

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 8 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25350996

研究課題名(和文) 高密度皮質脳波と光遺伝学による齧歯類顔領域の探求

研究課題名(英文) Study of rodent "face areas" with high-density electrocorticogram and optogenetics

研究代表者

戸田 春男 (TODA, Haruo)

新潟大学・医歯学系・講師

研究者番号：10217507

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的であるげっ歯類顔領域の特定には至らなかったものの、齧歯類顔領域の候補三ヶ所の中で、側頭皮質の二ヶ所に図形依存的な皮質脳波応答を示す領域があることが示唆された。これらの応答は局所電位の帯域および帯域に見られ、霊長類の研究結果との相同性が高かった。従って、これらの領域がラット形態視領域の候補だと考えられた。また光遺伝学的手法の準備として、皮質深部における光刺激によって誘発したLFPの伝搬に伴うスペクトル変化を調べた所、水平伝搬は周波数特性が平坦で、垂直伝搬には低域濾波と位相回転、及び から口一帯域での信号生成を伴うことが示された。

研究成果の概要(英文)：To identify "face areas" in rodents, we recorded micro-electrogram (micro-ECoG) from wide cortical areas including occipital visual areas and temporal areas. We found visual form dependent micro-ECoG signals in the temporal two regions (TeA and PRh) among three candidates of "face areas" in rodents. Also we combined micro-ECoG technique and optogenetics as a preparation to photo-manipulation of the image processing in rodents. In this study, we found a spectral anisotropy in propagation of photo-evoked local field potentials (LFPs)

研究分野：神経科学

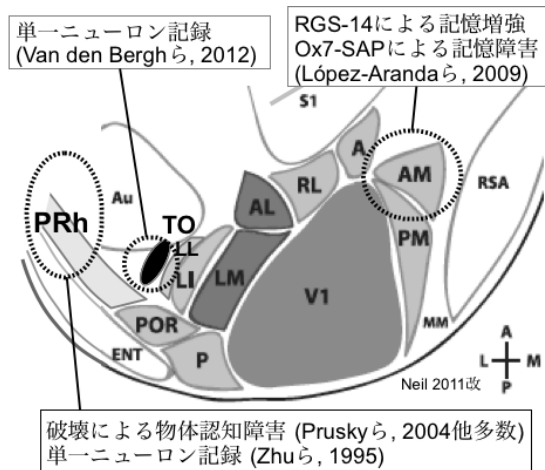
キーワード：皮質脳波 光遺伝学 信号伝搬 形態視

1. 研究開始当初の背景

同種動物や天敵の顔・姿態の認知は種の生存にとって根源的な問題であり、それを実現する脳の神経機構は神経科学の重要なテーマの一つである。ヒト紡錘回には顔カテゴリの図形に特異的に応答する顔領域 FFA が存在し (Kanwisher ら 1997)、サルにおいても顔特異的に応答するニューロンが密集する領域が下側頭葉に複数同定されている (Tsao ら 2006)。それらの顔領域の局在及び機能的連関については、目下熾烈な研究競争が繰り広げられている (Pinsk ら 2009, Weiner & Grill-Spector 2012 など)。

ラットもまた二次元図形を視覚的に弁別することができ (Forwood ら 2007)、視覚を介した共感性・社会性を持つ (Langford ら 2006, Bartal ら 2011)。さらに海馬との結合からみて、大脳側頭皮質に霊長類の下側頭葉皮質に相当する領域があることが知られている (Murray ら 2007, Brown ら 2010)。そこでげっ歯類にも霊長類の腹側経路や顔領域に相当する領域が、少なくとも原型的には存在すると考えられる。

顔領域を含むであろうと考えられる形態視領域については、三つの候補が示唆されている。Lopés-Aranda らは AM 野の 6 層において G タンパクシグナリングを増強すると図形記憶が強化されることを示した (Lopés-Aranda ら 2009)。一方 TO 野において、少数の形態依存性ニューロン活動が報告された (Van den Bergh ら 2012)。また以前から破壊実験によって嗅周皮質 (PRh 野) 周囲の側頭皮質の関与が知られており (Prusky ら 2004 など多数)、Zhu らは新奇図形により

