

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 15 日現在

機関番号：32639

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K14320

研究課題名(和文)光遺伝学を用いた線条体直接路・間接路細胞の学習メカニズム

研究課題名(英文)Optogenetical approach of striatal direct- and indirect-pathways for learning

研究代表者

木村 實(Kimura, Minoru)

玉川大学・脳科学研究所・教授

研究者番号：40118451

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：遺伝子改変ラットと光遺伝学を用いて、行動課題を遂行中のラットの線条体の直接路細胞と間接路細胞を同定した。直接路細胞は行動選択後の報酬で放電を増大、間接路細胞は無報酬で放電を増大した。直接路細胞の応答を光遺伝学で増強すると、次に同じ行動選択をする確率が増え、間接路細胞の応答を増強すると、異なる行動に切り替える確率が増えた。これらの知見は、直接路、間接路が行動結果を異なる様式で表現し、ゴールに向けて選択を調節することを示す。

研究成果の概要(英文)：We recorded spike activity of optogenetically identified direct- and indirect-pathway neurons in the striatum when rats performed conditioning task. Direct pathway neurons were activated by reward outcome and inhibited by no-reward outcome of behavioral choice. In contrast indirect-pathway neurons were activated by no-reward outcome and inhibited by reward outcome. The outcome coding was mostly associated with executed specific. Direct- and indirect-pathway neurons signaled stay selection switch selection in subsequent trial. Optogenetical enhancement of responses of indirect-pathway neurons to no-reward outcome raised the probability of behavioral switch, whereas enhancement of responses of direct-pathway SPNs to reward outcome raised the probability to stay previous choice. Our results reveal that the direct- and indirect-pathways differentially signal positive and negative outcomes and promote subsequent behavioral selection to enable reward to be efficiently realized.

研究分野：神経生理学

キーワード：システム神経生理学

1. 研究開始当初の背景：

大脳基底核線条体は、大脳皮質や視床から受け取る行動、価値、文脈や注意などの情報伝達を中脳ドーパミン細胞由来の報酬、動機づけ信号によって調節することによって、文脈に適した意志決定や行動選択に関わると考えられている。一方、大脳基底核の機能の実現には、基底核の出カステーションである淡蒼球内節・黒質網様部へ線条体から投射する直接路と、淡蒼球外節、視床下核を介して間接路を介する情報処理が基本的な役割を担うと考えられている。直接路を介する脱抑制によって運動を選択・発現し、間接路を介する抑制の増大によって不必要な運動を抑制するという脱抑制仮説 (Mink 1996; Hikosaka et al., 2006)は、支持する証拠もあるが、対立する知見も多く (Cui et al., 2013; Kravitz et al., 2012)理解が遅れている。最適な研究戦略と先端技術の導入の必要性が問われている。

2. 研究の目的：

大脳基底核の機能は、伝統的なシステム神経科学によって理解が進んできた。一方、直接路と間接路が基底核の機能にどのように関与するかという基本的な疑問に答えが得られていない。本研究の目的は、遺伝子工学や光遺伝学の最先端技術を導入した遺伝子改変ラットを用いて、大脳基底核の2つの情報処理系が意志決定と行動選択に果たす役割を明らかにすることである。

3. 研究の方法：

(1) 行動課題を遂行中のラット線条体の直接路、間接路細胞の情報表現の同定とそれぞれの役割に関する仮説の提案：トランスジェニックラットの線条体にアデノ随伴ウイルスベクターを注入し、直接路細胞または間接路細胞選択的にChR2を発現させる。線条体または淡蒼球外節への光刺激によって直接路、間接路細胞の活動を同定し、意志決定課題においてそれぞれの細胞群がどのような情報を表現するかを調べる。大脳基底核の強化学習モデルに照らし合わせて、直接路・間接路の役割に関する仮説を提案する。

(2) 線条体の直接路、間接路細胞の光遺伝学的刺激による仮説の検証：線条体の光刺激によって直接路・間接路細胞を選択的に活性化、不活性化させ、仮説を検証する。

4. 研究成果：

(1) 線条体の直接路、間接路選択的に Cre を発現する Drd2-Cre rat, Tac1-Cre rat の線条体に AAV-GFP を注入し、それぞれ淡蒼球外節と黒質に輸送されることを確認した (図 1)。

