

令和 3 年 6 月 3 日現在

機関番号：14301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2020

課題番号：19K23778

研究課題名（和文）ルーティン行動と状況依存的行動を制御する大脳基底核回路の解明

研究課題名（英文）Basal ganglia circuits for controlling routine and context-based behaviors

研究代表者

網田 英敏（Amita, Hidetoshi）

京都大学・霊長類研究所・特定助教

研究者番号：80845321

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：視覚探索スキルを担う大脳基底核・黒質外側部に局在するペリニューロナルネット（PNNs）の役割を明らかにするため、PNNsを分解する薬剤（コンドロイチナーゼABC）を黒質外側部の両側に注入し、「図形報酬」連合学習への影響を調べた。マカクザルに対し、タッチパネル上に表示される正解図形と不正解図形のどちらかを選ばせることで、スキル学習の成績を評価した。正解図形をタッチした場合には報酬が得られ、不正解図形をタッチした場合には報酬が得られないため、サルは90%以上の割合で正解図形を選ぶようになった。しかし、黒質外側部にコンドロイチナーゼを注入した後は、「図形報酬」連合学習の形成に障害が見られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果は、黒質外側部のペリニューロナルネット（PNNs）が「図形報酬」連合学習形成に寄与していることを示唆する。黒質外側部は1か月以上にわたって長期連合記憶を保持しているが、この長期記憶がどのように形成されているかについてはまだわかっていなかった。本研究成果によりPNNsの連合記憶形成への関与が示唆されたことで、連合記憶形成の物質的基盤の解明が今後進んでいくと考えられる。今後PNNsがどのようにして記憶形成に寄与しているかを明らかにすることができれば、パーキンソン病などのスキル学習障害の治療法の開発に貢献できると期待される。

研究成果の概要（英文）：To elucidate the role of perineuronal nets (PNNs) in the substantia nigra pars lateralis (SNl), which is involved in visual search skill, we injected chondroitinase ABC (ChABC) bilaterally in the SNl to digest the PNNs and examined its effect on "object-reward" association learning. A rhesus monkey was asked to choose between reward object and no-reward one on a touchscreen. The monkey finally chose the correct object more than 90% rate. However, the ChABC injection impaired the "object-reward" association learning. This indicates the PNNs in SNl plays a key role in habit formation.

研究分野：システム神経科学

キーワード：神経科学 霊長類 スキル 黒質外側部 ペリニューロナルネット コンドロイチナーゼ タッチパネル 記憶

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、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

尾状核尾部 (CDt) から黒質外側部 (SNi) に投射する神経路は、「図形 報酬」長期連合記憶を伝えていることがこれまでマカクザルを用いた研究によって明らかになった (Amita et al. Nat Commun 2020)。この回路はルーティン行動や習慣形成に重要であると考えられるが、どのようにして脳が長期的に安定な連合記憶を維持できるようになるのか、そのメカニズムについては未だわかっていなかった。SNi にはペリニューロナルネット (PNNs) と呼ばれる細胞外マトリックス構造が豊富に存在していることから、PNNs がシナプスを長期安定化するための物質的基盤になっているのではないかと考えた。

2. 研究の目的

SNi に豊富に存在する PNNs が長期連合記憶の形成や維持に関わっているかを調べるため、SNi の PNNs を除去することにより、習慣形成や長期連合記憶の維持に変容が生じるかを検証する。

3. 研究の方法

アカゲザル (*Macaca mulatta*) に対し、飼育ケージ内でタッチパネル装置を用いたトレーニングを行った。実験装置として、飼育ケージ扉に取り付け可能な「報酬ディスペンサ付きタッチパネル装置」(図 1a; 小原医科産業) を使用した。タッチパネルには赤外線走査方式 15 インチ液晶ディスプレイを使用した。報酬として、リボルバー式報酬ディスペンサにより卵ボーロ (大阪前田製菓 乳ボーロ) を与えた。本実験装置はソフトウェア (MathWorks; MATLAB) とマルチファンクション I/O デバイス (National Instruments; USB-6501) によりプログラム制御した。

