

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年3月28日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～2011

課題番号：21500264

研究課題名（和文） 時間知覚における前頭前野と線条体の機能的役割

研究課題名（英文） Functional roles of prefrontal cortex and striatum in duration discrimination

研究代表者

生塩 研一 (OSHIO KENICHI)

近畿大学・医学部・助教

研究者番号：30296751

研究成果の概要（和文）：

脳の前頭前野や大脳基底核は時間計測に関与すると考えられていますが、具体的な役割は未解明です。私は引き続いて呈示された図形の表示時間の違いを弁別する課題をサルに与えて、その課題遂行中に個々の神経細胞の活動を調べました。線条体では、前頭前野で見出された時間の長短を大まかに分ける標準時間を表現する神経細胞がみられ、さらに、時間長にアナログ的に依存した神経細胞があることもわかりました。

研究成果の概要（英文）：

The prefrontal cortex and the basal ganglia are considered to be related with temporal estimation. However, their functions remains unclear. We recorded single-unit activity from the brain regions while monkeys were performing a duration discrimination task. We found that, in the striatum, phasic (transient) activity with various time intervals from the cue onset, which was previously found in the prefrontal cortex. Furthermore, striatal neurons showed duration-responsive activity in the following delay periods.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：情報学・認知科学

キーワード：時間認知，時間知覚，大脳生理学，電気生理学，前頭前野，線条体，大脳基底核，霊長類

1. 研究開始当初の背景

「時計を使わずに自分で10秒を計って下

さい」と言われたら、誰でもそこそこのタイムを出せるだろう。その際、頭の中で「いー

ち、に一い、、、」と言いながら、頭を前後に動かしたり、指でテーブルをタップしながら、人によっては足でリズムをとりながら10まで数えることで10秒を当てようとするかも知れない。この場合、1秒を作り出すメカニズムが問題の本質となる。もし、「1秒を計ってください」と言われたら、今度は1秒より短い時間を脳内で作ってそれを数えるようなことはせず、ワンストロークで1秒を計ろうとするはずだ。ただ、この問題設定では被験者が人生経験の中で度々出会う1秒をしっかりと長期記憶に埋め込んでいることが前提となっている。

では、そもそもその1秒をどうやって脳内に符号化するのだろうか？ 脳が時間をどのように処理しているかという時間知覚の問題については、心理学の範疇では古くから取り組まれて来た。ところが、全く意外なことに神経生理学者の興味をあまり惹いて来なかった。視覚や聴覚はそれぞれの感覚器が刺激を受容して、脳内のそれぞれの感覚野が情報処理を行う。一方、時間は視覚や聴覚などのモーダリティーに依存しない物理情報であり、時間情報処理に特化した感覚器は存在しない。ヒトを使ったfMRIやPETの脳機能イメージング実験や、ラットなどの小動物を使った薬理学的実験・摘除実験などから、前頭前野、頭頂葉、運動補足野、運動前野、大脳基底核、小脳、海馬などの多くの領野が時間知覚において何らかの形で関与していることが分かってきた。しかし、それら個々の領野でどのような時間情報処理がなされているかについては、ほとんど何も分かっていないのが実情である。

時間知覚に関わるとされる各脳領野の具体的な役割を明らかにするには、電気生理実験によって個々のニューロンレベルで情報処理機序を解明する必要がある。実験課題も容易ではないので、実験動物としてはサルがもっとも適切である。時間知覚に関するサルの電気生理実験は、Niki & Watanabe (1976)の先駆的な論文以来、頭頂葉LIP野から記録したLeon & Shadlen (2003)と、前頭前野から記録したSakurai et al. (2004)などの数報があるに過ぎず、世界的にも着手され始めたばかりでほとんど未開拓の挑戦的なテーマである。申請者も時間に関するサルの電気生理実験を開始しており、刺激呈示期間や遅延期間における前頭前野や線条体ニューロンの活動からそれらの機能的役割を明らかにし、3編の原著論文(Oshio *et al.*, 2008; Chiba *et al.*, 2008; Oshio *et al.*, 2006)の他、北米神経学会やヨーロッパ神経学会などの国際会議で発表してきた。

- Oshio K, Chiba A, Inase M (2008) “Temporal filtering by prefrontal

neurons in duration discrimination” Eur J Neurosci 28(11): 2333-43.

