

令和 4 年 6 月 17 日現在

機関番号：38005

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K06892

研究課題名（和文）時間的不確実な将来報酬に柔軟に適應する神経機構の解明

研究課題名（英文）Elucidation of neural mechanism for adapting flexibly to temporally uncertain future rewards

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・グループリーダー

研究者番号：10426570

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：我々はいくまでの研究から、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、遅延時間が一定で報酬を獲得できるタイミングが予測可能な場合（時間的不確実性が低い）前頭眼窩野のセロトニン活性化でのみ待機行動が促進され、将来獲得できる報酬のタイミングが予測困難な場合（時間的不確実性の高い）前頭眼窩野だけでなく内側前頭前野のセロトニン活性化も待機行動促進作用あることを見出した。この結果は、セロトニン神経系が高次脳領域に作用することで将来報酬の時間的不確実性の変化に対しての柔軟な適應行動を生み出していることを示唆している。

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、セロトニンが脳の高次領域で異なって働くことが明らかになった。脳の様々な領域でセロトニンがどのように働くかについての知識を増やすことで、将来の医薬品開発等への貢献が期待される。

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 found that only optogenetic activation of serotonin in the orbitofrontal cortex promoted waiting when the delay time is constant and the timing to obtain rewards was predictable (low timing uncertainty). We also found that activation of serotonin not only in the orbitofrontal cortex but also in the medial prefrontal cortex promoted waiting when the timing to obtain rewards was unpredictable (low timing uncertainty). (with high temporal uncertainty). This result suggests that the serotonergic system acts on higher brain regions to produce flexible adaptive behaviors to changes in the timing uncertainty of future rewards.

研究分野：神経科学

キーワード：セロトニン 光遺伝学 時間的不確実性 報酬待機行動 前頭眼窩野 内側前頭前野

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

神経伝達物質の一つであるセロトニンは、うつ病や注意欠陥多動性障害といった衝動性を伴う精神疾患との関わりが深いことが知られている。我々はこれまでラットおよびマウスを用いた 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促進することを示す以下の結果を報告してきた。

1. ラットのセロトニン神経細胞は報酬待機行動中に活動を持続的に強め、待ち続けることを諦めてしまうと減弱した (Miyazaki et al., J Neurosci 2011)。
2. セロトニン神経活動を薬理的手法で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., J Neurosci 2012)。
3. 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 (Tanaka et al., Cell Reports 2012) を用いた光操作行動実験において、マウスが報酬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時間が延長された (Miyazaki et al., Curr Biol 2014)。
4. セロトニン神経活動の光操作による活性化で生じた報酬待機行動の促進は、遅延時間が一定の課題(一定遅延課題)よりランダムに変化する課題(ランダム遅延課題)でより効果的になった (Miyazaki et al., Nat Commun 2018)。

上記 4 の実験に関して特記すべきは、遅延時間が一定で報酬を獲得できるタイミングが予測可能な場合(時間的不確実性の減少)はセロトニン活性化による待機行動促進作用はあまり顕著ではないが、将来獲得できる報酬のタイミングが予測困難な場合(時間的不確実性の増大)セロトニン活性化による待機行動促進作用がより効果的になるという点である。4 の結果は、セロトニン神経系が報酬待機行動の促進作用を状況依存的に変更することで、将来報酬の時間的不確実性の変化に対しての柔軟な適応行動を可能にすることを示唆している。この機能はどのような神経回路で実現されているのであろうか?我々は、セロトニン神経活動の活性化と将来報酬の時間的不確実性に関する脳領域との相互作用が不可欠であると考えている。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、背側縫線核セロトニン神経細胞とその投射先に注目し、時間的不確実な将来報酬に対して柔軟に行動を適応させる神経機構を解明することである。将来の報酬がいつ獲得できるかを予測することができれば(時間的不確実性の減少)、動物が報酬獲得行動を持続する際に利点となる。それに対し、獲得できるのはかなり確実だがいつかが予測困難な場合(時間的不確実性の増大)は、予測できる場合に比べてより柔軟に適応することが要求される。我々は、背側縫線核のセロトニン神経活性化が、遅延報酬獲得のための辛抱強い待機を促進すること、この促進は遅延時間が一定の課題(一定遅延課題)よりランダムに変化する課題(ランダム遅延課題)でより効果的になることを見出した。本研究は、将来獲得できる報酬を辛抱強く待つことに関わるセロトニン神経系は、時間的に不確実な将来報酬獲得のための適応的な行動制御に関与するとの仮説のもと、セロトニン活性化による報酬待機行動の促進効果が、将来獲得できる報酬のタイミングの変化(時間的不確実性)にどのように影響を受けるか、セロトニン神経細胞の投射先神経細胞が時間的不確実性の変化とセロトニンに対してどのような神経応答を示すか、を調べることで時間的不確実な将来報酬に対して柔軟に行動を適応させる神経機構を解明する。

