

令和元年9月2日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K06984

研究課題名(和文) 神経活動の正規化と発振現象を統一的に説明する異種感覚統合モデルの構築

研究課題名(英文) A normalization model of multisensory integration which accounts for the neural oscillation in the central nervous system

研究代表者

大城 朝一 (Ohshiro, Tomokazu)

東北大学・医学系研究科・助教

研究者番号：40311568

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：異種感覚統合(multisensory integration)を司る神経細胞は外界からの刺激に対して複雑な非線形応答を示すことが知られている。この現象を単純な数式で説明するために神経活動正規化(Divisive normalization)モデルを提唱した。そしてこのモデルが予想する新たな異種感覚統合現象をラット大脳皮質体性感覚野とマカクザル頭頂葉感覚連合野において初めて確認した。さらに、正規化モデルが予想する神経活動の発振現象を詳しく解析するためにセラミックを用いた新しいデザインの電極ガイドを開発した。この新しい電極を用いて覚醒中ラットから長期間安定して神経活動記録を行えることを確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々は視覚、聴覚といった異なる感覚モダリティを通じて外界を知覚する。これまでの研究から異種感覚の脳内統合は単純な足し算では説明できない非線形性の強い過程である事が示唆されている。本研究では、神経活動正規化メカニズムと呼ばれるアイデアを用いてこれらの現象を簡単に説明し、かつ、そのモデルが予測する新たな現象を大脳の初期知覚過程と高次感覚連合過程の両方において見出すことに成功した。この結果は、神経活動正規化メカニズムは脳における普遍的な計算原理の一つである事を強く示唆するものである。さらに癲癇といった神経活動の異常発振現象も同じメカニズムで説明でき、本研究結果を治療に役立てる事が期待できる。

研究成果の概要(英文)：Neurons of the sensory association area in the brain exhibit the remarkable non-linearity in their responses to multisensory stimuli from external environment. I have proposed a divisive normalization model of multisensory integration in single-neurons, which accounts for the non-linearity with simple mathematical formulae. In this study, I show the experimental evidence for a novel multisensory integration phenomena specifically predicted by the model, obtained from the rodent's primary somatosensory cortex and the non-human primate's sensory association cortex, demonstrating the validity and the generality of the normalization model. A new ceramic guided electrode was designed which allows reliable detection of the seizure activity in the brain and enabled detailed analysis of the neural oscillation predicted by the normalization model.

研究分野：神経科学

キーワード：Divisive normalization multisensory integration inhibitory neurons neural oscillation EEG

1. 研究開始当初の背景

これまでの電気生理学的研究から脳内における多感覚入力の統合は単純な足し算では説明できない非線形性の強い過程である事が示唆されていた。例えば2つの異なるモダリティーからなる刺激(視覚刺激と聴覚刺激、等)を共に提示したときの神経活動は、刺激を個別に提示したときの反応の和にはならず刺激の強さに反比例することが分かっている(inverse effectiveness 現象, Stanford and Stein “Multisensory integration: current issues from the perspective of the single neuron” *Nat. Rev. Neurosci.* 2008)。研究代表者である大城はこれら非線形な神経活動現象を簡単な数式で説明する理論モデルを提唱し、異種感覚統合の神経活動正規化(Divisive normalization)モデルと名付けた(Ohshiro et al., “A normalization model of multisensory integration” *Nat. Neurosci.* 2011)。神経活動正規化とは、神経細胞集団の総活動量でもって個々の神経細胞の活動を除算するという神経演算の一つである(Heeger. “Normalization of cell response in cat striate cortex” *Vis. Neurosci.* 1992)。正規化メカニズムの神経学的基盤については不明な点が多いが Parvalbumin, Somatostatin ポジティブ抑制性神経細胞が関わっていることが近年示唆されている(Willson et al., “Division and subtraction by distinct cortical inhibitory networks in vivo” *Nature* 2012)。大城が提案したこのモデルは大変奇妙な異種感覚統合現象が見られることを予測した。つまり、あるモダリティーからなる刺激を単独で提示すると興奮性の神経活動が惹き起こされるのだが、別の興奮性モダリティー刺激を同時に提示するとある条件では神経活動が抑制されてしまうのである。この現象は同じ刺激が文脈によって興奮性に見えたり抑制性に見えたりするという点で不可思議なものであり、神経活動正規化メカニズムを導入したネットワークモデルにのみ現れることがシミュレーションによって示されている(Ohshiro et al., *ibid*)。このように異種感覚統合時には非線形な神経応答が見られるのだが、神経活動が同期して発振する現象も同時に見られることが指摘されている(van Atteneldt et al., “Multisensory integration: Flexible use of general operations” *Neuron* 2014)。つまり神経活動が正規化される際非線形な相互作用が原因となって、正常脳波や癲癇脳波などで見られる神経ネットワークの発振が起きている可能性が大きい。このような背景から、神経活動の正規化と発振現象を統一して理解するための研究パラダイムの構築が喫緊の課題となっていた。

