

多細胞同時記録データの統計解析法の開発と 視覚生理実験への応用

伊藤 浩之

1. はじめに

80年代後半に Gray と Singer [1] らによって発見された視覚皮質細胞の振動的発火現象は脳の情報処理機構解明への新しい概念として大いに関心を集めた。特に、視覚刺激の大域的な文脈性の変化に依存して、振動的発火を生じる細胞間のスパイク時間相関が変化する現象の発見は、解剖学的に固定された神経ネットワークの既成概念からの脱却、細胞発火タイミングを自由度とするより柔軟かつダイナミックな情報符号化の概念（「関係性コーディング」）へのパラダイムシフトを導いた。

情報符号化の概念の変化に伴い、実験研究方法にも大きな変化が必要となった。単一の神経細胞の活動のみを記録し、その細胞の機能的意味を還元論的に議論する従来の研究方法ではなく、神経ネットワークを構成する複数の細胞の活動を同時に記録し、細胞のスパイク活動間の関係性の変化を通じて、情報処理機構を構成（synthesis）する実験方法（「多細胞同時記録実験」）が注目を集め、欧米では大きな研究の流れとなっている。我々の研究室においても、数年前より、麻酔下ネコを用いた大規模な多細胞同時記録実験を継続しているが、この研究方法における成功の最大の鍵は、得られた多細胞活動データから神経ネットワーク活動の時空間構造を特徴づけるための統計解析法である。特に、細胞間のスパイク相関の試行時間内での非定常変動の統計解析は、その重要度の認識とは別に、困難な作業であることが知られている。我々は近年に渡り、Gruen と Aertsen らにより提案された Unitary Event Analysis という解析法に注目し、その解析能力を実際の多細胞活動データへの適用を通じて検討してきた。本報告では、この研究の最近の成果の概要を説明する。

2. 細胞集成体仮説とスパイク相関の非定常性変動の解析

細胞間の活動相関の時間変動には情報処理メカニズムの解明のための重要なヒントが含まれていると考える。我々の研究対象である視覚情報処理系を例として考えると、眼に入力した画像のデータ表現のみならず、このデータに対しての様々な計算処理が神経ネットワークの活動により行われると仮定すると、たとえ静的な画像入力に対しても、計算処理プロセスの推移を反映して、神経ネットワークの活動は非定常的に変化する事が予想される。理論的なモデル（細胞集成体仮説）[2]では、スパイク発火の時間相関により相互作用する細胞集成体（cell assembly）が計算処理の各プロセスにおいて構成され、プロセスの変化は細胞集成体の構成の変化により行われると考える。

この仮説の実験的な検証での必要条件としては、たとえ静的な画像入力に対しても、同時記録され

た複数細胞間の活動相関が刺激提示期間中（試行時間内）に非定常に変動する現象の存在である。多細胞データからこの現象を検出するためには、従来の相互相関ヒストグラムでの解析は不適である。なぜなら、相互相関ヒストグラムの計算では、細胞間のスパイク相関の強度は試行時間内に渡って時間平均されてしまう。このため、スパイク相関強度に時間的な変動が存在しても、この情報は失われてしまうのである。

この困難に対して、Aertsen らのグループは野心的な研究を継続してきた。彼らは、Joint-PSTH 法 [3] と Unitary Event Analysis 法 [4-7] という二つの優れた解析法を開発した。我々は以前、Joint-PSTH 法の数学的な構造を検討し、コンピュータシミュレーションにより発生した人工スパイク列の解析を用いて、この方法の問題点を指摘した [8]。Unitary Event Analysis 法は、相関の強度の定量化においては問題を残しているが、相関の統計的有意性の検定および相関の非定常変動の視覚化に関しては、現在最も優れている方法と考える。我々は、Unitary Event Analysis 法をネコ外側膝状体からの多細胞活動データに適用し、静止した視覚刺激提示下での細胞間のスパイク相関の非定常時間変動を解析することにより、視覚情報処理における細胞集集体仮説の妥当性を検討する。

