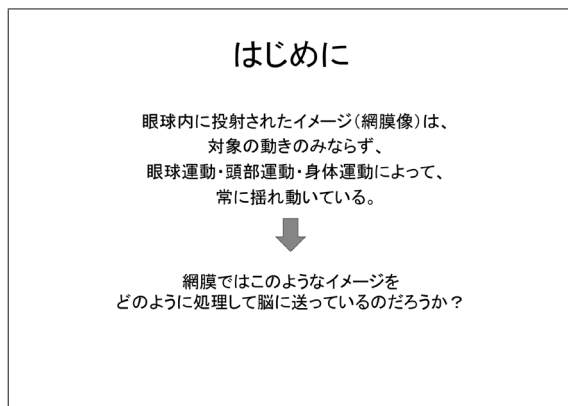


## 【基調講演】

立花 政夫（東京大学大学院教授）

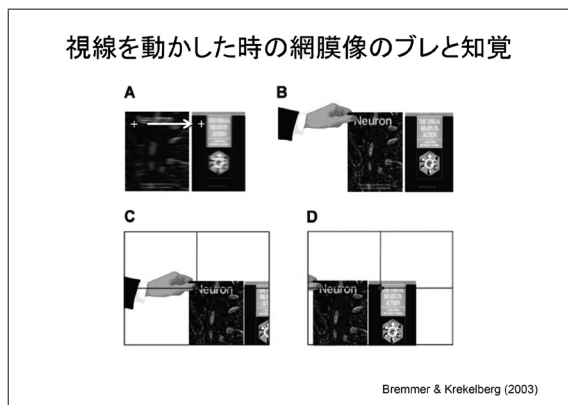
### 「網膜における視覚情報処理 —受容野概念をめぐる—」

石金先生，ご紹介ありがとうございました。また，このシンポジウムで話す機会を与えてくださいましたオーガナイザーの方々に感謝を申し上げます。今日は，網膜における視覚情報処理，とりわけ，その受容野概念をめぐるって，というお話をしたいと思います。



スライド1

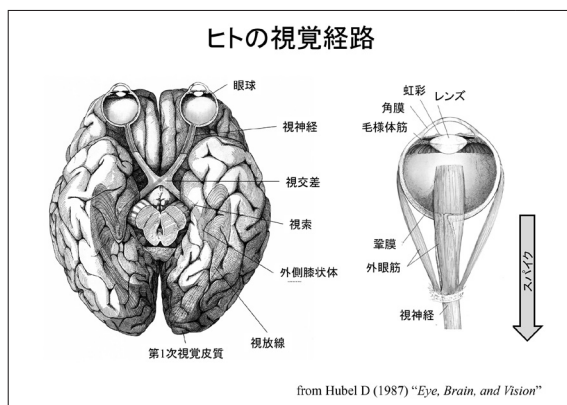
眼球の中に投影されたイメージ，いわゆる網膜像とは，外界像が我々の眼の光学系によって眼球の中に投影されたものです。外界における対象が動くということはもちろんですが，それ以外にも，眼球が動いたり，頭が動いたり，あるいは体が動くということによって，常にこの網膜像というのは揺れ動いているわけです。けれども，非常に不思議なことは，我々はこの外界世界を非常に安定なものとして知覚しているということなのです。ですから，これはいったい何なのだろうかという疑問です（スライド1）。



スライド2

例えば，我々が手に持った本で，視線をここからここに移す（スライド2-A）。この場合は，頭は動いていないと仮定しても，視線を動かすだけで，非常に網膜像はぶれているはず。しか

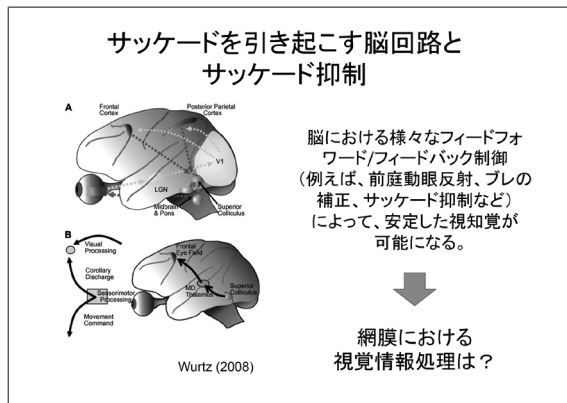
も、実際に我々が見ているのは安定した像で、別に視線を動かしたからといって、世界が回転したり、流れたりしているということはありません（スライド2-B）。けれども、ここに注目しているときには、こういう画像（ただし、眼球内ではイメージは上下左右が逆転している）になっているし（スライド2-C）、次の瞬間、ここに視点を動かすと、網膜に映っている画像は異なっているというわけです（スライド2-D）。



