

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 20 日現在

機関番号：12102

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2011～2012

課題番号：23700501

研究課題名（和文） 情動が報酬獲得行動に及ぼす作用の単一ニューロン活動基盤

研究課題名（英文） Single neuronal substrate responsible for emotions underlying reward-seeking

研究代表者

水挽 貴至（MIZUHIKI TAKASHI）

筑波大学・医学医療系・助教

研究者番号：60463824

研究成果の概要（和文）：情動は、報酬によって誘発される心理的・行動学的・身体的反応であるといわれる。本研究は、報酬に対する行動学的・身体的反応が相関することを、サルを用いた実験で初めて示した。また、報酬獲得課題を遂行中のサルの島皮質から単一ニューロン活動記録を行い、島皮質が報酬期待と関係した活動を示すことを明らかにした。これらの結果は、報酬によって島皮質に生じた内受容が、情動やモチベーションの基盤となりうることを示す。この結果を米学術誌に報告した。

研究成果の概要（英文）：It has been hypothesized that the emotion is embodied from psychological, behavioral and physical reactions elicited by reward. This is the first study that shows the correlation between behavioral and physical reactions under reward-guided behavior performed by macaque monkeys. Furthermore, the recordings from single neurons in monkey insulae during reward-seeking showed that the insulae responded to reward expectation. These results suggest that the interoception elicited by reward might provide a foundation for emotional and motivational reactions. These findings were reported in Journal of neurophysiology in 2012.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：生理学

科研費の分科・細目：脳神経科学・融合社会脳科学

キーワード：感性、情動、感情

1. 研究開始当初の背景

(1) 情動とはなんであろうか。広く信じられている仮説では、情動は、報酬によって引き起こされる、心理的、身体的、行動学的反応の総体であるとされる。とりわけ身体的反応は素早く生じ、内受容と呼ばれる身体固有覚によって、情動を自覚するよりも先に覚知されるといわれる。情動と内受容は密接不可分な関係にあり、内受容と情動は、同じ現象を異なる側面から見ているに過ぎないとも言われる。

①内受容は、主に循環・呼吸機能、内分泌機

能、消化管機能、筋緊張度の変化などといった、身体覚醒度の変化に関する知覚である。内受容を扱う多くの先行研究では、心拍数が身体覚醒度の指標として用いられている。

②ヒトを対象とした、金字塔的な心理実験によれば、内受容の再解釈や意味づけが、個体の行動を変調させるという（Schacter & Singer 1962）。すなわち身体覚醒度の変化は、我々のモチベーションや意思決定などに作用し、行動を変化させると考えられる。

③しかし動物実験レベルでは、こうした現象は十分検討されていない。

(2)情動や内受容は島皮質で表象される

①情動は報酬が個体に引き起こす反応であるので、報酬獲得課題を遂行させれば、実験動物にも情動を生起させられると考えられる。

②ヒトを対象とした、脳機能画像を用いた先行研究で、内受容は島皮質で表象されることが明らかになっている(Craig 2002, 2009)。したがってサル島皮質においても、同様の情報表現が行われていると推察できる。

2. 研究の目的

(1)モチベーションや意思決定への情動の関与を、検討する。本研究でも、先行研究に倣い、身体覚醒度の変化を情動の指標として用いる。そこで身体覚醒度の変化を心拍数の記録によって記録する方法を確立する。

①光学的手法による非侵襲的、安定的、かつ簡便に記録が可能かどうか検討する。

②実験動物にはサルを用いる。サルの報酬獲得行動に伴う心拍数の変化を計測することで、情動と意思決定の関係性を明らかにする。

(2)内受容表象の座と言われる島皮質で単一ニューロン活動記録を行う。

①報酬獲得行動の最中に、島皮質で報酬に関連したニューロン活動がみられるかどうかを検索する。

②このニューロン活動が内受容に由来しているかどうかを検討する。

3. 研究の方法

(1)本研究は主に、心拍数(身体覚醒度)を記録するための技術開発と、サルを用いた単一ニューロン活動記録の2つの段階からなる。

①実験中、サルは自由に運動し、振幅の大きな筋電図を発生している。この影響を回避するために、1000nm付近の近赤外光を用いた光学的プレチスモグラムによる血管容量の変化を測定することとした。もし光学的手法では安定的な記録が困難であれば、オーソドックスな心電図を記録し、雑音除去のアルゴリズムを検討することとした。

