

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 11 日現在

機関番号：34310

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2014

課題番号：23730712

研究課題名(和文) ラットの時間弁別行動を担う神経基盤の多面的解析

研究課題名(英文) Multiple approach to the exploration of neural substrates for interval timing in rats

研究代表者

畑 敏道 (Toshimichi, Hata)

同志社大学・心理学部・教授

研究者番号：50399044

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、ラットの時間評価(秒から分程度の時間の長さの判断)における背側線条体の役割について検討した。背側線条体へのNMDA型グルタミン酸受容体阻害薬の投与により、時間の長さの記憶形成が障害された。一方、時間の長さの記憶を形成する際には、背側線条体のc-Fos遺伝子発現が高まった。これらの結果は、背側線条体が時間の長さの記憶形成に重要な役割を果たしていることを示唆している。

研究成果の概要(英文)：We explored the role of the dorsal striatum in interval timing ranging from seconds to minutes. Intra dorsal striatum injection of an NMDA receptor antagonist impaired the acquisition of the memory for temporal duration. Moreover, c-Fos protein expression was enhanced during temporal memory formation in the dorsal striatum. Taken together, these findings suggest that the dorsal striatum plays an important role in the formation of memory for temporal duration.

研究分野：実験心理学

キーワード：時間評価 インターバルタイミング 背側線条体 SBFモデル Striatal beat frequency NMDA

1. 研究開始当初の背景

動物は時間経過を弁別刺激として、自らの行動を調整することができる。このような行動において、弁別刺激が数秒から数百秒程度の範囲にある場合を、時間弁別行動と呼ぶ(畑、2002)。

時間弁別行動を説明する認知的モデルとして、情報処理モデル(例えば Church et al., 1984 など)が提出され、有力なモデルとして確立されてきた。しかし、その生物学的な実現可能性については疑問もあり、新たなモデルとして、striatal beat frequency(SBF)モデル(Mattel & Meck, 2004)が提出された。このモデルでは、大脳新皮質ニューロンの自発発火の位相を検出する背側線条体の中型有棘細胞(medium spiny neuron)の活動によって時間の長さがコードされ、それに基づいて時間弁別行動が遂行されると想定している。また、時間の長さのコーディングには中型有棘細胞へのグルタミン性およびドーパミン性入力が必要な役割を演じていると考えられている。このモデルは脳に実在するニューロンと神経連絡をベースとして時間弁別行動がどのような既知の神経メカニズムによって実現できるかをシミュレーションしたモデルである。このモデルはその後の多くの研究に引用されているが、その妥当性を実験的に示した研究はほぼ皆無であった。そこで、このモデルの妥当性を仮説演繹的に検討することを目指した。

また、ヒトでは情動(恐怖)が時間の長さの過大評価を生じさせることが知られている。しかしこの神経基盤は未だ明らかになってはいない。そこで、ラットを用いて恐怖が時間評価に与える影響を調べ、その神経基盤を明らかにすることも目指した。

2. 研究の目的

本研究課題の目的は、ラットを用いて秒から分のオーダーの時間の長さの評価(時間弁別行動)における背側線条体の役割を明らかにすること、恐怖による時間評価の変容に関与する神経基盤を明らかにすることである。

3. 研究の方法

実験 1a,b,c および実験 2 では NMDA 受容体アンタゴニスト AP-5 (実験 1a,b,c)あるいはムスカリン性 M1 受容体アンタゴニスト pirenzepin (実験 2) の背側線条体内投与が時間の長さの記憶形成に与える効果を検討した。これらの薬物は背側線条体のシナプスの可塑的な変化において重要な役割を果たすことが知られている。いずれの実験でもまずピークインターバル(PI)20 秒手続きで時間弁別を十分に訓練した。PI 手続きには 2 種類の試行が含まれていた。一方は強化試行、他方は無強化試行であった。強化試行では、音と光の信号刺激が提示されてから 20 秒経過後に起こった最初のレバー押し反応を強化し、試行が終了した。無強化試行ではい

れのレバー押し反応も強化せず、試行は 60 秒で終了した。十分な訓練の後、新たな時間の記憶を形成させるために、強化試行の要求時間を 40 秒、無強化試行の持続時間を 120 秒とし、訓練を継続した。これらのセッション開始前に、実験群には AP-5 あるいは pirenzepin を、統制群には人工脳脊髄液(aCSF)を投与した。ひとつのセッション内の無強化試行でのレバー押し反応率を、試行開始からの経過時間の関数としてプロットし、最大反応率となる時間をピークタイムとした。課題要求時間を 40 秒に変更すると、あらたな基準時間を学習するため、ピークタイムが 20 秒付近から 40 秒付近に移行する。この移行のスピードを群間で比較することで、これらの薬物が時間の長さの記憶形成に与える影響を調べた。

