

「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、研究成果が得られ、研究発表を行うに至った。今後はさらに高次元の情報処理と情報表現という観点から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〕

大脳皮質前頭前野の機能解明に関し研究を進め、多くの研究成果が得られた。さらに、前頭前野と密接に連絡した大脳の高次運動領野についても研究を進め、研究成果を得ている。霊長類動物を対象とした実験を主体とするが、その成果を発展させる意味で一部ヒトの脳に関する知見が得られたことは、心理学・臨床医学・教育学等の分野への波及効果という意味で研究の社会貢献という観点からも意義があると思われる。

(1) ヒトfMRIによる前頭前野における行動選択の解析:

前頭前野は行動選択に関与すると言われていたが、どのようなタイプの行動選択を対象としているかは明らかでなかった。この問題の解析のために、3種類の行動選択課題を与え、この時の活動をヒトfMRIにより解析した。最初に、大きさ(大か小)、色(赤か青)、形(丸か四角)のサンプルからルールを選択させ、次に、そのルールに基づくターゲットを選択し、最後に、そのターゲットを選択するための指の運動を選択させた。例えば、最初、sample cueとして、大小の青い丸を2秒の間隔をおいて見せ、同色、同形の大小と言うルールを表示する。次に、5-14秒後に、test cueとして、小さな赤い四角を見せ、その2秒後に、choice cueとして、大きな赤い四角と小さな青い四角を示す。最後に、assignment cueとして、5-14秒後に、正しいtarget(大きな赤い四角)を選

択するためのボタンを二者択一的に選ばせる(運動選択)。これらのeventと関連したfMRIを16名の被験者から記録した。その結果、前頭前野の活動は行動セット(ルール)の選択において最も強く、target選択に関連しても活動が見られた。ルール選択の活動は腹側に強く、target選択は背側に著明であった。運動選択には補足運動野、運動前野の一部が関与していた。したがって、前頭前野の行動選択の関与は行動選択の種類によって部位が異なることが明らかになった。また、これらの結果は、前頭前野は運動選択への関与は強くなく、むしろ、行動プラン、運動計画と密接に関与しているというサルを用いた実験の研究結果とも良く一致した。

(2) ゴール到達計画課題において将来実施する手順を表現するニューロン活動：

この研究はサルの前頭前野(46野)が運動実施にどのように関与するかを検討することを目的とする。このために、左右の手のコントロールによって、カーソルをスタートからゴールへ3回のステップによって到達する迷路課題を与え、その際のニューロンの活動を前頭前野から記録した。このゴールの位置は運動実施の前にすでに見ることができるので、サルは最初に、行動のプランを立て、これを実行すると推測される。

この時、46野から記録されたニューロンは3回のステップの実施前に活動を示し、また、3回のステップと関連した活動も示した。しかし、実際に、手の運動に関与する活動は殆ど見いだされず、活動はカーソルの経由点と最終のゴール位置、あるいはその両者を反映していた。したがって、前頭前野の活動は運動の計画と密接に関与し、運動実行自身との関与は少ないと結論された。

(3) 運動前野における手の視覚像の移動を表現する細胞活動：

運動前野は視覚情報に基づいて運動制御に関与するが、運動前野の活動によって視覚像が移動する場合(例えば、手を動かす場合)、運動制御は視覚像の移動(視覚情報)に依存するのか、移動させている運動(運動情報)に依存するのかは明らかでない。この問題を検討するために、サルにスクリーン上の手の視覚像を見ながら、指示された手をターゲットへ移動させる課題を与え、この運動時の細胞活動を運動前野の背側部から記録した。このために、手の動きをカメラで記録し、その映像をスクリーンに投射した。したがって、カメラ記録を変形することにより、実際の手の運動とスクリーン上の視覚像の運動を解離することが可能となった。その結果、運動前野の活動は実際の手の運動方向でなく、スクリーン上の視覚像の運動方向を反映していることが明らかになった。運動前野の腹側部から記録すると、この場合も、運動前野の活動はスクリーン上の視覚像の動きに依存した。また、運動前野の活動はスクリーンに固有な座標に依存するのではなく、手の視覚像を表現する座標に依存することも明らかとなった。

