

回転振盪負荷による小脳内 Parvalbumin と GABA の 変化に関する観察

—免疫組織化学を用いた検討—

藤田保健衛生大学

大学院医学研究科・整形外科学専攻（指導教授：吉澤英造）

馬場 尊

緒 言

1. 中枢神経疾患の運動療法

運動療法は、中枢神経疾患のリハビリテーションにおいて重要な治療手段の1つであり、姿勢や運動障害の改善および動作能力の向上を目的として行われている。

しかし、運動療法の中枢神経疾患に対する効果の実証やその作用機序の解明についてはいまだ研究段階にあり、議論の必要なところである。すなわち、運動療法は、他動運動、自動運動など、いわゆる「運動 (action, movement)」を利用した治療法であるが、この「運動」が中枢神経系に及ぼす影響を十分に証明し得た報告は意外なほど少ない。これは、末梢運動器（骨、筋）疾患に対する運動療法が、疼痛、拘縮、筋萎縮などの病態の治癒促進に用いられ、その効果が証明されていることとは対照的である³。

その理由は、運動療法に関する基礎的な研究が非常に困難だからであろう。つまり、随意運動を対象とするため、実験動物には高等な哺乳類を使用しなければならない場合が多いという実験環境、条件の制約がある。そして、ヒトでは、覚醒し行動中の中枢神経の生理学的あるいは生化学的な変化を非侵襲的に観察することが困難だからである。

2. リハビリテーション医学における小脳研究の意義

さて、中枢神経系の運動療法において、小脳

は非常に重要な器官である。それは、小脳失調症が、代表的な中枢性運動障害であるばかりでなく、小脳が運動学習において中心的役割を果たしていると考えられているからである。

小脳が障害された時に起こる重大な症状は運動失調症である。小脳は運動制御器官であるため、その障害は運動の調節障害、すなわち、失調症としてあらわれる。従って、運動の調整を主たる方法論の1つとする運動療法が重要な治療法になることは明らかである。実際、そのために proprioceptive neuromuscular facilitation (PNF)、Frenkel 体操などの治療法が提唱されてきた。しかし、これら様々な治療手段の各病態に対する適応やその作用機序などは今後の検討課題として残されたままになっており、解明が待たれる。そして、この解明は、小脳が運動に果たしている役割をより詳細に示すことにもつながる。つまり、小脳失調症の運動療法に関する研究は、異常の運動学、いわば運動の病理学を追求することに他ならない。

一方、生理学的には、小脳は中枢神経のなかでは非常によく研究されている器官といえる⁴。それは、小脳が比較的少数の細胞要素と均一な構造を有しているためであり、コンピュータシミュレーションによる詳細な機能モデルが提唱され、実際の神経細胞の反応とも比較されてきている。しかし、その機能がすべて明らかにされているわけではない。例えば、小脳が重要な役割を担っていると考えられる運動学習の機構も現象論的にはかなり詳細に捕らえつつはある

が、それを実際の訓練場面に応用し得るほど具体的にはなっていない。従って、この分野はさらに多面的な研究手段の確立、そしてその知見の蓄積が必要にならう。そして、これらの知見は運動療法の効果の考察に役立ち、運動失調症の新たな治療法の開発にもつながるはずである。

以上のような背景を踏まえて、リハビリテーション医学における小脳研究の基礎の一助となるべく今回の実験を行った。すなわち、他動運動による非侵襲的な小脳刺激法を考案し、それを実験動物に負荷し、免疫組織化学的手法を用いて小脳内の神経細胞の変化を観察した。

小脳神経細胞内の calcium binding proteins (以下、CaBPs と略す) の1つである parvalbumin (以下、PV と略す) を目的物質として、考案した運動刺激による小脳神経細胞内の PV 量の変化を形態学的に観察し得るかを確認した。また、他の神経伝達物質についてもその変化が観察しうるかを検討した。

以上のことが確認されれば、小脳内の神経伝達物質の研究、小脳-脳幹、小脳-大脳の神経路の生理学的、生化学的研究にこの負荷法を応用でき、他動運動刺激の神経回路への影響やさらには運動療法の理論づけの基礎となる知見を得ることができよう。

3. 今回の実験の概要

今回の研究は、小脳の求心性線維の興奮状態を人為的に負荷を加え変化させて、小脳内の生理学的、生化学的变化を形態学的に捕らえることを目的とした。

実験は、①目的物質 (PV) を標識するための一次抗体の濃度の決定、②無負荷である定常状態での PV の小脳内での分布の観察、③求心性線維の1つである登上線維切断時の PV の変化の観察、④運動負荷による求心性線維興奮時の PV の変化の観察、⑤運動負荷による求心性線維興奮時の他の目的物質 (γ-アミノ酪酸)

の観察、の5シリーズとした。

第1章で目的物質と免疫組織化学について述べ、第2章において各実験の結果と考察を記した。そして第3章では総括的な考察を行った。

第1章 今回の実験の目的物質と免疫組織化学

1. Parvalbumin (PV) について

PV は細胞内の CaBPs の1つである。

カルシウムイオン (Ca^{2+}) は、細胞内のセカンドメッセンジャーとして知られている⁶。そのため多くの細胞には、 Ca^{2+} イオン濃度を調節する、またそれによって反応する色々な種類の CaBPs が存在している⁷。CaBPs の多くは EF-hand family に属し Ca^{2+} を結合させるための特徴的なアミノ酸配列を持っている⁷。CaBPs は現在約150種類ほどあり、詳細な性格の解明がなされていないものも多いが、その役割は大きく2つに分けられる⁵ (表1)。

その1つは、 Ca^{2+} のセカンドメッセンジャーとしての役割を媒介するもの、つまり、ある反応の発動因子としての役割を有するものである。この役割を持つ CaBPs としては、広く神経細胞や骨格筋細胞内に存在している calmodulin や troponin-C などが知られている。

もう1つは、より受動的なものであり、細胞内の Ca^{2+} の濃度を調節するもの、すなわち、緩衝物質としての役割を有するものである。数多くの物質があり、そのうち中枢神経において多く見られるものは、PV、calbindin-D28K、calretinin である。これらは中枢神経内でそれぞれ特徴ある分布を示すが、その機能との詳細な関連は未だ明らかにされていない。一般的には、神経細胞興奮時の Ca^{2+} 濃度上昇を緩衝し、次の反応への準備や細胞内の恒常性を保つための役割を担うといえるが、細胞内のある未知の反応の発動因子になっている可能性も否定できない⁵⁻⁷。

さて、PV は、脊椎動物の骨格筋、神経系、

表1 神経系の主なカルシウム結合蛋白

A. Present in most cell types, including neurons

EF-hand family

Calmodulin
(ubiquitous calcium-dependent modulator of protein kinases and other enzymes)
Calpains
(calcium-dependent proteases)
 α -Actinin

Other families

Annexins
(Ca^{2+} -phospholipid-binding proteins; of unknown function, but implicated in exocytosis)
Protein kinase C

Gelsolin
(and other cytoskeleton-associated proteins)

B. Present in certain cell types in CNS

EF-hand family

Parvalbumin
(in some neurons)
Calbindin-D28k
(in some neurons)
Calretinin
(in some neurons)
Recoverin, visinin
(in photoreceptors; regulate guanylyl cyclase)
S100 α , β
(in glia; effect on phosphorylation and neurite outgrowth)

文献5より改編

内分泌腺の細胞に存在する CaBPs である⁸。哺乳類の中樞神経系では大脳皮質、海馬、小脳、脊髄に多く分布している。神経細胞としては、主として介在ニューロンに存在するが、小脳のプルキンエ細胞や視床網様核のニューロンのような長い軸索を持ったニューロンにも多く存在する。また、calbindin-D28K の存在するニューロンには少なく、自律神経に関連したニューロンには少ないことが知られている⁸。神経伝達物質との関連では、 γ -アミノ酪酸 (GABA) 含有ニューロンに多く存在し、また、生理学的には、高頻度興奮性ニューロン (fast-firing

neuron) に多いと言われている^{8,9}。

PV の神経細胞内での機能の詳細は、未だ明らかにされていないが、大きな役割の1つとして前述した Ca^{2+} の緩衝作用が挙げられている。

神経細胞の興奮時には細胞内の Ca^{2+} の濃度が上昇し、これが引き金になって細胞内の情報伝達が行われる。すなわち、 Ca^{2+} は細胞内でセカンドメッセンジャーとしての役割を担っている。しかし一方で、 Ca^{2+} が細胞毒として作用することも広く知られた事実である⁶。そのため、細胞内の Ca^{2+} 濃度が長時間高いまま持続することは細胞死を引き起こすことになる。従って、細胞内に放出された Ca^{2+} は、セカンドメッセンジャーの役割を終えた後、速やかにその濃度を下げられる必要がある。実際、虚血に陥った神経細胞や筋萎縮性側索硬化症などの変性疾患において、PV の濃度が上昇していることが確認されており¹⁰、細胞毒である Ca^{2+} を緩衝しようとするこの役割を裏付けるものといえよう。また、高頻度興奮性ニューロンに多く存在するという報告も PV の緩衝作用を裏付けることと考察できる。すなわち、高頻度に興奮するためには、一度興奮によって上昇した Ca^{2+} の濃度を速やかに低下させ、次の反応に備えなければならないため、充分な Ca^{2+} に対するより確かな緩衝作用が必要になるといえるからである。

小脳内における PV の分布は、各小葉に比較的均等に分布しているという報告が一般的だが^{7,8}、第I葉と第X葉に多い傾向を認めたという報告もあり、定説には至っていない⁷。

またプルキンエ細胞の細胞体、核、軸索、終末、樹状突起、樹状突起の棘、そして、籠細胞と星状細胞の細胞体と終末に存在する一方、顆粒層の細胞には存在しないと言われている⁶⁻⁸。PV を産生するための mRNA もそれぞれの PV を含有する神経細胞で確認されている¹¹。

これらの小脳の神経細胞はすべて GABA 含

有ニューロンでもある。他方、小脳には他に GABA 含有ニューロンと考えられるゴルジ細胞が存在するが、これは PV 陽性細胞ではない。その理由はこの細胞が高頻度興奮性ニューロンでないことによると考えられている⁸。

小脳の代表的神経細胞であるプルキンエ細胞内における PV の分布については、個々の細胞により異なっていて著明な特徴は不明である⁶⁻⁸が、全般的には、細胞体に比較して樹状突起、軸索、終末に多いという報告がある。また、プルキンエ細胞の細胞体には PV の多いものと少ないものがあるという報告もある⁸。以上の所見は、観察時の個々のプルキンエ細胞の興奮状態の差を PV 量の変化としてとらえている可能性を示唆するものなのかもしれない。

2. γ-アミノ酪酸 (GABA) について

GABA はアミノ酸神経伝達物質であり、最も重要な抑制性神経伝達物質として知られている。中枢神経系には高濃度に存在する一方、他の末梢臓器には痕跡程度にしか認められない。

小脳に存在する主要な 5 種類の神経細胞のうち、顆粒細胞を除く 4 種類の細胞つまり、プルキンエ細胞、星状細胞、籠細胞、ゴルジ細胞が、GABA を伝達物質としてしていると考えられている。一般に GABA 含有神経細胞は介在ニューロンであることが多いと言われており、プルキンエ細胞のように長い軸索を持つニューロンはむしろまれな例である。プルキンエ細胞では、その細胞体には GABA がほとんど検出されず、神経終末に多いことが分かっている¹³。

3. 免疫組織化学¹⁴

ある特定の物質の組織内での局在を同定するために、標的物質を抗原とした特異抗体を用いて標識、検出する手法が、免疫組織化学である。免疫組織化学の大きな特徴は、抗原抗体反応という特異的かつ感度の高い結合反応に基づいている点にある。

