



Title	セロトニンの視覚刺激検出能に対する修飾作用とその神経基盤
Author(s)	佐藤, 彰典
Citation	大阪大学, 2020, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/76622
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

博士論文

セロトニンの視覚刺激検出能に対する修飾作用と
その神経基盤

**Modulatory effects of serotonin on
perceptual visual detectability of rat and
the underlying neuronal mechanism**

佐藤 彰典

大阪大学大学院 生命機能研究科 生命機能専攻

スポーツ脳情報科学研究室

主査

七五三木 聡 教授

2020 年 3 月

Abstract

The information processing in the brain dynamically changes depending on behavioral context, and psychological state. The dynamics are regulated mainly by neuromodulators such as serotonin (5-hydroxytryptamine; 5-HT), regulating various brain functions such as arousal, sleep, emotion, and memory.

Serotonergic neurons in raphe nucleus project their axons to the cerebral cortex including visual areas, modulating neural activities in the areas via various subtypes of 5-HT receptors. A previous study reported that 5-HT receptor-selective agonists facilitate or suppress visual responses in monkey primary visual cortex (V1), suggesting that serotonin may optimize visual information processing by the bidirectional effects (Watakabe et al., 2009). However, it remains unclear whether and how serotonin affects visual functions at perceptual level. To investigate this point, firstly, I measured contrast sensitivity (CS) of freely moving rats as an index of perceptual visual detectability using a two-alternative forced choice-visual detection task (2AFC-VDT) with drifting grating stimulus in combination with the staircase method. Fluoxetine (FLX), a selective serotonin reuptake inhibitor, or saline was intraperitoneally administered at 5 mg/kg 30 minutes before the task. FLX administration significantly improved CS only at grating spatial frequency (SF) of 0.1 but not 0.5 cycle/degree, suggesting that endogenous serotonin modulates perceptual visual detectability and the possible action site is V1 neurons showing specificity for SF of grating.

Next, to clarify the neural mechanism of the effect of serotonin on CS, I established a new visual stimulus detection task under head-fixed condition, which enables perceptual CS measurement and recordings of extracellular single-unit activity in V1 simultaneously. I tested the effect of Ketanserin, an antagonist of 5-HT_{2A} receptor, on the CS and neural activities of V1 neurons using the task. Ketanserin was intravenously administered with 2 mg/kg via the tail vein of rats, improving significantly CS and facilitating the neuronal visual responses. It suggests that serotonin modulates visual perception via 5-HT_{2A} receptor. However, it is not unclear whether and how much neuronal activity in V1 contributes to perceptual decision-making. Therefore, we compared visual responses between Hit and Miss trials for each neuron using a receiver operating characteristic analysis. Under control (no drug) condition, about 20% of V1 neurons were observed to be correlated to the task performance, and interestingly, the correlation was increased by ketanserin, suggesting that serotonin modulates not only cortical visual information processing but also contribution of visual signal in V1 to perceptual decision-making via 5-HT_{2A} receptor.

This study showed that endogenous serotonin in the brain improves perceptual visual detectability, but decreases perceptual visual detectability via activation of 5-HT_{2A} receptors alone. The discrepancy for serotonin actions can be explained by different subtypes of 5-HT receptors. In V1, at least, 5-HT_{2A} and 1B receptors are present, and those have been known to act in an opposing way. Serotonin may improve visual detectability mainly via 5-HT_{1B} receptor and may be balanced with 5-HT_{2A} receptor.

In conclusion, serotonin released to V1 depending on behavioral context, such as rhythmical exercise, controls perceptual visual detectability by modulating neural activities bi-directionally in V1 and changing contribution of V1 activity to visual percept.

要旨

私たちの脳内の情報処理は、行動文脈や心理状態に応じて動的に変化する。この動的な変化は、主にセロトニン(5-hydroxytryptamine; 5-HT)などの神経修飾物質によって調節され、覚醒、睡眠、感情、記憶などのさまざまな脳機能を調節している。

縫線核のセロトニン作動性ニューロンは、視覚領域を含む大脳皮質に軸索を投射しており、さまざまなサブタイプの 5-HT 受容体を介して神経活動を修飾している。過去の研究では、5-HT 受容体選択的アゴニストがサル一次視覚野 (Primary visual cortex; V1 野) の視覚応答を促進または抑制することが報告されており、セロトニンが双方向性の修飾を行うことで、視覚情報処理を最適化する可能性が示唆されている(Watakabe et al. 2009)。しかしながら、セロトニンが知覚レベルで視覚機能に対してどういった影響を与えるのかについては分かっておらず不明な点が多い。そこで、セロトニンの知覚レベルでの視覚機能におよぼす影響を調べるため、まず自由行動下ラットのコントラスト感度 (CS) を、ドリフトグレーティング刺激を視覚刺激として用いた二肢強制択一視覚刺激検出課題 (2 alternative-forced choice visual detection task) と階段法を組み合わせた課題を用いて測定した。そして、選択的セロトニン再取り込み阻害剤であるフルオキセチン (FLX) または生理食塩水を、課題の 30 分前に 5 mg/kg で腹腔内投与した。その結果、FLX 投与は、視覚刺激の空間周波数 (Spatial frequency; SF) が 0.1 cycle/degree (cpd) の条件でのみ、CS を大幅に改善したが、0.5 cpd では改善効果は見られなかった。これは、内因性セロトニンが知覚レベルでの視覚検出能を向上させる作用を持つこと、そしてその作用部位が同じく視覚刺激に対して SF 特異的な応答を示す V1 野ニューロンであることを示唆している。

次に、CS に対するセロトニンの効果の神経機序を明らかにするために、頭部固定条件下での新しい視覚刺激検出課題の構築を行った。この課題を用いて、CS の測定と同時に V1 野の細胞外単一ユニット活動の記録を行った。そして、CS および V1 野ニューロンの神経活動に対する 5-HT_{2A} 受容体の拮抗薬であるケタンセリンの効果を調べた。ケタンセリンは、ラットの尾静脈を介して 2 mg/kg で静脈内投与され、その結果、ケタンセリン投与によって CS の改善と、V1 野視覚応答の促進の修飾効果が見られた。これはセロトニンが 5-HT_{2A} 受容体を介して視覚を調節することを示唆している。しかし、V1 野の神経活動が視覚刺激検出課題において知覚的意思決定に寄与するかどうか、またどの程度貢献するかは不明だった。そこで、ROC 解析 (Receiver Operating Characteristic analysis) を用いて、ラットが視覚刺激を検出できた時とできなかった時の、V1 野ニューロンの神経活動を比較した。その結果、V1 野ニューロンの約 20% が課題成績に

相関する活動を示すことが観察された。興味深いことに、この相関はケタンセリン投与によって増加し、このことはセロトニンが 5-HT_{2A} 受容体を介して V1 野の視覚情報処理を修飾しているだけでなく、知覚的意思決定への視覚応答の寄与についても調節していることを示唆している。

本研究での実験において、脳内の内因性セロトニンが知覚レベルでの視覚刺激検出能を改善させる一方で、5-HT_{2A} 受容体のみの活性化を介して視覚刺激検出能を低下させることを示した。このセロトニン作用の不一致は、5-HT 受容体のさまざまなサブタイプによって説明できる。V1 野では、少なくとも 5-HT_{2A} および 1B 受容体が存在し、それらは拮抗した作用を示すことが先行研究によって明らかになっている。セロトニンは、主に 5-HT_{1B} 受容体を介して視覚刺激検出能を改善し、5-HT_{2A} 受容体と同時に活性化されることでバランスをとっている可能性がある。

これらの結果から本研究によって、リズムカルな運動などの行動文脈に応じて V1 野に放出されたセロトニンは、双方向に V1 野神経活動を修飾し、視知覚への V1 野活動の寄与を調節することにより知覚レベルでの視覚刺激検出能を制御していることが分かった。

目次

第1章 研究背景	9
1.1. 中枢神経系におけるセロトニン神経系	9
1.1.1. セロトニン神経系と投射	9
1.1.2. セロトニン受容体とサブタイプ	10
1.2. 視覚系	11
1.2.1. 視覚経路と初期視覚野	11
1.2.2. V1 野と層構造	11
1.3. セロトニンと視覚情報処理	11
1.4. 本研究の目的	12
第2章 自由行動下ラット視覚刺激検出能に対するセロトニンの修飾効果	14
2.1. 背景と目的	14
2.2. 方法	14
2.2.1. 動物と準備	14
2.2.2. 薬剤	15
2.2.3. 2AFC-VDT	15
2.2.4. 2AFC-VDT の学習	15
2.2.5. 検出限界コントラスト感度の測定	16
2.2.6. オープンフィールド試験	17
2.2.7. 飲水量試験	17
2.3. 結果	17
2.4. 考察	18
第3章 頭部固定下での視覚刺激検出課題の構築	25
3.1. 背景と目的	25
3.2. 方法	25
3.2.1. 動物と準備	25
3.2.2. 頭部固定下での視覚刺激検出課題	25
3.2.3. 課題学習方法	26
3.2.4. コントラスト感度の測定	27
3.3. 結果	27
3.3.1. 課題の学習	27
3.3.2. 50%CS の計測	28
3.4. 考察	28

3.4.1. 課題のトレーニング	28
3.4.2. 50%CS の計測	29
3.4.3. 神経活動記録を行うための必要条件	29
第4章 Hit と Miss に対応したラット V1 野の神経活動	37
4.1. 背景と目的	37
4.2. 方法	37
4.2.1. 準備	37
4.2.2. 視覚刺激検出課題	37
4.2.3. 神経活動記録	37
4.2.4. 視覚刺激	38
4.2.5. Histology	38
4.2.6. Offline spike sorting	39
4.2.7. Choice probability	39
4.2.8. 統計解析	40
4.3. 結果	40
4.3.1. V1 野ニューロンの分類	40
4.3.2. 各ニューロンタイプの Hit/Miss 時の神経応答	41
4.3.3. V1 野の各層でのニューロンタイプの分布	41
4.4. 考察	42
4.4.1. 課題成績と V1 野神経活動の関係	42
4.4.2. ラットの知覚的意思決定と V1 野神経活動の関係	42
第5章 5-HT _{2A} 受容体阻害薬投与の視覚刺激検出能と V1 野神経活動への影響	48
5.1. 背景と目的	48
5.2. 方法	48
5.2.1. 準備	48
5.2.2. 視覚刺激検出課題	49
5.2.3. 薬剤	49
5.2.4. 神経活動記録	49
5.2.5. 視覚刺激	49
5.2.6. Histology	49
5.2.7. Offline spike sorting	49
5.2.8. Choice probability	49
5.2.9. 統計解析	50
5.3. 結果	50

5.3.1.	50%CS に対する KET 投与の影響	50
5.3.2.	視覚応答に対する KET 投与の影響	50
5.3.3.	CP に対する KET 投与の影響	51
5.4.	考察	51
5.4.1.	5-HT _{2A} 受容体が視覚刺激検出能に与える影響	51
5.4.2.	5-HT _{2A} 受容体が V1 野の神経活動と CP に及ぼす影響	52
第 6 章	総合考察	57
6.1.	5-HT _{1B/2A} 受容体の応答強度に依存した修飾作用	57
6.2.	セロトニンの視覚機能に対する役割	58
6.3.	結論	59
謝辞		60
参考文献		61
業績		67

第1章

研究背景

我々の脳は生存していくために必要な様々な機能を持ち、その機能は脳内のニューロンネットワークによる情報処理によって実現されている(Cooper, Bloom, and Roth 2003; Harris and Thiele 2011)。この情報処理は、常に一定に行われているわけではなく、環境や行動文脈に応じてリアルタイムに変化して、生存や行動目的に対して有利になるように情報処理が調節されている。脳における情報処理の調節は、神経修飾物質と呼ばれる特定の神経細胞群から放出される物質によって行われており、ドーパミンやノルアドレナリン、アセチルコリン、セロトニンなどが知られている。これら神経修飾物質は、環境や行動文脈依存的に放出されることによって脳情報処理の主要な神経伝達物質であるグルタミン酸作動性ニューロンやγ-アミノ酪酸 (GABA) 作動性ニューロンのシナプス伝達や興奮性などを調節している。

これらの神経修飾物質のうち、セロトニン (5-hydroxytryptamine; 5-HT) は縫線核に存在するセロトニン神経から放出され、覚醒状態や睡眠、情動、記憶の制御といった様々な脳機能の調節を行うことが知られている(Pytliak et al. 2011)。さらに視覚機能をはじめとした感覚機能に対する修飾効果をもつが(Jacob and Nienborg 2018)、その詳しい機能やメカニズムについては分かっていない。

1.1. 中枢神経系におけるセロトニン神経系

1.1.1. セロトニン神経系と投射

セロトニンを放出するセロトニン細胞は、主に中脳から脳幹にかけて存在する縫線核と呼ばれる神経核群に存在する (図 1-1)。縫線核は B1 から B9 までの 9 つの核から形成されている。これらの核は、脊髄や脳幹内に投射している尾側核群 (B1-3) と小脳、中脳、海馬、辺縁系や大脳皮質といった広範囲に投射している吻側核群 (B4-9) の大きく二つに分類される。吻側核群にはさらに、背側縫線核 (B6+B7) と正中縫線核 (B5+B8) が存在する。

このようにセロトニン神経は縫線核から脳全体に投射しているが、その軸索の多くはシナプスを形成せず、軸索にあるバリコシティと呼ばれる構造から近傍にセロトニンを放出する Volume transmission を行う(Hensler 2006)。

放出されたセロトニンは、一部は分解され、他の一部は軸索末端に存在するセ

ロトニントランスポーター(Serotonin transporter; SERT)を介して軸索末端に再取り込みされることで、持続的に作用し続けないように調節されている。抗うつ薬の一種である選択的セロトニン再取り込み阻害剤(Selective serotonin reuptake inhibitor; SSRI)は、この SERT を阻害することによって、シナプス間隙のセロトニン濃度を上昇させることで抗うつ作用を発揮すると考えられている。

1.1.2. セロトニン受容体とサブタイプ

セロトニンの受容体は、5-HT1 から 5-HT7 までの 7 ファミリー存在する(Frazer and Hensler 1999)。このうちのいくつかのファミリーはサブタイプをもち、全部で 14 種類存在する。基本的に G タンパク質共役型受容体で、5-HT3 受容体のみイオンチャネル共役型である(Adell et al. 2002; Pytliak et al. 2011)。

5-HT1 受容体は、5-HT1A、5-HT1B、5-HT1D、5-HT1E、5-HT1F の 5 つのサブタイプが存在する。これらは抑制性 G タンパク質 Gi/o を介してアデニル酸シクラーゼを抑制したり、カリウムイオンチャネルを開口させることで細胞の膜電位を過分極させる働きを持つ。また、1A や 1B 受容体は、軸索末端に存在する自己受容体として働き、受容体の活性化は負のフィードバックとしてセロトニンの放出を抑制する役割を持つ。

5-HT2 受容体は、5-HT2A、5-HT2B、5-HT2C の 5 つのサブタイプを持つ。これらは Gq/11 を介してホスホリパーゼ C を活性化させる。このうち 5-HT2A 受容体はカリウムチャネルを閉じることによって細胞の脱分極を調節している。また、5-HT2A 受容体は強力な幻覚剤である LSD の作用点としても有名である。

5-HT3 受容体は前述の通り、他の受容体と異なり陽イオンチャネル共役型であり、細胞の脱分極を引き起こす。5-HT4 受容体は、刺激性 G タンパク質、Gs と共役しており、アデニル酸シクラーゼを活性化することによって過分極の抑制と脱分極を引き起こす。5-HT5 受容体は、5-HT5A、5-HT5B の 2 つのサブタイプが存在し、抑制性 G タンパク質、Gi/o と共役してアデニル酸シクラーゼを抑制する。5-HT6 受容体は Gs と共役、アデニル酸シクラーゼを活性し、グルタミン酸作動性シナプス伝達を抑制する。5-HT7 受容体は Gs と共役し、アデニル酸シクラーゼを活性化する。脱分極を引き起こす。

これらの受容体は脳全体に分布しているが、サブタイプごとに存在している部位が異なり、それぞれに特異的な機能を持つと考えられている。

1.2. 視覚系

1.2.1. 視覚経路と初期視覚野

外界からの光刺激は、眼の網膜に存在する視細胞によって神経信号（電気信号）へと変換された後に双極細胞を経て、網膜神経節細胞から脳へと情報が送られる。網膜神経節細胞からの信号は、視床の外側膝状体（Lateral geniculate nucleus, LGN）を経て、一次視覚野（Primary visual cortex, V1 野）へと送られる(Merigan and Maunsell 1993)。そこからさらに高次視覚野へと情報が伝達されるが、その経路は背側経路と腹側経路の二つに分けられる。背側経路は V1 野から頭頂葉へと向かう経路で、物体の動きや空間情報の処理を担うため **where pathway** とも言われる。一方、腹側経路は V1 野から側頭葉へと向かう経路で、物体の形状や質感の処理を担うため、**what pathway** と言われる。これらの 2 つの経路は独立しているわけではなく、互いに相互作用しながら情報処理を行うことで、最終的な視知覚を形成している。マウス・ラットなどのげっ歯類においても背側経路・腹側経路に対応した視覚情報処理経路の存在が示されている (Nishio et al. 2018; Matteucci et al. 2019)。

1.2.2. V1 野と層構造

V1 野には層構造があり、脳表側から I 層から VI 層の 6 層が区別されている。視覚情報は網膜から LGN を経て V1 野の IV 層へと入力される。その後、II/III 層、V 層、VI 層、IV 層という順で情報が送られ、V1 野内で情報が処理される。そして、II/III 層からは高次視覚野、V 層からは上丘、VI 層からは LGN へと主に出力していることが知られている。

1.3. セロトニンと視覚情報処理

セロトニン神経は前述したように海馬や大脳皮質をはじめ、脳全体に軸索を投射しており、睡眠覚醒レベルの調節、注意、報酬への応答、情動、記憶の制御、感覚機能の調節といった様々な役割を持つことが報告されている (Monti 2011; Miyazaki, Miyazaki, and Doya 2012; Prouty, Chandler, and Waterhouse 2017)。

