

ネコ橋縫線核オムニポーズニューロンの睡眠期における発火様式

松井 博美, 佐々木勇二, 玉井 嗣彦

鳥取大学医学部眼科学教室

要 約

橋縫線核オムニポーズニューロン (omnipause neuron, OPN) は, 覚醒期に全方向への急速眼球運動時にその活動を休止し, それ以外の時は持続発火する. 慢性成ネコを用いて, 覚醒期, ノンレム睡眠期, レム睡眠期の OPN のスパイク活動を記録し, 各期に出現する眼球運動との関連を調べた. ノンレム睡眠期に OPN は持続発火をしたが, この時期にみられるゆっくりとした眼位変化 (slow drifting) との関連はなかった. レム睡眠期

間も OPN は持続発火をし, 急速眼球運動 (rapid eye movements) の出現の直前から休止した. この結果から, OPN の発火休止が覚醒期の急速眼球運動同様, レム睡眠期間の急速眼球運動の出現にも関与していると考えられた. (日眼会誌 98: 245-250, 1994)

キーワード: オムニポーズニューロン, 橋縫線核, 急速眼球運動, 睡眠, ネコ

Firing Patterns of the Pontine Omnipause Neurons During Sleep in the Cat

Hiromi Matsui, Yuji Sasaki and Akihiko Tamai

Department of Ophthalmology, Faculty of Medicine, Tottori University

Abstract

The omnipause neurons (OPNs), located in the nucleus raphe pontis, cease firing during all rapid eye movements and otherwise fire at a steady rate in the awake state. Firing patterns of the OPNs were studied during the awake state, non-REM sleep, and REM sleep in chronically prepared adult cats, to examine whether the OPNs' firing participates in the genesis of eye movements during each state. During non-REM sleep, the OPNs continued their firing, and their firing patterns had little correlation with slow drifting eye movements appearing in

this state. During REM sleep, the OPNs maintained a tonic firing and ceased their firing during rapid eye movements in all directions. These results suggest that cessation of OPN firing plays an important role in the generation of rapid eye movements during REM sleep as well as during the awake state in the cat. (J Jpn Ophthalmol Soc 98: 245-250, 1994)

Key words: Omnipause neurons, Nucleus raphe pontis, Rapid eye movements, Sleep, Cat

I 緒 言

脳幹～橋網様体の中には, 急速眼球運動の発現に重要な役割を果たしている細胞群が存在する¹⁾. その中のオムニポーズニューロン (omnipause neuron, OPN) は, Luschei と Fuchs¹⁾により最初に報告された. OPN は, 外転神経核の物側端のレベルで橋縫線核正中部に局在する²⁾⁻⁶⁾. 覚醒期 OPN の発火は固視時や, 眼振の緩除相, 滑動性運動時には, サルで 150~200 Hz, ネコで 50~130 Hz と比較的高頻度で持続的に活動し, 全方向への急速眼球運動 (サッケード, 眼振の急速相) の直前から眼球

運動中にその持続発火を休止する⁵⁾ことが知られている. Nakao ら⁷⁾⁸⁾は電気生理学的にネコの OPN が, 運動ニューロンに直接急速眼球運動の指令を送り込む垂直, 水平の興奮性バーストニューロン, 抑制性バーストニューロンを単シナプス性に抑制することを証明した. 単一 OPN の軸索に順行性トレーサーを注入した結果でも, 興奮性バーストニューロン, 抑制性バーストニューロン領域に多くの投射がみられた⁹⁾. すなわち, 覚醒期には OPN の発火休止 (脱抑制) によりバーストニューロン群が発火して運動ニューロンが興奮し, 急速眼球運動が出現すると考えられている.

