

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3月31日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22592058

研究課題名（和文） 舌運動の器用さの神経機構：覚醒動物の大脳体性感覚皮質における多細胞活動の同時記録

研究課題名（英文） Neural basis for tongue dexterity: Multiple units recording from the somatosensory cortex of awake animals.

研究代表者

戸田 孝史 (TODA TAKASHI)

東北大学・大学院歯学研究科・准教授

研究者番号：40250790

研究成果の概要（和文）：大脳中心後回の一次体性感覚野(SI)の外側部は、口腔や顔面の各部位からの感覚入力を受け、その処理を行っている。SIの口腔再現領域とその後方の頭頂連合野から同時記録された神経細胞のペアは、触刺激受容中もしくは連続舌運動課題を遂行中に、様々な相関度をもって活動した。この結果は、脳の局所領域が、刺激の時間経過や連続舌運動の経過をモニターするのに都合の良い構成になっていることを示している。

研究成果の概要（英文）：Somesthetic information arising from orofacial structures is processed in the lateral part of the postcentral somatosensory cortex and its neighboring association cortex. There, nearby pairs of neurons responded to a natural stimulus, or were activated during successive tongue movements, with varying degrees of temporal correlation. The temporal diversity of neuronal activity within a small region might help the brain to monitor the time course of sustained tactile stimulation, or successive orofacial movements.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2011年度	800,000	240,000	1,040,000
2012年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：神経生理学

科研費の分科・細目：歯学・機能系基礎歯科学

キーワード：舌運動、体性感覚野

1. 研究開始当初の背景

大脳一次体性感覚野は、口腔内からの体性感覚情報を統合し、触覚認知に貢献するだけでなく舌などの巧緻的な運動制御にも関与している。実際、サルの大脳体性感覚野の口腔組織の再現領域(口腔再現領域)に微小電気刺激を与えることにより、舌や顎などの運動が誘発され、口腔再現領域の冷却ブロックでは随意運動が障害される。体性感覚野は、前頭葉

の運動野に体性感覚情報を送ると同時に、運動野が末梢に送る運動指令のコピー(遠心性コピー)をもらっており、感覚情報と運動指令の情報を統合することで、巧緻的な運動制御を可能にしていると考えられている。しかし、その情報統合の実体については未解明の部分が多いため。これまで我々はサル口腔再現領域で、口腔感覚情報の脳内再現様式について研究を行ってきた。その過程で、通常の

微小金属電極を用い単一神経細胞からの記録を行う際に、近接する複数の神経細胞の活動が安定して記録されることをしばしば経験した(複数細胞同時記録)。例えば、口唇の再現領域では、口唇の圧刺激に際して、同時記録された2つの細胞のうち1つは刺激の開始時に、もう1つは刺激の終了時に選択的に反応するなど、活動の時間パターンにおける細胞間の多様性がみとめられた。一般に、大脳皮質の横方向数百ミクロンの微小領域に含まれる細胞集団は、機能的に関連のある情報を表現する機能単位とみなされている(コラム仮説)。しかし、口腔再現領域の機能単位が表現する情報内容、特に時間情報の再現についてはこれまで報告がなかった。前述の記録例では、機能単位内の限局した神経回路網で圧刺激の時間推移をコードしているともみることできる。本課題では、これらの受動的刺激時の知見をふまえ、サルが自発的に様々な舌運動を行ったときに、同時記録されるニューロン群が、どのような時間パターンで活動するか、を主たる研究目的とする。一方、我々はこれまでの研究において、口腔再現領域の前方から後方に向かって情報処理が進行することを明らかにしてきた。すなわち、単一神経細胞の受容野が前方の3野、1野から後方2野に向かうにつれて次第に大きくなり、構造的に離れてはいるが機能的に関連する口腔組織を含むようになる(舌尖と口唇正中中部など)。この最終段階である2野は運動野との間で双方向性に神経結合があり運動制御に特に重要な部位と考えられている。本課題のデータ解析においては、このような2野の役割をふまえ、前方領野(3b、1野)と2野との違いに重点をおく。このように、体性感覚野の微小領域の反応多様性について体系的に解析することは、感覚情報と運動指令に関する情報の統合様式を推定することにつながり、延いては、臨床の機能回復訓練法の改良に結びつく可能性が極めて高い。

