

I. 序論	3
1. 脳波研究の歴史.....	3
2. 脳波の神経生理学的基礎.....	8
3. 体積伝導による脳波の変化.....	13
4. ヒト用脳波計の作動原理.....	14
5. 従来の脳波解析と新しい脳波解析法の導入.....	18
6. 本研究の目的.....	22
II. マウスにおける脳波解析	23
1. 実験材料および研究方法.....	23
(1) <i>PLCβ4</i> -遺伝子欠損マウスの作製.....	23
(2) 免疫組織化学.....	25
(3) ウェスタンブロット解析.....	25
(4) 脳波と筋電図測定.....	26
(5) 睡眠/覚醒状態判定.....	26
(6) Ca^{2+} イメージング.....	28
(7) パッチクランプ法による電気生理学的測定.....	29
(8) オフラインデータ解析.....	29
(9) 視床回路網のモデル.....	30
(10) 脳波解析.....	35
2. 結果.....	37
3. 検討.....	53
III. 脳波の新しい解析法と脳ポテンシャルを用いた脳機能解析 ...	59
1. レム睡眠時脳波と脳ポテンシャル.....	59
2. ヒトの脳機能解明への脳ポテンシャルを用いた考え方の導入.....	64
IV. ヒトにおける脳波解析	68
1. ヒトの脳機能解明の糸口として選択した課題.....	68
2. 実験材料および研究方法.....	70
(1) 参加者.....	70
(2) 刺激.....	70

(3) 実験手順.....	74
(4) 脳波測定.....	74
(5) 脳波解析.....	75
3. 結果.....	76
4. 検討.....	98
V. 結論	110
謝辞	113
引用文献	114

I. 序論

1. 脳波研究の歴史

近年ヒトの脳活動を非侵襲的に画像化する技術が飛躍的に進歩し、研究者の関心は、認知や知覚作業等に関連した脳の活性部位同定にあるようだ。最近では時間分解能に優れた脳波や脳磁図と空間分解能に優れた fMRI (functional magnetic resonance imaging) や PET (positron emission tomography) を組み合わせて、精度よく脳の活性部位を示すことに力が入られている (Dale and Halgren, 2001)。脳波研究の歴史を振り返ると、研究者の関心は、脳の活性部位を同定することよりも、むしろ覚醒や睡眠、てんかんが電氣的活動で如何に記述されるか、そしてそれは脳で何が起きていると解釈可能であるのかという点にあったようだ。ここでは Niedermeyer (1999) に準拠して脳波研究史の概要を述べる。

最初に脳表面からの電氣的活動記録を試みたのは、イギリスの Caton である。彼はウサギやサルの大脳半球の電氣的現象を検流計を用いて調べた。そして 1857 年に、検流計の方向を変える微弱な電流が電極を大脳の外表面に 2 個置いた場合と、電極の一方を灰白質、もう一方を頭蓋骨に置いた場合に発生することを発見した (Caton, 1875)。これ以降しばらくは動物を対象とした脳活動記録の研究が盛んに行われた。

第一次世界大戦後の 1924 年から、ドイツの Berger は、頭蓋骨に大きな破損のある患者を集めてヒトの脳波の測定を試みた。そしてその年には、弦電流計がおそらく脳の電氣的活動に由来すると思われる振動を示すことを見出し、翌年には頭蓋骨や頭皮を介した時もそれらを介さない場合と同様に脳の電氣的活動を記録できることを発見した。1929 年には α 律動と α 波抑制現象を報告した論文 (Berger, 1929) を発表し、初めてヒトの場合でも頭皮上から脳の電氣的活

動を記録可能であることを示した。彼はまた、初めてフーリエ解析を脳波解析に適用した人でもある。Berger がヒトの脳波記録に成功しても、すぐには脳波測定を用いた研究は行なわれず、イギリスの Adrian ら (Adrian and Matthews, 1934)によって Berger の研究結果が追認されてはじめて、脳波の有用性が世界各国で認められ研究が盛んに行われるようになった。

ベルギーの Bremer は、ネコの脳幹を中脳と間脳の間で切断した脳標本の脳波と延髄と脊髄との間で切断した脳標本の脳波を比較し、前者は徐波と紡錘波からなる睡眠パターンを持続するのに対し、後者では低振幅速波の覚醒パターンと睡眠パターンが交代して出現することを明らかにした(Bremer, 1935)。この結果は、脳幹から大脳皮質へのインパルスの流入が脳波に覚醒パターンを出現させるために必要であろうと解釈された。北アメリカでは Loomis らが初めてヒトの睡眠脳波パターンと睡眠段階を組織的に研究した (Loomis et al., 1935)。アメリカの Gibbs と Davis はてんかんの小発作を持つ小児患者を対象に、てんかん小発作の研究を行い (Gibbs and Davis, 1935)、患者が発作時に特有の脳波波形を示すことを発見した。これは一般の研究者に、臨床像に対応する特異な脳波所見が存在し得るという期待を与え、てんかんの脳波研究の進展にいつそうの拍車をかけた(大熊、1983)。

1947 年には第一回国際脳波学会がロンドンで開催された。この頃、日本の脳波律動の研究者である本川(1947)の研究も注目を浴びるようになった。アメリカでは Gibbs らが側頭部てんかんに関して、側頭前部の発火がしばしば睡眠中に限って観察されることを発見し(Gibbs et al., 1948)、その後のてんかん診断には睡眠脳波の評価が欠かせないものとなった。1940 年代は神経生理学者の研究の多くが脳波を基礎において行なわれた。中でも強い影響を与えたのが Magoun で、彼は Moruzzi と共に脳幹網様体の上行性システムを調べ、その部分を高周

波で電氣的に刺激することが、皮質機能に影響を与え、脳波の脱同期や行動上では覚醒をもたらすことを明らかにした(Moruzzi and Magoun, 1949)。この研究をきっかけに 1940 年代以降は、実験的脳波研究の視点は単一神経細胞に焦点を当てる方向に向かい、その一方で巨視的な視点に立った脳波研究は徐々に減少していった。

1950 年代に入ると脳波に関連した新しい研究が芽吹き始めた。ロンドンの Dawson は、多数回の電気刺激によって誘発される電位変化を刺激時点をそろえて加算することによって抽出した (Dawson, 1947)。この事が後の大脳誘発電位、事象関連電位研究分野の発端となった。この頃シカゴ大では Kleitman によって、レム睡眠中に急速眼球運動や筋肉の弛緩、その他自律性の変化が現れることが報告された (Aserinsky and Kleitman, 1953)。

脳波研究の臨床面と実験的側面における発展は 1960 年代にさしかかると頂点に達し、研究者の関心は波形パターンの探求からその解析の自動化へと移った。Cooley と Tukey (1965)は周波数解析の基礎である “fast Fourier transforms (FFT)”を紹介した。この仕事をきっかけに脳波の計算機処理化が加速し、脳波の解析と解釈の自動化が実現すると予想された。しかしそれまでに明らかになった事は、脳波は複雑すぎて自動解析に向かないことであった。それでも、周波数解析は、当時の解析手法が周波数解析に限られてきたことに注意を向けるべきだという指摘 (Niedermeyer, 1999)があるほど脳波解析の主流となっていた。

1970 年代以降、特にこの 10 年間は、ヒトの脳活動を非侵襲的に fMRI や PET を用いて画像化する技術が飛躍的に進歩した。これは、脳波とは異なり局所的な脳活動に伴った血流の変化を測定している。このためこれらは時間分解能では脳波に及ばないものの、空間分解能は優れている。それまで中枢神経系にあ

る病巣診断に用いられてきた脳波は fMRI や PET に取って代わられた。一方、脳波測定においても空間分解能を高める研究が進められ、64-128 個の電極から脳波が記録された(Lehmann, 1987)。また脳の各部位における脳波の時間変化の画像化が進められ、脳全体における周波数分布が色分けして表示されたり、刺激によって生じる一過性の脳電位変動：大脳誘発電位の分布が可視化された(Duffy et al., 1979)。

1970 年代以降ではまた、大脳誘発電位に着目した認知研究も発展した。大脳誘発電位は、常に発生している大脳の自発脳波に比べて非常に小さな電位変動であり、通常の脳波記録からは検出されない。認知研究では約 25-100 回の試行結果を加算平均して抽出する (Chiappa, 1983)。Walter ら(1964)が、刺激の前に出現する誘発電位を発見し、予期を示す事象関連電位であると報告した。これをきっかけに、認知情報処理過程に対応する電位、たとえば刺激に備えて注意し、刺激特徴を知覚し、それらを記憶と照らし合わせ、刺激の意味を評価し、応答の選択と実行を行うことを示唆する電位の探索と発生部位の同定、発生のタイミングに関する研究が行なわれた (Gevins, 1996)。さらに近年は、時間分解能に優れた脳波や脳磁図と空間分解能に優れた fMRI や PET を組み合わせて、高い精度で、認知や知覚の情報処理過程を同定しようと研究が進められている (Dale and Halgren, 2001)。

このように近年の神経科学者には、臨床の現場においては病巣部位の特定に関心を持つ研究者、心理学的分野においては作業時の活性化部位の同定、同定された複数の活性部位間の相互作用を明らかにして脳機能を記述しようとする研究者が多く見受けられるようになった。Niedermeyer (1999)も指摘するように、脳波に本来反映されると考えられる脳機能の実体や病巣の進行状況を探求する方面への関心は薄れてきている。

ここでマウス脳波の研究史も見てみることにする。マウスの脳波研究において、自由に動き回るマウスの脳波を測定することは必須であるが、これが可能となったのは1970年代の後半である(Higashi et al., 1979)。げっ歯類の中でもラットに比べるとマウスはサイズが小さく、敏捷に動き回るので、マウスが自由に動ける状態で脳波を測定する技術の完成には時間がかかった。マウスは哺乳類の中でも、タンパク質の機能を遺伝子工学的に探索する目的で好んで使われる種であり、タンパク質の機能はそのタンパク質を欠損させた結果生じる行動、形態、生理的変異を調べて明らかにされてきた。特定の遺伝子を欠損させたマウスの行動異常を脳波測定によって同定するようになったのはまだ最近のことである。1996年にはIP₃受容体を欠損させたマウスが運動失調と、てんかん発作を示すことが脳波測定で明らかになり、IP₃受容体が正常な脳機能発現において重要な意義をもつことが示唆された (Matsumoto et al., 1996)。Tobler (1997) らは、家族性の不眠症の原因とされるプリオンプロテインを欠損させたマウスを作製し、このマウスの睡眠/覚醒状態の量を野生型マウスと比較した。そして、プリオンプロテインが睡眠の持続に関与していることを明らかにした。この研究は、遺伝子欠損マウスを用いた睡眠の制御機構研究の先駆けとなった。その後種々の遺伝子欠損マウスを用いた睡眠制御機構の研究が進められているが、中でもオレキシン欠損マウスは、入眠直後にレム睡眠に入るという異常な睡眠パターンを示し、ヒトのナルコレプシーを研究するモデル動物になることが提案され (Chemelli et al., 1999)注目を浴びている。

2. 脳波の神経生理学的基礎

脳波が他の非侵襲的な脳活動検出技術に比べて優れている点は、記録される電位変化が直接神経細胞の電氣的活動に結び付けられる点である。頭皮上や中枢神経系の皮質表面に置いた電極から記録されるのは、電極の下にある神経細胞の電氣的活動の総和と考えられており、これは集合電位と呼ばれている。

神経細胞の軸索を活動電位が伝播し、興奮性シナプスに到達すると、シナプス後細胞では、脱分極性膜電位が発生する。これは興奮性シナプス後電位 (excitatory postsynaptic potential, EPSP) と呼ばれる。一方、活動電位が抑制性シナプスに到達すると、シナプス後細胞では過分極性の膜電位が発生し、これは抑制性シナプス後電位 (inhibitory postsynaptic potential, IPSP) と呼ばれる (Eccles, 1964; Hubbard et al., 1969; Shepherd, 1974)。種々の膜電位の時間変化を考慮すると、集合電位の発生に最も寄与するのは、活動電位ではなくシナプス後電位の方であろうと考えられている (Creutzfeldt and Houchin, 1974; Hubbard et al., 1969; Speckmann and Caspers, 1979)。

シナプス後電位の発生とその総和である集合電位の間には隔たりがあるが、脳の非侵襲的計測法の一つに磁場を計測する手法(脳磁図)があるので、脳内を電流が流れていると推測できる。実際、脳波を測定するときに用いる銀/塩化銀電極とペーストは、この脳内電流を電圧に変換して導線を通して増幅器に入力する役割を果たしていることになる (Webster, 1988)。また、大脳皮質を帯電体と捉えるならば、その周囲には電界が生じ、電界は帯電体から離れていても検出できるので、原理的には脳波を頭皮から離れた電極で検出できるはずである。近年、この原理を用いて脳波を頭皮から離れた電極で計測する手法が開発された (Harland et al., 2002)。従って、集合電位はシナプス後電位の発生に伴う電荷密度の変化と考えられるだろう。

興奮性のシナプス後電位と抑制性のシナプス後電位の総和である集合電位の変動が何に依存するかということは、哺乳類の脳皮質の電氣的活動記録に初めて成功した時から現在まで、動物の覚醒や睡眠といった脳の活動水準に依存すると考えられたきた (Caton, 1887)。前脳の活動水準を制御する中枢といわれている視床に着目して、McCormick ら(1997)の総説に準拠して詳しく脳波と脳の活動水準の相関を述べる。睡眠時には、振幅が大きく、周期性を持った脳波が現れる。視床-皮質システムで発生する脳波で特に際立っているのは、0.5-4 Hz のデルタ波と 7-14 Hz の紡錘波である。自然に眠っている動物の皮質投射神経細胞群を電気生理学的に調べると、これらの細胞ではゆっくりと脱分極電位が発生し、その電位に突発的な発火が繰り返し重ね合わさっていることが示された (Hirsch et al., 1983, McCarley et al., 1983)。さらに、この突発的な発火は、通常とは異なり過分極状態からの突発的な発火であった (Deschênes et al., 1984)。このことから睡眠時リズムの発生には抑制性のシナプス後電位の発生が重要であろうと推測される。一方、睡眠時の脳波から覚醒やレム睡眠時の低振幅、速波の脳波への移行は、睡眠時の膜電位からさらに脱分極が進み、睡眠時のようなゆっくりとした脱分極電位ではなく、突然早い活動電位が出現したと解釈される (Hirsch et al., 1983, McCarley et al., 1983)。この段階的な膜電位の脱分極には、興奮性シナプス後電位が重要で、膜電位が -55mV になると連続的な活動電位が生じていた (McCormick and Feuser, 1990)。以上より、脳波の発生には抑制性シナプス後電位と興奮性シナプス後電位共に一定の役割があると分かる。

次に、脳波が頭皮上に置かれた電極から集合電位の電位変化として記録されるまでの過程を、興奮性シナプス後電位の発生のみを起源とした場合に単純化して、Speckmann と Elger (1999)による単純なモデルを用いた説明に準拠して述

べる。このモデルは、皮質表面に対して垂直方向に伸びた2つの錐体細胞と、これらの神経細胞の皮質に近い樹状突起と興奮性のシナプスを介して接合する求心性神経線維の神経終末から構成されている（図1）。この構造における電気的活動を細胞内微小電極によって記録したと仮定し、EPSPやIPSPの発生から脳表面で集合電位が記録されるまでの機構を追跡する。微小電極E1とE2は求心性線維に刺入し、電極E3とE4はシナプス後細胞の表皮に近い樹状突起に刺入したとする。細胞外の集合電位を脳表面から記録するために電極E5は皮質上に置く。トレース1と2に示した通り、求心性線維では活動電位が同期して生じる。スパイク発火はいくつかの集団（バースト）で生じるが、時々持続性の発火に取って代わられる。求心性活動電位はそれぞれ神経細胞の樹状突起でEPSPを引き起こす。トレース3,4に示されるように脱分極の振幅と持続時間は、求心性線維の発火パターンにより異なる。そしてこの表皮付近の樹状突起においてシナプス後電位の発生に伴って生じる、細胞外を流れる電流が、最終的に脳の皮質上で記録される集合電位になるのである。もし脳表面の集合電位を時定数1秒以下で記録するならば、それは皮質下の表面付近の急速な集合電位変動を表し、これが一般に脳波と呼ばれているものに相当する。

これまで脳波とその直流成分の生成原理を、求心性線維で生じる活動電位から始めて皮質上の集合電位記録まで追跡してきたが、求心性線維の活動電位パターンに着目して、それによって発生する脳波パターンをまとめると次のようになる。2本の求心性線維で同期した一群の活動電位が断続的に複数発生して、表面付近に存在する多くのシナプスにまで伝達されると、脳波は一連の活動電位に対応して一つの大きな振幅をもつ波になる。この一連の活動電位が断続的に複数発生すると、互いに分離した高振幅な複数の波になる。もしこの複数の断続的な一群の発火が周期的に表れると、脳波は正弦波状の電位変化を示す。

この仕組みは、脳波のうち α 律動やゆっくりとした周期的脳波を生成させる原因ではないかと複数の研究グループで考えられている (Andersen and Andersson, 1968; Speckmann and Caspers, 1979)。2本の求心性線維の一方、あるいは両方での高周波活動電位が長時間続くと、皮質表面の集合電位は細かく変動する波を示す。電位の直流成分を記録すると、この皮質表面集合電位は正側へのシフトとして記録される (Caspers, 1963; Goldring, 1974)。この仕組みは主に脳波の β 律動やその他の高周波数活動の生成機構に当てはめられると考えられている (Speckmann and Elger, 1999)。

3. 体積伝導による脳波の変化

ヒトの脳波を測定する場合、通常は頭皮上に電極を装着して大脳皮質の集合電位を記録する。大脳皮質の電位が頭皮上に到達するまでには、その間にある脳軟膜、脳クモ膜、脳硬膜、頭蓋骨を通過する。このとき大脳皮質の電位変化は通過する組織の電気抵抗の影響を受けるが、これは体積伝導と呼ばれる (Gloor, 1985)。絶縁体ではないことが知られている頭蓋骨による影響は、電位変化の振幅の減衰に現れ、大脳皮質上の電位変化が頭皮上で減衰する程度は電位源の深さにより影響される (Smith et al., 1983)。Smith ら (1983)によると、大脳皮質上の電位と、頭蓋骨上の電位を比較すると、電源が浅い場合には頭蓋骨上での減衰率が大であるが、電源が深くなると減衰率は小さくなるという。

