

令和 4 年 5 月 26 日現在

機関番号：82502

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2021

課題番号：18K15353

研究課題名（和文）化学遺伝学による、柔軟な行動を実現するための霊長類神経経路機能の解明

研究課題名（英文）Chemogenetic dissection of the primate prefronto-subcortical pathways for adaptive behavior

研究代表者

小山 佳 (Oyama, Kei)

国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・量子医科学研究所 脳機能イメージング研究部・研究員

研究者番号：50615250

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）：本研究は、これまでに前頭眼窩野の関与が示唆されている柔軟な行動選択において、異なる皮質下領域との相互作用に基づいて実現されているという作業仮説を立て、それぞれ検証することを目的として実験を行った。その結果、前頭眼窩野から線条体へと至る経路の抑制を行った際には、報酬の価値を逐次（モデルフリーに）アップデートする機能に障害が生じた。また、前頭眼窩野から視床MD核へと至る経路の抑制を行った際には、価値をルールに基づいて（モデルベースに）切り替える機能に障害が生じた。これらの結果は、前頭眼窩野からそれぞれの領域へと至る経路が、柔軟な行動選択をするうえでそれぞれ異なる役割を果たしていることを示唆する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は霊長類前頭前野を中心とした神経経路の機能的役割を明らかにした基礎脳科学的成果に加え、霊長類脳機能を探索する上での新奇な方法論の確立、および当該神経経路の破綻が原因と目されている精神疾患の治療法の確立に向けて重要な知見を提供した。

研究成果の概要（英文）：In this study, we investigated the functional roles of orbitofrontal cortex and its projections to subcortical structures in adaptive behavior. We found that the pathway from the OFC to the caudate nucleus is involved in value updating in a model-free manner, and the pathway from the OFC to the mediodorsal thalamus in rule shift in a model-based manner. These results suggest that projections from OFC to subcortical structures play different roles in adaptive behavior.

研究分野：システム神経科学

キーワード：霊長類 化学遺伝学 前頭前野 大脳基底核 視床

1. 研究開始当初の背景

刻一刻と変化する環境においては、過去の経験を基にするだけでなく、現在の状況を正確に把握し、知識を常にアップデートし続けながら、柔軟な行動選択を行うことが重要である。前頭葉の腹側部に位置する前頭眼窩野 (OFC) は、環境の変化に素早く適応し、柔軟な行動選択・意思決定をするために重要な役割を果たしていると考えられている。例えば、OFC を損傷したサルに、前頭葉機能を測るうえでよく用いられるウィスコンシンカードソーティングテスト様の課題を行わせると、ルールの切り替えに素早く適応し、新たなルールに基づく判断ができなくなることが示されている (Buckley et al., 2009, Science)。また、OFC は、報酬が得られるかどうか (価値) が複雑に変化する状況下や、報酬が得られるかどうか不安定な (リスクを伴う) 状況下における判断にも関わっていることが示されている。さらに、OFC と密接な結合関係にある、扁桃体や視床 MD 核、線条体等の皮質下領域もこれらの機能に関わっていることが、ヒトを含む霊長類や齧歯類を用いた研究により示されており (Browning et al., 2015, Cerebral Cortex; Chau et al., 2015, Neuron など)、OFC、および OFC と結合関係にある領域を結ぶ神経ネットワークが、多様な状況下における、柔軟な行動を生み出すための神経基盤になっていると考えられている。

しかし、これらの領域を結ぶどの経路が、それぞれの機能に関わっているのか、また、その機能を実現するためにどのような情報を伝達しているのかについては未だ不明な点が多く残されている。これを明らかにするためには、特定の脳領域間を結ぶ神経経路を、選択的、且つ可逆的に、活動操作する技術が必須である。このような経路選択的な機能操作を可能とする技術としては、光遺伝学 (optogenetics) が、主に齧歯類を用いた実験において、近年急速に普及している。しかし、光が届く一定の範囲に操作対象が限定される技術的な理由から、霊長類 (サル) での利用は、眼球運動など非常に限定的である。化学遺伝学手法の一つ、DREADDs (Designer Receptors Exclusively Activated by Designer Drugs) は、人工的な選択的リガンドにより活性化される人工受容体を神経細胞に導入することで、リガンドの全身投与により、広い範囲の神経細胞の活動を操作可能であることに加え、神経細胞の軸索終末に発現した DREADDs をリガンドの局所注入により活性化させることによる、経路選択的な操作も可能である。申請者が所属する機関においては、生きたサルの脳内で DREADDs が発現している位置や範囲を PET で画像化する技術を確認するとともに、リガンドの全身投与による DREADDs 発現神経細胞の活動抑制により行動を変容させることに成功しており (Nagai et al., 2016)、霊長類への適用が進みつつある。

