

159. マウス一次視覚野におけるトップダウン信号の可視化

吉田 盛史

Key words : 脳梁膨大部皮質, 視覚処理,
二光子イメージング

九州大学 大学院医学研究院
分子生理学分野

緒 言

大脳皮質感覚野の神経活動は、末梢からの入力进行处理するのみならず、動物あるいは脳の状態により修飾を受けることが知られている¹⁾。そのような神経活動の修飾には高次領野からの低次領野へのトップダウンの投射が重要な役割を担うと考えられているが、その機能に関しては十分に研究されていない。そこで、本研究ではマウス大脳皮質の高次領野の一つである脳梁膨大部後部皮質 (retrosplenial cortex: RS) に着目した。RS は空間情報の処理に関与しているが、この空間情報処理に視覚入力に担う役割に関してはほとんど明らかにされていない²⁾。RS から一次視覚野への投射の機能に関しても不明な点が多い。そこで、本研究ではRSの視覚応答、視覚応答の動物の状態による修飾、そしてRSから一次視覚野への投射活動を調べた。

方法および結果

本研究ではC57Bl/6系統の野生型マウスを使用した。まず、マウスのRSの基本的な視覚応答特性を調べる目的で、麻酔下のマウスで二光子カルシウムイメージングにより神経活動の記録を行った。カルシウム指示薬としてOregon green BAPTA1-AM (OGB1) を使用し、RSに注入した(図1 a)。視覚刺激は、8方向に動く縞状刺激を使用した。RSの比較対象として、別個体のマウス一次視覚野(primary visual cortex: V1)の視覚応答も記録した。

まず、RSの一部の神経細胞はV1で観察されるような方位選択性あるいは方向選択性を示した(図1b及びc)。少なくとも1種類の刺激に対して有意に応答したRS細胞の割合は、V1に比べ低かった(RS: 13%, V1: 73%)。しかし、応答した細胞の中で、縞状刺激に対してある特定の方位あるいは方向に選択的に応答した細胞(方位選択性細胞、あるいは方向選択性細胞)の割合を調べたところ、V1がやや高いながらも両領野においてほぼ同等の割合であった(方位選択性細胞の割合、RS: 67%, V1: 74%, 方向選択性細胞の割合、RS: 56%, V1: 66%)。さらに、方向あるいは方位選択性の強さ(チューニングの鋭さ)を調べる目的で、1) orientation selectivity index (OSI), 2) direction selectivity index (DSI) という2つの指標を用いた。OSI, DSIの定義はそれぞれ以下の通りである。OSI (あるいはDSI) = $(R_{best} - R_{null}) / (R_{best} + R_{null})$ (ここで、 R_{best} : 最適方位(方向)への応答、 R_{null} : 最適方位(方向)と直行する方位(反対の方向)への応答、とする)。OSI, DSIともにRSの方がV1より大きかった(図1d)。このことから、RSの神経細胞は、V1の細胞に比べ、より特異的な方向あるいは方位にのみ応答を示す傾向にあることが分かった。以上の結果より、一部のRSの細胞は、V1と同様に、特定の方位あるいは方向への線分の動きに対する応答特性を示すことが明らかになった。

次に、RSの視覚応答が動物の状態によりどのような修飾を受けるのかを調べた。マウスの一次視覚野の神経細胞では動物が歩行時の視覚応答は、静止時に比べ大きいことが知られている³⁾。このような動物の状態に依存した視覚応答の修飾がRS細胞において観察されるのかを調べた。この実験では、RS細胞にGCaMP6sをアデノ随伴ウイルスにより発現させた⁴⁾。また、覚醒下のマウスを、球状のトレッドミルの上に固定し歩行行動をとれるようにした(図2a)⁵⁾。刺激は麻酔下での実験と同様に、縞模様刺激を用いた。

