

平成 29 年 6 月 12 日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26350506

研究課題名(和文) 視覚連合野皮質を対象とした高時空間分解能計測システムの開発

研究課題名(英文) in Development of brain function measurement system with high temporal and spatial resolution

研究代表者

王 鋼 (Wang, Gang)

鹿児島大学・理工学域工学系・教授

研究者番号：40274831

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)：時々刻々変化する環境に対応して、脳活動もダイナミックに変化する。脳機能測定には、高い時間分解能が求められている。本研究は、研究室で開発してきた皮質上活動する細胞の二次元空間的位置をマイクロメートルオーダーの空間分解能でイメージングすることができる内因性光計測システムに、時間分解能の優れているマルチ微小電極記録を取り入れ、高い時間・空間分解能を持つ計測システムの開発を行った。側頭葉下部皮質である視覚連合野における物体像の表現に関する研究を通し、実用的な実験法を確立した。時間的にも空間的にも共に高い分解能を持つ in vivo 脳機能計測システムを開発した。

研究成果の概要(英文)：In response to ever-changing circumstances, brain activity also changes dynamically. High temporal resolution is required for brain function measurement. In this research, we introduced an intrinsic optical measurement system that can image two-dimensional spatial position of cortically active cells with spatial resolution on the order of micrometer, together with a multiple microelectrode recording. The developed measurement system is with high time and spatial resolution. Through research on representation of object images in the visual association cortex-inferotemporal cortex, practical experimental method was also established.

研究分野：生体医工学

キーワード：optical imaging

1. 研究開始当初の背景

外界視覚世界の形に関する情報は網膜、第1次視覚野(V1)、視覚前野のV2及びV4を介して、視覚連合野皮質として知られる側頭葉下部皮質に運ばれる。側頭葉下部皮質が前頭前野など多種の感覚情報を受けける領域に投射するので、純粋な視覚的表現としては側頭葉下部皮質が最終と考えられている。そのため、視覚連合野における物体特徴の表現とその働きを明らかにすることによって、物体認識の脳内メカニズムの解明につながると期待される。側頭葉下部皮質細胞レベルの活動を *in vivo* 計測する方法として、主に光学的計測法と伝統的な微小電極法がある。内因性光学的計測法は神経細胞活動に伴う脳組織そのものの吸光度特性を利用して提案された方法(Grinvaldら、Nature, 1989)で、マイクロメートルオーダーの高空間分解能を持つ計測システムとして皮質機能構築の研究において広く使われている。我々が初めて視覚連合野にこの方法を適用し、視覚連合野皮質における物体特徴の表現を可視化することに成功した(王ら、Science, 1996; Neurosci. Res., 1998)。視覚連合野細胞の受容野が数十度にも及びことから、細胞が物体の持つ全ての図形特徴の入力を受けることになる。一般的に、一つの物体像に反応する部位(暗くなる箇所)が皮質上数ヶ所に散在する。ここ数年、研究代表者の研究室では、相関性を強調した光計測法の開発をしながら、反応部位の刺激選択性から、反応領域の空間的相関関係を明らかにした(王ら、2003; 2007; 2009; 2011; 2012)。また、視覚連合野へも適用できるように装置・分析法の改善及び計測に使用する視覚刺激の構成などについても検討してきた(王ら、2005; 2009; 2010; 2012)。しかし、内因性光学的信号が神経細胞活動による酸素代謝に伴ったものなので、イメージングされる信号は視覚刺激呈示後数百ミリ秒の間の平均を反映している。皮質上同時に見られる光学的反応部位にある神経細胞の活動がどのような時間的相関関係を持つかについて、原理的に内因性光学的計測法による解明は不可能である。本研究は、技術的に最も成熟している単一微小電極記録法の進化版として注目されているマルチ電極記録法を内因性光計測システムに導入し、計測システムとしての時間的分解能の改善を目指す。

物体の2次元像は通常その観察角度によって異なるが、それにもかかわらず、我々は観察角度に依存することなく、その物体をよく似た物体から弁別することができる。研究代表者らはこれまでの研究によって、それぞれの観察角度画像における物体特徴の脳内表現とその活動関連性が観察角度に依存しない物体認識に深く関与することを推定した(Nature Neuroscience, 2005)。また、それぞれ異なる観察角度の顔刺激に反応する部位が側頭葉下部皮質上で連続的に変化する

