

平成 22 年 6 月 1 日現在

研究種目：若手研究（スタートアップ）

研究期間：2008 ～ 2009

課題番号：20830012

研究課題名（和文） ラットのワーキングメモリーにおける前頭前野モニタリング機能

研究課題名（英文） The monitoring of working memory in the rat prefrontal cortex

研究代表者

林 和子 (HAYASHI KAZUKO)

関西医科大学・医学部・研究員

研究者番号：70512995

研究成果の概要（和文）：情報を一時的に保持する能力は、ワーキングメモリーと呼ばれ、動物の生存に重要な意義を持つ。霊長類において、前頭前野はワーキングメモリーに不可欠な脳領域として知られており、行動柔軟性やプランニング等にも関与する。本研究では、霊長類に見られるような、情報の短期保持にとどまらず、その操作や制御を含む「実行機能」を齧歯類の前頭前野もまた担い得るかどうか、空間的ワーキングメモリー課題を用いて多角的に検討した。

研究成果の概要（英文）：In primates, the prefrontal cortex is critically involved in higher cognitive functions such as working memory, temporal organization of behavior, and decision making. Working memory is defined as the ability to hold information to guide prospective behavior. We investigated roles of the rat prefrontal cortex in the monitoring of working memory to evaluate *executive function* in rodents.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,370,000	411,000	1,781,000
2009 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,570,000	771,000	3,341,000

研究分野：行動神経科学

科研費の分科・細目：心理学・実験心理学

キーワード：ラット 前頭前野 ワーキングメモリー

1. 研究開始当初の背景

前頭前野は、系統発生的に霊長類の中でも特にヒトで最も発達した脳部位である。前頭葉において運動関連領域の前方に位置し、伝統的に視床背内側核の投射領域として定義

されてきた。ヒトの損傷例やイメージング研究、サルを用いた動物実験から、前頭前野はワーキングメモリー、行動柔軟性、プランニングなどの高次認知機能に関わることが明らかにされている。

齧歯類もまた解剖学的に定義される前頭

前野を有するが、霊長類との間に機能的同一性が存在するか否かについては議論がある (Brown & Bowman, 2002)。齧歯類は空間学習に優れた動物であり、前頭前野とワーキングメモリーとの関連は、ヒトの研究で用いられるような言語に依拠した課題のかわりに、しばしば空間的課題によって調べられてきた。

したがって、これまでに蓄積された知見をもとに、ワーキングメモリーにおけるラット前頭前野のはたらきを分析し、霊長類に見られるような、情報の短期保持にとどまらず、その操作・制御まで含む実行機能 (executive function) について比較認知神経科学の観点から検討することは重要であると考えられる。

2. 研究の目的

我々はこれまで、学習・記憶の細胞モデルである長期増強の生起に必須の役割を担うことから、NMDA 型グルタミン酸受容体に着目し、8 方向放射状迷路課題を用いてラットの前頭前野機能を検討してきた。放射状迷路は、海馬依存性の空間的ワーキングメモリー課題として広く知られており、標準的な課題では迷路外の空間手がかりをもとに 8 本のアームに置かれた餌報酬を効率よく取ることが要求される。この課題の遂行は、海馬における NMDA 受容体の遮断によって阻害され、前頭前野では障害されなかった。前頭前野 NMDA 受容体の遮断はまた、試行途中で 2 時間の遅延を挿入した放射状迷路課題でも空間情報の記銘には影響しなかったが、検索過程において重篤な障害をもたらした。したがって、前頭前野 NMDA 受容体は、海馬で行われるような空間情報の処理そのものではなく、より高次の記憶機能に関わる可能性がある。実際、ラットを用いた近年の行動神経科学的研究は、前頭前野が空間情報の一時保持よりも時間順序 (Hannesson et al., 2004) やモニタリング機能 (Gisquet-Verrier & Delatour, 2006) に重要であることを示唆している。

以上を踏まえ、本研究では、前頭前野 NMDA 受容体が空間的ワーキングメモリーに果たす役割について、オンラインでの情報保持期間中に発揮されるモニタリング機能への関与を検討する。

3. 研究の方法

我々は、遅延挿入放射状迷路課題を用いて前頭前野 NMDA 受容体が空間的ワーキングメモリーの検索に重要であることを明らかにしてきた。しかしながら、2 時間という遅延の長さは、保持過程への関与を行動薬理学

