

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 5 月 31 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2014～2017

課題番号：26702039

研究課題名(和文)報酬に基づく連合学習で獲得される注意の神経機構

研究課題名(英文)Neural mechanisms of salience acquired through reward-based associative learning

研究代表者

小川 正晃(OGAWA, Masaaki)

京都大学・医学研究科・講師

研究者番号：00716186

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 18,300,000円

研究成果の概要(和文)：従来、報酬と条件づけされた刺激の意味合いを学習する過程で獲得される注意に関する理論や行動の研究が進んできたが、その種の注意を担う神経機構の実体の解明は遅れている。本研究は、記録している細胞タイプを正確に同定しながら行う単一神経細胞電気活動記録法を用いて、中脳のドーパミン細胞の活動が、確実な報酬よりも不確実な報酬に対する注意を高める可能性があることを明らかにした。また、この注意を表象する前頭前野眼窩部が、刺激と報酬の有無の関係の逆転学習において、状況および秒単位のタイミング特異的な因果的役割を持つことを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Despite theoretical and behavioral advances of studies about salience of a cue acquired through associative learning between the cue and reward, the neural mechanisms underlying the salience remained elusive. We show that spiking activities of optogenetically-identified midbrain dopamine neurons may contribute to heighten the salience of a cue associated with uncertain reward. We also show that the orbitofrontal cortex causally contributes to reversal of stimulus-outcome associations in a context- and temporally specific manner.

研究分野：神経科学

キーワード：報酬 注意

1. 研究開始当初の背景

(1) 一般に「注意」とは何かを知らない人はいないが、学問上「注意」の定義は未だ曖昧である。特に、動物心理学の分野では、連合学習理論を背景に、報酬と条件づけされた刺激の意味合いなどの外界状況を学習する過程で獲得される注意(学習によって獲得される顕著性(サリエンス))に関する理論や行動の研究が進んできたが、その種の注意を担う神経機構の実体の解明は遅れている。

(2) 我々は、以前、ラットの前頭前野眼窩部 (Orbitofrontal cortex: OFC) の単一神経細胞が、条件刺激と報酬間の関係の学習度合いに依存して変化しうる、報酬情報に伴う注意の度合いを表象することを見出した(引用文献①)。具体的には、不確実な報酬と条件づけされた刺激 A 提示後に、確実な報酬と条件づけされた刺激 B 提示後よりも、ラットの行動が高まることを見出した。さらに OFC の大多数の単一神経細胞活動が、A の提示後のほうが、B の提示後よりも高いことを見出した。このことは、連合学習によって獲得できる注意に関する理論的モデル(引用文献②)で予測される現象と一致した。

① しかしこの結果は、学習が完了してからの神経活動についてであり、学習過程における神経機構は、依然として不明であった。

② OFC は主に報酬の予測に関わる領域であり、依然として、この種の注意を高めるために中心的に影響しうる神経活動基盤は不明であった。

③ この研究は OFC の発火活動が注意に相関することを見出したものであり、実際にその活動がどのように行動に影響を与えるのか、については、解明されていなかった。

(以上、雑誌論文③参考)

2. 研究の目的

(1) 刺激と報酬間の関係の連合学習の過程において獲得される注意を高めることに中心的に貢献すると予想される神経活動を明らかにする。

(2) 刺激と報酬間の関係の連合学習によって獲得される注意機能に対して、OFC の活動が果たす、因果的役割を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 刺激と報酬間の関係の連合学習の過程で獲得される注意の神経機構を調べるための行動課題の樹立

「学習によって獲得される注意」は適切な行動課題を用いなければ「報酬価値」と分離することが困難である。我々が以前の論文(引用文献①)で用いた行動課題は、そのような分離を可能にしたが、ラットは自由に行動しており、体動を厳密に統制することが困難であった。また、注意を獲得する過程の神経活動を計測するのが困難であった。そこで、

その基礎となる知見を参考に、新たに、頭部固定のラットが、条件刺激提示後に、報酬提示口と一体となったレバーを前肢で操作して、確率的報酬を得る新規行動課題を立ち上げる。

(2) 刺激と報酬間の関係の連合学習の過程で獲得される注意の神経活動計測

上記で確立する行動課題を遂行中のラットから、この種の注意を形成するために中心的に影響しうると予想される領域の電気活動を計測する。具体的には、従来は、実際に受け取った報酬と、過去の学習から予測される報酬の差(予測誤差)に正相関して活動し、さらにその予測誤差に基づく学習を因果的にも促進することが知られている中脳のドーパミン神経細胞に焦点を絞り、その活動を計測する。

文字通り「中脳ドーパミン細胞の活動を計測する」には、ドーパミン細胞から計測していることを、遺伝学的手法を用いて確かめながら、記録する必要がある。

そのために第一に、従来法と同様にまずは行動中の動物から、電極によってドーパミン細胞と推定される細胞から単一神経発火活動を生理学的に記録する。終了後、あらかじめドーパミン細胞特異的に発現させておいた青色光反応性オプシンのチャンネルロドプシンの青色光照射への反応性によって、ドーパミン細胞を同定する。

第二に、ドーパミン細胞特異的に、遺伝学的カルシウムインディケーター (GCaMP) を発現し、中脳領域に光ファイバーを挿入して微弱な青色光を照射し、それによって行動中動物のドーパミン細胞内カルシウム濃度変化を計測する。

(3) 刺激と報酬間の関係の連合学習によって獲得される注意機能に対して、OFC の因果的役割を明らかにするための手法の開発と応用

上記の課題における OFC の役割を知るには、まず OFC が、刺激と報酬の間の連合学習の様々な異なる状況の、どの状況において、どのようなタイミングで重要なのかを知る必要がある。そこで、OFC の神経細胞活動を、ミリ秒単位の時間精度で可逆的に抑制できる光遺伝学を導入する。

具体的には、申請者らが開発した赤色光反応性のオプシン Jaws (雑誌論文①) をウイルスベクターを用いて OFC の神経細胞に発現し、刺激と報酬の間の関係が逆転する逆転学習課題における様々な状況において赤色光を OFC に導入してその活動を抑制し、行動への影響を検討する。

4. 研究成果

(1) 頭部固定のラットが、条件刺激提示後に、報酬提示口と一体となったレバーを前肢で操作して、確率的報酬を得る新規行動課題

を立ち上げた。

具体的には、3つの異なる匂い刺激を提示したあと、一定の間隔の後に、ラットがレバーを口元に引き、各々の匂いに条件づけされた報酬確率に応じて、報酬が提示されるようにした。各々の匂いを、100、50、0%の報酬確率と条件づけした。

すると、ラットは、数日の後に、まず0%に対する反応行動を遅らせるようになった。その後さらに、個体差はあるものの一部のラットにおいて、刺激と報酬の間の関係を学習するにつれて、50%報酬と条件づけされた匂い刺激提示後に、100%報酬と条件づけされた匂い刺激後よりも、早くレバー引きをする個体が現れた。

(2) 上記で確立した行動課題を遂行中のラットから、この種の注意を高めるために中心的な役割を持つと予想される中脳のドーパミン神経細胞から、遺伝学的に同定した上で、単一神経細胞レベルの電気活動記録を行った。

具体的には、まず、遺伝子組換えラットとウイルスベクターとの組み合わせにより、ラットの中脳ドーパミン細胞特異的に、チャンネルロドプシンを発現させた。組織学的に、ドーパミン細胞のマーカーとチャンネルロドプシンの発現が一致することを確認した。行動課題中にドーパミン細胞と推定される神経電気活動を計測し、終了後に、青色光照射に対する反応性を検討して、ドーパミン細胞であることを、証明できた。

すると、従来の研究で明らかになっていた報酬予測誤差に正相関して発火活動を増減する細胞に加えて、新たに、逆向きに活動を増減する細胞を見出した。過去のドーパミン細胞の重要性を示した研究を鑑みると、この活動は、確実な報酬よりも不確実な報酬に対して、より高い注意を向けるために中心的な役割を持つ可能性がある。

このようなドーパミン細胞活動の例は過去に報告されておらず、国際的にもインパクトは大きい。すでに複数のラットから複数の活動を見出し、今後、記録する細胞数を増やして結果を確定させる。また、今後は、この活動が次の試行の行動に対して、どのような因果的役割を持つのかについて、光遺伝学法を用いて検討する。

また、別の個体において、行動中のドーパミン細胞内カルシウム濃度変化を計測する実験系を確立した。今後は、行動課題中動物の細胞集団の活動を計測する。

(3) 刺激と報酬の有無の間の関係が逆転する、逆転学習課題におけるOFCの状況特異的な役割を解明した。

まず、赤色光反応性のオプシン Jaws をマウスのOFCに発現し、異なる2つの刺激と報酬有無の各々を2週間程度条件づけした。次の日に、その関係を逆転した。以前は報酬と

条件づけされた刺激提示後に、報酬が提示されないことをマウスが認識していると推定される秒単位の時間特異的に、OFCに赤色光を照射して、活動を抑制したところ、その刺激に対する反応行動の低下が、統制群と比較して有意に遅れた。さらに、次の、これまで無報酬と条件づけされていて報酬があたえられるようになった刺激後の反応に対する予測行動の上昇が、OFC抑制群で、統制群に比べて有意に遅れた(投稿準備中)。

従来の研究で、秒単位の状況特異的なOFCの役割は示されておらず、国際的にもインパクトは大きい。

今後は、ラットのOFCを光遺伝学的に抑制することによる行動への影響について検討する。すでにラットOFCにJawsを発現させる条件検討を行った。

<引用文献>

① Ogawa M, van der Meer M, Esber G, Cerri D, Stalnaker TA, Schoenbaum G. Risk-responsive orbitofrontal neurons track acquired salience. (2013) *Neuron*, 77: 251-258. (査読有り)

② Esber GR, Haselgrove M. Reconciling the influence of predictiveness and uncertainty on stimulus salience: a model of attention in associative learning. (2011) *Proc Biol Sci*. 2011 278:2553-61. (査読有り)

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)

[雑誌論文] (計 3 件)

研究代表者には下線。責任著者の冒頭に*

① Chuong A, ... , Ogawa M (11 番目), ... , *Boyden E. (19 名省略) Noninvasive optical inhibition with a red-shifted microbial rhodopsin. (2014) *Nature Neuroscience*, 17 (8): 1123-1129. doi:10.1038/nn.3752 (査読有り)

② *Ishino S, Takahashi S, *Ogawa M, Sakurai Y. Hippocampal-prefrontal theta phase synchrony in planning of multi-step actions based on memory retrieval. (2017) *European Journal of Neuroscience*, 45 (10): 1313-1324. doi: 10.1111/ejn.13547 (査読有り)

③ *小川正晃 過去の学習記憶を未来の適応行動に活かす神経機構 (2017)、*BRAIN and NERVE*、69 (11): 1241-1250. <https://doi.org/10.11477/mf.1416200901> (査読無し)

[学会発表] (計 14件)

- ① Ogawa M. How might your brain become interested in uncertain rewards? (2014) NIPS-KU/YU symposium
- ② 小川正晃、報酬に基づく連合学習における眼窩前頭皮質の役割 (2015)、大阪市立大学医学部生理学講座セミナー
- ③ 小川正晃、意思決定における眼窩前頭皮質の役割 (2015)、第22回日本行動医学学会学術総会
- ④ 小川正晃、報酬学習における眼窩前頭皮質の因果的役割 (2016)、第5回大脳基底核機能研究会
- ⑤ 鬼丸洋、池田啓子、小川正晃、伊原寛一郎、小林和人、川上潔: Phox2b 遺伝子の発現制御領域下にアーキロドプシンを発現させたトランスジェニックラットにおける延髄呼吸中枢の神経回路の解析 (2016)、第93回日本生理学会大会
- ⑥ 小川正晃、伊佐正: 逆転学習における時間特異的な眼窩前頭皮質の因果的役割 (2016) 第39回日本神経科学大会
- ⑦ Ogawa M. How will you (and I) be able to do “original” work in neuroscience? (2016) 第3回京都大学大学院神経科学教育コース
- ⑧ 小川正晃、条件刺激-報酬間関係情報のアップデートにおける眼窩前頭皮質の因果的役割 (2016)、第109回近畿生理学談話会
- ⑨ Onimaru H, Ikeda K, Ogawa M, Ihara KI, Kobayashi K, Kawakami K. Optogenetic analysis of neuronal network of medullary respiratory center in brainstem-spinal cord preparations from transgenic newborn rats expressing Archaelhodopsin in Phox2b positive cells. (2016) NEUROSCIENCE 2016
- ⑩ Ogawa M、The causal role of the orbitofrontal cortex in updating stimulus-outcome relationships. (2016)、第40回神経科学大会
- ⑪ 小川正晃、条件刺激-報酬間関係のアップデートにおける前頭前野眼窩部 (orbitofrontal cortex) の因果的役割 (2017)、生理学研究所部門公開セミナー
- ⑫ 小川正晃、条件刺激-報酬間関係のアッ

プデートにおける前頭前野眼窩部の因果的役割 (2017)、京都大学 精神科 + Psych Kyoto 合同勉強会

- ⑬ 小川正晃、伊佐正: 条件刺激-報酬間関係のアップデートにおける前頭前野眼窩部の因果的役割 (2017)、第39回日本生物学的精神医学会・第47回日本神経精神薬理学会合同年会
- ⑭ Ogawa M、The causal role of the orbitofrontal cortex in updating stimulus-outcome relationships. (2018)、第95回日本生理学会大会

[図書] (計 0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0件)

○取得状況 (計 0件)

[その他]

ホームページ等

http://researchmap.jp/masaakiogawa_read/

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小川 正晃 (OGAWA, Masaaki)
京都大学・医学研究科・講師
研究者番号: 00716186

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

石野 誠也 (ISHINO, Seiya)
京都大学・医学研究科・研究員