

学位論文

Doctor's Thesis

ニホンザルにおける3野中心前回伸長部における
味覚情報コーディング; G野との比較

(Gustatory coding in the precentral extension of area 3 in
Japanese macaque monkeys; comparison with area G)

平田 真一

Hirata Shin-ichi

熊本大学大学院医学研究科博士課程 脳・免疫統合系専攻 知覚生理学

指導：小川 尚 教授

2005年度

目次

要旨	4
発表論文	5
謝辞	6
序文	7
方法	8
実験動物	8
課題手順と刺激投与方法	8
刺激	10
手術	10
記録手順	11
スパイク波形のソーティング	14
味覚ユニットの同定	14
味覚ユニットの分類	15
組織	15
データ解析	16
応答潜時と持続時間	16
刺激同調(チューニング)の幅広さ	17
多変量解析(クラスター分析、重み付け多次元尺度法)	17
結果	19
記録部位	19

3野とG野での四基本味に対する応答性	20
自発発火頻度	24
刺激同調(チューニング)の幅広さ	24
8刺激におけるアクロスニューロンパターン	25
応答潜時と持続時間	26
クラスター分析	28
多次元尺度空間と重み付け空間	30
考察	32
刺激投与方法の妥当性	32
3野とG野の比較	32
味覚応答の時間経過	33
味覚-質的情報のコーディング	34
サルの3野中心前回伸長部に相当するヒトの脳領域	35
結論	37
参考論文	38
付録：スパイクソートのアルゴリズム	43

要旨

ヒト以外の霊長類において、前頭弁蓋部と島の移行部(G野)は第一次味覚野として確立されているが、ブロードマン3野が中心溝を越えて中心前回へ突出している部分(3野)も視床の味覚中継核からの投射を受け、解剖学的にはG野と同様に第一次味覚野と推測されている。しかし、G野の味覚ニューロンがよく調べられているのに反し、3野では数個の味覚ニューロンが記録されているに過ぎない。この3野の味覚情報のコーディングを明らかにする為に、我々は7つの味刺激[0.3 M スクロース、0.1 M 塩化ナトリウム、0.01 N 塩酸、0.003 M 塩酸キニーネ、0.1 M グルタミン酸ソーダ(MSG)、蒸留水、オレンジジュース]と人工唾液を覚醒サルの口に投与することによって、3野ニューロンの味覚応答性を調べ、G野のそれと比較した。3野では、G野に比べて、塩酸に最大応答を示すニューロンが多く、キニーネに最大応答を示すものは少なかった。3野味覚ニューロンはG野のそれと比較して有為に短い応答潜時と応答持続時間を示した。重み付け多次元尺度法を用いて味刺激の2次元平面における相互関係を調べたところ、G野では8つの刺激が塩酸-キニーネ-蒸留水、スクロース-グルタミン酸ソーダ-オレンジジュース、塩化ナトリウムと人工唾液の4つに分かれていたのに対し、3野では塩化ナトリウム-グルタミン酸ソーダ-蒸留水-オレンジジュース、スクロース-キニーネ、塩酸-人工唾液の3つに分かれた。すなわち、G野で弁別できなかった味刺激群が3野で弁別でき、逆に3野で弁別できなかった味刺激がG野では弁別できていることが示唆された。このことから、3野とG野の2つ第一次味覚野は互いに味刺激再現を補足し合い、異なる様式で味情報を処理していることが示唆された。

発表論文

Hirata S, Nakamura T, Ifuku H, and Ogawa H. Gustatory coding in the precentral extension of area 3 in Japanese macaque monkeys; comparison with area G. *Experimental Brain Research* (in press).

謝辞

この論文は、熊本大学医学部知覚生理学 小川 尚 教授の御指導の下、執筆いたしました。御指導下さった小川尚教授に感謝致します。私が物事に行き詰まった時、いつもの確なアドバイスをいただき、研究を前進させることが出来ました。また、神経生理学への深い造詣から生まれる、アイデア、考え方から多くを学ばせていただきました。その他、主論文の共著者である中村民生先生、井福裕俊先生にもご助力を頂きました。中村先生からは実験・解析に欠くことの出来ないソフトウェアの作製において、井福先生からは、実験の実際を学ばせて頂き、私の実験の参考となりました。また、知覚生理学教室の先生方の羽山富雄先生、伊藤眞一先生(現 島根医科大所属)、山下由朗先生、長谷川佳代子先生、脇田真仁君(大学院生)にも、日々研究・実験を円滑に進める為のアドバイス・ご支援をいただきました。この場を借りて感謝を申し上げます。

序文

リスザルやマカク属ザルにおいて、前頭弁蓋部と島の移行部(G野、Sanides 1968)および前頭葉外側面でブロードマン3野が中心溝を越えて中心前回へ伸長している部分(以後3野と略す)の2ヶ所に第一次味覚野があることが誘発電位やトレーサーを用いた実験から示唆されてきた(Pritchard 1991; Ogawa 1994)。第一次味覚野の一つであるG野の味覚ニューロンはかなりよく調べられてきており、体性感覚や口の動きに関係した活動を見せるニューロンに混じって存在し、様々な味液に応答することが報告されている(Ogawa 1994; Scott and Plata-Salaman 1999)。さらに、G野から得られた神経生理学的所見はヒトにおける味覚の精神物理的研究結果と良く一致している(Scott and Plata-Salaman 1999)。一方、3野では味覚ニューロンは今までわずか数個しか記録されておらず、そのためこの領野における味覚ニューロンの応答特性はこれまでのところ明らかにされていないままである。

最近、井福ら(2003)はニホンザルを用いた塩化ナトリウム-蒸留水弁別GO/NOGOタスクにおいて、G野と同様に、3野のタスク関連ニューロンも手がかり刺激の物理化学的な側面、つまり味刺激に対して応答していると報告した。しかしながら、用いた味刺激は塩化ナトリウムと蒸留水の2つのみであるため、他の四基本味、つまり甘味、酸味、苦味に関しては調べられておらず、2つの第一次味覚野が味覚情報処理において、同じように働いているのか、あるいは異なっているのかなど明らかにされていない。

本研究では、著者らはG野と3野から味覚ニューロンをこれまでより多数記録し、両領野の味覚ニューロンの応答特性をしらべ、比較することによって、3野における味情報処理機構を明らかにしようと試みた。我々は、覚醒ニホンザルの2つの第一次味覚野から味覚ニューロンを記録し、四基本味を含む7つの味刺激と人工唾液に対する応答特性を調べた。

方法

実験動物

ニホンザル(*Macaca fuscata*)3頭(雄1頭、雌2頭、体重 5~9 kg)を用いた。実験動物の取り扱いには熊本大学実験動物委員会の承認を受け、日本生理学会動物実験指針(<http://wwwsoc.nii.ac.jp/psj/psj/doubutu.html>)及びアメリカNIHの動物実験ガイドライン(<http://oacu.od.nih.gov/regs/guide/guidex.htm>)に従った。

課題手順と刺激投与方法

サルを訓練することにより、自発的にモンキーチェアに座り、両手で2つのレバーを押して(体動を極力抑える為)、ノズルから味液を飲むようさせた。ノズルは9つの細いパイプから構成され、その端は揃えられているため、味液がノズル内で混じらないようになっている (Ito and Ogawa, 1994)。サルがレバーを5~6秒間押し続けていると最初に人工唾液(0.36 ml)がノズルから投与され、引き続いて5~6秒後に8種類の味液のうちどれか一つ(0.36 ml)がランダムに投与され(一試行)、以後、レバーを押している限り、人工唾液と味液の投与が交互に繰り返された(図1、図2)。1セットは8試行から成り、1セット中、8種類の味液は重複無く選ばれた。著者は人工唾液を洗浄液として用いた。サルの鼓索神経や大脳皮質の味覚ニューロンの中に蒸留水に対して応答がするものがあることが報告されているため、洗浄液として蒸留水は用いなかった (Gordon et al. 1959; Ogawa et al. 1972; Scott et al. 1986; Miyaoka and Pritchard 1996; Ifuku et al. 2003)。覚醒サルは口腔を唾液で常に洗浄しており、人工唾液は口腔内環境を乱すこと無く、洗浄効果を高めると期待された。サルは通常2時間、静かに座ってこの課題を遂行することが出来た。

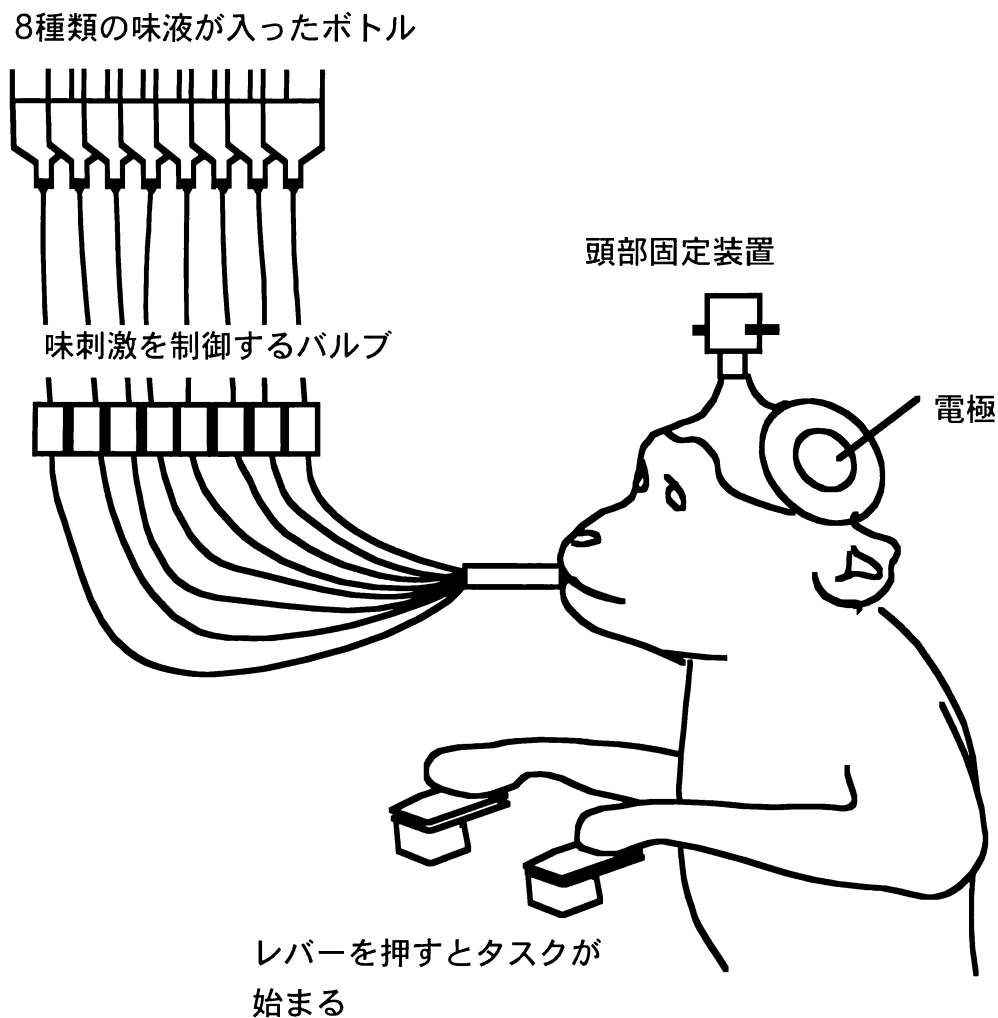


図1 刺激投与方法の概略図

刺激投与の例

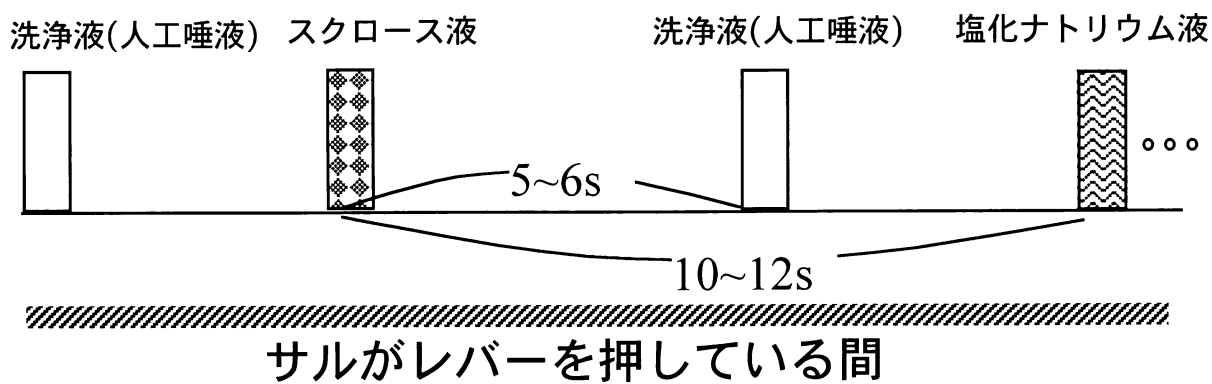


図2 刺激投与の例

刺激

人工唾液を含む8種類の刺激溶液を用いた: 0.3 M スクロース (S); 0.1 M 塩化ナトリウム(N); 0.01 N 塩酸 (H); 0.003 M キニーネ-塩酸 (Q); 0.1 M グルタミン酸ソーダ (MSG); 蒸留水 (W); 100% オレンジジュース[OR、オレンジパウダー(Yaizu Suisankagaku Industry Co. Ltd., Shizuoka)より作製]; 人工唾液 (SA: 14.8 mM 塩化ナトリウム、22.1 mM 塩化カリウム、3.1 mM 塩化カルシウム、0.6 mM 塩化マグネシウム、Eastoe 1961; Ogawa et al. 1972)。

手術

課題を十分遂行できるようになった後、手術を行った。手術は無菌的に行った。サルを硫酸アトロピン(0.1 mg/kg 筋注)で前処置した後、塩酸ケタミン(10 mg/kg im)で麻酔し、脳定位装置に固定した(Narishige Scientific Instrument Lab, Tokyo)。塩酸ケタミン(10 mg/kg 筋注)を30~40分間隔に投与することによって麻酔深度を維持した。他のサルのMRI画像より、前頭弁蓋部で外耳道から前方24mm付近にG野および3野が存在することがわかっている(Ifuku et al. 2003)ので、外側溝の背側部で外耳道から前方24mm付近を中心に頭骨に直径20mmの穴を開けた(図3)。ステンレス製の記録チェンバー(直径20mm)を、マイクロマニピュレーターを用いて、軸が冠状面に平行にかつ水平面から30度傾けて、開けた穴を被うように置き、歯科用セメントで固定した。コーティカルプレート(Zimmer Inc., Indiana)を補強材として用い、頭部固定用の金具(Narishige Scientific Instrument Lab, Tokyo)もまた歯科用セメントで固定した。手術から約10日の回復期間においてトレーニングを開始し、課題を手術前と同程度に遂行できるようになってから、記録を始めた。

