

氏 名 廣川純也

学位（専攻分野） 博士（理学）

学位記番号 総研大甲第 1168 号

学位授与の日付 平成 20 年 3 月 19 日

学位授与の要件 生命科学研究科 基礎生物学専攻
学位規則第 6 条第 1 項該当

学位論文題目 Study on neural mechanisms for reaction time
facilitation by audio-visual integration

論文審査委員 主 査 教授 野田 昌晴
教授 山森 哲雄
准教授 笹岡 俊邦
准教授 吉村 由美子（名古屋大学）
教授 櫻井 芳雄（京都大学）

論文内容の要旨

動物にとって外界の出来事を素早く正確に察知しそれに対して適切な行動を起こすことは生存に不可欠な能力である。動物の脳は複数の感覚チャネルからの情報を統合することによって、より素早く正確な運動を可能にしている (multisensory facilitation)。本研究は、脳の何処で視覚と聴覚情報が統合され、どのようにして素早い運動が可能になるのか、その神経機構の解明を目的とした。

これを明らかにするためには、①multisensory facilitation を観察することができる行動実験系、②その行動中の動物の脳活動をできるだけ広範囲から計測する方法、③その脳活動の必要性を検証するシステムの三つが必要である。すでに、基礎生物学研究所脳生物学研究部門と京都大学の櫻井教授との共同研究によって、視覚と聴覚刺激に対するラットの行動反応を定量的に解析する実験系が構築されている(坂田等,2002)。さらに、この行動解析システムによってラットが視聴覚情報を統合し視聴覚刺激に対して素早く正確な反応 (multisensory facilitation)を行うことができることが示されている (坂田等,2004)。

彼はこの行動解析システムを利用し、multisensory facilitation に必要な脳部位を同定することを試みた。行動中の動物の脳活動を広い範囲で調べる方法として、彼は c-Fos マッピングを採用した。c-Fos は神経活動依存的に発現が誘導される遺伝子で、行動課題を行った動物の脳を c-Fos 抗体を用いて染色することによってある一定期間の脳活動の総和を可視化する方法である。この方法の利点は、特定の行動課題を行った動物の脳活動を細胞レベルの解像度で脳の広い範囲で調べることができる点にある。しかし、多数の動物の脳で広い範囲の脳部位の c-Fos の発現パターンを定量的に比較することは技術的に困難であった。そのため、彼は画像処理によって個々の動物の大脳皮質切片の画像を特定の形に標準化する方法を考案した。これによって、異なる個体間で c-Fos 発現の空間的パターンを定量的に比較することが可能になった。

c-Fos マッピングを行うため、2つの異なる課題を行わせた動物群を用意した。実験課題群では、視覚と聴覚の同時刺激がラットの左または右から提示された。ラットは左または右にある穴に鼻をいれることによって、刺激が提示された方向を弁別することが要求された。一方、対照課題群では、視覚と聴覚刺激の提示タイミングを 200 ミリ秒ずらした刺激が使われた。実験課題群のラットは、視聴覚刺激に対して視覚や聴覚単独刺激の時よりも素早く反応することができたが、対照課題群では、視聴覚刺激のタイミングがずれているためラットは先行する刺激 (聴覚または視覚) に反応してしまい、反応時間は視覚や聴覚単独刺激と同じ程度であった。つまり実験課題群のラットのみ multisensory facilitation を示した。両課題群は刺激のタイミング以外の条件は同一であるため、両課題群のラットの脳活動の差は multisensory facilitation の有無に相関するはず

である。このような行動課題を約 1 時間 (300 試行) 行ったラットの脳切片を c-Fos 抗体で抗体染色し、上記の大脳皮質標準化画像解析によって解析した。

その結果、第二次視覚野外内側 (V2LM) に c-Fos の発現量が統計的に有意に異なる領域が観察された。また、視聴覚統合に関与するといわれている上丘にも対象領域を取って定量したところ、上丘前部深層において特異的な c-Fos の増加が見られた。これらの結果は、V2LM と上丘深層が multisensory facilitation に関わることを示している。

次にこれらの脳領域が実際に感覚統合に必要なかどうかを検証した。GABA 受容体のアゴニストであるムシモールをそれぞれの脳部位に局所的に投与し、その脳活動を一時的に抑制した上で multisensory facilitation が見られるかどうかを行動学的に調べた。ムシモールを注入した領域近傍では c-Fos の発現が顕著に低下していた。行動のテストには、視覚、聴覚、視聴覚刺激の三種類がランダムに提示される課題を用いた。対照として生食を投与された動物では視覚や聴覚単独刺激よりも視聴覚刺激に対する反応が速かった (multisensory facilitation)。しかし、ムシモールを V2L に投与したラット群では multisensory facilitation の程度が有意に減少した。このような特異的な multisensory facilitation の低下は一次感覚野の抑制では見られなかった。さらに、V2L の活動は単感覚刺激の刺激強度の相対的な増加によってもたらされる反応速度の亢進には必要なかった。このことから、V2L は異なる種類の感覚の統合に関与していることが示唆された。