2. 研究の目的

本研究は、これまでに OFC の関与が示唆されている柔軟な行動選択における次の 3 つの機能が、異なる皮質下領域との相互作用に基づいて実現されているという作業仮説を立て、それぞれ検証することを目的とする。作業仮説は次の通りである。

- (1) OFC と線条体を結ぶ経路が、リスクを伴う状況下での判断に必須である。
- (2) OFC と視床 MD 核を結ぶ経路が、ルールに基づく判断に必須である。
- (3) OFC と扁桃体を結ぶ経路が、報酬を基にした価値判断に必須である。

これを明らかにするために、DREADDs を活用した化学遺伝学的機能障害法、および電気生理学的手法を組み合わせて用い、(1)OFC の局所神経活動の抑制による障害の特定、(2) OFC と各皮質下領域を結ぶ神経経路が伝達する神経情報の特定、(3) OFC と各皮質下領域を結ぶ神経経路の選択的抑制による障害の特定、の 3 ステップの実験を実施する。結果を基に、柔軟な行動選択に関わる、OFC を中心とした神経ネットワークの機能モデルの構築を目指す。

本研究は、異なる個体を用い、個々の脳領域単位で検証されてきた霊長類における意思決定にかかわる神経基盤を、同一個体において、共通の実験パラダイムを用いて神経経路レベルで理解しようとする点に高い独自性がある。また、霊長類における、DREADDs による特定脳領域の活動操作に関する報告は、申請者が所属する機関からのものを含め数例のみであり、特定神経経路の選択的な活動操作に関してはいまだ報告がない。本研究課題では、OFC とその皮質下領域とを結ぶ経路の選択的な活動操作に世界に先駆けて取り組むものであり、その点において高い新規性がある。そのため、本研究課題により得られる成果は、意思決定の神経基盤の理解に基礎科学的知見を与えるのみならず、霊長類を用いたシステム神経科学研究における技術的なブレークスルーとなることが期待される。

3. 研究の方法

本研究では、前述した仮説を検証するために、OFC に DREADDs が発現したサルに、リスク・ルール・価値判断に基づいた行動選択を要求する行動課題を遂行させながら、OFC そのものの機能を DREADDs リガンドの全身投与により障害し、行動に与える影響を調べる実験 (実験 1)、各皮質下領域に DREADDs リガンドを局所注入することにより、OFC とそれぞれの領域を結ぶ神経経路を選択的に障害し、行動に与える影響を調べる実験 (実験 2) をそれぞれ行った。また、OFC と

各皮質下領域（扁桃体と視床）の間には相互の結合関係があり、実際の機能の発現には両方向の経路による相互作用が関わることが想定されるが、本研究では実験の簡便化のため、OFC から投射する経路について主に検討を行った。それぞれの実験の具体的な手順は以下の通りである。

実験 1

まず OFC に、抑制性の DREADDs(hm4Di)をコードした順行性 AAV ベクターを注入し、OFC に細胞体をもつ細胞に DREADDs が発現したサルを作製した。この際、申請者の所属機関にて確立された、PET イメージングによる DREADDs 発現の評価法 (Nagai et al., 2016) を用いて、OFC およびその投射先 (OFC に細胞体をもつ細胞の軸索末端) に DREADDs が発現しているかどうかを行動実験前に検証した。このようにして作製したサルに、ルール・価値判断に基づいた行動選択を要求する行動課題を訓練した。この課題を遂行させながらリガンドの全身投与により OFC の機能を抑制することにより、それぞれの機能に関連した行動に影響があるかどうかを調べ、OFC の機能を検証した。

