

「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〕

(1) 前頭前野背側部と腹側部における行動選択の情報処理機構の相違

外側前頭前野は前頭葉外側の広汎な部分を占める領域である。外側前頭前野の機能的構築に関しては学説が対立しており、機能の差異に基づくマップが存在するか否かに付いては、多くの研究者の注目を集めてきた。視物体の形態と色の情報は腹側部で、空間情報は背側部で処理されているというGoldman-Rakicの魅力的な説には反論も多く、未だ結論が得られていなかった。今回の研究では、動作に必要な2種類の情報処理という観点から研究を進め、新たな機能分担仮説を提唱するに至った。

この研究では視覚情報に依拠した動作選択において、大脳前頭葉の中で外側前頭前野の背側部と腹側部それぞれが、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。2種類の視覚的指示信号を二段階に分けて、しかもそれぞれ遅延時間を設けて与えた。そのうちの一組は動作を行うeffectorとして右ないしは左手の選択を意味する支持信号であり、他の一組は動作の空間的なtargetが右か左かを示すものであった。例えば、第一の指示信号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秒)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動

作実行信号を与えた。また、第一の信号 によって右か左の標的を指示し、第二の信号 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を要求された。第一指示信号期に前頭前野から単一細胞活動を記録解析したところ、前頭前野領域によって明らかに応答が異なった。前頭前野腹側部では第一、第二のどちらに対しても特異性のある応答を示した。すなわちtargetの左右を指示する信号に対し、標的の位置を示す応答と共に、使用する腕の指示に対して応答を示した。これに対し背側前頭前野では、第二の信号に対する応答が特異的であった。第二の信号（たとえば、右腕）が与えられると、第一の信号（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った。したがって、第二信号に対する応答は、その信号自身（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った。背側前頭前野細胞の第二信号に対する応答の大部分は action を反映したものであることが特徴的であった。これに対して、第二信号に対する前頭前野腹側部の応答は、第一信号の場合と同様に、左右あるいは標的に関する入力シグナルを反映していた。

以上をまとめると、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・実行する際の前頭前野細胞の活動を解析することにより、背側と腹側の領域は動作の選択・企画において異なった機能的役割を有することが明らかになった。この知見は前頭前野の機能的マップに関して新たな概念を提供したことになる。

（2）前頭前野における事象生起の順序情報表現

事象が生起する時間的関係ないし順序の情報は、エピソード記憶を構成する重要な要素である。ヒトの前頭前野が障害されると、エピソード記憶が生成されなくなる記銘障害をきたすことが知られている。外界事象の時間構造（順序）に関する情報処理が前頭前野において行われるとするならば、その神経機構はいかなるものかを知るために、サルにおける実験モデルを設定し、前頭前野の細胞活動を記録解析した。

この研究における作業課題は以下のとおりである。ニホンザルにまず前方スクリーン中央を固視させた。一定の遅延期間（2秒）後に、色と形の異なる三種類の視物体を次々と、時間間隔においてスクリーンに提示した。例えば最初に黄色の丸を提示し、遅延期間（0.5秒）後に、赤の十字を、さらに遅延期間を経て緑の四角を順次提示した。引き続き一定の待機時間を与え、その後3種類の図形を同時に1秒間提示し、GO信号出現を待ってから、3種類の図形を、それらの出現した順序にしたがって順次指差しするように要求した。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。この作業課題の習得には2年間を要した。このタスクの実施中に前頭前野の細胞活動を記録し解析した。

まず三種類の図形提示期における活動を調べると、図形の物理的特徴（色、形）に対応する活動のほかに、特徴的な活動が見つかった。すなわち図形とは無関係に順番情報、すなわち最初、2番目、3番目のそれぞれの提示期に特異的な活動画発見された。1番と2

番、あるいは2番と3番というように、複数の順番に特異的な活動を示す細胞も観察された。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、順序ではなく視物体の物理的特性に特異的な活動を示すニューロンが記録された。さらに、順序と物体の物理的特性の両方に特異的な活動（例えば、2番目に十字が出現した時に最大の活動を示す）が主溝の下方領域に観察された。

他方、3種類の図形提示後の3秒間における細胞活動を解析した。この時期には、3種類の図形の出現順序を記憶し、その後行うべき行動に対する企画をすることが要求された。この時期において特徴的な細胞活動が前頭前野で見つかった。すなわち6通りの図形出現順序のいずれかを表現する細胞活動が129個みつかった。これは待機期間中に活動の見られた細胞（302個）の43%に当たる。さらに、6通りの順序の中で、ひとつだけの順序に特異的な活動も40個の細胞に見出され、それは順序特異的活動の31%を占めていた。それら他に、2種類、3種類、4種類無いし5種類の順序の特異的な細胞活動もそれぞれ存在することが確認された。したがってそれらの細胞は集団として視物体出現の順序を表現できることになる。