2. 研究の目的

本研究は、異種感覚統合の神経活動正規化モデル(Ohshiro et al., 2011)を出発点として、電気生理学的手法、光遺伝学的手法そしてコンピューターシミュレーションを組み合わせた多角的なアプローチによって異種感覚統合の神経基盤の解明を目指すものである。まずこのモデルが予測する新規の異種感覚統合現象をマカクザルの大脳皮質神経細胞において電気生理学的に検出することを試みた。さらに光遺伝学的手法を用いてラットの whisker を刺激し、第一体性感覚野(パレル領域)において複数の刺激に対する神経細胞の非線形応答を解析した。新しいデザインのセラミック製電極ガイドを開発し、慢性埋め込み電極を用いた神経活動記録を容易に行えるようにした。この電極を多数脳に埋め込み、癲癇波のような神経活動の発振現象を脳全体から安定して記録する方法の確立を図った。

3. 研究の方法

(1) アカゲザルにおける異種感覚統合の電気生理学

アカゲザルを用いた実験は米国ロチェスター大学 Center for Visual Science の Greg DeAngelis 博士との共同研究によって行われた。アカゲザルはコンピューター制御下のモーションプラットフォームと呼ばれる装置に乗せられ加速度をつけて移動する(図1: Gu et al., “Visual and nonvisual contributions to three-dimensional heading selectivity in the medial superior temporal area” *J. Neurosci.* 2006)。アカゲザルは移動中、正面のスクリーンの中心を固視するように訓練を受ける。正面のスクリーンには3次元空間中での仮想移動を視覚体験できるように optic flow の映像を投射する。このような仮想現実を体験中のアカゲザルの頭頂葉、Medial Superior Temporal dorsal subdivision (MSTd) の神経細胞からタングステン電極を用いて神経活動の記録を行った。加速度によって生じた前庭感覚に起因する神経活動と optic flow 視覚刺激に対する活動を記録し、個々の神経の空間方向の選択性をまず測定する。その後、加速度刺激と optic flow 刺激を組み合わせると、頭頂葉の神経細胞における前庭感覚入力と視覚入力との異種感覚統合を解析した。