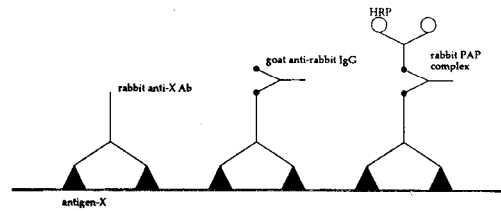


図1 PAP法の原理(文献14より改編)

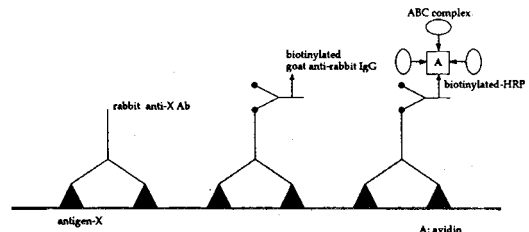


図2 ABC法の原理(文献14より改編)

その手法としては、特異抗体を直接標識して用いる直接法と、特異抗体は直接標識せず、標識した IgG 抗体を特異抗体の上に重ねて観察する間接法とがある。一般に神経系における検討では、より感度の高い間接法を用いる場合が多い。

可視化のための標識物質としては、蛍光色素を用いる蛍光抗体法と、酸化還元酵素の一種である horseradish peroxidase (HRPO) を使用しその検出にあたって 3, 3'-diaminobenzidine (DAB) を用いる酵素抗体法とがある。今回の実験では酵素抗体法である peroxidase anti-peroxidase method (PAP 法) と avidin biotin peroxidase complex method (ABC 法) を用いた。それぞれの原理を図に示す(図1, 2)。

第2章 小脳求心性線維の興奮変動による小脳内 PV と GABA の変化の観察。

実験1. 抗 PV 抗体濃度の決定と小脳内 PV 陽性細胞の観察

目的

免疫組織化学を用いて、予備的に小脳内の

PV の分布の概要を観察した。細胞内 PV の濃度の差を検出し得るかどうか、すなわち、個々の神経細胞の PV 染色の程度に差を認めるかどうか観察し、これまでの報告と相違がないか検討した。同時に、適切な抗 PV 抗体濃度を決定した。

方 法

対象は、8～10週齢、体重250～350g、オスの Sprague-Dawley ラット（以下 SD ラットと略す）3匹とし、その小脳を実験に用いた。ネンブタール（60mg/kg 体重）腹腔麻酔下に、上行大動脈より pH 7.4 のリン酸緩衝生理食塩液（PBS）で灌流後、4%パラフォルムアルデヒドと0.4%ピクリン酸含有の0.1Mリン酸緩衝液を用いて灌流固定を行った。その後速やかに脳を摘出し、4℃の15%蔗糖含有の0.1Mリン酸緩衝液に2日間浸漬した。

小脳の標本は、25 μ m の凍結切片をクリオスタットマイクロトームで作製した。

染色には ABC 法を用いた。

抗 PV 抗体の濃度は、5,000倍、10,000倍、20,000倍希釈の3種とし、それぞれ3例の標本において観察した。

染色された切片はスライドグラスに封入後、光学顕微鏡にて観察をした。

結 果

籠細胞や星状細胞の存在する分子層に PV 陽性細胞が観察された（図3、4）。顆粒層では PV 陽性細胞は観察されなかった。プルキンエ細胞は全て PV 陽性であったが、濃く染まった細胞と薄く染まった細胞とが不規則に存在した。また、PV 陽性プルキンエ細胞の周囲は PV 陽性線維により取り込まれていた。

小脳核ではプルキンエ細胞の終末と思われるものが染色された。

抗 PV 抗体の濃度を変えた染色については、全ての標本において、5,000倍、10,000倍、20,000倍希釈の3種による染色性の相違を光学顕微鏡では観察し得なかった（図5～7）。

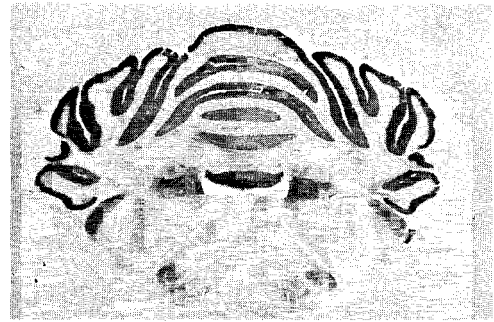


図3 小脳の前額断面
抗 PV 抗体は10,000倍

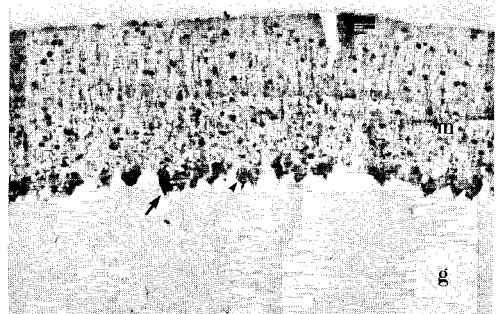


図4 小脳皮質の PV 陽性細胞
矢印は PV プルキンエ細胞、矢頭は PV 染色プルキンエ細胞
g：顆粒層。m：分子層 倍率100倍

考 察

これまで、小脳内の PV の分布については、プルキンエ細胞、籠細胞、星状細胞に存在すると言われている。従って、この実験で観察された結果は、これまでの報告と矛盾するものではなかった。しかし、分子層内のプルキンエ細胞以外の PV 陽性の細胞体が、星状細胞、籠細胞のいずれであるかを同定することは、形態的な相違が認められなかったため困難であった。

籠細胞の終末はほとんど PV に染色されていた。プルキンエ細胞の濃度体は濃く染まるものと薄く染まるものに分けられた。

さて、プルキンエ細胞は、西洋梨形をした大型の細胞体を有する小脳の神経細胞であり、ラットでは約1.8万個存在する¹⁵。この細胞群は小脳皮質の分子層と顆粒層との境界域に1列横隊

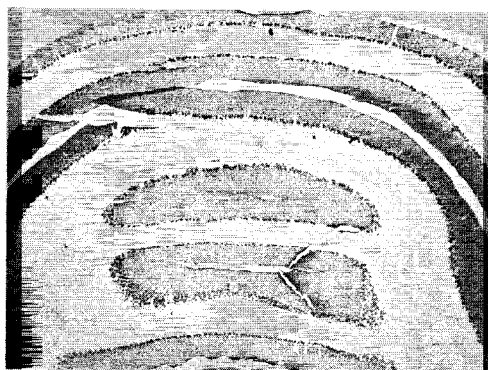


図5 抗PV抗体5,000倍の小脳前額断面
上段は小脳虫部, 下段は半球部。倍率20倍

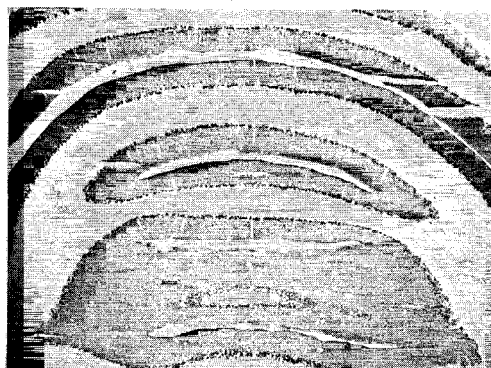


図6 抗PV抗体10,000倍の小脳前額断面
上段は小脳虫部, 下段は半球部。倍率20倍

に配列し、この層はプルキンエ細胞層と呼ばれる。プルキンエ細胞の樹状突起は、小脳小葉の長軸に対して直角な面(矢状面)に、よく茂った樹木のように細胞体から分子層の浅部にまで扁平扇状に広がっている(図8)。樹状突起は、多数の棘を備え、これらに平行線維や登上線維の軸索終末がシナプスを作っている。

プルキンエ細胞の線維は有髄であり、一般に小脳核のニューロンにシナプス結合をするが、小脳虫部や片葉などのプルキンエ細胞の一部は、その線維を前庭神経核にも送っている。また、プルキンエ細胞の線維は側枝を有し、その細胞体や近位樹状突起および顆粒層内のゴルジ細胞にシナプス結合している。

プルキンエ細胞は、細胞皮質からの唯一の遠心性細胞である。すなわち、小脳への求心線維の興奮は、結局、プルキンエ細胞で統合され出

力される。

プルキンエ細胞の細胞体が濃染するものとしてでないものが存在することは以前より報告されているが、考察はなされていない。これには、構造上あるいは機能上、PVを多く含有する細胞とそうでない細胞の分布が一定の傾向にあるか、あるいは、固定時におけるそれぞれのプルキンエ細胞の興奮頻度を反映しているという2つの可能性が考えられる。

プルキンエ細胞には、苔状線維-顆粒細胞-平行線維路、そして、登上線維路が大きな求心線維として存在している。それぞれは、プルキンエ細胞の樹状突起に終末を送っている。これらの求心性線維の興奮がほぼ同時に起こったときには長期抑圧現象という特徴的な現象が起こるとされている。すなわち、平行線維の信号が、樹状突起のグルタミン酸受容体において抑制さ

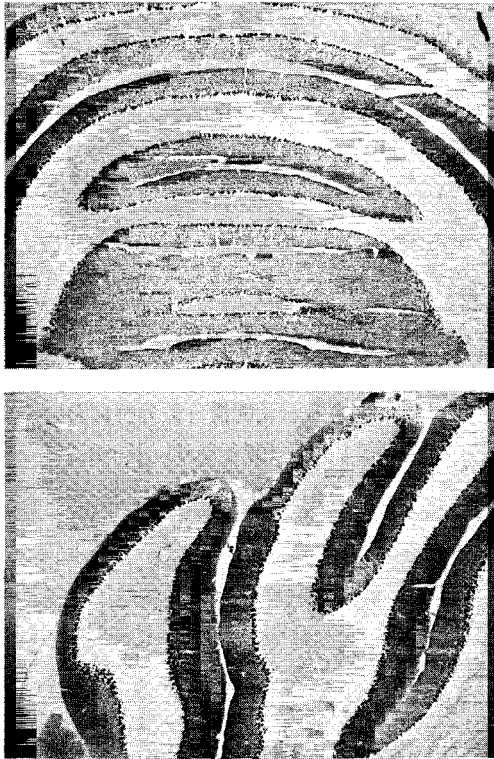


図7 抗PV抗体20,000倍の小脳前額断面
上段は小脳虫部, 下段は半球部。倍率20倍

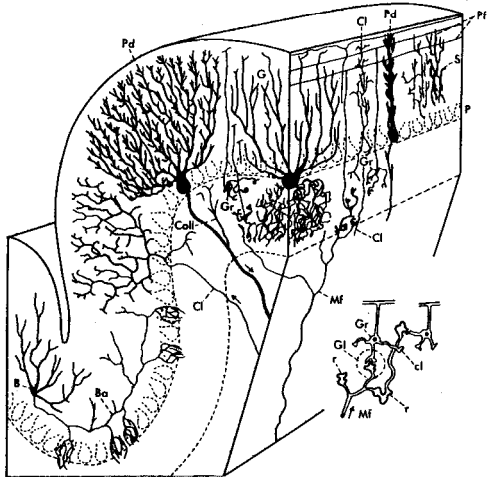


図8 小脳皮質の細胞構築
B: 顆粒細胞, Ba: 顆粒細胞の軸索, Cl: 登上線維
cl: 顆粒細胞の樹状突起先端の爪
Coll: プルキンエ細胞の反回側枝, G: ゴルジ細胞
GI: 小脳糸球, Gr: 顆粒細胞, Mf: 苔状線維
P: プルキンエ細胞, Pd: プルキンエ細胞の樹状突起
Pf: 平行線維, r: 苔状線維のロゼット
S: 星状細胞 (Brodal, 1981より。文献15から改編)