②心拍数の記録が可能になったら、サルに視覚弁別課題(図1)を自由に行わせる。この課題では、画面に表示される赤い四角が、緑に変化したら1秒以内にバーから手を離さなければならない。課題に成功すれば報酬である水が与えられる。この課題の単位時間あたりの成功頻度と心拍数との相関を検討する。

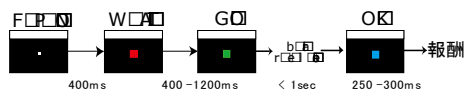


図1 視覚弁別課題

(2) 単一ニューロン活動記録

①アカゲザル2頭の島皮質から単一ニューロン活動記録を行った。このために、サルの頭部には記録用のポートの埋め込み手術を行った。

②課題には多試行報酬スケジュール課題を用いた。この課題は、上記の視覚弁別試行の組み合わせからなり、視覚弁別試行を1~4回成功すれば、報酬である水が与えられる。このとき、報酬までの残り試行回数は、画面上部に提示されるキューの明るさによって示される(cue条件、図2)。試行は、課題終了時に報酬がもらえる報酬試行(図3の1/1、2/2、3/3、4/4)と、報酬がもらえない無報酬試行に分けられる。この2つの群間の反応を比較することで、報酬に関連した反応の有無を調べることができる。このほかに、キューの順序を不規則に入れ替え、どれが報酬試行でどれが無報酬試行かをわからなくしたrandom条件下でも記録を行った。

なお課題中、サルはモンキーチェアの内部に座し、レコーディングを安定させるために頭部のみが固定されている。

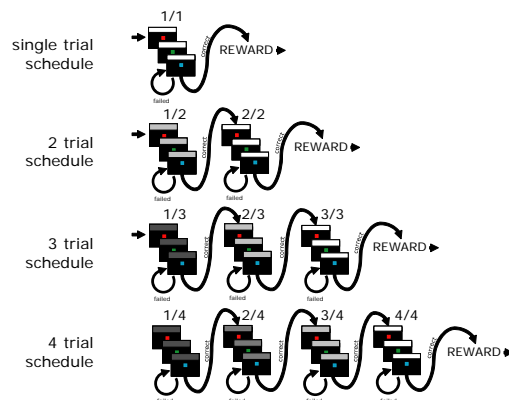


図2 多試行報酬スケジュール課題

4. 主たる研究成果

(1)身体覚醒度とモチベーションは逆相関する

視覚弁別課題を遂行中の、単位時間あたりの成功数と身体覚醒度を記録した。身体覚醒度の指標には心拍数を用いた。

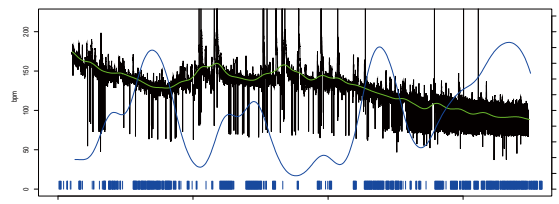


図3 横軸は時間(50分単位)、黒線は心拍数(0~200bpm)、青線は3分あたりの成功試行数、緑線は平滑化した心拍数。グラフ下部の青ヒゲは試行が成功した時点を示す。

心拍数が低下する際には成功頻度が上昇し、心拍数が増加する際には逆に低下する傾向を認めた(図 3)。回帰分析を行うと、課題成功頻度 *perform* と心拍数 *hr* の間には $hr = -0.95 \times perform + 144$ ($p = 3 \times 10^{-4}$) の強い相関が認められた(図 4)。

