

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 30 日現在

機関番号：21601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2016

課題番号：25870583

研究課題名(和文) 弁別学習を制御する脳内メカニズム：背側線条体回路の役割

研究課題名(英文) Analysis of behavioral role of discrimination learning which is regulated by the dorsal striatum.

研究代表者

西澤 佳代 (Nishizawa, Kayo)

福島県立医科大学・医学部・助教

研究者番号：30644108

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：背外側線条体(dorsolateral striatum:DLS)と背内側線条体(dorsomedial striatum:DMS)より構成される線条体は、弁別学習の形成と遂行を調節に重要であることが知られている。しかしながら、学習過程におけるDLSまたはDMS由来する線条体間接路のメカニズムは明らかにされていない。本研究において、DLSまたはDMS由来間接路の選択的除去を誘導は、弁別学習の形成に影響を及ぼさなかった。一方、DLSまたはDMS由来間接路の選択的除去は、正確な選択行動を障害した。さらに、DLSではなくDMS由来間接路の選択的除去は、固執したエラー確立が有意に増加した。

研究成果の概要(英文)：The dorsal striatum, which contains the dorsolateral striatum (DLS) and dorsomedial striatum (DMS), regulates the acquisition and performance of discrimination learning. However the mechanism by which the indirect pathway from the DLS or DMS regulates the learning processes of discriminative actions remains unclear. In current study, selective elimination of DLS- or DMS-indirect pathway were not changed in the acquisition of conditional discrimination. In contrast, ablation of the DLS- or DMS-indirect pathway transiently impaired the performance of conditional discrimination, showing a marked reduction in the selection accuracy. In addition, the probability of perseverative errors was significantly increased in the animals lacking the indirect pathway from the DMS, but not from the DLS.

研究分野：神経科学

キーワード：背側線条体 弁別学習 ラット イムノトキシン細胞標的

1. 研究開始当初の背景

ヒトの日常行動の多くは、道具的行動の特徴を有する。道具的行動とは、目的を達成するための道具として機能する行動であり、ヒトを含む多くの動物がこの行動形態をとる。道具的行動は、行動の選択など随意的な行動の基盤であり、そのような場面では刺激の“識別”が要求される。この識別は“弁別”とも呼ばれ、2種類以上の刺激弁別が要求されるような課題を学ぶことを“弁別学習”という。弁別学習は、1つの刺激に対する反応は強化され、他の刺激への反応は強化されない手続きをとる。そのため、弁別学習そのものの形成や維持過程を知るために行われるだけでなく、言語反応の不可能な、動物やこどもなどの弁別力の可否を知るためにも用いられる。パーキンソン病における認知障害の一つとして、弁別障害が報告されている(Brown et al., 1973; Canavan et al., 1989; Sahakian et al., 1988)。近年、弁別学習の形成や維持において“背側線条体”の関与が報告されている(Robbins et al., 1990)。背側線条体は脳基底核の中心的な構造であり、解剖学的に背外側線条体(dorsolateral striatum: DLS)と背内側線条体(dorsomedial striatum: DMS)の2領域にわけられる。弁別学習の形成過程にはDLS領域が、維持過程にはDLSとDMSの両領域が関与することが報告されており(Featherstone et al., 2004; 2005)、それぞれの領域は弁別学習過程(形成と維持の2段階)において、分化した役割を担っていることが示唆される。また、背側線条体から投射する神経細胞の大部分はGABA作動性神経細胞で、ドーパミンD1受容体(D1R)、またはドーパミンD2受容体(D2R)をもつものに大別される。背側線条体のD1R陽性細胞は黒質に投射し、線条体黒質路を形成する。一方、D2R陽性細胞は淡蒼球に投射し、線条体淡蒼球路を形成する。これまでの研究では、背側線条体へ神経毒を投与することによって、D1R陽性細胞やD2R陽性細胞を区別することなく神経細胞を網羅的に破壊し、背側線条体の弁別学習における役割を明らかにしてきた。しかし、この方法では背側線条体に局在するすべての神経細胞が破壊され、それぞれの神経細胞がどのような機能を分担し、それらが統合されて正常な機能が実現されるメカニズムを明らかにすることが極めて困難であった。そのため、背側線条体から投射している2種類の経路における弁別学習の形成と維持に対する役割と機能分化については十分な見解が得られていない。