れる現象である(図9)。また、この現象は、その持続時間の長さや広がりから、運動制御や運動学習に根本的な影響を与えていると考えられている¹⁶⁻²⁰。

この長期抑圧現象が起こっているプルキンエ細胞では興奮刺激が抑制されているため、細胞体内の Ca^{2+} 濃度は低くなっており、PVの濃度は上昇していないことが想像される。組織を固定した時のそれぞれのプルキンエ細胞への入力状態が異なっていれば、興奮している細胞、興奮していない細胞が存在し、それぞれのプルキンエ細胞体においてPVの濃度の差異が生じ

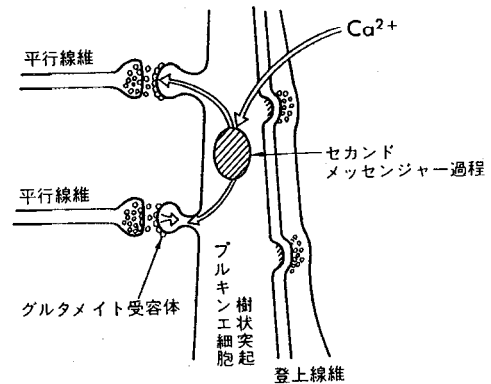


図9 プルキンエ細胞樹状突起における長期抑圧現象(文献20より)

ることは考えやすい。

さて、今回の一連の実験は、小脳への入力状態の変化によるPVの染色性の変化を形態学的に捕らえることを目的の1つとした。したがって、一次抗体の濃度の差により染色性が著しく変動するようであれば、PVの変化を有意に捕らえることができないと考えた。このために、濃度の異なる5,000倍、10,000倍、20,000倍の3種類の一次抗体溶液を作製し染色を試み、予備的な検討とした。そして、顕微鏡的にはこれらの濃度差による染色性の差は観察されなかった。以上の結果から、以降の実験に用いる一次抗体の濃度を10,000倍に決定した。すなわち、

この濃度で抗原を標識すれば過不足なく染色可能で、10,000倍希釈の一次抗体溶液は少なくとも濃淡2倍までの安全率を有すると考えられたためである。

実験2. PV濃染プルキンエ細胞の小脳内分布の観察

目的

実験1において、個々のプルキンエ細胞の細胞体のPV濃度には差違のあることが観察された。そこで実験2では、細胞体が良く染色されている細胞(PV濃染プルキンエ細胞)の小脳内での分布に一定の法則性、すなわち偏りがあるのかどうか、各小葉間、虫部、中間部、半球部においてその傾向を観察した。

方法

標本作製の手順は実験1と同様とした。8~10週齢のオスのSDラットの小脳の前額断の切片3例と矢状断の切片3例を作製した。抗PV抗体には10,000倍の希釈液を用いた。

観察方法は、前額断切片では各小葉間を左右対称となるように約500 μ mに区分して、光学

顕微鏡を用いて細胞体が濃染しているプルキンエ細胞の数を数えた。矢状断切片では各小葉間のPV濃染プルキンエ細胞数を同様に数えた。全体のプルキンエ細胞数に対する割合を求め、傾向を検討した。

結果

矢状断切片におけるPV濃染プルキンエ細胞の分布は図11に示すようになった。すなわち、その出現頻度は、7~81%と各小葉間について個体ごとに大きなばらつきを認めた。統計的には繰り返しのある一元配置分散分析において、各小葉間のF値は0.407となり、 $P=0.915$ で、有意差を認めなかった(図10)。

前額断切片における観察でも、分布の虫部、半球部間に一定の傾向は認められず、左右の対称性も確認できなかった(図11)。

考察

小脳は肉眼的に虫部と半球部に大別される。虫部には背側に横走る多数の溝が存在し、IからXの小葉に区分される。半球部も対応するようにIからXの小葉に区分される。発生学的に小脳の半球部と虫部第VII葉は最も新しい部分

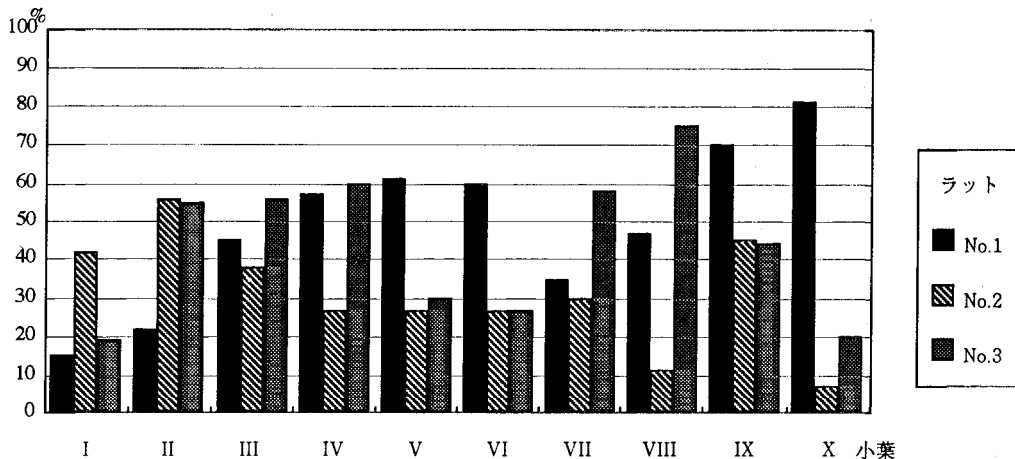


図10 小脳の各小葉におけるPV濃染プルキンエ細胞の割合
実験2による矢状断切片におけるPV濃染プルキンエ細胞の分布を示す。その出現頻度は、7~81%と各小葉間について個体ごとに大きなばらつきを認めた。繰り返しのある一元配置分散分析による各小葉間のF値は0.407となり、 $P=0.915$ で、有意差を認めなかった。

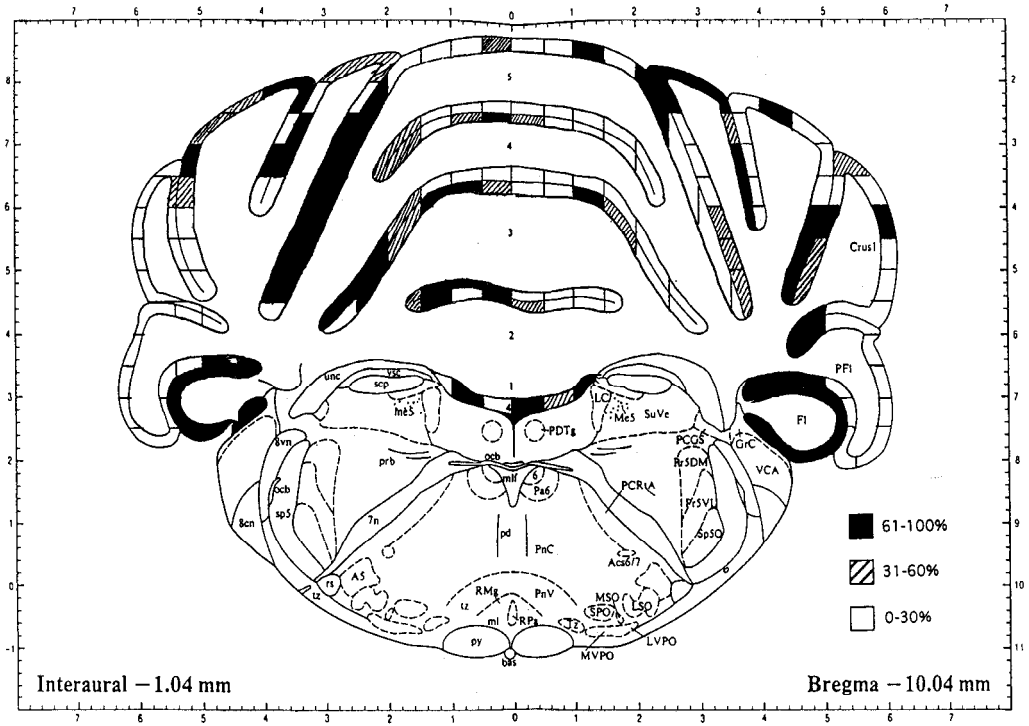


図11 PV 濃染プルキンエ細胞の割合の分布の1例
便宜的に500 μ m幅に区分した皮質の小領域内におけるPV濃染プルキンエ細胞の割合を図示。
(文献56より引用した図に描写)

で、新小脳と呼ばれる。また、第X葉は原始小脳、他の虫部の部分は古小脳と呼ばれている。

投射経路による機能区分もなされている。投射の主な起始核により、橋核小脳、前庭小脳、脊髄小脳と区分される。これらはそれぞれ新小脳、原始小脳、古小脳にほぼ対応している²¹。

また、登上線維の終止域による区分は非常に特徴的である。小脳皮質は矢状方向に、内側から外側の順にA、B、C₁、C₂、C₃、D₁、D₂の帯状に分けられる。おのおのの帯状域は対側の下オリブ核の特定領域からの投射を受けている¹⁵(図12)。

また、大脳皮質からの刺激を小脳に伝える橋核小脳路は大脳の各領野から小脳皮質への一定域へ投射していることが知られている(図13)。

今回の実験は、対象数が少なかったため、小

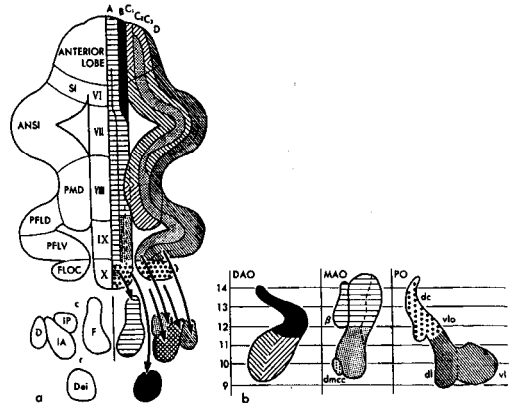


図12 オリブ核小脳路の終始部位の帯状配列
起始と終止の関係と同じシンボルで示してある。また皮質核投射は矢印で示してある。
D: 歯状核, Dei: ダイテルス核, IA: 前中位核
IP: 後中位核, F: 室頂核, SI: 単小葉
ANSI: 係蹄小葉, PMD: 正中傍小葉, PFLD
PFLV: 背側腹側片葉傍小葉, FLOCC: 片葉, X: 小節
DAO: 背側副オリブ核, MAO: 内側副オリブ核
PO: 主オリブ核 (文献15より改編)

脳内の PV 濃染プルキンエ細胞の分布の詳細を語るには充分とはいえないかも知れない。また小脳の一部を観察したに過ぎない。しかし、光顕的に観察した範囲では、虫部、半球部間において分布の偏りは明らかでなく、また、左右対称性も確認できなかった。

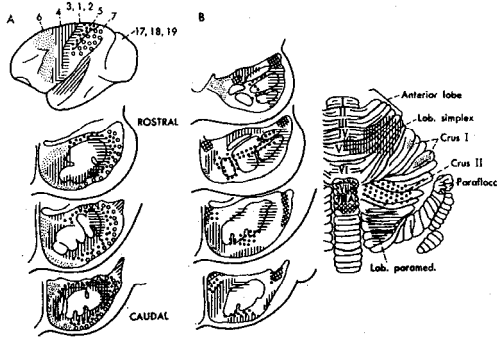


図13 サルの皮質橋核投射と橋核小脳投射の部位局在の関係 (文献15より)

