

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 8 日現在

機関番号：82401

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2013～2014

課題番号：25890024

研究課題名(和文) 刺激と報酬の連合学習過程における前頭前皮質と中脳辺縁系ドパミンシステムの相互作用

研究課題名(英文) Interaction between prefrontal cortex and mesofrontal dopamine during cue-reward association learning

研究代表者

田尾 賢太郎 (Tao, Kentaro)

独立行政法人理化学研究所・脳科学総合研究センター・研究員

研究者番号：10708481

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、頭部固定状態の覚醒マウスにおいて、多電極電気生理記録と光遺伝学的細胞同定手法をもちいて、内側前頭前皮質の神経活動に対するドパミンの影響を検証した。その結果、音刺激(CS)および飲水報酬(US)をもちいた古典的条件づけ学習課題において、高頻度発火型の抑制性神経細胞(FS INs)のうちパルプアルブミン陽性細胞が、CSおよびUSに対して正の応答を示すことを発見した。この応答はドパミン受容体1型阻害薬であるSCH23390の皮下投与により抑制された。さらに、中脳ドパミン神経細胞の光遺伝学的刺激がFS INsに対して同様の応答を誘導することが判明した。

研究成果の概要(英文)：In this study, I utilized classical reward conditioning paradigm under head-restrained apparatus using mice. I found that fast-spiking interneurons (FS INs) in the medial prefrontal cortex (mPFC) respond both to water rewards and reward predicting cues. Both water rewards and optogenetic stimulation of dopaminergic neurons in the VTA elicited firing of FS INs in the mPFC. Conversely, the vast majority of regular-spiking neurons were inhibited by these manipulations. Subcutaneous injection of SCH23390, a dopamine receptor D1 (D1R) antagonist, suppressed firing of FS INs induced by rewards. These results suggest that mesoprefrontal dopaminergic neuronal firing inhibit overall neuronal activity in the mPFC in a D1R-dependent manner.

研究分野：システム神経生理学

キーワード：神経生理学

## 1. 研究開始当初の背景

腹側被蓋野 (VTA) に存在する中脳ドパミン神経細胞は、前頭前皮質 (PFC) や側坐核、扁桃体など、脳の多様な領域に投射している。なかでも PFC におけるドパミンは、作業記憶や行動選択可塑性などの高次認知機能、また統合失調症や注意欠陥・多動性障害 (ADHD) の病態に関与することが知られている。しかしながら、これまでの研究はドパミン経路の薬理的な操作が主要なアプローチであり、動物の行動に対応した速い時間尺度でドパミンがどのように影響しているのかという知見は乏しかった。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、連合学習の成立過程および成立後において、ドパミンによる mPFC 局所神経回路演算の速い時間尺度における調節機構、およびドパミン細胞の発火応答特性を解明することであった。特に、本研究では mPFC に存在する抑制性インターニューロンに着目し、行動試験課題およびドパミン細胞の光遺伝学的操作が与える影響の解明を目指した。

## 3. 研究の方法

頭部固定状態の覚醒マウスにおいて、シリコンプローブあるいはテトロードをもちいた多電極電気生理記録を実施した。

VTA ドパミン細胞の標識には TH-cre あるいは DAT-cre マウスを、PFC PV 陽性インターニューロンの標識には PV-cre マウスを使用した。光感受性タンパク質であるチャネルロドプシン ChR2(H134R) を発現させるために、上記の各種遺伝子改変マウスを Ai32 (CAG-FLEX-ChR2(H134R)-EYFP) マウスと交配、あるいはアデノ随伴ウイルス (AAV; pAAV-EF1 $\alpha$ -DIO-ChR2(H134R)-EFYP) を標的部位に注入した。

