

令和 4 年 6 月 2 日現在

機関番号：33303

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K16192

研究課題名（和文）視聴覚統合による物体認識に重要な脳内機構：エコーロケーションをモデルとした研究

研究課題名（英文）Brain mechanism for object recognition by audiovisual integration

研究代表者

古山 貴文（FURUYAMA, TAKAFUMI）

金沢医科大学・医学部・助教

研究者番号：20802268

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、視聴覚統合による物体認識に重要な脳内機構を解明することを目的とし、げっ歯類およびコウモリを対象に、複数の部位の光学計測、電位計測実験を行った。その結果、コウモリの聴覚野では、エコーロケーション音に対して、広範囲で活動することが明らかになった。一方、スナネズミにおいては、種特異的なコミュニケーション音声を提示しても、活動の広さに変化は生じなかった。さらに、コウモリの網膜地図は、マウスやスナネズミなどと同様であることが明らかになった。この結果から、視覚の基礎的な情報処理は、他の動物と同様であるが、聴覚野におけるエコーロケーション音の処理機構においては特殊化されていることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

多感覚情報の統合機能は高次脳機能の1つであり、感覚統合の異常は自閉症などの発達障害に密接に関係している。特にヒトにおいて視聴覚統合は、音声と事物を対応させる言語発達に重要である。本研究では、広範囲の光学計測法を用いて、コウモリの基礎的な視覚情報処理機構およびエコーロケーションに特殊化した聴覚野の処理機構を明らかにした。今後、視覚野におけるエコーロケーション音の処理機構が明らかになることで、視聴覚統合による物体認識の生物学的基盤の解明だけでなく、ヒトの言語発達障害のメカニズム解明や治療法につながる期待される。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study was to investigate the brain mechanisms for object recognition by audiovisual integration. In this study, optical and field potential measurement experiments in multiple regions were conducted in rodents and bats. The results revealed that the auditory cortex of bats was extensively activated by echolocation sounds. In contrast, in gerbils, the presentation of species-specific sounds did not alter the breadth of activity. Furthermore, the retinal map of bats was found to be similar to that of mice and gerbils. These results suggest that the basic information processing in vision is similar to that of other animals, but that there is specialization in the processing mechanism of echolocation sounds in the auditory cortex.

研究分野：神経行動学

キーワード：視聴覚統合 光学計測

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

多くの動物は視覚や聴覚などの複数感覚の情報を脳内で統合し、周囲の環境を把握している。複数感覚の統合は、適切かつ柔軟に空間把握や物体認識するために重要である。さらに、特定の感覚で知覚した物体を別の感覚で知覚・認識することができる(クロスモーダル知覚)。そのため、1つの感覚が使用困難な状態でも他の感覚を用いて物体認識をすることができる。例えば、コウモリやイルカのエコーロケーション(音声を放射し、反響音から標的の位置・大きさ・形状などを検出すること)がある。コウモリやイルカは視覚情報が使用困難な環境(洞窟や水中)で、エコーロケーションを行い、捕食や障害物回避を行っている。過去の研究より、イルカはエコーロケーションのみで学習した物体を、次に視覚のみで判断できる[1]。さらに目の不自由なヒトがエコーロケーションを獲得・実行でき、そのときの脳活動を fMRI で記録すると、聴覚野の他に視覚野の賦活が観測されている[2]。これは、音から視覚的なイメージを脳内で生成していると考えられるが、そのための脳内機構を神経回路・活動レベルで解明を目指した研究は極めて少ない。その理由として以下の3点が挙げられる。

- (1) エコーロケーションを自然と獲得した動物種が少なく、実験室にて行動の再現が難しい点。
- (2) 過去のクロスモーダル知覚の研究では、視覚や触覚など物体認識の際に絶えず入力される感覚を対象としており、クロスモーダル知覚した瞬間が不明なため、脳活動を記録する瞬間を判断できない点。
- (3) 音から視覚的なイメージを生成していると考えられている動物が、ヒトやイルカなどの大型哺乳類であり、直接脳内の神経活動を記録することが困難である点。

