

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 5 月 16 日現在

機関番号：32682

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K12190

研究課題名(和文) 経験依存的な聴覚嗜好性行動を司る神経回路の同定と動態解析

研究課題名(英文) A neural circuit controlling experience-dependent auditory preference behavior: Identification of relevant brain regions and its dynamics analysis

研究代表者

梶原 利一 (Kajiwara, Riichi)

明治大学・理工学部・専任准教授

研究者番号：60356772

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)：嗜好の感情の生成は、過去の体験の影響を受けるのか、生得的な要因によるのか、という問題について、ラットの聴覚系と記憶系に着目して明らかにすることを目指した。事前に6種の音源を報酬あり群となし群の3種に分けた上で二者択一式の迷路で提示し、提示音に対する選好特性を解析した。その結果ラットは、1)報酬獲得体験の後でも白色ノイズ音を避ける行動を示すが、2)ある種の音色と旋律を持つ音源については、報酬獲得体験により好んで選択することが判った。また、脳スライスにおける膜電位イメージングから、嗅周囲野は、強固な抑制系の支配下にあり、これが報酬体験の参照処理を複雑なものとしている可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

嗜好性・審美性にかかわる神経基盤については、既にヒトを対象とした研究で一定の知見が蓄積されるまでに至っている。その一方で、過去の体験に応じて嗜好に関する評価が変動するのか、という記憶処理との関連性を念頭においた調査は、十分に進んでいるとは言えない。本研究は、ラットの聴覚嗜好性行動を、生得的要因と後天的な要因を区別して調査する試みであり、得られた知見は、なぜ、我々が普段聞く曲に好き嫌いがあるのか、といった聴覚系嗜好性の問題にとどまらず、我々が好む音楽が人により異なるのは、生活環境での体験の違いによるものなのか？といった学習・記憶に依存した嗜好性の問題を解く手がかりを与える。

研究成果の概要(英文)：The present study addresses whether our feelings of preference are formed by past experiences (memories) or innate. We investigated this issue by focusing on the auditory system of rats. First, we divided sound sources into two groups, the "reward-related" and the "reward-unrelated" groups, and presented them to the rats in a two-choice maze. The results showed that 1) the rats avoided the white noise used for comparison with the other sound stimuli even after the reward acquisition experience. However, 2) the sound stimulus with tone and melody was preferentially selected after the reward-acquisition experience. In addition, membrane potential imaging in ex vivo brain slices showed that the perirhinal cortex, which is thought to be involved in the familiarity evaluation of input information, is under the control of a robust inhibitory system, which may complicate the in vivo pharmacological analysis of the above results.

研究分野：神経科学

キーワード：聴覚 嗜好性 選択行動 嗅周囲野 膜電位イメージング

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

私たちは、絵画や音楽にふれて「美しい」などといった嗜好性の感情を抱くが、その対象となる物体や音に対して、どこか安心する、懐かしい、などの、「親近感」を覚えることがある。無音の環境を好むマウスにおいても、産まれたときから音楽を聞かせておくと、馴染みのある音場環境を好んで選択する (Yang et al., 2002)。このことは、生後の何らかの報酬体験が、聴覚嗜好性の脳内処理に影響を及ぼす可能性を強く示唆している。このような、嗜好性表出に対する過去の体験の影響についての調査は、十分になされているとは言えない。

### 2. 研究の目的

本研究では、嗜好性表出の脳内神経機構を、齧歯類の聴覚系に着目して明らかにすることを目的とした。特に、聴覚入力に対して生じる「嗜好」が、知覚・記憶のプロセスを経て形成される「親密度」と結びつく可能性(後天的に獲得される嗜好)に着目し、ある種の音の「好み」が、生得的な要因により生じるものなのか、あるいは、後天的な要因によるものなのかという問題、「親密度」に関わる処理を担う可能性が示唆されている嗅周囲皮質が、聴覚野、前頭皮質、海馬との間に位置して、どのような機能を果たしているのかという問題、を明らかにすることを目指した。

