた電位が生じる。アイコイルから出力される電位は眼球運動計測装置 (DNI Inc) により周波数フィルタを用いることで、垂直、水平成分に分解され計測される。

AD/DA 変換装置

眼球位置計測装置からの眼球角度信号、視覚刺激装置のポテンシオメータは、CED 社製 POWER1401 に入力され、付属ソフト Spike2 によりサンプリング周波数 1000Hz で PC で記録される。同じく視覚刺激装置の DC モータの制御も Spike2 と POWER1401 により制御される。

細胞外電位計測

本研究では、実験に応じて金魚の小脳プルキンエ細胞の細胞外記録を行う。神経電位計測には、塩化ナトリウム水溶液で満たされたインピーダンスが 2~4M Ω のガラス微小電極を用いる。計測された細胞外神経活動は、プリアンプおよびメインアンプによって増幅され、神経記録システム (Lynx-8 Amplifier, Neuralynx) を使用して 300~3000 Hz のバンドパスフィルタによるノイズ処理をする。フィルタリングされた信号は、Spike2 ソフトウェアを使用して、他のデータと同期し Power 1401 を介して PC で計測及び記録する。プルキンエ細胞は、視覚刺激または前庭刺激に応答するとされる前庭小脳の領域[54]から記録する。電極は、マイクロマニピュレーター (MO-10, ナリシゲ) を使用して前庭小脳に刺入され、プルキンエ細胞は通常、小脳の表面から 2~3 mm で確認された。プルキンエ細胞の記録の規準として、水平方向の視覚刺激に反応する単純スパイクと複雑スパイクの同時記録を使用する。ただし、単純スパイクと複雑スパイクの相対的な振幅は微小電極の位置に依存するため、単純スパイクの記録に最適な微小電極の位置では、単純スパイクと複雑スパイクは区別することは困難である[54]。

3.3.2 実験準備

金魚とコイには、実験の数日前に実験水槽へ固定するためのヘッドポストを取り付ける

手術を行う。実験の種類によってはこのとき同時に小脳切除手術，あるいは前庭神経切断手術を行う。その後，これらの手術により健康に影響がないことを確認した個体のみを実験に用いる。実験では，魚はヘッドポスト，口へのチューブ，体を挟み込むガーゼとスポンジによって固定された後に，眼にアイコイルを縫い付ける。実験途中に小脳を切除する場合，このとき同時に頭蓋上部を切り取る。これらの処置の後 1 時間の安静時間を設けた後に実験を開始する。以降の項で詳細を述べる。

ヘッドポスト手術

金魚およびコイは，予め実験中水槽に固定するためのヘッドポストを取り付ける手術を行う。手術でははじめに，手術による魚への負担を軽減するため，麻酔薬 MS222 (Sigma-Aldrich) を 1 : 222 w / v で溶かした水の中に麻酔が完全に効くまで魚を 30 分ほど泳がせる。麻酔が効いた後，金魚を濡らしたキムタオルで包み，凍らせたスポンジに固定して新陳代謝を落とした状態で手術を行う。

まず，ブレードとボーンキュレットを用いて頭皮を四角に剥ぎ取り，四隅にピンバイスを用いて小さな穴をあけ，小ネジ (M1.0, 2.0mm) を止める。その中心に中ネジ (M2.0, 6.0mm) を軸が上を向くように 2 つ取り付け，デンタルセメントで固定する。

ヘッドポスト手術の手順を以下に示す (図3.4)。

- ① ブレードとボーンキュレットを用いて頭皮を四角に剥ぎ取る。
- ② 四隅にピンバイスを用いて小さな穴をあけ，小ネジ(M1.0, 2.0mm) を止める。
- ③ 金魚の中心状に中ネジ(M2.0, 6.0mm) を 2 つ取り付け，デンタルセメントで固定する。

手術終了後，水を流した水槽内に金魚をいれ，麻酔から回復させる。ヘッドポストに金魚が慣れる期間を考慮し，ヘッドポスト手術は実験を行う 2 日以上前に行った。

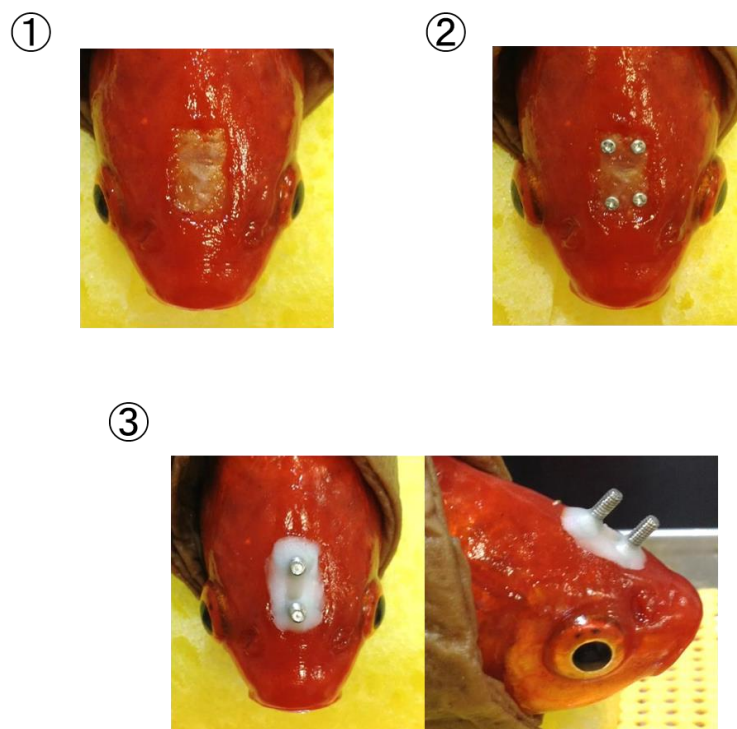


図 3.4 ヘッドポスト手術の手順

金魚の小脳切除

小脳切除金魚を作成する場合、ヘッドポストを取り付ける段階で同時に小脳切除を行う。ヘッドポストを取り付ける前に、小脳上部の頭蓋を切り取った後、吸引器と 23 ゲージの針を用いて小脳を切除する[53]。その後、脳内に人工脳脊髄液を充填し、切り取った頭蓋を被せ、デンタルセメントにより接着する。

実験途中で小脳を切除する場合、上記の頭蓋の切り取りと接着のみを行う。実験水槽に金魚を固定した後、安静前に頭蓋を剥がし、その状態で学習を行いながら吸引器と針を用い小脳を切除する。このとき小脳切除にかかる時間は 1～3 分程度である。

アイコイル

本実験ではサーチコイル法により両眼の眼球位置を計測する。そのため、金魚を水槽に固定後、水中で金魚の眼球外膜に眼科用針 (VIRGIN SILK 9-0, Ethicon Inc.) を用いてアイコイル (直径 5mm, 40 回巻; IET inc.) を装着する処理を行う。

3.4 ゼブラフィッシュ，メダカの実験

3.4.1 実験装置

ゼブラフィッシュとメダカは体長が短く，金魚とコイに用いた実験装置を使用できないため，小型魚類用の実験装置[75-77]を用いる．実験装置は小型魚類の固定具，水槽，水槽内壁にランダムドットを投影する視覚刺激投影装置，眼球撮影用カメラ，およびデータの計測と視覚刺激の制御を行う PC と専用ソフトウェアで構成される（図 3.5）．以降の項で，これらの装置の詳細について述べる．

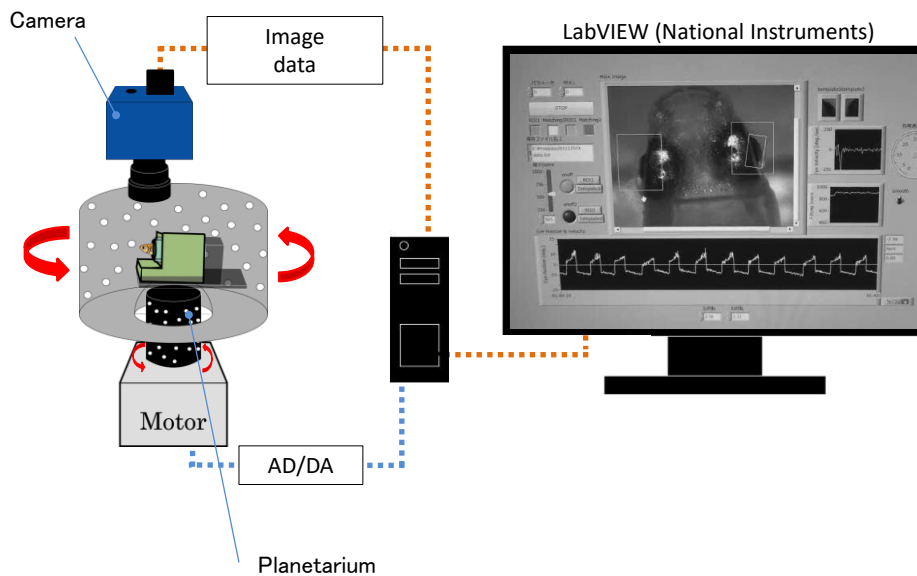


図 3.5 小型魚類の実験装置[75]

小型魚類固定具

ゼブラフィッシュ，メダカは頭部が非常に小さくヘッドポストを使用した固定が困難であるため，スポンジを用いて体を挟みこむことで実験装置への体の固定を行う．胸びれから背びれにかけて覆い隠すような形のスポンジで魚の体を挟み込み，それを塩化ビニル円筒に押し込むことで適度な圧をかけて体を固定する．

実験水槽

実験用水槽は，直径 11 cm の円柱状の筒で構成される．水槽内部には小型魚類固定具を固定するための二本の支柱が立っており，そこへ小型魚類固定具に空いている穴を通すこ

とによって小型魚類を固定する。水槽下部には透明な半球状の引っ張りがあり，そこへ外側から視覚刺激投影装置を用いて水槽壁面に視覚刺激を投影する。

視覚刺激投影装置

ランダムな間隔で小さな穴を開けた黒色のフィルムケースの内側に高輝度白色 LED を設置し（図 3.6），この機構を水槽下部に設置することで水槽壁面にランダムドット視覚刺激を投影する。フィルムケースを回転するステッピングモータ（CM1-17L30A, MUSCLE Corporation）は LabVIEW（NATIONAL INSTRUMENTS）と DAQ（NI USB-6009, NATIONAL INSTRUMENTS）とにより制御される。

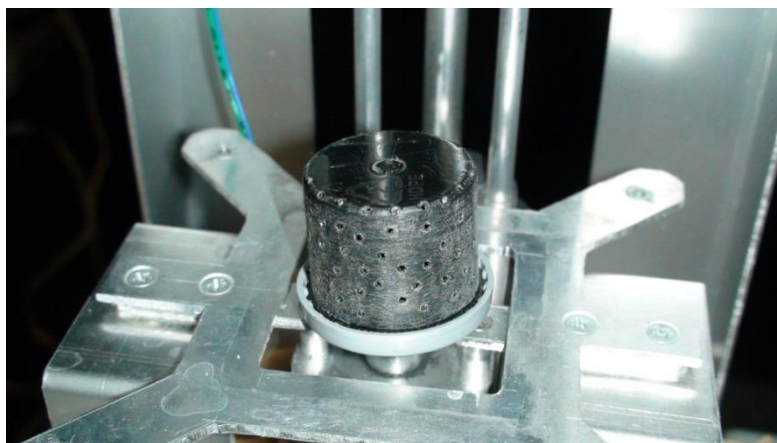


図 3.6 小型魚類用視覚刺激投影装置

眼球撮影用カメラ

ゼブラフィッシュとメダカの眼球位置は，頭部映像の画像処理により計測する。眼球撮影カメラ（IMAGING SOURCE 社製，DMK21BF04）に高倍率レンズ（SPACECOM 社製，HZ8585M）を取り付け，これを水槽上部に設置し，頭部映像を撮影する。

ソフトウェア

視覚刺激を回転させるためのステッピングモータの制御，及び眼球位置を計測するための画像処理に，LabVIEW により開発した専用ソフトウェアを用いた。眼球位置の計測，ステッピングモータへの制御は 60Hz で行われる。

3.4.2 実験準備

小型魚類は大型魚類に比べ体力がなく，長時間の固定具による健康への影響が大きいいため実験準備は迅速に行う必要がある．体を固定後の安静時間は大型魚類より短く 15 分とした．実験後に小型魚類を水槽に放して遊泳行動などから健康状態を確認し，衰弱が見られなかった個体のみを実験データとして採用した．

小型魚類の固定

ゼブラフィッシュとメダカは加工したスポンジで体を包み，塩化ビニル樹脂製の透明な円筒の中にスポンジごと挿入することで体を固定する[75]．詳細な方法を以下に示す（図 3.7）．

1. 加工したスポンジを飼育水に浸す．
2. 小型魚類のエラの後ろから尾部にかけて，加工したスポンジで覆い隠す．
3. 塩化ビニル樹脂円筒の中に，スポンジによって小型魚類を頭部だけ露出するように固定する．
4. 上から塩化ビニル樹脂円筒，スポンジ，小型魚類の順に固定し，その上から虫ピンによって，固定台座型のスポンジで覆い隠し固定する．
5. 固定台座型スポンジを固定具であるアクリル製の台座に設置する．

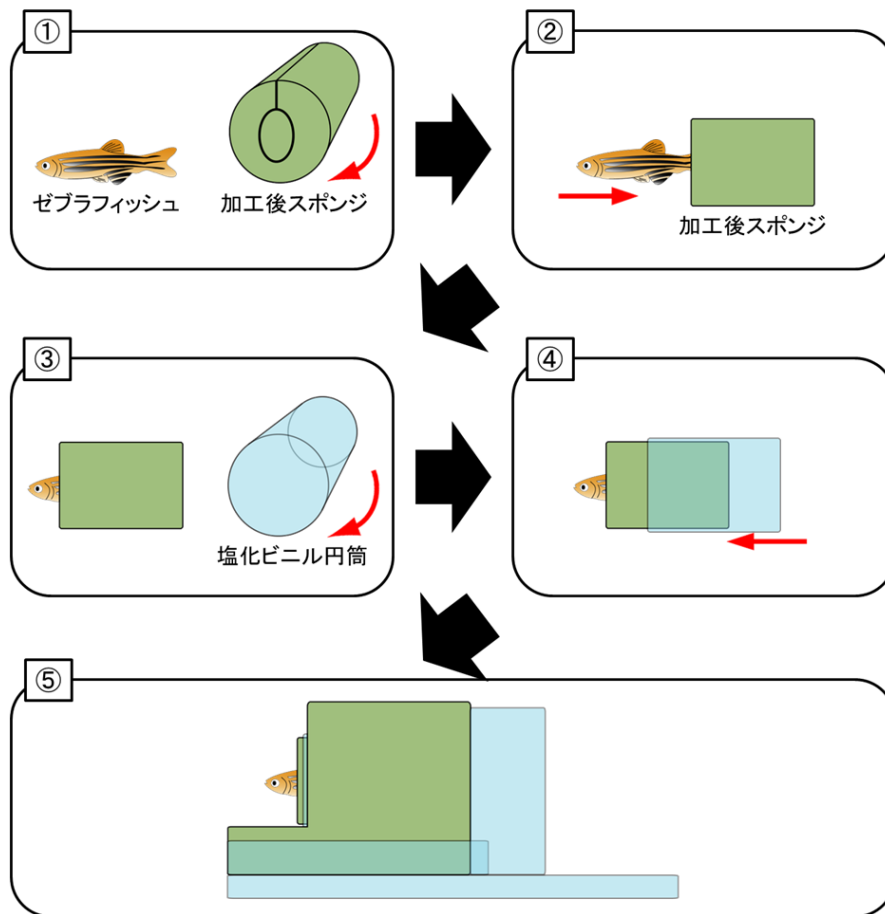


図 3.7 小型魚類の固定方法[75]

第4章 周期同調の諸特性

4.1 はじめに

周期同調は 1997 年に Marsh と Baker によって報告されたが[42], それ以降活発な研究活動は行われておらず, その学習特性については明らかになっていない点が多い. 周期同調の学習メカニズム, つまりどのような神経回路や情報処理によって学習が生じるのかを明らかにするためには, まずはそれがどのような学習であるかを知る必要がある. Marsh と Baker は周期同調の特性についていくつか報告しており, 例えば両方向矩形波刺激以外にも片方向への回転と停止を繰り返す片方向矩形波刺激を用いることで, 周期同調には方向選択性があることを示している. このような学習の特性は, 周期同調の学習における脳内の情報処理方法が反映されており, そのメカニズムを考察する上で必要な知見である.

本章では, Marsh と Baker が報告した周期同調の特性について再現実験を行うとともに, それらに加え新たな特性にも着目し実験を行い, 周期同調やそれに類する予測性眼球運動全般の諸特性を明らかにする.

4.2 両方向周期同調学習

はじめに, 先行研究[42]で示されている視覚刺激が水平左右両方向に与えられた時の周期同調について再現実験を行う. 図 4.1A に, 両方向矩形波刺激学習時の学習開始直後 (Control) と学習 3 時間後 (Trained) の水平方向の眼球位置 (上) と速度 (下) の典型例を示す. + が水平右回転 (CW), - が水平左回転 (CCW) を表す. 左眼 (オレンジ) と右眼 (緑) から, OKR 中に両眼がほぼ同じように動くことが確認できる. 眼球位置波形は OKR の緩徐相 (Slow phase) と急速相 (Fast phase) を示し, 眼球速度波形は細い灰色の線で示され, また緩徐相のみを各色太線で示してある. 学習開始直後では半周期 8 秒のうちに眼球速度が視覚刺激速度まで達していないが, 学習 3 時間後では視覚刺激の各周期の開始直後から眼球速度が視覚刺激速度に達している. これが従来研究でも示されている一般的な OKR 適応である[30, 38, 44]. そしてこのとき同時に予測性の眼球運動が学習される. 通常 OKR では, 一定速度の視覚刺激を与えられると眼球速度は徐々に上昇し, 一定速度に達した後, その速度を保ち続ける. しかし図 4.1A のような両方向矩形波速度刺激を長時間与えると, 刺激の方向が切り替わる前, まだ刺激が一定方向に動いているにもかかわらず, 眼球速度が低下し始める (黒矢印). この特徴を評価するため 8 匹の金魚の Control と Trained の眼球速度を平均したものを図 4.1B (左側) に示す. 視覚刺激が方向を変えると, Control と

Trained の両方で、急速な立ち上がり (①) に続き緩やかな眼球速度の上昇 (②) が生じる。従来研究では、眼球速度の急速な立ち上がりは **OKR** の **Direct** 経路によって生成され、緩やかな上昇は **OKR** の **Indirect** 経路を通じて発生することが示されている [18, 67]。さらに **Trained** では、刺激方向切り替わり前に眼球速度の低下が始まっている。この両方向刺激では、刺激の開始 (①) と終了 (③) を区別できないが、本研究では、この予測性眼球速度低下を **Termination** (③) とした。

図 4.1B (右側) は、図 4.1A の 1 周期 16 秒の矩形波刺激を 3 時間学習する前と後に 1 周期 32 秒の刺激を与えたときの 8 匹の眼球速度波形の平均を示す。学習前 (青線) では、眼球速度の急速な立ち上がりあと緩やかな上昇が見られ、これは図 4.1B 左側の学習開始直後と同じ特性である。一方学習後 (赤線) では、一定速度の視覚刺激が継続しているにも関わらず、視覚刺激の方向切り替わり後約 8 秒で、学習 3 時間後の **Termination** (③) が現れた。3 時間の学習後に生じたこの予測的な眼球速度の挙動は、平均して 15~30 分続き、その後徐々に学習前のような眼球運動に戻った。

また 3 時間の両方向刺激学習中に視覚刺激を消灯し暗所にすると、視覚刺激波形を再現したような眼球速度の振動が観察された (図 4.1C, 赤線)。学習前に 10 周期だけ両方向視覚刺激を提示した後の暗所では、眼球速度がすぐに 0 deg/s まで下がり、眼球速度の振動は生じなかった (図 4.1C, 青線)。

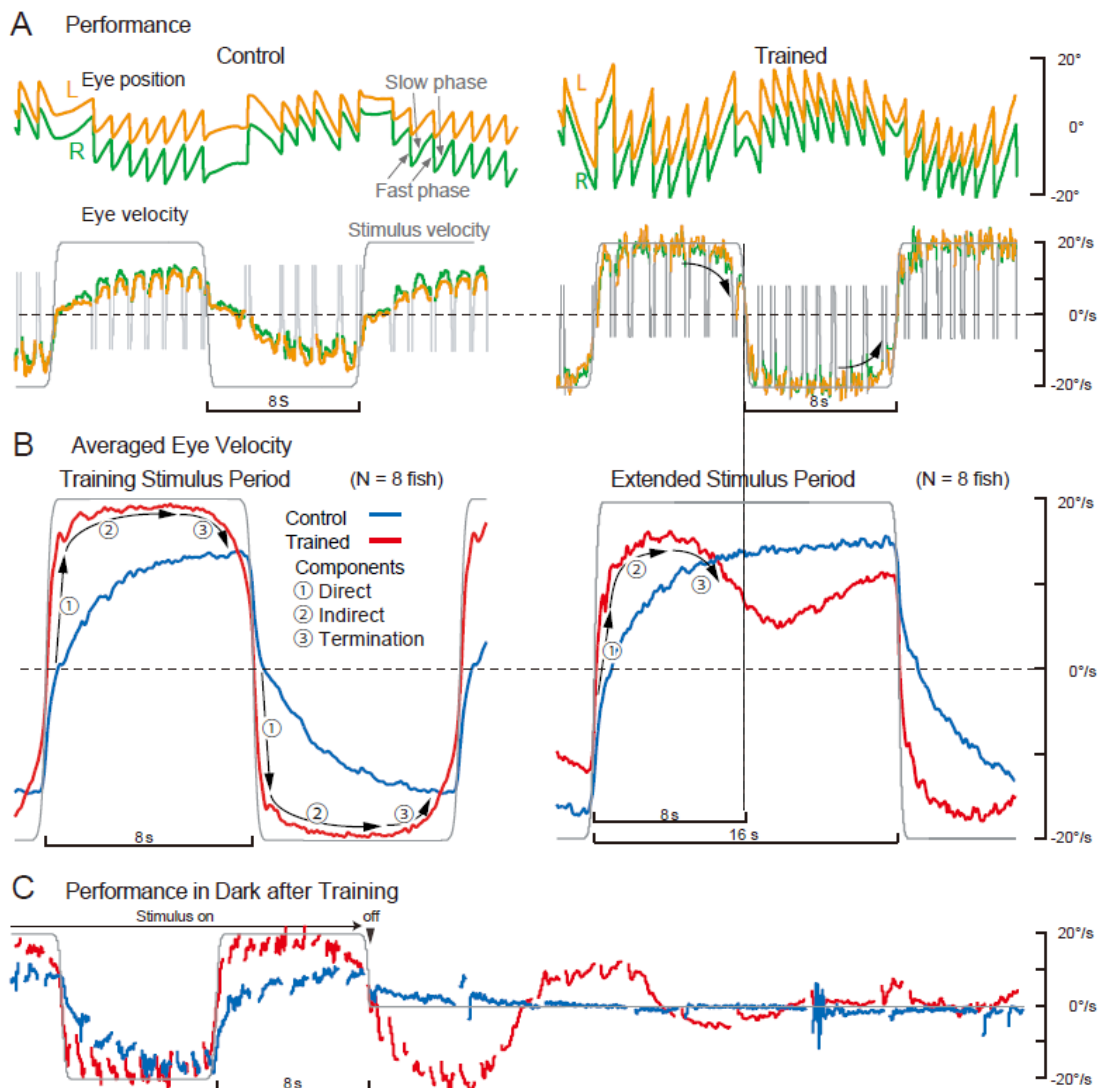


図 4.1 周期同調の眼球運動例

A : 半周期 8 秒の両方向矩形波刺激を与えたときの学習開始直後 (左側, Control) と学習 3 時間後 (右側, Trained) の眼球運動例. 上段が眼球位置, 下段が眼球速度, 緑線が右眼 (R), オレンジ線が左眼 (L), 下段の灰色線は眼球速度. B : 学習開始直後 (右側, Control) と学習 3 時間後 (左側, Trained) の 8 匹の平均眼球速度. またその学習前 (左側, Control) と学習後 (左側, Trained) に 2 倍の周期を与えたときの 8 匹の平均眼球速度. C : A と同じ刺激を 10 周期与えた後 (青線), 3 時間与えた後 (赤線) の暗所での眼球運動例.

4.3 方向選択性

図 4.1 のように左右両方向へ周期的に回転する視覚刺激を学習させ, より長い刺激を与え

たときに両方向で学習した刺激に合わせて眼球速度が減少する周期同調が生じる。また、Marsh と Baker は片方向のみに回転する矩形波状の視覚刺激を与えると、刺激を与えた方向のみに周期同調が生じ、さらに、左右で刺激の回転時間が異なる別周期の刺激を学習させると、左右それぞれで学習した周期に応じた周期同調が生じることを報告している[42]。

本研究でもこれらの特性の再現実験を行った。片方向刺激学習では、学習刺激として 8 秒間 20 deg/s で水平右方向 (CW) に回転、その後 8 秒間停止を繰り返す刺激を 3 時間与え、評価刺激は 16 秒間 CW に 20 deg/s、16 秒間水平左方向 (CCW) に 20 deg/s で回転する矩形波刺激を用いた。図 4.2A に学習開始直後 (Control) と学習 3 時間後 (Training)、学習後評価 (Test) の典型例を示す。図 4.2B は Control と Test のそれぞれ 10 周期分の平均波形を示す。+が CW、-が CCW を表す。3 時間の Training の間、CW 方向のみに視覚刺激が回転し CCW 方向へは刺激が全く回転していない。Test の CW 方向では、刺激開始 8 秒付近から眼球速度が低下しており (図 4.2A Test, 矢印)、図 4.1 のような両方向へ刺激を与えたときと同じように周期同調が生じていることが確認できる。一方、CCW 方向では CW 方向と同じようなタイミングのはっきりとした周期同調は見られないものの、CCW 方向への刺激の終了付近でわずかに眼球速度が減少し始めている (図 4.2A Test, 矢印)。図に示した個体以外に 10 匹以上の金魚で同様の実験を行ったが、学習した方向へは周期同調が強く生じる一方、反対方向でも刺激終了付近で眼球速度がわずかに減少する例が殆どの個体で見られた。これらの結果から、周期同調の学習はある程度左右水平方向に対する方向選択性があるものの、片方向の学習がもう片方向へも若干伝播しており、学習が左右方向で完全に独立していないと考えられる。

次に、CW と CCW で別の長さの刺激を与える左右別周期実験を行った。Marsh と Baker は CW 方向へ 4 秒、CCW 方向へ 12 秒の刺激を学習させ、その後より長い刺激を与えると、それぞれ学習した周期に合わせたタイミングで眼球速度が下がる周期同調が生じると報告している[42]。本研究では先行研究より左右の回転時間差を短くし、CW 方向へ 4 秒、CCW 方向へ 8 秒回転する視覚刺激を 3 時間与え、その後半周期 16 秒の視覚刺激で周期同調の結果を評価した。実験結果を図 4.3 に示す。図のフォーマットは図 4.2 に準ずる。学習後評価 (Test) の CW 方向では、刺激開始から 8 秒あたりで眼球速度が下がり始め、CCW 方向では 4 秒付近で眼球速度が下がり始めており (図 4.3A Test, 矢印)、それぞれ学習した周期に合わせて周期同調が生じていることが確認できる。また、このとき生じた周期同調の眼球速度の低下量は CW 方向のほうが大きく、これは同様の実験を行った他の個体でも共通した傾向であった。

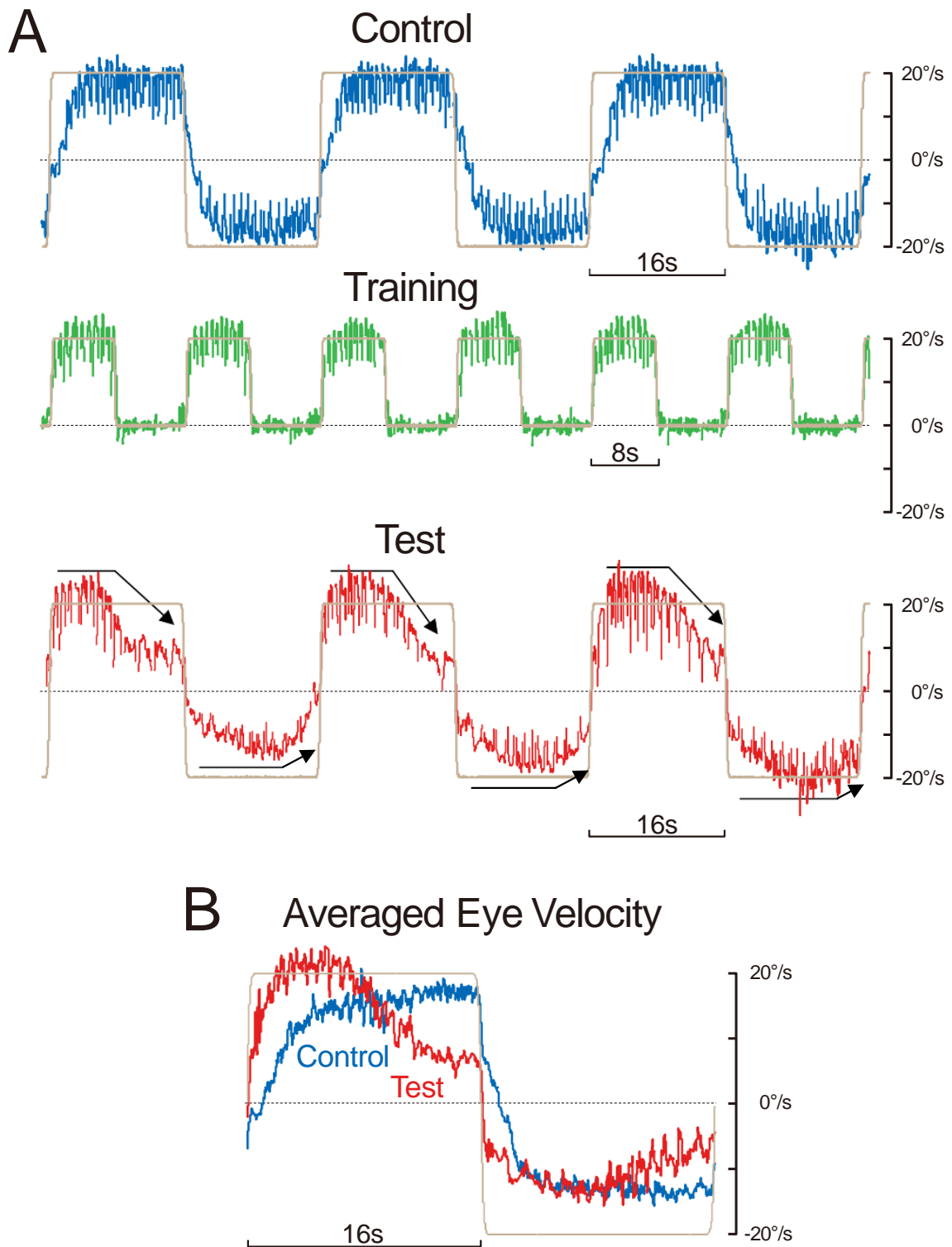
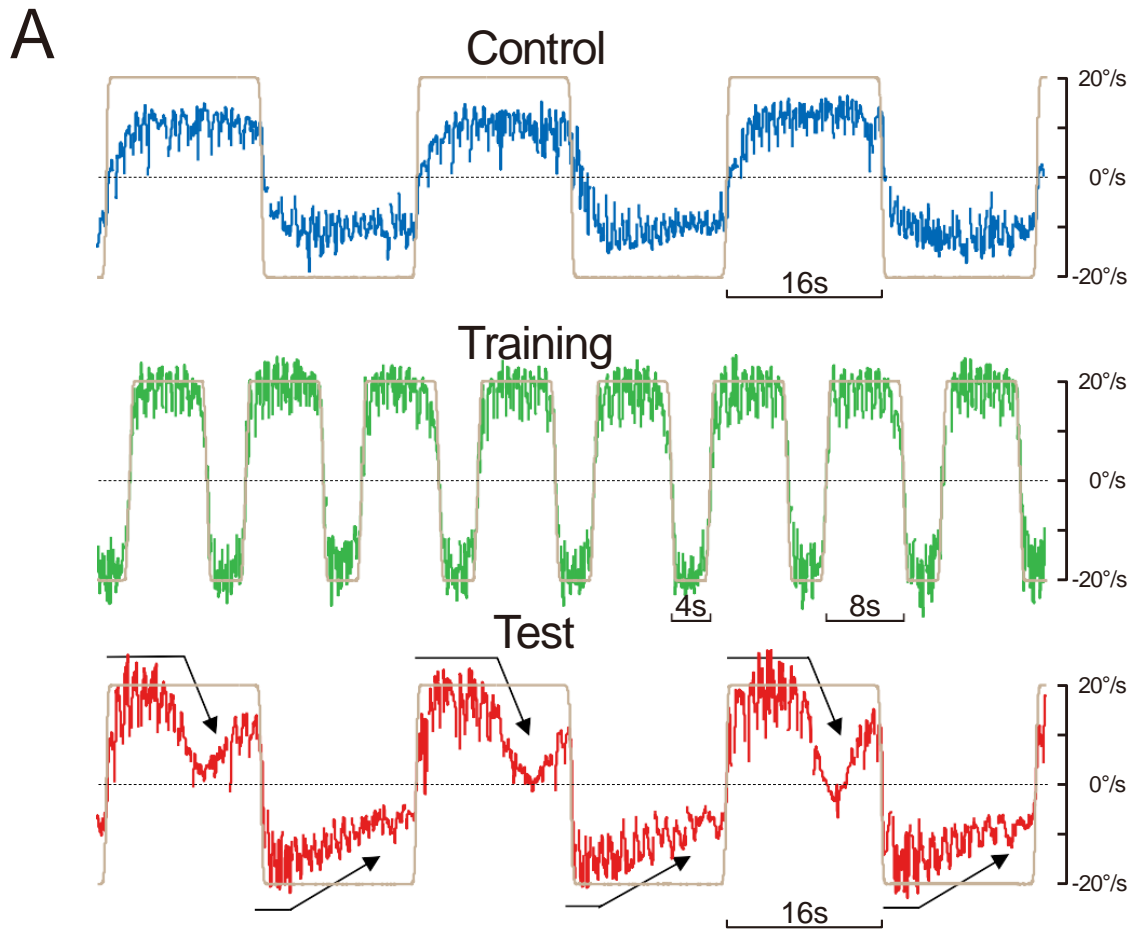


図 4.2 片方向刺激学習時の周期同調

A : 学習前評価 (Control) と学習 3 時間後 (Trained), 学習後評価 (Test) の典型的な眼球速度波形. B : 学習前評価 (Control) と学習後評価 (Test) の 10 周期, 8 匹の平均眼球速度.