以上の実験結果は、サルの前頭前野細胞活動がエピソード記憶のカテゴリーに属する事象発現順序の生成に関与することを示唆している。

（3）前頭前野、補足運動野及び前補足運動野の絶対時間情報処理への関与

ヒト及び高等動物は数秒単位の時間を認知し、区別することができる。そのようなアナログ的時間情報処理に対する前頭葉の関与を調べる目的で、以下の研究を行った。日本ザルに、絶対時間の区別を前提とした動作開始を伴う行動課題を行わせた。3種類の指示信号によって、3通りの待機時間をサルが自ら生成する課題を設定した。レバー押しという動作を開始するまでの待機時間を、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秒間とするようにサルを訓練した。時間経過そのものに関する情報は外界からは全く与えない条件下にも関わらず、サルは3通りの時間生成を十数%の誤差の範囲で行うことができることを、行動実験で確かめた。指示信号の色を変えても、時間の選択的生成は可能であった。

このような数秒単位の絶対時間生成に基づく行動制御に関与する前頭葉の領域を検討するために、細胞記録を補足運動野(SMA)、前補足運動野(Pre-SMA)及び前頭前野から行った。Pre-SMAでは時間期間の情報を指示するシグナルに対して選択的に応答する活動と、活動が漸増して、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活動が観察された。それとは対照的にSMAでは時間特異的な応答が少なく、待機時間に非特異的な、動作開始時に向けて漸増する活動が殆どであった。すなわち数秒単位の時間に特異的な活動は前補足運動野に特有ということになる。次に前頭前野の細胞活動を記録解析中であるが、補足運動野、前補足運動野とは異なった活動特性が見出された。

（4）急速眼球運動の順序制御に関する前頭眼野と補足眼野の役割：

急速眼球運動(Saccade)の順序制御に対して、前頭葉の眼球運動中枢である二つの領

域、すなわち前頭眼野と補足眼野がいかなる関与をするかを調べる目的で、以下の実験を行った。ニホンザル2頭を訓練し、中心から上・右・左方向のいずれかへ向かう3回連続Saccadeを6通りの順序で行わせた。個々のSaccadeの間には1.5秒前後の時間間隔をおいた。最初は視覚信号でSaccadeの方向を指示したが、5試行後には正しい順序を記憶して、その順序に従った連続Saccadeを行わせた。

記憶依存性の課題において、補足眼野の細胞活動はSaccadeの順序（例えば上・右・左といった）を表現する活動を示した。他方、3連続Saccadeの何番目かを示す順番を表現する活動も見出された。これに対して前頭眼野では、順序表現というよりも行うべき個々のSaccadeの方向に特異性を示す細胞活動が多かった。したがって、眼球運動野順序制御には、補足眼野の関与が強いことが判明した。

（5）前頭前野における行動のゴール表現：

将来行うべき上肢運動や眼球運動の方向を指示したときに見られる細胞活動はWorking Memoryとして扱われ、それは動作標的の空間情報の短期記憶として解釈されてきた。今回の研究では、前頭前野における細胞活動にもっと高次元の行動企画の意味が含まれているという概念のもとに、行動の目的としてのゴール表現が行われていることを証明しようとした。その目的のために計画した実験においては、複数のステップで目的とするゴールへ向かう迷路課題を用いた。最初に、格子状の迷路とともに出発点とゴールを提示した。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、カーソルをステップごとに動かし、3回の動きでゴールに到達する事を要求した。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させたが、手首の動きとカーソルの動きの対応関係を変更して、ニューロンの活動が手首の運動を反映しているのか、カーソルの動きを反映しているのかを確認した。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た。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解釈された。この課題遂行中に、前頭前野の細胞活動を記録解析した。まず明らかになったことは、前頭前野細胞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、前頭前野は運動情報事態の処理には関与しないことになる。更に明らかになったことは、一連の経路をたどる過程の最初の段階において、最初のステップにおけるゴールと、最終的なゴールの表現の両方が、すでに細胞活動として出現することである。更に、一番目、二番目、三番目のステップにおけるカーソルの移動位置が、すでに一番目の動きを企画する段階で細胞活動に表現されることも解った。これは前頭前野において、行動の先読みが順次行われており、前頭前野の細胞活動は行動出力としての動作手順ではなく行動の結果を反映することを意味している。

〔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：

- ① 行動方略の柔軟な変更のためには、まず、自己の行動の結果が適切であったかどうかの判断が必要である。この行動結果のモニタリング過程が前頭連合野で再現されているかどうかを調べるため、正答の後、報酬が獲得できる場合とできない場合がランダムに起こる、眼球運動性遅延反応（ODR）課題をマカクザルに課し、前頭前皮質（PFC）からニューロン活動を記録した。その結果、報酬のあるなしに応答するニューロン群が直前の行動に依存し活動を変えることを見出した。これは、直前の行動の価値をコードすると考えられ、学習に用いられる行動の評価に関わるのではないかと考えられる。
- ② 行動方略の柔軟な変更のためには、次に、遂行中の行動の価値を把握する必要がある。現在のところ、PFCのワーキングメモリ過程は報酬期待によって活動に違いが生じ、そのニューロン過程は、ドーパミンによる調節を受けることがわかっている。今回、この活動の違いが、報酬の価値を表現する視覚刺激に由来するものなのか、それとも行なう運動の価値に由来するものなのかを検討した。マカクザルにアンチサッカーボール課題を課し、PFCからニューロン活動を記録することで、感覚運動変換過程を詳しく分析した。その結果、感覚情報保持に関わるニューロン活動が報酬期待に強い影響を受けることを見出した。このことから、報酬の期待は、報酬の価値を表現する視覚刺激の認識や把握に、より強い影響を与えるものと考えられる。
- ③ PFCのコラム構造と、そのドーパミンによる修飾の関係を明らかにするために、光学測定法を用い、前頭前皮質スライスにおけるコラム活動を光学的に測定・解析した。その結果、皮質第4層を電気刺激すると、皮質に垂直で一定の幅を持ったコラム状の光学シグナル変化が現れた。また、ドーパミンD1受容体アゴニストの投与によって、コラム活動は幅を変えることなく、増強することを見出した。このことから、D1受容体活性化による影響は、その機能を変えることなく、活性化されたコラム内での活動の増強に寄与するのではないかと考えられる。
- ④ 行動計画の計算には、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。この行動計画における行動抑制の要素を調べるため、ODR課題と眼球