実験 2

実験 1 と同じサルを用い、同じ行動課題を遂行させながら、ターゲットとする各領域に直接リガンドを注入することにより、OFC から投射されている神経細胞の軸索上に発現した DREADDs に作用させ、OFC と注入を行った領域を結ぶ経路のみの機能阻害を行い、行動に与える影響を調べた。それにより、それぞれの機能が、OFC と各皮質下領域を結ぶ、どの神経経路によって担われているのかを検証した。

4 . 研究成果

前頭眼窩野から線条体へと至る経路の抑制を行った際には、報酬の価値を逐次(モデルフリーに)アップデートする機能に障害が生じた。また、前頭眼窩野から視床 MD 核へと至る経路の抑制を行った際には、価値をルールに基づいて(モデルベースに)切り替える機能に障害が生じた。これらの結果は、前頭眼窩野からそれぞれの皮質下領域へと至る経路が、柔軟な行動選択をするうえでそれぞれ異なる役割を果たしていることを示唆する結果である。また、本研究を遂行するうえで用いた、DREADD を活用した経路選択的な機能阻害法を応用することにより、前頭前野の背外側部から、同じく線条体及び視床 MD 核へと延びる経路が異なる役割を果たしていることを示す結果が得られ、論文として発表した (Oyama et al., 2021)。また、DREADD の活用をさらに広げるために、アゴニストの連続投与による長期機能操作を成功させ、論文として発表した (Oyama et al., 2022)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Nagai Yuji, Miyakawa Naohisa, Takawa Hiroyuki, Hori Yukiko, Oyama Kei et. al.	4. 巻 23
2. 論文標題 Deschloroclozapine, a potent and selective chemogenetic actuator enables rapid neuronal and behavioral modulations in mice and monkeys	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Neuroscience	6. 最初と最後の頁 1157 ~ 1167
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41593-020-0661-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Fujimoto Atsushi, Hori Yukiko, Nagai Yuji, Kikuchi Erika, Oyama Kei, Suhara Tetsuya, Minamoto Takafumi	4. 巻 39
2. 論文標題 Signaling Incentive and Drive in the Primate Ventral Pallidum for Motivational Control of Goal-Directed Action	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 1793 ~ 1804
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1523/JNEUROSCI.2399-18.2018	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Oyama Kei, Hori Yukiko, Nagai Yuji, Miyakawa Naohisa, Mimura Koki, Hirabayashi Toshiyuki, Inoue Ken-ichi, Suhara Tetsuya, Takada Masahiko, Higuchi Makoto, Minamoto Takafumi	4. 巻 7
2. 論文標題 Chemogenetic dissection of the primate prefronto-subcortical pathways for working memory and decision-making	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 eabg4246
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.abg4246	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Oyama Kei, Hori Yukiko, Nagai Yuji, Miyakawa Naohisa, Mimura Koki, Hirabayashi Toshiyuki, Inoue Ken-ichi, Takada Masahiko, Higuchi Makoto, Minamoto Takafumi	4. 巻 42
2. 論文標題 Chronic Behavioral Manipulation via Orally Delivered Chemogenetic Actuator in Macaques	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 2552 ~ 2561
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1523/JNEUROSCI.1657-21.2021	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Kei Oyama, Yukiko Hori, Yuji Nagai, Naohisa Miyakawa, Koki Mimura, Toshiyuki Hirabayashi, Ken-ichi Inoue, Masahiko Takada, Makoto Higuchi, Takafumi Minamimoto
2. 発表標題 DREADDを用いた経路選択的阻害法による、サル前頭前野と視床MD核及び線条体を結ぶ神経経路のワーキングメモリにおける役割の解明
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kei Oyama小山 佳, 堀 由紀子, 永井 裕司, 平林 敏行, 宮川 尚久, 藤本 淳, 三村 喬生, 井上 謙一, Mark A.G. Eldridge, Richard C Saunders, 須原 哲也, 高田 昌彦, 樋口 真人, Barry J. Richmond, 南本 敬史
2. 発表標題 DREADDによる、報酬を基にした柔軟な意思決定におけるサル前頭眼窩野とその皮質下領域への経路の役割の解明
3. 学会等名 日本神経科学学会（国際学会）
4. 発表年 2019年

〔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		
米国	NIMH		