

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 18 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26440176

研究課題名(和文) 異感覚種における刺激方向情報を搬送する細胞集団のコーディング精度による予測

研究課題名(英文) Coding-accuracy-based estimation of neuronal assembly encoding directional information in different modality of sensory systems

研究代表者

小川 宏人 (Ogawa, Hiroto)

北海道大学・理学研究院・教授

研究者番号：70301463

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：コオロギ気流感覚系および聴覚系の上行性ニューロン群を対象として、刺激方向の集団コーディングについて解析を行った。細胞外記録された神経活動から刺激方向をデコーディングしたところ、気流感覚系では4つのニューロンによって方向情報が伝送されていることがわかった。一方、聴覚系では音源方位情報は複数のニューロンの集団活動として表現されていなかった。さらに気流応答性ニューロンの集団活動をカルシウムイメージング法によって計測したところ、巨大介在ニューロン(GIs)10-2と10-3のコーディング精度が高く、それらが左右一対となることで高い精度で刺激方向を表現していることが分かった。

研究成果の概要(英文)：We analyzed population coding scheme in wind-sensitive and auditory ascending neurons of the cricket. Decoding analysis of neural activities recorded extracellularly from connective nerve cords revealed that four neuronal units represented the directional information of air currents, while the direction of sound source was not represented by population activities of the auditory neurons. To identify the neuronal components for the population coding, we recorded the somatic responses of wind-sensitive ascending neurons using Ca imaging. The stimulus directions were decoded from the amplitude of Ca responses using a maximum likelihood method. Giant interneurons (GIs) 10-2 and 10-3 had higher decoding accuracy than other neurons, and the matched pair of these neurons encoded more accurate information than individual ones. These results indicated that two pairs of GIs 10-2 and 10-3 would be important components for encoding the directional information in the cricket wind-sensitive system.

研究分野：神経生物学

キーワード：昆虫 神経回路 コーディング 方向選択性 ニューロン

1. 研究開始当初の背景

動物は、外界から受容する様々な刺激から特定の感覚情報を抽出/処理して、適切な行動を起こす。脳神経系が発達した高等動物では、抽出された情報(刺激方向、周波数など)は単一のニューロンではなく、複数のニューロンの集団活動として搬送され、脳内で表現される。しかし、それらの情報が実際にどのくらいの数のニューロンで搬送/表現されるのかはよく分かっていない。また、同種の情報(例えば刺激方向)をコーディングする細胞集団の規模が、感覚のモダリティによってどのくらい異なるのかについて研究された例はほとんどない。これらの問題にアプローチするためには、候補となる神経回路のニューロン活動を網羅的に計測し、表現されている情報の精度を評価基準として細胞集団を特定しなければならない。そのためには、情報がニューロンの集団活動によって表現され、なおかつ細胞数が同定可能な程度に少ない動物で研究する必要がある。例えば、線虫では回路が単純すぎて、ほとんどの情報は単一ニューロンで搬送されてしまう。一方、哺乳類ではコーディングに関与する細胞数が多すぎるため、機能回路の全容を同定することは困難である。その点で、比較的少数の神経細胞によって回路が構成され、かつポピュレーション・コーディングが実行されている昆虫は、このテーマに非常に適した材料である。

2. 研究の目的

コオロギは尾部に1対の尾葉と呼ばれる気流感覚器官を持ち、尾葉上には空気の振動を受容する数百本の感覚毛が存在する。各感覚毛はその構造特性によって受容する空気流振動の方向と周波数が決まっており、その神経終末は最終腹部神経節内の巨大介在ニューロン(Giant Interneurons: GIs)と興奮性シナプスを形成する。同定されている8種類のGIはそれぞれ異なる方向感受性や周波数特性を示し、その情報を脳神経節などの上位中枢に伝達する。この感覚システムの研究は、神経情報のコーディングについて重要な洞察をもたらしてきた。中でも、John Millerらのグループは生理学的データを数理的に解析することによって、個々のGIが気流刺激の方向を効率的にコーディングしていることを明らかにしてきた(Jacobs et al., 2008; Aldworth et al., 2011)。しかし、GIsの他にも上行性介在ニューロンは存在するため、実際にGIsを含めてどのくらいの数の上行性ニューロン群をデコーディングすれば、どのくらいの精度で方向予測が出来るのかはまだ分かっていない。

