

令和元年5月20日現在

機関番号：32682

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K00380

研究課題名(和文)嗜好性を支える神経回路とその動作特性の解明

研究課題名(英文)The neural network and its dynamics concerning with preference behavior

研究代表者

梶原 利一 (Kajiwara, Riichi)

明治大学・理工学部・専任准教授

研究者番号：60356772

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、嗜好性を生じさせている神経回路を同定し、その動作メカニズム解明の基となる知見を得ることを目的とした。その為に、聴覚系嗜好性行動実験パラダイムを開発し、ラット・マウスを用いた行動解析を行なった。音源のパラメータとして、旋律、音色、テンポの差異に着目し、ラットの音弁別能力と嗜好性行動解析を遂行した。その結果、(1)ラットは呈示音の旋律が同様であっても、ピアノ、バイオリン、ベルなどのように異なる音色で構成された音源であれば、弁別が可能であること、(2)個体によって、ベル音よりも、ピアノやバイオリン音源を好む行動を示すこと、が判明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

感性情報学の分野では、主観的な情緒や嗜好により生み出される指標を、客観的・生物学的に捉えようとする問題は、極めて感心の高いテーマである。得られた知見は、なぜ我々が普段聞く曲に好き・嫌いがあるのか、和音・不協和音に心地よさの違いがあるのかといった、聴覚系嗜好性の問題を解く手がかりを与える。嗜好性の評価と制御に関する研究がさらに進めば、多くの人々が好む商品開発といった経済活動への波及効果も期待される。さらに、嗜好性行動への関与が疑われる前頭眼窩皮質は、他人の心の理解や、社会性、モラル、などに関与するため、これらの高次機能の障害についての原因を探るという点においても意義が見出せる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：We aimed to identify the neural circuit, which elicited the preference behavior in rodents and to obtain findings which contribute to the understanding of its dynamics. Therefore, we designed the alternative selection task by using modified M-shaped-maze (70cm x 40cm x 45cm) to test the discrimination ability and the preference for different sound stimuli in rats and mice. Notably, we analyzed the behavior by focusing on the difference of acoustic stimulus in melody, tone, and tempo. As a result, 1) the rats could discriminate the type (timbre) of sound stimuli such as the difference among piano, violin, and bell, 2) specific animals exhibit preference behavior in which they chose the sound played by piano or violin more than the bell. Microinjection of muscimol (an agonist of GABAA receptor) during the behavioral experiment performed in the maze suggested that the orbitofrontal cortex and nucleus accumbens might contribute to the alternative selection behavior.

研究分野：神経科学

キーワード：選択行動解析 条件付け 聴覚嗜好性 膜電位イメージング

1. 研究開始当初の背景

絵画や音楽にふれて「美しい」などの感情を抱くとき、私たちの脳ではどのような情報処理がなされているのであろうか？嗜好性脳機能に関する先行研究としては、Zeki ラボの機能的MRI法を用いたヒトの認知行動科学実験の結果がよく知られ、絵画や音楽を美しいと感じた時に前頭眼窩皮質が賦活することが示されている(J Neurophysiol 2004, PlosOne 2011)。このような、生存のために必ずしも必要ではない感覚入力(中性刺激)に対する「嗜好性」は、サルが好きな幾何学模様を選択したときの前頭眼窩野の神経応答を記録する実験でも確かめられている(2015)。その一方で、げっ歯類では、好みのニオイの選択行動に対する前頭皮質ニューロンの活動の関与が報告されているものの(Brain Nerve 2015)、ヒトやサルの例ほどの研究知見は得られていない。

2. 研究の目的

私たちの個性の表れともいえる「嗜好性」の脳回路を探るにはげっ歯類の系での詳細なニューロン応答解析が必要と考え、(1)ラット・マウスの聴覚系嗜好性行動実験パラダイム構築し、げっ歯類の系で、聴覚嗜好性の解析が可能か否かを調査することを目的とした。その上で(2)動物が嗜好性に基づく選択行動を生み出す際に、視床、聴覚野、前頭眼窩皮質、側坐核などのうち、どの脳部位が関与するのかを同定するため、神経薬理行動解析を行なうこととした。最終的には、視床、聴覚野、前頭眼窩皮質の脳部位が、情動中枢(扁桃体)や嗅覚系回路どのように協調動作しているのかを神経生理学的な手法により明らかにしたい。そこで、(3)膜電位イメージング計測法、電気生理学的手法の実験系の導入と関連脳部位の機能解析も目指した。

3. 研究の方法

脳への中性的な感覚入力に対する嗜好性に関する報告は、前頭眼窩皮質を中心に散見されている。前頭眼窩皮質は、情動の価値判断や意思決定などの観点からも、動物種を超えて重要視されている脳部位であるが(Wallis Nat Neurosci 2012)、強い神経連絡を有する感覚野、視床、扁桃体、などとの機能結合についての研究は十分に進んでいない。今回、げっ歯類を対象にして、嗜好性を抽出する行動実験系を新たに構築し、嗜好性行動との関連性が疑われる眼窩前頭皮質、および、脳内報酬系の主要部位である側坐核に着目した解析を行なった。

(1) 行動実験系の構築: 実験装置を、図1に示した。二者択一式迷路として、コの字型の実験装置(70cm x 40cm x 45cm)の中央に外部取り付け型ノーズポークを設置し(M字型迷路)、その先端に通過センサ(fx-501|Panasonic(株))及びLEDを取り付け、ノーズポークに侵入したラットを検出するように設置した。また、飲み口設置用穴は、全てのマウス-ラットに最適な高さに設置した。(底面から55~85mm)。飲み口の上端にはスピーカ(P650K|フォスター電機(株))を設置し、刺激提示の際は音が真下に届くようスピーカーを上から覆う形をとった。さらに、カメラ3台を実験装置の上部から全ての範囲を可視できるように設置し、2値化を行なうことによってラットの滞り場所をカメラで検出可能にした。強化子には3%スクロース水(1回60μL)を用い、電磁弁(JTV-2)によって報酬量が一定になるように制御を行なった。実験時の滞り場所、刺激提示、報酬提示、通過センサの制御などはパーソナルコンピュータ(dynabook AZ85/UG| (株)TOSHIBA)により制御した。ラットの位置情報の計測ならびに、位置情報から機器を動作させるため、3機のデジタルビデオカメラ(logicool, C270)を設置し、ビデオトラッキングシステムを構築した。ソフトウェアはLabVIEW上で構築した。

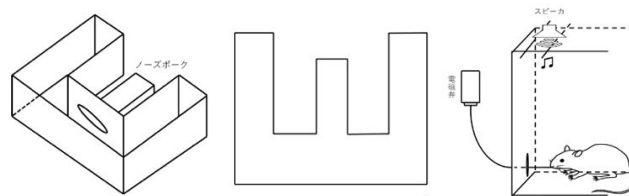


図1 実験系の全体図

(2) 行動実験

行動実験の概要を、図3(A)(B)(C)に示した。(A)は、報酬により動物にテスト音全てを記憶させるための実験である。中央レーンへの侵入を検出して、スクロース水報酬とテスト音を左もしくは右に提示し、提示音を学習させた。全てのテスト音を覚えさせた後、(B)のように、左右いずれかのエリアに一定時間(最短12秒)以上滞在した場合のみ報酬を与える実験を行い、滞在時間が長かったエリアの音について嗜好性が高いと判定した。(C)は、報酬を与えずに、嗜好性を検証する実験である。数種類の音刺激を左右同時に鳴らした状態での動物の行動パターンを、報酬なし条件下で確認した。(C)では、実験動物として、ラットのみならずマウスも使用した。

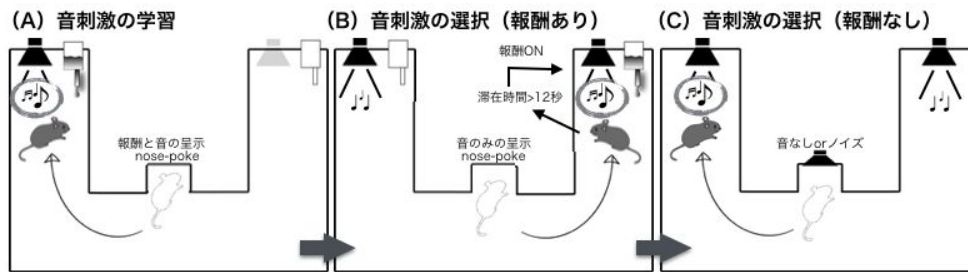


図2 行動実験の概要

(3) 薬理学および生理学的解析

神経活動を GABA 受容体アゴニスト(蛍光ムシモル)の局所注入によって薬理的に抑制する実験から、音の選択行動に関与する脳部位の同定を試みた。音の選択行動への関与が示唆される脳部位として、眼窩前頭皮質、側坐核、に着目した。ガイドカニューレ(Plustic One 社製)を慢性的に埋め込み、薬液のインジェクションの効果を、同一個体で、繰り返し調べた。