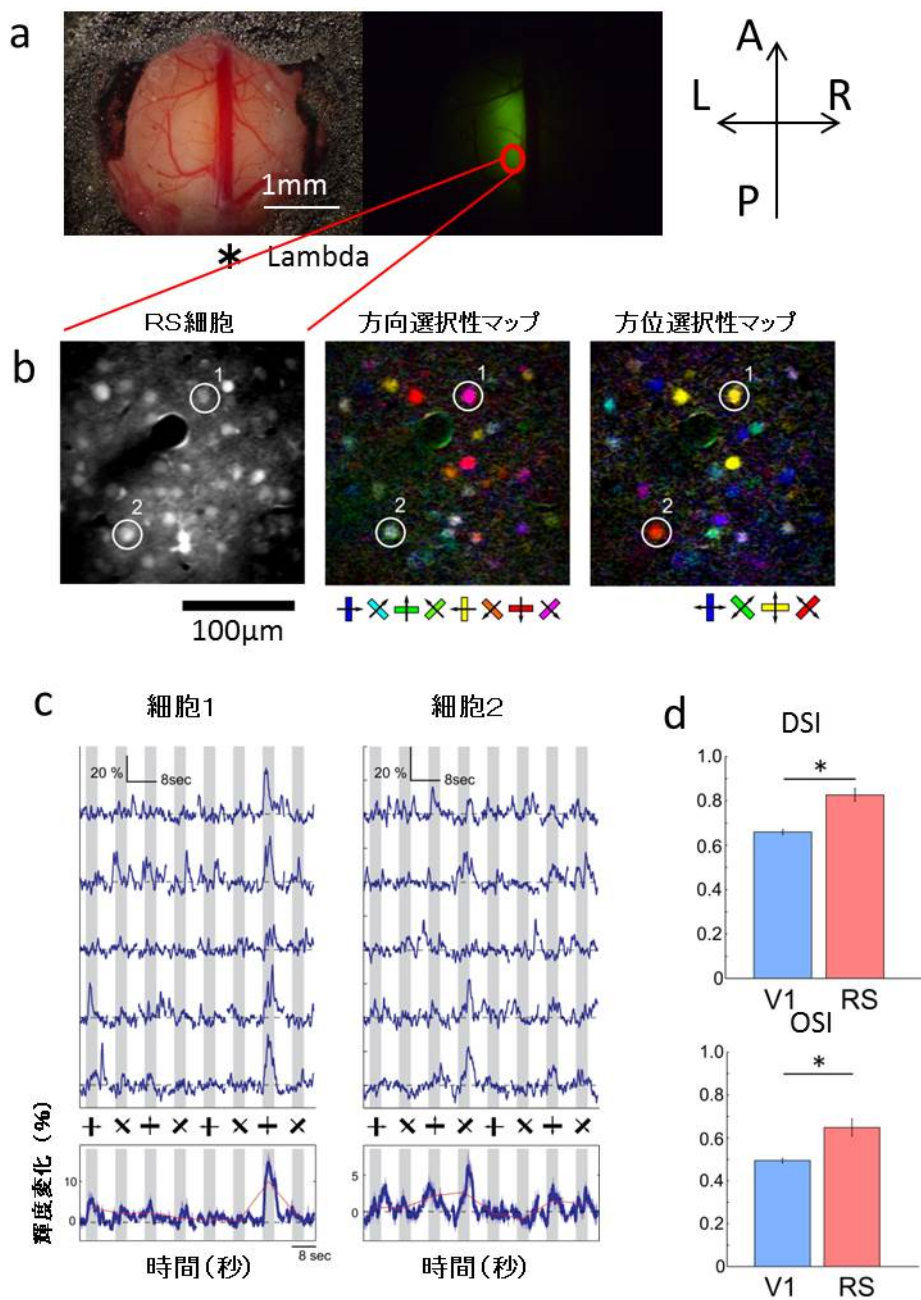


図1. 脳梁膨大部皮質細胞 (RS) の視覚応答.

a) マウス脳梁膨大部皮質及び OGB1 の注入部位. A: anterior, L: left, R: right, P: posterior. b) 二光子イメージングによる撮像部位及び方向・方位選択性マップ. 各細胞の最適縞模様刺激の方向・方位をカラーコードで示している. c) 二個の細胞の応答例. 上段は一試行での応答, 下段は全試行の平均を示す. d) RS 及び V1 間での DSI・OSI の比較. * $p < 0.05$, ウィルコクソンの順位和検定.

