

令和元年6月19日現在

機関番号：38005

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K07008

研究課題名(和文)セロトニン神経系が司る辛抱強さの神経機構の解明

研究課題名(英文)Elucidation of neural mechanism of patience governed by the serotonin system

研究代表者

宮崎 勝彦 (Miyazaki, Katsuhiko)

沖縄科学技術大学院大学・神経計算ユニット・研究員

研究者番号：10426570

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：申請者はこれまでの研究から、背側縫線核のセロトニン神経活動と将来報酬を辛抱強く待つことの因果関係を明らかにしてきた。本研究では、将来の報酬のための辛抱強い振る舞いで「待つ」場合だけでなく「行動する」場合も背側縫線核セロトニンは関与しているかを光遺伝学行動実験により調べた。その結果、辛抱強く待つ場合と行動する場合で、背側縫線核セロトニン神経は異なる関与をしていることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

セロトニンはうつ病や注意欠陥多動性障害などの衝動性を伴う精神疾患と深く関わっているが、セロトニン神経活動がどのように神経疾患と関連しているのかについては未だ謎が多い。本研究では、セロトニン神経活動は辛抱強く行動することより待つことに関与していることが明らかになった。ニューロフィードバックなどを用いてセロトニン神経活動を活性化することで、例えばキレやすく辛抱ができない子供などに対して薬物を用いない行動療法など、様々な医療応用へ向けた貢献が期待される。

研究成果の概要(英文)：We revealed that there is causal relationship between dorsal raphe serotonin neural activity and patience to wait for delayed rewards. In this study, we examined whether dorsal raphe serotonin neurons contribute to not only "patience to wait" but also "patience to act" for future rewards by optogenetics behavioral experiments. I found that the dorsal raphe serotonin neurons differentially contribute to patience to wait and patience to act for future rewards.

研究分野：神経科学

キーワード：セロトニン 辛抱強さ オプトジェネティクス 報酬待機行動 レバー押し行動

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

セロトニンはうつ病や注意欠陥多動性障害などの衝動性を伴う精神疾患と深く関わっており、受容体やトランスポーターに作用する薬が神経疾患治療薬として開発されている。しかしながら、セロトニン神経活動がどのように神経疾患と関連しているのかについては未だ謎が多い。我々はこれまでラット及びマウスを用いた *In vivo* での研究から、セロトニン神経細胞の起始核の一つである背側縫線核のセロトニン神経活動が、遅延報酬獲得のために報酬が与えられる小窓にノーズポークを持続する行動（報酬待機行動）をしている際に辛抱強く待つことを増進することを示す以下の結果を報告してきた。1. 脳内微小透析法で測定したラット背側縫線核のセロトニン濃度は、即時報酬課題よりも遅延報酬課題で有意に上昇した (Miyazaki et al., 2011a)。2. ラットのセロトニン神経細胞は報酬待機行動をしている際に活動を持続的に強め、報酬獲得の前に待機行動を諦めてしまうと強まった活動が再び弱まった (Miyazaki et al., 2011b)。3. セロトニン神経活動を薬理的に一時的に抑制した場合、ラットは報酬遅延時間が延長されると待機行動を維持できず報酬獲得に失敗する回数が増えた (Miyazaki et al., 2012)。4. セロトニン神経選択的にチャンネルロドプシン 2 を発現したマウスを用いた光遺伝学行動実験において、マウスが報酬獲得のために待機行動を行うタイミングに併せてセロトニン神経細胞を人為的に活性化させると、活性化させない場合と比較して待機行動時間が延長された (Miyazaki et al., 2014)。上記 4 に示す光遺伝学行動実験では、光刺激によるセロトニン神経活動活性化の効果は、ノーズポークを持続することがより困難になる後半の方が高かった。これらの結果は、報酬獲得のために動きを抑えた状態を維持する必要があるとき、背側縫線核セロトニン神経活動が活性化されることでその自制的な行動制御を可能にしていることを示唆している。

2. 研究の目的

将来の報酬のために辛抱強く振る舞うということは、報酬予測に基づく適応行動である。将来の報酬のための辛抱強い振る舞いは、「待つ」場合と「行動する」場合の二通りがある。セロトニンはこの両方に関与しているのだろうか？本研究では、セロトニン神経活動と将来報酬に対する辛抱強さの因果関係を、自由行動下マウスの神経活動記録が可能小型カメラを用いたカルシウムイメージングと光遺伝学行動実験により解明することを目指し、以下の検討を行った。

3. 研究の方法

3 - 1 光遺伝学行動実験

同一マウスに、報酬獲得のため辛抱強く振る舞うことを要求する 2 種類の課題を学習させた (ノーズポーク課題とレバー押し課題)。ノーズポーク課題では、エサ小窓へ一定時間 (遅延報酬期間) ノーズポークを持続することによりエサ小窓にエサが提示された (エサ獲得成功)。レバー押し課題では、レバーを必要回数叩くと (レバー押し期間) レバーは引っ込み 1 秒後にエサ小窓にエサが提示された (エサ獲得成功)。報酬待機期間とレバー押し期間中に光遺伝学によりセロトニン神経活動を活性化させた時、マウスの行動のどのような影響があるかを調べた。

3 - 2 小型カメラを用いたカルシウムイメージング

近年開発された小型カメラ (nVista, Inscopix) は、重さが 2 g と軽量で、自由行動下マウスの頭蓋に装着することで同時に数 10 から数 100 個ほどの神経活動をカルシウムイメージング法により記録できる (Ziv et al., 2013)。本研究では、セロトニン神経選択的に G-CaMP6s を発現しているトランスジェニックマウスを用い、小型カメラを用いたセロトニン神経活動のカルシウムイメージングを行った。

