

「脳情報の解読と制御」研究領域 領域活動・評価報告書
—平成24年度終了研究課題—

研究総括 川人 光男

1. 研究領域の概要

本研究領域は、運動・判断の脳内情報を利用するための革新的要素技術の創出を目的とし、脳科学の基礎的研究と社会に大きな貢献をすることが期待される応用分野をつなぐ、探索的研究や革新的技術開発を対象とする。

具体的には、ブレインマシンインタフェース(BMI)、ニューロリハビリテーション、ニューロマーケティング、ニューロエコノミクス、ニューロゲノミクス、ニューロエシックスなどの応用分野に資する研究と一体的に、脳の活動から情報を読み出し、操作するための脳情報解読制御技術等の基礎的な研究を進める。

このような観点から、本領域では、脳科学とその応用分野の広がりに対応して、計算・実験神経科学、工学、臨床医学、基礎生物学、経済学を含む社会科学、心理学を含む人文科学、情報学など多方面の研究者を対象とし人材を育成するとともに、次世代の研究の基礎を築く。

2. 事後評価対象の研究課題・研究者名

件数：8件

※研究課題名、研究者名は別紙一覧表参照

3. 事前評価の選考方針

選考の基本的な考えは下記の通り。

- 1) 選考は、「脳情報の解読と制御」領域に設けた選考委員14名の協力を得て、研究総括が行う。
- 2) 選考方法は、書類選考、面接選考及び総合選考とする。
- 3) 選考に当たっては、さきがけ共通の選考基準 (URL: <http://www.jst.go.jp/pr/info/info666/shiryoku4.html>) の他、以下の点を重視した。脳科学の基礎研究と応用分野をつなぐ探索型研究／革新的技術開発についての意欲と、新しい分野への挑戦的姿勢を重視した。

4. 事前評価の選考の経緯

一応募課題につき領域アドバイザー3名が書類審査し、14名のアドバイザー全員からなる書類選考会議において討論の上、面接選考の対象者を選考した。続いて、面接選考および総合選考により、採用候補課題を選定した。上記選考を経た課題の内、大挑戦型審査会(書類選考会議)へ4課題を推薦した。

選考	書類選考	面接選考	採択数		
			14件	内訳	3年型
対象数	116件	28件			

()内は大挑戦型としての採択数。

備考:

- 1)平成21年度採択課題のうち、以下は今年度事後評価対象としない。
 - ・西村幸男研究者、関和彦研究者、河野崇研究者、駒井章治研究者
研究期間が5年で、今年度終了しないため。今年度は中間評価を実施する(中間評価結果:
http://www.jst.go.jp/kisoken/presto/evaluation/mid-term/36bmi_H24mid_ev_1.pdf)
 - ・池谷裕二研究者
最先端・次世代研究開発支援プログラムに採択され、研究を中断したため。

5. 研究実施期間

平成21年10月～平成25年3月

6. 領域の活動状況

- 1) 領域会議: 7回 (平成 21 年から 24 年; 本領域会議としては第 3 回から第 9 回)
- 2) 研究総括および技術参事による研究実施場所訪問: 14回
北海道大学理学部、東京大学薬学部、旭川医科大学、理化学研究所、東京大学医学部、東京大学生産技術研究所、奈良先端科学技術大学、国立精神・神経医療研究センター、横浜市立大学医学部、自然科学研究機構生理学研究所、産業技術総合研究所、放射線医学総合研究所、慈恵会医科大学
- 3) 終了公開成果発表会:
JST 東京本部(サイエンスプラザ)B1 大会議室で開催(平成 25 年 1 月 21 日、参加、173 名、研究者、企業関係者、学生・院生、報道関係者、その他一般市民)
- 4) その他: 文部科学省新学術領域研究「包括型脳科学研究推進支援ネットワーク」夏のワークショップで JST セッションとして研究成果発表会を「さきがけ: 脳神経回路の形成・動作と制御」と共同で開催(平成 22 年から 24 年: 24 年は「CREST: 脳神経回路の形成・動作原理の解明と操作技術の創出」とも共催)
- 5) その他: 市民公開講座「社会に広がる脳科学」を神経科学学会と共催(平成 21 年 8 月 28 日、京都キャンパスプラザ、参加、約 200 名)
- 6) その他: 戦略目標に脳科学研究戦略推進プログラム(脳プロ)との連携が明記されているため、脳プロの諸会議に随時参加。

7. 事後評価の手続き

研究者の研究報告書を基に、評価会(研究報告会、領域会議等)での発表・質疑応答、領域アドバイザーの意見などを参考に、下記の流れで研究総括が評価を行った。

(事後評価の流れ)

平成 21 年 11 月の第 3 回領域会議、平成 22 年 6 月の第 4 回領域会議、11 月の第 5 回領域会議、平成 23 年 7 月の第 6 回領域会議、および平成 23 年 12 月の第 7 回領域会議において、研究総括と領域アドバイザーの出席のもとに研究報告会を開催、研究総括・アドバイザーによる評価とそのフィードバックを行った。各領域会議において、発表内容に対する質疑応答についてのまとめを各研究者から提出させ、総括及び領域アドバイザーに回覧し、指導の周知状況を把握した。各年度の半期報告書の結果により、必要に応じて、総括による指導・助言を行い、また、評価のフィードバックを行った。

平成 24 年 11 月の第 9 回領域会議および平成 24 年 6 月の第 8 回領域会議において、報告会を行い、最終報告へ向けて、研究総括およびアドバイザーによる評価および指導・助言を行った。

平成 25 年 1 月 JST 東京本部(サイエンスプラザ)で、公開成果発表会を行い、研究総括による評価の資料の 1 つとした。研究者、企業関係者、報道関係者、一般市民を含め、173 名の参加者があり、活発な討論が行われた。

平成 25 年 2 月 研究報告書提出

平成 25 年 3 月 研究総括による事後評価

平成 25 年 3 月 被評価者への結果通知


8. 事後評価項目

- (1) 外部発表(論文、口頭発表等)、特許、研究を通じての新たな知見の取得等の研究成果の状況
- (2) 得られた研究成果の科学技術への貢献
- (3) 大挑戦型についてはさらに、大挑戦型として取り組む挑戦的な研究項目に対する進展についても評価項目とした。

9. 事後評価

総論:

「脳情報の解読と制御」研究領域では 2 期生のうち、9 人の研究者が研究期間の終了を 3 月末日で迎える。現在、進行中の研究もあり、また知財や論文掲載のため現段階では非公開の成果もあるが、まず総括としての総論を記し、以下に研究者ごとの成果と総括の評価を述べたい。

「脳の解読と制御」分野での応用として良く知られるものは BMI 技術である。本領域では、BMI 技術の展開に直接的に関与する研究とともに、そのメカニズムを改良して、BMI 技術の改良、ならびに新規展開に寄与する基礎的研究も含む研究を対象とすることは概要に述べた通りである。一見、BMI 技術に直結する研究のみを支援した方が効率良いようにみえるかもしれない。しかし、そのようは戦術では、BMI の新規展開は望めず、今ある BMI 技術の改良すら成し遂げられるかどうか疑問である。なぜならば、メカニズムを理解して、めて

技術の改良や、新規展開が可能だからである。この点は領域目標にも予め強調されており、領域目標は戦略目標とも整合性を持って設定されたものであることを述べておきたい。

BMI技術の1例として脊髄損傷に対する支援装置を考えると、望ましい型は、患者さんの残存機能をフルに生かして、最小限の支援で、最大の効果を得ることである。脊髄損傷部より上位の脳、下位の脊髄や筋は健全であることが多いので、如何にこの損傷部をバイパスして機能を回復させるかが問題となる。脳情報の解読により得た情報をできるだけ少数の素子からなるプロセッサを介して、下位脊髄、あるいは筋に受け渡すことが最も直接的な解決法の1つである。この意味で、小川研究者のシンプルな神経系を持つ動物を用いた実験は、BMI技術の基礎として重要である。一方で脳からの情報解読については、脳波等を用いる非侵襲型の方法が多く用いられるが、場合により侵襲型の脳に直接電極を装着する技術が必要となる。鎌田研究者は侵襲型のなかでは、もっとも侵襲度の少ない硬膜下電極の検証を行い、高い精度を持つことを示し、直接BMI技術への寄与を与える成果をあげた。硬膜下電極は特に、日本が強い領域である。また、北城研究者、林研究者は脳情報を他者と共有する技術について成果をあげた。このような脳情報の他者との共有はALSなど神経難病や発話障害の患者では、現実に必要なとされている技術である。一方、現時点でBMI技術が最も威力を発揮している応用領域は医療リハビリテーションであるが、脳損傷からの回復過程で脳が実際にどう神経回路組み換えを行っているかについて、確実なデータが不足している。肥後研究者は、この点について、詳細な実験を行い、BMI技術を効率よく適用するための、直接の基礎的知識を与え、大きな貢献をした。次に、喜多村研究者、竹本研究者は、BMI技術の基礎をなす脳機能をミクロなレベルで解明する研究を行った。喜多村研究者はシナプスレベルで極めて高い空間解像度を持つ測定を行い、局所回路の機能構築を新たに明らかにしたが、この成果は、マクロな脳イメージングの成果の解釈の基礎を与える画期的なものである。竹本研究者は分子レベルでの操作を学習・記憶系に与え、記憶のメカニズムを解明する研究を系統的に進めており、その成果に対する期待は大きい。総括裁量で2年間研究期間を延長し、実際に課題遂行中の動物で記憶への介入実験を行う予定である。最後に、情動やモチベーションは、今後のBMI技術の高度化には避けて通れない課題であるが、その研究には多くの困難を伴う。渡部研究者はその一歩として、扁桃核で大脳を介した侵害受容の可塑的な変化が起こることを示し、情動制御の可能性を示した。また南本研究者は、極めてユニークで優れた発想のもとにモチベーションの定式化を提案し、脳イメージング手法を駆使してその検証を行った。今後のモデルの拡張が期待される。

全体として3年という研究期間は、生物実験、特にシステム系の研究には十分でないくらいがあるが、その中で、各研究者とも課題を達成、概ね達成、あるいはほぼ達成し、その成果は各レベルで「脳情報の解読と制御」に寄与し、種々の段階でBMI技術の展開、新しい技術の開発に貢献すると考えられる。今後の研究の展開も期待される。

1. 小川宏人研究者 研究課題「実行動下動物における方向情報の脳内表現と変換機構の解明と展開」
評価結果: 課題目標をほぼ達成した。少数のニューロンによる感覚・運動系を実験的に解明し、BMI技術の設計に生かす上での手がかりとなることが期待される。

本研究では、脊椎動物より単純な体制を持つが、ゾウリムシ等よりはるかに複雑な行動様式を持つ昆虫を用い、行動の方向選択性の神経制御機構を、気流/音刺激、電気生理学的測定/カルシウムイメージング測定等を用い、トラックボールを導入する等の工夫した実験系によりin vivoで運動中に解明した。シンプル系を用いることにより、感覚から行動に至る神経情報変換機構を体系的に把握することが期待される。

気流に対する歩行運動は、移動方向やターン角度などの運動パラメータが刺激方向に対して正確に制御されており、それには脳からの下行性神経活動が必須であることを見いだした。感覚系では、上行性気流ニューロンは10-20個の少数のニューロンで精度の高い方向情報を搬送することが示された。気流系の上行性ニューロンの直接の脳内投射領域では、in vivoカルシウムイメージングを行い、ごく近接した領域でもカルシウム応答の方向選択性が大きく異なり、この脳レベルでは方向情報はトポグラフィックに表現されず、より高次のレベルでの統合が示唆された。運動系では、短いエアパフに対する応答では、最初期から運動方向やターン角度は刺激方向に対して正確に制御されていた。脳内で気流刺激方向が抽出され、歩行運動の刺激角度依存的制御信号に変換されたと考えられる。下行性神経活動はその応答性により、方向制御・運動開始・ターン角度・最初期運動持続時間などに関与するものに分類された。

少数のニューロンによる神経回路で複雑な随意運動を制御できることを実態的に示したもので、BMI技術によって脳情報から運動制御を実行する際のシステム設計について手掛かりとなることが期待される。

2. 鎌田恭輔研究者 研究課題「多チャンネル ECoG による言語機能関連 BMI の開発」
評価: 課題目標は概ね達成された。ECoG 電極による表面電位について膨大なデータを用い、精度の検証

い、侵襲型 BMI の開発に大きな寄与をなしたと考えられ、高く評価したい。

硬膜下電極により計測する脳表電位(EOG)は、脳波、脳磁図、fMRI に比して、高い信号強度と空間-時間分解能を有し、BMI 操作に有利であるが、ヒト頭蓋内に長期間多くの電極を留置することは、被験者への負担・侵襲が大きく、感染のリスクもある。一方で、広い領域から高い信号・雑音比の脳情報を検出することにより解読精度が高まることが期待される。本研究では、脳外科医である当該研究者が、治療の目的で、手術部位の同定のために EOG 電極を用いた際に得られたデータを活用し、これまで通常使われている fMRI と比較し、その妥当性を検討した。

高い信号・雑音比を得るために、高周波数帯域の分析(γ 帯域の増加、 β 帯域の減少)により、脳活動全体とそのネットワーク解析を行い、BMI のコントロールに必要な電極数、位置、信号パターンを決定し、EOG による BMI コントロールに必要な条件をもとに、非侵襲的脳機能画像の結果との整合性を検討した。個体差を克服するために、SPM8を用いて個人 MRI 脳を標準化し、その変換関数を用いて個人頭部 CT(電極)に同様の座標変換を行い、判別への重み付けを行い、判別精度を向上させた。これらの結果により、EOG の有用性が示された。特に標準化による重みづけはデコーダ性能の向上に寄与することが示された。硬膜下電極と比較すると、他の侵襲型電極は脳内に電極を刺入するため、リスクが大きい。硬膜下電極を用いる EOG が、これらの方法に匹敵する精度を持つことが示されたことにより、BMI に侵襲的手法を用いる必要がある場合、硬膜下電極が強い選択肢となる。

以上、本研究は硬膜下電極を用いる脳表電位について、新しい技術を開発しながら、系統的な検証を行い、BMI に活用するための重要なデータを提供した点に大きな意義がある。

3. 北城圭一研究者 研究課題「リアルタイム TMS 制御による脳情報処理の操作的検証」

評価結果: 課題目標はほぼ達成された。理論と実験を組み合わせ、操作的神経科学について一步を進めた点が評価される。

脳は感覚情報を処理し、運動情報を作り出すが、その過程で脳内の処理モジュール群は神経活動パターンとして表現される動的神経回路を形成し、機能的な情報処理を行なう。これらの処理はニューロン群のスパイク信号の縦列的な時系列で表現されることが多いが、一方で、脳内ニューロン群の並列的な処理の間の位相関係も重要である。脳イメージング研究が進むとともに、脳領域活動間の同期・脱同期についてのデータが蓄積され、脳活動の振動同期ネットワークと脳機能との相関が示唆された。本研究は、これらの相関の背景にある因果関係を、脳に外乱を与えた場合の位相変化を指標として検証することを試みた。

安静時に運動野、視覚野を磁気刺激し自発活動を位相リセットできること、位相リセットが刺激部から大域的に伝搬することを示し、脳の状態依存的な振動同期ネットワークの接続性や位相反応特性を操作的に計測・解析する新しい手法として提案した。次に、TMS-脳波システムを用いて2-5連発の TMS 刺激により、刺激部位の脳波が TMS に周波数特異的に引き込まれ、その引き込みが大域的に伝搬することを示した。さらに、多義仮現運動視覚刺激を用いて知覚バイアスを定量化し、これが、脳梁をまたぐ安静時ガンマ帯域での位相同期ネットワークのリセット伝搬で示される半球間接続性と相関することを示した。

このように TMS-脳波測定システムを用いてヒト脳活動の位相同期ダイナミクスの機能的、因果的役割を操作的に検証、説明できることを示し、操作的神経科学の例示を行った点に大きな寄与を認める。

4. 喜多村和郎研究者 研究課題「感覚情報をコードする局所神経回路の機能構築」

評価結果: 課題目標は達成された。高解像度の2光子カルシウムイメージング技術を駆使して、自発活動/感覚活動時の神経回路の特性を解明し、機能構築を明らかにしたが、この成果はマクロなレベルでの脳イメージング知見の基盤的メカニズムを示し、BMI の今後の展開のため、不可欠な基礎を与えるものとして高く評価される。

脳活動はニューロン上に存在するシナプスを通じた相互情報交換に基づく。本研究では、シナプスレベルでの活動を判別できる高い空間解像度を持つ最新の2光子カルシウムイメージング技術を駆使、シナプスレベルでの神経活動を可視化し、局所神経回路における感覚情報表現を明らかにした。さらに、神経活動依存的に蛍光タンパク質を発現するマウスを用い、協調的に働くニューロン集団を脳内で直接、可視化した。究極的には、機能的局所回路の安定性、および感覚遮断等の入力変調で誘発される神経回路の再編成を同一個体で経時的に可視化することで、感覚皮質における機能的局所神経回路の構築原理に迫ることが可能である。

本研究では、大多数の感覚入力、ニューロン上で、各々ごく限られた部位に固まって入力し、また、互いに近傍に位置するシナプスは、同期した入力を受け取る確率が高いことを明らかにした。ニューロンの電気的性質を考慮すると、この配置は、効率的な感覚情報の統合に寄与する。一方、自発活動/感覚刺激時で二

ニューロンへの入力パターンを詳細に調べると、各々のシナプスで自発活動／感覚刺激時の活動頻度に正の相関がみられ、また、時間パターンについても類似性が高いことが明らかとなった。この空間パターンを多次元尺度構成法により解析したところ、感覚入力パターンは自発入力パターンに含まれた。一方、前初期遺伝子発現によって蛍光タンパクを発現するマウスを用い、2光子イメージングとパッチクランプ記録を行った結果、前初期遺伝子の発現と感覚入力頻度の間に高い相関が示された。これらをまとめると、感覚情報は脳内においてごく一部の活性の高いニューロン集団が形作る極めて緻密なシナプス結合パターンを形成する局所神経回路によって処理される。

脳イメージング研究で近年、自発脳活動が基底的な脳活動パターンを形成し、脳機能に重要な寄与をなすこと、これらの基底脳活動パターンは個体発生の過程で形成されることが提案されているが、この結果は、その基盤的なメカニズムを明らかにする可能性を持つ点で特に興味深い。脳の自発活動を考慮に入れたBMI技術は近年、成果を上げつつあり、このようなBMIの基盤の解明により、更なる技術的革新が齎されることが期待される。

5. 林 隆介 研究者 研究課題「BMIを介した観察者間の知覚共有技術の開発」

評価結果： 課題目標はほぼ達成された。脳・神経活動から感覚情報を解読するデコーダ部分については十分な成果を収め、皮質電気刺激による感覚情報共有についても枠組みを構築したが、両要素の組み合わせが今後の課題である。しかし、枠組みが与えられたため、この部分についても、課題の達成は時間の問題であると考えられる。

本研究は他者と脳情報を共有する技術の開発を目標とし、感覚情報のデコーダ開発の基礎データ収集、複数の皮質刺激電極を通じて脳情報を再現するための技術開発を行った。いわば脳から脳への通信であるが、このようなBMIを介した直接的な意思伝達手段は、ALSなどの神経難病、脳・神経損傷などによる運動麻痺や発話障害の患者さんの機能回復支援として、生活の質を大幅に向上させると期待される。

マカクザルに、多数の記録用・刺激用電極を装着し、個体間でBMIを介して視覚情報を共有するための技術開発を行った。視覚物体認識を担う下側頭葉に微小電極アレイ(電極総数224本)を埋め込み、さまざまな物体画像の観察中に誘発される神経活動電位を多チャンネルで、かつ同時に記録し、物体画像がカテゴリごとにクラスタ化した形で表現されていることを確認した。特に顔情報が下側頭葉の広範囲なネットワークを介して時間発展することが明らかになった。さらに、記録保存したデータを100ms毎に読み出して得られる神経活動パターンを線形判別分析することで、120種類の画像のうち、どの画像が各時点で提示されていたのか、80-90%の精度で判別することに成功した。また、神経活動パターンと観察画像の特徴量と間の回帰分析を行うことで、神経活動から観察画像の大まかな形状を復元することに成功した。次に、マルチチャンネル皮質電気刺激法に取り組み、皮質刺激により、適切に情報が提供できたか否かを客観的に判定する行動指標として、特殊な両眼視野闘争刺激を新たに開発した。この方法は、物体画像の位置を変えぬまま、運動視刺激を提示できる。反射的に生じる眼球運動観察により、左右眼に別々に提示された画像のうち、どちらの画像を意識的に知覚したか客観的に判定できる(Hayashi & Tanifuji, 2012)。

こうした要素技術を組み合わせ、一方の個体の知覚状態を読みだしたのち、電気信号に再コーディングし、他方の個体の脳に入力することで、二個体が同じ知覚状態を共有するシステムを実現するが、3月末までに皮質刺激系の実験の進展が見込まれる。

6. 肥後範行研究者 研究課題「大脳皮質への神経活動入力による機能回復促進」

評価結果： 課題目標は達成された。本研究の成果を考慮することにより、リハビリテーション医療などへのBMI技術の応用がさらに展開されることが期待される。

脳卒中などの脳損傷後、適切なリハビリ訓練を行うなどBMI技術による支援により機能が回復することは良く知られているが、機能回復メカニズム解明により、さらに有効な脳機能回復法の開発が期待される。例えば、近年、tDCSやTMSなどの新たな脳電気刺激法が注目されるが、その機能回復に及ぼす効果は必ずしも高くない。脳損傷後の機能回復メカニズムを知ることで、それに基づいた、より有効な脳電気刺激技術の開発が可能と考えられる。

本研究では、マカクザルを用い、脳損傷後のリハビリ運動訓練による手の把握動作回復の背景にある脳神経システムの変化を、神経生理学的、形態学的、遺伝子発現などの方法を用い、多角的に脳レベル縦断的に調べた。脳損傷後の機能回復期のPET計測では、損傷部周囲の第一次運動野・運動前野腹側部の両者において、機能回復に伴う活動変化が見られた。これら領域の活動を抑制すると、手の運動機能障害が再発し、この領域の活動変化が機能回復に必須であると考えられた。また、この領域では、運動機能の回復期に物体把握時に活動するニューロンが増加した。微小電気刺激による反応閾値上昇が起こっていることを

考慮すると、運動機能の回復に伴い、損傷周囲の神経細胞で本来の役割分担を越えた汎化が起こったことが示唆された。回復過程におけるタンパクおよび遺伝子発現変化としては、運動野直下の白質領域において、ミエリン鞘の形成に関わるタンパクの発現上昇が見られた。これから、ミエリン鞘の増加による運動出力線維の強化が、運動機能回復に関わると考えられる。DNA マイクロアレイを用いた網羅的遺伝子発現解析では、回復期(損傷後3ヶ月)において、損傷側半球の運動前野腹側部において、神経突起伸長や細胞接着など神経の構造変化に関わる遺伝子を含む数百種の遺伝子発現の変動が見られた。特に FGF17 や、SPP1 が、皮質脊髄路の起始細胞(把握機能に重要な役割を果たす)で特異的に発現し、機能回復に伴う発現変動がみられた。