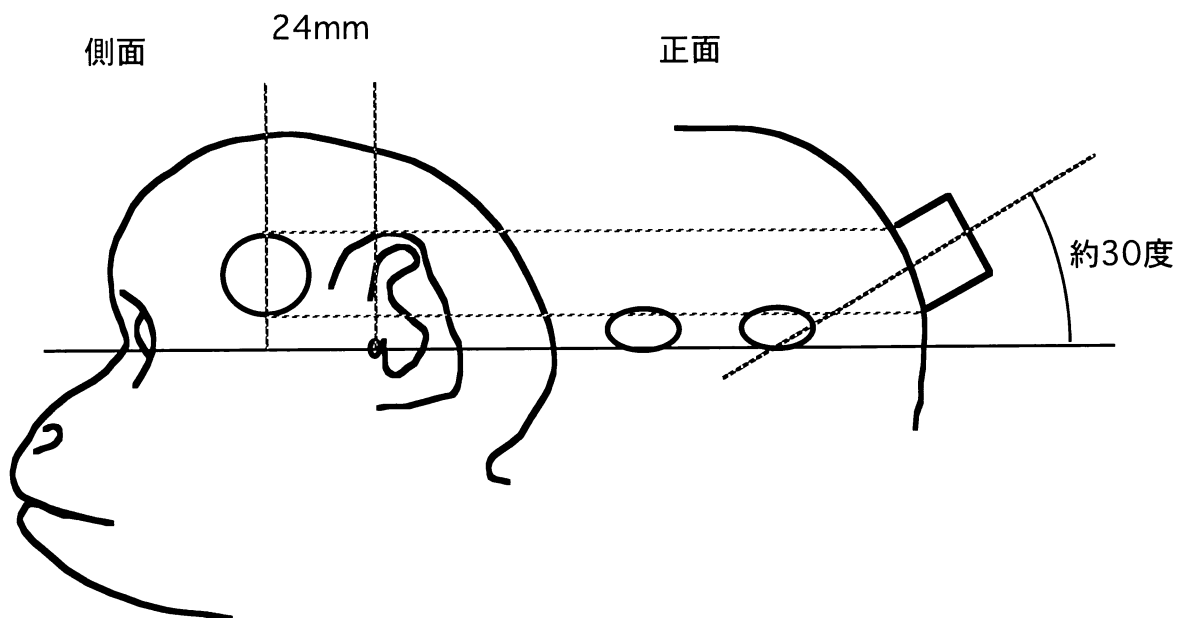


図3 頭骨における開口部とチェンバー固定位置

記録手順

ガラスコートしたエルジロイ微小電極(0.6~1.2 M Ω 、1 kHz)2本を先端2cmを除いて接着させたものを作成した(電極間距離~400 μ m、図4)。リドカイン(8 %)を硬膜に噴霧した後、この電極を硬膜を通して3野およびG野へ刺入し、単一もしくは複数のユニット活動を記録した。ユニット活動は通常のアンプで増幅し(帯域濾過400Hz~3 kHz、図5、図6)、オシロスコープに表示し、かつスピーカーでスパイク音をモニターした。増幅した神経信号はIBMコンパチブルPCに入力し、予め設定した閾値電圧を越えたスパイクを25 μ sの時間分解能で記録した。各々の試行で、洗浄液(人工唾液)から次の洗浄液までの間のスパイク波形、洗浄時間、刺激時間、スパイク発火の時間系列をPCディスプレイ上に表示(図7)し、かつオフライン解析用にハードディスクに記録した (Ifuku et al. 2003)。LabVIEW(National Instruments Co., Texas)を用いて作成した自家製ソフトウェアでデータの記録と解析を行った。記録中はサルの表情をビデオカメラ(Sony Beta HF)を通じて観察し、口腔運動と同期したスパイク発火する口腔関連ユニット活動を同定し(Ito and Ogawa 1994)、これらを解析から除外した。

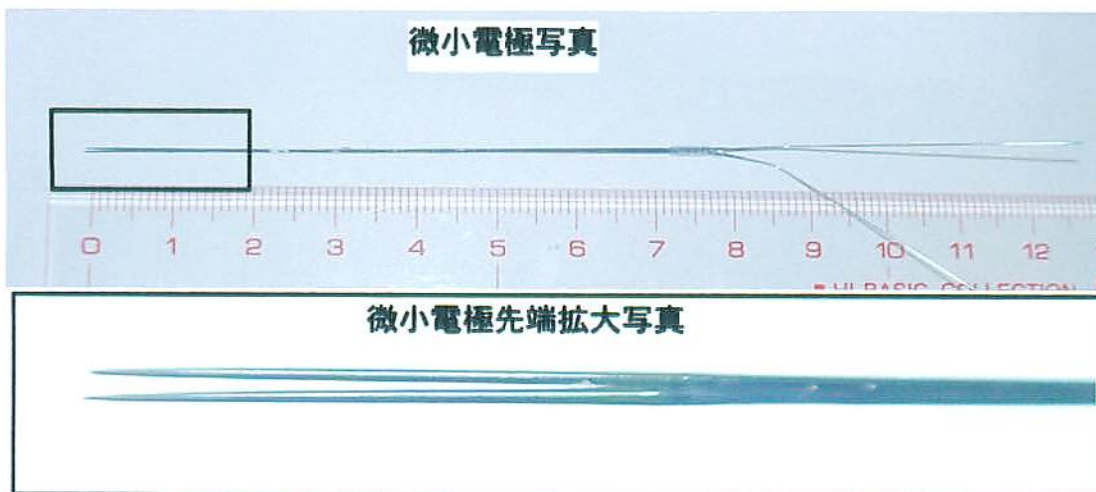


図4 実験に用いた微小電極

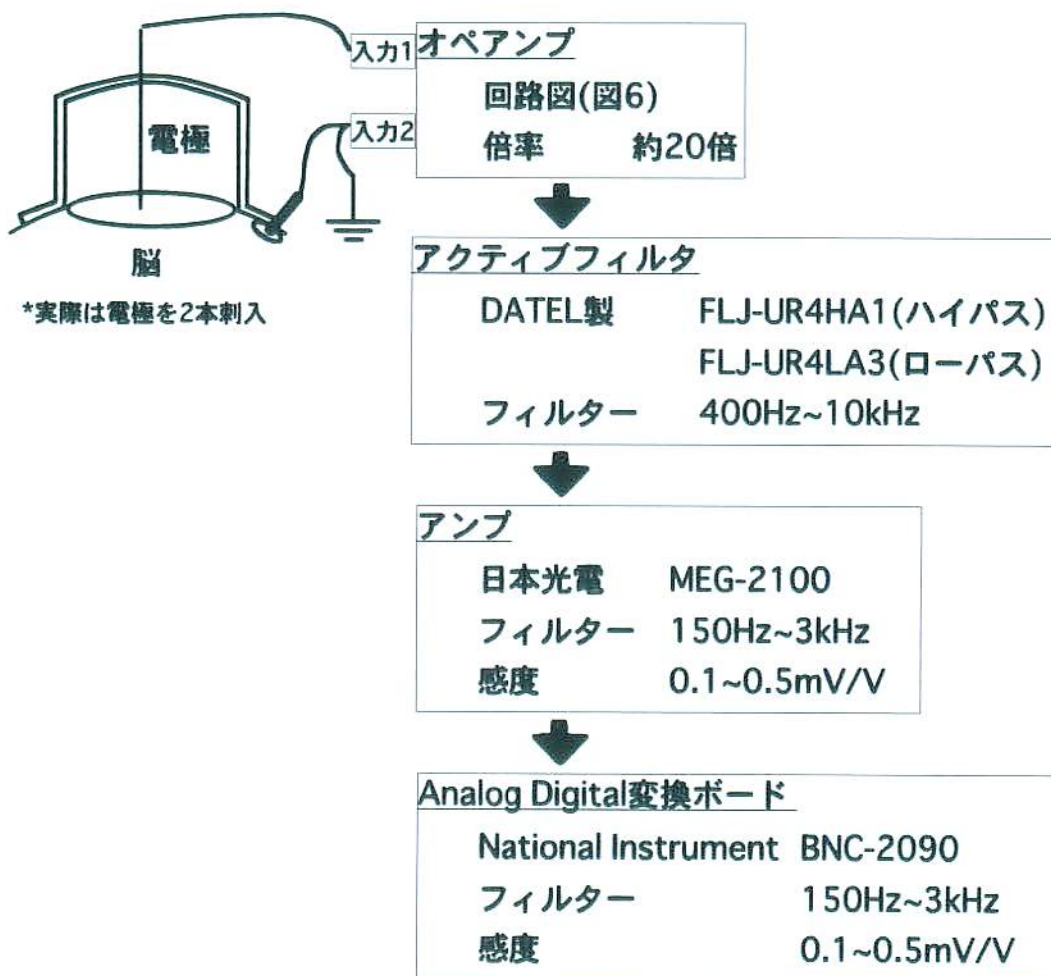


図5 神経活動記録装置配列

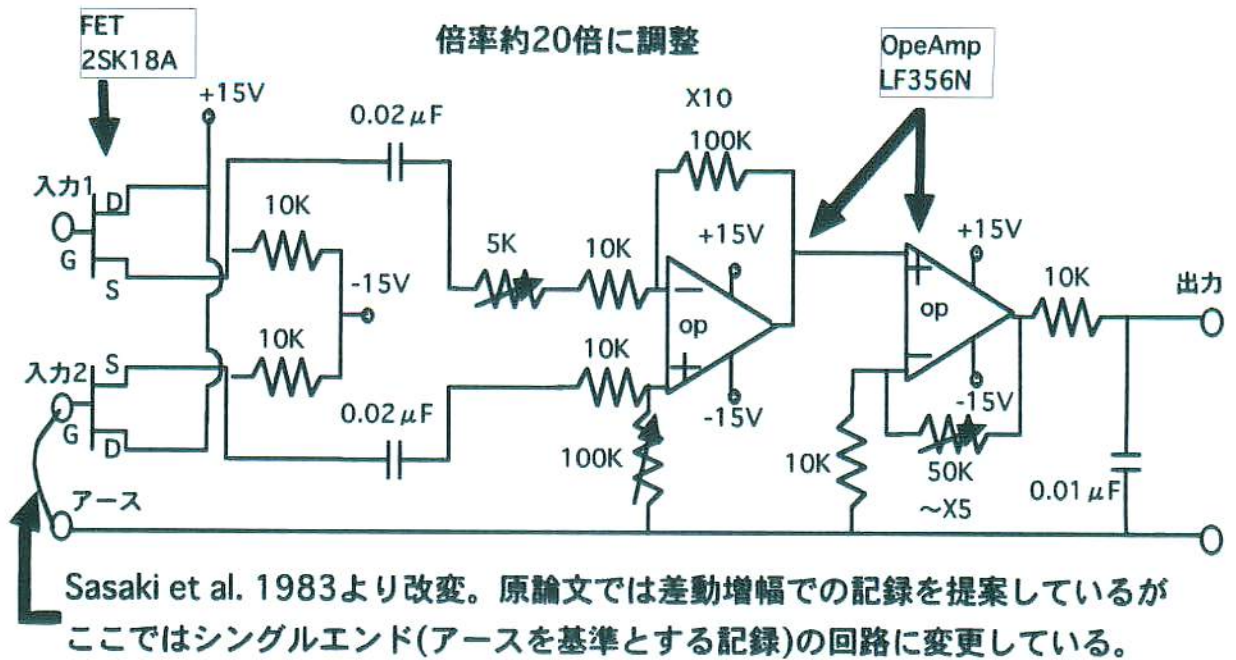


図6 オペアンプ回路図(上記回路図よりオペアンプを自作した)

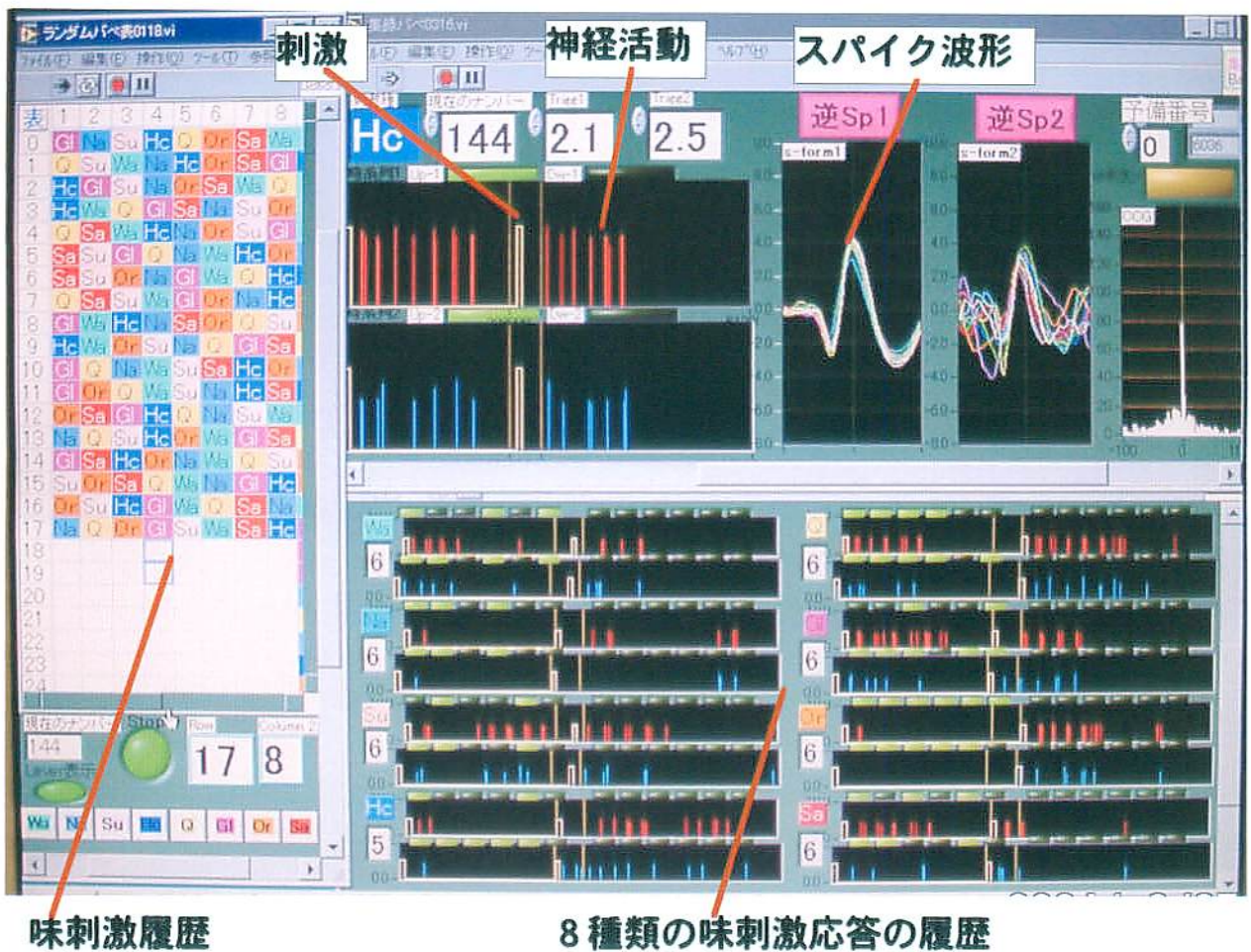


図7 自作実験制御ソフト(刺激制御、スパイク列・波形表示)