一方、上丘への片側性のムシモールの投与は、反対側空間からの全ての感覚刺激に対する反応速度を遅延させた。しかし、このような状況においても、ラットは視覚や聴覚単独刺激よりも視聴覚刺激に対して素早く反応していた。つまり上丘の抑制は multisensory facilitation には影響を与えなかった。これらのことから、上丘の活動は感覚刺激に対する反応の開始に必要であるが視聴覚情報の統合には必要でなく、一方、V2L は統合に必要であることが明らかになった。

大脳皮質の V2LM は第二次視覚野であり、これまで視覚の情報処理に関わることがわかってきたが、視聴覚情報の処理にも必須であることが本研究によって始めて明らかになった。V2LM は連合性の視床核である LP からの投射があることから、V2LM は LP からの聴覚情報 (もしくは視聴覚情報)、V1 からの視覚情報をフィードフォワード的に 4 層で統合している可能性がある。統合された情報は V2LM の深層を経由し上丘深層を活性化させることによって運動開始を促進させる可能性がある。今後、上丘ニューロンの神経活動と感覚入力や運動出力の相関を調べることによって、視聴覚統合によって引き起こされる反応速度促進のメカニズムを知ることができるだろう。

論文の審査結果の要旨

申請者は、基礎生物学専攻博士後期課程に入学し、櫻井によって開発されたラットの視聴覚弁別課題学習系(audio visual discrimination task)を用いて、視聴覚連合学習の脳内情報処理過程を研究した。坂田等は、先行論文で、左右のほぼ同じ位置から音と光を刺激手懸かりとして呈示し、正解の場合に報酬(ペレット餌)を貰えるよう訓練したラットにおける、単一種の刺激(光又は音)及び連合刺激(光と音)の刺激手懸かりの呈示による反応時間を調べたところ、連合刺激で数十ミリ秒の反応促進を観察していた(Exp Brain Res. 159. 409-417, 2004)。

申請者は、この研究を引き継ぎ、光又は音の単独刺激と光・音の連合刺激によって、発現が誘導される脳内部位を最初期遺伝子c-Fos発現により調べた。申請者は、先ず、c-Fosマッピングを定量的・客観的に行う為、大脳皮質切片からの画像を形態的特徴を手懸かりに標準化する方法を開発した。これによって異なる個体間でのc-Fos発現の空間的パターンを定量的に比較することが可能になった。

次に、c-Fosマッピングを厳密に行う為、2群の実験課題群を準備した。一群では、視覚聴覚刺激を同時に呈示し、対照の他群では、視覚と聴覚刺激の呈示タイミングを200ミリ秒ずらしている(200ミリ秒ずれると、視聴覚連合刺激による反応時間の促進は観察されない)。この二群のc-Fos発現パターンを大脳皮質で調べたところ、視聴覚刺激同時呈示群で、第二次視覚野外側部の内側(V2LM)領域のフィードフォワードの入力層と考えられる4層に統計的に優位なc-Fosの発現の増加を見出した。また、上丘前部深層部においても同時呈示群特異的なc-Fos発現の増加を見出した。

これらのc-Fos発現が優位に増加する脳領域が実際に感覚統合に必要なかどうかを検証する為、GABA受容体のアゴニストであるムシモールを対応する脳部位に局所的に投与し、その活動を一時的に抑制した際に、連合刺激による促進が見られるかどうかを検証した。その結果、V2Lにムシモールを投与した群の反応速度は、単独刺激のレベルに遅延した。一方、上丘へのムシモールの投与は、単独、連合刺激の何れの反応速度を遅延させるが、単独刺激よりも連合刺激のほうが反応速度は速かった。これらの実験結果は、上丘は、感覚刺激の反応の開始に必要なであるが、視聴覚の連合には、必要ではないことを示している。

本研究により、V2LMが視覚情報処理に加えて、聴覚からの連合刺激の統合にも重要であることが、行動学的レベルで明らかになった。加えて、げっ歯類大脳皮質におけるc-Fosマッピングの標準化法を開発したことも高く評価できる。この研究の成果の一部は、既に、国際誌に受理されている。以上より、審査委員会は、本論文が博士論文に価するものと結論した。