また、コオロギは前肢に鼓膜器官を持ち、生殖行動における個体間コミュニケーションに使用している。メスコオロギはオスの誘引歌に対して、刺激源に近づく行動を示すことから、聴覚についても刺激の方向情報を検出

していると考えられる。しかし、歌パターンを認識する神経回路についての知見は報告されている(Hedwig, 2006)が、上位中枢において音源方向をどのように抽出し、認識しているのかは不明である。

そこで本研究は、コオロギの気流感覚系と聴覚系をモデルとして、刺激方向の情報を脳へ搬送する上行性投射ニューロン群を、細胞集団の応答パターンから統計的に予測されるコーディング精度を用いて同定することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 気流方向情報をコードする細胞集団の推定

コオロギ腹側縦連合を左右ともに第4-最終腹部神経節間で切断し、その求心側断端をサクシオン電極で吸引して、上行性投射ニューロン群の活動を細胞外記録した(図1)。動物の周囲8方向から気流を与えた時の応答を、波形相互相関解析法によるスパイクソーティングアルゴリズムを用いて約30個のユニットに分離した。ユニットの活動データからパターン認識で用いられる最近傍法(Bishop, 2006)を用いて刺激方向をデコードし、細胞毎の判別精度を算出した。次に、特徴抽出アルゴリズムの一つである食欲法(Korte and Vygen, 2012)を用いて、個々のユニットと複数のユニットからなる集団の判別精度を比較し、最終的に十分な精度を示し、かつ細胞数が最も少ない集団を推定した。

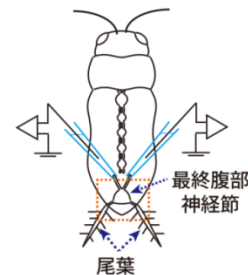


図1 コオロギ気流感覚系と細胞外記録法

(2) 音源方位情報をコードする上行性ニューロンの探索

(1)と同様に、コオロギ腹側縦連合を食道下-前胸神経節間で切断し、その求心側断端をサクシオン電極で吸引して、聴覚刺激に応答する上行性ニューロン群の活動を記録した。さらに、この部位の腹側縦連合にDextran 接合型カルシウム感受性色素 Oregon Green 488 BAPTA-1をマイクロインジェクションし、エレクトロポレーション法によって上行性ニューロンの神経軸索を染色した。その後、前胸神経節を正立蛍光顕微鏡下で観察し、聴覚刺激に対する応答を計測した。

(3) 多数の気流応答性上行性ニューロンからの同時カルシウムイメージング

Dextran 接合型カルシウム感受性色素 Cal-520 と赤色蛍光色素である Alexa Fluor 594 の混合溶液を、第4-最終腹部神経節間の腹側縦連合にマイクロインジェクションし、エレクトロポレーション法によって最終腹部神経節内の気流応答性上行性ニューロン群を染色した(図2)。その後、最終腹部神経節を正立蛍光顕微鏡下で観察し、8方向からの気流刺激に対する応答を計測した。上行性ニューロンの細胞体における各方向からの刺激に対する蛍光輝度変化を計測し、その最大変化量をもとにカルシウム応答強度の方向感受性を調べた。