スパイク波形のソーティング

クラスターアルゴリズム(Lewicki 1998)を用いたスパイクソート用ソフトウェアをLabVIEWに基づいて作製し(本論文巻末付録に概要説明)、複数のユニット活動から単一のユニット活動を分離した(最大3ユニットまで分離可能)。記録中最低3セット以上刺激を行うことのできた単一ユニット(平均5セット、範囲3~15セット)を解析に用いた。

味覚ユニットの同定

刺激に対する応答の定義

以下に示す2つの条件を満たした時、ユニットは特定の刺激に対して有意に応答したと定義した。

- (1)刺激前3秒間(コントロール期間)と刺激後の3秒間の活動が有意に異なる($P < 0.05$; two-tailed paired *t*-test)。
- (2)正味のスパイク頻度(刺激前3秒間の活動から刺激後3秒間の活動を引く)の平均が1スパイク/秒より大きい。

正味のスパイク頻度の平均を、それが有意であるかないかにかかわらず、応答の大きさを示す値として用いた。

味覚刺激に対する選択性の有無

上記の刺激に対する応答の定義では味覚刺激時に混在する、味覚ではない刺激(例えば触刺激など)の効果を除外できない。体性感覚に反応するユニットは全ての刺激に同じ大きさで反応するのに反し、味覚ユニットはある味刺激に選択的に反応し、全ての味刺激には反応しないと期待される。それゆえ、刺激選択性を調べるため、有意な反応を持つユニットに対して一元分散分析 (one-way ANOVA、 $P < 0.05$) を適用した。さらに、刺激前のコントロール期間の活動が8種類の刺激毎に異なっていないことを

確認し($P>0.05$ 、one-way ANOVA)、自発発火活動の大きな変動で有意になる可能性を除外した。

この上記二つの条件(刺激に対する応答性、味覚刺激に対する選択性)を満たしたものを味覚ユニットとして定義した。この方法は口腔活動関連ユニットを除外し、応答がないにも関わらず、自発発火頻度の低さにより刺激期間中の偶発的な変動を誤って有意な応答として捉えることを除外するのに有用であった。

10秒から12秒毎に刺激を投与することにより3野とG野から味覚ユニットを記録した。8種類の刺激の順序を一セットの中でランダムにすることにより、前の刺激によってもたらされる可能性のある順応効果を最小限にした。明らかな味覚刺激である蒸留水の代わりに人工唾液を用いることにより、サル自らの唾液による洗浄効果を促進させた。3野とG野における全味覚ユニットにおいて、ある刺激に対する応答が前の刺激によって順応を起こすかどうかを一元分散分析を用いて確かめた。ある刺激に対して先行する刺激が一回以下しか無いときは、そのペアを除いて解析した。先行する刺激が後の刺激に対する応答に有意な影響を与えることは確認できなかった($P>0.05$)ため、今回の実験条件では、一つ前の刺激による順応の影響は除外できると考えた。

味覚ユニットの分類

四基本味のなかで最も大きい応答(負の応答の場合は絶対値)を示した味刺激をベスト刺激と定義し、ベスト刺激応答の90%以上の応答を示したものをセカンドベスト刺激と定義した(Ito and Ogawa 1994)。味覚ユニットはこのベストーセカンドベスト刺激によって分類した。

組織

実験終了後、電極より $10\mu\text{A}$ の電流を10秒間通電することにより、位置決めの為の印

をつけ、サルを塩酸ケタミンとペントバルビタールにより深麻酔した後、脳を10%フォルマリン-0.1Mリン酸緩衝液(pH7.4)で灌流固定した。脳を取り出した後、スクロースの濃度を10%、20%、30%と増やししながら、10%フォルマリン-0.1Mリン酸溶液に数週間浸した。凍結した後、冠状面に平行に100 μ m厚にスライスし、チオニンで染色した。記録部位は組織学的に同定し、過去の研究で用いた基準に基づいて記録部領野の細胞構築を同定した(Ogawa et al. 1985)。

データ解析

応答潜時と持続時間

同定した味覚ユニットについて応答潜時と持続時間を計測した。ソレノイドバルブを開くトリガーパルスから実際に舌に溶液が当たるまでの遅延時間をそれぞれの刺激バルブ毎に計測し[平均 67ms(標準偏差SD 6)]、この遅延時間を各々の刺激に対する応答潜時から差し引いた。Perstimulus time histogram (PSTH、ビン幅1ms) を作り、これを正規分布 (SD=100ms) でスパイク密度関数(SDF)に変換した。このSDFのコントロール期間中の平均とSDを計算し、正味の応答が正の値ならば、その平均 + 2SD (負ならば平均 - 2SD) と刺激後のSDFとの交点と、刺激後最初のピーク、この2点の中間線とSDFとの交点をON応答潜時とした (MacPherson and Aldridge 1979)。さらに、その応答潜時から応答のピーク後SDFが再び減少し中間線と交わる(負の応答なら越える)間を持続時間と定義した(図8)。

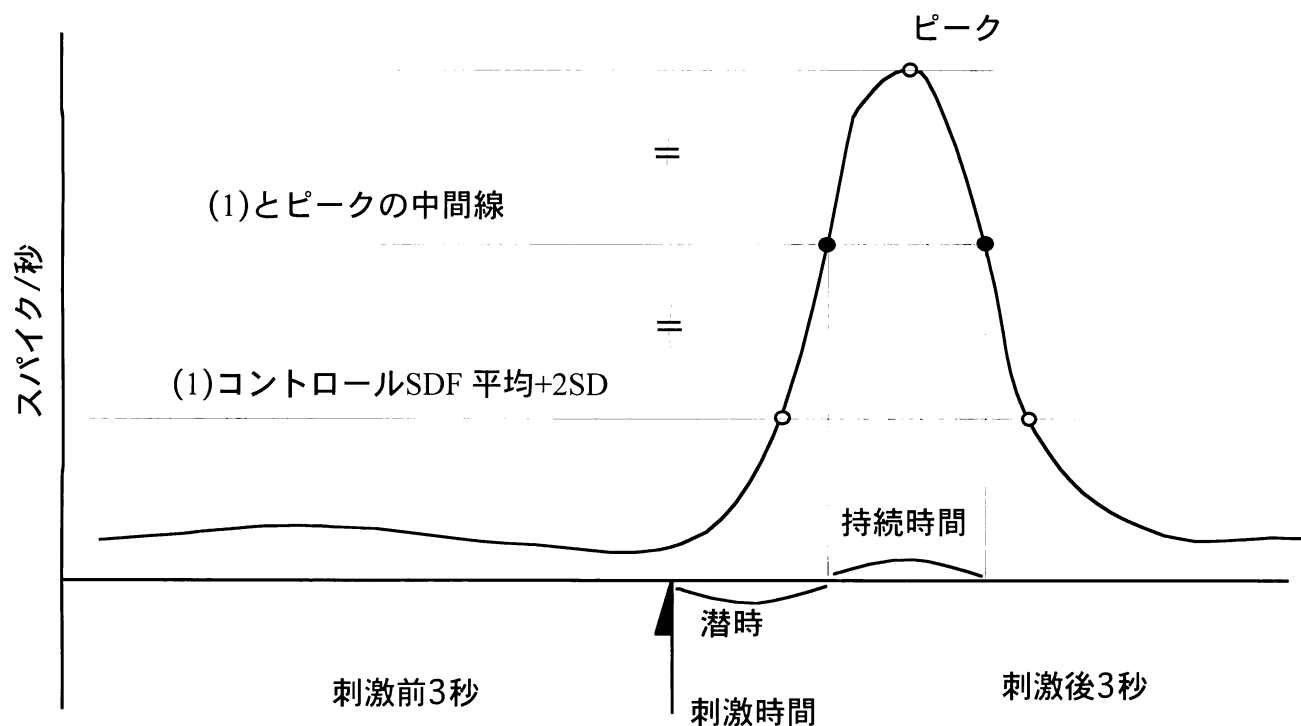


図8 正の応答時の潜時と持続時間

刺激同調(チューニング)の幅広さ

各々の味覚ユニットにおける四基本味刺激に対する刺激同調(の幅広さはエントロピー (H ; Smith and Travers 1979) によって示される。このエントロピーは正の応答値を用いて計算するため、四基本味に対する応答の大きさの絶対値を用いて計算した (Miyaoaka and Pritchard 1996)。

$$H = -1.661 \sum (P_i) \log (P_i) \quad P_i (i = 1 \sim 4)$$

ここで、 P_i は四基本味応答の合計に対する刺激(i)の応答の割合を示す。

多変量解析(クラスター分析、重み付け多次元尺度法)

四基本味に対する応答の大きさを用いて各ユニット同士のピアソンの積算相関係数を計算し(3野、1035ペア；G野、990ペア)、相関係数行列を各々の領野について作成し、クラスター分析を行った (R ver 1.9.1; average agglomeration method)。ま

た、各々の領野で、8種類の刺激に対する味覚ユニットの応答を用いて、各刺激間のピアソン積算相関係数行列[8刺激×Nユニット (3野、N=46；G野、N=45)]を作り、重み付け多次元尺度法を用いて、グループ刺激空間、重み付け空間、3野とG野の個人刺激空間^{注1}を作った(ALSCAL, SPSS)。

注1重み付け多次元尺度は次の重み付けユークリッド距離の定義に基づいている (Takane et al. 1977; Norusis 1994)。

$$d_{ijk} = [\sum w_{ka}(x_{ia}-x_{ja})^2]^{1/2}$$

ここで x_{ia} は次元 a における点 i の位置座標を表し、 $0 \leq w_{ka} \leq 1$ で、 d_{ijk} は被験者 k によって知覚された刺激 i と j の間の距離である。誤差のない簡単な場合では、上記の式から次の等式が得られる。

$$D^{(2)}_k = \text{Diag}(XW_kX^t)I_nI_n^t - 2XW_kX^t + I_nI_n^t\text{Diag}(XW_kX^t)$$

ここで $D^{(2)}$ はメトリックもしくはノンパラメトリックな仮定の下に得られる被験者 k の非類似度から得られる pseudoscalar products 行列である。 X はグループ刺激座標行列で、 W_k は被験者 k の重み行列を表している。 I_n は要素が全て1の n 次元ベクトル。

$\text{Diag}(XW_kX^t)$ は行列 XW_kX^t の対角成分を抽出する。個人刺激空間における被験者 k の座標行列はグループ刺激空間 X と重み W による下記の等式から得られる。

$$X_k = XW^{1/2}_k$$

結果

記録部位

4つの大脳半球から3野とG野から味覚ニューロンを記録し、3野では3セット以上刺激を行うことができたもの422のユニット、G野では3セット以上刺激を行うことができた167ユニットを得ることができた(全体の電極刺入回数は330回)。このうち3野からは46個(10.9%)の味覚ユニット、G野からは45個(26.9%)の味覚ユニットを同定した。

図9に味覚ユニットの記録部位を再構成した脳地図を示す。

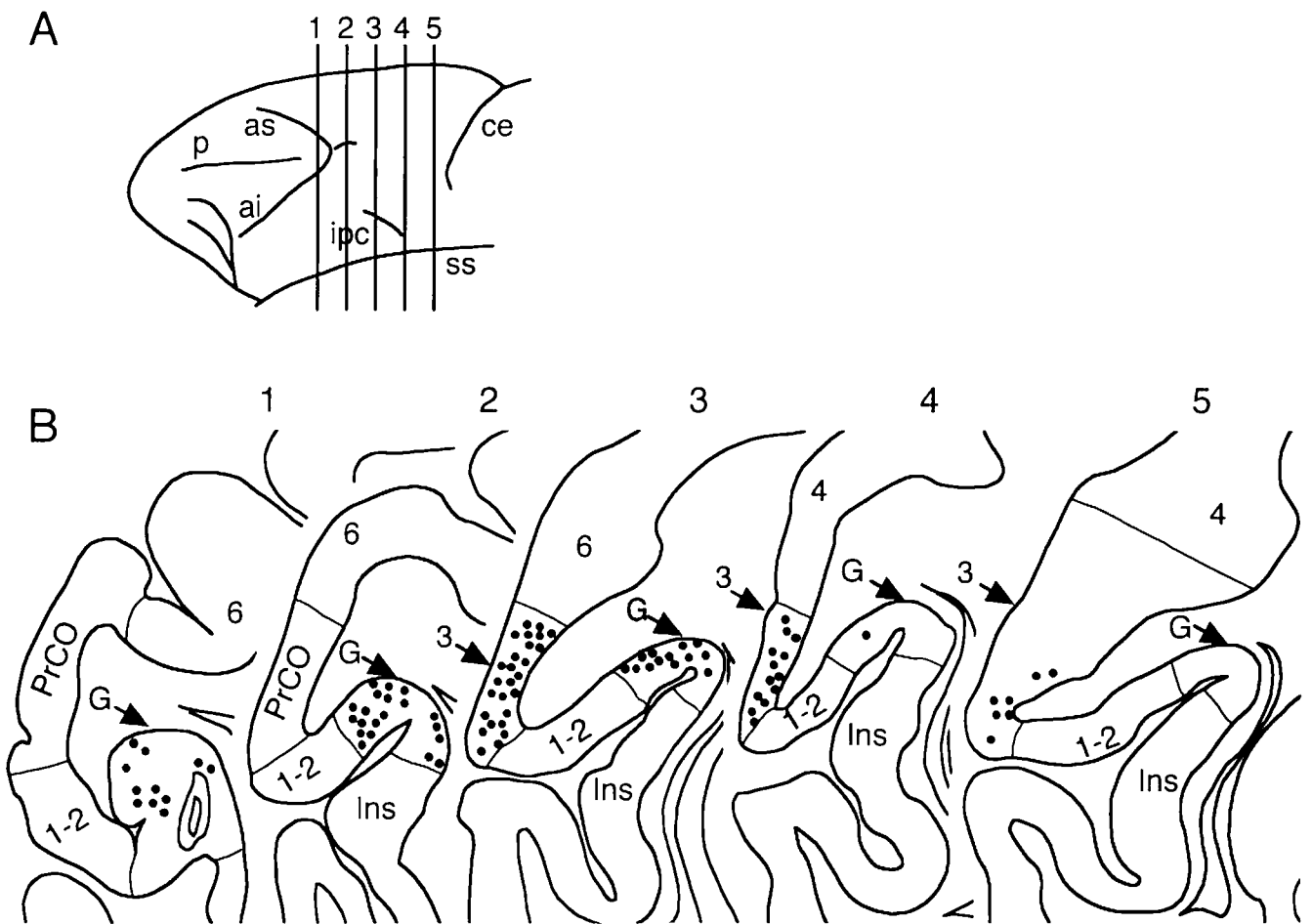


図9 味覚ユニットが記録された部位の構成地図

A:調べた領域の大脳半球外側面。線1~5はBにおける代表面の前後レベルを示している。ai、inferior arcuate sulcus; as、superior arcuate sulcus; ce、central sulcus; ipc、inferior precentral sulcus; p、principal sulcus; ss、sylvian sulcus。B:3野とG野の味覚ユニットの記録部位。アラビア数字はBrodmannによる領野の名前を示す。G、G野； Ins、島； PrCO、precentral operculum。

