

令和元年5月20日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H04814

研究課題名(和文) 微小脳における予測誤差学習理論のニューロン基盤の解明

研究課題名(英文) Studies on neural basis of prediction error learning theory in insects

研究代表者

水波 誠 (Mizunami, Makoto)

北海道大学・理学研究院・教授

研究者番号：30174030

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では主に以下の4つの成果が得られた。第一に、コオロギの罰学習に予測誤差理論という学習理論が適用可能であることがわかった。第二に、罰に関する予測誤差の情報を運ぶのがドーパミンニューロンであることが示唆された。第三に、報酬に関する予測誤差の情報を運ぶのはオクトパミンニューロンと考えられるが、その候補となるニューロンが形態学的に同定された。最後に、コオロギの学習には、予測誤差理論では説明できない要素があることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、昆虫の学習の主要な特徴が予測誤差理論で説明できることを初めて明らかにし、またそのニューロン機構の一端を明らかにした画期的なもので、学術的に高い意義がある。

また本研究は、学習の基本アルゴリズムが昆虫と哺乳類の間で共通であることを明らかにし、動物の脳の進化の理解の鍵となる知見をもたらしたもので、社会的にも大きなインパクトを与えうるものである。

研究成果の概要(英文)：I obtained four major findings in this study. At first, I showed that aversive learning in crickets can be accounted for by the prediction error theory. Secondly, I obtained evidence to suggest that dopamine neurons mediate aversive prediction error signals. Thirdly, I was successful to morphologically characterized octopamine-immunoreactive neurons that are likely to convey information about prediction error signals in appetitive learning in cockroaches. Finally, I showed that some features of learning in crickets cannot be accounted for by prediction error theory. In conclusion, I showed applicability of the predictor error to insect learning and also its limitations, and clarified some of its neural basis.

研究分野：動物生理・行動学

キーワード：学習 昆虫 微小脳 報酬 罰 予測誤差 オクトパミン ドーパミン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

学習の基本メカニズムの解明は神経生物学の最重要課題の1つである。哺乳類では、連合学習が「予測誤差」に基づいて起こるという理論が Rescorla と Wagner (1972) により提唱されている。しかしこの理論の当否や限界については議論があり、またそのニューロンレベルでのメカニズムは十分には解明されていない。最近、申請者はコオロギの報酬学習に予測誤差理論が適用できること、またオクトパミンニューロンが報酬予測誤差を運ぶことを示す明確な実験的証拠を得た。この成果を基盤に本研究を企画した。

2. 研究の目的

本研究の目標は、昆虫の学習が予測誤差学習理論によりどこまで説明できるかを明らかにするとともに、予測誤差情報を運ぶニューロンを同定し、予測誤差計算の神経機構に迫ることである。それらの解析を通して、昆虫と哺乳類の学習のメカニズムにどこまで共通性があるのかを明らかにし、動物の脳進化について考える基盤とすることを目指す。

3. 研究の方法

(1) ブロッキング実験による予測誤差理論の罰学習への適用可能性の検証：ブロッキングとは、条件刺激 X と US の条件付け訓練をすると、その後の X と Y の複合刺激と US との条件付けを行っても、Y の学習は起こらない（阻害される）という現象である。Kamin はこの観察から、「学習には驚きが必要である」と提案した。動物は最初の訓練で「X が US を予測する」ことを学習するため、それに続く XY 複合刺激と US の条件付け訓練では、US が与えられても予想通りであるために学習が起こらない、との説明したのである。Rescorla と Wagner (1972) はこの考えを予測誤差理論として定式化した。本研究ではコオロギが匂いと塩水を連合させる罰学習において、「ブロッキング」及び「オートブロッキング」と呼ばれる学習現象が起こるかを調べた。

(2) オートブロッキング実験によるオクトパミンニューロンが罰に関する予測誤差を運ぶことの検証：オートブロッキングとは申請者が新規に発見した学習現象で、薬理的な手段によりブロッキングと同様な現象を薬理的に引き起こすものである。オートブロッキング実験により、罰に関する予測誤差を運ぶニューロンがどのような神経伝達物質を持つかを解析した。