本研究成果は、脳機能回復を促進するニューロリハビリテーション技術の開発等につながることを期待される。

7. 南本敬史研究者 研究課題「モチベーションの脳内機構と制御」

評価結果： 課題目標は達成された。当該研究者も述べたように、今後はモデルの拡張により、水獲得よりも高次のモチベーションに適用することが課題となろう。モチベーションを考慮した BMI 技術の展開に寄与することが期待される。

本研究は、モチベーション制御に関わる神経情報を解読し、外部から制御できれば、うつ病などの精神疾患の診断・治療への応用や学習・労働意欲の向上への道が開かれるとする考え方にに基づき、モチベーションの定式化を水摂取を報酬とするサル・モデル系でなされた。すなわち、「誘因」(外的要因)と「動因」(内的欲求)を区別し、これらに基づいてモチベーションを制御する神経機構のモデル化を行い、その脳内対応物の探索を PET など脳イメージング法を用いて行った。さらに動物モデルを用い、モチベーションを外部から制御することでモデルを検証した。

「動因」については、報酬獲得行動が血中浸透圧濃度で説明できることから、水分獲得行動のモチベーション制御モデルの生理学的妥当性が示された。さらに、浸透圧濃度を検出する脳部位との神経連絡を持つ前帯状皮質と島皮質の2領域の脳活動が、行動課題遂行中の動因変化と相関して変動することを見出し、動因の情報処理に関わる脳神経ネットワークの一部を同定した。「誘因」については、「報酬量」と「報酬のタイミング(報酬遅延)」の2つの誘因があり、その統合に外側前頭前野が関与する。この領域からの神経投射を持つ尾状核部位で、単一神経細胞活動を記録すると、これら2要因を統合して主観的な価値を表現している神経細胞が見出された。これは、モチベーションの情報表現の1段階前の情報であることが確認された。一方、甲状腺機能低下症モデルサルを新規に開発し、モチベーション低下には報酬価値に「関係する」/「関係しない」という2つ要因があることを示した。報酬価値と関係しないモチベーション低下は脳内セロトニン分泌低下に起因することが明らかとなった。一方、ハロペリドール(D2 受容体阻害剤)投与により引き起こされたモチベーション低下と、その D2 受容体占有率とが相関をもつことから、D2 受容体を介したドーパミン伝達により報酬価値に依存したモチベーションが調節される機構を明らかにした。

最終的に「システムレベルから分子レベルまで統合されたモチベーション制御モデル」の構築を目標としているが、目標の基本的な部分が達成され、残りの部分は3月末の研究期間終了までに完遂されると考えられる。モチベーションの定式化については期待以上の成果を上げたが、今後、さらに一般化がなされ、動機づけを考慮した BMI 技術が展開されることが期待される。

8. 渡部文子研究者 研究課題「情動記憶形成と消去を担う扁桃体局所回路の制御機構の解明と応用」

評価結果： 課題はほぼ達成された。研究成果に基づいて提案された仮説は興味深い。情動の制御に大脳が関与する場合に、BMI 技術で情動を制御することも可能となると考えられ、今後の BMI の展開の基礎として寄与することが期待される。

扁桃体は情動発現や情動依存的学習に中心的役割を担う。「情動」は BMI 技術適用の上で避けて通れない重要な課題である。分子生物学的、行動学的には多くの研究があるが、そのメカニズムの解明には至っていない。本研究は、扁桃体依存的学習である「恐怖条件付け」と「消去 (extinction)」に注目し、情動記憶の基盤となる扁桃体シナプス伝達の制御神経回路を明らかにした。

扁桃体のうち、外側外包中心核(CeC)ニューロンは、2つの経路の入力を受ける。1つは、侵害受容刺激(痛み)の中継核である腕傍核(PB)からの直接的な侵害受容入力、他方扁桃体基底外側核(BLA)から大脳などを介した間接的な侵害受容入力である。この2経路のシナプス伝達が恐怖記憶形成依存的に顕著なシナプス増強を起こすこと、この2つの経路のシナプス伝達は恐怖記憶形成後においてのみ有意な相関を示したことから、連合学習による異シナプス間相互作用がこの2経路の入力シナプス間に存在し、PBからの直接的な侵害入力が恐怖記憶形成によって大脳を介して可塑的に制御されることを示した(Mol. Brain 06:11,

2013)。このことから、扁桃体 CeC 核は痛みという「侵害受容」シグナルに「ネガティブな意味」を持つ情動的価値(負情動)を付加する「連合の場」であることを提案した。

CeC に注目し、恐怖記憶学習に際して、侵害性入力、大脳の制御を受けるメカニズムの1つを示したもので、情動の神経機構にとって重要な発見であると考えられる。可視化マウスの実験が現在、順調に進んでおり、3 月末の研究期間終了までに、さらに多くの知見が得られることが期待される。この研究を含め、情動の基礎研究は進みつつあり、これらのメカニズムを踏まえた BMI 技術の今後のさらなる展開が期待される。

10. 評価者

研究総括 川人 光男 (株)国際電気通信基礎技術研究所 脳情報通信総合研究所 所長

領域アドバイザー(五十音順。所属、役職は平成 25 年 3 月末現在)

伊佐 正 自然科学研究機構生理学研究所教授
 入来 篤史 理化学研究所シニアチームリーダー
 大須賀美恵子 大阪工業大学教授
 太田 淳 奈良先端科学技術大学院大学教授
 加我 君孝 国立病院機構東京医療センター・臨床研究センター名誉センター長
 片山 容一 日本大学教授
 神崎 亮平 東京大学教授
 西條 辰義 大阪大学教授
 佐倉 統 東京大学教授
 笹井 芳樹* 理化学研究所グループディレクター
 清水 公治 京都大学教授
 下條 信輔* カルフォルニア大学教授
 銅谷 賢治 沖縄科学技術大学院大学学園教授
 宮井 一郎 大道会森之宮病院副院長

*笹井 芳樹アドバイザー、下條 信輔アドバイザーは平成21年9月より参画、現在に至る。その他のアドバイザーは、すべて当初より参加。

(参考)

件数はいずれも、平成25年3月末現在。

(1)外部発表件数

	国内	国際	計
論文	34	60	94
口頭	188	76	264
その他	9	3	12
合計	231	139	370

(2)特許出願件数

国内	国際	計
4	0	4

(3)受賞等

- ・喜多村和郎
 文部科学大臣表彰 若手科学者賞(科学技術分野)(平成 22 年度)
- ・肥後範行
 (社)予防衛生協会 研究奨励賞(平成 21 年度)



(4)招待講演
国際 16 件
国内 74 件

「脳情報の解読と制御」領域 事後評価実施 研究課題名および研究者氏名

研究者氏名 (参加形態)	研究課題名 (研究実施場所)	現職(平成25年3月末現在) (応募時所属)	研究費 (百万円)
小川 宏人 (兼任)	実行動下動物における方向情報の 脳内表現と変換機構の解明と展開 (北海道大学理学部)	北海道大学理学部准教授 (同上)	44
鎌田 恭輔 (兼任)	脳機能画像と多チャンネル electrocorticogram 融合による言語機 能関連 BMI の開発 (旭川医科大学)	旭川医科大学教授 (東京大学医学部講師)	39
北城 圭一 (兼任)	リアルタイム TMS 制御による脳情報処 理の操作的検証 (理化学研究所)	理化学研究所ユニットリーダー兼フ クチームリーダー (副チームリーダー)	40
喜多村 和郎 (兼任)	感覚情報をコードする局所神経回路の 機能構築 (東京大学医学部)	東京大学医学部准教授 (東京大学医学部助教)	40
林 隆介 (兼任)	BMI を介した観察者間の知覚共有技 術の開発 (産業技術総合研究所)	産業技術総合研究所研究員 (理化学研究所研究員)	41
肥後 範行 (兼任)	大脳皮質への神経活動入力による機 能回復促進 (産業技術総合研究所)	産業技術総合研究所主任研究員 (同上)	40
南本 敬史 (兼任)	モチベーションの脳内機構と制御 (放射線総合医学研究所)	放射線総合医学研究所チームリー ダー (放射線総合医学研究所主任研究 員)	40
渡部 文子	情動記憶形成と消去を担う扁桃体局 所回路の制御機構の解明と応用 (慈恵会医科大学)	慈恵会医科大学講師 (同上)	40

研究報告書

「実行動下動物における方向情報の脳内表現と変換機構の解明と展開」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 平成 21 年 10 月～平成 25 年 3 月

研究者: 小川 宏人

1. 研究のねらい

様々な感覚入力の情報や運動出力情報は、個々のニューロンの活動だけではなく複数のニューロンの集団的な活動の時空間パターンによって表現されている。しかし、多くの研究では、1種類の刺激についての情報(視覚での光刺激の位置や方向、聴覚での音刺激のパターンや高低等)、特に各刺激の物理的な特性に関する表現がほとんどであった。しかし、実際に動物が行動する場合、多くの感覚入力からいろいろな情報を抽出・統合し、その結果をもとに特定の運動出力を決定する。その中でも、あらゆる動物にとって重要な感覚性の抽出情報の一つが方向である。動物にとって「刺激がどの方向からもたらされたか」という情報は、感覚の種類や刺激の質によらず抽出されなければならない。例えば、動物が捕食者の放つ特定の匂い刺激に対して負の走性を持つ動物は、常にその匂い刺激の濃度勾配の高い方向に捕食者の姿や近づく音を捉える経験を積むと、捕食者の姿や近づく音に対してもそれから遠ざかろうとする行動をとるようになる。この場合、学習が成立する鍵となるのは刺激の時間的関連性だけでなく、刺激から抽出された方向という情報の一致性である。この一致性を判断するためには、異なる種類の刺激から抽出された方向という情報だけを刺激から独立させて表現し、それらを照らし合わせる過程が必要となる。本研究が第一のねらいとするのは、この異なる刺激から抽出された「方向情報」の脳内表現様式を明らかにすることである。

このような感覚刺激から抽出された方向情報は、動物の移動運動の方向を決定する上でも重要である。ゾウリムシや線虫などのような単純な動物の場合、例えば繊毛打の逆転回数や定型的なターン運動の頻度を変えることで、光刺激の方向や化学物質の濃度勾配に対し“結果として”方向性を持った移動を行う。しかし、移動速度が速い昆虫や脊椎動物では、時々刻々運動の方向を修正するというよりも、「ある方向に歩こう、飛ぼう」という、一定の移動方向を決めた運動出力を企画・実行する。この場合、運動企画の要素である方向は感覚刺激から抽出された方向情報をもとに決定されるはずであり、脳内のどこかで感覚性の方向情報が運動企画の方向情報に変換・反映されなければならない。本研究の第二のねらいは、この運動性の「方向情報」の表現様式を明らかにし、感覚性情報から運動性情報への変換機構を解明することである。

2. 研究成果

(1) 概要

上記の研究のねらいに基づき、本さきかけ研究では、シンプルな脳神経系をもつコオロギをモデルとして、気流や音刺激の方向情報の神経表現と、それらの刺激によって誘発される歩行運動の刺激方向依存的制御に関与する神経機構の解明を試みた。

気流や音の感覚情報を脳に伝える上行性ニューロンの活動を解析したところ、気流応答性ニューロンは聴覚性ニューロンよりも高い方向選択性を示すものが多く、気流応答性ニューロンの多くは体軸の外側後方に選択性を持つものに対して、聴覚性ニューロンは比較的前方への選択性が高かった。これは感覚器官そのものの特性を反映した違いであると思われる。どちらの感覚系においても、刺激の方向情報は複数の上行性ニューロンによる集団活動によって符号化されていると考えられることから、上行性スパイクの全ユニットの刺激方向ごとの応答をデコードして、どの程度正確に刺激方向を予測できるかを検証した。その結果、気流感覚系は聴覚系よりもコーディング精度が高く、より少数のニューロンで方向情報を搬送していることが分かった。以上の結果から、方向情報をコーディングするニューロン群の規模はモダリティによって異なることが示唆された。また、気流応答性の上行性ニューロンの脳内投射領域において in vivo カルシウムイメージングを行ったところ、ごく近接した領域でもカルシウム応答の方向選択性が大きく異なることがわかった。これらの結果は、脳内では気流や音の方向情報はトポグラフィックに表現されていないことを示しており、これらの方向情報は、より高次のレベルで統合されている可能性が示唆された。

コオロギは短いエアパフに対して刺激から遠ざかる歩行を示すが、最初期の瞬間的な運動においても移動方向やターン角度は刺激方向に対して正確に制御されていた。この刺激方向依存的制御には脳からの下行性神経活動が必須であった。また、下行性ニューロンの気流刺激に対する神経応答には方向選択性を示すものが存在した。これらは脳内で気流刺激方向が抽出され、歩行運動の刺激角度依存的制御信号に変換されていることを意味している。さらに下行性神経活動はその応答性によって、方向制御、運動の開始、ターン角度、最初期運動持続時間などに関与するものなどに分類されたことから、運動の異なるパラメータは下行性ニューロンによって分担されて制御されていることが示唆された。

(2) 詳細

研究テーマ1 「気流刺激および音刺激の方向情報の表現様式の解明」

気流刺激および音刺激の方向情報が脳へ搬送する上行性ニューロン群によってどのように表現されているかを明らかにするため、それぞれの1次感覚ニューロンが投射する最終腹部神経節および前胸神経節から伸びる腹側縦連合の両側の求心側切断端から、全ての上行性スパイクを吸引電極で記録した。0.31m/s 定常流エアパフまたは 10kHz トーン音をそれぞれ 8方向から 200ms 与えた時の応答を、波形相互相関解析法により片側の記録につき 80~100 のユニットに分離した。各方向に対するそれぞれのユニットの応答から、特定のタイムウィンドウにおけるスパイク数をカウントし、それを最大応答方向で規格化して方向選択指標値 (Direction Selectivity Index: DSI) を算出した。また、各ユニットの応答データを基に Leave-one-out cross validation (LOOCV) 法によって方向予測の正答率を解析し、さらに複数のユニットの応答から予測した正答率が最大になるニューロン群を推定した。その結果、最大正答率は気流刺激が約 75% であるのに対し、音刺激では約 55% にとどまった。また、最大正答率が得られるタイムウィンドウは、気流刺激が刺激開始から 50ms~250ms、音刺激は 0ms~150ms であった。各読み出し時刻における正答率の推移については、気流刺激の場合、刺激開始から正答率は徐々に上昇し、200ms でほぼピークに達した後、300ms ぐらいまで

正答率はほとんど変わらなかった。一方、音刺激に対しては、刺激開始後 50ms でほぼピークに近い正答率を示した。以上の結果は、気流感覚は方向情報のコーディング精度が高いが、高い精度を得るために遅延を持ったやや長いタイムウィンドウが必要であるのに対し、聴覚では精度は低いが、刺激直後から最大値に近い精度の方向情報をコードしていることを示している。また、最大正答率が得られるニューロン集団の細胞数は、気流刺激では約 16 個、音刺激では約 24 個であり、いずれも正答率の高い時間帯ではニューロン集団を構成するユニットはほとんど入れ替わらなかった。すなわち、どちらの感覚においても 100 個以上の上行性ユニットのうち、30 個以下の特定のニューロン群が方向情報のデコードに用いられていると考えられる。特に気流方向情報をコードすると思われる上行性ニューロン数(16個)が、これまでに同定されている巨大介在ニューロン数(8タイプの Paired neuron)と一致したのは興味深い。さらに、それぞれの感覚で方向情報をコードしているニューロン群を構成する個々の細胞の応答特性を比較したところ、気流応答性ニューロンでは DSI が高いのに対して、聴覚性ニューロンでは DSI よりも方位選択性(Orientation Selectivity Index: OSI)が高かった。脳内における聴覚性の刺激方向の抽出は、気流感覚とは異なるデコーディング手法で行われている可能性がある。

次に、in vivo カルシウムイメージング法を用いて、機械感覚性上行性介在ニューロンが投射する前大脳腹側葉(Ventro-lateral neuropile: VLNP)領域の気流応答を解析した。その結果、いくつかの細胞体と思われる狭い領域で、気流刺激に伴うカルシウム上昇が観察された。領域ごとにカルシウム応答の時間変化や方向感受性が異なるだけでなく、特定の方向に対して蛍光強度が減少(カルシウム濃度が減少)する反応も観察された。これは上行性ニューロンではほとんど観察されなかった応答であり、また刺激終了後も持続した応答もみられたことから、より高次の気流情報処理に関与する介在ニューロンの活動であると思われる。しかし、細胞体位置と方向感受性に相関は認められなかった。そこで、これらの介在ニューロンの活動をより詳細に解析するため、タングステン電極を用いて VLNP の異なる複数個所から細胞外記録を行った。どの部位からの記録も 15~20 のユニットに分離された。分離されたユニットの方向感受性を解析したところ、全ユニットの 70~80%が全ての方向に対して興奮性の応答を示し、残りのユニットはすべて8方向のうちいずれかの方向に対してスパイク発火が減少する抑制性の応答を示す興奮/抑制混合型であった。これはカルシウムイメージングの結果と一致する。また、その方向感受性は DSI が高い単方向選択型と OSI の高い双方向選択型がほぼ同じくらいの割合で存在したが、方向感受性やチューニングカーブの形状(型)に記録個所による特異性は認められなかった。以上の結果から、気流の方向情報は VLNP 領域ではトポグラフィックに表現されていないと考えられる。脳内での気流刺激の方向情報は上行性ニューロンにみられるようなポピュレーション・コーディングではなく、単一細胞レベルで符号化されている可能性があり、それを明らかにするためには個々のニューロンからの細胞内記録によるより詳細な解析を行う必要がある。最後に、脳内の細胞外記録で得られたデータを上行性ニューロンと同じ手法で解析したところ、正答率の高い時間は、より刺激開始から遅い時刻の広いタイムウィンドウに広がっており、最大正答率を出すユニット数は1記録部位につき 5~7 ユニットであった。したがって、コーディング精度による予測結果も、脳内ではより少数のニューロンによって方向情報が表現されていることを示唆しており、しかもその活動は刺激

終了後も一定時間保持されていると考えられる。

研究テーマ2 「気流誘導性歩行運動における刺激方向依存的制御の神経機構の解明」

コオロギが感覚刺激の方向情報に基づいて、自身の運動をどのように制御するのかを明らかにするため、運動をモニタするトラックボール型トレッドミルシステムを用いて、気流誘導性歩行における移動方向、移動速度、体軸角度、ターン角速度を 1 kHz で計測した。停止しているコオロギに周囲8方向に配置したノズルから定常流エアパフ刺激(0.62m/s・200ms)を与えると、歩行速度およびターン角速度は運動開始から 500~600 ms でいったん停止近くまで減少し、そのまま停止するかもしくは再び運動を継続した。この刺激直後の最初期反応の終了時における歩行方向(y)とターン角度(θ)を刺激角度(x , ただし反応とは左右前後が逆)に対してプロットすると、歩行方向は $y = x$ の直線で、またターン角度は $\theta = k \sin x$ の正弦波状の曲線で近似された。これは、刺激直後の最初期反応においても歩行方向・ターン角度ともに刺激角度依存的に制御されていることを意味している。さらに、刺激持続時間を 50, 100ms にすると、最初期反応における歩行方向は 200ms のときと同様に刺激角度依存性を示したのに対し、ターン角度は刺激角度によらず0に近づいた。刺激開始から歩行開始までの latency は刺激角度によらずほぼ 70~90 ms であることから、歩行方向は 50 ms 以内の刺激に含まれる方向情報で制御可能であるが、体軸角度制御には少なくとも歩行開始時まで刺激を受容することが必要であることが分かった。これは、歩行方向と体軸角度制御に用いられる刺激の方向情報の量や質が異なることを示しており、それぞれの情報が別のニューロンによって搬送／処理されている可能性が示唆された(Ogawa and Oe, 2011 SfN abstract)。

脳からの下行性ニューロンの軸索が走行する腹側縦連合を一部切断したところ、歩行方向およびターン角度の刺激角度依存性は失われた。したがって、気流誘導性歩行における刺激角度依存的な運動制御処理は脳内の神経回路で行われており、その実行には下行性神経信号が必須であると考えられる(Ogawa and Oe, 2012 SfN abstract)。そこで、頸部腹側縦連合の片側を切断し、その遠心側断端から下行性スパイクを計測して、その気流応答性を調べた。その結果、下行性スパイクは 50~60 のユニットに分離され、そのうち 80%が気流応答性を示した。これらのユニット群は自発性活動の有無や発火パターンから4タイプに大別された。Sparse 型は発火頻度が低いが高い DSI を示すユニットが多く、前方を除く全方向に対する選択性をもつものが含まれることから、最初期反応の刺激角度依存的な移動方向をコードすると考えられる。Transient 型は刺激に対して一過性の高頻度発火を示すが、DSI が低く後方からの刺激に比較的大きな感受性を持つものが多いことから、歩行運動のトリガもしくは最初の駆動力の発生に関与している可能性がある。刺激期間中、高頻度発火が持続または上昇し続ける sustained 型は、その発火頻度ピークのタイミングによってさらに2タイプに分類された。刺激終了時にピークが一致する sustained I 型は最も刺激持続時間に依存した情報をコードしていると考えられる。また、DSI はそれほど高くないが、記録側からの刺激に比較的高い感受性を持つことから、最初期反応で制御されるターン角度をコードしていると予想される。一方、刺激終了後も発火が持続してピークを迎える sustained II 型は、記録側と同側の刺激に感受性を持つことから、最初期反応における歩行時間もしくは運動の持続に関与することが示唆された。すなわち、下行性ニューロンは運動制御の異なるパラメータを分担していると

考えられる。さらに、頸部腹側縦連合からの逆行性染色により、脳内の下行性ニューロンの細胞体は4つのクラスターに分布することがわかった。トレッドミル上で歩行するコオロギの前大脳からカルシウムイメージングを行ったところ、特に Lateral accessory lobe (LAL) 領域から運動開始に先行したカルシウムシグナルが観察された。LAL 領域のクラスターに存在する下行性ニューロンは運動開始に関与している Transient 型の可能性がある。

研究テーマ3 「光活性型イオンチャネル操作による刺激方向依存的制御機構の検証」

歩行運動における方向制御やターン運動制御に関与する下行性ニューロンの機能を検証するため、これらのニューロンへの光駆動型イオンチャネル Channel-rhodopsin 2 (ChR2)の発現を試みた。まずフタホシコオロギ由来の actin promoter (*Gb-act*)の下流にEGFPをつないだDNA プラスミドを脳内へマイクロインジェクションし、エレクトロポレーターを用いて遺伝子導入を行ったところ、最大で 100~200 個の細胞で蛍光タンパク質を発現させることに成功した (Matsumoto et al., 2013 投稿中)。これは、コオロギをはじめとする直翅目昆虫でニューロンへ外来遺伝子を成功させたはじめての報告である。さらに、エレクトロポレーションの電圧パルスのパラメータや電極位置、プラスミドの注入位置を工夫することによって、脳内の局所的な領域で GFP を発現させることができた。すなわち、我々の開発した手法は、特定のプロモーターを使用することなく、狙った領域のニューロンに遺伝子導入を行うことが可能であり、特に分子生物学的な研究が進んでいない非モデル動物では有効である。これまでに、GFP のほか、ChR2 や遺伝子コード型カルシウムセンサーである Cameleon 3.6 の発現にも成功した。残念ながら、本研究期間中に光刺激による下行性ニューロンの機能検証を行うことはできなかったが、今後、下行性ニューロンの各クラスターに特異的に ChR2 を発現させたコオロギに光刺激を与え、それによって運動を誘発できるか、また歩行運動を制御できるかを検証したい。