ことも明らかにしており(Science, 1996; Neurosci. Res., 1998)、本研究では、動物にとって特殊な存在である顔ではなく、三次元物体において、観察角度の変化で無限に近い物理的に異なる物体像が側頭葉下部皮質でどのように表現され、反応部位間でどのような時間的相関関係があるかを、開発した計測システムの検証をしながら、解明したい。

2. 研究の目的

時々刻々変化する環境に対応して、脳活動もダイナミックに変化する。脳機能測定には、高い時間分解能が求められている。本研究は、研究室で開発してきた皮質上活動する細胞の二次元空間的位置をマイクロメートルオーダーの空間分解能でイメージングすることができる内因性光計測システムに、時間分解能の優れているマルチ微小電極記録を取り入れ、高い時間・空間分解能を持つ計測システムの開発を目指す。側頭葉下部皮質である視覚連合野における物体像の表現に関する研究を通し、実用的な実験法を確立する。近年、研究代表者の研究室では、早期視覚野に加え、視覚連合野である側頭葉下部皮質への適用にも可能なシステムを開発した。しかし、活動する細胞の皮質上配列のような皮質機能構築に関する研究に大いに幅広く活躍しているが、神経細胞活動に伴う代謝を反映する内因性光学信号そのものの性質から時間分解能が数百ミリ秒であり、脳活動の時間的变化を観測するためには、不足である。時間的にも空間的にも共に高い分解能を持つ *in vivo* 脳機能計測システムの開発が求められている。

3. 研究の方法

研究は、マルチ電極の作成、刺激セットの構築、時間情報を解析するプログラムの開発を並行にして、動物実験によって、システムの評価を行った。

電極の作成及び計測システムの構築：既存の光計測システムに時間分解能の高い電極による記録法を取り込むことが本研究の目的なので、これまでに本研究室で開発してきた光学的計測システムの大幅な変更はせずに、マルチ電極アレイの形および電極の配列を光計測用チャンバーに合わせ、光計測と同じ皮質領域の細胞活動が記録できるように、改造した。光計測用チャンバーは内径 18mm の円形で、低辺に二箇所還流用穴があった。光学的に計測するのはチャンバー内の一部の領域なので、同じ脳部位に電極アレイも刺せるように電極刺入補助装置やマニピュレータの配置など光学的計測システムに合わせて改良を加えた。電極に市販の剣山型マルチ電極アレイを改造して使用した。電極基板外形の改造以外に、側頭葉下部皮質細胞の特性を考慮して、電極プローブの長さ、間隔、インピーダンスなどプローブの電気的な特性なども改めた。

刺激画像セットの構築：視覚連合野細胞は、早期視覚野細胞に比べ、複雑な図形特徴に選択的に反応する。また、その刺激選択性が刺激呈示後の時間経過に従って変化する。本研究で使用する刺激画像セットに含まれる画像の間には、それぞれ物体セットのプロトタイプで代表するグローバル図形特徴の変化と同一物体セット内の局所図形特徴で定義するファイン図形特徴の変化を含んだ（図1）。具体的に、それぞれの物体セットにおいて、長さ、曲率、径などのパラメータで定義する3次元形状プロトタイプをパラメータ

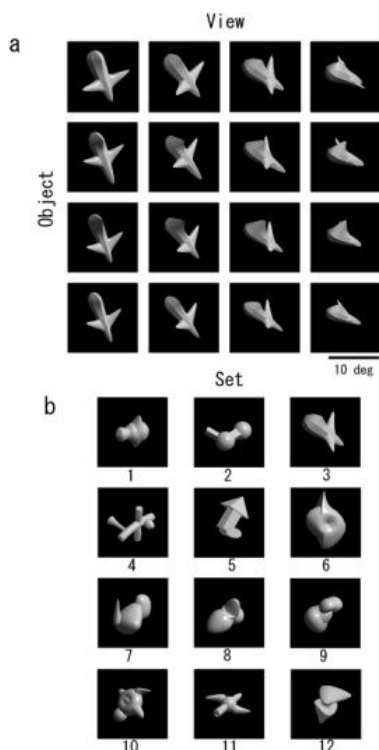


図1 刺激画像セット

空間において異なる4方向に変化させることにより、4個の物体を作成した。4個の物体それぞれを奥行き回転させて4個の観察角度像を作り、全部で16個の刺激像により一つの物体セットを構成した。回転の間隔は30度、60度或いは90度とした。ヒト被験者を用いた心理物理測定による物体間弁別成功率が80%になるように、物体を定義するパラメータを調節した。動物への露出度をコントロールするために、物体はコンピュータ上で作成する全く事前経験のないものとした。図1に示すような全く異なるプロトタイプから多数の物体セットを作り、刺激画像セットに含んだ。

細胞集団活動の解析：マルチ電極で記録された下側頭葉皮質細胞集団の刺激選択性の時間経過に伴った変化を調べるために、上記のようなグローバル特徴とファイン特徴がコントロールされた刺激画像に対する細胞集団の反応を多変量解析手法を用いて解析した。具体的に、ある物体セットに反応した

細胞が n 個のとき、 n 個の神経細胞の応答を用いて、物体画像 i に対して n 次元のポピュレーションベクトル v_i を生成した。物体セット毎に16枚の物体画像があるので、16個の n 次元のポピュレーションベクトル v_i ($i=1, 2, \dots, 16$)が存在する。ポピュレーションベクトル間のピアソンの積率相関係数を求め、物体画像に対する細胞集団の応答パターンの類似度を評価した。また、ポピュレーションベクトル v_i を対象に、多次元尺度法と主成分分析を適用することによって、異なる経験をした物体セットに含まれる画像間の脳内距離を評価した。解析は、それぞれの時間窓で行い、時間経過に従って、細胞集団としての反応性を調べた。さらに、同じ皮質部位から光計測法によって記録された皮質上における空間的な情報を反映させ、2次元多層構造をもつ皮質の応答を可視化した。

事前経験の物体弁別課題：側頭葉下部皮質の神経細胞の応答を記録する前に、事前経験としてObject taskとExposure taskの2種類の物体弁別課題を用いて、サルに物体画像を経験させた。物体弁別課題は2つの物体を弁別する課題で、サルがレバーを押すことで開始された。固視点を500ms固視すると1st objectの観察角度像が呈示された。1st objectの観察角度像が1回から4回呈示された後、2nd objectが呈示された。観察角度像は固視点と交互に呈示され、それぞれの呈示時間は500msとした。サルは報酬を得るために2nd objectが呈示された後1000ms以内にレバーを離す必要があった。それ以外の時間帯でレバーを離したり、2nd objectが呈示されるまで観察角度像および固視点を固視できなければ不正解となりピープ音が鳴った。試行と試行の間には、正解時に1500ms、不正解時に2500msの間隔を空けた。Object taskは、観察角度をまたいで物体セット内の画像の弁別を経験させる。Object taskでは物体セットの中からランダムに1st objectを選択し、1st objectの観察角度を変化させながら1回から4回呈示させた後、同じ物体セットの異なる物体の観察角度像をランダムに選択し、2nd objectとして呈示した。Exposure taskは、異なる物体セット間の物体同士の弁別を経験させる。Exposure taskでは、物体セットの中からランダムに1st objectを選択し、同じ観察角度で1回から4回呈示させた後、他の物体セットの観察角度像を2nd objectとして呈示した。それぞれの課題で2つの物体セットを用いた。2つの課題の弁別率が80%程度で飽和し、サルへの暴露数が揃ってから電気生理学的実験を行い、神経細胞の応答を記録した。

4. 研究成果

2頭のサルから、Object taskとExposure taskで事前経験した物体セットに反応した細胞は213個であった。213個のうち、物体画像に対して有意に反応した神経細胞は117

個であった。117 個のうち、Monkey K では、

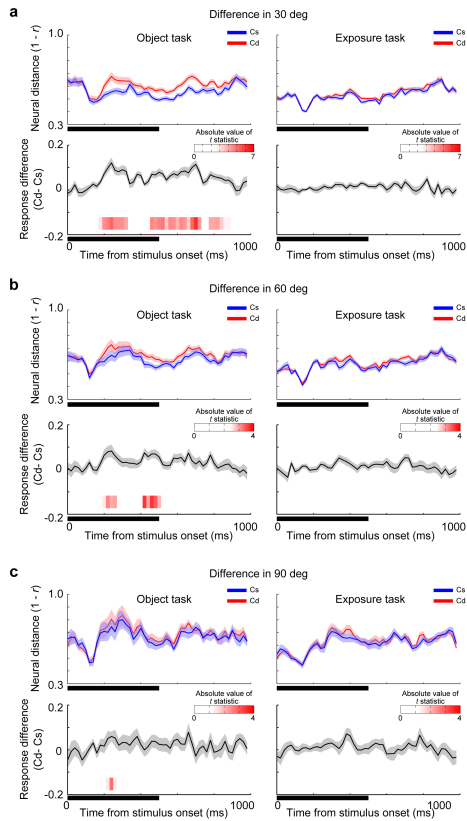


図2 神経細胞集団活動によって表す脳内距離とその時間的変化

Object task で事前経験した 2 つの物体セットに反応した細胞は、それぞれ 9 個と 11 個、Exposure task で事前経験した 2 つの物体セットに反応した細胞は、それぞれ 11 個と 12 個であった。Monkey H では Object task で事前経験した 2 つの物体セットに反応した細胞は、それぞれ 27 個と 19 個、Exposure task で事前経験した 2 つの物体セットに反応した細胞は、それぞれ 10 個と 18 個であった。

刺激呈示後の 0 ms から 980 ms までの Cs と Cd の経時的变化を図 2 に示す。課題に依らず、刺激呈示後 100 ms から Cs と Cd の値は下がり、そのあとは元の値に緩やかに戻っていった。Object task で事前経験した物体セットでは、どの観察角度間隔でも、刺激呈示後 160 ms 辺りの谷以降から、Cs は Cd よりも小さくなり始めた。Cs と Cd の間の有意性を調べるために、Cs と Cd の値を用いて対応ありの t 検定を行い、 t 値を求めた。観察角度間隔 30 度、60 度、90 度において、 t 値が 2.4, 2.4, 1.2 以上で最低 60 ms 以上連続した時間帯を調べた。観察角度間隔 30 度において、Object task で事前経験した物体セットでは、刺激呈示後 180 ms から、Cs は Cd よりも有意に小さくなった。観察角度間隔 60 度において、Object task で事前経験した物体セットでは、刺激呈示後 200 ms から、Cs は Cd よりも有意に小さくなった。観察角度間隔 90 度において、Object task で事前経験

した物体セットでは、刺激呈示後 220 ms から、Cs は Cd よりも有意に小さくなった。一方、Exposure task で事前経験した物体セットでは、どの観察角度間隔でも Cs と Cd は同じような値を示した。これらの結果は、観察角度 90 度間隔において、Object task で事前経験した物体セットでは、同じ物体の観察角度像間の応答パターンと、異なる物体の観察角度像間の応答パターンが異なる時間帯があることを示唆する。また、Cs が Cd よりも有意に小さくなり始める時間帯は、観察角度間隔 30 度、60 度、90 度で、それぞれ刺激呈示後 180 ms、200 ms、220 ms であった。これらの結果から、観察角度間隔ごとに情報処理のメカニズムは少し異なることが考えられる。

Cs と Cd の経時的变化から、刺激呈示後 220-280 ms 間で、どの観察角度間隔でも Cs は Cd よりも有意に小さかった。本研究では、細胞集団の応答を求めるための観測窓を刺激呈示後 220-280 ms 間としたときの応答パターンを調べた。細胞集団を構成する単一神経細胞の応答は、刺激呈示後 220-280 ms 間の発火頻度から刺激呈示前の 500 ms 間の発火頻度を引いた値とした。Object task で事前経験した物体セットに対する細胞集団の応答ターンの例を図 3 に示す。多くの細胞では、図 3 の Cell 1 のように、90 度離れた同じ物体の観察角度像に対する応答は、30 度または 60 度離れた異なる物体の観察角度像に対する応答よりも小さかった。しかし、細胞集団の応答パターンを比較すると、観察角度間隔が大きくなっても、

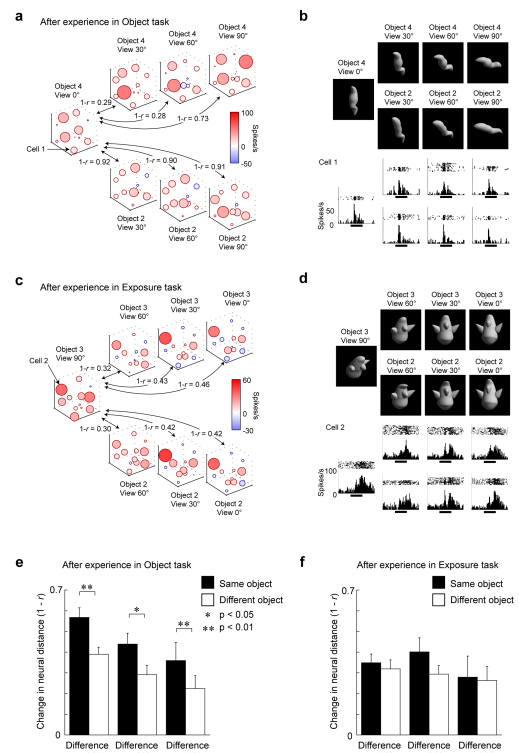


図3 細胞集団における反応の類似性

Cs は Cd よりも小さかった。Exposure task で事前経験した物体セットでは、どの観察角度間隔でも、Cs と Cd は同じような値を示した。

物体セットをまたいだ応答パターンを比較するために、刺激呈示後 220-280 ms 間の Cs と Cd から、刺激呈示後 0-60 ms 間の Cs と Cd を引いて Cs と Cd の変化量を求めた。観察角度間隔 30 度において、Object task で事前経験した物体セットでは、Cs の変化量は Cd の変化量よりも有意に大きかった ($p < 0.01$, by Wilcoxon signed-rank test)。一方、Exposure task で事前経験した物体セットでは、Cs の変化量と Cd の変化量との間に有意な差はなかった ($p = 0.71$)。観察角度間隔 60 度、90 度において、Object task で事前経験した物体セットでは、Cs の変化量は Cd の変化量よりも有意に大きかった (60 deg: $p < 0.05$; 90 deg: $p < 0.01$, by Wilcoxon signed-rank test)。Exposure task で事前経験した物体セットでは、Cs の変化量と Cd の変化量との間に有意な差はなかった (60 deg: $p = 0.53$; 90 deg: $p = 0.86$)。これらの結果は、Object task で事前経験した物体セットでは、観察角度が大きくなっても、同じ物体の観察角度像間に対する応答パターンは、異なる物体の観察角度像間に対する応答パターンとは有意に異なることを示唆する。

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 12 件)

福留啓太, 藺田崇弘, 岡村純也, 王鋼. 早期視覚野における局所電場電位の位相同期とその時間経過. 電子情報通信学会信学技報(電子情報通信学会技術研究報告), MBE2016-69 ~ MBE2016-81, pp.31-34, 2017. 査読無

Chunzhen Zhao, Jun-ya Okamura, Gang Wang. Differences in spatial and temporal frequency interactions between central and peripheral parts of the feline area 18. European Journal of Neuroscience, Vol.44, pp. 2635-2645, 2016. 査読有

Reona Yamaguchi, Jun-ya Okamura, Gang Wang. Dynamics of population coding for object views following object discrimination training. Neuroscience, Vol.330, pp. 109-120, 2016. 査読有

山口玲欧奈, 岡村純也, 本田寿成, 大島仁, 猿渡真太郎, 王鋼. 連合学習を経験した三次元物体の観察角度像に対する側頭葉下部皮質神経細胞集団の応答. 電気学会論文誌 Q (電子・情報システム部門誌),

136 巻, pp. 1254-1260, 2016. 査読有
岡村純也, 藺田崇弘, 内田晃平, 福留啓太, 王鋼: 視覚刺激の周辺修飾における視覚野の情報の流れの解析, 生体医工学, 53 巻 5 号, 270-275, 2015 年 10 月. 査読有

Megumi Niina, Jun-ya Okamura, Gang Wang. Electrophysiological evidence for separation between human face and non-face object processing only in the right hemisphere. International Journal of Psychophysiology, Vol. 98, pp. 119-127, 2015. 査読有

Manoj Eradath, Tsuguo Mogami, Gang Wang, Keiji Tanaka. Time context of cue-outcome associations represented by neurons in perirhinal cortex. The Journal of Neuroscience, Vol. 35, pp. 4350-4365, 2015. 査読有

山口玲欧奈, 岡村純也, 本田寿成, 吉満美沙希, 王鋼. 側頭葉下部皮質における興奮性神経細胞及び抑制性神経細胞の刺激選択性. 電子情報通信学会技術研究報告 (IEICE Technical Report), MBE2014-101, pp. 39-42, 2015. 査読無

猿渡真太郎, 岡村純也, 山口玲欧奈, 大島仁, 吉満美沙希, 王鋼. 三次元物体に対する側頭葉下部皮質後半部の神経細胞集団の応答. 電子情報通信学会技術研究報告 (IEICE Technical Report), MBE2014-102, pp. 43-46, 2015. 査読無

岡村純也, 里中俊太, 永江恒大, 秦良佑, 田中智康, 王鋼. ネコ初期視覚野における神経細胞の同期的な活動. 生体医工学, 52 巻, pp. 288-295, 2014. 査読有

Jun-ya Okamura, Reona Yamaguchi, Kazunari Honda, Gang Wang, Keiji Tanaka. Neural substrates of view-invariant object recognition developed without experiencing rotations of the objects. The Journal of Neuroscience, Vol. 34, pp. 15047-15059, 2014. 査読有

Miki Jitouzono, Jun-ya Okamura, Gang Wang. Separation of Stimulus Selective and non-Selective Components in Intrinsic Optical Signals. IEEJ Transactions on Electrical and Electronic Engineering, Vol. 9, pp. 267-274, 2014. 査読有

[学会発表](計 10 件)

福留啓太, 藺田崇弘, 岡村純也, 王鋼. 早期視覚野における局所電場電位の位相同期とその時間経過. ME とバイオサイバネティクス研究会 (MBE), 九州大学 (福岡県・福岡市), 2017 年 1 月 27 日-28 日. 仲野慶, 乾智成, 王鋼. P300 speller における判別精度の向上に関する基礎的研

究. ME とバイオサイバネティックス研究会 (MBE), 鹿児島大学 (鹿児島県・鹿児島市), 2016 年 1 月 21 日.

Chunzhen Zhao, Lin Wang, Gang Wang. HAMI 3379 ameliorates memory impairment and inflammatory responses induced by A₂₅₋₃₅ in an Alzheimer's disease model. 第 38 回日本神経科学大会, 神戸国際会議場 (兵庫県・神戸市), 2015 年 7 月 28-31 日 (2015).

猿渡真太郎, 岡村純也, 山口玲欧奈, 大島仁, 吉満美沙希, 王鋼. 三次元物体に対する側頭葉下部皮質後半部の神経細胞集団の応答. ME とバイオサイバネティックス研究会 (MBE), 熊本大学 (熊本県・熊本市), 2015 年 1 月 22 日-1 月 23 日.

山口玲欧奈, 岡村純也, 本田寿成, 吉満美沙希, 猿渡真太郎, 大島仁, 王鋼. 側頭葉下部皮質における興奮性神経細胞及び抑制性神経細胞の刺激選択性. ME とバイオサイバネティックス研究会 (MBE), 熊本大学 (熊本県・熊本市), 2015 年 1 月 22 日-1 月 23 日.

岡村純也, 里中俊太, 永江恒大, 秦良佑, 王鋼. 初期視覚野において異なるサイトで記録した局所電場電位の位相同期性、及びスパイク活動の相互相関. 第 53 回日本生体医工学会大会, 仙台国際センター (宮城県・仙台市), 2014 年 6 月 24 - 26 日.

Gang Wang, Jun-ya Okamura. Surround modulation in cortical orientation map revealed by optical imaging based on intrinsic signals. The Journal of Physiological Sciences, Volume 64, Supplement 1, 鹿児島大学 (鹿児島県・鹿児島市) 2014. S87.

森主宜延, 瀧川守国, 王鋼. タスクを課す脳波採取における自閉症スペクトラム被験者の適正査定に関する相関次元に対する考察. 第 44 回日本臨床神経生理学学会学術大会, 福岡国際会議場 (福岡県・福岡市), 2014 年 11 月 19-21 日.

猿渡真太郎, 岡村純也, 山口玲欧奈, 大島仁, 吉満美沙希, 王鋼. 三次元物体認識の脳内メカニズム. 電気・情報関係学会九州支部第 67 回連合大会, 鹿児島大学 (鹿児島県・鹿児島市), 2014 年 9 月 18-19 日.

岡村純也, 里中俊太, 永江恒大, 秦良佑, 田中智康, 王鋼. ネコ初期視覚野における神経細胞の同期的な活動. 生体医工学シンポジウム 2014, 東京農工大学 (東京都・小金井市), 2014 年 9 月 26-27 日.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

王 鋼 (WANG, Gang)
鹿児島大学・理工学域工学系・教授
研究者番号 : 40274831

(2) 研究分担者

岡村 純也 (OKAMURA, Jun-ya)
鹿児島大学・理工学域工学系・助教
研究者番号 : 30447594