

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 17 日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26250011

研究課題名(和文) 前頭前野領野間の機能分化と相互作用

研究課題名(英文) Functional division and interaction among prefrontal cortical areas

研究代表者

田中 啓治 (Tanaka, Keiji)

国立研究開発法人理化学研究所・脳科学総合研究センター・チームリーダー

研究者番号：00221391

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 30,600,000円

研究成果の概要(和文)：前頭前野領野間の相互作用を検討するため、ルールを頻繁にスイッチする認知制御要求の高い課題を遂行中のマカクサルスの前頭前野の複数の領野から電場電位の同時記録を行い、またウイルスベクターを用いた投射特異的機能ブロック法の開発をしてきた。記録実験においては、前帯状溝皮質、主溝領域、尾状核頭部が試行の初めの注視期と試行間隔期(2秒間)に低ベータ周波数帯(~15Hz)の信号を増加させ、これらの周波数成分は3領域の間で同期していた。同期活動の増加は、この時期に3領域の間で信号のやり取りが盛んに行われていることを示唆した。

研究成果の概要(英文)：To uncover the functional interaction between prefrontal cortical areas, we have conducted simultaneous local-field-potential recordings from the monkeys performing a cognitively demanding task with frequent rule switches. We have also developed a projection-specific functional blockage method with virus vectors. In the recording experiments, the anterior cingulate sulcus area, principal sulcus area, and caudate head increased the power of activities in low-beta frequency band (~15Hz) at the initial fixation period of each trial and at the inter-trial interval, and these activities in the three regions were synchronized. The transient increase of the synchronized activities suggests that the three regions exchanged signals specifically in these time epochs.

研究分野：認知脳科学

キーワード：認知制御 執行機能 ウィスコンシンカード分類課題 前帯状溝皮質 主溝皮質 尾状核

1. 研究開始当初の背景

行動の認知制御に前頭前野が重要な機能を果たすことが脳損傷患者の機能低下と損傷部位の対応を調べる研究により示唆されてきた。しかし、前頭前野は他の脳領域との結合パターンが異なる少なくとも数個の領域から構成されている。行動の認知制御における前頭前野の重要性は明らかであるが、行動の認知制御における前頭前野内の領域間の機能分化についてはまだほとんど分かっていない。fMRI を使ったヒト被験者におけるイメージング研究が盛んに行われ、背外側部が作業記憶に重要であるとの従来の説を確認するとともに、前帯状皮質は行為選択における葛藤 Conflict を表現する、前帯状皮質は行為価値の変動の大きさ Volatility を表現して強化学習のスピードを制御する、腹内側部は行為価値の統合的表現をするなどの新しい仮説が提出された。しかし、ヒト被験者における従来のイメージング研究では空間分解能が低く、それぞれの領域において表現される情報表現や情報処理の内容を決めることが困難であった。またヒトでは、特定の領域に両側性の脳損傷を呈する患者は非常にまれであり、領域の活動と特定の行動制御機能の因果関係を定めることができなかった。そこで、ヒトに類似の前頭葉構造を持つマカク属サルでの研究が必須である。

しかし、これまでのサルを使った前頭前野の研究の多くは、固定した刺激-行為マッピングを用いるか、条件刺激により特定のマッピングを指定する、すなわち刺激依存性の行動パラダイムを用いてきた。複雑な環境での行動では、刺激-行為マッピングを超えたより複雑な行動規則が用いられ、しかも条件刺激ではなく内的な情報により特定の規則が選択されて適用される。ウィスコンシンカード分類課題 (WCST) はこのような内的な情報により規則を選んで行う行動を抽出した臨床心理検査用の課題であり、前頭前野の損傷に高い感度を持つ。私達は、WCST の動物版を開発してサルに訓練することに成功し、前頭前野の部分破壊の課題遂行への影響を調べ、課題遂行中の前頭前野神経細胞活動を記録して成果を挙げてきた。例えば、主溝領域が現在有効な行為選択規則の作業記憶を維持し、また異なる規則が示す選択の間の葛藤の経験を次の試行まで保持する、前帯状溝皮質が現在有効な規則の作業記憶による行為選択モードあるいは試行錯誤モードを強める、眼窩野が試行錯誤モードにおける 1 回の成功からの急速な学習を支える、前頭極が新奇な刺激や規則への注意の向け替えを支えるなどである。しかし、大脳領域は独立に機能するわけではなく、それぞれの要素機能を組み合わせ相互に作用し合うことで、柔軟に行動を制御する。本研究では前頭前野の複数の領域間の相互作用、特に前帯状溝皮質と主溝領域の直接の相互作用と尾状核頭部 (大脳基底核の一部) を介した相互作用に注目してそ