(3) 報酬予測誤差を運ぶオクトパミンニューロンの免疫組織化学的同定：報酬に関する予測誤差を運ぶオクトパミンニューロンの形態学的な同定を目指す。それらは脳の連合中枢であるキノコ体に投射すると考えられる。ワモンゴキブリを用い、オクトパミンおよびオクトパミン合成に関わる酵素 (TDC2) の免疫組織化学により、キノコ体に投射するオクトパミンニューロンを同定した。

(4) 予測誤差理論の適応限界についての検討：哺乳類で知られている抑制性学習現象の中には、予測誤差理論では説明しにくい現象がいくつかある。それらの抑制現象は昆虫でも見られるのだろうか？コオロギにおいて overexpectation, inhibitory learning, latent inhibition, spontaneous recovery といった種々の抑制性学習現象について解析し、それらが予測誤差理論により説明可能かを調べた。

4. 研究成果

(1) 本研究では第一に、コオロギの罰学習に予測誤差理論という学習理論が適用可能であることを明らかにした。具体的にはコオロギに匂いと塩水を連合させる学習において、「ブロッキング」現象を確認した。ブロッキングを説明する理論は複数あるが、コオロギのブロッキングは予測誤差理論により最もよく説明できることを明らかにした。これはコオロギの罰学習が、予測誤差に基づいて起こることを示す成果であった。

(2) さらに、罰に関する予測誤差の情報を運ぶのがドーパミンニューロンであることが示唆される結果を得た。ドーパミン受容体阻害剤を用いた実験により「オートブロッキング」と私が名付けた学習阻害現象が起こることがわかり、罰に関する予測誤差の情報を運ぶのがドーパミンニューロンであることが示唆された。

(3) 次に、報酬に関する予測誤差の情報を運ぶのはオクトパミンニューロンの候補と考えられるニューロンを形態学的に同定した。本研究では、ゴキブリの脳の連合中枢 (キノコ体) に投射するオクトパミン合成酵素 (TDC2) に免疫陽性のニューロンのうち、キノコ体に投射するオクトパミン免疫陽性ニューロンには数種類あったが、そのうち傘 (キノコ体入力部) に投射するニューロンの一部は食道下神経節から上行するニューロンであることがわかった。その細胞体は食道下神経節の maxillary segments の DUM ニューロン (dorsal unpaired neurons) に属することも突き止めた。種々の証拠から、このニューロンが罰予測誤差の情報を伝えるニューロンの1つであることが示唆された。このニューロンの活動の電気生理学的記録を試みたが、確実な記録に成功するには至らなかった。

(4) 更なる薬理的解析により、オクトパミンニューロンとドーパミンニューロンの間には抑制的な相互作用があることが示唆された。予測誤差の計算は申請者が最初に想定したよりも複雑な仕組みで実現していることが示唆された。

(5) 最後に、コオロギの学習には、予測誤差理論では説明できない部分があることが明らかになった。コオロギにおいて overexpectation, inhibitory learning, latent inhibition, spontaneous recovery, といった抑制性学習現象について解析した。そのうち overexpectation などは予測誤差理論でよく説明できた。しかし latent inhibition や spontaneous recovery などは、予測誤差理論での説明は困難であった。予測誤差理論は昆虫の学習を説明する中心理論と言えるが、この理論だけで昆虫の学習を全て説明できるわけではないことが明らかになった。そのメカニズム解明が次の課題となる。

(6) これらの研究により、昆虫の学習と哺乳類の学習が予測誤差の補正という同一のしくみで起こると結論づけられた。一方、脳において予測誤差の情報を運ぶニューロン機構には昆虫と哺乳類の間で差異があった。具体的には哺乳類では報酬予測誤差は中脳ドーパミンニューロンで伝えられると考えられているが、罰予測誤差を伝えるニューロンについてはわかっていない。一方、昆虫では報酬予測誤差はオクトパミンニューロンで、罰予測誤差はドーパミンニューロンで伝えられることがわかった。以上をまとめると、本研究により、予測誤差計算に基づく学習のしくみは、哺乳類と昆虫では進化的に独立して獲得されたことが強く示唆された。今後そのニューロン機構の解明を進め、哺乳類と昆虫との間の共通性や差異について調べることで、動物の脳進化についての新たな提案につなげていけると考える。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 11 件)

Matsumoto Y, Matsumoto CS, Mizunami M (2018) Signaling pathways for long-term memory formation in the cricket. *Front. Psychol.* 9, 1014. 査読有, doi: 10.3389/fpsyg.2018.01014.