2. 研究の目的

舌を器用に動かすしくみ(舌運動の巧緻的制御機構)について、その大脳皮質神経機構を解明するため、舌運動時における体性感覚野細胞群の活動様式を調べる。無麻酔覚醒状態のニホンザルの大脳一次体性感覚野において、以下の電気生理学的実験を行う。まず口腔粘膜、舌筋等からの体性感覚入力(触覚、筋伸展に関する感覚情報など)を受けている脳領域(口腔再現領域)に局在する複数の神経細胞から同時記録を行う(複数細胞同時記録)。そしてこれらの細胞が、様々な舌運動を組み合わせた課題をサルが自発的に遂行する際に、どのような活動パターンを示すか解析し、微小脳領域が、どのように感覚情報や運動指令の

情報を統合しているのか明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 動物の訓練：口腔内、顔面、手指等に加える様々な触刺激(受動的刺激)を受け入れるように訓練する。併せて、動物の自発的な舌運動に伴う神経活動を調べるための舌運動課題(舌の左右の動き、突出、後退を組み合わせたもの)を学習させる。すなわち、動物の眼前に設置されたパネルに小窓があり、取っ手付きの扉がふさいでいる。この取っ手を動物が舌で操作することにより扉を開けて報酬(ジュース、ジャムなどの甘味物質)を得る課題である。これまでの経験から、この程度の馴化や課題学習であれば、1ヶ月前後で実験可能な状態になると思われる。

(2) 神経活動記録：毎回の実験は、大脳皮質上の異なる箇所(硬膜外)より電極を刺入し、この1トラックに沿う細胞群から記録を行った後、終了する。電極マニピュレータは現有のMO-95(成茂)を用いる。アンプは現有の多チャンネル増幅器(日本光電：MEG-6108)を用いる。最初の数トラックでは、通常の微小金属電極を用い、記録される細胞の性質から、チャンバーが目的の脳部位直上に装着されていることを確認し、口腔再現領域の3、1、2野の範囲を推定する。波形データはデータ収集インターフェイス(Power 1401、CED社(英))を介してデータ収集・解析装置に取り込み、オンラインで、スパイク2のソーティング機能(テンプレートマッチング)によりスパイク弁別を行う。

(3) 神経細胞の受容野、反応性の同定：2つ以上の細胞の活動(スパイク)が最も良好に記録されるよう電極位置を微調整しながら、プローブ等で口腔や顔面に触刺激を行い受容野の範囲を決める。プローブ(自作)にはストレンゲージを添付し、刺激のモニターを行う。触刺激は、粘膜上の1点刺激だけではなく、動的触刺激(一定方向に軽くこする刺激)も行う。その上で動物に自発的舌運動を行わせ、その際の神経活動を調べる。受容野刺激中や課題遂行中の様子はPCカメラを用いて撮影する。

(4) データ解析：収集された複数細胞からの波形データはオフラインでさらに詳細な解析を行う。スパイク2のクラスタクッティング機能を用い、複数細胞のスパイク弁別を再度行い、スパイク列をタイムヒストグラムに変換した上で、複数細胞の活動パターンを比較する。同時記録された細胞の反応選択性が一致するかどうか、一致しない場合はその多様性について調べる。複数細胞の活動期間が重複し、なおかつ十分なスパイク数をもって反応する場合には、細胞間での相互相関解析(ある細胞のスパイク発射時間を基準とした時の他の細胞のスパイク発射のタイミング