- Chiba A, Oshio K, Inase M (2008) “Striatal neurons encoded temporal information in duration discrimination task” Exp Brain Res 186: 671-676.
- Oshio K, Chiba A, Inase M (2006) “Delay period activity of monkey prefrontal neurons during duration-discrimination task” Eur J Neurosci 23: 2779-2790.

2. 研究の目的

申請者は時間弁別課題をサルに行わせて、脳機能イメージング実験などで時間知覚との関連が示唆されている前頭前野と大脳基底核の線条体からニューロン活動を記録してきた。前頭前野は、attention、タスク遂行、working memoryなどに関わることが知られており、時間知覚においても一定の役割を果たしていることは想像に難くない。また線条体は、視床などを介して前頭前野と解剖学的なループ回路を形成しているだけでなく、以前から指摘されてきた運動制御に加えて、近年、認知過程との関連が報告されている領野であり、前頭前野と連関した時間情報処理をしている可能性が高いと考えられている。申請者の時間弁別課題では、呈示時間の異なる2つの視覚刺激を引き続いて呈示した後で長い方を選択させている。申請者はこれまで、主に、視覚刺激呈示後の遅延期間（計るべき時間を呈示した後の刺激呈示のない期間）における前頭前野ニューロンの活動を調べ、前頭前野が引き続いて2つ呈示される視覚刺激のうち1番目が長いと2番目が長いというタスクタイプ、呈示された視覚刺激の情報、2番目の視覚刺激の予測といった、タスクをこなすための戦略的な過程を担っていることを明らかにした(Oshio *et al.*, 2006)。また、1番目の刺激呈示期間（時間を計る期間）における前頭前野ニューロンの活動を解析したところ、刺激開始から一定時間後にバースト的な発火を示すニューロンが多数を占め、前頭前野が時間長のフィルタリングをしていることを示した(Oshio *et al.*, 2008)。

上述の時間長フィルタリングが時間知覚に深く関与しているとすれば、不正解だった試行(エラー試行)においてはそのフィルタリング機能が上手く働かなかった可能性がある。そこでまず、フィルタリングに寄与していたニューロンの活動の様子をパラメトリックに詳細に調べた。次に、線条体からのニューロン活動記録を進めた。さらに、視覚と聴覚の両方の感覚種による時間呈示を試み、前頭前野と線条体の相互のシステムの関

係性の下に時間知覚の脳内機構を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

本研究ではサルに時間弁別課題を与えてトレーニングし、課題を成績よくできるようになった時点で、その課題遂行中に前頭前野と大脳基底核の線条体から単一ニューロン活動を記録する。正答率や反応時間と、呈示時間パラメータとの関係などの行動データ解析を行い、サルが課題遂行に際してとった戦略を推定することで、ニューロン活動データ解析の参考とする。また、ニューロン活動データからは、刺激呈示時間パラメータと呈示期間・遅延期間・選択期間におけるニューロンの発火の様子との関係を解析することで、呈示された視覚刺激の持続時間の計測過程、計測した時間情報のコード過程、コードした時間の比較過程に対する前頭前野と線条体の機能的役割を解明する。1年目は主に前頭前野、2年目以降は線条体からのニューロン活動も記録した。

実験遂行の基本的な流れとして、まず、サルに時間弁別課題ができるように段階を追ってトレーニングする。本研究でサルに与える時間弁別課題について説明する。時間的に変化しない色のついた図形（青色か赤色の四角形）を視覚刺激として用い、それがコンピュータディスプレイ上に表示されている間の時間をサルが計るべき呈示時間として与える。実験は暗くしたシールド内にて行う。モンキーチェアに座らせたサルの30cm前には、6.5インチ・コンピューターディスプレイと3つのボタン（1つは保持用、2つは視覚刺激選択用）が装着されたアクリルパネルを、口のすぐ前には報酬用のステンレスチューブを設置する。サルが保持用のボタンを押すとタスクが開始され、ディスプレイ中央に小さい白色の四角形が1秒間表示される。引き続き、1番目の視覚刺激（青色か赤色の四角形、C1と呼ぶ）を呈示。1秒の遅延期間後に2番目の視覚刺激（赤色か青色の四角形/1番目の視覚刺激と違う色、C2と呼ぶ）を呈示。1秒の遅延期間後に視覚刺激である青色と赤色の四角形を左右にならべて同時に表示し、呈示時間が長い方の色を1.5秒以内にボタン押しで選択すると報酬（フルーツジュース）を与える。また、1番目の視覚刺激C1の後の遅延期間をD1、2番目の視覚刺激C2の後の遅延期間をD2と呼ぶ。時間弁別する時間スケールとしては認知過程とも関係が深い、数百ミリ秒から数秒より選んだ。具体的には、200ミリ秒から2000ミリ秒の間（200ミリ秒間隔）で約20ペアの長短呈示時間を予め決めておいて、各試行でそれらのペ

