

◀ Saccadic suppression: 藤田昌彦先生からのコメント | 最新のページに戻る

## 2008年07月27日

### ■ 細胞外電極はなにを見ているか

夏が来れば思い出す・・・のは生理研トレーニングコースの準備です。ここ数年は当研究室では、「[麻酔下動物での急性電気生理実験](#)」というタイトルで、細胞外電極を使って麻酔下ratからLFPを記録して、視覚刺激に対する上丘の応答をみたり、ひげ刺激に対するbarrel cortexの応答を見るということをやっております。でもって、LFPで記録しているものがなにか、ということを経年わたしがちょこっと講義しています。

問題なのは、適切な教科書がないということです。この問題については以前にも書きました(20050817および20050818)。細胞内電極やパッチクランプ用電極を使った細胞内電位の記録に関しては、ホジキン・ハックスレーあたりについて書いている生理学の教科書を読むことから始めて、"the axon guide"あたりまで読んでおけばだいたい入門できるかと思うのですが、細胞外電極を使った細胞外電位の記録に関しては良いものはありません。わたしが日々行っている、行動中のnhpのsingle-unit recordingがまさに、タングステン製の細胞外電極を使って、単一細胞のaction potentialを細胞外電位から記録しているものなので、よろしくない事態です。また、multiunit recordingやLFPなどが今後BMIなどの応用の面からさらに重要になってくるであろうことを考えると、このへんの基礎をきっちり押さえておくことは大切なことだと思います。

それで、今年もトレーニングコースの時期がやってきましたので、いそいそと準備しているのですが、しょうがないので自分でいろいろ調べて作ってみました。まだ自分で納得いけてないところがあるのでここで皆様の意見を聞きたい、というわけです。物理をわかっている方ぜひご協力お願いします。それではここから:

### 【まとめ】

1. 細胞外電極はなにを計測している？ - 細胞膜を流れる電流。
2. 細胞膜の間を流れる電流の正体は？ - シナプス電流とaction potential。
3. 低周波成分はLFPと呼ばれ、シナプス電流を反映している。
4. 高周波成分はMUAと呼ばれ、action potentialを反映している。
5. LFPは必ずしも電極の近傍で起こっている電流を反映しているとは限らない。離れたところで起こっている電流を反映している可能性がある。
6. CSD解析では、さまざまな深さから記録した細胞外電位から、activeな電流の発生位置を推定する。
7. 細胞外電極が神経細胞の非常に近傍にあるとき(<50 $\mu$ m)には、単一の神経細胞からの活動電位を反映したsingle-unitを記録することができる。

### 【細胞外電極はなにを計測している？】

ひとこと言えば、電極近傍の細胞膜を流れる電流を計測している。細胞膜電位ではない点に注意。

正確に言えば、細胞外電極は細胞間隙に置いた細胞外電極と無限遠に置いた不関電極とのあいだの電位差(細胞外電位)を測定している。ただし、細胞外電極と不関電極とのあいだでは電流はほとんど流れない。(ここが、細胞内電極で細胞膜電流に基づいた記録をしているのとの大きな違いで、つまり元だと思ふ。) よって、ここで記録される電位差は、細胞間隙に置いた細胞外電極の周りで起こった

電流によって出来た電場を反映している、と言った方がよい。

$$\mathbf{E}(x,y,z) = -\text{grad}(V(x,y,z));$$

ある地点 $(x,y,z)$ の細胞外電位 $V$ (スカラー場)の勾配gradientを取るとその地点の電場 $\mathbf{E}$ (ベクトル場)になる。

重ね合わせの原理で、細胞外電位は近傍で細胞膜の間を流れる電流量による電位変化の足し算である。電流の発生源から電極までの距離に反比例して弱くなる。数式で書くと、

$$V_{\text{ext}} = R/(4\pi) \sum (I_j / r_j);$$

ただし、 $V_{\text{ext}}$ は細胞外電極で測定された電位、 $R$ は細胞間隙の抵抗でだいたい230ohm/cm。  $I_j$ はある場所 $j$ で流れた電流の大きさ、 $r_j$ は場所 $j$ から細胞外電極までの距離。 $\Sigma$ はすべての電流源 $j$ での総和。(Alain Destexhe A. (1998)よりNunez (1981)の孫引き。)