B Averaged Eye Velocity

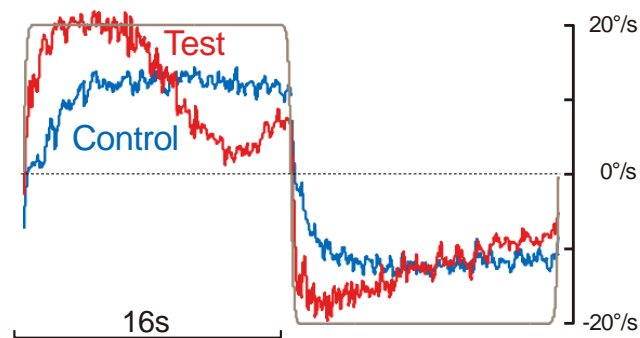


図 4.3 左右別周期学習時の周期同調

A : 学習前評価 (Control) と学習 3 時間後 (Trained), 学習後評価 (Test) の典型的な眼球速度波形. B : 学習前評価 (Control) と学習後評価 (Test) の 10 周期, 8 匹の平均眼球速度.

4.4 非周期的刺激

Marsh と Baker は半周期 8 秒で CCW 方向, CW 方向へ 1 周期刺激が与えられた後, ランダムな刺激停止区間を挟み, また 1 周期の刺激が繰り返されるランダム刺激を学習させ, その後より長い周期の左右両方向刺激を与えると周期同調が生じると報告している [42]. 本研究では, この実験をもとに 2 つの非周期的な刺激を用いて実験を行った.

図 4.2 で用いた片方向刺激の刺激停止区間をランダムに変化させた片方向ランダム刺激による実験結果を図 4.4 に示す. 図のフォーマットは図 4.2 に準ずる. 学習では, 刺激の回転時間は 8 秒で一定であるが, 刺激停止区間は 1~15 秒のランダムであり刺激の周期性がない視覚刺激を 3 時間与えた (図 4.4 Training). 学習後に半周期 16 秒の両方向矩形波刺激を与えると, CW 方向では刺激の途中で眼球速度が減少する周期同調が生じるが, CCW 方向では視覚刺激に対して眼球速度が上昇した後一定速度を保っており周期同調のような眼球速度低下は観察されなかった (図 4.4 Test, 黒矢印). この CW 方向の周期同調は, 周期性がある片方向刺激 (図 4.2) を学習したときより, 眼球速度の低下量が小さい. つまり非周期的な刺激であっても刺激の回転時間が一定であれば周期同調は生じるが, その学習量は周期的な刺激を学習したときよりも小さくなる. この学習量の小ささのためか, 周期的な片方向刺激の学習で見られたような片側で学習した周期同調がもう片側へ伝播する傾向が, 非周期的な刺激の学習では殆ど見られなかった.

次に, 半周期 8 秒の左右両方向刺激の方向切り替わりタイミングでランダムな刺激停止区間を挟んだ両方向ランダム刺激による実験結果を図 4.5 に示す. 図のフォーマットは図 4.2 に準ずる. 学習では, 8 秒 CW へ回転, 1~15 秒間停止, CCW へ 8 秒回転, 1~15 秒間停止を繰り返す視覚刺激を 3 時間与えた (図 4.5 Training). 学習後に半周期 16 秒の両方向矩形波刺激を与えると, 各半周期で刺激終了タイミングに向けて若干眼球速度が低下している傾向が確認できるが (図 4.4 Test, 黒矢印), 眼球速度低下量はかなり小さい.

これらの結果から, 周期同調の学習には刺激の周期性は必ずしも必要なく, 刺激の回転時間が一定であれば学習が生じるが, その学習量は周期的刺激を学習した場合に比べて小さく, 刺激の周期性が周期同調の学習しやすさに影響する要素であると考えられる.

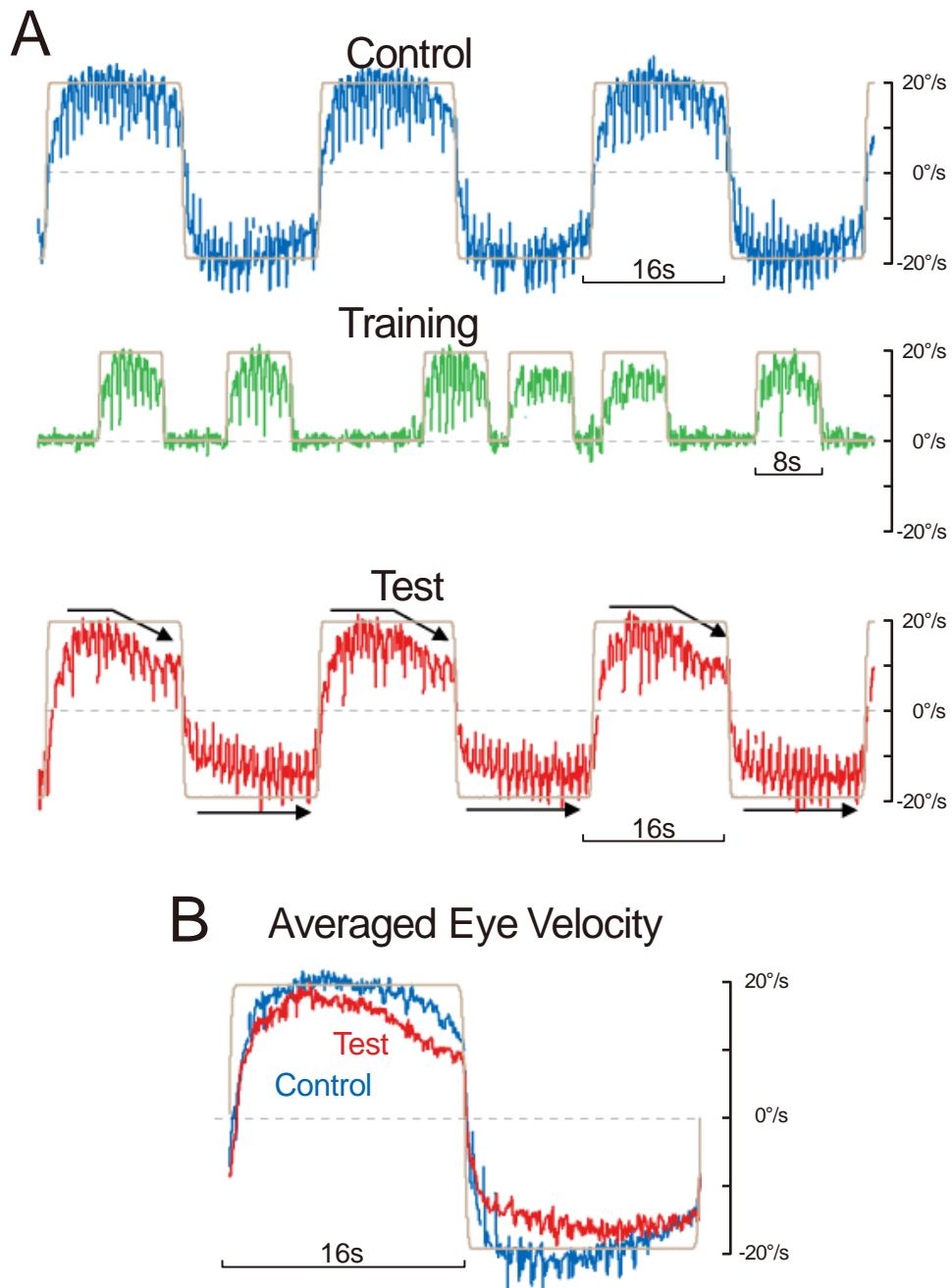
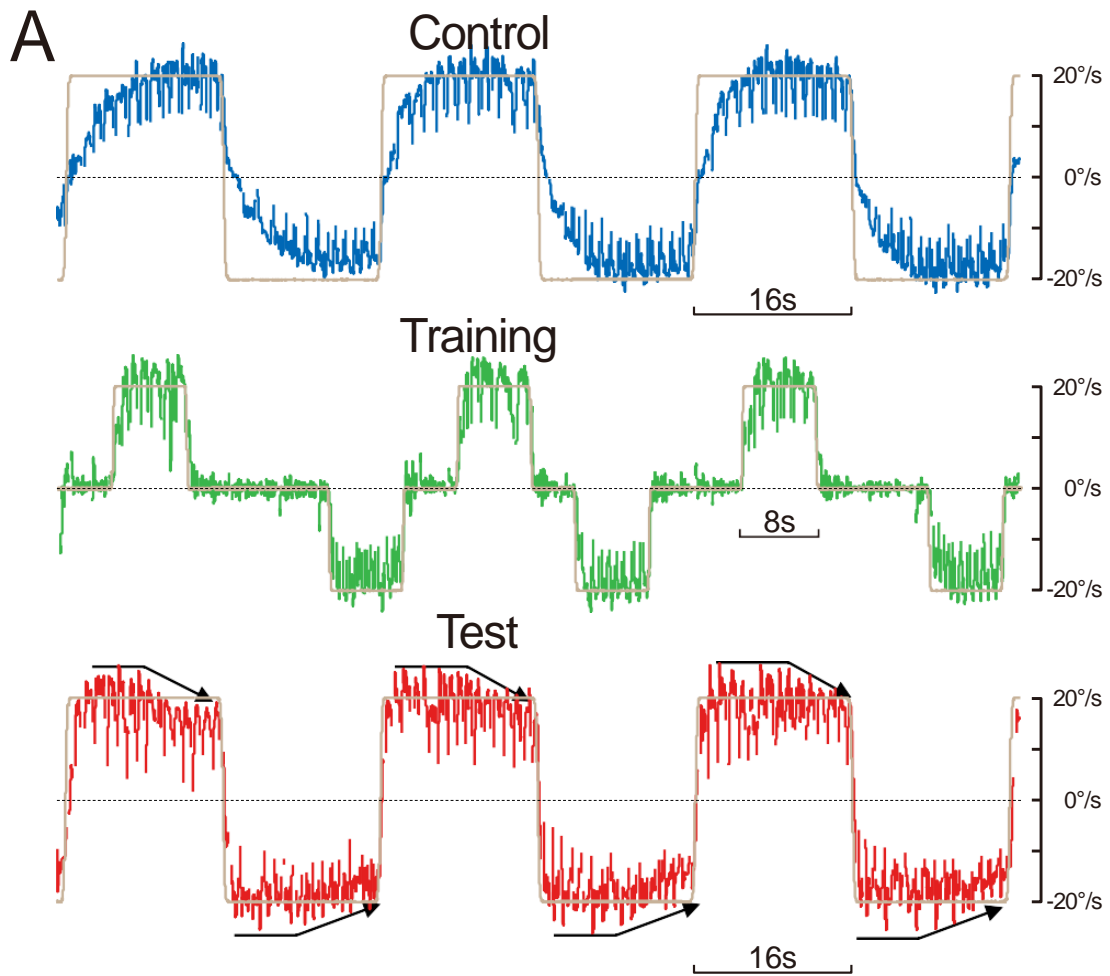


図 4.4 片方向ランダム刺激学習時の周期同調

A : 学習前評価 (Control) と学習 3 時間後 (Trained), 学習後評価 (Test) の典型的な眼球速度波形. B : 学習前評価 (Control) と学習後評価 (Test) の 10 周期, 8 匹の平均眼球速度.



B Averaged Eye Velocity

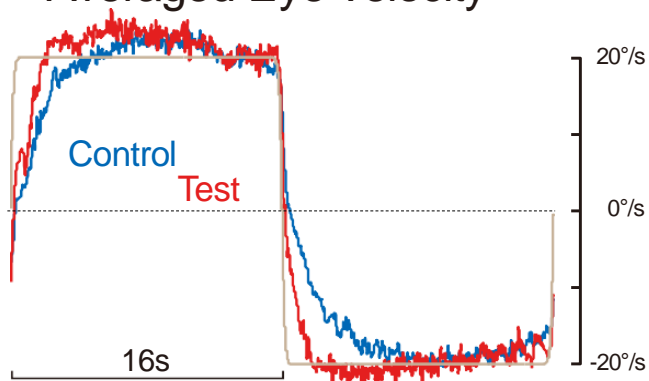


図 4.5 両方向ランダム刺激学習時の周期同調

A : 学習前評価 (Control) と学習 3 時間後 (Trained), 学習後評価 (Test) の典型的な眼球速度波形. B : 学習前評価 (Control) と学習後評価 (Test) の 10 周期, 8 匹の平均眼球速度.

4.5 オドボール課題

周期同調は学習 15 分ほどからその学習傾向が表れると報告されている[42]. 本研究では, 学習時間による周期同調の学習度合の変化を評価するため, 前節で実施した片方向刺激実験, 左右別周期刺激, 片方向ランダム刺激の学習中に評価刺激を 1 周期挟むオドボール課題を行った.

片方向刺激のオドボール課題では, 図 4.2 の片方向刺激と同じ 8 秒 CW に回転, 8 秒停止を繰り返す学習刺激を用い, 10 分毎に評価刺激として CW 方向へ 16 秒間, CCW 方向へ 16 秒間回転する視覚刺激を与えた. 実験結果を図 4.6 に示す. 図 4.6A は学習 10 分後と 3 時間後の学習と評価刺激中の眼球速度波形の典型例, 図 4.6B, C, D は 3 時間の学習中に行われた 18 回の評価の眼球速度波形を 3 次元表示したものを表す. 学習 10 分後の評価(図 4.6A, 上段)では, 眼球速度は視覚刺激と同じ形で一定に保たれており周期同調を学習した傾向は見られないが, 学習 3 時間後では, CW 側で刺激途中の眼球速度の低下が見られ周期同調が生じていることが確認できる. 学習 10 分から 3 時間までの評価時の眼球速度波形の変化(図 4.6BCD)を確認すると, 学習 10~40 分までは大きな眼球速度の変化は見られないが, 50 分を過ぎると CW 側の 0~8 秒の間の OKR ゲインが上昇するが, 8~16 秒では OKR ゲインの変化は小さい. 評価刺激の CCW 方向である 16~32 秒の区間では学習 10 分後に比べ学習 3 時間後は OKR ゲインはおおよそ一定のまま若干増加している(図 4.6BCD).

この周期同調による眼球速度低下の割合を評価するために, 以下の式を用いて学習量の定量化を行った.

$$\text{CW の眼球速度比 } V_{CW} = \frac{8\sim 16 \text{ 秒間の平均眼球速度}}{0\sim 8 \text{ 秒間の平均眼球速度}} \quad (4.1)$$

$$\text{CCW の眼球速度比 } V_{CCW} = \frac{24\sim 32 \text{ 秒間の平均眼球速度}}{16\sim 24 \text{ 秒間の平均眼球速度}} \quad (4.2)$$

この式の 0 秒は評価刺激の開始時刻である. これらの特徴量は, 例えば V_{CW} の場合, 周期同調が全く生じず眼球速度が一定であれば V_{CW} は 1, 周期同調が生じることで学習刺激の半周期である 8 秒付近から眼球速度が低下すると値が 1 より小さくなり, 値が小さいほど周期同調の学習が強く生じているといえる. 学習中 10 分毎に行った評価時の眼球速度比 V_{CW} , V_{CCW} を図 4.7 に示す. 青線が V_{CW} , 赤線が V_{CCW} , それぞれの太線は各個体の平均値 ($n=7$), エラーバーは標準偏差を表す. 学習刺激を与えた CW 方向では, 学習時間の経過に伴い眼球速度比 V_{CW} が徐々に下がっており, 学習時間が長いほど周期同調が強く生じていることが確認できる. 一方, 学習刺激を与えていない CCW 方向では, 一時的に V_{CCW}

が下がるものの、学習 3 時間後では 1 に近い値を保っており、周期同調が殆ど生じていないことが確認できる。

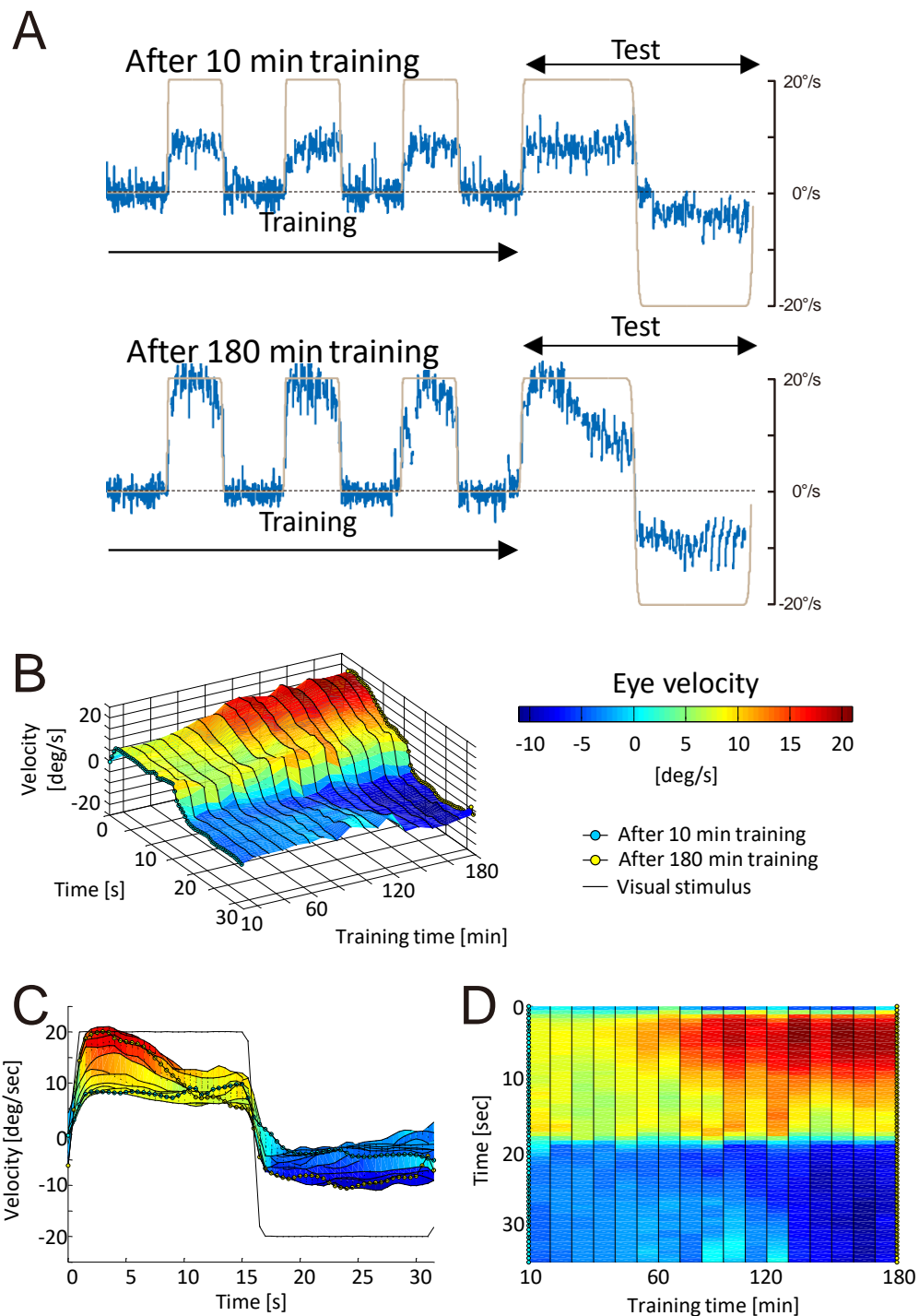


図 4.6 片方向刺激学習のオドボール課題

A : 学習 10 分後と 3 時間後の学習と評価刺激中の眼球速度波形。B, C, D : 18 回の評価時眼球速度波形の 3 次元プロット。

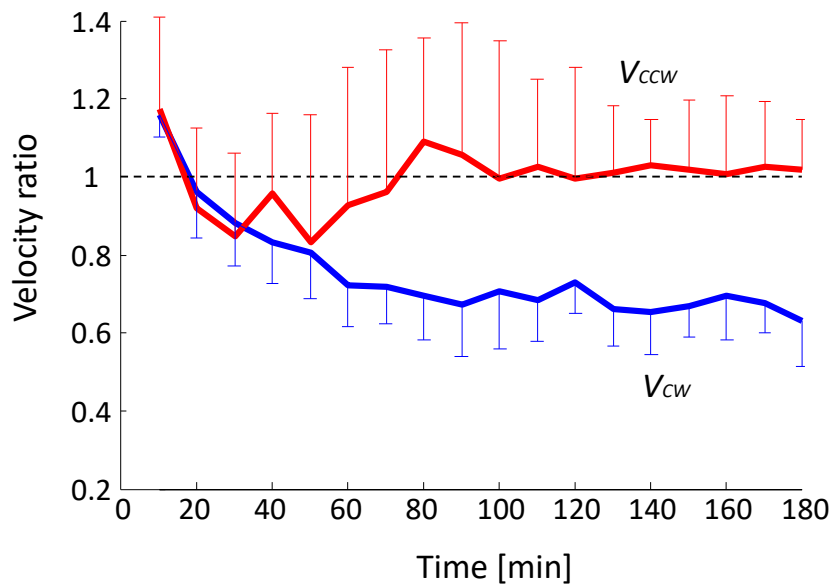


図 4.7 片方向刺激学習時の眼球速度比.

V_{cw} , V_{ccw} はそれぞれ片方向刺激のオドボール課題の実験結果に対し式 (4.1), 式 (4.2) を用いて算出

次に両方向別周期学習のオドボール課題の結果を図 4.8 に示す. 学習には図 4.3 と同様の 8 秒 CW, 4 秒 CCW へ回転する学習刺激を用い, 10 分毎に評価刺激として CW 方向へ 16 秒間, CCW 方向へ 16 秒間回転する視覚刺激を与えた. 図のフォーマットは図 4.6 に準ずる.

学習 10 分後の評価 (図 4.8A, 上段) の時点で CW, CCW の両方向で刺激開始直後の眼球速度が一番高く, その後徐々に低下していく傾向が見られる. 学習 10 分から 3 時間までの評価時の眼球速度波形の変化 (図 4.8B, C, D) を確認すると, CW 側では学習 30~40 分頃から刺激開始 10 秒付近をピークとして一時的に眼球速度が低下する傾向が見られ, その後, 学習が進むに連れその傾向が強くなる. CCW 方向も同様で, 学習が進むと CCW 方向への視覚刺激回転後 4 秒程をピークとして眼球速度が下がる傾向が強まる. このように学習した周期に沿って, OKR ゲインが下がり始める周期同調が生じているといえる. また, CCW に比べて CW のほうが眼球速度の低下量, その後の上昇量が大きい.

これらの周期同調における眼球速度が減少するタイミングを定量的に評価するため, 学習 3 時間後の評価時の各 CW, CCW 方向において, 各方向の刺激の始まりから眼球速度が最大値から 30 % 低下した点を周期同調開始時間 (図 4.9) と定義し評価した. 両方向別周期学習のオドボール課題における全被験体 ($n=6$) の学習 3 時間後の平均値を図 4.9 に示す. エラーバーは標準偏差を表す. 周期同調開始時間は CW 方向では約 8.0 秒, CCW 方向では約 3.3 秒となり, CW と CCW では異なるタイミングで周期同調が生じていることが確認

できる. 学習に用いた刺激の周期は CW と CCW においてそれぞれ 8 秒と 4 秒であり, ここで推定された周期同調開始時間の平均値と近い. したがって, 学習刺激の周期に応じて左右方向で別の周期を学習していると考えられる.

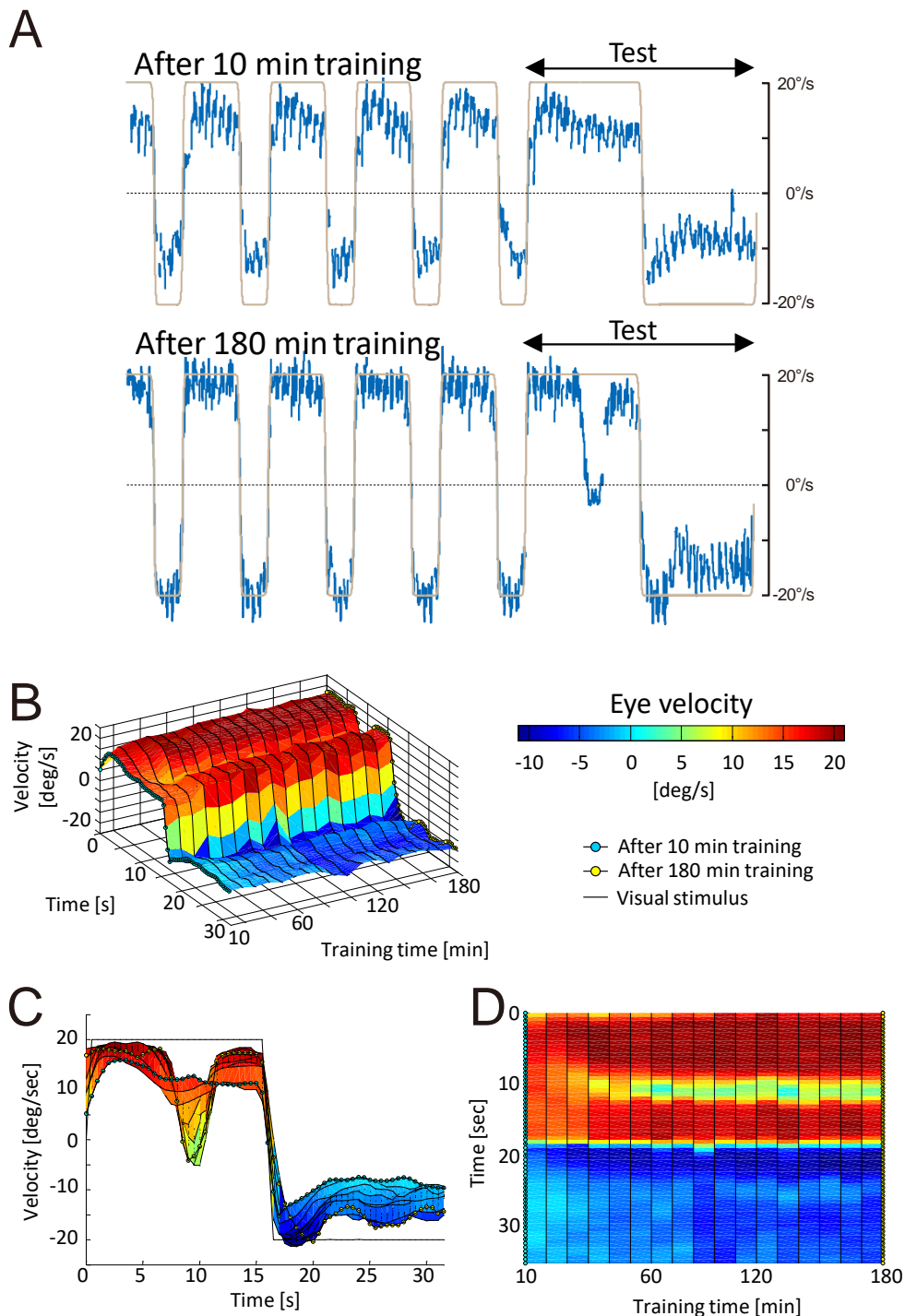


図 4.8 両方向別周期学習のオドボール課題

A: 学習 10 分後と 3 時間後の学習と評価刺激中の眼球速度波形. B, C, D: 18 回の評価時眼球速度波形の 3 次元プロット.

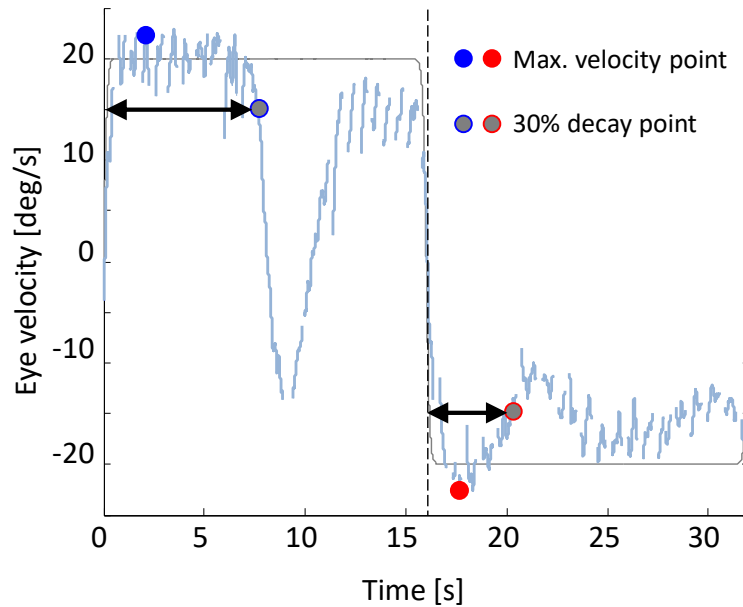


図 4.9 両方向別周期学習の周期同調開始時刻

次に、片方向ランダム刺激のオドボール課題の結果を図 4.10 に示す。学習には図 4.4 と同様の 8 秒 CW, 1~15 秒ランダムに停止する学習刺激を用い、10 分毎に評価刺激として CW 方向へ 16 秒間回転し、4 秒間停止する視覚刺激を与えた。図のフォーマットは図 4.6 に準ずる。オドボール課題では、すでに学習した方向のみに周期同調が発生することが明らかであり、より簡潔な評価をするため、評価刺激は片方向のみに与えた。

学習 10 分後の評価（図 4.10A, 上段）では、眼は視覚刺激と同じ波形で一定速度に動いており、学習 3 時間後では 0~8 秒の区間の OKR ゲインのみが大きく上昇したが、8~16 秒では OKR ゲインはあまり変わっておらず、片方向刺激の学習傾向に似た周期同調が生じていることが確認できる。また、図 4.10D から、ばらつきがあるものの学習後 30 分以降から 0~8 秒の間の OKR ゲインが上昇していくことが確認できる。

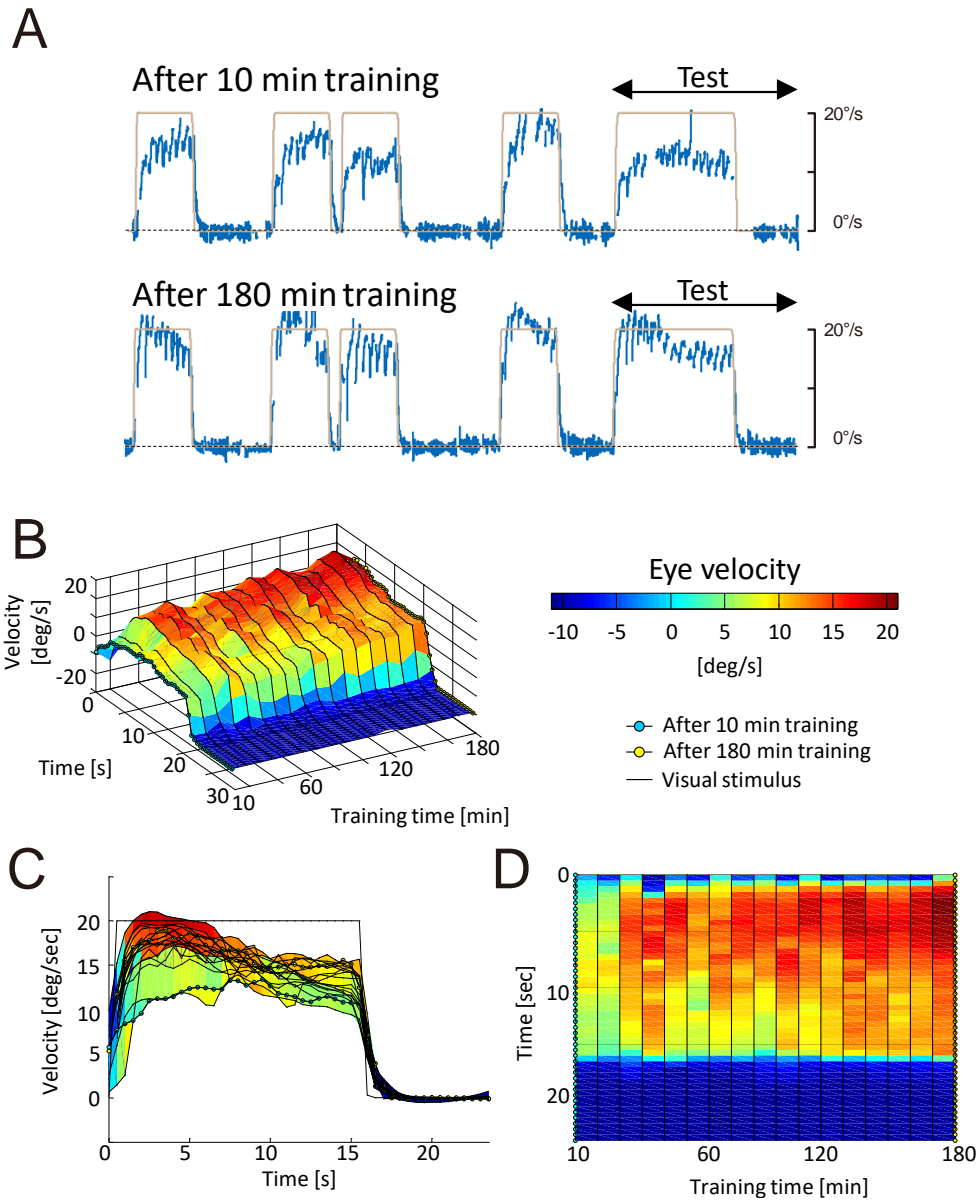


図 4.10 片方向ランダム刺激学習のオドボール課題

A : 学習 10 分後と 3 時間後の学習と評価刺激中の眼球速度波形. B, C, D : 18 回の評価時眼球速度波形の 3 次元プロット.

4.6 単眼性

金魚の両眼視野は320度あり, そのうち両眼のオーバーラップは30°のみであるが[18], 自然な環境下では左右眼は同じ方向に同じような振幅で協調的に動く. しかし, 実験室環境下で片眼には動く視覚刺激, もう片眼には静止した視覚刺激を与えると, 動く視覚刺激を与えた眼は通常のOKRが生じるのに対し, 静止した刺激を与えた眼はわずかに動くもののOKRゲインは動く刺激を与えた方の眼に対して小さい[5]. また, 眼球運動積分器の学習では, 左右眼に異なる刺激を与えることで, 異なる積分器特性を学習させることができるなど [41], 金魚の左右眼は異なる動きや学習が可能な機構を持つ. そこで片側の眼に周期同調を誘発する視覚刺激を与え, もう片側の眼を隠し, 視覚刺激を与えない環境で学習させ, その後の評価では学習刺激を与えた方の眼を隠し, 学習刺激を与えなかった眼にのみ評価刺激を与える単眼性評価実験を行った.