申請者の所属する研究室で開発されたイムノトキシン細胞標的法は、遺伝子発現の特異性に基づいて特定の神経細胞タイプを誘導的に損傷させる技術である(Kobayashi et al., 1995)。イムノトキシン(IT)は、ヒトインターロイキン-2受容体の α サブユニット(IL-2R α)に対するモノクローナル抗体の可変部位を含み、かつ緑膿菌の菌体外毒素との融合タン

パク質である。IL-2R α を発現させた動物にITを注入することで、ITはIL-2R α を含有する標的細胞タイプに取り込まれ、この細胞タイプの選択的な損傷の誘導が実現される。

以上の実験背景より、イムノトキシン細胞標的法を利用することでDLSまたはDMSから由来する2種類の投射経路を選択的に損傷することが可能となり、背側線条体を媒介する弁別学習の制御機構を解明できるのではないかと考えた。

2. 研究の目的

本研究ではイムノトキシン細胞標的法を用いることによって、DLSまたはDMSから由来する2種類の投射経路を選択的に損傷し、それぞれの投射経路と弁別学習の関わりを明らかにすることを目的としている。線条体淡蒼球路の解析のため、バクテリア人工染色体クローンを用いて、D2R遺伝子の特異性に依存してIL-2R α を発現するTgラット(D2R Tgラット)を作製した。実験者は、DLSへのIT注入が線条体淡蒼球路の選択的損傷を誘導し、聴覚性弁別学習の維持過程において、ラットの正確な行動選択に障害をもたらすことを明らかにしてきた(Nishizawa et al., 2012)。以上の結果を踏まえ本研究では、DLSまたはDMSに由来する投射経路に注目し、弁別学習の形成および遂行における役割解明に努めた。

3. 研究の方法

従来の神経細胞の損傷方法では、狙った領域に局在するすべての神経細胞が破壊されてしまった(Robbins et al., 1990)。本研究では、標的部位における選択的な神経細胞の損傷を目的としているため、イムノトキシン細胞標的法を用いた。線条体淡蒼球路の損傷のため、D2R Tgラットの頭部を脳定位固定装置に保定し、頭蓋骨の一部を剥離後、ガラスキャピラリーを用いてDLSまたはDMS領域にITを注入した。

(1) 組織化学的解析

IT注入から1週間後にラットの脳摘出をおこなった。in situ ハイブリダイゼーション法を用いて、D1R陽性細胞およびD2R陽性細胞の損傷を観察した。

(2) 行動学的解析

ラット用スキナー箱を用いて、条件つき弁別学習課題(Robbins et al., 1990)を改変したものを実施する。この課題では2種類の刺激のうち、1つが提示され、刺激に応じて左右に位置したレバーを押し分けることが要求される。スキナー箱内での一連の実験操作はすべてコンピュータで制御されており、実験者の介入がないことから、動物の能動的な学習過程を観察することができる。また、ラットは視覚情報の維持に比べて聴覚情報の維持が優れている(筒井, 1998)ことから、弁別刺

激として 2kHz と 10kHz の聴覚刺激を採択した。

弁別学習の維持過程における線条体淡蒼球路の役割解明では、ラットに 1 日あたり 40-60 試行の訓練を実施し弁別学習を形成させた。弁別学習の正答率が 80%以上を達成した後、直ちに DLS または DMS 領域への IT 処置を施し、選択的神経損傷を誘導した。損傷後、弁別学習の維持過程を検討した。一方形成過程における解析では、D2R ラットの供給後、レバー押し行動の訓練を実施した。レバー押し行動が形成された後、IT 処置を施し、神経細胞を損傷した。その後、弁別学習の訓練を実施し、弁別の形成過程を検討した。

4. 研究成果

(1) 組織化学的解析

D2R Tg ラットの DLS または DMS 領域に IT を注入し、D1R 陽性細胞と D2R 陽性細胞を組織化学的に解析した結果、図 1 のように、DLS または DMS 領域に限局した D2R 陽性細胞選択的な除去が誘導された。