だから、無限遠に置いた不関電極では、 $r=\infty$ で $V_{\text{ext}}=0$ となり、電流の影響が全くないところでの電位を計測していることになる。不関電極との差分を計測することで細胞外電極は電流の影響を計測していると言える。

### 【細胞膜の間を流れる電流の正体は？】

では、「細胞膜の間を流れる電流」とはいったいなにか。主に二つのものが考えられる。

1. シナプス電流(EPSCとIPSC)。
2. Action potential(に伴ったNa,Ca流入、K流出)。

これらはべつべつの周波数帯域と空間解像度を持っている。よって同じ電極からフィルタを使って両方の活動を分離することができる。

Local field potential (LFP):

- 周波数成分 1Hz-300Hzあたり
- 主に電極近傍のsynaptic current (EPSC, IPSC)による。
- synaptic currentはamplitudeは小さいが、time courseが長いので、近くの入力のspatial summationが起こる。
- 電極先端から0.5-3mm程度の範囲のシナプス電流が寄与する。(Logothetis (2008)より孫引き。) 電極の抵抗に依存する。
- あくまでシナプスの位置が重要であり、電極先端に細胞体があることを保証しない。このへんについては「Volume conduction、sinkとsource」にて後述。

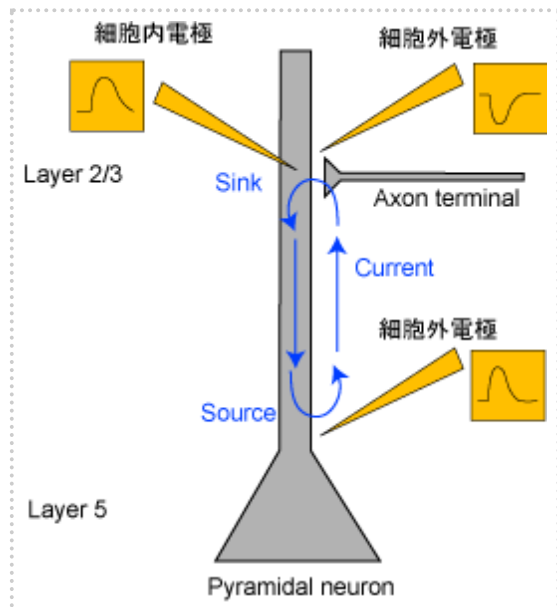
Multi unit activity (MUA):

- 周波数成分 300Hz-5KHzあたり
- 電極近傍のaction potential による。
- action potentialはamplitudeは大きい、time courseが短いので、近くの入力と<1msオーダーで同期しない限り、キャンセルアウトする。
- 電極先端から50-350 $\mu\text{m}$ 程度の範囲のニューロンの活動電位が寄与する。(Logothetis (2008)より孫引き。) 電極の抵抗に依存する。

つまり、ざっくり言えば、一つの細胞外電極から記録される信号を周波数で分けることによって、LFPは入力(=シナプス電流)、MUAは出力(=action potential)、と違ったものを分けて見ることができる。

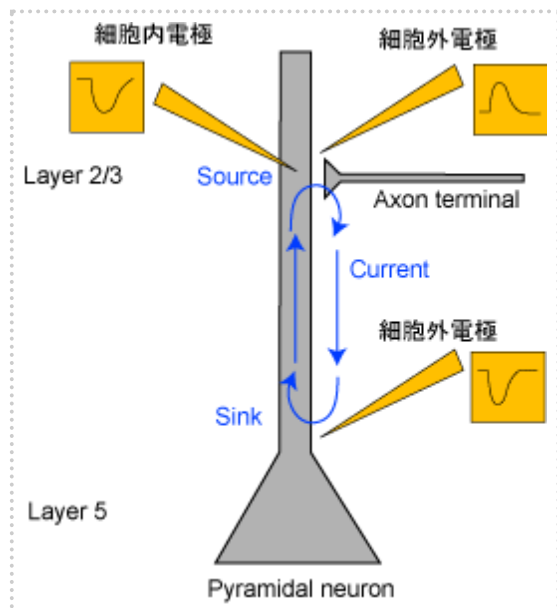
(なお、さいきんでは、action potentialのあとで見られるafterhyperpolarizationなどの遅い成分がLFPに効いていることがわかってきている。けれども、それを入門のときに言うと混乱するので言わない。)