2. 研究の目的

そこで本研究では、コウモリおよびげっ歯類を用いて、視聴覚統合の神経基盤を明らかにすることを目的とした。

コウモリは陸上小型哺乳類(例: アブラコウモリ、体長: 4-6cm、体重: 5-11g)で唯一エコーロケーションを自然と獲得した動物であり、ヒトやイルカと同様に音から視覚的なイメージを生成していると考えられる。またエコーロケーションには発声音(パルス)と反響音(エコー)が必要である。パルスとエコーを聴取した時間を計測することで、音による物体認識を行った時間を正確に計測できる。さらに過去の研究では、コウモリの聴覚野から神経活動を記録することに成功しており、覚醒下コウモリの下丘(聴覚経路の1つ)から聴性脳幹反応の記録にすでに成功している。そのため直接脳内の神経活動を記録することができ、コウモリが音から視覚的なイメージを生成する際に必要な脳内機構を神経活動レベルで解明できると考え、実験を行った。

3. 研究の方法

実験1 コウモリ聴覚野におけるエコーロケーション音声処理

実験1では、フラビン蛋白蛍光イメージング法を用いて、コウモリ聴覚野においてエコーロケーション音声処理に必要な脳部位の同定を行った。フラビン蛋白はミトコンドリア内に存在するタンパク質の1つである。神経活動が生じることで、ミトコンドリアの活動が上昇し、フラビン蛋白が還元型から酸化型へ変化する。この酸化型フラビン蛋白に青色励起光を照射することで緑色の自家蛍光を発する。緑色変化をカメラで記録することで脳活動を可視化することができる。さらに、このフラビン蛋白蛍光イメージングは経頭蓋で計測ができるため、低侵襲で広範囲の脳活動を同時に計測できる。本実験ではこの手法を用いて、コウモリ聴覚野におけるエコーロケーション音声処理に必要な脳部位の同定を行った。



図1 アブラコウモリ

被験体として2匹のアブラコウモリ(図1)を使用した。アブラコウモリに聴覚刺激として、トーンバースト音およびコウモリが壁に着地する際の音声(Landing 音声)を使用した。トーンバースト音は、時間長 500 ms で 20 Hz の振幅変調した音を使用した。周波数は 20 および 40 kHz の2種類を用いた。各刺激の音圧レベルは、74 dB SPL に設定した。刺激間時間間隔は、20 s に設定し、各刺激は 20 回提示された。

計測方法として、被験体の頭蓋骨上部の皮膚を切開し、頭蓋骨を露出させた。被験体の頭蓋骨に固定具を装着し、頭部を固定した。露出した頭蓋骨に流動パラフィン塗布し、光の透過性を高めた。顕微鏡の明視野を被験体の側頭部付近に設置した。青色励起光(波長: 450~470 nm)を頭蓋骨に照射し、緑色反射光

(500~550 nm)を CCD カメラで計測した。シャッター速度は 10 fps (100 ms) に設定した。視覚刺激提示前 300 ms から刺激提示開始までの画像を基準値(F0)とした。各画像と基準値の差を $\Delta F(F-F_0)$ 計算し、蛍光変化量($\Delta F/F_0$)を求めた。

