

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 6 日現在

機関番号：15201

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24700397

研究課題名(和文) 感覚情報処理における自発活動の意義：光学的多チャンネル同時測定を用いたアプローチ

研究課題名(英文) Functional role of spontaneous activity of the cortical neuron in sensory information processing

研究代表者

濱 德行(Hama, Noriyuki)

島根大学・医学部・助教

研究者番号：60422010

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円、(間接経費) 1,020,000円

研究成果の概要(和文)：大脳皮質において、感覚刺激応答時だけでなく自発活動時においても、神経の興奮は興奮波として皮質の広範囲に伝播し、皮質における感覚情報処理において重要な役割を果たしていると考えられている。本研究では、これらの興奮波の伝播様式や興奮波同士の相互作用を解析した。その結果、自発興奮波と感覚応答興奮波では伝播速度や伝播様式が異なること、感覚応答波の発生、伝播は自発興奮波および他の感覚応答波によって抑制されることが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：In the cerebral cortex, the stimulus-induced neural activity spread over the wide region of the sensory cortex, and it is suggested that the propagating activity play an important role in the sensory processing. Spontaneous neural activities also propagate across large cortical area and interact with a stimulus-induced propagating activity. However, the function of spontaneous activity in the sensory processing largely remains unexplained. I approached these problems using the multiple-site optical recording technique with a voltage sensitive dye for examining the spatio-temporal pattern of neural activities, and analyzed the effect of propagating spontaneous activities on a stimulus-induced neural response. The propagating velocity and pattern of spontaneous activity differed from that of stimulus-induced activity. Both spontaneous and stimulus-induced activities suppressed the propagation of subsequent stimulus-induced activity.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：神経科学，神経・筋肉生理学

キーワード：感覚情報処理 膜電位感受性色素 光学的測定 ラット

### 1. 研究開始当初の背景

光学的膜電位測定法は非常に多数の部位から同時に神経活動を記録する事を可能とする優れた測定法であり、大脳皮質における神経活動の時空間パターンの解析に最も適した手法の一つである。しかし、現在市販されている測定システムはノイズ対策が不十分であるためシグナル・ノイズ (SN) 比が低く、加算処理によって SN 比を向上させないと詳細な解析は行えない。そのため、適用範囲が限定されており、市販装置をそのまま用いて *in vivo* の大脳皮質から自発活動を記録し解析することは出来ない。我々の研究室ではこのような現状を打破するため、光学的膜電位測定システムの開発・改良を行ってきており、近年、SN 比を飛躍的に向上させることに成功した。その結果、*in vivo* のラット大脳皮質の神経活動を加算処理せずに解析可能となり、大脳皮質の数百カ所から自発性の活動電位とシナプス後電位を同時記録して解析する実験方法が確立した (Hama et al., 2010)。このシステムを用いて一次体性感覚野 (SI) における興奮の時空間パターンを解析すると、感覚刺激応答時、自発活動時いずれにおいても、非常に限られた領域で生じた興奮が興奮波として SI 全体に広く伝播しており、その広がり、従来言われているよりも広範囲に及んでいる可能性がある結果が得られている。

体性感覚野以外においても大脳皮質ニューロンに自発活動が見られ (Wu et al., 2008)、自発活動にともなう興奮が感覚刺激応答時の活動を大きく修飾し、皮質における感覚情報処理に重要な役割を果たしていると考えられている (Arieli et al., 1996)。しかしながら、自発興奮波が感覚刺激応答時の興奮波の伝播に与える影響の詳細は、それを解析する手法が無かったため、わかっていない。本研究は、この測定システムを用いて、大脳皮質一次体性感覚野に見られる自発活動が感覚刺激応答時に生じる興奮波の伝播パターンに与える影響を体性感覚野全体の電気活動を光学的に同時に記録する新しい手法の導入によって詳細に解析し、自発活動が感覚情報処理で担う役割を解明することを目的とする。