PV の分布に関する今までの報告は少ないが、その中で、小葉間については、第I葉、第X葉においてPVの染色性が高いという報告がある。この報告ではその理由について十分な説明を記載していないが、前庭機能との関連を示唆している。しかし、今回の実験ではこのような傾向は認めず、さらにその他の機能局在や投射経路との関連性を示唆するような所見も観察されなかった。

さて、PVの分布に偏りを認める場合、次の2通りの可能性を推測できる。すなわち、まず、構造上あるいは機能上、PVを有する細胞とそうでない細胞の分布が一定の傾向にある場合である。そしてもう一つは、標本作製時にPVの産生が高まった状態にある部位が存在した場合である。

この実験において、すなわち無負荷の定常状態の小脳において、上述したどのような小脳の区分法にも一致するようなPV陽性のプルキンエ細胞の分布は認められなかった。この結果は、前述した2通りの可能性のうち後者、すなわち、

各プルキンエ細胞体のPV濃度の相違はその時の個々の細胞の興奮状態の相違を表現していると考えた場合により説明しやすいであろう。またそうであれば、小脳の求心線維の興奮性を変化させることが出来れば、その求心性線維に関連した小脳皮質のPV陽性細胞の変化として観察し得る可能性がある。

実験3. 片側下小脳脚切断時の小脳内PV陽性細胞の変化の観察

目的

右下小脳脚を切断すると右側の登上線維が遮断され、右小脳への求心路の一部が抑制されることになる。すなわち、求心路の一部が遮断された際の小脳内のPV陽性プルキンエ細胞の分布の変化を観察した。

方法

右下小脳脚の切断には、おもにネコにおいて行われた出浦らの方法を用いた。²²

ラットをネブタール腹腔内注射(60mg/kg体重)にて麻酔した。この後、頭部と背側上部の体毛を剃毛し、頭部固定装置に固定した。皮膚切開は頭頂部より肩甲帯部にかけて正中切開とした。傍脊柱筋群を確認し正中より左右に分け、傍脊柱筋群を後頭骨、頸椎より剥離した。右の傍脊柱筋群は停止部を切離し尾側方向へ翻転した。左の傍脊柱筋は停止部を切離せず左へ避け、後頭骨を露出した。後頭骨の右半を電気ドリルを使用して切除後、硬膜を鑷子で切開を入れ脳表を露出した。幅約3mmの脳篋を門より約4mm挿入、これを小脳皮質を傷つけないように約4mm右外側へ水平に移動させ、篋を引抜いた。この方法で右下小脳脚は切断された。切除した後頭骨を脳表に戻し、翻転した右の傍脊柱筋群を停止部に縫合して閉頭、皮膚を縫合した。

術後5日後の小脳を対象(3例、以下、切断群)とした。コントロールとしては後頭骨切除、硬膜切開のみを施行後、閉頭し5日間生存させたラットの小脳(3例、以下対照群)を用いた。

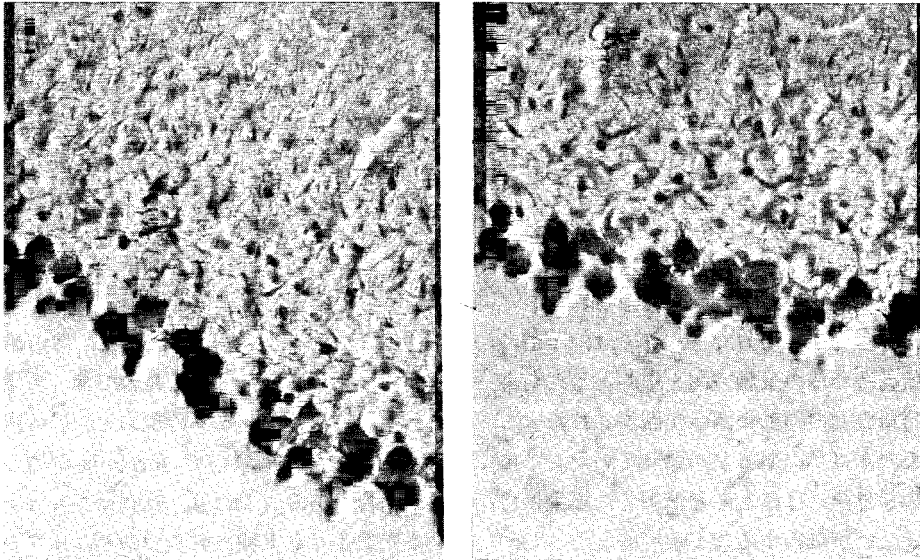


図14 右小脳脚切断と開頭時の小脳皮質
左側は右小脳脚切断，右側は開頭のみ。倍率200倍

結 果

対照群において、観察した範囲の小脳プルキンエ細胞の細胞体はほとんど濃染されていた。また、分子層内の細胞、小脳核部分の染色性も増加していた。一方、顆粒層には染色される細胞は存在しなかった。また、左右差や小葉間での差は認められなかった (図14)。

切断群において対照群にみられた変化と同様な変化が観察され、対照群に比し有意な変化を認めなかった。つまり、PV 染色性は全てのPV 細胞で増集しており、切断側と非切断側とで差を認めなかった (図17)。

以上、切断群、対照群の両群において、PV 陽性ニューロン内のPV は全小脳において増加したと考えられた。

考 察

小脳に出入りする線維は上、中、下の3対の小脳脚を通っている。上小脳脚はほとんどが小脳核から脳幹諸核、赤核、視床運動核への遠心性線維で構成されている。若干の求心性線維は腹側脊髄小脳路の線維である。中小脳脚は最も

太い線維束で求心性線維のみから成っている。ほとんど全てが橋核ニューロンからの線維である。下小脳脚はほとんどすべてが求心性線維からなり、そのうち下オリーブ核からの線維が大部分を占め、他に脊髄、前庭神経核、あるいは神経節、その他、脳幹由来のものを含んでいる。

小脳求心性線維は、組織学的に軸索終末の形態や分布様式が異なる2種の線維、すなわち、登上線維と苔状線維よりなる。前者は下オリーブ核をおそらく唯一の起始核としており、後者は橋核、脊髄灰白質、前庭神経核、一部の脳幹網様体を始めとして多数の他の脳幹構造物から起こる。

登上線維の主たる標的はプルキンエ細胞の樹状突起で、苔状線維の主たる標的は顆粒細胞の樹状突起である。

小脳は事実上、全ての種類の感覚受容器からの求心性インスパルを直接または間接に受けているといえる。また数としては多くないが、縫線核や青斑核も、おのおのセロトニン含有線維およびノルアドレナリン含有線維を小脳に送っ

ている。¹⁵

さて、右の下小脳脚を切断することは右の登上線維の切断を意味する。²²すなわち、右の小脳は登上線維の入力が完全に抑制される一方、苔状線維の入力は抑制されない。従って、プルキンエ細胞には苔状線維の刺激のみが届くことになる。この処置により、プルキンエ細胞の興奮状態を大きく変化させることが予想された。

右の下小脳脚を切断したラットでは、頭部の振戦、体動時の体の長軸方向を中心とした右方向への回転などの運動失調症が観察された。これは過去のネコでの報告と一致していた。²²この症状は約5日後にはほとんど消失し、協調性にはやや乏しいが歩行することが可能となった。この状態になった時点で、小脳脚切断後の小脳が生理学的にはほぼ代償を終了した状態になったと判断し、その小脳標本を作製し観察した。

対照には同じ術式で開頭のみを行い、小脳脚を切断せずに閉頭したラットを用いた。手術侵襲などの影響を検討する必要があったからである。この対照ラットでは麻酔回復後、翌日には歩行が可能となった。

主にネコに対して行われた出浦らの方法をラットに施行する際の問題点は、対象が小さいために、神経組織や血管を傷つけやすく、手技が困難なことであった。下小脳脚は目視することができず、術中に小脳脚切断を確認することは難しかった。しかし、登上線維のみを分離して切断できる方法として有用であったため、採用した。

実験3の結果としては、切断群においても対照群においても共に小脳全体のPV濃度の増加が観察された。切断群において期待された小脳半球間、虫部における左右差は確認されなかったため、右の登上線維切断の影響とは考えにくく、その効果を同定できなかった。

これまでの中枢神経内のCaBPの分布変化に関する研究でも、神経細胞の周囲の環境を操作してその変化を観察したものが散見される。

ラットの眼球摘出によって上丘のニューロンへの求心性刺激を遮断すると上丘の神経細胞内のcalretininが上昇したという報告がある。²³また、虚血に陥った海馬の神経細胞でのPVなどのCaBPの上昇や脱神経による変性細胞におけるPVなどのCaBPの上昇¹⁰も報告されている。²³これらの報告の考察では、虚血や変性によりもたらされたCa²⁺の上昇PVなどのCaBPの上昇を惹起したと述べられている。より機能的で非侵襲的な方法論による報告では、食塩水を慢性的に投与したラットの視索上核のオキシトシンニューロンにおいてcalretininが増したという報告がある。²⁴これは、抗利尿ホルモンの分泌を亢進させる実験モデルであり、オキシトシンニューロンが活性化させられた結果であると考察されている。

実験3は、片側の下小脳脚を切断することによりもたらされるその同側の小脳の変化を期待して行われたものであった。対側の登上線維は温存されているため、プルキンエ細胞への入力様式に何らかの変化が生じ、その結果、PV濃度に変化が認められることを予想した。

しかし、予想に反して、片側下小脳脚切断においても小脳全体のPVの増加を認めたのみであり左右差は確認できなかった。また、この変化は対照群にも認められ、そのために開頭による侵襲の影響が主体と考えられた。実際、切断の手技は、動物が小さいため比較的困難であり、ある程度出血は避けられず、術後5日では浮腫や虚血の影響から回復していない可能性がある。一方、もし浮腫や虚血状態の回復を充分に待ってから標本作製を行う場合には、切断線維の再疎通の可能性が高くなるため、その解釈が難しくなると予測された。

PVは浮腫や虚血の影響を受けやすく、正常細胞の活動変化を観察する目的で扱う場合には、虚血や変性などの可能性を充分考慮に入れなければならないことが示唆された。観血的な方法を施行した場合、これらへの考慮が必須で

ある。

実験4. 回転振盪負荷による小脳内 PV 陽性細胞の変化の観察

目 的

実験3により、何らかの外的な刺激が小脳内の PV 分布を増加させる可能性が示唆された。そこで、より非侵襲的で、かつ、運動療法に関係する他動的な刺激法、すなわち、回転振盪負荷を考案し、小脳内の PV の変化を観察した。

方 法

対象はオスの SD ラット (250~300g の小脳とした)。

小脳刺激方法として回転振盪負荷を考案した。すなわち電動振盪器 (IWAKI 社製 SHK310) 上にラットを乗せ、毎分200回転の回転振盪負荷を5時間与え、これを負荷群とした (図15)。

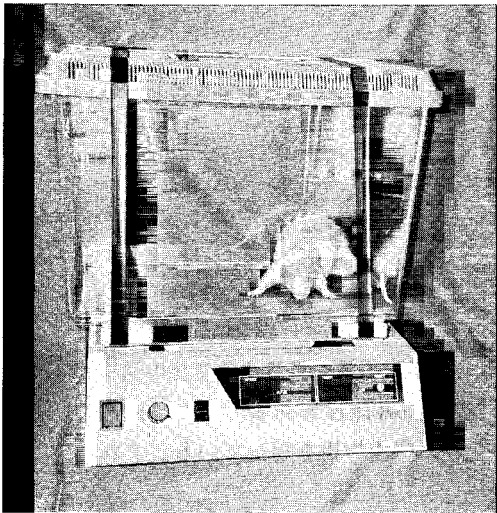


図15 回転振盪負荷中のラット (200回転/分)

