

聴覚野における音脈分凝の神経基盤

Neural basis of auditory stream segregation in auditory cortex

野田貴大

指導教員 高橋宏知 講師

Takahiro NODA

(Lecturer Hirokazu TAKAHASHI)

Keywords: Auditory stream segregation, Auditory cortex, Multichannel recording, Cell-assembly hypothesis, Functional network

1. 序論

聴覚系は、複雑な音響環境から特定の音の知覚的まとまり、音脈を抽出できる。音の時間-周波数情報の変化や時間経過により、音脈が分かれて聴こえる現象を音脈分凝という[1]。図1に示すように、周波数の異なるA・B音で構成される交替音系列(ABA-ABA-...; ABA-音系列)は、A・B音間の周波数差(ΔF)や、隣り合う音同士の間隔(ITI)により、心理物理的に異なる音脈を誘導する(van Noorden, 1975)。 ΔF が大きくITIが短いほど、音系列はA-A-A-(A音系列)とB-B-B-(B音系列)と2つに分かれた音脈として知覚されるが(音脈の分凝)、 ΔF が小さいほど、ABA-ABA-のように1つの音脈として知覚される(音脈の統合)。このような、音脈分凝の知覚境界における神経基盤は未だ十分に明らかにされていない。

本研究の目的は、聴覚野の周波数局在構造上で表現される知覚境界の神経相関を見出すことである。特に、神経集団間の相互作用により構成されるセル・アセンブリが音脈分凝の神経表現であるという仮説(図2)の下で、以下の

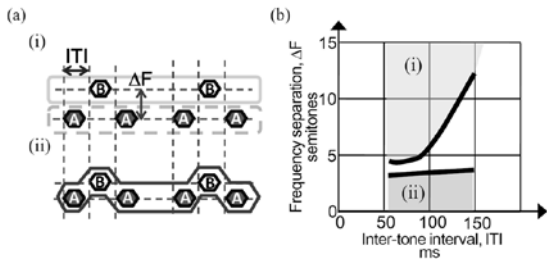


Fig. 1 Auditory stream segregation of alternating tone sequence

(a) Perception of ABA-tone sequence. Depending on ITI and ΔF , ABA-tone sequence induces either segregated perception of A-tone and B-tone sequences (i) or integrated perception of ABA-sequence (ii). (b) Psychometric function in ITI- ΔF plane (van Noorden, 1975).

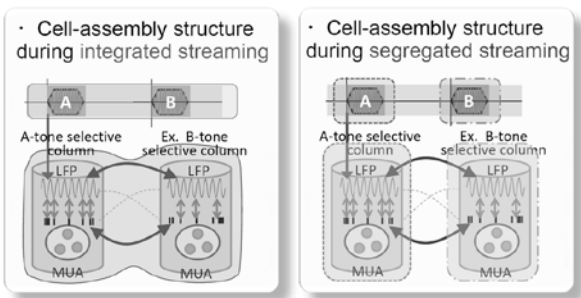


Fig. 2 Neuronal representation of auditory stream segregation by cell assembly hypothesis based on interaction between neuronal ensembles

3項目を実施する。I)実験系の設計・構築 動物モデルを用いた、麻酔下多点同時計測手法・覚醒下計測手法を開発する。II)音脈知覚の神経表現としての、麻酔下での神経集団間の協調活動によるセル・アセンブリ表現を評価する。III)実際に知覚が生じていると考えられる覚醒下神経活動計測における、神経相関を精査する。

2. 動物モデルを用いた音脈分凝の神経基盤解明のための実験系の設計と構築

2.1 行動学的評価

動物モデルとしてラットを用い、ABA-音系列に対する音脈知覚の評価法として、分凝時の一方の音のリズム(B音系列)だけを報酬と関連付けたGO/NO-GO課題を行った。その結果、GO/NO-GO課題を達成し(図3(a))、探索テストでも、ABA-音系列に対し大きい ΔF ほどB音系列の検出確率が増大した(図3(b))。すなわち、ヒトの心理物理結果や他の動物の行動実験結果と同様に、ラットでも、 ΔF が大きいほどABA-音系列からB-音系列を分凝しやすいことを示した。