3. 視床（外側膝状体）での同期振動発火現象の大域的統計解析

我々は米国の Gray との共同研究により、麻酔下ネコの視床（外側膝状体）からの多細胞活動同時記録を行い、視覚刺激により誘発される同期振動発火現象の存在を報告してきた [9]。視覚皮質で観測される同期振動発火現象と比較して、振動発火の周波数が大きく異なる（視覚皮質：30-60 Hz；外側膝状体：80-100 Hz）事から、視覚皮質の振動発火現象が視覚経路での前段である外側膝状体での振動発火現象に由来するという疑念を否定することが出来た。また、500ミクロン離れた2本の電極から記録された細胞のスパイク活動の間に、同期現象が存在することを示した。これは、視覚皮質で観測される同期振動と同様な現象が、視覚皮質とは独立に生じていることを示唆しており、その機能的意味や発現メカニズムの解明が興味深い。この結果はその後の Neuenschwander らの報告と一致する [10, 11]。

4. 視床（外側膝状体）での同期振動発火現象の非定常性解析

4.1 Unitary Event Analysis（試行平均）[12, 13]

先に説明した大域的統計解析において、有意に同期振動発火を生じている細胞ペアのサンプルに対して Unitary Event Analysis を適用し、試行時間内での相関の非定常性を解析した。具体的には、各細胞ペアに対して計算した相互相関ヒストグラムのピーク値を与える時間ズレを 1 msec の精度で検出し、二つの細胞のスパイク列で各試行ごとに、その時間ズレを持つスパイクのペア（coincident event, CE）を検出し、100 msec 幅の時間窓内でカウントする。すべての試行に対して、このカウントを計算し、平均を取ることで、この時間窓位置での coincident event の発生頻度（確率）を評価する。試行時間に渡って、時間窓を 1 msec 刻みでスライドさせることにより、coincident event

の発生頻度の時間変動をプロットすることができる。この coincident event 頻度を試行時間内で平均し、変動の情報を消失させた量が相互相関ヒストグラムのピーク値と一致するのである。求められた coincident event の発生頻度 (raw-CE rate) には、細胞間の真の相関の他に偶然に相関する成分が含まれている。この偶然の成分 (predicted-CE rate) は、coincident event 頻度の計算で用いた時間窓を用いて各細胞のスパイク発火頻度 (発火確率) を計算し、その積を求めることで評価することが出来る。

実際の外側膝状体からのデータの解析例を図1に示す。図の上部では、500 μm 離れた2本の電極により同時記録された二つの細胞 (unit2 と unit0) のラスタ表示 (試行時間 2 sec, 20試行) が示されている。時間軸の下の太い実線の区間に渡り、それぞれの細胞の受容野に静的な光スポットが同時に提示された。図の下半分には、Unitary Event Analysis の結果が表示されている。実線のグラ

