

平成 21 年 5 月 26 日現在

研究種目：	若手研究(B)
研究期間：	2007～2008
課題番号：	19700309
研究課題名(和文)	制御できない学習という観点からの薬物中毒：前頭前野におけるドーパミンの役割
研究課題名(英文)	Drug addiction as unregulated learning: the role of dopamine in the prefrontal cortex
研究代表者	
	アダム・ワイテマイヤー (ADAM WEITEMIER)
	独立行政法人理化学研究所・Murphy 研究ユニット・研究員
	研究者番号：70419878

研究成果の概要：

本研究ではマイクロダイアリス法を用いてモルヒネ場所嗜好性（もしくはナロキソン場所嫌悪性）試験中の脳内での神経化学的な活動をモニターした。その結果、条件付け中のモルヒネ反復投与によるドーパミン活動の亢進と条件付け後の場所嗜好性強度の間に関係性があることが明らかとなった。予想に反して、条件付け後のモルヒネ場所嗜好の発現中にはドーパミン活動の上昇は認められず、逆にドーパミン活動と場所嗜好性強度の間に負の相関関係が認められた。それに対して、ナロキソン場所嫌悪の発現中にはドーパミン活動が上昇しており、ドーパミンとセロトニンのバランスが場所嫌悪に関係があることを明らかとした。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	900,000	0	900,000
2008 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
年度			
総計	1,600,000	210,000	1,810,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：神経科学一般

キーワード：nucleus accumbens; prefrontal cortex; dopamine; classical conditioning; microdialysis; drug abuse; reward

1. 研究開始当初の背景

腹側被蓋野から側坐核や前頭野へ投射するドーパミン神経系（それぞれ中脳辺縁系、中脳皮質系）は依存性薬物が使用者の行動を支配するのに大きく関与すると考えられてい

る。その理由として、快の情動状態への変化を促したり、目標指向行動を成立させるために不可欠と考えられているドーパミン神経系の活動が各種の依存性薬物によって増加することが挙げられる。また、ドーパミン反

応は依存性薬物を繰り返し投与された場合（逆耐性が成立した場合）に増加することから、ドーパミン神経系での可塑性が存在することが明らかとなっている。先行研究からこの可塑性が薬物依存の形成に中心的な役割を持つことが示唆されているが、そのメカニズムとして次の3つが考えられている。(1) 薬物に対する逆耐性の成立と共に薬物と関連づけられた刺激に対する動機付けが亢進すること、(2) ドーパミン神経系の可塑性により薬物動機付け行動の発現様式の移行が促されること、(3) ドーパミン神経系の可塑性により薬物報酬と関連する連合学習が病的に亢進すること、しかしながら依存性薬物に対して形成された行動パターンの実行中にドーパミン活動を直接観察することによりこれらの仮説を検討している報告はほとんどされていない。さらに、ドーパミン神経系と一般的な動機付けのなかでの関係はさらに明らかではない。

2. 研究の目的

本実験は依存性薬物に対する条件付け学習課題中の行動とドーパミン神経系の関係を特徴付けることを目的とした。特に次の2点に注目して実験を行った。(1) 薬物関連刺激（条件）への接近行動の成立を予見させる中脳辺縁系ドーパミン神経の可塑性は存在するのか、また存在するのであればそれはどの程度の範囲で影響を及ぼすのか(2) 実際に薬物関連刺激（条件）への接近行動中のドーパミン神経系はどのように活動するのか。実際の実験では「条件付け場所嗜好性（嫌悪性）試験」を用いてこれらの課題を検討した。この試験では実験動物が特定の環境中で報酬性の刺激を与えられれば（例えば依存性薬物やエサなど）その環境への嗜好が強くなり、それとは逆に嫌悪性の刺激を与えられれば

（例えば強制的な病的状態や薬物による不快感）その環境を忌避するようになる。そのためこの試験法では報酬性薬物に対する正の動機付けを検討すると同様に嫌悪刺激を忌避するための負の動機付けも検討が可能である。この条件付け場所嗜好性（嫌悪性）試験中の側坐核でのドーパミン動態とセロトニン動態をマイクロダイアリシス法を用いて検討した。