### 3. 研究の方法

<聴覚嗜好性行動解析> 行動実験には、Wistar 系ラット (オス, 220-300g) を使用した。1 室のサイズが 400x500x300mm の防音庫に二者択一式迷路 (70cm x 40cm x 45cm) を設置し、複数種の音源提示後の行動を解析した。動物に提示した音源は、楽曲作成ソフト Cubase を使用してラットの可聴域の 500Hz 以上の帯域に収まることを確認して作成した。図 1 は実際に提示した音源 (6 秒間 12 音) の楽譜である。この楽譜を Cubase 上で異なる楽器音 (Piano, Violin, Bell, Flute, Xylophone) で出力できるように設定し、音色のみ異なる音源 5 種を生成した。これに白色ノイズ音を含めた全 6 種の音源の等価騒音レベルが、実験箱のどの場所でも 70dB 以下で出力されるように調整した上で実験に使用した。



図 1 提示音の旋律

6 種の音源は、予め報酬と結びつけて学習させる群と報酬の得られない群の 3 種に分類した。実験は、図 2 に示す二種の迷路 (Type-U および Type-M) を使い分けて、以下の流れで実施した。新奇な音に対する聴覚嗜好性テスト (Type-U を使用, 報酬なし)、音色識別能テスト (Type-M を使用, 飲水報酬による条件付け学習)、報酬体験後の嗜好性テスト (Type-U を使用, 飲水報酬なし)。

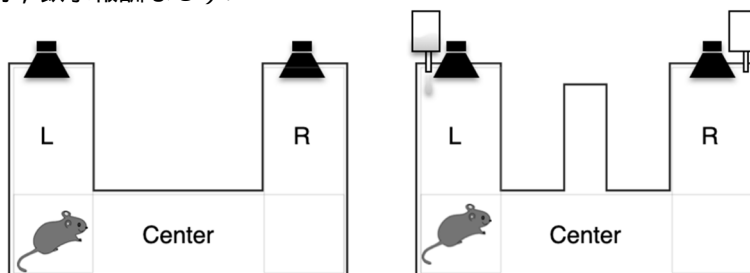


図 2 使用した二種類の迷路

新奇な音に対する聴覚嗜好性行動解析では、左右に設置されたスピーカーから、報酬あり群もしくは報酬なし群の全 3 音のうち 2 音を 210 秒間提示した。その後、15 秒間無音のインターバルをはさみ、音色を変更して 210 秒間提示した。これを繰り返すことで、1 日に 12 回の提示を行い、合計で 45 分間の実験とした。この行程を、音色の提示順を変更しながら 7 日間かけて実施した。音色は 3 曲のうち 2 曲を左右均等に提示するため、1 日の実験で、1 つの音色当たり右側 4 回、左側 4 回の計 8 回が提示されることになる。音源提示後に動物が滞在した異なる 2 音の提示中に、動物が滞在した位置を観測し、音源からの近さを指標に、好みの音源を解析した。

音色識別能テストでは、中央レーンに赤外線通過センサーを設置した Type-M 迷路を用いた。中央レーンの通過を報酬獲得課題開始の起点とし、その後、左右いずれか片方から提示される報酬あり群の音源を選択すると飲水報酬が得られる。

報酬獲得体験後の嗜好性テストでは、このテストにより報酬あり群の音を識別できるようになった動物に対し、と同様の実験を行った。

< ex vivo 脳スライス機能構造解析 > 親密度の評価に重要な役割を担うとされている嗅周囲野の神経興奮伝播パターン解析は、マウスの水平断スライス標本(厚さ 0.35mm)における膜電位イメージング解析により実施した。膜電位感受性色素には di-4-ANEPPS を用い、研究分担者(Tominaga T)が確立したプロトコルに従い、色素固有の波長/蛍光帯域(530nm/ >590nm)で、嗅周囲野を電気刺激した際に惹起される神経興奮が、嗅内野/海馬へ伝わる際の様子を観測した。なお、異領野への神経興奮伝播における抑制性と興奮性の役割について検討する目的で、低濃度の gabazine, 4-AP を灌流した。

#### 4. 研究成果

##### < 音色識別能 >

図3は、我々の実験系において、ラットが提示音源を識別できることを示した結果である(実験)。飲水制限をかけた動物が、報酬あり群の音源を選択できるようになるには、約1ヶ月要することが判った。実験開始から約20日間、報酬あり音の提示レーン(正解レーン)にLEDを点灯させ、手がかりを増やすことで、学習効率を高めることに成功した。