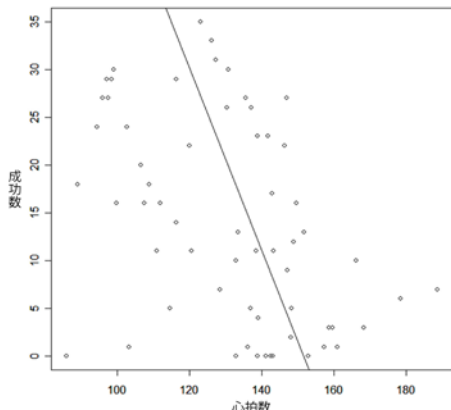


図 4 縦軸は 3 分あたりの課題成功頻度、横軸は 3 分あたりの平均心拍数。

かつて Schacter と Singer は、情動の発生は必ずしも心理的要因のみがもたらすのではなく、内受容の変調というきわめて身体的・内在的な要因も関わっていることを示した(情動の身体起源説)。本成果は彼らの所見を支持するのみでなく、身体要因がモチベーションや意思決定を強力に変調しうることを示している。一般的なモデルでは、人々は将来の報酬を最大化するように行動すると考えられているが、報酬とは関係のない身体の内部環境に行動が影響されうるといふ本結果は、経済学や報酬科学の既成概念に大きなインパクトをもたらすとと言える。

(2) 単一ニューロン活動記録

①ポート埋め込み手術:

術後、タングステン電極を刺入し頭部 MRI を撮影、取り付け位置を確認した。

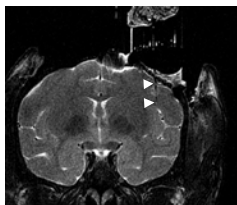


図 5 頭部 MRI 冠状断。矢印先端はタングステン電極。先端は標的部位に到達している。

②報酬期待と関係した行動反応:

多試行報酬スケジュール課題を実行中のサルの、失敗率を定量した。失敗率は無報酬試

行で高く、報酬試行で低かった。どの試行で報酬がもらえるか分からない *random* 条件では、全試行で低かった(図 6)。

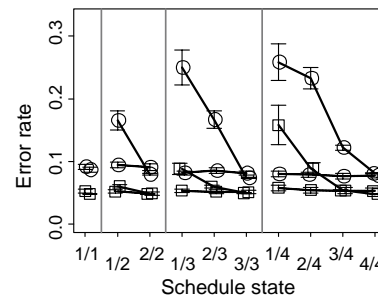
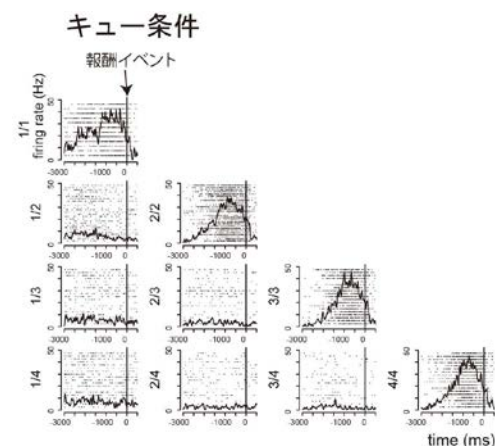


図 6 2 頭のサルの誤答率。実線は cue 条件、破線は random 条件。

報酬試行(1/1、2/2、3/3、4/4)では課題遂行成績が良く、それ以外では悪い。一方報酬試行と無報酬試行を区別できない *random* 条件では、すべての試行で成績が良い。この結果は、報酬期待がモチベーションを高めることを示す。本結果は、情動の行動学的反応と同等であると考えられ、この結果と相関するニューロン活動を確認できれば、情動や、情動の基盤となる内受容反応と関連した反応であると推察できる。

③報酬期待と関連したニューロン反応:

2 頭のサルの島皮質から合計 170 個のニューロン活動を記録した。このうち 131 個について、課題と関係した活動が認められ、なかでも図 7 に示すようなタイプが多く認められた。このニューロンは、*cue* 条件では、1/1、2/2、3/3、4/4 の報酬試行でのみ反応していた。また、報酬が実際に与えられるタイミングより先行して反応が始まっていた。同じニューロンについて、*random* 条件でのニューロン反応を観察すると、すべての試行で同様の反応を示した。この反応は、さきに述べた行動レベルの結果とよく相関していた。



ランダム条件

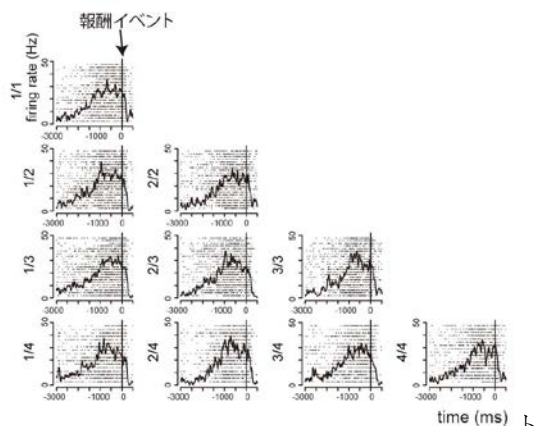


図 8 各解析窓内に反応していたニューロンの割合。横軸は報酬投与時点からの時間(ミリ秒)、縦軸は発火頻度、点はニューロンに活動電位が発生した瞬間を示す。

④ 全てのニューロンの活動のアンサンブル評価も、報酬期待と関連していた：次に、131 個全てのニューロン反応全体の傾向を解析した。

まず個々のニューロンに対して、試行開始から試行の終わりに向けて、100ms の解析窓を 25ms 単位で動かしながら、解析窓中の活動が統計的にみて有意に反応しているといえるかどうかを判定した。次に、反応しているニューロンが 131 個中何パーセントあったかをプロットした(図 8)。

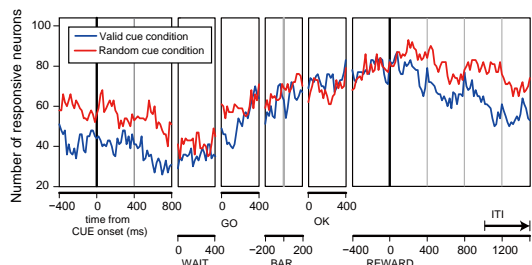


図 8 縦軸は、各解析窓内で、反応していたニューロンの割合。横軸は各タスクイベントからのミリ秒単位の時間。青線は cue 条件、赤線は random 条件での反応数。

Cue 条件でも random 条件でも、試行終了に向かって反応するニューロンの割合が増加し、試行終了後に漸減することがわかった。次に、これらのニューロン反応が報酬・無報酬に関する情報を担っているかどうかを検討した。報酬・無報酬試行間(すなわち、1/1、2/2、3/3、4/4 とそれ以外の試行との間で分散分析を行いニューロン活動に差が無いかを評価し、差があったニューロンの割合を求めた。さらにニューロン反応の因子寄与(variance explained)を計算した(図 9)。因子寄与とは、分散分析モデルに含まれる分散が、

全体の分散をどの程度説明可能かを示す割合である。解析窓の条件は同じにした。

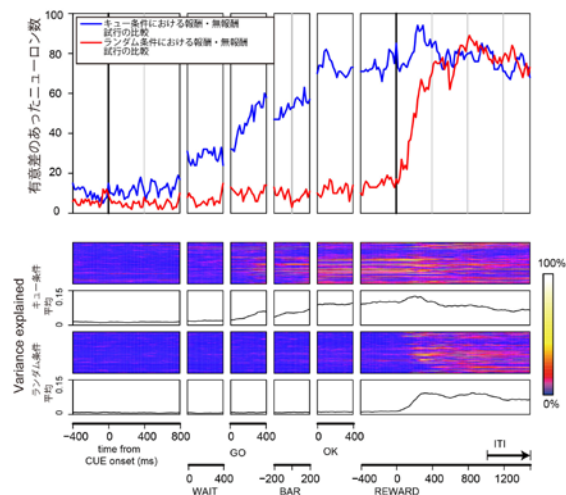


図 9 上段は報酬・無報酬間で差のあったニューロンの割合。左端が試行開始、右端が試行終了時点で相当。下段疑似カラー図は、131 個のニューロンすべての因子寄与。下段黒実線はその平均を表す。

Cue 条件では、報酬・無報酬試行間で反応に有意差のあるニューロン数が、試行終了時点に向かって増加していた。一方、random 条件では、報酬イベントの直前まではほとんど差を示すニューロンはなく、報酬イベント後に急速に増加し、cue 条件における反応ニューロン数と同等なレベルに至っている。これまで島は痛みや損失といった負の価値に反応するとされてきた。これらの結果は、島のニューロンの多くが、差し迫る報酬に反応していたことを示しており、島の多面的な性質を明らかにすることができた。

⑤ 総合的解釈

本実験結果は、島のニューロン活動が、報酬期待や、報酬期待によって誘発された情動反応や内受容と関係していることを示唆する。島が外的誘因の無い突発的な活動亢進を示すと、不測の事象の接近に対し内受容が応答しているものと誤帰属され、著しい不安を惹起、パニック障害に至ると考えられている(Paulus & Stein 2006)。本研究は、こうした疾病の病態生理に関わる基盤的事象を示すことができたと考えられる。一方、内受容の変化が行動を変化させるのではないかと、因果関係を逆転可能であるかどうかという問いについては、直接的な証明には至っておらず、今後研究を継続する予定である。

5. 本研究から得られた副次的な成果

(1) 光学的プレチスモグラムを原理とする「光学的聴診器」への応用可能性：

市販の動脈血酸素飽和度モニターは、装着部位が主に手指末端に限られ、時間分解能が100Hz程度と低い。手指の運動が要求されたり、精確な心拍数測定が必要となったりするような実験系での使用に耐えない。そこで本実験への導入を目標に、脈波測定装置を独自に開発した(図10)。

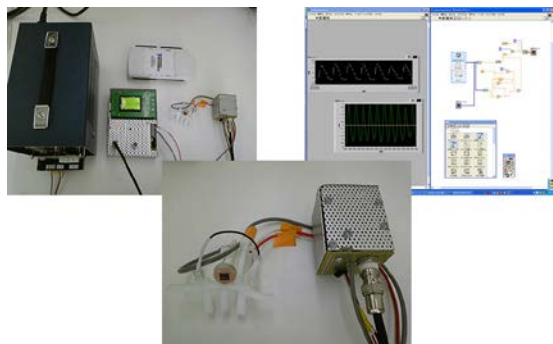


図10 左：全体像、中下：頭部の皮膚に装着するプローブ、右：脈波を記録するアプリケーション

高輝度近赤外LED(osram SFH4240 940nm)と高感度フォトダイオード(浜松ホトニクス S2386)をプローブに用いた。また低周波成分のドリフトを除去し、かつ拍動成分の位相遅延を伴わない演算回路を構成し、プローブを頭部に装着した状態で検出感度が最大になるようプローブ形状を最適化した。しかし頭頸部の筋肉に含まれるヘモグロビンやミオグロビンの影響量が当初想定より大きかったため、筋収縮に伴うアーチファクトが除去できず、本実験への使用は最終的に見送った。しかし、プローブ部分を適切な遮光系・光学系と組み合わせることで感度を高め、脈動成分の電位変化をFM変調して音声変換すれば、安静被検体の体表から、一般の聴診器では聴取不可能な深部臓器の拍動を検出できる、小型簡便な「光学的聴診器」への応用が可能であることもわかった。近赤外線を利用して生体情報を獲得することは、臨床現場や基礎研究において、動脈血酸素飽和度や近赤外分光測定の測定原理となっている。しかし、容量変化を計測して聴診不可能な深部の血流を計測するという上記のような利用方法については前例がない。本研究の当初の目的を外れた、思わぬ副次的成果が得られたわけが、この応用可能性について今後継続的に実証を試みる予定である。