Mizunami M, Terao K, Alvarez B (2018) Application of a prediction error theory to Pavlovian conditioning in an insect. *Front. Psychol.* 9, 1272. 査読有, doi: 10.3389/fpsyg.2018.01272.

Nishino H, Iwasaki M, Paoli M, Kamimura I, Yoritsune A, Mizunami M. (2018). Spatial receptive fields for odor localization. *Curr. Biol.* 28:1-9. 査読有, doi: 10.1016/j.cub.2017.12.055.

Hamanaka Y, Mizunami M. (2018) Tyrosine hydroxylase-immunoreactive neurons in the mushroom body of the field cricket, *Gryllus bimaculatus*. *Cell Tissue Res.* 376,1. 査読有, doi: 10.1007/s00441-018-2969-9.

Terao K, Mizunami M. (2017) Roles of dopamine neurons in mediating the prediction error in aversive learning in insects. *Sci. Rep.* 7:14694. 査読有, doi: 10.1038/s41598-017-14473-y

Watanabe H, Nishino H, Mizunami M, Yokohari F (2017) Two parallel olfactory pathways for processing general odor in a cockroach. *Front. Neural Circuits* 11: 32. 査読有, doi: 10.3389/fncir.2017.00032.

Katoh K, Iwasaki M, Hosono S, Yoritsune, A, Ochiai M, Mizunami M, Nishino H. (2017) Group-housed females promote asexual ootheca production in American cockroaches. *Zool. Lett.* 3:3. 査読有, doi: 10.1186/s40851-017-0063-x.

Takahashi N, Katoh K, Watanabe H, Nakayama Y, Iwasaki M, Mizunami M, Nishino H. (2017) Complete identification of four calycal giant interneurons in an insect brain. *J. Comp. Neurol.* 525:204-230. 査読有, doi: 10.1002/cne.2410.

Mizunami M, Matsumoto Y. (2017) Roles of octopamine and dopamine neurons for mediating appetitive and aversive signals in Pavlovian conditioning in crickets. *Front. Physiol.* 8, 1027. 査読有, doi: [10.3389/fphys.2017.01027](https://doi.org/10.3389/fphys.2017.01027).

Mizunami M, Matsumoto C-S, Matsumoto Y. (2017) Searching for cognitive processes underlying insect learning. *Jap. J. Anim. Psychol.* 67, 1-10. 査読有, doi: 10.2502/janip.67.1.5.

Hosono S, Matsumoto Y, Mizunami M. (2016) Interaction of inhibitory and facilitatory effects of conditioning trials on long-term memory formation. *Learning & Memory* 23:669-678. 査読有, doi: 10.1101/lm.043513.116.

[学会発表] (計 31 件)

Yaolong Li, Takayuki Watanabe, Makoto Mizunami, Roles of a transcription repressor FoxP in the long-term memory formation in crickets, 日本比較生理生化学会、神戸大学 (神戸市) 2018 年 11 月 23 日

Hiroki Ebina, Makoto Mizunami, Validity of stimulus enhancement in explaining theory the social learning in crickets, 日本比較生理生化学会、神戸大学 (神戸市) 2018 年 11 月 23 日

Misato Sato, Makoto Mizunami, Low context-dependency of "habitual memory" formed by extended classical conditioning training in crickets, 日本比較生理生化学会、神

戸大学（神戸市）、2018年11月23日

Kanta Terao, Beatriz Álvarez, Makoto Mizunami, Inhibitory learning in a cricket; extinction and overexpectation, 日本比較生理生化学会、神戸大学（神戸市）、2018年11月23日

Beatriz Álvarez, Kanta Terao, Yukihisa Matsumoto, Makoto Mizunami, Inhibitory learning in the cricket *Gryllus bimaculatus*, XXX International Conference of the Spanish Society for Comparative Psychology, Centro Asociado de la UNED (Avila, Spain), September 13, 2018.

Beatriz Álvarez, Hiroki Ebina, Kanta Terao, Yukihisa Matsumoto, Makoto Mizunami, Associative learning in the cricket *Gryllus bimaculatus*, XXX International Conference of the Spanish Society for Comparative Psychology, Centro Asociado de la UNED (Avila, Spain), September 13, 2018.

