

令和 6 年 6 月 12 日現在

機関番号：17104

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K20838

研究課題名（和文）やり抜く力Gritの脳内バイオマーカはあるのか？

研究課題名（英文）Is there any biomarker for Grit?

研究代表者

夏目 季代久（Natsume, Kiyohisa）

九州工業大学・大学院生命体工学研究科・教授

研究者番号：30231492

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,800,000円

研究成果の概要（和文）：Grit行動指標を決めるために勤勉性ラットモデル（DRM）の作成を試みた。まずカイニン酸（KA）少量3回投与ラットの行動を調べた。オープンフィールド課題では総移動距離が延長した。また不安感情も減少し勤勉性モデルと考えられた。さらに2回投与ラットを用いて新奇物体認識課題を行った。投与前、より長く新奇物体を探索した。投与後、対照群では親近物体探索したが、KA群では新奇物体探索傾向が維持された。この事は対照群では親近物体による単純呈示効果が表れたが、KA群ではその効果は表れなかったと考えられる。さらにKA群海馬ドパミン濃度は、対照群より高かった。KA少量投与によりDRMが作成出来たと示唆される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、通常では外部刺激による単純呈示効果を起こすラットが、カイニン酸少量投与すると内発的動機づけが高くなり、単純呈示効果を抑制し勤勉性が上がる事を明らかにした。本研究ではこれまで得られてこなかった勤勉性ラットモデルが得られた可能性がありその学術的意義は大きい。またモデル内海馬ドパミン濃度は高かった。ドパミンは報酬系に関連する脳内物質なので脳内ドパミン濃度が勤勉性の一つのバイオマーカとなる可能性がある。ただ「やり抜く力」（Grit）は勤勉性が持続する事である。今回は一つの学習課題のみで勤勉性を調べたが、今後は他の学習課題でも勤勉に学習するのか調べる予定である。

研究成果の概要（英文）：We attempted to create a diligent rat model (DRM) to determine a Grit behavioral index for rats. First, we examined the behavior of rats given three small doses of kainic acid (KA). The total distance traveled increased in the open field task. Anxious feelings were also decreased, suggesting that the DRM is a model of industriousness. In addition, rats treated with two doses of kainic acid (KA) were subjected to a novel object recognition task. The results showed that the rats stayed longer at the novel object before the administration. After the administration, the rats in the control group approached the familiar object, but the rats in the KA group maintained the tendency to stay at the novel object. This indicates that the control group showed a simple presentation effect by the familiar object, but the KA group did not. Furthermore, hippocampal dopamine levels in the KA group were higher than in the control group. These results suggest that a small dose of KA can create DRM.

研究分野：脳情報工学

キーワード：やり抜く力Grit 勤勉性学習 カイニン酸少量投与モデル

1. 研究開始当初の背景

現在、働き改革の下、労働力の生産性向上が謳われている。そのため企業側は労働環境の整備を進めている。しかし企業側だけでなく従業員も集中して仕事を行う努力が必要になる。努力に対して心理学分野では学習性勤勉性と学習性無力感が関与すると知られている。前者は努力の結果に対して報酬を与えると「結果では無く努力そのものに対して報酬が貰えると予測する」学習の事である。後者は、いくら努力しても罰が与えられると「何も行わない事」を学習する事である。これら2つの要因により仕事（課題）に対する努力の持続性、「やり抜く力」(Grit)が決まる。それらの学習時、脳も変化すると考えられる。それではどのように変化しているのか？本研究はそのような問いに答える研究である。またGrit運動指標と関連のあるバイオマーカー（脳波、神経調節因子）Grit脳内指標を探索する。

2. 研究の目的

本研究では「やり抜く力」を決める勤勉性と無力感のうち、勤勉性を学習するにあたって脳はどのように変化するか？と言う問いに答えるためにラットを用い、勤勉性モデルを作成し、脳内指標（バイオマーカー）が何であるかを明らかにする事を目的とする。

3. 研究の方法

本実験は九州工業大学大学院生命体工学研究科、動物実験委員会で審議し、学長から承認（承認番号：生-2019-004、生-2020-004、生-2021-003、生-2023-003）を得た。

