

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 11 日現在

機関番号：32634

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22730586

研究課題名（和文） 初期視覚系における運動情報処理の神経基盤の解明

研究課題名（英文） Motion information processing in the early visual system.

研究代表者

石金 浩史（ISHIKANE HIROSHI）

専修大学・人間科学部・准教授

研究者番号：30323562

研究成果の概要（和文）：運動残効は運動情報処理を解明する上で有用な現象として盛んに研究対象とされてきた。そこで、ゼブラフィッシュが運動刺激に追従して泳ぐ現象について調べたところ、運動残効の存在が示唆された。また、その運動残効が、網膜に存在する運動方向選択性神経節細胞の活動特性によって説明可能であることが明らかになった。本研究の成果により、ゼブラフィッシュが運動情報処理の神経基盤を解明する上で有用であることが示された。

研究成果の概要（英文）：The motion after-effect (MAE) in human perception has been studied because it gives us good insights for understanding motion processing in the visual system. In this study, we found the existence of MAE in the optomotor response of zebrafish. This MAE can be explained by properties of direction selective ganglion cells in the retina. These results suggest that the zebrafish is useful for analysis of motion processing in the visual system.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2011年度	800,000	240,000	1,040,000
2012年度	600,000	180,000	780,000
総計	2,800,000	840,000	3,640,000

研究分野：社会科学

科研費の分科・細目：心理学・実験心理学

キーワード：生理，視覚，網膜，神経節細胞，運動残効，ゼブラフィッシュ

1. 研究開始当初の背景

同じ方向の運動を見続けると、その後では静止している物体が反対方向に運動しているように感じる。この現象は運動刺激の観察時間が長くなると強くあらわれ、運動残効（motion-after effect: MAE）と呼ばれる。運動残効の存在は古くから知られている。上から下に落下する滝の水の流れを見つめた後に、近辺の巨岩に視線を移動すると持ち上がるように上昇して見えることから滝の錯視（waterfall illusion）とも呼ばれる。運

動残効は、運動視のメカニズムを解明するための手がかりとして心理物理学的研究が盛んに行われてきた。また、神経生理学的にも、ウサギ網膜に運動方向選択性神経節細胞（direction selective ganglion cell: DSGC）の存在が発見され、それらのニューロンの運動刺激に対する順応特性から運動残効の神経基盤に関する仮説が提案された（Barlow & Hill, 1963）。DSGCは、受容野が特定の方向に運動する刺激により走査された場合は高い頻度で活動電位が生起し、その

逆方向に運動する刺激により走査された場合には抑制されて活動電位の生起頻度が低下する。このニューロンの発火頻度が最も上昇する運動方向を preferred direction と呼び、最も発火頻度が低下する運動方向を null direction と呼ぶ。この DSGC に対し、運動刺激を preferred direction で長時間呈示すると、刺激開始直後には発火頻度が高いが、その後低下し、運動刺激の呈示後には発火頻度が自発レベルより低下する。一方、null direction で運動刺激を呈示すると、呈示中の発火頻度は低くなるが、運動刺激呈示後には自発レベルより高くなる。これらのことから、運動方向選択性ニューロンの活動のバランスが、運動刺激に対する順応によって崩れた結果、運動残効が生じることが示唆された。しかしながら、この運動残効に関与する神経基盤の仮説は、運動残効を説明することは可能であるが、実際にそのような神経活動が運動残効という「知覚」をもたらすのか否かについては定かではない。ほ乳類の網膜に存在が確認されている DSGC の活動については、ウサギの研究により視機性眼振に関与することが示唆されており (Oyster et al., 1972)、スターバーストアマクリン細胞を選択的に死滅させることで DSGC の運動方向選択性を消失させると視機性眼振の振幅が減少することがマウスを用いた研究により明らかにされている (Yoshida et al., 2001)。したがって、DSGC の応答バランスの崩れが運動残効の神経基盤となり得るかどうかを検証するには、視機性の反応における運動残効を見だし、神経活動との対応を調べることに有用であると考えられる。