3. 研究の方法

場所条件付け装置

場所条件付けチャンバーは行動量自動測定装置のモニタリングボックスを均等に2つに区画化して用いた。片方の区画は壁面を白黒のチェック柄で覆い、底面にはゴムを敷いた。もう一方の区画は壁面を白黒の迷彩柄で覆い、底面に等間隔で穴の空いている金属板を敷いた。モニタリングボックスを区画化する壁は各区画と同じ柄とした（チェック柄、又は迷彩柄）。各区画での滞在時間と行動量は自動的に記録されるようにした。

条件付けプロトコール

実験の概観は図1Aに示した。実験初日はプレテストとして、マウスに生理的食塩水を皮下投与して条件付けチャンバー内を20分間探索させた。プレテスト中は2つの区画をマウスが自由に選択できるようにした。プレテスト翌日に側坐核へのマイクロダイアリシスプローブ慢性留置のために脳定位固定手術を行った。手術直後にマウスを条件付けチャンバー付近に設置したアクリルケージに移し、自由摂食、自由摂水とした。これ以降の実験期間中、マウスはこのアクリルケージ内で飼育した。条件付けは手術の翌日から行った。オピオイド受容体作動薬であるモルヒネを報酬性薬物として、オピオイド受容体

阻害剤であるナロキソンを嫌悪性薬物とした。実験では溶媒条件付け群（コントロール群）、モルヒネ条件付け群、ナロキソン条件付け群の3グループを実験群として設けた。条件付け初日の午前中にすべてのマウスに溶媒を皮下投与して条件付けチャンバーの片側の区画に40分間閉じこめた（溶媒試行1）。その日の午後（一回目の獲得試行の3時間後）に溶媒、モルヒネ、ナロキシンのいずれかを皮下投与し、午前中とは逆の区画に再び40分間閉じこめた（薬物試行1）。同様の条件付けを翌日も行った（溶媒試行2、薬物試行2）。条件付け終了の翌日に20分間のテストを行った。テストではマウスが条件付けチャンバーの2つの区画を自由に選択できるようにして、条件付け後に場所嗜好性、嫌悪性が獲得されたのかを確認した。テスト直前に生理食塩水を皮下投与した。条件付け中とテスト中にはマイクロダイアリスサンプルの回収を行った。このサンプル回収はマウスを条件付けチャンバーに入れる1時間前から開始し、チャンバーからアクリルケージに戻して40分後まで継続して行った。

マイクロダイアリス法と神経化学的な解析

プレテスト翌日にマウスにケタミンとキシラジンで深麻酔を施し、脳定位固定装置を用いてマイクロダイアリスプローブの留置手術を行った。実験には自作のマイクロダイアリスプローブ（長さ1mm、直径300 μ mのポリアクリロニトリル膜）を用いた。右半球の側坐核（ブレグマからA+1.5、L+0.8、V-4.9の座標）にプローブを留置し、人工脳脊髄液を持続的に還流した。透析サンプルは20分間隔で微量バイアルにサンプリングし、サンプリング中は4 $^{\circ}$ Cで保存した。カテ