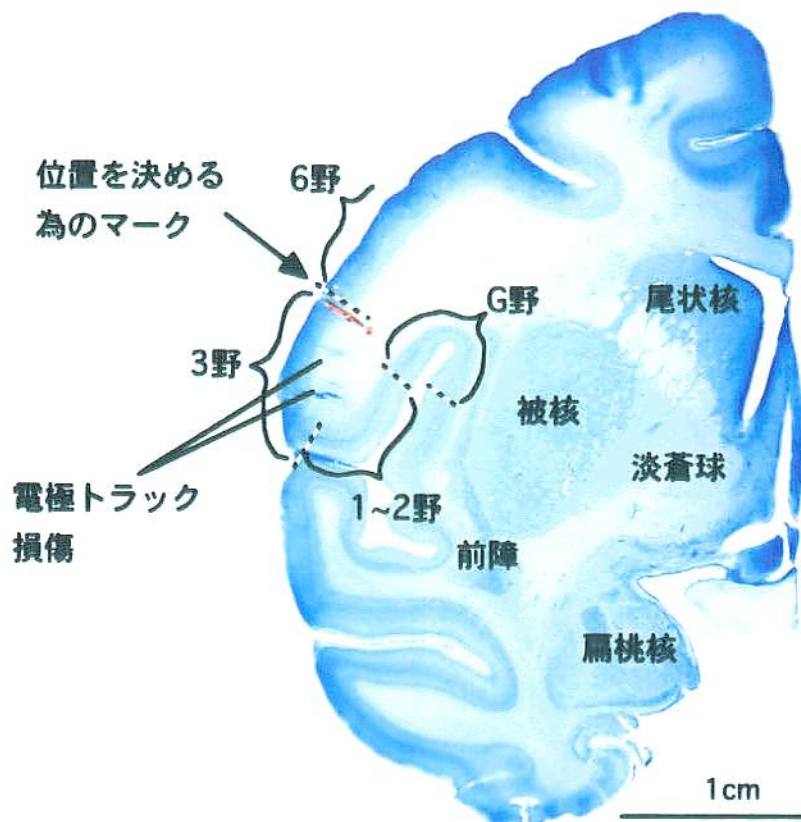


図10 組織写真

3野とG野での四基本味に対する応答性

図11のAとBに3野とG野から記録された味覚ユニットの発火パターンの例を示す。これらのユニットは8刺激のいくつかに応答して(刺激選択性)、一過性の発火を生じている。両野で記録された味覚ユニットの応答プロファイルを図12のAとBに示す。濃い灰色はベストもしくはセカンドベスト刺激応答を示し、薄い灰色は有意であった応答を示す。

3野の味覚ニューロンをベスト刺激カテゴリーで分類すると、9個のS-ベスト、10個のN-ベスト、16個のH-ベスト、5個のQ-ベスト味覚ユニットに分類できた。残りの6つ(U-ユニット)は四基本味に反応せず、オレンジジュース(U-1、2、3、4)もしくは人工唾液(U-5、6)にのみ反応した。四基本味に対する応答選択性をみると、46個のうち5個が四基本味全てに反応し、9個は四基本味のうち3つ、12個は2つ、14個は1つ

の基本味に応答した。一方、G野では、14個のS-ベスト、8個のN-ベスト、6個のH-ベスト、10個のQ-ベスト味覚ユニットに分類できた。残りの7つ(U-ユニット)は四基本味に応答せず、グルタミン酸ソーダ(U-1、2、3)、蒸留水(U-2、4、5)、オレンジジュース(U-2、4、6、7)もしくは人工唾液(U-6)に応答した。四基本味に対する応答選択性は、45個のうち1個が四基本味全てに応答し、5個は四基本味のうち3つ、10個は2つ、22個は1つの基本味にのみ応答した。G野と比較して、3野ではH-ベスト味覚ユニットが多く、Q-ベスト味覚ユニットが少なかった。

両野のほとんど全ての味覚ユニットにおいて、刺激に対して興奮性の応答が見られたが、3野G野とも2つの味覚ユニットが抑制性の応答のみを示し、3野の3ユニット及び、G野の5ユニットが刺激によって抑制性または興奮性の応答を示した。

8種の刺激に対する応答の大きさの平均を各領野毎に図12中に示した。各領野において、四基本味に対する応答の大きさの平均は有意に異ならなかった(one-way ANOVA; area 3、 $F [3,180]=0.39$ 、 $P=0.76$; area G、 $F [3,176]=0.96$ 、 $P=0.41$)。塩化ナトリウムに対する応答の大きさの平均はG野より3野のほうが大きかったが($P=0.023$ 、Mann-Whitney *U*-test)、他の基本味に関しては両野で違いは見られなかった($P > 0.05$ 、Mann-Whitney *U*-test)。

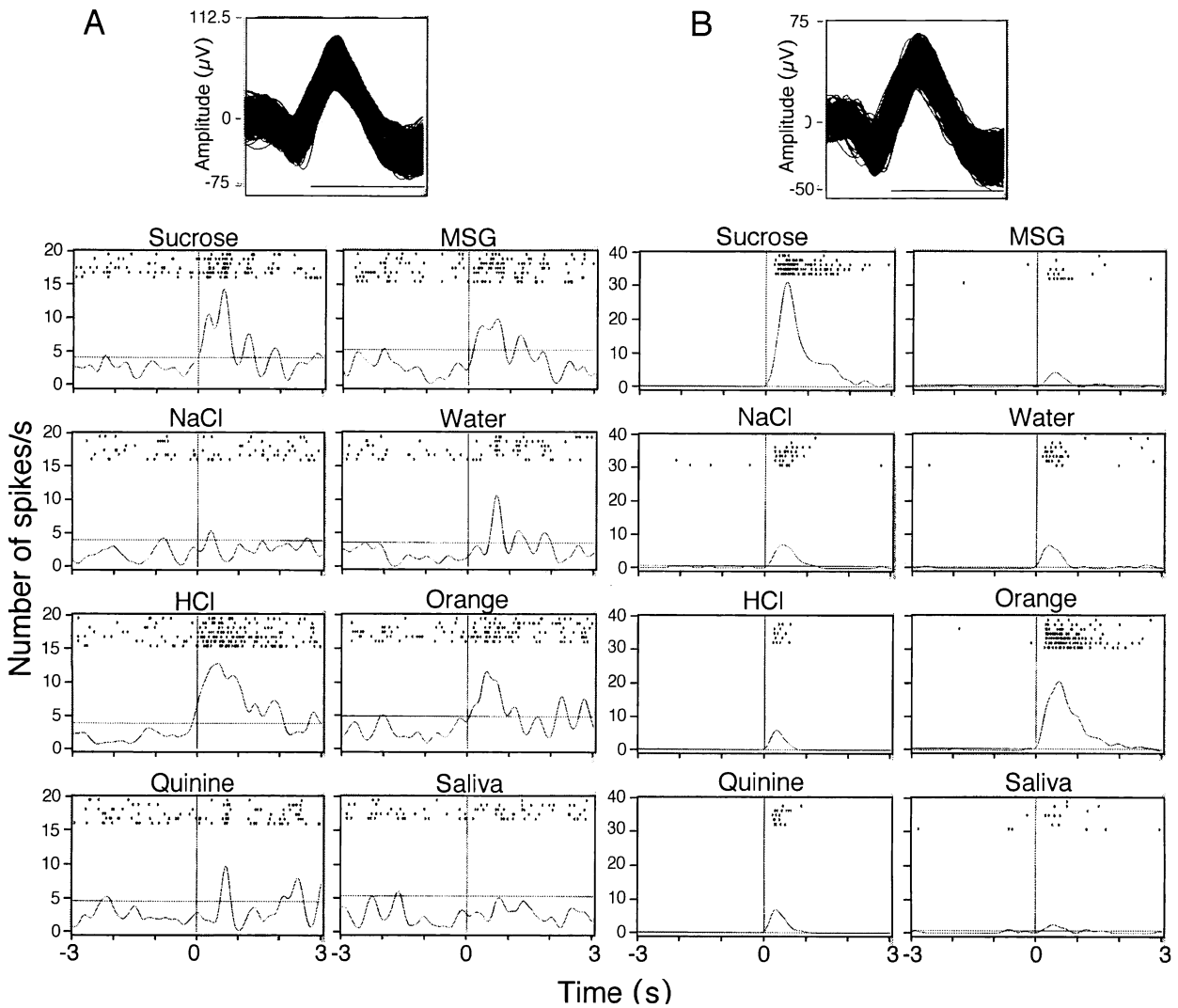


図11 3野とG野における味覚ユニット応答のラスタ表示とスパイク密度関数
 A: 中程度の自発発火をし、四基本味のうち塩酸に最も良く応答する、3野の味覚ユニット(H-7、図12A)。B: 低い発火頻度でスクロースに最も良く応答するG野の味覚ユニット(S-4、図12B)。味刺激(0.36ml)は0秒時に投与された。SDFの水平線はコントロール期間活動の平均+2SDを示している。スパイク波形図の水平バーは1msを示している。

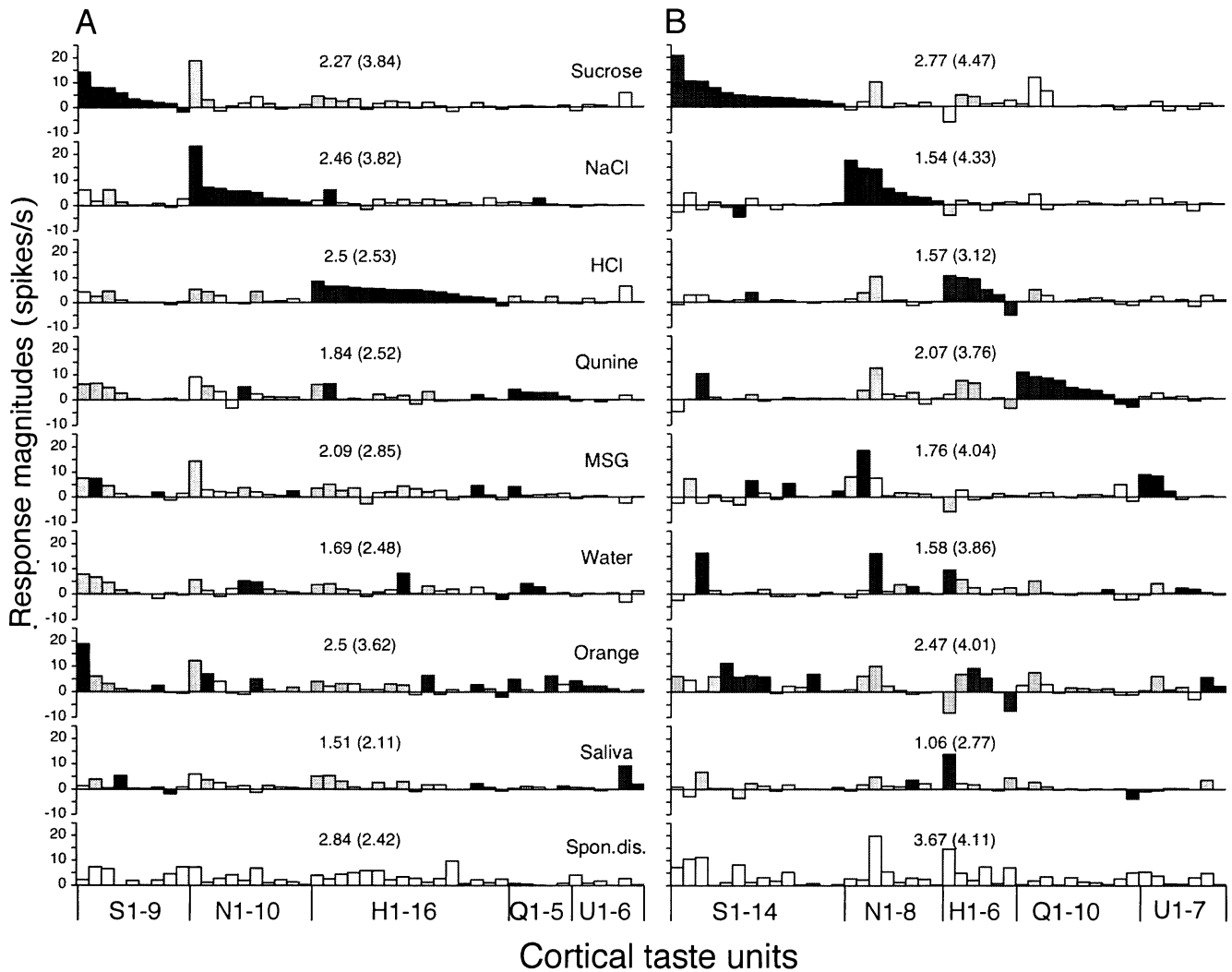


図12 8種の味刺激に対する味覚ユニットの応答プロファイル(3野: 46個、G野: 45個) 四基本のうちもっとも大きい応答を生ずる刺激によって分類し、左から右へと配置した。濃い灰色棒はベスト刺激とセカンドベスト刺激を表している。薄い灰色棒は有意に応答したものを示してある。図中の数字は3s間の正味の平均応答量(SD)を示している。S、N、H、Q はそれぞれスクロース、塩化ナトリウム、塩酸、キニーネを表している。Uは四基本味には応答しなかったがそれ以外の刺激に応答したユニットを示す。平均自発発火を図の下部に示した。