さらに大脳皮質から頭皮上までには、脳軟膜、脳クモ膜、脳硬膜、筋肉と頭皮が存在し、これらは絶縁体に近い。ここには容量成分 (キャパシタンス) が存在し、皮質上で記録される電位変化に比べて、頭皮上で記録される電位変化には位相のずれが生じ、容量成分の増加により位相は遅れていく (押本、岡崎、1987)。

4. ヒト用脳波計の作動原理

ヒトの脳波を頭皮上から測定する原理は末永ら（2001）によると次のように説明される。脳内で発生した電位変化は、体表面まで伝達する間に百分の1から数千分の1というかなりの減衰を受ける。体表面にあらわれた電位変化は電極を介して取り出され、電流として脳波計に流れ込む。電極コードを經由して脳波計の増幅器入力端子に加わった脳波の電流は増幅器内を通過し、もう一つの入力端子から出力されて体表面のほかの電極を介して体内に戻り、生体と脳波計を含む一周の回路が形成される。このように電流を脳波計に送り込むには何らかの一周する回路を用意する必要がある。末永ら（2001）による模式図を図2に示す。脳波計の増幅器の内部には、脳波電流が流れる経路にインピーダンスがあり、「電圧＝電流×入力インピーダンス」（オームの法則）で電位差が発生する。増幅器はこの電圧を増幅している。

このようなシステムで脳波を得る場合、脳波以外の電流が混入する事態は避けなければならない。例えば、電極の接触部でのインピーダンス（接触インピーダンス）があるとここでも電位差が発生し、これはロスになってしまう。しかし最近の脳波計は入力インピーダンスが100MΩ程度の非常に高い値になっているのでこのロス自体はあまり問題にならない。頭部のどの電極にも一様に入る交流雑音は差動増幅器を用いて相殺する工夫が施されている。その仕組みは、入力端子G1側と入力端子G2側の他にもう一つ基準電極（アース）からの入力を増やし、G1側と基準電極で検出される電圧と、G2側と基準電極で検出される電圧を全く同じ増幅度を持つ2つの増幅器でそれぞれ増幅し、その出力の差を求めることで交流雑音を相殺し、シグナルを検出する方法である。交流雑音のように2つの入力端子で全く同じ大きさの入力信号を同相入力といい、2つの入力端子間に差のある入力信号を差動入力という。差動増幅器の模式図を

図 3 に示す。

この差動増幅器は、交流雑音を除去するほかに、電極の分極電圧やインピーダンスの変化による緩やかな同相変動のキャンセル、電源電圧変動による影響の軽減などの利点があるため、脳波計を始め、あらゆる生体電気信号用増幅器に使われている。

差動増幅器が交流雑音などの同相入力をキャンセル出来るのは、増幅器の入力端子において同じ大きさを示す信号に対してであるから、入力端子までの条件を揃える必要がある。たとえば、電極の材質、大きさ、電極表面の状態を揃えたり、電極の装着法を統一して接触インピーダンスを揃えたり、電極コードを束ねて全て同じ条件で電極ボックスに入力されるようにする。

5. 従来の脳波解析と新しい脳波解析法の導入

従来、脳波の解析は、波の振幅と周波数特性に着目して様々な手法が改良されてきた。波の振幅については、ある一定の時間内の脳波に振幅がどのような分布で存在するかを調べたり、周波数帯域を限定して振幅の比較がおこなわれたりしてきた。周波数もある一定の時間内にどのような周波数成分がどの程度のパワー（ $|振幅|^2$ ）で存在するかを、高速フーリエ変換（FFT）を行なってパワースペクトルを作成して調べられてきた。これらの解析手法は、ある幅を持った時間内の振幅特性や周波数特性を抽出するわけであり、睡眠時の脳波や疾患部位の探査のように、脳に持続的な機能変化があると考えられる場合には適していた。

しかし、ヒトの脳機能のように刺激の前後数百ミリ秒間に現れるような機能変化を抽出するにはこのような振幅、周波数解析法は理論的に信頼できる結果を示すことは出来ない。また、覚醒時に刺激によって喚起される脳機能変化を脳波から抽出しようとする、覚醒状態を維持している神経細胞活動の方が、刺激によって喚起される神経細胞活動よりも大きく、シグナルを背景の雑音から抽出することになるので困難である。そこで Dawson (1954)によって提案された手法が、刺激に対する一定時間内での応答を、刺激時点を揃えて大量に集めて加算平均し、大脳誘発電位(evoked potential)を求める平均加算法である。平均加算法を用いて抽出するものは、与えられた刺激に直接関連した大脳誘発電位を求める他に、潜時が比較的長く、刺激の種類に関わらず、刺激の認知や期待、判断などに関連した事象関連電位(event-related potential: ERP)を求めるものがある（鶴、2000）。この手法の導入で確かに刺激に対する応答を、常に活動しつづける脳波から抽出することが可能になった。また刺激に対する応答には様々なものがあることが分かり、聴覚刺激、視覚刺激、体性感覚刺激に対する

応答など種々の刺激に対する応答が盛んに調べられている。問題は加算の結果得られたシグナルの解釈で、Lopes da Silva (1999)によると、最も広く受け入れられている解釈は、加算の結果得られたシグナルを刺激に対して一定時間後に一斉に活発になる神経細胞群によってもたらされるシグナルの総和とする考え方である。別の解釈は、Sayers ら (1974)による考え方で、刺激によって常に活動を続けている自発的な脳波の位相が揃い、その位相を揃える統合の過程が加算によって抽出されたとみなすことである。平均加算法では、加算結果に対する解釈のほかに、加算操作そのものに対する疑問もある。加算によって刺激に応じない活動中の背景脳波は相殺されて、刺激に応じたシグナルだけが残るという仮定であったが、背景の脳波も実は刺激に応じて変化することが Vijn ら (1991)によって示されたのである。平均加算法ならば刺激によって喚起されるような脳機能を脳波から直接抽出できるかもしれないという期待も、現在のところは充分にかなえられているとはいえないようだ。

他にどのような手法が残されているかということ、振幅と周波数の両方を同時に解析する方法である。よく知られた方法には、自己相関解析法や相互相関解析法がある。しかし、これらを行なって得られる情報は、ある脳波パターンと別の脳波パターンの相関の程度であって、結局ある脳波パターン自体にどのような情報が含まれているかは解析できていない。

脳波は、脳の活動状況の変化に対応して、際立った様相の変化を示すものと考えられる。したがっていろいろな振動系の単純な足し算ではなく、振動可能な物体に働く弾性的復元力が物体の変異に比例しないくらい十分大きな振幅を持つ、非線形振動形としてモデル化できる可能性がある。非線形振動系の波形は、一般に、複数の高調波成分を含むため、スペクトル解析ではその特徴を判別しにくい場合が多い。脳波を非線形振動系とした場合、その解析は波形その

ものよりも、振幅を $V(t)$ 、その時間変化 $dV(t)/dt$ を直交座標（位相空間[V , dV/dt]）でトレースし、位相空間上の軌跡パターンを分類する方法が有効である。この解析法は位相空間軌跡（Phase space trajectory : PST)解析法と呼ばれ、従来は物理学の分野で(Haken, 1978)利用されてきた手法である。この解析法を模式的に説明する(図 4)。今仮に、脳波を $V(t)=b\sin\omega t$ とすると、その時間変化は $dV(t)/dt=b\omega\cos\omega t$ となり、これを位相空間上にプロットし、適切なスケールリングをすればこの軌跡は一重の円軌道を描く(図 4a)。脳波が、振幅が等しく、周波数の異なる振動の足し合わせであれば、その軌跡は、 V 軸幅が一定で、 dV/dt 軸幅の異なる楕円が重なった軌跡を描く(図 4b)。実際の脳波は、様々な振幅や周波数の混ざった振動(図 4c 上段)であるから、その軌跡は様々な楕円が複雑に重ね合わさった軌跡を描き(図 4c 右赤線)、振幅一定で単一周期の振動(図 4c 下段)とは異なる。

この解析に必要なデータは、波形の時間微分を算出できる程度の脳波の時系列デジタルデータがあればよく、理論的には時間分解能は高い。100msec 間の脳波データからも位相空間上に1~2周する円軌道を描くことは可能であるが、脳の状態は常に揺らいでいるので、あまりにも短い脳波データではその揺らぎに妨げられて、主要な脳状態を把握できない。3~4 秒程度の脳波データを解析した場合がパターン分類には最も適しているようである。

6. 本研究の目的

脳波は神経細胞の活動を直接反映しているので、脳機能の実体を探るためには最も適したシグナルといえる。しかしこれまでの脳波解析は、脳波に現れた脳機能変化を十分に抽出してきたとはいえない。そこで本研究では、脳波解析に振動を振幅と時間変化から解析する位相空間軌跡解析法を導入し、この解析法が、脳機能について新しい知見をもたらすことができるかどうかを次の2段階で検討する。第一段階は、睡眠異常を示した PLC β 4-遺伝子欠損マウスを用いて、異常が脳波のどのパラメータに表れるかを、睡眠時脳波を従来の方法と位相空間軌跡解析法の両方で解析して検討する。また、脳波のパラメータに表れた異常が、神経細胞の PLC β 4-遺伝子を欠損したことに由来するかどうかを免疫組織化学的手法、電気生理的手法、シミュレーションによって確認する。第二段階は、位相空間軌跡解析法が、正常なヒトの色と形の視覚情報処理過程に於いて新しい知見をもたらすか否かを検討する。

II. マウスにおける脳波解析

1. 実験材料および研究方法

(1) PLC β 4-遺伝子欠損マウスの作製

PLC β 4 は、PIP₂ を IP₃ と DAG に加水分解する酵素で、膜のタンパク質連動型受容体が神経伝達物質を受容して遊離する G タンパク質 α 体により活性化される。IP₃ は小胞から Ca²⁺ 放出させ、これにより原形質内の Ca²⁺ 濃度が高まると PKC が DAG に接着して PKC が活性化される。活性化した PKC は基質タンパク質をリン酸化する。リン酸化されたタンパク質は様々な細胞応答を制御する (図 5)。たとえば神経細胞では、神経伝達物質の合成や分泌、受容体の感受性、細胞骨格系の機能に影響を与える (Smith, 2002) ことが知られている。

PLC β 4-遺伝子欠損マウスおよび野生型マウスは、PLC β 4 欠損ヘテロ接合体同士をかけ合わせることによって得た。(杉山博論、2001 ; Hirono et al., 2001 参照)

産出された仔の遺伝子型は、尻尾より抽出したゲノム DNA を PLC β 4 遺伝子に特異的なプライマーセット (PLC5: 5'-CGTACTTGTCCACGATGATC-3', PLC3: 5'-CAAACCTCAATCGCGTGCGTC-3') および neo カセットに特異的なプライマーセット (Neo5: TCCTGCCGAGAAAGTATCCA-3', Neo3: 5'-GTCAAGAAGGCGATAGAAGG-3') を用いて polymerase chain reaction (PCR) 解析することによって決定した。PCR の反応条件は 94°C 2 分、94°C 30 秒-60°C 1 分-72°C 1 分を 30 サイクルで行った。PCR 産物は 2% のアガロースを用いたゲル電気泳動法により分離し、増幅された DNA 断片の大きさを指標として (PLC β 4 用プライマーセット: 890 塩基対、neo カセット用プライマーセット: 450 塩基対) 遺伝子型の決定を行った。

(2) 免疫組織化学

3 - 4 週齢の PLC β 4-遺伝子欠損マウスおよび野生型マウスの脳をペントバルビタール(4 mg/100 g)麻酔下で、固定液 (4%パラホルムアルデヒド・リン酸緩衝液(pH7.4)) を左心室より灌流後取り出し 4°C、12 時間固定液に浸漬した後パラフィンに浸した。パラフィン包埋した脳から厚さ 3 - 5 μ m の矢状面、前額面の切片を作製した。各々についてクレシールバイオレット染色と免疫組織化学を行った。抗体には抗 PLC β 4 抗体 (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA)を用いた。免疫染色部位は光学顕微鏡で観察した。(以上 Kameyama et al., 2003 より引用)

(3) ウェスタンブロット解析

膝状核と海馬を含む前額面切片 (400 μ m)を氷温下、高 Mg²⁺の人工脳脊髄液 (ACSF) ((mM) 138.6 NaCl, 3.35 KCl, 21 NaHCO₃, 0.6 NaH₂PO₄, 9.9 D-glucose, 0.5 CaCl₂ and 4 MgCl₂) 中で 95% O₂ /5% CO₂ を送り込みながら作製した。その切片は、野生型 (n=3)と PLC β 4-遺伝子欠損マウス (n=3)から取り出し、外側膝状体腹側核 (ventral lateral geniculate nucleus (LGNv))、内側膝状体核 (medial geniculate nucleus (MGN))、外側膝状体背側核 (dorsal lateral geniculate nucleus (LGNd))と海馬 (hippocampus)の歯状回 (dentate gyrus)、CA3 領域を含んでいる。次にこれらの切片をホモジェネートし、5 μ g のタンパクを 7.5%の SDS ポリアクリルアミドゲル中で電気泳動を行い分離した。分離したタンパクはニトロセルロース膜に転写した。この膜を抗 PLC β 1、- β 2、- β 3、- β 4抗体 (1/1000 dilution; Santa Cruz Biotechnology)で反応させ、二次抗体にはアルカリフォスファターゼ (AP)を標識した抗体 (1/5000 dilution; Promega)を用いて反応させた。免疫反応を示したバンドは ProBlot Western Blot AP Systems (Promega)により検出した。(以上 Kameyama et al., 2003 より引用)

(4) 脳波と筋電図測定

成体(10-12 週齢)の PLC β 4-遺伝子欠損雄マウス(n=4)と野生型マウス(n=6)を測定に用いた。これらのマウスは恒温(22.0 \pm 1.0 $^{\circ}$ C)、遮音、12 時間の明/暗周期(明期は午前 8 時から午後 8 時)に制御した飼育小屋で飼育した。マウスには睡眠ポリグラフ記録を行うために、ペントバルビタール(50 mg/kg, i.g.)麻酔下で脳波(EEG)電極と筋電図(EMG)電極を埋め込んだ。脳波記録用の電極には、ステンレス鋼のねじ 2 個を用い、それらを頭蓋骨に穴をあけて貫通させ、皮質表面(それぞれ bregma から右に 2.5 mm、後ろ 2.0 mm、lambda から 1.5 mm 後ろ)に接触させた。筋電図活動はテフロンでコーティングされたステンレス鋼ワイヤーを僧帽筋の左右対称な位置に置いて記録した。

電極を埋め込んで 10 日間の回復期の後に、マウスの睡眠/覚醒状態をベースライン記録と実験記録の合わせて 48 時間の記録を行った。脳波と筋電図シグナルは増幅し、フィルター(EEG, 0.5-30 Hz; EMG, 20-200 Hz)を通し、サンプリング周波数 128Hz でデジタル化し、データ取り込みプログラム SLEEPSIGN(キッセイコムテック)で記録した。睡眠ポリグラフ記録の実験状況を図 6a に示す。

(以上 Kameyama et al., 2003 より引用)

(5) 睡眠/覚醒状態判定

マウスの睡眠/覚醒状態判定は、オフラインで SLEEPSIGN を用いて 4 秒毎の脳波と筋電図から自動的に次の 3 状態：覚醒 (W)、徐波睡眠 (S)、レム睡眠 (R) に分類した。SLEEPSIGN を用いた実際の睡眠/覚醒状態判定例を図 6b に示す。

睡眠/覚醒の状態の判定は、Tobler ら (1997) の標準的な基準に従った。それによると、覚醒とは、高振幅筋電図、低振幅脳波でシータ波活動が認められる場合である。徐波睡眠とは、低振幅筋電図、高振幅脳波でデルタ波活動が中心の場合である。レム睡眠とは、低振幅筋電図、低振幅脳波でシータ波活動が中心

の場合である。自動判定の結果は最終的に実験者が見て必要であれば訂正した。

(以上 Kameyama et al., 2003 より引用)

(6) Ca^{2+} イメージング

PLC β 4-遺伝子欠損マウスおよびそのコントロールである野生型マウスの脳を、エーテル麻酔下で直ちに切り出し、95% O_2 /5% CO_2 の混合ガスでバブリングした氷温の人口脳脊髄液 (Artificial Cerebrospinal Fluid: ACSF) 中で直ちに冷却した。なお、ここで用いた ACSF の組成は以下のとおりである。NaCl 138.6 mM, KCl 3.35 mM, NaHCO_3 21 mM, NaH_2PO_4 0.6 mM, D-glucose 9.9 mM, CaCl_2 0.5 mM, MgCl_2 3 mM。ビブラトーム型スライサー (DTK-1000 堂坂イーエム) を用いて、厚さ 200 μm の連続前額面切片を作成し、膝状核と海馬を含む切片 (Bregma -2.2 mm ~ -2.8 mm、約 3 枚) を 7mm 四方の孔径 12 μm メンブレンフィルター上で保持した。この切片を 2.5 mM CaCl_2 , 1 mM MgCl_2 を含む ACSF を満たしたガラスフィルターチェンバー(#17G; Shibata Glass) 中で、混合ガスをバブリングしながら室温で培養した。約 3 時間の培養の後、カルシウム指示薬である fura-2 をロードするために、10 μM の fura-2 AM (Molecular Probes) と 0.001% の Cremophore EL (Sigma) を含む ACSF 中で 1 時間スライスを保持した。fura-2 溶液をリンスした後、さらに 30 分間通常の ACSF 中で培養し、以下に示す光学測定を行った。

光学測定中、スライスは、正立顕微鏡 (Axioplan2; Carl Zeiss) ステージにセットされたガラスボトムチャンバー (容量約 0.5 mL) 中に保持された。チャンバー内を 2-3 mL/min の流速で混合ガスをバブリングした ACSF を灌流した。このスライスに、フィルター変換用ホイール (C4312, 浜松フォトニクス) を用いて 340 \pm 5 nm と 380 \pm 5 nm の UV パルス (約 1 秒) を照射し、その結果得られた蛍光像をダイクロイックミラー (FT 395 nm, Carl Zeiss) とバンドパスフィルター (BP485-515 nm, Carl Zeiss) により抽出し、冷却 CCD カメラ (C7039-02, 浜松フォ