別刷請求先: 683 鳥取県米子市西町 86 鳥取大学医学部眼科学教室 松井 博美

(平成5年7月6日受付, 平成5年10月19日改訂受理)

Reprint requests to: Hiromi Matsui, M.D. Department of Ophthalmology, Faculty of Medicine, Tottori University, 86 Nishi-machi, Yonago-shi, Tottori-ken 683, Japan

(Received July 6, 1993 and accepted in revised form October 19, 1993)

このように、覚醒期の急速眼球運動の発現に関与する神経機構はかなり詳細に研究されている。一方、レム睡眠期に急速眼球運動 (rapid eye movements), ノンレム睡眠期にゆっくりとした眼位変化 (slow drifting) が出現することはかなり以前から知られている¹⁰⁾が、その発現に関する神経機構はほとんど知られていない。そこで本実験では慢性成ネコを用い、単一 OPN を細胞外記録し、覚醒期、ノンレム睡眠期、レム睡眠期間中連続して記録し、発火様式と各期に出現する眼球運動との関連を中心に検討した。

II 実験方法

実験には体重 2.1~2.5 kg の成ネコ 5 匹を使用した。ネコをペントバルビタールナトリウム (ネンブタール®) の腹腔内注射 (30~50 mg/kg) で全身麻酔し、無菌状態で以下の手術を行った。記録電極刺入用チャンパーを後頭骨上に、頭部固定のための装置を頭頂骨上にそれぞれ歯科用レジンをを用いて設置した。眼球運動記録のため、3 匹には眼電位図 (electrooculogram, EOG) 用に銀塩化銀電極を左眼上下、両眼外側の眼窩周囲の骨膜に固定し、2 匹には両眼結膜下に Judge ら¹¹⁾の方法に基づきサーチコイルを固定した。EOG は増幅器 (AD-641 G, 日本光電), サーチコイルを用いたものは (MEL-24, 演算子工業) にて増幅し記録した。脳波 (electroencephalogram, EEG) 記録用電極を前頭葉と後頭葉の硬膜上に、筋電図 (electromyogram, EMG) 記録用電極を頸筋中に留置し、EEG は増幅器 (AB-621 G, 日本光電), EMG は (AM-601 G, 日本光電) を用いて記録した。術後 1 週間以上経て動物が回復後、ネコを定位脳固定装置に無痛的に固定し記録を開始した。OPN の活動記録には、ガラス被覆エルジロイ微小電極 (インピーダンス, 0.6~1.4 MΩ) を用い、チャンパーを通し小脳正中中部を

貫き橋縫線核に刺入し、単一 OPN の細胞外スパイクを誘導した。覚醒期の特徴的な活動様式によって OPN を同定した後に、外界刺激を最小限にし自然睡眠を誘起し EEG, EMG, 眼球運動からノンレム睡眠期, レム睡眠期を同定し単一 OPN のスパイク活動を連続して導出しサーマルアレイレコーダー (RTA-1200, 日本光電) で記録した。後の分析のため、得られたデータはデータレコーダー (VFR-31400 AL, ソニーマグネスケール社) で保存した。

実験終了後、150~200 mg/kg のペントバルビタールナトリウム (ネンブタール®) を腹腔内注射し、心電図、脳波により動物が死んだのを確認した後、記録電極に 20 μ A の陰性電流を 60 秒間通電し electrolytic lesion を作成し、脳幹を取り出してホルマリン固定し記録部位の組織学的確認を行った。

III 結果

橋網様体 (P 4.5~P 6.0) の正中から両外側 1.0 mm 以内、第四脳室底から深さ 0~4 mm の範囲で系統的に記録電極を動かし OPN を探索した。OPN は全方向への急速眼球運動中にその発火を休止すること、また、固視時、