負荷後、直ちに先行実験と同様の方法で灌流固定を行った。対照として負荷を与えないラットを用いた。負荷群を3例、対照群を3例とした。手技による誤差を少なくするために負荷群と対照群の染色は同時に行った。

観察方法は今までの実験と同様であり、小脳

の虫部を中心に矢状断で観察した。

結 果

対照群の結果は実験2と同様であった。一方、負荷群では対照群に比し明らかに PV の染色性は小脳全体で高まり、分子層とプルキンエ層に PV 濃染細胞が多数観察された。特にプルキンエ細胞の細胞体は非常に濃く染色されていた。さらに樹状突起の染色性も増し、表層まで良く追えた (図16, 17)。

従って、今回の観察から、回転振盪負荷は小

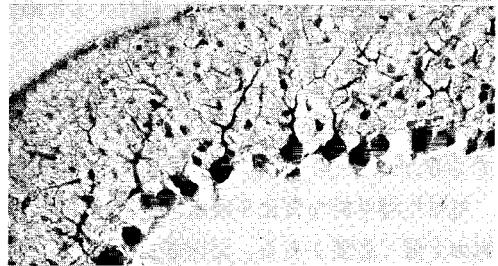
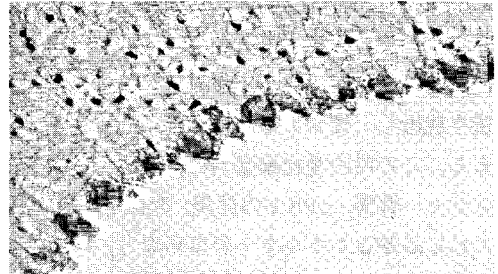


図16 回転振盪負荷によるプルキンエ細胞の PV の増加
上段は対照群の皮質、下段は負荷群の皮質。倍率100倍

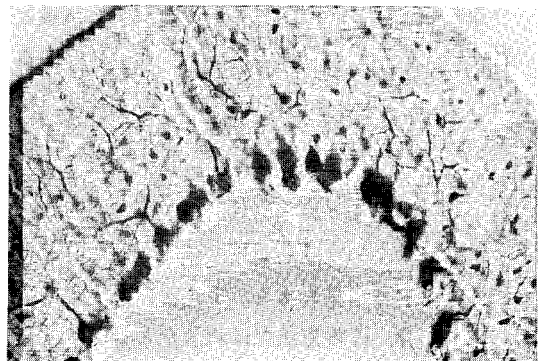


図17 回転振盪負荷によるプルキンエ細胞の PV の増加

脳プルキンエ細胞のPVを有意に増加させたと考えられた。

考 察

中枢神経系の機能を調べるために行われる中枢神経の刺激方法あるいは賦活方法には種々なものが知られている。感覚神経の刺激、他動運動や自動運動、薬剤の投与や電気刺激、あるいはヒトでは語想起課題や暗算課題などが挙げられる。ある神経細胞群を活動させて、その生理学的な変化、生化学的な変化をとらえ、細胞機能や組織機能に関する考察を行うことがこれらの刺激方法の目的である。

神経細胞が興奮すると、脱分極により始まる電気的な変化が起こり、最終的には神経伝達物質を放出し、後シナプスの神経細胞に影響を与える。この間の神経細胞内にはセカンドメッセンジャー機構、mRNAの発現、タンパクの合成、これに必要なエネルギーの供給など、様々な出来事が生じている。この活動を維持するために神経細胞周囲の環境も変化する。

以上の変化を捉えることが課題であり、その検出方法は目的とする現象の性質により異なってくる。

電気生理学的な変化を検出する場合には記録電極を置く必要がある。記録電極には、表面電極、針電極、細胞内電極などがあり、侵襲性の関係からどれを使用するかは常に問題にされる。また、筋活動の影響が大きく運動を伴うような状態では検出が困難である。一方、刺激と変化の検出は同時に行われ、刺激とそれによる変化の因果関係は観察しやすい。

細胞内で起こった生化学的な変化は、組織標本を作製し検討することが多い。このためほとんどの場合、生体での観察は困難である。また、より全般的な生化学的な変化の観察には髄液の組成を検討する場合もある。生化学的な変化を捕らえる場合、この方法では刺激から変化の検出までの時間が長いことが一般的なため、目的とする物質の半減期にもよるが、刺激から検出時

点までの変化の積分値を観察している場合が多い。従って、刺激を与えてから検出するまでの間に目的の細胞が他の影響を受けないことが重要になる。

細胞周囲の環境の変化などの間接的な情報を観察し、その変化を推定する方法もある。血流の変化、グルコース代謝の変化、磁場の変化などを検出し、主に画像として検出するものである。これらは造影剤を必要とする場合もあるが、ほぼ非侵襲的な方法である。ただし、解像度の問題があり、大脳の各葉間レベル、あるいは脳回レベル程度の検討が限界であり、組織レベル、細胞レベルの検討には困難を伴う。

このように検出方法は目的とする現象がどのような性質のものかによって決まってくる。そのため、同一検体で異なった性質の現象を同時に検出することは困難である。これは中枢神経研究の困難な一面を示すものでもあろう。

さて、本実験は、他動的運動負荷の求心性線維興奮を介した小脳へ及ぼす影響を細胞内PVの濃度変化として捕らえようとしたものであった。この刺激の持続時間は5時間と長く、また、PVの半減期は不明であった。このためPVを増加させた刺激が、実際には刺激開始から刺激終了までのどの時点のものであるのかは考察できなかつた。非常に短い時間で刻々と変化する細胞内の状態の一断面の可能性もあり、また、非常に長い時間で持続する変化の過程の途中を観察した可能性もある。ただし、もしPVがCa²⁺の緩衝作用を担っているとすれば、前者の可能性が高いと思われた。一方、PVの半減期が相対的に長ければ濃度の上昇として検出されやすいことは想像された。

ラットを毎分200回転の電動振盪器に乗せると非常に努力をして立位を保つことが観察された。連続して移動する重心に反応するため四肢を広めに置き中枢側の筋を活動させていた。頭部は常に回転し不安定であった。時折、体位を変化させるが、転倒することはなかつた。以上

の負荷は、歩行や走行などと異なり、固有覚と前庭神経をある一定のレベルで常に刺激するような他動的な負荷状態であると考えられた。

またラットは5時間の負荷中も決して転倒するようなことはなかった。常に立位を保とうとするために意識レベルが覚醒し、小脳が十分に賦活されている状態にあると考えられた。

このような回転振盪負荷により固有覚や前庭神経が電気生理学的にどの程度の興奮をするかの詳細は不明である。また、著しい筋活動を伴うため、その検討には困難が伴うであろう。しかし、このラットの行動の観察と現学的な知見とも考え合わせると、小脳の求心性線維は賦活されていたと考えられた。

回転振盪負荷は主に固有刺激と前庭神経刺激を引き起こす。また、立位を常に保っていることは自動運動の要素も関与し大脳からの入力も増加していると推測される。すなわち、この負荷によりほとんどの小脳求心性線維が賦活され、プルキンエ細胞内の CaBP の 1 つである PV の増加を伴ったとする推測は理にかなったものである。つまり、求心性線維からの興奮を受けてプルキンエ細胞が反応した結果、細胞内の Ca^{2+} 濃度が上昇したため、これを緩衝するために PV の濃度が上昇したと考えられた。実際、籠細胞と星状細胞における PV の増加も同時に認められ、これ苔状線維からの入力増加の影響と考えられた。しかし、もちろん、今回推測した機序以外の未知の反応の可能性をこの実験のみから完全に否定することは出来ない。

また、この方法ではほとんどすべての小脳への求心性線維が刺激されたと考えられるため、プルキンエ細胞へのすべての入力線維が賦活されたと思われる。したがって、平行線維、登上線維が同期して、あるいは同期せずにプルキンエ細胞を刺激することになったであろう。

この実験は PV のみを観察したものであった。そして、PV を含有していると考えてられているすべてのニューロンにおいて同様の傾向

の変化が認められた。このため求心性線維賦活以外の、ストレスの様な非特異的な影響を完全には否定できなかった。そのため、関連した神経伝達物質での検討が必要になった。

実験 5. 回転振盪負荷による小脳内 GABA の変化の観察

目 的

実験 4 において回転振盪負荷は小脳の神経細胞にある生理学的あるいは生化学的な変化を引き起こす可能性が示された。しかしこの変化は別の非特異的な効果によることも否定できなかった。

神経細胞に十分な刺激が入力されると、その結果、神経伝達物質の産生、放出として表現される反応をもたらす。従って負荷の結果、実際に神経伝達物質の変化が観察されれば、より確実に神経細胞の機能に影響を与えていると言うことができよう。そこで、小脳内の重要な神経伝達物質である GABA を目的とする神経伝達物質とした。PV はまた、GABA 含有ニューロンに多いとされている^{8,9}。

方 法

負荷方法は実験 4 と同様とした。負荷群には 3 例、対照群には 3 例のラットを用いた。免疫組織化学としては PAP 法を用いた。抗 GABA 抗体は 10,000 倍に希釈した。観察方法は実験 4 と同様とした。

結 果

対照群において、GABA は分子層内の各細胞（星状細胞、籠細胞）と、ゴルジ細胞、籠細胞の終末に存在した。プルキンエ細胞では、その細胞体には GABA 染色性がない一方、神経終末に多く存在していた。

負荷群では、分子層内の細胞、籠細胞の終末、ゴルジ細胞の終末でその染色性が有意に増加した。一方、プルキンエ細胞では著変がなかった（図 18, 19）。すなわち、プルキンエ細胞の細胞体は GABA について染まらず、またその神経



図18 対照群のGABAの染色
上段の倍率は20倍，下段は200倍



図19 負荷群のGABAの染色
上段の倍率は20倍，下段は200倍

終末は対照群と同様に染色された。

以上、回転振盪負荷によって、分子層内のGABA含有細胞と籠細胞の終末、ゴルジ細胞の終末においてのみ、GABAの増加が観察された。

考察

対照群の結果はこれまでの報告の結果と同様の傾向であった。一方、負荷群における変化には興味深いものがあった。

GABAは小脳ではプルキンエ細胞、籠細胞、ゴルジ細胞の神経伝達物質として知られている。分子層内の細胞には籠細胞と星状細胞があるが、これらの細胞への入力線維は平行線維のみといわれている(図20)。これらの細胞でGABAが増加したことは平行線維からの刺激入力の増加による結果と考えられた。また、平

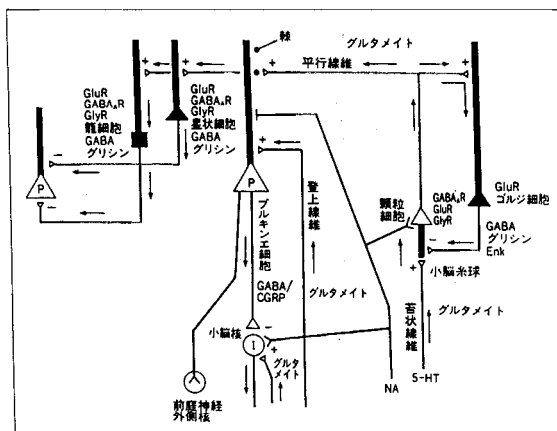


図20 小脳の神経回路網(文献29より改編)

行線維は顆粒細胞を介して苔状線維の刺激を受けている。従って苔状線維からの刺激がこれらの細胞GABAを増加させたと考えて良いのだら

う。

ゴルジ細胞は平行線維のみではなく、登上線維、プルキンエ細胞、苔状線維からの入力を受けている。これらの入力のうち、抑制性線維はプルキンエ細胞からの線維のみである。従って、ゴルジ細胞の終末での GABA の増加は以上の関係と矛盾しない結果と考えられた。

