

# 顔反応性細胞の表情に対する選択性の潜時： 側頭葉視覚皮質と扁桃体の比較

稲垣 未来男<sup>†</sup> 藤田 一郎<sup>†</sup>

<sup>†</sup> 大阪大学大学院生命機能研究科 〒560-8531 大阪府豊中市待兼山町 1-3

E-mail: <sup>†</sup> {inagaki, fujita}@fbs.osaka-u.ac.jp

**あらまし** 本研究では、異なる3つの表情から構成される顔画像セットを視覚刺激として用いて、顔反応性細胞の表情に対する選択性の潜時を調べた。注視課題遂行中のサルから細胞外電位計測法により単一神経細胞の活動を記録した。50ミリ秒の時間窓を時間軸に沿って移動させながら各顔画像に対する視覚反応を解析して、表情に対する選択性の時間経過を調べた。側頭葉皮質の顔反応性細胞の一部が100ミリ秒を下回る短い選択性の潜時を示した一方で、扁桃体ではそのような短い選択性の潜時を示す顔反応性細胞はほとんど見られなかった。

**キーワード** サル, 細胞外電位計測法, 上側頭溝, 下側頭葉皮質

## Latency of neuronal selectivity for facial expression: comparison between the temporal visual cortex and the amygdala

Mikio INAGAKI<sup>†</sup> Ichiro FUJITA<sup>†</sup>

<sup>†</sup> Graduate School of Frontier Biosciences, Osaka University, 1-3 Machikaneyama, Toyonaka, Osaka, 560-8531

E-mail: <sup>†</sup> {inagaki, fujita}@fbs.osaka-u.ac.jp

**Abstract** We studied latency of neuronal selectivity for facial expression by using face images consisting of 3 different facial expressions. We recorded extracellular neuronal activity from awake, fixating monkeys and examined time course of selectivity for facial expression with a 50 ms sliding time window. A population of face-responsive neurons in the temporal cortex demonstrated selectivity latencies shorter than 100 ms, whereas only a few face-responsive neurons in the amygdala showed such short latencies.

**Keyword** monkeys, extracellular recording, superior temporal sulcus, inferior temporal cortex

### 1. 序論

#### 1.1. 表情認識の脳内メカニズム

顔から読み取ることのできる表情は相手の感情を推測する手がかりとなり、社会的な生活を営む上で大きな役割を果たしている。ヒトだけでなくサルも、さまざまな表情をさまざまな異なる社会的状況で示すことから、表情がコミュニケーションの手段として使われていると考えられている[1]。

サルを対象とした過去の電気生理学実験は、側頭葉皮質高次視覚関連領野および扁桃体において、視覚呈示された顔画像の表情に対して選択性をもつ神経細胞の存在を明らかにした[2-7]。これらの脳領域によって構成される脳内ネットワークが表情の認識に関与していると考えられる。

#### 1.2. 側頭葉皮質と扁桃体の解剖学的投射関係

側頭葉皮質の前半部から扁桃体へは強い解剖学的な投射がある[8-10]。一方、扁桃体からは側頭葉皮質

を含む広範な視覚皮質へ向かったの投射がある[9,11]。これらの双方向性の投射関係（図1）にもとづくと、側頭葉皮質の神経細胞の活動は扁桃体の神経細胞の活動に影響を与えることができると同時に、扁桃体の神経細胞の活動も側頭葉皮質の神経細胞の活動に影響を与える可能性がある。