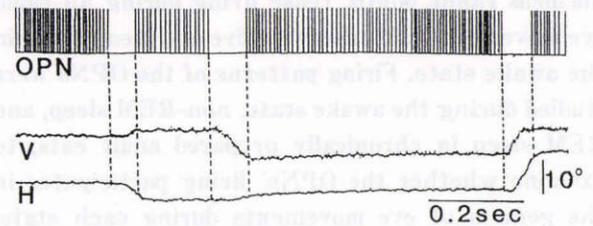


図1 単一オムニポーズニューロン (OPN) の細胞外スパイク活動。

OPN の発火と急速眼球運動の時間関係を示す。V: 垂直性眼球運動 H: 水平性眼球運動

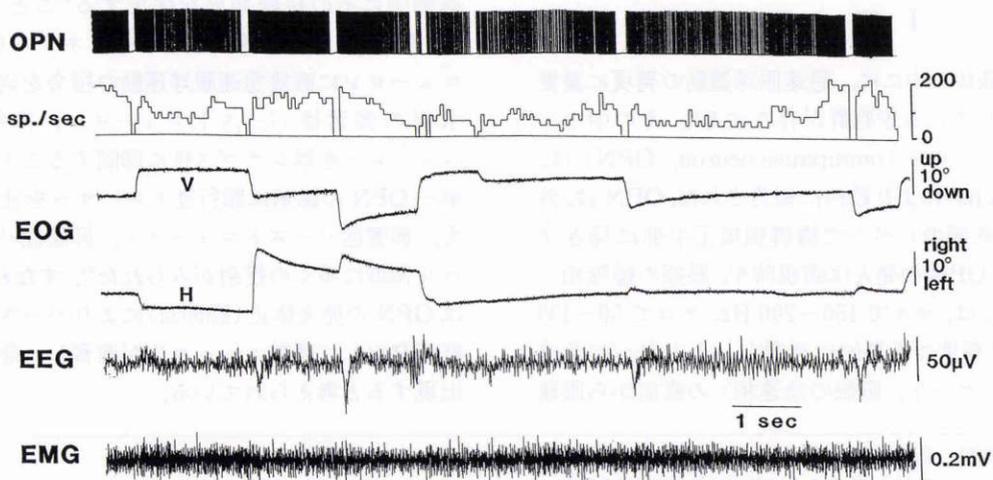


図2 OPN の細胞外スパイク活動。

覚醒期の OPN の発火様式を示す。sp./sec: 1 秒間のスパイク数 EOG: 眼電位図 V: 垂直性眼球運動 H: 水平性眼球運動 EEG: 脳波 EMG: 筋電図

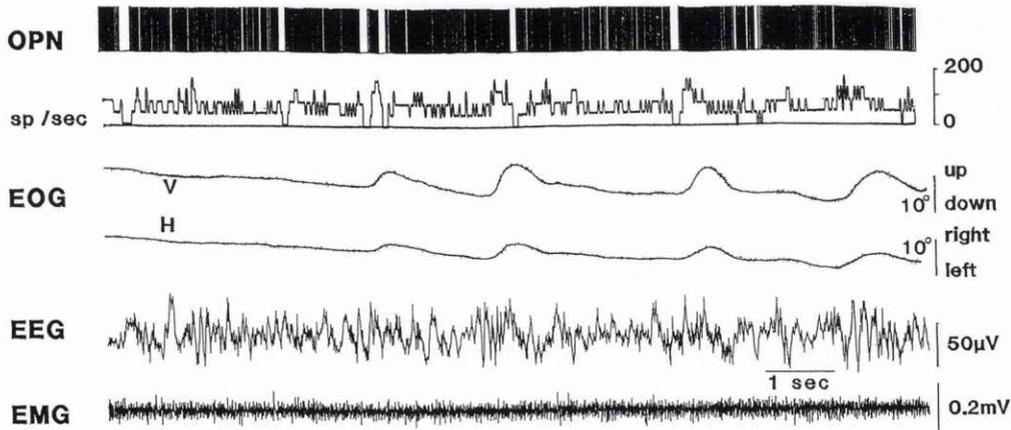


図3 OPN の細胞外スパイク活動.

ノンレム睡眠期の OPN の発火様式を示す. sp./sec: 1 秒間のスパイク数 EOG: 眼電位図 V: 垂直性眼球運動 H: 水平性眼球運動 EEG: 脳波 EMG: 筋電図

