

令和 3 年 6 月 3 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K03178

研究課題名(和文) コリン作動系による線条体マイクロサーキットの認知柔軟性実行メカニズムの解明

研究課題名(英文) Mechanism of cognitive flexibility in the microcircuit of striatum.

研究代表者

橋本 佳奈(岡田佳奈)(Hashimoto, Kana)

広島大学・医系科学研究科(医)・研究員

研究者番号：50528263

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)：本研究課題は、線条体内のマイクロサーキットの機能的変容が認知柔軟性にどのような役割を果たすのかを、コリン作動性介在神経細胞の役割を中心にして生理心理学的に検討した。我々は、ラットの逆転学習中の細胞外記録の結果から、逆転学習の促進において、皮質から線条体への入力が必要であることに対する示唆を得た。また、ノックアウトマウスの行動解析から、線条体コリン作動性介在細胞の学習性応答がレジリエンス型の行動柔軟性の実行に関与する可能性が示唆された。これらの結果は、皮質入力をはじめとする線条体コリン作動性介在神経細胞の学習性応答メカニズムが行動柔軟性に関与する可能性を示す。

研究成果の学術的意義や社会的意義

動物が環境に適応した行動をとるためには、自身の記憶・学習内容やそれに基づく行動を安定的に維持することが必要である一方で、一度形成した記憶と学習内容や行動を環境の変化に応じて変化させ、その変化後の内容をまた安定的に使用していく必要がある。この安定化と柔軟化のバランスがどのようなメカニズムで形成され、維持されているのかを検討することは、ヒトをはじめとする動物の認知と行動における神経機構を解明していく上で、重要な問題である。本研究は、この認知柔軟性メカニズムにどのような神経活動が関与しているのかを同定する足掛かりのひとつである。

研究成果の概要(英文)： This study psycho-physiologically addressed how the functional change was involved in cognitive flexibility of learning, focusing on the role of striatal cholinergic interneurons. The results of extracellular recordings in performing rats on spatial reversal learning suggested the importance of cortical input to the striatum during the execution of cognitive flexibility. Moreover, the result showed that the knockout mice enhanced auditory learning after the resilience task, indicating the possibility that the pause response of striatal cholinergic interneurons might be associated with the cognitive flexibility. These findings insisted that striatal neuronal activities including cortical inputs and pause response of cholinergic interneurons might be involved in the cognitive flexibility.

研究分野：生理心理学

キーワード：神経回路網

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

大脳皮質—基底核回路は、認知柔軟性に関わる神経機構としてしばしば挙げられる (Kehagia et al., 2010)。サルやげっ歯類を用いた多くの研究が、前頭前野や線条体、視床による認知柔軟性への関与を報告している。また、臨床研究において、認知柔軟性の障害がパーキンソン病やハンチントン病の一症状として、病気の初期段階から認められると報告されている他、統合失調症や強迫性神経障害での認知柔軟性の低下がしばしば報告されており、前頭前野—線条体回路の認知柔軟性関与を支持する。前頭前野や視床からの入力を受け取る線条体内局所回路は、GABA 作動性の投射ニューロンである中型有棘細胞 (medium spiny neuron: MSN) の他に、コリン作動性介在神経細胞 (cholinergic interneuron: ChAT) と GABA 作動性介在神経細胞 (パルプアルブミン陽性細胞: PVA、ソマトスタチン/NPY 陽性細胞: SST、カルレチニン陽性細胞: CAL) などから成る。中でもコリン作動性介在神経細胞 (ChAT) は、線条体中の神経細胞の僅か 2% を占めるに過ぎないものの、条件付けられた感覚刺激に対して学習性応答を示す持続的発火型ニューロン (tonically active neuron: TAN) とみなされていることから、手掛かりを伴う動物の学習行動の形成や変更に深く関与しているものと予想されている (Aosaki et al., 2010)。この TAN は、その持続的発火型ニューロンという名前の通り、平時は持続的にランダムな発火を続けているのだが、学習が進行するにつれて報酬の到来を予告する感覚手掛りに対して先述の学習性応答を示すようになる。この学習性応答は、初期の活動上昇 (initial activation) とその後の活動抑制 (pause)、および反覆興奮 (rebound activation) からなるため、TAN の pause response とも呼ばれている。このような TAN の性質からすると、学習された行動にとって重要なのはむしろ、コリン作動性介在神経細胞の活動が抑制されてアセチルコリンの放出が停止し、線条体マイクロサーキット内のムスカリン作動性受容体 (M1R, M4R など) やニコチン作動性受容体 (nAChR) が活性化されない時であると考えられる (Aosaki et al., 2010; Cragg, 2009)。しかし、こうしたコリン作動性神経細胞の沈黙の形成には皮質や視床からの入力や黒質からのドーパミン入力に関与していることが知られているものの、コリン作動性神経細胞の沈黙、つまり学習性応答が、学習遂行中の認知柔軟性やこの柔軟性の実行に際して生起する線条体マイクロサーキットの動態変容に関与するメカニズムはまだ明らかではない。背内側コリン作動性介在神経細胞は、これまでの薬理的または損傷法による研究によって、逆転学習をはじめとする認知柔軟性課題に重要な役割を示すことが示されてきた。しかし、背内側コリン作動性介在神経細胞が認知柔軟性課題においてどのような役割を果たすのかに関しては結果が一致しておらず、主に Ragozzino らによる薬理学的研究では、背内側線条体コリン作動系が M1 作動性ムスカリン受容体の活性化を介して認知柔軟性を促進していると報告している (McCool et al., 2008; Ragozzino, 2009 など) のに対し、我々の損傷法的アプローチと遺伝子サイレンシングによるアプローチでは、コリン作動性介在神経細胞が M4 作動性ムスカリン受容体を介して認知柔軟性の抑制に関与しているということが明らかとなっている (Okada et al., 2014)。