背側縫線核のセロトニン神経はその軸索を V1 野にも投射しており (O'Hearn and Molliver 1984; Monti 2010)、V1 野に発現するセロトニン受容体のサブタイプには動物種による違いがあることが知られている。例えば、マカク属サル V1 野における 5-HT 受容体サブタイプの発現には層特異性がみられ、5-HT_{1B} 受容

体がIV層に、5-HT_{2A} 受容体がVI層、II/III層、V層に多く発現している(Watakabe et al. 2009)。一方でラットと同じげっ歯類であるマウスでは、V層錐体細胞、V層の GABA 作動性介在ニューロン、および VIb 層の非錐体細胞の順に 5-HT_{2A} 受容体の発現が多いことが報告されている(Weber and Andrade 2010)。

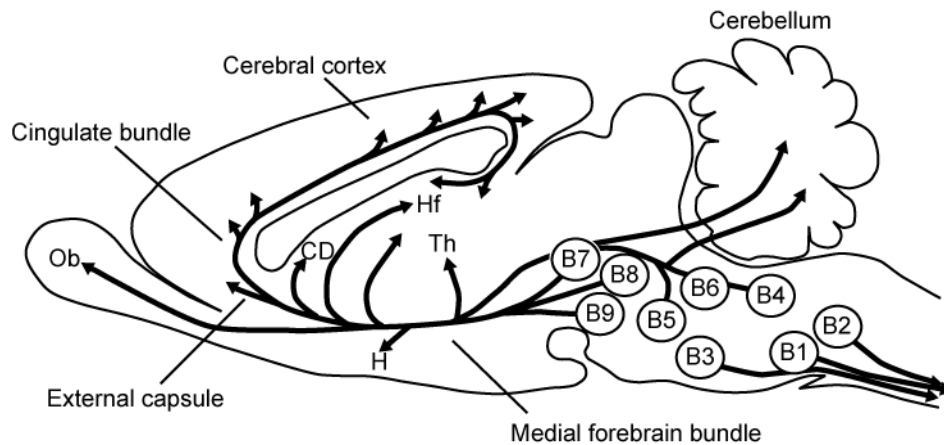
一方で、視覚情報処理に対するセロトニンの役割については、セロトニンがネコ V1 野視覚応答のシグナルノイズ比 (S/N 比) を抑制することや(Waterhouse et al. 1990)、サル V1 野視覚応答のゲインを下げる(Seillier et al. 2017)ということが分かっている。また興味深いことに、セロトニンはその応答強度に依存して V1 野視覚応答を促通または抑制するという両方向性の作用も報告されている。麻酔下のサルを用いた実験では、サル V1 野は 5-HT_{1B} 受容体の活性化によって強い応答が促通され弱い応答が抑制される一方で、5-HT_{2A} 受容体の活性化では強い応答が抑制され弱い応答が促通される(Watakabe et al. 2009)。また、覚醒下ラットを用いた実験においても、5-HT_{2A} 受容体の活性化が同様の効果をもたらすことが報告されている(Michael, Parker, and Niell 2019)。

このようにセロトニンは受容体サブタイプや応答強度に依存して V1 野視覚応答を修飾する効果をもつことがわかっているが、これらの研究は V1 野の神経活動に焦点をあてているため、実際にセロトニンが知覚レベルでの視知覚に対してどのような効果をもっているのかという点については分かっていないことが多い。

1.4. 本研究の目的

そこで本研究では、脳内の内因性のセロトニンが視覚機能、特に視覚刺激検出能に対してどのような役割を担うのか、またその神経機構は何か、ということをも明らかにすることを目的とした。

この目的を達成するために、まずラットを用いた行動薬理実験により、知覚レベルの視覚刺激検出能に対するセロトニンの効果を検証し、続いて行動薬理実験中の神経活動を記録することで、セロトニンによる修飾効果の作用機序を検討した。



CD: Caudate
H: Hypothalamus
Hf: Hippocampal formation
Ob: Olfactory bulb
Th: Thalamus

図 1-1 : セロトニン神経系

縫線核に存在するセロトニン神経核とセロトニン神経の投射を示したラットの脳断面図。縫線核は B1 から B9 までの 9 つの核から形成されている。これらの核は、脊髄や脳幹内に投射している尾側核群 (B1-3) と小脳、中脳、海馬、辺縁系や大脳皮質といった広範囲に投射している吻側核群 (B4-9) の大きく二つに分類される。吻側核群にはさらに、背側縫線核 (B6+B7) と正中縫線核 (B5+B8) が存在する。

第2章

自由行動下ラット視覚刺激検出能に対するセロトニンの修飾効果

2.1. 背景と目的

セロトニンは縫線核に存在するセロトニン神経から放出され、覚醒状態や睡眠、情動、記憶の制御など様々な脳機能の調節を行うことが知られている。縫線核はその軸索を大脳皮質にも投射しており、その軸索末端から放出されるセロトニンは、感覚機能、特に視覚機能に対して修飾効果を持つことが知られている。先行研究では、セロトニン受容体選択的作動薬が、サル V1 野ニューロンの視覚応答に対して、促進と抑制の両方向性の効果を引き起こし、視覚情報処理の最適化に関与する可能性が示唆されている(Watakabe et al. 2009; Shimegi et al. 2016)。しかしながら、実際の知覚レベルにおける、セロトニンの視覚認知機能に対する修飾機能は未だ明らかとなっていない。そこで本研究では、行動文脈依存的に分泌されるセロトニンの機能的役割を、視覚情報処理機能に焦点を当てた行動薬理実験により検討することを目的として実験を行った。

2.2. 方法

本研究の実験計画および実験プロトコルは、大阪大学の研究倫理委員会の承認を受けており（承認番号：動医 28-074-000 号）、動物の飼養・保管は、「動物の愛護及び管理に関する法律（環境省）」を遵守し、所属機関である大阪大学の動物実験委員会と National Institutes of Health（NIH）のガイドラインに従って行った。また、全ての実験手順並びに実験動物の取り扱い、大阪大学の動物実験委員会と NIH のガイドライン、並びに「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準（環境省）」に従って実施された。

2.2.1. 動物と準備

各実験には、Long-Evans ラット（雄、200-350g; 日本エスエルシー株式会社、静岡、日本。以下ラット。）を用いた。ラットは 12/12 時間の昼夜サイクルで飼育された（明期 21:00 – 9:00、暗期 9:00-21:00）。すべての実験は暗期にのみ行わ

れた。また、通常時は自由摂水下で飼育され、トレーニングおよびテスト時には24時間前から摂水制限を行った。なお脱水症状は確認されなかった。

2.2.2. 薬剤

セロトニンの作用を調べるため、選択的セロトニン再取り込み阻害剤である、フルオキセチン塩酸塩 (Fluoxetine Hydrochloride; FLX, Sigma-Aldrich, MO, USA) を用いた。溶媒にはリン酸緩衝生理食塩水 (Phosphate buffered saline, PBS) を用いた。FLX の投与濃度は 5 mg/kg、投与量は 2.5 ml/kg で、各試験 (2AFC-VDT、オープンフィールド試験、飲水量試験) の 30 分前に腹腔内投与した。投与濃度は先行研究を参考にして決定した (Hueletl - Soto, Carro - Juárez, and Rodríguez - Manzo 2012)。

2.2.3. 2AFC-VDT

行動実験には、図 2-1A-B に示した実験ボックスを用いた。ボックスは透明なアクリル板によって 3 つの領域に区切られており、ボックスの前面には液晶ディスプレイ (平均輝度 30 cd/m²) が取り付けられており、各領域の液晶ディスプレイ下部にはレバーが設置されている (図 2-1A)。ラットが中央のレバーを引くことにより試行が開始され、液晶ディスプレイの左右どちらかのレバー上部分に視覚刺激が提示された (図 2-1C)。その後、視覚刺激が提示された側のレバーを引くと Hit となり、報酬として水がレバーの先端から与えられた (Kimura R et al., 2012; Soma S et al., 2013; Mizuyama R et al., 2016)。一方、反対側のレバーを引くと Miss となり報酬は与えられなかった。中央レバーを引いてから、左右どちらかのレバーを引くまでを 1 試行とした。また、Miss 時にはフィードバックとして液晶ディスプレイのスピーカーから Miss 音が提示された (200-500Hz)。課題遂行中のラットの行動は Web カメラによって観察・記録された。これらのシステムは全て MATLAB (Mathworks, MA, USA) および Psychophysics Toolbox を用いて作成したプログラムにより制御された (Brainard 1997; Pelli 1997)。

2.2.4. 2AFC-VDT の学習

2AFC-VDT の学習は先行研究を参考にし、3 段階に分けて行った (Soma, Suematsu, and Shimegi 2014)。まず第 1 段階として、ラットにレバーを引き上げることにより報酬として水が得られることを学習させた。ラットが自発的にレバーを引いて水を得るようになったことを確認後、次の段階に移行した。第 2 段階

では、視覚刺激と報酬の連合を学習させた。この段階では連合学習を促進するために、より検出が容易な視覚刺激として、黒色の背景に白色の円状刺激を提示した。またこの時、課題へのモチベーションを維持させるため、Miss 時でも試行を終了させず Hit するまで刺激を提示し試行を継続することで、各試行で必ず報酬が得られるようにした。最終段階では、視覚刺激として輝度がサイン波状に変化している円形のグレーティング刺激（コントラスト：100%、サイズ：20°、方位：水平）を用いて学習を行った。まず第2段階と同じく、各試行で必ず報酬が得られる条件で学習させた。その後 Hit 率が 80%を超えれば、Miss 時には試行を終了し報酬が得られない条件で、学習を継続した。また、Miss 時の次の試行では同じ側に視覚刺激を提示した。その後再び Hit 率が 80%を超え、その状態が 3 日維持された時点で学習を終了した。今回実験に用いたすべてのラットが、2 週間以内に学習を終了した。

2.2.5. 検出限界コントラスト感度の測定

今回の実験では、検出限界コントラスト感度（Detection limit contrast sensitivity; DLCS）を視覚機能の評価指標とした。DLCS の測定では 2AFC-VDT に階段法を組み合わせた課題をラットに行わせた (Soma, Suematsu, and Shimegi 2013; Mizuyama et al. 2016; Tsunoda et al. 2019)。階段法では、Hit 時には次試行で提示するグレーティング刺激のコントラストを一段階低下させ、Miss 時にはコントラストを一段階上昇させた (図 2-1C)。試行開始時の刺激コントラストは 100%で、試行が進むごとに、刺激コントラストが 100-50%の区間は 10%ずつ、50-18%では 4%ずつ、18%以下では 1%ずつコントラストを変化させた (図 2-1D)。試行が進み、刺激コントラストがラットの検出限界に近づいてくると、刺激が検出できなくなったラットは左右のレバーをランダムに引き始め、刺激コントラストは一定の値に収束していった。そして、直近 10 試行での平均 Hit 率が 50%になった時点で課題を終了し、これを 1 セッションとした。その時に提示していた刺激コントラストをそのラットの検出限界コントラスト閾値とし、その検出限界コントラスト閾値の逆数を DLCS として算出した (図 2-1E)。

DLCS 計測時には、1 時間このセッションを繰り返し、各セッションでの DLCS の幾何平均をその計測での平均コントラスト感度とした。また、ラットがセッション終了時にレバーをランダムに引くと、その次のセッションの開始時にも視覚刺激によらないランダムな選択を続け、コントラストが高いにも関わらず Hit 率が 50%になることがあった。その結果、次セッションにおける DLCS が正確に測定できないという問題があり、これを解消するため各セッション後に 100%コントラスト刺激を提示した試行を行わせ、3 回連続で Hit したら次のセッショ

ンに進ませることでセッション開始時のランダムな選択を修正した。

また、DLCS はその刺激の空間周波数 (Spatial Frequency; SF) に依存し、DLCS と SF の関係は、ラットもヒトと同じく特定の SF でもっとも DLCS が高くなることが知られている (Soma, Suematsu, and Shimegi 2013)。したがって、セロトニンによる DLCS の調節も SF 依存的である可能性が考えられるため、DLCS 測定は、最も DLCS が高くなる SF (0.1 cycle per degree (cpd)) と、DLCS が下限となる SF (0.5 cpd) の 2 条件で測定を行った。

2.2.6. オープンフィールド試験

ラットの自由行動下における活動量を評価するためオープンフィールド試験を用いた。試験にはオープンフィールドとして直径 60cm の円形の容器を用い、ラットの容器内での行動を 5 分間 web カメラによって動画撮影した。その後、撮影した動画の動画解析を行い、5 分間で移動した総距離をラットの活動量として評価した。動画解析用のプログラムは Python, OpenCV および MATLAB (Mathworks, MA, USA) を用いて作成された。

2.2.7. 飲水量試験

ラットの摂水へのモチベーションを調べるため、飲水量試験を行った。試験では、ホームケージ内で給水ボトルからラットに 5 分間自由摂水させた。試験前後でボトルの重量を測り、その差をラットの飲水量として評価した。

2.3. 結果

セロトニンが知覚レベルにおいて視覚機能に対して果たす機能的役割を明らかにするため、2AFC-VDT を用いて自由行動下ラットの DLCS を測定し、FLX 腹腔内投与の DLCS に対する効果を調べた。

図 2-2 に DLCS 測定における刺激コントラスト推移の典型例を示す。あるセッションでは試行が進むにつれて、どの SF、薬剤条件においても刺激コントラストが段階的に低下し、ある一定の値 (検出限界コントラスト閾値) に達した (図 2-2A-B)。しかし、検出限界コントラスト閾値に対する薬剤の効果は、2 つの SF 条件間で異なっていた (0.1 および 0.5 cpd)。最適な SF 条件 (0.1 cpd) では、FLX は検出限界コントラスト閾値を 12.5% から 7.0% に下げ、DLCS を 8.0 から 14.4 に上げた (図 2-2A)。一方、DLCS は、最適ではない高い SF 条件 (0.5 cpd) では、2 つの薬物条件の間で検出限界コントラスト閾値に違いは見られず、コント

ロールと FLX 条件でそれぞれ 40.6%と 41.9%で、DLCS は 2.5 と 2.4 だった (図 2-2B)。同じラットのすべてのセッションでの平均の結果も同様の結果を示した (図 2-2C-D)。60 分間の全セッションの刺激のコントラスト値を全試行にわたって平均化し、平均化されたデータは推移曲線としてプロットした。こちらでも典型例同様、FLX は最適 SF 条件で検出限界コントラスト閾値を低下させたが (コントロール : 11.5%、FLX : 6.3%)、最適でない高い SF 条件では低下させなかった (コントロール : 44.2%、FLX : 38%)。最適および最適でない高い SF 条件での DLCS は、コントロール条件でそれぞれ 8.7 および 2.3、FLX 条件で 16.0 および 2.6 だった。

そして各群に対して繰り返し二元配置分散分析を行った結果、薬剤投与 ($F_{1,24} = 14.13$, $p < 0.01$)、SF ($F_{1,24} = 20.18$, $p < 0.01$) および相互作用のそれぞれについて統計的有意性がみられた ($F_{1,24} = 6.439$, $p < 0.05$)。その後、Holm-Bonferroni の多重比較テストを用いて事後比較を行った結果、FLX は最適 SF 条件でのみ DLCS を大幅に向上させ ($p < 0.05$)、最適でない高い SF 条件では変化させなかった ($p = 1$) (図 2-3)。これらの結果は、脳内のセロトニン濃度を増加させると、SF 依存的に刺激コントラストに対する視覚刺激検出能が向上することを示唆している。

また脳内のセロトニンは、飲料水に対する動機付けを高め、動物の活動レベルを変化させ得る (Köhler and Lorens 1978; Rowland, Caputo, and Fregly 1987)。この飲水への動機と活動レベルの変化は、DLCS を改善する 2AFC-VDT のパフォーマンスに影響を与える可能性がある。この点を調べるために、生理食塩水または FLX の投与後に 5 分間の飲水量と活動レベルを測定したが (図 2-4)、2 つの条件において違いは見られなかった (飲水量 : コントロール、5.1 g、FLX、4.5 g、 $p = 0.37$ 、平均移動距離 : コントロール、24.0 m、FLX、22.3 m、 $p = 0.57$ 、対応のある t 検定)。

2.4. 考察

本研究では、自由行動下ラットの DLCS に対する FLX の効果を調べ、DLCS が最適な SF でのみ向上することを発見した。これは脳内のセロトニンの増加が、SF 依存的な方法で知覚レベルでの視覚刺激検出能を改善することを示唆している。

FLX による向上効果の SF 依存性は、FLX の作用した脳領域が、SF 情報を表現している視覚領域、たとえば V1 野であることを示唆している (Campbell, Cooper, and Enroth-Cugell 1969)。私が所属している研究室で行われた神経薬理学的研究では、セロトニン受容体のうち、5-HT1B および 2A 受容体がサル V1 野

に多く発現していること、またこれらの受容体の活性化がサル V1 野のニューロンの視覚刺激に対する応答を修飾することが報告されている。5-HT_{2A} 受容体アゴニストである DOI は、微小電気泳動法で V1 野ニューロンに投与すると、強い視覚応答を抑制し、弱い視覚応答を促通する、応答強度依存的な両方向の修飾効果を示した(Watakabe et al. 2009; Shimegi et al. 2016)。このうち、DOI の弱い応答を促通する修飾効果は、FLX 投与によって DLCS が向上した、つまり、ラットの検出限界のコントラスト閾値が低下したことに一致する。一方、5-HT_{1B} 受容体の活性化は 5-HT_{2A} 受容体と拮抗した応答強度依存的な両方向性の修飾効果を示し、また自発活動、すなわちノイズを減少させ、S/N 比を向上させる(Shimegi et al. 2016)。したがって、FLX 投与によって見られたセロトニンの DLCS 向上効果は、5-HT_{1B} および 2A 受容体の活性化が寄与していると考えられるが、実際に DLCS 改善に寄与するかどうか、およびその方法を解明するには、各受容体を対象としたさらなる実験が必要である。

