

令和 6 年 6 月 4 日現在

機関番号：13201

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K16471

研究課題名（和文）DREADD技術を用いた報酬価値に基づく行動決定に関わる神経回路の解明

研究課題名（英文）Elucidation of neural circuits involved in reward-based decision-making using DREADD technology

研究代表者

瀬戸川 剛（Setogawa, Tsuyoshi）

富山大学・学術研究部医学系・助教

研究者番号：80840785

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：我々は状況に応じて適切な行動を選択している。申請者はこれまでに、眼窩前頭皮質がこのような行動決定を行う上で重要な役割を担っていることを明らかにしてきた。本研究では眼窩前頭皮質から尾状核への神経回路の活動を化学遺伝学的手法であるDREADD技術によって抑制することで、行動決定における同神経回路の役割を調べることを目的とした。サルの尾状核に逆行性ウイルスベクターを用いて抑制性DREADDを発現させ、リガンドであるDCZの全身投与および眼窩前頭皮質への局所注入実験を行った。その結果、尾状核および尾状核への投射経路抑制が行動決定を行う上で重要な報酬価値の推定に影響を与えていることを示唆する結果を得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

外部からの感覚入力複数の脳領域間でどのように処理されているのかを解明することは、我々の複雑な認知機能の処理過程を理解するために必要不可欠である。本研究課題では特に報酬価値に基づく行動決定に着目し、化学遺伝学的手法をサルに導入することで、線条体の尾状核および前頭葉の眼窩前頭皮質から尾状核への神経投射が行動決定を行う上で重要な報酬価値の推定に関わっている可能性を示唆する結果を得た。本研究結果は、前頭葉や線条体の障害で適切な選択行動が阻害されている患者の治療法に対して基礎研究の面から貢献できるのではないかと期待している。

研究成果の概要（英文）：Decision-making is an important ability for our live. I have reported that orbitofrontal cortex (OFC) plays a crucial role in decision-making process. The aim of this study is to investigate the role of the neural circuit from the OFC to the caudate nucleus in decision-making by inhibiting its activity using DREADD technology. Inhibitory DREADD was expressed in the monkey caudate nucleus using a retrograde viral vector, and systemic administration of DCZ, a specific ligand of the DREADD, as well as local injection into the OFC, were performed. As a result, the inhibition of the neural pathway to the caudate nucleus might affect the estimation of reward value, which is important for decision-making.

研究分野：神経科学

キーワード：報酬価値 サル 意思決定 化学遺伝学 眼窩前頭皮質 尾状核

### 1. 研究開始当初の背景

私たちが有る目標(報酬)に向けてその目標を達成するために行動を起こすかどうかは、その目標の主観的な価値に依存する。つまり、目標である報酬の価値が自分自身にとって十分に大きいものであれば、報酬を得るまでに多少の労力がかかったとしてもその報酬を得るために行動を起こすし、逆に自分自身にとって価値が低いものであれば敢えて行動を起こすことはない。このような行動決定が適切に行われるためには、将来の報酬の価値の正確な推定や、それらの情報を用いた選択行動への変換といった脳内神経基盤が必要となる。これまでの研究により、報酬価値の推定には前頭葉の眼窩前頭皮質が重要な働きを担っていることが明らかになっている(Padoa-Schioppa and Assad, 2006)。また、報酬の価値の情報から選択行動への変換には線条体が関わっていることが示唆されている(Samejima et al., 2005)。しかしながら、眼窩前頭皮質から線条体に対して神経投射があることは確認されている(Haber and Knutson, 2010)ものの、「行動決定に関わる情報が各脳領域でどのように処理されていき最終的な行動出力に至るのか」という神経ネットワークレベルでの研究はこれまでほとんど行われていなかった。

### 2. 研究の目的

本研究では、前頭葉や線条体の構造や神経接続がヒトと類似しているニホンザルを実験動物として用い、前頭葉の中でも特に行動決定に重要である眼窩前頭皮質と、眼窩前頭皮質から神経投射を受ける線条体の尾状核に着目し、同経路の神経活動を化学遺伝学的手法によって抑制した際の動物の選択行動を解析する。これにより、眼窩前頭皮質 - 尾状核の神経ネットワークが行動決定の脳内処理に果たす役割を明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

実験には2頭のニホンザルを用いた。行動実験の課題には4種類の画像と4段階の報酬量(水: 1、2、4、8滴)を用意した。この課題では、サルがモンキーチェア内の金属バーに触れることでいずれかの画像がモニターに提示された(図1)。各画像がいずれかの報酬量を表しており、報酬を得るためには画像提示中に同時に提示される赤い四角のキューが緑色に変わったら1秒以内に金属バーから手を離す必要のある簡単な色弁別試行を成功しなければならない。この色弁別試行の難易度はどの画像が提示された場合でも一定である。もし提示された画像(報酬量)に不服であれば、色弁別中に金属バーから手を離すことでその試行をスキップすることができる。試行の成功・スキップに関わらず、次のトライアルは4種類の画像の中からランダムに選ばれた。つまりサルは、それぞれの画像刺激に対する主観的な報酬の価値を基に、そのトライアルを完遂して報酬を得るか、もしくはスキップして次のトライアルに移行するかを行動決定を行わなければならない。

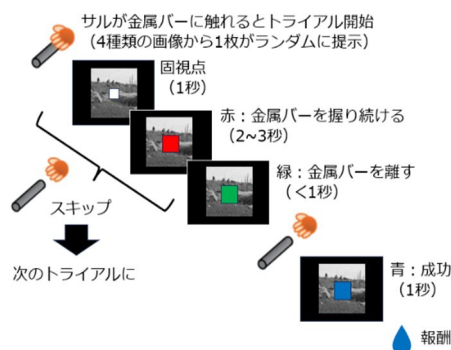


図1. 行動課題の流れ

### 4. 研究成果

まず、上記の行動課題を2頭のサルに訓練した。その結果、サルは得られる報酬量が少ない画像が提示された時ほどトライアルのスキップ率が高くなる傾向を示した(図2)。これは、サルが各画像に対する主観的な価値に応じて行動選択していることを示している。この行動課題を学習後、逆行性ウイルスベクター(AAV2R hSyn1-Flag-hM4D-IRES-AcGFP)を用いて抑制性のhM4Di-DREADDを両側の尾状核に導入した。これにより、尾状核に投射している神経細胞にDREADDが発現することになる。ウイルスベクターと同時にマンガン溶液を造影剤として注入することで、手術後すぐにMRIを用いて注入位置の確認を行った(図3)。注入後、hM4Di-DREADDの発現が完了する6週間後に以下の実験を実施した。

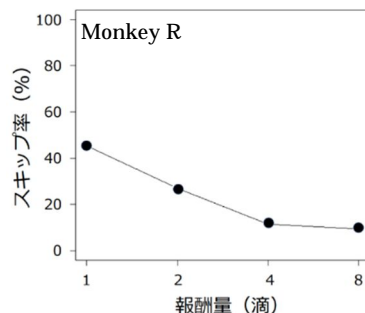


図2. 報酬量とスキップ率の関係

#### 1) リガンドの全身投与による行動選択への影響の調査

まず、尾状核および尾状核へ投射している神経回路が報酬価値に基づく行動決定に関係しているかどうかを調べるために、hM4Di-DREADDの選択的リガンドであるDeschloroclozapine (DCZ)を全身

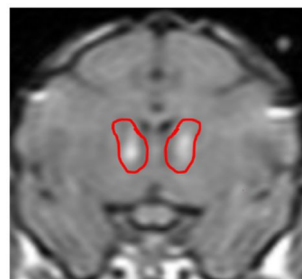


図3. AAVベクター注入位置

投与した条件と、コントロールとして生理食塩水を投与した条件の選択行動を比較した。なお、尾状核への DREADD を導入する前に DCZ の全身投与を行い、DCZ 投与のみでは課題の成績に変化がないことは確認している。どちらの条件も実験時間は 60 分とし、DCZ および生理食塩水を注射して 15 分後に課題を開始した。また、行動実験は毎週月曜日から金曜日までの 5 日間行っているが、DCZ 投与と生理食塩水投与は火曜日と木曜日に行い、週ごとに投与日を入れ替えることでカウンターバランスをとった。

行動成績の指標として、各画像が提示された際のスキップ率とスキップまでの反応時間、色弁別試行遂行時の赤色の四角が緑に変わってから手を離すまでの反応時間（トライアル成功時の反応時間）を解析した。スキップ率の解析の結果、DCZ を全身投与した際には 2 頭のサルともコントロール条件と比較して有意にスキップ率が低下した（図 4）。また、スキップまでの反応時間は DCZ 条件のほうがコントロール条件よりも遅くなった（図 5）。これは、トライアルをスキップせずに遂行しようとしたが、赤色のキューが緑色に変わる前に金属バーから手を離してしまう割合が増えたからだと考えられる。一方、トライアル成功時の反応時間は、DCZ を投与するとコントロール条件と比較して有意に早くなった（図 6）。

## 2) リガンドの全身投与による連合学習への影響の調査

1) の実験では、すでに学習された視覚刺激 報酬を用いていたが、これらの学習が成立していない状態ではどのような結果が得られるか検討した。ここでは実験毎に新規の画像を用意し、それぞれに 1、2、4、8 滴の報酬量をランダムに割り当てた行動課題を行わせ、DCZ 条件とコントロール条件の間で行動成績を比較した。その結果、上記の結果同様、トライアルのスキップ率は DCZ 条件で有意に低下した。しかしながら、提示画像と報酬量の関係性を学習し、それぞれの画像に対するスキップ率が安定するまでにかかった時間は DCZ 条件のほうが長くなる傾向にあった。

## 3) 眼窩前頭皮質へのリガンドの局所投与による行動選択への影響の調査

DREADD 導入のためのウイルスベクターは逆行性を用いたため、抑制性 DREADD は尾状核および尾状核へ投射のある神経細胞に発現している。そこで、解剖学的に尾状核へ投射している神経細胞が多く存在している眼窩前頭皮質の小領域に、DCZ あるいはコントロールとして PBS を局所注入し、上記の行動課題を行わせた。これにより、DCZ 条件では眼窩前頭皮質から尾状核への神経回路を一時的に抑制することができる。注入はオートインジェクターを用いて両側の眼窩前頭皮質に同時に行い、注入 15 分後に課題を開始した。

全身投与と同様、各画像が提示された際のスキップ率とスキップまでの反応時間、トライアル成功時の反応時間を行動成績の指標として解析した。実験前に立てた仮説とは異なり、動物のスキップ率は

眼窩前頭皮質  
尾状核の神経回路を抑制した場合では変化がなかった（図 7）。一方、トライアル成功時の反応時間は全身投与の時と同様、DCZ 条件で有意に早くなった（図 8）。

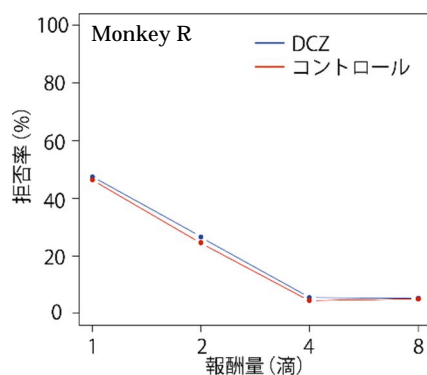


図 7 . 局所投与による行動変化

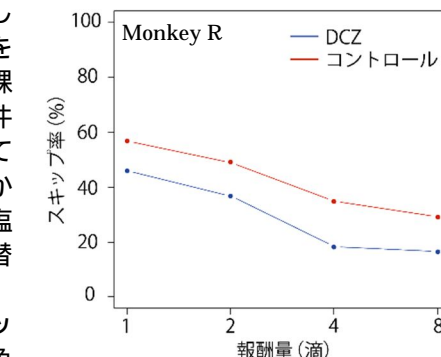


図 4 . DCZ 投与による行動変化

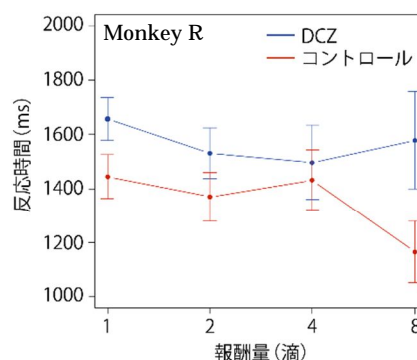


図 5 . スキップ時の反応時間

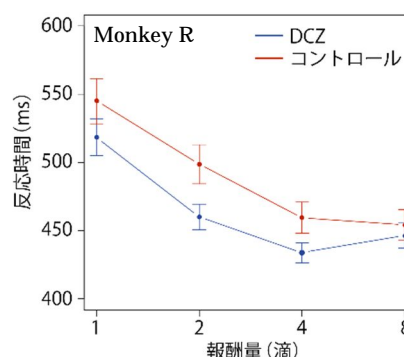


図 6 . トライアル成功時の反応時間

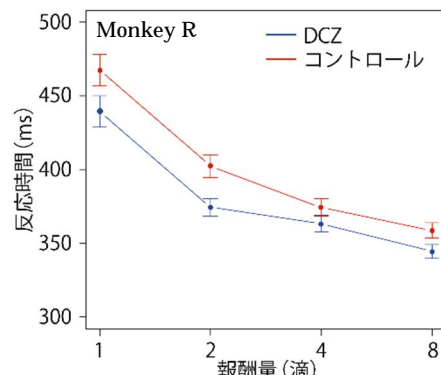


図 8 . 局所投与による成功反応時間

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Takuto Izawa, Moegi Higuchi, Masafumi Hatsushi, Jumpei Matsumoto, Hiroshi Nishimaru, Ken-ichi Inoue, Masahiko Takada, Tsuyoshi Setogawa
2. 発表標題 Chemogenetic inactivation of caudate nucleus network during reward-based decision-making in monkeys
3. 学会等名 第47回日本神経科学大会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Moegi Higuchi, Jumpei Matsumoto, Hiroshi Nishimaru, Hisao Nishijo, Narihisa Matsumoto, Munetaka Shidara, Tsuyoshi Setogawa
2. 発表標題 Neuronal activities in the monkey orbitofrontal cortex representing the reward value history
3. 学会等名 第46回日本神経科学大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Moegi Higuchi, Takuto Izawa, Jumpei Matsumoto, Hiroshi Nishimaru, Narihisa Matsumoto, Munetaka Shidara, Tsuyoshi Setogawa
2. 発表標題 Single unit activity in the monkey orbitofrontal cortex related to reward value history
3. 学会等名 Neuroscience 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023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
---------------------------	-----------------------	----

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