### 2. 研究の目的

光学的膜電位測定システムを用い、大脳皮質一次体性感覚野での感覚刺激応答時の活動を数百ヶ所から同時記録し、場所ごとの興奮の時間差より等時線マップを作成する。作成したマップから興奮波伝播の方向や速さを算出し伝播パターンを定量化する。そして、興奮波の発生に先行して自発活動が生じた時、この伝播パターンがどのように変化するかについて詳細に解析する。さらに、他の部位に与えた感覚刺激に対する応答や、皮質を直接刺激した時に生じる興奮波によって、伝播パターンがどのように変化するかについても解析し、これらの興奮波による修飾効

果と比較する事で、自発活動が感覚情報処理で果たす役割を解明する。

### 3. 研究の方法

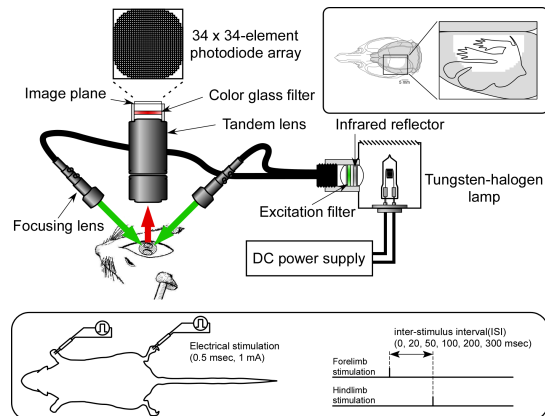


図 1. 実験方法の模式図

### 実験動物

体重 200~300g の雌 SD ラットを用いた。 $\alpha$ -クロロロースで麻酔後、体性感覚野を露出し膜電位感受性色素で染色した。

### 光学的膜電位測定

我々の開発した 1020 チャネル測定システムを用い、体性感覚野の数 100 カ所から神経活動を記録した。光学的測定と同時に、心電図記録と測定領域の近傍より皮質脳波 (ECoG) を記録した。

### 刺激

刺激は前肢および後肢の皮膚下に設置したtungsten針を用いて 1 mA, 0.5 msec の電気パルスを与えることで行った。

### データ解析

記録された光学シグナルから心拍動由来のアーティファクトを除去した後、解析を行った。

感覚刺激興奮波は、各記録領域で刺激から興奮が生じるまでの潜時を計測し、その時間差より各記録領域における伝播速度および等時線図を作成することで伝播パターンを解析した。自発興奮波は同時に記録した ECoG 波形に発生する棘波をもとに、感覚刺激興奮波と同様に解析した。

### 4. 研究成果

#### (1) 感覚刺激興奮波による抑制

後肢、および前肢の電気刺激によって、体性感覚野において、それぞれ体性感覚地図の対応する部位より感覚刺激興奮波が生じる (図 2A, B, C)。ここではまず前肢刺激によって前肢興奮波を生じさせ、前肢刺激より 0, 20, 50, 100, 200, 300 msec 遅らせて後肢刺激を行い、このとき発生する後肢興奮波が受ける影響を解析した。その結果、刺激間隔が 0, 20 msec の時は、前肢興奮波が後肢領域に到達するより前に後肢興奮波が発生し、両興奮波は衝突後、消失した (図 2D, E)。50, 100 msec では前肢興奮波が後肢領域に到達したタイミングで後肢興奮波が発生し、前肢

興奮波に何らかの影響が生じると予想されたが、前肢興奮波には一切変化が観測されなかった(図2F, G)。200, 300 msecでは後肢興奮波は前肢興奮波が後肢領域を通過後、発生すると予想され、確かに、後肢興奮波の発生はみられた(図2H, I)。しかし、その伝播範囲は単独刺激時に比較すると狭くなっていた(図2J)。このように、感覚応答興奮波は後発する感応答興奮波の発生、伝播をタイミング依存的に抑制することが明らかとなった。