の機能解明を目指した。

2. 研究の目的

前頭前野の認知制御メカニズムの解明においては、前頭前野の領域間の機能分化だけでなく、領域間の相互作用を解明することが大きな前進をもたらすものと期待される。そこで、本研究では、前頭前野の認知制御メカニズムをさらに明らかにするために、WCST 課題遂行における前頭前野領域間の相互作用を明らかにすることを目指した。機能分化の研究から得られた各領域が果たす要素機能から考えて、より効率的な課題遂行のために有効ないくつかの領域間相互作用が想定された。課題遂行中のサルの複数の前頭前野領域からスパイク活動と局所電場電位を同時に記録し、想定された領域間の情報の流れを信号の統計的解析により検討した。また、同定した情報の流れを特異的にブロックしたときにサルの課題遂行に現れる影響を調べ、情報の流れから行動への因果関係を検討するため、マカクサルに適用できる投射特異的機能ブロック法を開発した。

3. 研究の方法

臨床検査で使われる WCST 課題から数の次元を落とし、シンボルの形によるマッチング規則と色によるマッチング規則に限定した WCST 動物版を開発した。ひとつの試行では、まずサンプル刺激が表れ、次にテスト刺激が 3 個表れ、現在有効なマッチングルールにおいてサンプル刺激とマッチするテスト刺激にサルが触れるとジュース (細胞活動記録実験) あるいはビスケットの粒 (破壊行動実験) を与える。6 個の色と 6 個の形の組み合わせを刺激に用い、3 個のテスト刺激のうちの 1 個はサンプルに色で一致し、他の 1 個は形で一致し、最後の 1 個は色でも形でも一致しない。正答率が 85% (20 試行中) に到達するとマッチング規則を変更する。この課題を遂行中のマカク属サルの前帯状溝皮質、主溝領域および尾状核頭部からそれぞれ 16 接点のシリコンプローブを用いて局所電場電位とスパイク活動の同時記録を行った。

4. 研究成果

WCST 遂行中のサルの前帯状溝皮質、主溝領域、尾状核頭部から電場電位を同時に記録したところ、3 領域は試行の初めの注視期 (サンプル刺激が出る前、0.75 秒間) と試行間隔期 (2 秒間) に 15 ヘルツ付近の低ベータ周波数帯の信号を増加させ、これらの周波数成分は 3 領域の間で同期していた。図 1 はそれぞれの領域の 3 部位から記録した試行間隔期の電場電位の周波数信号成分強度時間変化 (図 1 上) と部位間同期の強さ (図 1 下) を示す。周波数成分の同期は、この時期に 3 領域の間で信号のやり取りが盛んに行われていることを示唆する。さらに、試行間隔における低ベータ周波数領域の周波数成分信号

強度は、誤答後よりも正答後の試行間隔において強まっていた。正答後には次の試行へ向けて「作業記憶による行為選択モード」を強める必要がある。そこで、正答後の試行間隔におけるの同期した周波数成分信号強度増加は、前帯状溝皮質、主溝領域、尾状核頭部が協調して「作業記憶による行為選択モード」を強化しているとの私達の仮説に合致する。

一方で、逆行性遺伝子操作法を用いた投射

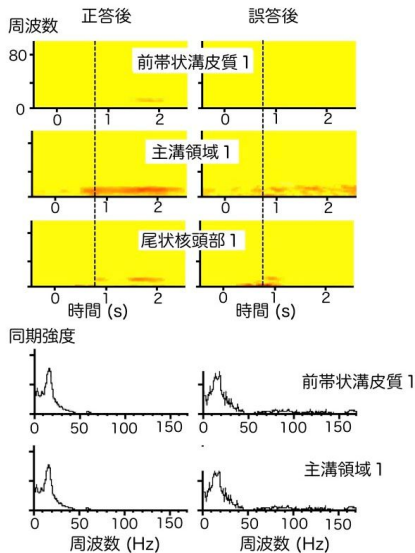


図1 電場電位の周波数成分の強度時間経過(上)と部位間同期の強さ(下)。それぞれの領域のひとつの部位での結果を例示する。上図は周波数ごとの信号強度(色)の時間変化。時間0はテスト刺激選択時。点線は選択結果へのフィードバック開始時=試行間隔期(2秒間)の始まり。下図は尾状核部位1を参照部位にしたときの他の信号間の周波数ごとの同期の強さ。

特異的機能ブロック法を開発した(図2)。本法では、投射元には、テトラサイクリン応答因子(TRE)とシナプス伝達の阻害蛋白質である破傷風毒 TeTX(実際には改良型の eTeNT)を組み込んだアデノ随伴ウィルスベクター(AAV)を注入し、神経細胞の細胞体に感染させて TeTX 発現のベースを作る。投射先には、逆行性に運ばれるコレラ毒サブユニット B(CTB)にリバーステトラサイクリン制御性トランス活性化因子(rtTA、実際には最新型 TeT-On 3G)を融合させた蛋白質の遺伝子を組み込んだ AAV を注入する。AAV-CTB-rtTA 注入部位の細胞体が感染して CTB-rtTA を産生し続ける。そして細胞間隙に放出された CTB-rtTA が神経細胞軸索終末で取り込まれて逆行性に投射元の細胞体まで運ばれる。さらに、ドキシサイクリン(Dox)投与下で、すでに遺伝子に組み込まれた TRE-TeTX に rtTA が結合して TeTX を産生する。本法のメリットのひとつは機能ブロックを可逆的にオンオフできることである。ウィルスベクターの注入手術を行った後、Dox を注入するまでは TeTX は発現しない。Dox 投与で Tet-on が働き TeTX が発現した後、Dox 投与を止めれば1~2週間で TeTX は分解される。そこで、まず Dox 投与前に機能ブロックなしの参照データを採取し、続いて Dox 投与によ

り前帯状溝皮質から主溝領域への投射を機能ブロックした状態で試験データを採取する。さらにこれを繰り返す。こうして同一個体で1週間ほどの間隔で参照データと試験データを採取することで、個体間のばらつきを排除した試験を繰り返し行うことができる。

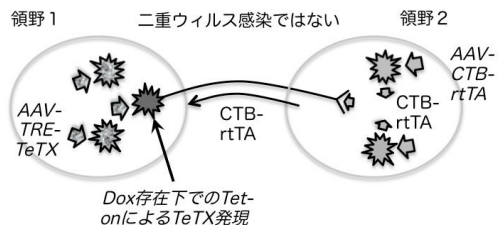


図2 投射特異的・可逆的なシナプス伝達阻害蛋白質(TeTX)の発現

前頭前野腹外側部に AAV-TRE-TeTX-GRF を、下側頭葉皮質に AAV-CTB-rtTA を注入し、Dox 投与中に灌流したサルおよび Dox 投与なしに灌流したサルの脳切片を TeTX に融合した GFP に対する免疫組織化学染色法で染色した。その結果、Dox 投与中に灌流したサルの前頭前野においては多数の陽性錐体細胞を観察したが、Dox 投与なしに灌流したサルでは陽性細胞はほとんどなかった(図3)。さらに、産生された TeTX が軸索末端まで運ばれシナプス伝達をブロックすること、またこのブロックが Dox によりスイッチできることを検証するために、電気刺激による誘導電場電位を ECoG 電極により記録する電気生理学的アッセイ法を開発した。現在、選択的な TeTX 産生をロバストに実現する注入ウィルスのタイター条件の検討および電気生理学的アッセイ法によるシナプス伝達のオンオフの検証を行っている。

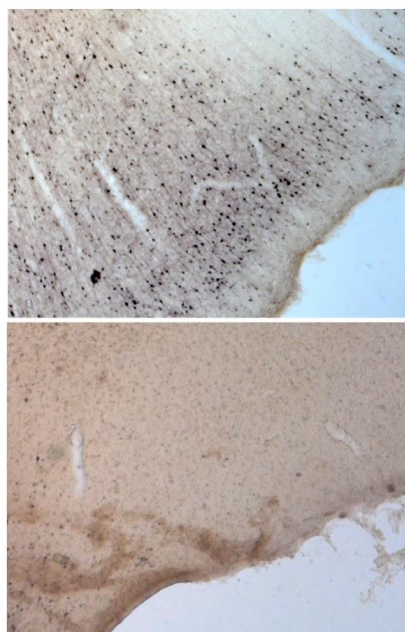


図3 前頭前野腹外側部から下側頭葉皮質への投射における投射特異的なシナプス阻害蛋白質の発現。ドキシサイクリンあり(上)となし(下)

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8件)

Mansouri FA, Buckley MJ, Mahboubi M, Tanaka K (2015) Behavioral consequences of selective damage to frontal pole and posterior cingulate cortices. *Proc Natl Acad Sci USA* 112:E3940-E3949.

Lehky SR, Tanaka K (2016) Neural representation for object recognition in inferotemporal cortex. *Curr Opin Neurobiol* 37:23-35.

Eradath MK, Mogami T, Wang G, Tanaka K (2015) Time context of cue-outcome associations represented by neurons in perirhinal cortex. *J Neurosci* 35:4350-4365.

Eradath MK, Abe H, Matsumoto M, Matsumoto K, Tanaka K, Ichinohe N (2015). Anatomical inputs to the dorsal bank of the anterior cingulate sulcus in the macaque monkey. *Front Neuroanat* 9:30.

Okamura J, Yamaguchi R, Honda K, Wang G, Tanaka K (2014) Neural substrates of view-invariant object recognition developed without experiencing rotations of the objects. *J Neurosci* 34:15048-15059.

Lehky SR, Roozbeh K, Esteky H, Tanaka K (2014) Dimensionality of object representations in monkey inferotemporal cortex. *Neural Computation* 26:2135-2162.

Mansouri FA, Buckley MJ, Tanaka K (2014) The essential role of primate orbitofrontal cortex in conflict-induced executive control adjustment. *J Neurosci* 34:11016-11031.

Kuwabara M, Mansouri FA, Buckley MJ, Tanaka K (2014) Cognitive control functions of anterior cingulate cortex in macaque monkeys performing a Wisconsin Card Sorting Test analog. *J Neurosci* 34:7531-7547

〔学会発表〕(計3件)

Mansouri FA, Tanaka K (2016.7.21) The role of frontal pole cortex in primate goal-directed behavior. 第39回日本神経科学大会、横浜

Gerard-Mercier F, Tanaka K (2016.7.21) Synchronous beta oscillations in the fronto-striatal loop for behavioral switching in macaque monkeys. 第39回日本神経科学大会、横浜

Lehky SR, Kiani R, Esteky H, Tanaka K (2014.11.19) Estimating dimensionality of object representations in monkey inferotemporal cortex. The 44th Annual Meeting of the Society for Neuroscience, Washington DC

〔図書〕(計1件)

Tanaka K, Buckley M, Mansouri F (2017) Functional division among prefrontal cortical areas in an analog of Wisconsin Card Sorting Test. *Prefrontal cortex as an executive, emotional and social brain*, (ed.) Watanabe M, Springer

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田中啓治 (TANAKA KEIJI)

国立研究開発法人理化学研究所・脳科学総合
研究センター・チームリーダー

研究者番号：00221391

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者

肥後剛康 (HIGO TAKAYASU)

国立研究開発法人理化学研究所・脳科学総合
研究センター・研究員

研究者番号：10396757

(4) 研究協力者