トニクス)に入力した。なお、観察は 10 倍の対物レンズ(UmplanFL10X/0.30; Olympus)をもちいて行い、外側膝状核と海馬が同一視野に入るようにしておこなった。細胞内カルシウム濃度の変化は得られた画像の蛍光強度比 (F340 nm / F380 nm)から推定した。なお、フィルター変換器や CCD カメラの制御、レシオイメージの作成はデジタルイメージングシステム (Argus-50CA, 浜松フオトニクス)を使用して行った。3,5-デヒドロキシフェニルグリシン (DHPG) (Sigma)は 45 秒間灌流投与した。実験の最後に高カリウム ACSF (50 mM KCl)を灌流し、Ca²⁺ 応答の最大値を推定した。(以上 Kameyama et al., 2003 より引用)

(7) パッチクランプ法による電気生理学的測定

視床の膝状核を含む切片は Ca²⁺イメージング用の切片の作製と同様の方法で作製した。水浸対物レンズ (Achroplan 63×/0.90 w, Zeiss, Germany)を装着したノマルスキー顕微鏡下で同定した中継ニューロン (15-25 μm) (Chen and Regehr, 2000)に、電位固定法を適用してホールセル電流を記録した。パッチ電極(3-4 MΩ)には、電極用内液 (150 mM KCH₃SO₃, 5 mM KCl, 0.1mM K-EGTA, 5.0 mM Na-HEPES, 3.0 mM Mg- ATP, 0.4 mM Na-GTP (pH 7.4))を満たした。ホールセル電流は EPC-7 増幅器 (List Electronic, Darmstadt, Germany)で増幅し、pCLAMP ソフトウェア (Axon Instruments, Foster City, CA)を用いて記録、解析を行った。(以上 Kameyama et al., 2003 より引用)

(8) オフラインデータ解析

オフラインデータ解析は市販のソフトウェア (Origin 6.0, Japanese version; OriginLab Corporation MA, USA) を用いて行った。日本語版のソフトは、Ulvac Corporation (神奈川、日本) から入手した。

(9) 視床回路網のモデル

単純な視床回路網のモデルを用いて PLCβ4 の欠損が視床回路網の活動に与える影響を調べた。簡略化のために、網様核神経細胞群(thalamic reticular neuron (T, R))と皮質投射神経細胞群 (thalamocortical neuron (T))はそれぞれひとつのモデル細胞によって代表させた。各細胞群は単一コンパートメントから構成され、Hodgkin-Huxley 型の活性化電流を持つ。網様核神経細胞群の膜電位(V_m)の変化は次式で表される。

$$C_m \frac{dV_m}{dt} = I_{Ca-T} + I_{KCa} + I_{Na} + I_K + I_{GABA_A} + I_{GABA_B} + I_{AMPA} + I_{leak} \quad (1)$$

$C_m = 1 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ は膜の容量である。低閾値の T 型カルシウム電流 (I_{Ca-T}) は過分極状態において活性化し、膜電位上昇を引き起こす (Huguenard and McCormick, 1992)。 Ca^{2+} 依存性 K 電流 (I_{KCa}) は、Ca 電流による脱分極からの膜電位降下をもたらす。電位依存性 Na 電流 (I_{Na}) と遅延整流電流 (I_K) はスパイクを形成する。 I_{leak} は漏れ電流である。視床の網様核神経細胞群は 2 種類の抑制性 γ -アミノ酪酸 (GABA) 入力: GABA_A 電流 (I_{GABA_A}) と GABA_B 電流 (I_{GABA_B}) を自身にフィードバックしている。この網様核神経細胞群は皮質投射神経細胞群からも alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid (AMPA) 受容体イオンチャネル経由の興奮性入力 (I_{AMPA}) を受ける。

皮質投射神経細胞群の膜電位(V_m)変化は次式で表される。

$$C_m \frac{dV_m}{dt} = I_{Ca-T} + I_{KCa} + I_{Na} + I_K + I_h + I_{GABA_A} + I_{GABA_B} + I_{leak} \quad (2)$$

$C_m = 1 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ は膜の容量である。 I_h は膜電位が過分極状態になったときに活性化され、膜電位を上昇させる。 I_{Ca-T} , I_{KCa} , I_{Na} , I_K , I_{leak} は網様核神経細胞群と同じ電流であるが、パラメータは異なる。皮質投射神経細胞群は網様核神経細胞群から GABA_A と GABA_B の 2 つの抑制性入力を受取る。

各細胞群の活性化電流とシナプス性電流 (I_{Na} と I_K を除く) のダイナミクス

は基本的に Golomb ら(1994)と同一である。 I_{Na} と I_K は Traub と Miles (1991)の式を改変した。コンダクタンスの平衡状態 m は α_m と β_m で定まる。コンダクタンスの平衡状態 h は α_h と β_h で定まる。

I_{Na} (電位依存性 Na 電流)

$$I_{Na} = m^3 h g_{Na} (E_{Na} - V_m) \quad (3)$$

$$\alpha_m = \frac{-0.32 \times (V_m - 13 - V_{shift})}{\exp\left(\frac{-(V_m - 13 - V_{shift})}{4}\right) - 1} \quad (4)$$

$$\beta_m = \frac{0.28 \times (V_m - 40 - V_{shift})}{\exp\left(\frac{V_m - 40 - V_{shift}}{5}\right) - 1} \quad (5)$$

$$\alpha_h = 0.128 \times \exp\left(\frac{-(V_m - 17 - V_{shift})}{18}\right) \quad (6)$$

$$\beta_h = \frac{4}{\exp\left(\frac{-(V_m - 40 - V_{shift})}{5}\right) + 1} \quad (7)$$

両方の神経細胞群において、 $g_{Na} = 100 \text{ mS/cm}^2$ である。Na イオンの平衡電位(E_{Na})は 55 mV である。

I_K (遅延整流電流)

$$I_K = n^4 g_K (E_K - V_m) \quad (8)$$

$$\alpha_n = \frac{-0.032 \times (V_m - 15 - V_{shift})}{\exp\left(\frac{-(V_m - 10 - V_{shift})}{5}\right) - 1} \quad (9)$$

$$\beta_n = 0.5 \times \exp\left(\frac{-(V_m - 10 - V_{shift})}{40}\right) \quad (10)$$

コンダクタンスの平衡状態 n は α_n と β_n で定まる。基準値として両方の神経細胞群の電位依存性 K^+ コンダクタンスを(g_K) = 20 mS/cm^2 とした。K イオンの平

平衡電位 (E_K) は -90 mV である。PLC β 4 欠損の影響を皮質投射神経細胞群の g_K の増加で代替する。活動電位発生の閾値は $V_{shift} = -35$ mV とし、これはリアルなバーストを発生させるために値を高く設定した。

I_{leak} (漏れ電流)

$$I_{leak} = g_{leak}(E_m - V_m) \quad (11)$$

皮質投射神経細胞群、網様核神経細胞群の漏れ電流コンダクタンス g_{leak} はそれぞれ 0.01 mS/cm 2 (McCormick and Huguenard, 1992)、 0.05 mS/cm 2 (Destexhe et al., 1996) とした。皮質投射神経細胞群、網様核神経細胞群の漏れ電流の平衡電位 (E_m) はそれぞれ -75 mV、 -70 mV とした。

$I_{Ca-T,R}$ (網様核神経細胞群 (T,R) の T 型 Ca^{2+} 電流)

$$I_{Ca-T,R} = m_\infty^2 h g_{Ca-T,R} (E_{Ca} - V_m) \quad (12)$$

$$m_\infty = \frac{1}{\exp\left(\frac{-V_m - 52}{7.4}\right) + 1} \quad (13)$$

$$\frac{dh}{dt} = \frac{\phi(h_\infty - h)}{\tau_h} \quad (14)$$

$$h_\infty = \frac{1}{\exp\left(\frac{V_m + 78}{5}\right) + 1} \quad (15)$$

$$\tau_h = 100 + \frac{500}{\exp\left(\frac{V_m + 78}{3}\right) + 1} \quad (16)$$

$g_{Ca-T,R} = 2$ mS/cm 2 、 $\phi = 4.2$ である。 m_∞ と h_∞ はコンダクタンスの平衡状態近似、 τ_h は時定数の平衡状態近似を表わす。

$I_{Ca-T,T}$ (皮質投射神経細胞群 (T) の T 型 Ca^{2+} 電流)

$$I_{Ca-T} = m_\infty^2 h g_{Ca,T} (E_{Ca} - V_m) \quad (17)$$

$$m_{\infty} = \frac{1}{\exp\left(\frac{-V_m - 59}{6.2}\right) + 1} \quad (18)$$

$$\frac{dh}{dt} = \frac{\phi(h_{\infty} - h)}{\tau_h} \quad (19)$$

$$h_{\infty} = \frac{1}{\exp\left(\frac{V_m + 81}{4.4}\right) + 1} \quad (20)$$

$$\tau_h = 30 + \frac{220}{\exp\left(\frac{-(V_m + 3.0 - V_{shift})}{-3.0}\right) + 1} \quad (21)$$

$g_{Ca-T} = 2.5 \text{ mS/cm}^2$ 、 $\phi = 4.2$ である。式(12) と(17)におけるカルシウムの平衡電位は 120 mV である。 m_{∞} と h_{∞} はコンダクタンスの平衡状態近似、 τ_h は時定数の平衡状態近似を表わす。

I_{KCa} (Ca²⁺-依存性 K⁺ 電流)

$$I_{KCa} = g_{KCa} m_{KCa} (E_K - V_m) \quad (22)$$

$$\frac{dm_{KCa}}{dt} = \alpha [Ca]_i (1 - m_{KCa}) - \beta m_{KCa} \quad (23)$$

$$\frac{d[Ca]_i}{dt} = \frac{I_{Ca-T(R)}}{2Fl} - \gamma ([Ca]_i - [Ca]_{\min}) \quad (24)$$

カルシウム依存性 K⁺ コンダクタンス (g_{KCa}) は両方の神経細胞群共に 1 mS/cm² とした。式(24) は細胞内カルシウム濃度 ($[Ca]_i$)の時間変化を単純化したものであり、F はファラデー定数、 l は 1 μm で細胞膜からの拡散距離を表し、 $[Ca]_{\min} = 240 \text{ nM}$, $\gamma = 0.1 \text{ ms}^{-1}$ である。

I_h (皮質投射神経細胞群における過分極活性型電流)

$$I_h = r g_{Ih} (E_{Ih} - V_m) \quad (25)$$

$$\frac{dr}{dt} = \frac{\phi(r_{\infty} - r)}{\tau_r} \quad (26)$$

$$r_{\infty} = \frac{1}{\exp\left(\frac{V_m + 75}{5.5}\right) + 1} \quad (27)$$

$$\tau_r = 20 + \frac{1000}{\exp\left(\frac{V_m + 71.5}{14.2}\right) + \exp\left(\frac{-(V_m + 89)}{11.6}\right)} \quad (28)$$

r_{∞} は平衡状態近似、 τ_r 時定数の平衡状態近似を表わす。 $E_{Ih} = -40$ mV は I_h の平衡電位、 $g_{Ih} = 0.01$ mS/cm², $\phi = 4.2$ である。

以下の電流はGolombら (1994) によるシナプス電流を用いた。

I_{GABA_A} (GABA_A 受容体/チャンネルを通過する Cl⁻ 電流)

$$I_{GABA_A} = g_{GABA_A} \times o_A \times (E_{Cl} - V_m) \quad (29)$$

$$\frac{do_A}{dt} = \alpha_A F(V_{pre})(1 - o_A) + \beta_A o_A \quad (30)$$

$$F(V_{pre}) = \frac{1}{1.0 + \exp\left(\frac{-1.0(V_{pre} - V_{\theta})}{2.0}\right)} \quad (31)$$

V_{pre} はプレシナプスの膜電位、 V_{θ} は 0 mV で神経伝達物質放出閾値を表し、 o_A は GABA_A 受容体/チャンネルの活性化したゲートを表す。 $E_{Cl} = -75$ mV は塩素の平衡電位を表す。 $\alpha_A = 2$ ms⁻¹ で $\beta_A = 0.1$ ms⁻¹ である。網様核神経細胞群、皮質投射神経細胞群における g_{GABA_A} はそれぞれ 0.1 mS/cm² と 0.05 mS/cm² とした。

I_{GABA_B} (GABA_B 受容体活性化による K⁺電流)

$$I_{GABA_B} = g_{GABA_B} \times o_B \times (E_K - V_m) \quad (32)$$

$$\frac{do_B}{dt} = \alpha_B G(c)(1 - o_B) + \beta_B o_B \quad (33)$$

$$\frac{dc}{dt} = \alpha_C F(V_{pre})(1 - c) + \beta_C c \quad (34)$$

$$G(c) = \frac{1}{1.0 + \exp\left(\frac{-1.0\left(c - \frac{1}{e}\right)}{0.02}\right)} \quad (35)$$

網様核神経細胞群、皮質投射神経細胞群における g_{GABA_B} はそれぞれ 0.1 mS/cm² と 0.05 mS/cm² である。 $\alpha_B = 0.01 \text{ ms}^{-1}$ 、 $\beta_B = 0.005 \text{ ms}^{-1}$ 、 $\alpha_c = 5 \text{ ms}^{-1}$ 、 $\beta_c = 0.01 \text{ ms}^{-1}$ である。変数 c は GABA_B 電流の遅い時間変化を再現するために Golomb らによって導入されたものである (Golomb et al., 1994)。変数 c はシナプス前細胞の活動電位によって活性化され、時定数 β_c に従って減衰する (式 34)。以上から、 c は約 $1/\beta_c$ の時間の間 $1/e$ より大きな値を持ち、その間 $G(c)$ は 1 に留まることになる。 $G(c)$ が 1 に留まっている間、 o_B は α_B に従って増加し、その後 β_B に従って減少する。

I_{AMPA} (網様核神経細胞群における AMPA 受容体/チャンネルを通過する Na⁺ 電流)

$$I_{AMPA} = g_{AMPA} \times r \times (E_{AMPA} - V_m) \quad (36)$$

$$\frac{dr}{dt} = \alpha_P F(V_{pre})(1-r) + \beta_P r \quad (37)$$

平衡電位 E_{AMPA} は 0 mV である。 $\alpha_P = 2 \text{ ms}^{-1}$ 、 $\beta_P = 0.1 \text{ ms}^{-1}$ である。 g_{AMPA} は 0.1 mS/cm²。以上の基準パラメータを用いると、このモデル神経回路は自発的に 6.3Hz で振動する。

(10) 脳波解析

EEG のデータは高速フーリエ変換 (FFT) (Otnes, 1978) と位相空間軌跡 (Phase space trajectory : PST) 解析を行った。PST 解析はこれまで一般に振動する波形の特徴を抽出するために用いられてきた (Haken, 1978)。その方法を我々は脳波の特徴を抽出するために適用した。PST 解析とは、脳波の振幅 ($V(t)$)

を x 軸にプロットし、その時間微分 ($dV(t)/dt$) を y 軸にプロットして位相空間上に軌跡を描くことである。この位相空間上の軌跡を PST と呼ぶことにする。V 軸と dV/dt 軸のプロット範囲は、それぞれ ± 0.8 mV と ± 50 mV/s 以内とした。このような理論的解析は 48 時間の脳波記録からランダムに抽出した睡眠/覚醒の 3 状態 (覚醒、徐波睡眠、レム睡眠) に対して行った。PST の特徴をさらに抽出するために、PST が V 軸、 dV/dt 軸と交わる点の数を求め、軸に沿って 21 の BIN で区切りその BIN 中の交点の数を数えてヒストグラムを作成した。

2. 結果

2-1 マウス脳内の PLC β 4 の分布

マウス脳内における PLC β 4 の分布を抗 PLC β 4 抗体で調べた。PLC β 4 は主に小脳、副嗅球、視床の膝状核に局在しており、これは以前の報告 (Kim et al., 1997; Hirono et al., 2001) と一致している。顕微鏡の倍率を上げて観察すると、LGNd と MGN が濃く染まっていた (図 7a)。さらに倍率を上げて LGNd を観察すると、神経細胞のみが染まり、それらの細胞では組織内に均等に分布していた (図 7b)。

興味深いことに海馬では抗 PLC β 4 抗体による染色は認められなかった (図 7a)。PLC β のサブタイプの分布も調べた。PLC β 1 は視床の膝状核でわずかに認められた。PLC β 3 はウェスタンブロット法においてのみわずかに認められた (図 7d)。PLC β 4-遺伝子欠損マウスでは染色部位が認められなかった (図 7c)。

2-2 PLC β 4-遺伝子欠損マウスと野生型マウスの睡眠/覚醒状態

PLC β 4-遺伝子欠損マウスと野生型マウスの4時間の睡眠/覚醒状態をヒプノグラムで示すと、PLC β 4-遺伝子欠損マウスにおいて覚醒状態からレム睡眠へ直接転移するという異常な状態変化が見られた (図 8)。このように覚醒状態からレム睡眠状態へ直接転移する異常な睡眠パターンが現れることはオレキシン欠損マウスでも報告されている (Chemelli et al., 1999) が他のノックアウトマウスではかつて見られなかった現象である。

2-3 PLC β 4-遺伝子欠損マウス脳波と野生型マウス脳波のパワースペクトル

高速フーリエ変換 (FFT) を脳波記録 (図 9a, b) に対して行い、パワースペクトル (図 9c, d) を求めた。野生型マウス (図 9c) では、レム睡眠時のパワースペクトルは 7.2Hz のピークを中心に左右対称に分布していた。徐波睡眠時では、周波数の低い成分が大半を占め、10Hz を超える成分は少なかった。覚醒時では、1-7 Hz の周波数成分が中心で 7 Hz 付近には低いピークが見られた。PLC β 4-遺伝

子欠損マウス(図 9d)では、レム睡眠時のパワースペクトルは 9.2 Hz のピークを中心に左右対称に分布しており、ピーク値がシフトした以外は野生型マウスと類似したパターンを示していた。徐波睡眠時と覚醒時においても野生型マウスのパワースペクトルのパターンと類似していたが、PLC β 4-遺伝子欠損マウスでは覚醒時に、野生型に見られる 7 Hz 付近の低いピークは見られなかった。覚醒時に PLC β 4-遺伝子欠損マウスのパワースペクトルに野生型マウスとの差が見られたのは、おそらく視床で感覚性入力の伝達が損なわれたためか、あるいは神経節細胞の PLC β 4 が欠損して視覚情報伝達が損なわれた (Jiang et al., 1996) か、その両方が原因かもしれない。