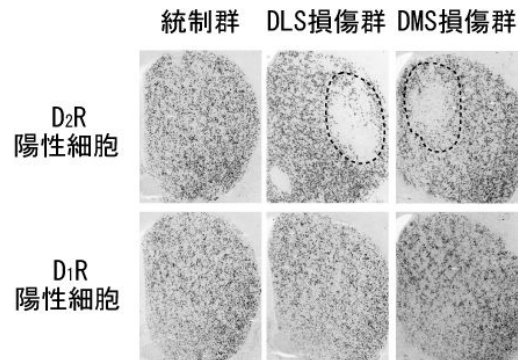


図 1. IT 注入による DLS または DMS における D2R 陽性細胞の損傷

(2) 行動学的解析

弁別学習の維持過程では、DLS 由来・DMS 由来ともに淡蒼球路が損傷されたラットは、維持の初期過程において正反応の障害が認められた (図 2 参照)。

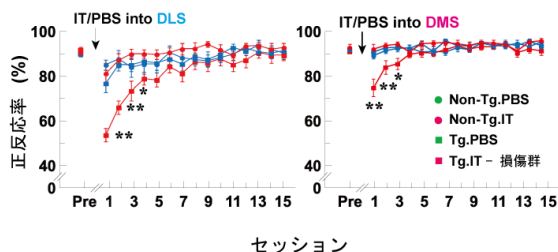


図 2. 弁別学習の維持過程

さらに正反応の障害が認められるセッション開始 3 日間において、誤反応の解析を実施したところ、DMS 由来淡蒼球路が損傷されたラットは特に固執性エラーの確立が高まっていることが確認された (図 3 参照)。

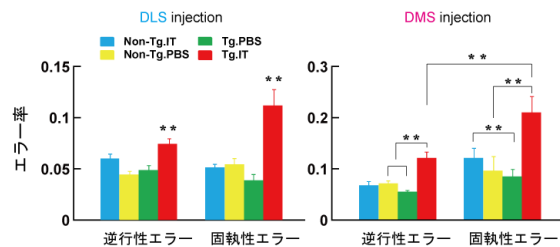


図 3. エラーの解析

一方、弁別学習の形成過程では、DLS 由来・DMS 由来ともに淡蒼球路の損傷は、正反応に影響を及ぼさなかった (図 4 参照)

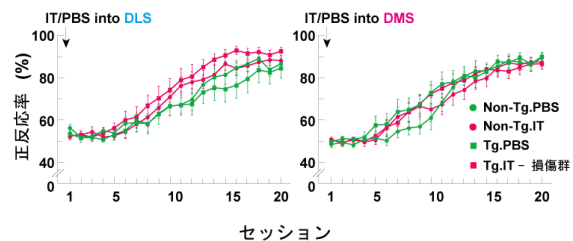


図 4. 弁別学習の形成過程

これらの結果より、DLS や DMS に由来する線条体淡蒼球路は条件つき弁別学習の遂行過程において行動選択の正確性の制御に重要な役割を持つことが明らかとなった。さらに、固執性には DMS 由来線条体淡蒼球路が関与する可能性が示唆された。

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 8 件)

Oh YM, Karube F, Takahashi S, Kobayashi K, Takada M, Uchigashima M, Watanabe M, Nishizawa K, Kobayashi K, Fujiyama F Using a novel PV-Cre rat model to characterize pallidonigral cells and their terminations *Brain Structure and Function* 1-20 (2016)

Kai N, Nishizawa K, Tsutsui Y, Ueda S, Kobayashi K Differential roles of the nucleus accumbens shell neurons containing dopamine D1 and D2 receptors in behavioral sensitization *Journal of Neurochemistry* 135(6):1232-41 (2015)

Okada K, Nishizawa K, Kobayashi T, Sakata S, Kobayashi K Distinct roles of basal forebrain cholinergic neurons in spatial and object recognition memory. *Scientific Reports* 6;5:13158 (2015)

Okada K*, Nishizawa K*, Fukabori R, Kai N,

Shiota A, Ueda M, Tsutsui Y, Sakata S, Matsushita N, Kobayashi K
Enhanced flexibility of place discrimination learning by targeting striatal cholinergic interneurons

Nature Communications 5:3778 (2014)

*equal contribution

Kobayashi K, Fukabori R, Nishizawa K
Neural circuit mechanism for learning dependent on dopamine transmission: roles of striatal direct and indirect pathways in sensory discrimination
Advances in Pharmacology 68:143-53 (2013)

Nishizawa K, Fukabori R, Okada K, Kai N, Uchigashima M, Watanabe M, Shiota A, Ueda M, Tsutsui Y, Kobayashi K
Striatal Indirect pathway contributes to selection accuracy of learned motor actions
Journal of Neuroscience 32(39):13421-13432 (2012).

