

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 9 日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K07731

研究課題名（和文）マーモセット前頭前野の認知機能に関わる脳領域間結合の神経回路基板の解明

研究課題名（英文）Neuronal circuit analysis of interregional connections in cognitive functions in the marmoset prefrontal cortex

研究代表者

高司 雅史（Takaji, Masafumi）

国立研究開発法人理化学研究所・脳神経科学研究センター・研究員

研究者番号：10598080

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,900,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、図形弁別課題中のマーモセットの前頭前野の神経活動をカルシウムイメージングを用いて記録した。

本課題で用いた計測機器はマウスと同じ条件ではマーモセットで記録できる神経細胞数はマウスよりも少なくなることが判明した。このため、カルシウムセンサーや細胞内局在シグナルなど多岐にわたって検討をおこない、マーモセットにおけるカルシウムイメージングの精度を改善した。上記の条件を用いてマーモセットの前頭前野から神経活動を記録しつつ課題を遂行させることで課題遂行中の前頭前野の神経活動の記録をおこなった。また、逆行性アデノ随伴ウイルスを用いて目的の領域に投射している脳領域を同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

大脳皮質の前頭前野は霊長類で良く発達しており、各領域がそれぞれ特徴的な機能を担っていることはよく理解されるようになってきている。各領域がその機能を果たすには多くの情報を処理することが必要と考えられている。例えば意思決定をおこない行動するためには、外部からの情報を知覚して判断することが必要であるが、これには注意や過去の経験からなる記憶が影響を与えていると考えられる。これらの情報処理には、他の大脳皮質領域や線条体、視床などの皮質下領域と協調することが必要であると考えられる。本研究では、認知機能における前頭前野の神経回路の機能構築を明らかにすることを目的として進められた。

研究成果の概要（英文）：In the present study, I recorded neuronal activities using calcium imaging in the marmoset prefrontal cortex during visual discrimination tasks. During this research project, it turned out that the number of neurons that could be recorded from the marmoset cortex was lower than that of mouse cortex under the same conditions of the measurement devices used in this task. For this reason, I investigated a wide range of experimental conditions including calcium sensors and subcellular localization signals, and improved calcium imaging quality in the marmoset brain. Using the conditions, the neuronal activities were recorded in the marmoset orbitofrontal cortex during the tasks. In addition, I identified the brain regions projecting to the target area. Using these data, I investigated the information flow in brain regions involved in cognitive functions.

研究分野：認知脳科学

キーワード：意思決定

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

大脳皮質の前頭前野は霊長類で良く発達しており、前頭前野の各領域がそれぞれ特徴的な認知機能を担っていることはよく理解されるようになってきている。各領域がその機能を果たすには多くの情報を処理することが必要と考えられている。例えば意思決定をおこない行動するためには、外部からの情報を知覚して判断することが必要であるが、これには注意や過去の経験からなる記憶が影響を与えていると考えられる。これらの情報処理には、他の大脳皮質領域や線条体、視床などの皮質下領域と協調することが必要であると考えられる。

これまでの神経回路特異的な機能に関する知見は、有用なトランスジェニックラインが充実しているマウスを用いた解析から得られたものがほとんどである。しかし、ヒトとマウスの大脳皮質は遺伝子発現や神経細胞形態など大きく異なっていることが報告されており、大脳皮質前頭前野における認知研究では非ヒト霊長類を対象とした神経回路研究の発展が望まれる。

2. 研究の目的

本研究では小型霊長類であるマーモセットを対象として、前頭前野の認知機能が他の大脳皮質領域や皮質下領域とどのように協調して情報処理されることで果たされるかを明らかにすることを目的とする。このため、認知課題遂行中のマーモセットの前頭前野から大脳皮質の層横断的に神経活動を記録することで、各神経細胞の位置と活動のタイミングを解析する。さらに、この研究で得られた各神経細胞の位置と、これまでに得られている前頭前野の神経細胞の投射様式から、どの領域に投射している神経細胞が認知課題のどのタイミングで活動しているかを明らかにする。また、各神経回路特異的に神経活動を記録、あるいは神経活動を制御することで、各神経回路が認知機能に与える影響を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 認知課題の設定

本研究では、認知行動の際に必要なと考えられる現在の外部情報と過去の記憶に応答する神経活動を区別するために、簡便な図形弁別課題にいくつかの変更を加えた複数の課題をマーモセットにおこなわせる。この課題では、刺激提示時に示された図形を選択できれば報酬が得られるという課題で、外部から得られた情報(刺激)を知覚し、その刺激と同じ図形がどれかを判断して選択することが必要となる。さらに次に挙げる変更をこの課題に加えることで、それぞれ特徴的な神経活動を抽出する。

1 刺激提示と選択肢提示の間に何も表示しない時間を設ける。

この課題では提示された刺激を短期的に記憶しておかなければならないため、標準的な課題遂行時における神経活動と比較することで、短期記憶に反応する神経活動を抽出することが可能と考えられる。

2 すべての試行で提示される刺激を同じにする。

標準的な課題では提示される刺激はランダムであるが、この課題ではすべての刺激が同じ図形となる。このためこの課題で抽出される神経活動は長期記憶に関わるものであると考えられる。また「刺激を知覚する」という必要性が減少するため、知覚した刺激の情報を処理する神経活動も抽出できる可能性もある。

3 すべての試行で選択時の正解の位置を同じにする。

この課題では、提示される刺激を記憶する必要はなく、また選択時に判断する必要もない。これらの課題遂行中に得られる神経活動を比較することで、外部情報と記憶に応答する神経細胞を区別する。

(2) 神経活動の記録

本研究では、課題遂行中のマーモセットの神経活動を記録するために、GCaMPを発現するアデノ随伴ウイルス (AAV) をマーモセットの前頭前野に注入する。AAV注入後2-3週間ほどGCaMPの発現期間を設けた後、AAV注入箇所プリズムレンズを刺入し、歯科用セメントで頭蓋骨に固定する。レンズ刺入による組織の損傷が回復した後、顕微鏡を設置するためのベースプレートをレンズ上に固定する。このマーモセットに上記の図形弁別課題を遂行させることで、課題遂行中の前頭前野の神経活動を層横断的に記録し、それぞれの課題で抽出される特徴的な情報処理をおこなう神経細胞を明らかにする。

(3) 投射パターンの解析

目的の領野に逆行性AAVを注入することで、どの脳領域がその領野に投射しているのかを明らかにする。この情報と、これまでに申請者が所属している研究室で明らかになっている前頭前野の神経細胞の投射様式を比較することで、それぞれの神経細胞がどの領域から情報を受け取り、どの領野に投射して情報処理をおこなっているかを明らかにする。

(4) 神経活動の解析

上記の実験で同定した特徴的な活動をおこなう神経細胞の位置と前頭前野の投射様式を比較することで、それぞれの神経細胞がどの領域と情報処理をおこなっているかを明らかにする。また、逆行性AAVとCre recombinaseを利用してCre recombinase依存的にGCaMPを発現させることで、課題遂行中の神経経路特異的な神経活動を記録する。同様の方法でチャンネルロドプシンやハロロドプシンを発現させて神経経路特異的な神経活動を制御することで、認知課題における神経経路特異的な機能を明らかにする。

4. 研究成果

本研究では、認知行動の際に必要なと考えられる現在の外部情報と過去の記憶に応答する神経活動を明らかにするために、図形弁別課題中のマーモセットの前頭前野の神経活動をカルシウムイメージングを用いて記録した。本研究で用いた学習課題は過去に筆者らが報告した課題を改変したもので、外部情報と長期、短期の記憶との関わりを調べられる課題にした。

本課題で用いた計測機器はマウスではよく用いられているもののマーモセットにおいては数例しかなく、マウスと同じ条件ではマーモセットで記録できる神経細胞数はマウスよりも少なくなることが本研究課題期間中に判明した。このため本研究で使用するウイルスベクターの条件を再検討した。他の研究グループから新規に報告されたより良いカルシウムセンサーや細胞内局在シグナルなど多岐にわたって検討をおこない、マーモセットにおけるカルシウムイメージングの精度を改善した。

上記の条件を用いてマーモセットの前頭前野にカルシウムセンサーを発現させ、その領野にプリズムレンズを固定し、神経活動を記録しつつ図形弁別課題を遂行させることで課題遂行中の前頭前野の神経活動の記録をおこなった。また、逆行性アデノ随伴ウイルスを用いて

目的の領野に投射している脳領域を同定した。この結果を、当研究室でこれまでおこなわれてきた順行性アデノ随伴ウイルスを用いた投射先を同定する研究結果と比較することで、目的の領野に脳のどの領域から情報が伝わり、かつ目的の領野からどの脳領野に情報を伝えているのかを明らかにした。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------