3. 今後の展開

本研究は、昆虫の移動運動が単純な反射の連鎖ではなく、刺激に関する緻密な空間情報処理とそれに基づく運動制御によって実行されていることを示した。この研究成果は、より少数のニューロンによる神経回路で複雑な随意運動を制御できる可能性を示唆しており、BMI 技術によって脳情報から運動制御を実行する際のシステム設計に有効な手掛かりを与えることが期待できる。今後は、脳内の刺激方向情報を抽出する神経回路と運動制御に関与する下行性ニューロンへの接続をより詳細に解析し、感覚刺激情報の抽出～処理～運動制御を行う神経システムの全容を同定細胞レベルで明らかにしていく。

4. 自己評価

研究のねらいの第1項目に対しては、研究テーマ1での成果が位置づけられる。上行性ニューロンのコーディング様式については、気流感覚と聴覚で詳細に比較することができたが、脳内で方向情報をデコードするシステムについては、当初予想した刺激方向を表現する空間マップが得られず、それに代わる新たな仮説を提唱するデータを得るには至らなかった。研究のねらいの第2項目に対しては、研究テーマ2および3の成果が位置づけられる。下行性ニューロンによる制御について興味深いデータが得られたが、実際の運動時の計測データが不十分であったため、細胞レベルでの機能同定には至らなかった。その理由として、下行性ニューロンの多くが脳の深

部か後方側に存在したために、脳前面から行う運動中のイメージングでは、下行性ニューロンのシグナルを得ることができなかつたことがあげられる。また、研究テーマ3については、トランスジェニック動物の作成を2年間にわたって試みたが成功せず、3年目にエレクトロポレーションに切り替えてようやく遺伝子導入に成功した。もう少し早く手法を切り替えていれば、ChR2による検証実験を研究期間中に行うことができたかもしれない。研究期間全体を通して、当初の研究計画の70%程度は達成できたのではないかと考えている。

5. 研究総括の見解

課題目標をほぼ達成した。少数のニューロンによる感覚・運動系を実験的に解明し、BMI技術の設計に生かす上での手がかりとなることが期待される。

本研究では、脊椎動物より単純な体制を持つが、ゾウリムシ等よりはるかに複雑な行動様式を持つ昆虫を用い、行動の方向選択性の神経制御機構を、気流／音刺激、電気生理学的測定／カルシウムイメージング測定等を用い、トラックボールを導入する等の工夫した実験系により *in vivo* で運動中に解明した。シンプル系を用いることにより、感覚から行動に至る神経情報変換機構を体系的に把握することが期待される。

気流に対する歩行運動は、移動方向やターン角度などの運動パラメータが刺激方向に対して正確に制御されており、それには脳からの下行性神経活動が必須であることを見いだした。感覚系では、上行性気流ニューロンは10-20個の少数のニューロンで精度の高い方向情報を搬送することが示された。気流系の上行性ニューロンの直接の脳内投射領域では、*in vivo* カルシウムイメージングを行い、ごく近接した領域でもカルシウム応答の方向選択性が大きく異なり、この脳レベルでは方向情報はトポグラフィックに表現されず、より高次のレベルでの統合が示唆された。運動系では、短いエアパフに対する応答では、最初期から運動方向やターン角度は刺激方向に対して正確に制御されていた。脳内で気流刺激方向が抽出され、歩行運動の刺激角度依存的制御信号に変換されたと考えられる。下行性神経活動はその応答性により、方向制御・運動開始・ターン角度・最初期運動持続時間などに関与するものに分類された。

少数のニューロンによる神経回路で複雑な随意運動を制御できることを実態的に示したもので、BMI技術によって脳情報から運動制御を実行する際のシステム設計について手掛かりとなることが期待される。

6. 主な研究成果リスト

(1) 論文(原著論文)発表

1. **Ogawa, H.**, Kagaya, K., Saito, M. and Yamaguchi, T. (2011)
Neural mechanism for generating and switching motor patterns of rhythmic movements of ovipositor valves in the cricket. *J. Insect Physiol.* 57: 326-338
2. **Ogawa, H.**, Kawakami, Z. and Yamaguchi, T. (2011)
Proprioceptors involved in stinging response of the honeybee, *Apis mellifera*. *J. Insect Physiol.* 57: 1358-1367
3. Suzuki, M., Kimura, T., **Ogawa, H.**, Hotta, K. and Oka, K. (2011)

Chromatophore activity during natural pattern expression by the Squid *Sepioteuthis lessoniana*: Contributions of miniature oscillation. *PLoS ONE* 6: e18244

4. Baba, Y., Tsukada, A. and Ogawa, H. (2010)

Sexual dimorphism in shape and distribution of GABA-like immuno-reactive neurons in cricket terminal abdominal ganglion. *Zool. Sci.* 27: 506-513

(2)特許出願

研究期間累積件数:0件

(3)その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

1. 著書

Ogawa, H. and Miller, J.P. (In Press) *In vivo* Ca²⁺ imaging of neuronal activity. In: Methods in Neuroethological Research. Ogawa, H. and Oka, K., eds. Springer Japan, Tokyo.

2. 国際会議招待講演

1) Ogawa, H. (2011)

Directional-dependent plasticity in neural and behavioral responses to air currents in the cricket. (2011年5月31-6日5日 8th International Congress of Comparative Physiology and Biochemistry・Nagoya)

2) Ogawa, H. (2012)

Neuronal mechanism for directional-dependent plasticity in wind-evoked walking behavior of the cricket. (2012年3月18-3日23日 The 2nd International Conference on the Cricket / RNAi Symposium for Medicine-Agriculture-Engineering Collaboration Project Joint Meeting・Tokushima)

3) 国際会議発表

1) Ogawa, H., and Oe, M. (2012)

Distinct role of identified giant interneurons in directional control of wind-evoked walking behavior in the cricket. (2012年10月13-17日 42th Annual Meeting of Society for Neuroscience・New Orleans)

2) Ogawa, H., and Oe, M. (2011)

Neural control of walking orientation and body-axis angle in wind avoidance behavior in the cricket. (2011年11月12-16日 41th Annual Meeting of Society for Neuroscience・Washington, DC)

研究報告書

「多チャンネル ECoG による言語機能関連 BMI の開発」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 平成21年10月～平成25年3月

研究者: 鎌田 恭輔

1. 研究のねらい

硬膜下電極により計測できる脳表電位(ECoG)は、脳波、脳磁図(MEG)、機能 MRI(fMRI)に比して、高い信号強度と空間-時間分解能を有することが知られている。このため硬膜下電極による ECoG 信号を解読して brain-machine interface (BMI)操作に応用する研究に注目が集まっている。しかし、ヒト頭蓋内に長期間多くの電極を留置することは、被験者への負担・侵襲が大きいため、てんかん外科専門医などの限られた医師のみが診断目的で行うことができる。また感染のリスクもあるため倫理的観点からみても長期間の留置は現実的ではない。これに反して、より広い領域から高い信号・雑音比の脳情報を検出することも decoding 精度が高めると期待される。このため、電極留置前に BMI 遂行目的に合わせた脳部位を非侵襲的方法で同定し、必要領域近傍部に電極を留意することでより効率的な ECoG decoding と BMI との融合が可能になるものと期待できる。

この目的のためには、まず1, 硬膜下電極留置により、運動、言語機能マッピング(皮質電気刺激; ECS)、運動、言語、記憶関連課題により誘発される認知 ECoG 計測を行う。2, 同様の課題を用いて fMRI による非侵襲的脳機能局在を行い、結果は皮質電気刺激マッピングと比較検討を行う。3, ECoG は脳の電気活動を高い信号・雑音比と広い周波数帯域でとらえるため、高周波数帯域の分析(γ 帯域の増加、 β 帯域の減少)などを脳活動全体とそのネットワーク解析を行う。これには従来の加算波形だけではなく、時間-周波数解析を用いて部位別基礎周波数、位相の違いも検討する。4, 脳表の前頭-側頭葉全体を広く電極で覆うため脳表全体の電氣的活動変化を画像化することができる。また、その結果を脳機能画像法、脳表電気刺激により比較検討して、適切な高次認知機能誘発課題を作成していく。4, 広範な領域に留置している硬膜下電極の ECoG を用いてカーソルのコントロールから始め、P300 Speller を含む音声出力、文字提示などのコミュニケーション関連 BMI と融合を行う。5, BMI のコントロールに必要な電極数、位置、信号パターンを決定していく。6, ECoG による BMI コントロールに必要な条件をもとに、非侵襲的脳機能画像の結果との整合性を検討する。この結果 BMI に重要な脳領域の検出に適した課題、データ処理方法の改良を行う。

2. 研究成果

(1) 概要

48 例の難治性てんかん症例に 60-120 チャンネルの電極を埋めこみ ECoG 計測を行った。課題は異なる hand pose 運動課題、認知課題は単語、図形(弁別)、顔(認知)視覚認知、さらに“物語を聴く”-“Robik cube を解く”-“物語を読む” -“数を数える”課題を 15 秒間つづ繰り返しをリアルタイム脳機能マッピングに用いた。さらに提示図形の有無の判断する記銘課題を最後に行った。ECoG 計測は NeuroMaster(256ch: 日本光電)と gAMP(64ch., g-Tec)を購入して 1000Hz のサンプリング周波数以上のデータ取得を可能とした。さらに1コンピュータで刺激

提示、データ保存、リアルタイムデータ処理が可能なシステムを構築した。(1) 言語課題 fMRI と ECS との結果を比較して fMRI 信頼性について検討を行った。(2) ECoG は高周波律動 (60-120Hz; HGA) が統計学的に有意な領域、潜時を解析した。判別関数は Linear Discrimination Analysis (LDA)、Support Vector Machine (SVM)を用いた。(3) SPM8を用いて個人 MRI 脳を標準化し、その変換関数を用いて個人頭部 CT(電極)に同様の座標変換を行った(Normalization)。Normalization の結果から判別への重み付けを行うことで判別精度の向上を検討した。この Normalization 法で ECoG と文字読み fMRI を標準脳上に重畳して、fMRI 活動と HGA ダイナミクスとの関係を調べた。(4) 記憶課題を含めた高次脳機能関連 HGA ダイナミクスを可視化した。[結果] (1)文字読み fMRI はすべて前頭葉優位に活動を認めた。ECS による前頭葉 fMRI の比較では、fMRI の感度 86%、特異度 60%程度であった。(2) 一次運動野周辺電極を用いて LDA による hand pose の判別では、92%の精度であった。側頭葉底部の3電極の HGA の増加に着目して視覚反応判別を行ったところ“仮名” 88%、“顔” 82%、“アラビア語” 57%であった。精度向上のため、normalization 結果から8つの特徴量を設定したところ仮名・“顔”・“アラビア語 (chance rate 33.3%)では 80%以上の正答率となった。Normalization による重み付けは decoding 精度の向上に寄与するものと考えられた。(3) HGA-normalization と同様の課題による fMRI の比較検討では、前頭葉と側頭葉言語野の HGA-fMRI ダイナミクスを比較した。文字提示後上側頭回が活動した後 400-600msec に Inferior frontal gyrus(IFG)に HGA が現れるのが特徴的であった。しかし、図形名称課題では IFG にはほとんど活動を認めなかった。それぞれ特徴的な経時的、空間的 HGA 変化を認めた。特に fMRI 活動を強く認めた前頭葉は HGA が、側頭葉に比して刺激提示後 1500msec まで長く出現していた。(4) 記憶課題に関連した HGA は左右に分離して検出された症例は10例あった。HGA のある側の海馬を切除した4例中3例で記憶力障害が出現した。一方、HGA のない側の手術した6例ではすべて記憶力障害は現れなかった。記憶課題により誘発された側頭葉内側部 HGA は記憶機能予後を強く予測する指標となる可能性がある。

(2) 詳細

研究内容1: ECoG による高次脳機能マッピング

頭蓋内脳表電極留置を用いて、単純・複雑な視覚刺激の認知課題により誘発される皮質電位(認知 ECoG)計測を試みた。認知 ECoG の刺激別による ECoG 反応パターンの違いを解読し、言語機能関連 BMI 開発に応用を目指す。視覚刺激はモノクロのストライプ、単語、図形(弁別・記憶課題)、顔(認知)を用いた。SPM8を用いて個人 MRI 脳を標準化し、その変換関数を用いて個人頭部 CT(電極)に同様の座標変換を行った。この ECoG 標準化により高密度電極分布表示し認知課題別の HGA のダイナミクスプレートを作成した。また、視覚・聴覚刺激、トリガータイミング、ECoG 計測、特徴量抽出、クラス分けをリアルタイム処理を行う closed loop の神経機能解読装置を作成した。自動判別関数は LDA, SVM を用いた。

結果:輝度を揃えた異なる視覚刺激では、側頭葉底部の電極で最も異なる反応を認めた。ストライプでは後頭極付近のみ、顔認知では側頭葉底部を広く、かつ外側にまで HGA が広がる。文字読みでは後頭極-側頭葉内側部への HGA の広がりを認めた。左右に電極留置した患者では顔認知では右底部、文字認知では左底部が有意な HGA を認めた(図 1)。標準脳では文字提示後上側頭回に 400-600msec に HGA が現れ、600msec 付近で Inferior frontal

gyrus(IFG)に活動が移るのが典型的であった(図2)。しかし、図形名称課題ではIFGにほとん

図1

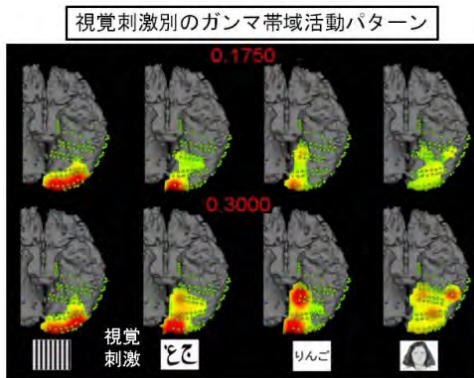
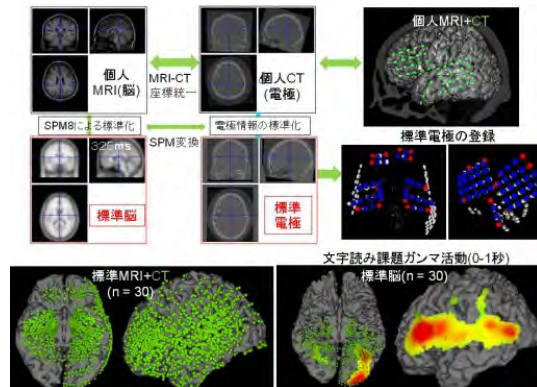


図2



ど活動は認めなかった。それぞれ特徴的な

経時的、空間的 HGA 変化を認めた。側頭葉底部の電極を用いた視覚課題クラス分けは、側頭葉底部の3電極の HGA の増加に着目して視覚反応判別を行ったところ“仮名” 88%、“顔” 82%，“アラビア語” 57%であった。精度向上のため、normalization 結果から8つの特徴量を設定したところ“仮名” 95%，“顔” 88%，“アラビア語” 88%と向上した。

また、Primary motor cortex 上の電極を用いて3種類の hand pose クラス分けにおいても90%以上の正答率であった。解析時間は1-2秒を要した。

研究テーマ2: 標準化 ECoG-HA と fMRI-BOLD との比較

次に脳機能研究では最もポピュラーな手法である fMRI と ECoG による電気生理現象を比較した。標準脳において言語課題 fMRI の有意な Blood Oxygenation Level Dependent (BOLD) の上昇のある ECoG 電極を選択して、HGA と BOLD を比較した。両者間には正の相関 ($R=0.57$) を認め、前頭葉と側頭葉 ECoG 電極間では HGA のピーク値は違いなかった。しかし、前頭葉では HGA が側頭葉(600ms 以内)に比して 1000-1500ms と有意に長く時間現れていた(図3)。

文字読み課題下の前頭葉-側頭葉
ガンマ帯域成分(HGA)ダイナミクスの違い

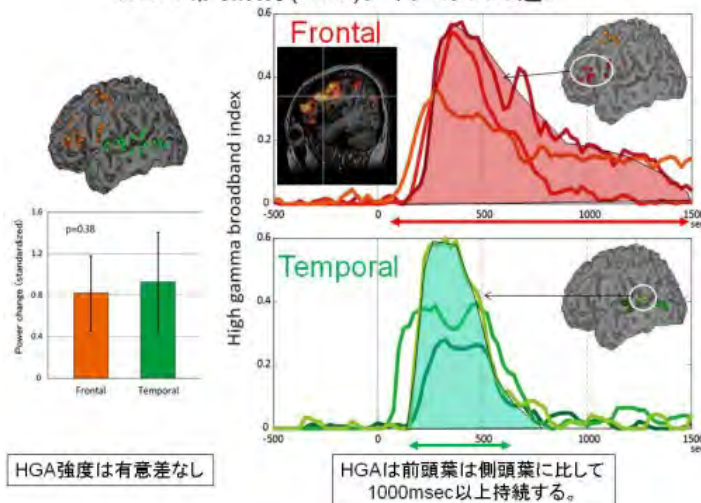


図3

この違いはfMRI解析上で前頭葉活動が側頭葉に比して活動が強い、優位性を示唆する所見であった。fMRIによるBOLD信号の脳機能解析への応用は、実際の電気的活動のダイナミクスを考慮することが重要かつ、さらに正確な脳信号解読につながると期待できる。

研究テーマ3: 記憶課題 ECoG の画像化と検証

ECoG は内側側頭葉活動を検出できる唯一の方法である。記憶課題負荷下で内側側頭葉部:海馬、海馬傍回近傍部に潜時 600ms 付近に HGA を認めた。この HGA の出現している海馬側を手術した患者は4例全例で記憶力障害が出現した。一方、HGA の出現していない側の手術例 5 例では記憶力障害は現れなかった。海馬 HGA は記憶機能と強く関連している可能性があった。さらに記憶課題において提示図であると被験者が判断したときに、特異的に HGA が上昇していた(図 4)。一方、聴覚 P300 を行ったが HGA は出現せず、海馬 HGA は注意というよりも、記憶力と強く関連していることが示唆された。P300 の起源は海馬にあるとの報告があるが、我々の検討では記憶課題でのみ海馬に HGA を認めた。HGA 以外の周波数帯域の検討を今後行う予定である。また、判断に関連して HGA が海馬で増加することで、被験者の認知状態を解読することができる可能性がある。

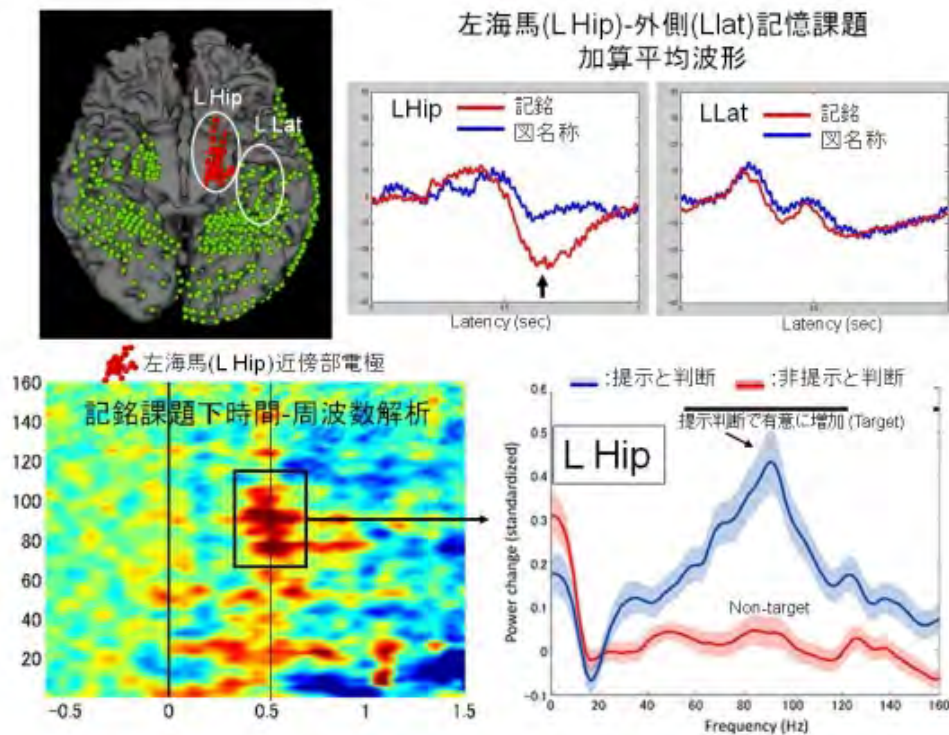


図4

3. 今後の展開

HGA は脳機能ダイナミクスを解明する上で極めて有用な情報を提供することが証明できた。コンピュータ、ソフトウェア等の進歩に伴う計測・解析技術を応用することで HGA に着目した Real-time brain mapping ソフトウェアを臨床応用につなげていく(図6)。

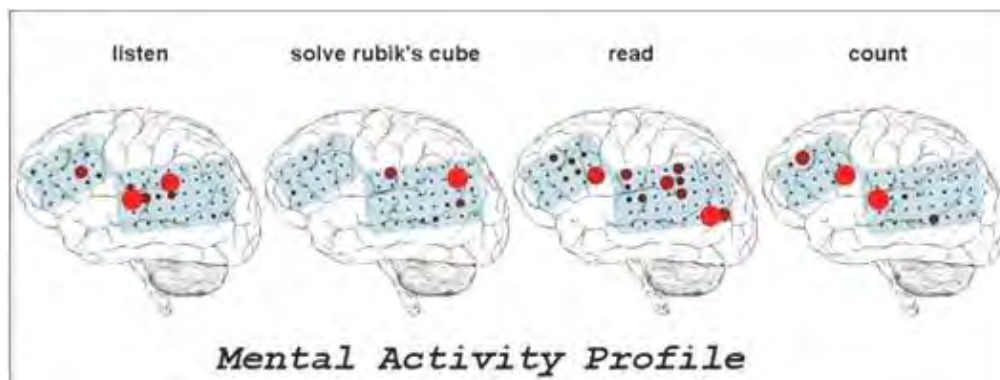


図6

本研究を介して、外部との研究交流が確立してきた。

g-Tech 社(オーストリア)とリアルタイムマッピング、decoding 可能なシステム、装置の共同開発中を開始した。また、AJS(日本)と脳表の脳機能、脳血流画像解析ソフトの共同開発中である。

4. 自己評価

本研究では多チャンネル ECoG による言語機能関連 BMI の開発を目指してきた。まず ECS により fMRI は感度はいまだ正常脳機能を正確に反映するには至っていないことを証明できた。次に様々な視覚刺激を提示した ECoG を時間-周波数解析による患者毎の HGA ダイナミクスを画像化した。さらに空間分解能の向上が倫理上困難であった ECoG 電極位置を標準化することで高密度の ECoG テンプレートの作成ができた。このテンプレートを用いることで脳機能解読精度が向上した。さらに fMRI-HGA の標準化により、文字認知課題における HGA ダイナミクスと fMRI 信号の広がりについて解明した。また、脳深部である内側側頭葉が関連している記憶関連機能の検出に成功した。今まで海馬、海馬傍回の記憶関連機能に関する報告はなく、この記憶関連機能に関する潜時、周波数、ダイポール、電流方向などの詳細な検討が神経科学上も極めて貴重である。さらに、HGA に着目したリアルタイムマッピングシステムによりさらに脳機能ダイナミクスを詳細に捉えることが可能となる。高速の判別関数、脳機能テンプレートを用いることで、リアルタイム脳機能解読に結びつく可能性が期待できる。

その一方で、側頭葉底部を中心とした視覚課題には、各文字、図形などを具体的に解読するまでには至らなかった。側頭葉のみならず後頭葉の信号検出も必要も考慮されるが、その倫理的観点から現段階では不可能である。この限界を超えるためには、現在脳波を基本として用いられてい P300 speller システムと ECoG を融合することが、臨床応用への早く結びつくものと考えた。

5. 研究総括の見解

課題目標は概ね達成された。ECoG 電極による表面電位について膨大なデータを用い、精度の検証、侵襲型 BMI の開発に大きな寄与をなしたと考えられ、高く評価したい。

硬膜下電極により計測する脳表電位(ECoG)は、脳波、脳磁図、fMRI に比して、高い信号強度と空間-時間分解能を有し、BMI 操作に有利であるが、ヒト頭蓋内に長期間多くの電極を留置することは、被験者への負担・侵襲が大きく、感染のリスクもある。一方で、広い領域から高い信号・雑音比の脳情報を検出することにより解読精度が高まることが期待される。本研究では、脳外科医である当該研究者が、治療の目的で、手術部位の同定のために ECoG 電極を用いた際に得られたデータを活用し、これまで通常使われているfMRIと比較し、その妥当性を検討した。

高い信号・雑音比を得るために、高周波数帯域の分析(γ 帯域の増加、 β 帯域の減少)により、脳活動全体とそのネットワーク解析を行い、BMIのコントロールに必要な電極数、位置、信号パターンを決定し、ECoGによるBMIコントロールに必要な条件をもとに、非侵襲的脳機能画像の結果との整合性を検討した。個体差を克服するために、SPM8を用いて個人MRI脳を標準化し、その変換関数を用いて個人頭部CT(電極)に同様の座標変換を行い、判別への重み付けを行い、判別精度を向上させた。これらの結果により、ECoGの有用性が示された。特に標準化による重みづけはデコーダ性能の向上に寄与することが示された。硬膜下電極と比較すると、他の侵襲型電極は脳内に電極を刺入するため、リスクが大きい。硬膜下電極を用いるECoGが、これらの方法に匹敵する精度を持つことが示されたことにより、BMIに侵襲的手法を用いる必要がある場合、硬膜下電極が強い選択肢となる。

以上、本研究は硬膜下電極を用いる脳表電位について、新しい技術を開発しながら、系統的な検証を行い、BMIに活用するための重要なデータを提供した点に大きな意義がある。

6. 主な研究成果リスト

(1) 論文(原著論文)発表 *: Corresponding author

1: Kunii N, Kamada K*, Ota T, Kawai K, Saito N. Characteristic profiles of high gamma activity and blood oxygenation level-dependent responses in various language areas. *Neuroimage*. 2013 Jan 15;65:242-9.