(4) 前補足運動野における眼球運動の順序制御：

前頭の眼球関連運動制御部は前頭眼野(frontal eye field; FEF)、補足眼野(supplementary eye field; SEF)、前補足眼野(pre-supplementary motor area; pre-SMA)に存在すると考えられる。しかし、pre-SMAは眼球運動固有ではなく、

effectorの部位に依存しない制御系に参与する可能性も残されている。本研究はこれらの制御系のタイプを検討する目的で、サルに上、右、左の3回の急速眼球運動(saccade)を異なった順序で実施する課題を与えた。最初は、saccadeの方向を視覚情報により指示し、5回の試行後は記憶に依存して課題を実施させ、その実施時にFEF、SEF、pre・SMAから細胞活動を記録した。その結果、FEFでは、約50%の細胞が方向にのみ選択的で、順位(rank;何番目に実施したか)にのみ選択的な細胞はきわめて少数であった。また、方向、順位両者に選択的な細胞も若干、見いだされた。これに対し、SEFでは、方向のみ、順位のみ、その両者に選択的な細胞が多数見られ、全体として、方向よりは順位に選択的な細胞が多かった。

また、pre-SMAでは、方向に選択的な細胞がきわめて少数で、順位のみを選択的な細胞が多数(24%)見られ、他に、方向と順位に選択的な細胞が存在した。次に、順位の代わりに、順序(sequence;右、上、左など)を指標とすると、順序に選択的な細胞はSEFに最も多く(21%)、FEF、pre-SMAでは、そのような細胞は5・7%であった。したがって、前頭の眼球関連運動の制御には運動固有よりは、saccadeの方向などの空間情報と、運動実施の順序、順番などの時間情報に関連し、しかも、これらの制御は前頭の異なった部位(FEF、SEF、pre-SMA)が関与すると結論される。さらに、3回のsaccadeのsequenceを変更すると、最初の数回の遂行に特に強い活動を示す細胞グループがSEF、pre-SMAに観察された。

(5) 前頭前野における空間情報と身体情報の処理:

サルに右あるいは左の標的(空間情報)を、右手あるいは左手(身体情報)によって選択させる4種類の動作課題を実施した。視覚cueによる青十字は右か左の標的選択の指示で、緑四角は右手か左手の使用指示とした。右か左かは白い四角の位置によって示した。

運動野から記録した細胞には、標的あるいは手とは関係なく、右か左の白い四角のcueの位置に対して応答を示すものがあった。前頭前野の主溝の腹側部から記録した細胞の多数は第一のcueの白い四角に応答した。この部位の細胞で、標的位置あるいは手の位置に応答する細胞はきわめて僅かであった。これに対し、主溝の背側部の細胞は標的位置、手の位置のcueに応答する細胞が多く、白い四角のcueの位置に応答する細胞は比較的少なかった。第二のcueの場合は、白い四角の位置に応答する細胞は主溝の腹側にかなり存在するが、その背側にはほとんど見られなかった。標的位置あるいは手の位置に応答する細胞は腹側、背側、共に、約9%であった。この他に、右手で右標的を取る、あるいは左手で左標的を取るといった、動作に応答する細胞が主溝の腹側、背側に存在した。したがって、前頭前野では情報によって処理経路(背側から腹側へ、あるいは腹側から背側へ)が異なっていると考えられる。

この研究と関連して、丸、十字、四角の標識を異なった順序で見せた実験例では、その対象図形に特異的に応答するニューロンと、出現順位に特異的に応答するニューロンが前頭前野(46野)から記録された。この場合、図形に特異的に応答する細胞(21%)は主

溝の腹側(12野の近く)に局在し、順位に特異的に応答する細胞(28%)は主溝の背側に局在していた。また、図形の特徴にも出現順位の両方に応答する細胞(27%)は主溝の腹側であるが、対象図形特異的細胞よりは上部(主溝近く)に分布していた。したがって、図形と順位の情報を表現する細胞は領域特異的に存在すると結論された。

(6) 前頭前野の時間情報処理と動作制御への関与:

