

「脳の機能発達と学習メカニズムの解明」

平成 17 年度採択研究代表者

藤田 一郎

大阪大学大学院生命機能研究科・教授

大脳皮質視覚連合野の機能構築とその生後発達

1. 研究実施の概要

知覚、認識、記憶・学習、意思決定、運動制御、注意、言語、意識などの心のはたらきは、大脳皮質連合野の機能に大きく依存している。連合野が正常に発達し機能することは、これらの精神機能を正しく保ち、健やかな生活を送るうえで必須である。本プロジェクトでは、霊長類における大脳皮質連合野のつくり(構造)、しくみ(機構)、でき方(発達過程)を解明し、乳幼児における知能発達や教育効果、脳損傷からの回復、さまざまな認知障害、発達障害、精神疾患の脳内メカニズムの理解へ基礎を与えることをめざす。とくに、大脳皮質連合野の研究モデルとして、物体認識、色認識、奥行き知覚に重要な役割をはたす側頭葉視覚経路に焦点をあて、この経路を形成する連合野皮質の構造、機構、発達過程を、一次感覚野と比較しつつ、その特色を明らかにすることを目標とする。

この目標の達成のために、①皮質連合野ニューロンの視覚反応の発達過程、②連合野皮質の機能構築、③連合野皮質の局所神経回路、④皮質連合野ニューロンの形態の発達過程の解明を目指す4グループの共同研究体制でプロジェクトを推進している。4グループの研究は、いくつかの技術的問題に直面しつつも確実に進行し、2節で述べるように、連合野の機能、解剖、機能構築、生後発達に関する重要な発見がなされつつある。

2. 研究実施内容

実施概要 本研究プロジェクトは、下記の A, B-1, 2, 3 の4課題からなる。平成19年度においては、B-2、B-3 の課題で大きな進展が得られた一方、課題 A および B-1 においては、技術的な問題の解決が主な活動となった。

A. 視覚連合野細胞の視覚反応性の生後発達と可塑性	田村弘、藤田一郎
B. 視覚皮質の微細機能構築とその生後発達	
B-1. 機能コラムの細胞レベル解像度による可視化	田村弘、藤田一郎
B-2. 機能的局所神経連絡:生後発達、種間比較	吉村由美子、佐藤宏道、 小松由紀夫、藤田一郎
B-3. 神経細胞形態の生後発達と可塑的变化	Guy Elston、藤田一郎

A. 視覚連合野細胞の視覚反応性の生後発達と可塑性

5年間目標: サル大脳皮質ニューロンの視覚反応性と機能コラム構造の生後発達過程の解明

平成19年度の目標: 本 CREST プロジェクトのすべての研究課題の基礎となるのは、この研究課題において明らかにする、視覚反応性と機能構造の生後発達過程の知見である。あと2頭(1週令、成体)のデータを足し、側頭葉視覚連合野 TE 野の発達についての結論を得ることを第一目標とする。また、幼若サルの視覚反応性、機能構築の特徴の把握のためには成体サルの知見が不可欠である。引き続き、成体サルにおけるV4野の色選択性ニューロン、両眼視差選択性ニューロンについての研究を進展させる。

平成19年度の進捗: 新生児サルの入手が困難であることから、一回の実験で効率よくデータを取得することが研究の進展には必須である。そこで、マルチニューロン計測手法の改良に取り組み、多数の細胞から活動を同時に計測する技術の確立を目指した。成体サル TE 野から同時に100個程度の神経細胞活動を同時計測することに成功し、効率よくデータ収集を行なうための技術を確立した。生後4週齢のニホンザルより、この手法を用いて計測を行ない、現在、得られた神経細胞活動の解析を行なっている。

成体サルの V4野において色感受性ニューロンがどのように分布するかについて論争が続いているが、マルチニューロン計測手法を用いた解析により、V4ニューロンが色に対する感受性および選択性に従って柱状に分布していることを示した(論文投稿準備中)。

成体サル腹側視覚経路における両眼視差処理の解析を進め、V4野において、相対視差の検出が行われること(Umeda et al., 2007, JNP)、周波数チャンネル間の収斂がおき両眼対応点問題の解決がなされること(Kumano et al., 2008, JNP)を見出した。両眼対応点問題が解決されていない神経シグナルであっても、脳が奥行き判断に利用していることを明らかにし、ヒト脳における両眼奥行き情報処理についての理解を進め

た(Tanabe et al., 2008, J Vision)

B-1. 機能コラムの細胞レベル解像度による可視化

5年間の目標:

- (1)2光子レーザーイメージングの霊長類への適用技術の開発
- (2)逆行性標識細胞からの 2-photon targeted patch 法の開発
- (3)TE 野コラム構造の細胞レベル空間解像度での解明

平成19年度の目標:

進行中のラットバレル皮質の2光子レーザーイメージング法による解析結果の論文発表を最初の目標とする。光子レーザーイメージング法によるサル大脳皮質の神経活動(カルシウム応答)の可視化を成功させたい。

平成19年度の進捗:

ラットバレル皮質における実験は本研究グループに2光子レーザーイメージング技術を定着させるのに大きく貢献したが、ドイツの研究グループによる報告に先をこされ、論文としての発表は断念した。