的に評価するには適当ではないかもしれない。そこで本研究では、はじめに遅延挿入課題において空間情報の保持を媒介する脳領域を探索するため、免疫組織化学的アプローチを用い、遅延中の神経活動の指標となる最初期遺伝子 (immediate early gene : IEG) 発現量を測定する (実験 1)。つぎに、干渉課題として遅延の間に別の部屋で標準的な放射状迷路課題を行わせることにより、前頭前野のモニタリング機能について検討する (実験 2)。

(1) 実験 1: 空間的ワーキングメモリーの保持過程における IEG 発現

被験体として Wistar-Imamichi 系雄ラット 15 匹を用いた。実験群 (n=8) のラットには、標準的な放射状迷路課題の 1 試行を 2 時間の遅延によって前半と後半に分けた遅延挿入放射状迷路課題を訓練した。この課題では、ラットが 8 本のアームの中から 4 本を選択した後、いったん迷路から取り出し、遅延後に残りの 4 本を選択させた。したがって、課題を成功裡に遂行するには、遅延の間、自らの選択反応に関する空間情報を保持しておかなければならない。コントロール群 (n=7) のラットには、前半で実験群と同様に 4 本のアームを選択させ、後半はランダムに餌の置かれた 4 本のアームを強制的に選択させた。

後半の遂行終了直後、脳を灌流固定し、冠状切片を作成した。免疫染色を行い、内側前頭前野 (prelimbic area / infralimbic area)、背側および腹側海馬 (CA1 / CA3 / dentate gyrus) における zif 268 の発現を調べた。ImageJ1.36b (National Institute of Health) を用いて画像データをグレースケールに変換した後、陽性細胞数を自動測定した。測定基準は全ての標本間で一定とした。

(2) 実験 2: 空間的ワーキングメモリーにおける前頭前野モニタリング機能

被験体として Wistar-Imamichi 系雄ラット 11 匹を用いた。はじめに、実験 1 と同様の遅延挿入放射状迷路をラットに訓練した。つぎに、遅延期間中に類似の空間情報処理を必要とする干渉課題として標準的な放射状迷路課題を入れた (図 1)。すなわち、遅延挿入課題の前半を終えたラットは、2 時間の遅延の途中で標準課題を行い、その後、残りの遅延挿入課題を遂行するよう訓練された。

習得後、標準課題の遂行直前に NMDA 受容体のアンタゴニストである 2-amino-5-phosphonopentanoic acid (AP5; 片側につき 30nmol) または生理食塩水 (SAL) を前頭前野に微小投与し、遅延挿入課題の後半の

遂行に及ぼす影響を検討した。さらに、コントロール条件として、遅延期間中に干渉課題を挿入せず、AP5 投与のみを行い、遅延課題後半を遂行させた。

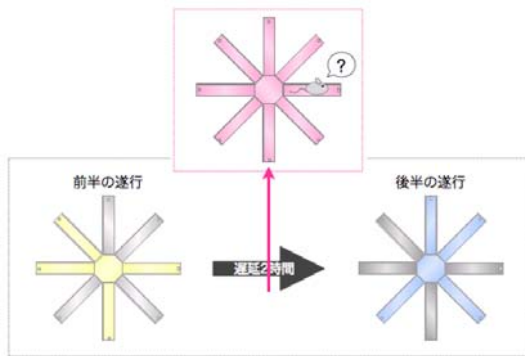


図 1 遅延挿入放射状迷路課題と干渉課題

4. 研究成果

(1) 実験 1: 空間的ワーキングメモリの保持過程における IEG 発現

遅延中の神経活動の指標として、内側前頭前野、背側および腹側海馬の下位領域で zif 268 の発現を調べた。その結果、内側前頭前野ではコントロール群よりも実験群で多くの zif 268 発現細胞が観察された (図 2)。同様の傾向は、背側および腹側海馬の下位領域でも見られた。図 3 に prelimbic area における典型例を示した。これらの結果は、遅延挿入課題前半の選択に関する空間情報を後半の遂行のため保持する必要があるとき、その遅延期間中に海馬だけでなく、内側前頭前野もまた賦活されることを示唆する。

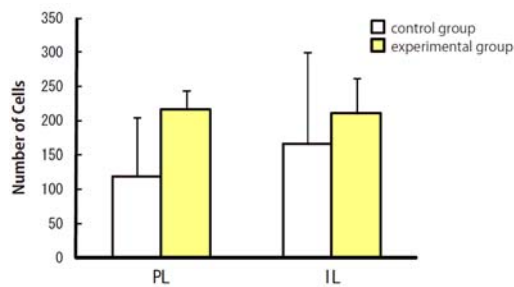


図 2 内側前頭前野における zif 268 発現細胞数 (平均+SEM)

PL : prelimbic area / IL : infralimbic area

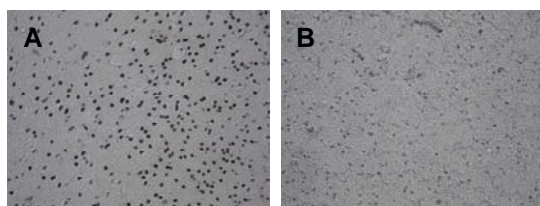


図 3 内側前頭前野 (prelimbic area) における zif 268 発現の典型例

A : 実験群 / B : コントロール群

(2) 実験 2: 空間的ワーキングメモリーにおける前頭前野モニタリング機能

遅延中に挿入された標準課題の直前に AP5 を投与し、遅延課題後半の遂行に及ぼす効果を検討したところ、最初の 4 選択中の正選択数に減少が見られた (図 4)。統計的分析の結果、SAL 投与条件との間に 10%水準で有意傾向が認められた。誤選択数もまた、AP5 投与により増加し、SAL 投与条件との間に 5%水準で有意差が見られた (図 5)。

一方、我々のこれまでの研究結果に一致して、前頭前野における AP5 の局所投与は、直後に行われた標準的な放射状迷路課題の成績には影響しなかった。さらに、遅延中に AP5 投与のみを行ったコントロール条件では、後半の遂行に障害は見られず、AP5 の作用は遅延挿入課題の後半までに減弱すると考えられるため、これらの結果は、空間的ワーキングメモリの保持過程において別の空間情報を並列に処理する際、前頭前野 NMDA 受容体が重要な役割を担うことを示唆する。

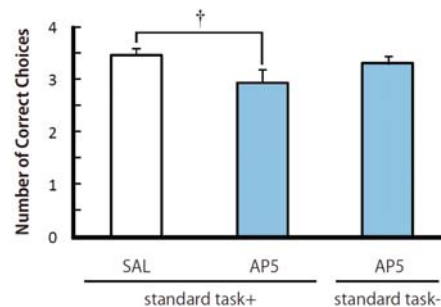


図 4 後半の遂行における最初の 4 選択中の正選択数 (平均+SEM) † $p < .10$

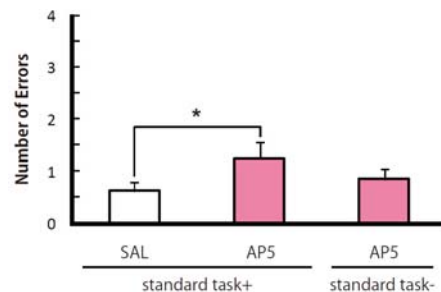


図 5 後半の遂行における誤選択数 (平均+SEM) * $p < .05$

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者に

は下線)

〔学会発表〕(計 5 件)

1. Hayashi, K. & Ichitani, Y., Effects of NMDA and AMPA receptor blockade in the ventral hippocampus on spatial working memory in rats, Society for Neuroscience 39th, 2009/10/21, Chicago

2. 林 和子・一谷幸男, ラットの放射状迷路課題習得に及ぼす内側前頭前野 D1 受容体遮断の効果, 日本動物心理学会第 69 回大会 2009/9/26, 岐阜大学

3. Hayashi, K. & Ichitani, Y., Roles of NMDA and AMPA receptors in the rat ventral hippocampus in spatial working memory, 第 32 回日本神経科学大会, 2009/9/17, 名古屋国際会議場

4. Hayashi, K., Yoshihara, T. & Ichitani, Y., Differential effects of NMDA receptor blockade in the prefrontal cortex and hippocampus on spatial working memory in rats, The 36th Congress of the International Union of Physiological Sciences, 2009/7/28, Kyoto

5. 林 和子・中原大一郎・一谷幸男, ラットの遅延挿入放射状迷路課題遂行に及ぼす内側前頭前野 6-OHDA 損傷の効果, 日本動物心理学会第 68 回大会, 2008/9/13, 常磐大学

〔その他〕

林 和子, ラットの空間的作業記憶におけるグルタミン酸受容体の役割, 第 126 回海馬研究会, 2009/12/19, 同志社大学

6. 研究組織

(1) 研究代表者

林 和子 (HAYASHI KAZUKO)
関西医科大学・医学部・研究員
研究者番号: 70512995