自発発火頻度

図12の下部に両野における味覚ユニットの平均自発発火を示した。味覚ユニット全体の平均自発発火は、3野では2.84 スパイク/秒(SD 2.42；範囲0～9.73)、G野では3.67 スパイク/秒(SD 4.11；範囲0～19.89)であった。3野よりG野の方で自発発火が、有意では無いが、大きい傾向を示した。図13に各味覚ユニット毎の自発発火の平均値の分布を領野ごとに示す。分布は0～1スパイク/秒のところを最大になり左に歪んでいた。両野間の自発発火の分布には有意の差異がなかった($P=0.66$ 、Mann-Whitney U -test)。

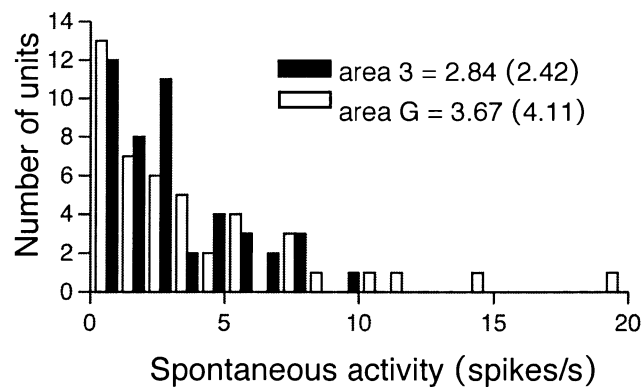


図13 自発放電分布

3野とG野における自発放電分布。黒棒は3野における味覚ユニット($n=46$)の自発放電を、白棒はG野(における味覚ユニットの自発放電($n=45$))をそれぞれ示す。図中の数字は、各々の領野の自発発火の平均(SD)を表す。

刺激同調(チューニング)の幅広さ

味覚ユニットの四基本味に対する刺激同調の幅広さをエントロピーで評価し、その分布を図14に示す。味覚ユニットのエントロピーの平均は、3野では0.81 (SD 0.13)、G野では0.72 (SD 0.21)であった。G野の方が小さい傾向であったが有意ではなかった

($P = 0.060$, Mann-Whitney U -test)。G野の味覚ユニットの17%が0.4付近に位置し、狭いチューニングを持つ味覚ユニットの存在が示唆され、それらは3つのS-ベスト(S-5、S-8、S-11)、2つのN-ベスト(N-1、N-8)、3つのQ-ベスト(Q-1、Q-4、Q-5)、1つのU-ユニット(U-7)であった。3野では同じ範囲に2つのユニット(S-5、S-6)しか見られなかった。

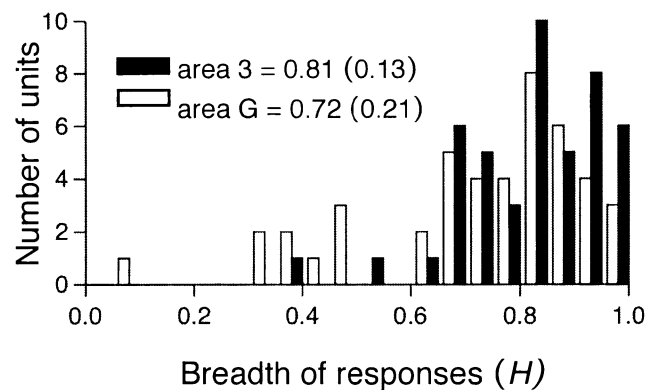


図14 刺激同調の幅広さ；エントロピー

3野とG野における四基本味に対する刺激同調の幅広さの分布。刺激同調の幅広さはエントロピーで表してある。黒棒は3野における味覚ユニット($n=46$)のエントロピー、白棒はG野における味覚ユニット($n=45$)のエントロピーをそれぞれ示す。図中の数字は、各々の領野のエントロピーの平均(SD)。

8刺激におけるアクロスニューロンパターン

各領野において、8刺激のアクロスニューロンパターン across neuron pattern を調べる為に、刺激間のピアソンの積算相関係数を計算した(表1)。表中の3野の相関係数がG野の相関係数と有意に異なるものは星印をつけた。28のペアのうち14ペアが両野間で有意に異なった($P < 0.05$, Snedecor and Cochran 1989)。有意に異なったペアのうち、蒸留水と人工唾液間の相関係数を除いた、ほとんどの係数は3野の方がG野より大きかった。片方が塩酸であるペアでは両野間で有意な差は無く、塩化ナトリウムを

含むペアでも、スクロースもしくはキニーネとのペアを除いて、両野間で差は見られなかった。塩酸は他の刺激との相関係数が両野で類似しており、塩化ナトリウムは他の7つの刺激とのペアのうち2つだけが両野間で有意に異なった。一方、他の刺激ペアでは7つの組み合わせのうち4つから5つは両野間で有意な違いが見られた。

	S	N	H	Q	MSG	W	OR	SA
3野								
スクロース	1							
塩化ナトリウム	0.69**	1						
塩酸	0.39	0.26	1					
キニーネ	0.70**	0.63*	0.41	1				
MSG	0.76**	0.77	0.38	0.71**	1			
蒸留水	0.58*	0.47	0.31	0.62	0.70**	1		
オレンジジュース	0.72	0.51	0.36	0.64*	0.66*	0.52*	1	
人工唾液	0.49**	0.37	0.5	0.53	0.36*	0.20**	0.23*	1
G野								
スクロース	1							
塩化ナトリウム	0.03	1						
塩酸	0.13	0.2	1					
キニーネ	0.16	0.21	0.57	1				
MSG	0.02	0.71	0.1	0.11	1			
蒸留水	0.21	0.18	0.58	0.6	-0.02	1		
オレンジジュース	0.55	0.22	0.38	0.3	0.25	0.05		
人工唾液	-0.03	-0.01	0.46	0.29	-0.15	0.67	-0.24	1

表1 3野(n=46)とG野(n=45)における8刺激の刺激間相関係数

S、N、H、Q、MSG、W、OR、SAはそれぞれスクロース、塩化ナトリウム、塩酸、グルタミン酸ソーダ、蒸留水、オレンジジュース、人工唾液を表している。3野の値がG野と有意に異なる場合、星印(**と*は、それぞれ有意水準が0.01、0.05)を付した。

応答潜時と持続時間

各領野における応答潜時と持続時間の分布を図15のA、Bに示す。有意な応答全体の平均応答潜時と持続時間の平均は、3野で369 ms (SD 387)、434 ms (SD 341)、G野

で448 ms (SD 384)、667 ms (SD 561)であった。持続時間が3秒を越えるものは両野でほとんど見られなかった。全体の応答潜時は3野の方がG野よりも有意に短かった ($P=0.010$ 、Mann-Whitney U -test)。さらに、各味刺激別に比較すると、蒸留水応答に関してのみ3野の方がG野より短かった ($P=0.034$ 、Mann-Whitney U -test、表2)。一方、全応答の持続時間はG野より3野の方が有意に短く ($P=0.00002$ 、Mann-Whitney U -test)、各味刺激別に比較すると、キニーネ応答に関してのみ3野の方が短かった ($P=0.010$ 、Mann-Whitney U -test、表2)。

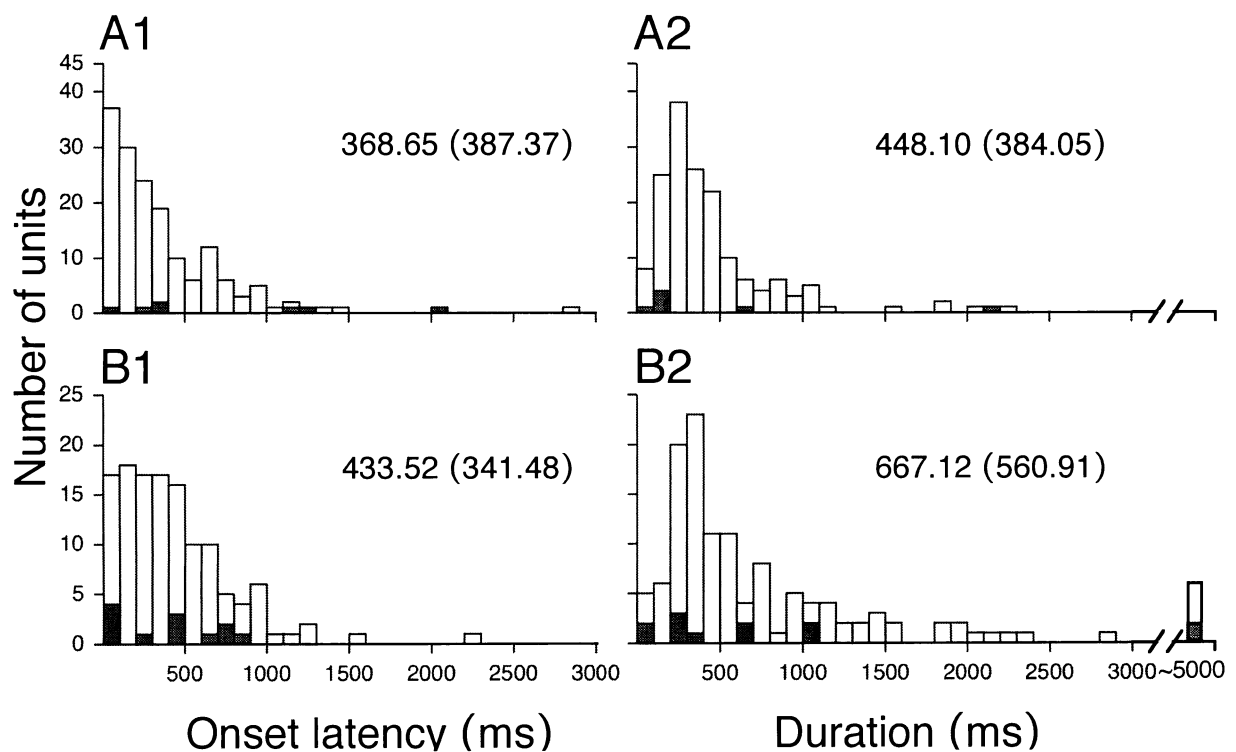


図15 3野味覚ユニット応答(A; n=160)とG野味覚ユニット応答(B; n=126)の潜時と持続時間

A1とB1;3野とG野における味覚ユニットの応答潜時の分布。A2とB2;3野とG野における味覚ユニットの応答持続時間の分布。図中の数字は平均値(SD)。灰色の棒は抑制応答における潜時と持続時間。

	全体	スクロース	塩化ナトリウム	塩酸	キニーネ	MSG	蒸留水	オレンジジュース	Saliva
3野									
潜時	369 (387)**	339 (362)	348 (351)	508 (449)	425 (605)	310 (225)	208 (177)*	398 (383)	283 (306)
持続時間	448 (384)**	428 (428)	410 (390)	494 (435)	880 (267)**	433 (250)	403 (134)	634 (605)	257 (182)
n	160	20	20	23	21	20	17	23	16
G野									
潜時	434 (341)	572 (502)	253 (128)	401 (354)	480 (340)	464 (282)	454 (379)	428 (277)	312 (272)
持続時間	667 (561)	1164 (578)	541 (346)	1008 (1226)	1123 (1093)	1242 (809)	1816 (482)	1122 (1169)	405 (388)
n	126	18	11	12	19	14	15	24	13

表2 3野とG野における8刺激に対する応答潜時と持続時間の平均(標準偏差)
3野の値がG野と有意に異なる場合星印(**と*は、それぞれ有意水準が0.01、0.05)を示した。

クラスター分析

味覚ユニット間における相関係数行列に階層性クラスター分析を適用すると、各領野で4つの大きなグループに分けられた。両野の樹状図dendrogramを図17のAとBに示す。クラスターを構成する要素のベスト刺激分類に基づいて各クラスターを特徴づけた(S、N、Q、Hクラスター)。3野では、G野と比較してH-クラスターが最も大きく、S-クラスターが一番小さかった。四基本味に反応しないU-ユニットは各領野で独立したクラスターを形成しなかった。各クラスターの異なり具合を一元分散分析を用いて調べた所、G野では各々のクラスターを特徴づける刺激の応答(S-クラスターならばスクロースに対する応答)が他のクラスターのそれとは有意に異なっていた($F[3, 41]$ 、 $P < 0.05$)。しかし、3野では、塩化ナトリウムと塩酸の応答が4つのクラスター間で異なっているものの($F[3, 42]$ 、 $P < 0.05$)、スクロースとキニーネに対する応答は各クラスター間で差は見られなかった($F[3, 42]$ 、 $P > 0.05$)。この有為性の欠如はおそらく、クラスター分析では分散分析で対象とする応答の大きさを用いて計算するのではなく、ユニット間の相関係数を用いて計算されている事によるためと思われる。