ヒトでは46野と40野、7野で、時間経過を識別すると言われている。本研究では、サルで3種類の色指示シグナルを用いて2秒、4秒、8秒の時間経過(待機時間)を識別するように訓練を実施した。サルはこの識別を数%の誤差範囲で実施できた。この時間に基づく行動制御に関与する領域を見いだすために、細胞活動をFEF、SEF、pre-SMAから記録した。Pre-SMAでは時間期間の情報を指示するシグナルに選択的に応答する細胞活動と4秒あるいは8秒の待機時間の終了時に最大活動を示す細胞が観察された。これに対し、SMAでは時間に特異的に応答する細胞が少なく、動作開始と関連して活動する細胞が見られた。したがって、時間に特異的な活動をしめす細胞はpre-SMAに分布すると考えられる。また、FEFにも待機時間の情報に選択的に反応する細胞と待機時間自体を表現する細胞が存在した。

(7) 概念的な運動計画:

複数の動作を実施する時には、動作を開始する前に動作の順序を準備する必要がある。

このためには、複数の動作を時間的にカテゴリー化することになるので、動作の概念形成を実行したと見ることができると考えられる。そのような課題を設定して、前頭前野の細胞活動を記録した。サルを訓練して、上肢3種類の動作のいずれかを、音信号をcueとして実施させ、1,2秒の間隔で行う4回の動作を一つのセット(1試行)とした。記憶させた4回の動作は、①同一動作の反復②2種動作の交互出現③2種動作の反復交替のいずれかである。これらの課題において、動作準備過程(動作開始以前)の前頭前野の細胞活動を記録解析した。この時に出現した細胞活動は一对の反復した動作、あるいは同じ動作の反復といった動作に選択的であり、動作の時間パターンを表現する特性を示した。しかも、この活動は動作開始の準備過程に出現したので、運動計画の概念化を反映した細胞活動と考えられる。この知見は前頭前野機能について、新たな研究方向を示唆する斬新なものだと判断される。

〔澤口 グループの実施内容〕

(1) 研究実施の概要:

前頭連合野は、状況に応じた適切な行動を導くことに重要な役割を果たしていると考えられている。そのためには、行なわれた行動の価値を把握し、その結果に基づいて行動の方略を変更するなどの、柔軟な行動の制御あるいは学習が必要であると考えられる。また、この機能にはドーパミンなどの神経修飾物質や、それに伴う情動的側面が深く関与していると考えられる。今年度は、報酬の期待や、期待と結果との誤差

といった情動的要素が、行動方略の変化や学習にどのような影響を与えるかを明らかにする事を主眼として、サル前頭前皮質において、慢性単一ニューロン活動記録法、光学測定法、局所薬物投与法等を用いた実験を行なった

(2) 研究実施内容

前頭連合野の高次認知機能を明らかにするため、サルを用いた慢性単一ニューロン活動記録法、局所薬物投与法、光学測定法、各種解剖学的手法などさまざまな手法で研究を進めている。平成15年度は、特に、行動の結果のモニタリングと行動計画における行動抑制に焦点を当て、次の成果を得た。1) 報酬獲得時に見られる神経活動が、直前の行動に依存して変化することを見出した。これは、直前の行動のモニタリングや評価に関わるのではないかと考えられる。次に2) 手がかり位置と運動方向を分離できる遅延アンチサカード課題を用いて、課題を遂行中のサルのPFCにGABA_A阻害剤を局所投与したところ、手がかり位置への反射的サカードが頻出した。つまり、行動計画には、神経レベルあるいはコラムレベルでの競合あるいは抑制が伴うと考えられる。16年度は、研究計画の最終年度であり、これらの結果を発展させるとともに、国際誌への発表に重点を置く。

〔徳野 グループの実施内容〕

本研究の目的は、狂犬病ウイルスによるニューロンの越シナプス性ラベルを応用して、従来のトレーサーによる単シナプス性ラベルでは困難であった、複数のニューロンを介する多シナプス性神経回路の選択的可視化を実現し、行動制御系としての前頭前野を巡る情報伝達・処理機構の構造基盤を明らかにすることである。平成15年度は、平成13年度から本格的に開始した研究計画を継続し、まずコントロール実験として、サルの一次運動野に到達する多シナプス性入力投射のパターンに基づき、狂犬病ウイルスの基本的動態を解析した。すなわち、ウイルスを注入された一次運動野の上肢領域（遠位部および近位部）から逆行性かつ越シナプス性にラベルされる大脳基底核、小脳、および大脳皮質（とくに前頭葉）のニューロン分布が、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。実験方法は以下のとおりである。（1）一次運動野の上肢領域を皮質内微小刺激法により電気生理学的に同定し、狂犬病ウイルスを局所注入した。（2）2〜4日の生存期間の後、動物を10%ホルマリンで灌流固定した。（3）摘出した脳から60ミクロンの連続切片を凍結ミクロトームで作製し、狂犬病ウイルスに対する抗体を用いて、逆行性にラベルされたニューロンを免疫組織化学的に可視化した。その結果、ウイルス注入後3日の生存期間で、視床を介した二次ニューロンの越シナプス性ラベルが、大脳基底核の淡蒼球（とくに内節）や黒質（とくに網様部）、および小脳核において多数みとめられた。3日半の生存期間では、三次ニューロンとして大脳基底核の線条体（とくに投射ニューロン）や淡蒼球外節、視床下核、および小脳皮質のプルキンエ細胞がラベルされ、さらに、4日の生存期間では、線条体のコリン作動性介在ニューロンや黒質緻密部の