2: Kunii N, Kamada K*, Ota T, Greenblatt RE, Kawai K, Saito N. The dynamics of language-related high-gamma activity assessed on a spatially-normalized brain. *Clin Neurophysiol*. 2013 Jan;124(1):91-100.

3: Kunii N, Kamada K*, Ota T, Kawai K, Saito N. A detailed analysis of functional magnetic resonance imaging in the frontal language area: a comparative study with extraoperative electrocortical stimulation. *Neurosurgery*. 2011 Sep;69(3):590-6; discussion 596-7.

4: Kin T, Shin M, Oyama H, Kamada K, Kunimatsu A, Momose T, Saito N. Impact of multiorgan fusion imaging and interactive 3-dimensional visualization for intraventricular neuroendoscopic surgery. *Neurosurgery*. 2011 Sep;69(1 Suppl Operative) 40-8.

5: Koga T, Shin M, Maruyama K, Kamada K, Ota T, Itoh D, Kunii N, Ino K, Aoki S, Masutani Y, Igaki H, Onoe T, Saito N. Integration of corticospinal tractography reduces motor complications after radiosurgery. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*.



2012 May 1;83(1):129-33.

(2)特許出願

研究期間累積件数:1件

1.発明者: 鎌田 恭輔
発明の名称: 電極付きフェンスポスト
出願人: 旭川医科大学
出願日: 2012/5/9
出願番号: 2012-107219

(3)その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

研究報告書

「リアルタイム TMS 制御による脳情報処理の操作的検証」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 平成21年10月～平成25年3月

研究者: 北城 圭一

1. 研究のねらい

我々が感覚情報を処理して反応するためには感覚器からの連続的な情報を視覚野、体性感覚野、聴覚野等の機能分化した複数のモジュールで処理し、リアルタイムで文脈に応じて柔軟にモジュール間で情報を統合して知覚情報処理と運動出力を行う必要がある。これらの脳のモジュール群は神経活動パターンとして表現される動的神経回路を形成して機能的な情報処理を行っていると考えられる。これに関して、脳活動の振動同期ネットワークと脳機能との相関が実験研究報告により示唆されている。しかし脳の動作原理としての神経活動の振動同期は興味深い現象ではあるが脳機能に必須なものではなく随伴的なものであるとする意見もあり、脳機能と振動同期ネットワークの直接の因果関係はいまだに示されているとはいえない。これは脳活動のイメージング手法による研究の限界で、脳活動と脳機能の相関関係のみしか示すことができないためである。そこで、本研究では TMS によりリアルタイムでヒト大脳皮質の振動同期ネットワークに操作的に干渉することにより振動同期パターンを変化させ、脳波でそのパターンを同時測定し、振動同期ネットワーク活動と脳機能との因果関係を調べる。これにより脳活動の振動の位相同期という神経回路ダイナミクスが文脈依存的な知能、脳機能に必須な動作原理であるかについて検証する。

特にヒトの知覚的情報処理に関連する神経回路の振動の位相同期ダイナミクスに注目し、脳の動的ネットワークとして形成される機能的なモジュール群の振動活動を状態依存的にリアルタイムに制御し、位相同期ダイナミクスと知覚状態の因果関係を操作的に検証するシステム神経科学的手法を開発し、因果関係を実証することを目的とする。

2. 研究成果

(1) 概要

3つの研究テーマを主に進めた。

まず「リアルタイム脳波フィードバック TMS 制御システムの開発と TMS-脳波測定による脳状態依存的な振動位相リセットとその大域的伝搬パターンの解析」を行った。

リアルタイムでの脳波振動位相に応じて TMS を印加して位相同期状態を制御する脳波計測フィードバックシステムを構築した。このシステムを用いて、安静時に運動野、視覚野を刺激し自発活動の位相リセットを起こせること、さらに刺激部から他の部位への位相リセットの大域的な伝搬が起きることを示した。開眼時と閉眼時では位相リセットの大域的な伝搬度に差があり、開眼時には特にアルファ波でより広い部位への伝搬が観察されるなど、脳の状態依存的な振動同期ネットワークの接続性や位相反応特性を操作的に計測、解析する新しい手法として提案した。また TMS による脳の自発活動の振動同期ネットワークの位相の局所的、大域的な制御可能性を示した。

次に「連続 TMS による周波数特異的な脳活動振動位相の制御」を行った。

具体的には TMS-脳波システムを用いて2連発 TMS あるいは 5 連発の刺激を行う連続 TMS 実験を行った。左運動野、あるいは、視覚野の刺激で刺激周波数への引き込み度を定量化、解析した。その結果、刺激部位の脳波が TMS の周波数特異的に引き込まれ、その引き込みが大域的に伝搬することを明らかにした。連続 TMS により周波数ターゲット特異的に振動同期ネットワークの位相ダイナミクスに操作的に干渉、ネットワークの結合を計測したり、同期ダイナミクスを制御したりできることが明らかになった

さらに「TMS-脳波による脳左右半球間位相リセットの伝搬と仮現運動知覚バイアスとの関係の解析」を行った。水平、垂直運動を知覚する多義仮現運動刺激(Dynamical Dot Quartet)を用いて、被験者にできるだけ水平運動に知覚することを求める知覚バイアス課題を行った。水平、垂直運動の知覚時間の比として知覚バイアス度を定量化し、安静時の脳梁あるいは視床をまたぐガンマ帯域での位相同期ネットワークのリセット伝搬で示される半球間コネクティビティと相関があることを示した。TMS—脳波測定システムを用いてヒトの脳活動の位相同期ダイナミクスの機能的、因果的役割を個人差の観点から操作的に検証、説明できることが明らかになった。

(2) 詳細

研究テーマA 「リアルタイム脳波フィードバック TMS 制御システムの開発と TMS—脳波測定による脳状態依存的な振動位相リセットとその大域的伝搬パターンの解析

リアルタイムで脳波フィードバックが可能な 64ch 脳波計と 19ch 脳波計を導入し TMS アーチファクトの少ない脳波取得システムの構築に成功した。このシステムを用いてリアルタイムでの脳波振動位相に応じて TMS を印加して位相同期状態を制御するフィードバックが可能になった。

このTMS-脳波測定システムを用いて、局所部位への単発TMSでの大域的な脳波位相制御の可能性を検証した。安静時に運動野TMS(95%運動閾値強度)または視覚野TMS(95%フォスフェン閾値強度)を行いながら脳波を測定した。その結果、単発TMSは脳波の振動の位相を特定位相にリセットすることを発見した。そこで、TMSによる脳波のリセット度をトライアルをまたいだ単一で電極での位相同期指標であるPLV(Phase locking value)で評価した。その結果、TMSは特にアルファ波、シータ波等の比較的低周波帯域での位相を強くリセットし、刺激部から他の部位への位相リセットの大域的な伝搬が起きることが明らかになった。開眼時と閉眼時では位相リセットの大域的な伝搬度に差があり、開眼時には特にアルファ波でより広い部位への伝搬が観察された。開眼時にはより敏感な知覚—運動連関のための大域的結合振動子ネットワークの存在が示唆される。脳の状態依存的な振動同期ネットワークのコネクティビティや位相反応特性を操作的に計測、解析する新しい手法として提案できる。またTMSによる脳の自発活動の振動同期ネットワークの位相の局所的、大域的な制御可能性を示したと言える。

さらにtransfer entropyを用いた情報流解析を位相時系列について行った。これによりTMS印加部位から他部位への方向性のある情報流をPLVのみではなく位相時系列のtransfer entropy解析により定量化でき、二つの方法の結果は一致することが明らかになっ

た。

研究テーマ B 「連続 TMS による周波数特異的な脳活動振動位相の制御」

TMS-脳波システムを用いて2連発 TMS を行い、2連発の周期に応じて脳波の振動位相が引き込まれることを示した。すなわち 133ms 間隔だと 6Hz シータ波、100ms 間隔だと 10Hz アルファ波での位相リセット度の上昇が単発 TMS に比較して観察された。さらに 4Hz、9Hz、16Hz で 5 連発の刺激を行う連続 TMS 実験を行った。左運動野、あるいは、視覚野の刺激で刺激周波数への引き込み度をトライアルをまたいだ PLV で評価した。その結果が刺激部位の脳波が TMS の周波数特異的に引き込まれることが明らかになった。また引き込みは大域的に伝搬することを明らかにした。刺激をやめるとこれらの引き込み現象は急速に消えることも明らかになった。以上の結果により周期的な連続 TMS により周波数ターゲット特異的に振動同期ネットワークの位相ダイナミクスに操作的に干渉し、ネットワークの結合を計測したり、制御したりできることが明らかになった。この手法により狙った周波数特異的に大域的に位相ダイナミクスをリアルタイムで制御できる。

研究テーマ C 「TMS-脳波による脳左右半球間位相リセットの伝搬と仮現運動知覚バイアスとの相関の解析」

TMS—脳波測定システムを用いてヒトの脳活動の位相同期ダイナミクスの機能的、因果的役割を個人差の観点から操作的に検証することを目指した。水平、垂直運動を知覚する多義仮現運動刺激 (Dynamical Dot Quartet) を用いて、21名の被験者でできるだけ水平運動に知覚することを求める知覚バイアス課題を行った。水平、垂直運動の知覚時間の比として知覚バイアス度を定量化し、大きな個人差があることを確認した。先行研究で DDQ 刺激の水平、垂直の運動知覚交替に関し、水平運動知覚時に MT+近辺で脳波の両半球のガンマ大域での同期度の向上が報告されている。そこで DDQ の知覚交替時の脳波位相同期度と知覚バイアスの個人差を我々は調べた。その結果、水平運動知覚時に垂直運動知覚時よりも左右半球 MT+近辺の脳波位相がよりガンマ帯域で同期する人ほど水平運動知覚バイアスがかかるという相関関係が明らかになった。さらに安静時に左右 MT+ 自発活動に TMS 振動を加えたときの対側 MT+ への位相リセットの伝搬を解析し、DDQ の知覚バイアスとの相関を調べた。その結果、DDQ 課題で水平運動知覚のバイアスがよりかかる人は TMS 振動によるガンマ帯域での位相リセットが左右半球をまたいで対側の MT+ により広がるとの相関関係が明らかになった。

仮現運動の水平運動知覚に必要な左右の高次視覚野の情報統合が安静時の脳梁あるいは視床をまたぐガンマ帯域での位相同期ネットワークのコネクティビティで説明されることを解明した。

3. 今後の展開

TMS-EEG による位相リセットの伝搬解析は脳機能に関連した位相同期ネットワークのコネクティビティや情報統合能を操作的にみる新手法として有効である。この手法を用いて知覚、認知課題に応じた状態依存的な変化の解析を目指す。

さらに両半球の脳波位相同期状態をリアルタイムフィードバックしてTMSを印加することによりDDQの知覚の制御が可能かを操作的に検証中である。これにより脳の位相同期ダイナミクスをリアルタイムに制御し、知覚にバイアスをかけることができるかを検証し、両者の因果関係の解明を目指している。

4. 自己評価

位相リセットの伝搬様相を解析することにより周波数特異的な位相同期ネットワークのコネクティビティの解析方法を確立することができた。操作的な手法により位相同期ネットワークを制御、及び、コネクティビティの解析の方法論を確立できた点は大きな進歩であったと考える。またリアルタイムフィードバックによる位相同期ダイナミクスの制御システムは確立した。しかし具体的な知覚課題を用いた実証はこれからであり、研究の最終的なねらいである位相同期ダイナミクスと知覚状態の因果関係を操作的に実証したい。

5. 研究総括の見解

課題目標はほぼ達成された。理論と実験を組み合わせ、操作的神経科学について一步を進めた点が評価される。

脳は感覚情報を処理し、運動情報を作り出すが、その過程で脳内の処理モジュール群は神経活動パターンとして表現される動的神経回路を形成し、機能的な情報処理を行なう。これらの処理はニューロン群のスパイク信号の縦列的な時系列で表現されることが多いが、一方で、脳内ニューロン群の並列的な処理の間の位相関係も重要である。脳イメージング研究が進むとともに、脳領域活動間の同期・脱同期についてのデータが蓄積され、脳活動の振動同期ネットワークと脳機能との相関が示唆された。本研究は、これらの相関の背景にある因果関係を、脳に外乱を与えた場合の位相変化を指標として検証することを試みた。

安静時に運動野、視覚野を磁気刺激し自発活動を位相リセットできること、位相リセットが刺激部から大域的に伝搬することを示し、脳の状態依存的な振動同期ネットワークのコネクティビティや位相反応特性を操作的に計測・解析する新しい手法として提案した。次に、TMS-脳波システムを用いて2-5連発のTMS刺激により、刺激部位の脳波がTMSに周波数特異的に引き込まれ、その引き込みが大域的に伝搬することを示した。さらに、多義仮現運動視覚刺激を用いて知覚バイアス度を定量化し、これが、脳梁をまたぐ安静時ガンマ帯域での位相同期ネットワークのリセット伝搬で示される半球間コネクティビティと相関することを示した。

このようにTMS-脳波測定システムを用いてヒト脳活動の位相同期ダイナミクスの機能的、因果的役割を操作的に検証、説明できることを示し、操作的神経科学の例示を行った点に大きな寄与を認める。

6. 主な研究成果リスト

(1) 論文(原著論文)発表

1. 著者. 発表論文タイトル. 掲載誌名. 発行年, 巻号, 始頁-終頁, その他
Kitajo K, Nakagawa Y, Uno Y, Miyota R, Shimono M, Yamanaka K, Yamaguchi Y, A

manipulative approach to neural dynamics by combined TMS-EEG. Advances in Cognitive Neurodynamics III in press.

2. Kawasaki M, Mizuno Y, Kitajo K, Manipulative evaluation of alpha bottom-up networks in the resting-state by combined TMS-EEG. Converging Clinical and Engineering Research on Neurorehabilitation, Biosystems & Biorobotics 1, 589-592, 2013.

3. Mizuno Y, Kawasaki M, Kitajo K, Individual evaluation of interhemispheric neural synchrony mediating perceptual bias in apparent motion perception - A TMS-EEG study and applications in rehabilitation. Converging Clinical and Engineering Research on Neurorehabilitation, Biosystems & Biorobotics 1, 635-639, 2013.

(2)特許出願

研究期間累積件数:0件

(3)その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

学会発表

Keiichi Kitajo, State-dependent directed information flow in the human brain - Workshop: A TMS-EEG manipulative approach -, Measuring Consciousness - Theory and Experiments, March, 2013 (invited)

Masahiro Kawasaki, Yuji Mizuno, Keiichi Kitajo, Manipulative evaluation of alpha bottom-up networks in the resting-state by combined TMS-EEG. International Conference of NeuroRehabilitation (ICNR) 2012, Toledo, Spain, November 2012.

Yuji Mizuno, Masahiro Kawasaki, Keiichi Kitajo, Individual evaluation of interhemispheric neural synchrony mediating perceptual bias in apparent motion perception - A TMS-EEG study and applications in rehabilitation -. International Conference of NeuroRehabilitation (ICNR) 2012, Toledo, Spain, November, 2012.

Masahiro Kawasaki, Yuji Mizuno, Keiichi Kitajo, Directional flow of TMS-induced phase perturbation across low frequency neural synchrony networks in the resting state. The 42nd Annual Meeting of Society for Neuroscience, New Orleans, USA, October, 2012.

Yuji Mizuno, Masahiro Kawasaki, Keiichi Kitajo, Individual differences in inter-hemispheric neural synchrony and apparent motion perception in humans. The 42nd Annual Meeting of Society for Neuroscience, New Orleans, USA, October, 2012.

Hirromichi Suetani, Keiichi Kitajo, Network consistency of coupled neurons: A numerical simulation study. The 35th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, Nagoya, Japan, September, 2012.

Masahiro Kawasaki, Keiichi Kitajo, Dynamic coordination of human EEG oscillations for working memory manipulation revealed by single-shot TMS. 8th FENS Forum of Neuroscience, Barcelona, Spain, July 2012.

Keiichi Kitajo, Tadashi Kitahara, Yumi Nakagawa, Masahiro Kawasaki, Frequency-specific directed information flow in the human brain – A TMS-EEG manipulative approach -. 8th FENS Forum of Neuroscience, Barcelona, Spain, July 2012.

Keiichi Kitajo, Manipulation and control of neural synchrony by TMS. 6th Motor Control Workshop (MC2012), Okazaki, Japan, 2012. (invited)

Keiichi Kitajo, Tadashi Kitahara, Yumi Nakagawa, State-dependent directed information flow across synchrony networks in the human brain. The 18th Annual Meeting of Human Brain Mapping, Beijing, China, June, 2012.

Keiichi Kitajo, Yumi Nakagawa, Yutaka Uno, Yoko Yamaguchi, Phase control of human brain activity by single-shot TMS. The 41st Annual Meeting of Society for Neuroscience, Washington DC, USA, November, 2011.

Keiichi Kitajo, Yumi Nakagawa, Yutaka Uno, Ryohei Miyota, Masanori Shimono, Kentaro Yamanaka, Yoko Yamaguchi, State-dependency in large scale propagation of phase reset of ongoing activity. The 34th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, Yokohama, Japan, September, 2011.

Keiichi Kitajo, Yumi Nakagawa, Yutaka Uno, Ryohei Miyota, Masanori Shimono, Kentaro Yamanaka, Yoko Yamaguchi, A manipulative approach to neural dynamics by combined TMS-EEG. The 3rd International Conference on Cognitive Neurodynamics, Niseko, Japan, June, 2011.

Keiichi Kitajo, Stochastic resonance and noise-enhanced phenomena in the human brain. SIAM Conference on Applications of Dynamical Systems 2011, Snowbird, USA, May, 2011. (invited)

Keiichi Kitajo, Yumi Nakagawa, Yutaka Uno, Ryohei Miyota, Masanori Shimono, Kentaro Yamanaka, Yoko Yamaguchi, State-dependent synchrony networks in humans revealed by TMS-EEG recordings. The 40th Annual Meeting of Society for Neuroscience, San Diego, USA, November, 2010.



Keiichi Kitajo, Manipulative approaches to neural synchrony and perception in humans. Neuro2010, Kobe, Japan, September, 2010. (invited)

Keiichi Kitajo, Phase synchronization and stochastic resonance in the human brain. Winter School on Neural Computation, Phoenix Park, Pyeongchang, Korea, January, 2010. (invited)

Keiichi Kitajo, Ryohei Miyota, Masanori Shimono, Kentaro Yamanaka, Yoko Yamaguchi, Frequency-specific and state-dependent cortical network connectivity revealed by TMS-EEG recordings in humans. The 39th Annual Meeting of Society for Neuroscience, Chicago, USA, October, 2009.

Keiichi Kitajo, Ryohei Miyota, Masanori Shimono, Kentaro Yamanaka, Yoko Yamaguchi, State-dependent cortical synchronization networks revealed by TMS-EEG recordings. The 2nd International Conference on Cognitive Neurodynamics, Hangzhou, China, November, 2009.(invited)

北城圭一: ヒトの脳の情報流の操作的解明. 第三回神経ダイナミクス研究会, 山口, 2013,3. (invited)

中川佑美,花川隆,水野佑治,北城圭一:連続経頭蓋磁気刺激によるヒト脳活動の周波数特異的な引き込み.脳と心のメカニズム第13回冬のワークショップ,北海道,2013,1.

水野佑治,川崎真弘,北城圭一:仮現運動知覚課題を用いた左右半球間の情報統合と位相同期の個人差の検討.脳と心のメカニズム第13回冬のワークショップ,北海道,2013,1.

Masahiro Kawasaki, Yuji Mizuno, Keiichi Kitajo, Resting-state brain oscillatory networks revealed by TMS-induced EEG phase perturbation. 第27回生体生理工学シンポジウム, 札幌, 2012, 9.

水野佑治, 川崎真弘, 北城圭一: 仮現運動知覚と脳の左右半球コネクティビティとの関連性-TMS-EEGによる個人差の検討-. 2012年度包括型脳科学研究推進支援ネットワーク, 夏のワークショップ, 仙台, 2012, 7.