Li Yaolong, Takayuki Watanabe, Makoto Mizunami, Roles of a transcription factor *FoxP* in olfactory learning in crickets, 日本動物学会、北海道大学（札幌市）、2018年9月13日

蝦名宥輝、水波誠、コオロギの社会学習の Appetitive learning と aversive learning について、日本動物学会、北海道大学（札幌市）、2018年9月13日

渡邊崇之、水波誠、昆虫脳性決定機構の進化を探る～doublesex 遺伝子はコオロギ脳の性を決めるのか？、日本動物学会、北海道大学（札幌市）、2018年9月13日

佐藤深怜、水波誠、コオロギの古典的条件づけにおける習慣的記憶のコンテキスト依存性、日本動物学会、北海道大学（札幌市）、2018年9月13日

Eisuke Hasegawa, Hitoshi Aonuma, Kanta Terao, Natsuki Ogusu, Saori Watanabe, Syunta Mikami, Yusuke Fujita, Makoto Mizunami, Yuuka Murakami, Contacts with nest mates maintain the dangerous aggressiveness for social defenses in an ant, 13th Japanese *Drosophila* Research Conference, 京都大学（京都市）、2018年9月10日

Beatriz Alvarez, Hiroki Ebina, Kanta Terao, Yukihisa Matsumoto, Makoto Mizunami, Associative learning as a research tool for the study of cognition and behaviour in the cricket *Gryllus bimaculatus*. International Congress of the Spanish Society of Ethology and Evolutionary Ecology, Gonzalo Gutiérrez Quirós (Mieres, Spain), September 7, 2018.

水波誠、日本臨床脳神経外科学会、招待講演、微小脳と巨大脳：昆虫脳とヒト脳の共通起源と進化、金沢能楽堂（金沢市）、2018年7月15日

水波誠、コオロギ古典的条件づけにおける習慣形成、シンポジウム講演、ConBio2017, 神戸国際会議場（神戸市）、2017年12月7日

寺尾勘太・水波誠、Prediction error theory in insects; comparative analyses produce insights for general learning rules, 基礎心理学会、若手オーラルセッション（招待）、立命館大学（茨木市）、2017年12月1日

Hiroki Ebina, Makoto Mizunami, Contrasting social learning with live and dead conspecifics in cricket, 日本比較生理生化学会、福岡大学（福岡市）、2017年11月24日

Kanta Terao, Makoto Mizunami, Prediction error theory in insects. Naito Conference on decision making in the brain, Chateraise Gateaux Kingdom (Sapporo), October 4, 2017.

Makoto Mizunami, Habit formation by extended Pavlovian training in crickets. Naito Conference on decision making in the brain, Chateraise Gateaux Kingdom (Sapporo), October 4, 2017.

高橋直美、水波誠、ワモンゴキブリ高次嗅覚中枢に入力する巨大 GABA 作動性ニューロンの生理学的解析、日本動物学会、富山県民会館（富山市）、2017年9月23日

寺尾勘太、水波誠、コオロギの罰学習におけるブロッキング現象、日本動物学会、富山県民会館（富山市）、2017年9月21日

⑲ 長谷川英祐、青沼仁志、寺尾勘太、小楠なつき、大久保祐作、渡邊紗織、三上俊太、藤田悠介、水波誠、村上優花、アリは巣仲間と交流してストレスから回復する、行動2017、東京大学（東京都）、2017年8月30日

⑳ Naomi Takahashi, Makoto Mizunami, Functional relationships between feedback neurons and output neurons in the mushroom body of the cockroach brain, Gordon Research Conference, Les Diablerets (Switzerland), June 19, 2017.

㉑ 水波誠、コオロギの学習研究から何を学ぶか？ 日本分子生物学会、パシフィコ横浜（横浜市）、2016年12月2日

㉒ Makoto Mizunami, Searching for cognitive processes involved in insect learning, 日本動物心理学会、北海道大学（札幌市）、2016年11月24日

㉓ Kanta Terao, Makoto Mizunami. Critical evidence for the prediction error theory in the insect learning, 日本動物心理学会、北海道大学（札幌市）、2016年11月23日

㉔ Hiroki Ebina, Makoto Mizunami, Different social learning from live and dead conspecifics in crickets. International Congress of Zoology, Okinawa Convention