図 4.11A に学習開始直後 5 分間と学習 3 時間後の 5 分間の平均眼球速度波形を示す. 学習刺激と評価刺激には, それぞれ半周期 8 秒, 半周期 16 秒の両方向矩形波刺激を用いた. 実験には計 7 匹の金魚が用いられ, 青線が左眼で学習刺激を与えた側, 赤線が右眼で学習中眼隠しによって視覚刺激が与えられなかった側の平均眼球速度である. 学習開始直後は両眼に視覚刺激が与えられる通常のコイと比べ OKR ゲインは低い, 左右眼で眼球速度に大きな差は見られない. 学習 3 時間後では視覚刺激を与えた左眼の OKR ゲインが大きく上昇しているのに対し, 右眼は学習開始直後からわずかにゲインが上昇しているものの, 左眼に比べゲインがかなり小さい. これらの学習を行った後, 眼隠しをもう片眼に付け替えて評価刺激を与えたときの眼球速度波形を図 4.11B に示す. 評価開始後 0~5 分では, 刺激を提示されている右眼のゲインがわずかに大きいものの, 学習時の左眼に比べると共に OKR ゲインは低い. また, 両眼ともに刺激方向切り替わり直後に上昇した眼球速度がその後徐々に低下しており, 周期同調のような傾向が見られる. その後, 評価刺激を与え続けると刺激を与えた右眼は OKR ゲインが大きくなり, 左眼はゲインが低い, 右眼と同じような形の波形で動き, 周期同調のような眼球速度低下も引き続き生じている.

これらの結果から, 片側の眼で学習した周期同調が, 全く刺激を与えられなかったもう片眼でも生じることが明らかになった. しかしながら, 片眼への刺激の提示はもう片眼の眼球運動を誘発し, OKR ゲインの差はあるものの左右眼は協調して動くことから, 周期同調の学習メカニズムが左右眼で共通なのか, あるいは刺激を提示していない側の眼でも周期同調を誘発するような眼球運動が生じたため, それにより周期同調が学習されたのかを区別することは困難であった.

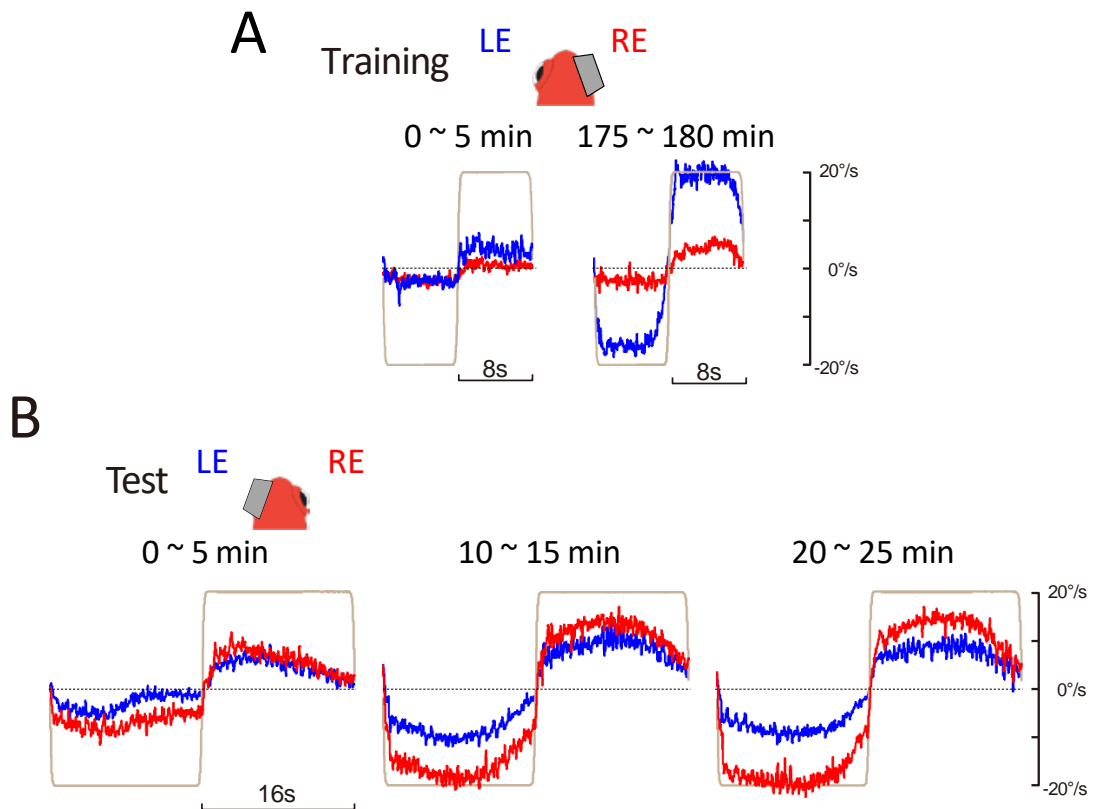


図 4.11 周期同調の単眼性

A : 右眼 (RE) を隠し, 左眼 (LE) のみに学習刺激を与えたときの学習 0~5 分, 175~180 分の 7 匹の平均眼球速度. B : 左眼を隠し, 右眼のみに評価刺激を与えたときの 0~5 分, 10~15 分, 20~25 分の平均眼球速度.

4.7 学習時間と学習サイクル数

周期的な刺激を与えることにより視覚刺激のタイミングを学習する眼球運動は周期同調以外にもある。例えば、輻輳・開散運動では両眼の輻輳角を変化させる刺激を 0.5Hz で周期的に与えると刺激の動く前から先行して輻輳角が変化するようになる[72]。Saccade では被験者に対し左右に位置して交互に点滅する 2 つの LED へ Saccade をさせた時、1 Hz で点滅させると予測の効果が現れ、Saccade の遅れが 100 ms 程度まで短くなる[74]。これらのように視対象が周期的に動く場合、タイミングを予測することにより、遅れを短くし、さらには視標の動き変化前に予測的に動く学習が生じる。このような予測性眼球運動が学習する刺激の周期はおおよそ数百ミリ秒から数秒の範囲である。一方、Marsh と Baker は、周期同調は半周期 2 秒から 128 秒までの範囲で生じるとしており[42]、この学習可能な時間の長さが周期同調の特徴の一つである。これらの結果は Marsh と Baker の論文内で図の掲示がないため本研究で再現実験を行った。

半周期 2 秒、32 秒、64 秒、128 秒の両方向矩形波刺激を 3 時間学習させた後、2 倍周期か、あるいはより長い周期の視覚刺激を与えたときの周期同調の典型例を図 4.12 に示す。半周期 2 秒の刺激を学習させた後（図 4.12A, Training）の評価（Test）では各半周期の 2 秒付近から眼球速度が大きく減少しており、明確に周期同調が生じていることが確認できる。半周期 32 秒の刺激（図 4.12B）でも同様であり、Test では 32 秒付近から眼球速度の低下が確認できる。半周期 64 秒の学習（図 4.12C）では、64 秒付近で眼球速度の低下がわずかに見られるだけであり、半周期 128 秒では評価時に周期同調のような眼球速度低下が殆ど確認できなかった。数匹の個体で同様の結果が得られており、このことから周期同調の学習時間長の限界はおおよそ半周期 64 秒から 128 秒あたりであると考えられる。

Marsh と Baker によると、周期同調は学習 15 分程度から現れるとしており、本研究でも 4.4 節のオドボール課題により学習時間毎の学習量を評価し、学習時間が長いほど周期同調の特性がより強く学習される傾向を確認した。しかし、同じ学習時間であっても、半周期 2 秒の刺激と 128 秒の刺激では同じ 3 時間の学習でもそれぞれ 2700 サイクル、42 サイクルと刺激が与えられる回数が大きく異なる。そこで、周期同調の学習時における学習時間と学習サイクル数の影響を評価するための実験を行った。実験では、半周期 8 秒で 200 サイクル (=3200 秒) か 400 サイクル (=6400 秒)、半周期 16 秒で 200 サイクル (=6400 秒)、半周期 32 秒で 100 サイクル (=6400 秒) か 200 サイクル (=12800 秒) の計 5 種類の刺激を学習させ、その後倍周期の評価刺激を与えて周期同調を評価した。結果を図 4.13 に示す。図 4.13A は半周期 8 秒で 400 サイクル (n=6)、半周期 16 秒で 200 サイクル (n=6)、半周期 32 秒で 100 サイクル (n=5) 学習させたときの学習終了直前の平均波形であり、上段が横軸を同じ長さにした図、下段が横軸を実際のスケールで表した図である。各実験はそれぞれ異なる個体を用いて行われた。この場合、各刺激で与えられたサイクル数は異なる

るが、学習時間は 3200 秒で共通である。一方、図 4.13B は半周期 8 秒で 200 サイクル、半周期 16 秒で 200 サイクル、半周期 32 秒で 200 サイクルを与えた時の結果であり、サイクル数は同じであるが学習時間がそれぞれ、3200 秒、6400 秒、12800 秒と異なる。同学習時間（図 4.13A）と同サイクル数（図 4.13B）を比較すると、横軸を同じ長さにしたとき同学習時間は眼球速度の低下が同じようなカーブを描いているのに対し、同サイクル数では半周期 8 秒、16 秒、32 秒の順で徐々に刺激終わりタイミングでの眼球速度低下量が大きくなっており、学習時間が一番長い 32 秒が最も眼球速度が低下している。同じく評価時の平均眼球速度を図 4.13CD に示す。同サイクル数（図 4.13C）では、どの刺激でも視覚刺激の途中から眼球速度が低下しており、周期同調が生じているが、同サイクル数（図 4.13D）で半周期 8 秒の学習では、半周期 16 秒、32 秒と同じような眼球速度低下が生じておらずそれぞれ学習量が異なる。これらの結果から、少なくとも実験に用いた刺激の周期と学習時間の範囲内では、学習時に与えられたサイクル数ではなく、学習時間が周期同調の学習量に影響を与えると考えられる。

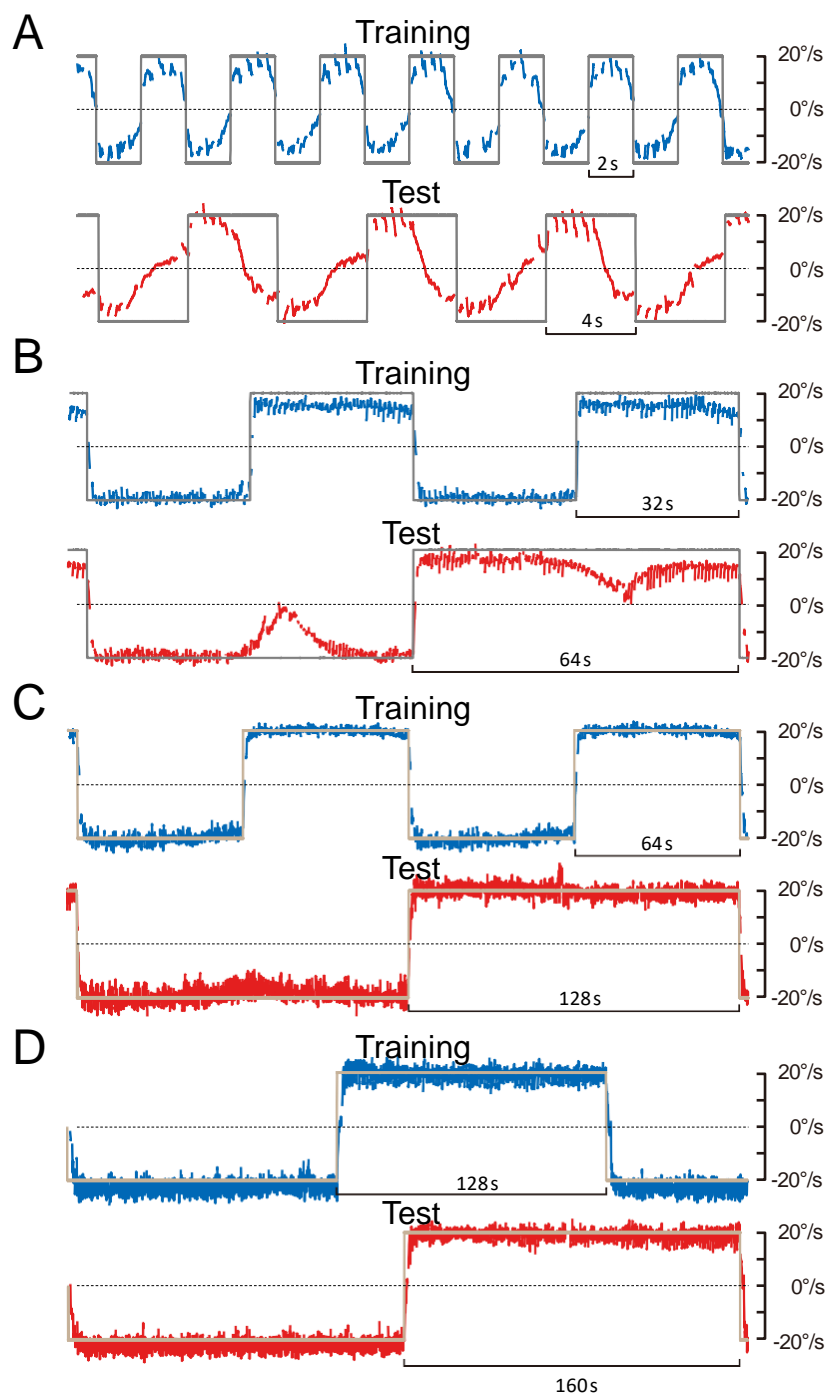


図 4.12 周期同調の学習周期範囲

A, B, C, D: それぞれ半周期 2 秒/32 秒/64 秒/128 秒で 3 時間学習, 半周期 4 秒/64 秒/128 秒/160 秒で評価したときの眼球運動例.

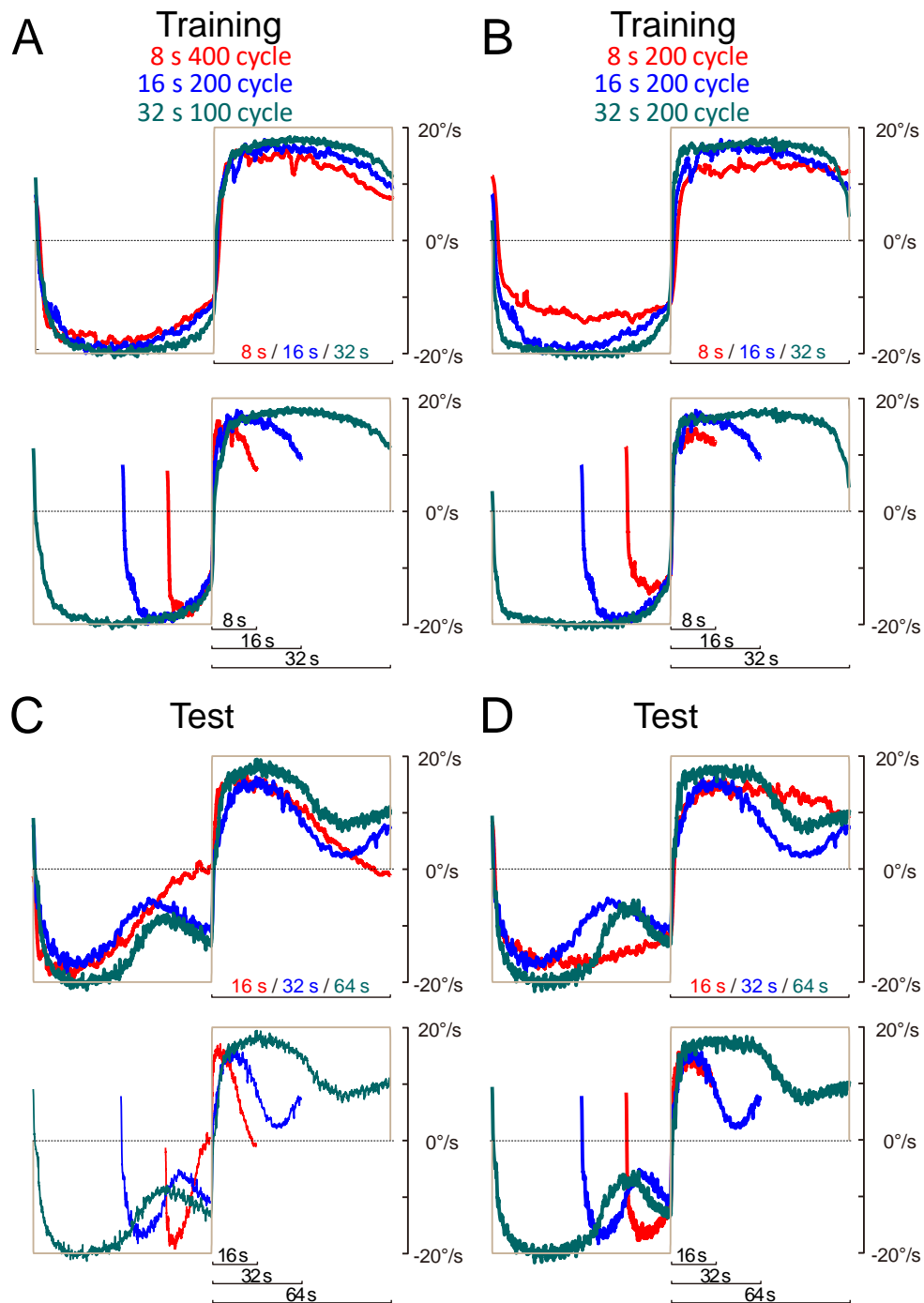


図 4.13 周期同調学習時における学習時間と学習サイクル数の比較

A : 半周期 8 秒で 400 サイクル (計 6 匹), 半周期 16 秒で 200 サイクル (計 6 匹), 半周期 32 秒で 100 サイクル (計 5 匹) 学習させたときの学習終了直前の平均眼球速度. B : 半周期 8 秒で 200 サイクル, 半周期 16 秒で 200 サイクル, 半周期 32 秒で 200 サイクル学習させたときの学習終了直前の平均眼球速度. C : A の学習後に 2 倍周期の刺激を与えて評価したときの平均眼球速度. D : B の学習後に 2 倍周期の刺激を与えて評価したときの平均眼球速度.

4.8 前庭刺激による周期同調

Marsh と Baker は明所の VOR で周期同調の実験を行い、矩形波状の前庭刺激を与えた後により長い周期の刺激を与えても周期同調は殆ど生じないと報告している[42]. 明所での VOR では、眼球速度の VOR 成分と OKR 成分の分離が困難であるため、本研究では、新たに暗所での VOR を対象として周期同調実験を行った.

実験では、暗所で左右水平方向に半周期 8 秒最大速度 20 deg/s で回転する前庭刺激を 3 時間与え、その後同じく暗所で 2 倍周期の刺激を与え評価した. 学習開始直後 (Control) と学習 3 時間後 (Trained), 学習後評価 (Test) の結果を図 4.14 に示す. 図 4.14A と B はそれぞれ別個体の結果である. 図 4.14A の個体は、学習開始直後の Control では頭部刺激の反対側へほぼゲイン 1 で眼球が動いているが、学習 3 時間後である Trained では学習刺激方向切り替わり直後のゲインが低く、その後徐々に眼球速度が上昇している. 学習後評価の Test では途中まで Trained で生じた眼球速度の上昇がそのまま持続しており、最終的にゲインが 1 を超えている. 図 4.14B の個体でも殆ど同じような傾向が見られ、特に Trained では、刺激方向切り替わり直後に上昇した眼球速度が一旦下がった後、再び上昇するような波形になっており、Test でもその波形がそのまま持続したような波形である.

これらの結果から、OKR の周期同調と同じような予測性眼球運動は暗所の VOR では生じないことが示唆された. しかし、学習前はゲイン 1 で眼が動いていたが、学習 3 時間では眼球速度が徐々に増加する傾向が見られた. 学習により VOR に何らかの適応が起きていることは確認できるが、これが頭部刺激の周期に依存した予測性眼球運動であるのか、あるいは周期同調とは異なる適応であるのかは本研究の結果からは判断が難しい.

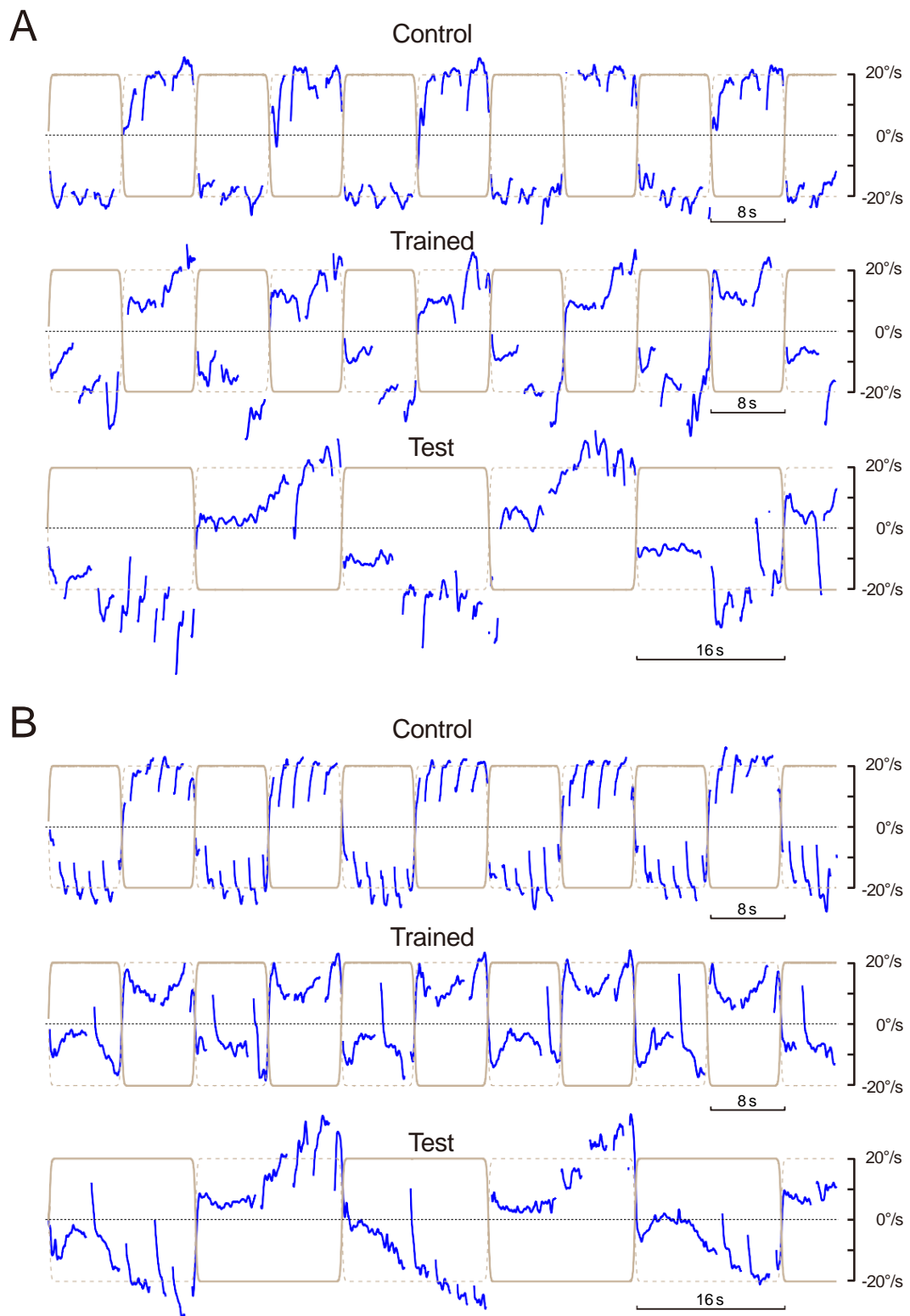


図 4.14 前庭刺激による周期同調

A, B: 半周期 8 秒の水平両方向暗所前庭刺激の学習開始直後 (Control) と学習 3 時間後 (Trained), 学習後に 2 倍周期の刺激を与えた評価時 (Test) の眼球運動例。

4.9 学習後暗所での眼球運動

周期同調には、学習した刺激のタイミングに応じて眼球速度が低下する以外に、学習後に暗所にすると学習中の眼球速度波形を再現した眼球速度波形が現れる特徴がある（図 4.1C）。金魚では暗所でも自発的な Saccade が生じるものの、視覚入力がない暗所では OKR のような Slow phase の眼球運動は生じない。学習後暗所での周期的な眼球運動について Marsh と Baker は、両方向刺激を学習させた後では左右両方向に、片方向刺激を学習させた後では学習させた方向のみに生じることを報告している。本研究では、更に複雑な学習刺激を用いて暗所での眼球運動を評価した。

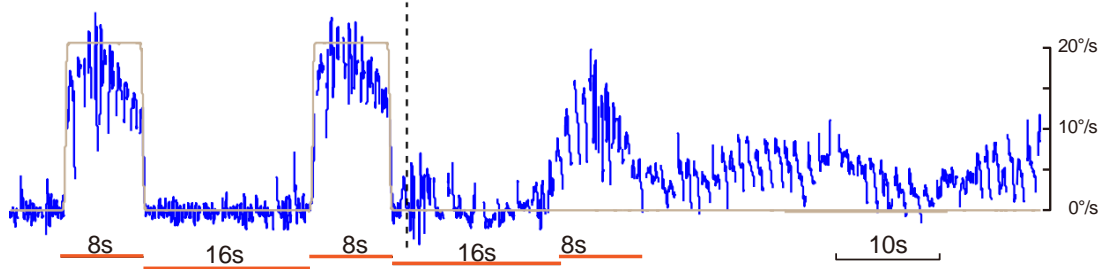
図 4.15A は CW に 8 秒回転、16 秒停止を繰り返す視覚刺激を 3 時間与えた後に暗所にしたときの眼球運動である。最後の回転が終了した 1 秒後に明かりが消灯しており（黒点線）、消灯後しばらくは眼が止まったままだが刺激が停止した 16 秒後付近から眼球速度が徐々に増加している。その後は緩やかに眼球速度の上下が見られたものの学習刺激を再現したような周期性は見られなかった。

図 4.15B は CW に 8 秒回転、4 秒停止を繰り返す視覚刺激を 3 時間与えた後に暗所にしたときの眼球運動である。こちらも図 4.15A と同様に、暗所で学習刺激と同様のタイミングで眼球速度が上昇している。またその後も規則正しい周期性のある眼球運動がしばらく持続した。

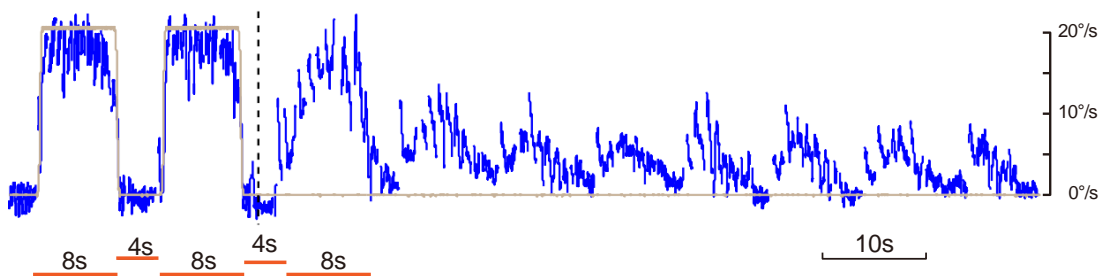
図 4.15C は CW に 1~15 秒回転、8 秒停止を繰り返す刺激であり、刺激回転時間はランダムであるが、刺激が停止してから次に刺激が動き始めるのは 8 秒で固定である。学習後に暗所にすると、最後に刺激が停止してから 8 秒後付近から眼球速度が上昇し始め、その後しばらくは周期的な眼球運動が持続した。

これらの結果のように、周期的な学習刺激を与えても暗所にしたとき最初の 1 周期目のみ学習刺激が再現され、その後は周期性が生じなかったり、逆に非周期的な刺激を学習させても、暗所で周期的な眼球運動が見られたりすることがある。これまでに 100 匹以上の金魚で周期的、非周期的な刺激を学習させた後の暗所での眼球運動を計測したところ、共通した傾向としては、暗所にした後の最初の 1 周期目の眼球速度立ち上がりタイミングは学習刺激に則り生じるが、その後の周期性の有無は、学習刺激の周期性、非周期性より個体差の影響が大きい。

A Duration 8 sec / Interval 16 sec



B Duration 8 sec / Interval 4 sec



C Duration random / Interval 8 sec

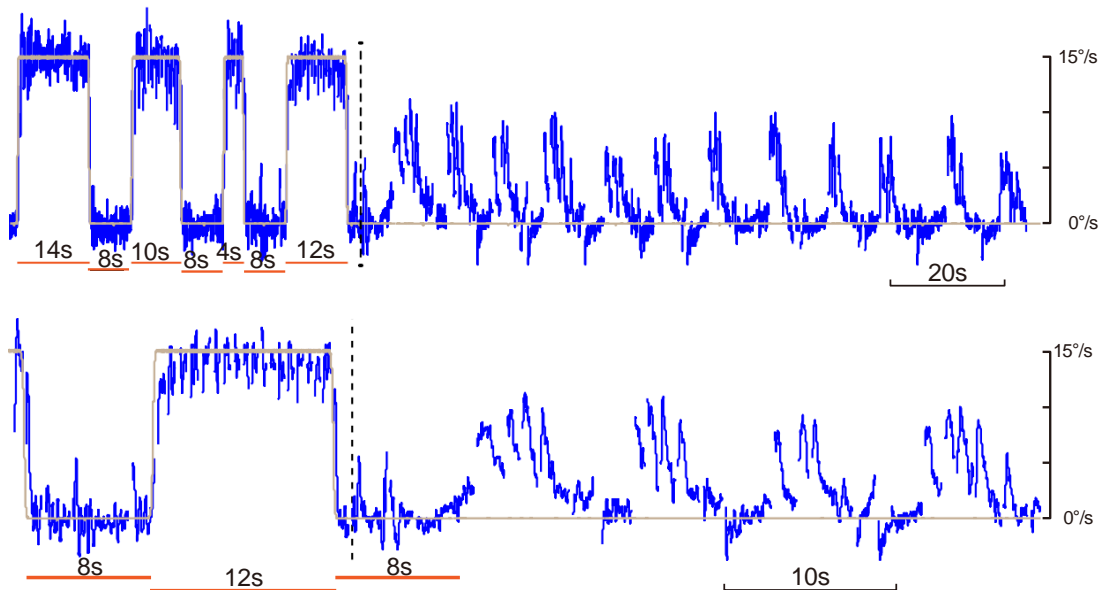


図 4.15 周期的刺激学習後暗所での眼球運動

A : 回転 8 秒, 停止 16 秒の片方向刺激を 3 時間学習させた後に暗所にしたときの眼球運動例. B : 回転 8 秒, 停止 4 秒の片方向刺激を 3 時間学習させた後に暗所にしたときの眼球運動例. C : 回転 1~15 秒でランダム, 停止 8 秒の片方向刺激を 3 時間学習させた後に暗所にしたときの眼球運動例.

4.10 矩形波以外の刺激による周期同調

OKR では眼球速度の立ち上がりが遅いため、矩形波速度状の視覚刺激に対しては素早く追従することができず、網膜像のブレが多く発生する。このブレを少なくするために OKR 適応が生じ、さらに周期同調の場合、方向切り替わり時の網膜像のブレを減らすように眼球速度の減少が生じる。VOR の眼球運動適応がそうであるように、OKR の学習は網膜像のブレが学習を誘発する。しかし、Marsh と Baker は、4 deg/s の遅い速度の視覚刺激でははじめから OKR ゲインが 1 であり、網膜像のブレがなくゲイン適応が生じないが、この刺激でも周期同調の学習が生じると報告している[42]。そこで視覚刺激の方向切り替わりを滑らかにすることで網膜像のブレが生じにくい刺激など、矩形波刺激以外の視覚刺激を用いて周期同調の学習を行わせた。

図 4.16A に示す実験では、半周期 8 秒でシグモイド曲線に従い最大 20 deg/s まで変化する刺激を 3 時間学習させ、その後学習刺激のピークが 8 秒延長された半周期 16 秒の視覚刺激を用いて評価した。学習開始直後 (Control) では、眼が視覚刺激を殆ど正確に追えており網膜像のブレがあまりなく、学習 3 時間後 (Trained) でも殆ど変化がない。学習後評価 (Test) では視覚刺激の速度が一定に保たれている区間で学習波形 (点線) のように眼球速度が低下しており、周期同調が生じている。

次に、のこぎり波状の視覚刺激を用いて学習を行わせた結果を図 4.16B に示す。CCW 方向へは 1 波 3 秒でピーク速度が 20 deg/s ののこぎり波の 3 回、CW 方向へは CCW と同じ長さで速度の逆のこぎり波 3 回が繰り返される刺激を学習刺激とした (図 4.16B control, Training)。この刺激では、逆のこぎり波の CW 側は視覚刺激速度の急激な立ち上がりが繰り返され、のこぎり波の CCW 側は視覚刺激速度が急激な低下が繰り返されるため、CW 側ではゲインが上がりやすく、CCW 側ではゲインが上がりにくい。実際にこの刺激を 3 時間学習させると (図 4.16B Trained, Cycle average) CW 側はゲインがほぼ 1 で OKR が視覚刺激を正確に追従しているのに対し、CCW 側では CW 側に比べピーク眼球速度が低く、特に 3 回目の波では眼球速度が他よりさらに低い。その後暗所にしたときの眼球運動を図 4.16B dark に示す。暗所では CW, CCW 側で同じような振幅で周期的な眼球運動が生じていることが確認できる。その後、半周期 16 秒で 20 deg/s の矩形波刺激を与えると、途中まで刺激を追従した後 5 秒付近で眼球速度が下がり始め、あたかも矩形波を学習させたかのような周期同調が確認された。このように学習した刺激と評価に用いた刺激は全く異なる波形であったが、視覚刺激のタイミングを予測したような周期同調が生じた。

これらの結果から周期同調が生じるためには必ずしも網膜像のブレが必要でないという先行研究[42]の結果が確認され、さらに一定速度で回転するような矩形波刺激である必要もないことが明らかになった。特にのこぎり波による学習では、学習と評価に用いた刺激は全く異なるものであったが周期同調のような予測性眼球運動が生じており、刺激の速度や

その細かい変化は周期同調の学習における重要な情報ではないと考えられる。

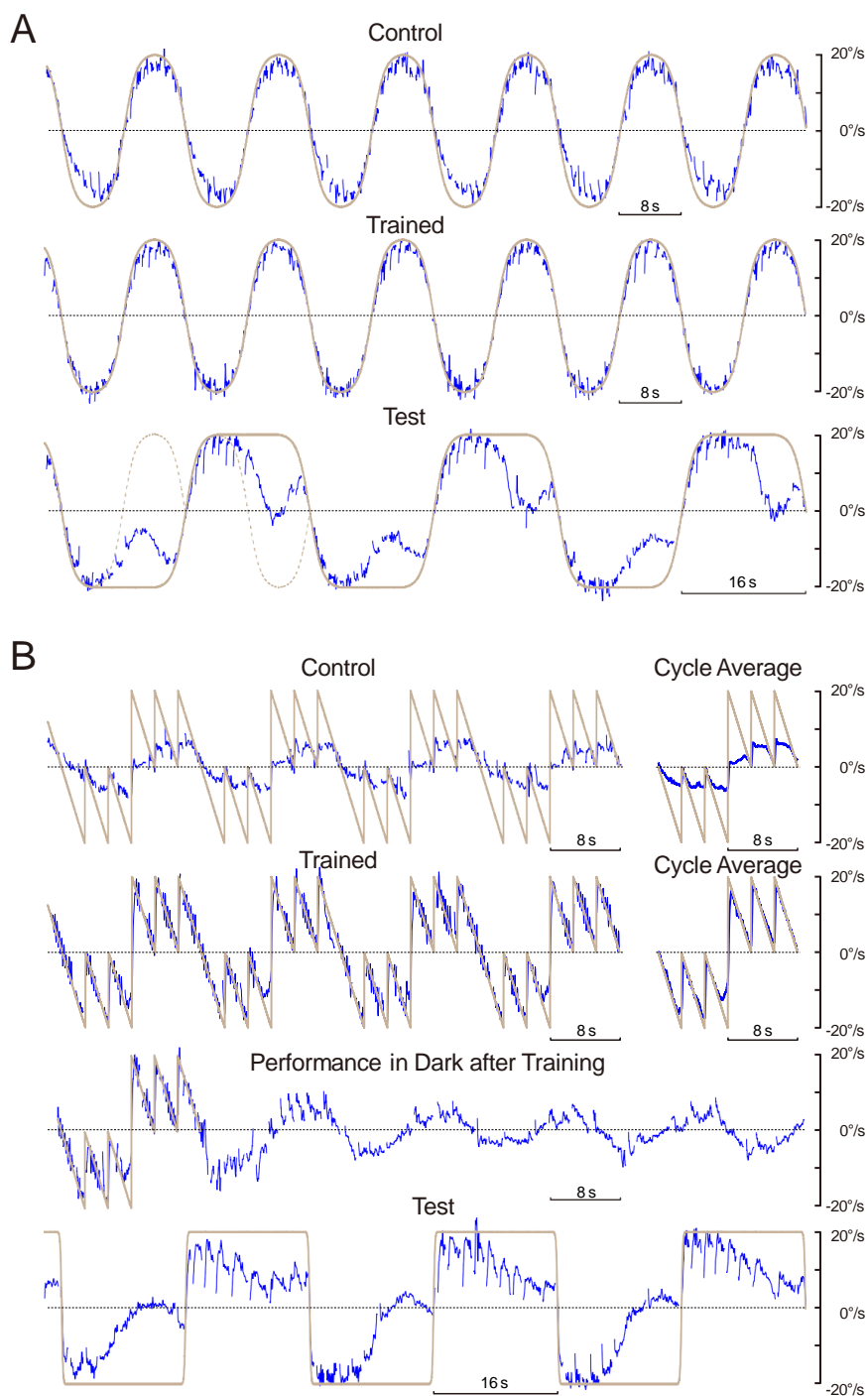


図 4.16 矩形波以外の刺激による周期同調

A: 刺激方向切り替わりが滑らかな刺激の学習開始直後 (Control), 学習 3 時間後 (Trained), 2 倍周期刺激評価時 (Test) の眼球運動例. B: のこぎり波刺激の学習開始直後 (Control), 学習 3 時間後 (Trained), 学習後暗所 (Performance in Dark after Training), 2 倍周期刺激評価時 (Test) の眼球運動例.