2-4 視床切片の電気生理

視床のアキュート切片を用いて神経細胞の電気生理を PLC β 4-遺伝子欠損マウスと野生型マウスで比較すると、PLC β 4-遺伝子欠損マウスでは微小興奮性シナプス後電流 (mEPSCs) の周波数が上昇していた (図 10)。mEPSC はテトロドトキシン存在下でも視床の神経細胞から記録することができた。mEPSC の周波数分布を指数関数曲線で近似し (図 10c, d)、その平均減衰定数を求める (図 10f) と、野生型マウスでは低い値に集中して分布するのに対し、PLC β 4-遺伝子欠損マウスでは全く異なる分布を示した。それは野生型マウスの値よりも高い周波数領域に至るまで広範囲に分布していた。PLC β 4-遺伝子欠損マウスでレム睡眠中のパワースペクトルが野生型マウスに比べて高いのは、mEPSCs の周波数上昇が原因である可能性を示唆している。

2-5 視床切片の Ca²⁺イメージング

mGluR1 選択的作動薬 3,5-デヒドロキシフェニルグリシン (DHPG) による Ca²⁺ 動員を PLC β 4-遺伝子欠損マウスと野生型マウス視床切片 (外側膝状体腹側核 (LGNd) を含む) で比較すると、野生型マウスでは高いレベルの Ca²⁺ 動員が見られたのに対し、PLC β 4-遺伝子欠損マウスでは著しく減少していた (図 11a)。テトロドトキシン存在下で DHPG による Ca²⁺ 動員を調べても変化がないことを確かめた。高カリウム刺激では PLC β 4-遺伝子欠損マウスのほうが刺激前の Ca²⁺ 動員レベルが野生型マウスより低いにもかかわらず、野生型マウスより高いレベルの Ca²⁺ 動員を示した。

コントロール実験として海馬歯状回 (dentate gyrus) の神経細胞を含む切片を用いて、LGNd の神経細胞を含む切片と同じ条件で実験を行った (図 11b)。海馬の神経細胞における Ca²⁺ 動員に PLC β 4-遺伝子欠損マウスと野生型マウスでは差が見られなかった。PLC β 4-遺伝子欠損マウスの視床で DHPG 刺激による Ca²⁺ 動員

が減少していたことは、PLC β 4 が視床に発現しないことにより mGluR1 に始まる細胞内情報伝達が損なわれたことを示唆している。これとは対照的に、高カリウム刺激では PLC β 4-遺伝子欠損マウスの方が野生型マウスよりも高い Ca²⁺動員を示した。これは電位依存性 Ca²⁺チャネルが PLC β 4 を含む細胞内情報伝達カスケード、おそらく PKC を介したリン酸化(Anwy1, 1999)によって制御されている可能性を示唆している。

2-6 視床回路モデルを用いたシミュレーション

視床回路モデル(図 12a)を用いて、PLC β 4-遺伝子欠損マウスのレム睡眠時ピーク周波数が 2 Hz 上昇したのは、視床の皮質投射神経細胞群の電位依存性遅延整流 K⁺コンダクタンス(g_k)の上昇が原因であるという考えをシミュレーションで検証した。ここでは、皮質投射神経細胞群の g_k が PLC β 4-遺伝子欠損マウスでは増加したと仮定した。電位依存性遅延整流 K⁺電流は PKC の活性化により 1/3 に減少する (Levy et al., 1998) と報告があるので、逆に、PLC β 4-遺伝子欠損マウスでは PKC 活性が阻害されて電位依存性遅延整流 K⁺電流は 3 倍まで増加する可能性がある。したがって、このシミュレーションでは、 g_k が 3 倍に増加するまでにモデル神経回路の振動が 2 Hz 上昇することを示せばよい。これまでの実験で報告された値を基準パラメータとして用いると、モデル神経回路は GABA 性の抑制と T 型 Ca²⁺電流によって生じるリバウンド・バーストとの相互作用で振動し、それは 6.3Hz であった。皮質投射神経細胞群の g_k を基準値 20 mS/cm²から 20 mS/cm²間隔で増加させるとモデル神経回路のピーク周波数が増加した(図 12b)。ピーク周波数の 2 Hz 上昇は g_k の増加が 2 倍弱で達せられた。おそらく K⁺電流の増加は、皮質投射神経細胞群のバーストを短縮し、膜電位を迅速に過分極レベルにして次のバーストを早く喚起させて効果的にモデル神経回路の周波数を上昇させたと考えられる。

mGluR1の活性で始まるCaシグナリングのカスケードには上記以外のK⁺電流を抑制する可能性がある。特にCa²⁺依存性K⁺電流(I_{KCa})は、PLC β 4-遺伝子欠損マウスで抑制が外れて増加するならば、バースト間隔を広げ、モデル神経回路の振動周波数を低下させる可能性がある。この I_{KCa} の抑制が外れる影響を、皮質投射神経細胞群の g_{KCa} を基準値1 mS/cm²から1 mS/cm²間隔で増加させて調べた(図12 c)。 g_{KCa} の増加はピーク周波数を低下させたが、その低下率は g_K 増加による周波数上昇率よりも小さかった。したがって、 g_K と g_{KCa} の両方が同時に増加しても、モデル神経回路の振動のピーク周波数は2 Hz 上昇する(図12 d)。

これらの結果は、PLC β 4-遺伝子欠損マウスのレム睡眠時パワースペクトルの増加が g_K 増加によって引き起こされた可能性を示唆している。さらに、 g_K の増加はシミュレーションで仮定したように、主にタンパク質のリン酸化で制御されていると考えられる。

2-7 PLCβ4-遺伝子欠損マウス脳波と野生型マウス脳波の位相空間軌跡解析

脳波からさらに情報を引き出すために位相空間軌跡 (Phase space trajectory : PST)解析を行った。この解析で得られる位相空間上のパターン(つまり PST)は、脳波波形の振幅 ($V(t)$)とその時間微分 ($dV(t)/dt$)の相関を記述しているため、脳波の不規則な波形を検出することに適している。もし仮に $V(t)$ を正弦波とすると、その PST は適切なスケールリングをすれば一重の円軌道になる。振幅、周波数共に不規則に変化する波は、何本もの軌跡が重なった PST を示す(図 4 参照)。振幅が等しく周波数が異なる波は、V 軸方向の幅は一定で dV/dt -軸方向の幅のみが異なる楕円で表される。興味深いことに、レム睡眠時の PST だけに PLCβ4-遺伝子欠損マウスと野生型マウスの差が明確に表れた。野生型マウスのレム睡眠時脳波 12 秒間を PST に表すと、PST の円の中心に空洞ができた。一方 PLCβ4-遺伝子欠損マウスでは、PST の円に空洞は見られなかった(図 13a W-R, K-R)。このような野生型マウスの PST の環状パターンは 12 秒間の脳波を 4 秒毎に 3 つに区切っても出現した(図 13b W-R1, W-R2, W-R3)。覚醒時と徐波睡眠時の PST には、野生型マウスも、PLCβ4-遺伝子欠損マウスも円の中心に空洞は現れなかった(図 13a)。

PLCβ4-遺伝子欠損マウスと野生型マウスの覚醒時、徐波睡眠時、レム睡眠時脳波 12 秒間の PST が V 軸、 dV/dt 軸と交わる点の数についてヒストグラムを作成した(図 14a、図 15a)。覚醒時の V 軸、 dV/dt 軸のヒストグラムは何れも、野生型と PLCβ4-遺伝子欠損マウスの間で差は認められず、V 軸ヒストグラムは原点付近を頂点としたガウス分布を示し、 dV/dt 軸ヒストグラムは原点における密度がわずかに減少した柱状分布を示した。徐波睡眠時の V 軸ヒストグラムは、野生型、PLCβ4-遺伝子欠損マウス共に原点を頂点としたガウス分布を示した。一方徐波睡眠時の dV/dt 軸のヒストグラムでは、野生型マウスが原点における密度

が覚醒時のそれよりも減少したのに対し、PLC β 4-遺伝子欠損マウスでは、原点における密度は増加し全体としてガウス分布に近い形を示した。レム睡眠時、野生型マウスはV軸とdV/dt軸ヒストグラム共に、原点付近の密度が著しく少なく、正と負の部分にそれぞれピークをもつパターンを示した。一方、PLC β 4-遺伝子欠損マウスのレム睡眠時ヒストグラムは、野生型マウスと全く異なり、V軸とdV/dt軸ヒストグラム共に原点付近の密度が野生型に比べて高いつりがね型の分布を示した。

3. 検討

これまで述べてきた本研究の結果は、視床神経細胞中の PLC β 4 欠損が異常な睡眠行動、①繰り返し起こる覚醒からレム睡眠への直接転移②レム睡眠時の皮質振動活動周波数の上昇、を生じたことを示唆している。つまり視床神経細胞中の PLC β 4 はレム睡眠の制御に関わっているのではないかと思われる。

PLC β 4 欠損が視床神経細胞の発火頻度に及ぼす影響

本研究で視床切片を mGluR1 選択的アゴニスト DHPG で刺激し Ca²⁺動員を調べた結果、野生型マウスでは Ca²⁺動員が生じるが、PLC β 4-遺伝子欠損マウスでは生じなかった。このことは、タイプ 1 の mGluR が視床神経細胞中で通常は機能するが、PLC β 4-遺伝子欠損マウスでは機能しないことを示している。この mGluR1 と PLC β 4 は、最終的にプロテインキナーゼ C (PKC) を介してタンパク質をリン酸化する細胞内情報伝達連鎖を担う要素であることが報告されている (Kishimoto et al., 2001)。つまり、PLC β 4-遺伝子欠損マウスで Ca²⁺動員が起こらなければ、PKC の活性が阻害され、その結果機能性タンパク質をリン酸化する働きが失われる。mGluR1 と PLC β 4 が関わる情報伝達系で PKC によってリン酸化されるタンパク質は、数多く存在するが、イオンチャネルの制御という点で考えるならばリン酸化タンパク質脱リン酸酵素(phosphoprotein phosphatase) (Hirono et al., 2001) が重要である。これが機能しないと、たとえばリン酸化 K⁺チャネルを脱リンしない可能性がある。この場合は K⁺チャネルのリン酸化状態が長時間持続し、膜電位の変動を通じて最終的には神経細胞の発火頻度に影響を与えることが予想される。リン酸化タンパク質脱リン酸酵素が作用するタンパク質が K⁺チャネルである可能性は極めて高いが今後調べる必要がある。

本研究で視床神経細胞の活動を mEPSCs で調べた結果、PLC β 4-遺伝子欠損マウ

スの mEPSCs 周波数が野生型よりも上昇していた。これはレム睡眠時皮質活動の制御機構を洞察する手がかりを与え、またテトロドトキシン存在下でも消失しない mEPSCs 発生機構の解明の糸口となるかもしれない。

mEPSCs の制御メカニズムは定説によると、プレシナプス終末から放出される神経伝達物質の増加が mEPSCs の周波数上昇をもたらし、AMPA 受容体の調節が mEPSCs の振幅を増加させる (Anwy1, 1999) と考えられている。Carroll ら (1998) は海馬の CA1 領域の錐体細胞で PKC が mEPSCs の振幅と周波数に及ぼす影響を調べ、次のように報告した。PKC をフォルボールエステル (PDBu) で活性化すると mEPSCs の周波数は増加したばかりでなく、振幅も増加し、このことは PKC が AMPA 受容体の調節を介してシナプス伝達の制御に重要な役割を果たすと考えられた。この結果は、PKC の不活性化が mEPSCs の周波数を上昇させたと考える我々の立場と反対だが、これは海馬には PLC β 4 が存在しておらず PDBu を用いた PKC 活性化が他の経路を介したためかもしれない。また PLC β 4 が存在しない場合、PDBu を用いて PKC を活性化して mEPSCs を測定することは、PDBu が直接イオンチャネルのコンダクタンスに影響を与えることを考慮するならば、PLC β 4 の存在する視床における mEPSCs の制御とは異なるだろう。一方、mGluR1 の活性化がプレシナプスからのグルタミン酸放出を抑制するという我々と同じ立場の結果が、網膜の求心性神経で報告されており、皮質の求心性神経にもその可能性があるという (Cirone et al., 2002)。したがって、本研究で mEPSCs の周波数が上昇した結果は、PLC β 4 の欠損によりプレシナプス終末の mGluR1 の細胞内情報伝達活動が低下し、抑制されていた神経伝達物質の放出が盛んになったためとも考えられる。

本研究で脳波のパワースペクトルを調べた結果、PLC β 4-遺伝子欠損マウスと野生型マウスの間に差が見られた。覚醒状態のパワースペクトルで 7-10 Hz の

範囲にあらわれた差は小さいが、これは視床から皮質への感覚性入力の流れの違いによると考えられる (McCormick and Bal, 1994)。この流れの違いは、視床の PLC β 4 が欠損して mGluR1 が介在する細胞内情報伝達が阻害されたことに帰着するだろう。また視床への感覚性入力についても、PLC β 4-遺伝子欠損マウスにおいて、網膜の杆体細胞から先の情報伝達経路に支障がある (Jiang et al., 1996) こと、嗅覚性情報処理部位の副嗅球から PLC β 4 が欠損している (Hirono et al., 2001) ことが報告されているので、このことも PLC β 4-遺伝子欠損マウスにおいて覚醒時の 7-10 Hz のピーク周波数を減少させた可能性がある。

レム睡眠時のパワースペクトルに現れた両者の差は顕著で、PLC β 4-遺伝子欠損マウスではレム睡眠時ピーク周波数が野生型マウスに比べて 2 Hz 上昇していた。これは、視床回路モデルを用いてシミュレーションした我々の結果からも支持され、電位依存性 K⁺コンダクタンス (g_K) がこの周波数上昇に寄与している可能性が示された。今回の研究では電位依存性 K⁺コンダクタンスの変化を仮定して、振動活動が 2 Hz 上昇することをシミュレーションから得られたが、GABA_A や AMPA 受容体/チャンネルのコンダクタンス変化による可能性については吟味していない。

シミュレーションでは g_K の変化が神経細胞の発火頻度を変えたが、これは実際の神経細胞においても十分に起こりうることである。なぜなら K⁺コンダクタンスは直接膜電位の制御と連動するからである。本研究では、電位依存性 K⁺電流の中でも遅延整流 K⁺電流に着目した。これは PKC の活性化により 1/3 に減少する (Levy et al., 1998) と報告があるので、PLC β 4-遺伝子欠損マウスで PKC が不活性になれば最大 3 倍にまで増加できる。そして我々は、モデル神経回路のピーク周波数が 2 Hz 上昇するには g_K が 2 倍増加すれば達成されることを示した。このことは PLC β 4-遺伝子欠損マウスのレム睡眠時パワースペクトルが 2 Hz

上昇する原因に g_K の増加が十分考えられる可能性を支持している。一方、PLC β 4-遺伝子欠損マウスで周波数を低下させる可能性のある要因もあった。それは mGluR1 の活性が損なわれると増加する $g_{K(ca)}$ (Pin and Duvoisin, 1995) である。我々のシミュレーションによると、 $g_{K(ca)}$ の増加はモデル神経回路の振動活動の周波数低下を招いた。しかし g_K と $g_{K(ca)}$ を同時に増加させると、モデル神経回路の周波数は 2 Hz 上昇した。したがって、 g_K の増加でレム睡眠時の皮質振動活動において周波数が 2 Hz 上昇することを説明することは可能であろう。 g_K の増加はおそらく K^+ チャンネルのリン酸化に帰せられると考えている。

PLC β 4-遺伝子欠損マウスで覚醒からレム睡眠への直接転移はなぜ生じたか

野生型マウスのレム睡眠時 PST で円の中心に空洞のある構造(図 13a W-R)は、正常なレム睡眠では振幅と周波数の両方の境界条件に制限が加わっていることを意味している。つまりレム睡眠は、振幅と周波数共に相当に安定した眠りである。PLC β 4-遺伝子欠損マウスのレム睡眠時 PST で円の中心の空洞が埋まった構造(図 13a K-R)は、レム睡眠の境界条件における制限が視床から PLC β 4 が消失すると取り除かれたことを意味しており、このことはパワースペクトルで 9Hz のピークを中心にして対称に比較的広範囲に周波数成分が存在している(図 9d) ことにも現れている。

PST では野生型のレム睡眠だけに他の PST とは著しく異なる特徴が見られた。PST が V 軸、 dV / dt 軸と交わる点の数についてヒストグラムを作成し、これら上下を倒置し、それが直行する座標の断面図となるような 3 次元構造を求めた。これは便宜上ポテンシャルと名付ける。野生型では覚醒時、徐波睡眠時、レム睡眠時の脳ポテンシャルが異なっていた。野生型では覚醒時の脳ポテンシャルは開口部が狭い円錐型をしている。徐波睡眠時は覚醒時に類似しているが

覚醒時よりも開口部が広い円錐型をしている。レム睡眠時は開口部の広いくぼみの中に一部隆起した部分があり、この点は他の状態とは著しく異なっていた(図 14b)。一方 PLC β 4-遺伝子欠損マウス(図 15b)では、覚醒時、徐波睡眠時、レム睡眠時の脳ポテンシャルが類似しており、円錐型のくぼみを示している。野生型の3状態の脳ポテンシャルが異なるのは、その背景にある覚醒/睡眠制御機構が相互に異なることを反映していると思われる。Steriade ら(1988, 1993)によると、視床における覚醒/睡眠制御機構は次のように説明されている。覚醒時の視床には脳幹からコリン性、アミン性、ヒスタミン性、オレキシン性の興奮性入力があり、視床の皮質投射神経細胞群と網様核神経細胞群は脱分極する。徐波睡眠時は、それら脳幹からの種々の入力が遮断されて、視床と皮質間の相互作用が中心になって振動活動を生じる。レム睡眠時は再び脳幹からの入力があり、視床の皮質投射神経細胞群と網様核神経細胞群は脱分極するが、脳幹からの入力は覚醒時とは異なり、コリン性の興奮性入力のみである。つまり、野生型マウスの覚醒、徐波睡眠、レム睡眠の制御機構は異なっており、このことがそれぞれの脳ポテンシャルに反映されていると考えられる。一方 PLC β 4-遺伝子欠損マウスでは、視床の皮質投射神経細胞群の PLC β 4 欠損によって視床では mEPSCs の周波数上昇や、レム睡眠時脳波パワースペクトルの 2 Hz 上昇が示され、PLC β 4-遺伝子欠損マウスの視床ニューロンは野生型マウスに比べて脱分極状態になりやすい可能性が示された。そしてこの影響は、PLC β 4-遺伝子欠損マウスの脳ポテンシャルが覚醒時、徐波睡眠時、レム睡眠時間で相互に類似することに反映された。