### [Volume conduction, sinkとsource]



ただし、上記のようなシナプス電流やaction potentialなどでactiveな電流が出来たときには、閉回路を作るためにpassiveな電流も流れる。よって、電極から記録されている現象が電極の近傍で起こっているactiveな電流によるものなのか、それとも離れたところで起こっている電流から作られたpassiveな電流によるもの(volume conduction)なのかは自明ではない。

たとえば、上の図のようにシナプスで興奮性シナプス電流(EPSC)が起こっているとき、dendriteおよびsomaで細胞内電位の上昇が見られるが、細胞外電位はdendriteでは近傍の電流流入を反映した下向きのpotential(sink)が記録されるが、somaではpassiveな電流流出を反映した上向きのpotential(source)が記録される。よって、電極からsourceが記録されたとしても、かならずしも近傍の抑制性シナプス電流(IPSC)を反映しているわけではない。これは下の図のように抑制性シナプス電流(IPSC)が起こっているときの図と併せて考えてみればわかる。(図はPrinciple of Neural Scienceとかにあるものを元に作成。)



このsink(吸い込み)とsource(湧き出し)という概念は、電磁気学の教科書で大昔たぶん習った、ラプラスの方程式、ポアソンの方程式で言うことを数式を使わずに表現したもの。数式を使うと、電極の先端では電荷がないので、

$$\text{div}(\text{grad}(\varphi_{\text{ex}})) = 0 \quad \text{ラプラスの方程式}$$

となるが、この方程式を二つの境界条件、

シナプスなどの電流源では  

$$\text{div}(\text{grad}(\varphi_{\text{ex}})) = -\rho / \epsilon \quad \text{ポアソンの方程式}$$

無限遠では  

$$\varphi_{\text{ex}} = 0$$

を使って解く、というのが実際の問題となる。(たんなるまる写しだけ。)

## [Current source density (CSD)解析]

以上のことからわかるように、細胞外電位の記録だけではどこで電流流入が起こっているかを正確に推定することはできない。そこでさまざまな深さから細胞外電位を記録したデータをもとにして、activeな電流の発生位置を推定する。これがcurrent source density (CSD) analysisだ。ここにMitzdorf(1985)の図を貼る。Web上では省略。

結論だけ書くと、大脳皮質のように層構造を持っている脳部位で、深さ方向 $z(i)$  ( $i=1\dots n$ )で記録した細胞外電位を $V_{ext}(z(i))$ とすると、それぞれの深さでの電流 $I_m(z(i))$ は、

$$\begin{aligned} I_r(z(i)) &= -(1/R) * c' \nabla_{ex'}(z(i)) / dz^{i-1} \quad \text{深さ}z\text{方向の軸で}i\text{回微分;} \\ &= -(1/R) * (\nabla_{ex'}(z(i+1)) + \nabla_{ex'}(z(i-1)) - 2 * \nabla_{ex'}(z(i))) \end{aligned}$$

となる。ただし、 $R$ は細胞間隙の抵抗で、だいたい $230\text{ohm/cm}$ 。Depth profileを等間隔で記録しておけば、2階微分はある深さ $z(i)$ での細胞外電位 $V_{ext}(z(i))$ とその隣り合った深さの細胞外電位 $V_{ext}(z(i-1))$ および $V_{ext}(z(i+1))$ とから計算できる。(Mitzdorf 1985より。)

くわしく導出仮定を書くと(Mitzdorf (1985))、

連続方程式より、  

$$\text{div}(j) = I_r \quad \text{---(1)}$$

オームの法則より、  

$$j = (1/R) * E \quad \text{---(2)}$$
 (ここでは $1/R = \sigma$ は均一の定数とする。)

