

「脳を知る」

平成 11 年度採択研究代表者

丹治 順

(東北大学大学院医学系研究科 教授)

「行動制御系としての前頭前野機能の解明」

1. 研究実施の概要

大脳皮質前頭前野は高次元の認知機能を司る中枢とされてきた。前頭前野機能のなかで行動の制御という要素は特に重要であるという観点から、行動発現の統合的処理系としての前頭前野の働きを解明することを研究のねらいとした。具体的には、行動選択における前頭前野の働き、複数の行動を企画・実施する際の前頭前野の働き、および行動の時間的・空間的制御における前頭前野の役割について、それぞれ研究を実施した。いずれの課題においても研究は長期間を要する性質のものではあるが、研究は順調に進捗し、それらの一部については研究成果が得られ始め、研究発表にも至っている。今後当初の研究計画に従って研究を進めることにより、多くの成果が期待される。

2. 研究実施内容

[丹治 グループの実施内容]

1) 動作選択に関する前頭葉の運動領野特異性:

動作選択は随意的行動発現において重要な位置を占める。この研究では視覚情報に依拠した動作選択に焦点を絞り、大脳前頭葉の中で前頭前野、背側運動前野、腹側運動前野、一次運動野それぞれが、いかなる関与をするかを細胞活動の解析から明らかにすることを目的とした。日本ザルを訓練して以下の作業課題を行わせた。視覚 cue によって右手で右、または、左の目標(標的)を選択し、あるいは、左手によって右、または、左の目標を選択するといった4種類の動作(action)の選択・遂行である。例えば、第一の指示信号(1st cue)は右腕を使用するか左腕を使用するかを指示し、一定の遅延期間(1.5~2 sec)後に第二の指示信号によって右標的か左標的かの選択指示を与え、遅延期間後に準備指示信号を与えてから実行シグナルに切り替えた。また、第一の cue によって右か左の標的を指示し、第二の cue によって右か左の腕を指示する組み合わせも実施した。したがって、サルは第一、第二の入力信号を受けた後に、指令された実行動作を想定(準備)して運動を実施することになる。第一指示信号期に皮質運動野のニューロンから single unit recording を行うと、皮質領域によって明らかに応答が異なった。たとえば、前頭前野(PF)では固視点(central cue)に対して高い応答を示し、また、左右を指示する cue シグナルにも応答した。腹側運動前野(PM_v)では左右を指示する cue シグナルと、標的の位置に対して応答した。

これに対し、背側運動前野(PM_D)では標的の位置と共に、使用する腕の指示に対して応答を示した。補足運動野(SMA)は第一 cue に対してはほとんど応答しないか、あるいは非特異的な応答を示した。また、一次運動野(M1)では第一 cue に対する反応が見られなかった。第一 cue の段階ではどのような動作(action)を実施するかを予測できない。しかし、第二の cue(たとえば、右腕)が与えられると、第一の cue(たとえば、左の標的)との組み合わせにより、実行すべき動作(たとえば、右腕で左の標的を選択)を予測することが可能である。したがって、第二の cue の応答は、その cue 自身(たとえば、右腕)を反映している場合と、action のタイプを反映している場合がある。第二の cue に対する PM_D の応答の 50% は action を反映したものであり、25%が標的の位置に対する応答で、25% が使用する腕に対する応答であった。これに対して、第二 cue に対する PM_V の応答は、第一 cue の場合と同様に、左右あるいは標的に関する入力シグナルを反映した。第二 cue に対する PF の応答は第一 cue の場合と同様であった。また、第一 cue の場合と同様に、SMA と M1 は第二 cue に対してもほとんど応答しなかった。実行動作の準備 cue に対しては、PM_V は標的の位置に依存した応答が大多数で、一部は動作のタイプを反映する応答を示した。これに対し、PM_D は大多数が動作のタイプを反映する応答を示し、少数が標的の位置に依存して応答した。PF は標的に依存した応答か、非特異的応答を示した。SMA も非特異的か、使用する腕に依存した応答を示した。M1 では右、あるいは左腕に選択的な応答が見られた。このように、SMA と M1 の間でも機能は異なることが明らかとなった。