RS 細胞は覚醒下でも方位・方向選択性を示した (図 2b). 縞状刺激に応答を示した細胞の割合は, 上述の麻酔下で OGB1 をカルシウム指示薬とした実験と同程度であった (麻酔下: 13%, 覚醒下: 11%). マウスの状態による視覚応答の変化を調べると, 一部の細胞では歩行時の視覚応答が, 静止時に比べ大きかった (図 2c). 各試行において, 視覚刺激提示前 1 秒から提示開始後 2 秒までの時間幅で少なくとも 0.5 秒以上歩行行動を示した試行を歩行試行とし, それ以外の試行 (静止試行) との間で視覚応答を比べた. その結果, 視覚応答を示した細胞 (110 細胞中 13 細胞) において, 歩行試行での視覚応答の大きさは静止試行に比べ有意に大きかった ($p = 0.03$, ウィルコクソンの符号順位検定, 図

2d). また、歩行の開始に伴い活動が変化した細胞はほとんど観察されなかった。このことから、RS細胞の活動は歩行行動そのものにより制御されるわけではなく、歩行時に視覚入力への感受性が上がる可能性が示唆された。

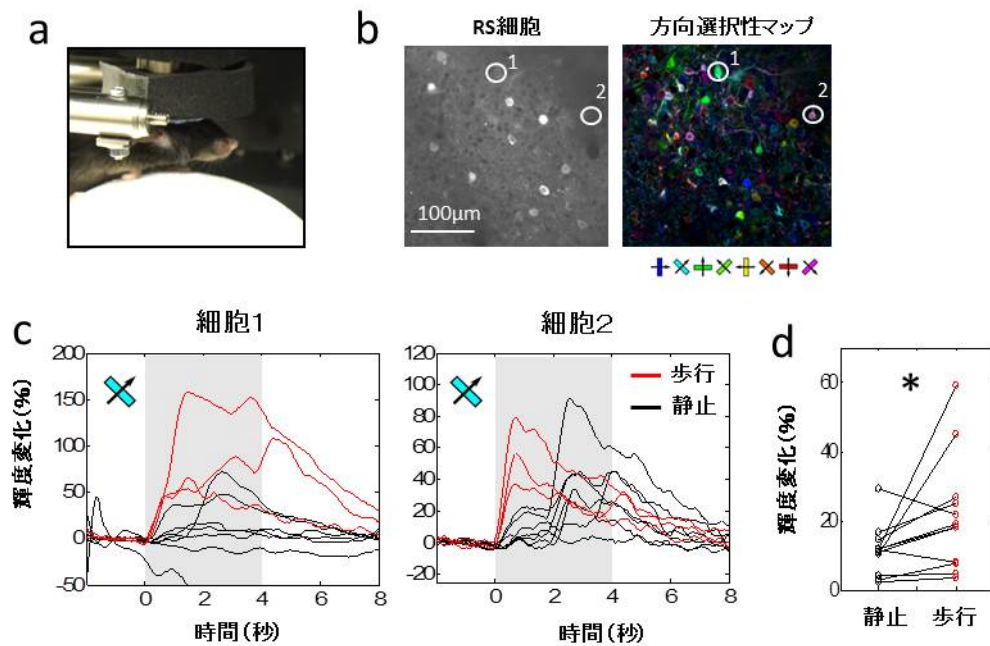


図2. 歩行による脳梁膨大部皮質 (RS) 細胞の視覚応答の修飾.

a) 球形トレッドミル. b) 覚醒マウスでの RS 細胞の二光子イメージングによる撮像 (左) 及び方向選択性マップ (右). c) 歩行時に視覚応答が増大した細胞の応答例. 灰色で示した時間窓で斜め右上へ動く縞模様刺激を提示した. d) 歩行・静止試行間での視覚応答の比較. * $p < 0.05$, ウィルコクソンの符号順位検定.