スライド3

それでは、どのようにして視覚系の情報処理が行われているのでしょうか？スライド3は、つい先日亡くなられた、David Hubel先生がお書きになった本から取ってきたものなのですが、ようするに、眼球があって、そこからいわゆる視神経というものが出来、半交叉をして、外側膝状体というところで神経を乗り換えて、後頭葉にある1次視覚皮質というところに情報が送られる。その後さらに、2次、3次、4次、というようなかたちで、より複雑な処理が行われているというふうに考えられているわけです（スライド3-左）。

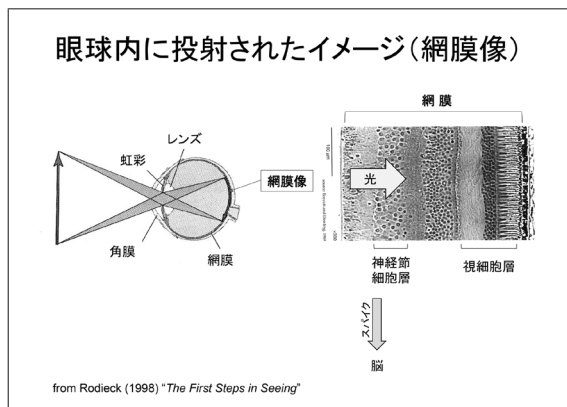
眼球は固定されたものではなくて、当然眼球運動もありますし、外側の光の強度が強くなれば虹彩が縮む。暗いところでは大きくなる。あるいは、レンズでピントを調節する。あるいは、外眼筋によって、左右、上下、斜めに、眼球は自由に動くことができます（スライド3-右）。



スライド4

では、階段が上がったり、ものを見たりするときに、網膜像は非常にブレるはずだけれども、安定した知覚が可能になっているのはなぜかという、もちろんいくつかの要因があるわけです。例えば、頭を右側に動かすと、前庭動眼反射によって眼球は反対側に動いて、網膜像の動きはキャンセルアウトされる、という仕組みがあります。けれどもそれは完全ではないので、そのブレをさらに補正する仕組みが、例えばMT野といった脳の領域で行われています。それから、例えば、視線をぱっぱと動かすような急速眼球運動は、前頭眼野から、上丘、中脳、橋、というところを介して、眼球が思ったところに動くようになっていますが、眼球を動かせという指令が出てきたときには、眼球の筋肉系への指令と共にコロラリー・ディスチャージ（随伴発射）が脳の別の領域に送られ、視覚系の情報処理をしばらくの間だけ、例えば数10msとか100msの間、中断するので、外界がブレなくなると言われています（スライド4）。

しかし、中枢性に、視覚入力を視神経から脳へ行くどこかの段階で、スイッチをオン・オフするにしても、網膜は垂れ流しで情報を脳に送り続けているのだろうか、という疑問がのこります。

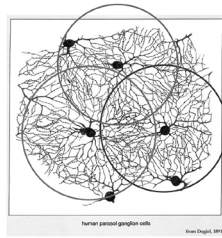


スライド5

では、実際に、網膜像はどういうかたちで処理されるのでしょうか？ここに眼球があって、外界の何らかの物体なりオブジェクトがあると、レンズや角膜の働きによって、倒立されたかたちの網膜像がここにシャープに映し出されます（スライド5-左）。