### 3. 研究の方法

#### 3 - 1 光遺伝学行動実験

マウスに報酬獲得のために辛抱強く待つことを要求する遅延報酬課題を学習させた。オペラント箱の一面にはノーズポークすると音が提示される小窓(音小窓)、反対面にはノーズポークするとエサが提示される小窓(エサ小窓)を設置した。室内灯点灯後、マウスが音小窓にノーズポークし音提示することで各試行が開始した。音提示後、エサ小窓に遅延時間中ノーズポークし続けることができれば 1 粒の餌が提示された。報酬を 75% 確率で提示し、報酬が与えられない試行(報酬なし試行)での待機時間に注目した。これまでの研究で、遅延時間が一定の課題(一定遅延課題)に対して遅延時間がランダムに変化する課題(ランダム遅延課題)で背側縫線核セロトニン神経活性化による待機行動促進効果が高まることを見出しており (Miyazaki et al., Nat Commun 2018) 本研究では報酬待機期間に光遺伝学によりセロトニン神経投射領域のセロトニンを活性化させた時、一定遅延課題とランダム遅延課題でマウスの行動のどのような影響があるかを調べた。背側縫線核セロトニン神経細胞の投射先(前頭眼窩野、内側前頭前野、および側坐核)に光ファイバースコープを埋め込み、投射先を光刺激することで部位選択的にセロトニンを放出させ、報酬なし試行時の待機時間に対する効果を調べた。

#### 3 - 2 小型蛍光顕微鏡カメラを用いたカルシウムイメージング

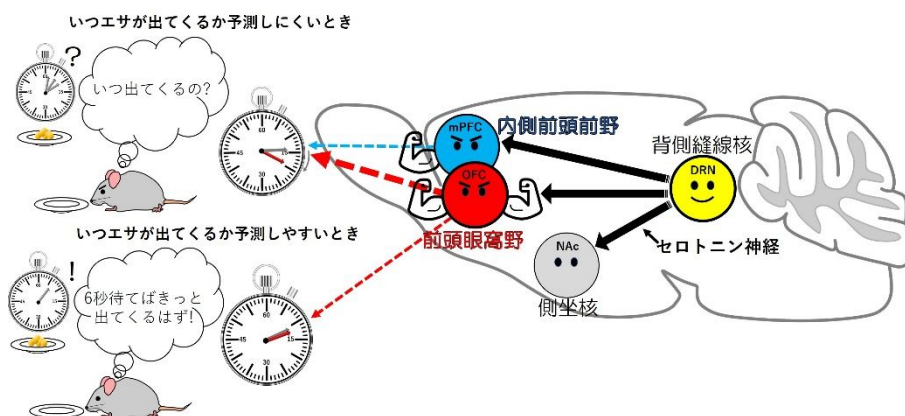
近年開発された小型蛍光顕微鏡カメラ (nVista, Inscopix) は、重さが 2 g と軽量で、自由行動下マウスの頭蓋に装着することで同時に数 10 から数 100 個ほどの神経活動をカルシウムイメージング法により記録できる (Ziv et al., 2013) 。本研究では、背側縫線核セロトニン神経細胞の投射