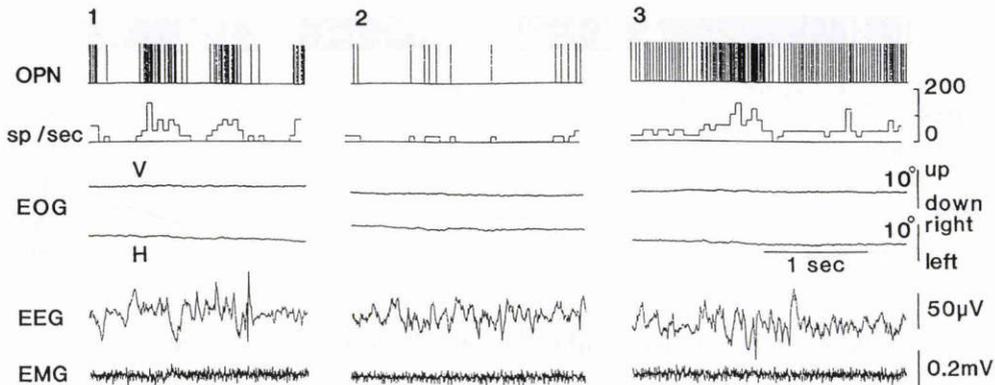


図4 OPN の細胞外スパイク活動.

1-3 ノンレム睡眠期, 同一 OPN の発火様式の時間経過による変化を示す. sp./sec: 1 秒間のスパイク数 EOG: 眼電位図 V: 垂直性眼球運動 H: 水平性眼球運動 EEG: 脳波 EMG: 筋電図

滑動性眼球運動時, 前庭性眼振の緩徐相に高頻度持続発火することによって同定した. 覚醒期に 277 個の単一 OPN を記録した. そのうち, ノンレム睡眠期間も記録できたものは 84 個, ノンレム睡眠期, レム睡眠期間中, 連続して記録できたものは 20 個であった.

1. 覚醒期

低振幅 (30~40 μV) で速波の EEG を示し, 頸筋に緊張があり, 急速眼球運動が頻回に出現することにより覚醒期を同定した. OPN はこれまでの報告⁵⁾とほぼ同様で, 20~160 Hz の頻度で持続的に活動し, 全方向への急速眼球運動の直前から眼球運動中にわたり発火を休止した. OPN の発火休止時から急速眼球運動開始までの時間は, 23.85±5.05 msec(平均値±標準偏差, 以下同様, n=20)であった. OPN の休止時間は, 急速眼球運動の持続時間に依存した(図 1, 2). 持続発火頻度はフラッシュや, スクリーンに投影された光の ON-OFF などの視刺激によって増加し, 280 Hz に達するときもあった.

2. ノンレム睡眠期

EEG が高振幅徐波 (60 μV 以上, 2~5 Hz) を示し,

筋緊張は覚醒期に比較し軽度低下し, 急速眼球運動に変わってゆっくりとした眼位変化 (20 deg/sec 以下) が出現することによってノンレム睡眠期を同定した. 大部分の OPN は, 比較的規則正しく覚醒期とほぼ同様に 20~140 Hz の発火頻度で持続活動をした(図 3). 小数の OPN は同一ニューロンでも時間経過によってバースト様発火(図 4-1), 散在的発火(図 4-2), 持続発火し, 時折バースト様発火(図 4-3)するものもあった. しかし, どちらのタイプの OPN も眼球運動が生じる時に発火を休止しない, あるいは発火休止してもその休止と眼球運動の間には時間のずれがあった.

3. レム睡眠期

覚醒期様 EEG を示し, 頸筋は弛緩し, 急速眼球運動が出現することによりレム睡眠期を同定した. この期間, ネコがヒゲを動かしたり, 舌で口の周りをなめるような動作がみられた. レム睡眠期になっても OPN は持続発火をし, 全方向への急速眼球運動の出現直前に持続発火を休止した(図 5). レム睡眠期から覚醒期への推移期, OPN の持続発火頻度は, 覚醒期になるとレム睡眠期の