一方、プルキンエ細胞の終末では GABA 量の有意な変化を認めなかった。すなわち、この実験から、運動負荷による GABA 含有ニューロンの GABA の分布変化は PV の変化と比較して、GABA 含有ニューロンであるにもかかわらずプルキンエ細胞では変化が明らかでなかった点で異なっていることが分かった。その理由としては以下の推測が可能であろう。

プルキンエ細胞での PV 上昇は、細胞内の Ca^{2+} の頻回な濃度変化の過程を反映していると思われるので、求心性線維の入力が増えた結果もたらせられたといえる。一方、GABA 自身の濃度は、求心性線維の入力を受けても長期抑圧現象などの関与から常にその産生が増加するとは限らないといえよう。

長期抑圧現象は、プルキンエ細胞への入力である平行線維と登上線維の興奮がほぼ同時に起こったときに生じる特徴的な現象である。その際、樹状突起上の平行線維に対する受容体であるグルタミン酸受容体の反応性が長期にわたって抑制され、そのためにプルキンエ細胞の発火は強い抑制を受けるのである。実際、他の GABA 含有ニューロンではこのような長期抑圧現象は認められておらず、また、今回の実験でも PV が増加したことと同様に入力刺激増加に反応したと思われる GABA の増加を観察できた。

回転振盪負荷は一種の運動負荷と考えることが出来る。そして運動負荷が中枢神経内の神経伝達物質やホルモンに影響を及ぼしたとする報告は散見される。すなわち、ラットを泳がせたり走らせたりすると全脳の homovanillic acid

(HVA) が増すという dopamine 代謝の増加、ラットの 1 時間の treadmill 走での monoamine oxidase や noradrenaline の増量³⁰、また、serotonin についても 90 分間の treadmill 走で全脳において約 2 倍の増量が観察されている。ホルモンとしては運動負荷による adrenocorticotrophic hormone (ACTH) の増加が知られている³¹。

これらの様に比較的短時間の運動負荷でも脳内の神経伝達物質の変化は充分観察されているので、今回の実験結果は決して奇異なものではないだろう。

運動負荷による小脳内の変化を形態学的に観察できた意義は大きい。今後、運動負荷の影響を捉える他の実験への応用を検討したい。

第 3 章 総括的考察

第 1 節 リハビリテーション医学の基礎医学

リハビリテーション医学は臨床医学の新しい一分野である³²。リハビリテーション医学は今まで救命の視点が中心であった医学の世界に生活の視点を導入した。

しかし、その学問的基盤が基礎医学的研究によって支えられるべき事は、他のすべての臨床医学分野と同様である。このため新しい視点の基礎医学が生まれつつある。

例えば運動学は、まず整形外科学や体育学の中から生まれ、次いでリハビリテーション医学の基礎を作った新しい基礎医学である。そして、リハビリテーション医学の視点では正常生理学と病態生理学との関係のように正常運動学の他に異常運動学あるいは病態運動学といった基礎医学の研究が必要となる。

例を挙げると、正常歩行については運動学において詳しく研究されている。では片麻痺患者の歩行についてはどうであろうか。現象的な観察はよくなされているが、いわば理想的な、訓練の目標とすべき片麻痺歩行とは何かという問いには未だ定説がない。ある片麻痺の状態で最

も効率の良い歩行パターンといった概念が今後さらに検討されるべきである。

リハビリテーション医学の基礎医学として次に挙げられるものは、機能回復の生理学である。これは機能障害のメカニズムとその回復過程の研究をさす。機能の回復はリハビリテーション医学の最大のテーマであり、リハビリテーション医学の臨床の中から提出される様々な仮説を基礎的研究によって解明していく必要がある。機能の回復は疾患の病理過程とどのような対応にあるのかといった疑問への答えが望まれる。

さらに、リハビリテーション治療も重要な基礎医学として挙げられる。これは運動療法や作業療法における個々の手技の根底にある一般的な運動機能回復促進の原理の発見をはじめとするリハビリテーションの治療、訓練の諸技術の基礎的裏付けに関する研究である。運動学と機能回復の生理学を融合させた形で研究されるものと思われる。例えば、中枢性麻痺に対し古くから facilitation techniques と呼ばれる手技体系が存在するものの、その基礎医学的な裏付けは未だ乏しい。今後の発展が急務である。

リハビリテーションは医療としての必要性は広く認められるようになって来たが、医学として確立するためにはこれらの基礎医学の探求が必要なことは明らかである。これまでの基礎医学の知識を基礎に運動学的な概念や手法を使用した研究体系が必要と思われる。

今回の実験のように、他動運動などの運動が負荷によって、脳内の神経伝達物質の分布などの変化を捉えるという新しい手法は、運動療法の科学的解明に直接結びつくものと考えられ、リハビリテーション基礎医学の確立に寄与するものと考えられる。

第2節 中枢神経の機能回復

中枢神経に急性の障害が生じた場合の回復は、まず障害された組織の周囲の浮腫の消退によるとされている。そして、症状は障害された

組織の脱落症状に限定されてくる。この後の回復は疾患の病理過程を反映するものとなる。この過程は神経系の可塑性の現れとしての機能再建または代償などと呼ばれる変化を伴った回復である。これは自然回復とみなされる場合もあるが、運動療法が不可欠であるとされる場合もある。いずれにしても、この回復を中枢神経系の機能回復と呼ぶ。

機能回復のメカニズムは古くより諸説が存在するが、まとめると大きく4つに分けることができる³⁴。それは次のようなものである。

①階層的機能再建による回復。ある機能は高次のレベルから低次のレベルへと連なる幾つかの段階により調節されている。中間のレベルには低次のレベルを調節する一塊の要素的なプログラムが幾つも存在し、高次のレベルはこの中間のレベルを調節することにより機能を表現する。そのため、高次のレベルが障害された場合、より低次のレベルでの機能の再現がおこる。脳卒中片麻痺における下肢機能の回復はこの考え方に合致するとされている。しかし、この考え方では高次レベルまでの回復はありえないことになる。

②機能代行。中枢神経には正常時にあまり何もしていない機能的に冗長的な部位が存在し、これが障害時の代行にあたる。

③機能解離の消失。機能解離とは障害部位から神経連絡を介しての遠隔作用として広い範囲に広がる機能的な抑制である。これが徐々に消失することにより機能回復が起こると言う考え方である。脊髄ショックがその例として挙げられるが、生理学的な証明はなされていない。

④機能再組織。これは脳の一部が損傷された後、残存した脳部位が動的に機能の再組織化あるいは再編成を行うとするもので、対側半球への機能転換、損傷部周辺皮質での機能代償などが考えられる。生理学的な裏付けとなる研究も存在している。この現象の発現には新しい神経回路網の形成が必要と考えられる。

これらの諸説に関する科学的な裏付けは未だ充分ではない。しかし中枢神経系の機能回復を研究する上で非常に示唆に富んだ考え方である。実際の中枢神経系の機能回復はこれらの現象が異なった重み付けで組み合わせたり、行われていると推測される。

さて、形態学的には中枢神経系の機能回復の過程において発芽現象が確認されている³⁵。再生発芽と側副発芽とがあるが、中枢神経系では後者が広く認められる。そして、この側副発芽が新しい神経回路網の形成に何らかの関与をしていると思われる。しかし、この発芽が生体にとって回復に役立つ有利な結果を招来するとは限らないとも考えられる。発芽がその局所の条件だけで起これば、それが生体にとって有利に働くか否かはほとんど偶然の決定にゆだねられるからである。ここで、局所的には無方向的に起こりうる発芽現象を生体にとって有益な方向に組織化し、機能回復の法則に組み入れる機構の探求が重要になってくる。リハビリテーション医学の立場から言えば、運動療法がそのような正しい方向づけの役割を果たすであろうと期待されている。

運動療法の手技として facilitation techniques と呼ばれる一連の技法がある。神経生理学的アプローチとも総称されている。中枢性麻痺により表現される反射や運動、行動の現象的な法則にしたがって、それらを利用あるいは抑制してその機能の向上を図ろうとする手技である。Brunnström, Bobath, Rood, proprioceptive neuromuscular facilitation (PNF) などが有名である。それぞれ、治療体系として独立はしているが、共通点も多い^{36,37}。これらの治療体系の効果は証明されていないが、それぞれの体系のなかの幾つかの手技は生体に明らかに有益と思われる反応を引き出すことが経験的に知られている。これらの曖昧さは、症状に対する手技の適応あるいは禁忌が明解でないため、全体として効果が相殺されてしまうことによると考えるの

が妥当である。すなわち、運動療法が中枢神経系に及ぼす効果を論じるには、まず病態と症状による適応と禁忌を明確にする必要があると言える。しかし、それを決定するための基本的な知見は未だ存在しない。中枢神経系に対する運動の生理学的、生化学的影響に関する研究がほとんどなされていないからである。

今回の実験を応用すれば、今後、運動が中枢神経系に与える生化学的影響をより明らかにできるであろう。現在知られている重要な神経伝達物質はほとんど免疫組織化学的に観察可能であるし、また、主要な CaBPs も観察可能だからである。それぞれの標的物質を対象として、中枢神経系全体をこの実験モデルで観察し、その結果をまとめることができれば、運動が中枢神経系のどの部位にどのような性質の効果を及ぼしているのかも考察できよう。また、困難は伴うのであろうが、中枢性麻痺の動物モデルを作製し、この実験を応用できれば、運動療法の効果に関する基本的な知見も得られるであろう。運動刺激と病理経過との関連や発芽現象との関連も観察できる可能性がある。

第3節 運動学習の神経生物学

運動学習は運動制御に関係する神経回路中のニューロン、シナプスに起こる変化に依存すると推定されている。このような考え方は1911年 Cajal によって提唱され、最近20年間の神経系の可塑性に関する研究の発展によってその一部が証明されてきている。記憶や運動学習の神経機構は新たな神経回路の形成というよりも局所的な変化であり、具体的にはシナプス形成、既存のシナプスの機能特性に変化をもたらすような、ニューロンとシナプスの構造変化、膜特性の変化であるとされる。動物実験では、短期間の慣れあるいは感作が学習の基本モデルとして検討され、細胞膜の一過性のイオン透過性の変化がその要因と考えられている。この過程では Ca^{2+} 、cAMP の役割が重要視されている。

連合学習の細胞レベルのモデルは1949年 Hebb によって提案された。シナプス前の活動とシナプス後の活動が同期して起こる場合にシナプス伝導効率が変化するというモデルである。この種の変化に対応するシナプスも実際に報告されつつある。

小脳プルキンエ細胞には性質の異なる2種類の入力があり、これらのシナプスが可塑性シナプスであることは先に述べた。小脳の細胞構築をパーセプトロンとしてモデル化し(図21)、この可塑性シナプスを効果器層に置いて考えると学習課程が成立し得ることも指摘された。⁴²前庭動眼反射の適応現象は、実際にこの理論で充

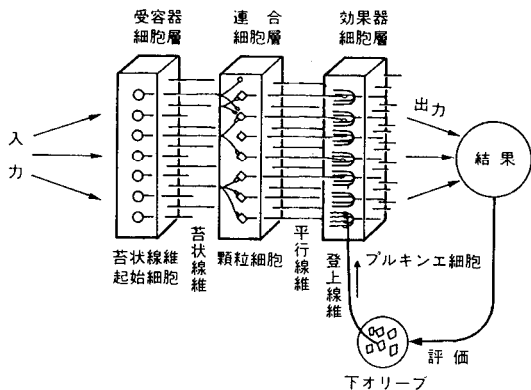


図21 小脳神経回路網の単純パーセプトロン模型(文献20より)