4.11 ヒトの周期同調

周期同調は金魚でその学習が発見されて以来、他の動物種ではその学習可否を評価する実験は行われていない。そこで本研究では、ヒトを対象にして周期同調の学習実験を行い、金魚以外の周期同調について評価した。

実験では、被験者は椅子に座り、頭部を光学実験台 (TOMEY-VS200) に固定した。眼球位置から 45 cm 離れた位置にディスプレイ (ASUS, 27inch) を設置し、そこに視覚刺激を投影した。このときディスプレイサイズと眼球までの距離から視覚刺激が被験者の視野に占める角度は水平角度範囲 67 度、垂直角度範囲 41 度であった。眼球運動はビデオ眼球運動撮影装置 EyeSeeCam (Univ. of Munich hospital) により計測した。この装置は、両眼映像と被験者正面の映像を同時に撮影でき、撮影された眼球映像データから眼球位置をリアルタイムで検出し、MATLAB (Mathworks) の mat ファイル形式で記録する。学習刺激には白黒の縦ストライプが用いられ、半周期 4 秒の刺激を 3 分間与えた。被験者によって刺激に対する OKR の追従性が異なったため、それぞれ最適な速度を使用した。ヒトでは金魚のような長時間の刺激提示が困難であったため、学習時間は 3 分とした。実験は計 8 人の被験者に対して行われ、そのうち代表的な 2 人の結果を図 4.17A, B に示す。

図 4.17A の被験者では、学習開始直後 (図 4.17A, Training 0 min) は刺激に対してほぼ一定のゲインで眼が動いていることが確認できる。学習終了直前 (Training 3 min) では、刺激方向切り替わり直後のゲインが一番高く、CW 方向では眼球速度が徐々に減少し、CCW 方向では方向切り替わりタイミングの直前に OKR ゲインが急低下している (矢印)。その後の評価刺激 (Test) において、CW 方向では緩やかな眼球速度の減少が継続し、CCW 方向では 4 秒過ぎから急激に眼球速度が減少しており、どちらの方向も学習中の眼球運動が持続したような傾向が見られた。しかし、評価の 2 周期目以降ではこのような予測性眼球運動は全く見られなかった。

図 4.17B の被験者でも学習開始直後からゲインが高く、学習 3 分後では刺激方向切り替わり直後のゲインが一番高く、その後徐々に眼球速度が減少する傾向がみられる。学習後評価 (Test) では刺激に対して眼球速度はほぼ一定であり、持続的な眼球速度の減少は見られないが、CW 側では学習時の刺激方向切り替わりタイミングで一時的に眼球速度が低下しているようにも見える (矢印)。8 名のうち図 4.17A, B の 2 名を含めた 4 人で周期同調のようなタイミングに依存した眼球速度変化が見られたが、4 名ではまったく見られなかった。

8 名中 4 名のヒトでも、金魚の周期同調学習と同じような学習刺激を与えるとタイミングを予測した眼球運動が生じる場合があったが、ヒトの場合、学習環境、眼球運動の特性等で金魚と異なる点も多い。金魚の周期同調では学習 15 分頃から周期同調が生じるが、ヒトでは学習時間が 3 分にも関わらず予測性眼球運動が生じた。実験では、被験者に自発的にタイミングを予測せず、視覚刺激を意識しないようにと指示を与えたが、実際には評価刺

激の最初の半周期で評価刺激が与えられたことに気づく被験者もあり、ヒトの実験では視覚刺激のリズムを自覚させずに実験を行うことは難しい。また、実験には OKR を誘発するためにストライプ刺激を用いたが、ヒトでは OKR ではなく Smooth pursuit でも追従が可能であり、計測された眼球運動からこれら 2 つを切り分けることは困難である。このような要因もあり、ヒトで生じた予測性眼球運動が金魚の OKR の周期同調と同じメカニズムの学習であるかは判断できなかった。

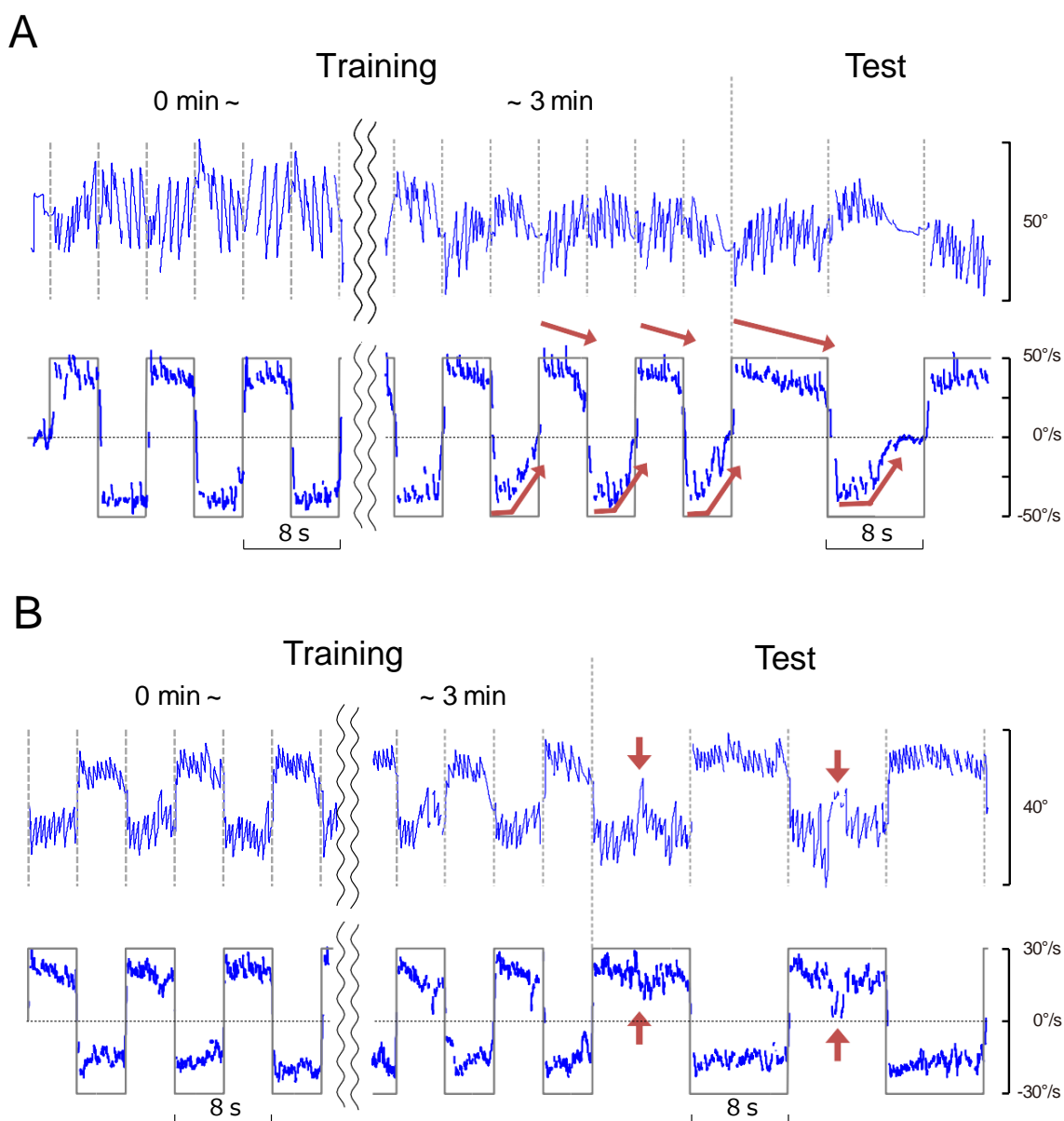


図 4.17 ヒトの周期同調

A, B: 半周期 8 秒の周期的刺激の学習 (Training) とその後の 2 倍周期による評価 (Test) 時の眼球位置 (上側) と眼球速度 (下側). A と B で異なる被験者.

4.12 まとめ

本章では、予測性眼球運動である周期同調の諸特性を明らかにするために、従来示されている特性の再現実験を行うとともに、学習に用いる視覚刺激の種類や学習環境、評価方法や被験体などを変えることにより、種々の新たな実験も行った。

方向選択性実験では、片方向のみに回転する片方向単独、左右で別の周期で刺激が与えられる両方向別周期の刺激を用いて実験を行い、周期同調の方向選択性について確認した。これまでの研究では、周期同調には方向選択性があるとされていたが、本研究の結果から方向選択性はあるものの片側の学習がもう片側へ若干伝播する傾向が明らかになった。

非周期的刺激では、刺激の回転時間が一定であるが停止時間がランダムに変化する非周期刺激を用いて学習を行い、従来研究で知られているように、非周期刺激でも周期同調の学習が可能であることを確認した。

単眼性実験では、片眼のみに学習刺激を与え、学習中に隠していた眼にのみ評価刺激を与えることで、周期同調の単眼性について評価した。その結果、学習刺激を与えない眼においても周期同調が生じたが、金魚の眼が左右協調的に動くため、単眼性自体の評価は困難であった。

周期同調の学習に用いる刺激の周期と学習時間を変化させて学習を行わせた結果、周期同調の度合いは学習時に与えられたサイクル数ではなく、学習時間に比例して学習が生じる傾向が明らかになった。

前庭刺激を用いた周期同調学習実験では、視覚刺激ではなく前庭刺激を与えることで周期同調の学習を試みた。従来研究では、明所での前庭刺激では周期同調が生じないとされていた。本研究でも、暗所での前庭刺激で実験を行ったが、周期同調のような眼球運動は生じなかった。

矩形波以外の刺激による学習を比較するため、刺激の立ち上がりが滑らかな刺激とのこぎり波を用いて実験を行った。その結果、学習開始直後から網膜像のブレが殆どないような刺激や、持続的に刺激が回転しないのこぎり波でも、あたかも矩形波を学習したかのような周期同調が確認された。

ヒトに対して周期同調の学習をさせた結果、8名中4名の被験者で周期同調のような眼球運動が確認された。しかし、金魚と学習条件や眼球運動特性が異なるため、ヒトで生じた予測性眼球運動が金魚の周期同調と同じメカニズムによる学習であるかは判断できなかった。

本章では、これらのようにさまざまな周期同調学習実験を実施し、周期同調の学習に関わる特性の一端を明らかにした。

第5章 周期同調の開始予測と終了予測

5.1 はじめに

2.3 節で述べたよう、左右両方向矩形波刺激を与えたときに生じる周期同調中の OKR は、刺激方向切り替わり直後に生じる眼球速度の急速な立ち上がり (①Direct), その後の緩やかな眼球速度の上昇 (②Indirect), 刺激方向切り替わりタイミングに向けての眼球速度の減少 (③Termination) に分けることができる。このうち③Termination が予測性 OKR であり、刺激が始まってからその刺激がいつまで持続するかを予測する学習であると捉えることができる。しかし、周期的に繰り返される刺激において一方向の刺激の終了タイミングは同時にもう片方の刺激の開始タイミングでもあり、刺激の開始と終了を明確に区別することはできない。4.2 節の片方向実験では、刺激の終了予測 (③Termination) に着目して実験を行ったが、本章では片方向に回転する視覚刺激を用いて、周期同調の予測を視覚刺激の“開始”と“終了”に分けて評価するための種々の行動実験を行い、周期同調の学習特性を評価する。

5.2 片方向刺激

図 4.1 で用いた左右両方向へ動く視覚刺激では、片方向の刺激終了タイミングがもう片方の刺激開始タイミングであるため、開始タイミングと終了タイミングを区別することができない。2.3 節では刺激終了タイミングの眼球速度低下を③Termination としたが、これは視覚刺激が反対方向へ動くことで獲得される予測性成分であることが考えられる。そこで、視覚刺激の開始と終了を区別するために周期的な視覚刺激が一方向にのみ回転する片方向視覚刺激を用いて実験を行う。

実験には、視覚刺激が CW へ 20 deg/s で 8 秒間回転、8 秒間停止する 1 周期 16 秒の片方向刺激を用い、これを計 8 匹の金魚に各 3 時間学習させた。学習開始直後の Control と学習 3 時間後の Trained の典型的な眼球速度波形 (計 8 匹) を図 5.1A に示す。図 5.1A 左側は Control (上) と Trained (下) の 2 周期分の眼球速度波形、右側はそれぞれの 10 周期分の平均眼球速度波形、図 5.1A 右側の 8 匹分の平均波形が図 5.1B である。図 4.1 のような両方向刺激の場合、学習により眼球速度が視覚刺激の各周期の終了前に徐々に低下し始める。同様に片方向刺激でも、学習後の眼球速度波形には刺激終了タイミングで眼球速度の低下が生じており (図 5.1B③矢印)、これは Control には見られない特徴であることから、刺激の終了タイミングを予測した③Termination が発生したと考えられる。さらに

Trained の平均波形では③Termination に加え、刺激開始前に眼球速度の上昇が見られた (図 5.1B, 点線棒). この箇所の Control と Trained の平均眼球速度はそれぞれ 0.2 deg/s および 1.1 deg/s であり, 有意な差があった (t -Test, $p = 6.47 \times 10^{-8}$). 視覚刺激が動いていないにも関わらず, 刺激が開始するタイミングに向けて徐々に眼球速度が上昇しており, これは刺激開始タイミングを予測した眼球運動であると考えられる. 以降では, このように視覚刺激停止時に刺激の開始を予測して生じる予測性眼球運動を①Initiation とする.

視覚刺激の回転中に達した最大眼球速度は Control よりも Trained の方が大きい. OKR ゲインは図 4.1 に示す両方向視覚刺激学習と同様に, 片方向視覚刺激によって増加しており, Control および Trained の平均 OKR ゲインはそれぞれ 0.54 および 0.89 であり, 有意に増加した (t -Test, $p = 3.04 \times 10^{-13}$). 同様に, OKR の Direct 成分 (①) は Trained (13.6 deg/s) の方が Control (4.4 deg/s) よりも優位に増加した (t -Test, $p = 2.05 \times 10^{-6}$). Indirect 成分 (②) の時定数 $1/\tau$ は, Trained (1.0 s) の方が Control (2.3 s) よりも優位に短縮した (t -Test, $p = 0.00228$). これらの学習中の眼球速度パラメータの変化は, 以降の 5.5 節でさらに詳細に解析する.

図 5.1C は, 片方向刺激を 3 時間学習した後に暗所にしたときの典型的な眼球速度波形である. 両方向刺激では, CW と CCW の両方向に周期的な眼球運動が生じたが (図 4.1C), 片方向刺激では学習した方向のみに周期的な眼球速度変化が見られた.

これらの片方向実験の結果から, 片方向のみに周期的に動く視覚刺激を与えることにより, 刺激開始タイミングを予測して刺激開始前に眼球速度が上昇する①Initiation と, 刺激終了タイミングを予測して刺激終了前に眼球速度が低下する③Termination が生じることが明らかになった.

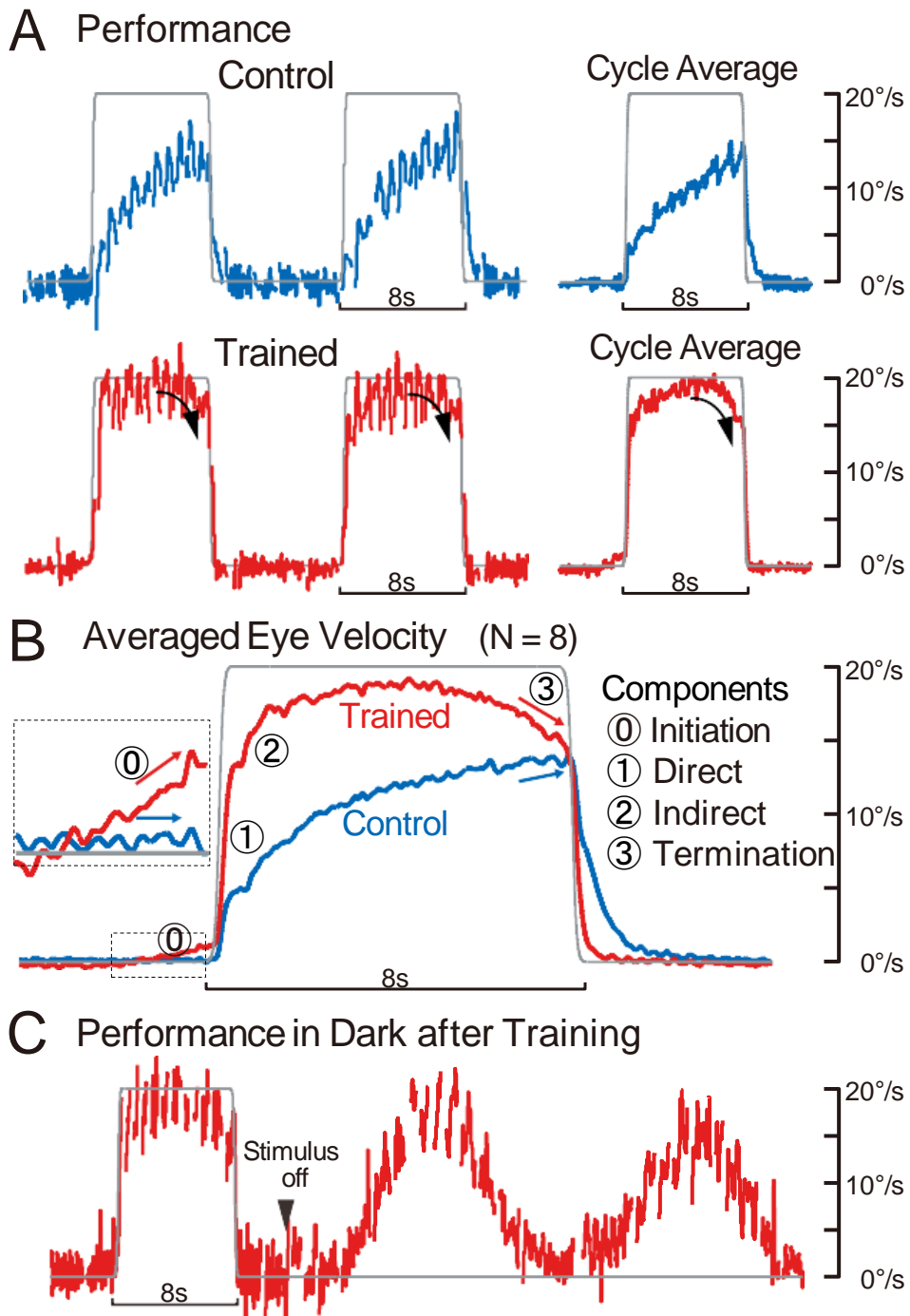


図 5.1 片方向刺激学習時の周期同調

A : 学習開始直後 (Control) と学習 3 時間後 (Trained) の典型的な眼球速度波形 (左側) とそれらの 10 周期の平均波形 (右側). B : A 右側の平均波形の 8 匹分の平均. C : 学習刺激を 3 時間与えた後に暗所にしたときの典型的な眼球速度波形の一例.

5.3 ステップアップ刺激

前節で確認された刺激開始を予測する①Initiation成分の特性を詳細に評価するため、片方向のステップアップ刺激を用いて実験を行った。

ステップアップ刺激では、視覚刺激（図 5.2A, 灰色線）を各視覚刺激周期の開始後 4 秒で 10 deg/s から 20 deg/s にステップアップさせた。このステップアップ刺激を計 8 匹の金魚に各 3 時間学習させた結果を図 5.2 に示す。図の配置や色などのフォーマットは図 5.1 に準ずる。図 5.2B の平均波形から、片方向刺激学習時と同じく刺激開始タイミングで①Initiation と刺激終了タイミングで③Termination が確認されただけでなく、刺激速度が 10 deg/s から 20 deg/s へステップアップする前に、①Initiation のような眼球速度の上昇が確認された。この眼球速度の上昇は、通常の OKR ゲインの上昇のようにも見えるが、視覚刺激がステップアップする前に視覚刺激速度（10 deg/s）を超えている。この 2 段目のステップの開始前の 8 匹の平均眼球速度は学習 3 時間後の Trained で 10.6 deg/s であり、視覚刺激速度よりも大きい。対照的に、最初のステップの①Initiation は、視覚刺激速度の上昇量が 10 deg/s と小さいため、片方向刺激学習時（図 5.1B）より小さい。ただし、2 段目の 10 deg/s から 20 deg/s のステップで生じた①Initiation の量は、図 5.1B に示す単一の 0 deg/s から 20 deg/s ステップの①Initiation を超えている。

3 時間のステップアップ視覚刺激学習の後に暗所にすると、図 5.1C と同様に暗闇で一方方向の眼球速度変化が確認された（図 5.2C）。しかしながらこのパラダイムでは、眼球速度波形は暗所で明確な学習刺激のような階段状を示さず、片方向刺激学習と類似した波形であった。

片方向ステップアップ実験の結果から、眼が視覚刺激に追従しているときにも Initiation 成分を獲得でき、視覚刺激が静止している場合よりもさらに強調されることが明らかになった。

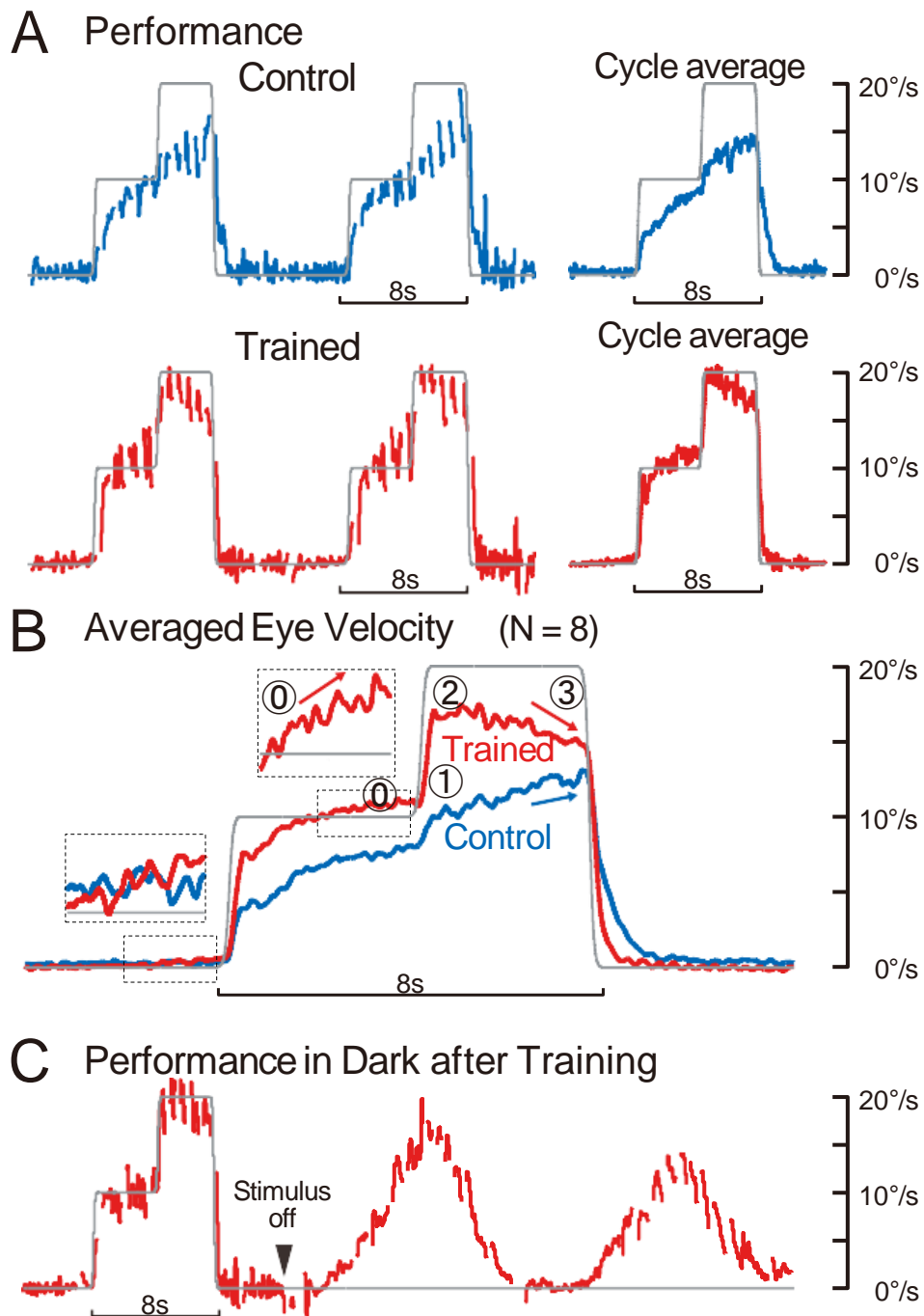


図 5.2 ステップアップ刺激学習時の周期同調

A : 学習開始直後 (Control) と学習 3 時間後 (Trained) の典型的な眼球速度波形 (左側) とそれらの 10 周期の平均波形 (右側). B : A 右側の平均波形の 8 匹分の平均. C : 学習刺激を 3 時間与えた後に暗所にしたときの典型的な眼球速度波形の一例.

5.4 刺激開始/終了タイミングのランダム化

片方向刺激学習の実験結果より、周期的な視覚刺激に対する予測性眼球運動は **Initiation** 成分および **Termination** 成分があることが明らかになった。Initiation 成分は刺激が終了してから次の刺激開始タイミングを予測、Termination 成分は刺激が始まってからその刺激の終了タイミングを予測する眼球運動であり、これらの学習は分けて考えることができる。そこで、これらの予測性成分の独立性を評価するために、刺激の開始タイミングまたは終了タイミングが予測できないように、視覚刺激の回転持続時間（ON 期間）または視覚刺激回転の間隔（OFF 期間）がランダム化された片方向視覚刺激を用いて実験を行った。同種のランダムな刺激を用いた学習はすでに行っているが（図 4.4）、ここでは **Initiation** と **Termination** 成分の学習に注目し、評価した。

OFF 期間ランダム実験では、刺激の ON 時間（回転時間）は 8 秒で一定であるが、OFF 時間（停止時間）は 1~15 秒の間でランダム化した刺激を 8 匹の金魚に各 3 時間学習させた。学習中の典型的な眼球速度例を図 5.3A に、8 匹の平均を図 5.3B に示す。学習 3 時間後の **Trained** では、片方向刺激（図 5.1B）と同じように刺激終了タイミングで眼球速度が減少する **Termination** 成分を学習した（図 5.3B, ③）。この学習量は片方向刺激（ON 期間、OFF 期間が固定）に匹敵している（図 5.1B）。一方、**Control** と **Trained** 共に刺激開始前の眼球速度の上昇は明らかに見られず、**Initiation** 成分の学習は生じなかった（図 5.3B, ①）。

ON 期間ランダム実験では、刺激の OFF 時間は 8 秒で一定であるが、ON 時間は 1~15 秒の間でランダム化した刺激を用い、8 匹の金魚に各 3 時間学習させた。学習中の典型的な眼球速度例を図 5.4A に、8 匹の平均を図 5.4B に示す。OFF 期間ランダムとは対照的に、ON 期間ランダムでは **Trained** で刺激開始前の眼球速度の上昇がみられ、**Initiation** が生じている（図 5.4B, ①）。一方、刺激終了タイミングで眼球速度低下は殆ど見られず、OFF 期間ランダム学習で生じたような **Termination** 成分は生じなかった（図 5.4B, ③）。

これらの結果から、視覚刺激の開始を予測する **Initiation** 成分と終了を予測する **Termination** 成分は独立して学習できることが明らかになった。

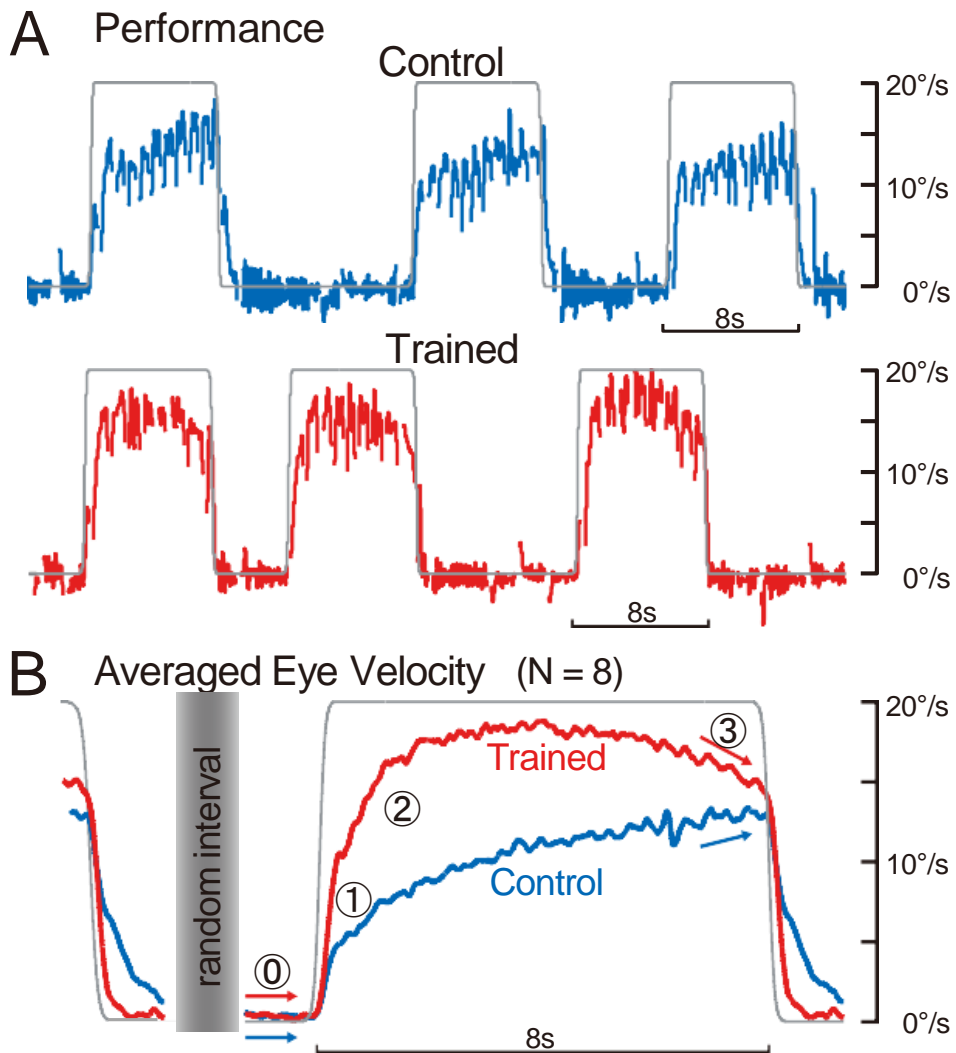


図 5.3 OFF 期間ランダム刺激学習時の周期同調

A : 学習開始直後 (Control) と学習 3 時間後 (Trained) の典型的な眼球速度波形. B : 8 匹分の平均波形.