前述の電場と電位の関係より、  

$$E = -\text{grad}(\nabla_{ex'}) \quad \text{---(3)}$$

(2)と(3)より $E$ を消去すると、  

$$j = -(1/R) * \text{grad}(\nabla_{ex'}) \quad \text{---(4)}$$

(1)と(4)から $j$ を消去するとポアソンの方程式ができる。  

$$(1/R) * \text{div}(\text{grad}(\nabla_{ex'})) = -I_r \quad \text{---(5)}$$

これを $x, y, z$ 成分にばらすと、  

$$\begin{aligned} (1/R) * ( \partial^2 \nabla_{ex'} / \partial z^2 + \partial^2 \nabla_{ex'} / \partial y^2 + \partial^2 \nabla_{ex'} / \partial x^2 ) \\ = -I_r \quad \text{---(6)} \end{aligned}$$

大脳皮質のように、深さ $z$ 方向に延びたニューロンが $x, y$ 方向で同じように並んだ構造をしているときには $z$ 方向、 $y$ 方向の $2$ 階微分は $0$ になるから、 $z$ 成分だけが残る。

$$(1/R) * \partial^2 \nabla_{ex'} / \partial z^2 = -I_r \quad \text{---(7)}$$

恥ずかしながらただのまる写し。

## [Single-unitの記録]

もし細胞外電極が神経細胞の非常に近傍にあるとき( $<50\mu\text{m}$ )には、単一のニューロンからの活動電位を反映したsingle-unitを記録することができる。上記のMUAの特殊な例と捉えることができる。私

自身はこっちが本業だけど。

教科書とかで見る細胞内電極で記録した細胞膜電位 $V_m$ はposiの山が一つで、ゆっくり落ちてくる。いっぽうで、single unitの波形 $V_{ext}$ はそれより速くて、だいたいtriphasic。posi-nega-posi。このへんにはHenze et.al.(2000)とかの図を入れておきたい。

Single unitの波形 $V_{ext}$ がなんであんな形をしているか。細胞内電極で記録した細胞膜電位 $V_m$ と関係づけたい。Henze et.al.(2000)では、

$$V_{ext} = dV_m / dt$$

時間ドメインでの一回微分としている。ただし、波形の後ろの方はafterhyperpolarizationとかそのへんの影響で、計算からかなりずれる。

### 【細胞膜電位と細胞外電位との関係の導出】(未完結)

これを導出するためには以下の手順が必要となる。(Gold et.al. (2006)より。) 複雑なのでだいたいNEURON simulatorとかが使われる。なんかもっと簡単な説明があると良いのだけれど。

1. まず、Na channel、K channelの開閉によるチャンネルコンダクタンス $g_{Na}$ ,  $g_K$ のダイナミクスとそれによる電流 $I_{Na}$ ,  $I_K$ を計算する。
2. この電流によって起こる細胞膜電位 $V_m$ の変化をRallのcable方程式から計算する。
3. この電流によって起こる細胞外電位 $V_{ext}$ の変化をHolt-KochのLSA(line source approximation)によって近似的に計算する。
4. 以上を(近似でいいから)解析的に解けばたぶん一回微分であることが示せるはず。

Holt (1998)のp.14では

$$V_{ext}(r,z) = k * \text{integral}((1/r) * \partial(V_m / \partial z)) * dz$$

という式があるので、たぶん一回微分に近いというのは合ってると思うのだけれど。

ただ、よくわからないのは、昔の本を読んでも、Lorente de No(1947)とかTasaki (1959)を引いて、2回微分だって書いてあるのがある。Axonでの記録だけ。(正確には $I_m$ と $V_m$ の関係についてだけど。) Llinas R, Nicholson C (1974)とかだと、Rallのcore conductor modelで近似できるような条件では、

the field potentials in the vicinity of extracellular sources or sinks are proportional to the first derivative of transmembrane voltage with respect to time.