分に理解でき、⁴³シナプス可塑性と運動学習との関連を説明しうる明解なモデルとなった。

視覚刺激に反応して手関節伸展運動によってレバーを上げるサルのオペラント条件づけと並行して、大脳皮質の運動関連電位の発現とその変化が観察されている。^{44,45}この運動学習に伴い運動野上肢領野、前頭連合野、運動前野などに運動に先行した、刺激から40ms 潜時と100ms 潜時の皮質電位が出現し、その運動の熟練につれて大きくなることが観察された。40ms 潜時の電位は主として深層性視床大脳皮質間応答であり、100ms 潜時の電位は浅層性視床大脳皮質間応答であることが解っている。前者の電位は視

覚入力による電位であり、後者の電位は新小脳由来の電位と考えられる。運動学習の初期段階では、これらの電位は運動野では検出されず、連合野、運動前野においても視覚入力の電位が弱く検出されるにとどまる。ところが認知学習が始まるとこれらの電位が運動野、連合野、運動前野などで出現し、学習を重ねるにつれ電位が次第に大きくなる。この電位の発現には連合野・前運動野-新小脳-視床 VL 核-運動野の投射路が関与し、条件刺激と反応運動の連合には連合野と運動前野の活動増加が必要であるとされる。条件づけされた後、運動が熟練するためには大脳小脳連関の活動増加が必須であると考察されている。このように運動学習に関わる基本的な要素の一部が明らかにされた。

今回の実験を応用すると、運動学習に重要な役割を担っている可塑性シナプスを検出できる可能性がある。例えば、グルタミン酸と CaBP の免疫二重染色が行うことができれば、プルキンエ細胞樹状突起での長期抑圧現象に関連した何らかの特徴を形態学的に観察できると期待される。

第4節 運動失調症の治療法

1. 運動療法⁴⁷⁻⁴⁹

運動失調あるいは協調運動障害とは運動の正確さや円滑さが欠けた状態である。

運動が正確に行われるためには、以下の要因が必要である。

- ①主動筋や補助動筋の収縮が正しい時期に適切な量だけ起こる。
- ②拮抗筋は運動の種類に応じて弛緩したり動筋による動きを制動したりする。
- ③動筋や拮抗筋の収縮が中間関節に不要な動きを起こさないよう、これを固定する動きを他の筋群が行う(手指運動時の手関節など)。
- ④四肢遠位部の運動では近位部や体幹が固定される。
- ⑤身体部位の動きに伴う重心移動に応じて、重

心線が支持基底から逸脱しないように全身の姿勢緊張は自動的に変化する。

⑥抗重力機構が働く。

そのために協調運動障害は、筋力低下(麻痺)、姿勢反応障害、不随意運動、関節障害などの様々な原因で生じる。その中でも協調運動に不可欠な構成要素は、運動感覚とその統合であり、これらの障害を特に失調症 ataxia という。小脳が障害された場合の最も重大な症状はこの失調症である。

小脳は運動の制御器として考えられている。小脳は運動のフィードバック系の調整、フィードフォワード系の調整、多変数制御、多変数制御の学習(運動学習)に働くと考えられている。従って小脳が障害された場合、小脳性運動失調症では、この制御機能が低下、欠損するため、上記の①～⑥の全て条件が障害されると考えられる。また多変数制御の学習の障害も重要な意味を持つ。

小脳が障害された場合、臨床的にはその障害が小脳核に及んでいなければ失調症が速やかに回復することが多い。これは投射路が温存されるために残存した皮質での代償作用が速やかに生じるためであろう。一方、障害が小脳核へ及んだ場合や脳幹部での小脳路が障害された場合は小脳症状は残存し、運動療法が不可欠となる。

小脳性運動失調症の運動療法の基本は、固有受容感覚、視聴覚、一部体性感覚などを介した求心性刺激を加えることにより運動制御の改善を図ることとされている。方法としては、注意覚醒レベルを増すこと、他動運動に自動運動を組み合わせること、重りを負荷しての運動、自己視覚観察下で運動を反復、寒冷マッサージや振動マッサージで前処置をして運動、弾性帯で四肢中樞筋を緊縛して運動をすることなどが行われている。

これらの運動療法は、その機能障害に対しいづれもある程度の効果を有するが、一般に効果の持続は短く、定常的な機能の改善をもたらす

までにはなっていない。

Frenkel により構成された協調運動の要素的動作を自発運動として反復するプログラムは Frenkel 体操と呼ばれ、古くから運動失調症の訓練法として知られている。手技は、臥位、坐位、立位、歩行という4つの姿勢の可能なもの1つから開始され、各姿勢において種々の下肢の運動パターンが患者の最大の注意の集中のもとに、ゆっくりかつ繰り返して遂行されなければならない。これは本来、固有感覚障害による失調歩行の改善を目的として施行されてきたものであるが、小脳性運動失調症に対しても残存する固有覚や視覚を利用することにより、また反復訓練を施行することにより協調運動を再獲得させることが期待されている。この Frenkel 体操では、反復して行われた運動パターンのみには改善が認められ、他の運動パターンの改善のためには、また各々別個に訓練される必要がある。また、反復して行われた運動パターンの獲得、つまり習熟運動の学習がこの方法の基本であることから、運動学習能力の低下を伴う、小脳性の運動失調症はその効果を得にくいという難点を有する。

PNF も運動失調の治療に用いられる手法であり、Kabat により提唱された。実際に用いられる手技としては rhythmic stabilization と quick reversal of antagonists がある。これらの手技を患者に最大注意下の抵抗運動として行わせる。また固有覚入力 of 強調も重視する。これらは生理学的には皮質の覚醒レベルを高める。そして、この皮質覚醒レベルの上昇が、運動制御の改善と運動学習の効率化に結びつくと考えられている。しかし、実際の効果の持続時間は短く、手技も難しい点に問題がある。

運動失調症の運動療法は、機能障害 (impairment) のレベルのみでは十分な程度の効果を上げることはできない。このため能力低下 (disability) のレベルでの治療が重要になる。

運動失調症の能力低下の治療を考える上での

最大の問題点は身体機能の健常部あるいは健側の欠如にあるといわれている。運動療法の結果、歩行や日常生活活動が可能になる脳血管障害による片麻痺や脊髄損傷による対麻痺では、健常な上下肢、健常な両上肢がある。そしてその運動療法の効果は機能障害のレベルである麻痺した肢の機能回復に比し身体全体の能力である能力低下のレベルにおいて著しいものである。すなわちこれらの患者では訓練を通じて、健常な残存部を中心に、患側肢を適宜利用あるいは抑制をして、身体機能全体を再構成するような学習が行われ、歩行、移動能力など再獲得がなされるのである。ところが、運動失調症の患者では、多くの場合、その障害は四肢、体幹におよび、健側と言うべきものが存在しない。また、たとえそれが一側性のものであっても、体幹の不安定性や不随意運動の存在が健常部の代替的な運動をししばしば妨げることになる。また、能力障害へのアプローチは代替的な運動能力の獲得、つまり運動学習を基本としているために、小脳が障害された場合、運動学習能力の低下の影響も深刻である。

これらの理由により運動失調症の運動療法には、多くの課題が残されていると言える。

2. 薬物療法^{50,51}

現在、運動失調症に効果的な治療薬はほとんど存在しない。そのなかに thyrotropin releasing hormone (TRH) がある。TRH はグルタミン酸、ヒスチジン、プロリンの3つのアミノ酸からなるペプチドで視床下部ホルモンとして下垂体からの甲状腺刺激ホルモン、プロラクチンの放出を促すほか、大脳、脳幹、小脳などにも広く存在し neuromodulator としてなんらかの作用を有していると推定されている。動物実験では中枢神経作用として、自発運動の増加、体温上昇、覚醒作用、抗うつ作用などが明らかにされている。脊髄小脳変性症の治療薬としては1977年より使用されてきた。運動失調症の改善が認められ、その機序として脳幹-小脳のノル

エビネフリン代謝回転の促進が考えられている。

また、小脳内の神経伝達物質の1つである 5-hydroxytryptophan (5-HT) が運動失調症治療薬として1980年より研究が進められた。脳血管障害性の小脳性運動失調症にも効果が確認された薬剤である。⁵²⁻⁵⁴

小脳におけるノルアドレナリン含有線維は脳幹網様体の青斑核から起こり、プルキンエ細胞の樹状突起にシナプス様の接触をしている。5-HT 含有線維も縫線核より起こり、同様にプルキンエ細胞の樹状突起に接触をしている。これは小脳神経路の主経路である苔状線維-顆粒線維-平行線維路、登上線維路の機能を修飾すると考えられている。これらの線維の働きは充分には明らかにされていないが、これらの神経路の活動水準を変化させる調節機構として働いているのではないかとされている。

これらの薬剤が運動失調症に効果が認められているという事実は、残存した小脳の活動性が症状の改善に影響を及ぼしていることを意味していると考えられる。このことは現在行われている運動療法の効果とも関連する。すなわち、Frenkel 体操や PNF は固有覚の興奮を増すことで患者の運動への注意を喚起することを目的としている。これらは脳幹網様体の活動水準を高められる⁵⁵。そして、さらに小脳への入力線維の1つであるノルアドレナリン含有線維、5-HT 含有線維の興奮を経てプルキンエ細胞の活動水準に影響を及ぼすことになろう。これは運動療法が運動失調症の改善にある程度の効果を有する理由の1つとして考えてもよいであろう。

これらの治療効果を免疫組織化学による神経伝達物質の観察によって示すことが出来る可能性がある。重錘負荷や圧迫帯負荷時のノルアドレナリンや5-HT など神経伝達物質の観察は試みることができる。薬剤の効果も同時に考察できる。これらの効果の性質や中枢神経系に及

ばす範囲を形態学的に示すことが出来るであろう。これらの知見は新しい治療法の開発や運動療法の適応の考察に役立つに違いない。

4. おわりに

今回の実験により、回転振盪負荷という運動負荷法と免疫組織化学により小脳の神経細胞内の CaBPs の 1 つである PV と神経伝達物質の 1 つである GABA の変化を検出できることが明らかとなった。この結果は、この方法を用いて他の神経伝達物質や細胞内の蛋白質の変化の検出も可能であることも示したと思われる。さらに小脳以外の中枢神経系の観察にも応用しうると考えられる。

小脳の神経細胞内には、このほかに、calbindin や calretinin などの CaBPs があり、PV とはその分布が異なっていることが知られている。これらの CaBPs を同時に観察することにより CaBPs の役割についてさらに詳細な知見が得られるかもしれない。小脳の神経伝達物質ではグルタミン酸やグリシン、ノルアドレナリン、セロトニンなどが存在している。グルタミン酸は登上線維、苔状線維、平行線維の神経伝達物質である可能性が高い。従って、この実験法でグルタミン酸を観察することも意味あることであろう。特にプルキンエ細胞樹状突起周囲でのグルタミン酸と PV の免疫二重染色は長期抑圧現象との関連で興味のあるところである。可塑性シナプスを検出できる可能性もある。

文 献

- 1) 上田 敏 (1994) ファッシリテーション・テクニクの必然性と発展. pp. 343, 上田 敏, 千野直一, 大川嗣雄編「リハビリテーション基礎医学」医学書院, 東京
- 2) 伊藤文雄 (1994) システムとしての運動学習. pp. 222-228, 「筋肉からのメッセージ」名古屋大学出版会, 名古屋
- 3) 中村隆一 (1986) 小脳疾患の理学療法. pp. 307-320, 「小脳の神経学」医学書院, 東京
- 4) 伊藤正男 (1992) 脳の思考システム. pp. 1-20, 伊藤正男編「脳のはたらき—回路網・遺伝子・