川崎真弘, 北城圭一: TMSによるワーキングメモリ操作時の前頭-感覚野の位相同期の変化. 日本認知心理学会第10回大会, 岡山, 2012, 6.

北城圭一: 脳の振動同期ダイナミクス解析とその応用可能性. 第三回神経ダイナミクス研究会, 函館, 2012, 3. (invited)

北城圭一：ヒトの脳での同期ダイナミクスとノイズ誘起現象. 研究集会「非線形現象の解析・モデル化・制御」, 鹿児島, 2012, 3. (invited)

宇野裕, 中川佑美, 山口陽子, 北城圭一: クラスタ統計量を用いた Phase Locking Value の条件間差のノンパラメトリック検定. 脳と心のメカニズム, 包括脳科学研究推進支援ネットワーク, 夏のワークショップ, 神戸, 2011, 8.

北城圭一: ヒトの脳での確率共振とノイズ誘起現象. 京都力学系学際セミナー, 京都, 2011, 7.(invited)

北城圭一: 脳の因果性の操作的解明 - TMS-EEG アプローチの観点から-. ニューロ・リハ・ロボ+Brain-IS 合同研究会, 北九州, 2011, 6. (invited)

北城圭一: ヒトの知覚情報処理の操作的検証. 第9回認知科学セミナー, 横浜, 2011,5. (invited)

北城圭一: 経頭蓋磁気刺激による神経因果的アプローチ. 第二回神経ダイナミクス研究会, 福岡, 2011,1. (invited)

北城圭一, 中川佑美, 山口陽子: Phase control of human brain activity. ヒトの脳活動の位相制御. 脳と心のメカニズム 第 11 回 冬のワークショップ, ルスツ, 2011, 1.

北城圭一: 知覚と脳の振動同期ダイナミクス, 「ライフサイエンス」講義, 芝浦工業大学システム工学部, さいたま, 2010, 10. (invited)

北城圭一: ヒトの神経活動の振動同期と知覚の因果関係の操作的解明. 第22回埼玉大学脳科学セミナー, さいたま, 2010, 10. (invited)

北城圭一: ヒトの脳のリズム回路の多層構造の操作的解明. 包括型脳科学研究推進支援ネットワーク・夏のワークショップ, 札幌, 2010, 7..

北城圭一: ヒトの神経活動の振動同期と知覚の操作的解明. 芝浦工大 SIT 総合研究所・脳科学・ライフテクノロジー寄付研究センターキックオフシンポジウム, 東京, 2010, 7. (invited)

北城圭一: ヒトにおける神経ダイナミクスと知覚のリアルタイムコントロール - TMS-EEG アプローチ -. 第一回神経ダイナミクス研究会, 北九州, 2010, 2. (invited)

北城圭一: 経頭蓋磁気刺激と脳波測定による脳の振動同期ダイナミクスとその機能の操作的解明. 近畿大学理工学部物理学コースセミナー, 東大阪, 2010, 1. (invited)

北城圭一: 脳の振動、同期、ノイズと知覚、意識との関連. 近畿大学理工学部物理学コースセミナー, 東大阪市, 2010.1.(invited)

研究報告書

「感覚情報をコードする局所神経回路の機能構築」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 平成 21 年 10 月～平成 25 年 3 月

研究者: 喜多村 和郎

1. 研究のねらい

脳情報処理の基盤となる局所神経回路に関して、ハードウェアとしてのニューロン間の結合様式の詳細はさかんに研究されている一方で、その脳内におけるはたらきについての理解はあまり進んでいない。本研究では、最新の 2 光子カルシウムイメージング技術を駆使することで、個体脳(in vivo)の体性感覚皮質において、単一ニューロンにおけるシナプス統合と局所神経回路における感覚情報表現との関係を 1 シナプス・1 ニューロンレベルの空間解像度で明らかにする。また、神経活動依存的に蛍光タンパク質を発現するマウスを用い、協調的にはたらくニューロン集団(セルアセンブリ)を脳内で直接可視化する。このような機能的局所回路の安定性、および感覚遮断等の入力変調で誘発される神経回路の再編成を同一個体で経時的に可視化することで、感覚皮質における機能的局所神経回路の構築原理に迫る。これらの研究を通して、ブレイン・マシンインターフェース(BMI)技術に不可欠な、皮質局所回路の機能構築に関する核心的な知見を提供する。

脳情報を解読するためには、神経情報処理を担う主役である個々の神経細胞(ニューロン)のはたらきを理解すると同時に、それらが形成するネットワークが符号化する情報を明らかにすることが必須である。本研究では、マウス体性感覚皮質をモデルとして以下の項目について研究を行う。1) 単一ニューロンにおいて個々の感覚シナプス入力を可視化し、樹状突起局所における演算様式を明らかにする。2) 局所神経回路の活動をシナプス応答と同時に可視化する技術を開発し、一つ一つのニューロンが行う情報処理(シナプス統合)と局所神経回路の情報表現の因果関係を明らかにする。

次に、高い神経活動を示すニューロンのマーカーである前初期遺伝子の発現によって蛍光タンパク質を発現するマウスを用いて、2 光子イメージングを行い、3) 基底状態における活動性の高いニューロン集団の安定性、4) 感覚遮断等による機能的局所神経回路の再編成について検討する。内因性の機能的局所神経回路の存在とその外攬に対する柔軟性/堅牢性を定量的に明らかにすることで、脳情報処理の基盤をなす局所神経回路の機能構築に迫る。

2. 研究成果

(1) 概要

脳内におけるシナプス入力の統合メカニズムを明らかにする目的で、ホールセルパッチクランプ記録と 2 光子イメージングを用いた、単一シナプス入力可視化法を開発した。開発した方法を用いて、マウス大脳皮質体性感覚野の第 2/3 層のニューロンにおいて、自発活動およびひげ刺激によるシナプス入力があるような時空間分布を示すかを解析した。自発活動およびひげ刺激による誘発活動によるシナプス入力は非常にスパースである一方、個々のシナプ

ス入力は、樹状突起上で時空間的に不均一な入力分布を示し、大多数の感覚入力はごく限られたスパインに入力していることが明らかとなった。さらに、樹状突起上で近傍に位置するスパインは、同期したシナプス入力を受ける確率が高いことを明らかにした。これらの結果は、機能的に結合しているか共通入力を受けるニューロン集団が、後シナプスニューロンの樹状突起上で近くに結合しているということを示している。このような、近傍のシナプスにおける同時入力は、効率的な感覚情報の統合に寄与していると考えられる。

さらに、自発活動によるシナプス入力パターンと感覚シナプス入力パターンの関係を詳細に調べたところ、スパイン毎に自発入力頻度と感覚入力頻度に正の相関が見出された。また、スパイン間で活動の時間パターンを比較したところ、自発入力と感覚入力で極めて類似性が高いことが明らかとなった。次に、自発入力と感覚入力の空間パターンを多次元尺度構成法により解析したところ、感覚入力パターンは自発入力パターンに含まれることがわかった。これらの結果は、自発入力と感覚入力の時空間パターンには高い類似性があり、神経回路が自発的に生み出す活動パターンの一部もしくは組合せによって、感覚情報がコードされていることを示唆している。

また、神経活動を示すニューロンのマーカーである前初期遺伝子の発現によって蛍光タンパクを発現するマウスを用いて、2光子イメージングとパッチクランプ記録を行い、前初期遺伝子の発現が高いニューロンは全ニューロンのうちのごく一部であり、前初期遺伝子の発現と感覚入力頻度の間に高い相関があることを明らかにした。

これらの本研究で得られた結果を総合すると、感覚情報は脳内においてごく一部の活性の高いニューロン集団が、極めて緻密なシナプス結合パターンを形成することでできる局所神経回路によって処理されているということを示している。

(2) 詳細

研究テーマA「シナプス入力可視化法の開発」

脳内において、感覚入力が単一ニューロンにどのような時間的、空間的な分布で入力するのかを明らかにするために、2光子カルシウムイメージングとホールセルパッチクランプ記録を用いて、一つ一つのシナプス入力を樹状突起局所で直接可視化する方法を開発した。具体的には、シャドウパッチング法(Kitamura et al., 2008)を用いて、マウス体性感覚野第2/3層ニューロンからホールセルパッチクランプ法により記録を行い、ニューロンを電位固定下で脱分極させ、個々のシナプス入力をカルシウムシグナルとして検出した。この方法により、感覚シナプス入力を単一スパインレベルで高感度に検出することを可能にした(図1)。また、自発シナプス入力について、樹状突起上で近傍に位置するスパインは、同時に入力を受ける確率が高いことを明らかにした(Science, 2012)。

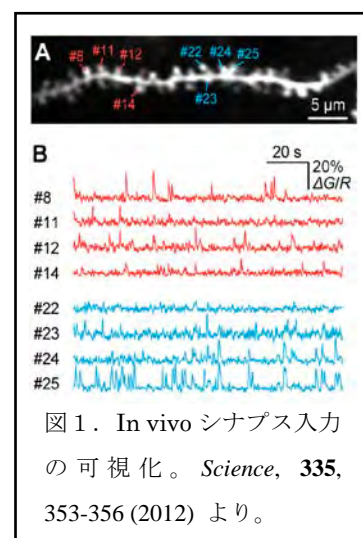


図1. In vivo シナプス入力の可視化。Science, 335, 353-356 (2012) より。

研究テーマB「単一ニューロンにおける自発および感覚シナプス入力の時空間分布」

マウス体性感覚野第2/3層ニューロンにおいて、自発シナプス入力と感覚シナプス入力の時空間パターンについて詳細な解析を行った。自発入力、感覚入力ともに非常に低頻度(自発: 0.034 ± 0.002 events/s、感覚: 0.094 ± 0.007 events/stim.)、図2A, B)で、かつ、不均一な入力分布を示した。特に、感覚入力については、約75%の入力が25%のスパインに入力していることを明らかにした(ジニ係数=

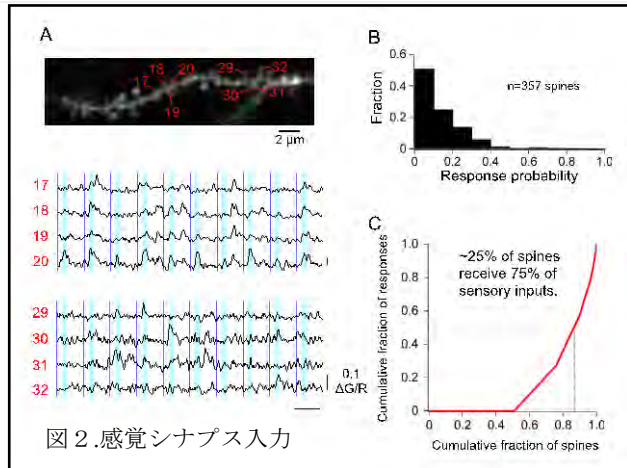


図2. 感覚シナプス入力

0.66、図2C)。また、自発入力と同様、近傍に位置するスパインほど同期したシナプス入力を受ける確率が高く、機能的に結合しているか共通入力を受けている入力ニューロン集団が、

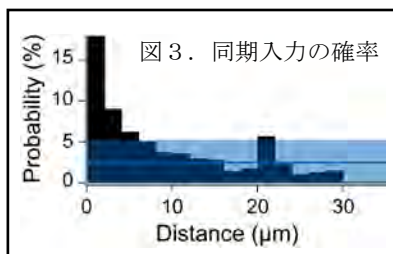


図3. 同期入力の確率

樹状突起局所にシナプス結合を形成していることが示唆され、空間的に極めて緻密な回路が形成されていることが明らかとなった(図3)。次に、自発入力と感覚入力の間にはどのような関係があるかを、個々のスパインレベルで比較した。まず、スパイン毎の自発入力頻度と感覚入力頻度を比較したところ、正の相関が見られ、

より多く自発入力を受けるスパインは感覚刺激に対してもより反応しやすいことが分かった。また、同時に観察した全てのスパインペアについて反応のペア相関を計算し、自発入力と感覚入力によく似たパターンであることが示唆された。入力の空間パターンの類似性を検討するために、多次元尺度構成法を用いた比較を行った。その結果、感覚入力パターンは自発入力パターンと同じかその一部であることが明らかとなった(図4)。すなわち、感覚刺激の情報は、神経回路自体により生成される自発活動パターンの一部もしくはその組合せによって表現されていることを示唆している。

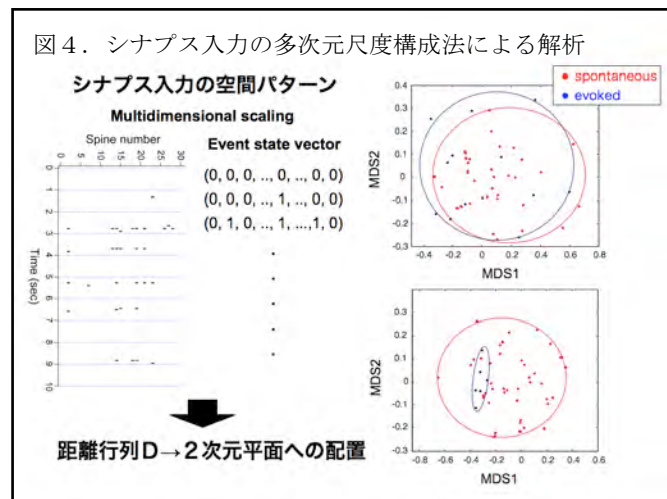


図4. シナプス入力の多次元尺度構成法による解析

研究テーマC「機能的局所回路可視化」

ニューロンの活動依存的に発現する前初期遺伝子をマーカーとして、生体内で機能的局所神経回路を可視化することを可能にしたマウスを用いて、体性感覚野第2/3層において活動性が高いと考えられるニューロンのスパイク活動を計測した。自発活動については、前初期遺伝子の発現の有無によらず同程度であったのに対し、感覚刺激応答は前初期遺伝子を

発現しているニューロンのほうが有意に高い反応性を示した。すなわち、このマウスを用いることで、感覚情報処理に参与している局所神経回路の動態を追跡できることが示された。

3. 今後の展開

さきがけ研究として行った研究結果をふまえ、今後、以下の2つの方向へと研究を展開する。

(1) 個体脳における単一ニューロンのシナプス統合メカニズムの解明

本研究では、シナプス入力のみを可視化した。それらが統合された結果として出力にどのような影響を与えるかを明らかにする。特に、同期入力を受ける局所的なシナプスクラスタが、ニューロンの活動電位出力に寄与するかどうか、入力部位の細胞内における位置によって出力に与える影響が異なるかどうか等について定量的な計測とモデル計算を組み合わせることで明らかにする。また、入力線維を解剖学的に同定した上でオプトジェネティクスによってこれらの線維を賦活し、感覚シナプス入力パターンと比較することで、樹状突起局所における活動がどのような神経回路によって駆動されているのかを明らかにする。これにより、体性感覚野の単一ニューロンにおける感覚情報処理の全貌を明らかにする。

(2) 覚醒マウスにおけるシナプス入力の可視化

本研究はすべて麻酔下の動物において実験を行っているが、同じ実験方法を用いて覚醒マウスにおけるホールセル記録を安定に行うことが可能となっており、今後は、覚醒状態で能動的な感覚受容を行っているマウスにおけるシナプス入力の統合メカニズムについて解析を進める。

4. 自己評価

生体内におけるシナプス統合メカニズムと局所神経回路機能の関係を明らかにすることを最終目標として、2光子イメージングとホールセル記録を組み合わせ、新しい記録法の開発を行った。その結果、*in vivo* において一つ一つのシナプス入力を可視化することを可能にし、感覚情報の入力様式や自発入力と感覚入力の時空間パターンの相違を明らかにすることができたことは、一定の成果を達成することができたと思う。

本研究課題の最終目標である、動物個体脳内におけるシナプス統合メカニズムと局所神経回路機能の解明については、ようやくその研究の端緒を開いたところであるが、さらなる研究の継続によって、脳内における感覚情報処理の全体像をそう遠くない将来に明らかにすることができると期待される。

5. 研究総括の見解

課題目標は達成された。高解像度の2光子カルシウムイメージング技術を駆使して、自発活動／感覚活動時の神経回路の特性を解明し、機能構築を明らかとしたが、この成果はマクロなレベルでの脳イメージング知見の基盤的メカニズムを示し、BMIの今後の展開のため、不可欠な基礎を与えるものとして高く評価される。

脳活動はニューロン上に存在するシナプスを通じた相互情報交換に基づく。本研究では、シナプスレベルでの活動を判別できる高い空間解像度を持つ最新の2光子カルシウムイメージング技術を駆使、シナプスレベルでの神経活動を可視化し、局所神経回路における感覚情報表現を明らかにした。さらに、神経活動依存的に蛍光タンパク質を発現するマウスを用い、協調的に働くニューロン集団を脳内で直接、可視化した。究極的には、機能的局所回路の安定性、および感

覚遮断等の入力変調で誘発される神経回路の再編成を同一個体で経時的に可視化することで、感覚皮質における機能的局所神経回路の構築原理に迫ることが可能である。

本研究では、大多数の感覚入力は、ニューロン上で、各々ごく限られた部位に固まって入力し、また、互いに近傍に位置するシナプスは、同期した入力を受ける確率が高いことを明らかにした。ニューロンの電気的性質を考慮すると、この配置は、効率的な感覚情報の統合に寄与する。一方、自発活動／感覚刺激時でニューロンへの入力パターンを詳細に調べると、各々のシナプスで自発活動／感覚刺激時の活動頻度に正の相関がみられ、また、時間パターンについても類似性が高いことが明らかとなった。この空間パターンを多次元尺度構成法により解析したところ、感覚入力パターンは自発入力パターンに含まれた。一方、前初期遺伝子発現によって蛍光タンパクを発現するマウスを用い、2光子イメージングとパッチクランプ記録を行った結果、前初期遺伝子の発現と感覚入力頻度の間に高い相関が示された。これらをまとめると、感覚情報は脳内においてごく一部の活性の高いニューロン集団が形作る極めて緻密なシナプス結合パターンを形成する局所神経回路によって処理される。

脳イメージング研究で近年、自発脳活動が基底的な脳活動パターンを形成し、脳機能に重要な寄与をなすこと、これらの基底的な脳活動パターンは個体発生の過程で形成されることが提案されているが、この結果は、その基盤的なメカニズムを明らかにする可能性を持つ点で特に興味深い。脳の自発活動を考慮に入れた BMI 技術は近年、成果を上げつつあり、このような BMI の基盤の解明により、更なる技術的革新が齎されることが期待される。

6. 主な研究成果リスト

(1)論文(原著論文)発表

- | |
|---|
| 1. Kitamura, K. & Kano, M.: Dendritic calcium signaling in cerebellar Purkinje cell. <i>Neural Networks</i> , published online (2012). doi: 10.1016/j.neunet.2012.08.001 |
| 2. Takahashi, N., Kitamura, K., Matsuo, N., Mayford, M., Kano, M., Matsuki, N. & Ikegaya, Y.: Locally synchronized synaptic inputs. <i>Science</i> 335, 353–356 (2012). |
| 3. Kitamura, K. & Häusser, M.: Dendritic calcium signaling triggered by spontaneous and sensory-evoked climbing fiber input to cerebellar Purkinje cells in vivo. <i>J. Neurosci.</i> 31, 10847–10858 (2011). |

(2)特許出願

研究期間累積件数:0 件

(3)その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

主要な学会発表

1. 喜多村和郎: 生体内2光子イメージングによる単一ニューロン・単一シナプスの活動計測. 第2回睡眠研究会, 2012.7.5. 名古屋.
2. 喜多村和郎: 大脳皮質における感覚シナプス入力の可視化. 生理研研究会「シナプス可塑性の動作原理～分子から行動まで～」2012.6.14. 岡崎.
3. 喜多村和郎: 生体内における神経活動の2光子イメージング. 日本顕微鏡学会第68

回学術講演会, 2012.5.16. つくば.

4. 喜多村和郎: Two-photon imaging of neuronal population activities in cerebellar cortex. 第 34 回日本分子生物学会年会, 2011.12.13. 横浜.
5. Kitamura, K.: Heterogeneous organization of sensory synaptic inputs in the mouse barrel cortex. 生理研国際研究集会, 2011.12.9. 岡崎.
6. Kitamura, K.: Two-photon imaging of Purkinje cell dendritic activity in vivo. 8th IBRO World Congress of Neuroscience. (Florence, Italy) 2011.7.16.
7. 喜多村和郎: 生体内における神経活動の2光子イメージング. 第5回日本分子イメージング学会総会・学術集会, 2010.5.22. 大津.
8. 喜多村和郎: 小脳シナプス回路の in vivo 解析. 第 115 回日本解剖学会総会・全国学術集会, 2010.3.30. 盛岡.
9. 河村吉信、中山寿子、喜多村和郎、狩野方伸: 発達期小脳における神経回路形成の in vivo 解析. 生理学研究所研究会「大脳皮質局所回路の機能原理」, 2009.11.19. 岡崎.
10. 喜多村和郎: 覚醒個体脳におけるホールセル記録と2光子イメージング. 第 47 回日本生物物理学会年会シンポジウム, 2009.11.1. 徳島.

受賞

平成 22 年度科学技術分野の文部科学大臣表彰 若手科学者賞 平成 22 年 4 月 13 日

著作物

1. 喜多村和郎: in vivo イメージング. 脳神経科学イラストレイテッド(改訂第3版), 第8章, in press (2013).
2. Kitamura, K.: Two-photon targeted patch-clamp recordings in vivo. Patch Clamp Techniques, Springer Protocols Handbooks, 183-193 (2012).
3. 喜多村和郎, 橋本浩一, 狩野方伸: 小脳プルキンエ細胞樹状突起活動の in vivo イメージング. 生体の科学, 63(1), 26-33 (2012).
4. 喜多村和郎: In vivo イメージングパッチクランプ法. 最新パッチクランプ実験技術法 (岡田泰伸 編, 吉岡書店) 第 12 章 (2011).