また、本研究では、侵襲性を最小限に抑えるために FLX を腹腔内投与したが、この方法は脳全体に広範な影響を及ぼす。視覚野以外の脳領域と末梢神経系が FLX 投与の影響を受けているかどうかを調べるために、FLX 投与の飲水量と活動量への影響を調べた。セロトニンは、側坐核を介して食物や水への摂取行動を誘発することが知られているが(Rowland, Caputo, and Fregly 1987)、FLX 投与は飲水量に影響を及ぼさなかった。また活動量についても影響は見られなかった。

これらのことから、2AFC-VDT 中に背側縫線核から内因的に放出されたセロトニンは、視覚刺激の SF に応じて DLCS を向上させることが分かった。また、その神経機序の一つとして、V1 野ニューロンへの神経活動修飾作用が関与している可能性が示唆された。

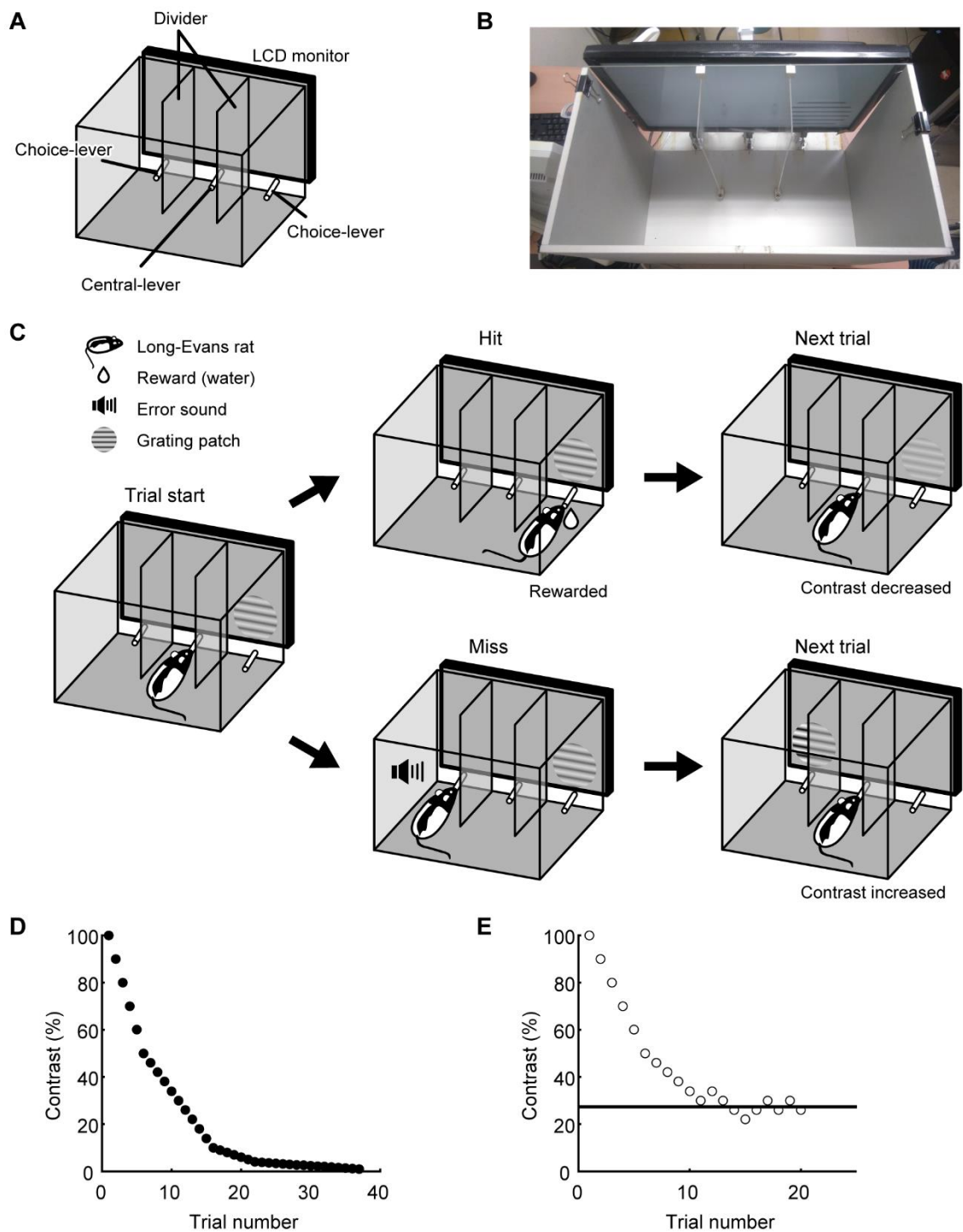


図 2-1 : 2AFC-VDT の概要

A-B: 実験装置の概要 (A) と写真 (B)。 **C:** 2AFC-VDT の流れ。ラットが中央レバーを引くと視覚刺激が提示され、その後ラットは左右どちらかのレバーを選択する。刺激提示側のレバーを引けば報酬が貰え、次の試行では視覚刺激のコントラストが低下する。刺激提示側でないレバーを引けば報酬が貰えず、次の試行では視覚刺激のコントラストが上昇する。 **D:** ラットが全試行で Hit した場合の

視覚刺激コントラストの変化。**E:** 階段法と組み合わせた 2AFC-VDT におけるセッションの典型例。このセッションではラットの検出限界コントラスト閾値は 27.3%（水平線）で DLCS は 3.66 と評価された。

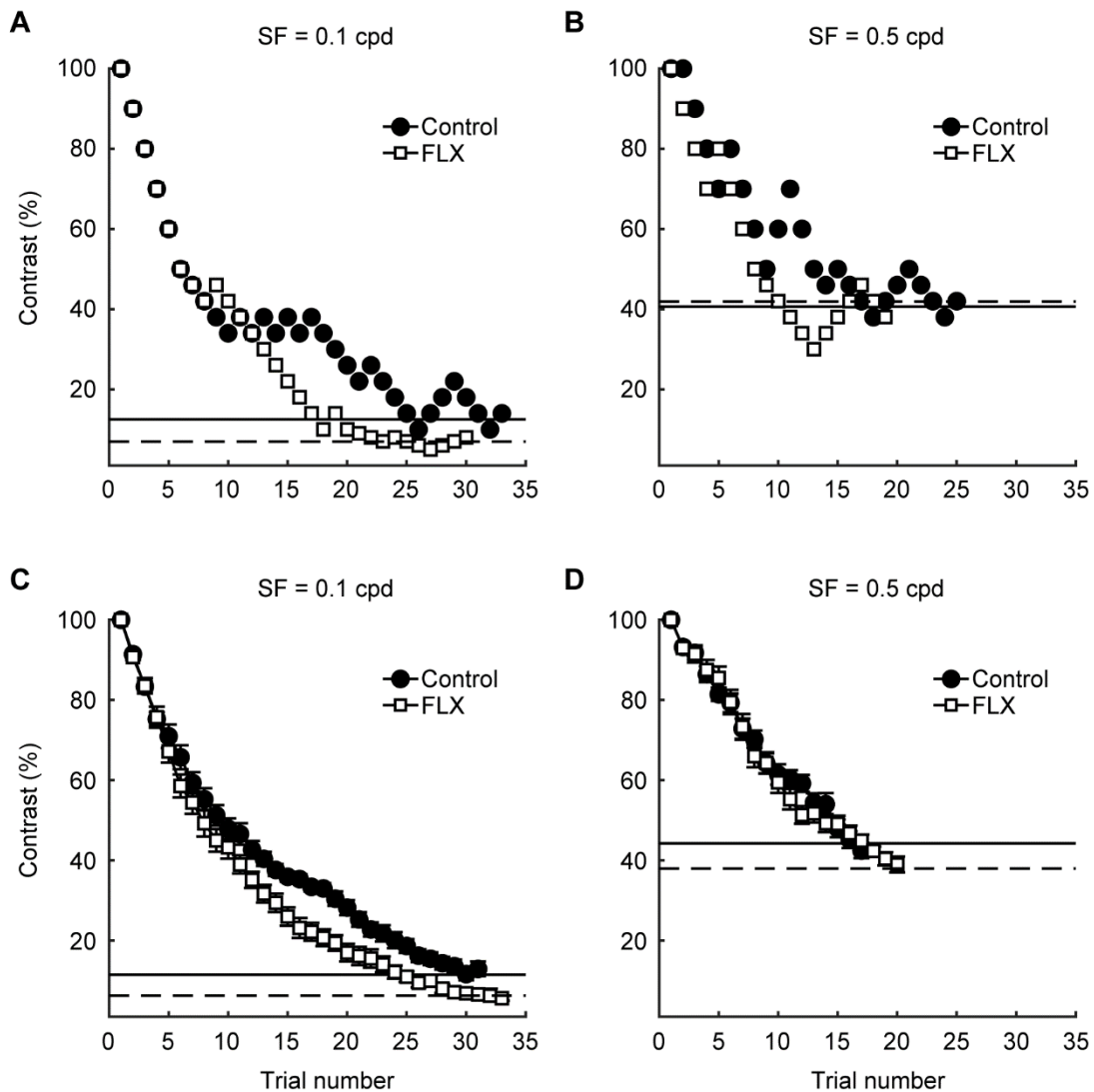


図 2-2：階段法と組み合わせた 2AFC-VDT で測定された DLCS に対する FLX 投与の効果。

A-B: あるラットの 2 つの異なる SF 条件 (A: 0.1 cpd, B: 0.5 cpd) における 2AFC-VDT の 1 セッションの典型例。黒丸はコントロール、白い四角は FLX 条件、実線と点線の水平線は、それぞれコントロールと FLX 条件での検出限界コントラスト閾値を示す。 **C-D:** A, B と同じラットの全セッションでの平均コントラスト変化。黒い丸と白い四角は、各試行に対して計算された平均コントラスト値を、水平線は、検出限界コントラスト閾値の幾何平均を示す (実線: コントロール、点線: FLX)。 Error bar = SEM。

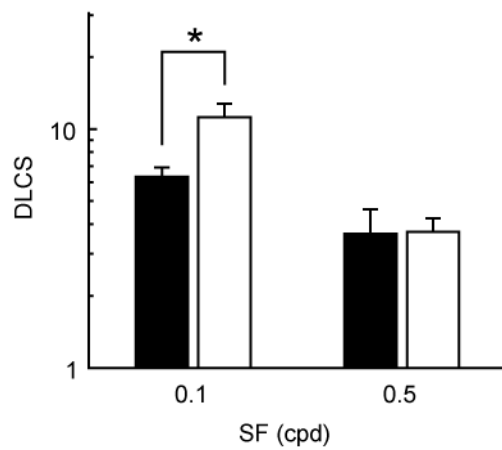


図 2-3 : FLX 投与の DLCS に対する影響

各 SF 条件下におけるラットの DLCS。黒がコントロール、白が FLX 投与条件。最適 SF 条件 (0.1 cpd) 下では FLX 投与による DLCS の有意な上昇が見られたが、最適でない高い SF 条件 (0.5 cpd) では DLCS の有意な変化は見られなかった ($p < 0.05$, Holm–Bonferroni's multiple comparison test, Error bar = SEM, $n = 7$)。

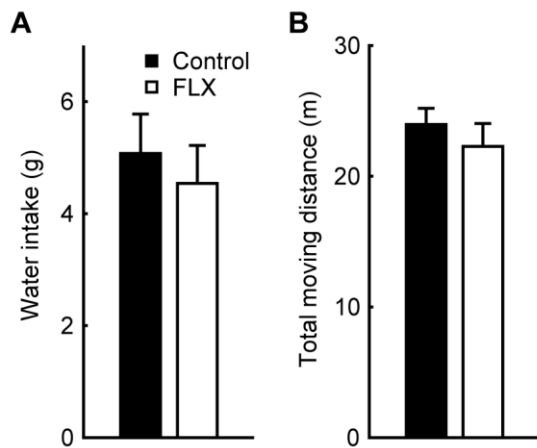


図 2-4 : 飲水量および活動量に対する FLX 投与の影響

A: コントロールおよび FLX 条件下での 5 分間の飲水量 (黒 : コントロール、白 : FLX)。条件間での飲水量に有意差は認められなかった ($p=0.37$ 、対応のある t 検定)。**B:** オープンフィールド試験での 5 分間のラットの総移動距離。総移動距離についても FLX 投与の影響を受けなかった ($p=0.57$ 、対応のある t 検定)。

第 3 章

頭部固定下での視覚刺激検出課題の構築

3.1. 背景と目的

第 2 章では、2AFC-VDT を用いて自由行動下のラットの DLCS を測定し、DLCS に対する FLX 投与の効果を調べることで、セロトニンが知覚レベルの視覚機能に対してどのような作用を持つかを検討した。その結果、FLX 投与によって視覚刺激の SF 依存的に DLCS が向上した。このことから内因性のセロトニンに視覚刺激検出能向上作用があること、またその作用が SF 依存性を示したことから、その神経基盤として SF 選択的な視覚応答を示す V1 野ニューロンの関与が示唆された。

セロトニンの視覚刺激検出能向上作用の神経基盤を明らかにするためには、視覚刺激検出課題遂行中のラットの V1 野から神経活動を記録する必要があり、そのためには頭部固定下で実験を行う必要がある。

そこで、本章では頭部固定下条件での視覚刺激検出課題を新規に構築した。

3.2. 方法

3.2.1. 動物と準備

実験には 14 匹の Long-Evans ラット（雄、200-350g; 日本エスエルシー株式会社、静岡、日本。以下ラット。）を用いた。ラットの飼育状況は第 2 章と同様である。また実験前準備として、2.5% イソフルラン麻酔下で頭部固定用金属プレート(CFR-1, NARISHIGE, 東京, 日本)をラットの頭蓋骨にビスと歯科用レジン(スーパーボンド C&B セット, サンメディカル, 日本)を用いて装着する手術を行った(Kimura et al. 2012)。手術後、1 週間の回復期間を設け、トレーニングおよび実験を行った。

3.2.2. 頭部固定下での視覚刺激検出課題

課題時には頭部固定用プレートを介して、脳定位固定装置（SR-10R-HT, NARISHIGE, 東京, 日本）にラットを固定した。ラットの右または左眼から 23 cm先に液晶ディスプレイ（ProLite G2773HS-GB2; Mouse Computer Co.,Ltd., Tokyo,

Japan; 平均輝度 30 cd/m²; refresh rate 144Hz; size, 59.79×33.63 cm) が、手元にはレバーと給水ポートが一体となったスパウトレバーが設置されていた(図 3-1A-B)。課題は Go 試行と No-go 試行から構成され、各試行はラットがレバーを 0.5 秒間押すことで開始された(図 3-1C)。Go 試行では試行開始後 0-1.0 秒のランダムなインターバルの後、ディスプレイに視覚刺激が提示された。視覚刺激提示後 1 秒以内にレバーを引くことでヒット音 (5 kHz) とともにレバーの先端から報酬として水 (10-15 μ L) が与えられた (Hit 試行)。刺激提示後 1 秒以内にレバーを引かなかった場合はエラー音 (4 kHz) が鳴り報酬は与えられなかった (Miss 試行)。一方で No-go 試行では、視覚刺激が提示されず試行開始から 2.5 秒間レバーを押し続けることで報酬が与えられた (Correct Rejection (CR) 試行) が、保持し続けられなかった場合には報酬が与えられなかった (False Alarm (FA) 試行)。Miss または FA 試行後は罰 (Punishment) として、2.1-3.9 秒のランダムな追加インターバルを与えた。視覚刺激にはドリフトグレーティング刺激 (SF: 0.1 cpd; TF: 2 Hz; 方位: 水平; 方向: 鉛直下向き) を用いた。課題遂行中のラットの行動は Web カメラによって観察・記録された。これらのシステムはスパウトレバーとロータリーエンコーダーからなるレバーユニットと、レバー操作の閾値設定およびシグナル出力の制御を行うレバーセッティングユニット (OPR-SPL-RM and OPR-1410, O'HARA & CO., LTD., Tokyo, Japan) と、MATLAB (Mathworks, MA, USA) および Psychophysics Toolbox を用いて作成したプログラムにより制御された。

3.2.3. 課題学習方法

頭部固定下での視覚刺激検出課題の学習は、以下の 4 段階で行った(図 3-2A)。第 1 段階 (Day 1) では、レバーを押すとすぐに報酬が出るようにし、レバーから報酬が得られることを学習させた。これにより、ラットを頭部固定下での課題環境に慣らさせた。第 2 段階 (Day 2-5) ではレバーを押してから視覚刺激が提示されるまでの時間 (Hold period) を 0 秒から段階的に伸ばしていき、ラットにレバーを押して保持すること、および視覚刺激が提示後にレバーを引くと報酬が得られること学習させた。Hold period は正しく保持できた試行 (Correct trial) が一定回数に達するごとに段階的に長くし、Day5 では 2 秒まで延長させた (図 3-2B)。この段階では視覚刺激の SF を 0.005 cpd にし、レバーを引くまで刺激を呈示し続けた。第 3 段階 (Day 6) では Hold time を試行ごとにランダムにし、刺激提示後 1 秒以内にレバーを引かないと報酬を得られなくすることで、Go 試行を学習させた。第 4 段階 (Day 7-10) では No-go 試行を導入し本番と同様の課題を学習させた。学習促進のため、罰は Day 7 では 1.6-2.4 秒、Day 8 以降では 2.1-

3.9 秒のランダムな追加インターバルを与えた。

3.2.4. コントラスト感度の測定

今回の実験では課題に恒常法を用いたため、視覚機能の評価指標として 50% コントラスト感度 (50%CS) を用いた。50%CS 測定時には視覚刺激のコントラストを 1-100 % の 7 段階 (1, 1.9, 3.6, 6.9, 13, 25, 100%) で提示した。測定時の課題は 10 試行ごとのブロックで構成され、各ブロックでは特定のコントラストのみが提示される Go 試行と No-go 試行で構成された。また、50%CS 測定時の低コントラスト刺激提示時には、刺激を検出できずにレバーを押し続ける Miss 試行が増加するが、これが繰り返されるとラットのストレスになるため、Miss 時にも Hit 時の半分ほどの報酬を与えた。課題終了後、各コントラストの刺激に対する Hit 率 (Go 試行中の Hit 試行の割合) を計算した。その後、各コントラストに対する Hit 率を次の Naka-Rushton function でフィッティングを行った。

$$H = H_{\max} \frac{C^n}{C^n + C_{50}^n} + b$$

式のうち、H は Hit 率、 $H_{\max}$ は最大 Hit 率、C はコントラスト、 C_{50} は $H_{\max}$ と b の中点におけるコントラスト、n は乗数、b は定数をあらわす。