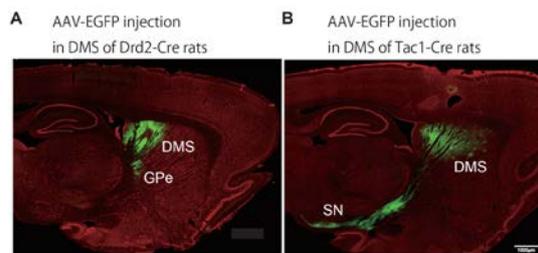


図 1 AAV-EGFP の線条体への注入によって直接路、間接路の選択性を確認した

(2) 頭部を固定された Long Evans ラットに、右前肢でレバーの押し・引きを行わせた。レバーの押し・引きで得られる報酬は確率 80%と 20%のいずれかであり、ラットは 10 回程度の試行錯誤で報酬確率の高い選択肢を選んだ。レバー押し・引きを行った後に報酬または無報酬を知らせる音を提示した。

(3) 神経活動記録の電極と光刺激用のガイドチューブを線条体に刺入して、460 nm の光刺激に短潜時 (<7ms) で活動電位を発生する 52 個の細胞を直接路細胞と同定した。一方、線条体では間接路細胞の他にコリン作動性介在細胞も D2 受容体を発現しているの、淡蒼球外節にガイドチューブを入れて線条体から投射してくる軸索を刺激して逆行性活動電位の発生を確認することによって 42 個の間接路細胞を同定した。

(4) ラットが行動課題を遂行中に、直接路細胞は、行動選択後に報酬を知らせる音に対して放電増大、無報酬を知らせる音に対して放電現象を示した (図 2)。

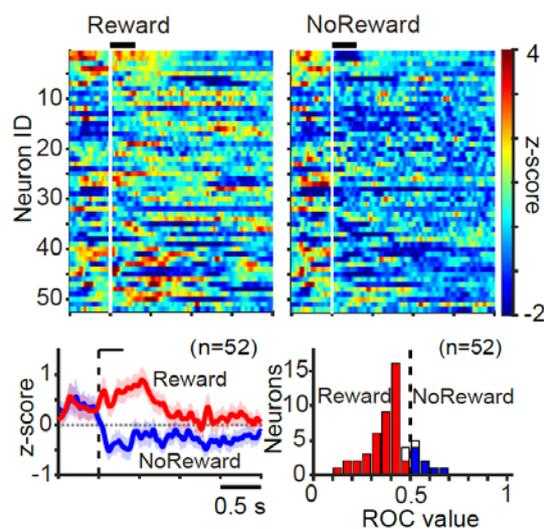


図 2 52 個の直接路細胞の報酬音と無報酬音に対する応答を細胞毎のカラー表示と平均応答で示す。報酬音と無報酬音を区別することを示す ROC 値分布

一方、大多数の間接路細胞は直接路細胞と正反対に、報酬音に対して放電の減少を、無報酬音に対して放電を増大させた。無報酬音に対する放電の増大は、直前の3試行で経験した無報酬の回数に依存しており、3回すべて無報酬の場合には最大、直前の1回の場合には最小であった。さらに無報酬の経験はその後の試行で行動選択を変更する確率と有意に相関した($R^2=0.08$, $P < 0.0005$) (図3)。

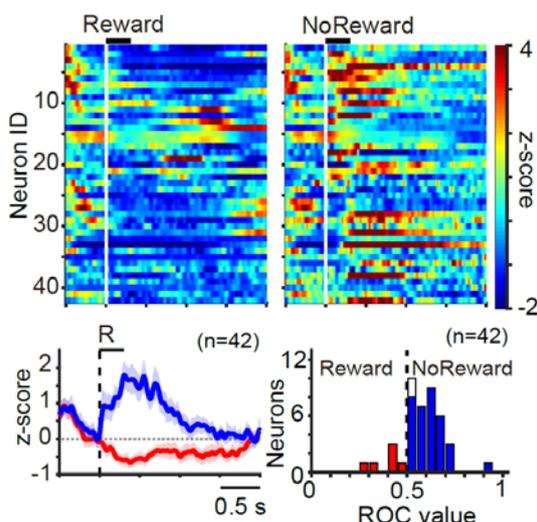


図3 42個の間接路細胞の報酬音と無報酬音に対する応答。表示は直接路(図2)と同じ。

このことは、間接路細胞の無報酬音への応答が次の試行での行動選択の変更に関わる可能性を示唆する。

(5) そこで、間接路細胞の無報酬音への応答を460 nm光で増大させると、次の試行で行動選択を変更する確率が有意に増大した($P < 0.01$, Wilcoxon signed-rank test) (図4)。