## 2. 研究の目的

最近の我々の研究によって、認知柔軟性課題における弁別の種類 (場所弁別と反応弁別) や課題中の試行間間隔が異なる場合に応じてコリン作動性介在神経細胞が認知柔軟性を促進するか抑制するかが切り替わることが明らかとなってきている。このことは、この研究で用いられた弁別の種類や試行間間隔の違いによって、各課題の学習過程に関与する神経回路や記憶メカニズムが部分的に異なっており、そうした神経基盤の違いが認知柔軟性における線条体内マイクロサーキットの役割やその内でのコリン作動性介在細胞の役割を変化させていることがこのコリン作動性介在細胞による認知柔軟性の双方向制御を可能にしていることを示唆するのかもしれない

い。そこで、本研究では、線条体マイクロサーキット内でも特に報酬についての学習と行動に 관련된神経活動が報告されており、かつ認知柔軟性に双方向的に関与することが明らかとなつてきている背内側線条体コリン作動性介在神経細胞が、認知柔軟性実行による線条体マイクロサーキットの動態変化に対してどのような役割を果たすのかを検討し、認知柔軟性の実行に関わるコリン作動性介在神経細胞を中心とした線条体マイクロサーキットの変容の解明へ因果論的にアプローチすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

本研究では、背内側線条体のコリン作動性介在神経細胞と当該細胞と関連の深い神経細胞や脳領域が認知柔軟性実行の各段階でどのような役割を果たしているのかを行動科学的側面と電気生理学的側面から検討した。まず化学遺伝学的/光遺伝学的手法を用いて背内側線条体のコリン作動性介在神経細胞を時期選択的に活動抑制する手法を開発するため、Cre-loxp システムを用いた領域・細胞種特異的なデザイナー受容体(DREADD)あるいは光活性化タンパク質の発現実験を行った。また、試行間隔の違いによって起こる背内側線条体コリン作動系による認知柔軟性の双方向制御にとって、逆転学習時のコリン作動性神経細胞の活動抑制が重要な要因なのか、薬理学的手法と損傷手法によるコリン作動系の不活性化の手法の違いや不活性化の時期の違い、当該神経細胞の損傷によって起こる前頭前野や線条体などでのニコチン作動性受容体の増加に代表される神経回路の物理的变化が重要な要因なのかを確認し、かつて背内側線条体のコリン作動性介在神経細胞を時期選択的に活動抑制する際の適切な抑制時期を同定するため、ラット背内側線条体のコリン作動性受容体を薬理的に抑制して逆転学習実験を実行し、どの試行間隔下でのどの時期のコリン作動性介在神経細胞の抑制が認知柔軟性の亢進を引き起こすのかを検討した。次いで、異なる試行間隔の逆転学習課題中の神経活動の変化を明らかにするため、線条体マイクロサーキットの神経活動の様相を行動中のラットにおいて電気生理学的に検討した。加えて、線条体コリン作動性介在神経細胞が学習の手掛かりに対して示す応答反応とその基礎となる持続的発火の生起に深く関与しており、場所細胞活動の柔軟性や空間学習自体の亢進に関係していることが報告されている電位依存性イオンチャンネルに注目し、当該チャンネルノックアウトマウスを用いて、行動柔軟性を要する聴覚反応課題を行った。

### 4. 研究成果

まず、化学遺伝学的/光遺伝学的手法を用いて背内側線条体のコリン作動性介在神経細胞を時期選択的に活動抑制する手法の開発のため、遺伝子組み換えラットの背内側線条体にウイルスベクターを接種する実験を行った。結果、背内側線条体コリン作動性介在神経細胞に細胞の活動を低下させるデザイナー受容体あるいは光活性化タンパク質を発現させることができた。しかし、複数の構造と濃度のウイルスベクターを用いて検討したものの、いずれの条件でも細胞種非特異的な発現が一定の割合で生じた。

薬理学的手法を用いた、空間逆転学習亢進現象の要因特定とコリン作動性受容体活動抑制の抑制時期同定実験の結果、試行間隔の違いによって起こる背内側線条体コリン作動系による空間逆転学習の双方向制御にとって、逆転学習時のコリン作動性神経細胞の活動こそが重要なものであって、薬理学的手法と損傷手法によるコリン作動系の不活性化の手法や関連した神経回路の物理的变化が重要な要因ではないことが示唆された。但し、薬理学的手法においては、試行間隔が長い場合には、ムスカリン作動性受容体の阻害によって獲得学習促進効果の傾向があったため、獲得学習における背内側線条体コリン作動系の役割に関しては引き続き留意していく必要があることがわかった。

また、線条体マイクロサーキットの神経活動の様相を行動中のラットにおいて電気生理学的に検討したところ、特に逆転学習初期における前頭前野-線条体の回路の低周波数帯域での協調的活動が活発であったことが分かった。

線条体コリン作動性介在神経細胞が学習の手掛かりに対して示す応答反応とその基礎となる持続的発火の生起に關与する電位依存性チャンネルのノックアウトマウスにおいて、レジリエンスを要する行動柔軟性課題における聴覚反応学習の亢進がみられた。これに対し、非レジリエンス型で、セットシフトを要する聴覚反応課題では、コントロールマウスのセットシフト学習は現学習に対して亢進したが、当該ノックアウトマウスでは学習亢進が見られなかった。これは、線条体コリン作動性介在細胞の学習性応答がレジリエンス型の行動柔軟性の実行に關与する可能性を示唆するものであるが、この可能性の検証にはさらなる部位特異的な検証を要する。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------