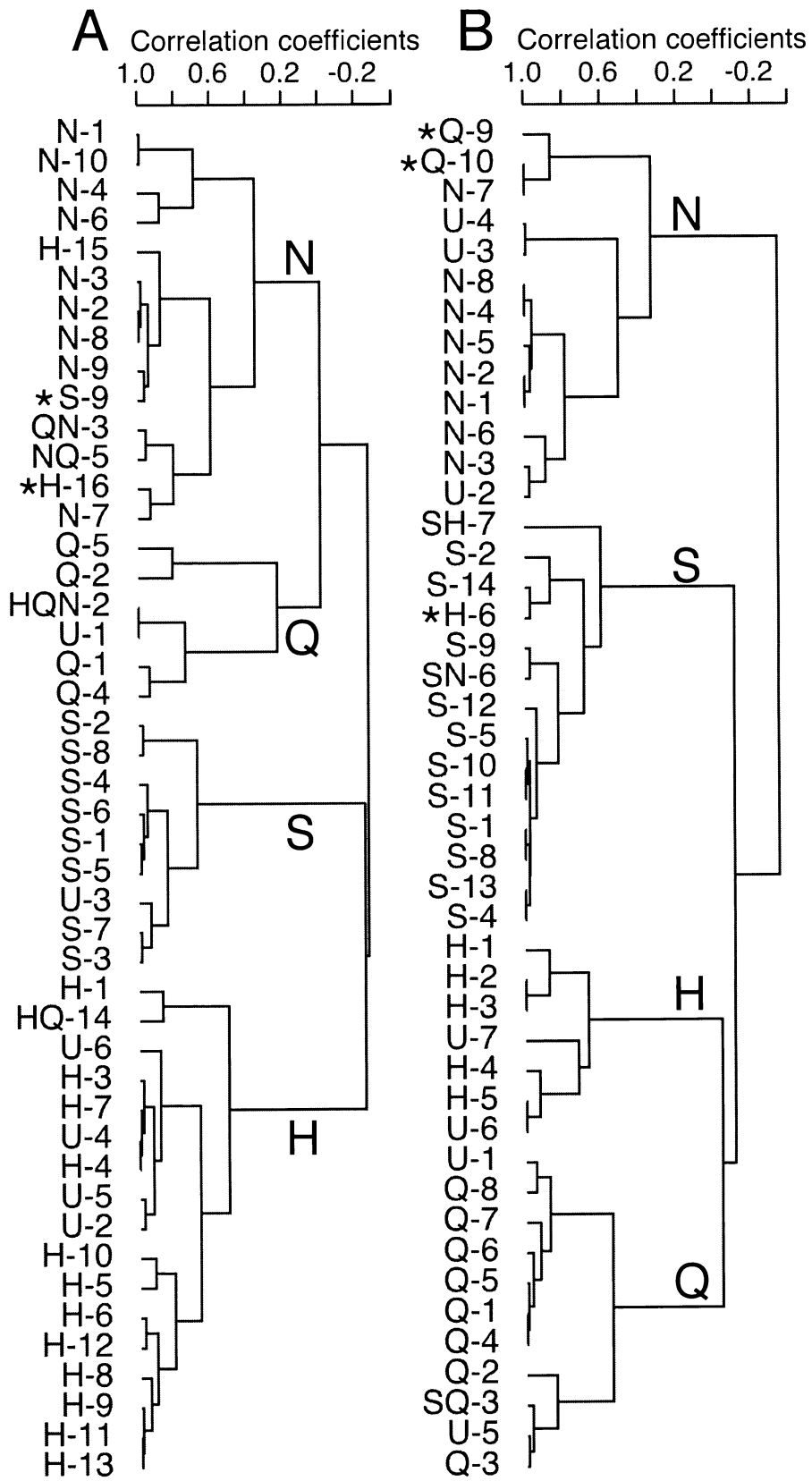


図16 階層性クラスター分析による味覚ユニット(A、3野; 46個; B、G野; 45個)の樹状図

応答プロファイルの類似度(ピアソン積算相関係数)に基づいて計算してある。ユニットは、図4に示したベスト刺激による分類の名称を記した。2つ目の文字がある場合はセカンドベスト刺激を示した。応答の大きさの絶対値で相関係数を計算していないため、ベスト刺激に抑制的に応答した味覚ユニット(星印)はそのベスト刺激のクラスターには位置していない。

多次元尺度空間と重み付け空間

3野とG野における刺激間の相関係数行列に重み付け多次元尺度法を適用することにより、両野における刺激間の関係を調べた。刺激の空間付置は、2次元でのみ決定することが許された[squared correlation (RSQ) = 0.79]。2次元の味刺激空間(グループ味刺激空間)を図17Aに示す。この空間は3野とG野の味覚ユニットによって共有される刺激構造を再現している。四基本味に関して、塩化ナトリウムと塩酸は次元2の値は余り差がないにも関わらず次元1の値は大きく異なり、2つの刺激を結ぶ線は次元1と略平行であった。一方、スクロースとキニーネは次元1の値は殆ど同じで次元2の値が大きく異なっていて、スクロースとキニーネを結ぶ線は次元2と平行に位置した。残りの刺激はその四基本味の四面体の外に位置した。図17Bに重み付け空間を示す。この空間の重みづけベクトルは3野、G野がそれぞれ、味刺激空間の各次元にどのように重みづけているかを示している。3野、G野とラベルされたベクトルは各領域における、次元1、2に対する重み付けを表している。このグループ刺激空間と重み付け空間から計算された、個人刺激空間を図17CとDに示す。3野の刺激空間(図9C)では、味刺激が次元1に沿って3つのグループ(N-MSG-W-OR、S-Q、H-SA)を形成した。一方、G野の刺激空間(図9D)では、次元2に沿って、2つのグループ(H-Q-W、S-MSG-OR)とNとSAにぼんやりと分けられた。

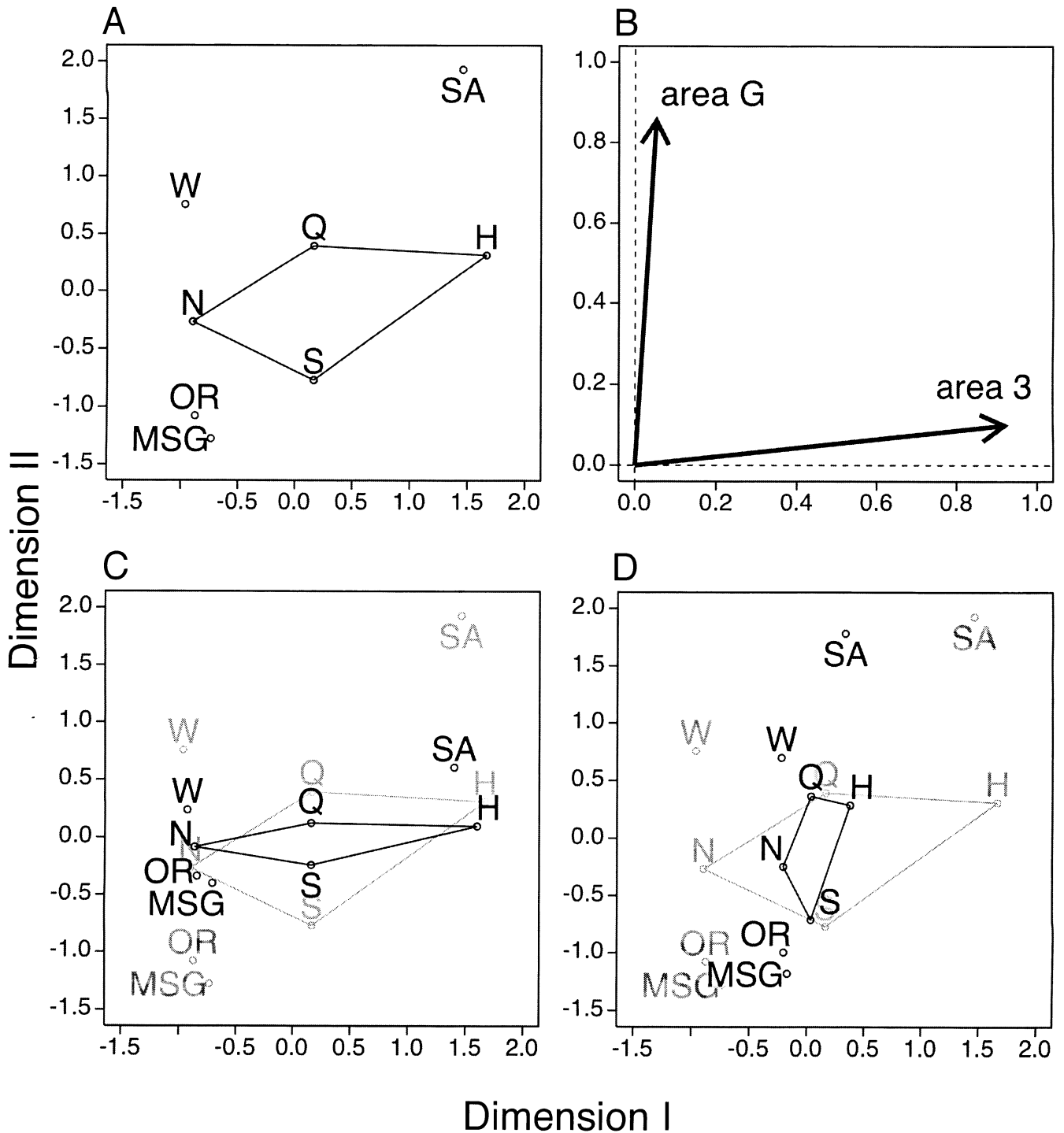


図17 3野とG野の味覚ユニットによって共有される2次元味覚空間(A)、重み付け空間(B)、個人刺激空間(C、D)

重み空間(B)では次元の重みづけが各々の領野で異なっていることを示している。標識されたベクトルの向きは各領野が各次元に対してどのように重みづけているかを示している。CとD;3野とG野の個人刺激空間(黒)。グループ刺激空間を灰色で示した。

考察

刺激投与方法の妥当性

今回の研究では、サルは自らの唾液で口腔内を常に洗浄しているが、10～12秒毎に0.36mlの味刺激を行い、蒸留水の代わりに人工唾液(0.36ml)を洗浄液として味刺激間に投与した。先行する刺激がその後の刺激効果に影響は与えることはなかった。少量の刺激液に対する応答は、ほとんどの場合、刺激後3秒内に終わり、スパイク放電頻度は自発発火レベルに戻った。サルは今回の実験と略同じ刺激間隔(約15秒)で手掛かり刺激が与えられる味覚弁別GO/NOGOタスクにおいて、味覚手がかり刺激を弁別することができることがわかっている(Ito et al. 2001; Ifuku et al. 2003)。

3野とG野の比較

これまでの誘発電位研究(Benjamin et al. 1968; Benjamin and Burton 1968; Ogawa et al. 1985)とトレーサー法による神経径路追跡の研究(Kusama et al. 1985; Pritchard et al. 1986)によって、サルにおいてG野と中心前回の3野とは味覚を再現する第一次味覚野であることが示唆されてきた。小川らはサルの3野において数個の味覚ユニットを記録した(Ogawa et al. 1989; Ito and Ogawa 1994; Ifuku et al. 2003)。また、Landgren (1957)はネコを用いて視床味覚中継核が投射する体性感覚野(Burton and Earls 1969)で数個の味覚ユニットを記録している。しかしながら、これらの研究はその数の少なさの為、3野における味覚ユニットの詳細な特性を明らかにすることは不可能であった。本研究では、中心前回の3野より8種の刺激に応答する味覚ユニットを多数記録し、G野と比較しながらその応答特性を調べ、3野とG野における味覚情報処理の違いを明らかにした。

味覚応答の時間経過

塩化ナトリウム-蒸留水弁別遅延GO/NOGO課題における神経活動の記録で、井福ら(2003)は手がかり味刺激(0.1M 塩化ナトリウムと蒸留水)に対する潜時と持続時間の平均がG野[潜時: 492 ms (SD 474)、持続時間: 1480 ms (SD 725)]と比べて3野[潜時: 357 ms (SD 388)、持続時間: 1090 ms (SD 447)]で短いとを報告した(潜時、 $P < 0.05$; 持続時間、 $P < 0.001$ 、Student's *t*-test)。この知見は今回の8種の刺激を用いた実験でも確認され、応答全体の潜時と持続時間はG野より3野の方が短かった($P < 0.01$ 、Mann-Whitney U-test)。

BenjaminとBurton (1968) は視床の味覚中継核である後腹側内側核小細胞部(VPMpc) から投射を受けている3野とG野の一方を破壊してもVPMpcのニューロンには変性が起きず、3野とG野を両方破壊して初めて変性がおきることから、視床味覚中継核のニューロンはその軸索を分岐させて3野とG野に投射している(sustaining projection)という仮説を立てた。もしそうであるならば、両野へは視床の中継核から同じ情報が伝達されているであろう。潜時が異なるので両野へ投射する軸索の直径も含めて視床から皮質への機能的な距離が違うかもしれない。舌における味覚情報を中枢へ伝える鼓索神経と舌咽神経の電気刺激による誘発電位の潜時はG野より3野で短いと報告されており(Benjamin et al. 1968; Ogawa et al. 1985)、そのことから味覚応答潜時もG野より中心前回の3野で数ミリ秒短い可能性がある。しかしながら、今回の所見と過去の報告(Ifuku et al. 2003)によると、3野とG野のニューロンの味刺激に対する平均応答潜時の差は上記の仮説で期待される値より遥かに大きい。このことは、G野のいくつかの味覚ユニットは3野のユニットと比較してかなり長い潜時の入力を受けていることを示唆している。また、いくつかの鼓索線維はある味刺激に対して長い応答潜時を持つことが示されている(Sato et al. 1975)。

一方、両野間で応答持続時間も異なっていた。もし、同じ味覚情報を分岐した軸索を通じて受けているのならば、両野における味覚入力の時間的経過に差異がないはずであるから、両野における持続時間の違いは、恐らく、両野の神経回路に於ける情報処理の様式が異なっていることを反映しているかもしれない。

味覚-質的情報のコーディング

クラスター分析(図17)により、特定のベスト刺激を共有するユニットで構成された4つの大きなクラスターが両野で見いだされた。このことは、各クラスター中の要素の大きさ(数)が両野で異なるけれども、各クラスターが、要素(味覚ユニット)の共有するベスト刺激を再現すると仮定するならば、両野とも四つの基本味を再現していると考えられる。

重み付け多次元尺度法はしばしば個人差尺度法と言われ、被験者の応答を生み出す知覚認知過程について共通の構造と個人差を説明する為に開発された(Norusis 1994)。得られた刺激空間と重み付け空間は個人に共通な刺激構造についての情報と個人各々に独特な情報を再現する。本研究ではこの方法を用いて、8刺激に関する共通の2次元構造と重み付け空間を計算した。各々の領野に割り付けられた特有の重み付けベクトルは、各々の領野における味覚情報の特異的な側面を明らかにした。四基本味を頂点に持つ味覚四面体taste tetrahedronにおいて、3野は塩化ナトリウムと塩酸を結ぶ線に重み付けをし、G野はスクロースとキニーネを結ぶ線を重みづけをしていることが分かった。

グループ味刺激空間と重み付け空間から得られる個人味刺激空間に於いて、3野とG野とは異なっていた。G野では8刺激が緩やかにH-Q-W、S-MSG-OR、塩化ナトリウム、SAの4つのクラスに分かれた。一方、3野の味刺激空間では、N-MSG-W-OR、S-Q、H-SAの3クラスに明らかに分けられた。塩酸は両野において、おそらく無味の

