

令和 5 年 6 月 2 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2022

課題番号：19K11389

研究課題名（和文）行動柔軟性における大脳基底核と小脳の連関に関するリハビリテーション技術の基礎研究

研究課題名（英文）Basic research for rehabilitation: a focus on roles of basal ganglia and cerebellum in behavioral flexibility

研究代表者

米田 貢 (Yoneda, Mitsugu)

金沢大学・保健学系・准教授

研究者番号：70334787

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）：ヒトは同じ行動の繰り返しと状況に応じて行動選択を変更することで、様々な能力を獲得する。このような行動柔軟性の神経基盤の理解は精神疾患や脳損傷による能力障害の回復に役立つと考えられる。報酬に基づく運動学習では大脳皮質-基底核回路とドーパミン系が重要な役割を果たすが、小脳の役割については十分にわかっていない。

我々はD2受容体ノックアウトマウスと小脳平行線維-プルキンエ細胞シナプスの著しい減少を示すcb1n1ノックアウトマウスを用い、Yoneda three-lever operant taskで行動実験を行った。

我々は報酬に基づく運動順序学習と逆転学習に対して小脳が関与する可能性を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

統合失調症等の精神疾患、脳卒中等の脳損傷による身体及び高次脳機能障害に対するリハビリテーション技術は改良してより多くの人の生活能力回復を目指す必要がある。そのためには、個人に最適な訓練方法を提供できるようにしなければならない。

我々は、3レバー課題の学習が困難であったドーパミンD2受容体ノックアウトマウスに対して、学習を改善させる方法を見出した。Yoneda three-lever operant taskは報酬に基づく運動学習を順序学習や逆転学習の側面から研究できる有用な実験課題と言える。今後、この課題を用いて障害に応じた最適な学習方法の開発によりリハビリテーション技術の発展が期待できる。

研究成果の概要（英文）：Humans acquire various abilities by repeating the same behavior and modifying behavioral choices depending on the situation. Understanding the neural basis of such behavioral flexibility may be useful for recovering ability deficits due to psychiatric disorders and brain injury. Although cortico-basal ganglia circuits and dopamine systems play important roles in reward-based motor learning, the role of the cerebellum is not fully understood.

We performed behavioral experiments in the Yoneda three-lever operant task using D2 receptor knockout mice and cb1n1 knockout mice, which showed a marked reduction in cerebellar parallel fiber-Purkinje cell synapses. We found a possible involvement of the cerebellum in reward-based motor sequential learning and reversal learning.

研究分野：作業療法学

キーワード：運動学習 ドーパミン cb1n1 オペラント 大脳基底核 小脳 学習戦略 行動選択

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

人が生活であたり前に行っている会話、食事や仕事などの生活能力は学習行動によって獲得され、意識することなくスムーズに行えるのは運動学習あるいは運動記憶の神経基盤に基づくものといえる。多くの障害者は獲得した能力を失うため、リハビリテーションにおいて環境に柔軟に適應するための学習行動が基本になる。したがって、学習における行動柔軟性の仕組みを明らかにできればリハビリテーションの効果を明確に示すこと、技術的な発展が期待できると考えた。

学習の脳内回路については、内部モデルによる教師ありの小脳系、強化方式の大脳基底核系、視床を介した大脳皮質系の3つのモジュールが考えられている。これまで大脳基底核と小脳の学習回路は、視床 - 大脳皮質系への入力互いに独立して処理されると考えられてきたが、霊長類の大脳基底核系と小脳系は、直接的に投射していることが明らかとなり、人の学習が大脳基底核系と小脳系の相互作用によるとの仮説が示された。しかしながら、この仮説を支持する証拠は明確に示されていない。また、大脳基底核系は学習過程で目標指向行動から習慣的反応に回路がシフトする。この回路シフトは行動の再適應・柔軟性の役割を担うと示唆されているが、解明されていない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、1) ドーパミン D2 受容体欠損マウスと野生型マウスを比較し行動特性を明らかにすること、2) Cbln1 欠損マウスと野生型マウスを比較し行動特性を明らかにすること、3) 学習に障害のあるマウスに学習方法を工夫することで回復できるのか、を明らかにすることである。

3. 研究の方法

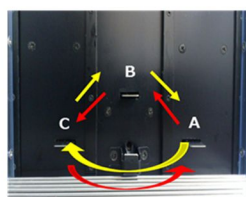
(1) 実験動物

ドーパミン D2 受容体欠損 (D2 - KO) マウス (B6.129S-Drd2<tm1Mok>) と小脳の平行線維-ブルキンエ細胞シナプスの著しい減少を示す cbln1 ノックアウト (cbln1-KO) マウスを用いた。

(2) 行動実験

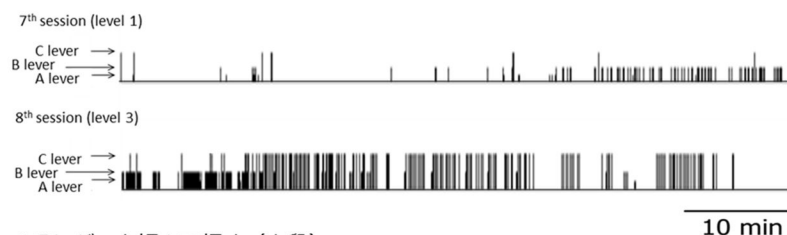
マウスの行動実験課題には、Yoneda three-lever operant task (以下、3レバー課題) を用いた。この課題は、強化子 (餌) を利用し3つのレバーの順序 (図1左) と、素早く押す (0.5秒以内) ことを学習させる。順序の学習には行動柔軟性を必要とするため、3レバー課題の学習前にシェーピング (反応形成) のために1レバー課題を用いる。いくつかの段階を設け、強化回数 (餌の獲得) が基準値に達すると、マウスは次のレベルのタスクに移行した (表1)。

A) 実験課題



3レバー課題 (A→B→C)
リバー課題 (C→B→A)

B) 行動柔軟性 (切り替え)



※Bレバーを好んで押す (上段)。

※次の段階でBレバーを不活性化したところ、Cレバーを押す行動に変化した (下段)

図1. 3レバーオペラント課題

1レバー課題：最初は3つのレバーどれを押しても餌が出るが、学習段階に合わせて、有効なレバー数を2つ、1つと減らすため、マウスは押しても餌の出ないレバーから別のレバーを押すことに適應して行動しなければならない (図1右)。本研究では2種類のシェーピングを用いた。一つは、これまでの研究で用いられてきた方法；シェーピング(A)で、連続で2回のセッション中に同じ有効レバー (active lever) を100回以上押す。シェーピング(B)では、1回のセッション中に同じ有効レバーを50回以上押す。3つのレバー全てが非有効化されると、1レバー課題を終了した。

3レバー課題；マウスはABCの順序で3つのleverを押すように訓練された（図1左）。また2つのレバーを押す時間間隔（T）を設定し、レバーを押す間隔がTよりも長かった場合、餌が与えられなかった。Tは最初99.9秒に設定し、その後3秒、2秒、1秒と短くされた。
リバース3レバー課題；学習した順序を抑制し逆の順序を学習するために行動柔軟性を必要とする（図1左）。

表1．3レバー課題のスケジュール

Age	Type of task	Level	T(s)	Criterion
6wk	Carrying-in Handling and habituation			
8	Shaping One-lever task	0		(3 lever active) <100 (50)
		1		≥100 (50)
		2		(2 lever active) <100 (50)
		3		≥100 (50)
		4		(1 lever active) <100 (50)
		5		≥100 (50)
9~	Three-lever task	6	99.9	(A- → B- → C-lever) <100
		7	99.9	≥100
		8	3.0	≥100
		9	2.0	≥100
10~11		10	1.0	≥100
10~11	Reverse three-lever task	6	99.9	(C- → B- → A-lever) <100
		7	99.9	≥100
		8	3.0	≥100
		9	2.0	≥100
		10	1.0	≥100
12~13				

4．研究成果

(1) D2-KO マウス (シェーピング(A))

1レバー課題では、D2-Ko マウスは野生型マウスと比較して、わずかにレバー押し回数、非アクティブなレバーを押す割合 (Inactive lever press (%)) が損なわれたが、学習基準をクリアした。

3-lever 課題では、D2-Ko マウスはレバー押し行動が著しく減少し学習困難であった。

(2) D2-KO マウスの学習障害の回復 (シェーピング(B))

1レバー課題では、D2-KO マウスの学習能力は、わずかに損なわれた。

3レバー課題では、レバー押し行動が著しく減少し学習困難であった。

(3) cbIn1-KO マウス (シェーピング(A))

1レバー課題では、cbIn1-KO マウスは野生型マウスと比較して、レバーを押す回数と非アクティブなレバーを押す行動が多く Inactive lever press (%) が低かった。そのため学習基準をクリアするためにより多くのセッションを必要とした。

3レバー課題では、CbIn1-KO マウスは野生型マウスと比較して、成功率が低く課題を完了するのに多くのセッションが必要であった

リバース3レバー課題では、CbIn1-KO マウスは野生型マウスと比較して、成功率が低くより多くのセッションを必要とした。

(4) D2-KO マウスの学習障害の回復 (シェーピング(B)を応用)

野生型マウスの3レバー課題の成功率の上昇は、同じレバーを押す割合 (stay(%)) : AA、BB、CC等のレバー押しパターン) が最初は高いがセッションが進むにつれて減少しており、3レバー課題の成功率と強く相関していた (図2)。

そこで、学習困難であったシェーピング(B)のD2-KO マウスに対し、1レバー課題と3レバー課題を交互に繰り返すことで学習能力の改善が一部で確認された。今後、レバー押しパターンの変化に応じたスケジュールの変更を個体に最適なタイミングで与えることで促進される可能性があると考えられた。

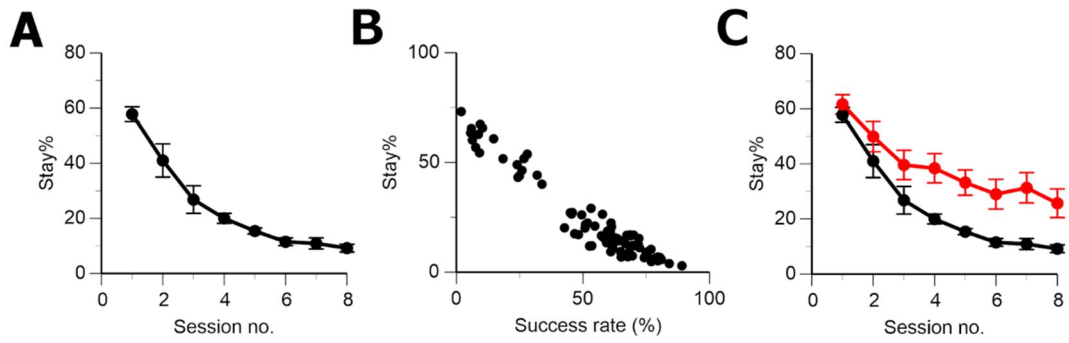


図 2 . 3 レバー課題の効率と stay のレバー押し割合の関係

A : 野生型マウスの 3 レバー課題では、同じレバーを押す割合 (stay%) が最初は高く、セッションを重ねるごとに徐々に減少する。B : 野生型マウスでは、stay% は 3 レバー課題の成績 (成功率) と負の相関がある。C : 3 レバー課題の成績が低下した遺伝子改変マウス (赤) では、stay% の低下が抑制された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kikuchi Y, Yoneda M, Nishikawa K, Noda T, Hasegawa H, Fujisaku T, Ohno-Shosaku T	4. 巻 429
2. 論文標題 Effects of environmental enrichment on exploratory behavior, win-stay and lose-shift performance, motor sequence learning, and reversal learning during the three-lever operant task in mice.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Behav Brain Res,	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbr.2022.113904.	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 Tanigami H, Yoneda M, Tabata Y, Echigo R, Kikuchi Y, Yamazaki M, Kishimoto Y, Sakimura K, Kano M, Ohno-Shosaku T	4. 巻 421
2. 論文標題 Endocannabinoid signaling from 2-arachidonoylglycerol to CB1 cannabinoid receptor facilitates reward-based learning of motor sequence.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Neuroscience	6. 最初と最後の頁 1-16
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neuroscience.2019.09.040	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 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件／うち国際学会 1件）

1. 発表者名 菊池ゆひ, 西川杏子, 能田月花, 長谷川穂香, 藤咲友朗, 米田貢, 少作隆子
2. 発表標題 環境エンリッチメントがマウスのレバー押し行動に与える影響
3. 学会等名 第15回日本作業療法研究学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yoneda M, Tanigami H, Nakagawa M, Echigo R, Nishikawa K, Sasaoka T, Ohno-Shosaku T
2. 発表標題 D2-knockout mice display a marked impairment in motor sequence learning assessed by the three-lever operant task.
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 Yoneda M, Kikuchi Y, Noda T, Nishikawa K, Hasegawa H, Fujisaku T, Tanigami H, Nakagawa M, Yoneda T, Ohno-Shosaku T
2. 発表標題 Effects of environmental enrichment on fecal corticosterone levels and reinforcement learning in mice.
3. 学会等名 第97回日本生理学会大会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

米田研究室 https://yoneda-lab.w3.kanazawa-u.ac.jp/ 金沢大学 医薬保健研究域 少作・米田研究室 https://yoneda-lab.w3.kanazawa-u.ac.jp/index.html 金沢大学 医薬保健研究域 少作・米田研究室 https://yoneda-lab.w3.kanazawa-u.ac.jp/index.html
--

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
研究分担者	少作 隆子 (Shosaku Takako) (60179025)	金沢大学・保健学系・教授 (13301)	

	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
研究協力者	菊池 ゆひ (Kikuchi Yui) (00749137)	金沢大学・保健学系・助教 (13301)	
研究協力者	柚崎 通介 (Yuzaki Michisuke) (40365226)	慶應義塾大学・医学部・教授 (32612)	

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
---------	---------