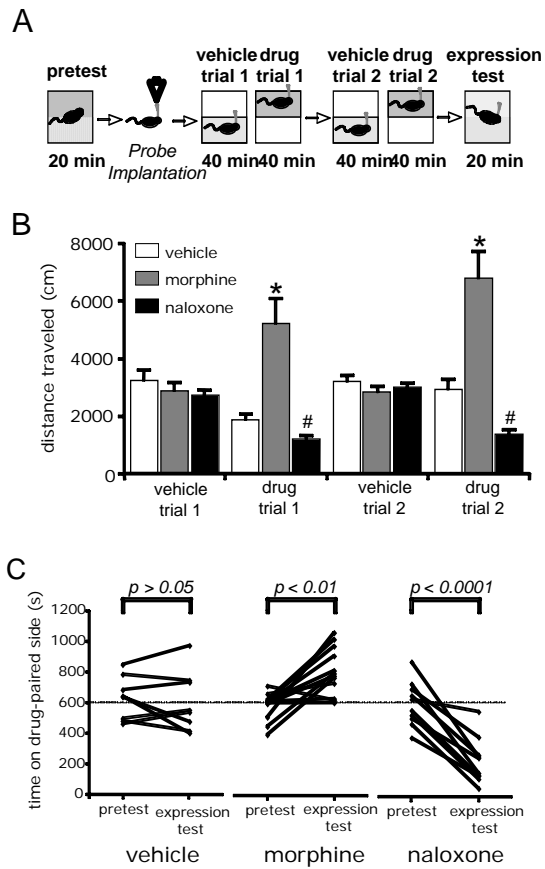
コールアミンの分解を防ぐ目的で、あらかじめ2 μ lの過塩素酸を微小バイアルに入れておき、それに透析サンプルを回収するようにした。一連の実験終了後は-80 $^{\circ}$ Cで透析サンプル（マイクロダイアリスサンプル）を保存した。予備実験によると、本実験に用いたマイクロダイアリスプローブのドーパミン、セロトニン回収率はそれぞれ21%、30%であった。また、本実験では実験群間の比較を主な目的としたため、マイクロダイアリスプローブから微量バイアルまでの間に生じる時間的なズレは無視した。行動実験終了後に脳切片を作成し、プローブ位置の確認を行った。

4. 研究成果

条件付け場所嗜好、場所嫌悪

条件付け期間中の溶媒試行の行動量に実験群間での違いは見られなかった。薬物試行中の行動量はモルヒネ条件付け群では増加、ナロキソン条件付け群でわずかに低下していた（図1B）。モルヒネ条件付け群の薬物試行1と薬物試行2を比較した場合、薬物試行2での行動量の方が高かった。ナロキソン条件付け群ではこのような試行間での行動量の変化は見られなかった。プレテストとテストの薬物投与区画での滞在時間を比較するとモルヒネ条件付け群では滞在時間が有意に延長していた（条件付け後の場所嗜好性の形成が確認された。（図1C）それとは反対にナロキソン条件付け群では薬物投与区画での滞在時間が有意に減少していた（場所嫌悪性の形成が確認された）。