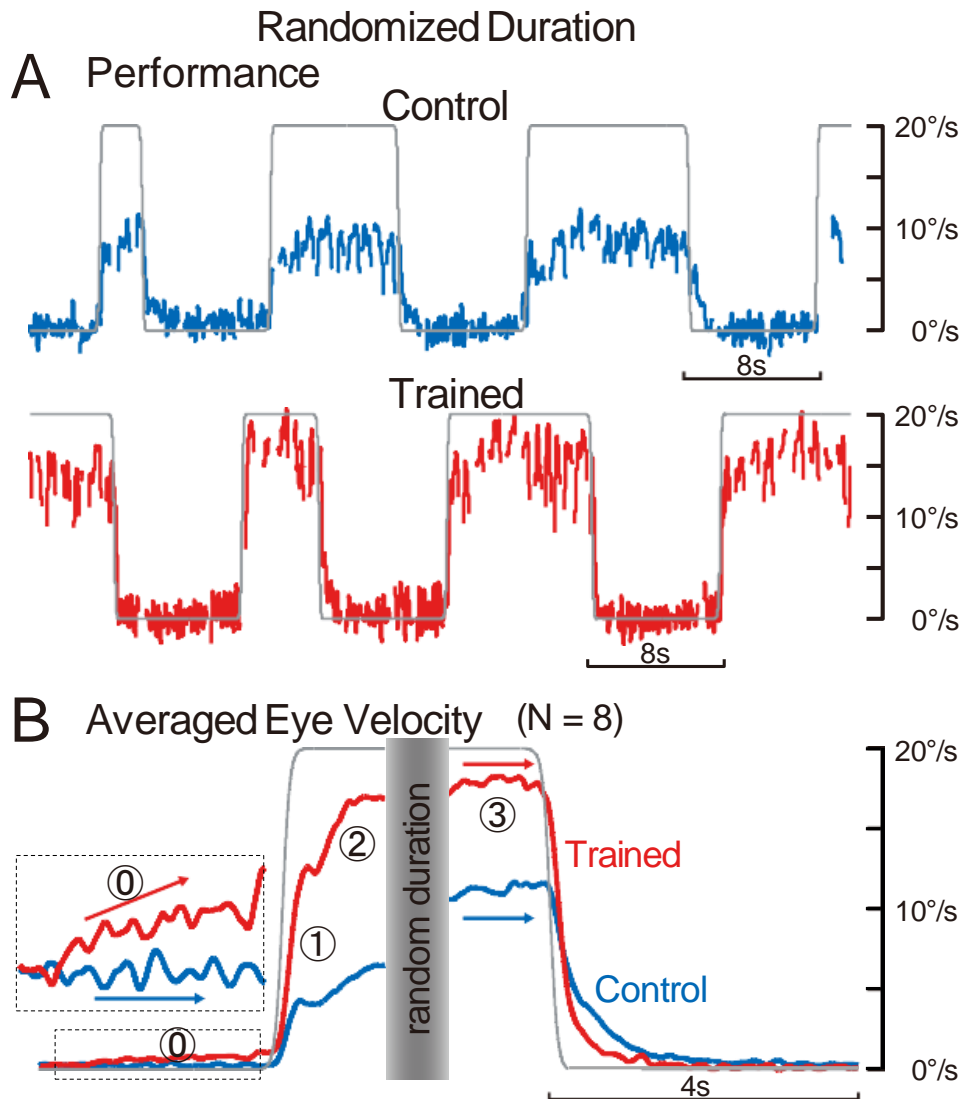


図 5.4 ON 期間ランダム刺激学習時の周期同調

A : 学習開始直後 (Control) と学習 3 時間後 (Trained) の典型的な眼球速度波形. B : 8 匹分の平均波形.

5.5 各学習パラダイム中の各 OKR 成分の変化

5.1 節の片方向刺激により Initiation 成分と Termination 成分が同時に学習され, 5.3 節の ON 期間ランダム刺激と OFF 期間ランダム刺激により Initiation と Termination が独立して学習可能であることが明らかになった. これらの学習を定量的に評価するため, 予測性眼球運動である Initiation 成分と Termination 成分, さらに OKR の Direct 成分と Indirect 成分を, 以下の方法で定量化した (図 5.5).

Initiation 成分

視覚刺激開始タイミング前 2 秒間の眼球速度波形（計 8 匹）を線形回帰モデル ($v = at + b$, 眼球速度 v : 目的変数, 時間 t : 説明変数, a, b : 係数) で近似し, その 2 秒間の眼球速度上昇量 (deg/s).

Termination 成分

刺激回転中の最大眼球速度と刺激終了タイミングの眼球速度の差 (deg/s).

Direct 成分

視覚刺激開始から 500ms 後の 10ms 間の平均眼球速度 (deg/s).

Indirect 成分

視覚刺激開始 500ms 後から 4 s までの間の眼球速度波形を, 関数 $c + d \exp(-t/\tau)$ によって近似したときの τ (s) と d (deg/s). 変数 c, d , および τ は, MATLAB lsqnonlin 関数を使用した非線形最適化法により推定した.

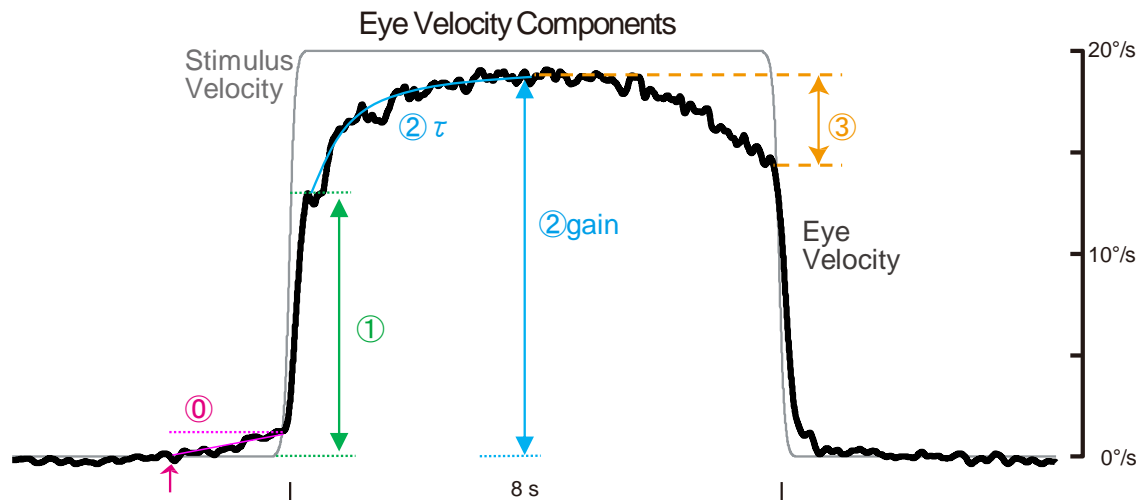


図 5.5 予測性眼球運動成分と各 OKR 成分の定量化方法

上記の解析法を用いて求めた, 刺激開始時の眼球速度 (④Initiation), Direct 成分の値 (①Direct), Indirect 成分の時定数 (②Indirect(τ)) および大きさ (②Indirect(gain)), 刺激終了タイミングでの眼球速度低下量 (③Termination) の値を図 5.6 に示す.

図 5.6A, B, C はそれぞれ OFF 期間ランダム実験, ON 期間ランダム実験, 片方向刺激

実験の学習 3 時間の 5 つのパラメータの時間変化を示す。各図中の灰色のドットは各 8 匹の 1 周期の平均波形から算出された値、色付きのドットは 15 周期にわたる移動平均を表す。片方向刺激の学習 (図 5.6C) では全てのパラメータが大幅に変化した。学習開始直後と学習 3 時間後では①Initiation は 0.2 から 1.1 deg/s, ①Direct は 4.4 から 13.6 deg/s, ②Indirect(τ) は 2.3 から 1.0 s, ②Indirect(gain) は 14.0 から 19.3 deg/s, ③Termination は 0.1 から 4.1 deg/s に変化した。

視覚刺激の開始が予測不可能であった OFF 期間ランダムでは (図 5.6A), ①Initiation は学習によって殆ど変化しなかった。対照的に, ②Indirect の τ と gain, および③Termination は, 片方向刺激学習とほぼ同じ変化を示した。しかし, ①Direct の変化量は, 刺激 ON, OFF 期間が共に固定の片方向刺激学習中の変化 (図 5.6C) よりも小さい。

ON 期間ランダム (図 5.6B) は刺激の終了タイミングが予測できないものの, ③Termination の値は 0.1 deg/s から 1.2 deg/s へ若干増加し, ①Direct, ②Indirect(τ), および gain は, 片方向刺激学習と同等の変化を示した。ON 期間ランダム学習の Termination に変化が生じた理由として, ON 期間が 1 秒から 15 秒までの一定範囲内でランダム化されていることが挙げられる。実際に ON 期間が数秒の場合 Termination は生じないが, 数十秒を超えると若干の Termination が見られた。つまり, Termination は期間がある程度不確実でも学習が可能であった。これはまったく学習をしなかった Initiation とは異なり, Termination は Initiation より獲得されやすいと言える。また Initiation の変化量は, 片方向刺激学習よりも小さい (図 5.6C)。つまり刺激の OFF 時間が一定であれば刺激に周期性がなくとも Initiation の獲得は可能であるが, その学習量は刺激 ON 期間と OFF 期間が一定である場合よりも小さく, 刺激の周期性が Initiation の学習に影響を与えていることが示唆される。

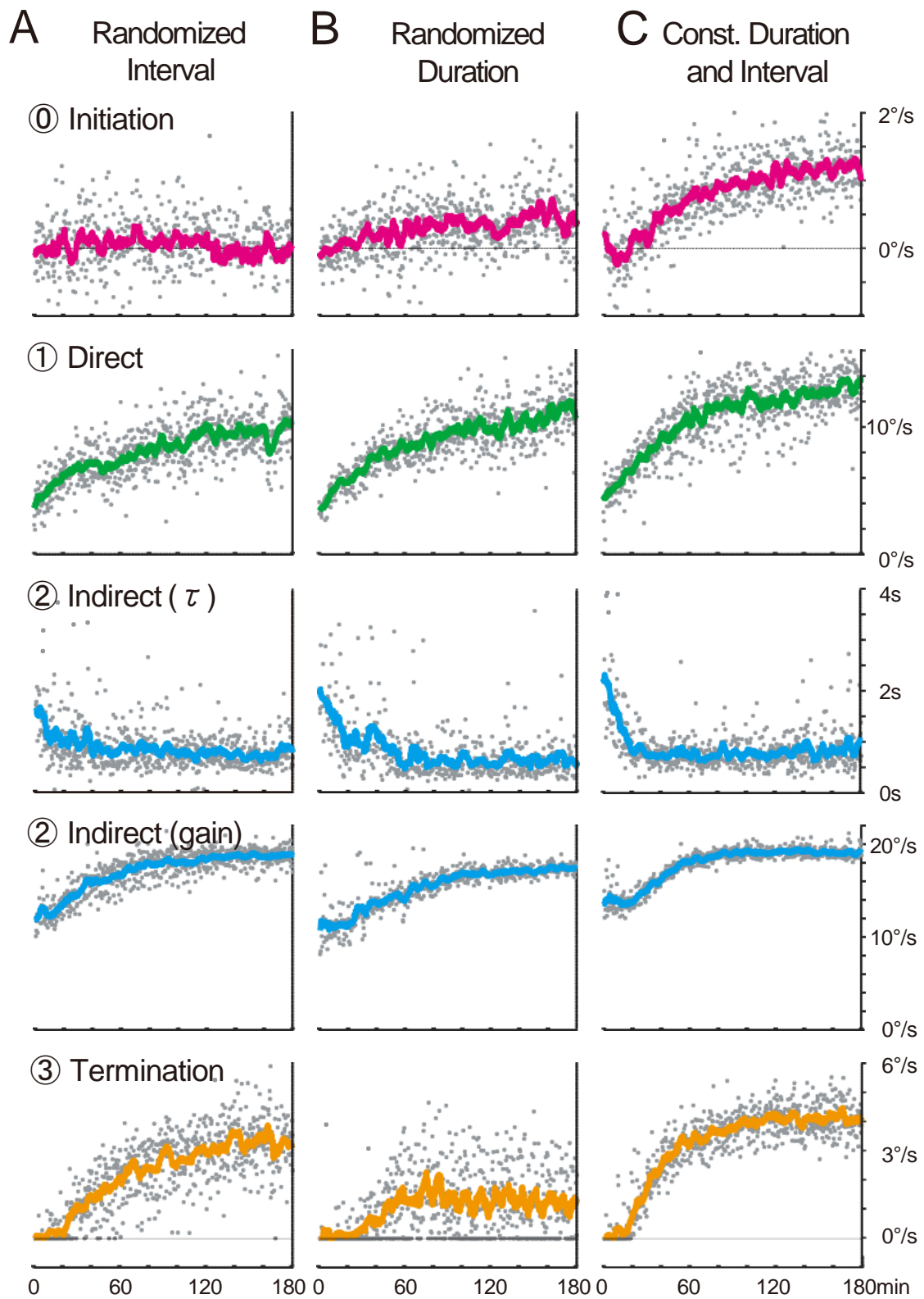


図 5.6 周期同調学習中の予測性成分と各 OKR 成分の変化
 A : OFF 刺激ランダム. B : ON 刺激ランダム. C : 片方向刺激.

5.6 まとめ

本章では、周期同調の特徴を、片方向視覚刺激を用いて評価した。はじめに、予測性の眼球速度変化を視覚刺激の開始予測と終了予測に区別するために片方向刺激実験を行った。その結果、予測性眼球運動は刺激の終了と開始を予測する成分に分けられ、刺激が停止するタイミングで眼球速度が減少する **Termination** と、刺激の開始前に眼球速度が上昇する **Initiation** が生じることが明らかになった。片方向刺激実験で確認された **Initiation** をより詳細に評価するためのステップアップ実験では、片方向に回転中の視覚刺激速度がさらに増加するようなステップでも **Initiation** が生じ、またその速度は視覚刺激速度を超えることが明らかになった。また、開始タイミングと終了タイミングの独立性を評価するために、刺激の開始タイミングと終了タイミングがそれぞれランダムな刺激を用いて実験を行い、**Initiation** と **Termination** が独立に学習可能であることを示した。そして、これらの実験結果を定量的に解析し、学習結果の差異について詳細に評価した。

第6章 周期同調と小脳

6.1 はじめに

本章では、周期同調の学習が脳内のどの部位によって行われており、またその学習の記録部位について、つまり周期同調の脳内学習責任部位を明らかにすることを目的とする。多くの眼球運動学習では、小脳が重要な役割を果たしている。特に OKR では、小脳片葉の薬理的な抑制[35]、物理的な切除[47]、小脳プルキンエ細胞のノックアウト[36]により短期間の OKR 適応が阻害されたり、学習した効果が消失したりすることから、小脳が OKR の学習の責任部位だと考えられている。小脳はこのような眼球運動を始めとする各種運動学習の責任部位であり[27, 29, 31]、周期同調についても小脳が何らかの役割を果たしている可能性が高い。そこで本章では、周期同調学習前、後に金魚の小脳を切除することにより、周期同調の獲得、維持に関する小脳の寄与を評価し、また学習中の小脳プルキンエ細胞の神経電位計測を行い、周期同調学習中の小脳の活動を評価する。

6.2 学習後小脳切除

はじめに、学習した周期同調と小脳の関わりを評価するために、正常な個体で周期同調の学習を行い、その後に小脳を切除し、獲得された周期同調の変化を評価する実験を行った。

実験では、正常個体に 5.2 節と同じ片方向刺激を 3 時間学習させ、その後 3.3.2 項の方法で小脳を切除し、再度片方向刺激を与えた。図 6.1 に学習後小脳切除実験の結果を示す。図のフォーマットは図 5.1 に準ずる。図 6.1A の学習開始直後 (Control) と学習 3 時間後 (Trained) の両方は、図 5.1A の片方向実験と同様のパラダイムであり、Initiation と Termination についても図 5.1A で示されたものと類似している。小脳切除後 (図 6.1A, Cerebellectomized) では、全体的な眼球速度は Trained よりも遅くなり、Control に近い。図 6.1B の 8 匹の平均波形を比較すると、学習 3 時間後 (Trained, 赤線) に獲得されていた、Initiation, Direct, Termination 成分 (①, ②, ③) は小脳除去後 (Cerebellectomized, 緑線) では消失しており、学習開始直後 (Control, 青線) に近くなっている。特に、Indirect 成分 (④) に関連する最大眼球速度は、学習開始直後よりも低い速度に減少した。正常個体で見られる片方向刺激の学習後の暗所での周期的な眼球運動 (図 5.1C, 赤線) も、小脳切除後に再度 80 分の片方向刺激を与えた後の暗所では現れなかった (図 6.1C, 緑線)。

これらの結果は、学習によって獲得された刺激開始を予測する Initiation と刺激終了を予

測する **Termination** の維持および **Direct** 成分の維持が完全に小脳に依存していることを示している。ただし、学習後の **Indirect** 成分の変化については、波形上では変化が確認しにくいため以降の 6.4 節の定量的解析によって改めて評価する。

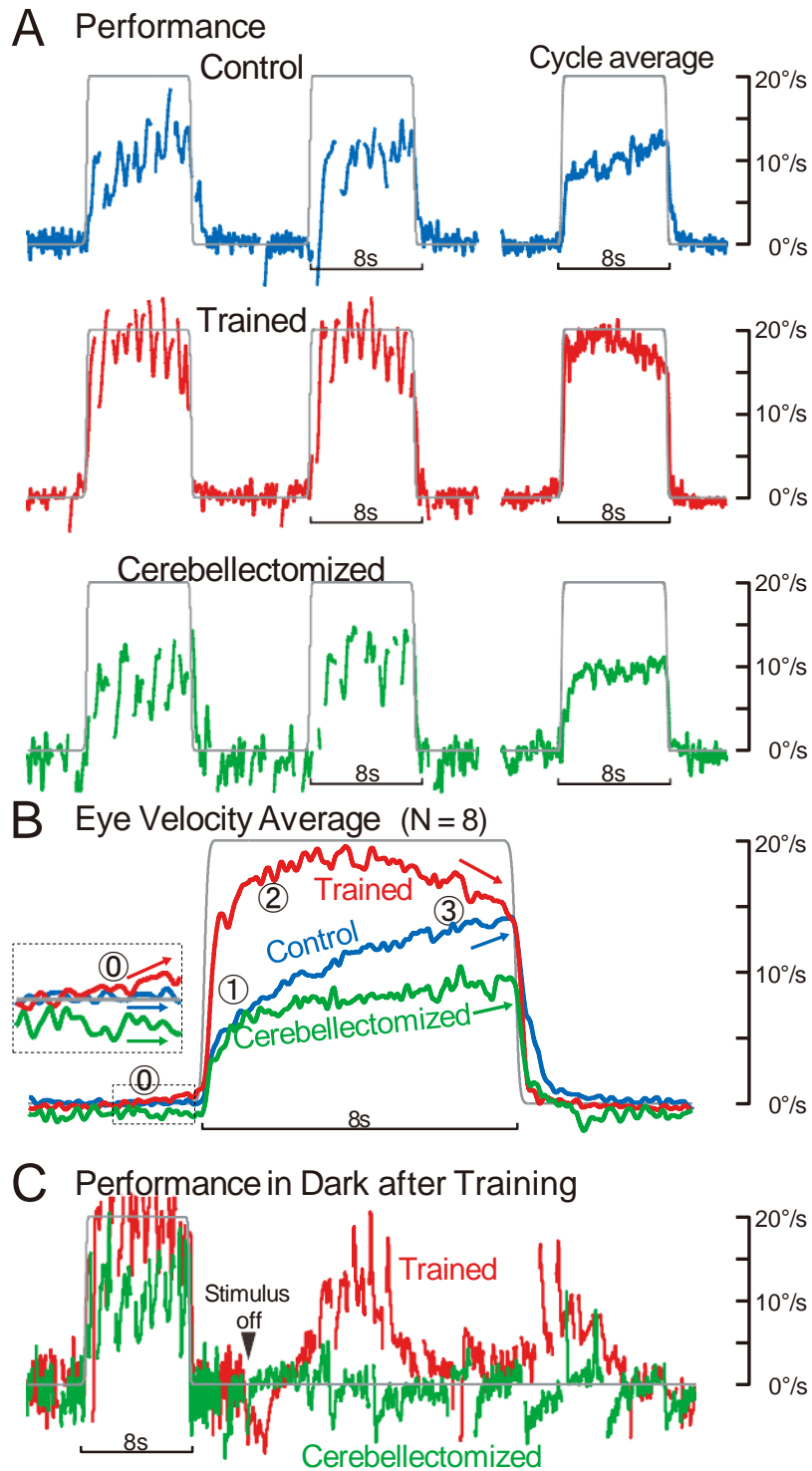


図 6.1 学習後小脳切除実験の周期同調

A: 学習開始直後 (Control) と学習 3 時間後 (Trained) , 小脳切除後 (Cerebellectomized) の典型的な眼球速度波形 (左側) とそれらの 10 周期の平均波形 (右側). B: A 右側の平均波形の 8 匹分の平均. C: 学習刺激を 3 時間与えた後に暗所にしたときの典型的な眼球速度波形.

6.3 学習前小脳切除

次に周期同調の獲得と小脳の評価を評価するため、実験前に予め小脳を切除した金魚を用いて周期同調の学習実験を行った。

金魚は実験の1~7日前に3.3.2項の方法を用いて小脳が切除された。これらの金魚8匹に対し5.2節で用いたのと同じ片方向刺激を3時間学習させた。学習前小脳切除実験の結果を図6.2に示す。図の形式は図5.1に準ずる。実験の7日前に小脳切除を行った個体(図6.2A)では、3時間の学習によって眼球速度波形の明確な変化は見られなかった。ただし、その個体を含めた8匹の学習前(図6.2B, Control)と学習後(図6.2B, Trained)の平均波形では、学習3時間後の眼球速度の方が低下しており、これは6.1節の学習後小脳切除実験における学習開始直後と小脳切除後に見られる特徴と類似している(図6.1B, 青, 緑)。つまり、Initiation (①), Direct (②), および Termination (③) 成分は殆ど変化せず、最大眼球速度は小脳切除後に低下した。また、正常個体で見られる片方向刺激学習後の暗所での周期的な眼球運動(図6.1C, 赤線)は、学習前小脳切除個体では確認されなかった(図6.2C)。

これらの結果から、OKRのDirect成分、刺激開始を予測するInitiationと刺激終了を予測するTerminationの学習は小脳が重要な役割を果たしていることが明らかになった。学習後のIndirect成分の変化については波形上の変化が確認しにくいため、以降の6.4節の定量的解析によって改めて評価する。

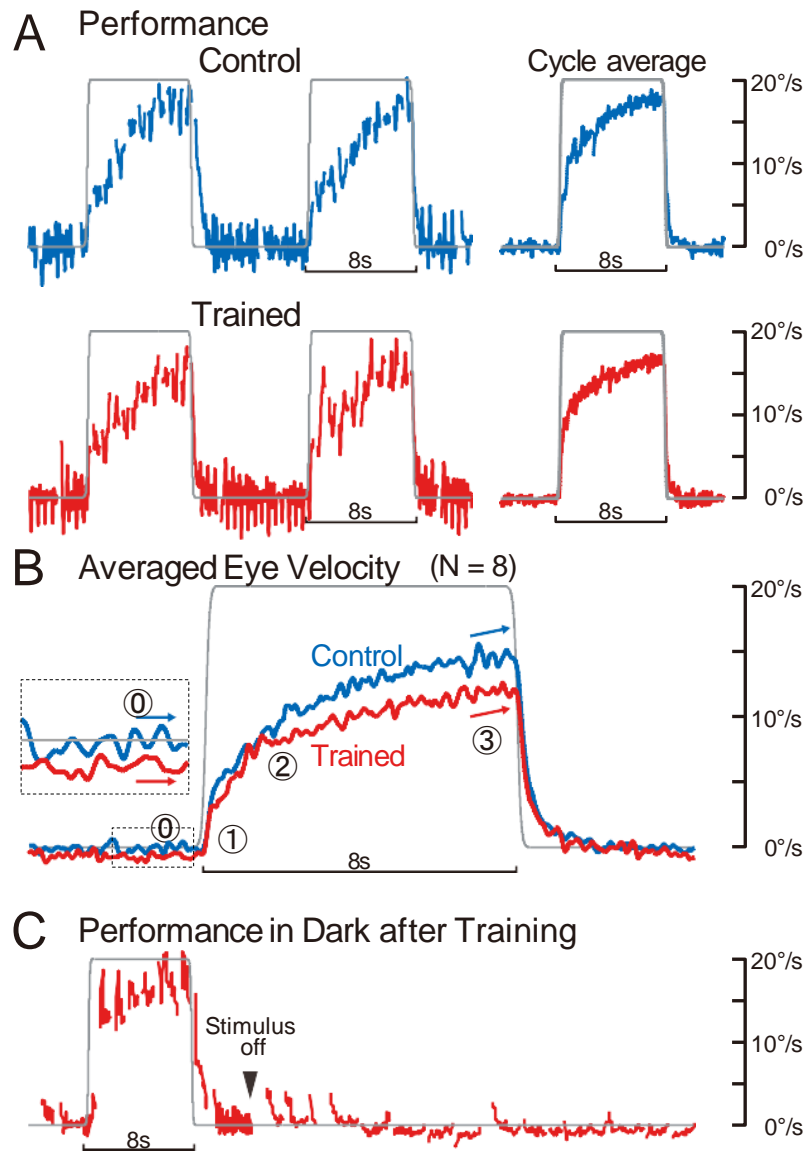


図 6.2 学習前小脳切除実験の周期同調

A : 学習開始直後 (Control) と学習 3 時間後 (Trained) の典型的な眼球速度波形 (左側) とそれらの 10 周期の平均波形 (右側). B : A 右側の平均波形の 8 匹分の平均. C : 学習刺激を 3 時間与えた後に暗所にしたときの典型的な眼球速度波形.

6.4 学習中の各 OKR 成分の変化

6.2 節の学習後小脳切除実験と 6.3 節の学習前小脳切除実験の結果を定量的に評価したものを図 6.3 に示す。解析方法は 5.5 節と同様である。比較のため図 5.6C の片方向実験の結果も並べて図示する (図 6.3A)。

学習後小脳切除実験 (図 6.3B) では、小脳切除前の学習 3 時間まで、5.2 節の片方向刺激実験 (図 6.3A) と同じ条件である。ただし、学習後小脳切除実験では小脳は無傷であるものの開頭された状態で 3 時間の学習を行っている。これら同一パラダイムの学習による 5 つのパラメータは同じような変化をしている。学習後の小脳切除により、3 時間の学習によって獲得された **Initiation** (①), **Direct** (②), **Termination** (③) は、学習前の値に戻った。対照的に、**Indirect** (④) の変化 (0.8 秒) は、小脳切除による影響はわずかであり、学習開始直後値 (1.6 秒) には戻らなかった。一方、**Indirect** (④gain) は、小脳切除後、学習開始直後の値より大幅に低い値に減少した。つまり、獲得した **Indirect** 成分の時定数の維持には小脳が必要ないことを示唆している。学習後の小脳切除には最大 3 分程度の時間がかかっているが、周期的視覚刺激を 3 時間学習させた場合、暗所で約 50 分程度学習効果が残ることが示されており [45]、小脳切除にかかった時間経過による学習の忘却は殆どないものと考えられる。

学習前小脳切除実験 (図 6.3C) では、すべての学習開始直後の値が正常な小脳を有する個体の実験 (図 6.3A) の値と同等であった。つまり、小脳は各パラメータの初期値とは無関係であり、OKR を生成する神経回路に関与していない。**Initiation** (①), **Direct** (②), **Termination** (③) には、3 時間の学習中に殆ど変化が見られなかった。これらは、学習後小脳切除実験で小脳切除後に学習開始直後の値に戻ったのと同じ 3 つのパラメータである。対照的に、**Indirect** (④) は、3 時間の学習により大幅に減少した。**Indirect** (④) の学習 3 時間後の値 (0.8 秒) は、通常の小脳あり個体の学習 3 時間後の値 (1.0 秒) と同等であったが、学習 3 時間中の変化速度は、正常個体と比べ学習前小脳切除では遅い (図 6.3 AC, ④)。 **Indirect** (④gain) も徐々に減少し、小脳切除後の値に匹敵した。

これらの結果から、小脳は **Initiation** 成分と **Termination** 成分、**Indirect** 成分の gain, および **Direct** 成分の学習の獲得と維持に必要であることが示された。一方、**Indirect** 成分の時定数の学習の獲得と維持には小脳は必要ないが、小脳がない状態では学習速度が遅くなることが明らかになった。

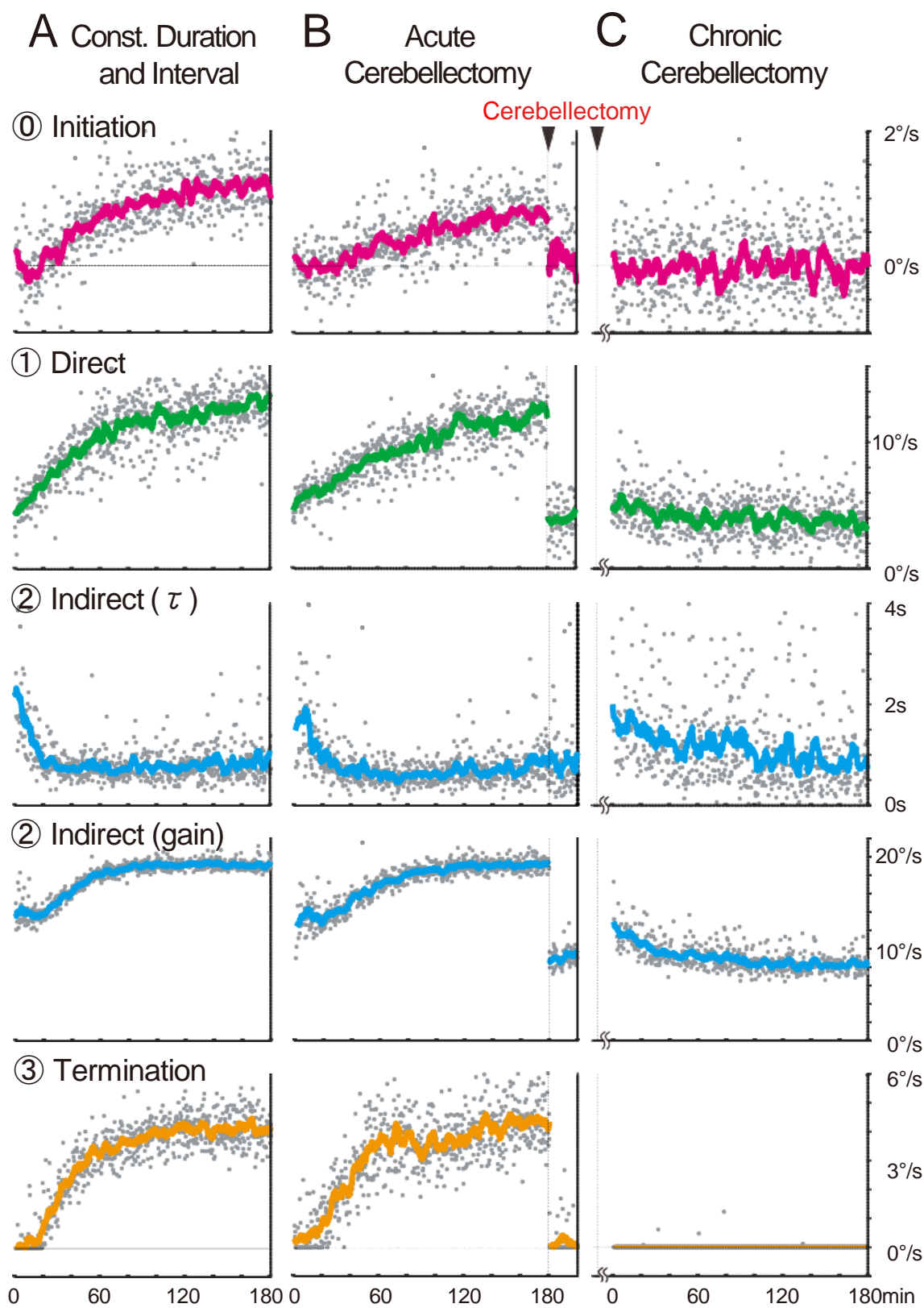


図 6.3 周期同調学習中の予測性成分と各 OKR 成分の変化
 A : 片方向刺激. B : 学習後小脳切除. C : 学習前小脳切除.

6.5 OKR モデルを用いた解析

OKR の数理モデルとして 3 つのパラメータと積分器から構成されるものが提案されており [10, 57] (図 2.1), 実際の OKR をよく再現できることが知られている. そこで, 6.2, 6.3 節の実験で得られた眼球運動データのうち, 視覚刺激立ち上がり直後の Direct 成分, Indirect 成分について, 実際の眼球データを近似するモデルのパラメータを推定することにより, OKR の学習がモデル上においてどのように表現されるかを評価する.

6.2 節の学習後小脳切除実験と 6.3 節の学習前小脳切除実験の学習中, 及び学習後小脳切除後の眼球速度波形から求めた OKR モデル (図 2.1) のパラメータ G_1 , G_0 , H の値を図 6.5 に示す. 解析では, 眼球速度波形を 45 周期 (12 分) 毎に加算平均し, それらの平均眼球速度波形に対して, 式(2.1)を MATLAB lsqnonlin 関数を用いて G_1 , G_0 , H の値を求めた (図 6.4). エラーバーは 8 匹の標準偏差を表す. また, 学習 180 分間の最初と最後の評価, 及び小脳切除後の評価について統計検定 (t -Test) をした結果を図 6.6 に示す. 学習後小脳切除実験 (図 6.5A, 6.6A) において, G_1 , G_0 の値は学習と共に上昇し, 学習開始直後 (Training 0~12min) と比べ学習 180 分後 (Training 168~180min) では有意に値が増加した (図 6.6A, G_1 , G_0). その後小脳を切除すると値は減少し, 学習開始直後 と有意な差は認められなかった. H は学習 30 分ほどまで上昇した後に徐々に減少し, 学習 180 分後では学習開始直後と差は認められなかった (図 6.6, H). その後小脳を切除すると値は学習開始直後と比較し有意に増加した. 学習前小脳切除実験 (図 6.5B, 6.5B) では, G_1 , G_0 は学習開始直後と学習 180 分後の間に有意な差は認められなかった (図 6.6B, G_1 , G_0). H は緩やかに上昇し, 学習 180 分後では有意に増加した (図 6.6B, H).

推定した G_1 , G_0 , H をもとに式(2.2), (2.3), (2.4)から初期眼球速度 (Initial jump), 最大眼球速度(Max velocity), 時定数(τ)を求めた結果を図 6.7 に示す. 各値について, 図 6.6 と同様の統計検定を行った結果を図 6.8 に示す. 学習後小脳切除実験 (図 6.7A, 図 6.8A) において, 180 分間の学習中により初期眼球速度は 4.8 deg/s から 12.4 deg/s, 最大眼球速度は 14.0 deg/s から 19.0 deg/s へ共に有意に増加し, 時定数は 1926ms から 715ms へ有意に短くなった (図 6.8A). その後小脳を切除すると, 初期眼球速度は 3.7 deg/s まで下がり学習開始直後の値と差が認められず (図 6.8A, Initial jump), 最大眼球速度は 9.6 deg/s まで下がり学習開始直後の値より有意に低下したが (図 6.8A, Max velocity), 時定数は 1047ms で学習 180 分後と有意な差は認められず, 学習開始直後より有意に低下したままであった (図 6.8A, τ). 学習前小脳切除実験では, 初期眼球速度は学習開始直後が 4.6 deg/s, 学習 180 分後が 3.7 deg/s と有意な差は認められなかった (図 6.8B, Initial jump). 最大眼球速度の値は学習開始直後の 13.5 deg/s から徐々に減少し学習 180 分後では 10.1 deg/s まで有意に低下した (図 6.8B, Max velocity). また時定数は学習 180 分の間に減少する傾向を示し, 学習開始直後の 1992ms から学習 180 分後の 1159ms まで短くなった (図 6.8, τ).