とか書いてある。いっぽうで、excitable membraneでは、 $I_m$ にはchannelによるcapacitanceの成分が入ってくるので、

the extracellular potential will be proportional to the second derivative of potential with respect to time

とか書いてある。たぶんこのへんを読めばわかるのかな。Lorente de Noまではさかのぼらずに済ま

せたいのだけれど。

## 【参考文献】

- Bedard C et.al., (2004) "Modeling extracellular field potentials and the frequency-filtering properties of extracellular space."(pdf) Biophys J. 2004 Mar;86(3):1829-42.
- Destexhe A. (1998) "Spike-and-wave oscillations based on the properties of GABAB receptors" Journal of Neuroscience 18: 9099-9111
- Gold C et.al., (2006) "On the origin of the extracellular action potential waveform: A modeling study." J Neurophysiol. 95(5):3113-28.
- Henze, D. et.al., (2000) "Intracellular features predicted by extracellular recordings in the hippocampus in vivo." J Neurophysiol. 84, 390-400.
- Holt, GR (1998) "A Critical Reexamination of Some Assumptions and Implications of Cable Theory in Neurobiology."(pdf) Ph. D. Thesis, California Institute of Technology, Computation and Neural Systems Program
- Holt GR and Koch C. (1999) "Electrical Interactions via the Extracellular Potential Near Cell Bodies". Journal of Computational Neuroscience 6:169-184
- Eric R. Kandel, James H. Schwartz, Thomas M. Jessel, eds. (2000) "Principles of Neural Science", 4th ed. McGraw-Hill:New York, NY.
- Llinas R, Nicholson C (1974) "Analysis of field potentials in the central nervous system." In: Handbook of EEG and clinical neurophysiology (Stevens CF, ed.), pp. 61-85. Amsterdam: Elsevier.
- Logothetis NK. (2008) "What we can do and what we cannot do with fMRI." Nature 12;453(7197):869-78.
- Mitzdorf U. (1985) "Current source-density method and application in cat cerebral cortex: investigation of evoked potentials and EEG phenomena."(pdf) Physiol Rev. 65(1):37-100.
- Nunez, P. L., & Srinivasan, R. (2006). Electric fields of the brain : The neurophysics of EEG (2nd. ed.). New York : Oxford University Press.

---

以上です。それで、いろいろまだ不備はあるのですが、なにがいちばん納得いってないかというと、volume conductionでのpassiveなcurrentという概念とdipoleの概念と電場の形成の概念との関係がまだ明確でないと思うのです。Passiveな電流を含めた閉回路はできるかもしれないけど、それはあくまで簡便法の説明であって、実際にはlocalな電流=dipoleの形成=電場の形成、によるpotentialの変化を記録する、というのが正しいように思うのです。このへんが以前のエントリー(20050817および20050818)にもあった、説明のレベルの問題になるのですけど。

Dipoleによる電場の形成は膜全体に起きることですが、passiveなcurrentの話はleak currentが流れるchannelの分布に依るものなので、この二つは別もののはずです。なのだけれど、このへんを区別してはっきり書いているものがない。すくなくとも、NEURONとかでsimulationしている人はこのへんを明示的に扱っているはずなのだけれど。

続くかもしれないし、続かないかもしれないです。

コメントする (2)

# Ryohei

簡潔にまとまっていて、とてもよいですねー。PDFにして、講義ノートも公開してください！そういえば、もうすぐ岡崎でセミナーする予定です。お会いしたいですねー。

# [pooneil](#)

どうもです。Ryoheiさん、Science出版おめでとうございます。  
講義ノートの公開、いいですね。とりあえず現在のエントリのPDFファイルを作ってリンクしておきます。  
内容ですけど、間違いはなかったですか？Vmの1階微分のあたりとか、それからdipoleによる電場の形成とleak currentの関係とか、直せるところがあったらぜひコメントしてください。  
岡崎のセミナーは生理研ですか？分子研ですか？ぜひお会いしましょう！

このエントリーのトラックバックURL:

<http://pooneil.sakura.ne.jp/mt/mt-tb.cgi/1159>

[\[コメントを書き込む\]](#)