

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和元年6月3日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K14945

研究課題名(和文) 意志決定における不確帯神経活動の機能的意義の解明

研究課題名(英文) Multiplexed neuronal activity during flexible decision making

研究代表者

田尾 賢太郎 (Tao, Kentaro)

東京大学・定量生命科学研究所・助教

研究者番号：10708481

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、報酬の履歴にもとづいて行動を選択しているときの脳活動がどのような情報を表現しているのか、また行動にどのような影響をおよぼしているのか、マウスの確率的逆転学習課題をもちいて検証することを目的とした。当初標的とした不確帯からの記録技術確立は困難であったが、その上流領域である前帯状皮質の神経活動を観察したところ、報酬あるいは無報酬の積み重ねを表現する細胞群が確認され、この活動が無報酬による選択の切り替え(lose-shift)に必要なことを発見した。さらに、このような神経活動には扁桃体からの長距離投射が関与していることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

前帯状皮質の神経細胞が意志決定にもとづく行動選択の帰結、とくに無報酬など負の結果を表象することは以前より知られていたが、そのような無報酬の蓄積を表現する神経活動の行動選択における必要性を速いタイムスケールで明らかにしたことは新規の知見である。さらに、この神経活動および行動選択が扁桃体外側基底核からの神経投射により支持されているという発見は、予測誤差計算における扁桃体の役割を再考するうえで興味深い。ある種の精神神経疾患では柔軟な意志決定に障害を来していることがあり、そのような疾患の病態生理を解明するうえで有用な示唆を与える可能性がある。

研究成果の概要(英文)：In this study we first tried to examine functional significance of a brain region called Zona Inertia (ZI) upon flexible decision making. However, we eventually put our focus on the anterior cingulate cortex (ACC) which is an upstream region of ZI. We found that ACC neurons encoded accumulation of reward or no-reward not only after the outcome but throughout the trial. Inhibition of ACC activity immediately before the choice disrupted lose-shift behavior whereas win-stay behavior remained intact. Further, we found that projection from basolateral amygdala to the ACC was necessary for both encoding of outcome accumulation and lose-shift behavior. These results suggest that amygdalo-cortical projection supports flexible choice behavior.

研究分野：神経生理学

キーワード：神経生理学 意志決定 前帯状皮質

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

1. 研究開始当初の背景

適切な情報処理と行動制御を実現するためには、複数の脳領域が協調的に動作することが必要である。皮質第5層の錐体細胞に由来する興奮性出力は脳幹を経由して運動信号として機能するが、同時に大脳基底核および視床を経由して皮質自身をフィードバック制御しており、このループ構造が皮質第6層から視床への投射と協調的に動作することで、時々刻々と変化する状況に対する適応的な行動を実現していると考えられている。視床は皮質由来の興奮性入力以外に、それを調節する抑制性入力も受けている。その由来のひとつが視床網様核 (thalamic reticular nucleus: TRN) であり、もうひとつが不確帯 (zona incerta: ZI) などの視床外抑制性神経核である。

不確帯 (ZI) は腹側視床を構成する脳領域であり、背側視床 (狭義の視床) と視床下核の間に位置している。解剖学的側面に着目すれば、ZI を構成する神経細胞は大多数が GABA 作動性であり、体性感覚に關与する高次視床および上丘 (superior colliculus: SC) に投射している。また、ZI 神経細胞は前帯状皮質 (anterior cingulate cortex: ACC) および体性感覚皮質から強い投射を受けている。一方、生理学的観点に着目すれば、ZI は感覚刺激に対する高次視床の応答をフィードフォワード抑制しており、この作用は脳幹上行賦活系に由来するアセチルコリン作動性神経に依存していること、また睡眠中および麻酔下での ZI 神経細胞の活動パターンが皮質により調節されることが報告されている。

ZI の上流に位置する ACC の神経細胞は、意志決定にもとづく行動選択の帰結、とくに無報酬など負の結果を表象することが知られている。一方、ZI の主要な投射先である SC は、古典的には眼球運動出力に關連する研究が数多くなされてきたが、近年ではより全般的に、空間にまつわる注意や選択に關与することが報告されている。しかしながら、ZI が意志決定や行動選択においてどのような情報を表象しているのか、覚醒行動下の動物をもちいて検証した知見は存在しなかった。

2. 研究の目的

本研究の目的は、多細胞同時電気生理記録と光遺伝学的手法をもちいて、意志決定課題を遂行中のマウスにおいて不確帯神経細胞の活動様式を投射経路および遺伝子発現にもとづいて記録・制御することで、覚醒行動下における同領域の機能的意義を解明することであった。

3. 研究の方法

手術

10-12 週齢の C57BL/6 (野生型、GAD-cre または PV-cre) マウス頭蓋にイソフルラン麻酔下で頭部固定用のヘッドフレームを取りつけた。同時に不確帯、前帯状皮質、または扁桃体外側基底核 (BLA) に光遺伝学タンパク質であるチャンネルロドプシン (ChR2) または Arch3.0 を Cre 依存的に発現するアデノ随伴ウイルス (AAV) を顕微注入した。扁桃体の神経活動を操作する場合は、ウイルス投与部位の直上にフェルルつき光ファイバーをあわせて挿入した。

確率的逆転学習課題

回復後に絶水処置を開始し、頭部固定状態における確率的逆転学習課題を以下の順序で訓練した (図 1)。まず自由行動下でレバーの先端から飲水できることを学習させ、次に頭部固定状態で前肢をもちいて左右のレバーを引き寄せせる訓練を実施した。運動学習が成立した段階で、左右のレバーの報酬確率を 0% 対 100% として逆転学習を訓練し、最終的に報酬確率を 0% 対 75%、報酬レバーの交替タイミングを疑似ランダム化した。

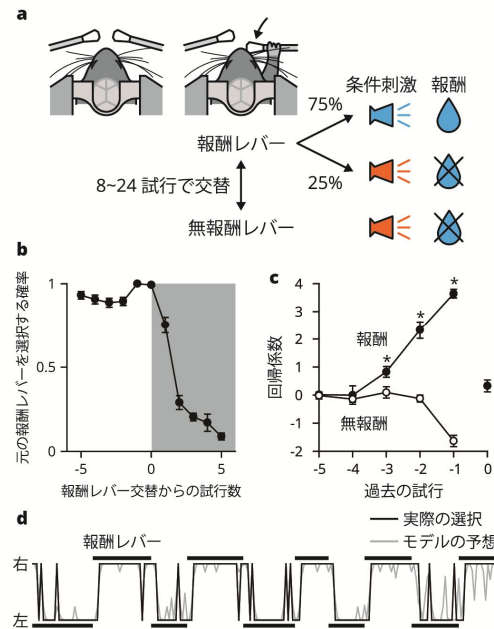


図 1 | 報酬履歴にもとづく確率的逆転学習課題
a, 課題の概要。頭部固定マウスに 2 本の給水口一体型レバーを提示し、左右どちらか的一方を選択させる。報酬レバーは非明示的に交替するため、マウスは報酬履歴にもとづきレバーを選択する必要がある。b, 報酬レバーが交替する前後の選択確率。c, ロジスティック回帰モデルの回帰係数。マウスの選択には 3 試行前までの報酬履歴が有意に反映されている。* $p < 0.05$ d, モデルより予測されたマウスの選択と、実際の行動履歴 ($n = 206$ trials)。

電気生理記録

学習が成立したマウスをイソフルラン麻酔下で頭部固定し、ZI, ACC または BLA 直上のデンタルセメント、頭蓋骨および硬膜を除去したうえで急性または慢性的にレーザーダイオード型シリコンプローブ (64 チャンネル) を刺入した。

光遺伝学実験

ChR2 を発現させた GAD 陽性神経細胞を活性化させる場合には、波長 450 nm のレーザーダイオードをもちいて 1 mW, 10 ms の矩形波 10 発を 10, 20, 40 Hz で照射した。

ChR2 を発現させた PV 陽性神経細胞を活性化させる場合には、波長 450 nm のレーザーダイオードをもちいて 10 mW, 10 ms の矩形波 80 発を 40 Hz で照射した。

Arch3.0 を発現させた ACC 投射 BLA 神経細胞を抑制する場合には、波長 520 nm のレーザーダイオードをもちいて 10 mW の 2 秒間持続光を照射した。

4. 研究成果

GABA 作動性細胞特異的に cre リコンビナーゼを発現する遺伝子改変マウス (GAD-cre マウス) およびチャンネルロドプシン (ChR2) を発現するアデノ随伴ウイルスをもちいて ZI GABA 作動性細胞を標識し、確率的逆転学習課題を遂行中のマウスより電気生理記録を試みた。しかしながら、ZI の神経活動パターンは非常に密であり、解析により単一細胞活動を分離することは困難であることが判明した。

確率的逆転学習課題を遂行中のマウス ACC よりシリコンプローブをもちいて急性に電気生理記録したところ、サルの前帯状皮質において報告されている結果と同様に、無報酬の蓄積を表現する細胞が確認された。このような情報表現は、(1) 選択結果のフィードバック直後のみならず、(2) 試行間の待機中や、(3) 次試行の開始直前まで幅広い時間窓にわたって観察された。この神経活動が意思決定におよぼす影響を検証するため、PV 陽性抑制性神経細胞特異的に ChR2 を発現させ、上述の期間 1~3 それぞれの ACC 神経活動を抑制した。その結果、試行開始直前の神経活動を抑制した場合のみ、無報酬にともなう選択の切り替え (lose-shift) が阻害されることが判明した。

ACC は扁桃体外側基底核 (BLA) から強い投射を受けており、この回路が負のイベントに関する予測誤差の演算に関与することが示唆されている。そこで、軸索を逆行性に標識可能なアデノ随伴ウイルスおよび抑制性光感受性タンパク質である eArch3.0 をもちいて同経路を特異的に標識・抑制することを試みた。その結果、ACC 投射 BLA 神経細胞の細胞体あるいは軸索終末を試行開始直前に抑制すると、ACC 神経活動を抑制した場合と同様に lose-shift が阻害されることを発見した。シリコンプローブを ACC に慢性刺入して神経活動を記録したところ、ACC 投射 BLA 神経細胞を光遺伝学的に抑制すると、無報酬の蓄積を表現する神経活動が観察されなくなることが判明した。

以上の結果は、扁桃体外側基底核から前帯状皮質への神経投射が行動の段階特異的に可塑的な意思決定を実現していることを示すものである。現在、以上の結果を査読付き論文として投稿準備中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

1. Agetsuma M, Hamm JP, **Tao K**, Fujisawa S, Yuste R. Parvalbumin-positive interneurons regulate neuronal ensembles in visual cortex. *Cerebral Cortex* 28 (5) 1831-45 (2018). 査読有
DOI:10.1093/cercor/bhx169

〔学会発表〕(計 1 件)

1. **Tao K**, Fujisawa S. Preparatory activity of nigral dopamine neurons supports flexible choice behavior. Program No. 072.17. 2018 Neuroscience Meeting Planner. San Diego, CA: Society for Neuroscience, 2018. Online.

〔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

研究分担者氏名：

ローマ字氏名

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：藤澤 茂義

ローマ字氏名：FUJISAWA, Shigeyoshi

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。