刺激である、蒸留水ないしは唾液とグループを形成していた。このことは、塩酸が前頭弁蓋部と島付近においてあまり味応答を惹起しないという所見や(Scott and Plata-Salaman 1999)、また、行動的な応答も誘発しないという報告(Pritchard et al. 1988)と一致している。G野のH-Q-WとS-MSG-ORのグループにおいて、前者は不快な味(Q)や無味の味液(HとW)を含み、後者は栄養的な(動物にとって嗜好性の高い)味刺激を含んでいた。則ち、G野でグループを構成した味刺激は3野では分離され、QとS、SAとH、残りの味液に分かれた。このことはG野で分離が不十分であった味液は3野で明らかに分離され、また3野で分離が不十分であった味液はG野で分離されるを示している。つまり、中心前回の3野とG野はお互いに味覚再現を補っていることが示唆された。

前頭眼窩野は不快もしくは快的な質を持つ様々な刺激(味刺激を含む)に応答するユニットが存在し(Rolls 2004)、主にG野から、一部は3野からの投射を受けている(Baylis et al. 1995)。中心前回の3野は6野の腹側部であるproisocortical motor (ProM; もしくはprecentral operculum (PrCO))へ投射している(Ciprolloni and Pandya 1999)。このPrCOには多くの味覚ニューロンが存在しているが(Ito and Ogawa 1994; Ifuku et al. 2003)、その四基本味に対する応答性は十分研究されていない。

サルの3野中心前回伸長部に相当するヒトの脳領域

陽電子放射断層撮影(PET)、機能的磁気共鳴画像(fMRI)、脳磁図(MEG)といった非侵襲的な脳画像技術を用いた研究では、2つのグループがそれぞれ異なる領域をサルのG野に相当するとして主張している。則ち、一つのグループは外側溝の奥にある前頭弁蓋部と島前部を含む領域を(Small et al. 1997)、他方は頭頂弁蓋部と島間の移行部(Kobayakawa et al. 1999)を、それぞれ一次味覚野として主張している。一方、ヒト

の43野(Cerf-Ducastel et al. 2001)もしくは中心溝の腹側端(Kobayakawa et al. 1999)がサルにおける3野前方突出部に一致すると考えられている。小早川ら(1999)は、触覚刺激を生じない味液投与方法を用いて、中心溝の腹側端に、saccharinでは出なかったが、塩化ナトリウムによって誘発される磁場の変化を見いだした。MEGでは脳回に賦活部位があると磁場の検出器に対して垂直となり、賦活を検知できないため、saccharinの応答が中心溝付近に本当に無いとは言えない。Cerf-Ducastelらは(2001)ピリピリする塩酸と収斂性の硫酸アルミニウムカリウムの2つの体性感覚味覚刺激を用いてローランド弁蓋部(43野)に賦活を見出し、風味における体性感覚要素の再現にローランド弁蓋部)が関わっていると示唆した。

本研究で味覚ユニットは味覚選択性を示し、体性感覚応答を持つユニットは今回の研究から除外した。一方で、三叉神経舌枝(舌神経)は3野の中心前回への伸長部へは投射するがG野へは投射しないことから、3野の味覚ユニットはG野と比べてより多くの体性感覚ユニットの中に混在していることが予想できる。これらを考え合わせると、サル3野の中心前回への伸長部に存在する味覚ユニットは、ある特別な刺激条件では、味覚情報と体性感覚情報の両者を統合する可能性もありうるだろう。

結論

本研究では覚醒ザルを用いて、これまで2つある大脳皮質第一次味覚野の一つで、今まで研究の対象となっていなかった、ブロードマン3野の中心前回伸長部より多数の味覚ユニットを初めて記録することが出来た。3野の味覚ユニットはG野の味覚ユニットとは異なった応答特性を示した。さらに、両野は互いに補いながら味覚の異なる側面を再現していることが示唆された。もし3野が投射する高次味覚野の特性が明らかになるならば、2つの第一次味覚野が味覚情報処理においてどのような役割を成しているのかが更に詳細にわかるであろう。

参考文献

Baylis LL, Rolls ET, and Baylis GC. Afferent connections of the caudolateral orbitofrontal cortex taste area of the primate. *Neuroscience* 64: 801-812, 1995.

Benjamin RM and Burton H. Projection of taste nerve afferents to anterior opercular-insular cortex in squirrel monkey (*Saimiri sciureus*). *Brain Res* 7: 221-231, 1968.

Benjamin RM, Emmers R, and Blomquist AJ. Projection of tongue nerve afferents to somatic sensory area I in squirrel monkey (*Saimiri sciureus*). *Brain Res* 7: 208-220, 1968.

Burton H and Earls F. Cortical representation of the ipsilateral chorda tympani nerve in the cat. *Brain Res* 16: 520-523, 1969.

Cerf-Ducastel B, Van de Moortele PF, MacLeod P, Le Bihan D, and Faurion A. Interaction of gustatory and lingual somatosensory perceptions at the cortical level in the human: a functional magnetic resonance imaging study. *Chem Senses* 26: 371-383, 2001.

Ciprolloni PB and Pandya DN. Cortical connections of the frontoparietal opercular areas in the rhesus monkey. *J Comp Neurol* 403: 431-58, 1999.

Eastoe JE. The chemical composition of saliva. In: *Biochemists Handbook*, edited by C. Long. Princeton, New Jersey: Van Nostrand Co. Inc, 1961, p. 907-911.

Gordon G, Kitchell R, Strom L, and Zotterman Y. The response pattern of taste fibres in the chorda tympani of the monkey. *Acta Physiol Scand* 46: 119-

132, 1959.

Hirata S, Nakamura T, Ifuku H, and Ogawa H. Taste neurons in the oral representation region of area 3 and its neighbors in the frontal operculum in macaque monkeys. *Jpn J Physiol* 53 (Suppl.): S244, 2003.

Ifuku H, Hirata S, Nakamura T, and Ogawa H. Neuronal activities in the monkey primary and higher-order gustatory cortices during a taste discrimination delayed GO/NOGO task and after reversal. *Neurosci Res* 47: 161-175, 2003.

Ito S and Ogawa H. Neural activities in the fronto-opercular cortex of macaque monkeys during tasting and mastication. *Jpn J Physiol* 44: 141-156, 1994.

Ito S, Ohgushi M, Ifuku H, and Ogawa H. Neuronal activity in the monkey fronto-opercular and adjacent insular/prefrontal cortices during a taste discrimination GO/NOGO task: response to cues. *Neurosci Res* 41:257-66, 2001.

Kobayakawa T, Ogawa H, Kaneda H, Ayabe-Kanamura S, Endo H, and Saito S. Spatio-temporal analysis of cortical activity evoked by gustatory stimulation in humans. *Chem Senses* 24: 201-209, 1999.

Kusama T, Fujioka M, Miyakawa Y, and Fujii M. Connections of the fronto-parietal operculum and the postcentral gyrus with the posterior ventral thalamic nucleus, especially its medial nucleus, in monkeys. *J Hirnforsch* 26: 317-331, 1985.

Kusama T and Mabuchi M. Stereotaxic atlas of the brain of macaca fuscata. Tokyo: University of Tokyo press, 1970.

Landgren S. Convergence of tactile, thermal, and gustatory impulses on single cortical cells. *Acta Physiol Scand* 40: 210-221, 1957.

Lewicki MS. A review of methods for spike sorting: the detection and classification of neural action potentials. *Network* 9: R53-R78, 1998.

MacPherson JM and Aldridge JW. A quantitative method of computer analysis of spike train data collected from behaving animals. *Brain Res* 175: 183-187, 1979.

Miyaoka Y and Pritchard TC. Responses of primate cortical neurons to unitary and binary taste stimuli. *J Neurophysiol* 75: 396-411, 1996.

Norusis MJ. *SPSS Professional statistics 6.1*. Chicago, IL: SPSS Inc, 1994, p. 186-222.

Ogawa H. Gustatory cortex of primates: anatomy and physiology. *Neurosci Res* 20: 1-13, 1994.

Ogawa H, Ito S, and Nomura T. Two distinct projection areas from tongue nerves in the frontal operculum of macaque monkeys as revealed with evoked potential mapping. *Neurosci Res* 2: 447-459, 1985.

Ogawa H, Ito S, and Nomura T. Oral cavity representation at the frontal operculum of macaque monkeys. *Neurosci Res* 6: 283-298, 1989.

Ogawa H, Yamashita S, Noma A, and Sato M. Taste responses in the macaque monkey chorda tympani. *Physiol Behav* 9: 325-331, 1972.

Pritchard TC. The Primate Gustatory System. In: *Smell and Taste in Health and Disease*, edited by T. V. Getchell et al. Raven Press, New York, 1991,

p.109-125.

Pritchard TC, Hamilton RB, Morse JR, and Norgren R. Projections of thalamic gustatory and lingual areas in the monkey, *Macaca fascicularis*. *J Comp Neurol* 244: 213-228, 1986.

Pritchard TC, Hamilton RB, and Norgren R. A single-bottle preference test for use with monkeys. *Chem Senses* 13:728, 1988.

Rolls ET. The functions of the orbitofrontal cortex. *Brain Cogn* 55: 11-29, 2004.

Sanides F. The architecture of the cortical taste nerve areas in squirrel monkey (*Saimiri sciureus*) and their relationships to insular, sensorimotor and prefrontal regions. *Brain Res* 8: 97-124, 1968.

Sasaki K, Ono T, Nishino H, Fukuda M, and Muramoto KI. A method for long-term artifact-free recording of single unit activity in freely moving, eating and drinking animals. *J Neurosci Methods* 7:43-7, 1983

Sato M, Ogawa H, and Yamashita S. Response properties of macaque monkey chorda tympani fibers. *J Gen Physiol* 66:781-810, 1975.

Scott TR and Plata-Salaman CR. Taste in the monkey cortex. *Physiol Behav* 67: 489-511, 1999.

Scott TR, Yaxley S, Sienkiewicz ZJ, and Rolls ET. Gustatory responses in the frontal opercular cortex of the alert cynomolgus monkey. *J Neurophysiol* 56: 876-890, 1986.

Small DM, Zald DH, Jones-Gotman M, Zatorre RJ, Pardo JV, Frey S,

and Petrides M. Human cortical gustatory areas: a review of functional neuroimaging data. *Neuroreport* 10: 7-14, 1999.

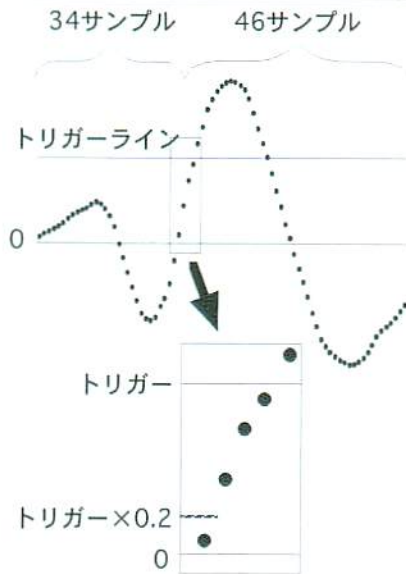
Smith DV and Travers JB. A metric for the breadth of tuning of gustatory neurons. *Chem Senses*. 4: 215-229, 1979.

Snedecor GW and Cochran WG. *Statistical methods* eighth edition. Iowa: Iowa State University Press, 1989, p.188-189.

Takane Y, Young FW, and Leeuw JD. Nonmetric individual differences multidimensional scaling: an alternating least squares method with optimal scaling features. *Psychometrika*. 42: 7-67, 1977.

波形ソート概略

スパイク記録

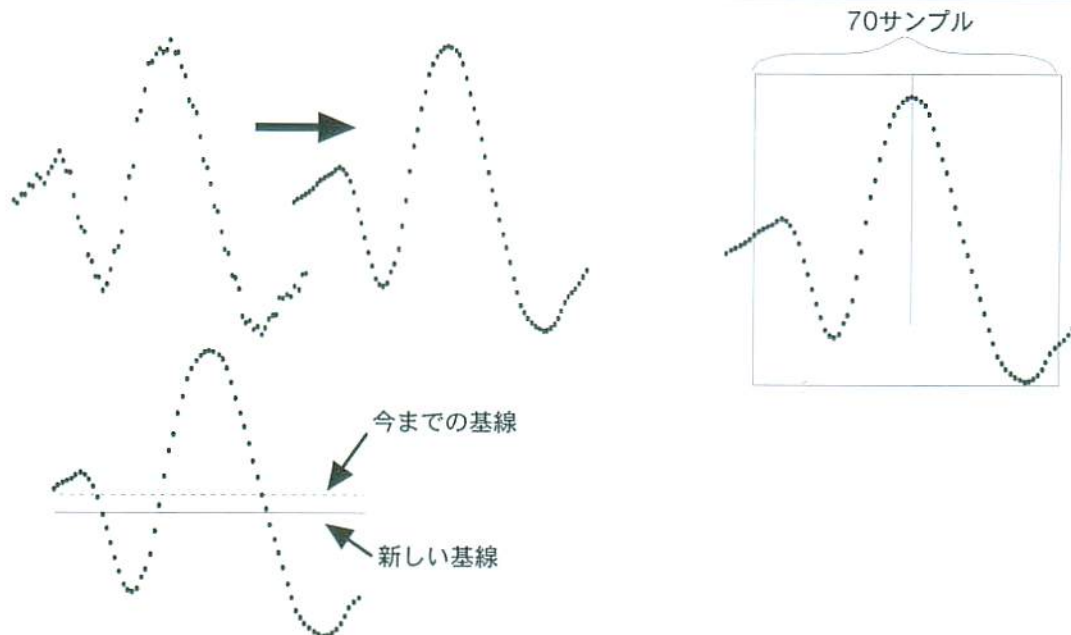


記録設定		
時間解像度	25 μ s	スパイクの幅は約1msなので一つのスパイクを40個のサンプルで表す
トリガー	トリガーを越えかつ、その4サンプル前がトリガーの値×0.2より低い時に	スパイクの立ち上がりを捉えるため
	そのトリガーを越える前34サンプルと越えた後46サンプルを収録する	記録されるスパイクのピークがちょうど中心になる様に前を短く後ろを長くサンプルしている