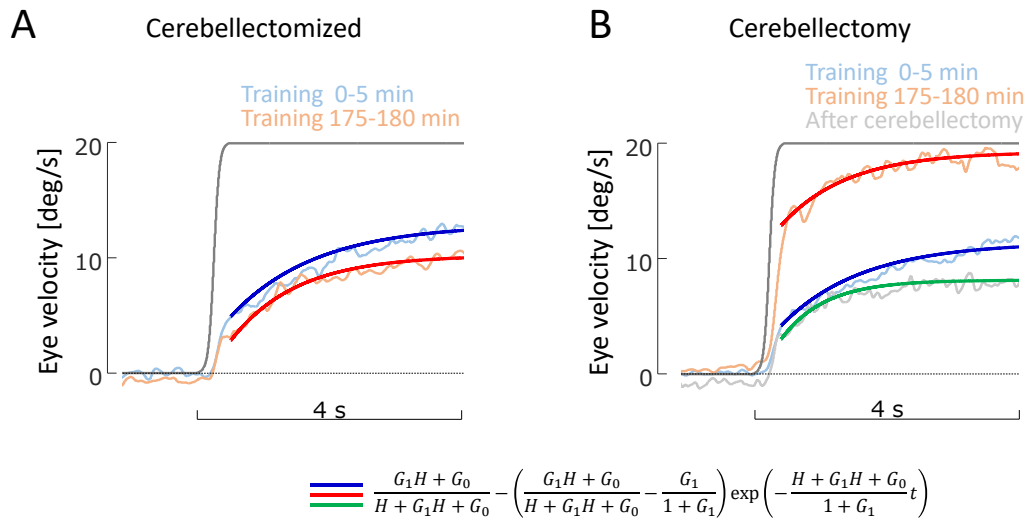


図 6.4 OKR モデルを用いた解析例
 A : 学習前小脳切除実験, B : 学習後小脳切除実験

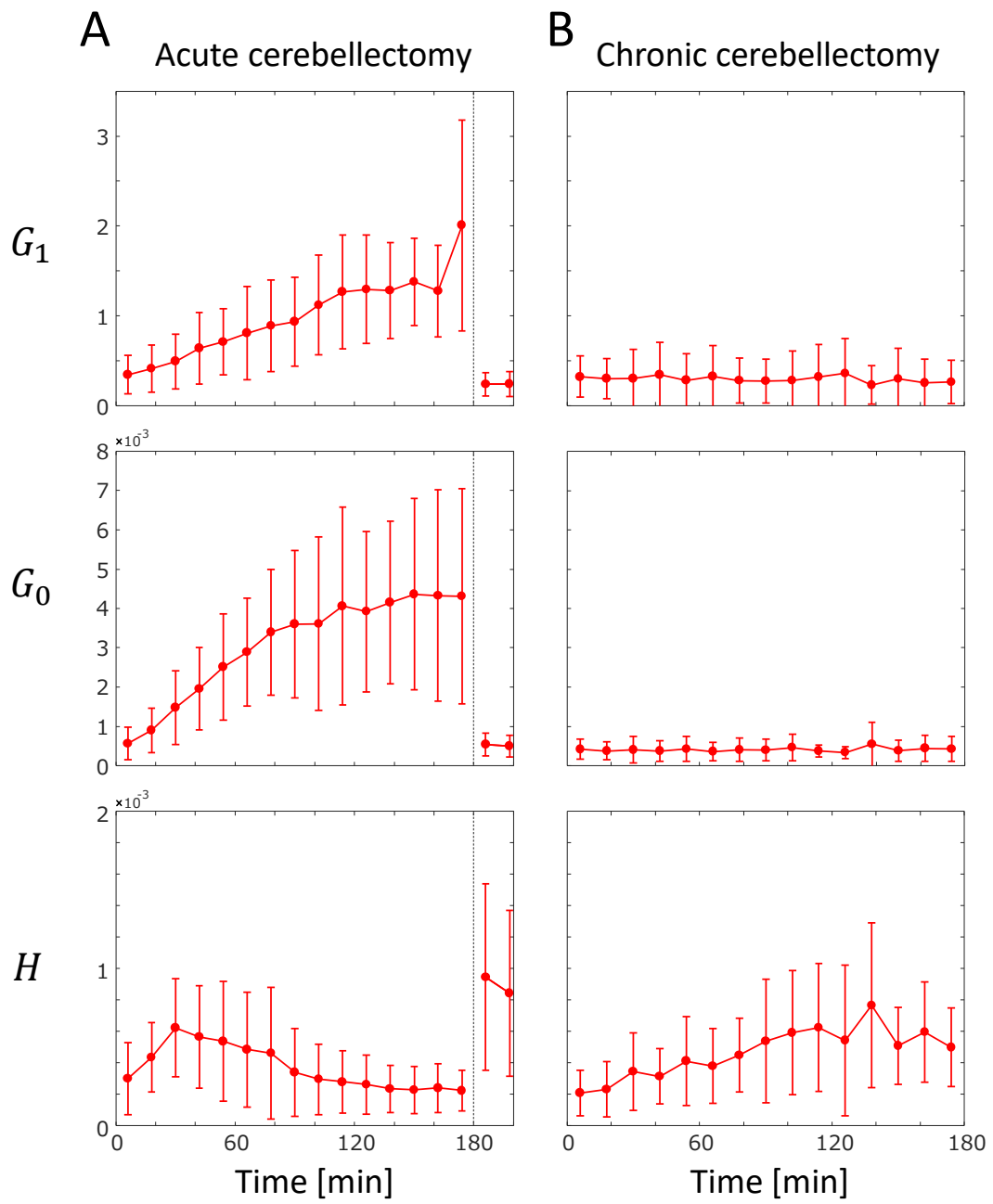


図 6.5 学習中の眼球速度波形から推定した OKR モデルの各パラメータ
 A : 学習後小脳切除実験, B : 学習前小脳切除実験

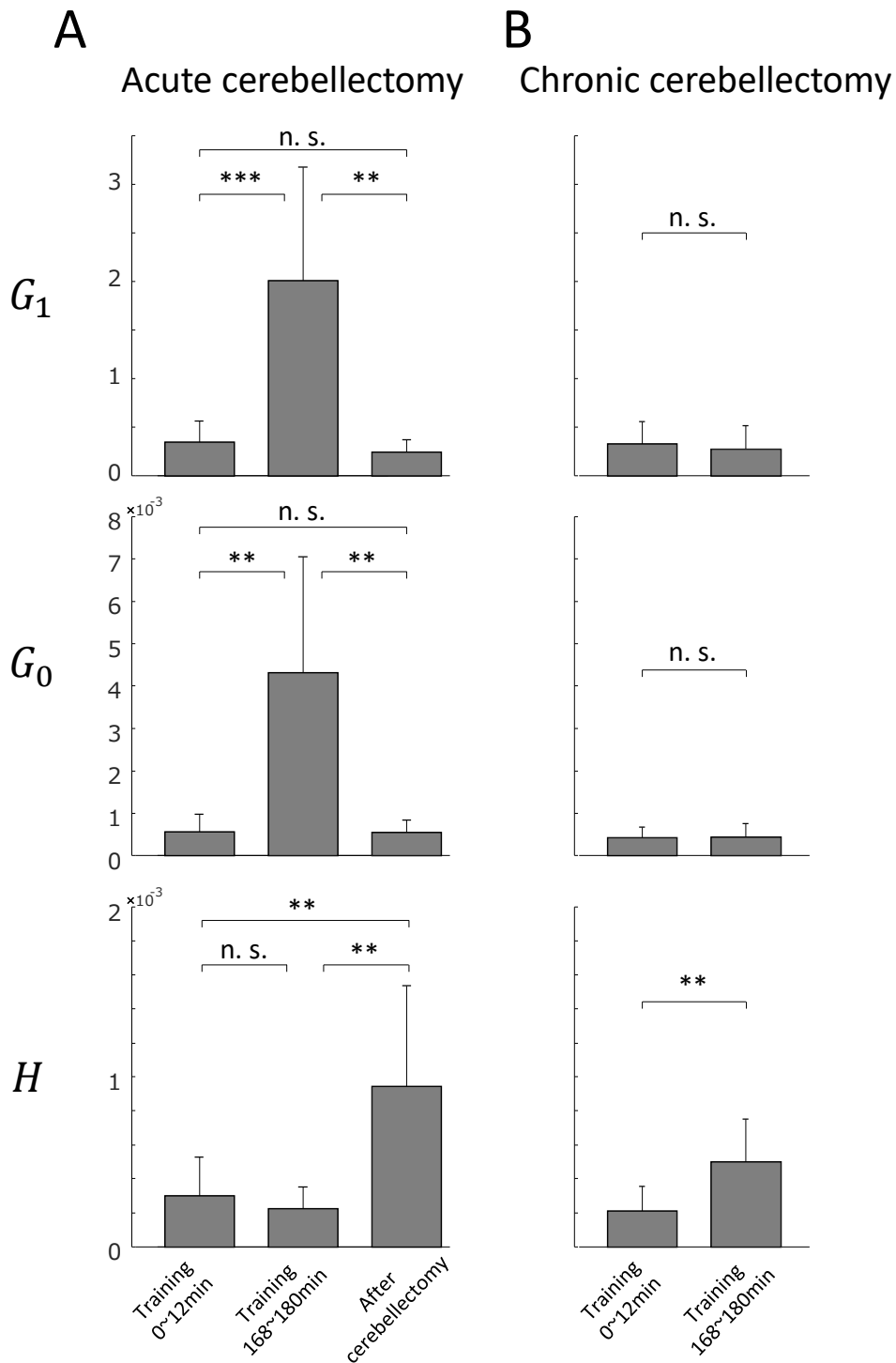


図 6.6 学習中の眼球速度波形から推定した OKR モデルの各パラメータの検定結果
 (* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$, *** : $p < 0.001$, n.s. : not significant)
 A : 学習後小脳切除実験, B : 学習前小脳切除実験

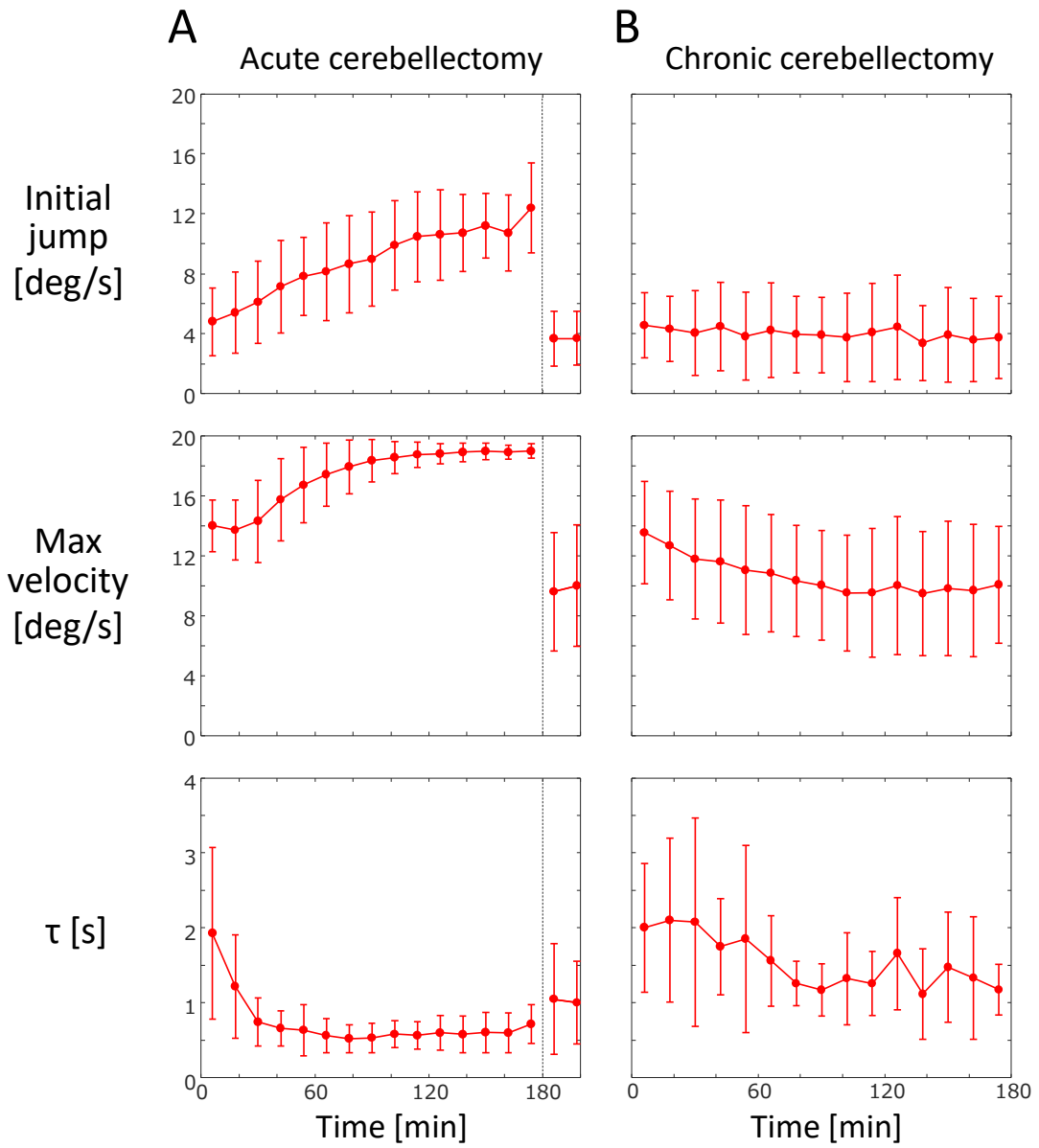


図 6.7 学習中の眼球速度波形から推定した OKR の初期眼球速度，最大速度，時定数
 A：学習後小脳切除実験，B：学習前小脳切除実験

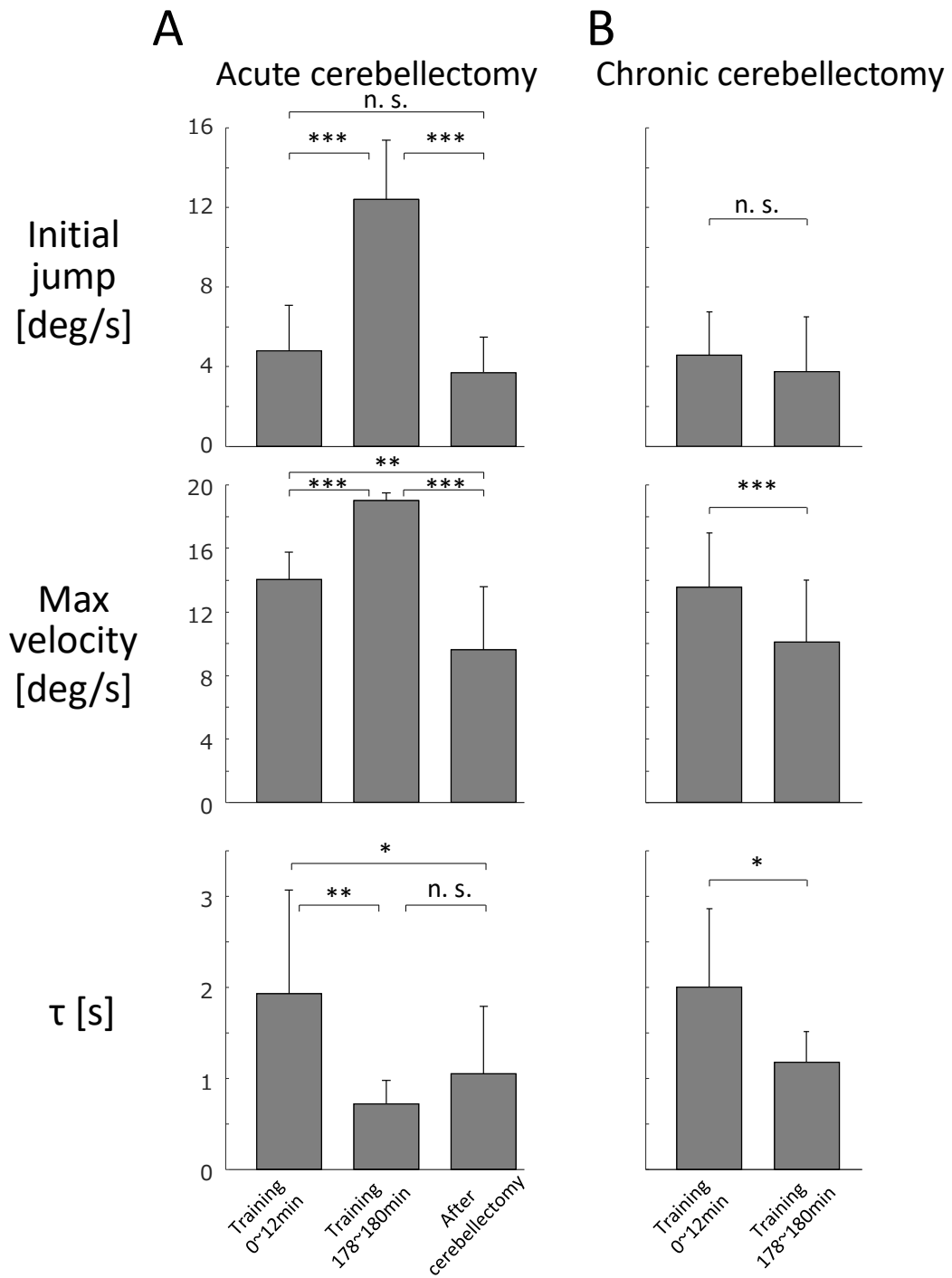


図 6.8 学習中の眼球速度波形から推定した OKR の初期眼球速度，最大速度，時定数の検定結果

(* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$, *** : $p < 0.001$, n.s. : not significant)

A : 学習後小脳切除実験， B : 学習前小脳切除実験

学習前小脳切除実験 (図 6.5B) では、学習によりモデルパラメータの G_1 , G_0 が変化せず、 H のみ値が上昇した。学習後小脳切除実験 (図 6.5A) では、学習によって獲得された G_1 , G_0 の変化は小脳切除により消失し、また H は学習により変化しなかったが、小脳切除により値が上昇した。このことから OKR 学習におけるモデルパラメータ G_1 , G_0 の変化は小脳が学習の獲得と維持に携わっており、パラメータ H は小脳と小脳外が学習と維持に関わっていると考えられる。さらに、学習後小脳切除実験 (図 6.7A) では、初期眼球速度は変化せず、最大学習速度は若干減少し、時定数は短くなった。学習前小脳切除実験 (図 6.7B) では、学習により上昇した初期眼球速度は小脳切除により学習前に戻り、最大眼球速度は学習前より小さくなり、時定数は変化しなかった。最大眼球速度は式 (2.3) で表されることから、学習により H が低下したことで、最大眼球速度が低下したことが示唆される。

パラメータ H の変化について小脳と小脳外の影響に着目すると、小脳あり個体で学習 30 分まで増加したあと徐々に減少し、学習 180 分後では学習開始直後と差が見られず、その後小脳を切除すると値が増加した。小脳切除により値が増加したことから、小脳は H を減少させていたと考えられる。また小脳切除後の H は学習開始直後より増加しており、学習前から小脳を切除した個体でも H の値が増加したことから小脳以外の領域が H を増加させていると考えられる。

6.5.1 モデル上における OKR の学習戦略

通常、OKR の学習は網膜像のブレを減らすように生じる。金魚では OKR の立ち上がりが遅いため、刺激開始直後が最もブレが多い。このとき網膜像のブレを減らすためには 1) 刺激開始直後の眼球速度 (Initial jump) を上昇させる、2) 最大眼球速度を上昇させる、3) 最大眼球速度に達する時間を早く、つまりは時定数を短くする、の 3 つ方法が考えられる。これらの戦略により網膜像のブレを小さくするための方法は、OKR のモデルにおいて以下のように表現する事ができる。1) では式 (2.2) から、 G_1 のパラメータを上昇させることで Initial jump の値が上昇する。2) では式 (2.3) から、 H を小さく、 G_1 または G_0 を大きくすることで最大眼球速度が上昇する。3) では式 (2.4) から、 H または G_0 を大きく、 G_1 を小さくすることで時定数 τ が短くなる。これらをまとめると、 G_0 については単調に値が増加することで、最大眼球速度が大きく、時定数 τ が短くなり、網膜像のブレを小さくすることができる。実際の小脳あり金魚の OKR 学習時の眼球運動を OKR モデルに基づいて評価すると G_0 の値は学習開始直後から単調に増加する傾向を示す (図 6.5A, G_0)。 G_1 については値を大きくすることで Initial jump が大きく、小さくすることで時定数 τ が短くなるような、網膜像のブレを小さくする上で相反したパラメータになっている。実際の OKR 学習中の G_1 の値は緩やかであるが学習が進むとともに値が増加する傾向を示している (図 6.5A, G_1)。 H は小さくすることで最大眼球速度が上昇し、大きくすることで時定数が短くなり、こちらも G_1 と同様に単調な変化が網膜像のブレの減少とまらないパラメータとなっ

ている。実際の学習では学習 30~40 分まで上昇した後に減少し、学習 180 分後では学習初期と同じほどの値になっている (図 6.5A, H)。このように、モデルのパラメータ上では G_1 と H に関してはそれぞれが増加、減少のどちらでも、片方の要素で網膜像のブレが小さく、もう片方で大きくなるトレード・オフの関係になるが、実際の金魚の OKR の学習では G_1 , G_0 を増加させ H を変化させないことで 1) 刺激開始直後の眼球速度を大きく、2) 最大眼球速度を大きく、3) 時定数を短くしており、どの要素でも網膜像のブレが減少するように変化していることが分かる。

一方、小脳が切除された金魚では、 G_1 , G_0 のパラメータは変化せず H のみ値が上昇している (図 6.5B)。その結果、式 (2.3) から H の値が上昇することで Max velocity が減少し、式 (2.4) から時定数が短くなるような学習をしていることが分かる。

これらのことから小脳と小脳外から共に影響を受けるパラメータ H は、小脳が最大眼球速度を上げるような学習を、小脳外は時定数を短くするような学習をしていることが示唆される。

6.6 プルキンエ細胞活動

学習後ならびに学習前小脳切除実験の結果から、周期同調の **Initiation** と **Termination** の獲得と維持には小脳が必要であることが明らかになった。そこで、実際の周期同調学習中の小脳プルキンエ細胞の活動を計測し、小脳の活動と周期同調の関わりを評価した。

両方向矩形波刺激学習中の 34 匹の金魚の左前庭小脳から、水平方向の眼球速度に反応を示す 48 個のプルキンエ細胞の活動を記録した。計測されたプルキンエ細胞集団は、殆どが反対側、つまり CW 方向の眼球速度に対して増加する発火頻度を示した。Pastor らの報告 [54]によると、これらのプルキンエ細胞は、眼球速度タイプ II (eII)、頭部速度タイプ I かつ眼球速度タイプ II (eIIhI) に分類される。周期同調学習中に記録された 48 個のプルキンエ細胞のうち、24 個の細胞は、従来研究で知られているように、眼球速度と明らかに相関する発火活動を示した [28, 54]。図 6.9A, B に両方向刺激中に同時に記録された代表的なプルキンエ細胞の単純スパイク (上) と眼球速度 (下) を示す。図 6.9A は、半周期 8 秒の刺激を 3 時間学習させた時、図 6.9B は学習後の 2 倍周期刺激時の例を示す。図 6.9A の連続した灰色のトレースは、最初は単純スパイクの波形を示し、次に灰色の点で示される瞬間的な発火頻度を示している。図 6.9A, B に重ねられた黒いトレースは、プルキンエ細胞の平均発火頻度を示す。Cycle average は、学習刺激と 2 倍周期刺激の最後の 10 周期の平均単純スパイクの発火頻度と眼球速度を示す。この細胞は、CW 方向への眼球速度に対し発火する細胞であるが、CCW 方向での予測性眼球速度低下が生じている間にも発火頻度が増加している。特に 2 倍周期刺激中はその傾向が顕著に確認でき、CCW 方向の予測性眼球速度低下時と、CW 方向の眼球運動時が同じ程度の発火頻度を示している。さらに、このプル

キンエ細胞の両方向刺激学習後暗所での発火頻度（図 6.9C）は，眼球速度と並行して明確な変調を示した．特に，時間と共に眼球速度は徐々に低下していくのに対し，発火頻度の最大値に殆ど低下が見られない．つまりこの細胞は直接眼球速度を表現している細胞ではないことが示唆される．図 6.10 には図 6.9 と異なる金魚の典型的なプルキンエ細胞（上）と眼球速度（下）の発火活動を示す．こちらの細胞も CW 方向の眼球速度だけではなく **Initiation** および **Termination** 成分と 2 倍周期刺激の予測的な眼球運動に対して発火頻度の増加が見られる．これらの結果は，少なくとも前庭小脳のプルキンエ細胞の集団が，周期同調の情報をエンコードしていることを示している．

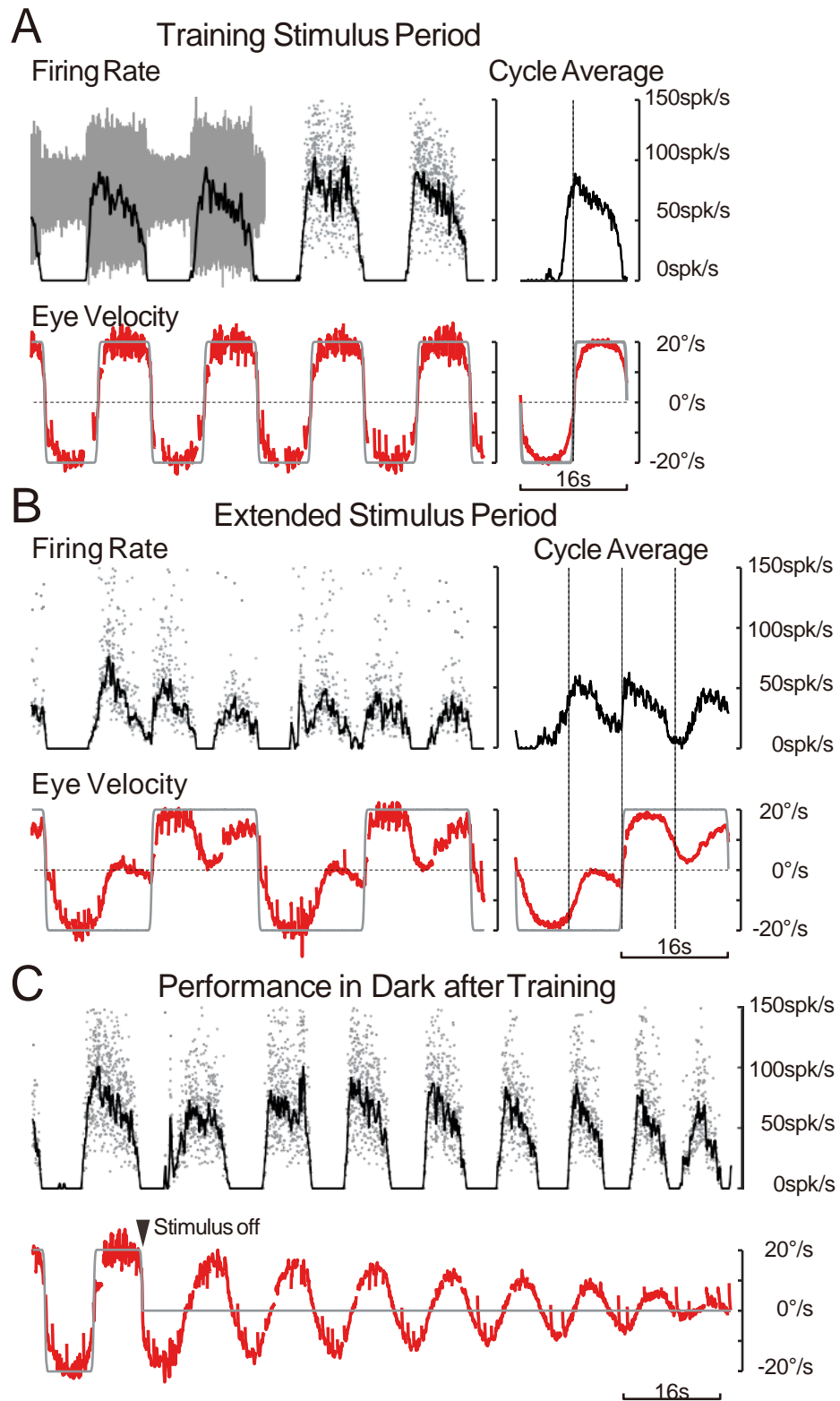


図 6.9 周期同調学習中の小脳プルキンエ細胞の活動
 学習中 (A), 評価中 (B), 学習後暗所 (C) でのプルキンエ細胞活動 (上段) と眼球速度 (下段).

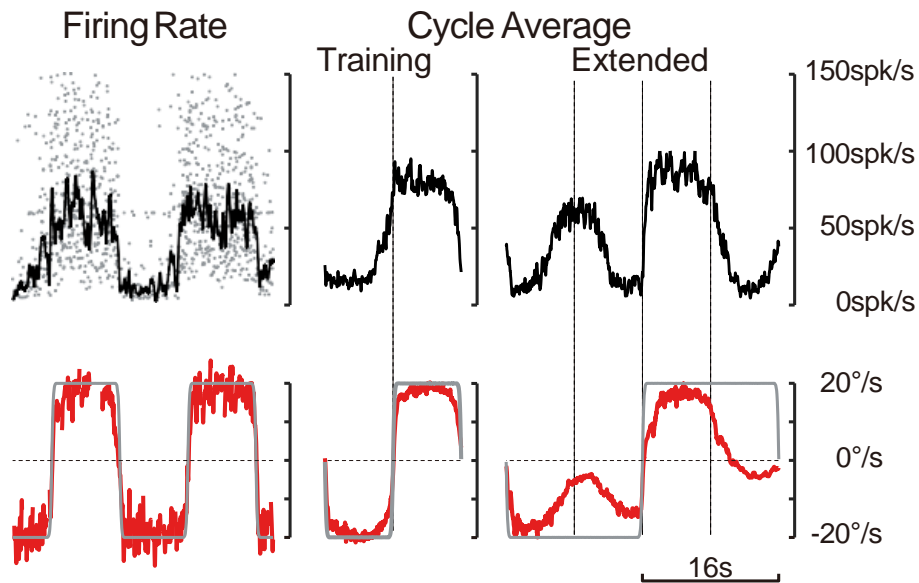


図 6.10 周期同調学習中の小脳プルキンエ細胞の活動

6.7 まとめ

本章では、周期同調の責任部位として小脳に着目し、周期同調学習前後に小脳を切除、または学習中に小脳プルキンエ細胞の神経電位計測を行い、小脳と周期同調の関係を評価した。

学習後小脳切除実験では、3時間の学習後に小脳を切除すると、獲得された **Initiation** と **Termination** の値が学習前の値に戻った (図 6.3B)。同様に、学習前に小脳を切除された個体では、学習によっていずれの予測性眼球運動も獲得されなかった (図 6.3C)。 **Initiation** 成分と **Termination** 成分は通常のコイロギョでは独立して獲得されるが、これらの結果は両方の予測が小脳依存であることを示している。

これらの学習時の **OKR** を定量的に評価したところ、予測性眼球運動と **OKR** の **Direct** 成分の学習の獲得と維持には小脳が必要であるものの、**Indirect** 成分の時定数学習の獲得と維持には小脳が必要でないことが明らかになった。また、このような小脳切除動物において **OKR** ゲインの学習が生じることを初めて示した。

また、周期同調学習中の小脳プルキンエ細胞を計測したところ、従来知られている眼球速度情報に加え、周期同調の眼球速度変化と同じ変化を示す神経活動が確認された。

結論として、小脳は **Initiation** や **Termination** の予測性眼球運動の獲得および維持のために必要であり、周期同調を駆動する情報は小脳に由来しているものと考えられる。

第7章 動物種による周期同調の差

7.1 はじめに

周期同調は、はじめに Marsh と Baker によって金魚で報告された[42]. 6章では、周期同調の獲得や維持に小脳が必要であることが明らかになった. 小脳は多くの運動の学習に関わっており、さらに、その構造は魚類から哺乳類まで動物種を超えて共通しているという特徴を持つ[1, 4, 8, 9, 15, 19, 24, 26, 37, 38, 43, 50, 63-65, 68, 69, 71]. もし、周期同調が小脳によって学習されるのであれば、金魚以外の種でも、OKR と小脳を有する種であれば周期同調が可能であると考えられる. 4.10 節では、ヒトにおいて周期同調の学習実験を実施したが、ヒトでは金魚と眼球運動の特性に違いがあり、ヒトで生じた予測性眼球運動が金魚の周期同調と同じ学習であるかの判断が困難であった. そこで本章では、金魚以外の動物種の周期同調を確認するための足掛かりとして、まずは複数の魚類に着目し、周期同調学習実験を行った. これら魚類の学習の可否や、金魚との学習の差異を評価することにより、周期同調の学習に必要な生得的要素について考察する.

7.2 魚類の周期同調

この実験では、すでに周期同調を学習することが知られている金魚に加え、コイ、ゼブラフィッシュ、メダカを用いて周期同調の学習実験を行う.

実験では、これら4種の魚に図4.1で使用した両方向矩形波刺激を30分与えたときの周期同調を評価した. 図7.1は、学習開始直後(左側, Control)と30分後(中央, Trained)の典型的な金魚(A)、コイ(B)、ゼブラフィッシュ(C)、およびメダカ(D)の眼球速度波形、および複数の個体の平均波形の重ね合わせ(右側)を示す. 金魚は5章で示したように、明確な周期同調(A, Trained, 濃オレンジ色の矢印)を示した. コイの学習開始直後では(B, Control, 左右, 薄赤線)、刺激方向の急激な変化に反応して眼球速度が小さく立ち上がり、次の刺激方向が切り替わるまで眼球速度が徐々に増加した. 30分後の眼球速度(B, Trained, 中央と右側, 濃赤線)は、学習開始直後(Control)よりも眼球速度の立ち上がりが大きく、その後の上昇も速い. これらの特徴は、図4.1Aや図7.1Aに例示されている金魚に類似しており、通常のOKRのゲイン適応[14, 35, 41, 47]である. さらに、コイの学習30分後では、刺激の方向が変化する前に予測的な眼球速度の低下が生じた(図7.1B, 中央). これは学習開始直後(図7.1B, 左側)には見られなかった特徴であり、金魚と同様の刺激終了タイミングを予測した眼球運動であると考えられる.