に関する解析)を行い、機能的神経回路網の動態についても解析する。すなわち、ミリ秒オーダーや数十ミリ秒オーダーの時間解像度で相互相関を調べる。

4. 研究成果

まず最初に、同時記録されたニューロン活動について、数値解析的な処理を試し、その妥当性に関して検討した(図1~図4、Toda & Hayashi 2011より改変)。すなわち、一次体性感覚野の口腔再現領域から同時記録されたニューロン間で、スパイク発射のパターンを比較してその違いを定量化するものである。まず、各スパイク列をガウス関数で畳み込み、同時記録されたスパイク列間で内積を計算した。次に発火頻度による影響を極力除外するため、スパイク数を元のデータに合わせ、発火時間をランダムにした疑似スパイク列を作り、この疑似スパイク列間で同様に内

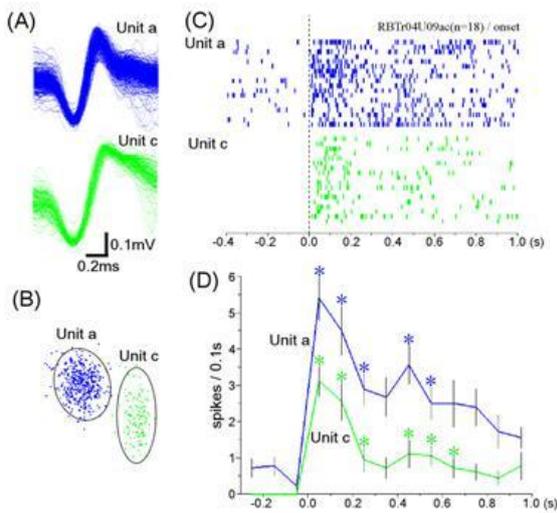


図1 ニューロンペアの同時記録例(1)

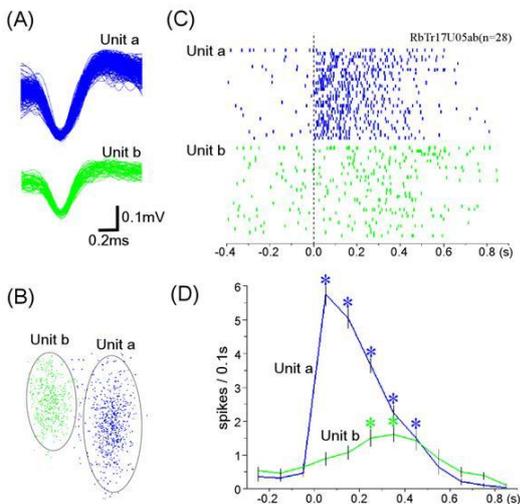


図2 ニューロンペアの同時記録例(2)

積を計算した。最後に、このシミュレーションを100回繰り返して得られた平均値と標準偏差をもとに、元のスパイク列と疑似スパイク列との乖離度を z-score で表現した。記

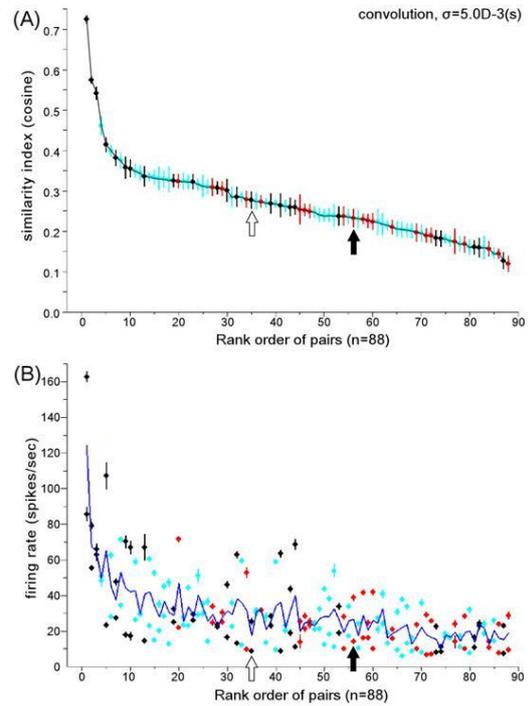


図3 ニューロンペアの解析例(1)