研究報告書

「BMIを介した観察者間の知覚共有技術の開発」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 平成21年10月～平成25年3月

研究者: 林 隆介

1. 研究のねらい

他者とコミュニケーションをとるためには、言語による説明やジェスチャなど、何らかの形で身体部位を動かす必要がある。こうした意思伝達行動は健常者に容易であっても、ALSの発症や脳・神経損傷などにより運動麻痺や発話障害を負った患者には著しく困難である。運動機能障害者にとって、Brain-Machine-Interface (BMI)技術を通じて、神経情報から復号化した視覚情報を他者と共有することができれば、コミュニケーションの機能回復が支援され、生活の質が大幅に向上すると期待される。また、健常者にとっても、脳内でイメージされる視覚情報を通信し、視覚表象を共有することができれば、コミュニケーションがより緊密となり、高度で的確な協調作業が可能となろう。

本研究ではヒトに近い脳と視覚機能をもつマカクザルを動物モデルにして、個体間でBMIを介して視覚情報を共有するための技術開発を行った。すなわち、物体認識を担う下側頭葉の多数のニューロンから活動電位を同時記録し、脳内の視覚表象をどの程度正確に復号化できるか検証をおこなった。また、側頭葉の異なる領域から神経活動を広範囲に記録することにより、脳内の物体情報処理(とくに顔画像処理)メカニズムを解明する研究にもあわせて取り組んだ。

復号化した視覚情報を共有する手法としては、視覚情報をディスプレイに表示することがまず考えられるが、視覚共有インタフェースとしてディスプレイの介在は理想的とはいえない。我々の意識的な視覚認識は、脳・神経活動によって生起することから、適切に神経活動を誘発することができれば、視覚を生成することも理論的には可能である。実際、サル(Afraz et al, 2006)やヒト(Parvizi et al, 2012)の皮質電気刺激により、画像カテゴリの判断を誘導したり、顔の知覚が変容しうることが報告されている。そこで、皮質電気刺激による脳情報の制御技術に取り組むとともに、脳情報の解読技術と組み合わせることにより、脳から脳へ直接視覚情報を通信する知覚共有システムの実現を研究の最終目標とした。

2. 研究成果

(1)概要

本研究では、同一の視覚イメージや物体認知判断の伝達・共有を支援するインターフェース開発を目指して、動物モデルを用いた実験を行った。実験では、視覚物体認識を担う下側頭葉にマイクロ電極アレイを3つ(電極総数224本)埋め込み、さまざまな物体画像の観察中に誘発される神経活動電位を多チャンネル同時記録した。この結果、下側頭葉では物体画像がカテゴリごとにクラスタ化した形で表現されていることが確認され、特に顔情報が下側頭葉の広範囲なネットワークを介して時間発展することが明らかになった(Hayashi, 2012)。さらに、記録保存したデータを100ms毎に読み出して得られる神経活動パターンを線形判別分析す

ることで、120種類の画像のうち、どの画像が各時点で提示されていたのか、80-90%の精度で判別することに成功した。また、神経活動パターンと観察画像の特徴量との間の回帰分析を行うことで、神経活動から観察画像の大まかな形状を復元することに成功した。

この他、観察画像の高精度判別が可能になったことを利用して、ロボットハンドなどのアクチュエータ制御に同技術が利用であることを示す実証実験にも取り組んだ。

つぎに、解読した脳情報を他者へ伝達する手段として、マルチチャンネル皮質電気刺激法にも取り組んだ。計測に用いたマイクロ電極アレイへの電気刺激をとおして、どのような知覚変化が生じるか検証することを目指した。動物モデルを用いた皮質電気刺激実験には、感覚情報が適切に提供できたか客観的に判定する行動指標が必要となる。そこで、phase-shift motion を利用した両眼視野闘争刺激を開発し、新たな実験手法を考案した。同刺激は、物体画像の位置を変えぬまま、運動視刺激を提示できる特徴があり、反射的に生じる眼球運動を観察することにより、左右の眼に別々に提示された画像のうち、どちらの画像を意識的に知覚しているか客観的に判定できることを明らかにした(Hayashi & Tanifuji, 2012)。

こうした要素技術を組み合わせ、一方の個体の知覚状態を読みだしたのち、電気信号に再コーディングし、他方の個体の脳に入力することで、二個体が brain to brain interface を介して同じ知覚状態を共有するシステムの実現を最終目標とした。

(2) 詳細

(脳情報の復号化)

物体認識に関わる視覚情報は、腹側経路とよばれる下側頭葉に至る各脳領野を経由する過程で、階層的に情報処理される。下側頭葉のニューロンは中程度に複雑な図形特徴に対し選択性を持つことが知られており、物体像はそうした多数のニューロン活動の集合によって分散的に表現されている。特定の画像によって誘発されるN個のニューロンの応答パターンは、N次元のベクトル空間内の部分空間に限定されることから、各画像が構成する部分空間を分離する超平面を同定できれば、逆に神経活動パターンから現在、知覚している画像を復号することが可能となる(図1左)。

実験では、剣山型マイクロ電極アレイを3つ(電極総数224本)を動物モデルの下側頭葉に埋め込み、顔、身体、たべもの、人工物といったさまざまな物体カテゴリを含む120種類の画像を提示した際に誘発される神経活動を記録した。各画像に対応する神経活動パターンを多次元尺度構成法に基づきプロットすると、下側頭葉のニューロンはピクセルレベルでの画像類似度ではなく、物体カテゴリの類似度をより表現していることが確認できた(図1右)。そして、100ms 毎に読み出した神経活動データに対し、観察画像を教師ラベルとした線形判別分析を行うと、120種類の画像のうち、どの画像を提示したか80-90%の精度で正確に判別できることを明らかにした。

さらに、神経活動パターンと観察画像の低次元特徴量表現との間の写像関係を回帰分析することにより、観察画像の大まかな形状を神経活動だけから復元することに成功した。わずか100ms の神経活動だけから観察画像の判別と復元が可能であることは、本研究が採用した計測手法がリアルタイムでの視覚情報通信に適した手法であることを示している。

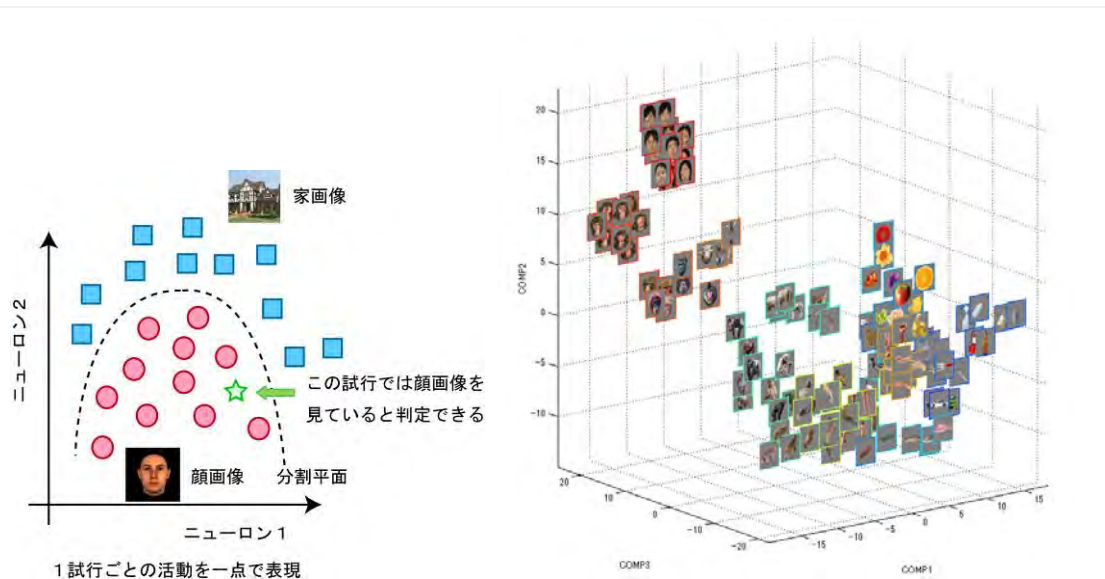


図1: 左 神経活動パターンの判別、右 多次元尺度構成法に基づく下側頭葉の画像表現

観察画像の高精度判別が可能になることを利用して、ロボットハンドなどのアクチュエータ制御にも同技術が利用できることを示す実証実験にも取り組んだ。具体的には、グー、チョキ、パーの異なる手の形を撮影した画像を神経情報から判別し、その結果に基づきロボットハンドの手の形状を制御することができた。このことは、ロボットハンドを観察しながら、ビジュアルフィードバックによって、BMI 制御できる可能性を示唆している。

この他、さまざまなヒトの顔をさまざまな角度から撮影した画像を使い、下側頭葉の3つの異なる領域で、顔情報処理がどのように異なるか検証した。この結果、下側頭葉の後部では、顔の個人情報の違いに関わらず、顔の方位だけを選択的に表現しているのに対し、下側頭葉の前部や中央部では、顔の方位情報だけでなく、個人情報も含めた情報表現を行っていることを明らかにした。特に、前部領域では、顔の一方位ではなく、鏡対称な方位を表現していることが明らかになった。

(脳情報の制御法)

神経記録に利用したマイクロ電極アレイのうち、電極が酸化イリジウムでできたタイプは、その低いインピーダンス特性から、神経活動の記録とともに、電気刺激を行うプローブとしても利用できる。本研究では、64本の電極を独立に電気刺激できる実験系を構築し、一個体から神経活動記録を行いながら、神経活動をトリガーとして他方の個体を皮質電気刺激することを可能にした。これまでの研究では、単一電極による電気刺激しか行われてこなかったが、本研究では、多電極による同時電気刺激が視覚物体認識にどのような影響を与えるのか検証する実験に取り組んだ。

動物モデルを用いた皮質電気刺激実験の困難な点として、適切な視覚情報提示が行われたか否かを口頭報告によって検証できないことがあげられる。また、ボタン押し等の応答を用いる場合でも、単なるオペラント条件付け(動物がジュースなどの報酬欲しさに、電気刺激パターンとボタン押し応答との間の連合を学習してしまうこと)に陥らぬよう、これを原理的に回

避する客観的な行動指標に基づく実験パラダイムを構築する必要がある。ここで注目したのが、両眼視野闘争とよばれる知覚交代現象である(Blake & Logothetis, 2002)。両眼視野闘争とは、左眼と右眼に全く異なる画像が提示されるとき、どちらか一方の画像だけが交互に意識的に知覚される知覚体験をさす。

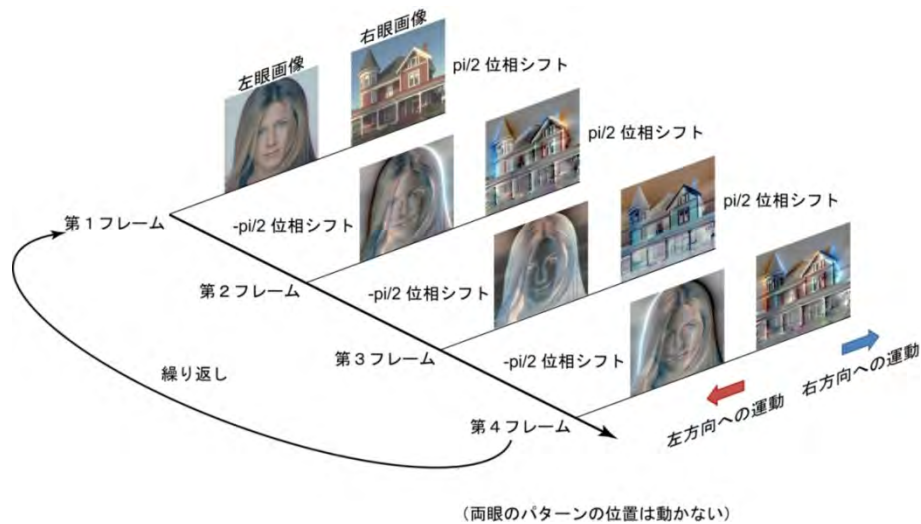


図2: phase-shift motion を利用した両眼視野闘争刺激の開発

本研究ではこの両眼視野闘争中の動物モデルの知覚状態を、自発応答に頼ることなく、判定できる新しい実験手法を開発した。開発したのは、phase-shift motion を利用した両眼視野闘争刺激である。同刺激は、物体画像の位置を変えぬまま、運動視刺激を提示できる特徴があり、一方の眼の画像は左向きに、他方の眼の画像は右向きに動くように構成された。この刺激を観察すると画像の動きにつられて視運動性眼振と呼ばれる反射的な眼球運動応答が生じるが、この眼球運動の振動パターンは両眼視野闘争する画像のうち、今見えている画像の運動方向に依存して変化することを、ヒトを使った心理実験によって明らかにした。この刺激を使えば、サルの眼球運動パターンを比較することで、どちらの眼の画像が意識的に知覚しているか判定できるので、皮質電気刺激による知覚の変化を客観的に評価することが可能となる。

各個体において、視覚情報の復号化法と皮質電気刺激による制御手法を確立したのち、最終的には、2頭の個体間で、一方の視覚情報を復号化したのち、同じ視覚体験が生起するよう、他方の個体へ電気刺激を行い、物体認識を共有できるシステム構築を目指している。

3. 今後の展開

神経活動から復元する観察画像の復元精度向上のため、埋め込むマイクロ電極アレイの数を5つに増やし、記録データの大規模化(480次元)を図るとともに、実験に利用する画像を従来の100-200枚規模から、数百万—数千万枚規模への拡張を図る。そして、大規模・多層ニューラルネットワークによって実装される最先端のコンピュータ・ビジョン・アルゴリズム(deep learning)を利用することで、下側頭葉のニューロンが符号化する視覚情報に則した画像復元アルゴリズム

ムの開発を目指す。また、現在進行中の皮質電気刺激実験を完遂し、電気刺激による視覚の変化を検証するとともに、復号化した視覚情報を伝送する脳情報通信システムの実装をすすめる。

4. 自己評価

動物モデルの下側頭葉皮質表面から神経活動を大規模かつ高密度に記録するために、実験装置の多チャンネル化、小型化をおこなった。この結果、慢性埋め込み電極を利用した神経活動電位記録の実験系としては、世界でも最多クラスの記録を達成することができた。こうした技術的課題の克服により、これまで手に入らなかった大規模データを使った情報復号化を行い、BMI技術の有用性、ならびに従来のディスプレイを介した視覚情報共有システムの実証を行うことができた。一方で、慢性埋め込み電極を使った皮質電気刺激実験の手法は、世界的にもほとんど確立しておらず、実験の実施に想定以上の時間がかかってしまった。今後も知覚共有技術開発を継続し、本研究の最終目標である個体間の脳情報直接通信の達成を目指したい。

5. 研究総括の見解

課題目標はほぼ達成された。脳・神経活動から感覚情報を解読するデコーダ部分については十分な成果を収め、皮質電気刺激による感覚情報共有についても枠組みを構築したが、両要素の組み合わせが今後の課題である。しかし、枠組みが与えられたため、この部分についても、課題の達成は時間の問題であると考えられる。

本研究は他者と脳情報を共有する技術の開発を目標とし、感覚情報のデコーダ開発の基礎データ収集、複数の皮質刺激電極を通じて脳情報を再現するための技術開発を行った。いわば脳から脳への通信であるが、このような BMI を介した直接的な意思伝達手段は、ALS などの神経難病、脳・神経損傷などによる運動麻痺や発話障害の患者さんの機能回復支援として、生活の質を大幅に向上させると期待される。

マカクザルに、多数の記録用・刺激用電極を装着し、個体間でBMIを介して視覚情報を共有するための技術開発を行った。視覚物体認識を担う下側頭葉に微小電極アレイ(電極総数224本)を埋め込み、さまざまな物体画像の観察中に誘発される神経活動電位を多チャンネルで、かつ同時に記録し、物体画像がカテゴリごとにクラスタ化した形で表現されていることを確認した。特に顔情報が下側頭葉の広範囲なネットワークを介して時間発展することが明らかになった。さらに、記録保存したデータを 100ms 毎に読み出して得られる神経活動パターンを線形判別分析することで、120 種類の画像のうち、どの画像が各時点で提示されていたのか、80-90%の精度で判別することに成功した。また、神経活動パターンと観察画像の特徴量との間の回帰分析を行うことで、神経活動から観察画像の大まかな形状を復元することに成功した。次に、マルチチャンネル皮質電気刺激法に取り組み、皮質刺激により、適切に情報が提供できたか否かを客観的に判定する行動指標として、特殊な両眼視野闘争刺激を新たに開発した。この方法は、物体画像の位置を変えぬまま、運動視刺激を提示できる。反射的に生じる眼球運動観察により、左右眼に別々に提示された画像のうち、どちらの画像を意識的に知覚したか客観的に判定できる。

こうした要素技術を組み合わせ、一方の個体の知覚状態を読みだしたのち、電気信号に再コーディングし、他方の個体の脳に入力することで、二個体が同じ知覚状態を共有するシステムを実現するが、3 月末までに皮質刺激系の実験の進展が見込まれる。

6. 主な研究成果リスト

(1) 論文(原著論文)発表

- | |
|--|
| 1. <u>R. Hayashi</u> , Y. Sugita, S. Nishida, K. Kawano, “How motion signals are integrated across frequencies: Study on motion perception and ocular following responses using multiple-slit stimuli”, <i>Journal of Neurophysiology</i> , 2010, vol.103, no.1, pp.230–243. |
| 2. <u>R. Hayashi</u> , M. Tanifuji, “Which image is in awareness during binocular rivalry? Reading perceptual status from eye movements”, <i>Journal of Vision</i> , 2012, vol.12, no.3, article 5, pp.1–11. |
| |
| |
| |

(2) 特許出願

研究期間累積件数: 1件

1.

発 明 者: 林 隆 介

発明の名称: 画像生成装置、画像生成法、及びプログラム

出 願 人: 独立行政法人 産業技術総合研究所

出 願 日: 2010/12/21

出 願 番 号: 2010-284437

(3) その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

学会発表

- R. Hayashi, “Hierarchical processing of face across the surface of macaque inferior temporal cortex: multi-electrode array recording study”, Neuroscience 2012 (the 42nd Annual Meeting of the Society for Neuroscience), New Orleans, USA, Oct 2012.
- R. Hayashi, “The effect of phase-shift motion on object-selective responses in the inferior temporal cortex: a case study of multi-electrode recording from an awake monkey”, Neuroscience 2011 (the 41st Annual Meeting of the Society for Neuroscience), Washington DC, USA, Nov 2011.
- R. Hayashi, M. Tanifuji, “A new binocular rivalry stimulus for reading out perceptual alternation of object image from reflexive eye movement”, Neuroscience 2010 (the 40th Annual Meeting of the Society for Neuroscience), San Diego, USA, Nov 2010.
- 林 隆介,「サル下側頭葉における顔情報表現: 多電極アレイを使った慢性記録の事例」, 第 35 回 日本神経科学大会, 名古屋, 2012 年 9 月.
- 林 隆介,「位相シフト運動視刺激によって誘発されたサル下側頭葉のオブジェクト選択的応答: 多電極アレイを使った慢性記録の事例」, 第 34 回 日本神経科学大会, 横浜, 2011 年 9 月.
- 林 隆介, 谷藤 学,「両眼視野闘争下で知覚的優位な物体画像を判別する新しい心理物理

手法」, 第 33 回 日本神経科学大会 (Neuro2010), 神戸, 2010 年 9 月.

招待講演

- 林 隆介, 「網羅的神経活動記録による脳情報の解読とコミュニケーション利用の可能性について」, 第 2 回社会神経科学研究会, 生理学研究所, 2013 年 1 月.
- 林 隆介, 「サルTE野における脳情報の復号化およびその応用」, コンピュータサイエンス専攻コロキウム, 筑波大学, 2012 年 11 月.
- 林 隆介, 「脳接続型人工視覚技術の可能性について」, つくば半導体コンソーシアム, 産業技術総合研究所 臨海副都心センター, 2010 年 12 月.

原稿監修

- 林 隆介, 「知能と心の科学」, Newton別冊, 2012 年 12 月発行, pp.58-61, 2012.
- 林 隆介, 「脳と意識」, Newton, 5 月号, pp.36-39, 2012.

研究報告書

「大脳皮質への神経活動入力による機能回復促進」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 平成21年10月～平成25年3月

研究者: 肥後 範行

1. 研究のねらい

脳卒中などによって脳に損傷を受けると、失われた脳領域の機能に障害が生じる。成熟した脳が損傷を受けた場合に、失われた神経細胞は基本的に再生することはないと考えられている。ただし、その後リハビリ訓練を行うなど適切な環境に置かれれば、外科的な処置を施さなくても機能の回復を示すことがある。これは人工的な情報処理装置であるコンピュータが壊れた場合、蓋をあけて部品を交換したり、切れた配線を繋いだりしなければならないのと対照的である。自律的な機能回復は、生命システムに特有の現象であり、そのメカニズムを理解することは生命現象の基本原理を解明することにもつながる。

さらに、脳損傷後の機能回復メカニズムを解明することで、より有効な脳機能回復法の開発につながることを期待できる。例えば、近年注目されている新たな脳機能回復技術に tDCS (Transcranial Direct Current Stimulation; 経頭蓋直流電気刺激) や TMS (Transcranial Magnetic Stimulation; 経頭蓋磁気刺激) 脳電気刺激法) などの脳電気刺激法があるが、現在用いられている刺激の強さ、周波数、タイミングは経験に依存したもので、その機能回復に及ぼす効果は必ずしも高くない。脳損傷後の機能回復メカニズムを知ることで、回復メカニズムに基づいたより有効な脳電気刺激技術の開発が可能となる。

本研究では、ヒトに近い脳構造と筋骨格構造を持つマカクサルを用いて、脳損傷後のリハビリ運動訓練による手の把握動作回復の背景にある脳神経システムの変化を明らかにする。脳損傷後の機能回復には、脳の領野レベルから細胞レベル、分子レベルまでの多くの変化がともなっているが、それらをレベル縦断的に調べた研究は少ない。そのため、これまでの我々の研究で確立した、マカクサル大脳皮質第一次運動野損傷モデルを用いて、手の把握運動機能回復の背景にある脳内の変化を、皮質領野活動、単一神経ニューロン活動、神経投射、遺伝子発現のレベルで多角的に明らかにする。

2. 研究成果

(1) 概要

マカクサルの大脳皮質第一次運動野を神経毒(イボテン酸)により損傷したのち、1-2 か月間の把握運動訓練を行い、上肢運動機能の回復が見られた時期における脳の機能及び構造的変化を明らかにした。

まず、第一次運動野損傷後の機能回復期における脳活動の変化を、PET(陽電子放射断層撮影)を用いて計測した。その結果、損傷周囲の第一次運動野と、運動前野腹側部の両者において、機能回復に伴う活動の変化が見られた。回復後にこれらの領域の活動を抑制したところ、手の運動機能障害が再発したことから、この領域の活動変化が機能回復に必須であると考えられる。次に、領野レベルの活動変化の背景にある、単一ニューロン活動の変化を知るために、把握を伴う一連の動作中に、運動野に記録電極を刺入し活動を計測した。損傷の周辺領域では、電気刺激による体部位の動きが誘発されにくくなったが、この領域では、運動機能の回復期に物体の把握時に活動するニューロンが増加した。すなわち運動機能の回復にともなって、損傷周囲の神経細胞の役割が変化した可能性が示唆された。

機能回復に伴う運動野の物質レベルの変化を調べるために、回復過程におけるタンパクおよび遺伝子発現変化の解析を行った。回復期では運動野直下の白質領域において、ミエリン鞘の形成に関わるタンパクの発現の上昇が見られた。このことから、ミエリン鞘の増加による運動出力線維の強化が、運動機能回復に関わっている可能性が考えられる。DNA マイクロアレイを用いた網羅的遺伝子発現解析をおこなったところ、回復期である損傷後 3 ヶ月におい

て、損傷側半球の運動前野腹側部において、神経突起の伸長や細胞接着など神経の構造変化に関わる遺伝子を含む数百種の遺伝子発現の変動が見られた。具体的には、FGF17 (fibroblast growth factor 17) 遺伝子や、これまでは神経細胞での働きがよく分かっていなかった SPP1 (secreted phosphoprotein 1) と呼ばれる遺伝子が、把握機能に重要な役割を果たす皮質脊髄路の起始細胞で特異的に発現し、機能回復に伴って発現を変動させることが明らかになった。