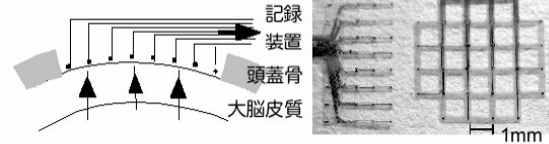


ラット形態視領域：三つの候補

強く応答する少数の側頭皮質ニューロンを報告している (Zhu ら 1995)。しかしながらこれら三領域の機能差及び領域間の情報の流れは明らかになっていなかった。

2. 研究の目的

多チャンネル皮質脳波記録法の原理と Micro-ECoG 電極アレイの例



顔領域の候補が広い範囲にわたるため、同定には、後頭から側頭までの三領域を同時に電気記録でき、単一ニューロン記録や光遺伝学的抑制実験との組合せが容易な多チャンネル薄膜 ECoG 法が有利である。

ECoG は皮質上に置いた電極から大脳皮質活動を電氣的に記録する方法で、申請者らは厚さ 20 μm 以下、極間 1 mm 以下の高密度薄膜多極電極アレイを開発し (micro-ECoG)、ラット V1 における眼優位性の分布を検討した (Toda ら 2011)。micro-ECoG 電極は極めて薄くしなやかなため、広範囲の皮質を同時にカバーすることができる。また透明な基材を用い、かつ極間に窓が設けてあるので、容易に単一ニューロン記録法や光遺伝学的手法と組み合わせることができる。予備実験ではチャンネルロドプシンを遺伝子導入したラット V1 から、光刺激による ECoG 応答と単一ニューロンのスパイク応答を、世界で初めて同時記録することができた (Sato ら 2012)。

本研究ではまず micro-ECoG 記録法によって三領域を同時記録し、ラットにおける形態視の経路を明らかにした上で、単一ニューロン記録による顔刺激特異性ニューロンの検索、ハロロドプシンによる刺激画像特異的な機能脱落を組み合わせるラット顔領域を見いだすことを目的とした。

3. 研究の方法

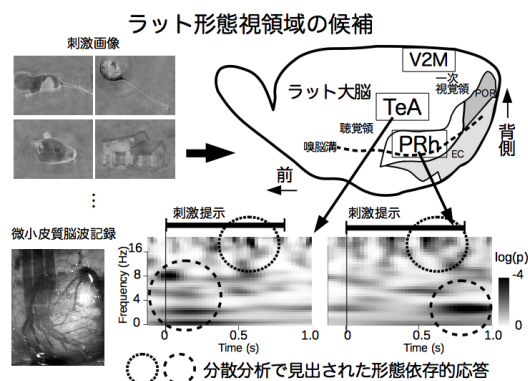
視覚応答が良い Long-Evans ラットを用いて麻酔下急性実験を行った。予備実験の結果から、麻酔には神経遮断麻酔法を用いた。電極の位置決めは bregma からの距離、縫合線、血管走行、音刺激への応答性、及び視覚応答の網膜部位対応を参考にして行った。

刺激画像セットとして、霊長類を参考に、身体、顔、家、人工物の四カテゴリに組織化した白黒画像を生成した(Esteki ら 2007)。形態以外の低次元画像特性の影響を防ぐため、全画像の平均輝度を一致させた。更に平均輝度と空間周波数の分布を元図形と一致させた複数の位相スクランブル図形を生成し、その一枚を刺激画像呈示前に呈示した。このような方法で、顔画像に特に応答する領域を顔領域等としてラット形態視領域を検索した。

また、光遺伝学的手法を ECoG 記録と組み合わせるための準備として、Long-Evans ラットの VI 深層の興奮性細胞に局限してチャネルロドプシンを発現させた。この標本を用いて様々な周波数での光刺激を行い、誘発された局所電位 (LFP) のスペクトルを皮質深部、刺激近傍の脳表、刺激部位から離れた脳表の三点間で比較し、スペクトルの変化に着目して LFP の脳内での伝搬の水平・垂直依存性を検討した。