刺激方向切り替わり前 2 秒間の眼球速度を線形近似し、その傾きを眼球速度減少値として評価した。この方法により定量化した金魚の学習開始直後および学習 30 分後の平均減速度値は、それぞれ $0.29 \pm 0.12 \text{ deg/s}^2$ および $-1.18 \pm 0.35 \text{ deg/s}^2$ であり有意に減少していた (t -Test, $p = 7.9 \times 10^{-7}$)。コイも、学習開始直後の眼球速度減少値 (0.20 deg/s^2) と学習 30 分後の減速度 (-0.83 deg/s^2) は有意な差があった (t -Test, $p = 0.0015$)。

対照的に、ゼブラフィッシュ (計 9 匹) (図 7.1C) およびメダカ (計 13 匹) (図 7.1D) では、学習前後で予測性眼球速度低下を含む眼球速度波形の明確な変化は見られなかった。金魚やコイとは異なり、ゼブラフィッシュとメダカは学習開始直後からの眼球速度の大きな立ち上がりとその後の上昇を示しているが、30 分間の学習による変化は小さく、ゼブラフィッシュでは眼球速度の立ち上がりがわずかに大きく、その後の上昇もわずかに速くなるのみである。学習開始直後の眼球速度減少値はゼブラフィッシュ、メダカでそれぞれ $0.40 \pm 0.21 \text{ deg/s}^2$, $0.14 \pm 0.15 \text{ deg/s}^2$, 学習 30 分後では $0.05 \pm 0.14 \text{ deg/s}^2$, $-0.27 \pm 0.18 \text{ deg/s}^2$ であり、共に優位な差はなかった (t -Test, $p = 0.21$, $p = 0.10$)。

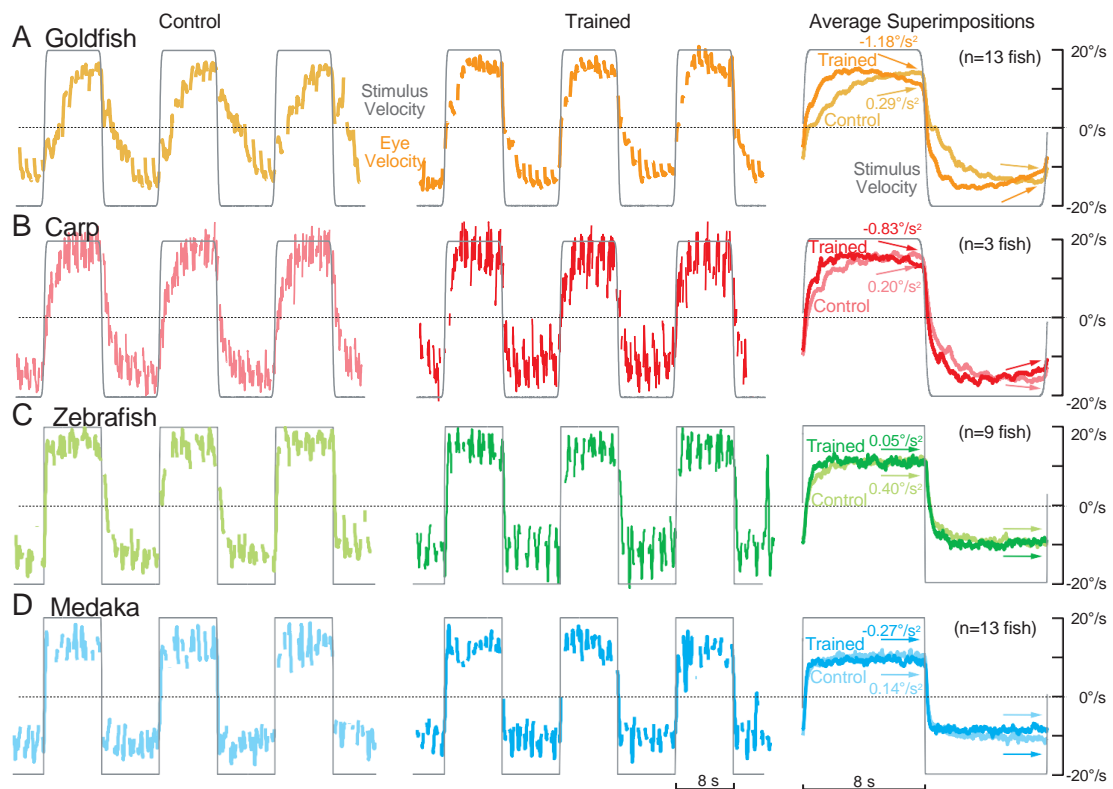


図 7.1 各魚の周期同調例

金魚 (A), コイ (B), ゼブラフィッシュ (C), メダカ (D) の学習初期 (左側), 学習 30 分後 (中央), 学習初期と学習 30 分後の平均眼球速度 (右側)。

図 7.2 は，図 7.1 と同じ学習の後に 2 倍周期刺激を提示（左側），あるいは暗所（右側）にした際の各魚の眼球速度波形例を示す．コイ（図 7.2B）は，2 倍周期期間（半周期 16 秒）で明確な予測性眼球速度低下を示し，また学習後（半周期 8 秒）に金魚（A）のような暗所での眼球速度振動を示した．対照的に，ゼブラフィッシュ（C）とメダカ（D）では，いずれも予測性の眼球運動が見られなかった．

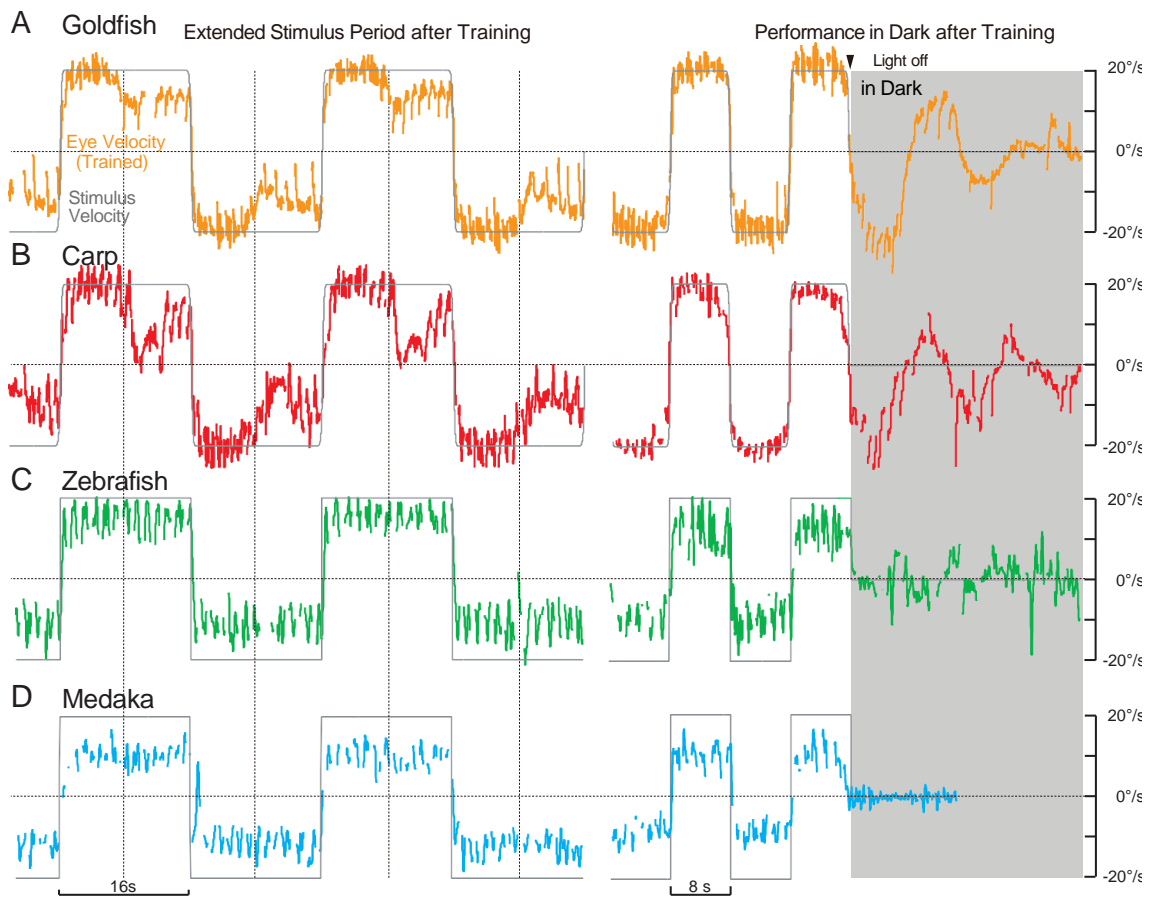


図 7.2 各魚の周期同調例

金魚（A），コイ（B），ゼブラフィッシュ（C），メダカ（D）の評価時（左側），学習後暗所の眼球速度例（右側）．

7.3 OKAN

複数の魚類の周期同調学習実験の結果から、金魚とコイには周期同調が生じ、ゼブラフィッシュとメダカでは周期同調が生じないことが明らかになった。これらの種では、OKRが生じ、かつ小脳を有するにも関わらず学習に差があった。つまりOKRと小脳以外に周期同調の学習に関与する要因があるものと考えられる。これについてMarshとBakerは、周期同調の学習には中枢神経系に存在する速度蓄積機構 (Velocity storage mechanism : VSM) が重要であると述べている[42]。周期同調の学習は2秒以下の周期では生じず、また速度蓄積機構により生じる視運動性後眼振 (Optokinetic after nystagmus : OKAN) は2秒以下の視覚刺激では生じないことから、周期同調が2秒以下の周期で生じないのはOKANの特性によるものであり、OKANを生じさせるVSMが周期同調の学習機構に組み込まれていると考えられている。そこで周期同調実験を実施した魚類のOKANを計測した。

図7.3に、金魚(A)、コイ(B)、ゼブラフィッシュ(C)、メダカ(D)のOKAN例を示す。一定速度(20 deg/s)の視覚刺激を1分間提示し、明かりを消灯した後の暗所でOKANを観察した。その結果、金魚(A)とコイ(B)は長く持続するOKANを示したが、対照的に、ゼブラフィッシュ(C)とメダカ(D)では殆どOKANが見られなかった(図7.3左側)。複数個体の平均OKAN持続時間は、金魚(n=13)、コイ(n=3)、ゼブラフィッシュ(n=5)、メダカ(n=5)でそれぞれ32.2, 11.8, 1.62, 0.73秒であった(図7.3右側)。このように、周期同調を獲得した金魚とコイは長い時定数を有するOKANを示したが、明確な周期同調を獲得しなかったゼブラフィッシュとメダカは非常に短いOKANを示した。

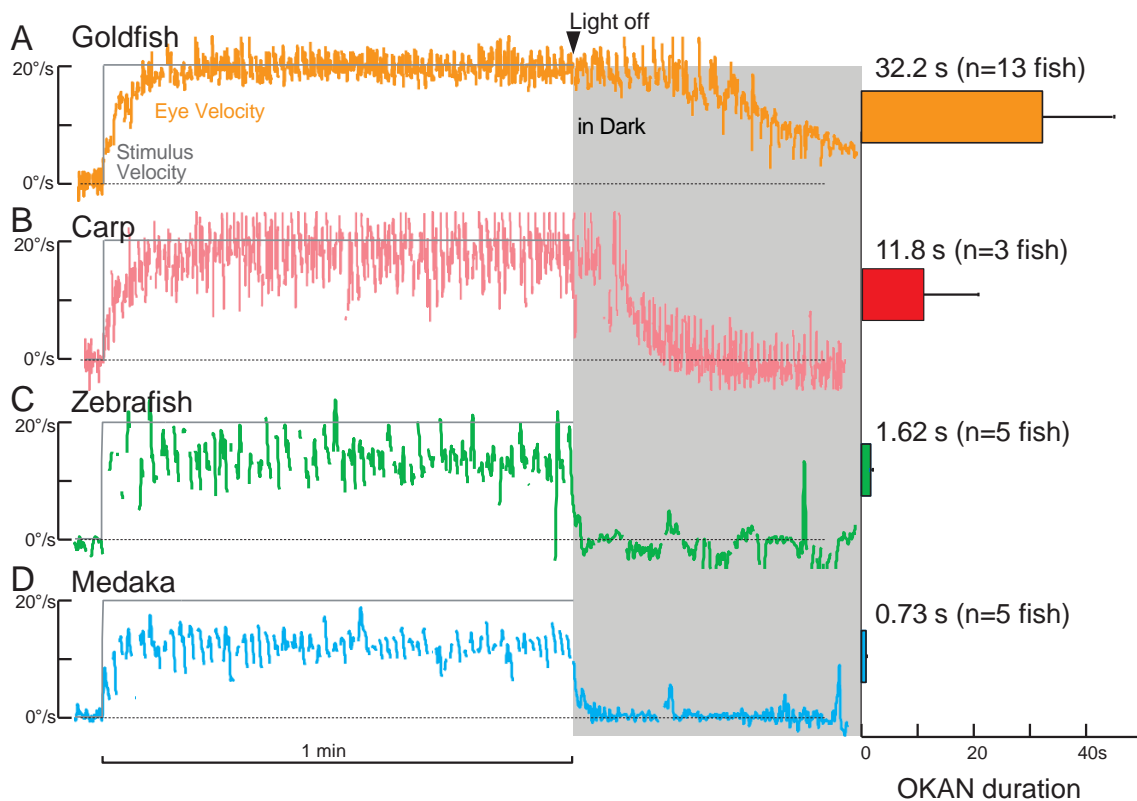


図 7.3 各魚の OKAN

金魚 (A), コイ (B), ゼブラフィッシュ (C), メダカ (D) の OKAN の一例 (左側) と平均 OKAN 持続時間 (右側)

7.4 OKAN Habituation

OKAN には Habituation と呼ばれる現象が知られている [12, 13, 41]. これは図 7.4 に示すように, OKAN が繰り返し測定されるとその持続時間が徐々に短くなる現象である. 図に示した金魚の個体では最初の測定で OKAN が 20 秒以上持続したが (1st Test), 5 回目の測定では 10 秒未満まで短くなった (5th Test). さらに, OKAN だけでなく, 視覚刺激開始後の眼球速度の立ち上がりが 5 回目のテストでは速くなっている. この 5 回目のテスト後に小脳を切除すると, OKAN の時定数は計測 1 回目の値に戻り, 眼球速度の立ち上がりの速さも戻った (Cerebellectomy after 5th Test). さらに, 一度小脳を切除された金魚は, その後 OKAN を繰り返し計測しても OKAN の Habituation は生じなかった.

金魚の周期同調の学習前後に OKAN を計測したところ, Habituation は金魚の周期同調の学習後にも生じていた (図 7.5). 片方向刺激を 3 時間学習する前後に, CCW および CW の OKAN を計測したところ, 刺激学習前の OKAN では CW と CCW 共に 50 秒より長く続いたのに対し (B, Control), 片方向刺激を 3 時間学習した直後の OKAN は, 学習してい

ない方向 (CCW) で 20 秒未満に短縮した。片方向刺激学習後の学習方向 (CW) の OKAN では、暗所で周期的な眼球運動が持続したため、OKAN の持続時間の評価は困難であった。

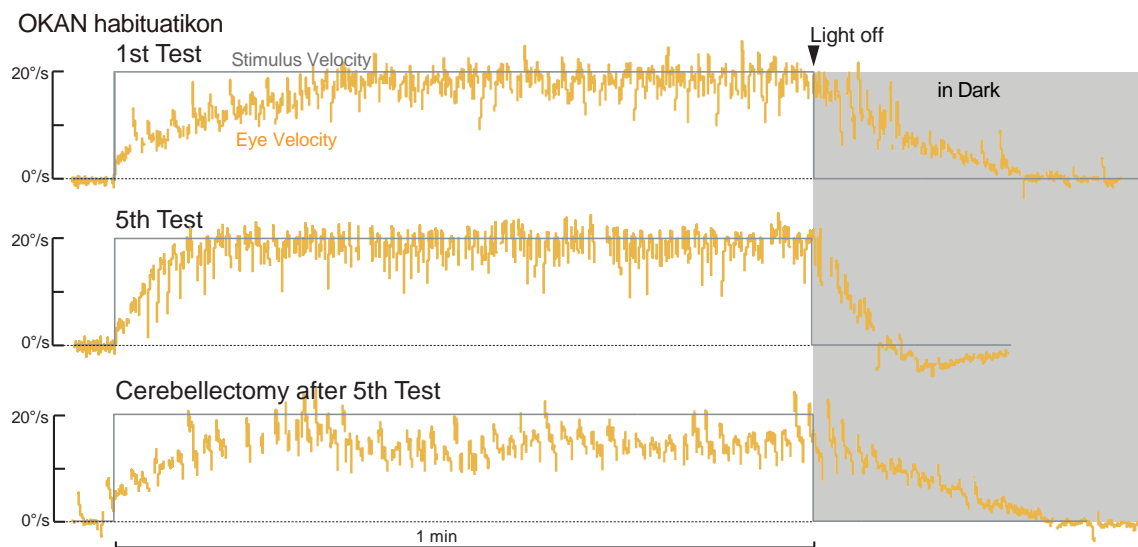


図 7.4 OKAN の Habituation (金魚)

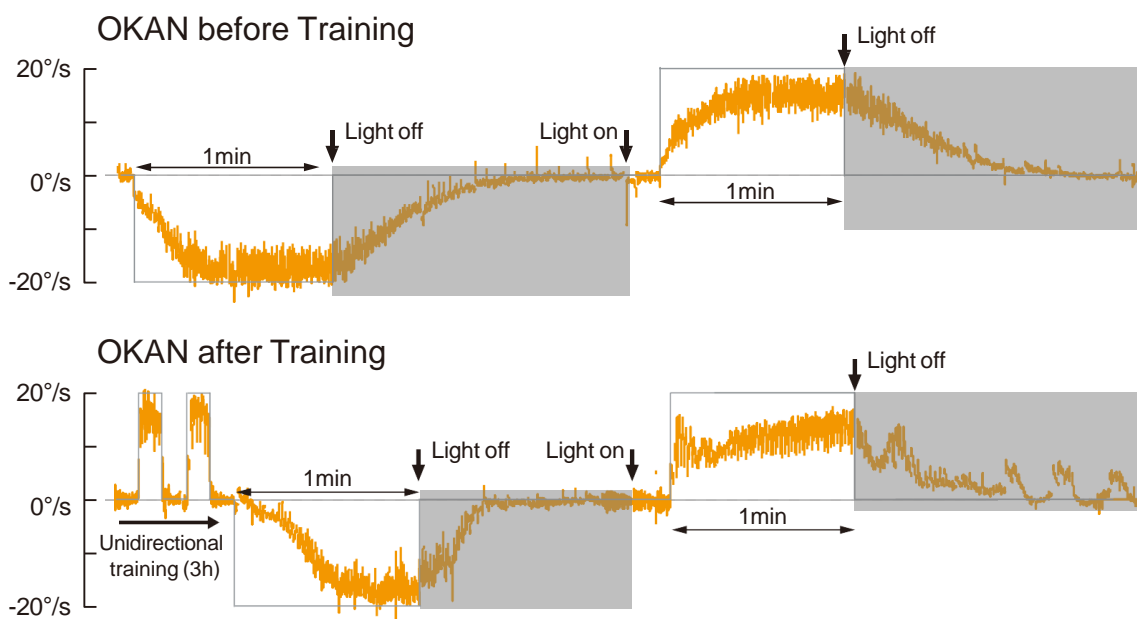


図 7.5 周期同調学習前後の OKAN (金魚)

7.5 まとめ

6章では、周期同調の学習に小脳が必要であることが明らかになった。異なる動物種間では、小脳の基本的な神経回路が共通しており、もし小脳のみによって周期同調の学習が行われるのであれば、他の動物種でも周期同調の学習が可能であると考えられる。そこで本章では、金魚以外に、コイ、ゼブラフィッシュ、メダカに対して周期同調学習実験を行い、これらの種の周期同調を評価した。その結果、既に周期同調の学習が確認されている金魚に加え、今回新たにコイでも周期同調が学習され、ゼブラフィッシュ、メダカでは周期同調が学習されないことを示した。また、周期同調と深い関わりがあると推測される視運動性後眼振（OKAN）の評価も同時に行い、周期同調が生じた金魚とコイでは長いOKANが生じたのに対し、周期同調が生じなかったゼブラフィッシュとメダカではOKANが殆ど見られないことが明らかになった。またOKANのHabituationと呼ばれるOKAN時定数の短縮が周期同調学習中に生じていることを示した。これらの結果から、周期同調の学習には小脳だけではなく、OKANを生じさせるVSMが重要な役割を果たしていることが示唆された。すなわち、ゼブラフィッシュやメダカでは、VSMの時定数が極めて短く、VSMからの眼球速度情報が小脳で利用できないため、周期同調を獲得できない可能性が考えられる。

第8章 前庭神経切断金魚の周期同調

8.1 はじめに

7章では、複数の種類の魚類に対し周期同調の学習実験を行い、OKANが生じる金魚とコイでは周期同調の学習が生じるのに対し、OKANの時定数が短いゼブラフィッシュ、メダカでは学習が生じないことを示し、眼球速度蓄積機構 (Velocity storage mechanism : VSM) の時定数が周期同調の学習の可否に関わることを示した。このVSMは前庭神経の疾患や外科的処置によってその時定数に影響を受けることが知られている。サルやウサギ、ヒトでは前庭器官からの平衡感覚情報を伝える前庭神経(第VIII神経)を切断すると、VSMによって生じるOKANが消失する[7, 9, 11, 21, 39, 44, 67, 73]。仮に、周期同調の学習にVSMの時定数が関わっているなら、第VIII神経切断手術を施しOKANが消失した動物では周期同調の学習に差異が現れると考えられる。そこで本章では、前庭神経切断金魚を作成し、この前庭神経切断金魚と通常のコイの周期同調を比較することにより、周期同調学習におけるVSMの役割を考察する。

8.2 前庭神経切断金魚

これまでにサル[11, 67]やウサギ[68]、ネコ[9, 39, 44]、ヒト[7, 21, 73]などの動物で前庭神経切断手術が行われ、その結果OKANが消失することが報告されている。図8.1は金魚の右側前庭器官の図である。ヒトなどの主要な脊椎動物種では前庭神経は上部と下部に分かれており、金魚でも水平半規管 (Horizontal Canal)、前半規管 (Anterior Canal)、卵形囊 (Utricle) の神経が集まった Superior branch の存在が確認された。この Superior branch は小脳切除に用いた頭蓋上部の穴から到達可能であるが、後半規管 (Posterior Canal) の神経への到達が困難であったため、本研究の前庭神経切断手術は Superior branch のみを切断することを目的とする。前庭神経切断手術を施された金魚は、術後水槽内で姿勢を維持していたものの、遊泳行動にはふらつきが見られた。これらの手術によって作成された前庭神経切断金魚の暗所での水平VORの結果を図8.2に示す。通常のコイでは、暗所において頭部速度に対する眼球速度を表すVORゲインは約0.9 (0.125Hz, 40 deg/s) であるが[42]、前庭神経切断金魚7匹の平均VORゲインは 0.0012 ± 0.0015 であり、前庭神経切断により水平半規管からの情報が失われたことが確認できる。

Right semicircular canals
(Injection of methylene blue)

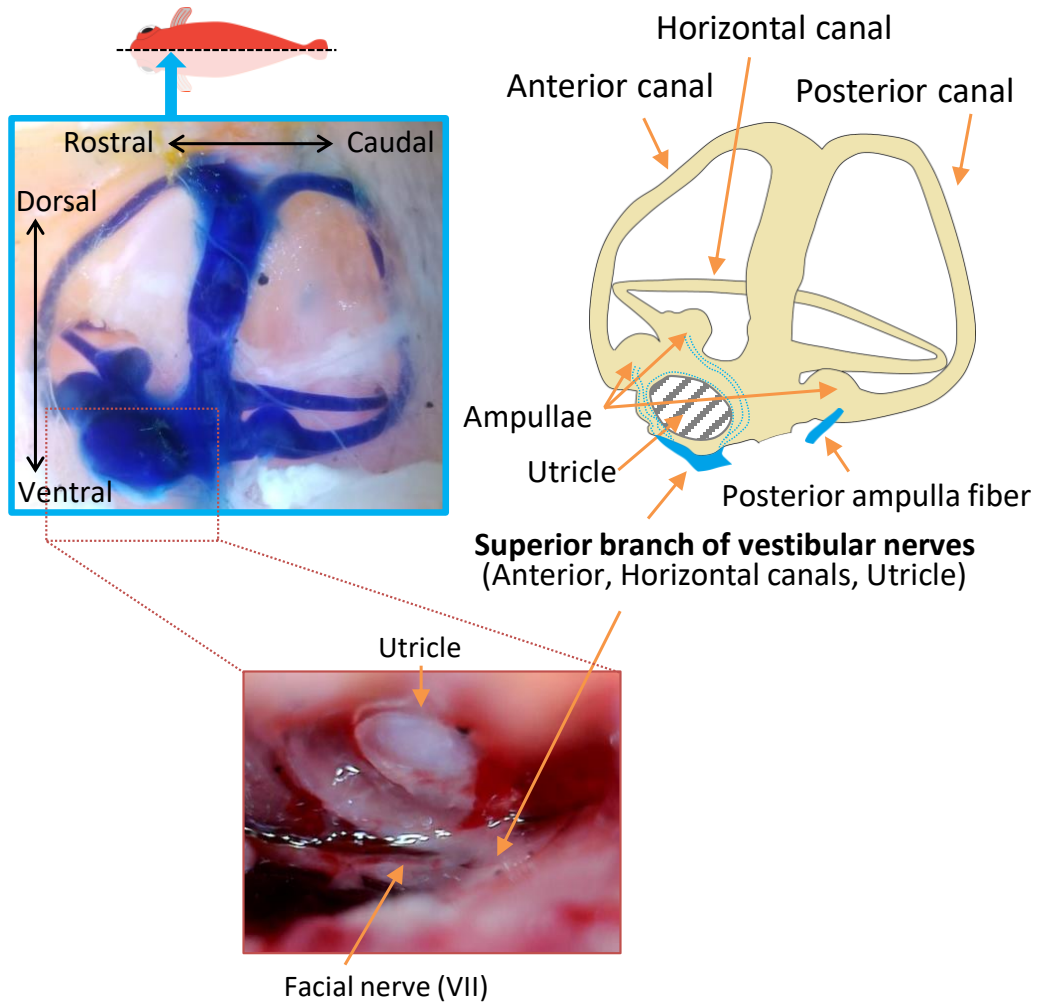


図 8.1 金魚の右側前庭器官

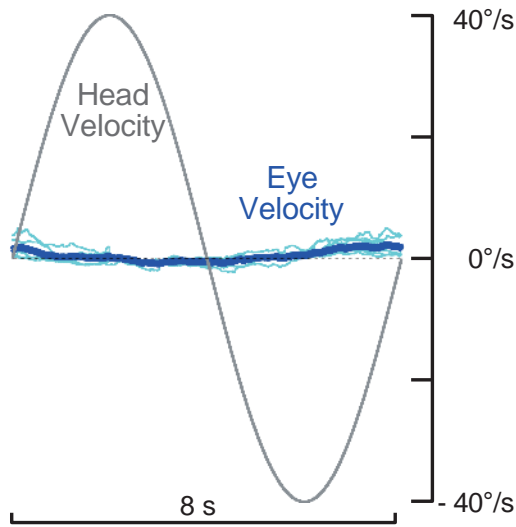


図 8.2 前庭神経切断金魚の暗所 VOR

前庭神経切断金魚の OKAN の結果を図 8.3 に示す。前庭神経を切断した 7 匹すべてで OKAN が完全に消失した個体は見られなかったものの、平均の OKAN 時定数は 4.5 秒であり、正常金魚の平均値 32.2 秒と比較し明らかに短い。また正常金魚では OKAN 時定数の個体差が大きく、その標準偏差は 25 秒であったが、前庭神経切断金魚では 1.2 秒と遥かに小さい。

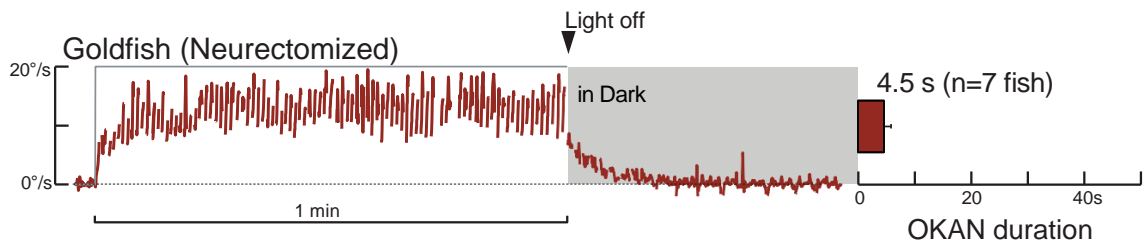


図 8.3 前庭神経切断金魚の OKAN

8.3 周期同調学習

図 8.4 に正常金魚（上段）と前庭神経切断金魚（下段）の両方向矩形波刺激学習時の典型的な眼球運動例を示す。学習に用いた刺激や、図のフォーマットは図 7.1 と同様である。前庭神経切断金魚でも正常な OKR が生じており、前庭神経切断は OKR 生成の基本的な機構に影響を与えていないことが確認できる（図 8.4B）。前庭神経切断金魚では正常の金魚に比べ眼球速度の立ち上がりが大きく、その後の緩やかな上昇が速い。そして学習 30 分後では、

視覚刺激方向の切り替わり前に眼球速度が減少していることが確認できる。7.2 節と同じ方法で眼球速度減少値を求めた結果，学習開始直後と学習 30 分後の眼球速度減少値はそれぞれ $-0.13 \pm 0.09 \text{ deg/s}^2$ (計 7 匹) と $-0.94 \pm 0.35 \text{ deg/s}^2$ (計 13 匹) であり，統計的に有意に減少していた (t -Test, $p = 0.0041$)。

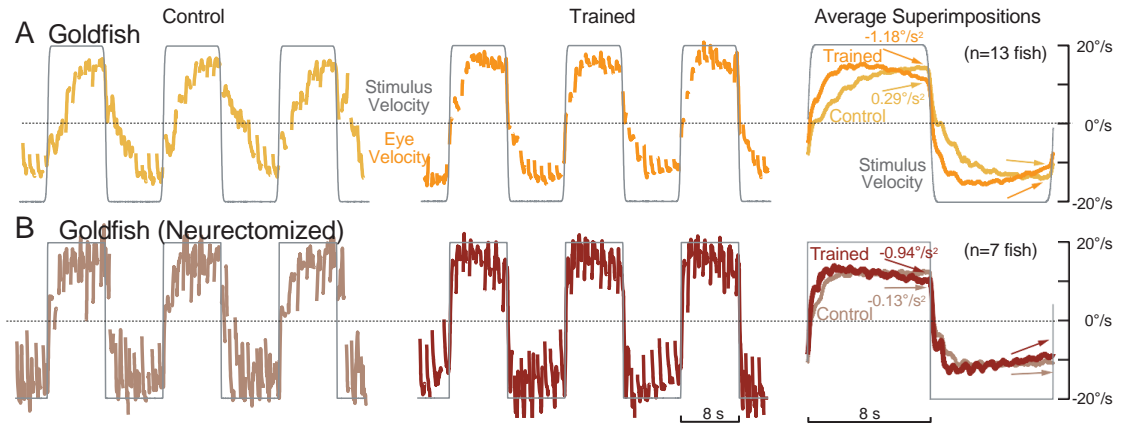


図 8.4 正常金魚と前庭神経切断金魚の周期同調

正常金魚 (A) と前庭神経切断金魚 (B) の学習初期 (左側)，学習 30 分後 (中央)，学習初期と学習 30 分後の平均眼球速度 (右側)。

さらに，正常金魚と前庭神経切断金魚の周期同調の差を評価するために 3 時間の学習を行った。両方向矩形波刺激の学習開始直後と学習 3 時間後の平均眼球速度を図 8.5 に示す。前庭神経切断金魚 (Control, 薄茶色, 計 7 匹) は，正常金魚 (Control, 薄オレンジ色, 計 13 匹) よりも眼球速度の立ち上がりが急で，その最大眼球速度は CW および CCW 回転の両方向で正常金魚よりわずかに早く定常状態に達している。学習 3 時間後 (Trained) では，正常金魚の立ち上がりの眼球速度はより速くなり，学習開始直後よりも最大速度が上昇し，視覚刺激の方向が変化する前に眼球速度が減速し始めた。これと同様に，前庭神経切断金魚でも学習 3 時間後は眼球速度の立ち上がりが大きく，学習開始直後よりも最大眼球速度が上昇し，視覚刺激の方向が変わる前に眼球速度が減少した。

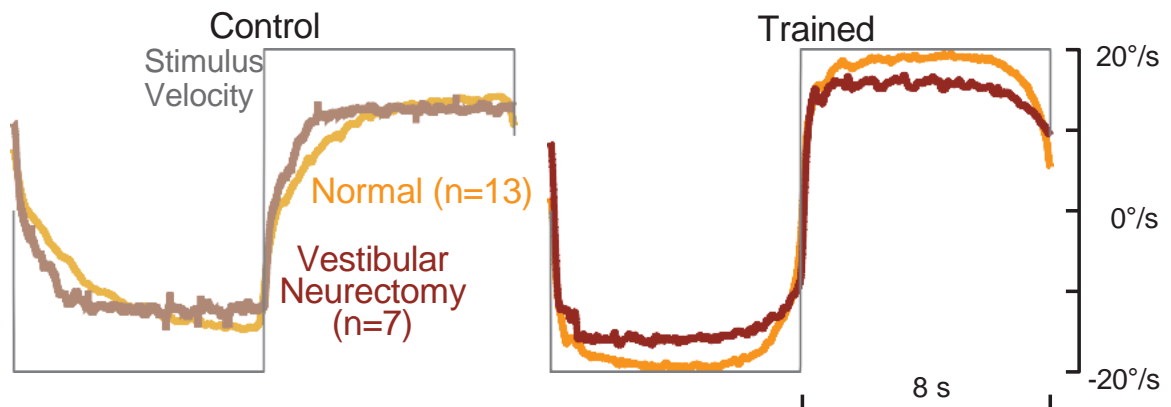


図 8.5 正常金魚と前庭神経切断金魚の周期同調

これらの周期同調学習量を定量的に評価するために、前庭神経切断金魚（茶色， $n=7$ ）と正常金魚（オレンジ， $n=13$ ）に対し 7.2 節と同じ方法で求めた眼球速度減少値の変化を図 8.6 に示す。正常金魚では、学習開始直後に正の値から始まり、徐々に負に減少し、学習 3 時間後には -3 deg/s^2 付近で定常状態に達した。一方、前庭神経切断金魚では、0 近くから始まり、正常金魚よりも遅い速度で徐々に負に減少した。学習 3 時間後では約 -2 deg/s^2 付近で定常状態に達しており、正常金魚と比べ眼球速度減少値は小さい。

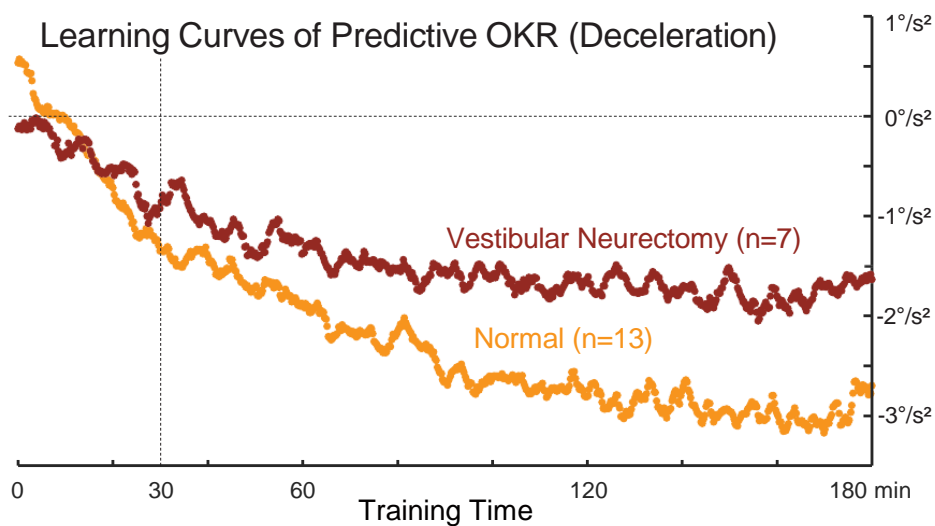


図 8.6 正常金魚と前庭神経切断金魚の眼球速度減少値

8.4 速度蓄積機構と周期同調の関わり

個体ごとの OKAN の持続時間と周期同調の学習量の関係を比較したものを図 8.7 に示す。横軸は OKAN の持続時間、縦軸は両方向刺激を 3 時間学習後の眼球速度減少値、オレンジ、茶色、赤色の各印がそれぞれ正常金魚、前庭神経切断金魚、コイの各個体の値を示す。正常金魚の OKAN 持続時間は最短 10.0 秒から最長 99.3 秒の間に分布しており個体差が大きい。前庭神経切断金魚では最短 2.6 秒から最長 5.4 秒であり正常金魚より個体差が小さい。前庭神経切除個体は、正常金魚の 9/13 匹、コイの 2/3 匹のデータが存在する眼球速度減少値が $1\sim 3 \text{ deg/s}^2$ の領域に集中しており、これは、正常金魚集団の約 70% に匹敵する。つまり、OKAN が短縮した前庭神経切除金魚と正常金魚では、周期同調の学習量に殆ど差がないことを示している。