以上述べてきた3状態間の視床の電気生理学的相違と脳ポテンシャルの相違を考え合わせると、PLC β 4-遺伝子欠損マウスにおいて覚醒からレム睡眠への直接転移が起こったメカニズムは完全に説明することは出来ないにしても、この

現象発生の要因には次の 2 つが考えられるだろう。第一には、PLC β 4-遺伝子欠損マウスでは覚醒から徐波睡眠への移行が、PLC β 4 の欠損により視床ニューロンが活性化するためにうまく行われなかったこと、第二には、外界からの入力遮断によって生じる徐波睡眠時の振動活動が、視床の PLC β 4 欠損により生じたレム睡眠時の振動活動の変化に類似したことであり、今後これらの要因を検証することによって視床における PLC β 4 の覚醒/睡眠制御メカニズムにおける役割がもっと明らかになるとと思われる。

まとめると、皮質投射神経細胞群の PLC β 4 が欠損すると、グルタミン酸刺激で誘導される細胞内 Ca²⁺動員が欠如し、mEPSCs の周波数上昇をもたらす、脳波の波形とピーク周波数に影響を与えたと考えられる。また、PLC β 4-遺伝子欠損によって生じた脳波波形への影響は従来の FFT に加えて、PST 解析を組み合わせると効果的に抽出され、PLC β 4-遺伝子欠損マウスでは野生型に比べてレム睡眠が著しく異なることが示された。さらに PST から作成する脳ポテンシャルを用いると、覚醒/睡眠制御機構のように分子レベルで複雑に絡み合った機構に対し問題解決の新たな糸口を提示できる可能性のあることが示唆された。

Ⅲ. 脳波の新しい解析法と脳ポテンシャルを用いた脳機能解析

1. レム睡眠時脳波と脳ポテンシャル

マウスのレム睡眠時脳波は、FFT を行うと 7Hz の単一ピークを示し、覚醒時や徐波睡眠時とは著しく異なっていた。FFT のスペクトルが単一ピーク示すことは、その脳波が単一周期の正弦波から成り立つことを示している (図 16a, b)。この波を単純に $x=\sin\theta$ と表すとすると、この時間微分 $dx/dt=\cos\theta$ となる。x 軸に波高 $x=\sin\theta$ をプロットし、y 軸にその時間微分 $y=\cos\theta$ をプロットするとこれはちょうど $\sin^2\theta+\cos^2\theta=1$ の円軌道を描く。この軌跡が x 軸、dx/dt 軸と交わる点の数についてヒストグラムを作成すると、2 つに分かれた分布が見られる (図 16c)。これの上下を倒置したものが直交する断面図となるような 3 次元構造を考えると、それは深くくぼみとその底に小高い山が突出している構造になる。ヒストグラムから作成する 3 次元構造を便宜上ポテンシャルと名付ける。ヒストグラムの密度の高い部分は倒置によりくぼみの底になるがこのことは、ポテンシャルの中にボールを転がした時に、ボールが底にとどまりやすいこと、つまり存在確率の高いことと対応させると理解しやすい。そこで、ポテンシャルの中を転がるボールの軌道で脳機能を記述することにする。レム睡眠時は、深くくぼみの底に山が隆起した構造の中をボールは山とくぼみの壁面に挟まれた狭い軌道を転がる (図 16d)。ボールの軌道が限られていることは、若しもボールの軌道が脳の機能している状態を表すとするならば、脳は情報の一部のみを処理している状態であろうと考えられる。確かにレム睡眠中を考えると、外界から脳への入力遮断されており、その一方ですでに蓄積された情報を夢として処理している (Hobson and Pace-Schott, 2002) ことが知られている。これに対して覚醒時では、脳は外界からの入力を次々と処理している。この場合はポテンシャルのくぼみの底に軌道を制限するような小

高い山は現れないと予測できる。野生型マウスの覚醒時のヒストグラムを見ると(図 17a)、V 軸のヒストグラムでは頂点が突出しており陥没は見られない。dV/dt 軸のヒストグラムは頂点にわずかに陥没が見られるものの、頂点に向かって幅が狭くなる。V 軸、dV/dt 軸のヒストグラムに対応するポテンシャルを考えると、覚醒時はレム睡眠時の特徴である幅の広いくぼみとはならず幅の狭いくぼみになり、突出部分もあるとは言えない(図 17b)。つまり覚醒時の脳の状態には、レム睡眠時のポテンシャルに見られるようなボールの移動を制限する構造はない。覚醒時は制限のないくぼみの中をボールがくぼみの上から何度も転がり落ちている状態と理解できる。覚醒時に脳は様々な入力に対して次々と情報処理を行っており、脳は活性化しているので、ポテンシャルの中をボールが自由に動き回ることとよく対応している。

以上のことからマウスの覚醒時に代表されるように、脳が外界からのありとあらゆる入力の情報処理を行っている際の脳ポテンシャルを「ドライビング型脳ポテンシャル」と名付けることができる。また、マウスのレム睡眠時に代表されるように、脳が外界からの入力の情報処理は行わず、蓄積された情報に限って処理を行う場合の脳ポテンシャルを「アイドリング型脳ポテンシャル」と名付けることができる。本論文では脳機能を記述するキーワードとして脳ポテンシャルに着目していくことにする。

大脳皮質が休止している状態があることは古くから指摘され(Adrian and Matthews, 1934)、その状態は大脳皮質のアイドリング状態と呼ばれてきた。このアイドリング状態では、脳波の α 律動帯域(8-13 Hz)や β 律動帯域(14-35 Hz)で短時間持続する事象関連同期(event-related synchronization (ERS))が生じることが指摘されていた。この事象関連同期が、結果的にそれら α 律動帯域や β 律動帯域の脳波の振幅が増加させる (Pfurtscheller et al., 1996)。

このことから、アイドリング状態の同定はそれら特定の周波数帯域における脳波の振幅の増大を指標として行なわれている。脳ポテンシャルで「アイドリング型」と同定する場合は、特定の周波数帯域の振幅増大のみに着目することなく、パワースペクトルが単一ピークを示す場合を指している点が、これまで着目されてきた大脳皮質のアイドリング状態とは異なる。

脳波が単一ピークのパワースペクトルを示す時、脳では何が起きているのだろうか。このパワースペクトルは、脳の中に複数の波源があるとして、それらの波源で個々に起こった振動の位相が大脳皮質では完全に揃っていることを意味している。2 つ以上の波の位相が揃うことは、自然には起こり得ない。量子力学によってミクロの世界が正確に理解されるようになって初めて、ミクロの世界を制御して、位相を揃えた強い光、例えばレーザーを出させることが出来るようになった(金野、1987)。複数の波源から発せられた振動の位相が完全に揃っている脳は、一体どのような仕組みで、何のために位相をそろえているのだろうか。

また、光の場合では、位相が揃うとエネルギーが高くなる。われわれでは目を閉じて安静にしているとき、いわば脳の活動が最も低下しているときに脳波の位相が揃う。脳の活動度の高低と、脳波の物理的なエネルギーの高低の相関にはどのような関係があるのだろうか。

安静閉眼時の脳波やマウスのレム睡眠時脳波が単一ピークのパワースペクトルを示すことには謎が多いが、本論文では脳の活動度に基づいて、脳波が単一ピークを示す場合の脳ポテンシャルをアイドリング型と名付けている。

2. ヒトの脳機能解明への脳ポテンシャルを用いた考え方の導入

ヒトの脳機能解析においてもマウスのレム睡眠時と覚醒時に対応する脳状態があれば、マウスの場合と同様に「ドライビング型脳ポテンシャル」と「アイドリング型脳ポテンシャル」に表されるような脳機能状態に着目することができ、覚醒時の脳機能状態を記述し考察することが可能になるかもしれない。

脳波の周波数解析を行なって、単一ピークのスペクトルを示す脳状態は、ヒトを含めたネコ、イヌ、サル等の哺乳類では異なる種間でも共通して見出される状態である (Cantero et al., 2002) (図 18)。ヒトでは目を閉じて安静にした時に後頭部の頭皮に置いた電極から導出される脳波の FFT スペクトルは 10 Hz の単一ピークを示している。サル、イヌ、ネコの場合も、頭皮上に置いた電極、皮質や視床に刺入した電極から導出される集合電位の FFT スペクトルは 10 Hz の単一ピークを示している。

マウスではレム睡眠時の脳波の FFT スペクトルに単一ピークが出現したが、上記に示した哺乳類の例では覚醒時に目を閉じた場合、あるいは目を閉じなくても安静にしている場合には出現する。マウスとヒトでは単一ピークスペクトルが出現する状況が異なっている。マウスで脳波が単一ピーク周波数を示したレム睡眠中は、外界から脳への入力遮断されているものの、その一方で蓄積された情報の処理は行なわれている (Hobson, 2002)。それでは覚醒時に安静にしたり、目を閉じたりする場合は脳で何が起きているのだろうか。

覚醒時に後頭部付近で生じる 8–13 Hz の律動で、一般に後頭部に行くほど振幅が大きくなる脳波は、International Federation of Societies for Electroencephalography and Clinical Neurophysiology (IFSECN)によって α 律動と定義 (Chatrian et al., 1974)されている。これは脳波に様々な周波数帯域の律動が混在していたとしても 8-13 Hz の律動は α 律動とみなすという意味な

ので、必ずしも 10 Hz の単一ピークスペクトルを示す場合だけが当てはまるわけではない。この IFSECN の α 律動の定義中には、 α 律動が最も顕著に出現する場合は、覚醒安静時や閉眼時であると述べられている。したがって、ヒトの脳波が単一ピークスペクトル示す閉眼時に脳で何が起きているかは、 α 律動の発生機構が参考になるだろう。

覚醒時の α 律動の発生機構説は 2 つに大別される。一つは視床と皮質間で形成される回路の自発性の反響が α 律動を発生させるという考え (Kubie, 1930; Lorente de Nó, 1933) である。視床は視覚性、聴覚性、体性感覚性等の様々な情報を中継して皮質に投射する役割を果たしており (McCormick and Bal, 1994)、この視床-皮質間のシステムで皮質が活性化されると低振幅で脱同期した脳波パターンが現れる (Steriade and Llinas, 1988) ことが知られている。ところが、目を閉じたり、安静にしたりしていると視床に入る情報が減少し、視床-皮質回路の活動が低下して、自発性の反響に切り替わり α 律動が発生するということである。他方は、皮質内で α 律動が発生するという考えで、Lopes da Silva (1973) らは、皮質-皮質間の α 律動の相関性と、視床-皮質間の α 律動の相関性とを比較し、皮質-皮質間の相関性のほうが大きいことから皮質内で α 律動が発生すると結論付けている。さらに Lopes da Silva (1977) らは、イヌの実験で視覚野の $1100 \mu\text{m}$ の深さに α 律動源が存在すると報告している。 α 律動の発生機構は、視床-皮質間説と皮質-皮質間説の二説があるが、いずれにせよ安静時や閉眼時は視床を中継して皮質へ投射される情報が減少するので、このことが α 律動を発生させる引き金であろう。

結局、ヒトやイヌ、ネコ、サルの覚醒安静時、閉眼時に観察された 10 Hz の単一ピークスペクトルで現される脳の状態も、マウスのレム睡眠時に類似して、

外界から脳への入力、目を閉じたり、注意力が低下したりすることで一部遮断されたり、入力があっても一部は処理されない脳の状態であると考えてよいだろう。したがって、ヒトの脳機能解析にもマウスの場合と同様に、脳波に位相空間軌跡解析を実施し、位相空間上に描かれた軌跡パターンが V 軸、 dV/dt 軸と交わる点の数についてヒストグラムを作成し、その上下を反転して脳ポテンシャルを考える手法の導入が可能となる。

IV. ヒトにおける脳波解析

1. ヒトの脳機能解明の糸口として選択した課題

我々が目にした色や形といった視覚情報は、網膜で受容され、視床の外側膝状体を経て大脳皮質一次視覚野に伝えられ、一次視覚野で処理された情報は、後頭連合野から側頭連合野を経て前頭前野に出力される（福田、佐藤、2002）。一次視覚野では 32 にも及ぶ視覚関連領野が区別され（Fellman and Van Essen, 1991）、Hubel と Wiesel (1959, 1962, 1968, 1977) はサルやネコなどの一次視覚野の神経細胞が、光刺激の傾き、動く方向、長さ、色などの様々な図形特徴に対する選択的応答性を示すことを明らかにした。一次視覚野で処理された色や形の情報は、V4 を経て下側頭回に至る腹側視覚路を構成し、形態視に関与すると考えられている（Livingstone and Hubel, 1987; Van Essen and Gallant, 1994）。物体の動きや奥行きなどの情報は、V3 および中側頭野を経て下頭頂小葉に至る背側視覚路を構成し、空間・運動視の情報を処理すると考えられている（Van Essen and Gallant, 1994）。このように視覚情報処理が、処理する情報ごとに脳の特定の場所で行なわれることが明らかになると、次は別々に処理されたそれらの情報がどのようなメカニズムで再び統合されて知覚されるかが問題となった。この問題に対する統一的な見解はまだ得られていないが、Treisman と Gelade (1980) によって提案された、対象物の位置に注意を向けることがその対象の種々の特徴を正しく再統合するには重要であるという考え方が有力である。対象物の位置に注意を向ける機能を果たす脳部位は頭頂葉 (Van Essen and Gallant, 1994) が重要である。この部位が種々の物体の特徴を正しく統合させるために重要な役割を果たす部位であることが、脳の両側の頭頂から後頭部にかけて損傷のある患者に対して行なった実験や (Friedman-Hill et al., 1995)、fMRI による特徴統合時の活性脳部位の測定 (Shafritz et al., 2002) で確かめ

られた。

このように「統合の問題」には、頭頂葉の関与が重要であることは明らかになりつつあるものの、その部位で統合時には何が起こるのか、頭頂葉以外の視覚野や前頭前野では何が起こるのかといったことはまだ明らかになっていない。そこで本研究では色と形の情報を統合する際の脳機能を、脳波に対して位相空間軌跡解析法を導入し、脳ポテンシャルを考えて記述することを試みた。通常、色と形の情報は容易に統合されて知覚されるので、統合のメカニズムを探るために、色と形の統合が失われる瞬間を効果的に呈示する刺激を考えて被験者に与えることにした。

2. 実験材料および研究方法

(1) 参加者

実験には 24 歳から 36 歳（平均 28.9 歳）までの男性 7 人、21 歳から 53 歳（平均 30.9 歳）までの女性 7 人が参加した。全員右利きで視力は適正であった。

(2) 刺激

刺激は視覚刺激で、ヴァーチャルリアリティ（VR）装置（核融合科学研究所 所有、岐阜）を使用して呈示した。VR 装置は一辺が 10 フィート（約 3m）のスクリーンで正面、右面、床面、左面が囲まれた部屋とスクリーンの後方に設置されたプロジェクター（床面スクリーンに対するプロジェクターは上方にある）と Graphic Workstation で構成される（図 19）。

視覚刺激パターンは黒い背景に示す色のついた円で、はじめは、一辺が約 3 m の正面スクリーンの中心に視角 6° のサイズで映し出し、毎秒 29° で拡大させ、最終的には 180° まで拡大させた。この拡大の速度はプレテストで拡大速度を幾通りか変えて呈示してみて、被験者が円が拡大していると認識可能な速度にした。毎秒 29° で拡大させると、6 秒後には正面、右面、床面、左面の全てが円の色に染まる。呈示した円の色は 4 種類で赤、緑、青、白でコントロールは黒（このとき背景は白）である。各色と輝度は色彩輝度計（CS-100A, MINOLTA、日本）で測定し、色度 x , y と明るさ Y によって Yxy の順に示すと（CIE1931 等色関数近似）、赤: 4.21, 0.622, 0.352, 緑: 11.9, 0.302, 0.352、青: 1.39, 0.146, 0.068、白: 16.8, 0.318, 0.344 であった。刺激の時間変化は、背景（黒）のみ 2 秒間→背景+拡大する円 6 秒間→4 面のスクリーン全てが円の色に染まっている 3 秒間で、これが刺激の基本単位（図 20）である。この刺激の基本単位を次の順序で円の色を変えて提示した。順序は、色を呈示する順序による効果を考慮して、ある色を連続して呈示する場合と、その同じ色を他の色と混ぜて非連続的に呈示する場合の両方を含んだ次のような順序を考えて、それを 1 セット

とした。呈示した円の色は、赤→赤→緑→青→白→黒→緑→緑→赤→青→
白→黒→赤→赤→赤→緑→緑→緑→青→青→青→白→白→白→黒→黒→黒であ
る。この1連の刺激の呈示所要時間は約5分であった。

(3) 実験手順

実験は脳波電極の装着も含めて約2時間で実施した。

始めに被験者の頭部に脳波電極を装着し、被験者が着用したベストの胸ポケットに送信機を入れた。全ての電極の装着が完了したら、被験者には目を閉じて安静にしてもらい、その状態で脳波を記録し、それをフーリエ変換して、スペクトルに交流障害（西日本 60 Hz）やその他の脳波以外の雑音が含まれないことを確認した。次に被験者には、VR 装置内の正面スクリーンから 2m、右面、左面からそれぞれ 1.5m の位置に置いた椅子に座ってもらった。被験者には正面スクリーンに円が出始めたらその中心を見続けるように指示した。実験者が一連の刺激を呈示するプログラムをスタートさせると、Graphic Workstation から画像がプロジェクターに送られてスクリーンに投影され、それと同時にトリガーパルスがデータレコーダに送られ、被験者の脳波と共に記録された。データレコーダには PC を接続し、実験中の被験者の脳波をモニターした。脳波をモニターしてアーチファクトの混入がなければ前述の一連の刺激を一回呈示して実験を終える。もし、アーチファクトの混入があれば電極の装着を確認したあと再度一連の刺激を呈示した。実験環境の概略を図 19 に示す。