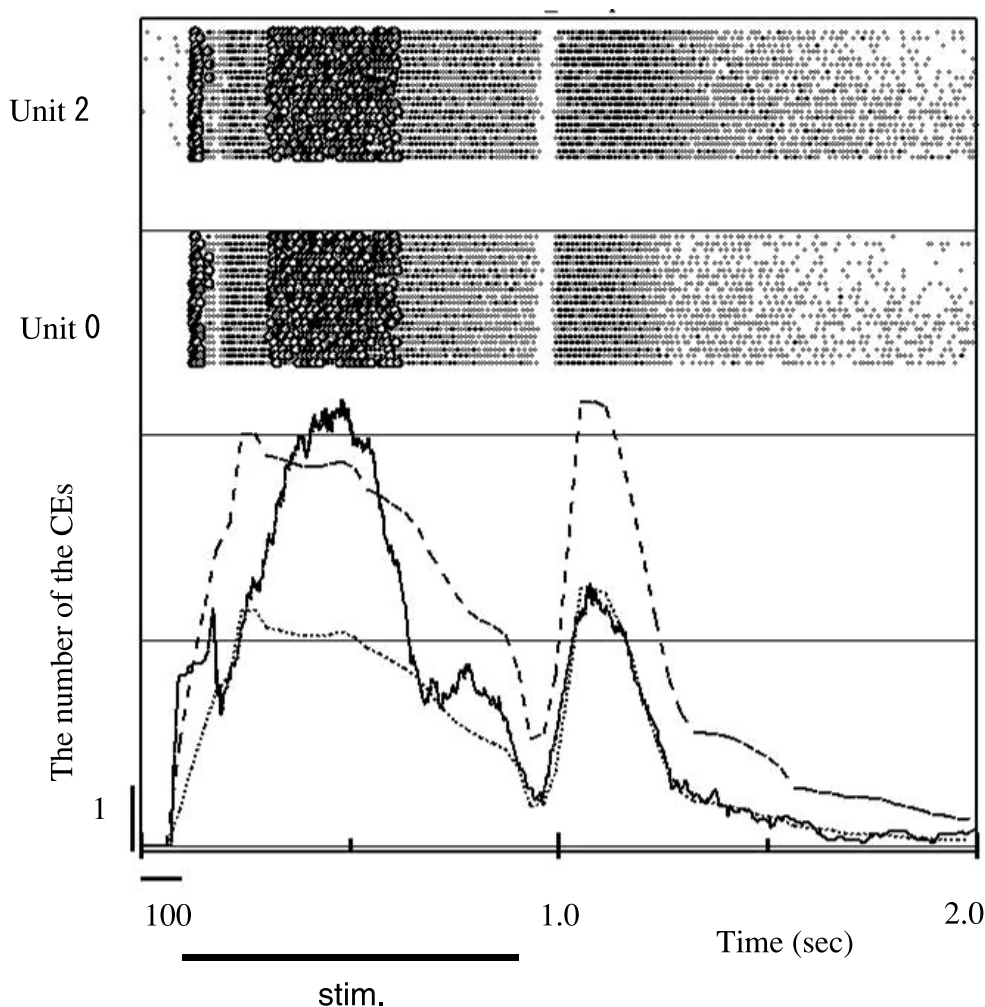


図1

フが raw-CE rate であり、点線が predicted-CE rate である。破線は二つの細胞の発火が独立であるとした帰無仮説の場合の CE rate の分布の95%リミットである。グラフにおいて、raw-CE rate がこの95%リミットを越えている時間域は、帰無仮説に比べて十分に有意に多くの coincident event が生じていると判断される。この時間域内での coincident event は、図中のラスター表示において、○で示している。これらの有意な coincident event は特別に unitary event と呼ばれている。

図1の解析で注目すべき点は、raw-CE rate が試行時間内で顕著な非定常変動を示し、この変動は発火率の時間変動を反映する predicted-CE rate からは予測出来ない。刺激提示期間中の後半においては、発火率は依然として高いのであるが、coincidence event は突然に偶然のレベルまで減少してしまう。また、刺激に対する ON 反応においては有意な coincidence event を示した細胞ペアは、OFF 反応においては全く独立な発火を生じている事が示される。Unitary event を示す細胞ペア全てに対して、図1のように raw-CE rate が predicted-CE rate と比較して有意に非定常変動するケースは70%も存在することが示された。時間的な構造が全く存在しない静的な光スポット刺激に対して、細胞間のスパイク相関の強度が非定常に変動する現象は、細胞集集体仮説の必要条件である細胞活動の関係性の固有の時間スケールでの変動として着目される [12, 13]。

4.2 Unitary Event Analysis (単一試行解析) [14]

上で解析した Unitary Event Analysis においては、相関強度の試行区間に渡る時間平均は行っていないが、複数試行に渡る試行平均は行われている。我々は、試行平均を行わず、個々の単一試行ごとに Unitary Event Analysis を行うことにより、相関発火イベントの試行に渡る変動性 (variability) と試行時間内での過渡性 (transiency) の解析を行った。