本年度は、サルに2光子カルシウムイメージング法を適用するために克服すべき技術的な問題に取り組んだ。呼吸振動によるイメージ劣化を克服するために、高頻度小容積人工呼吸器システムを導入し、深部イメージングの実現のためにレーザーパルス幅変調システムを導入した。視覚実験システムと2光子イメージングシステムの合体を完成させた。

B-2. 機能的局所神経連絡:生後発達、種間比較

5年間の目標:

- (1)機能コラムを有する大脳皮質と持たない大脳皮質の局所神経回路レベルでの相異の解明
 - (2)一次感覚野と高次連合野 TE 野の局所神経回路の相異の解明
- (1),(2)を通して、TE 野における情報処理を担っている局所回路の持つ特異性を明らかにする。

平成19年度の目標:

幼若サルおよび成体サルの TE 野と V1 野の3層錐体細胞の電気生理学的性質の相違を明らかにする。また、オリンパスと共同開発中であったケージドグルタミン酸活性化手法システムの本体がほぼ完成したので、その実験適用を開始する。

平成19年度の進捗:

18年度に引き続き実験を積み重ね、成体サルにおいて、V1 野ニューロンは TE 野ニューロンに比べて、膜の時定数は小さく、入力抵抗は高く、脱分極パルス付加時の活動電位発生の順応が強いことを明らかにした。これらのことは、V1 野に比べ TE 野ニューロンは長い時間範囲での統合を行うのに適した性質を持つことを示す(論文準備中)。

サルの出生直後から成体までの発達過程において V1 及び TE 野ニューロンでは、徐々に、膜の時定数が小さくなり、活動電位のスパイク幅

が短縮し、活動電位発生頻度の順応が強まり、最大発火頻度が増大する。またその変化はTE野に比べV1野でより早い時期に進行する。これらのことは、発達が領野間で階層的に進行することを示唆する(論文準備中)。

B-3. 神経細胞形態の生後発達と可塑的变化

- 5年間の目標: サル大脳皮質神経細胞の樹状突起形態の生後発達過程解明
- 平成19年度の目標: 上記5年間目標に向けて、さまざまな年齢のサルの V1、V2、V4、TEO、TE、PR(嗅周皮質)、12野(前頭葉)の3層錐体細胞の樹状突起形態の解析を推進する。
- 平成19年度の進捗: 2日、3週、3ヶ月、7ヶ月、成体のサルの V1、V2、V4、TEO、TE、PR(嗅周皮質)、12野(前頭葉)、23野、24野、一次聴覚野(A1)の4000以上の錐体細胞の染色を行った。現在、V1、TE、12野に焦点をしばり解析を行っている。3領域ともに、出生直後から数ヶ月にわたり、樹状突起スパインの過剰生成を行い、その後、V1では80%、TEでは60%、12野では40%のスパインが消失する(刈り込みが起きる)と推定された。これは従来考えられていた刈り込みの程度をはるかに上まわっている。また、刈り込みの時期が、領野によって異なる可能性があり、解析をさらに進めている。

3. 研究実施体制

(1)「視覚生理」グループ

①研究者名:藤田 一郎 (大阪大学大学院 生命機能研究科)

②研究項目

- ・視覚連合野細胞の視覚反応性の生後発達と可塑性

概要:視覚連合野細胞の視覚刺激選択的反応性と機能コラム構造の生後発達過程を解明する。

(2)「機能構築」グループ

①研究者名:藤田 一郎 (大阪大学大学院 生命機能研究科)

②研究項目

- ・機能コラムの細胞レベル解像度による可視化

概要:サル側頭葉視覚連合野の機能コラム構造の細胞レベルでの可視化を目指し、2光子レーザーイメージング法の霊長類への適用技術を開発することを主目標とする。

(3)「局所神経回路」グループ

①研究者名:吉村 由美子 (名古屋大学環境医学研究所)

②研究項目

・機能的局所神経回路:生後発達、種間比較

概要:機能コラム構造を特徴づける局所神経回路要素の特定を目指す。この目的のために、UVレーザーを用いたケージドグルタミン酸活性化手法のサル大脳皮質スライス標本への適用技術を開発する。

(4)「細胞形態」グループ

①研究者名: Guy Elston (Centre for Cognitive Neuroscience, Australia)

②研究項目

・神経細胞形態の生後発達と可塑的变化

概要:サル大脳皮質各領野の細胞形態の生後発達過程を解明する。

4. 研究成果の発表等

(1) 論文発表(原著論文)

- Tanabe, S., Yasuoka, S., Fujita, I. (2008) Disparity-energy signals in perceived stereoscopic depth. *J. Vision* 8(3):22, 1-10.
- Kumano, H., Tanabe, S., and Fujita, I. (2008) Spatial frequency integration for binocular correspondence in macaque area V4. *J. Neurophysiol.*99: 402-408
- Umeda, K., Tanabe, S., Fujita, I. (2007) Representation of stereoscopic depth based on relative disparity in Macaque area V4. *J. Neurophysiol.* 98: 241-252
- Kaneko, H., Tamura, H., Kawashima, T., Suzuki, S. S., Fujita, I.(2007) Efficient signal processing of multineuronal activities for neural interface and prosthesis. *Methods of Information in Medicine*, 46: 147-150