図 1

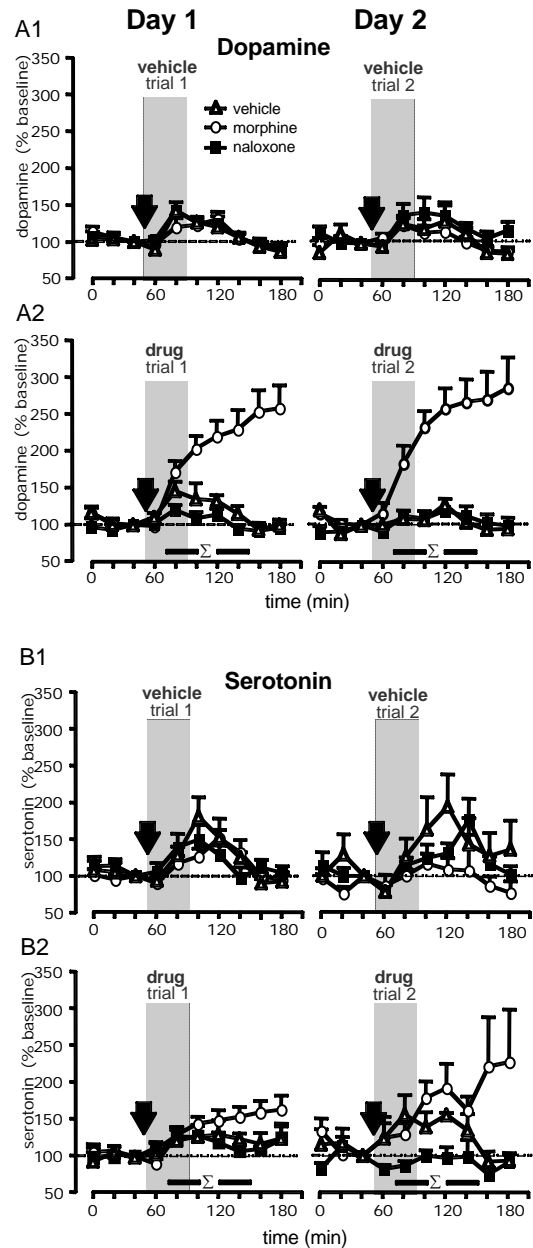


薬物へのドーパミン反応

図 2 に 40 分間の条件付け試行中 (溶媒試行、薬物試行) のドーパミン、セロトニンの変化を示した。溶媒試行中は溶媒の投与と条件付けチャンパーへの移動による短期的な増加が見られた (A1)。薬物試行中はモルヒネ条件付け群ではサンプリング期間中を通してドーパミンの増加が見られたが、ナロキソン条件付け群ではそのような増加は見られなかった。ドーパミン条件付け群内で比較すると、薬物試行 1 よりも薬物試行 2 でのドーパミン増加が增強していた。このことはモルヒネに対するドーパミン反応の可塑性を示している。ドーパミンと同様にセロトニン反応も增強していたが、その程度はそれ程強くはな

かった (B2)。テスト中はすべての実験群でドーパミン、セロトニンの増加が見られた (図 3A、B)。ナロキソン条件付け群のドーパミン増加はモルヒネ条件付け群や溶媒条件付け群よりも有意に高かった (図 3A)。

図 2

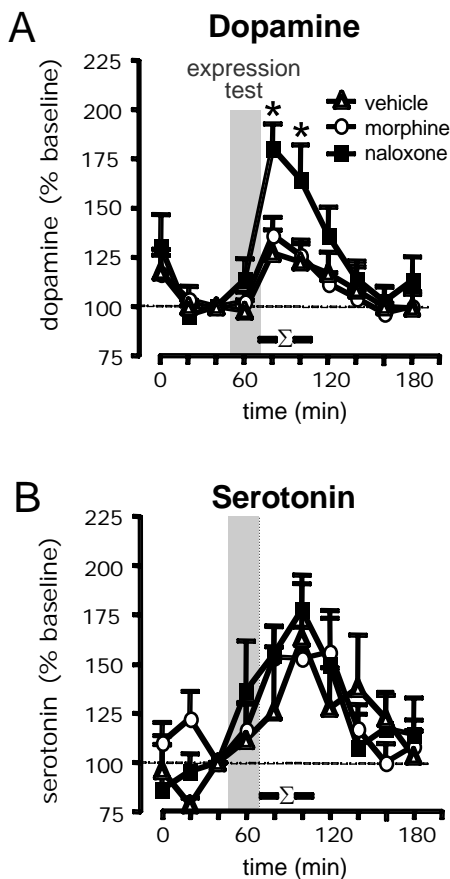


ドーパミン、セロトニンと場所嗜好の関係について

本実験では行動学的なデータと神経化学的なデータを同時にサンプリングしたため、この2つのパラメーターの関係について検討することが可能であった。この検討は本実験計画のなかの大きな目的でもあった。

はじめに繰り返しモルヒネ投与によるドーパミン反応の増強が場所嗜好に影響しているのかを検討した。その結果、ドーパミン反応の増強と場所嗜好性の中に正の相関があることを明らかとした。このことは場所嗜好行動は中脳辺縁系の逆耐性によって規定されることを示している (図4)。