そして、Hit 率が 50 % になるコントラストを、そのラットの 50% コントラスト閾値 ($50\%C_{\text{threshold}}$) とし、50%CS は以下の式を用いて得られたコントラスト閾値の逆数として算出した。 $50\%CS = 100 / 50\%C_{\text{threshold}}$ 。

3.3. 結果

3.3.1. 課題の学習

まず第 1 段階では、ラットは平均で 913 ± 410 回のレバー操作を行った。第 2 段階では、設定された Hold period に従ってラットのレバー保持時間 (Hold time) が長くなった (図 3-3)。第 3 段階からは Hold period がランダムになり、刺激提示後 1 秒以内にレバーを引くことを学習させ、第 4 段階以降から No-go 試行を導入することで、段階的な学習を行った。その結果、トレーニングを進めるごとに Go 試行での視覚刺激提示または No-go 試行での報酬呈示からレバーを引くまでの時間が短くなり、一定の値に収束し洗練されていった (図 3-3, 3-4)。そして、Day 10 には大半のラットの 1 日の Hit-CR 率 (全試行中の Hit 試行と CR 試行の合計の割合を示す) が 80% 以上になった。3 日連続で Hit-CR 率が 80% 以上になった時点で学習が成立したとみなし、平均 11 ± 0.97 日で課題の学習が成立

した (図 3-5)。また、学習後は平均で 90 分間に 1118 ± 48 試行課題を行った。
(図 3-6D)

3.3.2. 50%CS の計測

課題学習後、視覚刺激の 50%CS の測定を行った。その結果、これまでに報告されていたものと同様の 50%CS 曲線が得られた (図 3-6A) (M. H. Histed, Carvalho, and Maunsell 2012; Glickfeld, Histed, and Maunsell 2013)。反応時間についても、これまでの報告と同様にコントラストが低くなるほど遅くなる傾向が見られた (図 3-6B)。また、50%CS は刺激の SF に依存することが報告されているため、4 種類の SF 条件での 50%CS の測定を行った。その結果、こちらもこれまでの報告と同様の CS-SF function が得られた (図 3-6C) (Birch and Jacobs 1979; Soma, Suematsu, and Shimegi 2013; Segura et al. 2015)。

3.4. 考察

本章では、第 2 章で明らかとなったセロトニンの知覚レベルでの視覚刺激検出能向上効果について、知覚レベルと神経活動レベルの両面から検討し神経機序明らかにすることを目的とし、その測定のため、頭部固定下ラットの視覚刺激検出課題の構築および、ラットの 50%CS 測定を行った。

3.4.1. 課題のトレーニング

本課題は、およそ 2 週間 (11 ± 0.97 日) で学習を行うことができた (図 3-5)。また、学習過程において学習が成立しなかった個体もない。先行研究においてマウスを用いた頭部固定での視覚刺激検出課題では、学習に 2 から数か月かかり (M. H. Histed, Carvalho, and Maunsell 2012)、他の種類の頭部固定下ラットを用いた課題でもおよそ数週間から 1 月にかかることから (Isomura et al. 2009; Schwarz et al. 2010)、本課題は効率よく学習を行えていると考えられる。その要因としては、課題の回答に用いるレバーに報酬ポートを一体型のスパウトレバーを用いていること、および当研究室の先行研究を参考に段階的な学習プロトコルを構築したことが考えられる。安定して効率よく学習をさせられたことによって、ラット毎の習熟度合をはじめとする学習による差をできるだけ小さくできたのではないかと考えられる。

3.4.2. 50%CS の計測

50%CS はラットにおいても SF 依存的に変化し、SF 0.1 cpd 付近にピークを持つバンドパス型の関数を持つことが知られている(Birch and Jacobs 1979; Soma, Suematsu, and Shimegi 2013; Segura et al. 2015)。本課題を用いたコントラスト感度測定でも先行研究同様の SF 0.1 cpd にピークを持つバンドパス型の関数が得られていることから、50%CS 測定課題として成立していた。一方で、ピークにおける 50%CS の値については先行研究に比べて多少の違いはあるが、低い 2 つは円形の刺激を呈示しているのに対して、高い 2 つはモニター全体に刺激を呈示していることから、値の違いはこれら測定方法の違いによるものと考えられる。

3.4.3. 神経活動記録を行うための必要条件

神経活動記録を行うにあたって、決められた時間内に十分な試行回数を行える必要もあった。中枢における神経活動は、視覚刺激検出課題中において、覚醒や集中といった視覚刺激以外の影響も受けることもあり、試行ごとの神経活動に多少のばらつきが生じる。その影響をできるだけ小さくするためには、ある視覚刺激条件の試行を多く行い神経活動を試行で平均する必要がある。本課題では、90 分間で平均して 1100 回程度の試行を行えており（図 3-6D）、1 視覚刺激コントラスト条件あたり 100 試行ほど実行できているため、神経活動記録にあたり十分な試行回数を行えている。

これらのことから、本章で構築した視覚刺激検出課題は、視覚機能に対するセロトニンの役割について、知覚レベルと神経活動レベルの両面から検討するにあたって必要な条件は十分満たせているといえる。

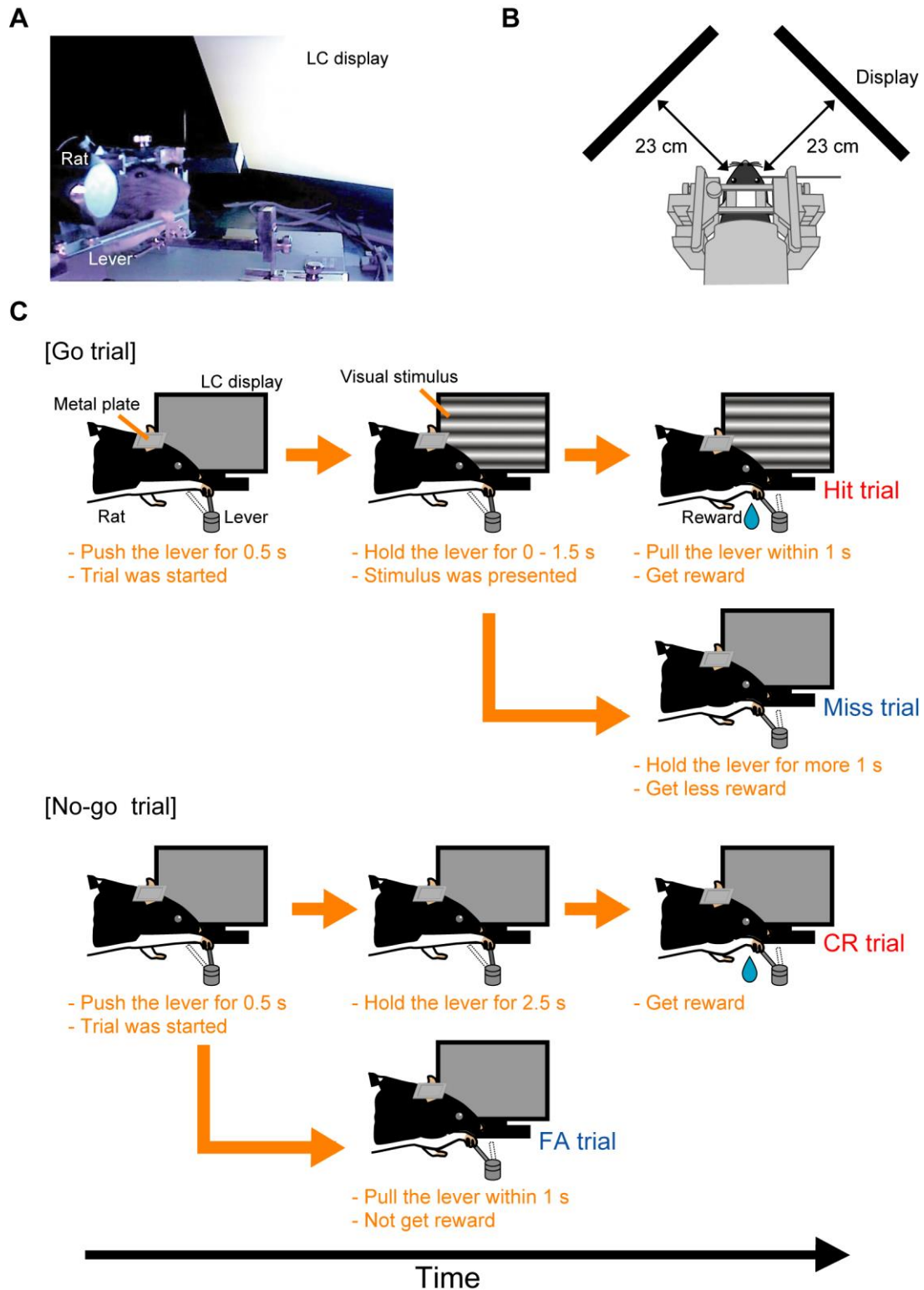
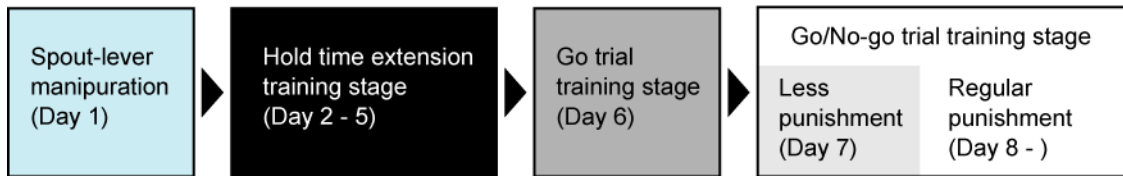


図 3-1 : 実験概要図

A-B: 頭部固定下で視覚刺激検出課題を行うラット。ラットの手元にスパウトレバー、左右どちらかの眼前にディスプレイが設置された。**C:** 頭部固定下視覚刺

激検出課題の概要。各試行はラットがレバーを 0.5 秒間押すことで開始された。Go 試行では課題開始後一定時間レバーを保持することで視覚刺激が提示された。提示後 1 秒以内にレバーを引くことで報酬としてレバーの先端から水が与えられた。No-go 試行では視覚刺激は提示されず、試行後 2.5 秒間レバーを保持し続けることで報酬が与えられた。

A



B

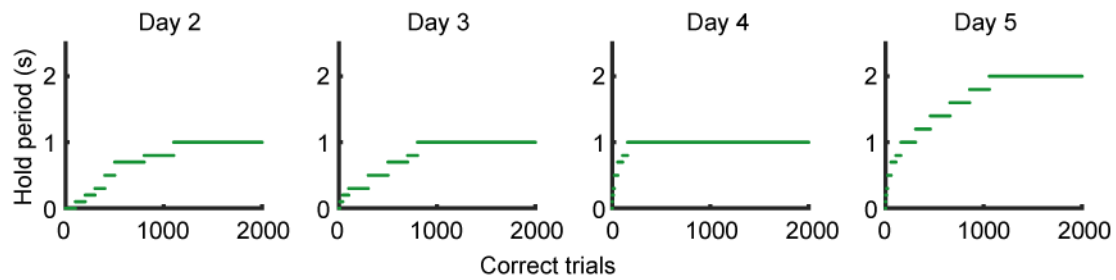


図 3-2 : 課題トレーニングの概要

A: 課題トレーニングのスケジュール。課題トレーニングは大きく分けて 4 つの段階からなる。**B:** Hold time extension training stage (Day 2-5)での Hold period の推移。Correct trial が一定回数に達する度に段階的に Hold period を長くし、4 日かけて 2 秒まで延長させた。

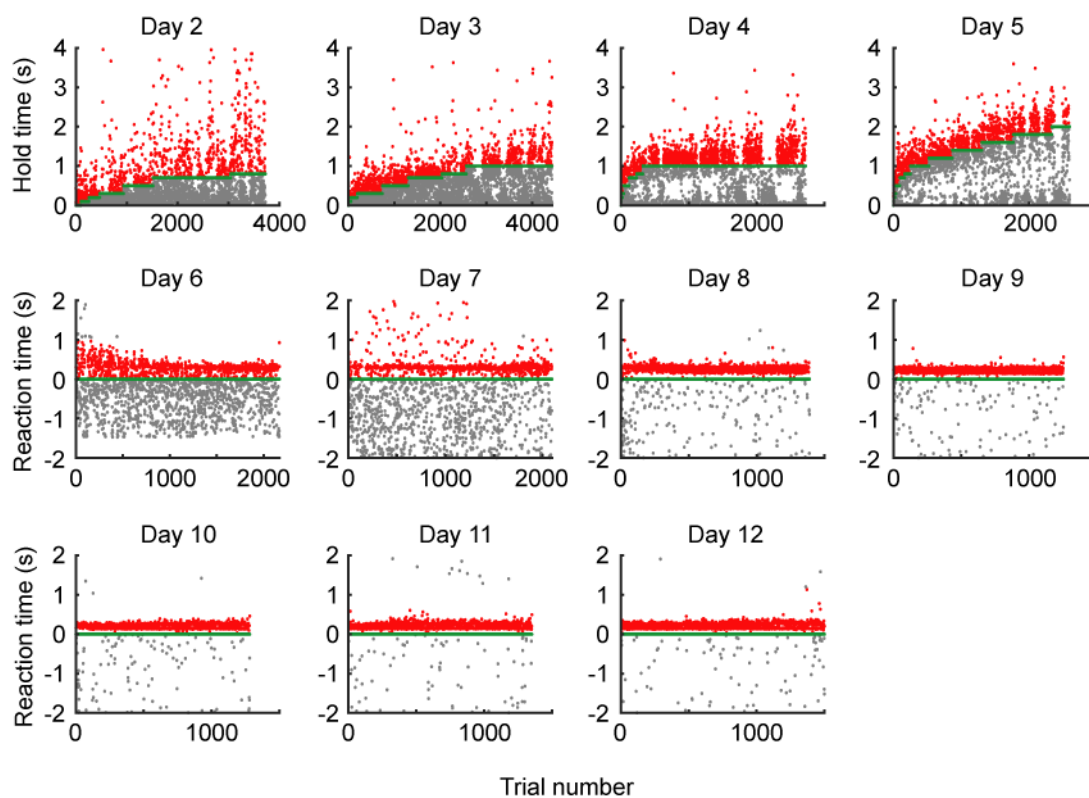


図 3-3 : Day 2-10 の Hold time および Reaction time の推移

各グラフの横軸は試行番号、縦軸は Hold time (Day 2-5) または Reaction time (Day 6-10)。赤丸 (●) は Correct 試行、灰丸は (●) は Incorrect 試行、緑線 (—) は 視覚刺激オンセット (Go 試行) または報酬放出オンセット (No-go 試行) を示す。

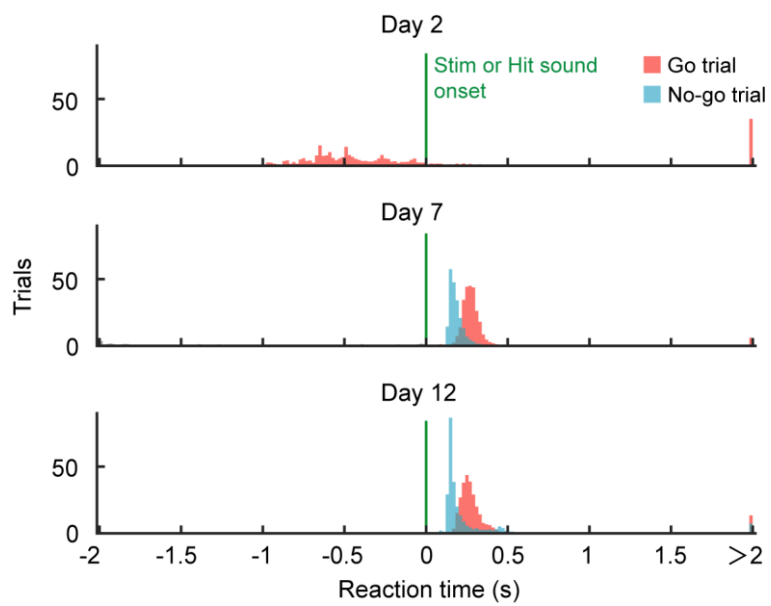


図 3-4 : Day 2, 7, 12 における反応時間

全個体でのトレーニング時の最後 400 試行での反応時間の平均ヒストグラム。
赤が Go 試行、青が No-go 試行での反応時間。

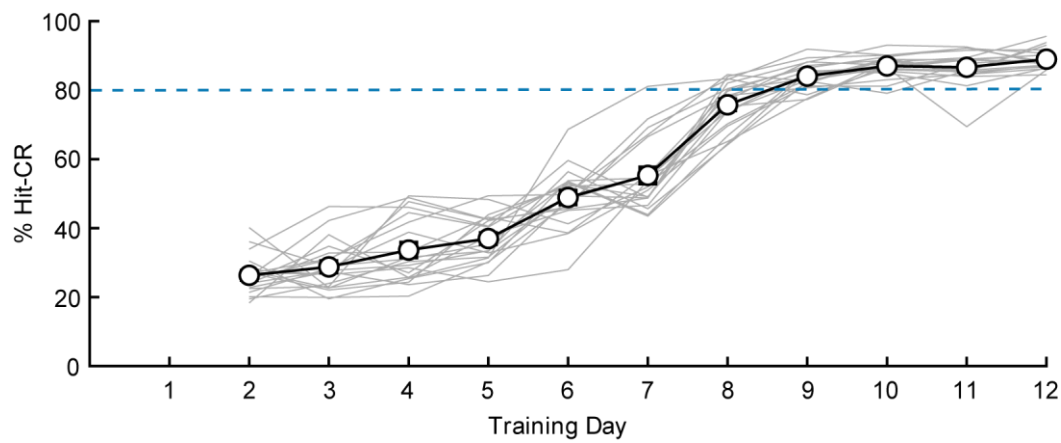


図 3-5 : Day 2-12 の課題成績の推移

グラフの横軸は Training Day、縦軸は Hit-CR 率で、全試行中の Hit trial と CR trial の合計の割合を示す。黒丸 (○) は全個体の平均、灰線は各個体の Hit-CR 率。
Error bar = SEM。

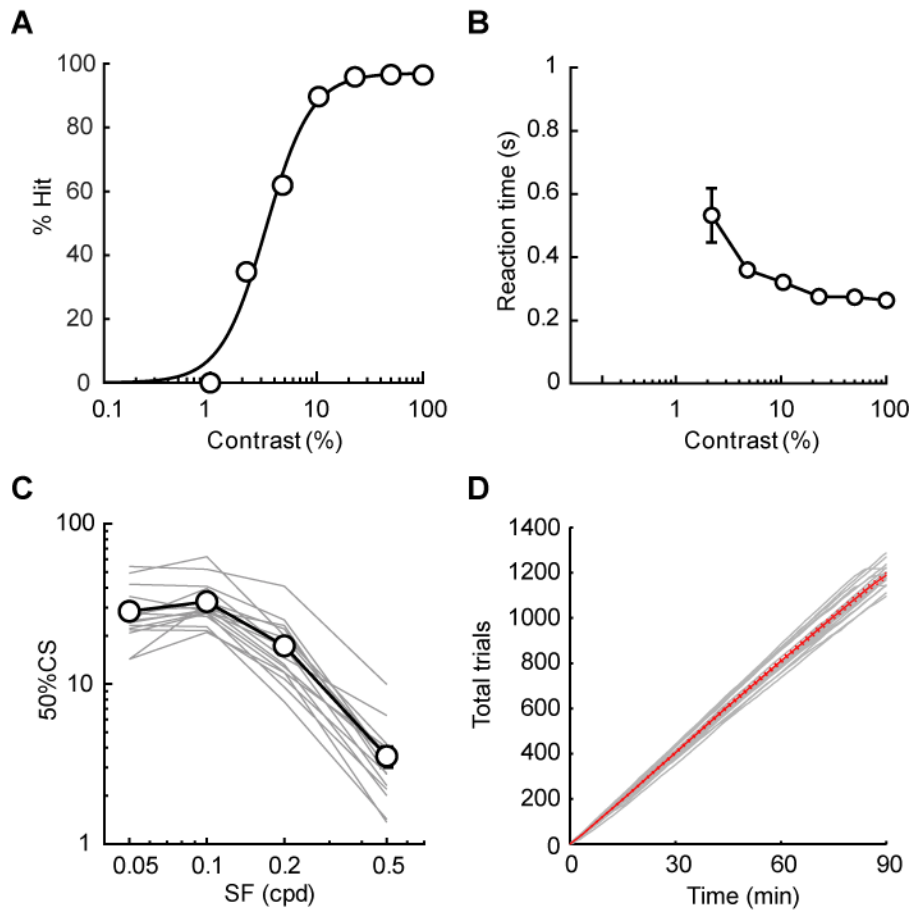


図 3-6 : 頭部固定下視覚刺激検出課題による 50%CS 測定の結果

A: 課題によって得られた、SF 0.1 条件でのコントラスト感度曲線。**B:** Go 試行での各刺激コントラストに対する反応時間。**C:** CS-SF 曲線 (N=14)。グラフでの黒丸 (○) は全個体の平均、灰線は各個体のデータを示す。**D:** Day12 における 90 分間の課題試行回数の推移。赤線が平均、灰線は各個体のデータを示す。Error bar = SEM。

第4章

Hit と Miss に対応したラット V1 野の神経活動

4.1. 背景と目的

第2章で FLX は視覚刺激の SF に依存して DLCS を向上させることが明らかとなった。同様な SF 依存性は V1 野ニューロンの視覚応答にもみられ、また、サル V1 野の約 15% のニューロン神経活動が、視覚刺激検出の成否と相関していることが報告されている。そのため、セロトニンは V1 野の神経活動を修飾して視知覚としての視覚刺激検出能を改善させた可能性がある。

しかしながら、視覚刺激検出の成否と関係するニューロンについては、ラットでは報告されていないため、視覚刺激検出課題の成績と V1 野神経活動の関係は明らかではなかった。

そのため本章では、第3章で構築した視覚刺激検出課題を遂行中のラット V1 野から神経活動を記録し、課題成績との関係性を調べた。

4.2. 方法

4.2.1. 準備

実験には9匹の Long-Evans ラット（雄、200-350g; 日本エスエルシー株式会社、静岡、日本。以下ラット。）を用いた。ラットの飼育状況は第2章と同様である。また頭部固定用プレートについても第3章同様に装着したが、その際、電気生理実験用のリファレンス電極としてコネクタと接続した銀線（786000, AM-Systems, WA, USA）を硬膜と小脳の間には挿入・留置し、後頭部付近に歯科用レジンでコネクタを固定した。

4.2.2. 視覚刺激検出課題

視覚刺激検出課題は第3章と同様のものを用いた。

4.2.3. 神経活動記録

V1 野の神経活動を記録するため、細胞外多点電気記録を行った。記録のため、

実験前にラットにイソフルラン麻酔をかけて脳定位固定装置に固定した後、V1野上にあたる部分（Bregma から後方に 7 mm, 側方へ 3.7 mm）に、一辺 2 mm ほどの穴を開けた。その後、硬膜に小さな穴をあけ、記録用シリコンプローブ（Isomura³², NeuroNexus Technologies, MI, USA）を挿入した。挿入時、あらかじめ温めて溶解させておいた 2% 寒天溶液を流し込んだのち固めて電極を保持した。さらに寒天の乾燥を防ぐためのその上から流動パラフィン（和光, 大阪, 日本）とパラフィン（ナカライテスク株式会社, 京都, 日本）を重量比 1 : 1 で混合した混合パラフィンを 40°C ほどに温めて溶かしたのち塗布した。

電極から得られたシグナルは Head stage とアンプで 1000 倍に増幅されたのち 40kHz でデジタル信号に変換され、OmniPlex Neural Recording Data Acquisition System（Plexon, Dallas, TX, USA）を用いてコンピューターに記録された。同時にレバーの軌跡もレバーセッティングユニットを用いて電気シグナルに変換されたのち、同じコンピューターに記録された。また、記録後の記録部位同定のため、電極にトレーサーとして DiI（Sigma-Aldrich, MO, USA）をあらかじめ塗布した。また神経活動と同時に、スパウトレバーの軌跡も記録した。

4.2.4. 視覚刺激

視覚刺激には第 3 章と同様のドリフトグレーティング刺激を用いた。

4.2.5. Histology

記録実験終了後、ラットにウレタン麻酔をかけ開胸した後、PBS とホルマリン溶液を左心室から全身に流し、灌流固定を行った。その後抜脳し、30%スクロースホルマリン溶液に数日入れ固定した。固定後、ミクロトーム（リトラトーム REM-700, 大和光機工業株式会社, 埼玉, 日本）を用いて脳を矢状断でスライスし、厚さ 60 μm の切片を作製した。作成した切片を DAPI 含有封入剤（DAPI Fluoromount-G(R), コスモ・バイオ株式会社, 東京, 日本）で封入した後、蛍光顕微鏡で観察し、電極位置と脳の層を同定した。同定した電極と層の位置と、電極マップから、各記録電極の脳内での位置を再構築した。また、各電極から記録した信号をもとに電流源密度推定法（current source density analysis, CSD）を用いて、電極位置と皮質層の同定を行った(Mitzdorf 1985)。上述した電極位置再構成の結果と CSD の結果を合わせて、最終的な各電極の皮質内の位置を同定した。

4.2.6. Offline spike sorting

各電極で記録された信号から、個々の神経細胞に由来した発火活動 (single unit activity, SUA) を得るため、スパイクソーティングを行った。まず、記録された生データに 0.3-8 kHz のバンドパスフィルター処理を行った。その後ベースラインから ± 2 SD を超えた電位変化をスパイクとして検出した。その後、得られたスパイクの波形データの主成分分析を行い、その結果をもとに全スパイクデータから単一ニューロンデータへのクラスタリングを行った。ここまでの処理は自動スパイクソーティングプログラムである Klusta を用いて行った(Harris et al. 2000)。その後、クラスター分けされたデータをもとに別のスパイクソーティングプログラムである KlustaViewer を用いて、手動で最終的なソーティングを行った。

4.2.7. Choice probability

V1 野ニューロンの視覚応答がラットの知覚的意思決定である課題成績と関連した活動をするのかを調べるために、各ニューロンについて Hit 時と Miss 時の神経応答の比較を行った。Hit 時と Miss 時の神経応答に違いがあるかを調べるため、課題の各試行における視覚刺激オンセットからレバーオンセットまでの神経活動と、その試行の Hit/Miss から ROC 解析を行った。ROC 解析では、まず 1 試行ごとの視覚応答強度を計算した。続いて任意の応答強度 (閾値) を決め、全 Hit 試行のうち、閾値以上の応答強度を示した Hit 試行の割合 (True positive, TP) を求めた。同様に全 Miss 試行のうちの閾値以上の応答強度を示した Miss 試行の割合も求めた (False positive, FP)。この閾値を 0 から全試行での最大視覚応答強度まで変化させながら各閾値での TP と FP を計算し、各 FP に対する TP をグラフにプロットして得られた曲線の面積 (Area under curve, AUC) を求めた。この AUC は 1 に近いほど Hit 時の応答強度分布が Miss 時の応答強度の分布に比べて大きく、逆に 0 に近いほど Miss 時の応答強度の分布のほうが大きいことを示す。この得られた Area under curve(AUC)の値を、-1 から 1 の値をとるよう以下に以下の式でスケーリングを行い Choice probability (CP)を算出した(Britten et al. 1992)。

$$CP = (AUC - 0.5) \times 2$$

これにより CP の値は-1 から 1 の値を取り、値が正の場合は Hit 時、値が負の場合は Miss 時の方が神経応答が大きいことを示す。

この CP が有意に 0 よりも大きい、または小さい値を示す場合は、そのニューロンは Hit 時と Miss 時で異なる応答を示していることを示している。このようなニュー

ーロンを課題相関ニューロンとし、各ニューロンが課題相関ニューロンであるかを調べるため permutation test を行った。permutation test では、各試行での視覚応答とその試行の Hit/Miss の対応をランダムに入れ替え、再度 CP を計算した。この操作を 2000 回行い、得られた 2000 個の CP に対してそのニューロンの CP が上位 5% または下位 5% に入っていた場合に、その CP は有意に 0 から離れており、そのニューロンは課題相関ニューロンであるとした。

4.2.8. 統計解析

ソーティングされた各ニューロンの視覚応答は、得られた活動の応答を時間軸に沿ってヒストグラム化した peri-stimulus time histogram (PSTH) によって評価した。

Offline spike sorting で得られた各ニューロンが視覚刺激に応答をしているかを調べるため、各試行での視覚刺激 Onset の前後 300 ms の神経応答に対してウィルコクソン順位和検定を用い、有意差の見られたニューロンは視覚刺激に応答するニューロンとした ($p < 0.05$)。

また、レバー操作に応答しているかを調べるため、No-go 試行でのレバーオンセットでソートした PSTH と、同じ要素数の一様分布の Kolmogorov-Smirnov (KS) 検定を行い、 $p < 10^{-6}$ のニューロンはレバー操作に応答するニューロンとした (Kimura et al. 2016; Soma et al. 2017)。

さらに、CP が有意に 0 より大きいまたは小さいかを調べるため、Permutation test を行った (Britten et al. 1992)。Permutation test では各試行の神経応答と Hit/Miss の組み合わせをシャッフルした条件で、CP を再度計算する。これを 1000 回以上繰り返し行い、データから得られた CP 以上の値の頻度が p 値になる。今回の解析では、繰り返しは 2000 回行った。

4.3. 結果

4.3.1. V1 野ニューロンの分類

本実験の課題成績においても、第 2 章で得られたものと同様のコントラスト感度曲線が得られた (図 4-1)。

そして記録した V1 野ニューロンを視覚刺激またはレバー操作に対して応答するかによって、4 つのグループに分類した。その結果、視覚刺激にのみ応答したものが 107 個、視覚刺激とレバー操作に応答したものが 41 個、レバー操作にのみ応答したものが 14 個、視覚刺激・レバーともに応答しなかったものが 133

個得られた (図 4-2A)。

このうち、視覚刺激のみに応答した 107 個のニューロンについて、Hit 時と Miss 時の神経応答に違いがあるかを検討した。CP を算出するためには、同一コントラスト条件で Hit 試行と Miss 試行の両方が出現している必要があるため、本研究では Hit 率が 20-80%になるコントラストに対する神経応答を CP 計算の対象とした。

その結果、12 個のニューロンが有意に 0 より大きい CP、9 個のニューロンが有意に 0 より小さい CP を示したため (図 4-2B)、これらのニューロンを課題成績相関ニューロンとした。このうち前者を Hit response-strong neurons、後者を Hit response-weak neurons、どちらにも入らなかった 86 個のニューロンを No difference neurons とした。

4.3.2. 各ニューロンタイプの Hit/Miss 時の神経応答

CP をもとに分類したニューロンタイプごとに、神経応答を z-score 化し、その平均値をもとに z-scored PSTH を計算した (図 4-3)。CP 計算に使用したコントラスト刺激に対するラットのレバー反応は平均で 310 ms であったため、それより前の視覚応答が課題成績に相関していると考えられる。その結果、Hit response-strong neurons は Hit 時に視覚応答が強くなっていたのに対し、Hit response-weak neurons では Hit 時に逆に応答が弱くなっていたことが確認された。

4.3.3. V1 野の各層でのニューロンタイプの分布

V1 野は 6 層構造からなり、層毎に細胞種や機能が異なることが指摘されている。そのため、課題相関ニューロンの V1 野の各層ごとの分布を調べた (図 4-4)。その結果、Hit response-strong neuron は V/VI 層に一番多く見られた一方で II/III 層では見られなかった。Hit response-weak neuron は全層で見られ、中でも IV 層において一番多く見られた。

4.4. 考察

本章では、視覚刺激検出課題中の V1 野神経活動記録を行った。その結果、視覚応答を示した V1 野ニューロンのうちおよそ 20%のニューロンが視覚刺激検出の成否である課題成績（知覚的意思決定）と関係した神経活動を示すことが分かった。

4.4.1. 課題成績と V1 野神経活動の関係

V1 野は視覚情報処理において重要な脳領野であり、視覚刺激の検出に必要であることはこれまでの先行研究でも示されている。光遺伝学を用いた研究では、特定の波長の光によって脱分極を引き起こすチャンネルロドプシンを用いることで、V1 野の抑制性介在ニューロンを活性化させると視覚刺激検出課題の成績が低下する一方(Glickfeld, Histed, and Maunsell 2013; Cone et al. 2019)、直接 V1 野の興奮性神経細胞を活性化させると、視覚刺激を提示していないにも関わらず視覚刺激を検出したときと同じ行動をしめすことが報告されている(Mark H. Histed and Maunsell 2014)。これらのことから、本課題における視覚刺激検出にも V1 野神経活動が寄与していると考えられる。

4.4.2. ラットの知覚的意思決定と V1 野神経活動の関係

続いて V1 野神経活動が、ラットの視覚刺激が見えたかどうかの判断（知覚的意思決定）に関係した情報を持っているかを調べるために各ニューロンの CP を計算したところ、およそ 20%のニューロンが課題成績と相関していた。さらに、興味深いことにそれらのニューロンには、Miss 時に比べて Hit 時で応答が強いものと弱いものの 2 種類が存在することが明らかになった。これらの 2 種類のニューロンはサルを用いた他の先行研究でも報告されており、また V1 野に占める課題相関ニューロンの割合もおおよそ一致している(Nienborg and Cumming 2006; Niemyer and Paradiso 2017)。これらから、知覚的意思決定に関しての寄与はそれほど大きくはないものの、V1 野神経活動は本課題における視覚刺激検出能に寄与していると考えられる。

また、その割合を層ごとにみると、Hit response-strong neuron は V/VI 層、IV 層の順に多く II/III 層では見られなかった。一方で Hit response-weak neuron は IV 層、II/III 層、V/VI 層の順に多く見られ、数は少ないながらも層による分布の違いが確認できた。CP は低次領野に比べて情報処理が進む高次領野において値が大きくなり、有意な細胞の割合も大きくなる(Britten et al. 1996; Nienborg and Cumming

2006; Niemeyer and Paradiso 2017)。一方で、V1 野内においては、層毎に機能や情報の出力先が異なることが知られており、視覚情報はIV層、II/III層、V/VI層、IV層という順で送られ処理される。視覚情報処理が進むにつれて課題成績と神経活動の相関が強くなるとすると、この層の順に課題成績相関ニューロンが増えることが予想されるが、今回はこの情報の流れと一致はしていなかった。層間での情報のやり取りだけでなく、視床や高次領野とのやり取りもあるため、それら複合的な要因で今回観察されたような課題成績に相関したニューロンの分布になっている可能性があるが、現時点では記録できたニューロン数が少ないことと、先行研究においてもこのような解析が行われていないため、さらなる研究が必要であると考えられる。