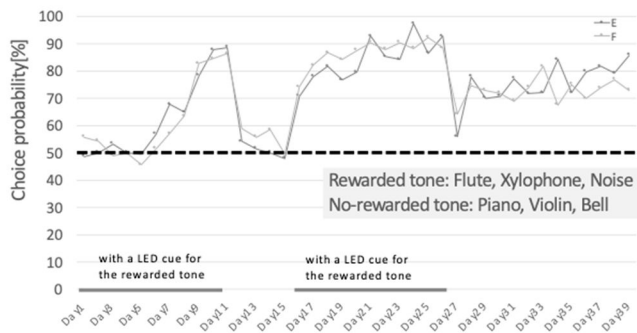


図3 提示音の識別が可能になるまでの学習曲線(飲水報酬との連合学習)

##### < 音色選好行動(生得的) >

の実験でラットが報酬獲得体験を経る前に行った6音に対する選好行動結果を図4に示した。縦軸は各々の音源提示側レーンに滞在した合計時間を表す。ノイズ音を含めた3音の選好行動結果(左図)から、ラットは顕著にノイズを忌避する行動を示すことが判った。また、提示音にノイズを含まない群(右図)では、Violon 音源側を好んで滞在する時間が、他の二音よりも少ない傾向を示した(n=12)。

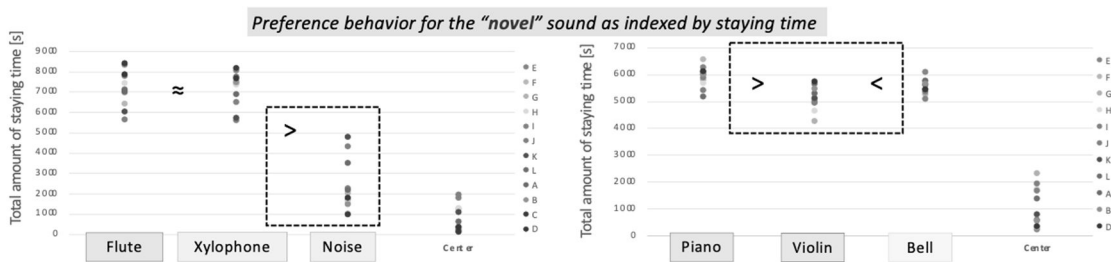


図4 新奇提示音に対する選好行動

##### < 音色選好行動(習得的) >

の実験でラットが報酬獲得体験を経た後に行った報酬あり群3音に対する選好行動結果を図5(左)に示した。縦軸は各々の音源提示側レーンに滞在した合計時間を表す。報酬獲得体験を経た場合でもノイズ音に忌避反応を示すことが判った。図5(右)は、3音の識別テスト時の学習曲線である。ノイズ音については、他の2音よりも容易に、報酬群であることを識別している様子がうかがえる。Xylophone は Flute よりも識別成績はわずかに高く、これが、選好行動結果に若干反映されている可能性が示唆された。

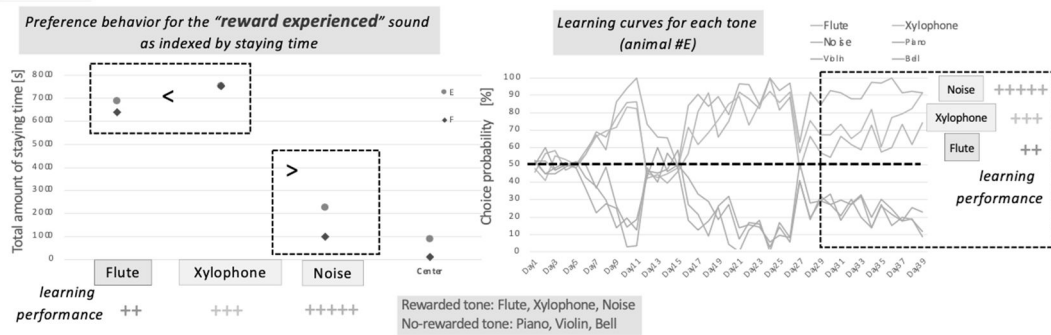


図5 報酬獲得体験を経た後の提示音に対する選好行動

< Muscimol による神経応答不活性化 >

本研究では、報酬獲得体験が聴覚嗜好性に影響を及ぼす可能性を見出すための行動実験と並行して、Muscimol 注入部位の不活性化実験も試みた。しかしながら、嗅周囲野の不活性化は、音に対する選好行動を著しく阻害してしまう結果となった。聴覚処理への影響が大きく出ている可能性があるため、薬液注入の条件を見直す必要があると結論した。

< ex vivo 脳スライス機能構造解析 >

親密度の評価の役割を担う嗅周囲野 (area 36/area35) のなかでも、どの層が海馬との連絡において重要なのかを見極める目的で、脳スライス膜電位イメージングによる実験を実施した(図6)。その結果、嗅周囲野は、抑制性支配が極めて強固であり、低濃度の gabazine により抑制性入力を遮断した状態であっても、海馬方向への伝達がブロックされること、gabazine 濃度を高めて抑制系を完全に阻害しても、100ms 程度の神経興奮の増大は認められるものの、その後の持続的な発火を抑える機構が備わっていることが判明した。こうした嗅周囲野の機能構造を踏まえ、in vivo 下での薬液注入の条件を探る必要があると結論した。

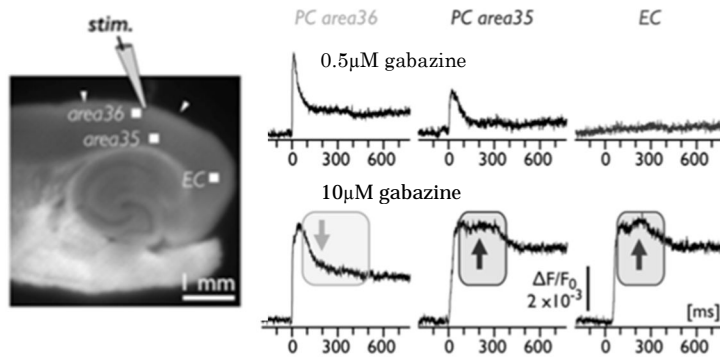


図6 脳スライス標本における嗅周囲野の機能構造解析

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Tominaga T, Kajiwara R, Tominaga Y	4. 巻 20(1)
2. 論文標題 Stable wide-field voltage imaging for observing neuronal plasticity at the neuronal network level	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biophysics and Physicobiology	6. 最初と最後の頁 e200015
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2142/biophysico.bppb-v20.0015	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 Hashikawa F, Mizunuma S, Ofuchi S, Kajiwara R	4. 巻 105(3)
2. 論文標題 A novel pneumatic skin sensory stimulator and its application to a two point discrimination test	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Electronics and Communications in Japan	6. 最初と最後の頁 e12362
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ecj.12362	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 橋川 史崇, 水沼 将太, 大淵 さつき, 梶原 利一	4. 巻 142
2. 論文標題 空気圧制御式皮膚感覚刺激装置の開発と二点識別覚検査への適用	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 電気学会論文誌 E (センサ・マイクロマシン部門誌)	6. 最初と最後の頁 32-37
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1541/ieejsmas.142.32	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 Takashima I, Kajiwara R	4. 巻 11(10)
2. 論文標題 Voltage-Sensitive Dye versus Intrinsic Signal Optical Imaging: Comparison of Tactile Responses in Primary and Secondary Somatosensory Cortices of Rats	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Brain Sci	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) 10.3390/brainsci11101294	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 Kajiwara R, Tominaga T	4. 巻 43
2. 論文標題 Perirhinal cortex area 35 controls the functional link between the perirhinal and entorhinal hippocampal circuitry.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bioessays	6. 最初と最後の頁 2000084
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/bies.202000084	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 Okubo M, Matsuzaki K, Okada N, Komura Y, Kajiwara R	4. 巻 -
2. 論文標題 Involvement of GABAergic transmission in the nucleus accumbens related to cue-selection behavior with a waiting period	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Proc of Life Eng Symp 2019	6. 最初と最後の頁 75-79
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 該当する

1. 著者名 Machida Y, Yamada Y, Mizunuma S, Tominaga T, Kajiwara R	4. 巻 -
2. 論文標題 Time-lapse optical imaging system for monitoring the resting membrane potential change of neurons in a mouse brain slice.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Proc of Life Eng Symp 2019	6. 最初と最後の頁 139-142
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 該当する

〔学会発表〕 計15件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 Ide Y, Inoue T, Saito Y, Iwaoka M, Tominaga T, Kajiwara R
2. 発表標題 Novel object recognition behavior of juvenile and adult mice and the voltage-sensitive dye imaging of its rhinal cortical circuits in vitro
3. 学会等名 Neuro2022_Okinawa
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hashikawa F, Mizunuma S, Ofuchi S, Kajiwara R
2. 発表標題 Air Pressure Control Device for Two-point Discrimination Test
3. 学会等名 計測自動制御学会オンライン
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 noue T, Matsuzaki K, Kanemaki G, Komura Y, Kajiwara R
2. 発表標題 Behavioral analysis of tone discrimination and auditory preference in rats
3. 学会等名 第44回 日本神経科学大会 第1回 CJK 国際会議 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tominaga T, Tominaga Y, Kajiwara R
2. 発表標題 Cortical oscillations in entorhinal and perirhinal cortices imaged with voltage-sensitive dye in slice preparations of mice
3. 学会等名 第59回生物物理学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Okubo M, Matsuzaki K, Okada N, Komura Y, Kajiwara R
2. 発表標題 Contribution of the GABAergic and dopaminergic systems in the nucleus accumbens to patience for a future reward in rats.
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Machida Y, Yamada Y, Tominaga T, Kajiwara R
2. 発表標題 A voltage-sensitive dye imaging of neural propagation in rhinal cortices of immature and mature mouse.
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Tominaga T, Kajiwara R, Tominaga Y
2. 発表標題 Single-shot repetitive wide-field voltage-sensitive dye (VSD) imaging allows for seeking unique network events and oscillations.
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Matsuzaki K, Okubo M, Komura Y, Kajiwara R
2. 発表標題 A behavioral assay system to analyze tone discrimination and auditory preference in rats.
3. 学会等名 第126回日本解剖学会・第98回日本生理学会大会・合同大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Mizunuma S, Ohuchi S, Kajiwara R
2. 発表標題 Two-point discriminability and skin-rabbit illusion induced by the air pressure stimulation on a human forearm.
3. 学会等名 JSKE 第16回日本感性工学会春季大会・ISASE2021
4. 発表年 2021年



1. 発表者名 Tominaga Y, Kajiwara R, Tominaga T
2. 発表標題 Optical membrane potential recordings with voltage-sensitive dye (VSD) enabling recordings of rare and unique neuronal activity patterns.
3. 学会等名 Neuroscience Meeting Planner. Chicago, IL: Society for Neuroscience, 2021. Online. (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Okubo M, Matsuzaki K, Okada N, Komura Y, Kajiwara R.
2. 発表標題 Involvement of GABAergic transmission in the nucleus accumbens related to cue-selection behavior with a waiting period.
3. 学会等名 計測自動制御学会ライフエンジニアリングシンポジウム2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Machida Y, Yamada Y, Mizunuma S, Tominaga T, Kajiwara R
2. 発表標題 Time-lapse optical imaging system for monitoring the resting membrane potential change of neurons in a mouse brain slice.
3. 学会等名 計測自動制御学会ライフエンジニアリングシンポジウム2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kajiwara R, Tominaga Y, Tominaga T
2. 発表標題 D-current related plasticity in the perirhinal-entorhinal network: a voltage-sensitive dye imaging in mouse brain slices.
3. 学会等名 Neuro2019第42回日本神経科学大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Okubo M, Matsuzaki K, Okada N, Komura Y, Kajiwara R
2. 発表標題 GABAergic and dopaminergic systems in the nucleus accumbens affect a cue-selection task for assessing the waiting behavior.
3. 学会等名 次世代脳プロジェクト冬のシンポジウム2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Okada N, Okubo M, Machida Y, Komura Y, Tominaga T, Kajiwara R
2. 発表標題 The effects of muscimol injections into the nucleus accumbens on the waiting behavior and brain slice analysis of the network activity.
3. 学会等名 第97回日本生理学会大会
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
研究 分担者	富永 貴志  (Tominaga Takashi)  (20344046)	徳島文理大学・神経科学研究所・教授   (36102)	
研究 分担者	高島 一郎  (Takashima Ichiro)  (90357351)	国立研究開発法人産業技術総合研究所・情報・人間工学領域・上級主任研究員   (82626)	

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