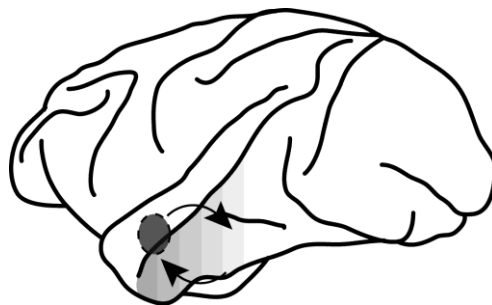


図1 大脳の左側面図 側頭葉皮質前半部（薄い灰色）とその内側に位置する扁桃体（濃い灰色）には、双方向性の解剖学的投射がある。

### 1.3. 本研究の目的

表情選択性細胞が存在する側頭葉皮質と扁桃体は、双方向性の投射関係をもつ。したがって、どちらの脳領域も他方の脳領域への表情選択性を入力源となりえる。本研究は、側頭葉皮質と扁桃体のどちらの脳領域で先に表情選択的の反応があらわれてくるのかを調べることで、どちらの脳領域が表情選択性の起源であるかを検討した。過去の研究では、異なる研究グループが異なる方法を用いて実験をおこなっているために直接的な比較ができず、この点は明らかになっていない。本研究では領野間の違いを公平に比較するため、同じ被験体、同じ視覚刺激、同じ解析方法を用いた。

## 2. 方法

2頭のニホンザル (*Macaca fuscata*) を実験に用いた。実験中、サルは暗室内でモニターの中心に呈示される点を注視する行動課題を遂行した。赤外線カメラシステムを使ってサルの視線方向を計測した[12]。顔画像は、その中心が注視点と重なるようにして呈示した(図2左)。各顔画像の呈示時間は500ミリ秒であった。記録実験開始前に撮像した核磁気共鳴画像にもとづいて、側頭葉皮質と扁桃体にタングステン微小電極を刺入した(図2右)。電極先端から細胞外電位を計測して単一神経細胞の活動を記録した。側頭葉皮質における記録領域は上側頭溝の上壁と下壁、および下側頭回であった。扁桃体における記録領域は主に外側核と基底核であった。

### 2.1. 視覚刺激

3頭のサルを被写体として3つの異なる表情(威嚇するときの表情, 平静時の表情, 親和的な表情)を正面から撮影した(図3)。写真から顔以外の背景部分を取り除いた後で、顔画像間での基本的な画像特徴の違いを小さくするために、平均輝度ならびに輝度コントラストエネルギーの値を統一した。顔画像はすべてグレースケールで表示した。

### 2.2. データ解析

各顔画像に対する反応強度を刺激呈示中の平均発火頻度で評価して表情選択性を調べた。視覚情報が到達するまでの潜時を考慮に入れて、刺激呈示開始の80ミリ秒後から580ミリ秒後までの平均発火頻度を計算した。顔画像の表情の違いによって反応強度が有意に変化するのかを統計検定した(二元配置分散分析; 要因, 表情および個体,  $P < 0.05$ )。

さらに表情選択性の時間経過を調べるために、50ミリ秒の時間窓を解析に用いた。時間窓の中での発火頻度にもとづいて表情選択性を調べる解析を、1ミリ秒

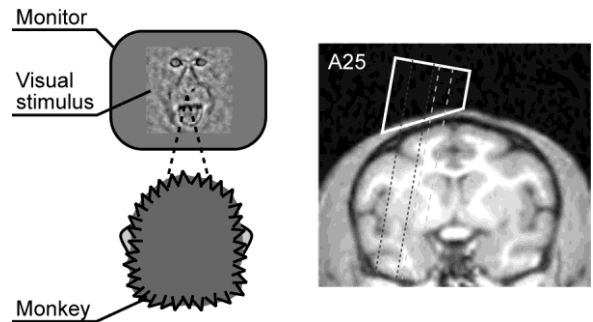


図2 電気生理実験 (左) 注視課題の模式図。灰色の背景上に顔画像を呈示した。モニターの大きさは、35 cm×27 cm、解像度は1600 px×1200 px、リフレッシュレートは85 Hzであった。モニターとサルとの距離は64 cmであった。サルはモニターの中心を注視するように訓練されていた。(右) 記録部位。A25における冠状断面の核磁気共鳴画像。白色の実線は記録用のチャンパー、濃い灰色の点線は側頭葉皮質における微小電極刺入の範囲、薄い灰色の点線は扁桃体における微小電極刺入の範囲をあらわす。顔画像呈示期間中の神経細胞の活動を、脳に刺入した微小電極から細胞外電位信号として計測した。計測した電位信号を増幅器で増幅し、ノイズを減少させるための帯域通過フィルタを通してから記録した。その後、テンプレートマッチング法を用いて単一神経細胞由来の活動電位を分離した。