2020～2022年度（前半）には3週齢雄のWistarラット（日本SLC（株））を36匹用い、2023年度（後半）には12匹用いた。ラットは温度 23 ± 1 ℃、湿度 50 ± 5 %で飼育した。また、照明条件は12時間のLDサイクルとした。

イソフルランで麻酔後、KA及び生食を投与した。生食投与群を対照群（またはCT群）、KA投与群をKA群とした。前半はKA群23匹、後半は6匹とした。KAは低濃度繰り返し投与法を採用した。投与は3.5%イソフルラン麻酔した後、0.05%KA溶液を少量（10 ml/kg、i.p.）1時間おきに前半は3回、後半は2回投与した。対照群には生食（0.9%NaCl、10 mg/kg、i.p.）を、KA群と同様の時間スケジュールで2、3回投与した。KA群では、けいれん症状は見られなかった。薬品投与前をプレ、投与後をポストとした。プレに1、2回、ポストで投与1週間後、1回行動測定、マイクロダイアリシス実験を行った。薬品投与の2週間後、脳波測定を行った。

行動測定には、前半はオープンフィールドテスト（OFT）、後半は新奇物体認識課題（NORT）を行った。OFT自発行動測定にはラットを実験アリーナ内（50 X 50 X 35cm、W X L X H）に入れ、20分間フィールドに適応させた後、自発行動を40分間記録した。測定にはフィールド床から60cmの所にKinectカメラ（Microsoft株式会社、USA）設置したLive Mouse Tracker（LMT）システムを用いた。LMTによる行動解析はChaumont et al.（2019）が作成したPythonプログラムを改変し、ラットの行動軌跡、総移動距離と移動速度を解析した。

勤勉性ラットであると、不安情動が少ないと考えられるので、上記に加え、不安関連行動も測定した。そのために、前記したOFTでの追加の行動解析に加え、高架十字迷路試験（Elevated Platform Maze Test; EPMT）を行った。

OFTの追加行動解析には、まずフィールド中心25cm四方の領域を中心領域（IZ）と定義し、IZ内移動距離及び滞在時間を解析した。またEPMTには、10X50cm（W X L）のアーム、中央領域（10X10cm）があるラット用高架式十字迷路（室町機械EPM-04R、室町株式会社、日本）を用いた。EPM上部にKinectカメラ（Microsoft株式会社、USA）を設置しラットの行動軌跡を記録した。最初にラットを中央領域に置き、Closed-arm侵入した時点からの5分間における、Open-arm滞在時間及びOpen-arm侵入回数を計測した。

NORTは以下の通り実施した。テストはOFTと同様のフィールド（OF）で行った。4色プラスチック製カップ（緑、青、ピンク、紫）を用意し、まず同色2つのSample物体をラットに探索させ（図1、sample object exposure）、その後、ラットをいったんホームケージに戻し、遅延10分、1時間、1日後に再度OFに戻した。その時、2つのSample（親近；Familiar）物体のうち、1つを異なる色（新奇物体）に変えてテストした（図1、Novel-object test）。Sample物体をF物体、新奇物体をN物体と呼ぶ。物体位置をラットが覚えないように、N物体は左右ランダムに置いた。

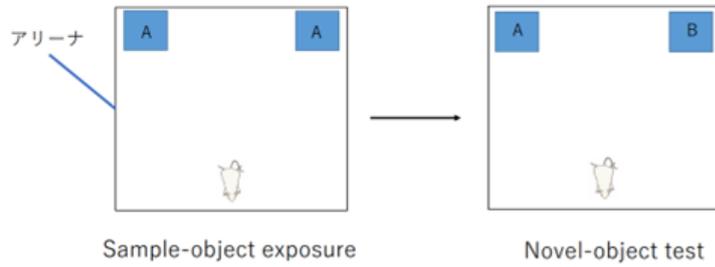


図 1 NORTの実験プロトコール

解析はF、N物体エリア内の滞在時間割合とした。F、N物体を中心として20 X 20 cmの領域を各物体エリアと定義し、そのエリア内のラット探索時間を測定し滞在時間割合を計算した。

また海馬ドパミン濃度をマイクロダイアリス法（エイコム社製、EICOPAK）により測定した。脳波は3.5%イソフルラン麻酔下においてテールピンチ中の、海馬CA1領域からタングステン電極で記録した脳波を高速フーリエ変換しパワー値を解析した。