単一試行での Unitary Event Analysis の結果として、raw-CE rate の変動の大きさおよび時間タイミングにおいて大きな試行間変動が存在する事が示された。同一の刺激提示に対して、各細胞の発火率変動はほぼ再現性があるが、raw-CE rate は毎回ばらついているのである。また一方、単一試行での試行時間内における unitary event が発生する期間は、平均で200 msec 程度の過渡的なものであった。この過渡性には、1) 二つの細胞の発火の間に同期と非同期の状態が間欠的に存在する、2) 二つの細胞の発火間は同期を継続しているが、同期の時間ズレが非定常に変動する、の二つの可能性が存在する。視覚皮質の同期振動発火の解析では、1のケースが Gray らにより報告されている [15]。我々の外側膝状体のデータに対して、個々の unitary event の詳細な解析により、2のケースであることが判明した。二つの細胞の同期は、1 msec 精度で時間ズレが変動している。これは、時間ズレが連続的にドリフトするのではなく、突然のジャンプとして現れている点が注目される。

4.3 結果の考察

Unitary Event Analysis を用いた外側膝状体細胞における同期振動発火現象の非定常性解析の結果、以下のことが判明した。

- 1) 同期振動発火の強度は、時間構造の無い静止光スポットに対しても、刺激提示中に非定常な変動を示す。この変動は、個々の細胞の発火率の変動からは予測できないものであり、神経ネットワーク内部での固有のダイナミクスを反映すると思われる。
- 2) 単一の試行においても同期振動発火は、試行時間内に相関の時間ズレを非定常に変動させ、一定の時間ズレにとどまっている期間は平均で200 msec 程度である。

これらの現象の発現メカニズムおよび機能的意味に関しては、今後の研究で解明される必要がある。機能的意味に関しては、最近、Usrey らが興味深い報告を行っている [16, 17]。彼らは、視覚皮質の細胞およびその細胞に入力を送っている二つの外側膝状体細胞の同時記録を行った。視覚皮質細胞が二つの外側膝状体細胞から1 msec 以内の短時間に同期した入力を受け取る場合には、大きく発火効率が上昇することを報告している。これは、今回我々が発見した外側膝状体細胞間の1 msec 精度での相関の時間ズレの変動により、視覚皮質の細胞の活動を制御する可能性を示唆しており、大変に興味深いと考える。

5. その他の活動

本年度は、大学の自由研究員の制度を利用し、平成16年11月～12月の1ヶ月程度の期間、ドイツ Freiburg 市の Albert-Ludwigs-University of Freiburg の生物学研究所神経生理学および生物物理部門の Aertsen 教授の研究室に滞在し、研究についての議論を行った。私の研究成果である unitary event analysis による多細胞スパイクデータの非定常性解析についてのセミナーや複数の研究者との議論やコメントの提供などを受け、研究成果の更なる理解を行うことが出来た。ドイツ滞在中は、視覚皮質での同期振動発火現象に関しての世界的権威である Max-Planck-Institute at Frankfurt の Singer 教授の研究室を訪れ、セミナーや研究に関する情報交換を行った。また、多細胞同時記録を可能とするための特殊電極を製作している、Thomas 社 (Giessen) を見学し、技術者から実際の電極作成技術のチュートリアルを受けることが出来た。これらの経験は今後の多細胞記録実験およびそのデータ解析に大いに活かすことができると考える。

6. 今後の予定

まず、現在まとめている「麻醉下ネコ外側膝状体の同期振動発火の非定常性解析」の論文を完成させ、投稿することが急務である。共著者の Gray 教授との議論を通じて、この研究の土台となる、「麻醉下ネコ外側膝状体の同期振動発火の統計解析」の成果に関しても論文とする必要性を認識するに至った。そこで、最近数年間に渡り行ってきた、定常性解析および非定常性解析の双方をまとめた総合的な研究発表を行う考えである。

一方、麻醉下ネコの視覚皮質からの大規模な多細胞活動記録実験が定常的に行える状況となったため、記録された多細胞データを用いて、細胞集団符号化や活動の変動性などの特性の総合的な研究を開始して行く予定である。特に、細胞集団符号化は近年話題を集めている、Brain-Machine-Inter-

face の分野とも関連し、今後の発展が期待できる研究テーマであると考え。

参考文献

- [1] Gray, C. M., Koenig, P., Engel, A., and Singer, W. Oscillatory responses in cat visual cortex exhibit inter-columnar synchronization which reflects global stimulus properties. *Nature* 338, 334–337 (1989).
- [2] Fujii, H., Ito, H., Aihara, K., Ichinose, N. and Tsukada, M., Dynamical Cell Assembly Hypothesis—Theoretical Possibility of Spatio-Temporal Coding in the Cortex, *Neural Networks*, 9 1303–1350 (1996).
- [3] Aertsen, A. M., Gerstein, G. L., Habib G. L. and Palm G. Dynamics of neuronal firing correlation: Modulation of “effective connectivity”. *J. Neurophysiol.* 61, 900–917 (1989).
- [4] Riehle, A., Gruen, S., Diesmann, M., and Aertsen, A. Spike synchronization and rate modulation differentially involved in motor cortical function. *Science* 278, 1950–1953 (1997).
- [5] Gruen, S. *Unitary Joint-Events in Multiple-Neuron Spiking Activity. Detection, Significance, and Interpretation.* (Verlag Harri Deutsch, Frankfurt, 1996) 45–46.
- [6] Gruen, S., Diesmann M. and Aertsen A. Unitary events in multiple single-neuron spiking activity: I. Detection and significance. *Neural Computation*, 14, 43–80 (2001).
- [7] Gruen, S., Diesmann M. and Aertsen A. Unitary events in multiple single-neuron spiking activity: II. Nonstationary data. *Neural Computation*, 14, 81–119 (2001).
- [8] Ito, H. and Tsuji, S., Model Dependence in Quantification of Spike Interdependence by Joint Peri-Stimulus Time Histogram, *Neural Computation*, vol. 12, No. 1, 195–217 (2000).
- [9] Ito, H., Gray, C. M., and Viana Di Prisco, G. Can oscillatory activity in the LGN account for the occurrence of synchronous oscillations in the visual cortex? *Soc. Neurosci. Abstr.* 20, 134 (1994).
- [10] Neuenschwander, S. and Singer, W. Long-range synchronization of oscillatory light responses in the cat retina and lateral geniculate nucleus. *Nature* 379, 728–733 (1996).
- [11] Castelo-Branco, M., Neuenschwander, S., and Singer, W. Synchronization of visual responses between the cortex, lateral geniculate nucleus, and retina in the anesthetized cat. *J. Neurosci.* 18, 6395–6410 (1998).
- [12] Hirata, A., Maldonado, P. E., Gray, C. M., and Ito, H. Unitary event analysis of synchronous activities in cat LGN. *Soc. Neurosci. Abstr.* #352.14 (2002).
- [13] Hirata, A., Maldonado, P., Gray, C. and Ito, H., Unitary Event Analysis of Synchronous Activities in Cat LGN. in *The neural basis of early vision*, A. Kaneko ed. (Springer-Verlag, Tokyo, 2003), 190–193.
- [14] Ito, H. Hirata, A., Maldonado, P., and Gray, C., Non-stationarity and variability in spike synchrony of oscillatory activities in Cat LGN, *FENS Abstr.*, vol. 2, A085.11 (2004).
- [15] Gray, C. M., Engel, A. K., Koenig, P., and Singer, W. Synchronization of oscillatory neuronal responses in cat striate cortex: Temporal properties. *Visual Neurosci.* 8, 337–347 (1992).
- [16] Usrey, W. M. Spike timing and visual processing in the retinogeniculocortical pathway. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 357, 1729–1737 (2002).
- [17] Usrey, W. M., Alonso, J. M. and Reid, R. C. Synaptic interactions between thalamic inputs to simple cells in cat visual cortex. *J. Neurosci.* 20, 5461–5467 (2000).