先(前頭眼窩野または内側前頭前野)に G-CaMP7f を発現させ、遅延報酬課題遂行中マウスから小型蛍光顕微鏡カメラを用いた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、光ファイバーをマウスの背側縫線核と、側坐核、前頭眼窩野、内側前頭前野のいずれかに埋め込んだ。実験では、75%の試行でエサを与え、一部の課題条件ではエサが出るというタイミングをマウスがノーズポークをしてから6秒または10秒後に固定し(一定遅延課題)、他の課題条件ではエサが出るタイミングを2秒、6秒、もしくは10秒にランダムに変化させた(ランダム遅延課題)。残りの25%の試行では、マウスがいくらノーズポークを続けてもエサを与えなかった。そしてエサが出てこない試行中に、セロトニン神経を刺激したときと刺激しなかったときに、マウスがどれだけ長くノーズポークをするのか、つまりどれだけ辛抱強く待つことができるのかを測定した。マウスの側坐核のセロトニン神経を刺激したとき、ノーズポークする時間は有意に変化しなかった。一方で前頭眼窩野と内側前頭前野でセロトニン神経を刺激したときには有意にノーズポーク時間が延長した。しかしこの2つの脳領域にはいくつかの決定的な違いがあった。前頭眼窩野では、セロトニン神経の刺激は背側縫線核でのセロトニン神経刺激と同じくらい効果的に辛抱強く待つことを促進した。これはエサが出てくるタイミングが一定の場合(一定遅延課題)でも不確実な場合(ランダム遅延課題)でも両方で見られたが、不確実な場合の効果はより強力であった。それに対して内側前頭前野では、ランダム遅延課題のみ辛抱強く待つことを促進した。一定遅延課題ではこの促進効果は見られなかった(Miyazaki et al., Sci Adv 2020)(図1)。



**図1. セロトニンは前頭眼窩野と内側前頭前野に異なって作用する。**内側前頭前野、前頭眼窩野、側坐核それぞれに投射するセロトニン神経(黒い矢印)を刺激したときに、ランダム遅延課題(例:エサが2、6、10秒後のいずれかである)と、一定遅延課題(例:エサが必ず6秒後に出る)とで報酬を待つ行動にどのような影響が生じるのかを調べた。その結果、側坐核のセロトニン神経を刺激したときには待機行動に特に変化は見られなかったが、内側前頭前野のセロトニン神経を刺激するとランダム遅延課題でのみ待機行動がわずかに促進されました。さらに前頭眼窩野のセロトニン神経を刺激するとランダム遅延課題では強い待機行動促進効果が見られ、一定遅延課題では弱い効果が見られた。破線の矢印の太さは、効果の強さを示している。

##### 4-2 小型蛍光顕微鏡カメラを用いたカルシウムイメージング

背側縫線核セロトニン神経細胞の投射先神経細胞が時間的不確実性の変化に対してどのような神経応答を示すかを調べるために、課題遂行中マウスの前頭眼窩野からカルシウムイメージングによる神経活動記録を試みた。前頭眼窩野にアデノ随伴ウイルス(AAV9-hSyn1-GCaMP7f)を注入し前頭眼窩野の神経細胞にカルシウム指示薬であるGCaMP7fを発現させ、小型蛍光顕微鏡カメラを用いて一定遅延課題とランダム遅延課題遂行中マウスから前頭眼窩野の個々の神経細胞の活動を記録することに成功した。現在、神経活動の解析を進めている。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Miyazaki K, Miyazaki KW, Sivori G, Yamanaka A, Tanaka KF, Doya K	4. 巻 6
2. 論文標題 Serotonergic projections to the orbitofrontal and medial prefrontal cortices differentially modulate waiting for future rewards	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 eabc7246
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1126/sciadv.abc7246	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 Doya K, Miyazaki KW, Miyazaki K	4. 巻 38
2. 論文標題 Serotonergic modulation of cognitive computations	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Current Opinion in Behavioral Sciences	6. 最初と最後の頁 116 ~ 123
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.cobeha.2021.02.003	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 Miyazaki K, Miyazaki KW	4. 巻 373
2. 論文標題 Increased serotonin prevents compulsion in addiction	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Science	6. 最初と最後の頁 1197-1198
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1126/science.abl6285	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 Miyazaki K, Miyazaki KW, Doya K
2. 発表標題 The orbitofrontal and medial prefrontal cortices differentially calculate the posterior probability of reward delivery to modulate waiting for future rewards
3. 学会等名 12th Forum of European Neuroscience（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Miyazaki KW, Miyazaki K, Yamanaka A, Tanaka KF, Doya, K
2. 発表標題 Stimulation of serotonergic terminals in the orbitofrontal and medial prefrontal cortices differentially affects waiting for the future rewards
3. 学会等名 49th Annual Meeting of the Society for Neuroscience (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
---------	---------