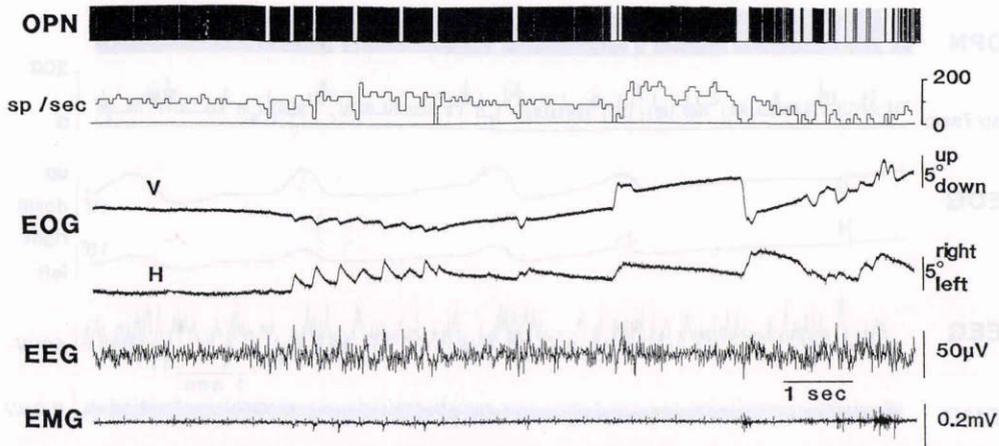


図5 OPNの細胞外スパイク活動.

レム睡眠期のOPNの発火様式を示す. sp./sec: 1秒間のスパイク数 EOG: 眼電位図 V: 垂直性眼球運動 H: 水平性眼球運動 EEG: 脳波 EMG: 筋電図

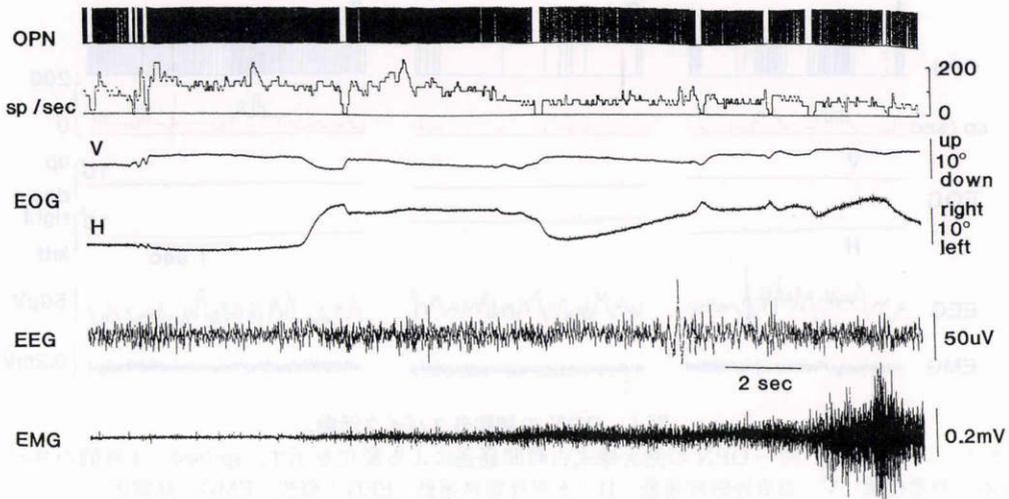


図6 OPNの細胞外スパイク活動.

レム睡眠期から覚醒期へ移行する時のOPNの発火様式を示す. sp./sec: 1秒間のスパイク数 EOG: 眼電位図 V: 垂直性眼球運動 H: 水平性眼球運動 EEG: 脳波 EMG: 筋電図

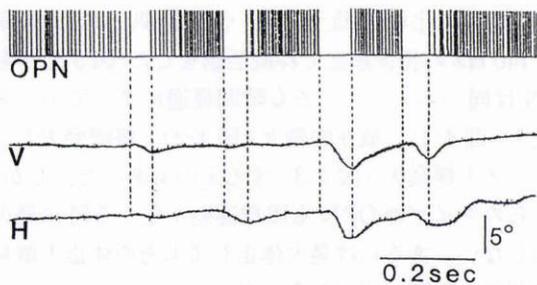


図7 OPNの細胞外スパイク活動.