スパイクソート

①ソート前処理

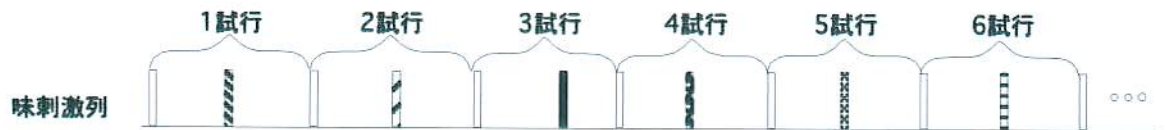
操作	方法	目的説明
1 スムーズにする	5bin-kernel (Gauss)	細かなノイズ除去のため
2 スパイクピークを中心にする	35~44サンプル中の最大値を中心とし、70サンプル取り出す	各スパイクでピークがずれているので、各スパイク同じサンプル数にする為に80から70サンプルにする
3 基線を決定する	2で得られた70サンプルの平均を基線とする	基線もノイズの影響を受けていると予想されるため、基線決定の条件を各スパイクで統一する



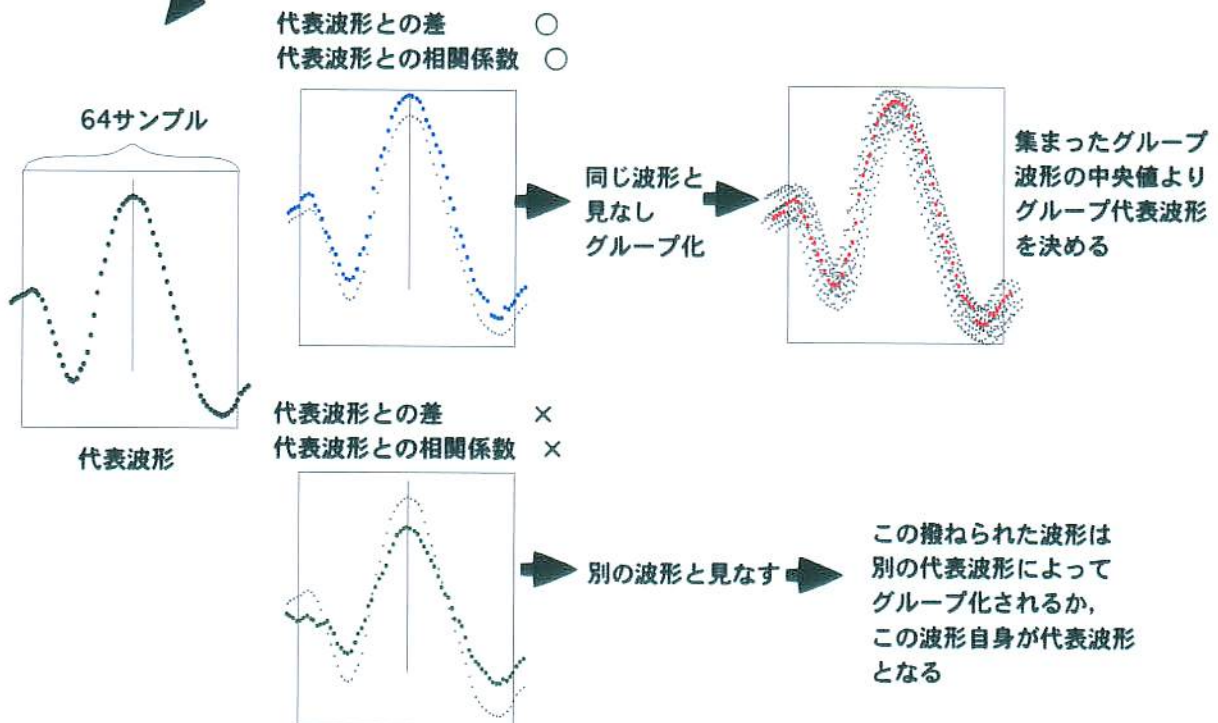
②一試行毎のソート

[一試行中(10~12秒ほど)では、一つのニューロンのスパイクはほぼ同じスパイク波形と考えられるので、まず、試行毎にスパイクソートを行う]

操作	方法	目的説明
1 代表スパイクを決める	一施行中の最初のスパイクを代表とし、その波形の64サンプルで以下の操作を行う	初期操作
2 代表スパイクと同じ波形をグループ化する	代表スパイクと他のスパイクの差と相関係数で比較、同じと見なせればグループに組み込む。差はスパイクの振幅によって許容範囲を変化させた。	同じと見なせるスパイクをグループにする
3 次の代表スパイクを決める	これまでの操作でグループにならなかった残りのスパイクのうち一施行中の最初のスパイクを代表とする	
4 2へ戻る		残りのスパイクがなくなるまで続ける
5 集まったグループの代表波形を決める	グループ波形の中央値から代表波形を計算	パソコンの処理能力に合わせる為



まずは一試行分ずつスパイクをソートしていく



③グループ代表波形による一試行毎のソート

	操作	方法	目的説明
1	グループ代表波形から代表波形を決める	一実行中の最初のグループ代表波形を代表とし、その波形の58サンプルで以下の操作を行う	初期操作
2	代表波形と同じ波形をグループ化する	代表波形と他の波形の差と相関係数で比較、同じと見なせればグループに組み込む。差はスパイクの振幅によって許容範囲を変化させた。	同じと見なせる波形をグループにする
3	次の代表スパイクを決める	これまでの操作でグループにならなかった残りの波形のうち一実行中の最初のグループ波形を代表とする	
4	2へ戻る		残りのグループ波形がなくなるまで続ける
5	集まったグループの代表波形をさらに決める	グループ波形の集合波形の中央値から代表波形を再計算	パソコンの処理能力に合わせる為
6	1~5の操作をもう一度行う	今度は52サンプルで操作1~5を行う	ソート効果を上げるため

④全ての試行におけるグループ代表波形を用いたソート

	操作	方法	目的説明
1	グループ代表波形から代表波形を決める	全ての実行中の最初のグループ代表波形を代表とし、その波形の52サンプルで以下の操作を行う	初期操作
2	代表波形と同じ波形をグループ化する	代表波形と他の波形の差と相関係数で比較、同じと見なせればグループに組み込む。差はスパイクの振幅によって許容範囲を変化させた。	同じと見なせるグループ波形をグループにする
3	次の代表スパイクを決める	これまでの操作でグループにならなかった残りの波形のうち一実行中の最初のグループ波形を代表とする	
4	2へ戻る		残りのグループ波形がなくなるまで続ける
5	集まった波形を取りあえず一つの波形と見なす		この後の操作は人的に行う

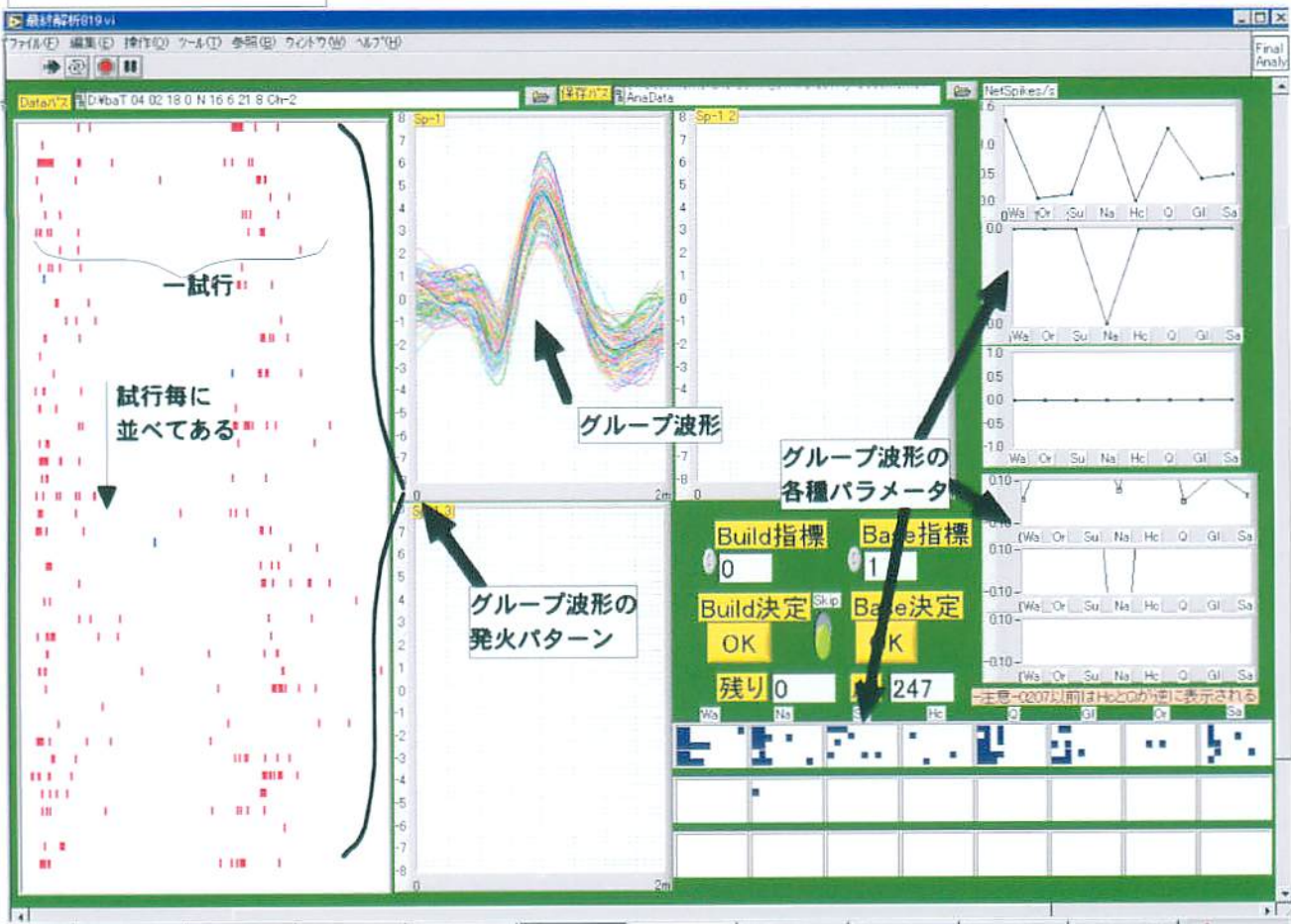
⑤ 手動による波形ソート

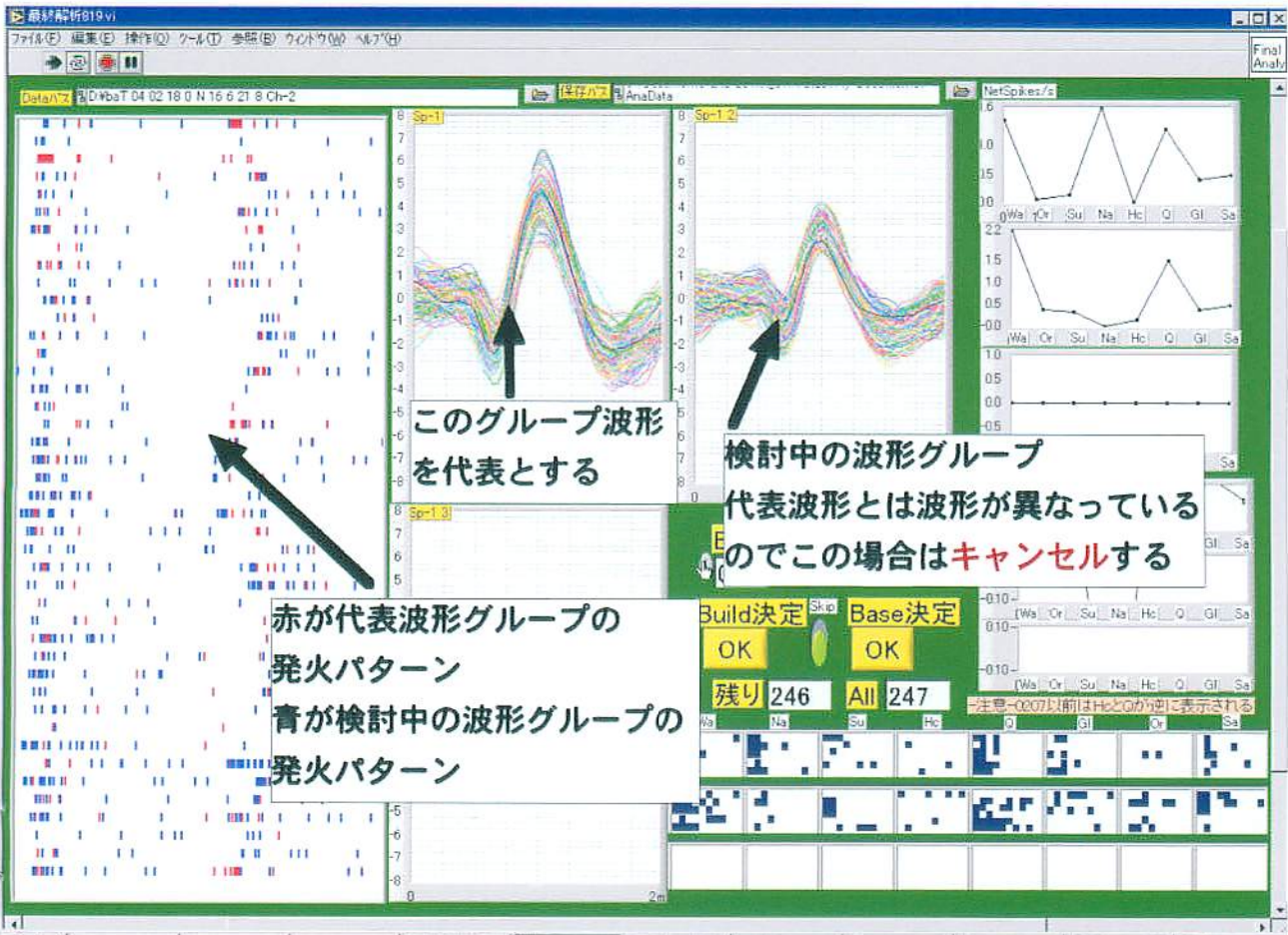
LabVIEWによる自作ソフト(下図)を用いて、これまでパソコンで自動的にソートした波形をさらに手動でソートしていく

操作	方法	目的説明
1 グループ代表波形から代表波形を決める	グループ波形の中から、手動で代表を選ぶ	初期操作
2 代表波形グループと同じ波形グループをグループ化する	代表波形グループとその他の波形グループを波形を重ねてみたり、発火パターンやその他のプロパティを参考にしてグループ化していく	同じと見なせる波形グループをグループにする
3 次の代表波形グループを決める	これまでの操作で残ったグループ波形のうちから手動で代表を選ぶ	
4 2へ戻る		

これらの操作を経たものを単一ニューロンによる波形とする。

自作波形ソートソフト





代表グループ波形と一致する例