Fukabori R, Okada K, Nishizawa K, Kai N, Kobayashi K, Uchigashima M, Watanabe M, Tsutsui Y, Kobayashi K
Striatal direct pathway modulates response time in execution of visual discrimination
European Journal of Neuroscience 35:784-797 (2012)

Tsutsui Y, Nishizawa K, Kai N, Kobayashi K
Lever pressing responses under a fixed-ratio schedule of mice with 6-hydroxydopamine-induced dopamine depletion in the nucleus accumbens
Behavioral Brain Research 217(1):60-66 (2011)

[学会発表](計12件)

西澤佳代、甲斐信行、筒井雄二、上田秀一、小林和人
Differential roles of dopamine D1 and D2 receptor containing in the nucleus accumbens shell on the methamphetamine-induced behavioral sensitization
第39回日本神経科学大会
2016.7.21、パシフィコ横浜

Nishizawa K, Tsutsui Y, Kobayashi K
Dorsomedial and dorsolateral striatum have important roles in distinct learning phases of conditional discrimination
NEUROSCIENCE2015
2015.10.18, McCormick Place

西澤佳代、筒井雄二、小林和人
Dissociable roles of the dorsomedial and dorsolateral striatum in the learning phases of the acquisition for conditional discrimination
第38回日本神経科学大会
2015.7.28、神戸国際会議場

西澤佳代

大脳基底核回路における学習行動の調節
第30回日本大脳基底核研究会(招待講演)
2015.7.18、名鉄犬山ホテル

Nishizawa K, Fukabori R, Okada K, Kai N, Uchigashima M, Watanabe M, Shiota A, Ueda M, Tsutsui Y, Kobayashi K
Dorsal striatal indirect pathway regulates the response selection accuracy in auditory conditional discrimination
NEUROSCIENCE2014
2014.11.19, Walter E. Washington Convention Center

西澤佳代

背内側線条体アセチルコリン神経伝達による行動柔軟性の制御
第46回東北生理談話会
2014.10.25、コラッセ福島

西澤佳代

背側線条体間接路は聴覚性条件つき弁別の実行を調節する
第16回国際嗜癮医学会
2014.10.05、パシフィコ横浜

西澤佳代、深堀良二、岡田佳奈、甲斐信行、内ヶ島基政、渡辺雅彦、塩田明、上田正次、筒井雄二、小林和人
Striatal indirect pathway from the dorsomedial striatum regulates the performance of conditional discrimination through controlling perseverative response
第37回日本神経科学大会
2014.9.12、パシフィコ横浜

西澤佳代

線条体間接路を介する刺激弁別学習の実行制御
第45回東北生理談話会
2013.10.05、東北大学片平キャンパス

西澤佳代、深堀良二、岡田佳奈、甲斐信行、内ヶ島基政、渡辺雅彦、塩田明、上田正次、筒井雄二、小林和人
Striatal indirect pathway from dorsomedial striatum contributes to choice accuracy in the auditory discrimination
包括型脳科学研究推進支援ネットワーク夏のワークショップ
2013.8.31、名古屋国際会議場

西澤佳代

線条体淡蒼球路を介する聴覚性弁別学習の制御
第28回日本大脳基底核研究会
2013.7.20、ラフォーレ修善寺

西澤佳代、深堀良二、岡田佳奈、甲斐信行、
内ヶ島基政、渡辺雅彦、塩田明、上田正次、
筒井雄二、小林和人

Behavioral roles of the striatal output pathway
from the dorsomedial striatum in the auditory
discrimination task

第 36 回日本神経科学大会

2013.6.20、国立京都国際会館

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.fmu.ac.jp/home/molgenet/>

6 . 研究組織

(1)研究代表者

西澤 佳代 (KAYO NISHIZAWA)

福島県立医科大学医学部附属生体情報伝

達研究所・生体機能研究部門・助教

研究者番号：30644108