4. 研究成果

4 - 1 光遺伝学行動実験

光遺伝学行動実験では、同一個体が遂行するノーズポーク課題とレバー押し課題において、オプトジェネティクスによるセロトニン神経活動の活性化が行動にどのような変化を及ぼすかを詳細に調べた。オペラント箱の一面にノーズポークすると音が提示される小窓 (音小窓) 反対面にノーズポークするとエサが提示される小窓 (エサ小窓) とレバーを設置した。1 回の試行は音小窓にノーズポークすることで開始した。音小窓に一定時間ノーズポークを持続すると音が提示された。ノーズポーク課題では、音提示後にエサ小窓へ一定時間 (遅延報酬期間) ノーズポークを持続することによりエサ小窓にエサが提示された (エサ獲得成功)。遅延報酬期間の途中でマウスがノーズポークを諦めてしまうとエサ獲得失敗となった。レバー押し課題では、音小窓のノーズポークによる音提示後にレバーが提示され、そのレバーを必要回数叩くと (レバー押し期間) レバーは引っ込み 1 秒後にエサ小窓にエサが提示された (エサ獲得成功)。レバーは最大 120 秒間提示され、この期間中にレバーを叩き終えないとレバーは引っ込みエサ獲得失敗となった。両課題とも 1 試行はエサ獲得成功または失敗で終了し、音小窓にノーズポークすることで次の試行が開始した。

ノーズポーク課題では、報酬を 75% の確率で提示し、25% の試行で報酬を与えなかった (報酬省略試行)。報酬待機時間を 2 秒、6 秒、10 秒からランダムに選択した。一回のテスト 40 試

行のうち半分の試行で、報酬待機行動中に青色光刺激によりセロトニン神経を活性化し、残りの半分の試行はセロトニン神経活動に影響しない黄色光刺激を行った。その結果、青色光刺激により報酬省略試行の報酬待機時間が有意に延長した。

レバー押し課題では、報酬を80%の確率で提示し、20%を報酬省略試行とした。報酬獲得のために必要なレバー押し回数を、8回、16回、32回、64回からランダムに選択した。一回のテスト50試行のうち半分の試行で、レバー押し行動中に青色光刺激によりセロトニン神経を活性化し、残りの半分の試行はセロトニン神経活動に影響しない黄色光刺激を行った。報酬省略試行中のレバー押し回数およびレバー押し行動を行っている時間は、セロトニン神経活動を青色光により活性化しても有意に変化しなかった。

4 - 2 小型カメラを用いたカルシウムイメージング

セロトニン神経活動のカルシウムイメージングを行うために、セロトニン神経細胞に選択的に緑色蛍光カルシウムセンサである GCaMP6 を発現させたトランスジェニックマウスを用いた。このトランスジェニックマウスでは、トリプトファンヒドキシラーゼ 2 (Tph2) プロモーター制御下でのセロトニン神経選択的な GCaMP6 の発現を、テトラサイクリン制御転写活性化因子 (tTA) ::tTA 依存性プロモーター (tetO) システムで増強している (Tph2-tTA::tetO-GCaMP6 マウス) (Tanaka et al., 2012)。このトランスジェニックマウスを用いて、覚醒下での小型微小カメラを用いたカルシウムイメージングを行ったところ、セロトニン神経の蛍光量が小さく神経活動を計測できなかった。これはセロトニン神経細胞で G-CaMP6 が十分量発現していなかったことが原因と考えられた。そこで、AAV-hSyn1- GCaMP6 を背側縫線核に注入して、セロトニン神経非選択的に G-CaMP6 を発現させることを試みた。その結果、十分な G-CaMP6 の発現量を得ることができ、カルシウムイメージングによる神経活動記録に成功した。光遺伝学行動実験の結果から、ノーズポーク課題とレバー押し課題で報酬獲得のための辛抱強い行動を行っている際のセロトニン神経活動は異なっていることが予想される。このことを解明するために、課題遂行中マウスからのカルシウムイメージング実験を現在も継続中である。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 2 件)

Miyazaki K, Miyazaki KW, Yamanaka A, Tokuda T, Tanaka KF, Doya K. Reward probability and timing uncertainty alter the effect of dorsal raphe serotonin neurons on patience. *Nature Communications*, 査読有, 9, 2018, 2048, DOI: 10.1038/s41467-018-04496-y.

宮崎勝彦, 宮崎佳代子, 銅谷賢治. 縫線核セロトニン神経による予測と意思決定の脳内計算機構. *日本薬理学雑誌*, 査読無, 149, 2017, 34-39, DIO: 10.1254/fpj.149.34.

[学会発表] (計 2 件)

Taira M, Miyazaki WK, Miyazaki K, Doya K. Serotonergic The Effect of optogenetic serotonergic stimulation on motor actions for future rewards in mice. 9th International Symposium on Biology of Decision Making, Oxford, UK, (May 2019).

Taira M, Miyazaki WK, Miyazaki K, Doya K. Serotonergic Effect on Motor Actions for Future Rewards in Mice. 11th FENS Forum of Neuroscience, Berlin, Germany, (July 2018).

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：

番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6．研究組織

(1)研究分担者
なし

(2)研究協力者
研究協力者氏名：宮崎 佳代子
ローマ字氏名：(MIYAZAKI, kayoko)

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。