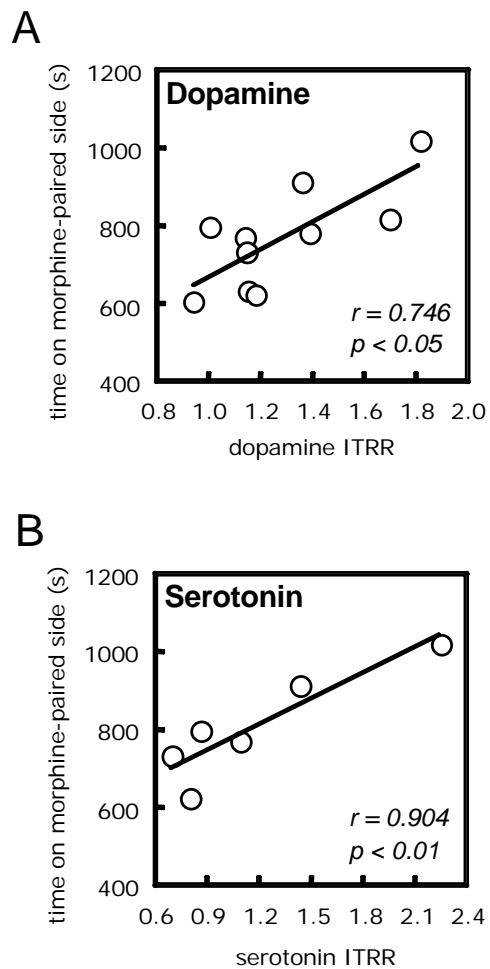
図3



また、類似の相関がセロトニンにも確認された。これとは別に、テスト中のドーパミン反応と場所嗜好についての検討も行った。予想

に反して、条件付けチャンバーに暴露した20分後、40分後のドーパミン反応と場所嗜好の間に弱い負の相関が存在した(図5A)。これらの結果に加えてドーパミンとセロトニンのバランス (図3中の Σ) とナロキソン場所嫌悪の間に強い正の相関が見られた(図5B)。

図4

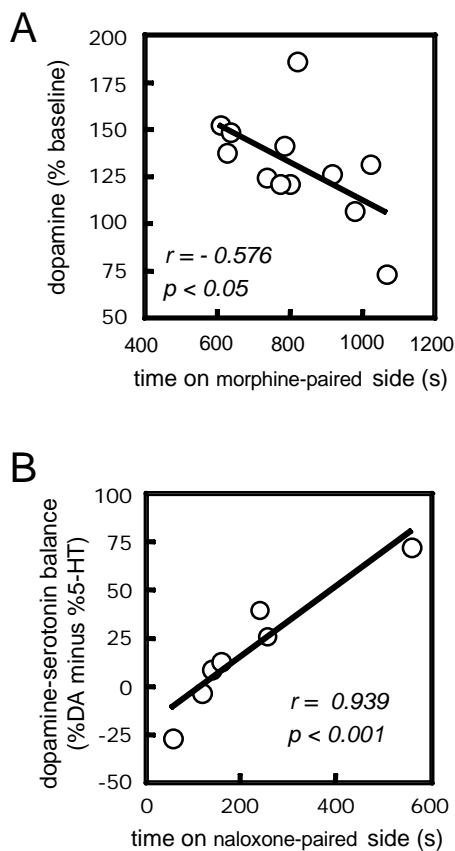


結果要約

研究では薬物条件付け獲得と想起過程のカテコールアミンを継続的にモニターすることによって条件付け獲得過程での薬物に対する神経化学的、行動学的反応の修飾が条件付け強度と関連することを示した。このこと

は急性的な薬物に対する反応よりも、繰り返し薬物に暴露された場合の適応的な反応の方が薬物条件付け学習には重要であることを示唆している。また、側坐核ドーパミンが報酬性薬物条件付け学習の想起（発現）に重要ではないことも示した。それに対して側坐核ドーパミンは嫌悪性薬物条件付け学習の想起には関係があった。さらにドーパミン、セロトニン間の相互作用が記憶想起に重要であることも示した。

図 5



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 1 件)

1. Adam Z. Weitemier, Niall P. Murphy. Accumbal dopamine and serotonin activity throughout acquisition and expression of place conditioning: correlative

relationships with preference and aversion. *European Journal of Neuroscience*, 29, 5: 1015-26, 2009 査読有

[学会発表] (計 2 件)

1. Adam Weitemier, Mesolimbic dopamine and serotonin in drug conditioned place preference and aversion: correlations with voluntary behavior. Society for Neuroscience Annual Meeting, 2008 年 11 月 7 日 Washington D.C. Convention Center

2. Adam Weitemier, Mesolimbic dopamine and serotonin in drug conditioned place preference and aversion: correlations with voluntary behavior Workshop on Mechanism of Brain and Mind 2008 年 8 月 9 日, Wel City Sapporo, Hokkaido

6. 研究組織

(1) 研究代表者

アダム・ワイテマイヤー (ADAM WEITEMIER)
独立行政法人理化学研究所・Murphy 研究ユニット・研究員
研究者番号：70419878