(2) 心電図に含まれる雑音除去アルゴリズムの開発：

最終的には、オーソドックスな心電図を脈波測定に用いたが、課題遂行中の上肢の運動に伴う振幅の大きな筋電図の混入を免れ得なかった。そこでサンプリングレート 32kHzでデジタル記録した心電図から、雑音の除去

を行うアプリケーションを独自に開発した(図11)。記録の中から、雑音が重畳していない複数のQRS波を選び出して平均し、これを雑音のない波形のテンプレートとする。次に全体波形との畳み込みをおこない、相互相関係数が最も高い時点を心拍の発生時間とした。またQRS波のドロップアウトについては、ドロップアウトしていない前後区間を自動検出し、ルンゲ・クッタ法でドロップアウト区間のQRS波を補間した。これにより筋電図の影響をほぼ完全に除去することができた。この手法は、ウェーブレット解析を用いるよりも簡便高速で、周波数フィルタを用いるよりも除去率が高く位相ずれの問題が生じない。同種の基礎実験への応用が可能のほか、記録環境が劣悪な心電図や、電極インピーダンスが高いために雑音を免れられなかったホルター心電図のノイズ除去などにも、一部応用可能であると思われる。

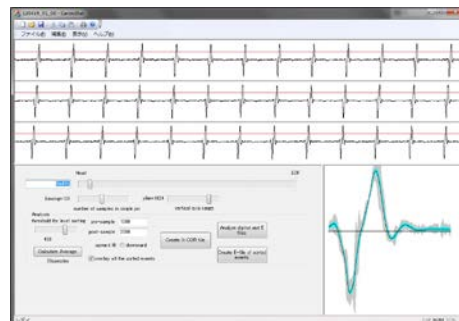


図11 心電図の雑音除去アプリケーション

(3) 細胞外記録された波形からニューロンの伝達物質を推定することはできない
細胞外記録されたニューロン活動の波形情報(波形の持続時間や平均発火頻度など)から、ニューロンに含まれる神経伝達物質の推定を試みることにした。このために、事前に別の実験系で縫線核から記録されたニューロン波形を用いて波形の分類を試み、本研究用の推定法を前もって確立することにした。従来、モノアミン系ニューロンは活動電位の持続時間が長く、それ以外のタイプは短いものが多いと言われてきた。しかし解析の結果、波形の持続時間の遷延に影響を与える要因は、計測装置の帯域制限がほとんどであり、Fourierの不確定性原理の影響を免れ得ないことが分かった。したがって、これまでの報告のうち、細胞外記録された波形について、その持続時間を根拠とした報告の多くが、人為的な要因の影響を受けたアーチファクトに基づくものである可能性が示唆された。本結果は、モノアミンニューロンの細胞外記録法を用いたこれまでの研究報告の正当性に疑義をなすものであり、深刻なインパクトをもたらす。この結果について啓蒙的な内容の

論文発表を行った。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計2件)

- (1) Encoding of reward expectation by monkey anterior insular neurons. Mizuhiki T, Richmond BJ, Shidara M. J Neurophysiol. 2012, 107(11), 2996-3007. doi: 10.1152/jn.00282.2011. (査読有り)
- (2) The influence of passband limitation on the waveform of extracellular action potential. Mizuhiki T, Inaba K, Setogawa T, Toda K, Ozaki S, Shidara M. Neurosci Res. 2012, 72(3), 214-220. doi:10.1016/j.neures.2011.12.004. (査読有り)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

水挽 貴至 (MIZUHIKI TAKASHI)

筑波大学・医学医療系・助教

研究者番号：60463824