

令和 6 年 6 月 7 日現在

機関番号：14202

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2022～2023

課題番号：22K18645

研究課題名（和文）消去学習を促進する注意の神経メカニズム

研究課題名（英文）Neural mechanisms of attention that facilitate extinction learning

研究代表者

小川 正晃（Ogawa, Masaaki）

滋賀医科大学・医学部・教授

研究者番号：00716186

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：心理学分野では古くから、「注意とは何かを知らない人はいない」と言われるが、その神経メカニズムは、未だその多くが不明である。本研究は、期待どおりに報酬が得られずに予想と実際の報酬の差である期待外れが生じる際にその学習を促進する注意、すなわち消去学習を促進する注意の神経メカニズムを解明するための技術開発を行った。第一に、サブ秒単位で生じる報酬の期待外れに対する行動を定量的に評価するラット行動モデルを開発した。第二に、期待外れが生じる瞬間の神経伝達物質の上昇が因果的に消去学習を促進するか検討するため、その神経回路の活動をミリ秒単位で制御できる光遺伝学法と融合する行動課題を開発した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

注意という心理機能は、非常に身近なものであるが、特に、学習の度合いを調節する注意の神経メカニズムは、未だその多くが不明である。本研究は、思ったとおりにうまくいかない期待外れが生じる際に、その学習を促進する注意、すなわち消去学習を促進する注意の神経メカニズムを解明するための基礎となる技術開発を行った。本研究が対象とする神経伝達物質アセチルコリンは、記憶や認知に関わると共に、認知症や不安などに関わることで知られる。よって本研究開発は、注意機能の神経基盤を明らかにすると共に、将来的に精神・神経疾患の理解と治療につながる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：In the field of psychology, it has long been said that everyone knows what attention is but many aspects of its neural mechanisms remain unknown. This study aimed to develop techniques to elucidate the neural mechanisms of attention that promote learning when there is a discrepancy between expected and actual rewards, known as disappointment; in other words, the attention that facilitates extinction learning.

Firstly, a rat behavior model was developed to quantitatively evaluate behavior in response to reward disappointment occurring within sub-second intervals. Secondly, to investigate whether the increase in neurotransmitters at the moment of disappointment causally promotes extinction learning, a behavioral task was developed that integrates with optogenetic methods to control the activity of neural circuits with millisecond precision.

研究分野：神経科学

キーワード：注意

1. 研究開始当初の背景

(1) 心理学分野では古くから、「注意とは何かを知らない人はいない」と言われるが、その神経メカニズムは、未だその多くが不明である。神経科学分野では主に、「現在の行動表出を制御する注意」の神経メカニズムの解明が進んできた。一方、心理学、特に動物の行動心理学分野では、「環境について学習する際に、その情報処理を調節する注意」、すなわち「連合学習を調節する注意」に関する先駆的な理論研究が進んできた。例えば、結果が期待と異なり、いわゆる予測誤差が生じる場合、その誤差が陽性、陰性のどちらの場合にもその度合に応じて、その結果と条件づけされた刺激に対する注意が増加し、その刺激についての新たな学習を促進する(文献①)。この理論は、従来の神経科学分野における注意の研究には欠落している重要な視点を与える。しかし、この種の、連合学習を調節する注意を支える、短い時間単位の神経メカニズムは、未だその多くが解明されていない。

前脳基底部のアセチルコリン作動性の神経細胞は、海馬や扁桃体、大脳皮質などの他の領域に投射し、そこでアセチルコリンを放出することによって、注意や覚醒に関わると考えられている。しかし、前脳基底部由来のアセチルコリン神経回路やアセチルコリン量の変動が、報酬に関する学習に果たす役割は不明である。