- Center (Ginowan city), November 17, 2016.
- ⑳ Naomi Takahashi, Ko Katoh, Hidehiro Watanabe, Makoto Mizunami, Hiroshi Nishino, Complete identification of four calycal giant interneurons in an insect Brain. International Congress of Zoology, Okinawa Convention Center (Ginowan city), November 17, 2016.
 - ㉑ Ko Katoh, Naomi Takahashi, Hidehiro Watanabe, Makoto Mizunami, Hiroshi Nishino, Aggregation pheromone processing in a cockroach brain, 日本比較生理生化学会、玉川大学(町田市) 2016年9月4日
 - ㉒ Yoshitaka Hamanaka, Makoto Mizunami, Toward elucidation of neural mechanisms underlying aversive learning in insects, 日本比較生理生化学会、玉川大学(町田市) 2016年9月4日
 - ㉓ Kanta Terao, Takayuki Watanabe, Hitoshi Aonuma, Hiroshi Nishino, Makoto Mizunami, Immunohistochemistry with γ -TDC2 antibodies in the cockroach brain, 日本比較生理生化学会、玉川大学(町田市) 2016年9月4日
 - ㉔ Makoto Mizunami, Studies on structure and function of insect microbrain, 学会賞受賞講演、日本比較生理生化学会、玉川大学(町田市) 2016年9月3日

〔図書〕(計5件)

- 水波誠 (2018) 動物学の百科事典、「昆虫の微小脳」を担当、丸善、総ページ数 770 ページ。
 水波誠 (2017) 「微小脳と巨大脳」(分担執筆) 『脳の神秘を探ってみよう 生命科学者 21 人の特別授業』朝日新聞出版、ISBN: 4023315834, pp.14-23.
 Matsumoto Y, Mizunami M (2017) Chapter 17: Protocols of the study of learning and Memory. In: The Cricket as a Model Organism: Development, Regeneration, and Behavior. Eds. By Horch HW, Mito T, Popadic A, Ohuchi H, Noji S, Springer, Tokyo. ISBN: 4431564764, pp.273-284.
 Mizunami M, Matsumoto Y (2017) Chapter 9: Learning and Memory; In: The Cricket as a Model Organism: Development, Regeneration, and Behavior. Eds. By Horch HW, Mito T, Popadic A, Ohuchi H, Noji S, Springer, Tokyo. ISBN: 4431564764, pp.129-140.
 Taya M, Vonkenburgh EV, Mizunami M, Nomura S. (2016) Bioinspired Actuators and Sensors, Cambridge Univ Press. ISBN: 9781107065383, 総ページ数 522 ページ。

〔その他〕

ホームページ

<https://www.sci.hokudai.ac.jp/~mizunami/MICROB-2/>

〔新聞報道〕(計6件)

- 朝日新聞、「ゴキブリ産卵 促す仲, 2017年3月30日
 Japan Times、online, Cockroach longevity linked to female cohabitation, 2017年3月16日
 The Wall Street Journal, Study nods to mystery of roaches, March 21, 2017.
 毎日新聞、「愛なくたって生き抜く ゴキブリ雌3匹で繁殖加速, 2017年3月15日朝刊
 毎日新聞、「ゴキブリ繁殖に雄いらす 雌3匹以上で単為生殖促進, 2017年3月13日夕刊
 毎日新聞、コラム「余禄」にて「昆虫-驚異の微小脳、中公新書、水波誠著」を引用, 2017年3月1日朝刊

〔アウトリーチ活動〕(計5件)

- 平岸高校放送部、ビデオドキュメンタリー作品「ゴキブリを知ろう」作成への助言, 全道大会7位。2018年9-11月
 北海道大学 CoSTEP メディアデザイン実習「アニマルめがねラボ～VRで生き物の視覚を考えよう～」の監修, 活動内容: 円山動物園での実習、大通りイベントでの実習、「イキモニア」への出品、国際映像コンクールへの出品、HUSCUPへの報告書掲載, 2018年10月-2019年3月
 動物学会北海道支部会、高校生オープンラボ, 北海道大学理学部、2017年8月26日
 バイオミメティクス・市民セミナー公開講演、昆虫の学習と微小脳: ヒトの脳のしくみとは違うのか?, 北海道大学総合博物館(札幌市) 2017年2月4日
 「国際生物学オリンピック派遣生徒の個別指導, 中桐悠一郎君銀メダル獲得, (北海道大学(札幌市) 2016年5月27-28日

6. 研究組織

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

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。