眼球の内側に貼り付いているのが網膜という神経組織で、ここに拡大してありますが、厚みが200 $\mu$ mから300 $\mu$ m程度の非常に薄いシート状のものです。光は、このレンズから硝子体を通して網膜に達するのですが、網膜の層をずっと突き抜けて一番奥にあるところに、視細胞があります（スライド5-右）。光をキャッチする視細胞がぎっしりと並んでいて、光の強度や波長に応じて、光というシグナルが電気的なシグナルに変換されます。その後は、網膜の介在ニューロンというものを介して、最終的には神経節細胞と名付けられた神経細胞において、スパイク、すなわち、1msぐらいの間に100mVぐらいの電位変化が発生します。ある意味ではデジタル的に視覚情報がコード（符号化）されて脳に送られるというわけです。視神経の束というのは、実は、この神経節細胞の軸索が100万本も集まったものです。

## 網膜像は神経節細胞群に どのようなスパイク発火応答を引き起こすのか？



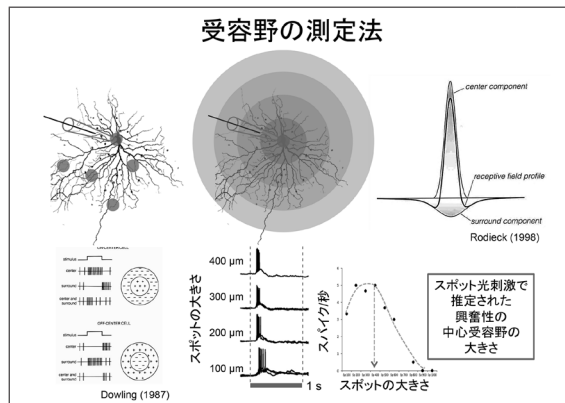
### 従来の考え方

- 神経節細胞は、網膜上の特定の微小領域 (=受容野)に入射した光に反応して、最終的にスパイクを発生する。
- 各神経節細胞は、自身の受容野に入った網膜像の一部によって刺激されると、スパイクを発生する。
- 個々の神経節細胞は、それぞれ独立してスパイクを発生する。
- 神経節細胞で発生したスパイクは、視神経を介して脳に送られ、解析される。

スライド6

さて、こういった網膜像は神経節細胞にどのようなスパイク発火を起こしているのだろうか、という研究が行われています。染色された神経節細胞の並ぶ様子をここに示してありますが、細胞体から木の枝のような細い樹状突起が伸びています。樹状突起が、それぞれの細胞体から延びて、ある意味でタイル貼りになっています。そのため、網膜上の特定の微小領域、例えば、この神経節細胞にとってのこの領域が、受容野と言われています(スライド6)。光がこの領域に照射された時には、この神経節細胞は自分の持ち場に光が来たので応答します。つまり、それぞれの神経節細胞は、自身の受容野に入った網膜像の一部によって刺激されると、スパイク応答を発生する、というわけです。

そのため、個々の神経節細胞はそれぞれ独立して、自分の責任範囲に光があたれば応答し、あたらなければ応答しない、というようなことをしているのではないかと考えられてきました。神経節細胞で発生したスパイクは、眼から出ていく視神経を介して脳に送られて、脳で複雑な情報処理が行われる、というのが教科書的な考え方です。



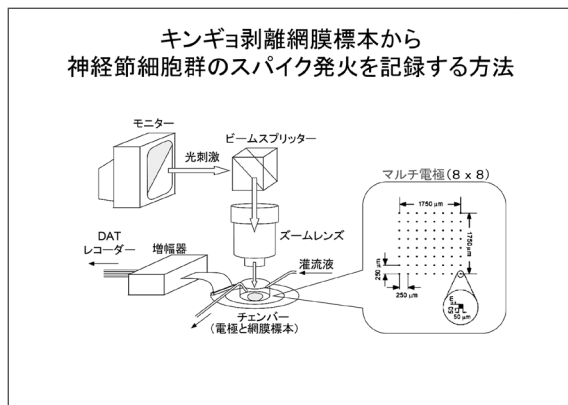
スライド7

実際に、受容野をどういうふうに測定するかというと、例えば神経節細胞1個に電極を刺し、網膜上のあちこちに小さなスポット光をあてます。さきほど述べた受容野にスポット光が入って

いるのであれば、スパイク発火が記録できます。例えば、光を点けたときにスパイク発火が増えればオンの反応だし、消したときにスパイクが出るのであればオフの反応だ、というかたちで、受容野のマッピングができるというわけです（スライド7-左）。

