

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 12 日現在

機関番号：34310

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K18380

研究課題名(和文)眼窩前頭皮質-皮質下投射細胞の機能マッピング

研究課題名(英文)Functional mapping of orbitofrontal-subcortical projections

研究代表者

廣川 純也(Hirokawa, Junya)

同志社大学・研究開発推進機構・准教授

研究者番号：40546470

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：前頭前野は様々な脳領域に情報を送り意思決定行動を制御している。本研究は光遺伝学的標識法と呼ばれる新しい技術を用いることで、前頭前野による情報の分配法則を明らかにすることを目的とした。動物は困難な意思決定に直面した際、以前の成功・失敗体験に依存した行動(バイアス)を示すが、眼窩前頭皮質から線条体へ投射する細胞は「失敗した」という結果を次の試行まで覚えておくという作業記憶的な情報を伝達していた。このな基礎的な知見は、強迫性障害や薬物依存症などにおいて特定の神経投射を標的とした投薬などによって副作用の少ない治療が可能であることを示唆する。

研究成果の概要(英文)：Prefrontal cortex projects various brain areas to control decision makings. We took advantage of newly developed method called "optogenetic tagging" to investigate the basic principal underlying information sorting from prefrontal cortex to subcortical areas. When animals face in difficult decisions, they tend to be biased by their history of success. We found that neurons in the orbitofrontal-striatal pathways specifically show working memory-like sustained activity encoding outcome of the previous decision to the next trials. The results provide an insight that targeting specific projection pathways to treat specific psychiatric disorders such as drug addictions may be valid.

研究分野：神経科学

キーワード：光遺伝学 意思決定 眼窩前頭皮質 線条体

1. 研究開始当初の背景

前頭前野は皮質下への出力を通して動物の柔軟な意思決定を制御している。しかし前頭前野の個々の神経細胞で処理された情報がどのように下位の領域へ送られ行動が制御されるのかという神経回路レベルでの情報伝達の本質については理解されていない。

近年の光遺伝学の技術的革新によって特定の神経タイプのターゲティングが可能になり、神経表象の探索から回路レベルで情報の流れを追う研究が可能になってきた (Kepecs, 2015)。しかし分子生物学的手法が比較的容易な齧歯類において前頭前野のような高次領域の機能を明らかにするためには、これまで霊長類で行われていたような洗練された行動課題を齧歯類用に順応させる必要があり、動物の訓練等の困難等から光遺伝学的方法の高次機能への応用は未熟である。

2. 研究の目的

1) 齧歯類の前頭前野からの情報分配の性質を明らかにするためには、これまで霊長類で行われてきた認知負荷の高い行動課題を齧歯類に適用した認知課題を新たに開発する必要がある。近年、ラットが自身の内的状態 (例えば意思決定の自信) を活用して行動を最適化することができ、その過程に眼窩前頭皮質が重要な役割を担うことが報告されている。しかしこれらの研究で用いられている曖昧性のある感覚刺激と獲得報酬による条件付けにより最適行動として説明可能であることが理論的な研究により指摘されており、ラットのメタ認知能力の有無については明確な結論はできていない。本研究はこの問題を回避するため、曖昧な知覚刺激を用いずにメタ認知報告させる新たな行動パラダイムを開発し、眼窩前頭皮質からの投射経路の役割を調査するための行動評価系として活用することを目指した。

2) 前頭前野は様々な脳領域へ投射しており、前頭前野内の亜領域の存在も含め高い異質性を持つ。そのため、対象とする眼窩前頭皮質から下位の脳部位への投射を体系的に調査し、どの脳投射経路を標的とするかを検討した。近年、Allen institute により、AA ウイルスベクターを用いてマウスの投射経路を網羅的にマッピングしたデータベースが公開されており、このような体系的なデータベースは個々の研究者によるバイアスの影響を受けずに主要な投射経路を特定するのに有用ではあるが、膨大なデータを定量・可視化し必要な情報を取り出す必要がある。

3) 眼窩前頭皮質から最も強い投射をもつ腹側線条体を標的とし、光遺伝学的方法を用い

てその投射細胞を同定する。その上でその特定の投射細胞が意思決定課題遂行中にどのような情報を持っているのかを決定した。

3. 研究の方法

1) 4段階の輝度 (ゼロ、弱、中、強) の視覚刺激を左右からランダムに提示し、動物にその刺激の方向をノーズポークにより弁別させ、正しい方向の選択に対して報酬を与えた。無刺激試行では中央ポートの選択に対して報酬を与えた。そして、中央ポートが閉鎖される場合 (強制選択条件) とされない場合 (自由選択条件) で、視覚検出の正答率を比較した。この課題では視覚刺激と報酬の関係性に曖昧性は存在せず、従って中央報酬とのトレードオフの対象となり得る刺激依存的内的要因は存在しない。よって、もし動物が脳内の視覚情報を最大限に活用し報酬最大化をめざすのであれば、強制選択と自由選択条件のパフォーマンスは一致するはずである。一方、動物が恣意的な高基準 (視覚的気づき) に基づいて左右選択する場合、刺激強度に関わらず高い正解率が期待されるが、その反面、多くの誤棄却 (見逃し) も発生する。