この実験は視覚情報によって、腕と標的の指示情報を取り入れて action を選択・実行する脳の異なった領域の活動を real time で追跡することが可能であった。その結果、大脳皮質の異なった運動領域は動作の選択・実施において異なった機能を果たす実態が明らかになった。

2) 動作回数の情報処理:

行動には時間的要素があり、サルは実行した行動に基づいて次の動作を選択すると考えられる。この情報の処理を解析するために、一定の動作回数による条件付けを実施した。用いた動作はレバーを押すか、回すかの2種類で、最初に低い音のシグナルを準備期間(1.4~7.5 秒)として与えた後、動作開始のシグナルを与える。動作期間は 20~46 秒で、その期間に一つの動作(たとえば、レバー押し)を 5 回反復するように条件付けた。これを実施した後、次回は異なった動作(たとえば、レバー回し)を 5 回反復させ、以後、同一動作を5回反復すると、もう一つの動作を 5 回反復するように、5 回づつ 2 種類の動作を反復するタスクを与えた。サルは時に一動作を 4 回で中断したり(十数%)、6 回まで反復すること(十数%)があったが、そのような誤った動作の時と、正動作(5回)の場合では動作時間(20~46 秒)には有意差はなかった。したがって、このタスクの実施は時間 cue に基づいているのではなく、回数(digital cue)に依存していると推測された。また、1 回から 5 回までの動作時に記録された筋電図の activity にも差は見られなかったので、疲労度が cue になっている可能性も低いと考えられる。このような digital signal の情報処理には PF が関与するであろうと仮定して、PF ニューロンの single unit 記録を実施した。しかし、この回数情報処理のタスクの実施中に、PFニューロンの応答はほとんど見られなかった。このタスクと関連して活動が見られたのは頭頂葉の5野で、しかも、5野の腕、肩の体性感覚領域に局限していた。皮質両側の5野にムシモー

ル(GABA_A レセプターアゴニスト)を注入して神経興奮性を局所的に低下させると、動作の反応時間には差が見られなかったが、正動作(5回の反復)の比率が著明に減少した。したがって、5野が回数情報処理に参与すると結論された。しかし、5回の一つの動作から次の異なる動作への変換時にはPFニューロンの活動が観察された。したがって、PFはdigital signalの処理には直接関与しないが、動作の切り替え、あるいは、状況の処理に必要と仮定される。

3) 絶対時間情報処理に関する予備実験:

レバー押しタスクで、緑のシグナルの時は、8秒間、赤シグナルの時は4秒間、黄シグナルの時は2秒間でレバーを離す条件付けを実施した。サルはこの時間学習を十数%の誤差の範囲で習得でき、色を変えても、学習は可能であった。この3種の時間タスクに参与する脳領域を検討するために、前補足運動野(Pre-SMA)と補足運動野(SMA)からのsingle unitを記録した。Pre-SMAでは時間期間の情報を指示するシグナルに対して応答して暫減する場合と、活動が暫増して時間期間のほぼ終了時に最大活動を示す場合が観察された。SMAでは特異的な応答が少なく、Pre-SMAのほうが時間情報に対してより密接であると示唆された。現在、PFからのニューロン活動の記録を実施中である。

4) 順序情報処理:

ヒトでは、認知した情報の時間構造(順序)に基づいた行動は前頭前野(PF)において企画されると云われている。この可能性をサルで検討することを計画した。タスクは固視点シグナルから一定の遅延期間(2秒)後に、例えば黄色の丸を見せ、遅延期間(0.5秒)を経て、例えば、赤の十字、さらに、緑の四角といったシグナルを順次与えて、最後に、3種類の形を同時に1秒間見せた後にgoシグナルで、3種類の形の出現した順序にtouchするように指示した。3種類の図形を示す順序はランダムに変更して、6通りの順序で提示した。このタスクの習得には約2年を要した。このタスクの実施中にPFの皮質ニューロンからsingle unit activityを記録すると、あるニューロンは、図形とは無関係に、最初、2番目、3番目のそれぞれの出現順序に特異的な順序表現活動を示した。さらに、1番と2番、あるいは2番と3番の対象に特異的な活動を示すニューロンも観察された。これらの出現順序に特異的な活動を示すニューロンは主として主溝の上部に局在していた。これに対し、主溝の下部では、順序でなく対象物体(丸、十字、四角など)に特異的な活動を示すニューロンが記録された。さらに、順序と物体の両者に特異的な活動(例えば、2番目に十字が出現した時に最大の活動を示す)が主溝の上、下両方にまたがって観察された。この研究は現在進行中で、今後さらに詳細なデータの収集を計画している。