(4) 脳波測定

脳波は、頭皮に銀・塩化銀皿電極を国際式 10-20 法に定められた F_3 , F_4 , T_3 , T_4 , T_5 , T_6 , P_3 , P_4 , O_1 , O_2 の位置に装着して記録した。基準電極は、右半球は右側の耳朶、左半球は左側の耳朶とした。脳波計は、テレメータを使用した EEG テレメトリシステム WEE-6112（日本光電、日本）を使用した。被験者は電極の他に EEG アンプをヘッドバンドで頭に固定し、電極のリード線をこのアンプのピンに接続した。EEG アンプは送信機とコードでつなぎ、送信機は被験者が着用したベストのポケットに入れた。頭皮上のシグナルは送信機から無線で約 6 m 離れた受信機に送られた。

頭皮の電極から記録されるシグナルは、0.53 Hz 以下と、60 Hz 以上をカットオフし、さらに交流障害（西日本 60 Hz）をカットオフするフィルターを通した。シグナルは 200Hz でデジタル化した。

(5) 脳波解析

EEG のデータは高速フーリエ変換 (FFT) (Otnes, 1978) と位相空間軌跡解析を行なった。位相空間に描かれた軌跡からさらに情報を抽出するために、位相空間上の軌跡が V 軸、dV/dt 軸と交わる点の数を求め、軸に沿って 21 の BIN で区切りその BIN 中の交点の数を数えてヒストグラムを作成した。さらにそれらのヒストグラムの上下を倒置して、それらが直行する座標の断面図となるような 3 次元構造のポテンシャルを考え脳機能の考察に用いた。

3. 結果

3-1 色と形の統合時と形の消失時に記録された脳波比較

スクリーンに円が出現し、円が視角 6° から視角 93° まで拡大する 3 秒間（以後は色と形の統合時と呼ぶ）の脳波と 4 面のスクリーン全てがそれまで拡大していた円の色 1 色に覆われてからの 3 秒間（以後は形の消失時と呼ぶ）の脳波を比較すると、後者の脳波は前者の脳波に比べて振幅が大きく、周波数が一定で、正弦波状の脳波が出現した。このような脳波は、後頭部の電極 O_1 , O_2 で顕著に見られた。その他側頭部、頭頂部、前頭部の 8 電極でも、後頭部の電極ほど明確ではないが、色と形の統合時に比べると、脳波の振幅は大きく、比較的周期的な波が出現する傾向が見られた。図 21a には典型的な脳波例を示している。

男性 7 人、女性 7 人について、色と形の統合時脳波と形の消失時脳波を比較して、上記に述べた特徴が出現する頻度を調べた。背景から始まって、円が出現して拡大を続け、最終的に全てのスクリーンが円の色に覆われて、最後に背景に戻るまでを 1 試行とすると、試行は 22 回あり、そのうち赤円の試行は 6 回、緑円の試行は 6 回、青円の試行は 5 回、黒円の試行は 5 回であった。全試行中 0～6 回正弦波状の特徴が出現する人が、男性では 3 人であるのに対し、女性では 6 人であった。試行中 7 回以上正弦波状の特徴が出現する人が、男性では 4 人であるのに対し、女性では 1 人であった(図 21b, c)。

男性被験者の中でも正弦波状の特徴が 22 回の試行中 16 回出現する M3 と M6 について、円の色と正弦波状の特徴出現の相関を見てみると、緑、青、黒ではそれぞれ全試行中 67% 以上の確率で正弦波状の特徴が出現するのに対し、赤では 33% と出現の確率が $1/2$ に減少していた。

3-2 色と形の統合時と形の消失時に記録された脳波の FFT スペクトル比較

図 21 に示した典型的な脳波例について FFT を行い、色と形の統合時 (図 21a①) と形の消失時 (図 21a②) のスペクトルを比較した (図 22)。全ての電極で色と形の統合時スペクトル (図 22a) と、形の消失時スペクトル (図 22 b) の間には違いが見られた。顕著な差が見られたのは T₅ (左側頭後部) 電極から記録された脳波で、色と形の統合時は周波数に反比例したいわゆる 1/f スペクトルを示すが、形の消失時には 10 Hz の単一ピークを示した。しかし、これが色と形の統合時から形の消失時へのパワースペクトル変化の特徴とは言えず、これとは対照的な例も見られた。それは P₃ (左頭頂部) 電極から記録された脳波で、色と形の統合時は 10 Hz のピークが際立っているが、形の消失時には周波数に反比例した 1/f スペクトルを示した。このように個々の電極について色と形の統合時と形の消失時ではその脳波のパワースペクトルの間に違いがあることは分かるが、統一的に変化の傾向を見出すことは難しい。

3-3 色と形の統合時と形の消失時に記録された脳波の位相空間軌跡解析

図 21 に示した典型的な脳波例について、位相空間軌跡 (Phase space trajectory: PST) 解析を行なった。色と形の統合時の位相空間上パターン (つまり PST) (図 23a) は、左右対称な位置の電極では類似したパターンを示し、前後方向に異なる電極間では PST が異なり、円に近いものから楕円に近いものまでであった。左右対称な位置の電極で PST が類似しない被験者もいた (データは提示しない)。前後方向に異なる位置の電極間で PST が異なるのは全ての被験者に共通して見られた (データは提示しない)。

色と形の統合時と形の消失時で PST を比較すると、前者 (図 23a) では全ての電極の PST で軌跡が原点に集中する傾向が見られるのに対し、後者 (図 23b) では軌跡が原点から周辺に拡大する傾向が見られた。軌跡の広がり方は 2 通り

に分かれ、V 軸方向に広がる場合と、V 軸、dV/dt 軸方向の両方に広がる場合が認められた。ここに示した例では、前者のケースに該当する電極が、F₃ (左前頭部)、F₄ (右前頭部)、P₃ (左頭頂部)、P₄ (右頭頂部) であり、後者のケースに該当する電極が T₃ (左側頭中央部)、T₄ (右側頭中央部)、T₅ (左側頭後部)、T₆ (右側頭後部)、O₁ (左後頭部)、O₂ (右後頭部) であった。

3-4 色と形の統合時と形の消失時 PST から作成したヒストグラムの比較

図 23 に示した各 PST が V 軸、dV/dt 軸と交わる点の数についてヒストグラムを作成した。V 軸のヒストグラムでは、図 23 に示した PST から予測できる通り、色と形の統合時に比べ、形の消失時では、全ての電極においてヒストグラムの底辺が拡大し、原点付近の密度の減少はほとんど見られなかった（データは提示しない）。dV/dt 軸のヒストグラムでは、色と形の統合時のヒストグラムが原点付近に柱状に集まった分布を示す（図 24a）のに対し、形の消失時では原点から離れた場所へも分布が広がり、原点付近の密度は減少した（図 24b）。電極の T₅ (左側頭後部)、O₁ (左後頭部)、O₂ (右後頭部) のヒストグラムではこの傾向が顕著であった。

3-5 形の消失時に変化が見られた電極

10 個ある電極のうち形の消失時に dV/dt 軸ヒストグラムの原点付近の密度が著しく減少する電極を同定した。 η をヒストグラムの原点における頻度／ヒストグラムの最大頻度と定義し、 dV/dt 軸ヒストグラムの η が 0.45 以下となる場合を凹型とする。各電極において凹型が出現する割合を被験者 M3、M6 では 16 回の試行中、被験者 F5 では 12 回の試行中について調べた (図 25)。男性被験者 M3 と M6 では左右の後頭部の電極 (O_1 、 O_2) と左前頭部の電極 (F_3) が形の消失時に凹型を示す傾向が共通して見られ、それ以外の電極では共通点がみられない。被験者 M3 では右側頭中央部 (T_4) に凹型が一度も出現しなかった。被験者 M6 では左頭頂部 (P_3) に凹型が一度も出現しなかった。女性被験者の F5 では左後頭部の電極 (O_1) が形の消失時に最も凹型を示し、前述の男性被験者に比べると、一度も凹型が現れない電極が多く、左側頭中央部 (T_3)、右側頭後部 (T_6)、右頭頂部 (P_4) であった。

3-6 色彩嗜好と dV/dt 軸ヒストグラムの相関

全面一色になってから 3 秒間の脳波を位相空間軌跡解析して、PST と dV/dt 軸が交わる点の数についてヒストグラムを作成した。 η をヒストグラムの原点における頻度 / ヒストグラムの最大頻度と定義すると、好きな色では η が大きくなる傾向が見られ、嫌いな色では η が小さくなる傾向が見られた (図 26)。これは各色毎に 3 回連続して呈示した場合に見られ、ある色を他の色と混ぜて非連続的に呈示した場合には見られなかった。全被験者 14 人中男性 2 人、女性 2 人にこのような色彩嗜好との相関が見られた。いずれの被験者においてもこの相関が見られるのは 10 個ある電極のうち 1 つだけであった。その電極は被験者ごとに異なっていた。

男性被験者 M2 では F_3 (左前頭部) 電極で色彩嗜好と dV/dt 軸ヒストグラム η との相関が見られた (図 27a)。嫌いな色の黒では η が最も小さくなり、好きな色の緑では η が大きくなる傾向を示した。その他の赤や青では 3 回の η の値が安定していなかった。同じデータに対して FFT を行い、各色毎に 3 回の平均パワースペクトルを求めると、好きな色の緑と、嫌いな色の黒のパワースペクトルに差は見られなかった (図 27b)。

男性被験者 M3 では T_6 (右側頭後部) 電極で色彩嗜好と dV/dt 軸ヒストグラム η との相関が見られた (図 28a)。嫌いな色の黒では η が小さくなる傾向を示し、好きな色の青では η が大きくなる傾向を示した。その他の赤や緑では 3 回の η の値が安定していなかった。同じデータに対して FFT を行い、各色毎に 3 回の平均パワースペクトルを求めると、好きな色の青と、嫌いな色の黒のパワースペクトルに本質的な差は見られなかった (図 28b)。

女性被験者 F6 では O_2 (右後頭部) 電極で色彩嗜好と dV/dt 軸ヒストグラム η との相関が見られた (図 29a)。嫌いな色の緑では η が最も小さくなり、好き

な色の青では η が大きくなる傾向を示した。その他の赤や黒の η の値は安定せず、青と緑の η の中間の値を示した。同じデータから瞬きを除いて 1.1 秒間を抽出し FFT を行い、各色毎に 3 回の平均パワースペクトルを求めると、好きな色の青と、嫌いな色の緑のパワースペクトルに差は見られなかった (図 29b)。

女性被験者 F7 では T_5 (左側頭後部) 電極で色彩嗜好と dV/dt 軸ヒストグラム η との相関が見られた (図 30a)。嫌いな色の赤では η が最も小さく、好きな色の青では η が最も大きい値を示した。緑色では η が赤と青の中間の値を示し、黒では 3 回の η の値が安定していなかった。同じデータに対して FFT を行い、各色毎に 3 回の平均パワースペクトルを求めると、好きな色の青と、嫌いな色の赤のパワースペクトルには、前者に 10Hz 付近のピークが見られたのに対し、後者には見られなかった (図 30b)。このようなパワースペクトルの特徴は、 T_6 (右側頭後部)、 P_4 (右頭頂部)、 O_1 (左後頭部) の電極にも認められた。

3-7 色彩嗜好と V 軸ヒストグラムの相関

被験者の刺激の色に対する好みと、全面一色になってから 3 秒間の脳波の V 軸ヒストグラムパターンとの間に相関が見られた。V 軸ヒストグラムの原点軸に対する対称性を表すパラメータとして ζ を、ヒストグラムの負側の面積/ヒストグラムの正側の面積と定義する。ヒストグラムが原点に対して対称な分布を示すとき ζ は 1 となる。この ζ が好きな色とその他の色の間で差がある場合や、嫌いな色とその他の色で差がある場合が見られた (図 31)。これは各色毎に 3 回連続して呈示した場合に見られ、ある色を他の色と混ぜて非連続的に呈示した場合には見られなかった。このような相関は、全 14 人の被験者中、女性 2 人と男性 1 人に見られ、色彩嗜好と ζ の相関が表れた電極は、いずれの被験者においても 10 個の電極中 1 つであった。

女性被験者 F5 では T₅ (左側頭後部) 電極で、好きな色の緑とその他の色の間で、V 軸ヒストグラムの ζ が異なり、緑では ζ が最小で 1 未満になるのに対し、その他色では ζ が約 1 以上であった (図 32a)。この結果が得られたのと同じ脳波から瞬きを除いた 1.1 秒間の脳波を抽出し、FFT を行ない、パワースペクトルを求めると、4 色のパワースペクトルがお互いに異なり、色の好みとの相関を見出すことは難しかった (図 32b)。

女性被験者 F6 では F₃ (左前頭部) 電極で、好きな色の青とその他の色の間で、V 軸ヒストグラムの ζ が異なり、青では ζ が最小で 0.6 未満であるのに対し、その他の色の ζ は 0.8 から 1 付近に値が集中していた (図 33a)。この結果が得られたのと同じ脳波から瞬きを除いた 1.1 秒間の脳波を抽出し、FFT を行ない、パワースペクトルを求めると、4 色のパワースペクトルが 1/f パターンに近く、お互いに類似しており、色の好みとの相関を見出すことは難しかった (図 33b)。

男性被験者 M3 では O₁ (左後頭部) 電極で、嫌いな色の黒とその他の色の間

で、V 軸ヒストグラムのはが異なり、嫌いな色の黒ではが最小で 1 付近の値を示すのに対し、その他の色ではは 1 以上であった (図 34a)。この結果が得られたのと同じ脳波に FFT を行ない、パワースペクトルを求めると、4 色のパワースペクトルが 9.8Hz 付近のピークと低周波数成分を持ち、お互いに類似しており、色の好みとの相関を見出すことは難しかった (図 34b)。

4. 検討

従来の脳波解析法と位相空間軌跡解析法のヒトの脳機能へのアプローチ

色と形の統合時と形の消失時の脳波を肉眼で見て比較すると、後者では、正弦波状の脳波が出現する傾向がみられた。この正弦波状の脳波の実体を探るために、従来の脳波解析の主な手段である FFT を行なうと、10 個全ての電極で色と形の統合時と形の消失時の間に変化がみられた。その変化は、形の消失時に 10 Hz のピークが際立ったり、逆にピークが弱まったりする変化であった。また 10 Hz のピークが際立つとはいえ、それ以下の低周波数成分も存在していて、脳波のパワースペクトルからだけでは、色と形の統合時に比べて形の消失時では脳でどのような変化がおきているかを明確に示すことは困難であった。

これに対して、同じ脳波データを位相空間軌跡解析法で解析して、PST を描くと、形の消失時では、色と形の統合時に比べ全ての電極から得られた PST で、V 軸方向と dV/dt 軸方向に増大していた。さらに、V 軸方向にだけ増大する電極と、V 軸、 dV/dt 軸の両方に増大する電極に区別された。前者は dV/dt 軸方向への増大がないので、振幅増大のみが考えられる。V 軸方向への増大は、位相のそろった波が多数重なって振幅が増大したことを表しているだろう。後者は dV/dt 軸と V 軸の両方向への増大があるので、周波数が増加し、振幅が増大したか、あるいは振幅の大きな低周波数の波の上に振幅の小さな高周波数の波が乗った波形を表していると考えられる。現在は、形の消失時に見られたこの 2 つの変化の意味は分からないが、おそらくこの特徴も研究を進めれば脳機能を示す新たなパラメータとなるだろう。

FFT を行なっただけでは、各電極における脳機能がマウスのレム睡眠時に代表されるような、一部の情報だけを処理するアイドリング型脳ポテンシャルか、マウスの覚醒時に代表されるようなありとあらゆる情報を処理するドライビン

グ型脳ポテンシャルかは、明確に区別できなかつた。そこで FFT を行なったのと同じデータを位相空間軌跡解析し、得られた PST が V 軸、 dV/dt 軸と交わる点の数についてヒストグラムを作成した。色と形の統合時と形の消失時の V 軸ヒストグラムを比較すると、マウスのレム睡眠時脳波のヒストグラムに見られたような原点付近の顕著な密度の減少は認められなかつた。これはマウスの覚醒時脳波の V 軸ヒストグラムでも原点付近は突出していることから、覚醒時には、脳波の振幅が安定しない傾向があると考えてよいだろう。ところが、ヒトでは形の消失時の dV/dt 軸ヒストグラムの原点付近に、マウスではレム睡眠時にしか現れなかつた原点付近の密度の減少がみられる電極もあり、興味深い。 dV/dt 軸ヒストグラムの原点付近にのみ密度の減少が見られることは、波形の鋭さは一定で、振幅は変化するという意味である。一見矛盾するようだが、実は振幅一定の小さな波が大きな揺らぎの上に乗っていると考えると矛盾なくこの波形を説明できる。図 24 で dV/dt 軸ヒストグラムの原点付近が凹型を示した電極 O_1 、 O_2 の元の脳波を図 21 で見てみると、確かに振幅一定の波が大きく揺らいでいることが分かる。さて、この場合の脳ポテンシャルは、アイドリング型にも、ドライビング型にもあてはまらない。どのような脳ポテンシャルになるかということ、馬の背に乘せる鞍を逆さにした構造の中を動くボールの動きと考えることができる (図 35)。このボールの動きは複雑で、あるときは一方のくぼみに落ち込んだり、またあるときはもう一方のくぼみに落ち込んだりと揺らいだ動きを示す。この様にボールが揺らいだ動きを示すことから、この脳ポテンシャルをスイング型脳ポテンシャルと名付けることにした。脳がこのスイング型脳ポテンシャルで表される時、この中を転がるボールの動きは前述のように複雑で、ボールはドライビング型脳ポテンシャルの中を転がるほど自由な軌道は描けない。またその軌道は、アイドリング型脳ポテンシャルの中を転がるボー

ルほどは制限されていない。このことから、脳がスイング型脳ポテンシャルで表わされるときは、外界からの入力をレム睡眠時ほど完全には遮断しないが、覚醒時に比べると外界からの入力を一部制限しているか、あるいは入力があっても情報処理を一部制限している状態にあると考えられる。したがって、この例（図 24b）でいうと、10 個の電極のうち 3 個の電極付近の脳部位は形の消失時に活動が低下し、残りの 7 個の電極付近の脳部位では活動が活発であったらうと機能を推測することが可能である。