実験 3 では細胞内 MAPK/ERK 経路阻害薬 U0126 の背側線条体内投与が時間の長さの記憶形成に与える効果を検討した。この経路は、背側線条体のシナプスの可塑的な変化において重要な役割を果たすグルタミン酸とドーパミンが協同的に活動した時に最も活動が高まるため、背側線条体のシナプスの可塑的な変化において重要な役割を果たすと考えられている。課題には間隔二等分課題を用いた。2 秒の音刺激提示後には一方のレバーを、8 秒の音刺激提示後には他方のレバーへの反応を強化した。この課題では、ラットはまず 2 秒の時に強化されるレバーの前に位置取り、ある程度時間が経過した後に 8 秒の時に強化される側のレバーに移行するという定型的な行動をとる。この移行の時間を時間評価の指標とした。十分な訓練の後、刺激の長さを 4 秒と 16 秒に変化させ、訓練を継続した。これらのセッション開始前に U0126 あるいは aCSF を投与した。

実験 4 では実験 2 と同様に、2 秒と 8 秒で訓練した後、基準となる時間を 4 秒と 16 秒に移行させた。訓練後、シナプスの可塑的な変化が生じる際に賦活される即初期遺伝子産物である c-Fos と Zif-268(EGR-1)タンパクを、免疫組織化学的染色によって検索した。

実験 5 では間隔二等分課題で時間弁別訓練を施した後、高音と低音に対して床からの電気ショックを対提示する(CS+)、あるいはしない(CS-)ことによって分化条件づけを施し、一方の音高の音にのみ恐怖を条件づけた。その後これらふたつの音を用いた間隔二等分課題を課し、条件性恐怖が時間弁別に与える効果を検討した。

4. 研究成果

実験 1a では、AP-5 投与によってピークタイムの移行が統制群と比べて遅延し、時間の長さの記憶形成が障害されたことが示された(Fig. 1)。しかし、ほぼ同様の手続きで行った実験 1b,c では、このような効果は見られなかった。このことから、背側線条体への AP-5 投与は時間の長さの記憶形成に影響す

る可能性があるが、この手続きでは頑健な結果が得られにくいことが示唆された。

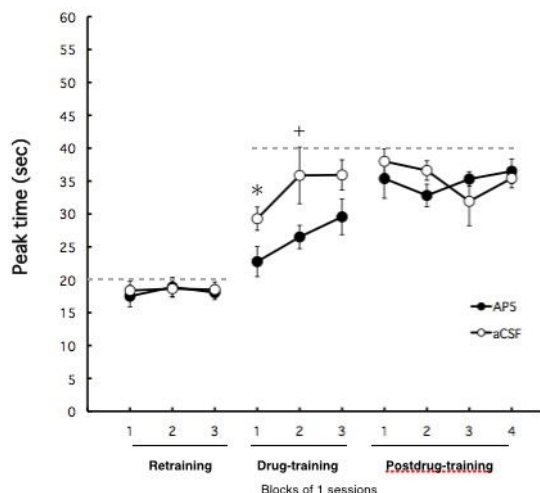


Fig.1 背側線条体 NMDA 投与が時間の長さの記憶形成に与える効果。

実験 2 では、pirenzepin 投与によって投与直後のセッションではピークタイムは統制群と同様に移行したが、その後のセッションでは以前の時間付近になった(Fig. 2)。この結果は、M1 受容体が時間弁別に関与していることを示しているが、どの過程に関与しているのかについては解釈が困難であった。

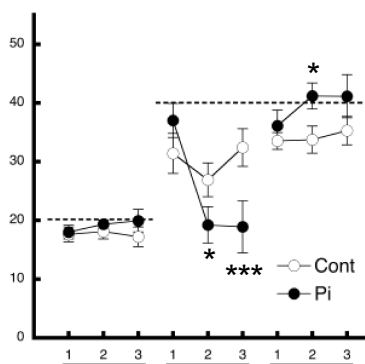


Fig. 2 背側線条体 pirenzepin 投与が時間の長さの記憶形成に与える効果。

実験 3 では、U0126 の投与は時間の長さの記憶形成にはなんら影響を与えなかった。

実験 4 では、記憶すべき時間を変化させた群では、変化させずにそのまま訓練を続けた群と比較して、背側線条体の c-Fos タンパク発現細胞数が増加した(Fig. 3)。