最後に RS から V1 への投射軸索の視覚応答を調べた. RS は V1 やその周囲の高次視覚野にフィードバック投射を送っている⁶⁾. これまでの実験で RS の一部の細胞は縞状刺激に対して応答することを明らかにしたが、これらの視覚応答細胞が V1 に投射しているかどうかを調べた. RS 細胞に GCaMP6s を発現させて、その軸索の視覚応答を V1 で調べた (図 3a). もし、V1 に投射する RS 細胞が視覚応答を示すなら、V1 で観察されるその軸索も視覚応答を示すと予想される.

RS の軸索は V1 の皮質 1 層に広く分布していた (図 3a). 麻酔下マウスで RS 軸索の活動を記録したところ、RS 軸索は縞状刺激に対して応答を示した (図 3b 及び c). しかしながら、その視覚応答は多くの軸索ブトン (軸索の肥大部) で試行間のバラつきが多く、統計的有意に視覚刺激に応答したブトンはごくわずかであった. 図 3c の左に示したのが、有意な視覚応答を示した軸索ブトンの例である. 大多数のブトンは図 3c の中央や右図に示すように、一部の試行においてのみ視覚刺激への応答を示す、あるいは刺激とは無関係に活動する、という振る舞いを見せた. 少なくとも一つの方向刺激に対して応答した軸索のブトンは全体の約 2% であった (418 軸索ブトン中 8 ブトン). 少なくとも麻酔下では、RS から V1 に送られる視覚情報は少ない可能性が示唆された.

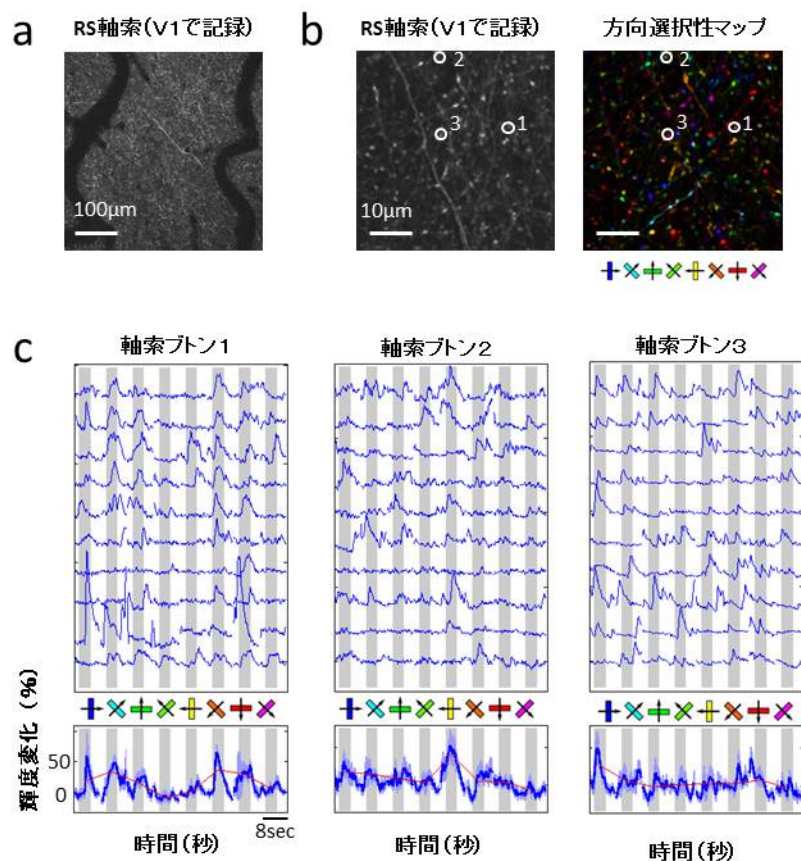


図3. 脳梁膨大部皮質 (RS) 細胞の一次視覚野 (V1) への投射軸索の活動。

a) 二光子イメージングによる RS 細胞の V1 への投射軸索の撮像 (低倍率). b) RS 軸索の撮像 (高倍率) 及び方向選択性マップ. c) 軸索終末肥大部 (ブトン) の視覚応答例. 少数の軸索ブトンは有意な視覚応答を示したが (左図), 多くの軸索ブトンの視覚応答は試行毎のバラつきが大きく, 視覚刺激時 (灰色で示した時間窓) 以外での活動も観察された.