運動遅延視覚誘導反応 (OVR) 課題を遂行中のサルのPFCにGABA_A受容体アンタゴニスト (BMI) を局所的に微量注入し、課題遂行への影響を解析した。その結果、BMI注入によりしばしば反応前にサッケードが生じた。このようなサッケードは両課題とも起こるが、特に遅延期中はOVR課題でより頻繁に生じた。この結果から、背外側PFCではGABA_A受容体を介した抑制が、サッケード期までの持続的抑制に関わると考えられる。

- ⑤ サル前頭葉には、手や眼球の異なった運動機能を担う領域が複数存在している。行動指令は、前頭前野からこれらの運動関連皮質へ伝達されるものと考えられるが、手や眼球といった異なる運動に関連する領域へ投射する前頭前野ニューロンの空間的構成は良く知られていない。そこで、マカクザルの背側および腹側6野（手の運動）、8A野（眼球運動）に逆行性トレーサーを注入し、前頭前野の標識細胞の分布をしらべた。その結果、これらの運動関連領域へ投射する細胞の分布が部分的に重なっていることがわかった。このことから、前頭前野からの運動関連の出力系は少なくとも部分的に「重なり合った出力ドメイン」を形成していると考えられる。

〔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14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を用いて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マイ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大脳皮質においても得られており、前頭葉皮質に関しては、短い生存期間で前補足運動野や帯状皮質運動野など、高次の運動関連領域が、より長い生存期間では前頭前野や傍辺縁系皮質がラベルされた。このような研究成果に基づき、平成14年度末に

は、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野と9野に狂犬病ウイルスを注入し、現在、標本を順次作製し、データを解析中である。平成15年度は、同様の研究計画を継続し、前頭および頭頂、側頭連合野や傍辺縁系皮質、海馬など、大脳皮質領域からの入力様式の全貌を解明するとともに、前頭前野-大脳基底核あるいは前頭前野-小脳ループ回路の基本的枠組みを考察したいと考える。

3. 研究実施体制

丹治グループ

- ① 研究分担グループ長：丹治 順（東北大学大学院医学系研究科、教授）
- ② 研究項目：行動選択における前頭前野の働き、複数の行動企画、行動の空間的制御、行動の時間的制御

澤口グループ

- ① 研究分担グループ長：澤口俊之（北海道大学大学院医学研究科、教授）
- ② 研究項目：行動の空間的制御、行動の戦略形成機構

徳野グループ

- ① 研究分担グループ長：徳野博信（東京都神経科学総合研究所、副参事研究員）
- ② 研究項目：運動領野との機能連絡

4. 主な研究成果の発表（論文発表および特許出願）

（1）論文（原著論文）発表

- Isoda M, Tanji J.
Cellular activity in the supplementary eye field during sequential performance of multiple saccades.
J Neurophysiol. 88:3541-3545, 2002
- Shinomoto S, Shima K, Tanji J.
New classification scheme of cortical sites with the neuronal spiking characteristics.
Neural Netw. 15:1165-1169, 2002
- Ochiai T, Mushiake H, Tanji J.
Effects of image motion in the dorsal premotor cortex during planning of an arm movement.
J Neurophysiol. 88:2167-2171, 2002
- Wang Y, Shima K, Isoda M, Sawamura H, Tanji J.
Spatial distribution and density of prefrontal cortical cells projecting to three sectors of the premotor cortex.
Neuroreport. 13:1341-1344, 2002

- Fujii N, Mushiake H, Tanji J.
Distribution of eye- and arm-movement-related neuronal activity in the SEF
and in the SMA and Pre-SMA of monkeys.
J Neurophysiol. 87:2158-2166, 2002
- Tanji J, Shima K, Matsuzaka Y.
Reward-based planning of motor selection in the rostral cingulate motor area.
Adv Exp Med Biol. 508:417-423, 2002
- Sakai ST, Inase M, Tanji J.
The relationship between MI and SMA afferents and cerebellar and pallidal
efferents in the macaque monkey.
Somatosens Mot Res. 19:139-148, 2002

(2) 特許出願

H14年度出願件数：0件（研究期間累積件数：0件）