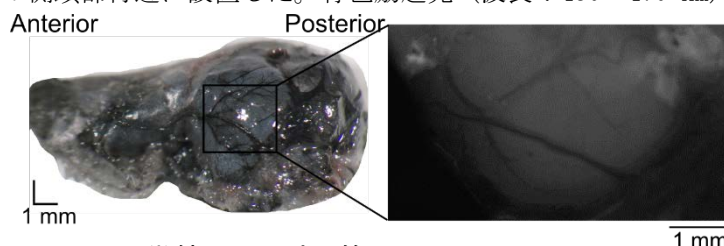


図2 顕微鏡下での計測範囲

実験 2 : コウモリ視覚野における網膜地図と聴覚情報表象

実験 2 では、実験 1 で確立したフラビン蛋白蛍光イメージング法を用いて、コウモリ視覚野の網膜地図同定および視覚野における聴覚情報の表象について検討した。

被験体として 2 匹のアブラコウモリを使用した。白色 Light emitted diode (LED) を視覚刺激として使用した。被験体正面を 0° として、提示角度は 0° , 45° , 90° の 3 種類であった。被験体の眼球から 5 cm の位置に LED を設置した。聴覚刺激として、トーンバースト音および Landing 音声を使用した。トーンバースト音は、時間長 500 ms で 20 Hz の振幅変調した音を使用した。周波数は 20 および 40 kHz の 2 種類を用いた。計測方法として、被験体の頭蓋骨上部の皮膚を切開し、頭蓋骨を露出させた。被験体の頭蓋骨に固定具を装着し、頭部を固定した。露出した頭蓋骨に流動パラフィン塗布し、光の透過性を高めた。顕微鏡の明視野を被験体の後頭部付近 (図 9) に設置した。青色励起光 (波長: 450~470 nm) を頭蓋骨に照射し、緑色反射光 (500~550 nm) を CCD カメラで計測した。シャッター速度は 10 fps (100 ms) に設定した。視覚刺激提示前 300 ms から刺激提示開始までの画像を基準値 (F_0) とした。各画像と基準値の差を $\Delta F (F - F_0)$ 計算し、蛍光変化量 ($\Delta F / F_0$) を求めた。

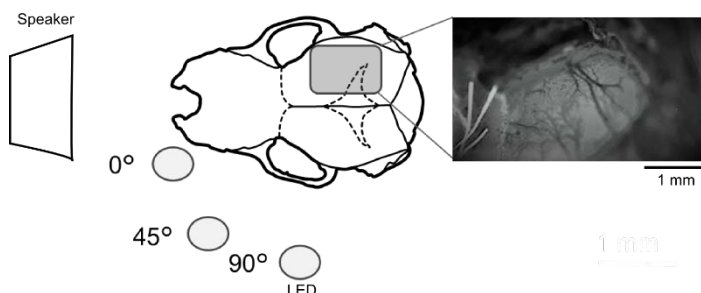


図 3 刺激提示箇所と計測範囲

実験 3 : 視聴覚同時刺激における誘発電位の違い

実験 3 では、視覚刺激および聴覚刺激、視聴覚同時刺激を提示し、誘発電位の違いについて検討した。

被験体としてアブラコウモリを使用した。実験はすべて防音・防磁箱内で行った。視覚刺激として、白色 LED を使用した。また聴覚刺激として、ホワイトノイズバースト音を使用した。各刺激の時間長は、5 ms であった。LED および聴覚刺激提示用スピーカーは、被験体頭部から前方 5 cm に設置した。誘発電位計測方法として、被験体の頭蓋骨上部の皮膚を切開し、頭蓋骨を露出させた。被験体の頭蓋骨に固定具を装着し、頭部を固定した。被験体の頭蓋骨にデンタルドリルで小さな穴をあけ、記録用電極が挿入できるようにした。記録点は、① bregma から尾側 0.0 mm、左外側側に 1.0 mm、② bregma から尾側 2.0 mm、左外側側に 1.5 mm、③ bregma から尾側 3.0 mm、左外側側に 3.0 mm の 3 箇所であった。被験体の頭蓋後部の bregma から尾側方向に 0.5 mm、正中線から右側方向に 1.0 mm の位置にデンタルドリルで小さな穴 (直径 0.5 mm) をあけ、テフロン皮膜された銀電極を脳表に設置し、基準電極とした。記録用電極は、エルジロイ電極 (抵抗 300 k Ω) を使用した。記録電位は、生体アンプで増幅され、A/D 変換を行い、記録された。視覚刺激のみおよび聴覚刺激のみ、視聴覚同時刺激はそれぞれ 128 回提示され、加算平均を行った。