レム睡眠期の急速眼球運動とOPNの発火の時間関係を示す. V: 垂直性眼球運動 H: 水平性眼球運動

時間は、急速眼球運動時間に依存した(図7). 急速眼球運動が多発すると、OPNの発火休止と急速眼球運動の出現との関係が不明瞭になるときもあった。レム睡眠期になるとノンレム睡眠期に比較しOPNの発火頻度は増加し、急速眼球運動が多発すると急速眼球運動間の発火頻度増加は著明となり、300 Hzを超えることもあった。

今回記録したすべてのOPNは、従来の報告^{2)~6)}と同様、外転神経核吻側の正中部の橋縫線核あるいはその周囲の網様体に局在した。

IV 考 按

今回、慢性成ネコを用い、単一OPNの細胞外スパイク活動を覚醒期、ノンレム睡眠期、レム睡眠期にわたって持続的に記録したが、覚醒期でその発火様式は20~160 Hzで持続発火し、視覚刺激によって増加した。Evingerら⁵⁾は、様々な条件の視覚刺激に対するOPNの反応を記

約50%に減少した(図6)。OPNの発火休止から急速眼球運動が出現するまでの時間は 24.30 ± 4.43 msec ($n=20$)で、OPNの発火休止から眼球運動発現開始までの時間には、覚醒期との間に有意差はなかった。OPNの休止

録し、OPNはY細胞経路の一部ではないかと考えている。持続発火は、全急速眼球運動開始前の 23.85 ± 5.05 msecから眼球運動中にわたり休止した。ノンレム睡眠期、サル多くのOPNがdrowsy, light sleep(動物が固視をしなくなる時)ですでに活動を停止するという従来の報告³⁾¹²⁾とは異なり、今回記録したすべてのOPNは発火を続した。ネコのOPNは、深麻酔下でも発火するというItoら¹³⁾の報告もある。また、その発火頻度は、同一ニューロンで比較した場合、覚醒期の視覚刺激をしない時とほぼ同じであった。動物の意識レベルを判定するのは困難ではあるが、今回の結果からネコのOPNは、サルとは異なり意識レベル、固視にそれほど左右されないと考えられた。

また、ノンレム睡眠期には、ゆっくりとした眼位変化が出現するが、OPNの発火様式との関連はみられなかった。これは、ゆっくりとした眼位変化は非共役性の運動¹⁰⁾であり、速度もかなり遅い(20 deg/sec以下)ことから、急速眼球運動とは異なるOPNの関与しない神経機構によって生じると考えられる。さらにノンレム睡眠期中、OPNが休止しても明らかな眼球運動が生じないことがあった。この時、OPN以外の急速眼球運動に関連したニューロンがどのような活動をしているかは、今後解決したい問題である。

レム睡眠期、OPNの持続発火頻度は、覚醒期、ノンレム睡眠期に比較して約50%増加し、急速眼球運動が多く出現するとその発火はさらに増加し300 Hzに達した。この発火様式は、橋網様体のニューロン、特にレム睡眠期発現の中心機構と考えられているgigantocellular tegmental field¹⁴⁾のニューロンの睡眠期における発火様式¹⁵⁾¹⁶⁾と類似している。OPNへの入力については様々な報告²⁾⁴⁾⁶⁾¹⁷⁾がなされているが、未だ不明な点が多い。

OPNを抑制するトランスミッターについては未だ解明されていないが、セロトンはOPNを抑制するという報告¹⁸⁾があり、レム睡眠期にOPN近傍の縫線核(OPN領域に軸索投射があるという報告²⁾⁶⁾がある)のセロトニン作動性ニューロンの活動が低下する¹⁹⁾ことが知られている。レム睡眠期にOPNの持続活動が増加するのは、これらのセロトニン作動性ニューロンの活動低下(脱抑制)によるものかも知れない。あるいはレム睡眠期に活動を増やすgigantocellular tegmental field(この領域からもOPN領域に軸索投射があるという²⁾⁶⁾のニューロンから興奮性の入力を受けるのかも知れない。あるいはOPN自身がレム睡眠期に、その活動性を高めるのかも知れない。これらを今後解明することにより、OPNの上位神経支配を知る一つの手がかりになると考えられる。

レム睡眠期、OPNの持続発火は、全方向への急速眼球運動出現の 24.30 ± 4.43 msec前に休止した。その発火様式と急速眼球運動との関係は、覚醒期の急速眼球運動

発現時にみられるものとはほぼ同様であることから、レム睡眠期の急速眼球運動の出現に関しても覚醒期の急速眼球運動の出現時と同様、OPNの発火休止(脱抑制)によりバーストニューロン群が発火し眼球運動が起こると考えられた。

