

平成 29 年 6 月 15 日現在

機関番号：12102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K12766

研究課題名(和文)注意の神経機構：霊長類動物モデルを用いた光遺伝学からのアプローチ

研究課題名(英文)Optogenetic approach to understand neural mechanisms underlying visual attention in monkeys

研究代表者

松本 正幸 (MATSUMOTO, Masayuki)

筑波大学・医学医療系・教授

研究者番号：50577864

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：近年、視覚的注意の神経メカニズムとして、中脳ドーパミンニューロンから前頭前野への入力注目されている。本研究では、サルのドーパミンニューロンと前頭前野ニューロンから神経活動を記録し、ドーパミンニューロンの視覚刺激に対する応答により強い注意の影響が見られたことを明らかにした。我々が得た結果から、ドーパミンニューロンが視覚的注意に関連した情報を前頭前野に伝達している可能性が推測される。本研究計画は平成28年度で終了したが、この成果をさらに発展させ、前頭前野に伝達されるドーパミンシグナルと視覚的注意との因果関係を調べる光遺伝学実験を進めて行く。

研究成果の概要(英文)：Previous studies have reported that dopamine released in the prefrontal cortex is involved in visual attention. To examine what signals dopamine neurons transmit to the prefrontal cortex, we recorded single-unit activity from dopamine neurons and neurons in the prefrontal cortex in monkeys. We found that the response of dopamine neurons to visual stimuli was more strongly modulated by visual attention than that of prefrontal neurons. Our findings suggest a possibility that dopamine neurons transmit signals related to visual attention to the prefrontal cortex. We will examine the causal relationship between the dopamine signal and visual attention using optogenetics developed for monkeys.

研究分野：神経科学

キーワード：視覚的注意 ドーパミンニューロン 前頭前野 光遺伝学 サル

1. 研究開始当初の背景

我々の視覚世界は多くの物体に満ち溢れているが、脳が処理すべき対象に注意を向けることにより、生体にとって重要な視覚情報だけを選択的に処理することができる。このような視覚的注意には、外界で顕著に目立つ刺激に対して受動的（ボトムアップ）に向けられるものと、目的とする刺激に対して能動的（トップダウン）に向けられるものがある。どちらの視覚的注意の場合でも、脳の眼球運動関連領域（前頭眼野、外側頭頂間野、補足眼野、上丘、尾状核など）が重要な役割を果たすことが先行研究によって報告されている。ただ、これらの眼球運動関連領域は相互に結合して複雑なネットワークを形成しているが（図1）このネットワークがどのように働くことによって視覚的注意の機能が実現されているのかは未だに解明されていない。

神経ネットワークの機能を探る試みは、げっ歯類や他の小動物を対象にした光遺伝学の手法により、近年急速に進展している。この光遺伝学では、遺伝子改変動物やウイルスベクターを用いて、チャンネルロドプシンやハロロドプシンなどの光感受性イオンチャンネルを特定のニューロン種や神経路に発現させる。そして、脳に光ファイバーを刺入して光刺激を施すことにより、これらのニューロン種・神経路を選択的に活性化あるいは不活性化する。このように神経回路の機能を介入操作して、動物の行動や神経活動への影響を調べることで、その神経回路の機能を解析することができる。ただ、大きな脳を持ち、認知機能が発達した霊長類では、光遺伝学技術の開発が遅れており、視覚的注意を始めとする認知機能のメカニズムを神経回路レベルで理解するための試みは進んでいない。この点に関し、我々の研究グループでは、マカク属のサル（ニホンザルやアカゲザル）を対象とした光遺伝学による神経路選択的な活動操作手法を世界に先駆けて開発し、霊長類の随意運動制御のための神経回路基盤研究に適用した実績を有する（Inoue et al.,

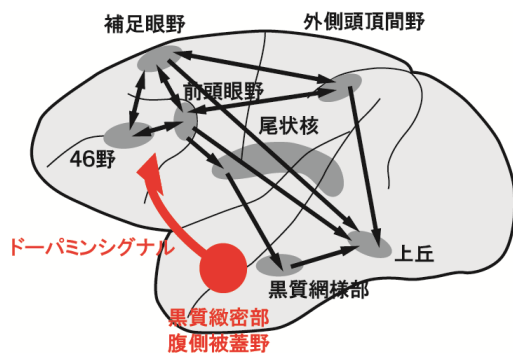


図1 眼球運動関連領域をつなぐ神経ネットワークとドーパミンニューロン - 前頭前野神経路

Nature Communications, 2015)。我々の手法をさらに視覚的注意に関連した神経ネットワークに適用できれば、このネットワークのどのような働きが視覚的注意を実現しているのかを解明することに繋がると期待できる。

2. 研究の目的

上述した眼球運動に関連した脳領域に加え、特に近年、中脳（黒質緻密部と腹側被蓋野）に分布するドーパミンニューロンと前頭前野を結ぶ神経回路（図1）が、視覚的注意にとって重要な役割を果たしていることが報告されている（Noudoost & Moore, Nature, 2011）。ただ、ドーパミンニューロンは報酬が予期されたときや得られたときに活動を上昇させるニューロン群として知られており、特に報酬の価値に関連したシグナルを伝達する神経系として注目されてきた。ドーパミンニューロンのシグナルがどのようにして視覚的注意の制御に関わっているのかは解明されていない。この点に関し、我々の研究グループの最近の研究は、ドーパミンニューロンが報酬シグナルを伝達するだけではなく、報酬シグナルと“saliency（顕著性）”に関わるシグナルを伝達する少なくとも2つのグループに分かれることを報告した（Matsumoto & Hikosaka, Nature, 2009; Matsumoto & Takada, Neuron, 2009）。すなわち、ドーパミンニューロンは単一のシグナルを伝達する一様なニューロン集団ではなく、複数のシグナルを伝達する多様なニューロン群であると考えられることができる（Matsumoto, Movement Disorders, 2015）。

これらの先行研究からは、我々は、ドーパミンニューロンが視覚的注意に関わる何らかのシグナルを伝達しているのではないかと推測している。本研究の第一の目的として、（1）ドーパミンニューロンが視覚的注意に関わるどのようなシグナルを前頭前野に伝達しているのかを明らかにしたい。さらに次の目的として、（2）（1）で明らかになったドーパミンニューロンの視覚的注意に関わるシグナル（特に前頭前野に入力されるシグナル）を選択的に操作できる光遺伝学技術を用いて、そのドーパミンシグナルがサルの視覚的注意にどのような役割を果たしているのか解析する。

3. 研究の方法

（1）ドーパミンニューロンと前頭前野ニューロンからの神経活動記録

ドーパミンニューロンが視覚的注意に関わるどのようなシグナルを前頭前野に伝達しているのかを明らかにするため、視覚的注意を必要とする認知行動課題をマカク属のサルにおこなわせる。このサルはコンピューターモニターの前に固定された専用のチェアに座っており、モニターに呈示された視覚刺激に注意を向ける条件と向けない条件が

設定されている。サルに呈示する視覚刺激には6種類あり、どの視覚刺激が呈示されるかによってサルが得られる液体報酬の量が変わる。つまり、それぞれの視覚刺激は、異なる価値を持った報酬に対応することになる。サルがこのような認知行動課題をおこなっているとき、黒質緻密部あるいは腹側被蓋野に記録電極を刺入し、ドーパミンニューロンから神経活動を記録した。ドーパミンニューロンの同定は、活動電位の形状や自発発火頻度などの電気生理学的な指標を用いた。また、前頭前野に記録電極を刺入してニューロンの神経活動を記録し、ドーパミンニューロンと前頭前野ニューロンが視覚的注意に関わるどのようなシグナルを伝達しているのかを比較した。

神経活動を記録する前に、黒質緻密部、腹側被蓋野、前頭前野の各記録部位をMRIで確認した。この記録部位は、全ての実験が終了した後にヒストロジーによって同定する予定である。

(2) ドーパミンニューロン - 前頭前野神経路をターゲットにした光遺伝学実験

まず、ウイルスベクター(主にアデノ随伴ウイルスベクター)をサルの黒質緻密部と腹側被蓋野にマイクロシリンジを使って注入し、チャンネルロドプシンやハロロドプシンなどの光感受性イオンチャンネルをドーパミンニューロンに発現させる(図2)。光感受性イオンチャンネルは、ドーパミンニューロンの細胞体だけではなく、軸索末端にまで発現させる必要がある。また、ドーパミンニューロン選択的な遺伝子発現のために、霊長類の脳で機能するチロシン水酸化酵素(TH)あるいはドーパミントランスポーター(DAT)のプロモーターを付与したウイルスベクターを用いる。そして、ドーパミンニューロンの投射先である前頭前野に光ファイバーを刺入して、前頭前野に投射するドーパミンニューロンの軸索末端に発現した光感受性イオンチャンネルに光を照射することにより、ドーパミンニューロン - 前頭前野神経路を選択的に

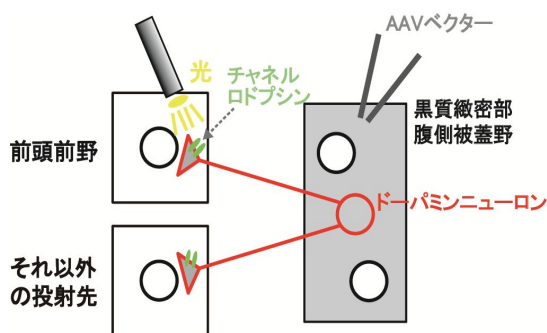


図2 ドーパミンニューロン - 前頭前野神経路を選択的に刺激する光遺伝学的手法

刺激することができる。この手法を用いることにより、ドーパミンニューロンから前頭前野以外への神経路の刺激を回避することが可能で、ドーパミンニューロン - 前頭前野神経路の役割だけを解析することができる。この光遺伝学を用いた神経路選択的な活動操作をサルが上述した認知行動課題をおこなっている間に実施して、前頭前野に入力されるドーパミンシグナルへの介入操作がサルの視覚的注意に与える影響を行動学的に解析する。また同時に、前頭前野や外側頭頂間野をはじめとする眼球運動関連領域から神経活動を記録して、前頭前野に入力されるドーパミンシグナルが視覚的注意に関わる神経ネットワーク全体の動作にどのような役割を果たしているのかを電気生理学的に解析する。

本研究で用いるウイルスベクターシステムは、霊長類を対象にした光遺伝学による神経路選択的な活動操作手法を我々と共同で開発し (Inoue et al., Nature Communications, 2015)、本研究の連携研究者でもある京都大学霊長類研究所の井上謙一助教から提供を受ける。

4. 研究成果

(1) ドーパミンニューロンと前頭前野ニューロンからの神経活動記録

まず、「3. 研究方法」に記述した認知行動課題をサルにおこなわせ、課題遂行中に黒質緻密部あるいは腹側被蓋野に刺入した記録電極からドーパミンニューロンの神経活動を記録した。記録したドーパミンニューロンの多くは、より高い報酬価値に対応した視覚刺激が呈示されたときにより強く活動を上昇させ、低い報酬価値に対応した視覚刺激が呈示されると活動を低下させた。このような報酬価値に応じたドーパミンニューロンの応答は多くの先行研究によって報告されている。本研究で特に注目した点は、サルがこの視覚刺激に注意を向けている条件では多くのドーパミンニューロンが価値情報をコードしていたが、注意を向けていない条件では価値情報を全くコードしていなかった。つまり、ドーパミンニューロンは報酬の価値に関連したシグナルを伝達するだけではなく、視覚的注意を反映した神経活動を示したことになる。

次に、サルが同様の認知行動課題をおこなっているときに前頭前野のニューロンからも神経活動を記録した。前頭前野ニューロンも、サルが視覚刺激に注意を向けているときにその価値情報をコードしていた。ただ、サルが注意を向けていない条件でも、いくつかのニューロンが、弱くではあるが視覚刺激が持つ価値情報をコードしていた。我々が得た結果は、前頭前野ニューロンよりもドーパミンニューロンでより強い視覚的注意を反映した神経活動が見られたことを意味している。

本研究は平成28年度で終了になるが、今後、黒質緻密部・腹側被蓋野のどの領域に分布するドーパミンニューロンが視覚的注意を反映した神経活動を示すのか検証する。我々の先行研究では、ドーパミンニューロンがその分布域ごとに異なるシグナルを伝達していることが明らかにされており（Matsumoto & Hikosaka, Nature, 2009; Matsumoto & Takada, Neuron, 2009）、特定の領域に分布するドーパミンニューロンだけで視覚的注意を反映した神経活動が見られる可能性がある。また、前頭前野は複数の領域に区分けされるが、今回報告した視覚的注意を反映した神経活動を示すニューロンが、どの前頭前野領域に分布しているのかも合わせて検証していく。

(2) ドーパミンニューロン - 前頭前野神経路をターゲットにした光遺伝学実験

光遺伝学用レーザー照射装置とサル行動課題を同期して制御できるシステムを構築した。このシステムを用いることにより、認知行動課題遂行中のサルにおいて、任意の課題イベントのタイミングで脳に刺入した光ファイバーからレーザー光を照射することができる。

今後、これまでに得られた成果をさらに発展させ、光遺伝学によるドーパミンニューロン - 前頭前野神経路の選択的な活動操作がサルの視覚的注意にどのような影響を与えるのかを行動学的に検証する。また、ドーパミンニューロン - 前頭前野神経路の活動を操作している際に前頭前野や外側頭頂間野をはじめとする眼球運動関連領域から神経活動を記録して、前頭前野に入力されるドーパミンシグナルが視覚的注意に関わる神経ネットワーク全体の動作にどのような役割を果たしているのかを電気生理学的に解析する。

視覚的注意の神経メカニズムを神経回路レベルで明らかにしようとする本研究のアプローチは、視覚的注意以外の認知機能にも応用することが可能である。今後、このアプローチが一般化すれば、その研究が遅れている霊長類の高次脳機能を実現する神経ネットワークの解明に繋がるものと大いに期待される。

<参考文献>

- Inoue K, Takada M, Matsumoto M. Neuronal and behavioural modulations by pathway-selective optogenetic stimulation of the primate oculomotor system. Nature Communications, 6:8378, 2015
- Matsumoto M, Hikosaka O. Two types of dopamine neuron distinctly convey positive and negative motivational signals. Nature, 459, p837-41, 2009
- Matsumoto M, Takada M. Distinct

representations of cognitive and motivational signals in midbrain dopamine neurons. Neuron, 79, p1011-24, 2013

- Matsumoto M. Dopamine signals and physiological origin of cognitive dysfunction in Parkinson's disease. Movement Disorders, 30, p472-83, 2015
- Noudoost B, Moore T. Control of visual cortical signals by prefrontal dopamine. Nature, 474, p 372-5, 2011

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 0件)

[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]

ホームページ等

<http://www.md.tsukuba.ac.jp/basic-med/cog-neurosci/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松本 正幸 (MATSUMOTO, Masayuki)
筑波大学・医学医療系・教授
研究者番号: 50577864

(3) 連携研究者

井上 謙一 (INOUE, Kenichi)
京都大学・霊長類研究所・助教
研究者番号: 90455395

(4) 研究協力者

憚 夢曦 (YUN, Mengxi)
筑波大学・人間総合科学研究科・大学院生

川合 隆嗣 (KAWAI, Takashi)
筑波大学・医学医療系・研究員