## 4. 研究成果

### (1) 頭部固定状態の覚醒マウスをもちいた実験系の確立

まず、頭部固定状態の覚醒マウスをもちいた行動試験課題を実施するための外科的処置にかかる諸条件を検討し、最大で数ヶ月間安定的に繰り返し頭部固定可能な行動試験系を確立した。この系をもちいて、頭部固定状態の覚醒マウスが1時間以内で学習可能な、遅延あり古典的条件づけ課題の実験条件を検討した。その結果、2種類の音刺激 (10 kHz 純音またはホワイトノイズ) をもちいた課題において、半数近くのマウスが音刺激に対して舐め応答を示すような実験系の確立に成功した。しかしながら、そのうち多数のマウ

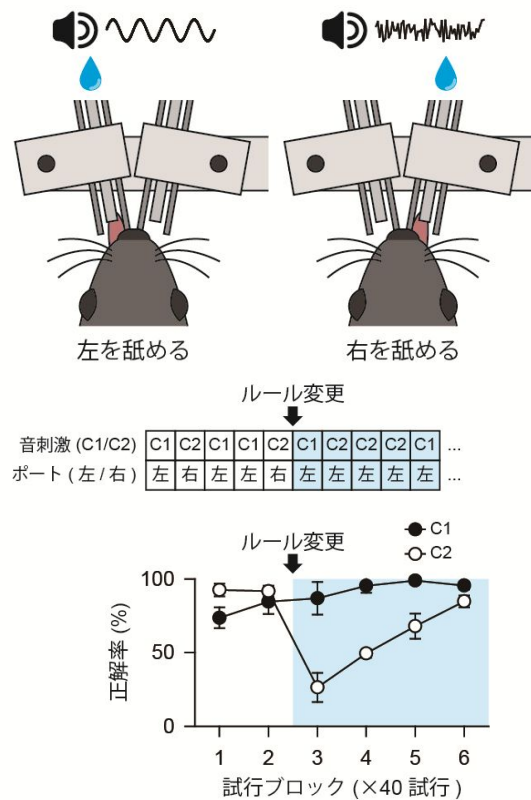


図1 | セットシフティング課題 (上) 頭部固定条件のマウス前方に給水ポートが2本設置されている。それぞれのポートには赤色光センサーが併置されており、リッキングを検出する。マウスは感覚刺激 (この場合は音) を弁別し、それに対応する左右どちらかのポートを舐めることで報酬を獲得する。(中) ある試行以降、音刺激と正解ポートの関係性が変化する。この場合は音刺激の種類によらず、左側のポートが正解になる。(下) セットシフティング課題成績。ルール変更後およそ 120-160 試行で音刺激の種類によらず正解ポートを選択するようになる。

スには報酬と連合していない音刺激に対しても舐め応答を示すという汎化が観察され、安定的に電気生理記録可能な時間枠 (数十分～一時間) で音弁別学習を完成させるのは困難であることが予想された。したがって、本研究では、古典的条件づけおよび音刺激弁別の成立後における mPFC 局所回路の情報表象に着目することにした。

### (2) 頭部固定状態の覚醒マウスをもちいた認知行動課題の開発

ここまで確立した行動課題を発展させ、より mPFC 依存的にするための実験条件を検討した。その結果、より高次の認知機能を必要とする連合学習課題を訓練することに成功した。これは、報酬が提示される飲水ポートを2本設置し、「音刺激1 - 右ポートより報酬」「音刺激2 - 左ポートより報酬」という連合性を学習させた上で、刺激とポートの関係性を変更することで行動選択に可塑性を誘導する (set shifting) 課題である (図1)。この