本稿の要旨は、第97回日本眼科学会総会において報告した。

この研究は、文部省科学研究費補助金、一般研究(B)、課題番号04454444の交付を受けた。

稿を終えるにあたり、ご指導賜りました鳥取大学医学部生理学第二教室故中尾召三教授に深謝いたします。また、本実験に協力していただき、貴重なご助言を賜りました同生理学第二教室白石義光先生、同耳鼻咽喉科学教室松尾 聰先生に感謝いたします。

文 献

- 1) **Luschei ES, Fuchs AF**: Activity of brain stem neurons during eye movements of alert monkeys. *J Neurophysiol* 35: 445—461, 1972.
- 2) **Langer TP, Kaneko CRS**: Brainstem afferents to the oculomotor omnipause neurons in monkey. *J Comp Neurol* 295: 413—427, 1990.
- 3) **Raybourn MS, Keller EL**: Colliculoreticular organization in primate oculomotor system. *J Neurophysiol* 40: 861—878, 1977.
- 4) **King WM, Precht W, Dieringer N**: Afferent and efferent connections of cat omnipause neurons. *Exp Brain Res* 38: 395—403, 1980.
- 5) **Evinger C, Kaneko CRS, Fuchs AF**: Activity of omnipause neurons in alert cats during saccadic eye movements and visual stimuli. *J Neurophysiol* 47: 827—844, 1982.
- 6) **Langer TP, Kaneko CRS**: Brainstem afferents to the omnipause region in the cat: A horseradish peroxidase study. *J Comp Neurol* 230: 444—458, 1984.
- 7) **Nakao S, Curthoys IS, Markham CH**: Direct inhibitory projection of pause neurons to nystagmus-related pontomedullary reticular burst neurons in the cat. *Exp Brain Res* 40: 283—293, 1980.
- 8) **Nakao S, Shiraishi Y, Oda H, Inagaki M**: Direct inhibitory projection of pontine omnipause neurons to burst neurons in the Forel's field H controlling vertical eye movement-related motoneurons in the cat. *Exp Brain Res* 70: 632—636, 1988.
- 9) **Strassman A, Evinger C, McCreary RA, Baker RG, Highstein SM**: Anatomy and physiology of intracellularly labelled omnipause neurons in the cat and squirrel monkey. *Exp Brain Res* 67: 436—440, 1987.
- 10) **Aserinsky E, Kleitman N**: Two types of ocular motility occurring in sleep. *J Appl Physiol* 8: 1—10, 1955.
- 11) **Judge ST, Richmond BJ, Chu FC**: Implantation of magnetic search coils for measurement of eye

position: An improved method. *Vision Res* 20: 535-538, 1980.

12) **Henn V, Baloh RW, Hepp K**: The sleep-wake transition in oculomotor system. *Exp Brain Res* 54: 166-176, 1984.

13) **Ito J, Markham CH, Curthoys IS**: Modification of vestibular-induced pause neuron firing during anesthesia and light sleep. *Exp Neurol* 95: 571-586, 1987.

14) **Sakai K**: Central mechanisms of paradoxical sleep. *Brain Dev* 8: 402-407, 1986.

15) **Pivik RT, McCarley RW, Hobson JA**: Eye movement-associated discharge in brain stem neurons during desynchronized sleep. *Brain Res* 121: 59-76, 1977.

16) **Hobson JA, McCarley RW, Pivik RT, Freedman R**: Selective firing by cat pontine brain stem neurons in desynchronized sleep. *J Neurophysiol* 37: 497-511, 1974.

17) **Ito J, Markham CH, Curthoys IS**: Direct projection of type II vestibular neurons to eye movement-related pause neurons in the cat pontine reticular formation. *Exp Neurol* 91: 331-342, 1986.

18) **Furuya N, Ashikawa H, Yabe T, Suzuki JI**: The effect of serotonin on the pontine pause neurons in the cat. *Adv Oto-Rhino Laryngol* 42: 224-228, 1988.

19) **McGinty DJ, Harper RM**: Dorsal raphe neurons: Depression of firing during sleep in cats. *Brain Res* 101: 569-575, 1976.