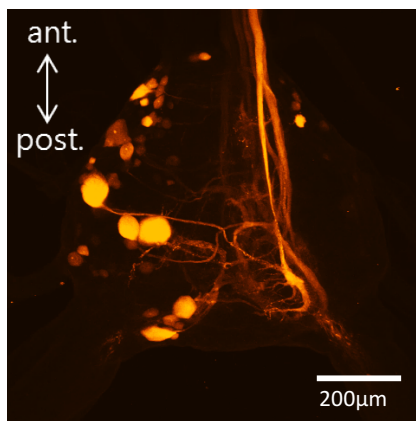


図2 エレクトロポレーション法で逆行性に染色された最終腹部神経節内の上行性ニューロン

(4) 最尤推定法を用いた気流刺激方向のデコーディング解析

気流刺激開始から 500ms の間で最大の蛍光変化量を、連続した 8 方向からの刺激に対する応答を 1 周として、それらを訓練データ 80% とテストデータ 20% にランダムに分け、それぞれの応答を Z スコアに標準化した。次に、訓練データから刺激方向ごとに反応強度の確率密度分布を次のように計算した。横軸に Z スコア、縦軸にその Z スコアを示すデータの頻度のヒストグラムをもとに、それらが現れる確率を正規分布でフィッティングした。次に、この確率密度分布を用いて、テストデータの刺激角度を予測した。このときの確率密度とは、ある刺激方向に対してニューロンの活動がその Z スコアを示す確率であり、逆に、ある Z スコアが得られたときに、与えた刺激の方向がどれほどその角度でありえるかという尤度として表される。テストデータの Z スコアの尤度を、刺激方向に対してプロットして、尤度が最大となる角度を刺激方向として予測した(この予測刺激角度とテストデータの真の刺激角度と比較し、もし一致していれば正解、不一致ならば不正解と判定した)。す

べてのテストデータでこの推定を行い、その正答率を算出した。以上の流れを 100 回繰り返し、100 回の成功率の平均をそのニューロンのデコーディング精度として算出した。

複数のニューロンによるデコーディング精度を計算する場合には、それぞれのニューロンの尤度を足し合わせて、尤度の和が最大となる角度を刺激方向の予測値とし、真の刺激方向と比較した。

4. 研究成果

(1) 気流方向情報のコーディング様式

気流の方向情報は特定の 4 つのニューロンによって上位の神経系へと伝送されることが示唆された。これらのニューロンの平均発火頻度とデコードされた情報精度は、ともに一過的な時間変化を示したが、情報精度は平均発火数に対して約 40ms の時間遅れを示し、発火頻度の最大時刻ではなく、それに続く発火減衰期に最大となった(図3)。すなわち、情報精度の時間変化は発火頻度の変化に由来するものではなかった。

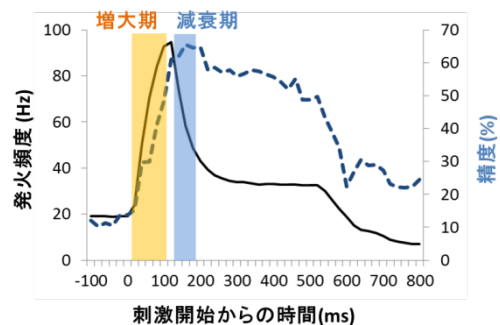


図3 500ミリ秒間の気流刺激に対する発火頻度(黒線)とコーディング精度(青破線)の時間変化

そこで、情報精度に影響を及ぼす要因として、方向選択性を示すチューニングカーブと同一方向に対する応答のばらつき度を検証した。その結果、発火頻度の増大期では、選好性を示す刺激方向に対する応答が他の方向に対する応答よりもより増大していき、方向毎の応答差が発火頻度の上昇とともに拡大した(図4A)。その後の発火減衰期では、方向感受性カーブの形状が維持されたまま、カーブ全体が下降していった(図4B)。さらに減衰期では、発火頻度の減少に伴って、同一方向からの刺激に対する応答のばらつきが減少していた。発火頻度の増大期では選好性をもつ刺激方向に対する応答が選択的に増加することによって角度毎の応答の差が拡大し、刺激方向の判別精度が向上する。さらに、減衰期でチューニングカーブが形状を保ったまま下降することで、上昇期に増大した応答差が維持されたまま発火頻度そのものを下げる事ができるため、応答のばらつきが減少して判別精度が最大値をとると考えられる。

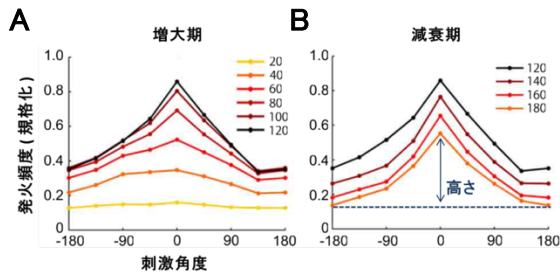


図4 500ミリ秒の気流刺激に対する応答における刺激方向チューニングカーブの時間変化

カーブの色は刺激提示からの時間を示す。最も選好性をもつ刺激方向を 0° として、全試行のうちの最大発火頻度で規格化した。チューニングカーブの高さは 0° からの刺激に対する応答とその反対方向 (180°) からの刺激に対する応答の差として定義した。