4. 研究成果

【KA少量3回投与OFTにおける総移動距離】

CT群に比べてKA群では総移動距離は長くなった。それは有意傾向だった（符号あり順位和検定； $p = 0.057$ ）。KA群の35 cm/秒以上の移動速度回数はCT群に比べて有意に多かった（符号あり順位和検定； $p = 0.026$ ）。つまりKA少量投与により早い移動速度でOF内を探索するようになった。

【KA少量3回投与におけるOF IZ侵入行動】

ポストKA群では、OFフィールド IZ内へ侵入するようになった。投与前後の IZ内移動距離と IZ滞在時間の解析を行った結果、IZ移動距離の増加傾向が見られた（図2；KA群 $p = 0.09$ 、CT群 $p = 0.37$ ；対応ある t 検定）。またポストKA/CT群を比較してもKA群の方が移動距離が長い有意傾向を示した（図2； $p = 0.05$ ；対応ある t 検定）。正規化（Z変換値）にすると有意差が観察出来た（** $p = 0.006$ ；対応ある t 検定）。一方、IZ滞在時間は有意な変化を示さなかった（KA群 $p = 1$ 、CT群 $p = 0.36$ ；対応ある t 検定）。以上の結果から、KA投与後、不安情動が減少し、OF内を探索する勤勉性が増加したと考えられる。

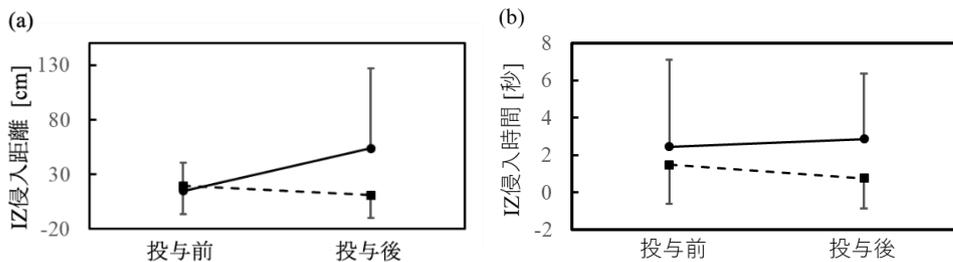


図 2 IZ侵入距離及び滞在時間変化。実線はKA群、破線は対照群の結果である。IZ侵入距離 (a) の投与前 vs 後； $p = 0.09$ 、IZ滞在距離 (b) の対照群 vs KA群； $p = 0.05$ （対応ある t 検定）。

【KA少量3回投与におけるEPMT Open-arm侵入行動】

ポストKA群ではOpen-arm侵入時間・回数は共に有意に増加し（図3；侵入時間：KA群 * $p = 0.01$ 、侵入回数：KA群 * $p = 0.03$ （共に対応有り t 検定）、Open-armへ侵入するようになった。この結果からも、KA投与により、不安情動が減少し、勤勉性が増加したと考えられる。

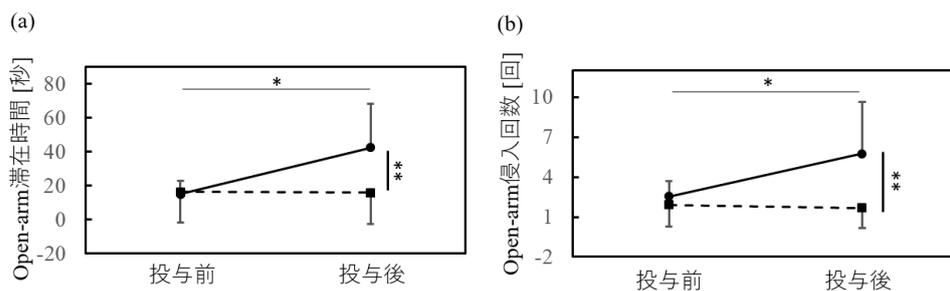


図 3 KA 投与による Open-arm 滞在時間 (左) と Open-arm 侵入回数の変化 (右) 実線は KA 群、破線は CT 群の結果である。

【NORT F/N エリア滞在時間割合】

プレ KA/CT 群は、両群を合わせて N/F 物体エリア滞在時間割合を解析した (図 4 左)。F/N 物体滞在時間割合には有意差 ($p < 0.001$) が見られた (図 4 左)。遅延 5 分、1 時間後、N 物体エリアにいる滞在時間割合が有意に高かった (図 4 左)。しかし遅延 1 日後の滞在時間割合は F/N 物体両エリアで同じだった (図 4 左)。一方、ポストでは、滞在時間割合は両エリアで有意な違いは無くなった (図 4 右)。以上の結果から、ポストでは NORT における勤勉性はなくなったと考えられる。