5) 目標達成と行動選択の処理:

複数の手順で目標(ゴール)に到達することが可能な場合、その手順の企画過程と実行過程が前頭前野(PF)のニューロンの活動として表現されているかの検討を試みた。実験には迷路における経路選択課題を用いた。具体的には、最初に、格子状の経路の出発点とゴールを示し、ゴールを記憶させてから、次に経路に挿入した障害物の位置を示した後、Goシグナルで、カーソルをone step ずつ3回の動きでゴールに到達するタスクを与えた。カーソルの移動は右手首、左手首の回内運動、回外運動によって実施するが、手首の動きとカーソルの動きを変更して、ニューロンの活

動が手首の運動を反映しているのか(motor planning)、カーソルの動きを反映しているのかを(action planning)確認した。最初に、障害物を付加せずにタスクを反復させると、複数の可能な経路から次第に特定の経路を選択するようになり、その時、手首の運動とカーソルの動きを変更させても、同じ経路を選択した。したがって、経路の選択は視覚情報に依存して計画し、手の運動に依存するのではないと結論される。次に、一度、選択した経路に障害物を挿入すると、迂回路を見出すが、そのような場合でも、特定の迂回路を選択する傾向が見られた。したがって、path planningには特定の経路に優先性はあるが、その選択は必要に応じて変更する融通性が存在すると考えられる。この action planning と関連した中枢活動を検討するために、MRI を用いて PF 領域を確認して unit recording を実施した。実験では、最初に、出発点のカーソルを示し、次にゴールと障害物の位置を指示し、Go サインとなるが、この Go サイン直前のニューロン活動を記録し、action planning の過程と活動する脳領域の関連を解析した。その結果、この時期の PF ニューロンは特定の位置のゴール、特定の方向への動きのカーソル、特定位置の障害物に対して活動性を示したが、手首の運動に対応した応答は見られなかった。したがって、PF は運動情報の処理には関与しないと考えられる。障害物の位置と比較すると、ゴールとカーソルに対応したニューロンの活動性が高かった。また、障害物の位置を示す前にも、ゴールとカーソルに対応した活動性が観察された。これらの結果は、ゴールの位置情報が与えられた時点で、ある程度の先取り予測企画の過程が存在することを示唆する。

[澤口 グループの実施内容]

6) 前頭前皮質の選択的注意における役割:

前頭前皮質は雑多な情報から必要な情報を選び出す選択的注意に関与するとされてきたが、この機能がボトムアップとトップダウンの注意機構のどちらに関与するのか、すなわちターゲットの目立ちやすさに関与するかどうかを明らかにする研究を行った。ムシモールを行動課題遂行中のサルに局所的に微量注入して局所的な機能脱落を起こし、行動レベルで解析したところ、ターゲットが目立つ課題でも目立たない課題でも同様に障害が引き起こされた。また、ニューロン活動を記録・解析し、課題に関連するニューロンがどちらの課題でも同様なパターンの活動を示すことがわかった。これらの結果は、前頭前皮質はボトムアップとトップダウンの両方の注意に関与することを示す。そして、目的的行動の遂行のために邪魔な情報を排除する働きが、前頭前皮質の重要な機能の一つであることが示唆された。

7) 前頭前皮質における多重認知マップ:

前頭前皮質が情報を一時的に保持し次の行動に結びつける機能であるワーキングメモリに関与することは多くの研究で示されている。我々は最近、この領域が情報の選択(選択的注意)に関与すること、さらに注意と結びついた記憶システムが存在することを明らかにした。しかし、この3つの認知機能、すなわち、注意、注意-記憶、記憶のシステムがこの領域でどのように再現されているかは明らかになっていない。そこで、我々はこれらの認知機能を必要とする課題(視覚探索課題、遅延視覚探索課題、遅延反応課題)をサルに訓練し、実験を開始した。その結果、前頭前皮質に

は記憶を再現する部位と注意—記憶を再現する部位が多重的に存在するらしいという予備的結果を得ている。

〔徳野 グループ〕

8) トランスシナプティック投射標識法による前頭前野の機能的構築の研究:

前頭前野を中心とする神経回路が、脳のどのような部位と連絡し、どのように働くかを、神経回路の機能的構築の側面から明かにしようとするのがこのグループの研究目標である。研究手法としては、既に確立されている細胞標識法だけではなく、先進的なトランスシナプティック投射の標識法を開発し、それを追うようするべく研究を進めてきた。

研究の当初においては、WGA遺伝子組み換えアデノウイルスを利用した標識法の霊長類大脳皮質への応用を試みたが、数多くの実験の結果、むしろ狂犬病ウイルスを利用した手法の方が有用であり、複数のニューロンを経由する多シナプス性神経路の選択的可視化を霊長類の脳で実現できる可能性の有ることが予備実験で判明した。

平成 13 年度はこれらのウイルスの動態を調べるため、サル的一次運動野から逆行性にラベルされる視床、大脳基底核、小脳および大脳皮質のニューロンの分布が、ウイルス注入後の生存期間を変化させることによりどのように推移するかを詳細に検討した。今後は、それらのデータに基づき、前頭前野(特に 46 野と9野)が関与する皮質—基底核ループおよび皮質—皮質機能連鎖の構造基盤を明らかにしていく予定である。

3. 研究実施体制

丹治グループ(東北大学大学院医学系研究科)

- ① 研究分担グループ長名:丹治 順(教授)
- ② 研究項目: 行動選択における前頭前野の働き

澤口グループ(北海道大学医学系研究科)

- ① 研究分担グループ長名:澤口俊之(教授)
- ② 研究項目: 行動の空間的制御機構

徳野グループ(東京都神経科学総合研究所)

- ① 研究分担グループ長名:徳野博信(副参事研究員)
- ② 研究項目: 運動領野との機能連絡

4. 研究成果の発表

(1) 論文発表

- Sawamura H., Shima K., and Tanji J. Numerical representation for action in the parietal cortex of the monkey. *Nature*. 2002, 21;415(6874):918-922.
- Hoshi E, Tanji J. Contrasting neuronal activity in the dorsal and ventral premotor areas during preparation to reach. *J Neurophysiol*. 2002, 87(2):1123-1128.
- Tanji J. Sequential organization of multiple movements: involvement of cortical motor areas.

Annu Rev Neurosci. 2001;24:631-651.

- Tanji J, Hoshi E. Behavioral planning in the prefrontal cortex. *Curr Opin Neurobiol.* 2001, 11:164-170.
- Mushiake H, Saito N, Sakamoto K, Sato Y, Tanji J. Visually based path-planning by Japanese monkeys. *Brain Res Cogn Brain Res.* 2001, 11(1):165-169.
- Wang Y, Shima K, Sawamura H, Tanji J. Spatial distribution of cingulate cells projecting to the primary, supplementary, and pre-supplementary motor areas: a retrograde multiple labeling study in the macaque monkey. *Neurosci Res.* 2001, 39(1):39-49.
- Mushiake H, Saitoh N, Furusawa Y, Izumiyama M, Sakamoto K, Shamoto, H, Shimizu H, Yoshimoto T. Orderly activations of human cortical areas during path-planning task. *Neuro Report* 113:423-426 2002
- Sawaguchi, T. and Iba, M. Prefrontal cortical representation of visuospatial working memory in monkeys examined by local inactivation with muscimol. *Journal of Neurophysiology*, 86: 2041-2053(2001)

(2) 特許出願

無し