録された164ペアのうち、十分なスパイク数が得られた88ペアについて相関解析を行った。

スパイク幅を基にした分類により、88ペアのうち、48% (n=42) は錐体細胞と介在細胞、25% (n=22) は錐体細胞同士、残り27% (n=24) は介在細胞同士の組み合わせと推測した(P-I pair, P-P pair, I-I pair)。各ペアのユニット間で計算された similarity index と z-score (後述) は、発火パターンの直観的な違い(見た目の違い)を反映していた(図1、図2のペアは、それぞれ図3、図4の白抜き矢印、黒矢印に相当する)。

模擬スパイク列を用いた simulation では、similarity index は、実測データより大きくなる傾向がみられた(図4 A, B)。実測データと模擬データとの確率的距離、すなわち z-score は、+5.5~-7.9 の広い範囲に分散していたが(図4 C)、約半数(48%, 42/88)のペアでは、模擬データで2SD以上の増加がみられ、ごく少数のペア(8%, 7/88)でのみ、2SD以上の減少がみられた。近接ユニット間の直観的な発火パターンの違いが、similarity index や z-score の序列として表現されたことから、用いた解析方法の有用性が確認された。約半数のペアで、模擬ス

パイク列（ランダムスパイク列）を用いた simulation において、similarity index が 2SD 以上増加したことは、それらの近接ユニットのもとの発火パターンが大きく異なっていたことを意味する。本実験の結果は、S I の局所領域が、持続的圧刺激の時間経過をモニターするのに都合の良い機能構成になっていることを示唆する。

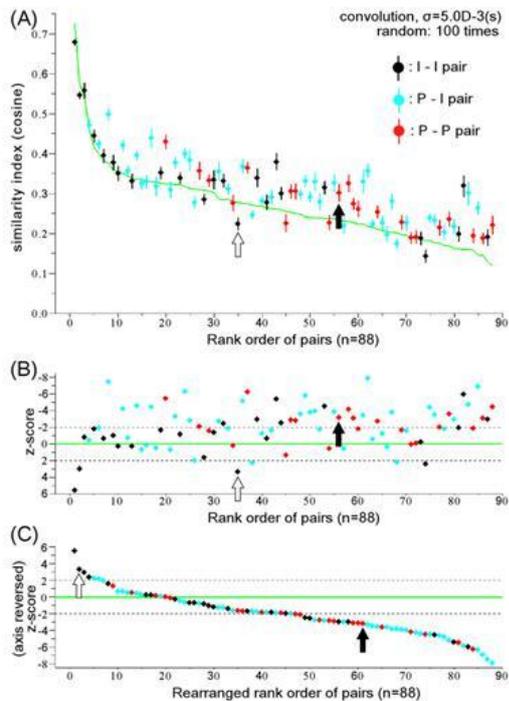


図4 ニューロンペアの解析例(2)

ヒトの摂食、構音では異なる舌運動を連続的に制御することが必要となるが、その神経機構は明らかではない。大脳中心後回の一次体性感覚野 (S I) とその後方領域は、刻一刻と変化する舌の状態をモニターし、運動の制御や認知に役立てているものと考えられる。特に、S I 後方部とそれに隣接する連合野は、前頭葉の運動関連領域との相互連絡があるため、感覚情報に依存しないニューロン活動がみられる可能性がある。この点を明らかにするためには、動物に、ある程度規格化された連続舌運動課題を学習させニューロン活動を記録する必要がある。本研究では、まず課題に必要な装置を製作した上で、動物に連続舌運動課題を学習させた。まず、試作装置を実験者が手に持ち動物の顔面に近づけ予備訓練を行うと同時に、最適なドアの大きさやその取手の形状について検討した。膨大な時間をかけてまで自作する利点は、製作費用の問題以外に、一旦作ってしまえば装置の改良が容易であるということである。タスクは当初、二重のスライドドアを異なる方