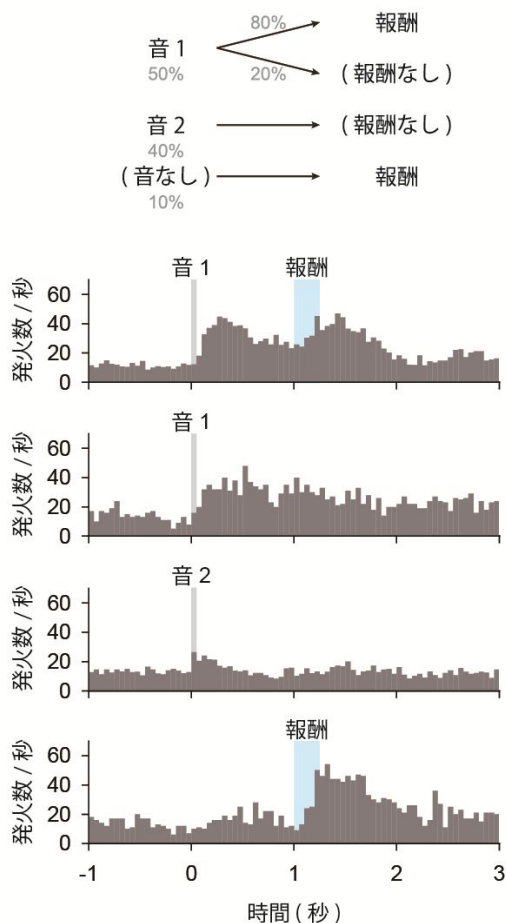


図2 | 古典的条件づけ課題における PV 陽性細胞の活動様式 (上) 実験の概要。(下) PV 陽性細胞の発火様式。報酬および報酬を予期させる音刺激に対して正の応答を示す。

課題を遂行中のマウス mPFC よりシリコンプローブをもちいて神経活動を記録し、その成果を北米神経科学会においてポスター発表した (学会発表 1)。

### (3) 多電極電気生理記録と光遺伝学的細胞同定手法を統合した実験系の確立

これと並行して、多電極電気生理記録および光遺伝学的細胞同定にかかる諸条件を検討した。まず、PV-cre/Ai32 マウスにおいて、レーザーダイオード型シリコンプローブ (オプトプローブ) をもちいて、ChR2 発現細胞を同定することに成功した。つづいて TH-cre および DAT-cre マウスをもちいて VTA ドパミン細胞の光遺伝学的同定を試みた。しかしながら、TH-cre マウスの発現非特異性にかかる問題や、記録にもちいる電極や手法の条件検討不足により、安定した結果を得ることができなかった。そのため、本研究では mPFC におけるドパミンの神経活動調節機構を解明することに注力することにした。

### (4) 古典的条件づけ学習課題における mPFC PV 陽性細胞の活動様式

頭部固定状態の覚醒マウスをもちいた古典的条件づけ課題において、シリコンプローブをもちいて mPFC の神経細胞活動を記録した。その結果、高頻度発火型の抑制性インターニューロン (FS IN) が、報酬 (US) および報酬を予期させる音刺激 (CS) に対して、潜時が数十~百ミリ秒、持続時間が 1 秒弱という速い正の応答を示すことが判明した。光遺伝学的な細胞同定手法により、その大多数は PV 陽性細胞であることが確認された (図 2)。この応答はドパミン受容体 1 型 (D1R) 阻害薬である SCH23390 の皮下投与により抑制されたことから、D1R 経路に依存することが示唆された。

### (5) 中脳ドパミン神経細胞による mPFC 神経活動の調節

さらに、DAT-cre マウスをもちいて mPFC より電気生理記録しながらドパミン細胞選択的に光刺激したところ、FS IN が US および CS 提示時と同様に速い正の応答を示した。以上の結果より、mPFC に投射する中脳ドパミン神経細胞は報酬に関連する情報を PV 細胞に秒未満という速い時間尺度で伝達してい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 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

1. Tao K, Fujisawa S. Two-choice behavior on different rules in head-fixed mice. Program No. 759.01. 2014 Neuroscience Meeting Planner. Washington, DC: Society for Neuroscience, 2014. Online. 2014 年 11 月 19 日, アメリカ合衆国

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕  
出願状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：

種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

田尾 賢太郎 (TAO, Kentaro)

独立行政法人理化学研究所・脳科学総合研究  
センター・研究員

研究者番号：10708481

(2)研究分担者

(3)連携研究者

(4)研究協力者

藤澤 茂義 (FUJISAWA, Shigeyoshi)

独立行政法人理化学研究所・脳科学総合研究  
センター・チームリーダー

研究者番号：20589395