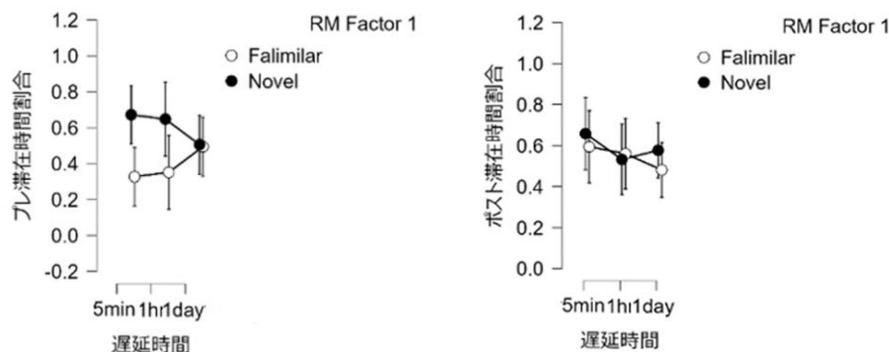


図 4 CT/KA 両群合わせたプレ (左) とポスト (右) の滞在時間割合 白丸は F 物体の、黒丸は N 物体の結果である。

【KA 少量 2 回投与における NORT F/N 物体エリア滞在時間】

次に KA /CT 群に分けて F/N 物体エリア滞在時間割合を比較した (図 5)。F 物体滞在時間では、KA 群はポストで少し短くなったが有意差は無かった。CT 群でも有意差は無かったが F 物体滞在時間が延びた。KA 群の N 滞在時間はプレに比べてポストで長くなった (図 5 右)。ポストで CT 群は F 物体に行きやすくなり、KA 群は N 物体に行きやすくなった (図 5)。CT 群では F 物体の頻回呈示による単純呈示効果のために F 物体に行きやすくなったと考えられる。N 物体への接近行動は自発的興味による、内発的動機づけによっておこるものと考えられる。従ってポスト KA 群で N 物体への滞在時間が増えたことは、内発的動機づけによる行動発現が優先的に起こったものと考えられる。以上の結果から、勤勉性のラットは、外部刺激による単純呈示効果を抑制し、内発的動機づけを優先する行動を選択するものと考えられる。

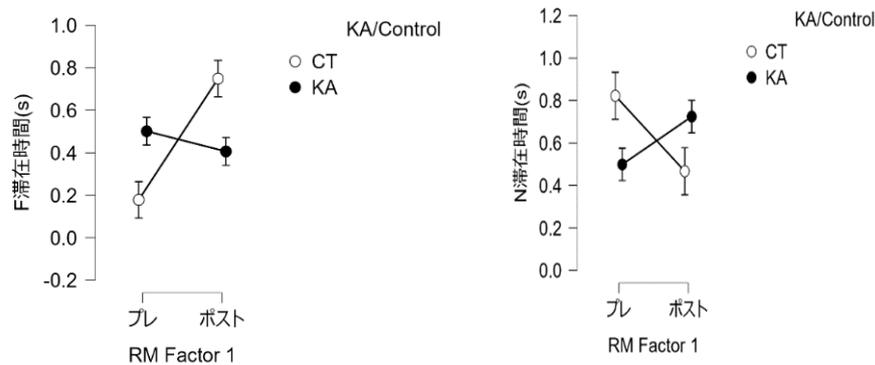


図 5 F (左)・N (右) 滞在時間割合 白丸はCT 群、黒丸はKA 群の結果を示す。

またマイクロダイアリス法により海馬ドパミン濃度を測定した所、CT 群に比べて、KA 群では高い傾向だった。テールピンチ中の脳波パワー値に両群で有意な差は見られなかった。