実験 5 では、恐怖が条件づけられた音では、そうでない音と比較してレバー移行時間が長くなった。またこの効果は、条件づけ時に扁桃体に GABA_A 受容体阻害薬を投与し、条件づけが生じなかったと想定される群では生じなかった。このことは、恐怖によって時間

の過小評価が生じたこと、この効果には扁桃体が関与していることを示唆している。

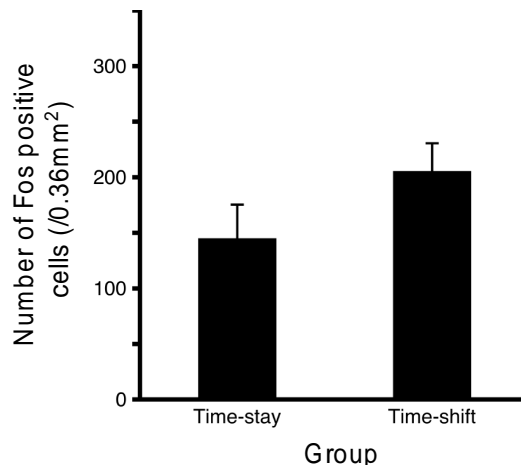


Fig.3 時間の長さの記憶形成時における背側線条体 c-Fos 発現の上昇。

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)

Hata, T. 2011 Glutamate - a forgotten target for interval timing. 査読有、*Frontiers in Integrative Neuroscience*. 5, 422-423. doi: 10.3389/fnint.2011.00027

[学会発表](計 8 件)

Hata, T. 2014 Effect of an intra-dorsal striatum injection of a muscarinic acetylcholine m1 receptors blocker, pirenzepin, on memorization of duration in rats. *Society for Neuroscience 44th annual meeting*, Washington D.C. (11月19日)

Hata, T. 2014 The activity of c-Fos and EGR-1 in the dorsal striatum increases during memorization of duration. *The 74th Annual Meeting of the Japanese Society for Animal Psychology*, Inuyama. (7月20日)

Kamada, T. & Hata, T. 2014 Is interval timing modified by conditioned fear in rats?: An investigation using a self-start short/long discrimination task. *The 74th Annual Meeting of the Japanese Society for Animal Psychology*, Inuyama. (7月19日)

Kamada, T. & Hata, T. 2013 The effect of conditioned fear on interval timing in rats. *Society for Neuroscience 43th annual meeting*, San Diego. (11月13日)

鎌田泰輔・畑 敏道 2013 条件性恐怖はラットにおいて時間の過小評価と時間弁別精度の低下を引き起こす 日本動物心理学会第 73 回大会 筑波大学 (9月15日)

日)

Oka, M., Ishino, S., Yanai, S., Okaichi, H., Hata, T. 2012 Effect of NMDA receptor blockade on acquisition of memory for duration in rats. *Society for Neuroscience 42th annual meeting*, New Orleans. (10月17日)

畑 敏道・石野誠也・柳井修一・岡市広成
2011 ラットの時程の記憶の獲得に与える NMDA 型グルタミン酸受容体阻害薬 MK-801 投与の効果 第 71 回日本動物心理学会 慶応大学(9月9日)

岡 真理子・畑 敏道 2011 背内側線条体内 NMDA 受容体拮抗薬 AP 5 の投与がラットの時程の学習に及ぼす影響 第 71 回日本動物心理学会 慶応大学(9月8日)

〔図書〕(計 1 件)

畑 敏道 2015 動物たちは何を考えている? -動物心理学の挑戦- 技術評論社 Pp. 177-179.

〔その他〕

畑 敏道 2014 「どうして早いのか、大人時間」リビング京都 6月14日(1676号)

畑 敏道 2013 高校生の為の心理学講座シリーズ 心理学と社会-こころの不思議を解き明かす- 日本心理学会

畑 敏道 2012 日本心理学会公開シンポジウム 基礎心理学の展開シリーズ 心理学における動物実験の実際 「心は脳にある。時間評価の行動科学と行動神経科学」 日本心理学会

6. 研究組織

(1) 研究代表者

畑 敏道 (HATA, Toshimichi)

同志社大学・心理学部・教授

研究者番号: 50399044