考 察

本研究では, マウス RS の縞状刺激に対する視覚応答を調べ, 多くの視覚領野同様に RS 細胞も特定の方向あるいは方位に動く線分に対して選択的に応答することを明らかにした. また, RS の視覚応答は静止時に比べ, 歩行時に増大する可能性が示唆された. さらに, RS から V1 への投射軸索の視覚応答を調べたところ, 少なくとも麻酔下では, 視覚情報はほとんど送られていない可能性が示唆された.

マウスの RS は視覚系の経路では二次視覚野の一部の領野から主に入力を受けている⁶⁾. マウス二次視覚野は, 縞状刺激の縞の間隔が細くゆっくりと動く刺激に対してより応答する領野や太い縞が早く動く刺激に対してより応答する領野が知られている⁷⁾. RS には両者からの入力があるので, それぞれの領野からの情報がどのように RS の応答特性に反映されているのかは興味深い問題である. 今後の課題として, RS での詳細な応答特性を調べるとともに, 軸索イメージングの手法を用いて, 二次視覚野から RS へと送られる情報を調べる予定である.

RS は空間情報の処理に重要であることが知られている²⁾. 本研究で明らかにした RS の線分に対する応答特性が空間情報処理にどのように関与するのか, 関与するとしたらどのような形で関与するのか, 等不明な点が多い. 今後の課題として, RS の機能を必要とするような行動課題などにおいて, RS の活動を調べるとともに, 課題に関連した活動を示す細胞と視覚応答を示す細胞の関係性を調べる必要があると考えられる. また, 一次視覚野へと送られる情報が何か, その情報はどのような状況で必要となるのか等を明らかにしていきたい.

本研究の一部のデータの解析及び図の作成を九州大学大学院医学系学府の村上知成氏に手伝って頂きました。感謝いたします。

文 献

- 1) Harris, K. D. & Thiele, A. : Cortical state and attention. *Nat. Rev. Neurosci.*, **12** : 509-523, 2011.
- 2) Kravitz, D. J., Saleem, K. S., Baker, C. I. & Mishkin, M. : A new neural framework for visuospatial processing. *Nat. Rev. Neurosci.*, **12** : 217-230, 2011.
- 3) Niell, C. M. & Stryker, M. P. : Modulation of visual responses by behavioral state in mouse visual cortex. *Neuron*, **65** : 472-479, 2010.
- 4) Chen, T. W., Wardill, T. J., Sun, Y., Pulver, S. R., Renninger, S. L., Baohan, A., Schreiter, E. R., Kerr, R. A., Orger, M. B., Jayaraman, V., Looger, L. L., Svoboda, K. & Kim, D. S. : Ultrasensitive fluorescent proteins for imaging neuronal activity. *Nature*, **499** : 295-300, 2013.
- 5) Dombeck, D. A., Khabbaz, A. N., Collman, F., Adelman, T. L. & Tank, D. W. : Imaging large-scale neural activity with cellular resolution in awake, mobile mice. *Neuron*, **56** : 43-57, 2007.
- 6) Wang, Q., Sporns, O. & Burkhalter, A. : Network analysis of corticocortical connections reveals ventral and dorsal processing streams in mouse visual cortex. *J. Neurosci.*, **32** : 4386-4399, 2012.
- 7) Marshel, J. H., Garrett, M. E., Nauhaus, I. & Callaway, E. M. : Functional specialization of seven mouse visual cortical areas. *Neuron*, **72** : 1040-1054, 2011.