OFT において IZ も含めてフィールド内をくまなく探索し、EPMT においても Open-arm を探索し、勤勉性が発現し勤勉性モデルラットと考えられる。また KA 少量投与群の NORT では、CT 群で見られた外部刺激による単純呈示効果を抑制し、内発的動機づけによって生じる新奇物体接近行動が見られた。勤勉性も外部からの誘惑、つまり外部刺激を抑制し、与えられた課題をこなす必要がある。そのためには外部刺激より内発的動機づけを優先する今回のモデルラットは勤勉性モデルとして妥当ではないか、と考えられる。従って KA 少量投与群は、勤勉性ラットモデルの候補となりうると思われる。そのモデル内、海馬ドパミン濃度は CT 群に比べて高かった。勤勉性のバイオマーカーとして脳内ドパミン濃度が候補になるかもしれない。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Arai Hirofumi, Shigemoto Masaya, Natsume Kiyohisa	4. 巻 15
2. 論文標題 Detection of the change in characteristics of self-grooming by the neural network in the latent period of the Rat Kainate Epilepsy model	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 SICE Journal of Control, Measurement, and System Integration	6. 最初と最後の頁 64 ~ 70
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/18824889.2022.2079327	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 Nagayoshi Y., Chujo T., Hirata S., Nakatsuka H., Chen C.-W., Takakura M., Miyuchi K., Ikeuchi Y., Carlyle B. C., Kitchen R. R., Suzuki T., Katsuoka F., Yamamoto M., Goto Y., Tanaka M., Natsume K., Nairn A. C., Suzuki T., Tomizawa K., Wei F.-Y.	4. 巻 7
2. 論文標題 Loss of Ftsj1 perturbs codon-specific translation efficiency in the brain and is associated with X-linked intellectual disability	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 eabf3072
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.abf3072	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 Shigemoto Masaya, Nakatsuka Hiroki, Ohtubo Yoshitaka, Natsume Kiyohisa	4. 巻 -
2. 論文標題 Diurnal rhythm regulates the frequency of carbachol-induced beta oscillation via inhibitory neural system in rat hippocampus	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cognitive Neurodynamics	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) 10.1007/s11571-021-09736-4	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 新井博文, Blanco Negrete Salvador, Rollyn Labuguen, 柴田智広, 夏目季代久	4. 巻 120
2. 論文標題 てんかんモデル動物海馬スライスにおける脳波とNMDA受容体の関与	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 信学技報	6. 最初と最後の頁 9-14
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 -

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 6件）

1. 発表者名 H. Arai, and K. Natsume
2. 発表標題 The involvement of oxytocin receptor activation in the change in self-grooming at the latent period in rat kainate model of epilepsy
3. 学会等名 Neuro2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 M. Shigemoto, Y. Ohtubo, K. Natsume
2. 発表標題 The carbachol-induced beta oscillation causes the decrease in frequency by disinhibition at the midnight phase
3. 学会等名 Neuro2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 H. Arai, and K. Natsume
2. 発表標題 Spontaneous activity of rat hippocampal slices during latent period in kainate model rat for epilepsy
3. 学会等名 Neuro2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 R. Maeda, T. Sawada, and K. Natsume
2. 発表標題 The relationship between generation of Carbachol induced oscillation and high frequency oscillation in rat hippocampal slices
3. 学会等名 Neuro2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shigemoto, Masaya, Natsume, Kiyohisa
2. 発表標題 Neural network based time zone classification allows circadian rhythm analysis
3. 学会等名 SICE2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Arai, Hirofumi;Negrete, Salvador Blanco;Labuguen, Rollyn Tiu;Shibata, Tomohiro;Natsume, Kiyohisa
2. 発表標題 Behavior and Emotional Modification at Latent Period of Rat Epilepsy Model
3. 学会等名 SICE2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 新井博文, Blanco Negrete Salvador, Rollyn Labuguen, 柴田智広, 夏目季代久
2. 発表標題 てんかんモデル動物海馬スライスにおける脳波とNMDA受容体の関与
3. 学会等名 非線形問題研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 新井博文、夏目季代久
2. 発表標題 カイニン酸誘導てんかんモデルラット潜伏期における行動変容、及び海馬CA3領域における神経回路変化
3. 学会等名 非線形問題研究会
4. 発表年 2021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
---------	---------