In vivo 光計測法による サル視覚連合野 (TE 野) における情報表現の研究

鹿児島大学医学部第二生理学講座 王 鋼

理化学研究所フロンティア研究システム思考電流チーム 田中啓治

福井大学工学部情報工学科 谷藤 学

To investigate the functional organization essential for object vision the technique of optical imaging has been applied to the anterior part of the inferotemporal cortex, which represents the final stage of the visual cortical pathway critical for object vision. We first conducted unit recordings with electrodes and determined the features critical for the activation of single cells. In the subsequent optical imaging, presentation of the critical features activated patchy regions around 0.5 mm in diameter covering the site of the electrode penetration at which the critical feature had been determined. In some cases in which more than one critical feature had been determined from a single penetration, the critical features activated partially overlapping regions extending in different directions from the penetration site. Especially, the spot activated by presentation of a face systematically moved in one direction as the face rotated in depth around its vertical axis. Thus, clustering of cells responding to the same stimulus is concluded, and overlapping of clusters representing different but related features is suggested.

object vision / inferotemporal cortex / macaque monkey / functional organization

1. はじめに

微小電極記録法による研究は、脳、特に視覚系の神経細胞の電気生理的特性に関して多くの知見をもたらした。しかし、微小電極記録法で同時に記録できるのは単一或はせいぜい数個の細胞であるため、脳の高次機能にかかわるネットワークやシステムレベルの研究への適用には限界がある。しかし、1980年代後半から登場した *in vivo* 光計測法^{1), 2)} によって、脳の活動を多点から同時に計測することが可能になった。

計測する光信号によって、光計測法は大きく2つに分けられる。電位感受性色素によって細胞膜電位を反映する光信号 (extrinsic signal) を測定する方法と色素を使わず神経活動に伴う組織の代謝の変化を反映した組織そのものの反射光信号 (intrinsic signal: 内因性信号) を計る方法である。前者では早い (ミリ秒のオー

ダー) 神経活動を計測することが可能になるが、信号が微弱であるため、筆者らはこれより大きな変化を示す内因性信号を可視化することによって、日本ザル下部側頭連合野 (細胞構造学的な分類で TE 野) において視覚情報がどのように表現され、処理されているかの研究を進めている³⁾。

2. 内因性光信号の原理

脳組織においてみられる内因性光信号には、脳活動に伴う血流量変化やヘモグロビンの酸化状態の変化、チトクロームの酸化状態の変化、伝達物質の分泌や細胞の体積変化などによる局所的な光散乱変化などさまざまな要因が考えられる。我々の実験では605nmの赤い光を用いているが、その場合には、毛細血管中のヘモグロビンの酸化状態が反射光量の変化に大きく寄与していると考えられている⁴⁾。脳活動に伴う代謝の増大

Optical imaging of functional organization in monkey inferotemporal cortex

Gang WANG***, Keiji TANAKA**, Manabu TANIFUJI***

* Department of Physiology II, Kagoshima University, ** RIKEN Institute and *** Department of Information Science, Fukui University

図1 光計測を行った領域。上側頭溝 (STS) を挟んだTE野と聴覚領野の一部が含まれている。

により、毛細血管中の酸素濃度が変化するため、脱酸化するヘモグロビンの割合が増加する。酸化型ヘモグロビンと還元型ヘモグロビンでは、吸収スペクトラムが異なるので、脳表面から反射する光の変化を測定することによって大脳皮質の神経活動を間接的にとらえることができる。605nmの波長の光に対して、酸化ヘモグロビンはほとんど吸収をもたないのに対して、還元型ヘモグロビンの吸光率は遥かに大きい。したがって、刺激反応時の脳表面の画像から刺激前の画像を差し引くと、その引いた後の画像には活動により吸光度が増加した部位が黒く現れる。このようにして、刺激によりどの部位の細胞集団が活動するかがわかる。

このような内因性光信号は、電位感受性色素の応答に比べれば大きいもののそれでもかなり小さいため、生きている動物の脳にこの光計測法を適用するには、心臓からのパルス状の血流と呼吸による脳の動きなどによる大きなノイズを取り除くのが前提となる。我々は同じ麻酔動物を対象としてGrinvaldらが第一次視覚野の記録に用いた方法を適用した。麻酔実験に用いられる人工呼吸器をある一定の位相で瞬間的に止め、次の心電パルスの到来と同時に人工呼吸器およびデータの取込みを開始する。こうすることによって、データを取り込む開始のタイミングを人工呼吸器および心電のパルスと同期させることができる。異なる視覚刺激で取り込んだ画像は同じ背景雑音を持つことになるので、画像の差を取ることによって、共通の背景ノイズを取り除き、脳活動領域を反映した機能マップを得ることができる。