アからランダムに選び、呈示時間の長短の順序や赤青の順序もランダムに与える。つまり、固定された見本時間を与えるのではなく、種々の刺激呈示時間のテスト刺激を2つ同時に呈示し、そのいずれが長いかを判断させるのである。こうすることによって、固定された時間を長期記憶する可能性を回避でき、呈示時間を計って符号化する過程を調べられる。視覚刺激呈示時間や反応時間などのイベントデータとスパイクデータの取り込み、それから、トレーニングやニューロン活動記録は、全て、実験制御ソフトであるTEMPO SYSTEM (Reflective Computing, St. Louis, MO, USA)をインストールしたコンピュータによる制御のもとで行う。また、実験中のサルの行動はCCDカメラによりシールド外からリモートで観察する。

トレーニング期間は、約半年から1年を要した。トレーニングが完了した時点で、ニューロン活動記録実験に入った。まず、ニューロン活動記録実験の準備として、頭部固定具を装着し、記録用ステンレスチャンバーを記録部位である前頭前野がカバーできる位置に装着した。ニューロン活動記録実験では、頭部をステレオに固定し、時間弁別課題遂行中に硬膜上からエポキシ被覆タングステン電極 (FHC, USA) を刺入して細胞外記録法によりニューロン活動を拾った。電極は一次元油圧マイクロマニピュレータ (Narishige, JAPAN) で進めた。電極からの信号はアンプで増幅して、150-3000Hzのバンドパスフィルタを施した。それから、マルチスパイクディテクタ (MSD; Alpha Omega Engineering, Nazareth, Israel) で8点テンプレートマッチング法により単一ニューロン活動を分離してスパイク検出し、TEMPO SYSTEMでスパイクデータをオフライン解析のため保存した。MSDは1本の電極から3つのニューロンまで分離可能である。

まず、前頭前野ニューロンの活動を記録し、刺激呈示期間・遅延期間・選択期間などでのニューロンの発火頻度の変化や刺激呈示時間とのパラメトリックな関係性をオフライン解析した。これまで、遅延期間や1番目の刺激呈示期間のデータ解析を進めてきた (Oshio *et al.*, 2006, Oshio *et al.*, 2008) ので、その知見に基づいて、遅延期間などのパラメトリックな依存性を中心に解析を進めた。また、ニューロン活動記録実験と平行して、別のサルのトレーニングも開始した。

次に、線条体からの記録も開始した。前頭前野のニューロン活動記録実験と同じチャンバーから、電極の刺入角度を調整するなどして線条体にもアプローチできる。だが、線条体は比較的深部にあり、電極が途中で曲がらずに進む精度が要求される。よって、より硬度のあるガラス被覆エルジロイ電極を使

用した。その記録実験によって得られる線条体ニューロン活動データについて、刺激呈示期間・遅延期間・選択期間などでのニューロン活動の変化や刺激呈示時間とのパラメトリックな関係性をオフライン解析し、時間知覚におけるニューロン活動記録領域の機能的役割、及び、それら相互のシステム的关系性を検討した。

4. 研究成果

申請者らが 2008 年に発表した論文(Oshio *et al.*, 2008)では、前頭前野が1番目の刺激呈示時間を長短の2つのカテゴリーに分ける、つまりフィルタリングする役割があることを示した。1番目の刺激呈示期間(C1)に刺激呈示開始から一定の遅延後、バースト的な発火を示すニューロンが前頭前野で多数見付かったのである。そして、その遅延時間が刺激呈示時間の平均値に近いことから、サルはまず、1番目の刺激呈示時間を長短の2つのカテゴリーに大まかに分類する処理をしており、それらのニューロンはそのフィルタリングをする際の基準時間を示していると考えた。もし、このフィルタリングが時間弁別課題を遂行するために必要な処理であるとすれば、エラー試行ではこのフィルタリングが上手く機能していない可能性がある。この仮説を検証するため、それらの前頭前野ニューロンが示すバーストのピーク時間がエラー試行でシフトしているかどうかを解析した。基本的にエラー試行は少ないので、解析に耐えうるデータを追加で取得し、エラー試行の解析を実施した。結果を図1に