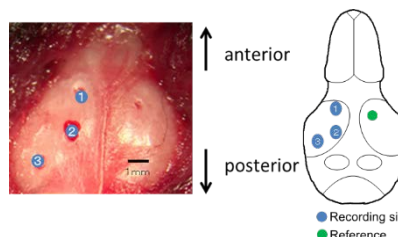


図 4 誘発電位計測点

実験 4 : スナネズミ聴覚野における種特異的な音声の反応

実験 4 では、スナネズミを被験体とし、種特異的な音声聴覚野においてどのように処理されているかを検証した。

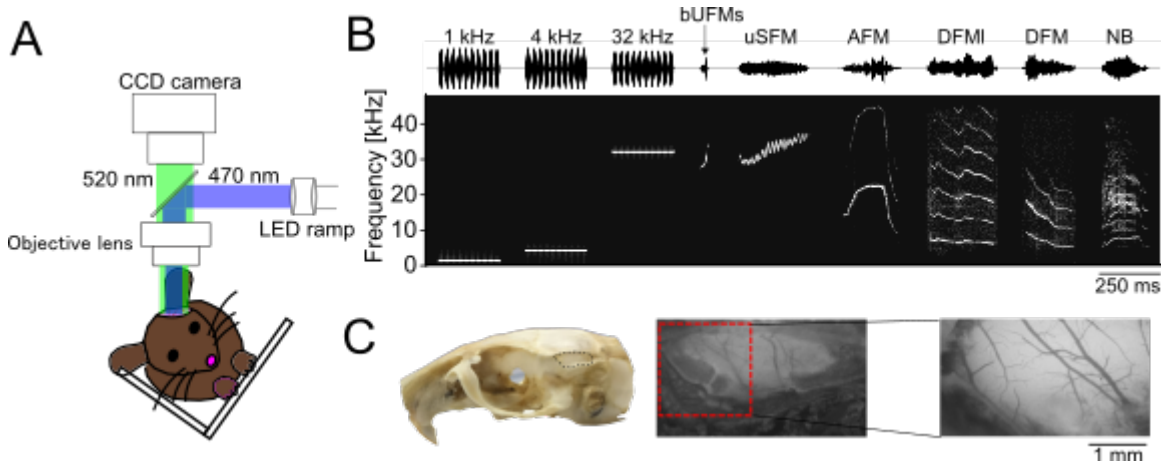


図 5 計測法と刺激。A: 実験セットアップ。B: 提示刺激の種類。C: 光学計測部位。

被験体の聴覚野に相当する頭蓋骨上部の皮膚を切開し、頭蓋骨を露出させた。被験体の頭蓋骨に固定具を装着し、頭部を固定した。露出した頭蓋骨に流動パラフィン塗布し、光の透過性を

高め、青色励起光（波長：450～470 nm）を頭蓋骨に照射し、緑色反射光（500～550 nm）を CCD カメラで計測した。提示音声は、1、4、32kHz のトーンバースト、6 種類のコミュニケーション 音声提示した。聴覚刺激提示前 300 ms から刺激提示開始までの画像を基準値 (F0) とした。各 画像と基準値の差を $\Delta F(F-F_0)$ 計算し、蛍光変化量 ($\Delta F/F_0$) を求めた。

4. 研究成果

実験 1 コウモリ聴覚野におけるエコーロケーション音声処理

聴覚刺激開始後、0.2 s から蛍光変化が増大し、0.9 s で蛍光変化量が最大値 (0.9%) になった。その後、4.0 s で蛍光変化量が刺激提示前と同等の値になった。また、すべての刺激に対する最大蛍光量は、0.9 から 1.1 s の間で観測された。

20 kHz のトーンバースト音に対する反応は、計測範囲の吻側側で観測され、40 kHz のトーンバースト音に対する反応は、尾側側で観測された。さらに、エコーロケーション音声に対する反応は、20 および 40 kHz に対する反応領域より広がっていた。

以上の結果、フラビン蛋白蛍光イメージングを用いて、コウモリの脳活動を可視化することに世界で初めて成功した。さらに、コウモリの聴覚皮質における周波数地図 (特定の周波数に反応する神経細胞が規則的に配置されていること) の作成をすることができた。また、エコーロケーション音声に対する脳活動範囲はトーンバースト音に比べて広範囲で観測された。この結果から、聴覚野においてエコーロケーション音声を処理するためには、聴覚野全体で処理していることが示唆された。これは、信号音を処理するためには、多くの神経細胞を協調させて処理している可能性を示唆した。