ドーパミンニューロンなど、四次ニューロンと思われるラベルがみとめられた。また、生存期間に依存した逆行性ラベルの分布変化を示す所見は前頭葉皮質においても得られており、2日の生存期間では運動前野尾側部や補足運動野、帯状皮質運動野尾側部がラベルされ、3日の生存期間では運動前野吻側部や前補足運動野、帯状皮質運動野吻側部などの高次運動野がラベルされた。さらに、4日の生存期間では多数のラベルされたニューロンが前頭前野（前頭眼野を含む）にみとめられ、とくに46野腹側部において密に分布していた。また、一次運動野の下肢領域に狂犬病ウイルスを注入した例では、上肢領域に注入した場合に比べて、4日の生存期間で前頭前野においてラベルされたニューロンの数が極端に少なかった。以上のデータは、前頭前野（とくに46野腹側部）に由来する認知情報が上肢運動を伴うような行動に特異的に関与することを示唆している。加えて、平成15年度には、このような研究成果をさらに発展させ、主要研究テーマである前頭前野への多シナプス性入力様式を明らかにするため、解剖学的に同定した46野（背側部および腹側部）と9野（内側部および外側部）に狂犬病ウイルスを注入した。現在、免疫染色標本を順次作製し、データを解析中である。平成16年度は、同様の研究計画を継続し、頭頂および側頭連合野や、傍辺縁系皮質、海馬から前頭前野への入力様式の全貌を解明するとともに、前頭前野に由来する大脳基底核および小脳ループ回路の基本的枠組みを考察する予定である。

4. 主な研究成果の発表（論文発表および特許出願）

(1) 論文発表

- Ninokura Y, Mushiake H, Tanji J.
Representation of the temporal order of visual objects in the primate lateral prefrontal cortex.
J Neurophysiol. 2003 May;89(5):2868-73.
- Isoda M, Tanji J.
Contrasting neuronal activity in the supplementary and frontal eye fields during temporal organization of multiple saccades.
J Neurophysiol. 2003 Nov;90(5):3054-65. Epub 2003 Aug 06
- Ninokura Y, Mushiake H, Tanji J.
Integration of temporal order and object information in the monkey lateral prefrontal cortex.
J Neurophysiol. 2004 Jan;91(1):555-60. Epub 2003 Sep 10.
- Hoshi E, Tanji J.
Functional specialization in dorsal and ventral premotor areas.
Prog Brain Res. 2004;143:507-11.
- Nesbitt TS, Hixon A, Tanji JL, Scherger JE, Abbott D.
Risk management in obstetric care for family physicians: results of a 10-

year project.

J Am Board Fam Pract. 2003 Nov-Dec;16(6):471-7

- Nakanishi S, Fujisawa H, Kaneko T, Tanji J, Ohmori H, Shibuki K, Noda M, Yamamori T.

Present status and future aspects of studies on neuronal network formation (discussion)

Tanpakushitsu Kakusan Koso. 2004 Feb;49(3 Suppl):205-25

- Isoda M, Tanji J.

Participation of the primate presupplementary motor area in sequencing multiple saccades.

J Neurophysiol. 2004 Feb 25 [Epub ahead of print

- Shinomoto S, Shima K, Tanji J.

Differences in Spiking Patterns Among Cortical Neurons

Neural Computation 15, 2823-2824(2003)

- Tanji J, Hoshi E, Shima K, Matsuzaka Y.