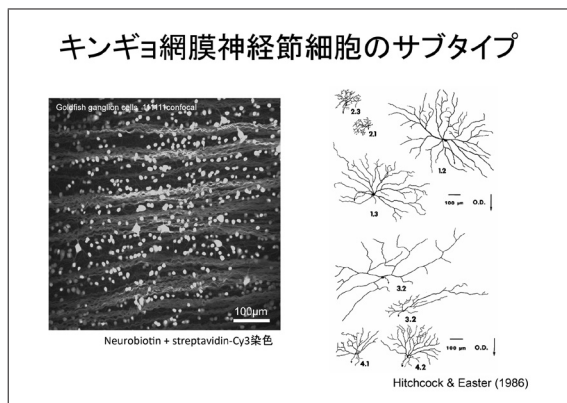
このような手法で受容野を調べると、例えば中心領域が興奮、ようするにスパイク発火頻度が増え、周辺領域を刺激するとスパイク発火頻度が減る、あるいは消したときにスパイクが発生する、というような性質が明らかになります。そうすると、スポット光の面積を変えて光照射をおこなうと、スポットサイズが小さいときにスパイクが発生し、大きくするにつれてスパイクの発火頻度はだんだんと増えるが、あるところまで行くと頭打ちになるか、かえって減少します。横軸がスポットのサイズ、縦軸がスパイクの発火頻度としてデータをプロットすると、この神経節細胞の興奮領域の大きさは大体この辺りだというようなことがわかります(スライド7-中)。例えば、Rodieckの教科書的な本を見ると、神経節細胞の同心円状の受容野というのは、カウボーイハットみたいな形をしていて、真ん中が興奮領域で、その周辺のところが抑制領域になっている、というような記載があります。

これまでは、眼球から取り出してきた網膜にスポット光を与えて受容野を調べる実験をしてきましたが、「網膜は、静止したイメージをどのように処理して脳に送っているか」という問いに答えようとしているに過ぎません。先ほど申しましたように、網膜像は完全に静止しているわけではなくて、眼球の動きと共に、あるいは体や頭の動きと共に、常に揺れ動いています。「網膜は、このように揺れ動くイメージをどのように処理して脳に送っているか」という問いに答えなければなりません。



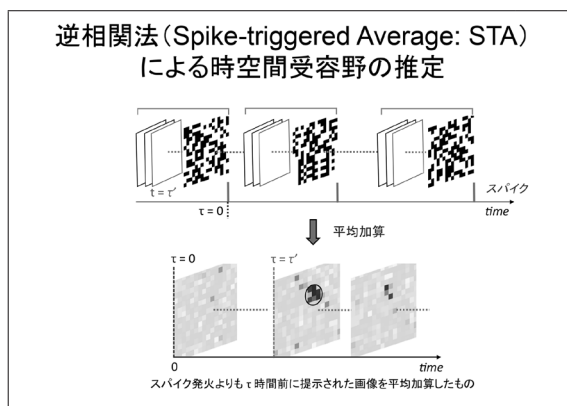
そこで、私たちが行った実験方法の説明をいたします。実験にはキンギョの網膜を使い、神経節細胞で発生するスパイクを記録しました。キンギョの網膜は、半径で5ミリとか6ミリ位の、かなり大きな薄い神経組織です。この網膜をマルチ電極の上に載せます。マルチ電極というのは、ICの技術を使って石英板に電極が貼り付いています。電極は8行8列で、64本あります。神経節細胞は電極上にたくさんありますから、ある光刺激を与えたときに、どこかの電極からスパイク応答を記録することができます(スライド8)。網膜を生体内の細胞外液に似せた液で灌流すると、

何時間も光応答を記録することができます。光刺激は、コンピューターで作った画像をモニター上に提示し、ズームレンズを介して縮小した画像を網膜に投影します。スパイク応答をアンプで増幅し、DATレコーダーに記録して、実験後にオフラインでコンピューターを使ってデータを解析します。