さらに運動が他の中枢神経の各部位に及ぼす影響を神経伝達物質と CaBPs のレベルで検出し得る可能性もある。

また、刺激をより要素的にする工夫も考えられる。四肢体幹の筋収縮を抑制しての回転振盪負荷は前庭神経優位の刺激になるであろう。また頭部を固定しての四肢体幹の運動を行わせることが出来れば、逆に前庭神経の影響をごく小さくすることが出来る。

リハビリテーション医学においてこれらのような知見は、運動が中枢神経に及ぼす影響を知るために重要であり基礎的なものである。ある程度、体系づけられれば機能障害モデルへの応用も可能で、機能回復過程や、訓練法、その適応や禁忌、さらに運動学習の機構に対しても言及しうると期待される。

稿を終えるにあたり、御懇篤なる御指導と御校閲を賜りました前藤田保健衛生大学医学部リハビリテーション医学教室 土肥信之教授に感謝申し上げます。また、多大な御指導をいただきました整形外科教室 吉澤英造教授に深く感謝いたします。本研究にあたり、格別な御指導と御配慮をいただきました第一解剖学教室 出浦滋之教授ならびに第二解剖学教室 永津郁子教授に深謝申し上げます。また、日夜、技術指導と御助言をいただいた第二解剖学教室 新井良八助教授、抗体を快くお譲り下さった第二解剖学教室 唐沢延幸先生ならびに多大な御助言をいただいたリハビリテーション医学教室 才藤栄一助教授に心より感謝いたします。

機能分子をめぐって— 講談社サイエンティフィック, 東京

- 5) Raimbridge, K. G., Celio, M. R., and Rogers, J. H. (1992) Calcium-binding proteins in the nervous system. *Trends Neurosci.* 15. 303-308.
- 6) 小島 至 (1992) カルシウムイオンによる調節機構. pp. 31-40, 「実験医学バイオサイエンス③カルシウムと細胞情報」羊土社, 東京
- 7) Andressen, C., Blumcke, I., and Celio, M. R. (1993) Calcium-binding proteins: Selective markers of nerve cells. *Cell Tissue Res.* 271. 181-208.
- 8) Celio, M. R. (1990) Calbindin D-28k and parval-

- bumin in the rat nervous system. *Neuroscience* 35. 375-475.
- 9) Demeulemeester, H., Arckens, L., Vandesande, F., Orban, G. A., and Heizmann, C. W. (1991) Calcium binding proteins and neuropeptides as molecular markers of GABAergic interneurons in the cat visual cortex. *Exp. Brain Res.* 84. 538-544.
 - 10) Tortosa, A. and Ferrer, I. (1993) Parvalbumin immunoreactivity in the hippocampus of the gerbil after transient forebrain ischaemia: A qualitative and quantitative sequential study. *Neuroscience* 55. 33-43.
 - 11) Kadowaki, K., McGowan, E., Mock, G., Chandler, S., and Emson, P. C. (1993) Distribution of calcium binding protein mRNAs in rat cerebellar cortex. *Neurosci. Lett.* 153. 80-84.
 - 12) Kosaka, T., Kosaka, K., Nakayama, T., Hunziker, W., and Heizmann, C. W. (1993) Axons and axon terminal of cerebellar Purkinje cells and basket cells have higher levels of parvalbumin immunoreactivity than somata and dendrites: Quantitative analysis by immunogold labeling. *Exp. Brain Res.* 93. 483-491.
 - 13) 日高弘義, 小林良二 (1993) カルシウムとカルモデュリン. pp. 196-208, 田中千賀子, 西塚泰美編「生体における情報伝達」南江堂, 東京
 - 14) 塩坂貞夫 (1994) 免疫組織化学. pp. 87-97, 遠山正彌監「神経科学研究の先端技術プロトコール I. 分子組織化学 (改訂版)」厚生社, 大阪
 - 15) 川村光毅 (1986) 小脳の構造. pp. 8-51, 伊藤正男, 祖父江逸郎, 小松崎篤, 廣瀬源二郎編「小脳の神経学」医学書院, 東京
 - 16) 玄番央恵 (1993) 小脳の可塑性. *Clin. Neurosci.* 11. 29-31.
 - 17) 古市貞一, 御小柴克彦 (1994) 小脳における IP₃ 受容体と Ca²⁺ シグナル. 医のあゆみ170. 582-585.
 - 18) 洪水克栄 (1994) NO と小脳長期抑圧. 医のあゆみ170. 586-589.
 - 19) 平野丈夫 (1994) 小脳培養系から見たシナプス可塑性. 医のあゆみ170. 590-593.
 - 20) 伊藤正男 (1986) 小脳の神経回路網. pp. 52-64, 伊藤正男, 祖父江逸郎, 小松崎篤, 廣瀬源二郎編「小脳の神経学」医学書院, 東京
 - 21) Duus, P. (著), 半田 肇 (監訳) (1984) 神経局在診断—その解剖, 生理, 臨床—. pp. 196-212, 文光堂, 東京
 - 22) 出浦滋之, 藤田雅文, 長崎幸雄 (1975) 小脳脚切断による小脳症状発現の神経機構について. *臨生理* 5. 137-146.
 - 23) Arai, M., Arai, R., Sasamoto, K., Kani, K., Maeda, T., Deura, S., and Jacobowitz, D. M. (1993) Appearance of calretinin-immunoreactive neurons in the upper layers of the rat superior colliculus after eye enucleation. *Brain Res.* 613. 341-346.
 - 24) Arai, R., Jacobowitz, D. M., and Nagatsu, I. (1995) Up-regulation of calretinin in the supraoptic nucleus of the rat after chronic salt loading. *Brain Res.* 673. 339-343.
 - 25) 上村和夫, 畑澤 順 (1994) ポジトロン CT (PET) と小脳. 医のあゆみ170. 607-611.
 - 26) 桑原武雄 (1994) 小脳機能の MRI による検討. 医のあゆみ170. 612-614.
 - 27) 斉藤之伸, 横田隆徳 (1994) 小脳部刺激による小脳遠心路の機能評価法. 医のあゆみ170. 615-617.
 - 28) 齋藤尚亮, 田中千賀子 (1993) GABA. pp. 14-18, 田中千賀子, 西塚泰美編「生体における情報伝達」南江堂, 東京
 - 29) 遠山正彌, 高辻功一 (編集) (1993) 脳の神経伝達物質・受容体アトラス. pp. 323-325, 医学書院, 東京
 - 30) Chaouloff, F. (1989) Physical exercise and brain monoamines: A review. *Acta Physiol. Scand.* 137. 1-13.
 - 31) Chaouloff, F., Laude, D., and Elghozi, J. L. (1989) Physical exercise for differential consequence of tryptophan on 5-HT synthesis and metabolism in central serotonergic cell bodies and terminals. *J. Neural Transm.* 78. 121-130.
 - 32) 上田 敏 (1994) リハビリテーション医学における基礎と臨床. pp. 1-3, 上田 敏, 千野直一, 大川嗣雄編「リハビリテーション基礎医学」医学書院, 東京
 - 33) 上田 敏 (1994) 対象の限定—「真の回復とその範囲」 pp. 163-164, 上田 敏, 千野直一, 大川嗣雄編「リハビリテーション基礎医学」医学書院, 東京
 - 34) 上田 敏 (1994) 機能回復のメカニズムに関する基本的な諸説. pp. 164-170, 上田 敏, 千野直一, 大川嗣雄編「リハビリテーション基礎医学」医学書院, 東京
 - 35) 上田 敏 (1994) 機能回復のメカニズムに関する研究のその後の発展. pp. 170-171, 上田 敏, 千野直一, 大川嗣雄編「リハビリテーション基礎医学」医学書院, 東京
 - 36) 上田 敏 (1994) ファッシリテーション・テクニックの統合に向けて. pp. 345-347, 上田 敏, 千野直一, 大川嗣雄編「リハビリテーション基礎医学」医学書院, 東京
 - 37) 上田 敏 (1994) 抑制と促通—Brunnström, Bobath, Vajta の各説の関係について. pp. 348-350, 上田 敏, 千野直一, 大川嗣雄編「リハビリテーション基礎医学」医学書院, 東京
 - 38) Stern, P. H. (1970) Effects of facilitation techniques in stroke rehabilitation. *Arch. Phys. Med. Re-*

- habil. 51. 526-531.
- 39) Quin, C. E. (1971) Observations on the effects of proprioceptive neuromuscular facilitation techniques in treatment of hemiplegia. *Rheumatol. Phys. Med.* 11. 186-192.
- 40) Wright, T. and Nicholson, J. (1973) Physiotherapy for the spastic child: An evaluation. *Dev. Med. Child. Neurol.* 15. 146-163.
- 41) 中村隆一, 細川 徹 (1994) 学習理論の諸相. pp. 359-361, 上田 敏, 千野直一, 大川嗣雄編「リハビリテーション基礎医学」医学書院, 東京
- 42) 中村隆一, 細川 徹 (1994) 運動学習の神経生生物学. pp. 365-367, 上田 敏, 千野直一, 大川嗣雄編「リハビリテーション基礎医学」医学書院, 東京
- 43) 伊藤正男 (1986) 小脳による反射の制御. pp. 66-78, 伊藤正男, 祖父江逸郎, 小松崎篤, 廣瀬源二郎編「小脳の神経学」医学書院, 東京
- 44) 真野範一 (1993) 小脳と随意運動. *Clin. Neurosci.* 11. 39-42.
- 45) 佐々木和夫 (1986) 随意運動における小脳の役割. pp. 80-99, 伊藤正男, 祖父江逸郎, 小松崎篤, 廣瀬源二郎編「小脳の神経学」医学書院, 東京
- 46) 佐々木和夫 (1994) 大脳小脳連関. 医のあゆみ170. 598-603.
- 47) 才藤栄一, 千野直一 (1986) 失調症の訓練法. 総合リハ14. 673-678.
- 48) 島村宗夫 (1980) 運動失調の神経生理. 総合リハ8. 95-99.
- 49) 鈴木大雄, 江藤文夫 (1994) 小脳障害のリハビリテーション. 医のあゆみ170. 666-669.
- 50) 山田 浩, 吉田充男 (1994) 小脳失調の治療展望. 医のあゆみ170. 657-659.
- 51) 波多江智子, 後藤幾生 (1993) 運動失調の薬物療法. *Clin. Neurosci.* 11. 76-78.
- 52) Trouillas, P. (1993) The serotonergic hypothesis of cerebellar ataxia and its pharmacological consequences. *In Serotonin, the Cerebellum, and Ataxia.* P. Trouillas and K. Fuxe (eds.), pp. 323-332, Raven Press, New York
- 53) Senard, J. M., Delage, W., Clanet, M., Rascol, O., Montastruc, J. L., and Rascol, A. (1993) L-5-Hydroxytryptophan in cerebellar syndrome treatment. *In Serotonin, the Cerebellum, and Ataxia.* P. Trouillas and K. Fuxe (eds.), pp. 335-336, Raven Press, New York
- 54) Wessel, K., Huss, G. P., Schimrigk, K., Mai, N., and Kompf, D. (1993) Treatment of ataxia with 5-hydroxytryptophan: Clinical studies. *In Serotonin, the Cerebellum, and Ataxia.* P. Trouillas and Fuxe (eds.), pp. 337-341, Raven Press, New York
- 55) 小坂健二, 中村隆一 (1993) 小脳性運動失調症患者におけるPNF施行後の肢位変化による脳波覚醒-局所脳血流との関連について-. *リハ医* 30. 45-47.
- 56) Paxinos, G. and Watson, C. (1986) *The Rat Brain in Stereotaxic Coordination.* 2nd ed. Academic Press, San Diedo