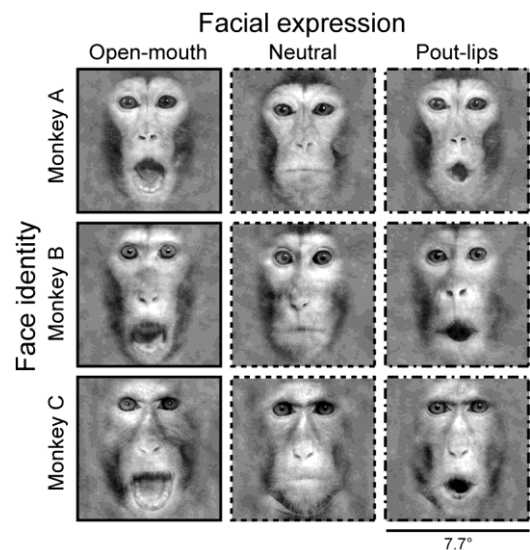


図3 顔画像セット 3頭のサルが異なる3つの表情を表出している。3つの表情は、威嚇するときの表情(open-mouth)、平静時の表情(neutral)、親和的な表情(pout-lips)である。各顔画像の大きさは視野角にして7.7°×7.7°であった。被写体となったサルは、記録実験には用いられていない。

ずつ時間窓を移動させながら繰り返した（二元配置分散分析；要因，表情および個体）．統計検定の繰り返しによる誤りを避けるために，有意水準を検定の繰り返し回数で割る補正をおこなった（Bonferroni 補正； $P < 0.05/500$ ）．視覚刺激呈示後，有意に表情選択性を示した最初の時間窓の中心時刻を，表情選択性の潜時と定義した．

側頭葉皮質と扁桃体について，各脳領域全体としての時刻から表情選択性を示しはじめるかを決定するために，観測された表情選択性潜時の累積分布と偶然に期待される累積分布をそれぞれの脳領域内で比較した．後者の累積分布については，各脳領域で記録された顔反応性細胞の総数と解析で用いた有意水準（ $P < 0.05/500$ ）にもとづいて 1000 回シミュレーションをおこない，平均値と標準偏差を得た．実際に観測された累積分布の中で，シミュレーションで得られたチャンスレベル（平均値と 2 倍した標準偏差を足した値）をはじめて超えた時間窓の中心時刻を，その脳領域全体としての表情選択性潜時と定義した．

### 2.3. 組織学的解析による記録部位の再構成

記録実験終了後，使用したサルの中の 1 頭で組織学的手法を用いて記録部位の再構成をおこなった．まず脳内に刺入した電極から電流を流して（10  $\mu\text{A}$ ，10 秒または 20 秒），微細な傷を異なる位置に複数作成した（図 4）．次に深麻酔下でサルを灌流固定して脳組織を取り出した．段階的にスクロース溶液（10-30%）に浸した後で，脳組織を凍結させて 80  $\mu\text{m}$  の厚さの切片を作成した．クレシルバイオレットを用いてニッスル染色をおこない，脳切片標本とした．標本上での微細な傷の位置を基準点として，電極マニピュレーターの目盛りの記録をもとに各記録部位を再構成した．

