

# 不確実な報酬に惹きつけられる神経機構の解明

生理学研究所・発達生理学研究系・認知行動発達機構研究部門

小川 正晃

## 1. 目的

世の中に100%確実な報酬はほとんど存在しない。すなわち、ほぼ全ての報酬は不確実である。ここで興味深いのは、報酬獲得度合い（報酬価値）のみを考慮すれば、確実な報酬のほうが不確実な報酬よりも良い。しかしながら我々は、状況によっては、報酬価値を理解しつつも不確実な報酬により惹きつけられることがある。このような心理状況は、度が過ぎるとギャンブル依存症などに繋がる一方、恋愛などの生存に関わる過程ではより適応的に働きうるかもしれない。従来、報酬価値を担う神経機構については多くの研究がなされてきたが、不確実な報酬に惹きつけられる状態の神経機構は全くと言っていいほど、解明されていない。

我々は、生理学および動物行動心理学に基づいた理論的研究で長年の蓄積があるラットを用いた行動課題において、学習の初期には報酬価値（確率）が高い順番により惹きつけられていたのが、学習が進むとより不確実な報酬に惹きつけられるようになることを見いだした<sup>1)</sup>。この過程は、報酬価値に対応した学習を予想する既存の強化学習モデルでは説明不可能で、報酬が期待される状況で報酬がないことに対する学習を加味する新規学習モデル（Esber-Haselgrove モデル）<sup>2)</sup>によって説明できた。論文1では学習を十分に終わったときに注目して、報酬に関する意思決定の中核である眼窩前頭皮質(orbitofrontal cortex: OFC)の単一神経細胞電気活動を記録し、OFCは報酬価値のみを表象する、というこれまでの常識を覆す発見に繋がった。しかしながら依然として、学習過程におけるOFCの活動様式、およびOFCを含む神経回路が行動制御に果たす因果的役割は未解明である。

本研究は、ラットで、学習が進行すると確実な報酬から不確実な報酬に惹きつけられるようになる行動課題を開発する。さらに、ミリ秒～秒単位の神経活動操作および神経細胞種特異的な神経活動記録を可能にする光遺伝学法、遺伝子改変ラット、電気活動記録などの技術を用いて、OFCおよびそれと双方向性の強い神経連絡を持つ前脳基底部の活動様式、およびこれらの2領域の互いの神経連絡の活動が学習度合いに応じた行動制御に果たす因果的役割について明らかにするための実験系を構築することを目的とする。本研究は、依存症、強迫性障害、統合失調症などの精神疾患の病態理解に資することが期待される。

## 2. 方法

### 2-1) ラット行動課題

頭部固定下のラットに、報酬（水）提示と一体となっているレバーを押すと条件刺激として匂いが提示され、その後レバーを引くことによって報酬を得る課題を習得させた（図1）。まず報酬を得るためのレバーの操作順序を学習させた後に、3つの異なる匂いを3つの異なる報酬確率100、50、0%と条件付けする課題を開始した。1日に各匂いを40回程度ずつ、セミランダムで提示した。

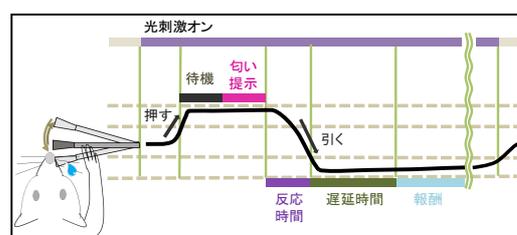


図1 行動課題

### 2-2) OFC 活動抑制のための光遺伝学法の確立

ラット OFC が、不確実な報酬条件下での行動制御に果たす役割を検討するために、マウスで条件検討を行った。まず、アデノアソシエイトウイルス(AAV)を用いて、OFCに、赤色光反応性にミリ秒単位で神経活動を抑制するクロライドポンプ Jaws<sup>3)</sup>を神経細胞特異的に発現する。次に OFC 直上に赤色光導入のための光フ

アイバーを埋め込む (図 2)。これらのマウスで、異なる 2 つの音条件刺激 (CS) 1、2 と報酬提示の有無のパプロフ型条件づけを十分にを行った後に、その関係を逆転させた。その逆転時の、CS1 提示に伴い、期待される報酬が提示されないことをマウスが認識する時間 (図 3、タイミング①)、または CS1 開始から報酬提示までの時間 (タイミング②)、またはその合計 (タイミング③) のいずれかで、OFC に赤色光照射を行った。その光照射による OFC 活動の一時的抑制によって、学習行動制御における OFC の状況特異的な因果的役割を検討した。

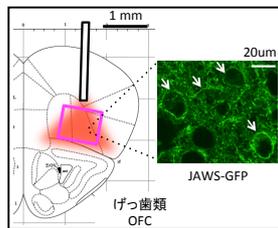


図 2 光遺伝学法

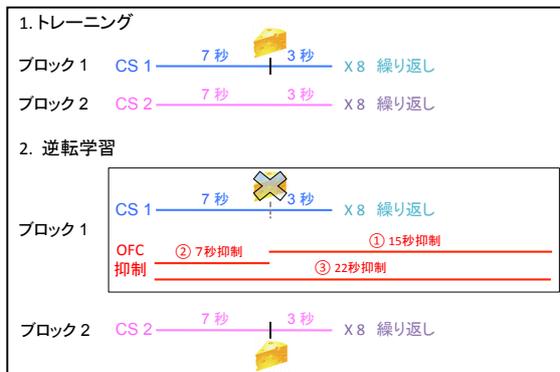


図 3 逆転学習課題と OFC 抑制のタイミング

### 2- 3) 前脳基底部コリン作動性神経細胞特異的チャンネルロドプシンの発現

DNA 組み換え酵素の Cre 依存的にチャンネルロドプシンを発現する遺伝子改変ラットを新たに共同研究で開発し、前脳基底部のコリン作動性神経細胞に Cre を発現する遺伝子改変ラット<sup>4)</sup> と交配することで、前脳基底部コリン作動性神経細胞特異的にチャンネルロドプシンを発現させた。

### 3. 結果

報酬価値を理解しつつも不確実な報酬により惹きつけられる行動を頭部固定のラットで誘導するために、3 つの異なる報酬確率 100、50、0% と条件づけされる 3 つの異なる匂い提示の時間、およびレバーを引いてから報酬を与えるまでの遅延時間について様々な条件を検討した (図 1)。その結果、図 4 に示すような行動を示すことが明らかになった。このラットの場合、匂いと報酬確率の条件づけを開始してから 7 日目以降に、1 日の全トライアルの平均では 100 < 50 < 0% の順で反応時間が早くなった (図 4、上段)。興味深いことに、9 日目の各匂いに対するトライアル毎の反応時間について検討すると、各々 4 トライアル以上で構成される、100 < 50 < 0% の順で早いブロック (薄青色) と、50 < 100 < 0% の順で早いブロック (薄黄色) が現れた (図 4、下段)。

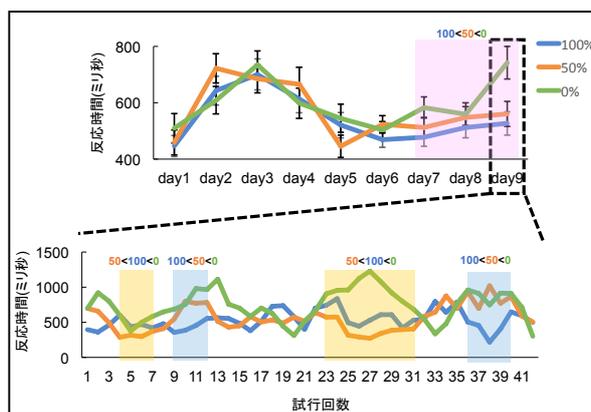


図 4 匂い提示後のレバー引き反応時間の学習依存的な変化

次に、OFC が不確実な報酬条件下での行動制御に果たす役割を検討する目的で、逆転学習課題時に期待される報酬が提示されなくなるブロックにおいて、光遺伝学法を用いて OFC を秒単位特異的に抑制した (図 2、3)。①のタイミングで抑制すると、次のブロックの、新たに報酬と条件づけされた CS2 に対する反応行動が、コントロールと比べて有意に低下した。反対に、②のタイミングでの抑制で、CS2 への反応行動は有意に上昇した。③のタイミングで抑制するとこのような変化はなかった (図 5)。すなわち、1) OFC 神経活動の抑制により、獲得した刺激-報酬関係構造の学習記憶が調節を受けた結果、その学習記憶を利用する次の適応行動に有意に影響がある、2) その OFC 神経活動抑制の影響は、条件刺激提示時のみ、または、報酬提示のタイミングのみ抑制する場合で反対になる (状況特異的)、ことを見いだした。

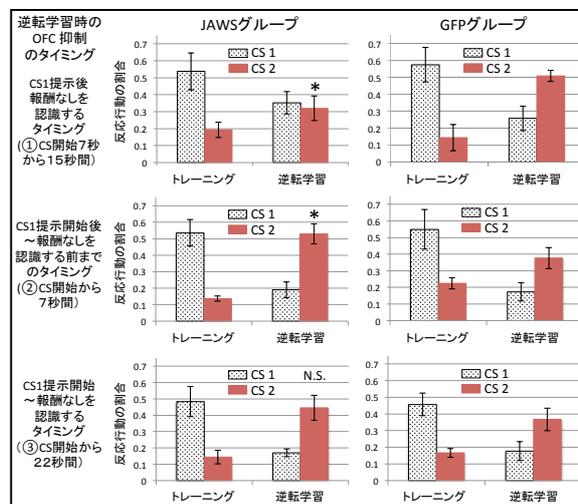


図 5 逆転学習課題における OFC 抑制のタイミング依存的な行動への影響

次に、2種の遺伝子改変ラットの掛け合わせにより、前脳基底部のコリン作動性細胞特異的にチャンネルロドプシンを発現させる試みを行った。コリン作動性の細胞特異的にチャンネルロドプシンに付随する GFP のシグナルを認めたもののその発現は期待した程度ではなかった。

#### 4. 考察

本研究により、従来全く報告されていない、不確実な報酬に惹きつけられる心理状態における神経活動基盤を調べるための行動が確立できた。非常に興味深いことに、外部からの刺激（匂いと報酬確率の関係）は変化しないにも関わらず、ラットは、報酬価値を指標とする行動（100<50<0%の順）と、より不確実な報酬に惹きつけられているように見える行動（50<100<0%）を、自発的にスイッチすることがわかった。このような各々の行動を示すときにおいて、OFC または前脳基底部細胞はどのように活動するのであろうか？可能性としては、これらの異なる行動パターンそのものの違いを反映する細胞に加えて、これらの行動に関わらず100<50<0%の順、または、50<100<0%の順に反応する細胞が存在する可能性を想定している。行動の新規性を鑑みると、不確実な報酬に対する脳活動について新たな知見が得られるものと期待できる。

さらに、目的とするコリン作動性神経細胞からの記録およびその活動に対する OFC 活動抑制の影響を検討するための基礎成果（図5）を得た。また、本助成により、すでに神経電気活動記録を開始している。

本研究成果を基に、今後は、第一に、前脳基底部コリン作動性神経細胞特異的チャンネルロドプシンの発現効率改善を目指す。異なる Cre 依存的チャンネルロドプシン発現ラットを開発しつつ、ウイルスで発現する方法も検討する。Cre 依存的にチャンネルロドプシンを発現するウイルスはすでに別の系統で機能することは検討済みである。それらのツールを用いて、光遺伝学的にコリン作動性細胞を同定しながら記録を行う。平行して、OFC からの記録も行う。第二に、マウスで確立した OFC 抑制のための光遺伝学法をラットに応用する。とくに、50%報酬と条件づけされた匂い提示後に、報酬が期待されるが実際には提示されない時間特異的に OFC を抑制することによる行動への影響、および、前脳基底部コリン作動性神経細胞の活動への影響について検討する予定である。

最後に、本研究をご支援いただきましたアステラス病態代謝研究会に深く感謝申し上げます。

#### 5. 参考文献

- 1) Ogawa M, Van der Meer M, Esber G, Cerri D, Stalnaker TA, Schoenbaum G. (2013) Risk-responsive orbitofrontal neurons track acquired salience. *Neuron*, 77: 251-258.
- 2) Esber G, Haselgrove M. (2011) Reconciling the influence of predictiveness and uncertainty on stimulus salience: a model of attention in associative learning. *Proc Biol Sci.*, 278: 2553-2561.
- 3) Chuong A, Miri M, Busskamp V, Matthews G, Acker L, Sørensen, A, Young A, Klapoetke N, Henninger M, Kodandaramaiah S, Ogawa M, Ramanlal S, Bandler R, Allen B, Forest C, Chow B, Han X, Lin Y, Tye K, Roska B, Cardin J, Boyden E. (2014) Noninvasive optical inhibition with a red-shifted microbial rhodopsin. *Nature Neuroscience*, 17: 1123-1129
- 4) Witten I, Steinberg E, Lee S, Davidson T, Zalocusky K, Brodsky M, Yizhar O, Cho S, Gong S, Ramakrishnan C, Stuber G, Tye K, Janak P, Deisseroth K. (2011) Recombinase-driver rat lines: tools, techniques, and optogenetics application to dopamine-mediated reinforcement. *Neuron*, 72: 721-733