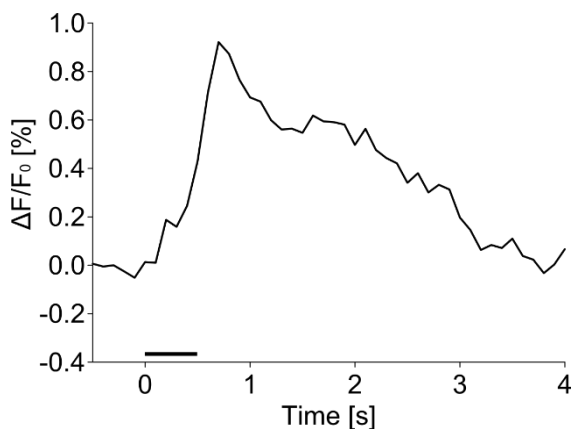


図 6 フラビン蛋白蛍光の蛍光変化量の時間変化。図中の太い黒棒は刺激提示時間を示す。

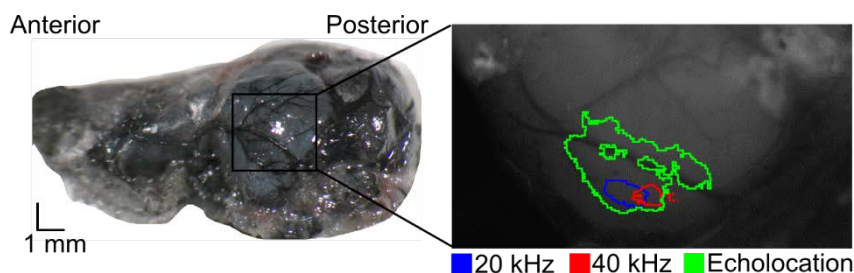


図 7 各刺激に対する蛍光変化が観測された領域

実験 2 : コウモリ視覚野における網膜地図と聴覚情報表象

LED の提示角度を 0° 、 45° 、 90° と変化させた場合、刺激提示後の蛍光時間変化を図 8 に示す。刺激開始後 800 ms で蛍光変化が生じ、1200 ms で最大蛍光変化が観測された。

さらに、各刺激に対する最大蛍光応答の 60% の蛍光応答範囲を図 9 に示す。 0° の視覚刺激に対する反応は、正中線から外側側に 0.70 mm で観測された。また、 45° では、正中線から外側側に 0.50 mm で観測された 90° 正中線から外側側に 0.45 mm で観測された。また、明視野を視覚野に設定し、聴覚刺激を提示した結果、聴覚刺激に対する反応は正中線から外側側に 1.34 mm の場所で観測された。

視覚刺激の提示角度を変化させた結果、正面から横方向になるにつれて、反応部位が外側側から内側側に変化した。これは、マウスなどで観測されている網膜地図と同様のことであり、今回の計測から、コウモリの網膜地図は齧歯類と同等である可能性が示唆された。

さらに、コウモリの視覚野を顕微鏡の明視野に置き、聴覚刺激を提示した結果、視覚刺激時に観測された部位よりも外側側で観測された。また、聴覚刺激に対する反応部位の違いは観測されなかった。この結果から、聴覚情報は 1 次視覚野ではなく、より高次の視覚野に入力されていることが示唆された。また別の可能性と