(2) 音源方位情報をコーディングする上行性ニューロン

聴覚系でもサクシオン電極による細胞外記録から同様の解析を試みたが、音刺激にのみ応答するユニットがほとんど存在せず、一部の気流応答ユニットを除けば、音刺激・気流刺激双方に応答する multimodal unit であった。しかし、聴覚系では頸部の腹側縦連合から記録した上行性神経活動に含まれるユニットが、気流感覚系で用いた腹部での記録に比べて非常に多く、ユニット分離の信頼性が低い。したがって、現時点では、細胞外記録によって音刺激の方向情報コーディングに関与するニューロン集団を推定するのは困難であった。

そこで、カルシウムイメージングによる聴覚性上行ニューロンの探索も行った。食道下神経節 - 前胸神経節間の神経束にエレクトロポレーションを行うことで、前胸神経節からの上行性神経群選択的に Ca^{2+} 感受性蛍光色素を導入することに成功した。しかし、多数の上行性ニューロンに色素が入ってしまいニューロンごとの神経応答の記録が難しく、また色素導入された細胞体では感覚刺激による輝度変化がみられなかった。すなわち、前胸神経節に存在する上行性ニューロンの数は非常に少なく、少なくとも方向情報はポピュレーション・コーディングで表現されていない可能性がある。しかし、この研究過程で前胸神経節からの上行性ニューロンのいくつかは音刺激だけでなく音刺激にも応答する multimodal neuron である可能性が示唆された。このニューロンの応答特性や異種感覚統合については、本研究室の別の研究課題として研究を継続することにした。

(3) 気流方向情報をコーディングするニューロン群の同定

尾葉に強度 20 psi, 持続時間 200 ms の気流刺激を与えたところ、Cal-520 で染色した上

行性ニューロンの細胞体において一過性のカルシウム濃度上昇 (カルシウム応答) が観察された (図5)。各方向から気流刺激を与えた時のカルシウム応答の最大振幅を反応強度として、8方向の刺激に対する方向感受性を調べたところ、いずれも電気生理学的に得られた方向感受性と一致した (図6)。

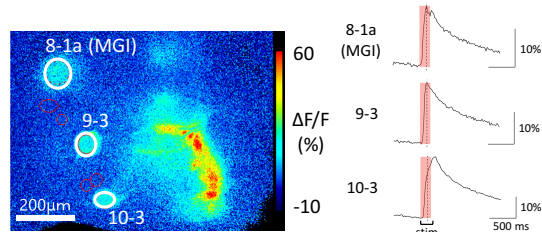


図5 200ミリ秒間の気流刺激を細胞体と反対側 90° から与えた時のカルシウム応答

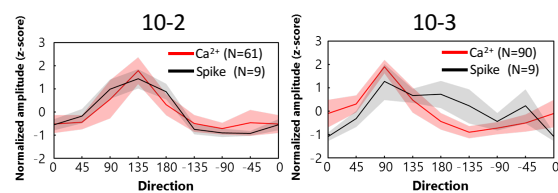


図6 GI 10-2 と 10-3 のカルシウム応答とスパイク応答の方向感受性チューニングカーブ

各刺激角度に対する反応強度の確率密度分布をもとに尤度を算出し、刺激方向のコーディング精度を算出したところ、巨大介在ニューロン (GI) 10-3 の精度が最も高く、次いで GI10-2, 9-3, 8-1 の順になった (図7)。また、GI10-3, 10-2, 9-3 では左右一对のニューロンからデコーディングした場合にコーディング精度が上昇した。また、複数の GIs の反応からデコーディング精度を算出したところ、ニューロン数を増やすほど精度は上がった。逆に全ニューロンから特定の GI ペアを取り除いた場合を検討したところ、特に精度の高い 10-2, 10-3 を取り除いた場合に精度が減少した。したがってコオロギ気流感覚系では特に左右一对の GIs 10-2 と 10-3 の細胞集団が気流刺激の方向情報を搬送していることが分かった。しかし、他のニューロンを加えることで予測精度が向上したことから、ほかの GI も方向情報の搬送をサポートしている可能性がある。

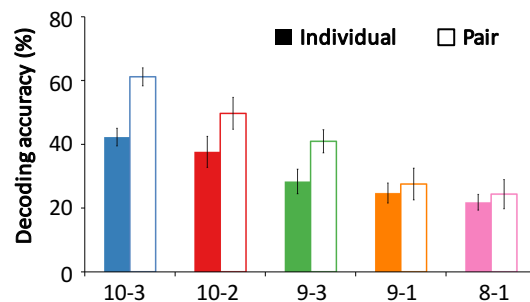


図7 同定された上行性ニューロンのカルシウム応答から予測された刺激方向のデコーディング精度

気流感覚系では研究計画通り、多細胞カルシウムイメージング法により方向情報を搬送する上行性ニューロンの細胞構成が解明できた。今後気流速度を増減させた場合に、高精度のコーディングを行うニューロンが入れ替わらないかを検討していく。また、電気生理学的手法も併用して、コーディング精度が時間とともにどのように変化していくかも解析していく予定である。

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 5 件)

1) 小川宏人 (2016)

昆虫の短中距離ナビゲーションを支える神経基盤 日本ロボット学会誌 34: 685-689
DOI: 10.7210/jrsj.34.685 (査読無し)

2) Fukutomi, M., Someya, M. and Ogawa, H. (2015)

Auditory modulation of wind-elicited walking behavior in the cricket, *Gryllus bimaculatus*. *J. Exp. Biol.*, 218:3968-3977.
DOI: 10.1242/jeb.128751 (査読有り)

3) Ogawa, H. and Mitani, R. (2015)

Spatial dynamics of action potentials estimated by dendritic Ca^{2+} signals in insect projection neurons. *BBRC*, 467:185-190.
DOI: 10.1016/j.bbrc.2015.10.021 (査読有り)

4) Ogawa, H. and Oka, K. (2015)

Direction-specific adaptation in neuronal and behavioral responses of an insect mechanosensory system. *J. Neurosci.* 35:11644-11655.
DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1378-15.2015 (査読有り)

5) Ogawa, H. and Kajita, Y. (2015)

Ca^{2+} imaging of cricket protocerebrum responses to air current stimulation. *Neurosci. Lett.* 581: 282-286.
10.1016/j.neulet.2014.10.042 (査読有り)

[学会発表] (計 26 件)

1) Ogawa, H. and Mitani, R. (2016)

Diversity of GABAergic inhibitory impacts on dendritic integration for directional tuning in insect mechanosensory projection neurons. 46th Annual Meeting of Society for Neuroscience, 2016年11月12 - 16日, San Diego (米国)

2) Fukutomi, M. and Ogawa, H. (2016)

Acoustic stimulus impacts on directional variability of wind-elicited walking behavior in the cricket. 46th Annual Meeting of Society for Neuroscience, 2016年11月12 - 16日, San Diego (米国)

3) 小川宏人, 三谷瑠里子 (2016)

昆虫の機械感覚性投射ニューロンにおける樹状突起カルシウムシグナルから予測される活動電位の空間動態, Neuroscience 2016-第39回日本神経科学大会-, 2016年7月20 - 22日, パシフィコ横浜 (神奈川県・横浜市)

4) 染谷真琴, 小川宏人 (2016)

コオロギの初期感覚情報処理における多感覚統合, Neuroscience 2016-第39回日本神経科学大会-, 2016年7月20 - 22日, パシフィコ横浜 (神奈川県・横浜市)

5) 福富又三郎, 小川宏人 (2016)

コオロギ気流誘導性歩行運動と下行性神経活動は先行する聴覚刺激によって修飾される, Neuroscience 2016-第39回日本神経科学大会-, 2016年7月20 - 22日, パシフィコ横浜 (神奈川県・横浜市)

6) Ogawa, H., Mitani, R., and Oka, K. (2015)

Direction-specific adaptation in neuronal and behavioral responses of cercal sensory system in the cricket. 45th Annual Meeting of Society for Neuroscience, 2015年10月17 - 21日, Chicago (米国)

7) Fukutomi, M. and Ogawa, H. (2015)

Preceding auditory inputs modulate responsiveness and orientation in wind-elicited walking behavior in the cricket. 45th Annual Meeting of Society for Neuroscience, 2015年10月17 - 21日, Chicago (米国)

8) 小川宏人, 三谷瑠里子 (2015)

機械感覚性投射ニューロン樹状突起での方向選択性形成過程に対する GABA 作動性抑制性入力の効果, Neuroscience 2015-第38回日本神経科学大会-, 2015年7月28 - 31日, 神戸国際会議場 (兵庫県・神戸市)