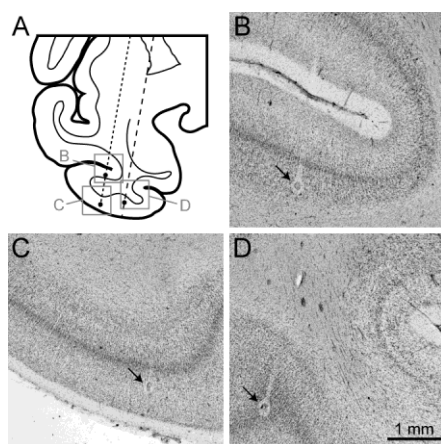


図 4 組織学的解析 (A) A25 における冠状断面図 (B-D) ニッスル染色した脳切片．矢印は電流によって作られた微細な傷の位置をあらわす．

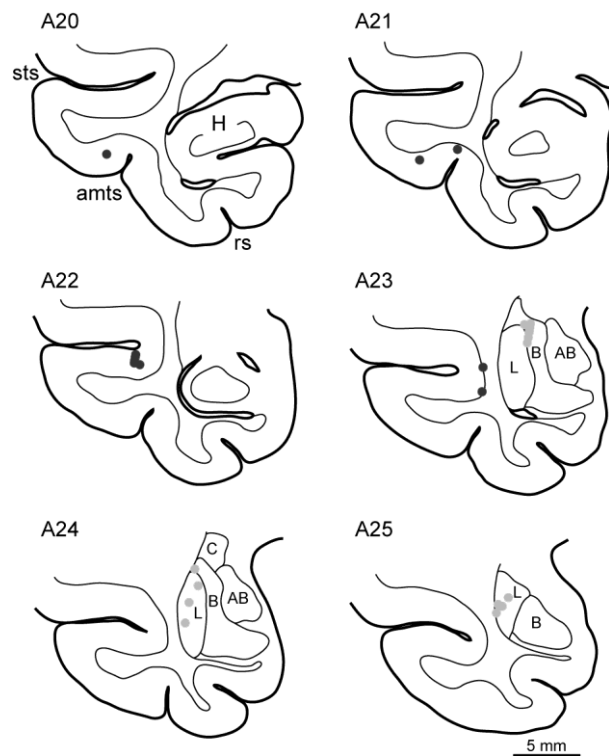


図 5 記録部位の再構成図 実験に用いた 2 頭のサルのうち 1 頭で組織学的解析をおこない，右半球における記録部位を再構成した．濃い灰色の点が側頭葉皮質で記録された表情選択性細胞の位置，薄い灰色の点が扁桃体で記録された表情選択性細胞の位置をあらわす．略号；sts（上側頭溝），amts（前中側頭溝），rs（嗅脳溝），H（海馬），L（扁桃体外側核），B（扁桃体基底核），AB（扁桃体副基底核），C（扁桃体中心核）．

### 3. 結果

側頭葉皮質では 117 個の顔反応性細胞を記録し，扁桃体では 103 個の顔反応性細胞を記録した．刺激呈示期間（500 ミリ秒）の平均発火頻度にもとづいて解析すると，側頭葉皮質では 44 個の顔反応性細胞（38%），扁桃体では 43 個の顔反応性細胞（42%）が表情選択性を示した（二元配置分散分析； $P < 0.05$ ）．50 ミリ秒の時間窓を用いた解析の結果，21 個の側頭葉皮質表情選択性細胞（18%），および 24 個の扁桃体表情選択性細胞（23%）について，表情選択性の潜時を決定することができた（二元配置分散分析； $P < 0.05/500$ ；Bonferroni 補正）．この後の結果は，これら 21 個の側頭葉皮質表情選択性細胞と 24 個の扁桃体表情選択性細胞のデータにもとづいている．また，これら解析対象となった表情選択性細胞は，側頭葉皮質では上側頭溝内皮質および下側頭頭に分布しており，扁桃体では外側核や基底核など複数の核にまたがって分布していた（図 5）．

### 3.1. 側頭葉皮質における表情選択的な反応例

側頭葉皮質の一部の表情選択性細胞は、100 ミリ秒を下回る短い表情選択性潜時を示した。代表例を図 6 に示す。この側頭葉皮質神経細胞は、親和的な表情に対して強く、威嚇の表情に対して中程度に、平静時の表情に対しては弱く視覚反応を示した。反応の時間経過に注目すると、表情の違いによる反応強度の違いは、顔画像呈示直後に見られた一過性の反応においてすでにあらわれていた。50 ミリ秒の解析用時間窓を用いて調べた結果、時間窓の中心時刻が 64 ミリ秒のときに、はじめて統計学的に有意な表情選択性を示した（二元配置分散分析； $P < 0.05/500$ ；Bonferroni 補正）。