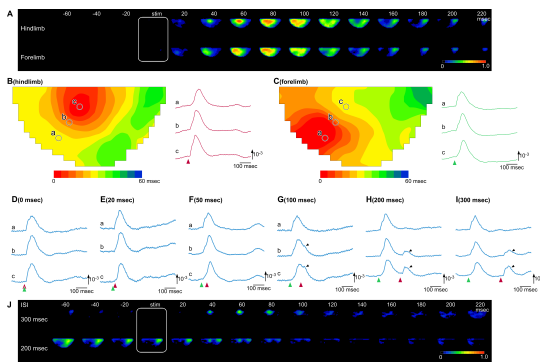


図2. 感覚応答興奮波同士の相互作用

## (2) 自発興奮波の特徴

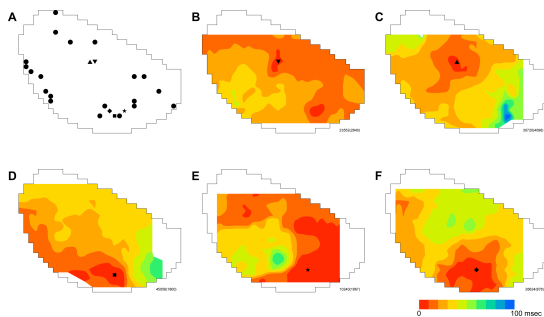


図3. 自発興奮波の発生部位の分布(A)と伝播パターン(B-F)

自発興奮波の発生部位の局在や、発生部位と伝播パターンの関連を解析した。自発興奮の発生は、同時に記録した皮質脳波に、棘波状波形の出現の有無によって判断した。この時記録される光学シグナルより興奮が最も早く生じる部位を同定しこれをその自発興奮の発生部位とし、記録視野内部に発生部位を持つもののみを解析の対象とした。自発興奮波の発生部位は、体性感覚野の広範囲に分布しており、その偏在は確認されなかった(図3A)。さらに、発生部位とその後の伝播パターンの間にも関係性をみいだすことができなかった(図3B-F)。このことから、自発興奮波は感覚応答興奮波とはその伝播の基盤となるメカニズムが異なることが示唆される。

## (3) 自発興奮波による抑制

自発興奮波の感覚応答興奮波に対する影響を解析した。単一掃引による記録を用いた。感覚応答興奮波は刺激に先行する自発興奮波によってその発生や伝播領域が大きく抑

制させることが明らかになった(図4)。さらに、その抑制効果の持続時間を詳細に解析したところ、自発興奮終了後50msecまでに刺激が与えられたとき、その刺激応答興奮波の伝播に影響がみられることが明らかになった。このような抑制効果は(1)でみた、感覚応答興奮波同士の相互作用と同様であったが、前肢興奮波の影響は刺激感覚が300msecでも持続している(図2I)。この条件では前肢興奮波が消失してから100msec後に後肢刺激が行われており、このことから、自発興奮波の抑制効果は感覚応答興奮波よりも短時間に消失することが明らかになった。

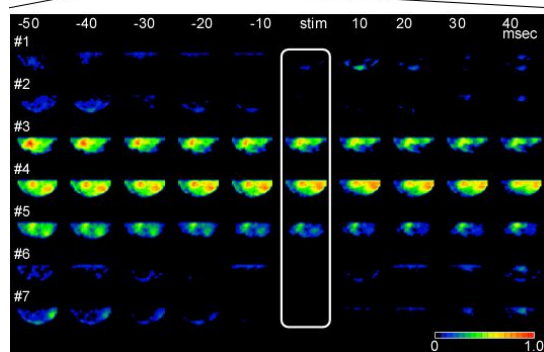
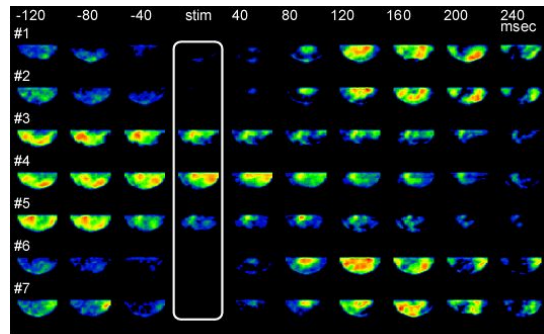