2. 研究の目的

視知覚において、運動方向の検出は基本的に重要な情報処理のひとつである。視覚系では網膜をはじめとして第一次視覚皮質から高次視覚皮質にいたるまで運動方向選択性を持つ神経細胞が存在することが分かっているが、その特性を実現する神経基盤の実体はほとんど解明されていない。本研究の目的は、初期視覚系である網膜に電気生理学的手法を適用し、運動情報を抽出する神経基盤を明らかにするとともに、運動情報の神経表現を視覚誘発性反応や、それらに観察される順応および運動残効との対応について動物を用いた行動実験により解明することである。

3. 研究の方法

本研究では、ゼブラフィッシュを被験体として用い、視運動反応の特性と視運動反応を誘発する運動刺激の呈示に対する網膜神経節細胞の応答を電気生理学的手法により調べた。本研究における全ての実験は専修大学動物実験管理規程に従って遂行された

(#2011-9, #2012-1)。

(1) 行動実験

① 被験体

被験体としてゼブラフィッシュ (*Danio rerio*) の成魚を用いた。ゼブラフィッシュは 12 時間明、12 時間暗の照明サイクルで集団飼養された。被験体は行動実験開始前に 2 時間以上暗順応させた。

② 行動実験装置

刺激の呈示には 4 台の 17 インチ液晶モニターを使用した。モニターの画面を内側にして組み合わせさせた (図 1)。

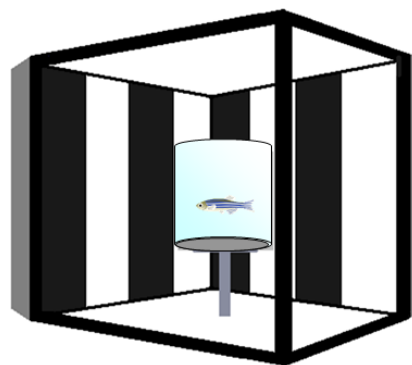


図 1 ゼブラフィッシュ行動実験装置
視覚刺激は被験体が泳ぐドーナツ型水槽を囲む 4 台の液晶モニターから呈示された。

すべての液晶モニターは刺激呈示用の PC にビデオ出力分配器を介して接続され、刺激が呈示された。4 台のモニターで囲まれた領域の中心に視運動反応の誘発実験に使用するドーナツ型的水槽を設置して実験を行った。被験体は飼育水が満たされた透明なドーナツ型的水槽に入れた。その中心には黒色不透明の円柱を設置し、被験体に対して視覚刺激を片眼呈示した。ドーナツ型的水槽の高さは被験体の位置が液晶モニターの中心の高さに一致するように台を用いて調整した。被験体の行動はドーナツ型的水槽の上方からビデオカメラを用いて撮影した。視覚刺激は MATLAB Version 7 (Mathworks 社) および Psychtoolbox Version 2 (Brainard, 1997; Pelli, 1997) を用いて作成した。

③ 視運動反応の測定

実験は暗室内で実施した。実験開始前に、視運動反応を誘発する刺激として呈示する運動する矩形波グレーティングの平均の明るさと等しい明るさの様な背景光を 120 秒

呈示し、実験装置に馴致させた。運動刺激に対して追従が著しく不安定な個体を除くために予備実験を行った。予備実験では実験装置への馴致後に運動する矩形波グレーティング（基本波空間周波数 0.02 cpd, 運動速度 300 deg/s, コントラスト 0.9）を120秒間呈示した。運動する矩形波グレーティングを呈示中に、モニターに向かって頭を左右に振る行動を10回以上する個体や、刺激の運動方向と逆方向に60秒以上泳いだ個体は実験に使用しなかった。視運動反応の空間周波数特性を測定する実験では、基本波空間周波数が0.01 cpd, 0.02 cpd, 0.04 cpd, 0.1 cpdの4条件で運動する矩形波グレーティングの呈示を行った。0.01 cpdより低い基本波空間周波数では刺激の運動方向の逆方向に泳ぐ逃避行動が観察されるため、0.01 cpd未満の基本波空間周波数の刺激は呈示しなかった。実験を始める前に装置の中で120秒間馴致を行い、左から右に一定の速度（300 deg/s）で運動する矩形波グレーティング刺激を120秒間呈示した。視運動反応はビデオ画像をもとにオフラインで解析した。呈示した刺激が動いた時点から消失した時点までの運動刺激に対する被験体の追従時間と逆走時間を算出した。運動刺激の呈示中に刺激に追従する泳ぎを止めた場合や反転・逆走した場合でも、その行動が1秒以内で終了し、追従方向に戻る場合はそのまま追従時間に含めた。また、逆走中に刺激の運動方向に向いても1秒以内にまた逆走した場合は追従時間に入れず、そのまま逆走時間に含めた。逆走時間は、逆走方向に頭を向けた時点から、追従方向に体を完全にに向けた状態までとして算出した。

④ 運動刺激順応後の行動測定

視運動反応の空間周波数特性を調べる実験と同様に予備実験を行い、被験体を選んで実験を行った。順応刺激として、最も長く視運動反応を誘発した基本波空間周波数（0.01 cpd）の矩形波グレーティングを呈示した。刺激の運動速度は300 deg/sとした。実験は刺激を120秒間呈示する120秒条件と、60秒間呈示する60秒条件の2条件で行った。実験開始前に、運動刺激と平均光強度の等しい背景光を120秒間呈示し、実験装置に馴致させた。馴致後、120秒間の背景光の呈示をばさんで順応刺激として左から右に運動する矩形波グレーティングを2回呈示した。刺激は60秒間または120秒間呈示され、試行間の時間間隔は120秒とした。1試行目において120秒間の運動刺激を呈示した場合は、2試行目で60秒間の運動刺激を呈示し、1試行目において60秒間の運動刺激を呈示した場合には2試行目において120秒間の運動刺激を呈示した。刺激の呈示順については被験体間でカウンターバランスをとった。運動刺激

呈示直後のゼブラフィッシュの行動についてビデオ画像をもとにオフラインで解析した。

(2) 電気生理実験

① 活動電位の記録

本研究では行動実験において視運動反応を誘発した視覚刺激をゼブラフィッシュ剥離網膜上に呈示し、神経節細胞の活動電位を細胞外記録した。被験体の安楽死処置を行った後、眼球を摘出し、前眼部を切除して眼盃標本を作成した。その後、網膜を色素上皮から剥離して剥離網膜標本を作成した。手術は暗赤色光で照明された実体顕微鏡下で行った。網膜神経節細胞の活動電位は多点電極を用いて記録した。実験中は酸素95%, 二酸化炭素5%の混合ガスにより常時バブリングを行った生理溶液を灌流した。視覚刺激はPCに接続された15インチCRTを用いて呈示した。垂直同期周波数は60 Hzとした。CRT上に表示された視覚刺激は光学系を介して多点電極上のゼブラフィッシュ剥離網膜の視細胞層に縮小投影された。

② 活動電位の解析

網膜神経節細胞層に存在するニューロンに由来する活動電位を多チャンネルアンプにより増幅した。信号は10 kHzのサンプリングレートでデジタルデータに変換してPCのハードディスクに保存した。保存した活動電位波形はオフラインでテンプレートマッチングを行うことにより単一ニューロン由来の活動電位に分離し、スパイク解析を行った。

4. 研究成果

(1) 視運動反応の空間周波数特性

ゼブラフィッシュの視運動反応の視覚刺激依存性について調べたところ、最も長くゼブラフィッシュの視運動反応を誘発したのは基本波空間周波数が0.01 cpdの条件であり、空間周波数が高くなるにつれて最長追従時間が短くなった。

(2) 運動刺激に対する順応後の行動

運動刺激に対する順応後に生起するゼブラフィッシュの行動について分析を行った。視運動反応の空間周波数特性を調べた実験において、運動する矩形波グレーティング刺激の呈示終了後に、あたかもそれまで呈示されていた刺激の運動方向とは逆の運動方向の刺激が呈示されたかのように反転して泳ぐ行動が観察された。そこで、運動する矩形波グレーティングを60秒間または120秒間呈示し、刺激呈示が終了してからゼブラフィッシュが反転するまでの潜時を解析した。解析にあたっては刺激の呈示時間が120秒の条件における反転の潜時が5秒未満であった個

体のデータのみを用いた。その結果、運動する矩形波グレーティング刺激の呈示時間が120秒の条件における潜時が 1.3 ± 0.9 秒(平均値±標準偏差)であり、刺激の呈示時間が60秒の条件における 4.4 ± 3.6 秒より短かった($n=10$, $p < .05$)。運動残効の強度は、順応時間が長くなればなるほど増大することが知られている(Hershenson, 1989)。したがって、この反転行動が運動残効に由来する可能性が示唆された。

(3) ゼブラフィッシュ網膜神経節細胞の種類

活動電位が記録された神経節細胞の受容野特性を同定するために、背景光強度が3秒ごとに変化するフラッシュ刺激を呈示した。記録されたスパイク列を解析したところ、光刺激のオンセットとオフセットにおいて一過性に応答するON-OFF型、光刺激のオフセットにおいて一過性に応答するOFF一過性型、光刺激の点灯中に持続的に応答するON持続型および光刺激の消灯中に持続的に応答するOFF持続型の細胞がゼブラフィッシュ網膜に存在することがわかった。

(4) 運動方向選択性細胞

運動方向選択性の有無について検討を行うために、ゼブラフィッシュの視運動反応の誘発に用いた運動する矩形波グレーティング刺激を呈示した。刺激の条件は視運動反応を測定した実験と同様とした。矩形波グレーティング刺激を45度間隔の8つの方向で運動させて呈示したところ、運動方向選択性を持つ神経節細胞の存在を示すデータがえられた。

(5) 運動方向選択性細胞の順応特性

運動刺激に対する順応後の行動解析を行った際と同様に、60秒と120秒の刺激呈示時間条件において運動する矩形波グレーティング刺激を剥離網膜に呈示し、刺激呈示後の応答を解析した。その結果、null-direction条件において120秒の運動刺激呈示後に静止した背景光が呈示されているだけにもかかわらず比較的多数のスパイクが観察された。他の方向の刺激に対してはそのような変化は観察されなかった。

(6) まとめ

運動方向選択性神経節細胞は高い発火頻度で活動することにより受容野内にその細胞のpreferred-directionの運動が存在することを脳に伝えると考えられている。すなわち、脳にとってその細胞の活動は特定方向の運動情報の存在を意味する。したがって、今回観察された細胞の特性はnull-directionの運動刺激により長時間順応した後に発火

頻度が上昇することでpreferred-directionの運動情報を表象して中枢側に情報を転送することを示唆しており、順応刺激の運動方向とは反対方向の運動刺激が呈示されたときと同様の行動を誘発する運動残効を説明可能であることが明らかになった。

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1件)

- ① 石金浩史, 長畑萌, ゼブラフィッシュの視運動反応と運動刺激に対する順応, 専修人間科学論集, 査読有り, 3巻, 2013, 81-87

〔学会発表〕(計5件)

- ① 石金浩史, 網膜からのマルチニューロン記録と行動実験による視覚系の解明, 日本基礎心理学会2012年度第2回フォーラム(招待講演), 2013年3月2日, 豊橋商工会議所, 豊橋
- ② 石金浩史, マルチニューロン記録と行動実験による小型脊椎動物における視覚系の研究, 立命館大学総研プロジェクトセミナー(招待講演), 2012年10月3日, 立命館大学, 草津
- ③ 石金浩史, 榎本ゆかり, 小型脊椎動物の視運動反応を用いた運動残効の神経基盤に関する研究, 日本基礎心理学会第30回大会, 2011年12月4日, 慶應義塾大学, 横浜
- ④ 石金浩史, 榎本ゆかり, 視運動反応における運動残効と神経活動, 第15回視覚科学フォーラム, 2011年8月29日, 大阪大学, 豊中
- ⑤ Hiroshi Ishikane, The motion after-effect in the optomotor response of zebrafish, May 7th, 2011, Vision Science Society 11th Annual Meeting, Naples, FL, USA

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石金 浩史 (ISHIKANE HIROSHI)
専修大学・人間科学部・准教授
研究者番号: 30323562