形の消失時にスイング型脳ポテンシャルを示した電極と色と形の統合部位

色と形の統合部位として重要な役割を果たしているとは予想したのは頭頂部なので、統合の必要性が減少すると思われる形の消失時には、頭頂部に置いた P₃、P₄ 電極で顕著に脳の状態がドライビング型から、スイング型に変化することが示されると考えた。ところが最も顕著な変化を示したのは後頭部の電極であった。今回スイング型脳ポテンシャルが多く出現した被験者は 3 人と少ないが、この 3 人に共通して形の消失時に後頭部の電極でスイング型脳ポテンシャルが出現したことは、後頭部は色と形の統合時は活動的であるが、形の消失時にはその活動が低下する傾向を示唆しているだろう。このことは、後頭部が処理する情報の量が、色と形の統合時の刺激には、色、形情報の他に、動き、位置情報と多く、形の消失時には色だけの情報に減少することと結び付けて解釈することが可能である。また、色と形の統合時には、後頭部が統合に関わる何らかの役割を果たし、統合の必要がなくなるとその分活動が低下したと解釈することも可能であろう。

後頭部の電極の次に 3 人の被験者に共通してスイング型の脳ポテンシャルが出現しやすい電極は左前頭部 (F₃) であった。この電極も色と形の統合時に比べて、形の消失時に活動が低下する傾向を示唆しているだろう。今後同じ実験を繰り返してデータを十分に収集すれば、形の消失時に活動が低下する脳部位として後頭部と前頭部がどの被験者にも共通して特徴付けられ、それ以外の側頭中央部から側頭後部にかけての電極には色の情報を処理するだけになった場合の個人差が表れると予想される。

当初スイング型脳ポテンシャルの出現頻度が高いと予測していた頭頂部の電極は、前述の後頭部や前頭部に比べるとスイング型脳ポテンシャルが出現しやすいとは言えず、3 人の被験者に共通して右か左のどちらか一方で、スイング型

の脳ポテンシャルが示されることが著しく少なかった。このことは、色と形の情報を統合させる必要がなくなっても、頭頂部の活動は低下せず、特に頭頂部の左右どちらか一方は活発であることを示唆している。この結果を、頭頂部が対象物の位置に注意を向ける機能を果たす脳部位 (Van Essen and Gallant, 1994) であり、かつ、対象の種々の特徴を正しく再統合するためには重要 (Treisman and Gelade, 1980) との考え方にたって解釈すると以下のようなになる。即ち頭頂部は刺激のありなしに拘わらず、何時でも情報が統合できるよう備えているのかもしれない。そうだとすると、この機能が左右どちらか一方に限られていることには一体どのような意味があるのか、興味深いのが、現在のところは謎である。

形の消失時における性差

形の消失時に脳波に正弦波状の特徴的な波形が出現したのは、図 21 に示す通り、全 22 回の試行中 0~6 回正弦波状の特徴が出現する人が、男性では 7 人中 3 人であるのに対し、女性は 7 人中 6 人であった。試行中 7 回以上正弦波状の特徴が出現する人が、男性では 4 人であるのに対し、女性は 1 人であった。脳波を肉眼で見る限りは、女性の方が形の消失時に正弦波状の脳波が表れるのは少ないようである。脳には性差があることが様々な証拠に基づいて知られている。解剖学的には女性の方が脳梁が太いこと (De Lacoste-Utamsing and Holloway, 1982)、女性の方が男性に比べて安静時と作業中の血流量が多いこと (Gur et al., 1982) が報告されているので、女性の脳波で正弦波状の脳波が表れにくいのは脳の何らかの生理学的な環境、例えばホルモンの違いによるのかもしれない。

色と形の統合時に比べて、形の消失時に脳波に正弦波状の波が表れた被験者では、その同じ脳波に位相空間軌跡解析を行ない、その PST が V 軸、 dV/dt 軸

と交わる点の数についてヒストグラムを作成すると、 dV/dt 軸のヒストグラムで原点付近の密度が著しく減少し、凹型示す電極があることが分かった。脳波では形の消失時に特徴の見られなかった女性被験者について、形の消失時 3 秒間の脳波から dV/dt 軸ヒストグラムを作成して調べてみると、原点付近で凹型の見られる場合があった (図 36)。このことは、脳波の形状を肉眼で見れば、女性の方が正弦波状の特徴的な波形が出現することが少ないという性差がみられるが、位相空間軌跡解析を行なって、PST が dV/dt 軸と交わる点の数についてヒストグラムを作成すれば男性と女性に共通した脳機能の特徴を抽出できる可能性を示唆している。

色彩嗜好と位相空間軌跡解析

被験者の視野の大半を覆う 4 面（正面、左面、右面、床面）のスクリーンを一色に染めることは、被験者の脳波に色に暴露された影響が現れると考えた。呈示した色の違いによって脳波の特徴が区別されることはなかったが、好きな色と嫌いな色は、脳波から位相空間軌跡解析法によって抽出したパラメータによって区別される可能性が示唆された。呈示した色の違いによって脳波の特徴が区別されなかったのは、呈示した色が視野全体に等質に色が満ちたいわゆる Ganzfeld であったためかもしれない。この Ganzfeld では色が中性化（無彩化）して知覚されることが知られている(Avant, 1965)。全てのスクリーンを特定の色一色に染めたことは、被験者に、たとえば「赤い」と知覚させるには最も困難な条件であったのかもしれない。このような Ganzfeld の刺激ではあるが、その一方で色に対する好きや嫌いといった情動を喚起するには効果的であったのだろう。

色彩嗜好との相関が認められたパラメータは dV/dt 軸ヒストグラム η ($\eta =$ ヒストグラムの原点における頻度 / ヒストグラムの最大頻度) と V 軸ヒストグラムの ζ ($\zeta =$ ヒストグラムの負側面積 / ヒストグラムの正側面積) である。 dV/dt 軸ヒストグラム η では、好きな色で η が最も大きくなり、嫌いな色では η が最も小さくなる傾向が見られ、好きな色と嫌いな色が明確に区別された。一方、 V 軸ヒストグラムの ζ では、嫌いな色か好きな色のいずれか一方が他の色とは区別された。この 2 つのパラメータは色彩嗜好に関する脳機能の二側面を表しているのかもしれない。これを裏付けるように、これら両方のパラメータで、色彩嗜好との相関が見出された被験者は、男性被験者の M3 と女性被験者の F6 であったが、この被験者では色彩嗜好との相関が見出される電極がパラメータによって異なっていた。M3 被験者では、 dV/dt 軸ヒストグラムの η では電

極 T_6 (右側頭後部) に、 V 軸ヒストグラムのごとでは電極 O_1 (左後頭部) に色彩嗜好との相関が見られた。F6 被験者では、 dV/dt 軸ヒストグラムの η では電極 O_2 (右後頭部) に、 V 軸ヒストグラムのごとでは電極 F_3 (左前頭部) に色彩嗜好との相関が見られた。したがって、これら 2 つのパラメータが色彩嗜好に関する脳機能の二側面を表している可能性が高い。

色彩嗜好と脳波の相関が示された延べ 7 人の電極部位をみると、左前頭部(F_3)が 2 人、左側頭後部(T_5)が 2 人、右側頭後部(T_6)が 1 人、左後頭部(O_1)1 人、右後頭部(O_2)が 1 人であった。色彩嗜好のような情動の発現には、脳の側頭前部にある扁桃体が重要であることが知られている。この扁桃体は、視覚性、聴覚性、体性感覚性等の入力情報の処理が進んだ連合野から情報を受けたり、視床や、視床下部、脳幹から直接感覚性の入力を受けて情動刺激を作っている (Purves et al., 1997)。この扁桃体からの情動刺激が前頭葉に伝達されると、行動や判断に影響を与えたり (Damasio, 1995)、右のシルヴィウス溝上付近の前頭後部と頭頂葉前部に伝達されると発話の抑揚を制御する (Purves et al., 1997) ことが知られている。本研究で色彩嗜好との相関が示された電極が、扁桃体のある側頭前部以外の前頭部、側頭後部、後頭部であったのは、扁桃体からの情動刺激を受けて行動に反映させるために関与する皮質部位に強く色彩嗜好との相関が反映されたことを示しているのかもしれない。また、色彩嗜好との相関が強く発現したと考えられる皮質部位が人によって異なっていたことは、色彩によって喚起された情動を次にどのような行動に反映させるかという点が人によって異なっていたことを示唆していたのかもしれない。

色彩嗜好と脳波の相関が、位相空間軌跡解析に基づく dV/dt 軸ヒストグラムの η と V 軸ヒストグラムのごとで示されたのは、前者の場合が全被験者 14 人中、男性 2 人、女性 2 人、後者の場合が男性 1 人、女性 2 人であった。スクリーン

に投影された色は単色かつ光の色で、抽象的であり、通常我々が目にする具体的な事物の一属性として感知される色に比べると特殊な色環境である。このような状況下で呈示された色に対して好きや嫌いといった感情を喚起するか否か、それが強いか弱いかは、人がある色を見て何を連想するかによるのであり、この連想は富田（1998）によると、個人によって色と事物が結び付けられる体験の頻度、体験時の状況やその事物の印象の強さなどによって決まるので個人差が生じるという。したがって、色彩嗜好と脳波の相関が認められた被験者数が η においては 14 人中 4 人、 ζ では 3 人であるのは、正当な数であり、これらパラメータの色彩嗜好の検出能力が低いとはいえないだろう。

さて、 dV/dt 軸ヒストグラムの η では、好きな色では η が最も大きくなり、嫌いな色では η が最も小さくなる傾向が見られた。これが何を意味するかを、ヒストグラムから脳ポテンシャルを考えて解釈を試みる。 V 軸ヒストグラムは原点で突出している、つまり η が大きい。 dV/dt 軸ヒストグラムの η が大きい場合は、ボールの動きで脳機能を表すとすると、ボールが脳ポテンシャルのくぼみの底に留まる確率が高い状態にあることを示している。これが好きな色の場合であるから、このとき脳はその状態に安定して留まっていようとするのかもしれない。一方、 dV/dt 軸ヒストグラムの η が小さい場合は、ボールの動きで脳機能を表すとすると、ボールが脳ポテンシャルのくぼみの底に突出した山の部分を避けてその周辺をめぐる状態であることを示している。これが嫌いな色の場合であるから、このとき脳は入力の一部の処理を避けようとする状態にあるのかもしれない。

V 軸ヒストグラムにみられた色彩嗜好との相関は、好きな色や嫌いな色のヒストグラムが原点から正側あるいは負側にシフトすることであった。 V 軸ヒストグラムが正側や負側にシフトするのは、元の脳波の基線が上にシフトしたり、

基線が下にシフトしたりすることにそれぞれ対応している。脳波の基線が上にシフトすることは、Caspers (1963)や Goldring (1974)によると、頭皮直下の樹状突起が求心性神経から高頻度で興奮性入力を受け、樹状突起で持続的な脱分極状態が生じた結果であると考えられている。被験者 F5 と F6 では好きな色のときそれぞれ電極 T₅ と F₃ で V 軸ヒストグラムが正側に偏っていた。つまり脳波でいうと、基線が上にシフトしていた。このことから、好きな色ではある電極の周辺に高頻度の興奮性入力があるのかもしれないと考えられる。被験者 M3 では電極 O₁ において、嫌いな色のときだけ V 軸ヒストグラムが原点に対して対称に分布しており、その他の色では原点に対して負側に偏る傾向が見られた。つまり脳波でいうと、嫌いな色以外では基線が下にシフトしていた。前述した脳波の上へのシフトの逆を考えると、嫌いな色以外では高頻度で持続的な抑制性の入力があるのかもしれないと考えられる。

また、色彩嗜好と位相空間軌跡解析に基づくパラメータの間に相関のあった脳波データを FFT でも解析し、パワースペクトルを好きな色や嫌いな色との間で比較してみたが、FFT には色彩嗜好との相関は認められなかった。

V. 結論

本研究では次のことが明らかになった。

1. 位相空間軌跡解析法は、マウスの脳波から神経系の活動に關与する遺伝子変異情報を抽出する可能性を有する方法である。
2. マウスの神経系の活動に關与する遺伝子欠損の影響はレム睡眠時の脳波に最も顕著に表れる。これは外部から脳への入力を遮断されているからだと思われる。
3. 位相空間軌跡解析法は、ヒトの脳波から刺激に応じた変化を各電極ごとに独立して記録し、脳の活性度を最も活発なドライビング型、最も活動が制約されたアイドリング型、それらの中間のスイング型に区別した時に脳機能を数値化して表わすことが可能な手法である。
4. 位相空間軌跡解析法が、ヒトの脳波からヒトの色に対する好き・嫌いといった心理的情報を反映した特徴を抽出する可能性が示唆された。

種々のタンパク質を欠損させた実験動物を作製し、その動物の行動を観察することにより欠損させたタンパク質の機能を解明する研究が盛んである。しかしこれまで、タンパク質のような分子レベルの機構をどれほど詳細に解明したとしても、行動を発現するまでのプロセスの数は膨大であり、分子レベルの機構から行動を類推することは不可能とされていた。

脳波は神経細胞の電氣的活動を直接反映したシグナルであり、脳波には分子レベルの機構が反映される可能性がある。さらに行動を発現するまでの情報処理と指令は、脳で行なわれることを併せて考えると、脳波は、分子レベルの機構と行動を結びつけることが可能な情報源であると言える。しかし、これまで脳波からは周波数情報や振幅情報が得られるだけで、これらの情報から判断されるのは、覚醒や睡眠状態、脳の物理的な損傷の影響、あるいはてんかんなどの

疾患のように脳波を肉眼で見ただけでも特徴が認められる場合に限られていた。本研究で脳波の解析に新しく導入した位相空間軌跡解析法が、マウスの神経系の活動に関与する遺伝子変異を最も明瞭に示すことが可能であること、それら遺伝子変異はレム睡眠時に最も明瞭に表れることが明らかになったことは、今後、様々なタンパク質と行動発現の相関をよりの確に示すことに役立つであろう。

ヒトの脳機能研究は、非侵襲的な実験に限られる。非侵襲的な脳機能測定法には様々あるが、神経細胞の電氣的活動を直接反映するのは脳波と脳磁図だけである。中でも脳波は、経済的に安価で、実験に大きなスペースを必要とせず、被験者の行動を束縛することが少なく、我々の脳機能を日常的な環境下とさほど違えずに測定することが可能である。しかし従来は、覚醒を維持している神経細胞群の活動の結果である比較的大きな背景脳波から、刺激に応じた一過性の脳電位変化のように微小な変化を区別して抽出するには、刺激をおよそ 25-100 回与えて、その応答を加算平均して刺激に応じたシグナルだけを抽出する方法をとることが有効とされてきた。

ヒトの脳波の解析に位相空間軌跡解析法を適用して、刺激に応じた変化を抽出することが可能になったことは、これまで脳波を用いた研究の対象が、視覚刺激や聴覚刺激など繰り返しの可能な刺激に対する脳機能の解明に限られていたことを、原理的には単一刺激が理想的な系、または化学刺激に対する応答や、薬物効果を判定する研究にも拡大させることが出来るだろう。また、位相空間軌跡解析法によって、色に対する好きと嫌いを反映した特徴が抽出されたことは、繰り返しておなじ応答が出にくい様々な変数がからみ合った複雑な現象であるとされる情動の研究も可能になるかもしれない。

さらに本研究では、位相空間軌跡解析法を用いて脳波を解析することによっ

て、脳の活性度を各電極ごとに最も活発なドライビング型、最も活動の制約されたアイドリング型、それらの中間のスイング型に区別して脳機能を表わすことが可能であることを示した。このことは痛みのようにこれまで定量化が困難とされてきた現象に対しても有効な研究手法を提案することになるかもしれない。

謝辞

まず、著者の大学院後期博士課程において終始研究を御指導くださいました早稲田大学理工学部吉岡亨教授に深く感謝申し上げます。また、本研究の遂行上、有益なご意見及びご指摘を頂いた大阪大学医学部福田淳教授、早稲田大学理工学部宗田孝之教授、早稲田大学理工総研市川一寿教授、早稲田大学人間科学部斎藤美穂教授、早稲田大学人間科学部木村一郎教授、神奈川歯科大学小野塚実教授、山梨大学工学部堀裕和助教授に深く感謝いたします。

また、ヴァーチャルリアリティ装置の利用をお認めいただき、実験にもご協力くださった文部科学省核融合科学研究所の田村祐一博士、大野暢亮博士に深く感謝いたします。そして実験に快く参加してくださった被験者の皆様に心から感謝申し上げます。また、各方面における専門的な知識と助言を与えてくださった富士ゼロックス株式会社中央研究所の山口功さん、大阪バイオサイエンス研究所の江口直美博士、池田真行博士、桑幡裕子さん、坂田三恵博士、オリンパス株式会社の杉山崇博士、酒井偉久子さん、オレゴン健康科学大学ヴォーラム研究所の廣野守俊博士、早稲田大学理工学部の鼠尾まい子博士、早稲田大学大学院人間科学研究科の山田雅子さんに心から御礼申し上げます。また、吉岡研究室に所属されている皆様、宗田研究室に所属されている皆様にも御礼申し上げます。

最後になりましたが、陰ながら応援してくださった家族と友人に心から感謝いたします。

引用文献

- Adrian, E. D. and Matthews, B. H. (1934). The Berger rhythm: Potential changes from the occipital lobes in man. *Brain* 57: 355-385.
- Adrian, E. D. and Matthews, B. H. C. (1934). The interpretation of potential waves in the cortex. *J. Physiol.* 81: 440-471.
- Andersen, P. and Andersson, S. A. (1968). *Physiological Basis of the Alpha Rhythm*. New York: Meredith Corp.
- Anwyl, R. (1999). Metabotropic glutamate receptors: electrophysiological properties and role in plasticity. *Brain Res. Reviews* 29: 83-120.
- Aserinsky, W. and Kleitman, N. (1953). Regularly occurring episodes of eye motility and concomitant phenomena during sleep. *Science* 118: 273-274.
- Avant, L. L. (1965). Vision in the Ganzfeld. *Psychol. Bull.* 64, 246.
- Berger, H. (1929). Über das Elektrenkephalogramm des Menschen. 1st report. *Arch. Psychiat. Nervenkr.* 87: 527-570.
- Bremer, F. (1935). Cerveau isolé et physiologie du sommeil. *C. R. Soc. Biol. (Paris)* 118: 1235-1241.
- Cantero, J. L., Atienza, M. and Salas, R. M. (2002). Human alpha oscillations in wakefulness, drowsiness period, and REM sleep: different electroencephalographic phenomena within the alpha band. *Neurophysiol. Clin.* 32: 54-71.
- Carroll, R. C., Nicoll, R. A., Malenka, R. C. (1998). Effects of PKA and PKC on miniature excitatory postsynaptic currents in CA1 Pyramidal cells. *J. Neurophysiol.* 80: 2797-2800.
- Caspers, H. (1963). Relations of steady potential shifts in the cortex to the wakefulness-sleep spectrum. Brazier, M. A. B. (Ed.): *Brain Function*. p.177-213. Berkeley: University of California Press.
- Caton, R. (1875). The electric currents of the brain. *Br. Med. J.* 2: 278.
- Caton, R. (1887). Researches on electrical phenomena of cerebral grey matter. 9th *Int. Congr. Med.* 3, 246.