2.2 麻酔下・覚醒下多点同時計測手法の開発

神経活動計測では、まず、微小電極アレイの仕様として、周波数局在構造を網羅的に計測可能な広範囲性、周波数局在構造内の活動相関を検出できる高密度性が、ともに求められる。その上で、安定した、再現性の高い神経活動計測が必要となる。そこで、電極アレイには、2次元状に10×10点配列された、400 μm の電極間隔を持つ剣山状電極を用いた(図4(a))。また、脳表の軟膜を貫通するために製作した専用の刺入装置(図4(b))と、深さ調整のために電極底面に取り付けのスペーサを用いて、所望の深さに電極を刺入した。各計測点から、局所電場電位(Local Field Potentials; LFPs)とマルチユニット活動(Multiunit activities; MUA)を同時計測した。そして、計測点ごとのMUAから特徴周波数(Characteristic Frequency; CF)、すなわち最低音圧で発火させられる刺激周波数を推定し、全ての計測点でCFを推定することで周波数局在構造を同定した。

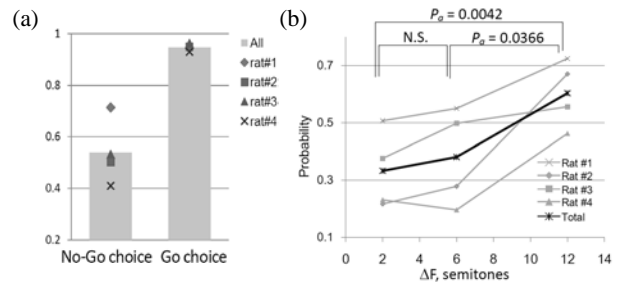


Fig. 3 Performance of extraction of segregated stream (a) Baseline training data, (b) Probability of "GO" response as a function of ΔF in ABA-tone sequence.

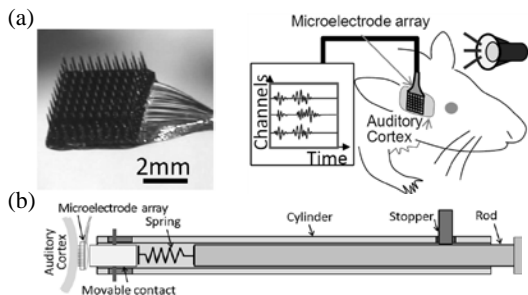


Fig. 4 Multichannel recording from auditory cortex of rat

(a) Microelectrode array and schematic diagram where the electrodes are inserted into the auditory cortex of rat. (b) Schematic diagram of electrode insertion.

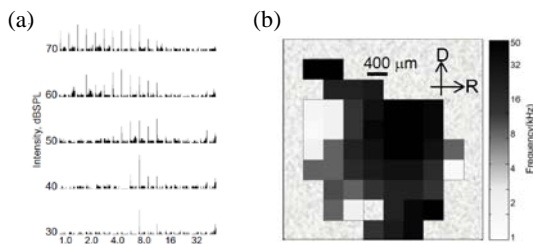


Fig. 5 Identification of tonotopic map

(a) Frequency Response Area by PSTHs as a function of test-tone frequency and test-tone intensity. (b) Representative example of identified tonotopic map.

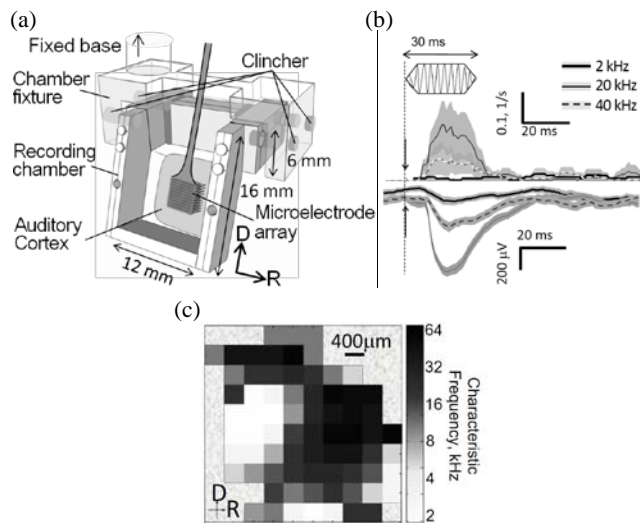


Fig. 6 Development of multichannel recording of auditory cortex from the awake rat

(a) Schematic diagram of recording chamber. (b) Frequency specificity of tone-evoked MUAs and LFPs. (c) Representative example of identified tonotopic map.

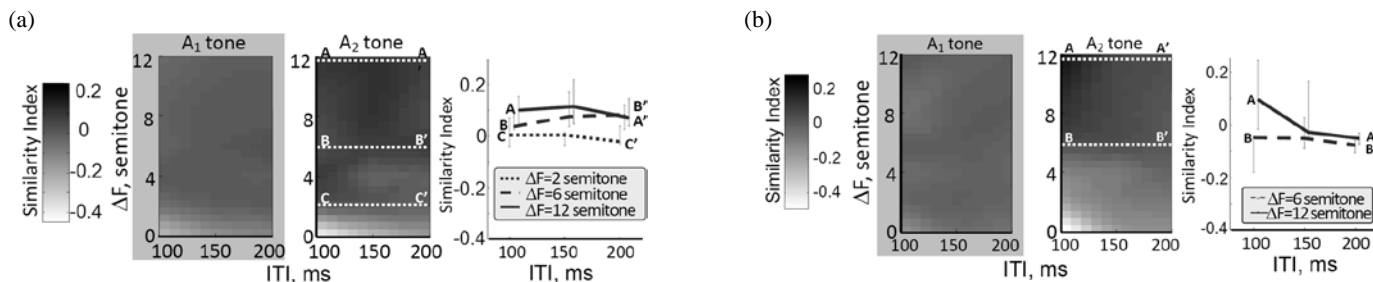


Fig. 7 Similarity index of spatial patterns of gamma-band oscillation

(a) SI of peak amplitudes of evoked response to A_1 and A_2 tone in ITI- ΔF plane in gamma band (70-90 Hz). Right inset represents SI at given ΔF s (A-A', B-B' and C-C' in the left inset). (b) SI of induced PLV patterns to A_2 tone in ITI- ΔF plane in gamma band (70-90 Hz).

その結果、各計測点で LFP と MUA から音誘発性の反応を取得できた。SN 比は、麻酔下で LFP; 3.44 ± 0.37 と MUA; 1.24 ± 0.07 と、雑音レベルより有意に大きく、また LFP は十分信頼性の高い信号を計測できた。さらに、9 個体から計 544 点、図 5 (a) のように CF を推定でき、それらすべての個体で、図 5 (b) のように、周波数局在構造を同定できた。

覚醒下の多点同時計測では、計測部位を固定し安静状態で記録するために、図 6 (a) の、頭部固定用のチャンバーを設計・製作した。計測時には実験台に取り付けられた固定器具にチャンバーを固定する。チャンバーの頭部埋め込み手術後に 2-3 日の回復期間を置いた後、訓練でラットに固定状態に馴らした。計測時には砂糖水を定期的に供給し、安静状態を維持させた。麻酔下と同様に、音誘発性の MUA から CF を推定し、周波数局在構造を同定した。

その結果、覚醒下計測においても、図 6 (b) のように、音の周波数に選択的な反応を取得でき、SN 比は、LFP; 2.38 ± 0.15 , MUA; 1.44 ± 0.07 で、いずれも雑音レベルより有意に大きかった。4 個体から計 278 点でそれぞれ CF を推定でき、それらすべての個体で周波数局在構造を同定できた。このように、麻酔下・覚醒下量計測手法から、再現性の高い音誘発反応を取得でき、これらの手法の実用性・有用性が示された。

3. 神経集団の協調活動による音脈の情報表現

3.1 単一計測点の活動評価

音脈分凝の知覚境界への、神経集団間の相互作用の寄与を評価する前に、まず、単一点の応答特性を調べた。ABA 音系列の A 音を CF とする計測点の振幅ピーク値は、音脈分凝の知覚境界と相関した ITI $\cdot \Delta F$ 依存的な変化を示さなかった。

3.2 神経集団間の協調活動-位相同期の空間パターン-

次に、ABA-音刺激に対する、周波数選択性コラム間の協調活動の有無を調べるため、誘発反応の空間分布と、振動活動の位相同期の空間パターンの変化を調べた。前者として、LFP を alpha, beta, gamma 帯域に帯域通過フィルタを通して分割し、帯域ごとの振幅ピークの空間分布を求めた。後者として、帯域通過フィルタ後の信号にヒルベルト変換を施し導出した瞬時位相信号を用いて、A1 上で A 音を CF にもつ点と、CF を持つそれ以外の計測点間の位相同期度 (Phase locking value; PLV) の組み合わせから成る空間パターンを求めた。ABA-音系列に対する各空間分布、空間パターンが、統合音脈に相当する条件での神経状態または分凝音脈に相当する条件での神経状態の、いずれに近いかを類似度を用いて評価した。

その結果、図 7 (a) に示すように、振幅の空間分布に基づく類似度は知覚境界と異なったが、図 7 (b) のように、gamma 帯域の位相同期パターンは知覚境界と類似した。

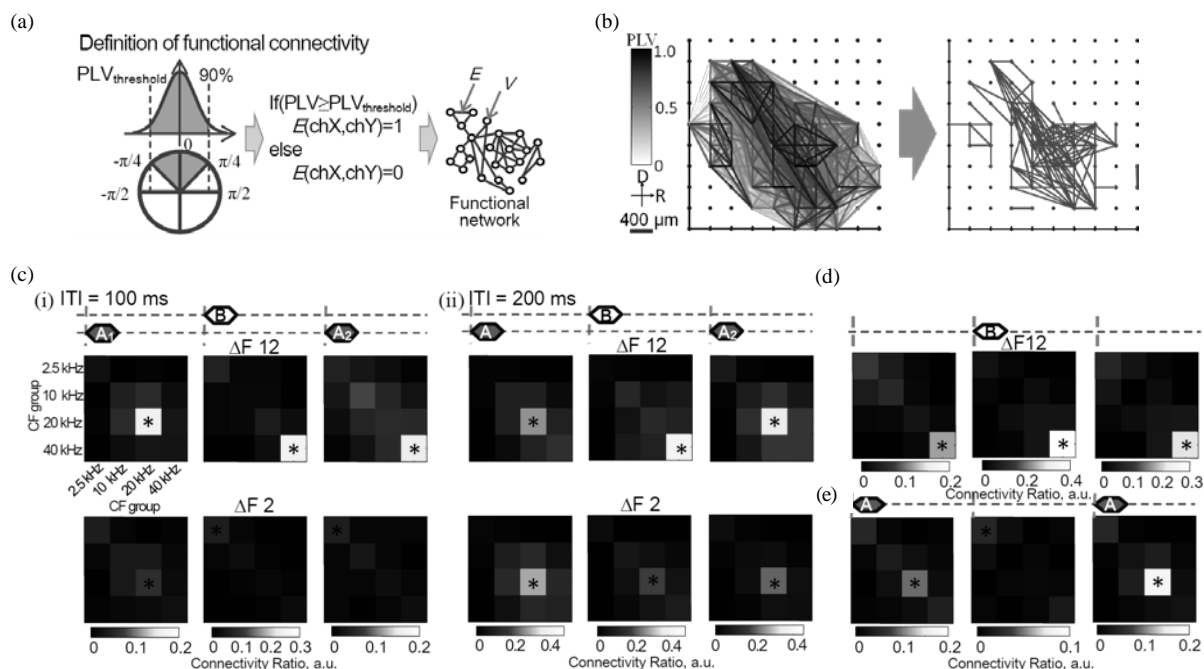


Fig. 8 Characteristics of functional network under different ITI/ ΔF conditions.

(a) Extraction method of functional connectivity based on phase synchrony between neuronal ensembles (b) Example of constructed functional network. Left inset indicates a spatial map of PLV. Each edge represents the strength of PLV between an indicated pair of channels. Right inset indicates the spatial map of extracted edges above the threshold. (c) Connectivity ratio matrix. (a) ABA-tone sequence: (i) ITI, 100ms; and (ii) ITI, 200 ms. (b) B-tone sequence. (c) A-tone sequence. Upper panel, $\Delta F 12$; lower, $\Delta F 2$. In each condition, connectivity ratio matrices are presented for A1, B and A2 tones. The connectivity ratios are determined for all the pair of CF groups, each of which corresponds to a given element of the connectivity ratio matrix. The CF groups are categorized as follows; CF 2.5 kHz, 1-6.4 kHz; CF 10 kHz, 8-13 kHz; CF 20 kHz, 16-25 kHz; CF 40 kHz, 32-50 kHz. An Asterisk indicates a pair with the largest connectivity ratio in each tone. The connectivity ratio was defined for a given pair of CF groups as a ratio of the number of functional connectivity to the number of possible edges between recording sites with CF groups included in the given pair.

3.3 機能的ネットワークとしての評価

このように、知覚境界と類似した挙動を示す γ 帯域の位相同期について、聴覚野の機能構造への依存性を詳細に調べるため、強い位相同期を機能的結合としたネットワークを構成し、その周波数局在構造との関係性を評価した。具体的には、まず、CF の定義された全計測点間組み合わせにおける PLV を算出し、そのうち強く位相同期する組として、適当な閾値以上の PLV 値の組を抽出した。それらの計測点間でのみ、機能的結合をもつと定義した。閾値は、試行毎の位相差が 0 rad を中心に正規分布する際に、分布の 90% が $\pm \pi / 4 \text{ rad}$ 以内に収まるときの PLV の下限と定義した。このようにして、各計測点をノード、機能的結合を辺として形成されたネットワークを、機能的ネットワークとした (図 8 (a))。各種の神経活動と周波数選択性コラムとの関係性を把握するため、CF を周波数に応じて、4 群に分割した: CF 2.5 kHz 群, $1.0 \leq CF \leq 6.4 \text{ kHz}$; CF 10 kHz 群, $8.0 \leq CF \leq 13.0 \text{ kHz}$; CF 20 kHz 群, $16.0 \leq CF \leq 25.0 \text{ kHz}$; CF 40 kHz 群, $32.0 \leq CF \leq 50.0 \text{ kHz}$ 。次に、機能的ネットワークの、CF 群に依存した変化を調べるため、異なる CF 群に含まれる各計測点間の結合を定量化した。機能的結合の数は各 CF 群の計測点数に影響されるので、各 CF 群に属す計測点間の実際の結合数を、全組み合わせ数で除した割合 (機能的結合割合) として評価した。特定の CF 群の計測点間における機能的結合割合と、他の CF 群の計測点間における同割合との統計的な差異を調べるため、全ての結合割合間で 2 群の平均値の差を検定 (paired t-test) し、False discovery rate で p 値を補正し有意性を評価した。

図 8 (b)に、PLV を用いて構成した機能的ネットワークの例を示す。同図から、隣接する計測点間だけでなく、3 mm 以上離れた位置関係にある計測点間でも機能的結合をも

つことがわかる。図 8 (c) に、刺激条件・音ごとの CF 群間の機能的結合割合を示す。各図の行と列には、CF 群が昇順に並べてあり、行列の各要素には、対応する各行・各列の CF 群の組み合わせにおける結合割合が濃淡で示されている。ITI が 200 ms のとき、2 semitones の ΔF ($\Delta F 2$)・12 semitones の ΔF ($\Delta F 12$) の両条件で、 $A_1 \cdot B \cdot A_2$ 音それぞれに対し、提示音の周波数に選択的な CF 群で結合割合が最大となった (図 8 (c) (ii))。一方、ITI が 100 ms のとき、 $\Delta F 2$ 条件 (図 8 (c) (i), 下段) では、有意に大きな結合割合を示す CF 群の組み合わせはなかった。しかし、 $\Delta F 12$ 条件 (図 8 (c) (i), 上段) では、 A_1 音に対して CF 20 kHz 群 - CF 20 kHz 群 (補正 p 値, $p_a < 0.047$)、B 音に対して CF 40 kHz - CF 40 kHz 群 ($p_a < 0.0018$)、 A_2 音に対して CF 40 kHz - CF 40 kHz 群 ($p_a < 0.024$) が、それぞれ有意に大きな結合割合だった。このように、ITI が 100 ms、 $\Delta F 12$ の条件では、 A_2 音提示中に、A 音周波数ではなく、B 音周波数に選択的な CF 群同士の結合割合が最大となった。なお、ITI が 100 ms の B 音系列では、B 音周波数に選択的な CF 群同士の結合割合が、他の CF 群間の結合割合よりも有意に大きく、その傾向は、B 音が提示されない無音の時間 (ABA-音系列の $A_1 \cdot A_2$ 音提示の時間) でも持続した (図 8 (d))。一方、ITI が 100 ms の A 音系列では、A 音提示時に A 音周波数に選択的な CF 群同士の結合割合が最大となった。しかし、A 音の提示されない無音の時間 (ABA-音系列の B 音の時間) では、有意に大きな結合割合を示す CF 群の組み合わせはなかった (図 8 (e))。これらの結果から、特に分凝時の音系列 (B 音系列) の神経表現には、 γ 帯域の位相の同期性に基づく機能的ネットワークが大きく関与することが示唆される。

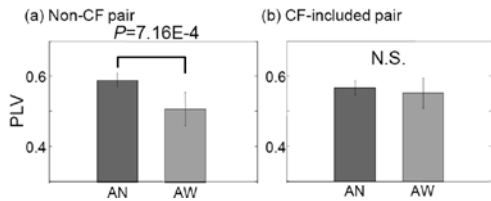


Fig. 9 PLV statistics demonstrating selectivity to CF of presented tone frequency under awake condition (a) Median PLV histogram between CF groups with non A-tone frequency. (b) Median PLV histogram between CF groups where at least one CF group indicates selectivity to A-tone frequency.

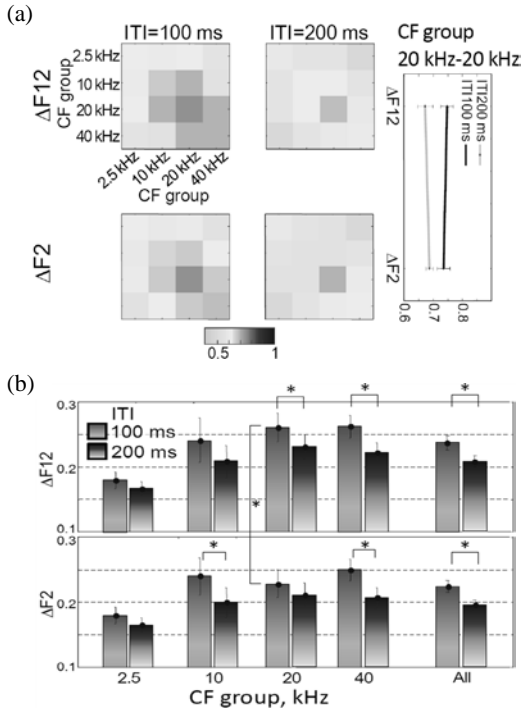


Fig. 10 ITI- and ΔF -dependent change of induced activities in the awake condition

(a) Median value of PLV histogram at each combination of CF groups. Right inset indicates median PLVs between CF 20 kHz groups under different ITI/ ΔF conditions. (b) Spike-gamma phase relationship during interval of ITI after A_2 tone onset. Asterisks in inset indicate statistically significant difference of mean value: $p < 0.01$ (two-sided paired t-test).

3.4 覚醒下計測における神経集団の特徴的活動

覚醒下神経活動と音脈分凝との相関を評価する前に、まず、覚醒下における神経集団の活動と麻酔下の活動との相違を評価した。純音系列に対する γ 帯域の位相同期性は、覚醒下の神経集団間では麻酔下に比べ脱同期傾向にあった。CFに基づく同期度の特性を、提示音を CF に持つ神経集団を組み合わせに含む位相同期と、含まない組み合わせの位相同期をそれぞれ分けて評価したところ、図 9 のように、麻酔下では両者に有意差は見られなかったが、覚醒下では後者に比べ前者で高い同期傾向が見られ、後者で覚醒下の位相同期は有意に麻酔下のそれに比べ低かった。このように覚醒下では、刺激音の周波数に相対的に高い同期性が、音の高精度な調整を実現していると考えられる。

次に、ABA-音系列に対し、 γ 帯域の振動の振幅、位相同期、発火-位相結合をそれぞれ、各音提示開始から 60 ms 後までの誘発成分・各音提示開始から 60 ms 以降の誘導成分でそれぞれ評価した。その結果、誘導成分では、刺激音 (A 音) の周波数に選択的な神経集団においてだけ

でなく、B 音の周波数に選択的な神経集団において、 γ 帯域の振動、位相同期、発火-位相結合は、短い ITI、大きい ΔF で増大傾向にあった (図 10 (a),(b))。特に刺激音の周波数に選択的な神経集団では、分凝に相当する条件 (短い ITI、大きい ΔF) で、統合条件 (小さい ΔF) にくらべ、有意に特定の位相で発火した (図 10 (b))。これらの傾向は、誘発成分では観察されなかった。このように、分凝に相当する短い ITI・大きい ΔF 条件で、発火と γ 振動の持続的な位相関係がより高い再現性を示すことで、離散的な音刺激に対する神経表現を接続する役割を担っている可能性がある。このことが、時間的に連続な知覚形成を可能にし、音脈の形成に寄与していると考えられる。

4. 考察

本実験結果は、音脈の知覚境界と相関を示した神経活動の特徴として、麻酔下・覚醒下の両方で、応答強度ではなく、位相同期の持続性と、特定の列の同期の局在化が見られた。すなわち、異なる受容野間の水平方向の機能的結合が積極的に関与したわけではなく、同一受容野間の同期的活動や、特定の受容野上の、局所的な神経集団活動と単一細胞活動との位相関係、などが寄与した。異なる音の選択性をもつ列間の脱同期という過程、つまり、異なる受容野間との活動を分離することで、分凝の知覚境界を表現している可能性がある。

知覚境界と類似した挙動を示した、麻酔下の位相同期パターンや機能的ネットワークは、主に視床-皮質入力に由来する音脈の神経表現を反映していると考えられる。一方で、覚醒下の誘導反応における、知覚境界と類似した、 γ 帯域の振動の振幅、位相同期、発火-位相結合の各変化は、主に皮質-皮質間のフィードバック情報にもとづく神経表現であると考えられる。皮質-皮質間の興奮性・抑制性の両入力、音の高精度な符号化に寄与している [2] ように、分凝音脈の尖鋭な抽出を実現していると考えられる。

5. 結論

本研究は、音脈分凝の知覚境界の神経基盤を明らかにするため、動物モデルを用いた音脈知覚の評価手法の開発、聴覚野における神経集団の多点同時計測手法の開発と、神経集団間の相互作用による、音脈分凝の知覚境界に対する表現可能性の評価、を実施した。行動学的評価の結果、大きい ΔF ほど、ABA-音系列に対する分凝音系列の検出確率が増大し、ヒトの心理物理結果と同様に、ラットでも、周波数差による音脈分凝の存在を確認した。神経活動計測では、聴覚野の周波数局在構造を網羅できる広範囲性・高密度性を併せもつ多点同時計測手法の設計解を述べ、実際に計測系を構築した。音誘発性の局所電場電位とマルチユニット活動を取得し、さらに周波数局在地図を推定できた。また、それらの麻酔下・覚醒下計測を通して、過渡的な活動の応答強度ではなく、神経集団間の持続的な同期活動や、神経集団と個々の細胞の時間的相互作用、で構成されるセル・アセンブリが、心理物理的知覚境界と類似し、音脈表現に寄与することを示した。

参考文献

- [1] Bregman A S, "Auditory Scene Analysis: The Perceptual Organization of Sound", Cambridge, MA: MIT Press, (1990).
- [2] Liu, B. et al., "Defining cortical frequency tuning with recurrent excitatory circuitry", *Nature Neuroscience*, Vol.10, (2007), pp.1594-1600.