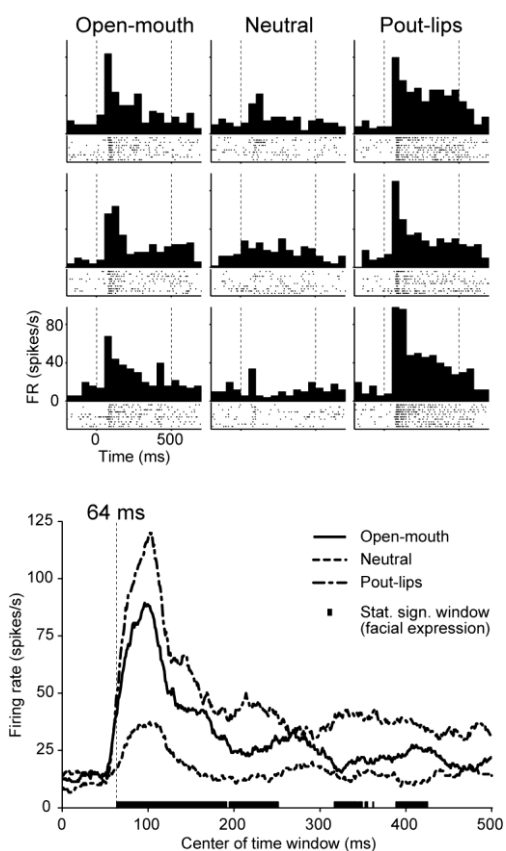


図 6 側頭葉皮質神経細胞の反応例 (上) 各顔画像に対する発火頻度ヒストグラムとラスタープロット。発火頻度ヒストグラムとラスタープロットの並び順は図 3 の顔画像の並び順と対応する。点線は刺激呈示と消失の時刻をあらわす。(下) 各表情に対する反応の時間経過。同じ表情を表出している 3 つの顔画像に対する反応を平均した。下部のパープロットは、表情の違いによって反応強度に有意な変化があらわれた時間窓を示している（二元配置分散分析； $P < 0.05/500$ ；Bonferroni 補正）。この側頭葉皮質神経細胞の表情選択性潜時は 64 ミリ秒であった。

### 3.2. 扁桃体における表情選択的な反応例

側頭葉皮質で観察された 100 ミリ秒を下回る短い表情選択性潜時を示す表情選択性細胞は、扁桃体ではほとんど見られなかった。ほぼすべての扁桃体表情選択性細胞が、100 ミリ秒を超える表情選択性潜時を示した。代表例を図 7 に示す。この扁桃体神経細胞は、平静時の表情に対して強く反応したが、威嚇の表情や親和的な表情に対してはあまり強い反応を示さなかった。反応の時間経過に注目すると、顔画像呈示直後の一過性の反応では、表情の違いによる反応強度の違いは見られなかった。その後、定常的な反応への移行期になってからようやく反応強度の違いが見られるようになった。顔画像呈示後、視覚反応がはじまるまでの反応潜時そのものは 100 ミリ秒を下回っていたが、表情選択性が神経活動にあらわれはじめるのは 100 ミリ秒を過ぎてからであった。この表情選択性細胞は、時間窓の中心時刻が 139 ミリ秒のときにはじめて統計学的に有意な表情選択性を示した（二元配置分散分析； $P < 0.05/500$ ；Bonferroni 補正）。

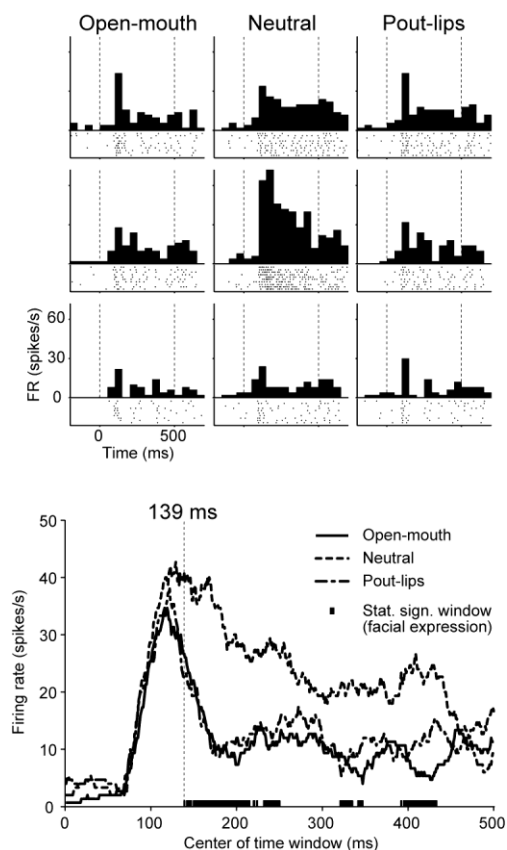


図 7 扁桃体神経細胞の反応例 各グラフの説明は、図 6 と同様である。この扁桃体神経細胞の表情選択性潜時は 139 ミリ秒であった。

### 3.3. 側頭葉皮質と扁桃体の比較

解析対象とした 21 個の側頭葉皮質表情選択性細胞と 24 個の扁桃体表表情選択性細胞について、表情選択性潜時の累積分布を調べた (図 8)。側頭葉皮質では、一部の表情選択性細胞が 100 ミリ秒を下回る短い選択性潜時を示したので、累積分布は 100 ミリ秒の手前から増加をはじめた。一方扁桃体では、100 ミリ秒を下回る短い選択性潜時を示した表情選択性細胞はほとんど見られず、累積分布は 100 ミリ秒を過ぎてから増加をはじめた。偶然に期待される累積分布との比較にもとづいて各脳領域全体としての表情選択性潜時を決定すると、側頭葉皮質では 75 ミリ秒、扁桃体では 134 ミリ秒であった。両者の間の差は 59 ミリ秒であった。側頭葉皮質の表情選択性潜時は扁桃体の表情選択性潜時よりも短かった (Bootstrap 検定;  $P = 0.016$ )。表情選択的な神経活動は、顔画像呈示後にまず側頭葉皮質で観察され、その後で扁桃体でも観察されるようになった。

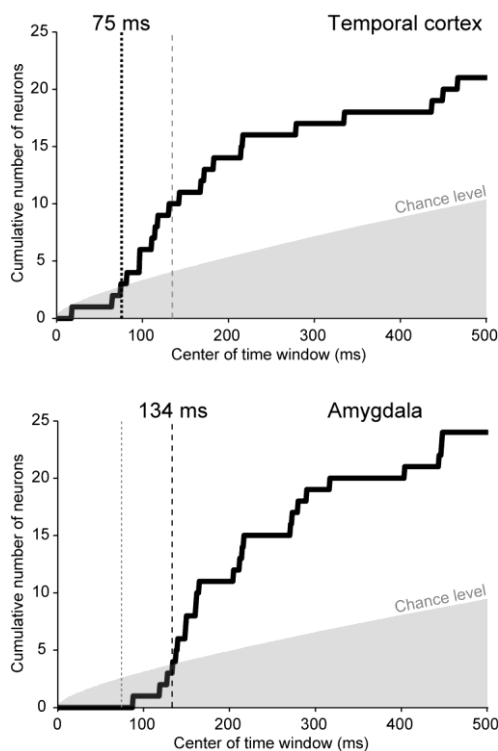


図 8 表情選択性潜時の累積分布 側頭葉皮質における累積分布 (上段) と扁桃体における累積分布 (下段)。灰色の領域は記録した神経細胞の総数 (側頭葉皮質顔反応性細胞 117 個, 扁桃体顔反応性細胞 103 個) と潜時の決定に用いた有意水準 ( $P < 0.05/500$ ) からシミュレーションで求めた偶然にあり得る値をあらわす。点線は実際の累積分布がはじめてチャンスレベルを上回った時間窓の中心時刻をあらわす (側頭葉皮質, 75 ミリ秒; 扁桃体, 134 ミリ秒)。

## 4. 考察

本研究では、側頭葉皮質と扁桃体の顔反応性細胞を対象として、表情に対する選択性が神経活動にあらわれはじめるまでの潜時を調べた。異なる 3 つの表情 (威嚇の表情, 平静時の表情, 親和的な表情) から構成される顔画像セットを視覚刺激に用いて、50 ミリ秒の時間窓を移動させながら表情選択性の時間経過を解析した。側頭葉皮質の一部の表情選択性細胞が 100 ミリ秒を下回る短い表情選択性潜時を示した一方で、扁桃体ではそのような短い表情選択性潜時を示す表情選択性細胞はほとんど見られなかった。これらの結果は、過去の解剖学的研究で明らかになっている側頭葉皮質から扁桃体への投射を通じて、少なくとも一部の側頭葉皮質神経細胞が扁桃体へ表情選択性を伝えている可能性を示唆する。

### 4.1. 表情選択性細胞の割合

本実験で記録した 117 個の側頭葉皮質顔反応性細胞について、刺激呈示期間の平均発火頻度にもとづいて解析すると 44 個の細胞 (38%) が表情選択性を示した。一方 Hasselmo らの過去の研究では、45 個の側頭葉皮質顔反応性細胞のうち 12 個が表情選択性を示した (27%) [2]。本研究と Hasselmo らの研究では異なる種類の表情が使われていることや実験プロトコルが違うなどの相違点があるが、表情選択性細胞の割合は同じように 3 割前後であった。

扁桃体からは 103 個の顔反応性細胞を記録したが、表情選択性を示したのはそのうちの 43 個であった (42%)。この割合は、Gothard らの研究で報告されている割合、24% (196 個中 48 個) と比べてやや高い値であった [7]。この違いは視覚刺激セットが異なることに原因があるのかもしれない。本実験では 9 枚の顔画像のみを視覚刺激として用いたが、Gothard らは顔画像以外の物体画像も視覚刺激セットに組み入れている。したがって、本研究のデータと異なり顔反応性細胞だけでなく物体反応性細胞も母集団に含まれている可能性がある。

### 4.2. 側頭葉皮質と扁桃体の直接的な比較

過去の研究は、側頭葉皮質と扁桃体において表情選択性細胞の存在を明らかにした [2-7]。しかしながら、表情選択性の時間経過に関する解析は、Sugase らによって側頭葉皮質の顔反応性細胞についておこなわれているだけであった [3]。そのため、側頭葉皮質と扁桃体のどちらの脳領域で表情選択的な神経活動が先にあらわれはじめるのかは分かっていなかった。解剖学的な投射関係を考慮すると、どちらの脳領域も、もう片方の脳領域へと入力を送ることが可能なことから [8-11]、

## 文 献

この点は電気生理学的な研究で確認する必要があった。本研究では、脳領域の違い以外の要因の影響を最小限にするために、同じ被験体、視覚刺激、実験プロトコル、解析方法を用いて直接的な比較をおこなった。側頭葉皮質全体としての表情選択性潜時は扁桃体全体としての表情選択性潜時よりも60ミリ秒程度短かった。表情選択的な神経活動は扁桃体ではなく側頭葉皮質で先に見られた。これらの結果は、側頭葉皮質の表情選択性細胞が入力源となって表情に関する情報を扁桃体へと伝えている可能性を示唆する。

### 4.3. ヒトを対象とした研究との比較

ヒトを対象とした電気生理学実験によると、扁桃体から記録される局所細胞外電位(LFP)は、顔画像呈示から200ミリ秒程度経過した後ではじめて表情に依存してその反応強度を変化させる[13]。一方、上側頭溝内皮質ではそれよりも遅れて300ミリ秒程度経過した後でLFPに表情選択性が見られるようになる[13]。これらの知見は本研究で得られた結果と矛盾するように見えるが、LFPが記録している脳領域への入力を反映し、活動電位がその脳領域からの出力を反映しているとすれば統一的に解釈することができる。LFPが入力を反映しているならば、扁桃体で観察されたLFPの表情選択性は側頭葉皮質からの入力にもとづいている可能性があり、その後上側頭溝内皮質で見られたLFPの表情選択性は扁桃体からのフィードバックによるものかもしれない。LFPと活動電位を側頭葉皮質と扁桃体で同時に計測する実験をおこなうことで、この点を詳細に明らかにできると思われる。

## 5. 謝辞

本研究は、文部科学省科学研究費(17022025)、および科学技術振興機構CRESTからの助成によっておこなわれた。

- [1] J. A. R. A. M. Van Hooff, The facial displays of the catarrhine monkeys and apes, in *Primate Ethology*, ed. D. Morris, pp.7-68, Aldine, Chicago, 1967.
- [2] M. E. Hasselmo, E. T. Rolls and G. C. Baylis, The role of expression and identity in the face-selective responses of neurons in the temporal visual cortex of the monkey, *Behav. Brain Res.*, vol.32, pp.203-218, 1989.
- [3] Y. Sugase, S. Yamane, S. Ueno and K. Kawano, Global and fine information coded by single neurons in the temporal visual cortex, *Nature*, vol.400, pp.869-873, 1999.
- [4] C. M. Leonard, E. T. Rolls, F. A. W. Wilson and G. C. Baylis, Neurons in the amygdala of monkey with responses selective for faces, *Behav. Brain Res.*, vol.15, pp.159-176, 1985.
- [5] K. Nakamura, A. Mikami and K. Kubota, Activity of single neurons in the monkey amygdala during performance of a visual discrimination task, *J. Neurophysiol.*, vol.67, pp.1447-1463, 1992.
- [6] K. Kuraoka and K. Nakamura, Impacts of facial identity and type of emotion on responses of amygdala neurons, *Neuroreport*, vol.17, pp.9-12, 2006.
- [7] K. M. Gothard, F. P. Battaglia, C. A. Erickson, K. M. Spitzer and D. G. Amaral, Neural responses to facial expression and face identity in the monkey amygdala, *J. Neurophysiol.*, vol.97, pp.1671-1683, 2007.
- [8] J. P. Aggleton, M. J. Burton and R. E. Passingham, Cortical and subcortical afferents to the amygdala of the rhesus monkey (*Macaca mulatta*), *Brain Res.*, vol.190, pp.347-368, 1980.
- [9] D. G. Amaral, J. L. Price, A. Pitkänen and S. T. Carmichael, Anatomical organization of the primate amygdaloid complex, in *The Amygdala: neurobiological aspects of emotion, memory, and mental dysfunction*, ed. J. P. Aggleton, pp.1-66, Wiley-Liss, New York, 1992.
- [10] K. Cheng, K. S. Saleem and K. Tanaka, Organization of corticostriatal and corticoamygdalar projections arising from the anterior inferotemporal area TE of the macaque monkey: a Phaseolus vulgaris leucoagglutinin study, *J. Neurosci.*, vol.17, pp.7902-7925, 1997.
- [11] D. G. Amaral and J. L. Price, Amygdalo-cortical projections in the monkey (*Macaca fascicularis*), *J. Comp. Neurol.*, vol.230, pp.465-496, 1984.
- [12] K. Matsuda, T. Nagami, K. Kawano and S. Yamane, "A new system for measuring eye position on a personal computer", The 30th annual meeting of the Society for Neuroscience, no.744.2., New Orleans, USA, 2000.
- [13] P. Krolak-Salmon, M. A. Hénaff, A. Vighetto, O. Bertrand and F. Mauguière, Early amygdala reaction to fear spreading in occipital, temporal, and frontal cortex: a depth electrode ERP study in human, *Neuron*, vol.42, pp.665-676, 2004.