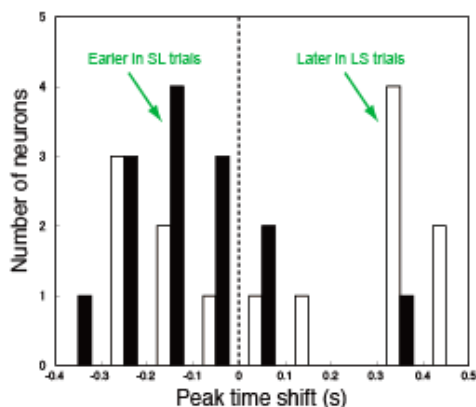


図1：エラー試行でのピーク時間シフト

示す。横軸は正答試行に対するエラー試行のピーク時間シフトである。例えば、それが負になっているということは、エラー試行の方がピーク時間が短い、つまり早いタイミング

でバースト発火していることを示す。白と黒のバーはそれぞれC1の方が短かった試行(SL試行)とC1の方が長かった試行(LS試行)を示す。ピーク時間シフトが負の領域で黒のバーが多い。これはSL試行ではエラー試行においてピーク時間が早く、短いC1を適正に「短い」カテゴリーに分類し損ねていることを意味する。逆に、ピーク時間シフトが正の領域では白いバーが多く、LS試行でピーク時間が遅くなったため、長いC1を適正に「長い」カテゴリーに分類し損ねていたことが分かった。このように、エラー試行の詳細な解析により、サルがC1を長短に大まかに分類する基準の時間を表現しているという仮説が支持された。

次に、同じ課題を使って大脳基底核の線条体からもニューロン活動記録実験を行った。刺激呈示期間の全体的な傾向として、C1期間中よりもC2期間中に応答を示すニューロンが多かった。C1期間中の活動については、発

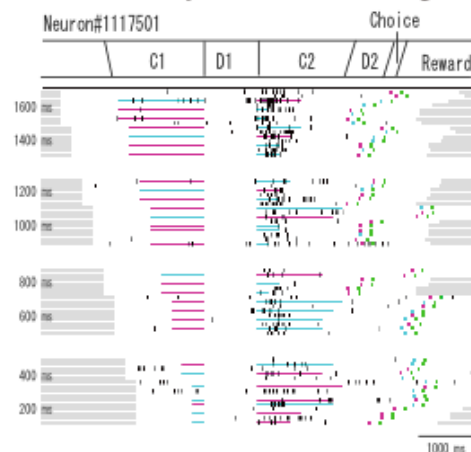


図2：C2に応答した線条体ニューロン

火頻度がピークになるまでの時間(ピーク時間)がC1開始から0.6秒くらいであるニューロンが多く、ピーク幅では0.3秒あたりが多かった。C1の視覚刺激に対する応答としては遅延時間が長いので、個々のニューロンが特定の時間(ピーク時間)に反応していると考えられる。また、C2についてはC2開始からのピーク時間に多様性が多く、0.35秒と比較的早い時間にある程度の分布があり、0.7秒付近の比較的遅い時間にもう一つの分布の偏りがみられた。早いピークは0.35秒以下の短い時間長を検知しているのかもしれない。早いピークの例を図2に示した。遅いピークは長短の中間に近いので、大まかに長短を分けるための基準時間を示しているのかもしれない。C1とC2の直後にはそれぞれ1秒の遅延時間を設けている(それぞれ、D1、D2)。D1ではC1の長さ依存した反応が見ら

れた。D2 では C2 に依存した反応に加え、C2 が結果的に長い短いかという情報を含んでいるものもあった。線条体のニューロンは、総じて、前頭前野の活動と類似して短いバースト的な発火をするニューロンに課題関連性がみられた。線条体に特有な活動としては、C1 や C2 の時間長にアナログ的に依存した遅延期間の活動であり、前頭前野 - 大脳基底核 - 視床のループ回路が時間長情報処理にどのような役割を果たしているかは今後の課題である。