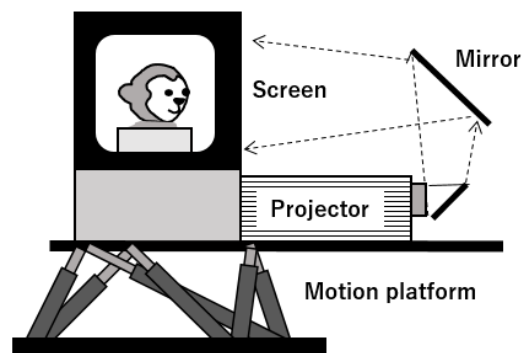


図1 前庭・視覚統合研究のためのモーションプラットフォーム

(2) ラット体性感覚野神経応答の非線形性の解析

光遺伝学を用いたラットの触覚応答を調べる実験は東北大学生命科学研究科の八尾寛教授との共同研究として行われた。この研究には Channel Rhodopsin2 遺伝子を強制発現させた遺伝子組み換えラット (Tomita et al., “Visual properties of transgenic rats harboring the channel rhodopsin-2 gene regulated by the thy-1.2 promoter” PLoS ONE 2009) を使用した。ラットの頬ヒゲは格子状に配置している (図2)。そのうち B 列 1 番から 4 番まで、同様に C 列、D 列、E 列の合計 $4 \times 4 = 16$ 本の頬ヒゲの根元に行列状に光ケーブルを配置した。このラットの whisker (ヒゲ) の根元の感覚神経には Channel Rhodopsin2 遺伝子が発現しており、青い光 (450nm) を照射すると脱分極が惹き起こされる。それら髭の根元をパルス状青色光で刺激し、第一次体性感覚野バレル領域の神経細胞に惹起した神経活動を記録した。複数の whisker を同時に刺激し、その神経細胞の多入力応答を多変量統計の手法を用いて解析した。神経活動の記録は Plexon 社製の 16 チャンネル増幅器を用いて行い、データ解析は計算ソフト MATLAB によって記述されたプログラムを用いて行った。

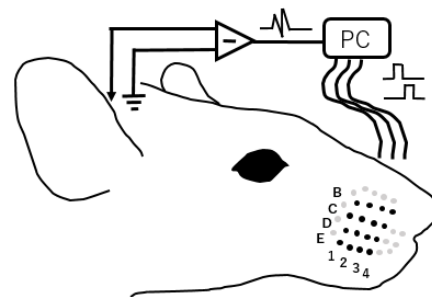


図2 ヒゲへの光刺激と神経活動記録のセットアップ

(3) セラミック製慢性埋め込み電極ガイド

セラミック製慢性埋め込み電極ガイドは京セラとの共同研究によってデザイン及び試作を行った (図3)。この電極ガイドを頭蓋骨に外科用ドリルで開けた穴に埋め込み、ワイヤー電極をその中に通して脳内に留置する。直径が 1 mm 以下のため頭骨に高密度に電極を埋め込むことが可能であり、広範囲に渡って脳活動の多点同時記録が可能となる。埋め込み手術から数日経てラット容態が安定してから、覚醒下で神経活動の記録を取った。正常ラットを用いて正常神経活動を記録するとともに、GABA 合成酵素である GAD65 遺伝子のノックアウトラット (群馬大学 柳川右千代教授との共同研究として提供を受ける) から記録を取り、自発的に生じた癲癇脳波の記録も行った。神経活動の記録は Plexon 社製の 16 チャンネル増幅器を用いて行い、データ解析は計算ソフト MATLAB によって記述されたプログラムを用いて行った。

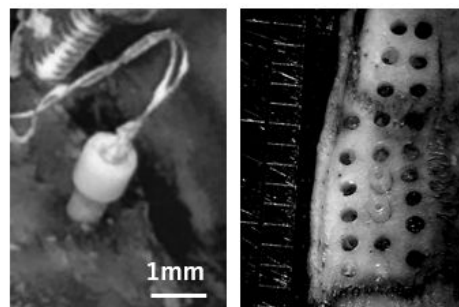


図3 (左)セラミック製電極ガイド (右)ガイドをラット頭骨に装着したところ

4. 研究成果

(1) アカゲザルにおける異種感覚統合の電気生理学

MSTd 神経細胞は頭部が受ける加速度 (前庭入力) 及び optic flow (視覚入力) に強く反応し、その三次元空間方向に高い選択性を持つ。本実験では平衡感覚入力と視覚入力を独立にコントロールして与え、単独入力の場合と同時入力の場合で神経活動に非線形な相互作用が見られるかどうかを調べた。一番素朴な予想は、平衡感覚入力と視覚入力を同時に与えた時の神経活動 (R_{1+2}) はそれぞれの入力を単独で与えた時の神経活動 (平衡感覚刺激時応答: R_1 、視覚刺激時応答: R_2) の和、 $R_{1+2} = R_1 + R_2$ に等しい、というものである。しかし Ohshiro et al (2011) のモデルによると、刺激入力を与える条件によっては $R_1 > R_{1+2} > R_2 (> 0)$ となることがあり得ると予想された。この場合、視覚刺激時応答 $R_2 (> 0)$ は単独では興奮性の刺激であるにもかかわらず、平衡感覚刺激を同時に与えた応答 R_{1+2} は平衡感覚刺激を単独で与えた時 R_1 よりも小さくなっている。つまり視覚刺激は単独で興奮性、他の感覚刺激と組み合わせると抑制性に見えることになる。これは同じ刺激が文脈の違いで興奮性にも抑制性にもなりえるという点で非常に奇妙な現象である。

上で述べたような現象が果たして実際の脳で見られるかどうか確かめるために、アカゲザルの MSTd 領域の神経活動を記録した。アカゲザルをモーションプラットフォームに乗せ、前庭刺激 (Vestibular) と視覚刺激 (Visual) をそれぞれ単独、または組み合わせて (Combination) 与えた時の MSTd 神経細胞の記録を図4に示す。モーションプラットフォームの加速度または視覚刺激の加速度を上げていくとともに神経活動も上昇するのがわかる (図4A)。ところが視覚刺激の方向を最適方向から 60 度ずらすと (右グラフ)、加速度の上昇に応じて神経活動が上昇する

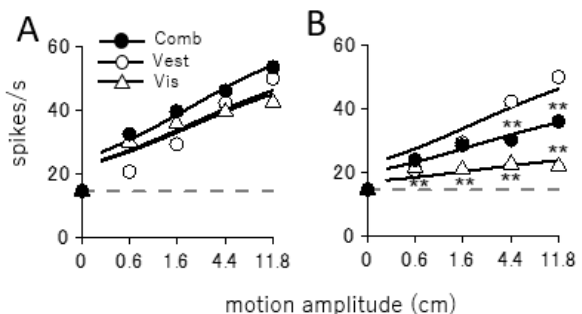


図4 アカゲザル頭頂葉MSTニューロンからの記録 (A) 前庭刺激と視覚刺激が最適方位である時 (B) 視覚刺激のみ最適方位から外れた時

(つまり興奮性：)にも関わらず、前庭刺激と組み合わせた複合刺激の神経活動は平衡感覚刺激単独の際よりも低くなった($O >$)。モデルで予想されていたこのような異種感覚統合現象は、68個の神経細胞から合計97回の記録を行い、そのうち55回(約56%)で確認された。一方、MSTd領域に視覚情報を入力している近隣のMT(Middle Temporal)野の神経細胞ではこのような現象はみられなかった(0/127)。よってモデルが予想するような異種感覚統合現象はMT野のような視覚のみを司る脳領域では見られず、前庭入力と視覚入力初めて統合されるMSTd領域でのみ現れることが明らかとなった(Ohshiro et al., 2017)。

(2) ラット体性感覚野神経応答の解析

ラットの頬ヒゲ、 $4 \times 4 = 16$ 本の根元にPC制御下で450nmの青色光を照射し、大脳皮質体性感覚野神経細胞に惹起される神経活動を同時記録した($n=20$)。通常一つの神経細胞は複数のヒゲへの刺激に応答することが分かった。刺激したヒゲの空間配置と惹起した神経活動の大きさの相関を調べるために空間受容野をマップすることを試みた。ヒゲへの刺激の有無を X_j (j : 髭のアドレス B1, B2, ..., E4。刺激無しで $X_j = 0$ 、刺激有りで $X_j = 1$)、惹起される神経活動(スパイク数/秒)を R_j として単回帰式、 $R_j = a_j * X_j + c$ にデータを当てはめ、得られた回帰係数 a_j を 4×4 のマトリクス状に整理して並べた(図5)。この例の場合、D1, D2, D3アドレスの頬ヒゲ刺激によって神経活動が最も惹起され、さらに周辺にあるC3, C4, D4において弱い興奮性の応答が見られていることが分かる。次に複数のヒゲを同時に刺激し、複数の刺激に対する神経応答における相互作用を調べた。

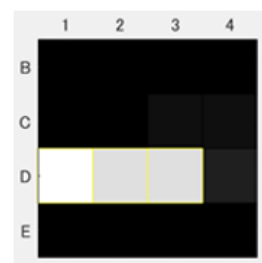


図5 ヒゲへの光刺激によって作成したバレル領域ニューロンの受容野

刺激する2つの髭の空間位置をそれぞれ X_j, X_k 、惹起される神経活動を $R_{j,k}$ として多変量回帰式、 $R_{j,k} = a_j * X_j + b_k * X_k + w_{j,k} * X_j * X_k + c$ にデータを当てはめた。この式において、相互作用項である $w_{j,k}$ がゼロに等しければ複数刺激による神経応答は単独での刺激応答の和 $R_{j,k} = a_j * X_j + b_k * X_k$ に等しいこととなり、つまり、神経応答は線形であると言えることができる。ところがこの例で $w_{j,k}$ がほとんどの j, k の組み合わせで有意に負であり、つまり神経応答は単純な和とはならない(非線形応答)ことが分かった。さらに興味深いことに、D4のヒゲに対する単独刺激では弱い興奮性の応答が見られるが($R_{D4} > 0$)、D3ヒゲと同時に刺激すると応答が抑制される($R_{D3} > R_{D3+D4} > R_{D4} > 0$)事が見られ、これは先ほどのマカクザルで見られた異種感覚統合現象と類似な現象とみなすことができる。このような刺激間の相互作用の存在は、脳は神経活動正規化メカニズムを利用して刺激入力のコントラストを強調するよう情報処理していることを示唆している。この研究は光遺伝学的手法を用いてラット体性感覚野における触覚受容野をマッピングした初めての試みであり、脳における感覚情報処理のさらなる理解に貢献するものと考えられる(Liu, Ohshiro, et al., 2019)。

(3) セラミック製慢性埋め込み電極ガイドの開発

GABA合成酵素であるGAD65遺伝子を欠損するGAD67変異体ラットはてんかん発作を頻発するモデル動物である。セラミック製電極ガイドを用いて視覚野と側頭葉から記録した癲癇脳波を図6に示す。この電極ガイドを使って広範囲に渡って脳活動を同時記録することが可能となり、癲癇波のような異常な脳波のみならず、覚醒行動中の正常脳波も安定して記録することが容易となった。感覚刺激の強度を上げると脳波に含まれるガンマ波の振幅も大きくなるのが神経活動正規化モデルによって予想されている。現在、実際の神経活動と比較することによって検証を行っている。成果の一部は日本てんかん学会(2017年11月)及び日本生理学会(2019年3月)で発表した。電極ガイドはサルやマーモセットにも応用できるよう様々な大きさのものを準備しており、京都セラと共同で特許を出願した(2018年1月)。

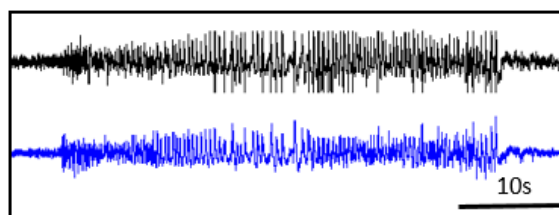


図6 セラミックガイド電極を用いたてんかん波の記録(上)視覚野、(下)側頭葉より同時記録したもの

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 2件)

1) Yueren Liu, Tomokazu Ohshiro, Shigeo Sakuragi, Kyo Koizumi, Hajime Mushiake, Toru Ishizuka, Hiromu Yawo. Optogenetic study of the response interaction among multi-afferent inputs in the barrel cortex of rats. *Scientific reports* 9, 3917-3929(2019). DOI: 10.1038/s41598-019-40688-2. (査読あり)

2) **Tomokazu Ohshiro.**, Dora E. Angelaki and Gregory C. DeAngelis.
A neural signature of divisive normalization at the level of multisensory integration in primate cortex.
Neuron **95**, 399-411 (2017) DOI: 10.1016/j.neuron.2017.06.043. (査読あり)

[学会発表](計9件)
(ポスター発表)

1) Tomokazu Ohshiro, Hajime Mushiake
“Wave-like propagation of the infra-slow oscillation (near 0.1Hz) over the anesthetized rat cortex and its entrainment to repeated sensory stimuli”
第39回 日本神経科学会
2016年07月20日～07月22日 パシフィコ横浜

2) Tomokazu Ohshiro, Hajime Mushiake
“Wave-like propagation of the infra-slow oscillation over the anesthetized rat cortex reflects the cerebral arterial vasomotion”
新学術領域 非線形・振動 オシロロジー 班会議
2017年01月06日～01月07日 立命館大学 大阪

3) Tomokazu Ohshiro, Yuchio Yanagawa, Hajime Mushiake
“Chronic EEG recording from the rats using two different types of electrodes”
第51回 日本てんかん学会学術集会
2017年11月02日 国立京都国際会議場

4) Tomokazu Ohshiro, Hajime Mushiake
“Chronic EEG recording from rodents using ceramic-guided wire electrodes”
第96回日本生理学会大会
2019年03月29日～03月31日 神戸コンベンションセンター

(口頭発表)

5) Tomokazu Ohshiro, Hajime Mushiake
“Infra-slow oscillation は麻酔下ラット大脳皮質において波状に伝播する”
第48回東北生理談話会 2016年10月18日～2016年10月18日 岩手医科大学

6) Tomokazu Ohshiro, Hajime Mushiake
“Optical imaging of the intrinsic signal revealed a wave-like propagation of the infra-slow oscillation over the rat cortex”
第94回日本生理学会大会
2017年03月28日～年03月30日 アクトシティー浜松、浜松、静岡

7) Tomokazu Ohshiro, Hajime Mushiake
“Non-noradrenergic, non-cholinergic (NANC) control of the infra-slow oscillation of the optical intrinsic signal in the rat brain”
第40回 日本神経科学会
2017年07月20日～07月23日 幕張メッセ 千葉

8) Tomokazu Ohshiro, Hajime Mushiake
“Chloride ion channels play an important role in the cerebral vasomotion underlying the infra-slow oscillation of EEG”
第95回日本生理学会大会
2018年03月28日～03月30日 サポートホール高松・高松シンボルタワー

9) Tomokazu Ohshiro, Hajime Mushiake
“Central histaminergic nerves control the cerebral vasomotion”
第41回 日本神経科学会
2018年07月26日～07月29日 神戸コンベンションセンター

[図書](計0件)

〔産業財産権〕

出願状況（計 1 件）

名称：セラミックガイド、セラミックガイド装置およびセラミックガイドモジュール

発明者：大城朝一 虫明元 駒田大輔

権利者：大城朝一 虫明元 駒田大輔

種類：特願

番号：2018-15924

出願年：2018

国内外の別：国内

取得状況（計 0 件）

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

東北大学 大学院医学系研究科 生体システム生理学教室東北大学大学院医学系研科

生体機能学講座 生体システム生理学分野 ホームページ

<http://www.neurophysiology.med.tohoku.ac.jp/>

(1)研究分担者

研究分担者氏名：なし

(2)研究協力者

研究協力者氏名：八尾 寛

ローマ字氏名：Hiromu Yawo

所属研究機関名：東北大学生命科学研究科 名誉教授

研究協力者氏名：虫明 元

ローマ字氏名：Hajime Mushiake

所属研究機関名：東北大学大学院医学系研究科 教授

研究協力者氏名：柳川 右千代

ローマ字氏名：Yuchio Yanagawa

所属研究機関名：群馬大学大学院医学系研究科 教授

研究協力者氏名：Gregory C. DeAngelis

ローマ字氏名：Gregory C. DeAngelis

所属研究機関名：米国ロチェスター大学 Center for Visual Science 教授

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。