

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 26 日現在

機関番号：21601

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2015～2016

課題番号：15H06530

研究課題名(和文) 知覚-運動学習に伴う線条体内の可塑的变化の解明

研究課題名(英文) Striatal plasticity during acquisition of Sensory-motor learning

研究代表者

瀬戸川 将 (Setogawa, Susumu)

福島県立医科大学・医学部・博士研究員

研究者番号：30760508

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：知覚-運動学習の達成には、大脳基底核の中心的な構造である線条体が重要である。近年、この学習の熟達段階に応じて、線条体内の学習関連領域が背内側および背外側領域の間で遷移することが報告されている。しかしながら、知覚-運動学習の獲得過程で生じる線条体内の神経活動のどのように遷移するかは殆ど分かっていない。本研究では、聴覚弁別課題学習中の異なる段階の脳活動パターンを小動物脳機能画像法により調べた。その結果、学習初期から中期にかけて背内側線条体の神経活動が増加し、学習後期では低下した。これらの結果は、感覚-運動学習が線条体内で生じる神経活動のパターンの動的シフトを引き起こすことを示唆する。

研究成果の概要(英文)：Striatum, which is one of the nuclei in basal ganglia, has an important role in sensory-motor learning. Recently, it has been reported that the task-related region shifts between the dorsolateral and the dorsomedial parts of striatum during this learning. However little is known when and how the responsible area in the striatum shifts during acquisition of associative learning. In this study, we assessed dynamic changes in patterns of the brain activation at different learning stages during an auditory discrimination task using a small-animal neuroimaging. Voxel-based statistical parametric mapping analysis revealed that the neural activities in the dorsolateral striatum increased in the middle learning phase, then turned to decrease at later learning phase. These findings suggest that the sensory-motor learning evokes dynamic shift of regional brain activation pattern within striatum.

研究分野：身体教育学

キーワード：線条体 知覚 運動学習 運動学習 小動物脳機能イメージング法

1. 研究開始当初の背景

運動学習とは「知覚を手掛かりとして運動を目的に合うように遂行する能力が向上していく過程」と考えられている。この学習過程は、課題に必要な動作やルールを理解する段階から、自らの動作に注意を払うことなく、機械的・瞬間的に遂行できる自動化の段階へ移行していくと考えられている。この様な知覚 - 運動学習の獲得に関わる主要な脳領域として、大脳基底核の一部である線条体が注目されてきた。線条体は、主に認知機能に関わる大脳皮質領域から入力を受ける背内側部 (DMS) と体性感覚領域から入力を受ける背外側部 (DLS) の2つの下位領域により構成される(図 1a)。近年、げっ歯類を用いた研究において、知覚 - 運動学習に関連する線条体内の領域は、学習段階に応じて DMS および DLS の間で遷移することが報告されている (Featherstone., 2004, 2005, Yin., 2009)。しかしながら、この領域間で生じる学習過程に応じた機能的役割の遷移に関して、どの学習段階で、どのように遷移していくのかについては未だ統一的な理解は得られていない(図 1b)。例えば、Yin ら(2009)は、電気生理学的手法を用いて運動学習中の線条体内の可塑的变化を詳細に調べた。その結果、DMS は学習の開始時に強く関与しており、DLS は動作が安定した課題の後半に主に関与していることを明らかにした。一方で我々は、課題学習後の DLS の脳局所破壊が再獲得に要する期間を延長することを明らかにした (Nishizawa, 2012)。つまり、これらの知見は、課題獲得に関わる線条体の機能的役割が知覚 - 運動学習と感覚刺激に依存しない運動学習の間で必ずしも一致しない事を意味する (Fhetherstone and Mcdonald., 2004)。これまで、線条体と学習に関する多くの先行研究は薬理的破壊や電気生理学的手法により、線条体局所領域のメカニズムを詳細に明らかにしてきた。一方で、これらの手法だけでは、知覚 - 運動課題の DLS と DMS の間で生じる機能的役割の遷移がどのように生じるかを明らかにすることは困難であった。そこで、本研究では線条体全領域を対象に、感覚依存性の行動出力に関わる脳領域を同一個体で、学習段階別に計測可能な手法を用いて、知覚

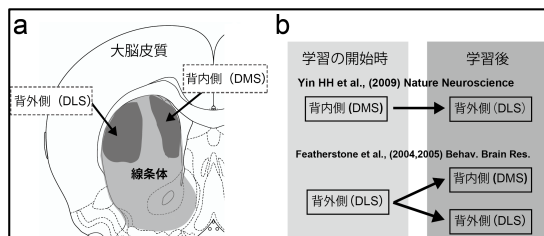


Figure 1: 学習課程に生じる線条体内の機能シフト
 (a) ラットの脳の冠状断。背内側および背外側線条体の位置。
 (b) 知覚 - 運動学習中に線条体内で生じること機能的神経接続の遷移に関する知見の相違。

- 運動学習時に生じる機能的役割の可塑的变化の解明を目指す。

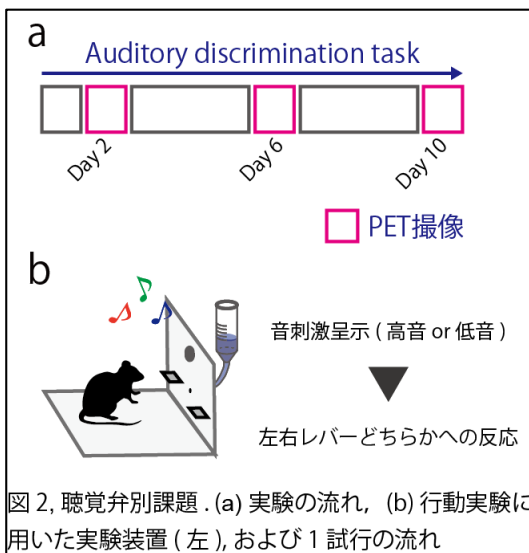
2. 研究の目的

近年、非侵襲的な脳機能イメージング技術の発達により、小動物を対象とした実験においても臨床用陽電子放射断層撮影装置 (PET) にも迫る空間解像度を得ることが可能になった。そこで本研究は、線条体全領域の神経活動の網羅的解析が可能な小動物脳機能イメージング法を用いて、知覚 - 運動学習中の課題関連領域が、“どの学習段階で”、“どのように” 遷移するか明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

1) 聴覚弁別課題

実験動物は Long Evans ラットを用い、課題は聴覚弁別学習課題を行った。実験に用いたオペラント学習装置は、室内灯、音刺激呈示用のスピーカー、報酬用のスパウトおよび、その左右に設置された2本のレバーにより構成された(図 2b)。課題は、2種類の音(低音、高音)と左右のレバーの弁別反応の関係性を学習する。本実験で用いる知覚 - 運動学習課題では、1日 90~180 試行を数日間に渡って連続的に行う。また学習段階を詳細に検討するために、正答率と反応時間を測定した。本課題では、ラットが2日連続で正答率 80%以上を達成した場合、学習が達成されたとみなした。実験期間中、ラットへは節水制限を行った。ラットの体重は実験前に測定を行い、節水制限前の 85%以上を維持した。実験は福島県立医科大学および理化学研究所の実験動物委員会に計画書を提出、許可を受けた上で行った。



2) 小動物脳機能イメージング法

実験には 2-[¹⁸F] fluoro-2-deoxy-D-glucose (FDG) を用いる。FDG は、神経活動依存的にグルコーストランスポーターを介して神経細胞内に取り込まれ、蓄積する。この集

積した FDG の位置を，PET を用いて計測することにより，課題遂行時に神経活動が変化した脳領域を特定することが可能となる．PET の測定は，学習実験時に 3 回行った(図 2a)．具体的な測定方法としては，行動課題の開始直前にラット尾静脈より FDG を注入し，即座に行動課題を開始する．行動課題は 30 分間行われ，終了後にラットはホームケージへ戻される．PET 撮像は，FDG 注入から 55 分後にイソフルラン麻酔下において 30 分間行う．収集したデータは，画像再構成を行った後，小動物脳機能画像解析法を用いて学習依存的に変化した脳活動領域を求めた．

3) 免疫組織化学染色

知覚 運動学習を達成したラットを，行動課題終了から 2 時間後に 4 % paraformaldehyde 溶液で灌流固定し，30 μ m 連続凍結切片を作成した．抗 Fos 抗体による免疫組織化学染色を行った後，DAB 発色にて観察した．Fos 陽性細胞は，背外側線条体および背内側線条体を対象に光学顕微鏡を用いて撮影・記録を行った．

4. 研究成果

1) 聴覚弁別課題の確立

本研究課題で用いた聴覚弁別課題の結果を図 3 に示す．正答率は課題開始直後より上昇し， 8.75 ± 2.6 日で学習達成の基準に到達した．一方で，パフォーマンスの指標である反応時間に変化は見られなかった．

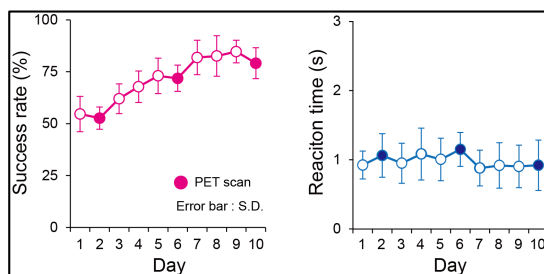


図 3. 聴覚弁別学習課題の正答率 (a) および反応時間 (b).

2) PET による脳活動の計測

聴覚弁別課題の訓練期間に撮像した異なる学習段階の PET 画像を比較することにより，学習依存的に神経活動が変化する領域を同定した．その結果，学習初期から中期にかけて (Day 6)，線条体および一次運動野の神経活動が増加することが明らかとなった．また，

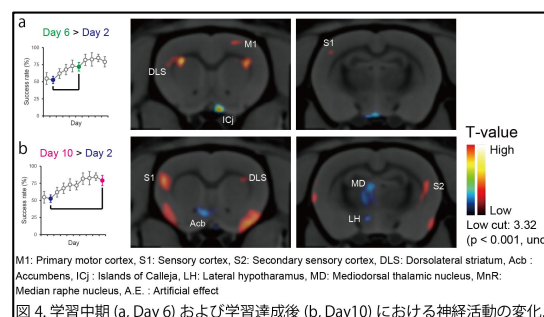


図 4. 学習中期 (a, Day 6) および学習達成後 (b, Day 10) における神経活動の変化.

Day 10 では一次感覚野および二次感覚野の神経活動が増加し，腹側線条体および視床の神経活動が低下した．

3) 免疫組織化学法による神経活動増加領域の推定

PET で同定した神経活動の賦活領域において，神経活動マーカーの一つである c-fos タンパク質の発現を確認した．その結果，知覚 運動学習達成後に 10 日間の過剰訓練を行ったラットと比較して，獲得直後では背外側線条体の Fos 陽性細胞の増加が観察された．現在，線条体の局所領域別に詳細な解析を進めている．

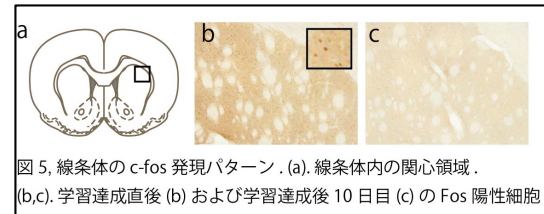


図 5. 線条体の c-fos 発現パターン. (a). 線条体内の関心領域. (b,c). 学習達成直後 (b) および学習達成後 10 日目 (c) の Fos 陽性細胞

4) 研究成果のまとめと今後の課題

本研究では，線条体内で生じる学習過程に応じた機能的な役割の遷移に関して，どの学習段階で，どのように遷移していくのかが明らかにすることを目的とした．そこで，脳機能イメージング法と小動物を対象とした行動実験を組み合わせる新規の実験系を確立し，同一個体で学習中に生じる線条体内の神経活動の変化を調べた．その結果，学習の初期から中期にかけて背側線条体の神経活動が増加することを明らかにした．また，学習の後半には線条体の神経活動が低下し，側坐核の神経活動の顕著な低下が見られた．更に，背外側線条体において，学習達成直後では Fos 陽性細胞の増加が観察された (現在，解析中)．これらの結果は，背側線条体が知覚 - 運動学習課題の獲得期から獲得直後において関与することを示唆する．今後，PET イメージング実験により同定された脳部位へ薬理的な慢性破壊および一過性の神経活動障害実験を導入し，神経活動が賦活化した領域と行動の因果関係に迫る．

線条体は知覚 - 運動学習だけでなく，柔軟な意思決定や自動化された行動など，認知 - 運動の幅広い側面に関与している．この脳領域の学習・行動の実行を支える生理学的メカニズムを解明することは，例えば運動が苦手な児童・生徒に対して，神経科学的エビデンスに基づいた，新たな支援・指導方法の開発へ繋がる可能性が期待される．

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 3 件)

1. Susumu S and Cui YL, The 7th international

neural microcircuit conference Recent advances in the analysis of cortical microcircuits, December, 8-10th, 2016, Aichi, Japan.

2.瀬戸川将, 岡内隆, 井口善雄, 和田康弘, 林中恵美, 疋島啓吾, 崔翼龍, 小林和人, PETを用いた単一レバー押し課題中の学習依存的な神経活動の変化, 第71回日本体力医学会大会, 岩手県民情報交流センター, 岩手県, 2016年9月

3.瀬戸川将, 知覚・運動学習に伴う脳神経回路シフトの動態メカニズム解明に向けて, 第9回PET化学ミーティング, 2016年2月20日, 理研ライフサイエンス技術基盤研究センター, 神戸

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

特記事項なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

瀬戸川 将 (Setogawa Susumu)

福島県立医科大学・医学部附属・生体機能
研究部門・博士研究員

研究者番号: 30760508