時間は視覚でも聴覚でも同じであり、脳内で時間情報を抽出しているはずである。そこで、これまでの視覚刺激による実験結果を詳しく検討するため、また、より純粋な脳の時間長情報処理過程を調べるため、視覚刺激と聴覚刺激を混ぜて時間長を呈示する実験を行った。ちなみに、複数種の感覚刺激を用いた時間長情報処理に関する単一ニューロンレベルでの記録実験は世界初である。今回、視覚刺激としては緑色の四角で、聴覚刺激は 2000Hz の純音で与えた。2つの時間長を引き続いて呈示した後、より長い時間呈示された刺激を選択すると正解とした。選択する際は、1 番目の刺激を青、2 番目の刺激を赤に割り当てる訓練により、刺激の順番を色で選択させた。呈示する時間長の長短の順や視覚刺激と聴覚刺激の別はランダムとした。そして課題遂行中の前頭前野のニューロン活動を細胞外記録法で詳細に調べた。前頭前野は全ての感覚情報が送られる場であり、感覚種によらない情報処理がなされていることが期待された。実験の結果、視覚刺激に応答するニューロンが多く、聴覚刺激に応答するニュー

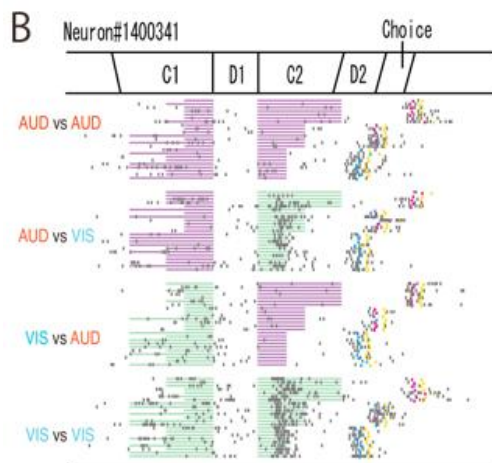


図 3 : C2 で視覚刺激にのみ応答した前頭前野ニューロンの例。

ロンは少なかった。C2 期間で視覚刺激のみに応答したニューロンの例を図 3 に示した。に何より驚いたのは、視覚と聴覚の両方に応答したニューロンが聴覚刺激応答ニュー

と同じ程度にしか検出されなかったことだ。このように、高次情報処理を担う前頭前野においてもなお、視覚刺激と聴覚刺激を別々に処理されていることが分かった。つまり脳が時間を感覚種に依存しない抽象的な量として処理していないことがと推察される。研究成果を日本生理学会大会と日本神経科学学会大会において発表した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 6 件)

- ① Oshio K, Possible functions of prefrontal cortical neurons in duration discrimination. *Front Integr Neurosci* 5: 25, 2011, 査読有.
- ② Chiba A, Oshio K, Inase M, Effects of visual and auditory cues on duration discrimination in the monkey. *J Physiol Sci* 61, S180, 2011, 査読無.
- ③ Chiba A, Oshio K, Inase M, Response properties of monkey prefrontal neurons to visual and auditory cues in a duration discrimination task. *Neurosci Res* 71, e177, 2011, 査読無.
- ④ Chiba A, Oshio K, Inase M, Response properties of monkey striatal neurons during a duration discrimination task. *J Physiol Sci* 60, S155, 2010, 査読無.
- ⑤ Chiba A, Oshio K, Inase M, Cue response properties of monkey striatal neurons during duration discrimination task. *Neurosci Res* 68, e292-293, 2010, 査読無.
- ⑥ Oshio K, Chiba A, Inase M, Prefrontal neurons contribute to temporal filtering in duration discrimination. *Neurosci Res* 65, S192, 2009, 査読無.

[学会発表] (計 6 件)

- ① 千葉惇, 視覚性と聴覚性の時間呈示による時間弁別課題のサル前頭前野の応答, 第 89 回日本生理学会大会, 2012 年 3 月 31 日, 松本.
- ② 千葉惇, 視覚性と聴覚性呈示における時間弁別課題中のサル前頭前野ニューロンの応答特性, 第 34 回日本神経科学大会, 2011 年 9 月 16 日, 横浜
- ③ 千葉惇, 時間弁別課題における視覚性と聴覚性の手がかり期の影響, 第 88 回日本生理学会大会, 2011 年 3 月 28 日, 横浜.

- ④ 千葉惇，時間弁別課題中のサル線条体の手がかり期の神経細胞の活動特性，第33回日本神経科学大会，2010年9月3日，神戸.
- ⑤ 千葉惇，時間弁別課題中のサル線条体ニューロンの活動，第87回日本生理学会大会，2010年5月20日，盛岡.
- ⑥ 生塩研一，時間弁別において前頭前野は時間フィルタリングに寄与する，第32回日本神経科学大会，2009年9月17日，名古屋.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

生塩 研一 (OSHIO KENICHI)

近畿大学・医学部・助教

研究者番号：30296751

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし