

複雑音と教師なし学習を用いたマウス大脳皮質聴覚野の領域分割

Area segmentation of mouse auditory cortex using complex sounds and unsupervised learning

寺島 裕貴^{*1} 塚野 浩明^{*2} 古川 茂人^{*1}
Hiroki Terashima Hiroaki Tsukano Shigeto Furukawa

^{*1}NTT コミュニケーション科学基礎研究所
NTT Communication Science Laboratories, NTT Corporation

^{*2}新潟大学 脳研究所
Brain Research Institute, Niigata University

It is controversial how to segment functional areas of the mouse auditory cortex. Previous studies had two biases: (1) they used only limited types of synthetic stimuli and (2) they selected candidate acoustic features in advance. To address the issues, we recorded cortical responses to a set of naturalistic complex sounds and analyzed them using machine learning techniques with no explicit hypothesis about acoustic features. Cortical responses obtained by calcium imaging and 165 sounds were decomposed into major five components by applying a matrix decomposition technique that was originally proposed for a human fMRI study. By comparison with classic tonotopy and regression by acoustic features, we identified functional areas that correspond to areas called AAF, A1, A2, DA, DM, and DP. Moreover, we found a new functional area outside the classical auditory cortex.

1. はじめに

わたしたちが音を聴いているとき、耳に到達した音波は神経活動に変換されて、聴覚神経系で階層的に情報処理が行われていく。その中で特に高次の情報処理は大脳皮質の聴覚野が担っており、聴覚野はさらに複数の機能的領域に分かれている。それら領域の階層的な情報処理を調べるための基盤として、聴覚野の領域構成を明らかにすることは重要な意味を持つ。

マウスは、遺伝的操作の容易さ等から近年の哺乳類における神経科学の中心的存在である。マウスの聴覚野がどのような領域から構成されているかについて、近年議論が起きている。かつては電気生理学的な単一ユニット記録を基に、周波数地図(トノトピー)がある A1, AAF の周辺に、非トノトピック領域として A2, UF, DP が定義されていた [Stiebler 97]。ところが近年になってイメージング技術が発展し、かつての定説とは異なる領域分けが提案され始めており [Guo 12, Issa 14, Tsukano 15, Tsukano 17b, Issa 17], 広い合意がない状況である [Tsukano 17a]。

従来のマウス聴覚野の領域分け研究には、2つの問題があった。第1に、脳活動を取得するための音刺激が、限られた種類の合成音(主に純音と FM 音)に留まっていた。第2に、解析手法にも研究者の仮説が強く反映されており、注目する音響特徴量を事前に絞りこんでしまっていたため、重要な情報を無視している可能性があった。

これら2つの問題を解決するため、本研究では、自然音と同程度に複雑な音に対する聴覚野活動を測定し、特段の仮説を設けずに機械学習技術を用いた領域同定を試みた。複雑音セットに対する脳活動をカルシウムイメージングで広域取得し、行列分解で5つのコンポーネントに分解した。過去の研究が提案していた AAF, A1, A2, DA, DM, DP と概ね対応する領域を確認し、さらに、DA の外側に潜在的な新領域が存在する可能性も明らかになった。

2. 手法

2.1 動物と倫理的配慮

実験のプロトコールは新潟大学動物実験倫理委員会の許可を得ている。全てのデータは、Emx1-Cre driver mouse と GCaMP8-flox mouse を掛け合わせて得られたオスのマウス産仔を 7~10 週齢で観察したものである。

2.2 聴覚野のカルシウムイメージング

マウスをウレタン (1.7 g/kg ip; Wako, Osaka, Japan) で十分に麻酔し、実験中は体温を約 37℃ としてパラフィンで頭蓋骨の透明を維持した。青色励起光 ($\lambda = 470\text{--}490\text{ nm}$) を右聴覚野に照射し、GCaMP 蛍光 ($\lambda = 500\text{--}550\text{ nm}$) を冷却 CCD カメラ (AQUACOSMOS with ORCA-R2 camera; Hamamatsu Photonics, Hamamatsu, Japan) で取得した。128 × 168 ピクセルの画像 (2.6 × 3.4 mm or 4.2 × 5.5 mm) を 9 or 10 Hz で取得した。

2.3 音刺激

自然音を含むような複雑な統計性を保った音をマウスに聴かせるために、ヒト向けに用意された自然音 165 種データセット [Norman-Haignere 15] を 250 kHz でリサンプリングし、4 オクターブ上方にピッチシフトさせた。また、過去の研究と比較するため、8 種の周波数 (1.5, 2, 3, 6, 12, 24, 48, 64, 96 kHz) の純音に対して 2 種類の振幅変調 (20, 40 Hz) を適用した音刺激も用いた。

2.4 音刺激の呈示

2 秒の刺激音を 5 秒間隔でランダムに呈示し、各刺激につき約 20 trial 取得した。全ての音は、マウスの 10 cm 手前に置いた同一のスピーカー (SRS-3050A; Stax, Saitama, Japan) から呈示した。周波数が 50 kHz 以上に限られる AM 純音は高周波対応のスーパーツイーター (ES105A; Murata, Kyoto, Japan) から出した。音圧はマイクロフォン (types 4135 and 2669; Brüel & Kjær, Nærum, Denmark) と音圧計 (type 2610; Brüel & Kjær) で 60–70 dB SPL に調整した。

2.5 脳活動画像の前処理

刺激音の onset 直前 1 秒間のフレーム平均蛍光量 F_0 をベースラインとし、音 onset 後 2 秒間のフレーム平均蛍光量 F のベースラインに対する相対増分 $\Delta F/F_0$ を、該当トライアルの脳活動とした。解析では全トライアル平均を用いた。

連絡先: 寺島裕貴, NTT コミュニケーション科学基礎研究所, 〒243-0198 神奈川県厚木市森の里若宮 3-1, teratti@teratti.jp

個体間の位置合わせは、165 種複雑音に対する脳活動の相関が最大化するよう affine 変換を用いて行った。

2.6 教師なし学習を用いたコンポーネント分割

複雑音に対する脳活動をもとに脳領域を分割するための手法として、ヒト fMRI 向けに提案された教師なし行列分解法を用いた [Norman-Haignere 15]. 取得した脳活動は、巨大な行列 D (165 種 \times 21504 ピクセル) として考えることができる。この行列を、ピクセル数に比べて十分に少ない N 個のコンポーネントの重ね合わせとして近似することを考える。すなわち、 $D \sim RW$ 。ただし、ここで R, W の次元はそれぞれ、(165 種 $\times N$)、($N \times 21504$ ピクセル) である。 W の各行のネグエントロピー (非ガウス性) を最大化するような回転行列を求めて R, W を決定した。計算には論文著者らによる実装を用いた。

分割するコンポーネントの個数 N は、文献 [Norman-Haignere 15] 類似の方法で決定した。交差検証法のように、まず 1 個体を hold out した状態で行列分解を行った。Hold out しておいた個体の全トライアルをランダムに 2 分割し、それぞれの平均活動を学習した基底に射影したものの同士の相関が最大になるように N の値を選択した。

3. 結果

3.1 複雑音に対する脳活動の計測

まず、マウスにとって十分複雑で自然音に似た音刺激を用意した。ヒト用に構築された自然音 165 種データベース [Norman-Haignere 15] を基に、マウスの可聴域に合わせるため、ピッチを上方に 4 オクターブシフトした複雑音を準備した。この複雑音をマウスに対して呈示し、聴覚野全体の活動をカルシウムイメージングで取得した。

3.2 脳活動の仮説フリーなコンポーネント分解

前節で得られた 165 種の刺激に対する応答に対して機械学習手法を適用して分割を試みた。適用した手法は、ヒト fMRI 研究で提案された行列分解法である [Norman-Haignere 15]。コンポーネント数 N は原論文に類似の指標を用いて決定し、8 個体のデータから $N = 5$ を選択した。

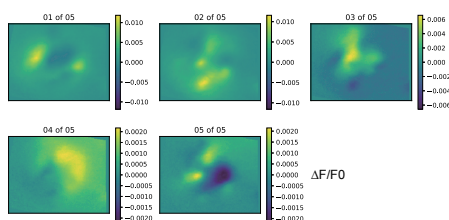


図 1 コンポーネント 5 個の空間パターン

図 1 に全個体のデータを $N = 5$ 個のコンポーネントに分割した際の空間パターンを示す。空間的に局在した興奮と抑制のパターンが得られていることがわかる。

3.3 領野同定：トノトピーとの比較

前節で得られた空間的な活動パターンが過去に提案された領野分けとどのように対応するのか調べるため、振幅変調をかけた純音刺激に対する応答も調べた。図 2 に、各コンポーネントをトノトピーと重ね合わせた結果を示す。トノトピーの低周波領域を黒で、高周波領域を白で半透明に重畳している。

