

科学研究費助成事業（基盤研究（S））公表用資料
〔研究進捗評価用〕

平成24年度採択分
平成27年3月11日現在

実行系機能の脳内メカニズム

ー最新技術で神経回路の構成と働きに心の動作原理を探る

Brain mechanisms behind executive function: Uncovering operating principles of the mind by applying innovative techniques to the structural and functional organizations of neural circuits.

課題番号：24223004

筒井 健一郎 (Ken-Ichiro TSUTSUI)
東北大学・大学院生命科学研究所・准教授



研究の概要 実行系機能の脳内メカニズムを神経回路の構成と機能に基づいて明らかにするため、局所および領域間の神経機能を調べるための最新技術（単一ニューロン電気穿孔法や経頭蓋磁気刺激による脳活動操作）を用いて、行動中の動物の神経活動とその背景にある神経回路の解析を行った。その結果、前頭連合野を中心とする、皮質-皮質間回路および、皮質-皮質下回路が連動して実行機能を支えている実態が明らかになってきた。

研究分野：生理心理学、認知行動神経科学、高次脳機能

キーワード：ニューロン活動、単一ニューロン電気穿孔法、経頭蓋磁気刺激（TMS）

1. 研究開始当初の背景

D. O. Hebb (The organization of behavior: A neuropsychological theory, Wiley, 1949; 「行動の機構ー脳メカニズムから心理学へ」, 鹿取ら訳, 2011) は、心の働きが脳内の神経回路の構成と動作に基づいていることをはじめて体系的に論じ、その後の心理学、さらにそれ以上に、脳神経科学の枠組みに多大な影響を与えた。それにより、今日の生理心理学や神経科学に携わる多くの研究者が、それらの学問領域の最終的な目的は、神経回路の構成と働きによって心を理解することだと考えている。一方で、従来の脳神経系の計測・実験技術は、その目的を達成するためには十分なものではなく、現在のところ、神経回路の構成と働きによって明確に説明できるのは、脊髄や脳幹レベルの反射機能にとどまっている。脳幹より上位の脳によって実現される高度な心理・精神機能に関しては、主に、脳損傷の臨床研究や脳の破壊実験、および脳機能イメージング法による局在論的知見（特定の心理機能が脳のどこで担われているか）、単一ニューロン（＝神経細胞）の活動記録による情報論的知見（脳のどの部分のニューロンがどのような情報を表現しているか）、および、神経投射に関する解剖学的知見が、それぞれ別々に蓄積されているにとどまっており、それらの断片的な知識をつなぎ合わせてシステム論を構成しているに過ぎない。そのような背景のもとで、最近、分子生物学的技術をはじめとする様々な新技術の導入によって、脳研究に方法論的ブレークスルーをもたらそうという機運が高まってきた。

2. 研究の目的

本研究は、実行系機能（＝自分が取りうる行動の結果を予測しながら行動の計画をたて、衝動的な欲求を抑制しながら、その計画を実行していく能力）の背景にある脳内メカニズムを、神経回路の構成と働きによって理解することを目的とする。そのために、独自開発の「動物の行動中に活動を記録した単一ニューロンやそれとシナプスを形成するニューロンに、遺伝子導入によって蛍光タンパク質を発現させ、標識する技術」をはじめ、様々な最新技術を駆使して、ワーキングメモリ、反応抑制、文脈依存的行動選択、という実行系の重要な機能要素に関係した脳内現象を、個々のニューロンの活動、神経回路の構成と働き、および、そこに作用する神経伝達物質という様々なレベルで、多角的・包括的に調べるための実験を行う。

3. 研究の方法

実行機能と神経回路動態との関係を調べるために、遅延反応課題などの行動課題を動物に行わせながら、脳活動の計測を行う。実験動物の特性を活かし、局所神経回路レベルの解析にはラットを、領域間神経回路レベルの解析にはニホンザルを用いて、研究を進めていく。局所神経回路レベルの研究では、活動を記録した単一ニューロンに蛍光タンパク質をコードしたプラスミドを注入して標識する手法を用いて、発火活動を記録したニューロンについて、形態学的解析、および、遺伝子発現解析を行い、神経回路の機能と形態を直接対応付けて調べる実験を行う。領域間神経回路レベルの研究は、経頭蓋磁気刺激に

よる脳活動の操作を行い、領域間の機能的差異や相互作用を調べる実験を行う。それに加えて、神経伝達物質動態と実行系機能の関係を調べるために、マイクロダイアリシスによる細胞外神経伝達物質動態の計測も行う。

4. これまでの成果

<局所神経回路レベルの研究>

げっ歯類を用いて実行系機能の神経機序をしらべるためには、まず、関係する脳領域の同定が必要である。シングル・マルチユニット記録によって、ラットの脳において、これまで、二次運動野、および帯状皮質とされていた領域の境界あたりに、遅延期間中に持続的発火活動を示すニューロンが多く存在することを、世界に先駆けて見出した。この結果は、ラットを実行機能などの高次脳機能研究の動物モデルとして用いる上で、極めて重要な発見であり、脳研究一般に大きな波及効果があると考えられる。

上記の結果をうけて、ラットの前頭葉背内側部において遅延期間中に持続的に発火する「遅延ニューロン」から記録を行い、プラスミドを注入して標識する実験を行っている。これまでに得られている結果としては次の通りである。遅延ニューロンの多くは他の領域に投射する錐体細胞であったが、一部は、その他の介在ニューロンであった。これらの細胞は、大脳皮質の特定の層に局限せず、一様に分布しているようであった。また、錐体細胞の投射は、II・III層からは、前頭葉内側部や頭頂連合野、V層からは、背内側線条体が主なターゲットとなっていた。これらは、遅延期間中の持続的発火活動の生成に、前頭-頭頂や、前頭皮質-皮質下を結ぶループ回路が関与していることを直接裏付ける、重要な結果である。

<領域間神経回路レベルの研究>

実行系機能の実現のため、大脳皮質の諸領域を結ぶ神経ネットワークがどのように機能しているかを調べるために、遅延反応課題を遂行中のサルを使って、TMSによる非侵襲的機能抑制実験を行った。前頭連合野背外側部の刺激により、反対側の視野に視空間ワーキングメモリの障害が、運動前野の刺激により、反対側の手に運動性ワーキングメモリの障害が、頭頂連合野の刺激により、視空間と手運動のマッチングに関する障害が生じることが明らかになった。さらに、課題遂行中の異なるタイミングでTMSを与えることにより、視空間認識は、後頭葉-頭頂葉-前頭連合野という順に情報処理が進んでいくのに対して、視覚・運動の情報変換は前頭連合野で、運動性のワーキングメモリは運動前野で、また、視空間的な運動の実行には、運動前野と頭頂葉との連関によって行われていることが示唆された。これは、認知課題を遂行中のサルにTMS実験を行った最初の例であるが、TMSが新たな非侵襲的な機能阻害法として非

常に有用であることを示しており、脳研究一般に大きな波及効果があると考えられる。

さらに、上記の結果に加えて、課題遂行中のマイクロダイアリシスによって、前頭連合野背外側部においては、安静時よりも実行系課題を遂行中に、また、より負荷の高いときに、ドーパミンの濃度が上昇することが明らかになった。また、文脈依存的行動選択を含む、高度な実行機能を要求する課題をサルに行わせながら記録したニューロン活動データの分析により、文脈情報の保持には背外側部が、知識（一般化されてコードされた過去の経験）情報の読み出しには、腹外側部が関わっていることが明らかになった。

5. 今後の計画

局所神経回路レベルの研究については、これまで行ってきた実験を継続するとともに、形態学的解析や遺伝子発現解析を加速させるため、直早期遺伝子(c-fosなど)を手がかりにして実行機能に関係したニューロンを同定する方法も取り入れて、実験の効率化を図りながら研究を進めていく。

領域間神経回路レベルの研究については、実行機能に関連した課題を遂行中に、皮質表面電位(ECoG)の大規模な計測を行うことにより、大脳皮質の情報の流れを詳細に解析する。また、分子生物学的手法に基づいて、経路選択的な阻害を行って、行動への影響を検討する実験も行い、神経回路の構成とはたつきについて、より多角的にアプローチしてその詳細を調べる。

6. これまでの発表論文等(受賞等も含む)

<発表論文>
Kodama, T., Hikosaka, K., Honda, Y., Kojima, T., & *Watanabe, M. (2014). Higher dopamine release induced by less rather than more preferred reward during a working memory task in the primate prefrontal cortex. *Behav Brain Res*, 266, 104-107. (査読あり)

Oyama, K., Ohara, S., Sato, S., Karube, F., Fujiyama, F., Isomura, Y., Mushiake, H., Iijima, T. & *Tsutsui, K.I. (2013). Long-lasting single-neuron labeling by in vivo electroporation without microscopic guidance. *Journal of Neuroscience Methods*, 218(2), 139-147. (査読あり)

Ohara, S., Sato, S., Oyama, K., Tsutsui, K.I., & *Iijima, T. (2013). Rabies virus vector transgene expression level and cytotoxicity improvement induced by deletion of glycoprotein gene. *PLoS One*, 8(11), e80245. (査読あり)

<ホームページ等>

http://www.lifesci.tohoku.ac.jp/teacher/ts_tsutsui/

http://www.bsc.tohoku.ac.jp/contents/c2_32/c2_32_tsutsui_k.html