スライド9

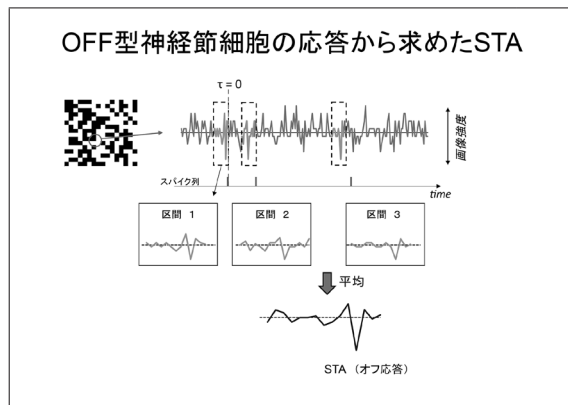
これは視神経からニューロビオチンという物質を取り込ませてから免疫染色し、キンギョ網膜の神経節細胞だけを可視化した像です（スライド9）。ここに走っている線維状のものが眼から出ていくときに束となって視神経になりますが、これらは各神経節細胞の軸索なのです。神経節細胞の細胞体には、いろいろな大きさがあります。キンギョの神経節細胞の形態を調べたHitchcock達は、4つに分類し、それらがさらに細分化されるといっています。



スライド10

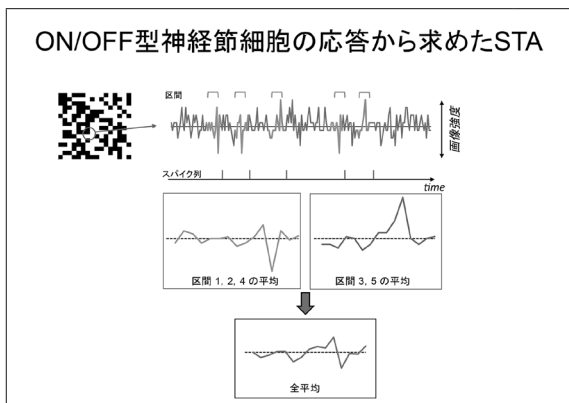
私達は、とりあえず、神経節細胞から電気的な光応答を記録し、そのサブタイプが何かという分類をしたい。しかも、1枚の網膜から、複数の細胞からの光応答を記録することができるので、それらを一挙に分類したい。その分類のやり方としては、逆相関法を使いました（スライド10）。それはどのような方法かという、例えば、網膜上で一辺が100 $\mu\text{m}$ ぐらいのピクセルが16 $\times$ 16個、碁盤の目のように並び、各ピクセルが白か黒かの確率は0.5となっています。これが画像の例です。

碁盤目の白黒がランダムに配列された画像が30Hz, 約30msごとに, 次々に変化します。このような光パターン刺激を網膜に与えると, ある神経節細胞は, 時折こういったスパイクを発生します。スパイクが光刺激によって発生したものだとする, 少し時間をさかのぼった, 例えば100ms前の画像を抜き出してきて加算平均します。スパイク発生とは関係のない画像部位では, 白黒が0.5の確率で出てきますから灰色になりますが, スパイク発生と関連している画像部位では, 暗くなるか明るくなります。このようにして, 150ms前の画像を加算平均し, 200ms前の画像を加算平均するということを順次行うことによって, スパイク発火と相関のある画像領域, すなわち, 受容野の空間的時間的なプロファイルを求めることができます。

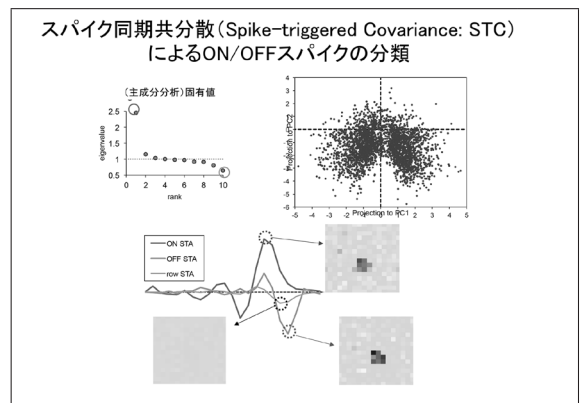


スライド11

さて, 神経節細胞には, 光を点けたときにスパイクを発生するON型と, 消したときにスパイクを発生するOFF型と, 点けたときと消したときに発生するON/OFF型があります。例えばOFF型では, 受容野の光強度が一瞬弱くなると, ちょっと経ってからスパイクが発生し, また一瞬弱くなるとスパイクが出るというような応答をします。このような光強度の変化を平均することによってSpike-triggered Average (STA) を求めることができます (スライド11)。



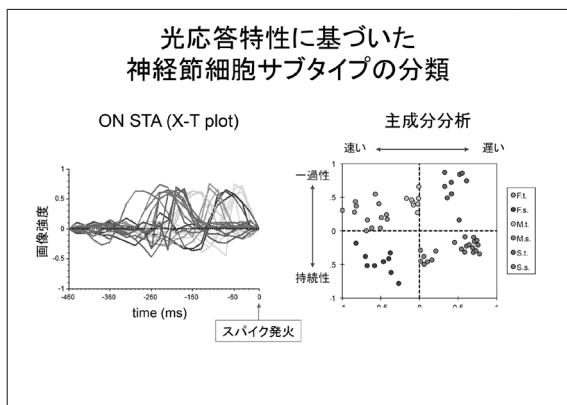
スライド12



スライド13

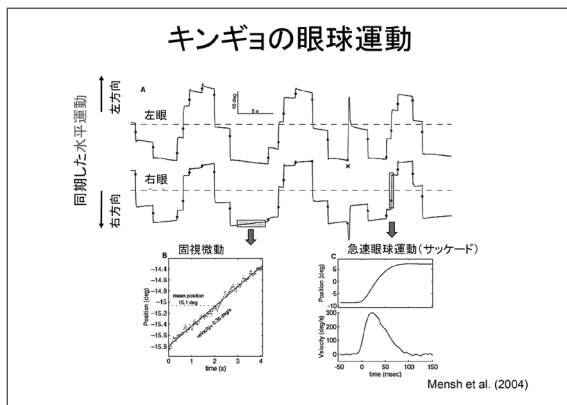
ところが, ON/OFF型では, 受容野の光強度が一瞬弱くなっても一瞬強くなってもスパイクが

出てしまいます (スライド12)。このときの光強度の変化を全部加算して平均すると、時間的に画像強度がどう変化したかがはっきりしなくなってしまいます。そこで、光強度が弱くなったときに出了スパイクと、強くなったときに出了スパイクを別々にして、それぞれを加算してやればいいたろうというわけです。そこで、Spike-triggered Covariance (STC) というやり方で、光強度が弱くなったときに出了スパイクと、光強度が強くなったときに出了スパイクに振り分けて、オフSTAとオンSTAを求めました (スライド13)。このようにすると、光強度が弱くなるとスパイクが出的受容野と、光強度が強くなるとスパイクが出的受容野を別々に求めることができます。



スライド14

今回実験に使う光刺激は、暗い背景光に明るいテスト刺激を出しますので、オンSTAが重要になります。オンSTAのピークまでの時間とピークの幅を使って主成分分析した結果、神経節細胞をその光応答から6種類に分けることができました (スライド14)。



スライド15

さて、Mensh達は、キンギョの眼球運動を調べた結果、主に水平方向の急速な眼球運動 (サッケード) をすることを明らかにしました (スライド15)。例えば、右眼と左眼が同時に右方向を急に向く。その後は、しばらく眼を動かさずにいるが、実際は微妙に動いている (固視微動)。このようなサッケードと固視微動を1秒間に1回ぐらい繰り返します。そこで、私たちの実験では、こ



のような眼球運動を参考にして、網膜にさまざまな光刺激パターンを提示し、そのときの応答を記録することにしました。

以下に実験結果を示します。未発表データのため、ここでは割愛いたしますが、その内容は、①静止した光刺激と動く光刺激に対する神経節細胞群の応答、②運動の予測、③光刺激依存的な神経節細胞間の機能的結合性の変化、④神経節細胞群による視覚情報の符号化、に関するものです。

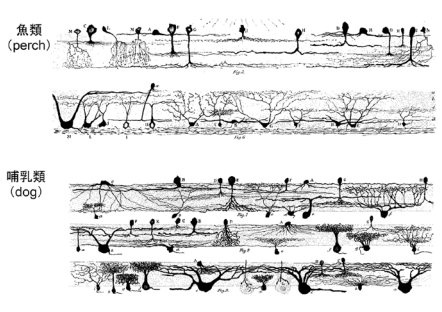
### 結論

- ・ 網膜神経節細胞は、動的で広域の光パターン刺激に対して、スポットやバーのような光刺激によって測定された受容野概念(「古典的受容野」)では記述できないような応答特性を示す。網膜神経節細胞はそれぞれの古典的受容野に入射する光情報のみを処理しているわけではない。
- ・ 網膜神経回路網は、光刺激パターンに依存して機能的結合性を変化させる。近隣に存在する網膜神経節細胞群は同じサブタイプ同士で同期したスパイクを発生したり、異なるサブタイプ間でも相関のあるスパイクを発生する。
- ・ 網膜像は眼球運動等の影響で常に揺れ動いている。従来、大脳皮質で行われるとされていた複雑な視覚情報処理は、既に網膜の段階でかなりの程度行われている。

スライド16

このような実験結果からいえることは、網膜の神経節細胞は刺激依存性に非常に動的な応答をし、今まで言われてきた古典的な受容野概念では捉えきれないようなおもしろい応答を出すということです。これまで脳でやっていると言われていた情報処理が、実は網膜ですでにかなりの程度おこなわれていることがわかってきました。網膜像は常に揺れ動いているけれども、網膜ではかなりの処理をして脳に情報を送っています(スライド16)。

### 様々な網膜神経細胞の形態



魚類 (perch)

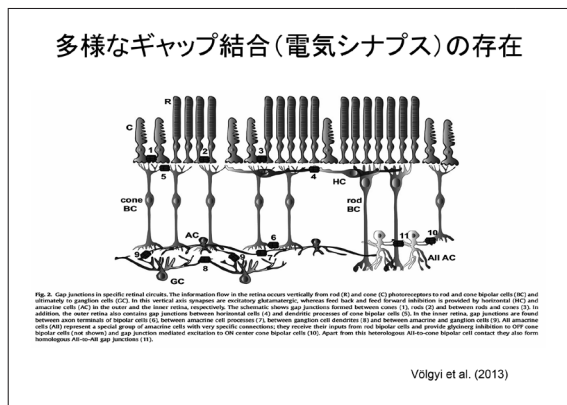
哺乳類 (dog)

from Ramón y Cajal (1892) *The Structure of the Retina*.

スライド17

今回の実験には、キンギョの網膜を使いました。これは、Ramón y Cajalが様々な種の網膜の細胞形態を調べた結果ですが、魚類では神経節細胞には多くの種類があります(スライド17)。哺乳類になると大脳化が進んで、複雑な情報処理は脳でやるから、網膜は簡単な処理だけでよ

いと思うかもしれませんが、哺乳類の網膜でも神経節細胞には多くの種類があります。したがって、このように多様な神経節細胞はいったい何をやっているのかということ、もう一度きちんと考えなければなりません。



スライド18

また、電気的な結合も網膜のあちこちにあります(スライド18)。これらが何をやっているかということも明らかにしていかなければなりません。単純な同心円状の古典的な受容野概念ではどうにも説明できない実験結果がいろいろあります。だから、それに当てはまらないものを非古典的受容野の性質によるものだと言ってきましたが、そういう曖昧な定義でよいのか、もう一度見直す必要があると思います。それに、神経節細胞のサブタイプがどんなことをしているのかをきちんと分類するためには、それぞれの最適光刺激が何かを明らかにする必要があります。神経節細胞のサブタイプを分類するには、機能、細胞形態、遺伝子発現、シナプス結合、回路網を同定していかなければなりません。さらに、神経結合関係が光刺激に対応してダイナミックに変化をしていることも考慮する必要があります。今回お話ししたような実験結果から、網膜内で動的にセル・アッセンブリー(神経回路網)が組み上げられ、それら同士が連絡を取りながら脳に視覚情報を送っている、という新たな展望が開けてきたのではないかと思います。

今日の話は、現在、修士課程2年の松本彰弘君がマルチ電極記録を主に受け持ち、今年3月まで在籍していた星秀夫君(現在は東邦大学)がホールセル記録と形態の解析をしてくれました。

ご清聴どうもありがとうございました。