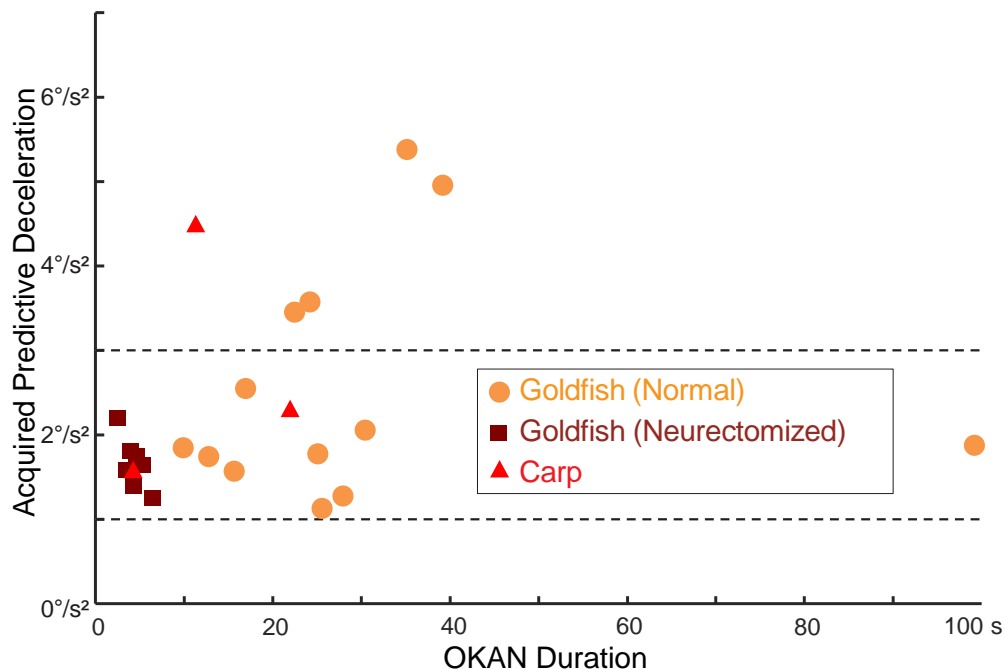


図 8.7 各種の個体ごとの OKAN 時定数と眼球速度減少値の散布図

8.5 まとめ

本章では、周期同調の学習と VSM の関係に着目し、前庭神経を切断することにより VSM の時定数を短縮した金魚を用いて実験を行った。前庭神経切断金魚では正常金魚と比較して、VSM によって駆動する OKAN の時定数が大きく短縮した。しかしながら、OKAN がゼブラフィッシュやメダカに近い値まで大幅に短縮した前庭神経切除金魚でも、正常金魚

とあまり変わらない周期同調を学習した。また、正常金魚とコイでも個体ごとの OKAN 時定数と周期同調の学習量を比較したところ、より長い OKAN を示した金魚とコイが、必ずしも周期同調をよりよく獲得するわけではなく (図 8.7)、これらに明確な相関は確認できなかった。これらの結果を総合すると、VSM の容量として現れる OKAN の時定数は、周期同調を学習する能力にあまり影響しないことが示唆された。したがって、VSM の容量は周期同調の学習を左右するものではなく、VSM の機構自体が周期同調の獲得に必要であることが示唆される。

第9章 結論

本論文では、予測性眼球運動である周期同調を対象としての行動実験、電気生理実験を行い、その学習特性を明らかにし、脳内で実現される運動タイミング学習の機構、及びそれを実現する脳内部位について論じた。

4章では、これまでに報告されている周期同調の特性について再現実験を行うとともに、それらに加え新たな特性にも着目して実験を行い、周期同調の諸特性を明らかにした。種々の視覚刺激を用いて学習を行わせた結果、周期同調には方向選択性があり、非周期的刺激や矩形波以外の刺激でも周期同調が生じることを初めてを示した。また、前庭刺激では OKR のような周期同調は生じず、またヒトでも金魚と同じような周期同調が生じないことを示した。

5章では、周期同調の予測性眼球速度低下を開始と終了に区別するために、片方向刺激を用いた実験を行った。その結果、予測性眼球運動は刺激が停止するタイミングで眼球速度が減少する **Termination** と、刺激の開始前に眼球速度が上昇する **Initiation** に分けられ、これらの学習が独立して生じることを示した。また同時に OKR の **Direct** 成分と **Indirect** 成分について定量的な評価を行い、矩形波視覚刺激を用いることでこれらの **Direct** 成分と **Indirect** 成分に学習が生じることを明らかにした。

6章では、周期同調の学習責任部位として小脳に着目し、周期同調学習前後に小脳を切除、または学習中に小脳プルキンエ細胞の神経電位計測を行い、小脳と周期同調の関係を評価した。その結果、小脳を切除した金魚では周期同調の学習が生じず、また学習前に小脳を切除された個体では、学習によって周期同調が獲得されないことから、周期同調が小脳依存であることを示した。また、周期同調学習中の金魚の小脳プルキンエ細胞活動を計測することで、小脳に周期同調の予測性眼球速度変化に応じた神経活動が生じていることを明らかにした。

7章では、金魚以外に、コイ、ゼブラフィッシュ、メダカに対して周期同調学習実験を行い、これらの種の周期同調を評価した。その結果、周期同調の発生が確認されている金魚に加え、新たにコイでも周期同調が生じ、ゼブラフィッシュ、メダカでは周期同調が生じないことを示した。また、周期同調と深い関わりがあると推測される視運動性後眼振 (OKAN) も同時に評価した結果、周期同調を学習した金魚とコイでは OKAN が生じ、周期同調を学習しなかったゼブラフィッシュとメダカでは OKAN が極めて短いことが明らかになった。これらの結果から、周期同調の学習には小脳だけではなく、OKAN の生成に関わる眼球速度蓄積機構 (VSM) が重要な役割を果たしていることが示唆された。

8章では、周期同調の学習と VSM の関係に着目し、前庭神経を切断することで VSM の時定数を短縮した金魚を用いて周期同調の実験を行った。その結果、VSM の時定数が短い前庭神経切除金魚でも、正常金魚と同じ程度の周期同調の学習量を示すことが明らかにな

った。また、正常金魚とコイでも個体ごとの OKAN 時定数と周期同調の学習量を比較したところ、より長い OKAN を示した金魚とコイが、必ずしも周期同調をよりよく獲得するわけではなく、これらの中に明確な相関は確認されなかった。これらの結果から、VSM の容量として現れる OKAN の時定数は、周期同調を学習する能力にあまり影響しないことが示唆された。したがって、VSM を構成する神経回路が存在することが、その容量に関係なく、周期同調の獲得に重要である可能性が考えられる。

本研究では、OKR の周期同調の学習特性、及びその学習と小脳、VSM の関わりについて新たな知見を示した。本研究の結果は主に周期同調の学習特性とその責任部位についてであり、これらの領域間でどのように時間が表現されているかについてはさらなる研究が必要である。OKR や小脳、VSM については既にいくつかの数理モデルが提案されており、現在、本研究の知見を基にして、周期同調の計算アルゴリズムや神経回路を明らかにするための数理的アプローチによる研究が進められている[55]。今後このような数理的アプローチにより、予測性運動制御の神経科学的理解が進むとともに、生体の予測性運動制御メカニズムがロボット制御などの工学技術へ応用されることが期待される。

謝辞

本研究を行うにあたり，中部大学工学部ロボット理工学科，平田 豊教授には長年に渡り親切で熱心な御指導を賜りました。平田先生に御指導を頂き研究を行えたことは筆者にとって最良の経験でした。厚く御礼申し上げます。

また，研究を進める上で，**New York University Langone Medical Center, Robert G. Baker** 名誉教授には多数のご指導，ご助言を頂きましたこと深く感謝致します。

本論文の執筆にあたりご助力を頂きました，中部大学工学部情報工学科 山内康一郎教授，山本一公准教授に感謝致します。

中部大学平田研究室の皆様には大変お世話になりました。特に第7章のゼブラフィッシュ，メダカの実験に協力してくれた浦瀬康平氏，研究活動全般をサポートして下さいました村上美佳氏に心より感謝致します。

参考文献

- [1] Altman J, Bayer SA (1997) Development of the Cerebellar System in Relation to Its Evolution, Structure, and Function. CRC Press.
- [2] Parker A (2003) In The Blink Of An Eye. Basic Books.
- [3] Azevedo FA, Carvalho LR, Grinberg LT, Farfel JM, Ferretti RE, Leite RE, Jacob FW, Lent R, Herculano-Houzel S (2009) Equal numbers of neuronal and nonneuronal cells make the human brain an isometrically scaled- up primate brain. *J Comp Neurol* 513(5):532-41.
- [4] Bae YK, Kani S, Shimizu T, Tanabe K, Nojima H, Kimura Y, Higashijima S, Hibi M (2009) Anatomy of zebrafish cerebellum and screen for mutations affecting its development. *Dev Biol* 330(2):406-26.
- [5] Beck JC, Gilland E, Tank DW, Baker R (2004) Quantifying the ontogeny of optokinetic and vestibuloocular behaviors in zebrafish, medaka, and goldfish. *J Neurophysiol*, 92(6):3546-61.
- [6] Beck JC, Rothnie P, Straka H, Wearne SL, Baker R (2006) Precerebellar hindbrain neurons encoding eye velocity during vestibular and optokinetic behavior in the goldfish. *J Neurophysiol* 96(3):1370–1382.
- [7] Brantberg K, Magnusson M (1990) Asymmetric optokinetic afterresponse in patients with small acoustic neurinomas. *J Vestib Res* 1(3):299-307.
- [8] Butler AB, Hodos H (1996) Comparative Vertebrate Neuroanatomy: Evolution and Adaptation. Wiley-Liss.
- [9] Capps MJ, Roth JA (1978) Visually evoked eye movements: effects of labyrinthectomy. *Exp Neurol* 58(2):251-60.
- [10] Cohen B, Matsuo V, Raphan T (1997) Quantitative analysis of the velocity

characteristics of optokinetic nystagmus and optokinetic after-nystagmus. *J Physiol* 270(2):321-44.

- [11] Cohen B, Uemura T, Takemori S (1973) Effects of labyrinthectomy on optokinetic nystagmus (OKN) and optokinetic after-nystagmus (OKAN). *Int J Equilib Res* 3(1):88-93.
- [12] Cohen H, Cohen B, Raphan T, Waespe W (1992) Habituation and adaptation of the vestibuloocular reflex: a model of differential control by the vestibulocerebellum. *Exp Brain Res* 90(3):526-38.
- [13] Collewijn H (1976) Impairment of optokinetic (after-)nystagmus by labyrinthectomy in the rabbit. *Exp Neurol* 52(1):146-56.
- [14] Collewijn H, Grootendorst AF (1979) Adaptation of optokinetic and vestibulo-ocular reflexes to modified visual input in the rabbit. *Prog Brain Res* 50:771-81.
- [15] Dallos P, Jones R(1963) Learning behavior of the eye fixation control system, *IEEE Trans Automat Contr* 8(3):218-227
- [16] Dodge R, Travis R, Fox C (1930) Optic nystagmus III. Characteristics of the slow phase, *Arch Neurol Psychiatry* 24:21-34
- [17] Dohaku R, Yamaguchi M, Yamamoto N, Shimizu T, Osakada F, Hibi M (2019) Tracing of Afferent Connections in the Zebrafish Cerebellum Using Recombinant Rabies Virus. *Front Neural Circuits* 13:30.
- [18] Easter SS Jr (1972) Pursuit eye movements in goldfish (*Carassius auratus*). *Vision Res* 12(4):673-88.
- [19] Finger TE (1983) The gustatory system in teleost fish. In: *Fish Neurobiology*. 285–319, University of Michigan Press.
- [20] Fuchs AF, Mustari MJ (1993) The optokinetic response in primates and its possible neuronal substrate. *Rev Oculomot Res* 5:343-69.

- [21] Hain TC, Herdman SJ, Holliday M, Mattox D, Zee DS, Byskosh AT (1994) Localizing value of optokinetic afternystagmus. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 103(10):806-11.
- [22] Hattori Y, Tomonaga M, Matsuzawa T (2013) Spontaneous Synchronized Tapping to an Auditory Rhythm in a Chimpanzee. *Sci Rep* 3:1566.
- [23] Heinen J, Badler B, Ting W (2005) Timing and velocity randomization similarly affect anticipatory pursuit *J Vis* 5(6):493-503
- [24] Heinen SJ, Badler JB, Ting W (2005) Timing and velocity randomization similarly affect anticipatory pursuit. *J Vis* 5(6):493–503.
- [25] Hibi M, Matsuda K, Takeuchi M, Shimizu T, Murakami Y (2017) Evolutionary mechanisms that generate morphology and neural-circuit diversity of the cerebellum. *Dev Growth Differ* 59(4):228-43.
- [26] Hibi M, Shimizu T (2012) Development of the cerebellum and cerebellar neural circuits. *Dev Neurobiol* 72(3):282-301.
- [27] Hirano T (1990) Effects of postsynaptic depolarization in the induction of synaptic depression between a granule cell and a Purkinje cell in rat cerebellar culture. *Neurosci Lett* 119(2):145-7.
- [28] Hirata Y, Highstein SM (2001) Acute adaptation of the vestibuloocular reflex: signal processing by floccular and ventral parafloccular Purkinje cells. *J Neurophysiol* 85(5):2267-88.
- [29] Ikenaga T, Yoshida M, Uematsu K (2005) Morphology and immunohistochemistry of efferent neurons of the goldfish corpus cerebelli. *J Comp Neurol* 487(3):300-11.
- [30] Ikenaga T, Yoshida M, Uematsu K (2006) Cerebellar efferent neurons in teleostsh, *Cerebellum* 5(4):268-74.
- [31] Ito M (1989) Long-term depression. *Annu Rev Neurosci* 12:85-102.

- [32] Ito M (2011) *The Cerebellum: Brain for an Implicit Self*. New York: FT Press.
- [33] Ito M, Jastreboff PJ (1979) Miyashita Y, Adaptive modification of the rabbit's horizontal vestibulo-ocular reflex during sustained vestibular and optokinetic stimulation. *Exp Brain Res* 37(1):17-30.
- [34] Kani S, Bae YK, Shimizu T, Tanabe K, Satou C, Parsons MJ, Scott E, Higashijima S, Hibi M (2010) Proneural gene-linked neurogenesis in zebrafish cerebellum. *Dev Biol* 343(1-2):1-17.
- [35] Katoh A, Kitazawa H, Itohara S, Nagao S (1998) Dynamic characteristics and adaptability of mouse vestibulo-ocular and optokinetic response eye movements and the role of the flocculo-olivary system revealed by chemical lesions. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95(13):7705-10.
- [36] Katoh A, Kitazawa H, Itohara S, Nagao S (2000) Inhibition of nitric oxide synthesis and gene knockout of neuronal nitric oxide synthase impaired adaptation of mouse optokinetic response eye movements. *Learn Mem* 7(4):220-6.
- [37] Köster RW, Fraser SE (2001) Direct imaging of in vivo neuronal migration in the developing cerebellum. *Curr Biol* 11(23):1858-63.
- [38] Köster RW, Fraser SE (2006) FGF signaling mediates regeneration of the differentiating cerebellum through repatterning of the anterior hindbrain and reinitiation of neuronal migration. *J Neurosci* 26(27):7293-304.
- [39] Money KE, Scott JW (1962) Functions of separate sensory receptors of nonauditory labyrinth of the cat. *Am J Physiol* 202:1211-20.
- [40] Maioli C, Precht W, Ried S (1983) Short- and long-term modifications of vestibulo-ocular response dynamics following unilateral vestibular nerve lesions in the cat. *Exp Brain Res* 50(2-3):259-74.
- [41] Major G, Baker R, Aksay E, Mensh B, Seung HS, Tank DW (2004) Plasticity and tuning by visual feedback of the stability of a neural integrator. *Proc Natl Acad Sci USA* 101(20):7739-44.

- [42] Marsh E, Baker R (1997) Normal and adapted visuocolomotor reflexes in goldfish. *J Neurophysiol* 77(3):1099-118.
- [43] McElligott JG, Weiser M, Baker R (1995) Effect of temperature on the normal and adapted vestibulo-ocular reflex in the goldfish. *J Neurophysiol* 74(4):1463-72.
- [44] Meek J (1992) Comparative aspects of cerebellar organization. From mormyrids to mammals. *Eur J Morphol* 30(1):37-51.
- [45] Miura A, Kudo K, Ohtsuki T, Kanehisa H (2011) Coordination modes in sensorimotor synchronization of whole-body movement: a study of street dancers and non-dancers. *Hum Mov Sci* 30(6):1260-71.
- [46] Mueller KP, Neuhauss SC (2010) Quantitative measurements of the optokinetic response in adult fish. *J Neurosci Methods* 186(1):29-34.
- [47] Nagao S (1983) Effects of vestibulocerebellar lesions upon dynamic characteristics and adaptation of vestibulo-ocular and optokinetic responses in pigmented rabbits. *Exp Brain Res* 53(1):36-46.
- [48] Nagao S, Kitazawa H (2000) Subdural applications of NO scavenger or NO blocker to the cerebellum depress the adaptation of monkey post-saccadic smooth pursuit eye movements. *Neuroreport* 11(1):131-4.
- [49] Nagao S, Kitazawa H (2008) Role of the cerebellum in the acquisition and consolidation of motor memory. *Brain Nerve* 60(7):783-90.
- [50] Nieuwenhuys R (1967) Comparative anatomy of the cerebellum. *Prog Brain Res* 25:1-93.
- [51] Noto CT, Watanabe S, Fuchs AF (1999) Characteristics of simian adaptation fields produced by behavioral changes in saccade size and direction. *J Neurophysiol* 81(6):2798-813.
- [52] Pastor AM, Calvo PM, de la Cruz RR, Straka H, Baker R (2015) Discharge

properties of vestibular neurons during horizontal eye movements in the goldfish. 45th Annual Meeting Soc Neurosci Abstr.

- [53] Pastor AM, de la Cruz RR, Baker R (1997) Characterization of Purkinje cells in the goldfish cerebellum during eye movement and adaptive modification of the vestibulo-ocular reflex. *Prog Brain Res* 114:359-81.
- [54] Pastor AM, de la Cruz RR, Baker R (1994) Cerebellar role in adaptation of the goldfish vestibuloocular reflex. *J Neurophysiol* 72(3):1383-94.
- [55] Patel AD, Iversen JR, Bregman MR, Schulz I (2009) Experimental evidence for synchronization to a musical beat in a nonhuman animal. *Curr Biol* 19(10):827-30.
- [56] Pinzon Morales RD, Miki S, Hirata Y (2019) A neural mechanism for predictive optokinetic eye movement. 28th Annual Computational Neuroscience Meeting, 10.13140/RG.2.2.12852.60804.
- [57] Raphan T, Matsuo V, Cohen B (1979) Velocity storage in the vestibulo-ocular reflex arc (VOR). *Exp Brain Res* 35(2):229-48.
- [58] Repp BH, Su YH (2013) Sensorimotor synchronization: a review of recent research (2006-2012). *Psychon Bull Rev* 20(3):403-52
- [59] Robinson DA (1963) A method of measuring eye movement using a scleral search coil in a magnetic field, *IEEE Trans Biomed Eng* 10:137-45.
- [60] Schweigart G, Mergner T, Evdokimidis I, Morand S, Becker W (1997) Gaze stabilization by optokinetic reflex (OKR) and vestibulo-ocular reflex (VOR) during active head rotation in man. *Vision Research* 37(12):1643-52.
- [61] Straka H, Beck JC, Pastor AM, Baker R (2006) Morphology and physiology of the cerebellar vestibulolateral lobe pathways linked to oculomotor function in the goldfish. *J Neurophysiol* 96(4):1963–80.
- [62] Sumbre G, Muto A, Baier H, Poo MM (2008) Entrained rhythmic activities of neuronal ensembles as perceptual memory of time interval. *Nature* 456:102-6.

- [63] Takeuchi M, Inoue C, Goshima A, Nagao Y, Shimizu K, Miyamoto H, Shimizu T, Hashimoto H, Yonemura S, Kawahara A, Hirata Y, Yoshida M, Hibi M (2017) Medaka and zebrafish contactin1 mutants as a model for understanding neural circuits for motor coordination. *Genes Cells* 22(8):723-41.
- [64] Takeuchi M, Yamaguchi S, Yonemura S, Kakiguchi K, Sato Y, Higashiyama T, Shimizu T, Hibi M (2015) Type IV collagen controls the axogenesis of cerebellar granule cells by regulating basement membrane integrity in zebrafish. *PLoS Genet* 11(10):e1005587.
- [65] Tanabe K, Kani S, Shimizu T, Bae YK, Abe T, Hibi M (2010) Atypical protein kinase C regulates primary dendrite specification of cerebellar Purkinje cells by localizing Golgi apparatus. *J Neurosci* 30(50):16983-92.
- [66] Torre K, Delignières D (2008) Distinct ways of timing movements in bimanual coordination tasks: contribution of serial correlation analysis and implications for modeling. *Acta Psychol* 129(2):284-96
- [67] Uemura T, Cohen B (1973) Effects of vestibular nuclei lesions on vestibulo-ocular reflexes and posture in monkeys. *Acta Otolaryngol Suppl* 315:1-71.
- [68] Volkman K, Chen YY, Harris MP, Wullmann MF, Köster RW (2010) The zebrafish cerebellar upper rhombic lip generates tegmental hindbrain nuclei by long-distance migration in an evolutionary conserved manner. *J Comp Neurol* 518(14):2794-817.
- [69] Volkman K, Rieger S, Babaryka A, Köster RW (2008) The zebrafish cerebellar rhombic lip is spatially patterned in producing granule cell populations of different functional compartments. *Dev Biol* 313(1):167-80.
- [70] Waespe W, Henn V (1985) Cooperative functions of vestibular nuclei neurons and floccular Purkinje cells in the control of nystagmus slow phase velocity: single cell recordings and lesion studies in the monkey. *Rev Oculomot Res* 1:233-50.
- [71] Wullmann MF, Mueller T, Distel M, Babaryka A, Grothe B, Köster RW (2011) The long adventurous journey of rhombic lip cells in jawed vertebrates: a comparative

developmental analysis. *Front Neuroanat* 5:27.

- [72] Yuan W, Semmlow JL, Munoz P (2000) Effects of prediction on timing and dynamics of vergence eye movements, *Ophthalmic and Physiological Optics* 20(4):298–305.
- [73] Zee DS, Yee RD, Robinson DA (1976) Optokinetic responses in labyrinthine-defective human beings. *Brain Res* 113(2):423-8.
- [74] Zorn A, Joiner WM, Lasker AG, Shelhamer M (2007) Sensory versus motor information in the control of predictive saccade timing, *Exp. Brain Res* 179(3):505-15.
- [75] 宮本大輝 (2013) 小型魚類用眼球運動評価システムの開発と評価, 修士学位論文, 中部大学.
- [76] 高木悠喜 (2009) 重力環境が運動の学習と忘却に与える影響の評価, 修士学位論文, 中部大学.
- [77] 三浦祥平 (2009) 様々な重力環境下における運動記憶・忘却特性の評価, 修士学位論文, 中部大学.

研究業績一覧

学術論文

- 1 : Miki S, Baker R, Hirata Y (2018) Cerebellar Role in Predictive Control of Eye Velocity Initiation and Termination. *Journal of Neuroscience* 38(48):10371-83.
- 2 : Miki S, Urase K, Baker R, Hirata Y (2020) Velocity storage mechanism drives a cerebellar clock for predictive eye velocity control. *Scientific Reports* 10(1):6944.
- 3 : 鈴木柚子, 三木俊太郎, 船瀬新王, 内匠逸, 藤原清悦, 平田豊 (2019) 点滅視覚刺激の呈示時における金魚の視蓋神経細胞の追従性. 計測自動制御学会論文集(計測自動制御学会) 55(9):545-51.

解説論文

- 1 : 梅本 峻矢, 三木 俊太郎, 山本 雅也, 平田 豊(2017) "眼球・瞳孔・調節運動の動特性と予測性制御", *バイオメカニズム学会誌*, 41(4):165-70.

国際会議発表

- 1 : Miki S, Baker R, Hirata Y, "Relationship between predictive optokinetic response and velocity storage following vestibular neurectomy", Society for Neuroscience, 061.03, San Diego, 2018
- 2 : Miki S, Baker R, Hirata Y, "Decomposing adaptable elements of optokinetic response into cerebellar and non-cerebellar contributions by modeling and cerebellectomy approach", Computational Neurosciences, P-157, Seattle, 2018
- 3 : Miki S, Baker R, Hirata Y, "Role of the cerebellum in the initiation and termination of predictive optokinetic behavior in goldfish", Society for Neuroscience, 622.15,

San Diego, 2016

- 4 : Miki S, Baker R, Hirata Y, “Cerebellar dependent motor learning of predictive eye movements associated with velocity storage in human and fish”, Society for Neuroscience, 426.01, Chicago, 2015
- 5 : Urase K, Miki S, Hirata Y, “Both brighter visual stimuli and hypergravity promote oculomotor neural integrator learning in goldfish”, Society for Neuroscience, 426.02, Chicago, 2015
- 6 : Miki S, Baker R, Hirata Y, “Predictive eye movements acquired by repetitive periodic optokinetic visual stimulation in goldfish”, Society for Neuroscience, 341.10, Washington DC, 2014
- 7 : Enya T, Kakizaki M, Miki S, Hirayama T, Hirata Y, “Relationship between driver’s attention and micro-saccadic eye movements”, FISTA World Automotive Congress, No F2014-AHF-016, 2014
- 8 : Miki S, Matsuyama M, Itai A, Baker R, Hirata Y, “Frequency dependent VOR motor learning in normal and cerebellectomized goldfish”, Society for Neuroscience, 164.14, San Diego, 2013
- 9 : Miki S, Hirata Y, “Microsaccades generated during car driving”, Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc 2013, 2148-51, Osaka, 2013

国内学会発表

- 1 : 三木俊太郎, Robert Baker, 平田 豊, “古典的伝達関数モデルによる予測性眼球運動獲得過程における小脳の役割評価”, 信学技報, vol. 118, no. 80, NC2018-12, p.29, 沖縄科学技術大学院大学, 2018年6月
- 2 : 三木俊太郎, Robert Baker, 平田 豊, “予測性眼球運動制御の獲得における小脳の役割”, 計測自動制御学会ライフエンジニアリング部門シンポジウム 2017 抄録集, p.40, 岐阜大学サテライトキャンパス, 2017年9月

- 3 : 三木俊太郎, Robert Baker, 平田 豊, “予測性眼球運動学習と小脳の関わり”, 第 15 回情報学ワークショップ 2017 (WiNF2017) 抄録集, p.20, 中部大学, 2017 年 11 月
- 4 : 三木俊太郎, Robert Baker, 平田 豊, “予測的な眼球運動の学習における小脳の役割”, 信学技報, vol. 116, no. 120, NC2016-10, pp. 201-6, 沖縄科学技術大学院大学, 2016 年 7 月
- 5 : Miki S, Baker R, Hirata Y, “Role of the cerebellum in the initiation and termination of predictive optokinetic behavior in goldfish.”, 第 39 回日本神経科学大会, LBA3-017, パシフィコ横浜, 2016 年 7 月
- 6 : 三木俊太郎, Robert Baker, 平田 豊, “視覚刺激の動作タイミングを予測する眼球運動の学習と小脳の関係”, 第 10 回 Motor Control 研究会, 3-19, 慶應義塾大学 日吉キャンパス, 2016 年 9 月
- 7 : 三木俊太郎, Robert Baker, 平田 豊, “予測性眼球運動の獲得・維持と小脳の関係”, ライフエンジニアリング部門シンポジウム 2016, 2B1-3, 大阪国際交流センター, 2016 年 11 月
- 8 : 三木俊太郎, 浦瀬康平, Robert Baker, 平田 豊, “予測的な視運動性眼球運動の獲得と中枢速度蓄積機構の関係”, ライフエンジニアリング部門シンポジウム 2015, MBE-15-097, 九州工業大学 飯塚キャンパス, 2015 年 9 月
- 9 : 浦瀬康平, 三木俊太郎, 平田 豊, “明るい視覚刺激と過重力はともに運動学習を促進する”, 第 25 回日本神経回路学会全国大会, p-104, 電気通信大学, 2015 年 9 月
- 10 : 三木俊太郎, 浦瀬康平, Robert Baker, 平田 豊, “ヒトと魚における眼球速度蓄積機構と予測性眼球運動の学習の直接的関係”, 第 21 回創発システムシンポジウム「創発夏の学校 2015」資料, p.45, 諏訪東京理科大学, 2015 年 8 月
- 11 : Miki S, Urase K, Baker R, Hirata Y, “Cerebellar dependent predictive optokinetic response associated with oculomotor velocity storage mechanism in goldfish, carp, zebrafish, medaka, and human”, 日本神経回路学会時限研究会 眼球運動を制御する小脳中枢機構の理解へのデータ駆動型アプローチ, 電気通信大学, 2015
- 12 : Miki S, Urase K, Baker R, Hirata Y, “Direct correlation of velocity storage with

- motor learning of predictive eye movement in fish and humans”, 第 38 回日本神経科学大会, p.245, 神戸コンベンションセンター, 2015 年 7 月
- 13 : 浦瀬康平, 三木俊太郎, 平田 豊, “視覚刺激の明るさが眼球運動積分器の運動学習に与える影響 : 重力の影響との比較”, 信学技報, vol.115, no.111, NC2015-6, pp.69-72, 沖縄科学技術大学院大学, 2015 年 6 月
- 14 : 三木俊太郎, 浦瀬康平, Robert Baker, 平田 豊, “魚類と霊長類における視覚刺激方向の切り替わりタイミングを予測する眼球運動”, 第 9 回 Motor Control 研究会, 3-19, 京都大学 時計台講堂, 2015 年 6 月
- 15 : 三木俊太郎, 浦瀬康平, Robert Baker, 平田 豊, “ヒトと魚における視運動性眼球運動の周期同調と眼球速度蓄積機構の関わり”, 第 54 回日本生体医工学会, p1-2-23-B, 名古屋国際会議場, 2015 年 5 月
- 16 : 浦瀬康平, 三木俊太郎, 平田 豊, “視覚刺激の輝度が運動学習に与える影響の評価-過重力下での運動学習促進効果との関係-”, 第 54 回日本生体医工学会, p1-2-22-B, 名古屋国際会議場, 2015 年 5 月
- 17 : 三木俊太郎, Robert Baker, 平田 豊, “ヒトと魚における周期的視覚刺激に対する予測性眼球運動の獲得”, 信学技報, vol. 114, no. 226, HIP2014-52, pp.49-54, 奈良県新公会堂, 2014 年 9 月
- 18 : 平山貴士, 三木俊太郎, 小栗崇治, 平田 豊, “実車運転中の道路状況とマイクロサッカー発生特性”, 信学技報, vol. 114, no. 226, HIP2014-58, pp.81-86, 奈良県新公会堂, 2014 年 9 月
- 19 : Miki S, Baker R, Hirata Y, “Evaluation of cerebellar dependent predictive optokinetic eye movements in goldfish”, 第 38 回日本神経科学大会, P1-134, パシフィコ横浜, 2014 年 9 月
- 20 : 三木俊太郎, Robert Baker, 平田 豊, “小脳が関与する予測性眼球運動学習の金魚における評価”, 信学技報, Vol.113, No. 500, pp.239-44, NC2013-130, 玉川大学, 2014 年 3 月
- 21 : Miki S, Baker R, Hirata Y, “Period tuning of the optokinetic response: A new

cerebellar dependent predictive motor learning?”, The 2nd RIEC International Symposium on Brain Function and Computer, P-6, 東北大学, 2014年2月

22: 三木俊太郎, Robert Baker, 平田 豊, “視運動性眼球運動の予測学習と小脳の関わり”, 脳と心のメカニズム 第14回冬のワークショップ, 16, 北海道ルスツリゾート, 2014年1月

23: 柿崎 勝, 塩谷武司, 三木俊太郎, 平田 豊, “マイクロサッカードを用いたドライバ注意力低下検知の検討”, 自動車技術会学術講演会前刷集, No. 127-13, pp.1-4, 名古屋国際会議場, 2013年10月

24: 平山貴士, 三木俊太郎, 平田 豊, “実車走行中のマイクロサッカード発生頻度と道路状況の関係”, 平成25年度電気関係学会東海支部連合大会, I5-6, 静岡大学浜松キャンパス, 2013年9月

25: 三木俊太郎, Robert Baker, 平田 豊, “視運動性眼球運動の周期同調学習の性質”, 平成25年度電気関係学会東海支部連合大会, I3-6, 静岡大学浜松キャンパス, 2013年9月

26: 三木俊太郎, Robert Baker, 平田 豊, “視運動性眼球運動の周期同調学習の性質”, 第7回 Motor Control 研究会, A-33, 東京大学農学部 弥生講堂・アネックス, 2013年8月

27: 三木俊太郎, Robert Baker, 平田 豊, “視運動性眼球運動の周期同調学習の性質”, 2013年度 包括脳ネットワーク夏のワークショップ, D03, 名古屋国際会議場, 2013年8月

28: Miki S, Hirata Y, “Evaluation of microsaccades and ultra-short-interval square wave jerk during car driving”, Neuro2013, P1-1-90, 国立京都国際会館, 2013年6月

受賞

1: 計測自動制御学会 Life Engineering Symposium 2016 学生奨励賞, 2016年

2: 平成27年電気学会電子・情報・システム部門研究会奨励賞, 2016年

3: 平成26年度電子情報通信学会東海支部学生研究奨励賞, 2015年

4 : IEEE Computational Intelligence Society Japan Chapter Young Researcher Award, 2015 年

5 : 平成 26 年度 電子情報通信学会ヒューマンコミュニケーション賞, 2014 年

6 : 平成 25 年度 電気関係学会東海支部連合大会奨励賞, 2014 年

その他

1 : 日本学術振興会特別研究員 (DC2), 2017~2018 年度

2 : Visiting scientist, Washington national primate research center, 2017 年 5 月~7 月