4. 研究成果

麻酔ラットに刺激画像を提示した際の大脳皮質の電気活動を、64-ch micro-ECoG 法によって視覚領から聴覚領まで同時記録し、得られた応答と提示図形との間を統計的に検討した。



その結果、今回検討した三ヶ所の候補の中で、側頭皮質の TeA および PRh から図形依存的な応答を示す領域があることが示唆された (図)。これらの応答は視覚刺激開始後 500 ミリ秒以下で立ち上がっており、このように早いタイミングでの図形依存的な脳活動はこれまでげっ歯類では知られていなかった。また、この図形依存的な応答は、LFP の θ 帯域 (破線) および β 帯域 (点線) に見られ、霊長類の研究結果との相同性が高かった。従

って、これらの領域がラット形態視領域の候補だと考えられた。このデータは現在予備実験を含めた 20 頭における動物間の再現性について統計処理中である。また、予備的な処理の結果、麻酔下ではなく頭部固定覚醒動物での記録が好ましいと考えられたので、覚醒状態での記録及びタスク実行の準備として、頭部固定の訓練を行った。

一方、LFP の伝搬に伴う伝搬方向別のスペクトル変化を調べた所、(1) 5~200 Hz に及ぶ広い刺激周波数にわたって、光パルスに対し一対一で同期した ECoG 応答が安定に記録される。(2) 水平伝搬は周波数特性がフラットで、垂直伝搬は有意な低域濾波と位相回転を伴う。(3) 垂直伝搬は β からロー γ 帯域での有意な信号生成を伴うが、一方水平伝搬はこのようリズムの生成を伴わないことが示された。この結果は現在雑誌投稿中である。

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 1 件)

① Haruo Toda, Keisuke Kawasaki, Masao Horie, Kiyoshi Nakahara, A.K., Beari, Hirohito Sawahata, "Propagation of local field potentials revealed by a combination of optogenetics and micro-electrocorticogram," *Proceedings of Life Engineering Symposium*, 2A2-3 (2014)、査読無し

[学会発表] (計 4 件)

① 戸田春男、川崎圭介、堀江正男、中原潔、Bepari A.K.、澤畑博人、鈴木隆文、竹林浩秀、長谷川功、微小皮質脳波法と光遺伝学によってラット視覚領から見いだされた脳内局所電位の方向依存的周波数分布シフト、第39回日本神経科学大会、2016年7月20日、パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市)

② 戸田春男、川寄圭介、堀江正男、中原潔、澤畑博人、鈴木隆文、竹林浩秀、長谷川功、光遺伝学と微小皮質脳波法の組み合わせによる脳内局所電位伝搬の研究、計測自動制御学会ライフエンジニアリング部門シンポジウム2014、2014年9月18日、金沢大学鶴間キャンパス（石川県金沢市）

③ 戸田春男、川寄圭介、堀江正男、中原潔、Bepari A.K.、澤畑博人、鈴木隆文、竹林浩秀、長谷川功、ラット視覚領で見いだされた脳内局所電位の垂直・水平方向伝搬における周波数特性の差異、第37回日本神経科学大会、2014年9月13日、パシフィコ横浜（神奈川県横浜市）

④ 戸田春男、川寄圭介、堀江正男、中原潔、澤畑博人、鈴木隆文、竹林浩秀、長谷川功、光遺伝学と微小皮質脳波法の組み合わせによって見いだされたラット大脳局所電位の伝搬様式、光操作研究会、2014年8月21 - 22日、東北大学良陵会館（宮城県仙台市）

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

国内外の別：

○取得状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

戸田 春男（TODA, Haruo）

新潟大学・医歯学系・講師

研究者番号：10217507

(2) 研究分担者

谷川 久（TANIGAWA, Hisashi）

新潟大学・研究推進機構・准教授

研究者番号：40373328

中原 潔（NAKAHARA, Kiyoshi）

高知工科大学・総合研究所・教授

研究者番号：50372363

(3) 連携研究者

（ ）

研究者番号：