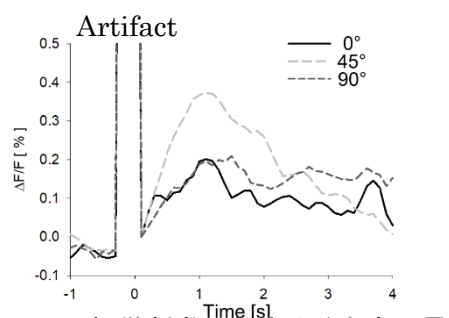


図 8 視覚刺激に対する蛍光変化量

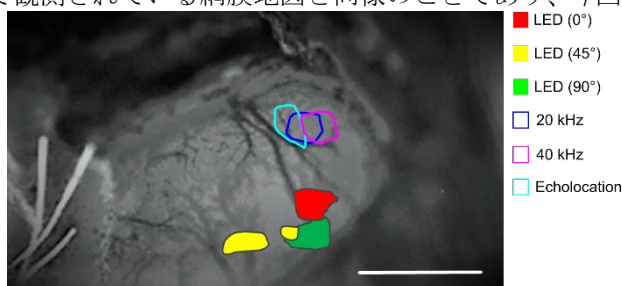


図 9 視覚刺激および聴覚刺激に対する蛍光反応が観測された領域

して、明視野の中に聴覚刺激に対する領域が入っていた可能性が考えられる。

実験 3：視聴覚同時刺激における誘発電位の違い

聴覚刺激に対する誘発電位は、刺激提示後 10 ms 以内で観測された(図 10)。さらに、計測点 3 においては、聴覚刺激提示後 40 ms で電位変化が観測された。視覚刺激に対する誘発電位は、各計測点において、刺激提示後 100 ms で観測された。また、後頭部に近い計測点でより強い誘発電位が観測された。視聴覚同時刺激に対する誘発電位を計測した結果、刺激提示後 10 ms、40 ms および 100 ms で電位変化が観測された。聴覚刺激に対する誘発電位は、刺激後 10 ms および刺激提示後 40 ms で観測された。過去の研究から、聴覚刺激に対する誘発電位の潜時時間と同様であったため、聴覚性誘発電位であると考えられる。また、視覚刺激に対する誘発電位は、刺激後 100 ms で観測された。過去の研究のコウモリの視覚刺激に対する誘発電位の潜時時間と同様であったため、視覚誘発電位と考えられる。以上の結果から、各刺激に対する誘発電位の計測に成功した。さらに、視聴覚同時刺激と視覚刺激および聴覚刺激に対する誘発電位の合算を比較した結果、明確な違いが観測されなかった。この結果から、今回の計測点において視聴覚統合により神経変化が生じない領域から記録している可能性を唆した。

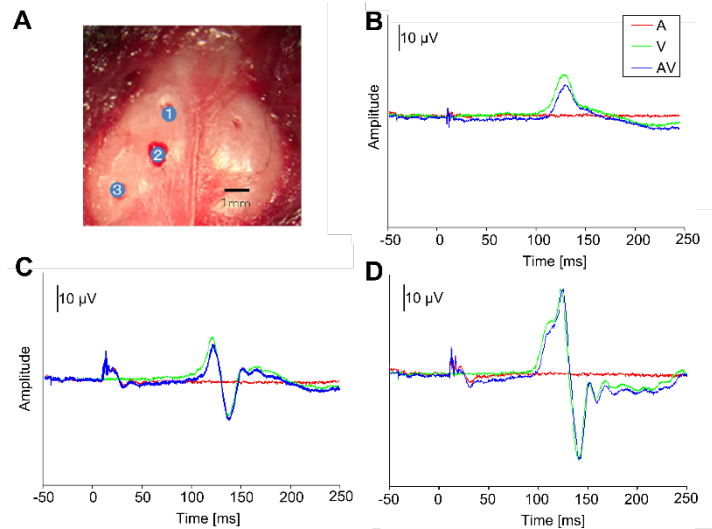


図 10 各計測点における視覚および聴覚刺激に対する誘発電位。A:各計測点。B:計測点 1 における誘発電位。C:計測点 2 における誘発電位。D:計測点 3 における誘発電位。

実験 4：スナネズミ聴覚野における種特異的な音声の反応

スナネズミを対象とし、聴覚刺激を提示した結果、刺激提示後 1.2s 後に最大値を観測した(図 11)。さらに、1、4、32kHz のトーンバースト、6 種類のコミュニケーション音声を提示した結果、聴覚野における反応を観測することに成功した。また、聴覚刺激種類ごとの反応部位の広さには、変化はなかった。しかし、反応のピーク場所は、低周波音ほど尾側側で反応し、高周波音では吻側側で観測された(図 12)。これは、過去のスナネズミの聴覚野における周波数地図と対応しているため、この計測法においても周波数地図を明らかにすることができた。