2. 研究の目的

本研究は、「期待どおりに報酬が得られずに期待外れ(予測誤差)が生じるミリ秒～秒単位のタイミングに、その学習を促進する注意」、すなわち「消去学習を促進する注意」の神経メカニズムを解明する。特に、注意に関わるとされる前脳基底部のアセチルコリン作動性神経細胞の役割の解明に焦点を当てる。そのために、心理学の理論をヒントに「ミリ秒～秒単位で生じる報酬の期待外れに対する行動を定量的に評価するラット行動モデル」を開発し、それを「ミリ秒～秒単位で神経活動を計測し操作する神経科学の技術」と融合する。

(1) 期待外れに対するアセチルコリン量の変動と報酬の消去に関する行動の関係について検討する。

(2) アセチルコリン神経回路の活動が、消去学習に及ぼす因果的な役割について検討する。

3. 研究の方法

(1) 行動出力を厳密に統制できる頭部固定下のラットに、期待外れを乗り越える意欲を強く誘導する行動課題を開発した(図1)。ラットが報酬提示口と一体になったレバーを押すと感覚刺激を受け、その後にレバーを引いて、レバーの先端から確率的な報酬を得る(図1, ①→④の順)。3つの感覚刺激と異なる報酬確率(100%, 50%, 0%)の各々を条件づけした。

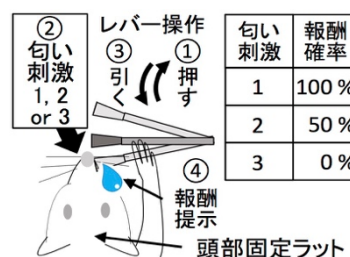


図1 本研究で用いた行動課題

この行動中のラットの海馬のアセチルコリン量の変動について、アセチルコリンセンサー(文献②)を用いて計測した。このセンサーは、アセチルコリン受容体にGFPが組み込まれた人工的な受容体であり、細胞外のアセチルコリン量が増えると、その立体構造が変化してGFPによる緑色蛍光強度が増加する。この仕組みにより、間接的に、アセチルコリン量の変動が、サブ秒単位の時間解像度で計測できる。本研究の開始にあたって、研究代表者は、ラットが50%の報酬をたまたま得られずに期待外れが生じるときに、海馬のアセチルコリン量が数百ミリ秒程度の間、増えることを見出した。

本研究は、このアセチルコリン量の変動が報酬の消去学習に関わる可能性を検証する行動課題を開発し、海馬からのアセチルコリン計測法と組み合わせた。すなわちあらかじめ50%報酬と条件づけした感覚刺激2の後に与える報酬を50%から0%に変化させた。ラットが取るべき行動は、刺激2の後に報酬が出なくなったことに注意を向けその結果を学習し、刺激2が提示された場合は報酬をあきらめて、次の報酬獲得に向けて行動を切り替えることである。アセチルコリンが消去学習を促進する注意を担うのであれば、この学習が起こるときに行動との相関関係が生じるはずである。海馬からのアセチルコリンの計測のために、ウイルスベクターを用いてアセチルコリンセンサーを発現し、次に海馬に光ファイバーを挿入した。行動中のラットから、フォトメトリー法によってアセチルコリン量の変動を計測した。

(2) 海馬へのアセチルコリン作動神経回路の活動上昇が因果的に消去学習を促進するか検討するために、アセチルコリン神経回路の活動をミリ秒単位で制御できる光遺伝学法と融合する行動課題を開発した(図2)。行動セットアップは図1と同じであるが、ここではまず感覚刺激0

と少量の 100%報酬を条件づけした。その後、新しい感覚刺激を追加して、0%報酬と条件づけする刺激を 2 つ用意した (図 2、刺激 3 と 4)。このうち刺激 3 の後の報酬無しのタイミングに、光遺伝学法を応用して、海馬へのアセチルコリン神経回路の活動を光刺激することによって、もう片方の刺激 4 の後の無報酬に対する行動と異なる行動が誘導できるかどうかを検討した。まず遺伝子改変ラットと前脳基底部へのウイルスベクター注入の組み合わせによって、海馬へのアセチルコリン回路に光遺伝学用のチャンネルロドプシン ChR2 を発現した。次に海馬に、光導入用の光ファイバーを挿入した。上述の期待外れが生じるタイミングに、青色光を照射して、アセチルコリン神経回路の活動を人工的に増やし、行動への影響を検討した。対照群として、ChR2 の代わりに eYFP を発現するウイルスベクターを注入したラットを用意し、光刺激は、ChR2 を発現するラットと同様に行った。

刺激	報酬	
	確率	光操作
1	100%	無
2	50%	無
3	0%	有
4	0%	無

図 2. 光操作と融合する行動課題。刺激 3 と 4 を報酬 0% と条件づけするが、刺激 3 の後のみ光刺激する。

4. 研究成果

(1) まず 50%報酬を 0%報酬に減らしたところ、消去する行動課題において、海馬におけるアセチルコリン量の変動と、ラットがレバーを口元に引いた後に再びレバーを押し戻すまでの時間の関係について検討した。すると 50%報酬が 0%に減った結果生じる期待外れに対して注意が高まるはずの学習の初期に、アセチルコリン量が多いほど報酬の有無を確認する時間が増加することを見出した。すなわち、試行毎のアセチルコリン量の量と、レバーを押し戻すまでの時間に、有意な陽性の相関を認めた。このことは、海馬におけるアセチルコリンの増加が報酬の消去学習を促進する注意を担う可能性を支持する。

(2) 海馬へのアセチルコリン神経回路の活動を評価するための行動課題 (図 2) を用いて、刺激 3 の後に期待外れが生じる瞬間にのみ、光遺伝学法を用いてそのアセチルコリン回路の活動を刺激した。すると、刺激 3 の提示後に、レバーを引く時間が遅くなった。また刺激 3 後の無報酬の後に次の報酬獲得に向けてレバーを押し戻す時間が早くなった。この行動の変化は、対照群のラットよりも、有意に早く観察された。以上の結果は、前脳基底部から海馬へのアセチルコリン神経回路の活動上昇によって、報酬の期待外れに起因する消去学習が促進されることを意味する。

またアセチルコリンの増減が海馬の神経活動に及ぼす影響を検討するために、アセチルコリン回路の活動を光遺伝学法で操作するとともに海馬の神経活動を計測するための技術開発を行った。

<引用文献>

- ① Pearce, J. M. & Hall, G. A model for Pavlovian learning: variations in the effectiveness of conditioned but not of unconditioned stimuli. *Psychological Review* 87, 532 (1980).
- ② Jing, M. *et al.* An optimized acetylcholine sensor for monitoring in vivo cholinergic activity. *Nature Methods* 1-26 (2020)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 向平 妃沙、石野 誠也、鎌田 泰輔、小川 正晃
2. 発表標題 A potential role of basal forebrain cholinergic neurons in learning of reward omission
3. 学会等名 第45回日本神経科学大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hisa Mukohira, Seiya Ishino, Taisuke Kamada, Masaaki Ogawa
2. 発表標題 Basal forebrain-hippocampus cholinergic signaling facilitates learning for behavioral adjustment in the absence of expected reward
3. 学会等名 Neuroscience 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hisa Mukohira, Seiya Ishino, Taisuke Kamada, Masaaki Ogawa
2. 発表標題 Basal forebrain-hippocampus cholinergic signaling facilitates associative learning for behavioral adjustment in the absence of expected reward
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 向平 妃沙、石野 誠也、鎌田 泰輔、小川 正晃
2. 発表標題 報酬の欠如に対する行動適応を促進する海馬のアセチルコリン神経伝達
3. 学会等名 第115回 近畿生理学談話会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Hisa Mukohira, Seiya Ishino, Taisuke Kamada, Masaaki Ogawa
2. 発表標題 Cholinergic signaling in the hippocampus facilitates associative learning for behavioral adjustment to absence of reward
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〕

小川正晃 研究室 https://sites.google.com/view/ogawagroup/

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
研究分担者	伊佐 正 (Isa Tadashi) (20212805)	京都大学・医学研究科・教授 (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
---------	---------