3. 光計測法のTE野研究への応用

目に写る外界の物体像は網膜、外側膝状体核、第一次視覚野、視覚前野を介して下部側頭葉皮質 (TE野) に運ばれる (図1)。これまでの脳の部分的破壊実験によ

りこの下部側頭葉皮質が物体視に重要な役割を果たしていることが示されている。一体、どのように物体像はTE野で表現されているのだろうか。微小電極による実験によればTE野細胞は中程度に複雑な形に反応し^{9)・11)}、似たような刺激選択性を持つ細胞はコラム状に集団を作っていることが示唆されている^{8)・9)}。そこで、このような構造の存在を確認するとともに、異なる刺激選択性を持つ細胞集団の間の関係を調べるために我々は光計測法を適用した (図1)。

3.1 どのような視覚刺激を使うか

我々は麻酔下の日本ザルを研究対象とした。まず、光計測に用いる有効な視覚刺激のセットを決めるため、硬膜を開けて光計測する前に予め、週に一回の割合で微小電極による記録を光計測を行う領域の中の十数箇所から行った。それぞれの細胞について、数十個の動物の縫いぐるみやプラスチックの植物模型などをサルに見せる。細胞が反応する物体を探すのである。次に、このようにして得た有効な視覚刺激の像を画像処理システムに取り込み、像を単純化し、細胞が反応する一番単純な像を調べる。これをその細胞の刺激図形特徴と定義する。このようにして、多くの細胞から得たさまざまな図形特徴と、微小電極記録では応答がまったく見られなかった図形 (コントロール) を光計測を行うときの刺激セットとして用いた。

3.2 視覚刺激による光学的な変化

TE野を含む脳表面からの光計測により、視覚刺激がTE野に二種類の変化をもたらすことが明らかとなった。第一は刺激前に比べTE野全体が暗くなることである。この変化は上側頭溝より下の視覚領野 (TE野) に局在しており、同じ光計測した領域に含まれた上側頭溝より上の聴覚に関連する皮質には見られなかった。第二は、TE野においてパッチ状のスポットが見られることである (図2)。このようなスポットは以下の三つ

図2 A: 光学的な変化の再現性。上: 計測される領域の血管分布の像。中, 下: 右にある刺激図形に対し, 6時間の間隔をあけて同じ部位から測定した画像。白い矢印がパッチ状の光学的反応の強い部分を示している。TE野におけるその分布パターンが非常に似ていることから再現性のあることはわかる。B: 光学的反応パターンの視覚刺激依存性。6つの図形特徴に対する反応を血管像の上にスーパーインポーズした画像。計測した領域における反応の分布パターンが視覚刺激の種類によって異なる。

の理由で視覚刺激に依存した応答であると考えられる。まず, 再現性があることである。図2Aに示すように, 同じ場所で, 6時間の間隔をあけても非常に似た反応パターンが得られた。次に, 光計測した領域におけるスポットの分布パターンが視覚刺激の種類によって異なることである (図2B)。我々は変化の統計的な有意性を検定するために, 個々の刺激に対する反応イメージから用いた刺激全部の反応イメージの平均を引いて, 各ピクセル毎の t 値を計算した。この評価を異なる6つ

の図形特徴に対して行った結果, $p < 0.05$ の t 値を示す反応領域の輪郭はそれぞれ異なるパターンを示すことが明らかになった (図2B)。最後に, 図形特徴に誘発されたスポットはその図形特徴を決めた電極の刺入位置をカバーすること (図2Bのクロスで表示した点), すなわち, 光計測と微小電極記録に一致がみられることである。

このようなスポットは円形あるいは楕円形をしていて, ピークからその1/eに落ちたところで測って見ると, その直径は $0.49 \pm 0.11 \text{ mm}$ であった。このような比較的大きい領域を占める代謝変化は単一或は数個の細胞によるものとは考えにくく, この場所に集まっている多数の細胞の活動により生じたものと思われる。すなわち, ある視覚刺激に対して, 反応するTE細胞は円形或は楕円形の領域に集まっていることになる。この結果は同一図形特徴に反応する細胞が集まることを示した微小電極記録の結果およびそれにより推測されたコラムのサイズとほぼ一致している⁸⁾。

3.3 TE細胞刺激選択性の連続的な変化

我々は, このようにして得られたスポット (細胞集団) の重なり具合から興味深い事実を見いだした。図3に示すのはその一例である。皮質表面の同一部位 (深さ方向には異なる) の3つの細胞からの微小電極記録から決められた三つの図形特徴について光学記録を行った結果である。これらの図形特徴は電極を刺した場所を含め部分的に重複した部位を賦活した。ピークからその1/eに落ちる範囲の輪郭を測ってみると, 賦活された部位全体の直径はおよそ1.1mmであった。3つの図形刺激に反応する細胞はそれぞれパッチ状の領域に集まっていて, 重なりながら配列している。3つの図形の共通点は二つ以上の明度を持つ, 形が細長いものであった。すなわち, 共通点を持つ異なる図形に対するスポットはTE野に連続的に配列されているのである。このような傾向は顔の刺激の例においても認められた。

図4Aはある顔の刺激セットに対する光計測の結果である。同一部位の五つの細胞からの微小電極の記録では, すべて顔の刺激画像に選択的に反応した。その内1つについては目と鼻の組み合わせが視覚刺激として十分であったが, ほかの四つはテストした範囲では顔全体が必要であった。また, 五つの細胞の内三つは正面の顔に, 二つが横顔に最大の反応を示した。このような微小電極記録の結果を見て, 我々は顔の左側面, 左45度, 正面, 右45度, 右側面の五つの異なる角度の顔を刺激セットに入れて光学的計測を行った。その結果は, 顔が左側面, 左45度, 正面, 右45度, 右側面によっていくにつれ, TE野の賦活された部位が一定の方向

図3 皮質表面の同一部位（深さ方向には異なる）の3つ細胞から決められた三つの図形特徴と光計測の結果。

図4 A, 顔の刺激セットに対する光計測結果。顔が左側面, 左45度, 正面, 右45度, 右側面によって変わっていくにつれ, TE野の賦活された部位が一定の方向に系統的に移動するのが観測された。B, ほかのサルから同様の記録が得られた。

に系統的に移動するのが観測された。移動の方向で計って、移動した距離は0.8mmであった。顔の刺激に誘発された光の変化は統計的に有意であって、しかも、顔に選択的である。このように顔刺激により賦活された部位が顔の角度によって系統的にシフトする現象は、一般的であり他のサルからも同様の記録が得られている（図4B）。

4. おわりに

図3と4はTE野のおよそ直径1mmの領域内におい

て細胞の選択性が連続的に変化することを示唆する。細胞レベルで考えると、その部位の単一細胞の選択性が広いのか、あるいはシャープな選択性を持つ細胞がスポットの重複のある部位で混ざり合っているかの二つの可能性があると考えている。少なくとも、微小電極記録結果からこのような重複は単なる光学的散乱によるものではない。

図3の場合には三つの刺激は同じ或は近い色の二つ以上の明度を持ち、ある特定の形をしたものの陰影に関係するかも知れない。図4のケースにおける刺激の

関連性は明らかである。顔の角度である。このように、高い次元での類似性を持つ図形に反応する細胞はTE野で連続的に配列している。このような構造はTE野出力の恒常性に寄与しているのかもしれない。

最後になるが、内因性光信号の起源は、必ずしも確定されたものではない。ヘモグロビンに関する説は有力ではあるが、これに対する反論もある。しかし、いずれにしても、光学的変化は刺激による神経活動と関係していることは、多くの研究結果と本研究から明らかである。

文 献

- 1) Blasdel, G. G. and Salama, G. (1986) *Nature* (London) **321**, 579-585.
- 2) Grinvald, A., Lieke, E., Frostig, R. D., Gilbert, C.

- D. and Wiesel, T. N. (1986) *Nature* (London) **324**, 361-364.
- 3) Wang, G., Tanaka, K. and Tanifuji, M. (1994) *Soc. Neurosci. Abstr.* **20**, 316.
- 4) Frostig, R. D., Lieke, E., Ts'o, D. Y. and Grinvald, A. (1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **87**, 6082-6086.
- 5) Gross, C. G., Rocha-Miranda, C. E. and Bender, D.B. (1972) *J. Neurophysiol.* **35**, 96-111.
- 6) Desimone, R., Albright, T. D., Gross, C. G. and Bruce, C. (1984) *J. Neurosci.* **4**, 2051-2062.
- 7) Tanaka, K., Saito, H., Fukuda, Y. and Morioka, M. (1991) *J. Neurophysiol.* **66**, 170-189.
- 8) Fujita, I., Tanaka, K., Ito, M. and Cheng, K. (1992) *Nature* (London) **360**, 343-346.
- 9) 藤田一郎 (1994) 生物物理 **193**, 1-6.

第34回年会風景 —その2—

会場の様子

ロビーでの白熱した議論

ポスターセッション