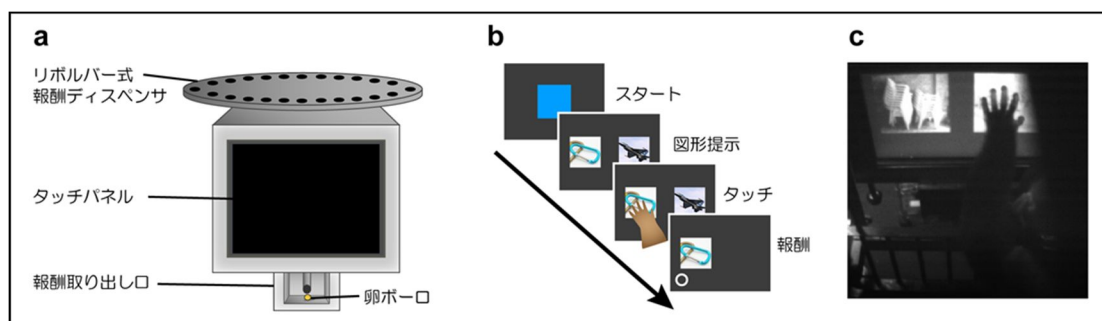


図 1 : タッチパネルによる「図形 報酬」連合学習

a) 報酬ディスペンサ付きタッチパネル装置。リボルバー式報酬ディスペンサによって報酬を自動的に供給する。タッチパネル下にある報酬取り出し口に報酬 (卵ボーロ) が出る。

b) 課題の流れ。スタート合図のあと、一対の視覚図形 (図形ペア) が提示される。正解図形をタッチすると報酬が得られた。

c) 実験の様子。手前のサルがタッチパネル上に提示された図形ペアのうち右の図形をタッチしている様子。

行動実験として「図形 報酬」連合学習 (図 1b) を用いた。このタスクでは、スクリーン上一対の視覚図形を提示し、どちらかの図形をサルにタッチさせて選ばせた (図 1c)。片方の図形は報酬と結びついており、触れると正解音とともに報酬が与えられた。もう一方の図形は触れてもブザーのみで報酬は与えられなかった。1 回の実験セッションで 8 組の図形ペアを 50 試行無作為に提示した。注入実験前に 8 組の図形ペアを 6 セット (計 48 組の図形ペア) 学習させた。

核磁気共鳴画像 (MRI) を用いた脳座標ナビゲーションシステムにより、両側の黒質外側部の前後 2 か所に生理食塩水 (2.0 μL) を注入した。注入後 3 週間、「図形 報酬」連合課題による注入の影響を調べた。その後、同じ領域に PNNs を分解する薬剤、コンドロイチナーゼ ABC (Sigma-Aldrich; C3667) を 2.0 μL (60 U/mL) ずつ注入した。注入後 3 週間、「図形 報酬」連合課題による注入の影響を調べた。注入の影響は、以下に述べる行動テストバッテリー (「記憶再認テスト」と「記憶形成テスト」) によって評価した。

記憶再認テスト: 注入後から 3 週間のあいだ、1 週間おきに、注入前に学習した図形ペア (計 48 ペア/6 セット) を 1 セッション 48 試行繰り返しながら提示し、正答率を計測した。

記憶形成テスト: 注入後から新規の図形ペア (計 32 ペア/4 セット) を 1 日 1 セッション 50 試行ずつおこない、計 10 セッションにわたる学習成績の推移を調べた。

4. 研究成果

生理食塩水注入後およびコンドロイチナーゼ ABC (ChABC) 注入後の記憶再認テストの正答率を比較したところ、両者の間に明確な差は認められなかった (図 2a)。したがって、注入前に学習した連合記憶については、PNNs 分解後も保持されていたことが示唆される。一方、記憶形成テストの成績変化を比較したところ、ChABC 注入後に学習の遅延が認められた (図 2b)。したがって、注入後に学習した連合記憶の形成については、PNNs 分解によって阻害されたことが示唆される。とくに、1-3 セッション目の成績において、ChABC 注入後の正答率の低下が顕著だった。しかし、ChABC 注入後も 10 セッション目までに正答率が 9 割に達していたことから、学習阻害の効果は一過的か部分的であり、完全に学習ができなくなったわけではないと考えられる。その 1 つの可能性として、PNNs が分解された後に回復した可能性がある。実際、ChABC 注入後の PNNs 分解範囲を解剖学的に調べた研究では、1-2 週間後には 50%ほどに範囲が縮小したことが示されている (Mueller et al. PLoS One 2014)。2 つ目の可能性として、今回 PNNs 分解した領域が部分的だった可能性がある。3 つ目の可能性として、他の領域が代償したために最終的に学習できた可能性がある。実際、黒質外側部の上流領域である尾状核尾部を破壊した実験でも学習遅延が起きたが、最終的には学習できたことが示されている (Fernandez-Ruiz et al. Proc Natl Acad Sci U S A. 2001)。なお、ChABC 注入後の摂食行動、歩行、リーチング動作、視覚的注意、情動表出などの行動には変化が見られなかったことから、今回の学習遅延はモチベーションの低下、視覚的注意の低下、運動障害によって起きたとは考えにくい。今後、さらに研究を進めることで、PNNs 分解による学習障害や回復過程のメカニズムについて明らかにしていきたい。

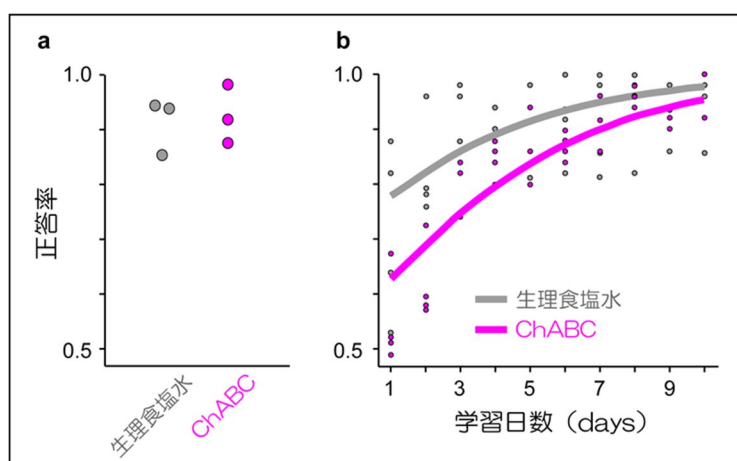


図 2：薬剤注入後の「図形 報酬」連合学習の成績

a) 記憶再認テストの結果。各シンボルは 1 セッションごとの 48 試行中の正解試行数の割合 (正答率) を示す。灰色は生理食塩水注入条件、マゼンタはコンドロイチナーゼ (ChABC) 注入条件を示す。

b) 記憶形成テストの結果。各シンボルは 1 セッションごとの 50 試行中の正解試行数の割合 (正答率) を示す。横軸は学習日数を示す。灰色は生理食塩水注入条件、マゼンタは ChABC 注入条件を示す。各曲線はロジスティック関数に当てはめた学習曲線を示す。

< 引用文献 >

Amita H, Kim HF, Inoue K, Takada M, Hikosaka O, Optogenetic manipulation of a value-coding pathway from the primate caudate tail facilitates saccadic gaze shift, Nature communications, 11, 2020, 1876 – 1876

Mueller A, Davis A, Carlson SS, Robinson FR, N-acetylgalactosamine positive perineuronal nets in the saccade-related-part of the cerebellar fastigial nucleus do not maintain saccade gain, 2014, PLoS One, 9, e86154

Fernandez-Ruiz J, Wang J, Aigner TG, Mishkin M, Visual habit formation in monkeys with neurotoxic lesions of the ventrocaudal neostriatum, 2001, Proc Natl Acad Sci U S A., 98, 4196-4201

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Amita Hidetoshi, Kim Hyoung F., Inoue Ken-ichi, Takada Masahiko, Hikosaka Okihide	4. 巻 11
2. 論文標題 Optogenetic manipulation of a value-coding pathway from the primate caudate tail facilitates saccadic gaze shift	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 1876 ~ 1876
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-020-15802-y	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 該当する

1. 著者名 Hikosaka Okihide, Yasuda Masaharu, Nakamura Kae, Isoda Masaki, Kim Hyoung F., Terao Yasuo, Amita Hidetoshi, Maeda Kazutaka	4. 巻 116
2. 論文標題 Multiple neuronal circuits for variable object?action choices based on short- and long-term memories	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 26313 ~ 26320
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1073/pnas.1902283116	査読の有無 有
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 該当する

1. 著者名 Tremblay Sebastien, Acker Leah, Afraz Arash, Albaugh Daniel L., Amita Hidetoshi et al.	4. 巻 108
2. 論文標題 An Open Resource for Non-human Primate Optogenetics	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neuron	6. 最初と最後の頁 1075 ~ 1090.e6
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neuron.2020.09.027	査読の有無 有
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 該当する

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 2件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Hidetoshi Amita
2. 発表標題 The role of the substantia nigra pars lateralis in object skill learning
3. 学会等名 第10回 生理研 霊長研 新潟脳研 合同シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 網田 英敏
2. 発表標題 報酬価値にもとづくサッケードを生み出す基底核神経路メカニズム
3. 学会等名 第34回日本大脳基底核研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 網田 英敏
2. 発表標題 価値に基づく眼球運動を制御する大脳基底核神経路
3. 学会等名 生理研研究会2019「行動の多様性を支える神経基盤とその動作様式の解明」(招待講演)
4. 発表年 2019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
研究協力者	高安 環 (Takayasu Tamaki)	京都大学・霊長類研究所・大学院生 (14301)	
研究協力者	ヤン ガオゲ (Yan Gaoge)	京都大学・霊長類研究所・大学院生 (14301)	

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
---------	---------