本研究成果は、脳機能回復を促進する薬剤や、脳の機能回復メカニズムに基づいた電気刺激技術など新たなニューロリハビリテーション技術の開発につながる。

(2) 詳細

成体マカクサルの大脳皮質第一次運動野に局所的な損傷を作成した。第一次運動野は大脳皮質からの運動出力を担う主要な領域であり、この領域に局所的な損傷を作成することにより、運動機能障害を生じる脳損傷モデルを作成を試みた。まず、皮質内微小刺激法-intracortical microstimulation (ICMS)を用いて、マカクサル第一次運動野の体部位マップを同定した。これは大脳皮質内に微量の電流を流し神経を活動させた時に、体のどの筋肉が動いたかを調べることでその領域が支配する体の部位を調べる手法である。体部位マップを同定した後に、神経毒であるイボテン酸を、体部位マップ上の手指の領域に注入した。イボテン酸の注入を受けた領域では、神経細胞(ニューロン)の永続的な欠落が生じ、代わりに小型の神経膠細胞(グリア細胞)の増殖が生じた。このようにして、第一次運動野の手指運動の支配領域に局限した損傷を作成したところ、重篤な運動麻痺が反対側の上肢に生じた。損傷後に週 5 日間、小物体を把握する動作をもちいたリハビリ運動訓練を行った。これまでの私たちの先行研究と同様に、損傷後 1-2 か月のリハビリ運動訓練を行うことで、損傷前に近い精密把握(つまみ把握)の回復がみられた(Murata et. al., 2008, J. Neurophysiol.)。

研究テーマ 1「脳機能イメージングによる活動計測と薬剤投与による不活性化」

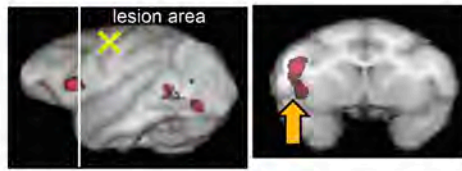
まず、回復に伴う脳活動の変化に着目した。PET (陽電子断層画像法)を用いて、サルがスリットから物体を精密把握によって取り出す課題を行っている時の脳の活動を計測し、損傷前と、第一次運動野損傷後の機能回復期における脳活動の比較を行った。損傷前は、第一次運動野を中心とした脳活動が見られたのに対し、損傷後精密把握の回復が見られた時期には、運動前野腹側部と呼ばれる大脳皮質領域の活動上昇が見られた(図 A)。これらの領域の活動を、抑制性神経伝達物質である GABA のアゴニストであるムシモールによって抑制したところ、回復した精密把握が出来なくなったことから(図 B)、この領域の活動上昇が精密把握の回復に必須であることが明らかになった。

研究テーマ 2「単一ニューロン記録」

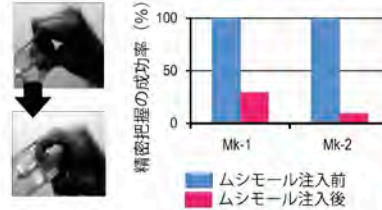
脳機能回復に伴う領域レベルの活動変化の背景にある、単一ニューロン活動の変化を知るために、サルがスリットから物体を把握し、取り出して食べるという一連の運動を行っているときに、脳内に記録電極を刺入し単一ニューロン活動を計測した(特許 1、その他の成果 1)。この分野の先行研究として、神経活動ではなく皮質内微小刺激法(ICMS)によって同定される体部位マップの変化を調べた研究がある(Nudo et al., 1996)。この先行研究では、運動野の手指領域を損傷した後にリハビリ訓練を行うと、もともとは肘や肩の動きにかかわる領域に手指領域が拡がることから、この体部位マップの変化がリハビリによる機能回復の脳内基盤だと考えられてきた。今回の私の実験では、損傷した領域の周囲に指領域の拡大が少し見られた一方、電気刺激で何も応答が見られない領域、すなわち体部位マップが明確でない領域が多くなり、第一次運動野の指と肘肩以外の領域がほとんど見つからなくなかった(図 C)。この、先行研究との違いの原因は不明であるが、先行研究はリスザルを用いているのに対して本研究では手の巧緻性の高いニホンザルを用いていることと関係がある可能性がある。この体部位マップの変化に対応して、損傷前と運動機能の回復後で活動パターンの変化を示す領域がいくつか見られた。例えば電気刺激で何も応答が見られない領域では、損傷前と比べ

て、手の動きに関連したニューロン活動が有意に上昇した(図 C)。このことから、損傷後の回復期には、手の動きを担うニューロンが損傷の周辺領域にモザイク状に広がっていると考えられる。

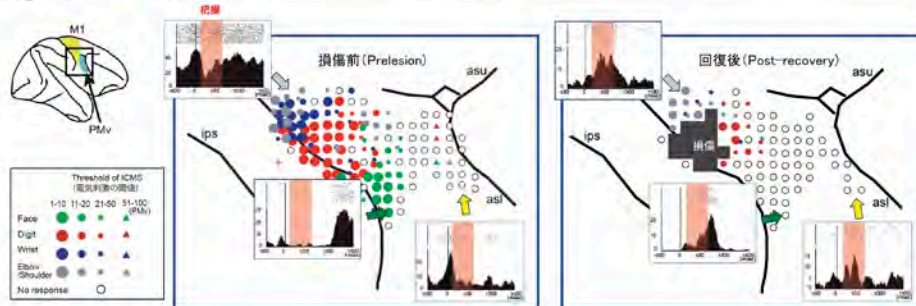
A 回復過程で損傷周囲運動野の活動上昇



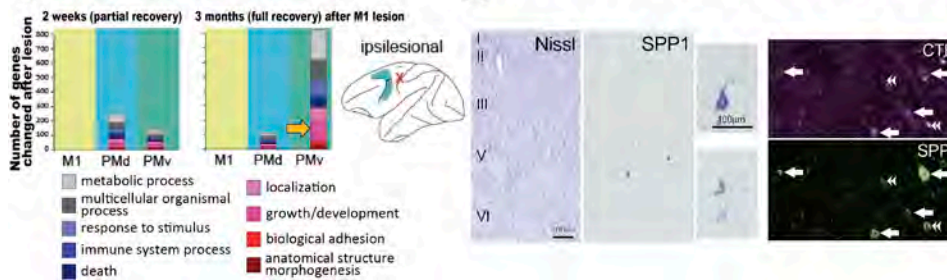
B 活動不活性化による障害の再発



C 運動野で体部位マップとニューロン活動の変化



D 損傷周囲の運動野で遺伝子発現変動 **E** 皮質脊髄路細胞におけるSPP1遺伝子発現



研究テーマ 3「タンパクおよび遺伝子発現解析」

脳損傷後の機能的な変化には、神経回路の構造変化を含む物質的な変化がともなっていると考えられる。機能回復過程での運動野の物質レベルの変化を調べるために、回復期の運動野におけるタンパクおよび遺伝子発現変化の解析を行った。免疫組織化学を用いた解析により、回復期の運動野下の白質領域ではミエリン鞘の形成に関わるタンパクの発現の上昇が見られた。このことから、ミエリン鞘の強化による、運動出力に関わる神経伝達速度の上昇が、運動機能回復に関わっている可能性が考えられる。さらに灰白質領域において DNA マイクロアレイを用いた網羅的遺伝子発現解析をおこなったところ、回復期である損傷後 3 ヶ月において損傷側半球の運動前野腹側部において、神経突起の伸長や細胞接着など神経の構造変化に関わる遺伝子を含む数百種の遺伝子発現の変動が見られた(図 D 矢印)。一例をあげると、FGF17(fibroblast growth factor 17)は、発達期のマウスにおいて前頭葉の形成に関わることが報告されているが、回復期の運動前野腹側部では正常個体の 3 倍程度の発現上昇を示すことが DNA マイクロアレイを用いた解析で分かった。In situ ハイブリダイゼーションを行ってこの遺伝子の発現細胞及びその分布を調べたところ、回復期である損傷後 3 ヶ月の運動前野腹側部において、V 層に存在する、比較的大型のニューロンで発現が見られた。このことは、運動前野腹側部からの下降性経路に FGF17 の関わる変化が生じていることを示唆している。また、これまでは神経細胞での働きがよく分かっていなかった SPP1 (secreted phosphoprotein 1) と呼ばれる遺伝子が、把握機能に重要な役割を果たす皮質脊髄路の起始

細胞で特異的に発現し、また脳損傷後の把握機能の回復に伴って、損傷周囲の運動野において発現を変動させることが明らかになった(図 E、論文 3)。

3. 今後の展開

これまでに得られた知見をさらに確実なものとするとともに、知見を社会に還元するために、以下の3つの側面での展開を考えている。

- (1) これまでの研究により、第一次運動野損傷後の把握動作回復に伴う神経投射と遺伝子発現変化を同定することが出来たが、これらの変化と把握動作の機能回復の因果関係は未だ検証されていない。機能回復後に、ウィルスベクターを用いて特定の神経投射の不活性化や遺伝子発現の抑制を行った場合に障害が再発するのかを検証することで、機能回復との因果関係を明らかにしていきたい。
- (2) 上記の研究成果は全て大脳皮質第一次運動野を神経毒によって損傷した、大脳皮質局所損傷モデルザルにおいて得られたものであるが、臨床における実際の脳卒中患者では、脳深部の内包と呼ばれる線維束において、血栓による梗塞が生じることが多い。今後、より臨床に近い内包梗塞モデルザルで同様の解析を行うことで、臨床に直結する知見を得ることが期待できる。
- (3) 脳機能回復に関わるニューロン活動の変化を同定することが出来たので、この知見を、機能回復を促進する技術の開発につなげたい。具体的には、損傷周囲の運動野に、サルが手を動かそうとするタイミングに合わせて神経活動を模した周波数の電気刺激を与えることで、電気刺激を与えずに訓練を行った場合よりも回復が促進されるかを検証する。

4. 自己評価

機能回復の背景にある脳内の変化を、皮質領野活動、単一神経ニューロン活動、神経投射、遺伝子発現のレベルで多角的に明らかにすることが出来た一方、実際に回復を促進する技術の開発にまで至らなかったことは物足りなさを感じている。

個人的にはかなり背伸びをした提案課題であったにもかかわらず、粘り強く実験を行ったことは評価したい。東日本大震災による被災や実験の中断もあったが、周囲の方の励ましもあり、なんとか続けることが出来た。

特に単一神経ニューロン活動の計測に関しては、これまでに経験が無かったことから、実験室のセットアップから行い試行錯誤の連続であった。経験が無いながらも、さきがけのアドバイザーや他のさきがけ研究者からのアドバイスをいただきながら一定の成果を挙げることが出来たことは満足している。何よりも領域会議などを通じて、この分野の第一線で活躍されている多くの方々との交流を深めることが出来たのが、一生残る大きな財産であると感じている。

5. 研究総括の見解

課題目標は達成された。本研究の成果を考慮することにより、リハビリテーション医療などへのBMI技術の応用がさらに展開されることが期待される。

脳卒中などの脳損傷後、適切なリハビリ訓練を行うなどBMI技術による支援により機能が回復することは良く知られているが、機能回復メカニズム解明により、さらに有効な脳機能回復法の開発が期待される。例えば、近年、tDCSやTMSなどの新たな脳電気刺激法が注目されるが、その機能回復に及ぼす効果は必ずしも高くない。脳損傷後の機能回復メカニズムを知ることで、それに基づいた、より有効な脳電気刺激技術の開発が可能と考えられる。

本研究では、マカサルを用い、脳損傷後のリハビリ運動訓練による手の把握動作回復の背景にある脳神経システムの変化を、神経生理学的、形態学的、遺伝子発現などの方法を用い、多角的に脳レベル縦断的に調べた。脳損傷後の機能回復期のPET計測では、損傷部周囲の第一次運動野・運動前野腹側部の両者において、機能回復に伴う活動変化が見られた。これら領域の活動を抑制すると、手の運動機能障害が再発し、この領域の活動変化が機能回復に必須で

あると考えられた。また、この領域では、運動機能の回復期に物体把握時に活動するニューロンが増加した。微小電気刺激による反応閾値上昇が起こっていることを考慮すると、運動機能の回復に伴い、損傷周囲の神経細胞で本来の役割分担を越えた汎化が起こったことが示唆された。回復過程におけるタンパクおよび遺伝子発現変化としては、運動野直下の白質領域において、ミエリン鞘の形成に関わるタンパクの発現上昇が見られた。これから、ミエリン鞘の増加による運動出力線維の強化が、運動機能回復に関わると考えられる。DNA マイクロアレイを用いた網羅的遺伝子発現解析では、回復期(損傷後 3 ヶ月)において、損傷側半球の運動前野腹側部において、神経突起伸長や細胞接着など神経の構造変化に関わる遺伝子を含む数百種の遺伝子発現の変動が見られた。特に FGF17 や、SPP1 が、皮質脊髄路の起始細胞(把握機能に重要な役割を果たす)で特異的に発現し、機能回復に伴う発現変動がみられた。

本研究成果は、脳機能回復を促進するニューロリハビリテーション技術の開発等につながるものが期待される。

6. 主な研究成果リスト

(1) 論文(原著論文)発表

1. Kojima T, Higo N, et al. Functional annotation of genes differentially expressed between primary motor and prefrontal association cortices of macaque brain. <i>Neurochemical Research</i> . 2013, 38, 133-140
2. Yamamoto T, Higo N, et al. SPP1 is expression in spinal motoneurons of the macaque monkey. <i>Neuroscience Research</i> 2011, 69, 81-86
3. Higo N, et al. SPP1 is expressed in corticospinal neurons of the macaque sensorimotor cortex. <i>The Journal of Comparative Neurology</i> 2010, 518, 2633-2644
4. Higo N, Training-induced recovery of manual dexterity after a lesion in the motor cortex. <i>The Keio Journal of Medicine</i> 2010, 59, 4-9
5. Higo N, et al. Increased expression of the growth-associated protein-43 gene in the sensorimotor cortex of the macaque monkey after lesioning the lateral corticospinal tract. <i>The Journal of Comparative Neurology</i> 2009, 516, 493-506

(2) 特許出願

研究期間累積件数:1 件

1.

発 明 者: 肥後 範行、野崎展史

発明の名称: 簡易式上肢運動モニター装置

出 願 人: 独立行政法人産業技術総合研究所

出 願 日: 2011/4/28

出 願 番 号: 特開2012-231817

(2) その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

1. 主要な学会発表

Noriyuki Higo, Nobuo Kunori, and Ichiro Takashima, Correlation between neural activity and motor representation derived from intracortical microstimulation (ICMS) in the primary motor and ventral premotor cortex of the macaque monkey, Society for Neuroscience 2012, New Orleans, USA.

2. 受賞

肥後 範行、マカクサル運動野損傷後の機能回復メカニズム、予防衛生協会研究奨励賞, 2009



3. 著作物

肥後範行、脳損傷後の機能回復に伴う神経システムの可塑的な変化—運動機能回復を促進するニューロモジュレーションの可能性—、脳21、16(1):37-41, 2013

4. 著作物

肥後範行、運動野での可塑性、Clinical Neuroscience, 29(7):787-790, 2011

5. 著作物

肥後範行、大脳皮質損傷後の上肢訓練による運動機能回復、脳21、12(3):20-23, 2009

研究報告書

「モチベーションの脳内機構と制御」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 平成21年10月～平成25年3月

研究者: 南本 敬史

1. 研究のねらい

モチベーション(動機付け)はヒトや動物を行動へ駆り立て、目標へ向かわせる脳内プロセスである。心理学ではモチベーションは、行動の結果得られる報酬量などの外的要因(誘因)と、その報酬を身体がどの程度欲しているかという内的欲求(動因)の2つによって制御されると考えられている。このモチベーション制御に関わる神経情報を解読することができれば、モチベーションを外部からコントロールすることも可能となり、うつ病などの精神疾患の診断・治療への応用や学習・労働意欲の向上への応用への道が開かれる。本研究では、誘因と動因に基づいてモチベーションを制御する神経・分子機構の探索・モデル化を行い、さらにモチベーションを外部から制御することでそのモデル検証し、最終的に「システムレベルから分子レベルまで統合されたモチベーション制御モデル」の構築を目標とする。

2. 研究成果

(1) 概要

動因の情報処理ネットワーク

サルの報酬獲得行動が生理的脱水の客観的指標である血中浸透圧濃度でよく説明でき、水分獲得行動のモチベーション制御モデルの生理学的妥当性を示すことができた。さらに、浸透圧濃度を検出する脳部位と神経連絡がある前帯状皮質と島皮質の2領域について、その脳活動が行動課題遂行中の動因の変化と相関して変動することを見だし、動因の情報処理に関わる脳神経ネットワークの一部が同定できた。

誘因の情報処理ネットワーク

報酬量とそのタイミング(報酬遅延)の2つの誘因の統合に関与する外側前頭前野から神経投射のある尾状核部位において、単一の神経細胞がこれら2要因を統合して主観的な価値を表現し、モチベーションの情報表現の1段階前の情報であることが確認された。

モチベーション制御の分子機構

ヒト成人において意欲低下を引き起こす甲状腺機能低下症という疾患のモデルサルを新規に開発し、行動実験を通して、モチベーション低下には報酬価値に関係する／関係しない、という2つ要因があることを示した。報酬価値と関係しないモチベーションの低下は脳内のセロトニン分泌低下に起因することが明らかとなった。一方、ドーパミン D2 受容体阻害剤であるハロペリドール投与により、引き起こされたモチベーション低下と、阻害剤の D2 受容体占有率とが相関関係をもつことから、D2 受容体を介したドーパミン伝達により報酬価値に依存したモチベーションの調節機構を明らかにした。

(2) 詳細

動因の情報処理と神経ネットワーク

これまでに我々は、喉が渇いたサルが水を報酬として単純な反応が要求される行動課題を用いて、行動と誘因または動因との関係を調べてきた。このなかで、行動のモチベーションの指標として用いている行動の拒否率が誘因である報酬量と動因の指標となる充足率の関数を基にしたモデルを示してきた。動因の脳情報処理の理解のために、まず、この経験的なモデルの生理学的妥当性について検証した。ほ乳類は、体液の浸透圧を一定に保つ仕組みの一つとして、脳には体液の浸透圧を感受する器官があることが知られている。報酬量課題を行っているサルから繰り返し採血を行い、血中の浸透圧濃度と拒否率との関係を調べたところ、同じ報酬条件でも浸透圧が高いと拒否率が低いという負の相関関係が認められた。このことは報酬獲得行動において、浸透圧濃度が水報酬の価値を決める内部情報として用いられている可能性が示唆された。また、これまでのモデルが水分獲得による浸透圧濃度変化のダイナミズムを示すものとして生理学的にも矛盾がないと考えられる(Minamimoto et al., 2012a)。

次に、この動因の脳情報処理ネットワークを同定するために、行動課題遂行中の脳活動をPET イメージングにより計測した。行動から推定した動因の変化と有意に相関して変動する脳活動を示す脳部位として、前帯状皮質と島皮質の2領域が同定できた。これら2領域は、浸透圧濃度を検出する脳部位と直接及び間接的に神経連絡があることから、浸透圧濃度をもとに水報酬の価値を決める内部情報処理、つまり水報酬獲得のための動因処理の神経ネットワークを形成している可能性が示唆された。

誘因の情報処理と神経ネットワーク

行動のモチベーションはその結果得られると期待される報酬の量やタイミングなどの外部情報により影響をうける。これまでに、期待される報酬の量そのタイミング(報酬遅延)の2つの誘因の統合に外側前頭前野が必須であることを示してきた。外側前頭前野から神経投射をうける尾状核部位における神経細胞が、これら2要因の統合処理とどのように関わるかを明らかにするため、報酬量と遅延時間を独立して操作して呈示し、行動を要求した。2頭のサルの尾状核より99個の単一神経活動を記録した。64個(65%)の尾状核の細胞が手がかり刺激の後活動を有意に増大させた。そのうちの約20%の活動が、行動から推定された遅延報酬割引価値と有意に正または負の相関関係を示した。つまりこれらの神経活動それぞれが、主観価値をコードしていると考えられた。主観価値と平行して報酬獲得に従って報酬価値が指数関数的に減衰することが拒否率から推定できた。一方、主観価値をコードする神経活動は、報酬獲得に従って有意な活動の変化を示すことがなく、報酬獲得にともなう価値の減衰(devaluation)の影響を受けないことが明らかとなった。つまり、尾状核の神経活動は2要因を統合して主観的な価値を表現するものの、モチベーションの情報表現でないことが確かめられた。この成果は日本神経科学学会において報告し、現在論文を準備中である。

さらに、期待される報酬を得るのに必要なコストとして、労働量と報酬の遅延が挙げられるが、これらの要素をパラメトリックに変化させた場合のモチベーションの変化を定量し、数理モ

デルを提案した(Minamimoto et al., 2012b).

モチベーション制御の分子機構

モチベーション制御の分子機構を調べるため、ヒト成人において意欲低下を引き起こす甲状腺機能低下症という疾患に着目し、このモデルサルを新規に開発した。甲状腺ホルモンの合成を阻害する薬を継続的に投与し、サルを甲状腺機能低下症状態にしたところ、拒否率の上昇し、モチベーションの低下が確認できた。このモチベーションの低下は報酬価値による関係の変化と報酬価値に依存しない拒否率の増加という二つの要因の変化で説明できた。このとき脳脊髄液サンプル内の代謝物測定から、脳内のセロトニンとドーパミンの生成能が低下している可能性が示唆された。そこで、抗うつ薬としても知られているSSRIを投与したところ、報酬価値に依存しない拒否率が選択的に回復した。セロトニン神経活動を抑制し、脳内セロトニンレベルを低下させることが知られている5HT_{1A}受容体のアゴニストの全身投与においても同様に、報酬価値に依存しない拒否率の上昇が確認できた。

一方、報酬価値に依存した意欲の調節機構がドーパミンによるものである可能性を確認するため、モチベーション行動におけるドーパミンD2受容体阻害の影響を調べた。D2受容体阻害薬を全身投与すると脳内のドーパミンD2受容体に結合し、約7日間にわたって占有が生じることが、放射性リガンドである^[11C]Racloprideを用いたPET測定により定量できた。また、同条件でサルに行動課題を実行させると、実行しない割合の増加が約7日間生じ、その変化が報酬価値に依存したパラメータの増加で定量できた。この増加と占有率との変動との間に正の相関関係があることから、報酬価値依存的なパラメータが脳内のドーパミンD2受容体を介した伝達による調節を受けることが示唆された。

これらの結果は北米神経科学学会を始めとする学会で報告し、論文を準備中である。

3. 今後の展開

本研究成果により次の展開が期待できる。1)モチベーション制御機構の全貌解明:本研究の方向性を継続し、たとえば特定した分子機構と神経活動との対応を評価することで、より詳細な脳機構の解明につながる。2)一般化:本研究はサルが水報酬を得るためのモチベーションの脳機構を前提にしてきた。得られた結果を基礎として、生理学的欲求以外の、例えば社会的な欲求や報酬などと比較/検討することで、ヒトのモチベーション制御の脳機構理解に一般展開をはかることが重要である。3)うつなどヒトの精神疾患の病態理解:モチベーションの分子機構について、ドーパミンとセロトニンの役割の違いなどを基に、意欲低下の原因の切り分けやその脳病態解明等、医学応用への展開が可能である。

4. 自己評価

上記の研究成果により当初の研究目標の多くが達成できたと考える。誘因・動因の情報処理とその脳回路理解について、関連する脳部位を明らかにすることができ、統合して理解可能なモデルの構築とその検証ができた。特に、本研究で一貫して用いた水を報酬とする実験系において、数理モデルの生理学的妥当性が確認できたことは、得られた知見を一般化する上で重要であると考えられる。また、モチベーション低下モデル動物を用いることで、モチベーションの分子機構として、ドーパミンとセロトニンの役割の違いを特定できた。さらに、これらの分子の関連薬剤を



用いてモチベーションを操作し、モデルの検証ができた。一方、モチベーションの脳内情報の解読という観点からすると、誘因・動因を統合した神経情報に対応する神経活動を記録して、試行毎にモチベーション数理モデルとの対応を評価するのが最終到着点であろう。この点についても既に手がかりが得られており、現在神経活動記録の準備を進めている。領域終了までに、是非達成したい。また、未発表の成果についても順次、論文発表を行い、全てを総説の形にまとめたと思う。

5. 研究総括の見解

課題目標は達成された。当該研究者も述べたように、今後はモデルの拡張により、水獲得よりも高次のモチベーションに適用することが課題となろう。モチベーションを考慮した BMI 技術の展開に寄与することが期待される。

本研究は、モチベーション制御に関わる神経情報を解読し、外部から制御できれば、うつ病などの精神疾患の診断・治療への応用や学習・労働意欲の向上への道が開かれるとする考え方にに基づき、モチベーションの定式化を水摂取を報酬とするサル・モデル系でなされた。すなわち、「誘因」(外的要因)と「動因」(内的欲求)を区別し、これらに基づいてモチベーションを制御する神経機構のモデル化を行い、その脳内対応物の探索を PET など脳イメージング法を用いて行った。さらに動物モデルを用い、モチベーションを外部から制御することでモデルを検証した。

「動因」については、報酬獲得行動が血中浸透圧濃度で説明できることから、水分獲得行動のモチベーション制御モデルの生理学的妥当性が示された。さらに、浸透圧濃度を検出する脳部位との神経連絡を持つ前帯状皮質と島皮質の2領域の脳活動が、行動課題遂行中の動因変化と相関して変動することを見出し、動因の情報処理に関わる脳神経ネットワークの一部を同定した。「誘因」については、「報酬量」と「報酬のタイミング(報酬遅延)」の2つの誘因があり、その統合に外側前頭前野が関与する。この領域からの神経投射を持つ尾状核部位で、単一神経細胞活動を記録すると、これら2要因を統合して主観的な価値を表現している神経細胞が見出された。これは、モチベーションの情報表現の1段階前の情報であることが確認された。一方、甲状腺機能低下症モデルサルを新規に開発し、モチベーション低下には報酬価値に「関係する」/「関係しない」という2つ要因があることを示した。報酬価値と関係しないモチベーション低下は脳内セロトニン分泌低下に起因することが明らかとなった。一方、ハロペリドール(ドーパミン D2 受容体阻害剤)投与により引き起こされたモチベーション低下と、その D2 受容体占有率とが相関をもつことから、D2受容体を介したドーパミン伝達により報酬価値に依存したモチベーションが調節される機構を明らかにした。

最終的に「システムレベルから分子レベルまで統合されたモチベーション制御モデル」の構築を目標としているが、目標の基本的な部分が達成され、残りの部分は3月末の研究期間終了までに完遂されることが考えられる。モチベーションの定式化については期待以上の成果を上げたが、今後、さらに一般化がなされ、動機づけを考慮した BMI 技術が展開されることが期待される。

6. 主な研究成果リスト

- (1)論文(原著論文)発表



- | |
|---|
| <p>1. Minamimoto T, Yamada H, Hori Y, Suhara T., Hydration level is an internal variable for computing motivation to obtain water rewards in monkeys.
<i>Exp Brain Res. (2012a) 218, 609–618.</i></p> |
| <p>2. Minamimoto T, Hori Y, Richmond BJ., Is working more costly than waiting in monkeys?
<i>PLoS ONE. (2012b) 7, e48434.</i></p> |

(2)特許出願

なし

(3)その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

学会発表

1. Hori Y, Nagai Y, Oh-Nishi A, Suhara T, Minamimoto T.
Decreased motivational value in an instrumental task after a single injection of haloperidol with quantitative assessment of dopamine D2-like receptor occupancy.
Program No. 398.23. New Orleans, LA: Society for Neuroscience, (2012).
2. Hori Y, Nagai Y, Oh-Nishi A, Suhara T, Minamimoto T.
A PET study of a primate model of hypothyroidism: dopaminergic dysfunction and low motivation.
Society for Neuroscience (2011).
3. Minamimoto T, Oh-Nishi A, Hori Y, Nagai Y, Suhara T.
Serotonergic dysfunction mediates decrease in motivation for instrumental action in hypothyroidism model monkeys.
8th IBRO World Congress (2011).
4. Hori Y, Richmond BJ, and Minamimoto T.
Neural coding of predicted and experienced outcome value with temporal discounting in the primate caudate nucleus.
日本神経科学学会 (2010).
5. Minamimoto T, Oh-Nishi A, Hori Y, Nagai Y, Suhara T.
Behavioral characteristics of low motivation and its relation to serotonin in a primate depression model.
Society for Neuroscience (2010).

研究報告書

「情動記憶形成と消去を担う扁桃体局所回路の制御機構の解明と応用」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 平成21年10月～平成25年3月

研究者: 渡部 文子

1. 研究のねらい

情動は、認知・意欲などの発現に深く関与すると共に、危険な場所や刺激を記憶・学習することで、私達の生存維持に重要な役割を担います。一方その異常は、心的外傷後ストレス症候群(PTSD)や不安障害 などにも直結し、現代のストレス社会において、今後益々大きな社会問題となることが予想されます。扁桃体はこれら情動発現や情動依存的学習に中心的役割を担うことが知られています。扁桃体依存的学習である「恐怖条件付け」と「消去 (extinction)」は、トラウマによる恐怖体験からの回復や治療法の開発などに直結することが期待され、特に近年、活発に研究が進められています。しかしながら、その多くは分子生物学的あるいは行動学的解析が中心であり、生理学的解析は大きく遅れているのが現状です。

そこで本研究では、まず情動記憶の基盤となる扁桃体シナプス伝達の制御機構を電気生理学的手法により明らかにすることをねらいます。さらに、情動記憶にこれら局所回路機能制御がどのように関与するかを検討するため、蛍光分子を発現する遺伝子改変マウスを用い、恐怖条件づけおよび消去により活性化された細胞群を可視化します。これらの細胞群が同一なのか重複するのか、興奮性細胞なのか抑制性なのか、どのような機能修飾を受けるのか、などを可視化された細胞から直接電気生理学的応答を記録することにより詳細に検討します。本研究計画により、扁桃体内の神経活動から読み出した情報を操作し、そのアウトプットを個体レベルで検討することで、情動記憶の形成を制御する神経機能を明らかにすることがねらいです。本研究成果により、PTSD やパニック障害などの精神疾患の治療法開発につながる基礎的知見を得ることが期待され、さらには加齢に伴う情動記憶の障害、リハビリテーションにおける情動刺激の効果的活用法など、様々な応用の可能性も広がります。

2. 研究成果

(1) 概要

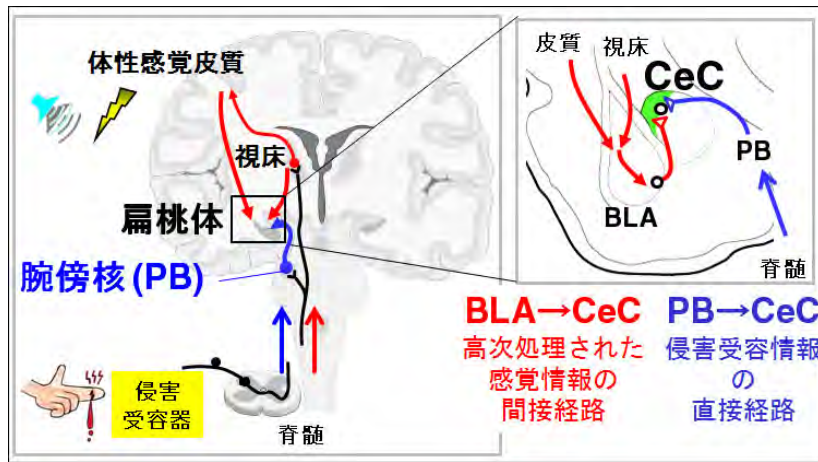
扁桃体の中でも外側外包中心核(CeC)は痛み扁桃体とも呼ばれ、痛み侵害受容刺激の中継核である腕傍核 (lateral parabrachial nucleus: PB)から直接的に入力を受けることが知られています。一方、CeC は扁桃体基底外側核 (BLA)からも入力を受けることから、CeC は、痛みの直接経路としてのPB入力と、皮質や視床で高次の処理を受けた間接経路としてのBLA入力という、異なる二経路の連合の場とみなすことができます。今回私達は、これら二経路のシナプス伝達が、恐怖記憶形成依存的に顕著なシナプス増強を起こすことを見出しました。さらにこの二経路のシナプス伝達は恐怖記憶形成後においてのみ有意な相関を示したことから、連合学習による異シナプス間相互作用が強く示唆されます。従来の研究では、恐怖記憶形成には視床や皮質から扁桃体外側核(LA)への径路が中心的に研究されてきましたが、今回の

研究では扁桃体中心核に焦点をあて、橋の腕傍核という原始感覚入力の可塑性が恐怖記憶形成によって制御されることを示すことに成功しました(Mol. Brain. In press)。これらの結果から、扁桃体中心核を痛みという「侵害受容」シグナルに「負情動」という情動的価値を付加する「連合の場」として捉えることができました。

(2) 詳細

研究テーマA「恐怖記憶形成を制御する扁桃体神経回路機構の解析」

恐怖記憶形成の研究に広く用いられる恐怖条件付けは、音などの条件刺激(CS)と痛みなどの無条件刺激(US)との連合学習です。USとして用いられる「痛み」という侵害受容シグナルは、脊髄後角もしくは三叉神経脊髄路核を経て視床を經由し、痛みの感覚成分を視床や皮質に伝えます(図赤矢印)。これら皮質および視床から扁桃体外側核(LA)などへのシナプス

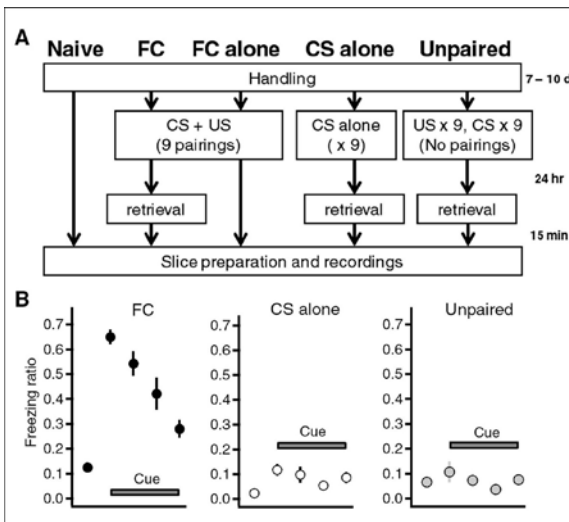


入力が、恐怖条件付けにおけるCS-US連合の分子基盤として、世界中で活発に研究されてきました。

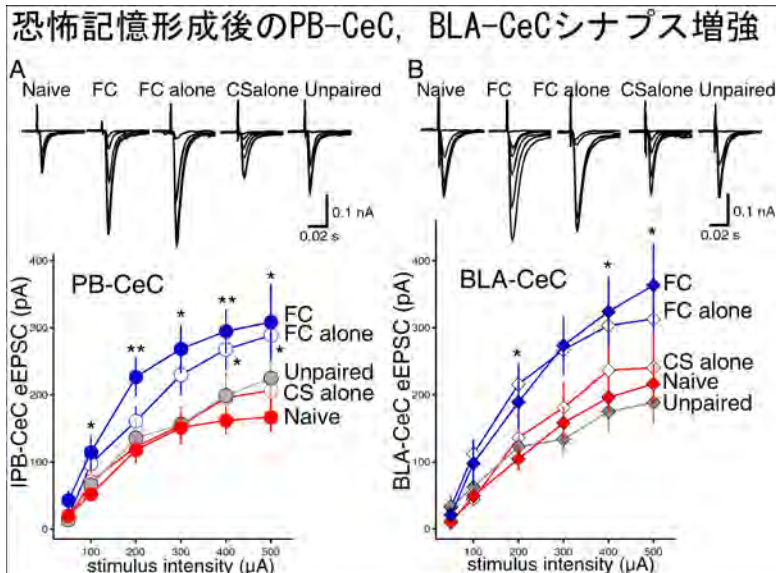
では、無条件刺激はなぜ「無条件に」負情動を喚起するシグナルとして働くのでしょうか？ USで

ある侵害受容シグナルのより直接的な経路として、脊髄後角から橋の腕傍核(PB)を介して扁桃体CeCに直接入力する経路があります(図青矢印)。この経路は様々な急性および慢性疼痛モデル動物においてシナプス可塑性を示すことも報告されています。そこで、私達はPB-CeC経路は痛みの情動成分を表現するのかもしれないと考えました。そしてCeCを、痛みの直接経路としてのPB入力と、皮質や視床で高次の処理を受けた間接経路としてのBLA入力という異なる二経路の「連合の場」として捉え直すことにしました。具体的には、

これら二経路のシナプス伝達が恐怖記憶形成後にどのような修飾を受けるのかを検討する目的で、以下の5群のマウスを設定しました(右図A); naive群、FC群、FC alone群、CS alone群、Unpaired群。FC alone群は連合学習は行わすが、スライス調整直前のretireval(恐怖記憶の想起)テストは行わない群。CS alone群は連合学習時に条件刺激である音(CS)のみ聞かせ、痛み刺激は与えずに翌日想起テストを行う群。Unpaired群はケー



ジに入れた瞬間に無条件刺激である痛み刺激(US)を与え、終わってから CS を与えるため、連合学習は成立しない群。以上の群のうち想起テストを行った群の結果は、FC 群のみ強い Freezing を示し、CS alone 群および Unpaired 群では殆ど示しませんでした。以上 5 群から調整した脳切片を用いて CeC シナプス伝達特性を詳細に比較検討したところ、IPB-CeC および



BLA-CeC シナプスともに、FC 群および FC alone 群において naive 群に比べ有意に亢進したシナプス応答を示した一方、CS alone 群および Unpaired 群は naive 群と変わりませんでした。これらのシナプス増強にはシナプス前終末の放出確率増大によるシナプス増強が起こっていることが示唆された一方、シナプス後細胞における AMPA 応答の増大、および NMDA 受容体のキネティクスの変化も示唆されました。

さらにこの二経路のシナプス伝達には FC 後においてのみ有意な相関を示したことから、連合学習による何らかの異シナプス間相互作用が強く示唆されました。

以上の結果から、恐怖条件付けによる連合学習依存的に CeC のシナプス増強が誘導され、さらにそこには IPB-CeC および BLA-CeC 異シナプス間相互作用が関与することが示されました。今回の結果から、扁桃体中心核は高次処理されたマルチモーダルな感覚情報という環境シグナルに、「負情動」という情動的価値を付加する「連合の場」として機能することが示唆されます。

研究テーマ B「活動依存的可視化マウスの作製と解析」

情動記憶形成に扁桃体の局所回路機能制御がどのように関与するかを検討するため、活動依存的に蛍光分子を発現する遺伝子改変マウスの作製を、新潟大学崎村建司先生との共同研究により行いました。研究開始時点での予定よりも大幅に遅れていますが、現在順調に繁殖を進めています。目的の遺伝子を持つマウスが得られ次第、活動依存的マーカー陽性細胞および陰性細胞から直接電気生理学的解析を行うことで、より詳細な恐怖記憶形成の神経回路制御機構の解明を目指します。

3. 今後の展開

本さきがけ研究の結果から、恐怖記憶形成依存的に CeC のシナプス増強が誘導されることが示され、扁桃体中心核を新たな連合の場として捉えることができました。しかしながら、IPB 入力可塑性を持つことは、情動記憶形成を信頼性よく制御するためには、一見むしろ有害であるように思えます。この疑問に答えるため、今後は CeC シナプス増強の生理的意義を、行動学的手法や活動依存的可視化マウスなどを組み合わせて検討してゆきます。また、慢性疼痛モデルマ

ウスでも CeC シナプス増強が報告されていますが、情動障害を伴う精神疾患の罹患率は、痛みなどのストレスを慢性的に持つ人で有意に高いことが知られています。これらの報告と本研究結果から、情動記憶形成と慢性疼痛形成のメカニズムとには密接な相互作用があることが示唆されます。今後はこの問題に行動学的手法や可視化マウスを用いて取り組み、より生理的条件下に近い情動記憶制御機構の理解に近づくことを目指します。CeC は抑制性神経細胞や様々な神経ペプチドを豊富に含む点で、従来着目されてきた LA や BLA とは大きく性質が異なります。今回見出した CeC シナプス可塑性の制御機構を分子から個体レベルまで一貫して解析することで、精神疾患などの新たな治療法開発につながる基礎的知見を得ることが期待されます。

4. 自己評価

研究開始当初の目標としていた可視化マウスの解析までに至らなかったのが最大の反省点です。マウスは現在繁殖中であり、今後順次解析予定です。一方、さきがけ研究提案時には従来と同様の扁桃体外側核を主眼とした神経回路解析を予定していましたが、研究期間中に CeC における CS-US の連合という、全く新たな視点を獲得して成果をあげることができたのが大きな収穫でした。扁桃体中心核には様々な原始感覚入力があることは報告されていましたが、さきがけ研究によって、恐怖記憶形成という連合学習を CeC における PB シグナルと BLA シグナルとの連合という切り口で捉えることに成功しました。したがって、当初とは視点が異なるものの、恐怖記憶形成を制御する扁桃体神経回路機構の解析という目標は達成できたと考えます。さきがけ研究期間中にこのような新たな芽を育てることが出来た点で満足度は高い一方、むしろ新たな疑問も多く生じました。IPB シナプス可塑性はなぜ必要なのか？恐怖記憶形成と下向性抑制との関係は？CeC シナプス増強と疼痛閾値制御との時間的相関は？これらの疑問に答えるため、今後は行動学的手法と可視化マウスを用いた神経生理学的手法、生化学的手法、光操作などを用いて研究を進めてゆくことで、「脳情報の解読と制御」の「制御」の部分を達成したいと思っています。

本さきがけ領域において、分野をまたぐ多くの仲間たち、研究総括やアドバイザーの先生方と議論が出来たことが、研究者として成長する大きな糧となりました。心より感謝いたします。

5. 研究総括の見解

課題はほぼ達成された。研究成果に基づいて提案された仮説は興味深い。情動の制御に大脳が関与する場合に、BMI 技術で情動を制御することも可能となると考えられ、今後の BMI の展開の基礎として寄与することが期待される。

扁桃体は情動発現や情動依存的学習に中心的役割を担う。「情動」は BMI 技術適用の上で避けて通れない重要な課題である。分子生物学的、行動学的には多くの研究があるが、そのメカニズムの解明には至っていない。本研究は、扁桃体依存的学習である「恐怖条件付け」と「消去 (extinction)」に注目し、情動記憶の基盤となる扁桃体シナプス伝達の制御神経回路を明らかにした。

扁桃体のうち、外側外包中心核 (CeC) ニューロンは、2 つの経路の入力を受ける。1 つは、侵害受容刺激 (痛み) の中継核である腕傍核 (PB) からの直接的な侵害受容入力、他方扁桃体基底外側核 (BLA) から大脳などを介した間接的な侵害受容入力である。この 2 経路のシナプス伝達が恐怖記憶形成依存的に顕著なシナプス増強を起こすこと、この 2 つの経路のシナプス伝達

は恐怖記憶形成後においてのみ有意な相関を示したことから、連合学習による異シナプス間相互作用がこの2経路の入力シナプス間に存在し、PBからの直接的な侵害入力によって大脳を介して可塑的に制御されることを示した(Mol. Brain. 6:11, 2013)。このことから、扁桃核 CeC 核は痛みという「侵害受容」シグナルに「ネガティブな意味」を持つ情動的価値(負情動)を付加する「連合の場」であることを提案した。

CeCに注目し、恐怖記憶学習に際して、侵害性入力、大脳の制御を受けるメカニズムの1つを示したもので、情動の神経機構にとって重要な発見であると考えられる。可視化マウスの実験が現在、順調に進んでおり、3月末の研究期間終了までに、さらに多くの知見が得られることが期待される。この研究を含め、情動の基礎研究は進みつつあり、これらのメカニズムを踏まえたBMI技術の今後のさらなる展開が期待される。

6. 主な研究成果リスト

(1) 論文(原著論文)発表

1. **Watabe, A.M.***, Ochiai, T., Nagase, M., Takahashi, Y., Sato, M., and Kato, F. Synaptic Potentiation in the Nociceptive Amygdala Following Fear Learning in Mice. *Mol. Brain* (2013) in press
2. Kato, H.K, Kassai, H., **Watabe, A.M.**, Aiba, A., and Manabe, T. Functional coupling of the metabotropic glutamate receptor, InsP3 receptor and L-type Ca²⁺ channel in mouse CA1 pyramidal cells. *J. Physiol.* (2012) 590:3019-34
3. Nomoto, M., Takeda, Y., Uchida, S., Mitsuda, K., Enomoto, H., Saitoh, K., **Watabe, A.M.**, Kobayashi, S, Masushige, S., Manabe, T., Satoshi Kida S. Dysfunction of the RAR/RXR signaling pathway in the forebrain impairs hippocampal memory and synaptic plasticity. *Mol. Brain* (2012) 5 (8)
4. Arima-Yoshida, F., **Watabe, A.M.**, Manabe, T. The mechanisms of the strong inhibitory modulation of long-term potentiation in the rat dentate gyrus. *Eur J Neurosci.* (2011) May;33(9):1637-46.
5. Moody, T., **Watabe, A.M.**, Indersmitten, T., Noboru H. Komiyama, N.H., Grant, S.G.N., and Thomas J. O'Dell T.J. β -Adrenergic Receptor Activation Rescues Theta Frequency Stimulation-Induced LTP Deficits in Mice Expressing C-Terminally Truncated NMDA Receptor GluN2A Subunits. *Learning and Memory*, 18: 118–127 (2011)

(2) 特許出願

研究期間累積件数:0件



(3) その他の成果 (主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

主要な学会発表

- 1, Ayako M. Watabe “Synaptic Potentiation in the Nociceptive Amygdala Following Fear Learning in Mice” NIPS International Workshop 2012; Central Neuroplasticity in Sensory-Emotional Link (Okazaki, Japan), 2012/9/13-15 (招待講演)
- 2, Kato F, Takahashi Y, Watabe AM. Chronic pain-induced morphofunctional plasticity in the nociceptive amygdala. *Gordon Research Conference*, “Amygdala in health and disease” ME, USA 2011 July (選抜式学会発表)

著作物

- 1, 渡部文子、真鍋俊也 (2012). 神経可塑性「シグナル伝達キーワード事典」山本雅、仙波憲太郎、山梨裕司(編)(羊土社)pp.266-273.