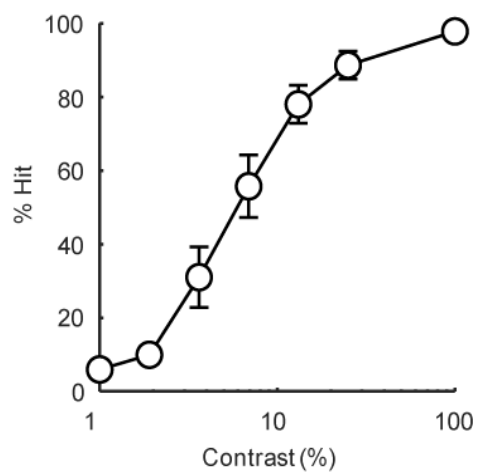


図 4-1：全記録での平均コントラスト曲線

横軸は刺激コントラスト、縦軸は Hit 率（Go 試行中の Hit 試行の割合、 $N = 9$, Error bar = SEM）。

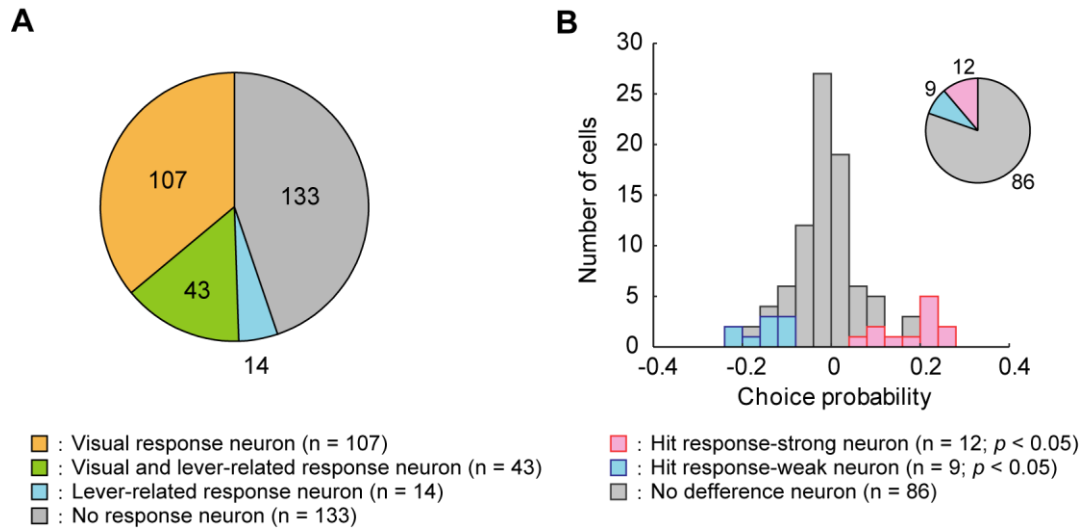


図 4-2 : 記録された V1 野ニューロンの分類と視覚応答ニューロンの CP 分布

A: 記録した V1 野ニューロンは視覚刺激またはレバー操作に対して応答するかによって、以下の 4 つのグループに分類された; 視覚刺激にのみ応答 (■, n = 107)、視覚刺激とレバー操作に両方とも応答 (■, n = 43)、レバー操作にのみ応答 (■, n = 14)、視覚刺激・レバーともに応答なし (■, n = 133)。**B:** 107 個の視覚刺激にのみ応答した各 V1 野ニューロンの CP のヒストグラム。赤または青のグラフは有意に 0 より大きい、または小さい CP を示したニューロン ($p < 0.05$, permutation test)。12 個のニューロンが有意に 0 より大きい CP、9 個のニューロンが有意に 0 より小さい CP を示した。

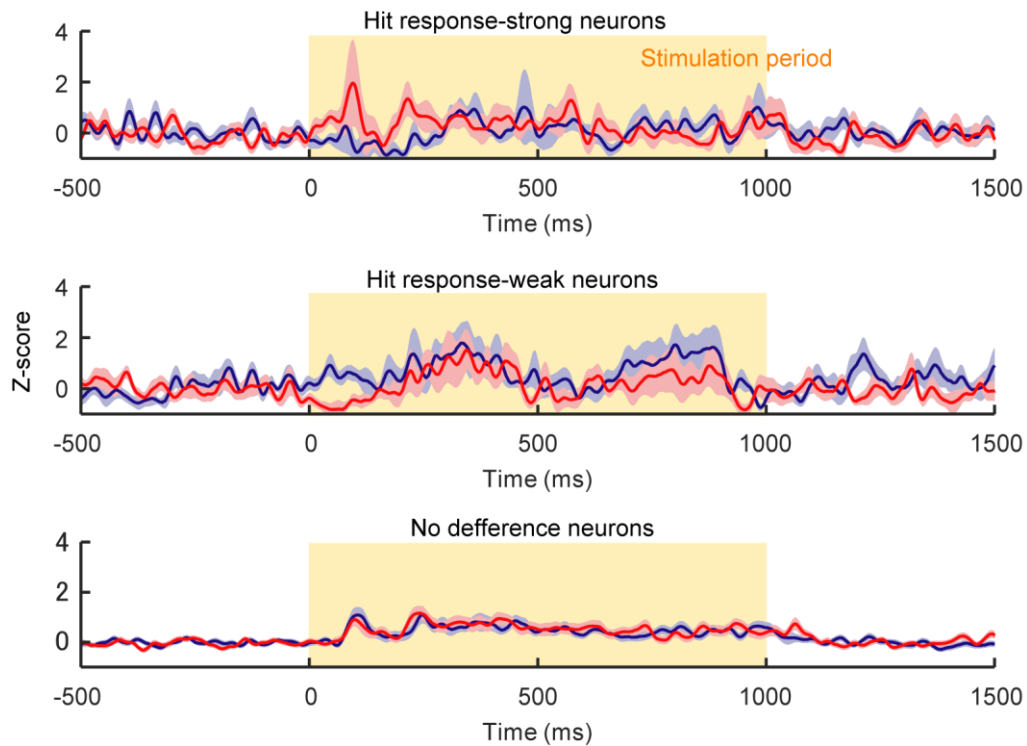


図 4-3 : V1 野ニューロンの Hit 試行と Miss 試行での応答の比較。

Hit response-strong neurons（上段）、Hit response-weak neurons（中段）、および No difference neurons（下段）の各 3 つのニューロンタイプの Z-scored PSTH。横軸が時間、縦軸が z-score 化された平均の神経応答。赤線（—）が Hit、青線（—）が Miss 試行での PSTH を示す。オレンジで示した時間に視覚刺激が提示された。

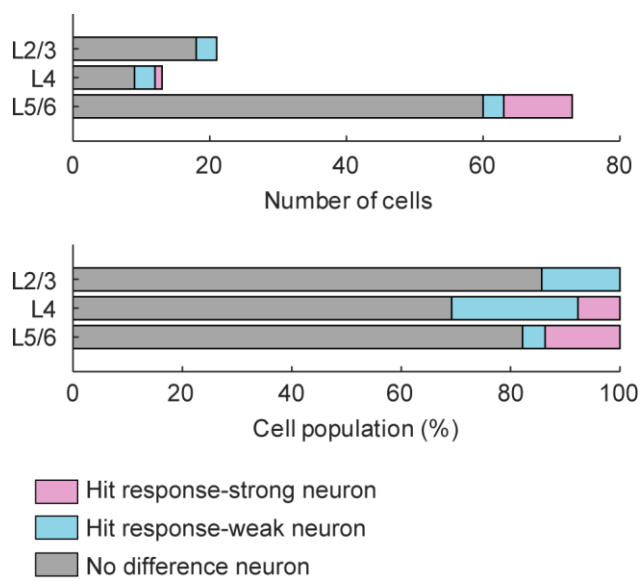


図 4-4 : 各ニューロンタイプの層による分布。

Ⅱ/Ⅲ層 (L2/3)、Ⅳ層 (L4)、Ⅴ/Ⅵ層 (L5/6) の各層における各ニューロンタイプに分類されたニューロンの数 (上段) と割合 (下段)。

第5章

5-HT2A 受容体阻害薬投与の視覚刺激検出能と V1 野神経活動への影響

5.1. 背景と目的

第2章で FLX は視覚刺激の SF に依存して DLCS を向上させることが明らかとなった。同様な SF 依存性は V1 野ニューロンの視覚応答にもみられ、また約 20% の V1 野ニューロンの視覚応答が、視覚刺激検出の成否と相関していることが明らかとなったことから、セロトニンは V1 野の視覚応答を修飾することで、視覚刺激検出能を改善した可能性がある。

先行研究において 5-HT1B と 2A 受容体の活性化がサル V1 野ニューロンの同一視覚刺激に対する応答強度（ゲイン）を変化させることが示されている。そのため、セロトニンによる視覚刺激検出能向上効果にはこれらの受容体が関与していると考えられる。

そこで本章では、まず 5-HT2A 受容体に焦点をあてた。そして頭部固定下ラットの視覚刺激検出能（50%CS）および V1 野神経活動の同時記録を行い、それらに対する 5-HT2A 受容体阻害薬であるケタンセリンの修飾効果を検討した。

5.2. 方法

5.2.1. 準備

実験には 6 匹の Long-Evans ラット（雄、200-350g; 日本エスエルシー株式会社、静岡、日本。以下ラット。）を用いた。ラットの飼育状況は第2章と同様である。頭部固定用プレートおよびリファレンス電極についても第3章、第4章同様に装着した。また、薬剤の静脈投与のため、課題直前にラットの尾静脈にカテーテル（サーフロフラッシュ 24G, テルモ, 東京, 日本）を挿入し、インジェクションキャップ（メディコン, 大阪, 日本）をした後、尻尾にテープで固定した。その際、血液が凝固しないように、リンゲル溶液で 2 倍希釈したヘパリン（持田製薬株式会社, 東京, 日本）を、インジェクションキャップを介してカテーテルに注入した。

5.2.2. 視覚刺激検出課題

第3章、第4章と同様の方法で行った。

5.2.3. 薬剤

セロトニンの作用を調べるため、5-HT_{2A} 受容体の阻害薬である、ケタンセリン酒石酸塩 (Ketanserin tartrate; KET, Abcam, CB, UK) を用いた。溶媒には生理食塩水を用いた。KET の投与濃度は 2 mg/kg、投与量は 1 ml/kg で、課題開始 40 分後に、あらかじめ尾静脈に留置しておいたカテーテルを介して尾静脈から静脈投与した。

5.2.4. 神経活動記録

第4章と同様の方法で行った。

5.2.5. 視覚刺激

視覚刺激は第3章、第4章での CS 測定と同様のドリフトグレーティング刺激を用いた。刺激コントラストについては、1 刺激当たりの試行数を増やすため、1-100%で4点のコントラスト (2, 4.4, 10, 100%) を使用した。

5.2.6. Histology

第4章と同様の方法で行った。

5.2.7. Offline spike sorting

第4章と同様の方法で行った。

5.2.8. Choice probability

第4章と同様の方法で行った。

5.2.9. 統計解析

第4章と同様の方法で行った。

5.3. 結果

セロトニン受容体のうち、5-HT_{2A} 受容体の視覚刺激検出能および V1 野神経活動に対する役割を明らかにするため、頭部固定下での視覚刺激検出課題中に、5-HT_{2A} 受容体の阻害薬である KET を投与して、その前後での 50%CS と神経活動を比較した。

5.3.1. 50%CS に対する KET 投与の影響

まず、第3章で構築した課題の成績については、KET 投与によって Hit 率の上昇が見られた (図 5-1A)。続いて、各薬剤条件での投与前後で 50%CS を比較した結果、Saline 投与による変化は見られなかった一方で (図 5-1B 左, $p = 0.28$, paired t-test with Bonferroni's correction)、KET 投与による有意な向上が見られた (図 5-1B 右, $p < 0.05$, paired t-test with Bonferroni's correction)。このことは、内因性のセロトニンが 5-HT_{2A} 受容体を介して、視覚刺激検出能を低下させていることを示唆している。

5.3.2. 視覚応答に対する KET 投与の影響

記録した V1 野ニューロンの SUA を、第3章と同様に視覚刺激またはレバー操作に同期した応答を示すかどうかで 4 つのグループに分類し、視覚刺激にのみ応答したニューロンを解析対象とした (Saline 群, $n = 53$; KET 群, $n = 80$)。まず、KET 投与の視覚応答に対する影響を調べるため、投与前後 (pre/post) の視覚応答を比較したところ、視覚応答が促進されたニューロン (Facilitated neuron) と視覚応答が抑制されたニューロン (Suppressed neuron) 群が見られた (図 5-2A)。一方で Saline 投与によっても、少数ながら同様のニューロンが見られたため、Facilitated neuron 群と Suppressed neuron 群において、投与前後での視覚応答変化量を比較したところ、Facilitated neuron 群において、Saline 群に比べて KET 群は変化量が有意に大きかった (図 5-2B, $p < 0.05$, ウィルコクソン順位和検定)。このことから、内因性のセロトニンは通常時 5-HT_{2A} 受容体を介して V1 野の視覚応答を抑制していると考えられる。

5.3.3. CP に対する KET 投与の影響

次に V1 野ニューロンの神経活動と知覚的意思決定の相関を意味する CP が KET 投与によって影響を受けるかについて検討した。図 5-3A 右は、KET を投与する前後の CP 値を散布図で示したものである。データは縦長に分布しており、Pre では多くのデータが-0.1~0.1 の範囲に分布しているのに対して、Post では-0.3~0.3 に渡って分布していた。このことは、KET 投与によって、V1 野ニューロンの神経活動と知覚的意思決定の相関が高くなったことを意味する。また、課題成績相関ニューロンの数についても KET 投与による増加が見られた (図 5-3B)。このことから、KET 投与によって知覚的意思決定に寄与する V1 野ニューロンの数とその強さが増加したことを示唆している。

5.4. 考察

本章ではセロトニンの視覚機能に対する役割を知覚レベルと神経活動レベルで検討するため、第 3 章で構築した課題を用いて、課題遂行中のラットに 5-HT2A 受容体阻害薬 KET を尾静脈投与し、その前後での課題成績と V1 野神経活動の比較を行った。その結果、KET 投与によって 50%CS の有意な向上と、V1 野の視覚応答の促通性修飾作用および課題成績相関ニューロン数の増加、CP の値の上昇が見られた。

5.4.1. 5-HT2A 受容体が視覚刺激検出能に与える影響

セロトニンが視覚機能に及ぼす影響については、V1 野の神経活動に焦点を当てた研究がいくつか行われているものの、知覚レベルでの定量的研究は行われていなかった。

本研究の第 2 章では、セロトニン再取り込み阻害薬の一種である FLX の腹腔内投与によって、ラットの DLCS が向上したため、内因性のセロトニンは視覚刺激検出能を向上させることが示唆された。一方で本章では、5-HT2A 受容体阻害薬 KET の投与によって、同様に 50%CS の向上が見られたため、内因性のセロトニンは 5-HT2A 受容体を介して視覚刺激検出能を下げる作用を及ぼすことが示唆された。

これらの FLX 投与によるセロトニン濃度上昇が視覚刺激検出能を向上させる一方で、5-HT2A 受容体の活性化は視覚刺激検出能を低下させるという作用の違いについては、以下の 2 つの可能性が考えられる。1 つ目は、FLX 投与による視覚刺激検出能には 5-HT2A 以外の受容体サブタイプが寄与している可能性であ

る。その候補としては、5-HT_{2A} 受容体と拮抗した作用が報告されている 5-HT_{1B} 受容体が考えられる。2つ目は、FLX 投与による視覚刺激検出能にも 2A 受容体が寄与している可能性である。5-HT_{2A} 受容体は視覚応答強度に応じて双方向性の修飾作用を持つことも報告されている。これらの詳細については総合考察で議論する。

5.4.2. 5-HT_{2A} 受容体が V1 野の神経活動と CP に及ぼす影響

V1 野神経活動に対するセロトニンの効果については、これまでも研究は行われており、セロトニンは全体として V1 野ニューロンの視覚応答を抑制し (Seillier et al. 2017; Azimi et al. 2018)、またその抑制作用には 5-HT_{2A} 受容体が寄与していることが報告されている (Michaël, Parker, and Niell 2019)。一方で、5-HT_{2A} 受容体の活性化は視覚応答強度依存的に促通・抑制性の両方向の効果を有し、強い応答を抑制し弱い応答を促通することが報告されている (Watakabe et al. 2009; Michaël, Parker, and Niell 2019)。

5-HT_{2A} 受容体の活性化は Gq/11 を介して脱分極を誘発することが分かっており、神経活動に対しては発火頻度を促通する方向に働く。たとえばラット背外側中隔核において、セロトニンがシナプス前 5-HT_{2A} 受容体を介してグルタミン酸の放出を増加させることにより、EPSP の振幅を増幅させることが報告されている (Hasuo, Matsuoka, and Akasu 2002)。今回の実験では 5-HT_{2A} 受容体の阻害が視覚応答を促通する作用が見られたが、この促通性効果は 5-HT_{2A} 受容体活性化による発火頻度の上昇効果によるものだと考えられる。一方、抑制性効果については、記録中のニューロンに対して抑制性作用をもつ介在ニューロンの 5-HT_{2A} 受容体が活性化され、その抑制性作用が増強されたため生じたと考えられる。実際に 5-HT_{2A} 受容体は抑制性介在ニューロンにも発現していることが分かっている (Weber and Andrade 2010)。

また、第4章でも示したように、V1 野ではおよそ 20% の課題成績相関ニューロンが存在し、割合としては高くはないものの知覚的意思決定に寄与する情報を持っている。今回の実験では、KET 投与は視覚応答を両方向性に修飾しただけでなく、CP の値の増加、および課題成績相関ニューロンの割合を増加させた。これは、V1 野ニューロンの情報の読み出しが 5-HT_{2A} 受容体阻害によって促進され、知覚的意思決定への寄与が増加したことを意味する。本実験では、KET を尾静脈から投与したため、KET は V1 野以外にも作用しており、V2 野をはじめとする、より高次の領野に影響を与えた結果、視覚領野からの情報の読み出しが亢進したことが考えられる。この情報の読み出しの亢進に加えて、課題成績相関ニューロンはより高次領野になるほどその割合が増えることから (Nienborg and

Cumming 2006)、それら高次領野から V1 野へのフィードバック入力強化されることによって V1 野ニューロンの CP の値は増加すると考えられる。したがってこれらを合わせて考えると、セロトニンは少なくとも 5-HT_{2A} 受容体を介して、V1 野をはじめとする視覚刺激検出課題における知覚的意思決定に関わる領野間でのフィードフォワード/フィードバックを含めた情報伝達効率に対する修飾作用を持つ可能性がある。

以上のように、今回の実験では KET 投与によって V1 野の視覚応答の修飾と視覚応答と課題成績の相関が強化された結果、行動課題成績での 50%CS の向上につながったのではないかと考えられる。

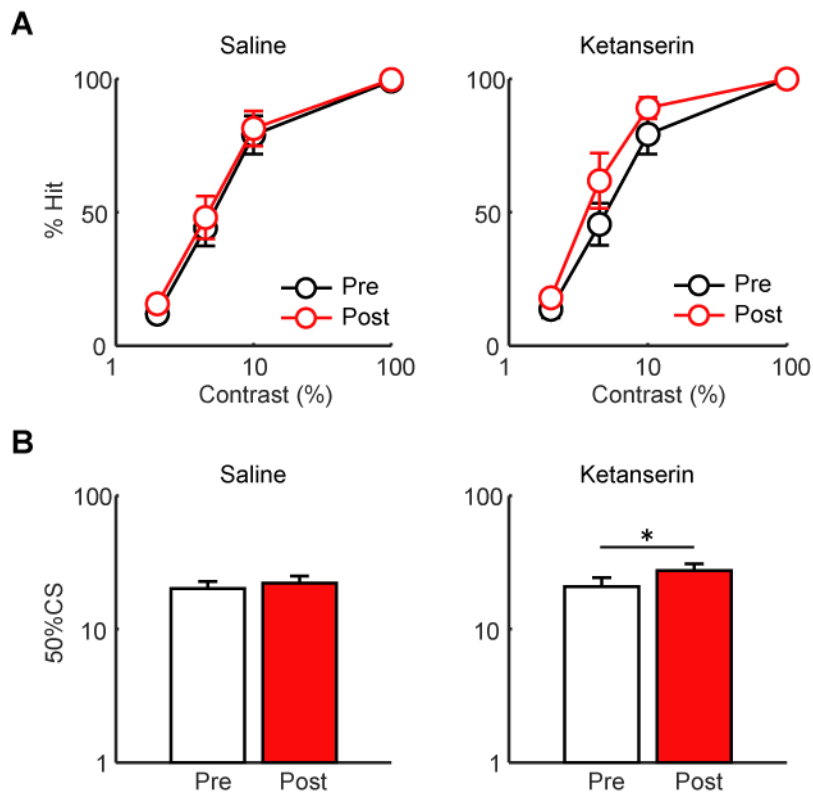


図 5-1 : KET 投与の 50%CS に対する影響

A: 薬剤投与前 (—) と投与後 (—) のコントラスト感度曲線。KET 投与によって Hit 率の上昇が見られた (右)。 **B:** 各薬剤条件下におけるラットの 50%CS。白が投与前、赤が投与後。KET 投与によってコントラスト感度の有意な上昇が見られた (右) (*: $p < 0.05$, paired t-test with Bonferroni's correction, Error bar = SEM, $n = 8$)。

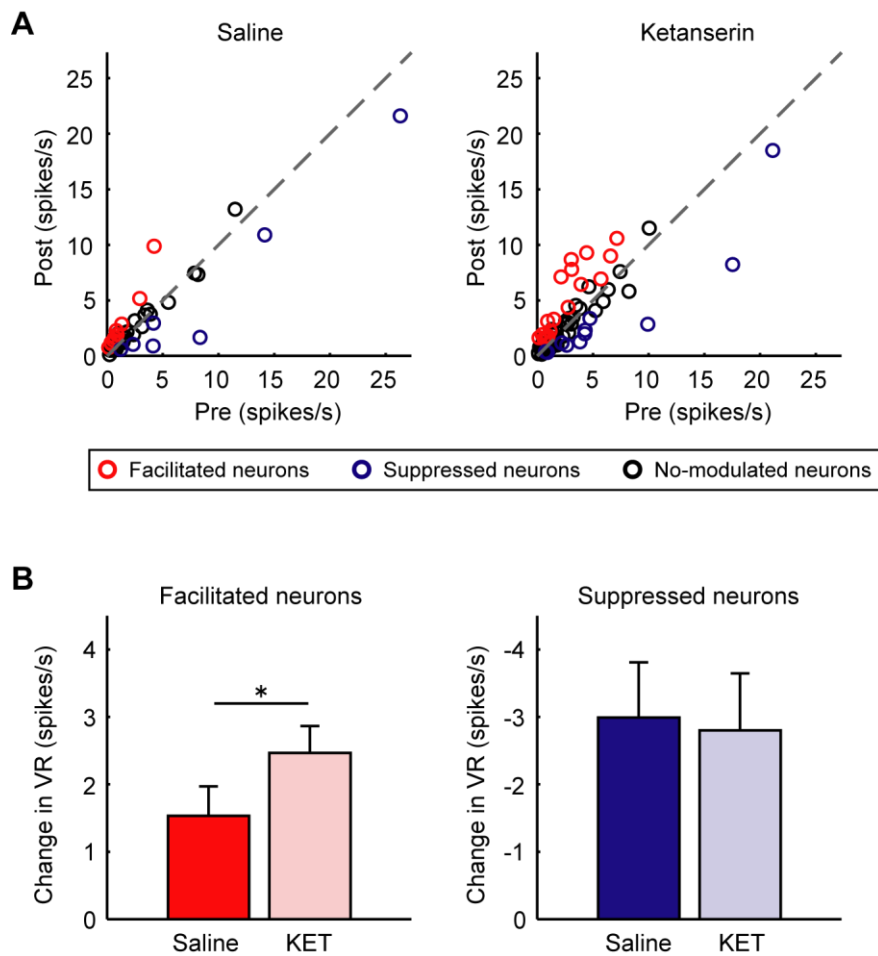


図 5-2 : KET 投与の視覚応答に対する影響

A: 薬剤投与前後の視覚応答の比較。横軸は薬剤投与前 (Pre)、縦軸は薬剤投与後 (Post) の視覚応答を示す。左が Saline 投与、右が Ketanserin 投与時で、赤丸が Facilitated neuron、青丸が Suppressed neuron、黒丸が No-modulated neuron を示す。**B:** Facilitated neuron と Suppressed neuron それぞれでの薬剤投与前後の視覚応答 (Visual response, VR) 変化量。Ketanserin 投与によって、Facilitated neuron において視覚応答変化量の有意な上昇が見られた (* $p < 0.05$, ウィルコクソン順位検定, Error bar = SEM)。

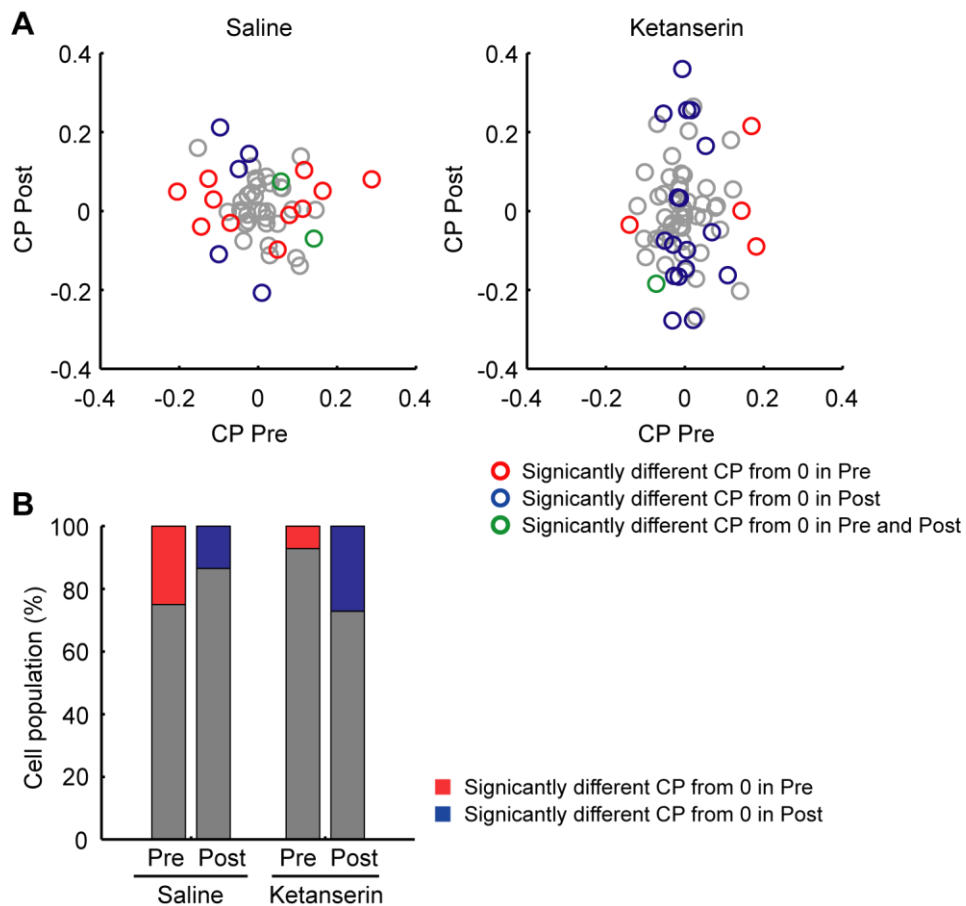


図 5-3 : KET 投与の CP に対する影響

A: 薬剤投与前後での CP の比較。横軸は薬剤投与前 (Pre)、縦軸は薬剤投与後 (Post) の CP を示す。左が Saline 投与、右が Ketanserin 投与時。**B:** 薬剤投与前後での CP が課題成績相関ニューロン数の比較。KET 投与によって、課題成績相関ニューロン数の増加が見られた。

第6章

総合考察

6.1. 5-HT1B/2A 受容体の応答強度に依存した修飾作用

5-HT1B 受容体および 5-HT2A 受容体は、ニューロンの応答強度依存的に両方向性の修飾効果を及ぼす(Watakabe et al. 2009; Michael, Parker, and Niell 2019)。このうち 5-HT1B 受容体は強い視覚応答を促通し、弱い応答を抑制するが、5-HT2A 受容体は逆に強い応答を抑制し、弱い応答を促通する。これらの強い応答・弱い応答は、提示される視覚刺激の強度（コントラスト）などに依存して引き起こされる。

第2章で 2AFC-VDT と階段法を組み合わせ測定した DLCS は、ラットが刺激を検出できるかできないかの境界のコントラストを検出限界閾値として計測し、その逆数として算出している。そのため、このときに提示されていた視覚刺激の強度は低く、誘発される神経応答も弱い。一方で、第3章で構築した頭部固定下での視覚刺激検出課題を用いて測定した 50%CS は、Hit 率が 50%となるコントラストを検出閾値としているため、その視覚刺激の強度は DLCS 測定時よりは強く、誘発される神経応答も強いと考えられる。セロトニンの視覚応答に対する修飾効果が、応答強度依存性を持つことを考えると、これらの2つの測定時の刺激強度の違いによって、内因性セロトニンの視覚刺激検出能修飾作用の方向性が異なっていた可能性がある。

視覚刺激の強度が高いコントラストから検出率が 50%程度のコントラストの場合には応答強度が比較的高いため、5-HT1B 受容体活性化は促通、5-HT2A 受容体活性化は抑制に働くと考えられる。実際に本章で見られたように 5-HT2A 受容体の抑制によって 50%CS が向上したことから 5-HT2A 受容体活性化は抑制に働いていたことが示唆されている。

さらに低いコントラストの視覚刺激の場合にはその修飾作用が逆になり、5-HT1B 受容体活性化は抑制、5-HT2A 受容体活性化は促通に働くと考えられる。したがって FLX の DLCS 向上作用も同様に 5-HT2A 受容体を介していると考えられる。一方で、第5章での KET 投与実験では最も低いコントラスト刺激(2%)での Hit 率には変化が見られなかった。そのため、DLCS 測定時に作用していたのはもう一方の 5-HT1B 受容体である可能性も考えられる。その場合、前述の通り先行研究では低い応答を抑制するため、たとえばその抑制作用が視覚応答よりも自発応答に強く効き、S/N 比が向上したため結果として視覚刺激検出能が向

上した可能性も考えられる。しかしながら今回 5-HT1B 受容体を対象とした実験は行っていないため、詳細を明らかにするためには同様の実験を 5-HT1B 受容体を対象として行う必要がある。

6.2. セロトニンの視覚機能に対する役割

本研究では、これまで神経活動レベルに焦点をあてて研究されていたセロトニンの視覚機能に対する役割について、SSRI である FLX を用いた行動薬理実験によって、内因性のセロトニンに視覚刺激検出能向上効果があることが分かった。つづいて、頭部固定条件での視覚刺激検出課題を構築し、視覚刺激検出能を測定しつつ V1 野の神経活動を記録することで、知覚レベルと神経活動レベルの両面からの検討を行った。その結果、5-HT2A 受容体阻害薬である KET 投与によって、視覚刺激検出能の向上および V1 野の視覚応答の修飾と視覚応答と課題成績の相関の強化が見られた。5-HT2A 受容体単体の活性化では視覚刺激検出能を低下させる作用があることが示唆されたことから、行動薬理実験の結果と合わせて考えると、セロトニンは通常時には主に 5-HT1B 受容体を介して視覚刺激検出能を向上させており、5-HT2A 受容体と同時に活性化されることでバランスをとっている可能性がある。またその際には、5-HT1B 受容体の活性化は強い応答を促通し、弱い応答を抑制することで視覚イメージのノイズを落とし、逆に 5-HT2A 受容体の活性化は強い応答を抑制し、弱い応答を促通することで、視覚イメージのコントラストが強調されすぎないように適切な範囲に調整していると考えられている(Watakabe et al. 2009; Shimegi et al. 2016)。

また、セロトニン神経は歩行やジョギング、咀嚼といったリズムミカルな運動によって放出されることが分かっている(Chaouloff 1997; Gomez-Merino et al. 2001)。今回の実験で FLX 投与によって通常時よりも脳内セロトニン濃度を高めた結果視覚刺激検出能の向上が見られたことから、こういった運動を行っている際には 5-HT1B 受容体の作用がより強くすることで視機能を向上させ、運動時に外界の情報をより活用できるように視機能を調節しているのではないかと考えられる。

6.3. 結論

本研究では、行動文脈依存的に分泌されるセロトニンの機能的役割および神経機序を、ラットを対象とした行動薬理実験および課題遂行中の電気生理実験により検討した。その結果、脳内セロトニン濃度の上昇は、1) 知覚レベルにおける視覚機能向上効果を示すこと、また2) V1 野ニューロンの視覚応答および視覚応答と課題成績の相関への修飾を通して視覚刺激検出能を調節していることが明らかになった。

謝辞

本研究を行うに当たり、指導教員であり主査である大阪大学全学教育推進機構七五三木聡教授には、実験から解析、論文作成に至るまで、昼夜問わず議論の機会を下さり、また、研究者としての心構えや生き方など非常に多くの事柄について学ばせて頂きました。心より感謝申し上げます。

大阪大学大学院医学系研究科佐藤宏道教授には、研究を行う環境を与えてくださり、また本論文の執筆においても終始熱心にご指導ご鞭撻下さりました。心より御礼申し上げます。また、研究室セミナー等で、研究内容および発表の方法等について助言下さりました同研究科内藤智之講師に厚く感謝いたします。

大阪大学大学院生命機能研究科大澤五住教授、田村弘准教授には本論文の審査だけではなく、研究内容に関しまして丁寧なご指導、ご鞭撻を賜りました。厚く御礼申し上げます。

本研究の実験系構築および電気生理実験においてご助言を下さりました、京都府立医科大学大学院医学研究科相馬祥吾助教、大阪大学大学院工学研究科末松尚文助教に心より感謝いたします。

所属研究室である大阪大学全学教育推進機構スポーツ脳情報科学研究室において、実験に際して直接的な指導および多くの助言を下さった水山遼先輩、一緒に実験を行ったり多くの相談や議論をしたりした同期の角田圭輔君、呉屋良真君に心より感謝申し上げます。また研究室での生活を様々な面で支えて下さった研究室メンバーの皆様に深く感謝をし、謝辞に変えさせていただきます。

参考文献

- Adell, Albert, Pau Celada, M. Teresa Abellán, and Francesc Artigas. 2002. "Origin and Functional Role of the Extracellular Serotonin in the Midbrain Raphe Nuclei." *Brain Research Reviews* 39 (2–3): 154–80. [https://doi.org/10.1016/S0165-0173\(02\)00182-0](https://doi.org/10.1016/S0165-0173(02)00182-0).
- Azimi, Zohre, Katharina Spoida, Ruxandra Barzan, Patric Wollenweber, Melanie D Mark, Stefan Herlitze, and Dirk Jancke. 2018. "Subtraction and Division of Visual Cortical Population Responses by the Serotonergic System." *BioRxiv*, October, 444943. <https://doi.org/10.1101/444943>.
- Birch, David, and Gerald H. Jacobs. 1979. "Spatial Contrast Sensitivity in Albino and Pigmented Rats." *Vision Research* 19 (8): 933–37. [https://doi.org/10.1016/0042-6989\(79\)90029-4](https://doi.org/10.1016/0042-6989(79)90029-4).
- Brainard, D H. 1997. "The Psychophysics Toolbox." *Spatial Vision* 10 (4): 433–36. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9176952>.
- Britten, K H, W T Newsome, M N Shadlen, S Celebrini, and J A Movshon. 1996. "A Relationship between Behavioral Choice and the Visual Responses of Neurons in Macaque MT." *Visual Neuroscience* 13: 87–100. <http://www.cns.nyu.edu/~tony/Publications/britten-newsome-shadlen-celebrini-movshon-1996.pdf>.
- Britten, K H, M N Shadlen, W T Newsome, and J A Movshon. 1992. "The Analysis of Visual Motion: A Comparison of Neuronal and Psychophysical Performance." *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience* 12 (12): 4745–65. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.12-12-04745.1992>.
- Campbell, F. W., G. F. Cooper, and Christina Enroth-Cugell. 1969. "The Spatial Selectivity of the Visual Cells of the Cat." *The Journal of Physiology* 203 (1): 223–35. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1969.sp008861>.
- Chaouloff, Francis. 1997. "Effects of Acute Physical Exercise on Central Serotonergic Systems." In *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 29:58–62. Lippincott Williams and Wilkins. <https://doi.org/10.1097/00005768-199701000-00009>.
- Cone, Jackson J., Megan D. Scantlen, Mark H. Histed, and John H.R. Maunsell. 2019. "Different Inhibitory Interneuron Cell Classes Make Distinct Contributions to Visual Contrast Perception." *ENeuro* 6 (1). <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0337-18.2019>.
- Cooper, Jack R., Floyd E. Bloom, and Robert H. Roth. 2003. *The Biochemical Basis of Neuropsychopharmacology*. Oxford University Press.

- Frazer, Alan, and Julie G Hensler. 1999. "Serotonin Receptors."
- Glickfeld, Lindsey L., Mark H. Histed, and John H.R. Maunsell. 2013. "Mouse Primary Visual Cortex Is Used to Detect Both Orientation and Contrast Changes." *Journal of Neuroscience* 33 (50): 19416–22. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3560-13.2013>.
- Gomez-Merino, Danielle, Frédéric Béquet, Muriel Berthelot, Mounir Chennaoui, and Charles Yannick Guezennec. 2001. "Site-Dependent Effects of an Acute Intensive Exercise on Extracellular 5-HT and 5-HIAA Levels in Rat Brain." *Neuroscience Letters* 301 (2): 143–46. [https://doi.org/10.1016/S0304-3940\(01\)01626-3](https://doi.org/10.1016/S0304-3940(01)01626-3).
- Harris, Kenneth D., Darrell A. Henze, Jozsef Csicsvari, Hajime Hirase, and György Buzsáki. 2000. "Accuracy of Tetrode Spike Separation as Determined by Simultaneous Intracellular and Extracellular Measurements." *Journal of Neurophysiology* 84 (1): 401–14. <https://doi.org/10.1152/jn.2000.84.1.401>.
- Harris, Kenneth D., and Alexander Thiele. 2011. "Cortical State and Attention." *Nature Reviews Neuroscience* 12 (9): 509–23. <https://doi.org/10.1038/nrn3084>.
- Hasuo, Hiroshi, Toshimasa Matsuoka, and Takashi Akasu. 2002. "Activation of Presynaptic 5-Hydroxytryptamine 2A Receptors Facilitates Excitatory Synaptic Transmission via Protein Kinase C in the Dorsolateral Septal Nucleus." *Journal of Neuroscience* 22 (17): 7509–17. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.22-17-07509.2002>.
- Hensler, Julie G. 2006. "Serotonergic Modulation of the Limbic System." *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 30 (2): 203–14. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2005.06.007>.
- Histed, M. H., L. a. Carvalho, and J. H. R. Maunsell. 2012. "Psychophysical Measurement of Contrast Sensitivity in the Behaving Mouse." *Journal of Neurophysiology* 107 (3): 758–65. <https://doi.org/10.1152/jn.00609.2011>.
- Histed, Mark H., and John H.R. Maunsell. 2014. "Cortical Neural Populations Can Guide Behavior by Integrating Inputs Linearly, Independent of Synchrony." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 111 (1). <https://doi.org/10.1073/pnas.1318750111>.
- Hueletl-Soto, María Eugenia, Miguel Carro-Juárez, and Gabriela Rodríguez-Manzo. 2012. "Fluoxetine Chronic Treatment Inhibits Male Rat Sexual Behavior by Affecting Both Copulatory Behavior and the Genital Motor Pattern of Ejaculation." *The Journal of Sexual Medicine* 9 (4): 1015–26. <https://doi.org/10.1111/J.1743-6109.2011.02339.X>.
- Isomura, Yoshikazu, Rie Harukuni, Takashi Takekawa, Hidenori Aizawa, and Tomoki

- Fukai. 2009. "Microcircuitry Coordination of Cortical Motor Information in Self-Initiation of Voluntary Movements." *Nature Neuroscience* 12 (12): 1586–93. <https://doi.org/10.1038/nn.2431>.
- Jacob, Simon N., and Hendrikje Nienborg. 2018. "Monoaminergic Neuromodulation of Sensory Processing." *Frontiers in Neural Circuits*. Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fncir.2018.00051>.
- Kimura, Rie, Akiko Saiki, Yoko Fujiwara-Tsukamoto, Fuki Ohkubo, Kazuo Kitamura, Masanori Matsuzaki, Yutaka Sakai, and Yoshikazu Isomura. 2012. "Reinforcing Operandum : Rapid and Reliable Learning of Skilled Forelimb Movements by Head-Fixed Rodents." *Journal of Neurophysiology* 108 (6): 1781–92. <https://doi.org/10.1152/jn.00356.2012>.
- Kimura, Rie, Akiko Saiki, Yoko Fujiwara-tsukamoto, Yutaka Sakai, and Yoshikazu Isomura. 2016. "Large-Scale Analysis Reveals Populational Contributions of Cortical Spike Rate and Synchrony to Behavioral Functions Running" 00: 1–77. <https://doi.org/10.1113/JP272794>.This.
- Köhler, Christer, and Stanley A. Lorens. 1978. "Open Field Activity and Avoidance Behavior Following Serotonin Depletion: A Comparison of the Effects of Parachlorophenylalanine and Electrolytic Midbrain Raphe Lesions." *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 8 (3): 223–33. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(78\)90309-X](https://doi.org/10.1016/0091-3057(78)90309-X).
- Matteucci, Giulio, Rosilari Bellacosa Marotti, Margherita Riggi, Federica B. Rosselli, and Davide Zoccolan. 2019. "Nonlinear Processing of Shape Information in Rat Lateral Extrastriate Cortex." *Journal of Neuroscience* 39 (9): 1649–70. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1938-18.2018>.
- Merigan, W H, and J H R Maunsell. 1993. "How Parallel Are the Primate Visual Pathways?" *Annual Review of Neuroscience* 16 (1): 369–402. <https://doi.org/10.1146/annurev.ne.16.030193.002101>.
- Michaïel, Angie M., Philip R.L. Parker, and Cristopher M. Niell. 2019. "A Hallucinogenic Serotonin-2A Receptor Agonist Reduces Visual Response Gain and Alters Temporal Dynamics in Mouse V1." *Cell Reports* 26 (13): 3475–3483.e4. <https://doi.org/10.1016/J.CELREP.2019.02.104>.
- Mitzdorf, U. 1985. "Current Source-Density Method and Application in Cat Cerebral Cortex: Investigation of Evoked Potentials and EEG Phenomena." *Physiological Reviews*. <https://doi.org/10.1152/physrev.1985.65.1.37>.
- Miyazaki, Kayoko W, Katsuhiko Miyazaki, and Kenji Doya. 2012. "Activation of Dorsal Raphe Serotonin Neurons Is Necessary for Waiting for Delayed Rewards."

- The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience* 32 (31): 10451–57. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0915-12.2012>.
- Mizuyama, Ryo, Shogo Soma, Naofumi Suemastu, and Satoshi Shimegi. 2016. “Noradrenaline Improves Behavioral Contrast Sensitivity via the β -Adrenergic Receptor.” Edited by Manuel S. Malmierca. *PLOS ONE* 11 (12): e0168455. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0168455>.
- Monti, Jaime M. 2010. “The Role of Dorsal Raphe Nucleus Serotonergic and Non-Serotonergic Neurons, and of Their Receptors, in Regulating Waking and Rapid Eye Movement (REM) Sleep.” *Sleep Medicine Reviews* 14 (5): 319–27. <https://doi.org/10.1016/j.smr.2009.10.003>.
- . 2011. “Serotonin Control of Sleep-Wake Behavior.” *Sleep Medicine Reviews* 15 (4): 269–81. <https://doi.org/10.1016/J.SMRV.2010.11.003>.
- Niemeyer, James E., and Michael A. Paradiso. 2017. “Contrast Sensitivity, V1 Neural Activity, and Natural Vision.” *Journal of Neurophysiology* 117 (2): 492–508. <https://doi.org/10.1152/jn.00635.2016>.
- Nienborg, Hendrikje, and Bruce G. Cumming. 2006. “Macaque V2 Neurons, but Not V1 Neurons, Show Choice-Related Activity.” *Journal of Neuroscience* 26 (37): 9567–78. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2256-06.2006>.
- Nishio, Nana, Hiroaki Tsukano, Ryuichi Hishida, Manabu Abe, Junichi Nakai, Meiko Kawamura, Atsushi Aiba, Kenji Sakimura, and Katsuei Shibuki. 2018. “Higher Visual Responses in the Temporal Cortex of Mice.” *Scientific Reports* 8 (1). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-29530-3>.
- O’Hearn, Elizabeth, and Mark E. Molliver. 1984. “Organization of Raphe-Cortical Projections in Rat: A Quantitative Retrograde Study.” *Brain Research Bulletin* 13 (6): 709–26. [https://doi.org/10.1016/0361-9230\(84\)90232-6](https://doi.org/10.1016/0361-9230(84)90232-6).
- Pelli, D G. 1997. “The VideoToolbox Software for Visual Psychophysics: Transforming Numbers into Movies.” *Spatial Vision* 10 (4): 437–42. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9176953>.
- Prouty, Eric W., Daniel J. Chandler, and Barry D. Waterhouse. 2017. “Neurochemical Differences between Target-Specific Populations of Rat Dorsal Raphe Projection Neurons.” *Brain Research* 1675 (November): 28–40. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2017.08.031>.
- Pytliak, M, V Vargová, V Mechírová, and M Felšöci. 2011. “Serotonin Receptors - from Molecular Biology to Clinical Applications.” *Physiological Research / Academia Scientiarum Bohemoslovaca* 60 (1): 15–25. <https://doi.org/931903> [pii].
- Rowland, Neil E., Florence A. Caputo, and Melvin J. Fregly. 1987. “Water Intake

- Induced in Rats by Serotonin and 5-Hydroxytryptophan: Different Mechanisms?" *Brain Research Bulletin* 18 (4): 501–8. [https://doi.org/10.1016/0361-9230\(87\)90115-8](https://doi.org/10.1016/0361-9230(87)90115-8).
- Schwarz, Cornelius, Harald Hentschke, Sergejus Butovas, Florent Haiss, Maik C. Stüttgen, Todor V. Gerdjikov, Caroline G. Bergner, and Christian Waiblinger. 2010. "The Head-Fixed Behaving Rat - Procedures and Pitfalls." *Somatosensory and Motor Research* 27 (4): 131–48. <https://doi.org/10.3109/08990220.2010.513111>.
- Segura, Francisco, Ana Sánchez-Cano, Sebastián Jarabo, Carmen López de la Fuente, Nicolás Cuenca, María P. Villegas-Pérez, and Isabel Pinilla. 2015. "Assessment of Visual and Chromatic Functions in a Rodent Model of Retinal Degeneration." *Investigative Ophthalmology and Visual Science* 56 (11): 6275–83. <https://doi.org/10.1167/iovs.15-17257>.
- Seillier, Lenka, Corinna Lorenz, Katsuhisa Kawaguchi, Torben Ott, Andreas Nieder, Paria Pourriahi, and Hendrikje Nienborg. 2017. "Serotonin Decreases the Gain of Visual Responses in Awake Macaque V1." *The Journal of Neuroscience* 37 (47): 11390–405. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1339-17.2017>.
- Shimegi, Satoshi, Akihiro Kimura, Akinori Sato, Chisa Aoyama, Ryo Mizuyama, Keisuke Tsunoda, Fuyuki Ueda, Sera Araki, Ryoma Goya, and Hiromichi Sato. 2016. "Cholinergic and Serotonergic Modulation of Visual Information Processing in Monkey V1." *Journal of Physiology Paris* 110 (1–2): 44–51. <https://doi.org/10.1016/j.jphysparis.2016.09.001>.
- Soma, Shogo, Akiko Saiki, Junichi Yoshida, Alain Ríos, Masanori Kawabata, Yutaka Sakai, and Yoshikazu Isomura. 2017. "Distinct Laterality in Forelimb-Movement Representations of Rat Primary and Secondary Motor Cortical Neurons with Intratelencephalic and Pyramidal Tract Projections." *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience* 37 (45): 10904–16. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1188-17.2017>.
- Soma, Shogo, Naofumi Suematsu, and Satoshi Shimegi. 2013. "Cholinesterase Inhibitor, Donepezil, Improves Visual Contrast Detectability in Freely Behaving Rats." *Behavioural Brain Research* 256: 362–67. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2013.08.022>.
- . 2014. "Efficient Training Protocol for Rapid Learning of the Two-Alternative Forced-Choice Visual Stimulus Detection Task." *Physiological Reports* 2 (7): 1–11. <https://doi.org/10.14814/phy2.12060>.
- Tsunoda, Keisuke, Akinori Sato, Ryo Kurata, Ryo Mizuyama, and Satoshi Shimegi.

2019. “Caffeine Improves Contrast Sensitivity of Freely Moving Rats.” *Physiology and Behavior* 199 (November 2018): 111–17.
<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2018.11.014>.
- Watakabe, Akiya, Yusuke Komatsu, Osamu Sadakane, Satoshi Shimegi, Toru Takahata, Noriyuki Higo, Shiro Tochitani, et al. 2009. “Enriched Expression of Serotonin 1B and 2A Receptor Genes in Macaque Visual Cortex and Their Bidirectional Modulatory Effects on Neuronal Responses.” *Cerebral Cortex* August 19: 1915–28. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhn219>.
- Waterhouse, Barry D., S. Ausim Azizi, Richard A. Burne, and Donald J. Woodward. 1990. “Modulation of Rat Cortical Area 17 Neuronal Responses to Moving Visual Stimuli during Norepinephrine and Serotonin Microiontophoresis.” *Brain Research* 514 (2): 276–92. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(90\)91422-D](https://doi.org/10.1016/0006-8993(90)91422-D).
- Weber, Elaine T, and Rodrigo Andrade. 2010. “Htr2a Gene and 5-HT(2A) Receptor Expression in the Cerebral Cortex Studied Using Genetically Modified Mice.” *Frontiers in Neuroscience* 4. <https://doi.org/10.3389/fnins.2010.00036>.

業績

論文

Satoshi Shimegi, Akihiro Kimura, Akinori Sato, Chisa Aoyama, Ryo Mizuyama, Keisuke Tsunoda, Fuyuki Ueda, Sera Araki, Ryoma Goya, Hiromichi Sato. “Cholinergic and serotonergic modulation of visual information processing in monkey V1.” *Journal of Physiology - Paris* 110: 44-51, 2016.

Keisuke Tsunoda, Akinori Sato, Ryo Kurata, Ryo Mizuyama, Satoshi Shimegi, “Caffeine improves contrast sensitivity of freely moving rats”, *Physiology & Behavior*, Elsevier Inc., 199(1): pp.111-117, 2019

Akinori Y. Sato, Keisuke Tsunoda, Ryo Mizuyama, Satoshi Shimegi, “Serotonin improves behavioral contrast sensitivity of freely moving rats”, in press

学会発表

(国際会議におけるポスター発表)

Akinori Sato, Keisuke Tsunoda, Ryo Mizuyama, Satoshi Shimegi, “Modulatory effects of serotonin on the contrast sensitivity of rats and the visual responses of V1 neurons corresponding to the performance of a visual detection task”, The 1st International Sports Neuroscience Conference, Ibaraki, Japan, September 2019

(国内学会シンポジウム等における口頭発表)

佐藤彰典、角田圭輔、水山遼、七五三木聡、
「視覚刺激検出能に対するセロトニン修飾作用とその神経機序」、
『第 75 回日本体力医学会大会、シンポジウム 26 行動文脈や状況に応じて変化する視知覚のダイナミックス』、2PK - 124、茨城、2019 年 9 月

(国内学会シンポジウム等におけるポスター発表)

佐藤彰典、好岡大輔、相馬祥吾、末松尚史、七五三木聡、佐藤宏道、
「ネコ一次視覚野における明るさを表現する神経応答」、
『第 90 回日本生理学会大会』、2PK - 124、東京、2013 年 3 月

佐藤彰典、末松尚史、木村晃弘、七五三木聡、相馬祥吾、

「網膜色素変性モデル動物における経時的に減弱する視覚機能」、
『第 120 回日本解剖学会総会・全国学術集会・第 92 回日本生理学会大会 合同大会』、P1 - 263、兵庫、2015 年 3 月

佐藤彰典、角田圭輔、水山遼、七五三木聡、
「セロトニンは自由行動下ラットの視覚検出能を向上させる」、
『第 93 回日本生理学会大会』、AC-29、北海道、2016 年 3 月

佐藤彰典、角田圭輔、水山遼、七五三木聡、
「脳内セロトニン量の増加は自由行動下ラットの視覚検出能を向上させる」、
『第 39 回神経科学学会』、神奈川、2016 年 7 月

佐藤彰典、角田圭輔、水山遼、七五三木聡、
「セロトニンは自由行動下ラットのコントラスト感度を向上させる」、
『第 72 回日本体力医学会大会』、P-1-010、愛媛、2017 年 9 月

佐藤彰典、角田圭輔、水山遼、七五三木聡、
「ラットの行動学的・神経活動的に計測された視覚コントラスト感度に及ぼすセロトニンの修飾効果」
『第 95 回日本生理学会大会』、2P-034、香川、2018 年 3 月

佐藤彰典、角田圭輔、水山遼、七五三木聡、
「行動学的および電気生理学的に計測したラット視覚コントラスト感度へのセロトニン修飾効果」、
『第 41 回日本神経科学大会』、1P-183、兵庫、2018 年 7 月

佐藤彰典、角田圭輔、水山遼、七五三木聡、
「視覚刺激検出課題遂行中ラットの視覚コントラスト感度へのセロトニン修飾効果」、
『視覚科学フォーラム 2018』、p16、大阪、2018 年 9 月

佐藤彰典、角田圭輔、水山遼、七五三木聡、
「ラットにおけるコントラスト感度および視覚刺激検出課題成績に対応した V1 野ニューロンの視覚応答とセロトニンによる調節効果」、
『NEURO2019』、PB-169、新潟、2019 年 7 月

その他

文部科学省博士課程教育リーディングプログラム「生体統御ネットワーク医学教育プログラム」第4期生採用、2015年4月

日本学術振興会特別研究員 DC1 採用、2017年4月-2020年3月