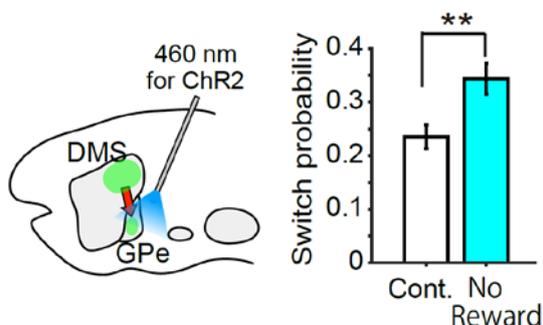


図4 無報酬音に同期して淡蒼球外節(GPe)に460 nm光を照射して間接路細胞の応答を増強させると、行動選択の変更確率が増大した。

本研究によって、線条体の直接路細胞と間接路細胞が、行動選択が報酬または無報酬であることを対照的、補完的な様式で評価し、直接路は直前の選択と同じ選択を、間接路は行動選択の変更に貢献するという仕組みが明らかになった。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計2件)

- ① Yamanaka K, Hori Y, Minamimoto T, Yamada H, Matsumoto N, Enomoto K, Aosaki T, Graybiel AM, Kimura M. (2017). Roles of centromedian parafascicular nuclei of thalamus and cholinergic interneurons in the dorsal striatum in associative learning of environmental events. *Journal of neural transmission*, 124(518), 1-13, doi:10.1007/s00702-017-1713-z. 査読有
- ② Saiki A, Sakai Y, Fukabori R, Soma S, Yoshida J, Kawabata M, Yawo H, Kobayashi K, Kimura M, Isomura Y. (2017). In Vivo Spiking Dynamics of Intra- and Extratelencephalic Projection Neurons in Rat Motor Cortex. *Cerebral cortex*, 1-15, doi: 10.1093/cercor/bhx012. 査読有

[学会発表] (計6件)

- ① Minoru Kimura, Roles of thalamostriatal projection from posterior intralaminar nuclei in associative learning of external events. 国際シンポジウム Computational Basal Ganglia, 2016年12月14日, National Institute for Physiological Science 自然科学研究機構生理学研究所(愛知県岡崎市)
- ② S. Nonomura, K. Yamanaka, K. Nishizawa, K. Kobayashi, Y. Sakai, Y. Kawaguchi, A. Nambu, Y. Isomura, M. Kimura, Activity of dopamine D2 receptor-expressing striatal neurons during decision-making task. The 39th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society 第39回日本神経科学学会大会, 2016年7月22日, パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)
- ③ Minoru Kimura, Roles of nigrostriate and thalamostriate systems in motivation and learning. The Third CiNet Conference Neural mechanisms of decision making: Achievements and new directions, 2016年2月5日, NICT, Center for information and Neural Networks(CiNet/NICT)(大阪府吹田市)
- ④ Kimura M, Yamanaka K, Minamimoto T., Hori Y., Ueda Y., Roles of the centromedian nucleus of thalamus and its projection to the striatum in cognitive and behavioral biases.

Neuroscience 2015, SfN's 45th annual meeting, 2015 年 10 月 21 日, McCormick Place, Chicago, Illinois USA

- ⑤ 木村實, 大脳基底核による行動選択と学習機能. 第 30 回日本大脳基底核研究会, 2015 年 7 月 19 日, 名鉄犬山ホテル(愛知県犬山市)
- ⑥ Kimura M., Yamanaka K., Minamimoto T., Hori T., Ueda Y, Neural basis of cognitive control of behavior in the centromedian nucleus of thalamus and its projection to the striatum. Thalamus and Corticothalamic Interactions, 2015 年 4 月 27 日, Janelia Research Campus, Virginia, USA

6. 研究組織

(1) 研究代表者

木村 實 (KIMURA, Minoru)
玉川大学・脳科学研究所・教授
研究者番号: 40118451

(2) 連携研究者

榎本 一紀 (ENOMOTO, Kazuki)
玉川大学・脳科学研究所・特任助教
研究者番号: 10585904

(3) 連携研究者

山中 航 (YAMANAKA, Ko)
順天堂大学・スポーツ健康科学部・助教
研究者番号: 40551479