- Chatrian, G. E., Bergamini, L., Dondey, M., Klass, D. W., Lennox-Buchthal, M. and Petersén, I. (1974). A glossary of term most commonly used by clinical electroencephalographers. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* 37: 538-548.
- Chemelli, R. M., Willie, J. T., Sinton, C. M., Elmquist, J. K., Scammell, T., Lee, C., Richardson, J. A., Williams, S. C., Xiong, Y., Kisanuki, Y., Fitch, T. E., Nakazato, M., Hammer, R. E., Saper, C. B., Yanagisawa, M. (1999). Narcolepsy in *orexin* knockout mice: molecular genetics of sleep regulation. *Cell* 98: 437-451.
- Chen, C. and Regehr, W. G. (2000). Developmental remodeling of the retinogeniculate synapse. *Neuron* 28: 955-966.
- Chiappa, K. H. (1983). *Evoked Potentials in Clinical Medicine*. New York: Raven Press.
- Cirone, J., Potheary, C. A., Turner, J. P. and Salt, T. E. (2002). Group 1 metabotropic glutamate receptors (mGluRs) modulate visual responses in the superficial superior colliculus of the rat, *J. Physiol.* 541: 895-903.
- Cooley, J. W. and Tukey, J. W. (1965). An algorithm for the machine calculation of complex Fourier series. *Math Comp.* 19: 267-301.
- Creutzfeldt, O. and Houchin, J. (1974). Neuronal basis of EEG waves. Remond, A. (Ed.- in-chief): *Handbook of Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, vol. 2, Part C, p. 5-55. Amsterdam: Elsevier.
- Dale, A. M. and Halgren, E. (2001). Spatiotemporal mapping of brain activity by integration of multiple imaging modalities. *Curr. Opin. Neurobiol.* 11: 202-208.
- Damasio, A. R. (1995). *Descartes' Error: Emotion, Reason and the Human Brain*. London: Picador.
- Dawson, G. D. (1947). Investigations on a patient subject to myoclonic seizures after sensory stimulation. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 10: 141-162.
- Dawson, G. D. (1954). A summation technique for the detection of small evoked potentials. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* 6: 153-154.
- De Lacoste-Utamsing, Ch. and Holloway, R. (1982). Sexual dimorphism in the human corpus callosum. *Science* 216: 1431-1432.

- Deschênes, M., Paradis, M., Roy, J. P. and Steriade, M. (1984). Electrophysiology of neurons of lateral thalamic nuclei in cat, resting membrane properties and burst discharges. *J. Neurophysiol.* 51, 1196-1219.
- Destexhe, A., Contreras, D., Steriade, M., Sejnowski, T. J. and Huguenard, J. R. (1996). In vivo, in vitro, and computational analysis of dendritic calcium currents in thalamic reticular neurons. *J. Neurosci.* 16: 169-185.
- Duffy, F. H., Burchfield, J. L. and Lombroso, C. T. (1979). Brain electrical activity mapping (BEAM): A method for extending the clinical use of EEG and evoked potential data. *Ann. Neurol.* 5: 309-321.
- Eccles, J.C. (1964). *The Physiology of Synapses*. Berlin: Springer.
- Felleman, D. J. and Van Essen D. C. (1991). Distributed hierarchical processing in the primate cerebral cortex. *Cereb. Cortex.* 1 (1): 1-47.
- Friedman-Hill, S. R., Robertson, L. C. and Treisman, A. (1995). Parietal contributions to visual feature binding: evidence from a patient with bilateral lesions. *Science* 269: 853-855.
- Gevins, A. (1996). Electrophysiological imaging of brain function. Toga, A. W. and Mazziotta, J. C. (Eds.): *Brain Mapping: The Methods*. p.259-276. San Diego: Academic Press.
- Gibbs, E. L., Fuster, B. and Gibbs, F. A. (1948). Peculiar low temporal localization of sleep-induced seizure discharges of psychomotor epilepsy. *Arch. Neurol. Psychiatry (Chicago)* 60: 95-97.
- Gibbs, F. A. and Davis, H. (1935). Changes in the human electroencephalogram associated with loss of consciousness. *Am. J. Physiol.* 113: 49-50.
- Gloor, P. (1985). Neuronal generator and the problem of localization in electroencephalography: application of volume conductor theory to electroencephalography. *J. Clin. Neurophysiol.* 2: 327-354.
- Goldring, S. (1974). DC shifts released by direct and afferent stimulation. Remond, A. (Ed.-in-chief): *Handbook of Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, vol. 10, Part A, p. 12-24. Amsterdam: Elsevier.
- Golomb, D., Wang, X. J., Rinzel, J. (1994). Synchronization properties of spindle oscillations in a thalamic reticular nucleus model. *J Neurophysiol* 72: 1109-26.

- Gur, R. C., Gur, R. E., Obrist, W. D., Hungerbuhler, J. P., Younkin, D., Rosen, A. D., Skilnick, B. E. and Reivich, M. (1982). Sex and handedness differences in cerebral blood flow during rest and cognitive activity. *Science* 217: 659-661.
- Haken, H. (1978). *Synergetics*, 2nd enlarged ed., Berlin Heidelberg New York: Springer-Verlag.
- Harland, C. J., Clark, T. D. and Prance, R. J. (2002). Remote detection of human electroencephalograms using ultrahigh input impedance electric potential sensors. *Appl. Phys. Lett.* 81 (17): 3284-3286.
- Higashi, A., Uchizono, K., Tani, Y., Hoshino, M., Yano, T. and Yazawa, K. (1979). Real time online data processing system for the e. e. g. and body movement during the lifetime of a freely moving mouse. *Med. Biol. Comput.* 17 (3): 416-418.
- Hirono, M., Sugiyama, T., Kishimoto, Y., Sakai, I., Miyazawa, T., Kishio, M., Inoue, H., Nakao, K., Ikeda, M., Kawahara, S., Kirino, Y., Katsuki, M., Horie, H., Ishikawa, Y., Yoshioka, T. (2001). Phospholipase C β 4 and protein kinase C α and / or protein kinase C β 1 are involved in the induction of long term depression in cerebellar Purkinje cells. *J. Biol. Chem.* 276 (48): 45236-45242.
- Hirsch, J. C., Fourment, A. and Marc, M. E. (1983). Sleep-related variations of membrane potential in the lateral geniculate body relay neurons of the cat. *Brain Res.* 259, 308-312.
- Hobson, J. A. and Pace-Schott, E. F. (2002). The cognitive neuroscience of sleep: neuronal systems, consciousness and learning. *Nat. Rev. Neurosci.* 3: 679-693.
- Hubbard, J.I., Llinas, R. and Quastel, D. M. J. (1969). *Electrophysiological Analysis of Synaptic Transmission/ Monographs of the Physiological Society*. London: Edward Arnold Ltd.
- Hubel, D. H. and Wiesel, T. N. (1959). Receptive fields of single neurons in the cat's striate cortex. *J. Physiol.* 148: 574-591.
- Hubel, D. H. and Wiesel, T. N. (1962). Receptive fields, binocular interaction and functional architecture in the cat's visual cortex. *J. Physiol.* 160: 106-154.
- Hubel, D. H. and Wiesel, T. N. (1968). Receptive fields and functional architecture of monkey striate cortex. *J. Physiol.* 195 (1): 215-243.

- Hubel, D. H. and Wiesel, T. N. (1977). Ferrier lecture. Functional architecture of macaque monkey visual cortex. *Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 198 (1130): 1-59.
- Huguenard, J. R. and McCormick, D. A. (1992). Stimulation of the currents involved in rhythmic oscillations in thalamic relay neurons. *J. Neurophysiol.* 68 (4): 1373-1383.
- Jiang, H., Lyubarsky, A., Dodd, R., Vardi, N., Pugh, E., Baylor, D., Simon, M. I., Wu, D. (1996). Phospholipase C $\beta 4$ is involved in modulating the visual response in mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93: 14598-14601.
- Kameyama, M., Yamaguchi, I., Ichikawa, K., Sugiyama, T., Hirono, M., Hori, H., Ikeda, M., Kuwahata, Y., Eguchi, N., Urade, Y. and Yoshioka, T. (2003). Effect of phospholipase C $\beta 4$ lacking in thalamic neurons on electroencephalogram. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 304: 153-159.
- Kim, D., Jun, K. S., Lee, S. B., Kang, N. G., Min, D. S., Kim, Y. H., Ryu, S. H., Suh, P. G., Shin, H. S. (1997). Phospholipase C isozymes selectively couple to specific neurotransmitter receptors. *Nature* 389: 290-293.
- Kishimoto, Y., Hirono, M., Sugiyama, T., Kawahara, S., Nakao, K., Kishio, M., Katsuki, M., Yoshioka, T., Kirino, Y. (2001). Impaired delay but normal trace eyeblink conditioning in PLC $\beta 4$ mutant mice. *Neuroreport* 12(13): 2919-2922.
- Kubie, L. S. (1930). A theoretical application to some neurological problems of the properties of excitation waves which move in closed circuits. *Brain* 53: 166-177.
- Lehmann, D. (1987). Principles of spatial analysis. Gevins, A. S. and Remond, A. (Eds.): *Analysis of Electrical and Magnetic Signals. Handbook of Electroencephalography and Clinical Neurophysiology. (Rev. Series, vol.1)*. p.309-354. Amsterdam: Elsevier.
- Levy, M., Jing, J., Chikvashvili, D., Thornhill, W. B., Lotan, I. (1998). Activation of a metabotropic glutamate receptor and protein kinase C reduce the extent of inactivation of the K⁺ channel Kv1.1/Kv β 1.1 via dephosphorylation of Kv1.1. *J. Biol. Chem.* 273: 6495-6502.
- Livingstone, M. S. and Hubel, D. H. (1987). Psychophysical evidence for separate channels for the perception of form, color, movement, and depth. *J. Neurosci.* 7 (11): 3416-3468.

- Loomis, A. L., Harvey, E. N. and Hobart, G. A. (1935) Potential rhythms of the cerebral cortex during sleep. *Science* 82: 198-200.
- Lopes da Silva, F. (1999). Event-related potentials: methodology and quantification. Niedermeyer E. and Lopes da Silva, F. (Eds.): *Electroencephalography. 4th ed.*, p.947-957. Baltimore: Williams & Wilkins.
- Lopes da Silva, F. H. and Storm van Leeuwen, W. (1977). The cortical source of the alpha rhythm. *Neurosci. Lett.* 6: 237-241.
- Lopes da Silva, F. H., van Lierop, T. H. M. T., Schrijer, C. F., Storm van Leeuwen, W. (1973). Organization of thalamic and cortical alpha rhythms: spectra and coherences. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 35: 627-639.
- Lorente de Nó, R. (1933). Studies of the structure of the cerebral cortex. *J. Psychol. U. Neurol.* 45: 420-438.
- Matsumoto, M., Nakagawa, T., Inoue, T., Nagata, E., Tanaka, K., Takano, H., Minowa, O., Kuno, J., Sakakibara, S., Yamada, M., Yoneshima, H., Miyawaki, A., Fukuuchi, Y., Furuichi, T., Okano, H., Mikoshiba, K. and Noda, T. (1996). Ataxia and epileptic seizures in mice lacking type 1 inositol 1,4,5-trisphosphate receptor. *Nature* 379: 168-171.
- McCarley, R. W., Benoit, O. and Barrionuevo, G. (1983). Lateral geniculate nucleus unitary discharge in sleep and waking, state- and rate-specific aspects. *J. Neurophysiol.* 50, 798-818.
- McCormick, D. A. and Bal, T. (1994). Sensory gating mechanisms of the thalamus. *Curr. Opin. Neurobiol.* 4: 550-556.
- McCormick, D. A. and Bal, T. (1997). Sleep and arousal: thalamocortical mechanisms. *Annu. Rev. Neurosci.* 20, 185-215.
- McCormick, D. A. and Feuser, H. R. (1990). Functional implications of burst firing and single spike activity lateral geniculate relay neurons. *Neuroscience* 39, 103-113.
- McCormick, D. A. and Huguenard, J. R. (1992). A model of the electrophysiological properties of thalamocortical relay neurons. *J. Neurophysiol.* 68, 1384-1400.
- Moruzzi, G. and Magoun, H. W. (1949). Brain stem reticular format and activation of the EEG. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* 1: 455-473.

Niedermeyer, E. (1999). Historical aspects. Niedermeyer E. and Lopes da Silva, F. (Eds.): *Electroencephalography*. 4th ed., p.1-14. Baltimore: Williams & Wilkins.

Otnes, R. K. (1978). *Applied Time Series Analysis*, New York: John Wiley & Sons.

Pfurtscheller, G., Stancák Jr., A. and Neuper, Ch. (1996). Event-related synchronization (ERS) in the alpha band – an electrophysiological correlate of cortical idling: A review. *Intern. J. Psychophys.* 24: 39-46.

Pin, J. P., Duvoisin, R. (1995). The metabotropic glutamate receptors: structure and functions. *Neuropharmacology* 34(1): 1-26.

Purves, D., Augustine, G. J., Fitzpatrick, D., Katz, L. C., LaMantia, A. and McNamara, J. O. (Eds.). (1997). *Neuroscience*. 562p. Sunderland: Sinauer Associates.

Sayers, P., Beagley, H. A. and Hanshall, W. R. (1974). The mechanisms of auditory evoked EEG responses. *Nature* 247: 481-483.

Shafritz, K. M., Gore, J. C. and Marois, R. (2002). The role of the parietal cortex in visual feature binding. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 99 (16): 10917-10922.

Shepherd, G. M. (1974). *The Synaptic Organization of the Brain*. London: Oxford University Press.

Smith, C. U. M. (2002). *Elements of Molecular Neurobiology*. 3rd ed., 613p. West Sussex: John Wiley & Sons Ltd.

Smith, D. B., Sidman, R. D., Henke, J. S. Flanigin, H., Labiner, D., Evans, C. N. (1983). Scalp and depth recordings of induced deep cerebral potentials. *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.* 55(2): 145-150.

Speckmann, E. J. and Caspers, H. (Eds.). (1979). *Origin of Cerebral Field Potentials*. Stuttgart: Thieme.

Speckmann, E. J. and Elger, C. E. (1999). Introduction to the neurophysiological basis of the EEG and DC potentials. Niedermeyer, E. and Lopes da Silva, F. (Eds.): *Electroencephalography*. 4th ed., p.15-27. Baltimore: Williams & Wilkins.

Steriade, M., McCormick, D. A. and Sejnowski, T. J. (1993). Thalamocortical oscillations in the sleeping and aroused brain. *Science* 262: 679-685.

Steriade, M. and Llinás, R.R. (1988). The functional states of the thalamus and the associated neuronal interplay. *Physiol. Rev.* 68: 649-742.

Tobler, I., Deboer, T., Fischer, M. (1997). Sleep and sleep regulation in normal and prion protein-deficient mice. *J. Neurosci.* 17(5): 1869-1879.

Traub, R. D. and Miles, R. (1991). *Neuronal Networks of the Hippocampus*. Cambridge: Cambridge University Press

Treisman, A. M. and Gelade, G. (1980). A feature-integration theory of attention. *Cogn. Psych.* 12: 97-136.

Van Essen, D. C. and Gallant, J. L. (1994). Neural mechanisms of form and motion processing in the primate visual system. *Neuron* 13 (1): 1-10.

Vijn, P. C. M., Van Dijk, B. W. and Spekreijse, H. (1991). Visual stimulation reduces EEG activity in man. *Brain Res.* 550: 49-53.

Walter, W. G., Cooper, R., Aldridge, V., McCallum, W. and Winter, A. (1964). Contingent negative variation: An electrical sign of sensorimotor association and expectancy in the human brain. *Nature* 203: 380-384.

Webster, J. G. (Ed.) (1988). *Medical Instrumentation-Application and Design*. New York: Wiley.

大熊輝雄. (1985). 臨床脳波学. 第3版. 533p. 東京: 医学書院.

押本愛之助、岡崎彰夫. (1987). 基礎電気・電子工学シリーズ. 別巻 電気・電子工学概論. p. 48-52. 東京: 森北出版.

金野正. (1987). 物理学のパターンー物理学解説の新しい試みー. 9版. 東京: 槇書店.

末永和栄、岡田保紀. (2001). 最新脳波標準テキスト. 改訂版. 234p. 東京: 株式会社メディカルシステム研修所.

杉山崇. (2001). 遺伝子組み換え技術を用いたシナプスにおける細胞内シグナリング機構に関する研究. 早稲田大学大学院人間科学研究科博士論文.

鶴紀子. (2000). 臨床脳波と脳波解析. 第一版. 294p. 東京: 新興医学出版社.

富田正利. (1998). 連想と象徴. 日本色彩学会 (編): 新編 色彩科学ハンドブック. 第2版. p.379-382. 東京: 東京大学出版会.

福田淳、佐藤宏道. (2002). ブレインサイエンス・シリーズ⑭、脳と視覚—何をどう見るか. 初版. 358p. 東京：共立出版株式会社.

本川弘一. (1947). 脳波. 東京：南条書店.