

平成 21 年 6 月 1 日現在

研究種目：若手研究（B）  
 研究期間：2006～2008  
 課題番号：18700309  
 研究課題名（和文）サル側頭葉 36 野から TE 野へ逆行性に伝達する記憶情報のスパイク - フィールド相関  
 研究課題名（英文）Spike-field correlation analysis of mnemonic information from area 36 to area TE of macaque inferotemporal cortex.  
 研究代表者  
 竹田 真己（TAKEDA MASAKI）  
 東京大学・大学院医学系研究科・助教  
 研究者番号：00418659

## 研究成果の概要：

視覚記憶課題遂行中のサル下部側頭葉における単一ユニット活動と局所フィールド電位を記録し、周波数領域の相関解析を行ったところ、これらの神経活動がコヒーレントに活動していた。課題関連部位を *in vivo* で同定するために、高磁場 MRI を用いた記録部位同定法を開発した。電極ファントムを作成し高精度に記録部位を同定する撮像条件を調べた。この条件下でサル大脳皮質内の記録部位を同定すると、1 ボクセル以下の誤差で同定できた。

## 交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	1,900,000	0	1,900,000
2007 年度	900,000	0	900,000
2008 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	210,000	3,710,000

## 研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：神経科学・神経科学一般

キーワード：認知神経科学、脳・神経、大脳生理学、視覚記憶

## 1. 研究開始当初の背景

サルの視覚記憶システムには下部側頭皮質にあるニューロンが重要な働きをされると考えられてきた。従来の研究手法は、視覚記憶課題遂行中に単一ユニット活動を測定することによって、神経活動と視覚記憶課題との関連を推定するものであった。こうした研究は、個々のニューロンの視覚記憶に対する役割に関しては重要な知見を与えるが、ニューロン間でどのような情報が伝達されているかを明らかにすることはできない。二

ューロン間の情報伝達を明らかにする研究手法としては、複数ニューロンの単一ユニット活動を同時に測定して、神経活動間の相関を解析する手法がある。しかし、単一ユニット活動間の相関解析は、数十～数百マイクロメートル程度離れた近傍のニューロン間に対しては多くの知見を与えているが、数ミリ以上離れた領域間のニューロン同士に対しては、技術的な難しさもあってあまり報告が無い。

また、電気生理学的記録部位が大脳皮質の何層に位置しているかを同定すること

は、記録部位の神経活動を他の層や領野との解剖学的結合の点から理解する上で重要である。これまで層構造に対する記録部位の同定は急性実験では多く行われてきた。しかし、慢性実験において in vivo で記録部位を同定する手法は確立されていなかった。

## 2. 研究の目的

本研究は、視覚長期記憶課題遂行中のサルを被験体として、単一ユニット活動と局所フィールド電位を下部側頭葉内の複数のサブ領域（36野およびTE野）からそれぞれ同時に測定し、その相関を解析することによって、視覚記憶を想起する際にこれらのサブ領域間でどのような情報が伝達されているかを明らかにすることを目的とした。また、課題関連部位の皮質内の位置を in vivo で同定する手法を高磁場 MRI を用いて開発することを目的とした。

## 3. 研究の方法

### (1) マカクサルに対する視覚長期対連合記憶課題の訓練

マカクサル2頭に対し、視覚長期対連合記憶課題の訓練を行った。これは24種類のフリー図形を2つずつペア（図形対）とし、その対応関係を被験体に記憶させる課題である (Takeda et al., *Neuron*, 2005)。具体的な一試行は以下のように行った。図形対のうち一方の図形を手がかり刺激として短時間コンピュータディスプレイ上に提示した。数秒間の遅延期間の後、手がかり刺激の対である図形（対刺激）と手がかり刺激と無関係な図形（妨害刺激）を同時に提示した（選択画面）。被験体が対刺激を選択した際に液体報酬を与えた。正答率が95%以上に達するまでこの課題の訓練を行った。

### (2) 視覚長期対連合記憶課題遂行中のサル下部側頭葉からの単一ユニット活動電位による課題関連ニューロンの分布マッピング

視覚長期対連合記憶課題を習得したマカクサル被験体に対し、頭部固定具および記録チェーンバを適切な麻酔・清潔条件下で設置した。課題遂行中のサル下部側頭皮質から、まず単一ユニット電位を1本の記録電極を用いて記録し、課題に関連した活動を示すニューロンの分布を調べた。課題関連活動を示すニューロンが集中している部位（以下クラスター）を同定した。

### (3) サル下部側頭葉36野の単一ユニット活

### 動電位およびTE野の局所フィールド電位の同時記録

本研究計画で購入した多電極用マイクロマニピュレーター MO-97A を用いて、2) で同定した36野およびTE野のクラスターから課題に関連した単一ユニット活動及び局所フィールド電位を同時記録した。単一ユニット活動と局所フィールド電位の同期性を周波数ドメインのコヒーレンス解析を行って検討した。

### (4) MRI 用電極ファントムを用いた MRI 撮像条件の電極先端位置同定におよぼす影響の検討

非磁性素材及びタングステン電極を用いて MRI 用電極ファントムを作成した。4.7T MR スキャナ (Biospec 47/40, Bruker) を用いて撮像条件が MR 画像上の電極先端位置の同定に及ぼす影響を調べた。空間解像度、repetition time, echo time, echo train length などのスキャンシーケンスに加えて、電極軸に対する静磁場方向、周波数エンコード方向といった MR スキャナに対する電極の配置条件を検討した。

### (5) サル側頭葉における電極先端位置の高磁場 MRI による同定精度の検討

3匹の麻酔下サル側頭葉にタングステン電極を留置し、(4)で最適化した撮像条件で電極先端を MR 撮像した。MRI 実験終了後、サルを灌流して電極先端の lesion mark を組織学的に同定した。組織切片の lesion mark の位置と、MR 画像上の電極先端位置を比較することにより、MR 画像上での同定精度を検討した。

## 4. 研究成果

2頭のマカクサルに対して、2つのフリー図形を対図形として記憶させる視覚長期対連合記憶課題の訓練を行った。サルが対連合記憶課題を学習した後に、麻酔下にて頭部固定具を取り付けた。その後、固定具によって頭部を固定した状態で、注視課題の訓練を行った。さらに、1頭のサルに対して対連合記憶課題と注視課題を組み合わせ、注視した状態で対連合記憶課題を訓練した。次に麻酔下にて記録用チェーンバを頭部に取り付け、視覚長期対連合記憶課題遂行中のサル下部側頭皮質から単一ユニット記録を行った。課題に関連した活動を示すニューロンの分布を調べたところ、課題関連活動を示すニューロンが密に集まっている部位（以下クラスター）を36野で1つ、TE野で複数同定した。

同定したクラスターから課題に関連

した単一ユニット活動及び局所フィールド電位を同時記録した。手がかり刺激提示期間中に大きな局所フィールド電位を示す部位は、同期間に刺激選択的な単一ユニット活動を示す部位と重なっていることが明らかとなった。また、周波数ドメインの相関解析を行ったところ、課題に関連した単一ユニット活動および局所フィールド電位を示す部位において、手がかり刺激提示期間中に単一ユニット活動と局所フィールド電位がコヒーレントに活動していることが明らかとなった。

課題関連部位を *in vivo* で同定する手法を開発するために、MRI 用電極ファントムを用いて、撮像した電極先端位置の同定精度に影響を与える撮像条件を検討した。その結果、静磁場に対する電極軸の角度を大きくする程、測定精度が上昇し、60 度を超えると測定精度は飽和した。また、周波数エンコード方向を電極軸に対して垂直にすると、平行にした場合より測定精度が上昇し、1 ボクセルの精度で電極先端位置が同定できた (図 1)。一方、空間解像度、repetition time や echo time といったスキャンパラメータには効果がなかった。

次に、電極ファントムで明らかになった、電極軸を 1) 静磁場に対して 60 度以上、2) 周波数エンコード方向に対して垂直、という撮像条件を用いて、麻酔下サル側頭葉にタングステン電極を留置し、生体内での同定精度を検討した。MR 画像上の電極先端位置を組織切片上の lesion mark の位置と比較したところ、150 マイクロメートル以内の精度で同定できることが明らかとなった (図 2)。これらの結果は *Nature methods* に掲載された (Matsui et al, 2007)。

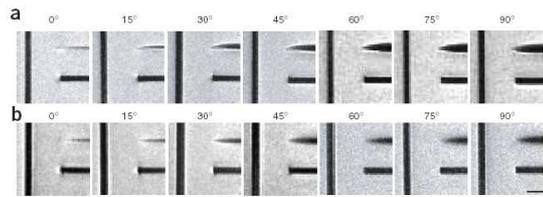


図 1. 電極軸に対する静磁場方向と周波数エンコード方向の効果。周波数エンコード方向が電極軸に対して垂直(a)の条件の方が水平(b)の条件よりも電極先端のコントラストが高かった。静磁場方向と電極軸の角度が大きくなるほど電極先端が太く撮像された。(from Matsui et al, 2007)

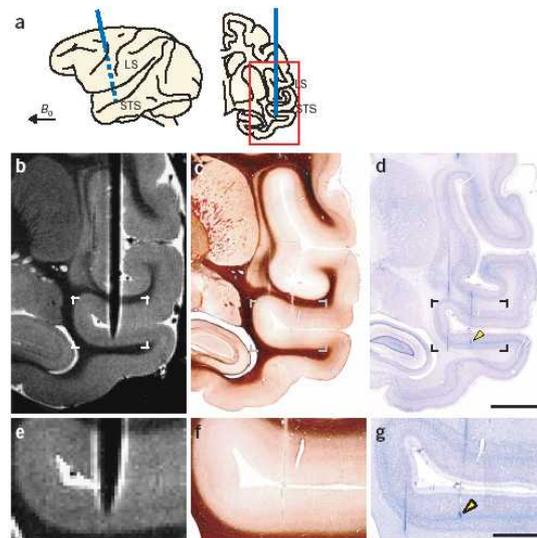


図 2. サル大脳皮質内の電極先端同定。電極は側頭葉上側頭回に留置した(a)。組織染色像(c-g)上の lesion mark の位置と比較することにより、電極先端位置が高解像度 MR 画像上(b,e)で高精度に同定できていることが分かる。(from Matsui et al, 2007)

