

令和 2 年 6 月 10 日現在

機関番号：32203

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K10256

研究課題名(和文) 依存・嗜癮に関わる意思決定を制御する神経科学的基盤の解明

研究課題名(英文) An analysis of the neural basis of risky choice in the rat gambling task.

研究代表者

甲斐 信行 (Kai, Nobuyuki)

獨協医科大学・医学部・助教

研究者番号：50301750

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：報告者は、高リスクな目先の利益を優先する近視眼的な意思決定を好んで行うラットの薬物依存に対する脆弱性を調べるため、ラットの意思決定プロセスを評価する行動実験系を新たに開発した。さらにこの系を用いて、薬物依存に関わると考えられる腹側淡蒼球(VP)の活性化が意思決定に及ぼす影響を調べた。VPの神経細胞の非特異的な活性化は意思決定に影響を与えず、その原因としてVPで活性化される神経細胞の種類の違いにより効果が相殺されて行動が変化しなかった可能性が考えられた。一方、この系を用いた岡山理科大学、杏林大学との共同研究の予備実験で、特定の食品成分が近視眼的な意思決定を抑える働きを持つ可能性を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

依存症の「やめようとしてもやめられない」病態は、依存や嗜癮の本質が意思決定の異常であることを示唆する。しかし意思決定の異常が依存や嗜癮を誘発する仕組みは解明されていない。報告者はこの問題に取り組むため、ヒトの意思決定プロセスの障害の評価法であるアイオウ・ギャンプリング課題を応用した新たな行動実験系をラットを用いて開発した。この実験系を用いることで、特定の実験操作により生じた食餌性の報酬呈示に関わる近視眼的な意思決定の選好と、薬物依存や行動嗜癮に対する脆弱性との間の因果関係の有無を検討することができ、依存や嗜癮の形成メカニズムに関する理解が進むことが期待される。

研究成果の概要(英文)：To study vulnerability to drug addiction in rats that prefer larger/riskier rewards, I developed a new behavioral task that assesses action selection during probabilistic decision making of rats. Using this task, I investigated effects of optogenetic activation of the ventral pallidum (VP) neurons, which is thought to play an important role in drug addiction, on the probabilistic decision making. Nonspecific activations of VP neurons did not disrupt the decision making. This result suggests that the different neural types in the VP may act on opposite roles in the decision making process, and whole activation of the VP canceled effects of these different neuronal type. In parallel, I have started a cooperative research with Okayama University of Science and Kyorin University to explore effects of the food-derived compound on the decision making. A preliminary result using the probabilistic decision making task displays evidence that the compound attenuate risky decision making.

研究分野：行動神経科学

キーワード：ラット 行動実験 意思決定 ギャンプリング課題 腹側淡蒼球 オプトジェネティクス 依存 嗜癮

1. 研究開始当初の背景

依存症の中核的特徴である「やめようとしてもやめられない」状態は、薬物等の物質に対する依存や、ギャンブル等の行為に対する嗜癖のどちらにも共通して認められる。このことは、依存や嗜癖行動の生起メカニズムの根底に、行動選択の意思決定に関わる異常が存在することを示唆している。しかし、意思決定のメカニズムにどのような異常が生じると依存や嗜癖行動が誘発されるのかを機能的に調べた研究は無く、意思決定の異常が依存や嗜癖行動を誘発させる脳内機構についてはほとんど知られていない。報告者はこの問題に取り組むため、報酬性の意思決定プロセスに異常が認められる実験動物を作成して、その動物の薬物依存に対する脆弱性を調べる研究を着想した。さらに、意思決定プロセスの評価に用いる行動実験課題として、高リスクで高報酬な目先の利益と低リスクで低報酬な長期的利益のどちらを選択するかを決める意思決定課題であるギャンプリング課題に着目した。そして特定の実験操作によりこの課題で目先の利益を優先する近視眼的意思決定の度合いが強められた動物が、その後の薬物依存性テストにおける依存の起こしやすさ(脆弱性)にどのような変化を示すかを調べる研究を考案した。

これまでの知見から、眼窩前頭皮質や島皮質、扁桃体基底外側核の神経活動がギャンプリング課題における意思決定に影響を及ぼすことが分かっている。また、神経伝達物質のドーパミン(DA)は、報酬獲得行動や薬物依存性に関わっており、ギャンプリング課題におけるリスク選好性にも影響を及ぼすことが知られている。これらの前頭前野皮質や大脳辺縁系との間に神経線維連絡を持ち、DA神経の投射を受ける部位として、大脳皮質底部に存在する側坐核と腹側淡蒼球がある。これらの部位はいずれも、報酬効果の生成に関わる神経回路の一部として働き、意思決定や行動選択の他に、依存や嗜癖に関連した行動に関わることが知られている(図1)。

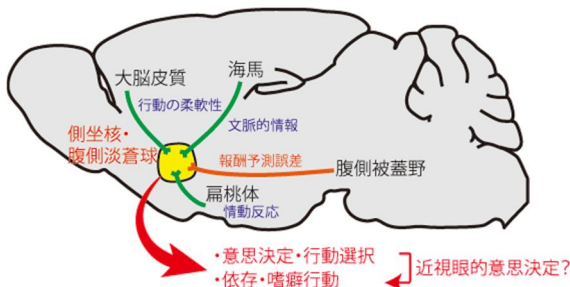


図1. 報酬効果の生成に関わる神経回路

側坐核は報酬予測に関わるドーパミン入力の外に、皮質や辺縁系からの入力を受け報酬行動を媒介する。一方、腹側淡蒼球は側坐核と相互の連絡を持つ他に、前頭前野皮質や視床背内側核、腹側被蓋野や視床下核、視床下部や扁桃体に投射する。

これまで報告者は、側坐核の特定の亜核における神経細胞の破壊もしくは特定の種類の神経細胞の除去が、報酬性の行動におけるリスク回避(図2、文献1)と薬物依存行動の亢進(図3、文献2)にそれぞれ影響を及ぼすことを明らかにしてきた。

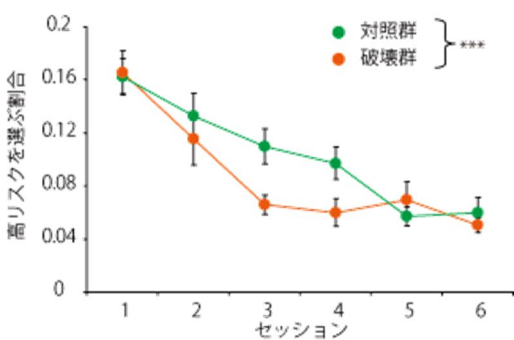


図2. 側坐核コア破壊ラットのリスク感受性

側坐核コア破壊群(オレンジ)はリスクを回避する行動を早く獲得する。

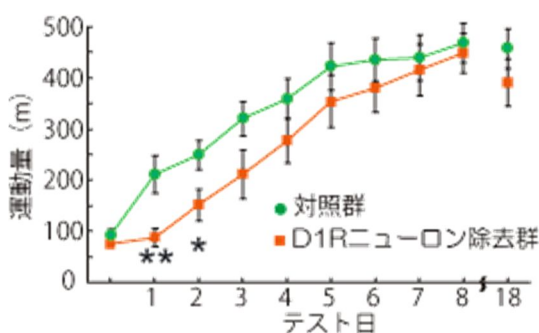


図3. 側坐核シェルのD1R陽性ニューロン除去が薬物性行動感作に及ぼす影響

シェルD1R細胞除去群(オレンジ)は行動感作が減弱する。

これらの結果に基づき、本研究の開始当初は側坐核の神経活動を実験的に操作した動物でリスク選好性を調べる研究を考案した。その後、ギャンプリング課題におけるリスク選好性に関わる可能性が側坐核よりも高いと考えられ、なおかつこれまでに類似の課題を用いた先行研究が行われておらず新規性も高いと考えられた腹側淡蒼球を対象にして、ギャンブル課題のリスク選好性に対する関与を調べる研究を行うことにした。

2. 研究の目的

薬物依存状態が生起される過程では、通常的意思決定に関わる腹側淡蒼球の機能にも変化が生じると考えられるが、その実体は不明である。本研究課題では光遺伝学的手法を用いて、報酬効果の生成に関わる神経回路を構成している腹側淡蒼球の活動を可逆的に操作可能なラットを作成する。この動物を用いてギャンブリング課題を遂行中の腹側淡蒼球の刺激が高リスクな目先の利益を優先する意思決定（近視眼的意思決定）を誘発するか否かを調べる（図4）。さらに、近視眼的意思決定に関わる腹側淡蒼球のニューロンの性質を明らかにする。また、近視眼的意思決定を行うようになったラットで依存性薬物刺激に対する応答の感受性を調べ、近視眼的意思決定の誘発が薬物依存に対する脆弱性を亢進させる可能性を検討する。以上の研究を通して、依存や嗜癖行動の誘発と抑制に関わる意思決定に必要な神経活動の制御機構の解明に取り組む。

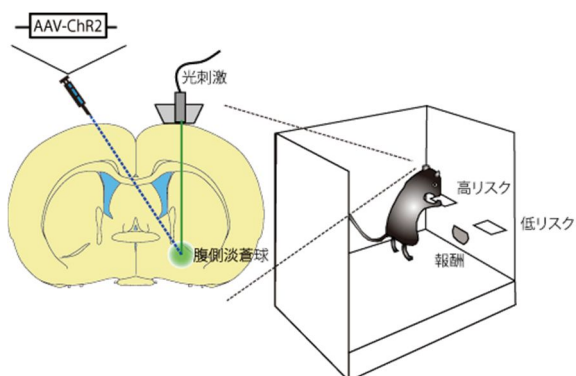


図4. 光遺伝学を用いた近視眼的意思決定誘発実験

ウイルスベクターを用いて光応答性タンパクを側坐核に発現させ、課題遂行中のラット側坐核を光ファイバーを介した刺激で活性化させて、高報酬・高損失の選択肢と、低報酬・低損失の選択肢を選ぶ割合の変化を調べる。

3. 研究の方法

(1) 腹側淡蒼球の神経活動を可逆的に操作可能なラットの作成

VPの機能を調べるため、神経細胞に感染して光刺激により活動電位を生成するチャネルロドプシン2タンパク（ChR2）を発現するウイルスベクターをラットVPに両側に局所注入後に、光ファイバーを脳に挿入して先端を両側VPに留置する手法を確立した（図4）。この手法を用いて、任意のタイミングにおいて光刺激によるVPの神経活動の活性化が可能なラット（VP-ChR2ラット）を作成した。

(2) ギャンブリング課題

2つのレバーを備えたオペラント実験装置を用いてラットに食餌ペレットを報酬にしたレバー押し行動を学習させた後で意思決定を調べるギャンブリング課題を開発した。この課題では、一回の試行で報酬を得られる確率が低い代わりに当たれば大きな量の報酬が得られる高リスク-高リターンの選択肢と、報酬を獲得する確率は高いが獲得時の報酬量が少ない低リスク-低リターンの選択肢をラットに繰り返し選択させて、ハイリスクの選択肢を選ぶ割合（リスク選好率）を各実験条件で比較した。



図5. 食餌報酬を用いたギャンブリング課題実験

ラットが左右のレバーを自由に押して得た報酬は、中央下部の取り出し口から与えられる。各レバーに対する反応に対応して報酬が与えられる確率と、一回に与える報酬量（ペレットの数）を各レバーごとに設定して、高報酬・高損失のレバーと低報酬・低損失のレバーにする。

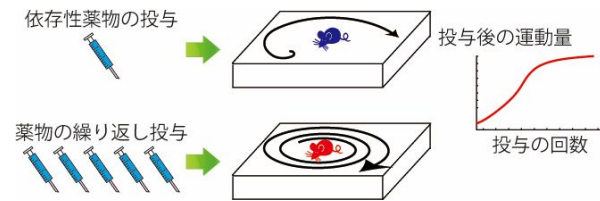
(3) 薬物依存に対する脆弱性の評価

腹側淡蒼球の活性化による近視眼的意思決定の誘発が認められた場合は、誘発を起こしたラットが依存を起こしやすい状態になっているか否かを、コカインに対する行動感作（behavioral sensitization、図5）を指標に検討することを考案した。ギャンブリング課題で側坐核刺激による近視眼的意思決定の誘発が一定期間以上続けて認められたラットに対し、課題終了の翌日から毎日続けてコカインを投与し、投与後の運動量を測定する。課題経験のないラットに投与した対照群と運動量を比較する。課題経験を持つ実験群の

運動量が対照群よりも増加していれば、ギャンブリング課題で近視眼的意思決定を行った結果に連動した腹側淡蒼球の刺激を繰り返し受けたことが、依存性薬物の効果を増強させて依存に対する脆弱性を亢進させた可能性が考えられる。

図 6 . 依存性薬物に対する行動感作

行動感作は薬物の繰り返し投与により生じる進行性、永続性の運動量増加で、依存症における薬物探索行動(drug seeking behavior)の動物モデルとされている。



4 . 研究成果

予備実験において、ギャンブリング課題を何度も経験して一定のリスク嗜好率を示すようになったラットでは、その後に VP の神経細胞を興奮性神経毒で破壊してもリスク嗜好率に変化が無いことが示された。このことから、VP は意思決定の獲得と表出のうち、表出には関わらない可能性が示された。そこで次に、高いリスク嗜好率を示す近視眼的意思決定の獲得が VP の光刺激で誘発されるかどうかを調べるギャンブリング課題の実験を行った。食餌報酬を得るためのレバーを押し行動は獲得したがギャンブル課題は未経験のラットに対し、新たにギャンブル課題を開始した。その際、結果提示期(高リスク-高リターンの選択肢をラットが選んで報酬が得られなかった直後の 2 秒)もしくは意思決定期(レバーを押し直前の 2 秒)のいずれかに VP の光刺激を行ったラットのリスク嗜好率を計測した。リスク嗜好に対する生まれつきの個体差の要因を取り除くため、各個体それぞれの最初にテストを行った日を基準として、そこからリスク嗜好率が変わるよう変化したかを実験群と光刺激を受けなかった対照群と比較したが、リスク嗜好率の変化に違いは認められなかった(図 7、8)。

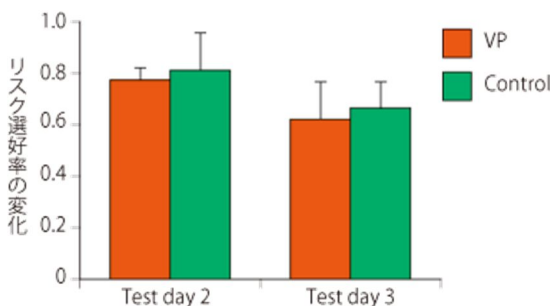


図 7 . 結果提示期の VP 光刺激がリスク嗜好率の変化に及ぼす影響

ギャンブリング課題の最初の 1 セッション (test day 1) を基準に、その後のセッションにおけるリスク嗜好率が基準からどのように変化するかを調べた。

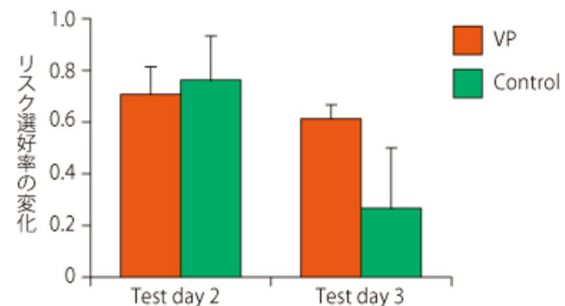


図 8 . 意思決定期の VP 光刺激がリスク嗜好率の変化に及ぼす影響

test day 2 と test day 3 のいずれにおいてもレバー押し反応を行う直前の刺激はリスク嗜好率の変化に有意な影響を及ぼさなかった。

この実験で差が認められなかった原因として、今回の実験では ChR2 タンパクがシナプシンプロモーターの制御下で非特異的に神経細胞に発現するため、VP で活性化される神経細胞の種類の違い(グルタミン酸作動性かまたは GABA 作動性か)により効果が相殺されて行動が変化しなかった可能性が考えられた。これを検討するため、VP の GABA 作動性神経細胞を選択的に興奮させることができるラットの作成に着手したが、それとほぼ同時期に VP の GABA 作動性細胞が依存性の行動(real time place preference)及び脳内自己刺激行動)に働くことが、他の研究グループにより先に報告された(文献 3)。このため、本研究で確立したギャンブル課題を用いた新たな研究の展開を意図して、食品由来の特定成分がギャンブル嗜癖の抑制にも効果を示すか否かを調べる研究を、岡山理科大学及び杏林大学との共同研究で開始した。レバー押しを学習したラットに対して、ギャンブリング課題の開始 2 日前から食品成分の投与を行い、リスク嗜好率の変化を調べた。少数の動物を用いて行った予備実験の結果、食品成分投与群のラットでは、

test day 2において有意ではないものの、リスク選好率が対照群と比べて抑制される傾向が認められた(図9)。さらに食品成分投与群のラットでは、対照群のラットと比べて高リスク-高リターンの選択肢であるレバーに対してはレバー押しまでの反応時間(リアクションタイム)が長く、一方低リスク-低リターンのレバーに対しては反応時間が短いという有意な差が認められた(図10)。

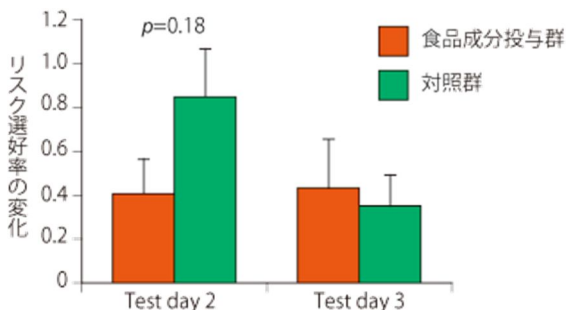


図9. 食品由来成分がリスク選好性の変化に及ぼす影響

test day 2において、食品成分投与群のラットではリスクの選好率が対照群に比べて低下する傾向が認められた(n=3)。

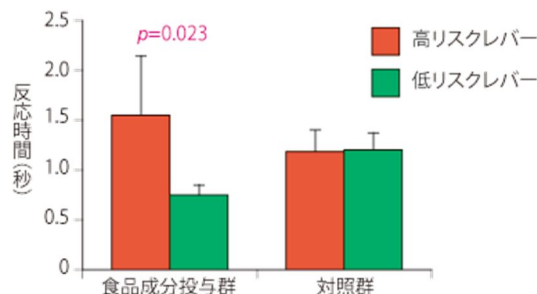


図10. 食品由来成分がレバー押し反応時間に及ぼす影響

test day 2において、食品成分投与群のラットは高リスクレバーを押すまでの反応時間は長く、一方で低リスクレバーは早く押した。対照群ではこのような差は認められなかった。

これらの結果はいずれも、食品成分投与群のラットでは高リスクな選択肢に対する反応が抑制されている可能性を示唆している。このことは、この食品成分がギャンブル行動に対して抑制的な効果を持つ可能性を示しており、現在は実験動物の個体数を増やして、ギャンブル行動の抑制効果を確認するとともに、有意差の認められた反応時間の差について論文作製中である。この効果が認められればさらに、ギャンブル依存と深い関係を持つと考えられている社会的ストレスの実験系を用いてこの食品成分の効果を調べることを検討している。これまでの動物実験において、社会的敗北ストレス(social defeat stress)はその後のギャンブル行動を亢進させることがギャンブル課題を用いて明らかにされている。社会的敗北をくり返し経験したラットにこの食品成分を投与した後で、ギャンブル課題を行わせてギャンブル選好性を対照群と比較することにより、この食品成分の持つギャンブル抑止効果が明らかになる可能性がある。この成分については生体内の作用機序も現在明らかにされつつあり、その結果と合わせて、依存や嗜癖の生起に関わる意思決定の神経メカニズムの一端が明らかになることが期待される。

参考文献

- 1) Kai N, Tsutsui Y, Kobayashi K. Lesions of the nucleus accumbens core modulate development of matching behavior. *BMC Neurosci.* 2014;15:55. Published 2014 Apr 30. doi:10.1186/1471-2202-15-55
- 2) Kai N, Nishizawa K, Tsutsui Y, Ueda S, Kobayashi K. Differential roles of dopamine D1 and D2 receptor-containing neurons of the nucleus accumbens shell in behavioral sensitization. *J Neurochem.* 2015;135(6):1232-1241. doi:10.1111/jnc.13380
- 3) Stephenson-Jones M, Bravo-Rivera C, Ahrens S, et al. Opposing Contributions of GABAergic and Glutamatergic Ventral Pallidal Neurons to Motivational Behaviors. *Neuron.* 2020;105(5):921-933.e5. doi:10.1016/j.neuron.2019.12.006

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 甲斐信行、江原鮎香、上田秀一
2. 発表標題 モノアミン神経操作により誘発される行動異常に関連した脳領域の探索
3. 学会等名 第9回 光操作研究会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 甲斐信行、江原鮎香、上田秀一
2. 発表標題 Ethological and histological analysis of intra-specific defensive rage induced by monoaminergic manipulation.
3. 学会等名 第41回日本神経科学大会
4. 発表年 2018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