向に舌で開けたのち、その前方にある報酬を舌尖ですくい取るものであった。しかしながら、試作の過程で、2枚目のドアを途中まで開けて舌を差し入れてしまうことがわかったので、さらに3枚目を追加し、2枚目を最後まで開けた時のみ、ばね仕掛けで3枚目が開くよう機構部分を工夫した。最終的な操作パネルを製作した後、頭部固定下での訓練を進めた。操作パネルを90度ずつ回転させてドアの操作方向を変え4種類の課題とした。予備訓練が奏功し、頭部固定下での習得は順調であり、約2週間で4種類すべての課題について習熟し、パネルの向きを頻繁に変えても的確に連続動作を行うようになった。1試行の最短遂行時間は約1.5秒であり、開始信号、最初のドア操作開始、2番目のドア操作開始、報酬タッチ、閉口、の時間間隔は、それぞれ約0.5, 0.4, 0.4, 0.2秒であった。課題を学習させた後、記録実験を開始し、データ収集を行った。同時記録された複数ニューロンは、しばしば、連続舌運動の異なる相で活動していた。このような構成は、脳の局所領域が舌運動課題の時間経過をモニターする上で都合がよい。

自発的な連続動作においては、受動的に触刺激を受容する場合と違い、舌運動タスクの各トライアル間で、発火パターンが多様に変化することが多い。データ解析としては、ある特徴的な発火パターンが出現するニューロンと全く生じないニューロン、などといった分類をすることが望ましい。このためには、トライアル全体をまとめて平均化するのではなく、スパイク列を時系列パターンにもとづきクラスター分けする数値解析が必要になる。これを実現するため、先行論文のアルゴリズムを参照の上、数値計算システム Scilab 上で、神経スパイク列の発火パターンをクラスター分けするためのスクリプトを作成し、疑似スパイク列を用いたシミュレーションで正常に動作することを確認した。このクラスタリング手法は、事前にクラスター数を設定する必要がなく、最適なクラスター数も決めてくれるという利点を有する。

実験動物は、ナショナルバイオリソースプロジェクトから提供を受けた。

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 Toda, T. & Hayashi H., The gross temporal correlation of nearby neuron activity in the macaque postcentral somatosensory cortex representing orofacial structures: with special reference to numerical methods for

analysis. J Oral Biosci. 査読有、53
(2011) 170-181.
[https://www.jstage.jst.go.jp/browse/
joralbiosci/53/2/_contents](https://www.jstage.jst.go.jp/browse/joralbiosci/53/2/_contents)

[学会発表] (計4件)

- ① 戸田孝史、工藤忠明、実験動物における連続舌運動スキルの習得、第54回歯科基礎医学会学術大会、郡山、2012年、9月15日
- ② 戸田孝史、林治秀、第一体性感覚野の近接ニューロン間における活動相関の多様性、第53回歯科基礎医学会学術大会、岐阜、2011年、10月2日
- ③ Toda T. & Hayashi H., The variability of temporal correlation between nearby neurons recorded simultaneously in the oro-facial region of the macaque postcentral somatosensory cortex. The 4th international symposium for interface oral health science in Sendai. Sendai, March 8, 2011
- ④ 戸田孝史、林治秀、第一体性感覚野の顔面口腔領域における近接細胞間での活動相関、第52回歯科基礎医学会学術大会、東京、2010年、9月21日

[図書] (計1件)

- ① Toda, T. & Hayashi H., Functional micro-organization of macaque postcentral somatosensory cortex representing orofacial structures. In: Interface Oral Health Science 2011 (eds. Sasaki, K. et al.), pp159-160, Springer Tokyo Berlin Heidelberg New York, 2012. 発行日 Mar.27

6. 研究組織

(1) 研究代表者

戸田 孝史 (TODA TAKASHI)
東北大学・大学院歯学研究科・准教授
研究者番号：40250790