

海馬 — 前頭前野神経活動を基に駆動する脳 — 機械 インターフェースの基礎的検討

Analysis between the hippocampal and prefrontal neuronal activities for the brain-machine interface

1091020



研究代表者

聖マリアンナ医科大学
生理学（統合生理）

講 師

藤 原 清 悦

〔研究の目的〕

近年、脳 — 機械 — インターフェース (Brain-machine Interface: BMI) の研究が盛んに行われている。これらの研究の多くは、運動野、頭頂葉等、運動に関与する部位の神経活動を利用して行われている。認知系は、意識下のコントロールをより受けやすいため、運動系の信号とあわせて、正確な BMI を実現するのにも有用であると考えられる。

前頭前野 (Prefrontal Cortex: PFC) と海馬 (Hippocampus: HPC) は、認知と実行機能に対して重要な領域と考えられている。そのため、上記の BMI を実現するための信号源の候補となり得る。しかしながら、BMI の信号として使用する事を念頭に置いた前頭前野および海馬の神経活動に関する報告は少ない。

本研究では、前頭前野と海馬の神経活動を BMI の信号として使用する事を念頭において、その神経活動から動物の行動が予測できるか否かを検討するために、遅延付学習課題 (Delayed reinforcement task: DRF) を遂行中のラットの神経活動を解析し、課題の成否が予測できるか検討した。

〔研究の内容、成果〕

電極の埋め込み：ラットをペントバルビタールで麻酔 (0.15 mg/kg) し、脳定位装置に固定

した。麻酔は必要に応じて追加した。差動記録のために双極のタングステン電極 (A-M Systems, 5M Ω) から成る電極束を2セット準備した。脳定位座標に基づき、1つは海馬の CA1 region (Bregma site より尾側 3.2 mm, 左外側 5.0 mm, 脳表面深度 2.5 mm) に刺入し、もう1つは比較のために前頭前野の Prelimbic region (Bregma site より吻側 3.2 mm, 左外側 0.8 mm, 脳表面深度 3.2 mm) に刺入して神経活動電位が十分に記録できる箇所ではレジンを (GC Corporation) を用いて固定した。電極が十分に固定されたのを確認した後に電極と IC ソケット (DIP-8) を半田付けし、レジンを用いて固定した。術後、動物が十分に回復してから訓練を行った。

訓練：遅延付学習課題 (Delayed reinforcement task: DRF task) はスキナー箱を用いて行われた。スキナー箱はレバーと給餌器が装着された箱で、種々の条件で動物がレバー操作すると給餌されるシステムである。

DRF 課題の模式図を図1に示す。まず、ラットが自発的にレバーを押す (R1) と、4秒間の待ち期間 (Waiting phase) が開始される。4秒間レバーが押されなかった場合、その時点で条件刺激となるブザー (3 kHz, 70 dB) が2秒間提示される。その間にレバーが押された場合には報酬が与えられ、これを正解試行 (Correct trial) としてカウントした。また、Waiting phase の間にレバーを押す、若しくは条件

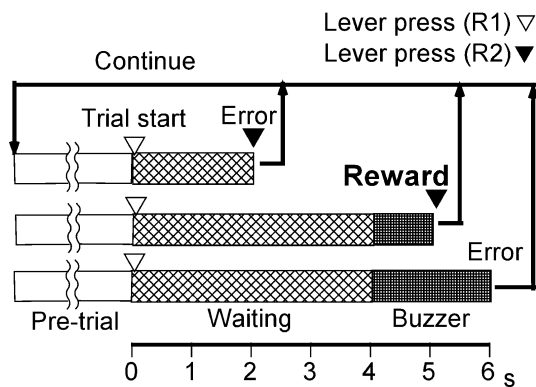


図1 訓練の模式図

刺激提示時にレバーが押されなかった場合には、報酬が与えられずにその試行はリセットされ、これを不正解試行 (Incorrect trial) としてカウントした。DRF 訓練は 200 回の正解試行が得られるまで行い、これを 5 日間継続して行った。

DRF 課題は、ラットの自発的なレバー押し (R1) と報酬の間に遅延時間が設定されている課題で、ラットは、遅延時間中にはレバーを押すことを禁止される。(もしレバーを押したら、報酬は与えられない)。はじめのレバー押しの直後にレバー押しが禁止されるため、この課題を成功させるためには、遅延期間中にレバーを 1 回押した経験 (記憶) を保持し続ける事が要求される。そのため、記憶に関連する神経活動が記録できる可能性が高い。

神経活動の記録：訓練時間中の神経活動を全て連続的に記録した。記録された神経活動は、ヘッドアンプおよび差動増幅器 (日本光電 MEG-2100) を用いて帯域周波数 0.5-3 kHz 間で 5000 倍に増幅され、AD 変換ボード (DAQ6036E, National instruments) を通じて 20kHz のサンプリング周波数でコンピュータに取り込んだ。記録された神経活動は、自作のプログラム (LabVIEW) を使い、オフラインで解析を行った。70% 以上の正解率を示した訓練 5 日目のデータを解析に用いた。

課題遂行中の神経活動：図 2 に記録された神経活動の生データを示す。ここでは、前頭前野の

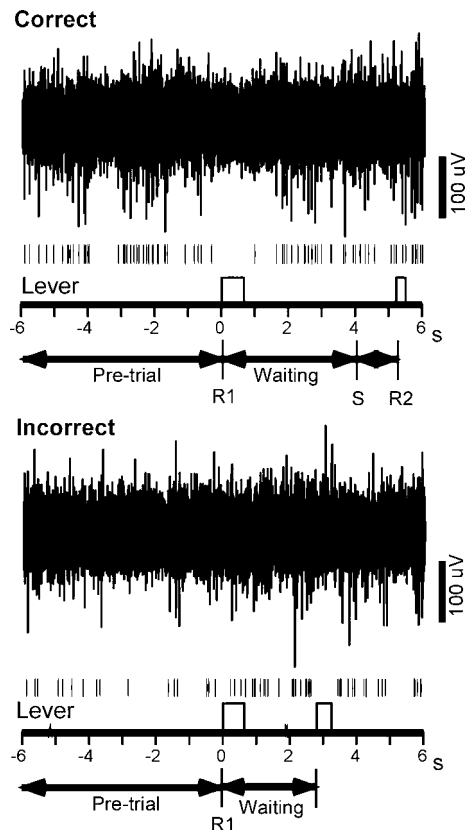


図2 遅延付学習課題遂行中の前頭前野の神経活動

神経活動を表示した。上段が正解試行、下段が不正解試行である。

各々のデータの下には、検出したスパイクをラスター表示した。正解試行では、R1 の前後の区間でスパイク数が減少しているが、不正解試行では、顕著な変化は見られなかった。次に、神経活動の変化を定量的に観察するために、正解試行 (n=132)、不正解試行 (n=56)、それぞれにおける神経活動について、スパイクヒストグラムを作成することにより平均発火頻度を求めた。bin のサイズは、10, 50, 100, 500, 1000 ms で変化させて、発火頻度の変化が一番分かりやすい 100 ms を選んだ。図 3 に 1 匹分のデータを示す。

前頭前野 (PFC) の平均発火頻度について、正解試行時には R1 の周囲で減少し、不正解試行時には大きな変化を示さなかった。海馬 (HPC) の平均発火頻度については、正解試行、不正解試行共に R1 の 2-3 秒前から大きく減少した。このことより前頭前野の平均発火頻度は、

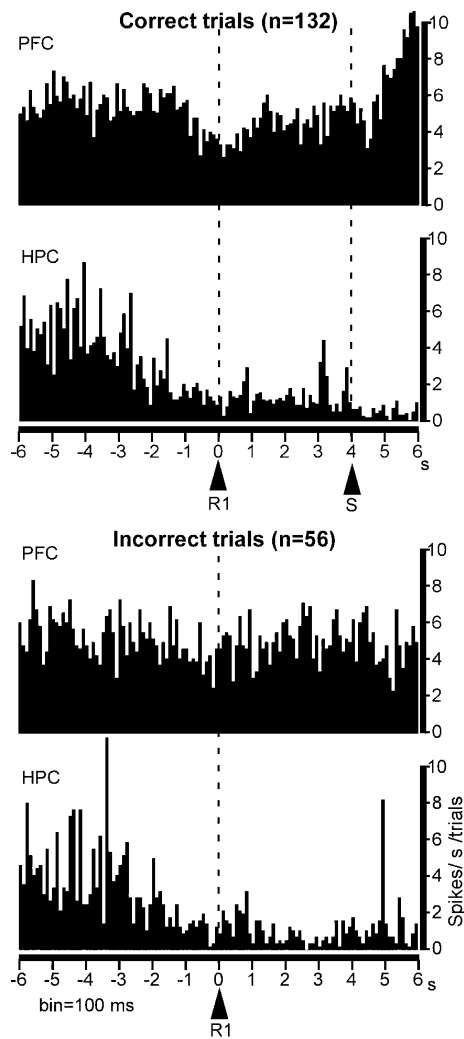


図3 スパイクヒストグラム

正解、不正解によって異なる傾向を示す事が示唆された。R2の時刻については、レバー押しの時刻が一定ではない（ブザー呈示期間（2s）中に押せばよい）ため、図中には示さなかった。

統計的な解析を行うために、図3のデータをR1時刻より前6秒間を「Control」期間、R1時刻から前後0.5秒を「Lever」期間として、それぞれの期間で平均した平均発火頻度を求めて比較を行い、 χ^2 検定を行った（図4上）。前頭前野では、正解試行でLever期間とControl期間の平均発火頻度に有意な差が見られた（ $p < 0.001$ ）が、不正解試行では有意な差は見られなかった（図4左）。海馬では両方の試行において、Lever期間とControl期間の平均発火頻度に有意な差が見られた（ $p < 0.001$ ）

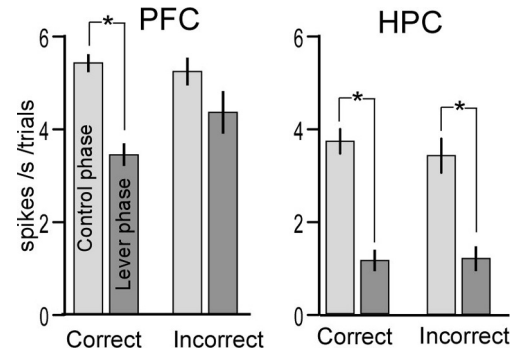


図4 平均発火頻度の比較

（図4右）。

神経活動による課題の成否の予測：これまで、神経活動の平均値を求めて解析を行ってきたが、BMIを考慮した場合、1試行で得られる信号から推定を行わなければならない。そのため、Lever期間の発火頻度がControl期間より減少するか否かを、1試行毎に調査し、どの程度予測できるか2匹のラットについて検討した。

Rat#1の前頭前野では、正解試行において、Lever期間の発火頻度がControl期間より減少する試行が81%を占めたが、不正解試行においては、59%を占めるに過ぎなかった。また、同様の解析を海馬の神経活動に関して行ったところ、正解試行では、83%、不正解試行では80%を占めた。Rat#2において、前頭前野ではRat#1とほぼ同様な結果が得られたが、海馬では、正解試行において、Lever期間の発火頻度がControl期間より減少する試行が79%、不正解試行においては57%を占めた。これらの結果を基に、発火頻度が、Control>Leverで正解となると仮定した場合の予測の正確度を求めたところ、前頭前野を用いた場合、Rat#1では69.1%、rat#2では72.8%となった。また、海馬を用いた場合はそれぞれ63.8%および74.3%となった。これらの予測について χ^2 検定を行ったところ、すべての結果について有意となった（ $p < 0.001$ ）。

まとめ：前頭前野では、Rat#1とRat#2共に大部分の正解試行でR1時刻付近における発火頻度の減少が見られた。また、不正解試行で

はこの現象がみられる試行数は低下した。もし、課題の成否と神経活動が無関係であるならば、課題の成否によって発火頻度の減少が生じる割合に差はないはずである。今回の実験では、この割合に差があったため、発火頻度の減少は課題の成否に関係している可能性がある事が示めされた。海馬については、正解試行の 80% において R1 付近の発火頻度の減少が共通に観察されたが、不正解試行においては Rat#1 と Rat#2 で異なる結果となった。この原因は、電極刺入部位の違い、動物の学習履歴の違い等によるものと考えられる。

今回の結果では、前頭前野の発火頻度の減少と、海馬における発火頻度の減少には、明白な相関は無かった。そのため、今回は前頭前野と海馬について別々に解析を行ったものについて検討を行った。

[今後の研究の方向・課題]

本実験を応用して、発火頻度の増減で機器を制御しようとしたときに意図しない動作が起こ

る可能性があるが、発火頻度の減少は課題の成否に関係している可能性があるため、それを手がかりに新たな学習が始まり、動物が神経活動の発火頻度を指標にして機器を制御できるようになる事もあり得ると考えている。

[成果の発表・論文等]

- [1] 藤原清悦, 明間立雄, 伊崎義憲: 覚醒下ラットにおける海馬および前頭前野マルチプルユニット活動の関係. 第 24 回生体・生理工学シンポジウム論文集, 165-166 (2009)
- [2] 藤原清悦, 明間立雄, 伊崎義憲: 前頭前野の神経活動を用いた行動推定の基礎的検討, 電気学会論文誌 130-C: 249-253 (2010)
- [3] Fujiwara SE, Akema T, Izaki Y.: Rat hippocampus-prefrontal multiple units and synaptic efficacy in vivo. Neuroreport, 21: 1003-1007 (2010)
- [4] 藤原清悦, 明間立雄, 伊崎義憲: 遅延付学習課題遂行中におけるラット海馬リッブル活動と成績の関係. 第 25 回生体・生理工学シンポジウム論文集, 43-44 (2010)