5 . 主な発表論文等  
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 8 件)

- 1) Fujimichi, R., Takeda, M., Naya, Y., Koyano, K.W., Takeuchi, D., Miyashita, Y. Functional characterization of area 35 in the macaque perirhinal cortex during a pair association task. Program No. 219.1. *2008 Neuroscience Meeting Planner* Washington, DC: Society for Neuroscience, 2008. 査読有
- 2) Koyano, K.W., Machino, A, Takeda, M., Fujimichi, R., Ohashi, Y., Matsui, T., Miyashita, Y. Electrolysis of an elgiloy electrode can create MRI-visible metal deposit marks at recording sites. Program No. 885.2. *2008 Neuroscience Meeting Planner* Washington, DC: Society for Neuroscience, 2008. 査読有
- 3) Fujimichi, R., Takeda, M., Naya, Y., Koyano K.W., Takeuchi, D., Miyashita, Y.. Neuronal activities in area 35 of macaque perirhinal cortex during a pair association task. *Neuroscience Research* **61** (Suppl.1), S53, 2008. 査読有
- 4) Koyano, K.W., Takeda, M., Fujimichi, R., Ohashi, Y., Miyashita, Y. MRI-based in vivo detection of recording sites marked by electrolysis of an elgiloy electrode. *Neuroscience Research* **61** (Suppl.1), S64, 2008. 査読有
- 5) Matsui, T., Koyano, K.W., Koyama, M., Nakahara, K., Takeda, T., Ohashi, Y., Naya, Y. and Miyashita, Y. MRI-based localization of electrophysiological recording sites within the cerebral cortex at single-voxel accuracy. *Nature methods* **4**, 161-168, 2007. 査読有
- 6) Koyano, K.W., Ohashi, Y., Matsui, T.,

- Takeda, M., Nakahara, K., Naya, Y., Koyama, M., Watanabe, T., Miyashita, Y. A non-magnetic mini-manipulaor for an MRI-based method for localization of a microelectrode tip within monkey cerebral cortex. *The Journal of Physiological Sciences* **57** (Suppl.), S71, 2007. 査読有
- 7) Koyano, K.W., Matsui, T., Naya, Y., Koyama, M., Takeda, M., Nakahara, K., Miyashita, Y. Localization accuracy of microelectrode tip within the monkey temporal cortex using high-resolution MRI. Program No. 694.13. *2006 Neuroscience Meeting Planner*. Atlanta, GA: Society for Neuroscience, 2006. 査読有
  - 8) Koyano, K.W., Matsui, T., Naya, Y., Koyama, M., Takeda, M., Nakahara, K., Miyashita, Y. Localization of a microelectrode tip within the monkey temporal cortex. *Neuroscience Research*, **55** (Suppl. 1), S68, 2006. 査読有

[学会発表](計 5 件)

- 1) Koyano, K.W., Machino, A., Takeda, M., Matsui, T., Fujimichi, R., Ohashi, Y., Miyashita, Y. MRI-detectable elgiloy deposit markers for in vivo recording site localization: deposit condition, scan parameters and long-term durability. *Second global COE retreat of "Integrative life science based on the study of biosignaling mechanisms"*. 2009.3.7. Yamanashi, Japan.
- 2) Fujimichi, R., Takeda, M., Koyano, K.W., Takeuchi, D., Miyashita, Y. Neuronal representation of associative memory in macaque area 35 (perirhinal cortex). *Second global COE retreat of "Integrative life science based on the study of biosignaling*

- mechanisms*". 2009.3.7. Yamanashi, Japan.
- 3) Fujimichi, R., Takeda, M., Naya, Y., Koyano, K.W., Takeuchi, D., Miyashita, Y. Neuronal activity coding visual stimulus-stimulus associations in the monkey rhinal cortex. *First global COE retreat of "Integrative life science based on the study of biosignaling mechanisms"*. 2008.3.8. Chiba, Japan.
  - 4) Koyano, K.W., Takeda, M., Ohashi, Y., Fujimichi, R., Matsui, T., Naya, Y., Koyama, M., Nakahara, K., Miyashita, Y. From where do we record?: MRI-based in vivo localization methods for microelectrode recordings from the monkey brain. *First global COE retreat of "Integrative life science based on the study of biosignaling mechanisms"*. 2008.3.8. Chiba, Japan.
  - 5) Koyano, K.W., Matsui, T., Koyama, M., Naya, Y., Ohashi, Y., Takeda, M., Nakahara, K., Miyashita, Y. In vivo localization of electrophysiological recording sites within the monkey cortex using high-resolution MRI. *University of California San Francisco Neuroscience Retreat*. 2007.9.24. California, USA.

## 6 . 研究組織

### (1)研究代表者

竹田 真己 ( TAKEDA MASAKI )  
東京大学・大学院医学系研究科・助教  
研究者番号： 00418659

### (2)研究分担者

なし

### (3)連携研究者

なし