いくつかのコンポーネントは、過去に提案された領域とよく対応していた。コンポーネント 1 は A1, AAF の低周波領域によく対応している。コンポーネント 2 は A2 を中心として A1 高周波、AAF 高周波と対応している。コンポーネント 5 は A1 高周波と DM 高周波によく対応している [Tsukano 15]。コン

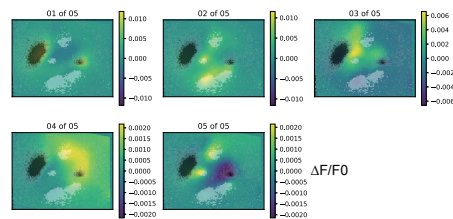


図 2 コンポーネント 5 個とトノトピーの関係

ポーネント 3 は非トノトピックだが、A1, AAF, A2 との相対的な位置関係から、DA, DP および A1 の中周波領域だと考えられる。コンポーネント 4 は過去に単独領域としては指摘されていない新規領域と思われる、より詳細な機能の解析が待たれる。これらの結果は、自然様の複雑音に対する脳活動の仮説フリー解析が、マウス聴覚野の機能的構造の解明に貢献できることを示している。

参考文献

- [Guo 12] Guo, W., Chambers, A. R., Darrow, K. N., Hancock, K. E., Shinn-Cunningham, B. G., and Polley, D. B.: Robustness of cortical topography across fields, laminae, anesthetic states, and neurophysiological signal types, *Journal of Neuroscience*, Vol. 32, No. 27, pp. 9159–9172 (2012)
- [Issa 14] Issa, J. B., Haeffele, B. D., Agarwal, A., Bergles, D. E., Young, E. D., and Yue, D. T.: Multiscale optical Ca 2+ imaging of tonal organization in mouse auditory cortex, *Neuron*, Vol. 83, No. 4, pp. 944–959 (2014)
- [Issa 17] Issa, J. B., Haeffele, B. D., Young, E. D., and Yue, D. T.: Multiscale mapping of frequency sweep rate in mouse auditory cortex, *Hearing research*, Vol. 344, pp. 207–222 (2017)
- [Norman-Haignere 15] Norman-Haignere, S., Kanwisher, N. G., and McDermott, J. H.: Distinct cortical pathways for music and speech revealed by hypothesis-free voxel decomposition, *Neuron*, Vol. 88, No. 6, pp. 1281–1296 (2015)
- [Stiebler 97] Stiebler, I., Neulist, R., Fichtel, I., and Ehret, G.: The auditory cortex of the house mouse: left-right differences, tonotopic organization and quantitative analysis of frequency representation, *Journal of Comparative Physiology A*, Vol. 181, No. 6, pp. 559–571 (1997)
- [Tsukano 15] Tsukano, H., Horie, M., Bo, T., Uchimura, A., Hishida, R., Kudoh, M., Takahashi, K., Takebayashi, H., and Shibuki, K.: Delineation of a frequency-organized region isolated from the mouse primary auditory cortex, *Journal of neurophysiology*, Vol. 113, No. 7, pp. 2900–2920 (2015)
- [Tsukano 17a] Tsukano, H., Horie, M., Ohga, S., Takahashi, K., Kubota, Y., Hishida, R., Takebayashi, H., and Shibuki, K.: Reconsidering tonotopic maps in the auditory cortex and lemniscal auditory thalamus in mice, *Frontiers in neural circuits*, Vol. 11, p. 14 (2017)
- [Tsukano 17b] Tsukano, H., Horie, M., Takahashi, K., Hishida, R., Takebayashi, H., and Shibuki, K.: Independent tonotopy and thalamocortical projection patterns in two adjacent parts of the classical primary auditory cortex in mice, *Neuroscience letters*, Vol. 637, pp. 26–30 (2017)