また、音の記憶に関連する嗅周囲皮質を中心とした皮質神経回路スライスの神経興奮伝播パターンを解析しつつ、膜電位イメージングの実験系を新たに構築した。

4. 研究成果

(1) 周波数成分が顕著に異なる音源(ノイズ音源とクラシック音源)を用いて嗜好性行動解析を行なった。ラットの場合、いずれの呈示音に対しても忌避反応を示さず、音源呈示側の通路を選択する学習行動が確認できた。その後、複数の音源を対呈示することで、いずれの音源をラットが最も好むのかを調べ、嗜好性の有無を検討した。その結果、ラットでは、白色ノイズのみを一方のレーンで呈示した場合、報酬を得るための待機行動を取るが、異なる音源(クラシック音源)を同時に別レーンで呈示した場合は、クラシック音源を好む行動を示すことが判明した(図3)。

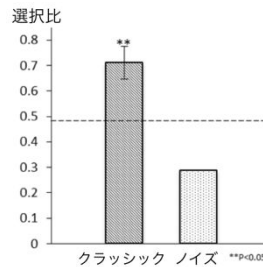


図3 異種音源の選択率(ラットの例)

(2) マウスについても、同様の検討を行なったが、音や報酬とは無関係の探索行動が長時間続き、ラットのような選択行動パターンを抽出することはできなかった。そこで、改編型Y迷路を構築した。この改編型Y迷路は、マウスが開始地点から一方のポートを選択すると、選択したポートに滞在しつづけるか、逆戻りせずに別の通路を経由して開始地点に戻るしかできない仕様となっており、引き続き生じる選択行動を、長時間にわたって簡便に観察可能になった。しかしながら、音の呈示方法など、改良のための課題も見出された。

(3) 上述のM型迷路実験系を用いて、二つの音源種が呈示されるどちらのレーンを選択するかを、報酬なし条件下で調べた。その結果、マウスではいずれのレーンもほぼ同じ確率で選択すること(嗜好性なし)、その一方で、ラットは白色ノイズ側レーンを避ける傾向があること(嗜好性あり)が確かめられた。

(4) 音源のパラメータとして、旋律、音色、テンポの差異に着目し、ラットの音弁別能力と嗜好性行動解析を行なった。なお、様々な呈示音源は、ラットの可聴域を考慮して、CuBASEソフトウェアにより作成した。その結果、ラットは呈示音の旋律が同様であっても、ピアノ、バイオリン、ベルなどのように異なる音色で構成された音源であれば、弁別が可能であることが判明した。弁別能力の確かめられた異なる音色の嗜好性行動について調査した結果、個体によっては、ベル音よりも、ピアノやバイオリン音源を好む行動パターンを示すことが判明した。

(5) GABA 受容体アゴニスト(蛍光ムシモル)の局所注入により、上述の実験で観察された行動へ関与する脳部位の同定を試みた。ガイドカニューレ(Plustic One 社製)を慢性的に埋め込み、薬液のインジェクションの効果を、同一個体で、繰り返し解析可能にした。嗜好性に関与

する部位を明確に同定するまでには至らなかったが、眼窩前頭皮質、嗅結節、側坐核へのムシモル投与が、学習した音への選択行動パターンに大きな影響を及ぼすことが示唆された。

(6) 神経機能解析を行なうための、電気生理実験系および膜電位イメージング系を構築した。脳スライスの実験系では、聴覚情報の認知に關与する嗅周囲皮質において、神経回路レベルでの可塑性現象が見出された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 5 件)

- (1) [Kajiwara R](#), Tominaga Y, Tominaga T (2019) Network plasticity involved in the spread of neural activity within the rhinal cortices as revealed by voltage-sensitive dye imaging in mouse brain slices. *Front Cell Neurosci* (査読有) DOI: 10.3389/fncel.2019.00020
- (2) Sato T, [Kajiwara R](#), Takashima I, Iijima T (2018) Wavelet correlation analysis for quantifying similarities and real-time estimates of information encoded or decoded in single-trial oscillatory brain wave. *InTechOpen* (査読有) DOI: 10.5772/intechopen.74810
- (3) Negishi S, Kamada S, [Kajiwara R](#), Kaneko Y, Dong Hyun Y, Sekiguchi T, Shoji S and Kudo H (2017) Development of an *ex vivo* brain lactic acid monitoring system. *IEEJ Transactions on Sensor and Micromachines* **137(1)**, 38-43 (査読有) DOI:10.1541/ieejsmas.137.38
- (4) Sato T, [Kajiwara R](#), Takashima I, Iijima T. (2016) A novel method for quantifying similarities between oscillatory neural responses in wavelet time-frequency power profiles. *Brain Res* **1636**, 107-117 (査読有) DOI:10.1016/j.brainres.2016.01.054
- (5) Kunori N, [Kajiwara R](#), Takashima I. (2016) The ventral tegmental area modulates intracortical microstimulation (ICMS)-evoked M1 activity in a time-dependent manner. *Neurosci Lett* **616**, 38-42 (査読有) DOI: 10.1523/JNEUROSCI.5286-13.2014

〔学会発表〕(計 24 件)

- (1) 兵藤道大、長坂和明、山田悠太、岩崎智洋、高島一郎、[梶原利一](#) (2019) 慢性疼痛を生み出す大脳皮質神経回路の膜電位イメージング解析 2019年3月8日 第14回日本感性工学会春季大会
- (2) [梶原利一](#)，富永貴志 (2019) “広視野膜電位イメージング法から見てきた海馬周辺皮質の神経回路動態と可塑性現象” 第24回日本生体医工学会・専門別研究会～実社会におけるマルチモーダル脳情報応用技術研究会～，2019年1月21日，東京 (招待講演)
- (3) Yuza J, Okubo M, Komura Y, [Kajiwara R](#) (2018) Contribution of nucleus accumbens to impulsive choice behavior based on the last reward experience. *2018AbstractViewer/Itinerary Planner. Washington DC Soc for Neurosci*: ProgramNo.690.14. 2018年11月7日 Society for Neuroscience
- (4) Firdaus bin Zailuddin MI, Kamada S, Tojyo Y, Takashima I, Kudo H, [Kajiwara R](#) (2018) Real-time electrochemical monitoring of lactic-acid released from an *in vitro* mouse brain slice preparation. *2018AbstractViewer/Itinerary Planner. Washington DC Soc for Neurosci*: ProgramNo.126.01. 2018年11月4日 Society for Neuroscience
- (5) Seki A, Yuza J, Iwasaki T, [Kajiwara R](#) (2018) Sound discrimination analysis in rats using an alternative maze task. *Proc of Life Eng Symp 2018*, 103-106. 2018年9月11日 計測自動制御学会
- (6) Yamada Y, Hyodo M, Izzat M, Tominaga T, [Kajiwara R](#) (2018) Development of Voltage-sensitive dye imaging system using an industrial grade CMOS camera. *Proc of Life Eng Symp 2018*, 8-13. 2018年9月10日 計測自動制御学会
- (7) [Kajiwara R](#) (2018) Limbic network dynamics analyzed by wide-field *ex vivo* VSD imaging. *Life Engineering Symposium (LE2018)* 2018年9月11日 計測自動制御学会 (招待講演)
- (8) Wakayama Y, Yamada Y, Tominaga Y, Tominaga T, and [Kajiwara R](#) (2018) “Analysis of Local GABAergic inhibitory system in Perihinal Cortex Using Voltage-Sensitive Dye Signal in Mice brain Slices.” Program No. 2P-076. *JNS Meeting Planner. Kobe: Japan Neuroscience Society, 2018. Online*. 第41回日本神経科学学会
- (9) Yuza J, Okubo M, Komura Y, and [Kajiwara R](#) (2018) “Behavioral Analysis of Tolerance to Delayed Reward in Rats Using Two-choice Maze” Program No. 2P-281. *JNS Meeting Planner. Kobe: Japan Neuroscience Society, 2018. Online*. 第41回日本神経科学学会
- (10) Yuza J, Okubo M, Komura Y, [Kajiwara R](#) (2018) The role of nucleus accumbens for tolerance to delayed reward using two-choice maze in rats. *FENS forum 2018 Abstract 4017*. 2018年7月10日 Federation of European Neuroscience Societies

- (11) Kajiwara R (2017) “Network properties of limbic neurons revealed by voltage-sensitive dye imaging.” *The 8th International Conference on Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics (ICBBB 2018)*, Tokyo, Japan. 2018年1月19日 (招待講演)
- (12) Firdaus bin Zailuddin MI, Kamada S, Tojyo Y, Takashima I, Kudo H, and Kajiwara R (2017) “Continuous quantitative measurement of lactic-acid released from an in vitro mouse brain slice using electrochemical biosensor” *The 8th International Conference on Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics (ICBBB 2018)*, Tokyo, Japan 2018年1月19日
- (13) Yuza J, Seki A, Okamoto K, Komura Y, Kajiwara R (2017) Experimental system for investigating the impulsive-control behavior in delayed reward task of rats. *Proc of Life Eng Symp 2017*, 41-43. 2017年9月5日 計測自動制御学会
- (14) Sato I, Kiyosue K, Kajiwara R, Doi M (2017) Generation of a red-wavelength shifted voltage-sensitive fluorescence protein for dynamics analysis. *2017AbstractViewer/Itinerary Planner.Washington DC Soc for Neurosci* :ProgramNo.812.12. 2017年11月15日 Society for Neuroscience
- (15) Kamada S, Negishi S, Takashima I, Kudo H, Kajiwara R (2017) Real time monitoring system for lactic acid released from *ex vivo* preparations. *2017AbstractViewer/Itinerary Planner.Washington DC Soc for Neurosci* :ProgramNo.597.04. 2017年11月14日 Society for Neuroscience
- (16) Okamoto K, Fujimoto K, Komura Y, Kajiwara R (2017) Experimental Design for Investigating the Acoustic Preference in Rats. *2017AbstractViewer/Itinerary Planner.Washington DC Soc for Neurosci* :ProgramNo. 587.03. 2017年11月14日 Society for Neuroscience
- (17) Wakayama Y, Kamada S, Yamada Y, Tominaga T, Kajiwara R (2017) Voltage-sensitive dye signal analysis of inhibitory components in mouse perirhinal-entorhinal cortical slices. *2017AbstractViewer/Itinerary Planner.Washington DC Soc for Neurosci* :ProgramNo.378.05. 2017年11月13日 Society for Neuroscience
- (18) Wakayama Y, Kamada S, Yamada Y, Tominaga T, and Kajiwara R (2017) “Layer Distribution Analysis of Inhibitory and Excitatory Activity Components in Perirhinal Cortex Using Voltage-Sensitive Dye Imaging” *Program No. 2P-215, JNS Meeting Planner*. Makuhari: Japan Neuroscience Society, 2017. Online 第40回日本神経科学学会
- (19) Kajiwara R, Wakayama Y, Tominaga Y, and Tominaga T (2017) “Voltage-sensitive dye imaging of the network plasticity facilitating the neural excitation propagation in mouse rhinal cortices” *Program No. 2P-216, JNS Meeting Planner*. Makuhari: Japan Neuroscience Society, 2017. Online 第40回日本神経科学学会
- (20) Sato I, Kiyosue K, Kajiwara R, and Doi M (2017) “Generation of a red-wavelength shifted voltage-sensitive fluorescence protein for neuronal dynamics analysis” *Program No. 3P-367, JNS Meeting Planner*. Makuhari: Japan Neuroscience Society, 2017. Online. 第40回日本神経科学学会
- (21) Kajiwara R, Wakayama Y, Tominaga Y, Tominaga T (2016) Network plasticity facilitating the neural excitation propagation between the perirhinal and entorhinal cortices as revealed by voltage-sensitive dye imaging. *2016AbstractViewer/Itinerary Planner.Washington DC Soc for Neurosci* :ProgramNo.302.14. 2016年11月14日 Society for Neuroscience
- (22) Wakayama Y, Kamada S, Hyodo M, Tominaga T, Kajiwara R (2016) Voltage-sensitive dye imaging of the neuronal propagation between the perirhinal and entorhinal cortices in mice brain slices. *Proc of Life Eng Symp 2016*, 203-206. 2016年11月5日 計測自動制御学会
- (23) Kamada S, Negishi S, Kudo H, Takashima I, Kajiwara R (2016) Continuous lactic acid monitoring system for various *ex vivo* block preparations. *Proc of Life Eng Symp 2016*, 244-246. 2016年11月5日 計測自動制御学会
- (24) Okamoto K, Komura Y, Kajiwara R (2016) Experimental design for investigating the music preference in rats. *Proc of Life Eng Symp 2016*, 6-8. 2016年11月3日 計測自動制御学会

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：富永貴志

ローマ字氏名：Takashi Tominaga

所属研究機関名：徳島文理大学

部局名：神経科学研究所

職名：教授

研究者番号（8桁）：20344046

(2)研究協力者

研究協力者氏名：小村豊

ローマ字氏名：Yutaka Komura

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。