Cortical Mechanisms for Cognitive Control of Motor Selection

Sofia 2003 Bulgaria

- Shima, K. Sawamura, H. Matsuzaka, Y. Tanji, J.

Action selection based on numerical monitoring of self-action.

In: Cognition and Emotion in the Brain. (eds. Ono et al.) Interna. Cong.

Series 1250:63-71(2003)

- 松坂 義哉、丹治 順

随意運動遂行の脳内メカニズム

Clinical Neuroscience 別冊 Vol.21 No.7. 2003, 772-774

「澤口G」

- Tsujimoto, S. and Sawaguchi, T.

Properties of delay-period neuronal activity in the primate prefrontal cortex during

memory- and sensory-guided saccade tasks.

European Journal of Neuroscience, 19:447-457 (2004).

- Tsujimoto, S. and Sawaguchi, T.

Neuronal representation of response-outcome in the primate prefrontal cortex.

Cerebral Cortex, 14: 47-55 (2004).

- Tsujimoto, S., Yamamoto, T., Kawaguchi, H., Koizumi, H., and Sawaguchi, T.

Prefrontal cortical activation associated with working memory in adults and

preschool
children: an event-related optical topography study.
Cerebral Cortex (in press).

「徳野G」

- Isomura Y, Fujiwara-Tsukamoto Y, Imanishi M, Nambu A, Takada M.
Distance-dependent Ni^{2+} -sensitivity of synaptic plasticity in apical dendrites of hippocampal CA1 pyramidal cells.
J Neurophysiol. 87:1169-1174, 2002
- Kitano K, Câteau H, Kaneda K, Nambu A, Takada M, Fukai T.
Two-state membrane potential transitions of striatal spiny neurons as evidenced by numerical simulations and electrophysiological recordings in awake monkeys.
J Neurosci. 22:RC230 (1-6), 2002
- Kaneda K, Nambu A, Tokuno H, Takada M.
Differential processing patterns of motor information via striatopallidal and striatonigral projections.
J Neurophysiol. 88:1420-1432, 2002
- Nambu A, Kaneda K, Tokuno H, Takada M.
Organization of corticostriatal motor inputs in monkey putamen.
J Neurophysiol. 88:1830-1842, 2002
- Akazawa T, Takada M, Nambu A.
Activity and distribution patterns of monkey pallidal neurons in response to peripheral nerve stimulation.
Neurosci Lett. 339:161-165, 2003
- Hatanaka N, Tokuno H, Hamada I, Inase M, Ito Y, Imanishi M, Hasegawa N, Akazawa T, Nambu A, Takada M.
Thalamocortical and intracortical connections of monkey cingulate motor areas.
J Comp Neurol. 462:121-138, 2003
- Fujiwara-Tsukamoto Y, Isomura Y, Nambu A, Takada M.
Excitatory GABA input directly drives seizure-like rhythmic synchronization in mature hippocampal CA1 pyramidal cells.
Neuroscience. 119:265-275, 2003
- Kaneda K, Imanishi M, Nambu A, Shigemoto R, Takada M.
Differential expression patterns of mGluR1 α in monkey nigral dopamine neurons.

NeuroReport. 14:947-950, 2003

- Isomura Y, Ito Y, Akazawa T, Nambu A, Takada M.
Neural coding of “attention for action” and “response selection” in primate anterior cingulate cortex.
J Neurosci. 23:8002-8012, 2003
- Isomura Y, Fujiwara-Tsukamoto Y, Takada M.
Glutamatergic propagation of GABAergic seizure-like afterdischarge in the hippocampus in vitro.
J Neurophysiol. 90:2746-2751, 2003
- Tachibana Y, Nambu A, Hatanaka N, Miyachi S, Takada M.
Input-output organization of the rostral part of the dorsal premotor cortex, with special reference to its corticostriatal projection.
Neurosci Res. 48:45-57, 2004
- Fujiwara-Tsukamoto Y, Isomura Y, Kaneda K, Takada M.
Layer-specific interactions between pyramidal cells and interneurons during seizure-like activity in the rat hippocampus.
J Physiol. in press, 2004
- Takada M, Nambu A, Hatanaka N, Tachibana Y, Miyachi S, Taira M, Inase M.
Organization of prefrontal outflow toward frontal motor-related areas in macaque monkeys.
Eur J Neurosci. in press, 2004

(2) 特許出願

なし