2) Allen institute が提供する Allen brain atlas の connectivity データベース (<http://www.brain-map.org/>) を活用し、定量的な解析によって客観的に投射経路を評価する。定量的解析には以前に独自に開発した cortical box method を用いた (<http://www.nibb.ac.jp/cortex/>)。

3) アデノ随伴ウイルスベクターを眼窩前頭皮質に注入した後、テトロード電極を眼窩前頭皮質、そして標的領域である腹側線条体に光ファイバーを慢性的に留置する。このような動物において行動課題を行う前後に、青色光 (473nm) を光ファイバーを通して与え、テトロード電極で記録された細胞のうち光応答にもとづいて腹側線条体投射細胞を同定する。同定された特定の投射細胞が意思決定行動課題遂行中にどのような振る舞いをするのかを解析する。

4. 研究成果

1) ラットにおける行動評価系の確立

強制選択条件では、刺激強度に依存して左右弁別の正解率が 100 から 50% 近くまで低下した (図 1)。一方、自由選択条件では、刺激強度に関わらず、100% に近い正答率を示したが、弱刺激のうち 80% 近い試行が誤棄却されていた。興味深い事に、動物が刺激不在と判断した場合 (中央ポート選択) であっても、中央ポートを閉鎖し強制選択させると刺激強度に依存した視覚検出能力を示した。このことから、自由選択条件では報酬最大化戦略と一致しない主観的な判断基準により左右の選択を遂行していることがわかった。

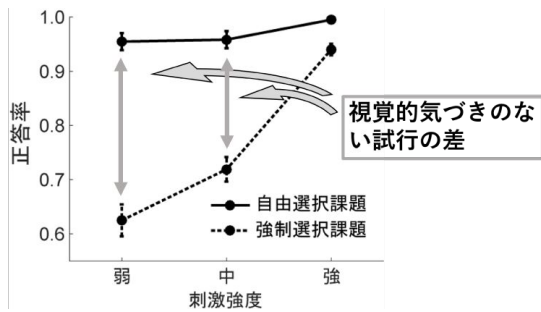


図1 ラットによる視覚的気づきの報告

これまでラットが自己の知覚・認知状態を監視しそれを利用した行動方略をとるとの研究はあったが (Foote and Crystals, 2007, Kepecs et al., 2008) 必ずしも動物が自己の状態を理解している必要は無く、実験で用いられている「曖昧な刺激」に対する条件づけによる報酬最大化として説明可能との説もあった。本研究はそのような刺激-結果の曖昧性を排除した上でも動物は自己の視覚認知基準を頼りに反応することを初めて示した。これにより、これまで霊長類にしか無いと思われていたメタ認知能力を齧歯類も示すことがわかり、本行動課題が齧歯類の前頭前野の情報処理過程を解析するのに適していることが示唆された (Osako et al., Scientific Reports, in press)。

2) データベース解析による皮質間結合

マウスの Allen brain atlas データベースを定量解析したところ当初予期していなかった知見を見出した。それは皮質領野間の結合の大半が白質ではなく灰白質を通るという結果である。霊長類では近傍の同側皮質への結合は灰白質を通り、遠方の同側皮質への投射は白質を通ることが知られている。一般にマウスでも同様であると考えられてきたが、投射経路に注目し体系的に定量的に調査した研究はなかった。そこで、霊長類・齧歯類の解剖学・分子生物学の専門家である理化学研究所の渡我部昭哉博士と共同研究を行い、これまでの常識に反して、マウスの大脳皮質領野間の結合は灰白質を通過していることを定量的解析により証明した。

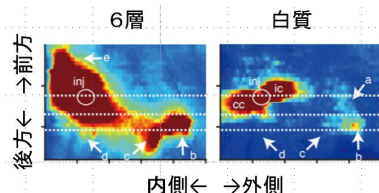


図2 第二次体性感覚野から第一次体性感覚野への連結は白質を通らず6層を通る

また、霊長類の大脳皮質領野間ではフィードフォワード結合は4層に投射し、フィードバックは上層・深層へ入ることが知られているが、齧歯類においても同じ法則が当てはまるのかを体系的に示した研究はなかった。本研究はこの点についてもデータベースを体系的・定量的に解析し、結合様式に同様な法

則があることを初めて見出した。

近年、齧歯類の実験的有用性から齧歯類を用いた知見からヒトにおける治療法の開発等への発展を目指す試みが多数なされており、脳の構造や機能を支配する法則にどの程度共通性があるのか基礎的な知見を確立することの重要性が増してきている。本研究は齧歯類と霊長類との相似性および明らかな相違について明らかにすることで、その基礎的理解やそれを利用した応用につながることを期待する (Watakabe and Hirokawa 2017)。

3) 光遺伝学的方法による眼窩前頭皮質-腹側線条体投射経路の情報決定

これまで眼窩前頭皮質から線条体へ投射する細胞を複数の動物から19細胞同定し、その細胞が意思決定課題の際に示す情報を決定した。驚いたことに、その全ての細胞が同様の情報を示していた。それは、ラットが間違った選択をした際に活動が増加し、その増加が次の試行まで持続するというパターンを示した (図3)。

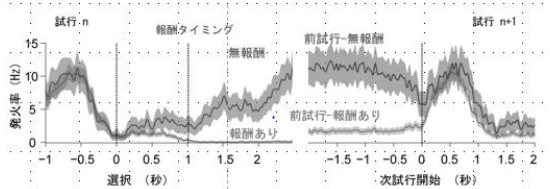


図3 眼窩前頭皮質-線条体投射細胞の活動

このような活動パターンは眼窩前頭皮質の全細胞の中でもたった9%程度に過ぎないにも関わらず、腹側線条体に投射する細胞のほとんど全てがこのパターンを示したことから、このような結果は偶然のサンプリングから生まれたものではないことは明らかである。この結果は、この投射経路が負のフィードバック情報を次の試行開始まで持続的に保持することによって、次の行動選択にバイアスをかけている可能性を示唆している。

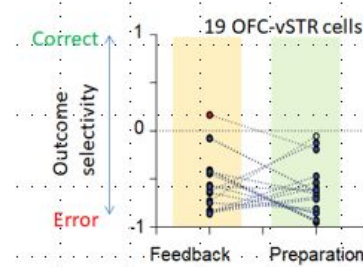


図4 眼窩前頭皮質-線条体投射細胞は均質な情報を持つ

これまで個々の脳領域の機能的な役割については議論されてきたが、特定の神経投射を標的としてその機能を特定するという方法は技術的な困難のためほとんど行なわれてこなかった。前頭前野 線条体など特定の経路の操作が可能になれば、中毒症や強迫性障害などの根本治療の確立に貢献する可能性もある。さらに本研究が明らかにした前頭前野の特定の神経細胞が特定の情報を有す

る、という知見がさらに一般化可能であることがわかれば特定経路を標的とした投薬等により特定の神経光遺伝学や人工受容体等(DREADD)の活用をさらに促進させることになり、それらの技術を応用した様々な脳疾患の治療法に繋がる可能性を持つ。

今後、この投射経路の機能的役割について、光遺伝学の新しい手法により、すなわち投射経路の選択的な抑制によりこの投射が意思決定の特定の側面について不可欠な役割を担っているのかを示す必要がある。また、今回は眼窩前頭皮質から腹側線条体への投射に着目したが、眼窩前頭皮質が投射する腹側被蓋野、上丘深層、扁桃体基底外側部、水道周囲灰白質なども標的とし、それぞれ情報の符号化にどのような違いがあるのか明らかにすることを通して前頭前野から皮質下領域への投射の機能を支配する一般原理を解明することを目指す。

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 1 件)

1. Y Osako, Y Sakurai and J Hirokawa. Subjective decision threshold for accurate visual detection performance in rats. *Scientific Reports*, In press. 2018 (査読あり)

[学会発表](計 3 件)

1. OJ. Hirokawa, S. Li, A. Vaughan, J. Pie, L Desban, Y. Osako, T. Ohnuki, H. Manabe, Y. Sakurai A. Kepecs “ Differential routing of reinforcement signals from orbitofrontal cortex to striatum depending on environmental uncertainty ” Soc. Neurosci (2017). 25.8. washington DC (USA)
2. OYuma Osako, Yoshio Sakurai and Junya Hirokawa “ Critical role of primary visual cortex in integration of perceptual and value-based decision making. ” The 44th Naito conference Decision Making in the Brain Motivation, Prediction, and Learning (2017) 3.10. - 6 Sapporo Hokkaido (Japan)
3. 廣川純也・Li Shujing., Vaughan, Alex., Pie, Lambert, Jean., Desban, Laura,. 大迫優真・大貫朋哉・眞部寛之・櫻井芳雄(2017) 眼窩前頭皮質から線条体への投射細胞は環境の不確実性に依存して強化信号を伝達する. 第40回日本神経科学大会, 幕張メッセ, 千葉市, 千葉県, July 21, 2017

[図書](計 件)

[その他]

ホームページ等

1. Hirokawa, J., Vaughan, A. and Kepecs, A. (2017) Categorical representations of decision-variables in orbitofrontal cortex. bioRxiv, <https://doi.org/10.1101/135707>

2. Watakab A. and Hirokawa J.(2017) Analysis of ipsilateral corticocortical connectivity in the mouse brain, bioRxiv <https://doi.org/10.1101/241125>

6. 研究組織

(1)研究代表者

廣川純也 同志社大学・研究開発推進機構・准教授 (HIROKAWA, Junya)

研究者番号 : 40546470

(2)研究分担者

()

研究者番号 :

()

(3)連携研究者

(4)研究協力者

大貫 朋也 (OHNUKI, Tomoya)
大迫優馬 (OSAKO, Yuma)