図4. 自発興奮波による刺激誘発興奮波の抑制

## < 参考文献 >

Arieli A, Sterkin A, Grinvald A, Aertsen A. Dynamics of Ongoing Activity: Explanation of the Large Variability in Evoked Cortical Responses. *Science*. 273: 1868-1871. 1996.  
 Hama N, Ito S, Hirota A. An Improved Multiple-site Optical Membrane Potential-recording System to Obtain High-quality Single Sweep Signals in Intact Rat Cerebral Cortex. *Journal of Neuroscience Methods*. 194: 73-80. 2010.  
 Wu JY, Huang X, Zhang C. Propagating Waves of Activity in the Neocortex: What They are, What They do. *Neuroscientist*. 14: 487-507. 2008.

## 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)

Ito E, Otsuka E, Hama N, Aonuma H,

Okada R, Hatakeyama D, Fujito Y, Kobayashi S, 2012. Memory trace in feeding neural circuitry underlying conditioned taste aversion in lymnaea. PLoS One 7, e43151. ( 査読有 )

[学会発表](計 8件)

Hama N, Kawai M, Ito S, Hirota A, Effect of forelimb stimulation on the hindlimb stimulation-induced propagating excitation in the rat sensorimotor cortex detected by optical recording system. The 91st Annual Meeting of the Physiological Society of Japan ,March 16-18, 2014, 鹿児島大学郡元キャンパス (鹿児島県鹿児島市)

Hama N, Ito S, Hirota A, Comparison of the propagation patterns of neural activity in the rat sensorimotor cortex under different anesthetics detected with multiple site optical recording system. Society for Neuroscience 43rd Annual Meeting November 9-13, 2013, San Diego, USA.

河合美菜子, 濱徳行, 伊藤真一, 廣田秋彦, 光学的膜電位測定法を用いたラット感覚運動野における後肢興奮波伝播パターンに対する前肢同時刺激の影響の解析, 第65回日本生理学会中国四国地方会, 2013年11月2日-3日, 川崎医科大学現代医学教育博物館 (岡山県倉敷市)

Hama N, Ito, S, Hirota A, Effects of anesthetics on the spatio-temporal pattern of neural activity in the rat sensory cortex detected by optical recording system. The 84th Annual Meeting of the Zoological Society of Japan, September 26-28 ,2013, 岡山大学津島キャンパス (岡山県岡山市)

Hama N, Ito S, Hirota A, Effects of forelimb stimulation on the spatiotemporal pattern of neural response evoked by hindlimb stimulation in the rat sensorimotor cortex studied with multiple site optical recording system. The 36th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, June 20-23, 2013, 国立京都国際会館 (京都府京都市)

Hama N, Ito S, Hirota A, Different anesthetics differently affect the spreading pattern of evoked and spontaneous neural activity in the rat sensorimotor cortex detected by the multiple-site optical recording. The 90th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan, March 27-29, 2013, タワーホール船堀 (東京都江戸川区)

濱徳行, 伊藤真一, 廣田秋彦, ラット大脳皮質活動に対する麻酔薬の影響: 光学的

膜電位測定法を用いた興奮波伝播の時空間パターン解析による比較, 第64回日本生理学会中国四国地方会, 2012年10月27日-28日, 高知市文化プラザ (高知県高知市)

Hama N, Ito S, Hirota A, Influence of anesthetic on the propagation patterns of neural activity in the rat sensorimotor cortex detected with multiple site optical recording system, The 35th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, September 18-21, 2012, 名古屋国際会議場 (愛知県名古屋市)

[図書](計 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0件)

○取得状況 (計 0件)

[その他] ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

濱 徳行 (HAMA NORIYUKI)

島根大学・医学部・助教

研究者番号: 60422010

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし