

脳活動の実時間イメージング



研究ノート

宋 文 杰*

Real-time Imaging of Cortical Activity

Key Words : Neural activity, Single-electrode recording, Multi-site imaging, Voltage-sensitive dye

1.はじめに

脳は進化が作った素晴らしい情報処理機械である。人類にとって脳はもっとも神秘的で、脳における情報処理の仕組みを解明することが人類に残された最大の挑戦である。脳も生体組織なので、細胞から構成されている。脳を構成する神経細胞（ニューロン）同士はシナプスによって連結され、複雑な神経ネットワークを形成する。神経細胞は神経インパルスの時系列を発生させ、それをを用いて情報を表現すると考えられている。従って、脳における情報処理の理解はニューロンネットワークの構造と神経インパルスの言葉で説明できることが要求される。しかし、現段階においては、少数例を除いて、脳の大部分、特に大脳皮質に関しては、殆ど分かっていない。

脳における情報処理の理解を妨げる一つの原因は神経活動計測の困難さにある。個々の神経細胞活動を計測するためには、細くて強い、化学的に安定で、優れた電氣的な特性をもつ電極が必要となる。これまでの研究でこのような電極を単電極として製作することが可能になってきているため、単一細胞の計測は工夫すれば、かなり可能になってきている。しかし、脳の構造から推測されるように、脳における情報処理は階層性を有するとともに、並列性も有している。従って、単電極による単細胞の計測から神

経情報処理を議論するには不十分の場合がある。理想的には、脳の全ての細胞から同時に計測できれば、脳における情報変換の全体の様子を見ることができ、その実現はかなり遠い将来のことになる。

そこで、現在幾つかの折衷案が考えられているが、主に単電極を束にして多電極にする方法と、神経活動の電気信号を蛍光に変換して計測する方法や神経活動による二次的な現象を計測する方法に大別される。本稿では、電位感受性色素を用いて神経活動を蛍光に変換し、実時間で神経活動を多点計測する筆者らの試みを紹介する。

光計測法の原理

神経細胞に発生する電気信号とは、細胞膜の両側（細胞の内と外）に生じる電位差のことで、数mVのシナプス電位と約100mVの活動電位がある。これらの電位を直接計測できれば、もっともSN比の良い信号が得られるが、細胞内外の電位差をin vivoで計測することは、悪名高いほど難しい。細胞膜が数nmほど大変薄いので、シナプス電位や活動電位により、膜に強い電場が生じる。この電場の働きにより、膜に人工的に導入した電位感受性色素の蛍光が変化する、或いは色素の吸光度が変化する。このような変化を光センサーで計測してやれば、比較的簡単に、間接的に神経活動を計測することができる。そして、センサーアレーを用いれば、一点だけでなく、神経活動を多点からイメージングすることができる。これまで、数千の化合物のスクリーニングから、幾つかの種類の電位感受性色素が見つかっている。これらの多くのはマイクロ秒のオーダーで素早く電位変化に追従し、そして活動電位の範囲内（+100mV~-100mV）で蛍光変化量と膜電位変化量が線形関係にあることが確認されている。



*Wen-jie SONG
1961年8月生
1987年鹿児島大学水産学研究所
現在、大阪大学大学院工学研究科、電気電子情報工学専攻、助教授、工学博士、神経科学
TEL 06-6879-7786
FAX 06-6879-7784
E-mail : song@eei.eng.osaka-u.ac.jp

イメージングの実際

電位感受性色素を用いれば計測が比較的簡単で、応答が速く、簡単に多点計測できる利点を持つ一方、信号が非常に弱い欠点を持つ。例えば、我々の研究室で用いているRH-795と呼ばれている蛍光色素の場合、神経活動に対応する信号として高々0.4%程度の蛍光変化量しか得られない。従って、計測系の雑音を最大限に抑える必要がある。当然、励起光源に高い安定性も要求され、また、高いサンプリングレート(1kHz以上)の要求とショットノイズの影響を抑えるために、高出力の光源が望ましい。これらの目的に、近年開発された単色光LEDが有効であることを我々が最近示した¹⁾。

電位感受性色素をまるごとの動物に用いた場合、生体に由来するノイズが大きな問題となる。このなかで、特に呼吸によるものと、心拍によるものが、神経活動に由来する信号よりも強く、上手く取り除

く必要がある。我々の研究グループでは、計測時に短時間(1秒以内)呼吸を止めることによって呼吸の影響をなくした。心拍のほうは止めるわけにはいかないので、差分法を用いてその影響を除外する。つまり、心電のR波を計測開始のトリガーにして、心拍に同期して計測を行う。刺激を提示する試行と提示しない試行を交互に繰り返し、その二者の差分から、心拍の影響を取り除いて刺激による反応を分離するのである。従って、計測系は多少複雑になる(図1)。

上記の方法は短時間の計測に有効であるが、長時間に亘って計測したい場合、継続して呼吸を止めるわけにはいかないので、他の方法を考える必要がある。一つの選択は露出した脳の部分に密封チャンバーをつけて呼吸によるノイズを抑える方法が考えられる。しかし、これでは心拍の影響が依然残る。近年、独立成分解析法が考案され、混合された信号のみを用いて、原信号を分離する方法である。これは言わばコックテール・パーティー問題を解く方法の一つになるが、その原理は原信号の間の統計学的な独立性を仮定して、反復法により、分離行列で分離した信号間の独立性が最大となるように分離行列を

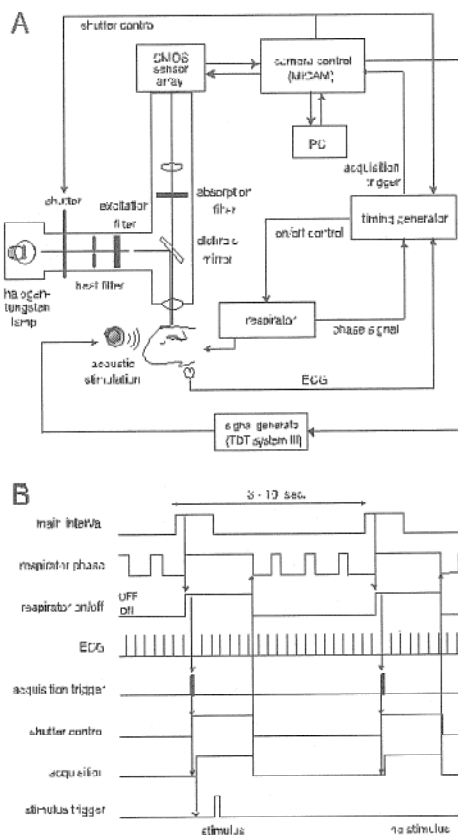


図1 光計測システム(A)とノイズ除去のための計測タイムチャート(B)

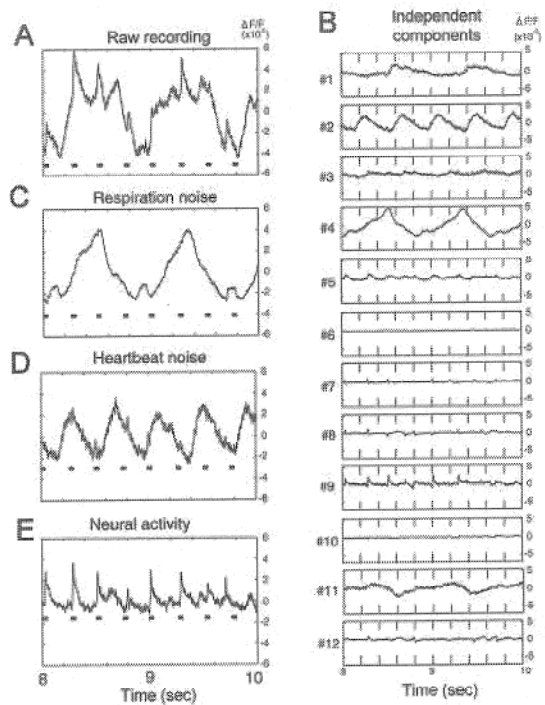


図2 光信号の生記録(A, 128チャンネル)から12個の独立成分(B)に分離し、それにより再構成した呼吸による成分(C)、心拍による成分(D)、および神経活動による成分(E)²⁾

定めるものである。神経活動、呼吸によるノイズ、そして心拍によるノイズの三者は互いに独立と考えられるので、これらの分離に独立成分解析法を適用してみたところ、上手く分離できることが分かった(図2)²⁾。

これらの方法を用いて、我々はモルモット大脳皮質聴覚野の聴覚応答の計測に成功している(図3)^{3, 4)}。これまでの研究により、内耳聴神経において、時間領域ではガンマトン・フィルターのインパルス応答を持つこと、周波数領域では蝸牛内において空間的に展開されることが知られている。このような

周波数の空間表現はトノトピーと呼ばれている。光計測法によって、大脳皮質の応答をイメージングすると、大脳皮質の複数の領域において、周波数順に応答部位がシフトし、規則正しいトノトピー構造を示すことが明らかとなった(図3)。このようなイメージングの研究により、これまで報告のなかった皮質聴覚領域の発見にも繋がった⁴⁾。また、実時間での計測なので、皮質における活動のダイナミクスもイメージングにより、明らかになり^{3, 4)}、その機能的な意義が今後の研究課題として提起された。

おわりに

脳活動を実時間でイメージングする方法と簡単な結果について述べたが、我々はこの研究を始めたのが最近数年のことで、すでに新しい聴覚領域を発見するなど、いくつかの新しい知見を得ていることから、イメージング法の有効性が証明されつつある。不十分な点として、イメージング法では深さ方向の情報得られにくい点である。大脳皮質を例にしても、深さ方向では6つの層からなる層構造を呈しており、層と層の間でどのような情報変換がなされているのかは興味深い問題であるが、イメージング法はこの問題に対して現在無力である。しかし、多電極法や他の計測方法と組み合わせることによって、イメージング法が今後の脳の謎の解明に重要な方法になっていくことが期待できる。

文 献

- [1] Nishimura M, Shirasawa H, Song WJ. A light-emitting diode light source for imaging of neural activities with voltage-sensi-

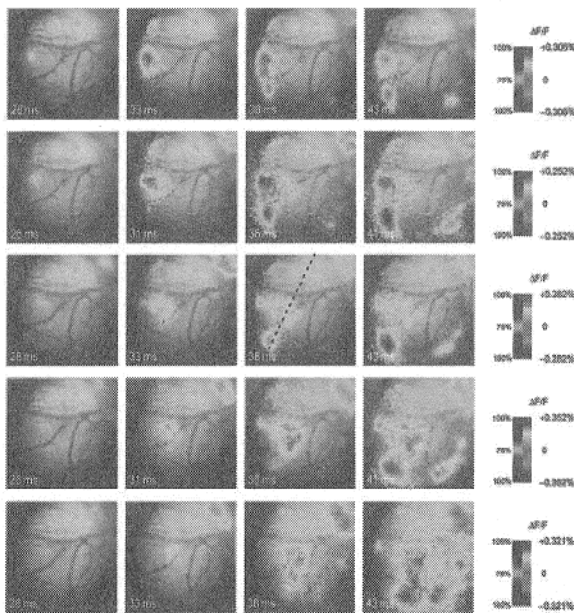


図3 大脳聴覚皮質の聴覚応答。計測領域は6.25mmx6.25mmで、一つの純音刺激に対する反応を時間順に横に示している。上のパネルから下へ順番に、刺激純音の周波数は250Hz, 500 Hz, 1 kHz, 2 kHz, 4 kHzである。最右の列に注目すると、反応部位が周波数に従ってシフトすることが分かる。

この記事をお読みになり、著者の研究室の訪問見学をご希望の方は、当協会事務局へご連絡ください。事務局で著者と日程を調整して、おしらせいたします。

申し込み期限：本誌発行から2か月後の末日

申し込み先：生産技術振興協会 tel 06-6395-4895 E-mail seisan@maple.ocn.ne.jp

必要事項：お名前、ご所属、希望日時(選択の幅をもたせてください)、複数人の場合はそれぞれのお名前、ご所属、代表者の連絡先

著者の都合でご希望に沿えない場合もありますので、予めご了承ください。

- tive dyes. *Neurosci Res.* 54:230-234, 2006.
- [2] Inagaki S, Katura T, Kawaguchi H, and Song W-J. Isolation of neural activity from respiratory and heartbeat noises for in vivo optical recordings using independent component analysis. *Neurosci Lett* 352:9-12, 2003.
- [3] Song WJ, Kawaguchi H, Totoki S, Inoue Y, Katura T, Maeda S, Inagaki S, Shirasawa H, Nishimura M. Cortical Intrinsic Circuits Can Support Activity Propagation through an Isofrequency Strip of the Guinea Pig Primary Auditory Cortex. *Cereb Cortex*, 16 (5) : 718-729, 2006.
- [4] Nishimura M, Shirasawa H, Kaizo H, Song WJ. A new field with tonotopiv organization in guinea pig auditory cortex. Submitted.