9) 福富又三郎, 小川宏人 (2015)

先行する音刺激はコオロギの気流誘導性逃避行動を修飾する, Neuroscience 2015-第38回日本神経科学大会-, 2015年7月28 - 31日, 神戸国際会議場 (兵庫県・神戸市)

10) Someya, M. and Ogawa, H. (2014)

Estimation of neuronal assembly encoding directional information by decoding

method. 44th Annual Meeting of Society for Neuroscience, 2014年11月15 - 19日, Washington, DC (米国)

11) Fukutomi, M., Someya, M., and Ogawa, H. (2014)

Auditory modulation of wind-elicited walking behavior in the cricket. 44th Annual Meeting of Society for Neuroscience, 2014年11月15 - 19日, Washington, DC (米国)

12) Someya, M. and Ogawa, H. (2014)

Multisensory integration of auditory and cercal sensory inputs by ascending projection neurons in the cricket. 2014 ICN/JSCP, 2014年7月28日 - 8月1日, 札幌コンベンションセンター (北海道・札幌市)

13) Fukutomi, M., Someya, M., and Ogawa, H. (2014)

Preceding auditory cue modulates walking direction in wind-elicited escape behavior in the cricket. 2014 ICN/JSCP, 2014年7月28日 - 8月1日, 札幌コンベンションセンター (北海道・札幌市)

14) 三谷瑠里子, 小川宏人 (2014)

気流応答性投射ニューロンの方向選択性形成に關与する樹状突起内統合メカニズム, Neuroscience 2014-第37回日本神経科学大会-, 2014年9月11-13日, パシフィコ横浜 (神奈川県・横浜市)

15) 染谷真琴, 小川宏人 (2014)

コオロギの音刺激と気流刺激に応答する異種感覚上行性ニューロン, Neuroscience 2014-第37回日本神経科学大会-, 2014年9月11-13日, パシフィコ横浜 (神奈川県・横浜市)

16) 福富又三郎, 染谷真琴, 小川宏人 (2014)

コオロギの気流誘導性行動に対する先行聴覚刺激のクロスモーダル効果, Neuroscience 2014-第37回日本神経科学大会-, 2014年9月11-13日, パシフィコ横浜 (神奈川県・横浜市)

17) Someya, M. and Ogawa, H. (2014)

Multisensory integration of auditory and cercal sensory inputs by ascending projection neurons in the cricket. 2014 ICN/JSCP, 2014年7月28日 - 8月1日, 札幌コンベンションセンター (北海道・札幌市)

18) Fukutomi, M., Someya, M., and Ogawa, H. (2014)

Preceding auditory cue modulates walking direction in wind-elicited escape behavior in the cricket. 2014 ICN/JSCP, 2014年7月28日 - 8月1日, 札幌コンベン

ションセンター (北海道・札幌市)

[図書] (計 3 件)

1) Baba, Y and Ogawa, H. (2016)

Cercal system-mediated anti-predator behaviors. In: The cricket as a model Organism: Development, Regeneration, and Behavior. Noji S., Horch H.W., Ohuch H., Mito T., eds. Pp 211-228 (総頁数 373のうち17頁を執筆), Springer Japan, Tokyo.

2) Ogawa, H. and Miller, J.P. (2016)

Optical recording methods ~How to measure of neural activities with Calcium imaging~. In: The cricket as a model Organism: Development, Regeneration, and Behavior. Noji S., Horch H.W., Ohuch H., Mito T., eds. Pp 285-302 (総頁数 373のうち18頁を執筆), Springer Japan, Tokyo.

3) Ogawa, H. and Miller, J.P. (2015)

Cercal system. In: Encyclopedia of Computational Neuroscience. Jaeger, D., Jung, R., eds. (総頁数 3180のうち6頁を執筆) Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.

[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

<http://www.sci.hokudai.ac.jp/~hogawa/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小川 宏人 (OGAWA HIROTO)
北海道大学大学院理学研究院・教授
研究者番号: 70301463

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

染谷 真琴 (SOMEYA MAKOTO)
北海道大学大学院生命科学院生命システム科学コース・博士課程3年

田中寿希 (TANAKA KAZUKI)

北海道大学大学院生命科学院生命システム科学コース・修士課程1年