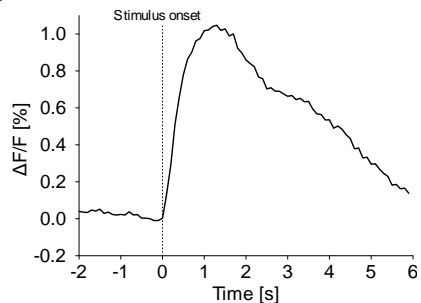


図 11 聴覚刺激に対する蛍光変化量の時間変化。

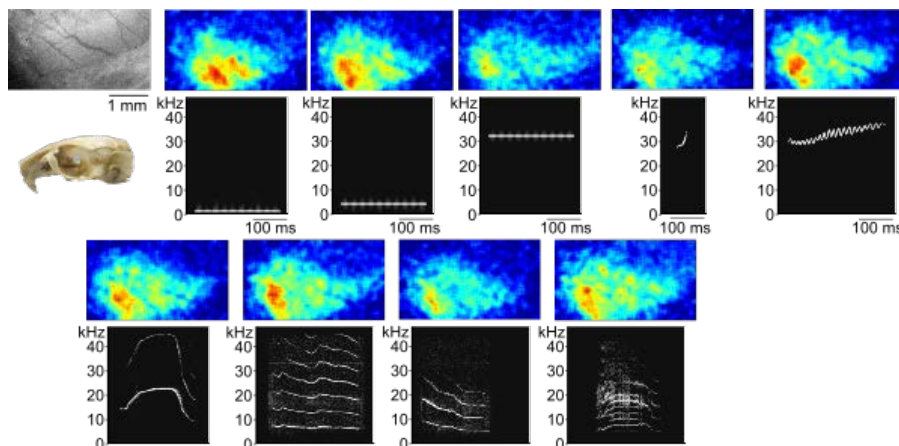


図 12 聴覚刺激種類に対する蛍光最大量の違い。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Yuta Tamai, Yuki Ito, Takafumi Furuyama, Kensuke Horinouchi, Nagomi Murashima, Itsuki Michimoto, Ryuichi Hishida, Katsuei Shibuki, Shizuko Hiryu, Kohta I. Kobayasi	4. 巻 e0240227
2. 論文標題 Auditory cortical activity elicited by infrared laser irradiation from the outer ear in Mongolian gerbils	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PloS one	6. 最初と最後の頁 1-13
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0240227	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Yuki Ito, Yu Masago, Takafumi Furuyama, Kohta I. Kobayasi	4. 巻 41
2. 論文標題 How frequency processing affects the sound-induced flash illusion?	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Acoustical Science and Technology	6. 最初と最後の頁 334-336
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1250/ast.41.334	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ryo Yamamoto, Takafumi Furuyama, Tokio Sugai, Munenori Ono, Denis Pare, Nobuo Kato	4. 巻 123
2. 論文標題 Serotonergic control of GABAergic inhibition in the lateral amygdala	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Neurophysiology	6. 最初と最後の頁 670-681
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1152/jn.00500.2019	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 伊藤 哲史, 劉 麗, 古山 貴文, 小野 宗範
2. 発表標題 機能的に同定したマウス聴覚野サブ領域への聴覚視床を經由した2シナプス経路の可視化
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 玉井 湧太, 上中 望生, 伊藤 優樹, 兎田 幸司, 古山 貴文, 飛龍 志津子, 小林 耕太
2. 発表標題 聴神経へのレーザー照射は聴覚知覚を生み出すか?
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 田中 一樹, 宮坂 知宏, 原田 彰宏, 伊藤 優樹, 古山 貴文, 小林 耕太
2. 発表標題 MAP2遺伝子の欠損が聴覚に与える影響
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Takafumi Furuyama, Taisei Minei, Rina Hayase, Kohta I Kobayasi
2. 発表標題 The selective response to communication sounds in auditory cortex of Mongolian gerbils
3. 学会等名 Neuro2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 古山貴文, 山本亮, 小野宗範, 加藤伸郎
2. 発表標題 音圧レベルが恐怖条件づけ時の防御行動に及ぼす影響
3. 学会等名 動物心理学会第81回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Takafumi Furuyama, Ryo Yamamoto, Qin Zhao, Munenori Ono, and Nobuo Kato
2. 発表標題 Activities of dopamine transporter positive neurons in the dorsal raphe region during the head-fixed fear conditioning
3. 学会等名 動物心理学会第81回大会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------