



HAL
open science

**Implication de la transmission dopaminergique
mésocorticolimbique dans la flexibilité
comportementale : rôle des hétéromères de récepteurs
dopaminergiques et glutamatergiques NMDA**

Anna Petitbon

► **To cite this version:**

Anna Petitbon. Implication de la transmission dopaminergique mésocorticolimbique dans la flexibilité comportementale : rôle des hétéromères de récepteurs dopaminergiques et glutamatergiques NMDA. Neurosciences. Université de Bordeaux, 2023. Français. NNT : 2023BORD0236 . tel-04379856

HAL Id: tel-04379856

<https://theses.hal.science/tel-04379856v1>

Submitted on 8 Jan 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THÈSE PRÉSENTÉE

POUR OBTENIR LE GRADE DE

**DOCTEUR DE
L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX**

ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTÉ
SPÉCIALITÉ NEUROSCIENCES

Par Anna PETITBON

**IMPLICATION DE LA TRANSMISSION DOPAMINERGIQUE
MÉSOCORTICOLIMBIQUE DANS LA FLEXIBILITÉ COMPORTEMENTALE**

**Rôle des hétéromères de récepteurs dopaminergiques et
glutamatergiques NMDA**

Sous la direction de : Pierre TRIFILIEFF

Soutenue le 06 Octobre 2023

Membres du jury :

Dr GROC Laurent,	Directeur de recherche, CNRS, Bordeaux	Président
Dr FAURE Philippe,	Directeur de recherche, CNRS, Paris	Rapporteur
Dr BURGUIERE Éric,	Chargé de recherche, CNRS, Paris	Rapporteur
Dr PARKES Shauna,	Chargée de recherche, CNRS, Bordeaux	Examinatrice
Dr FINO Élodie,	Chargée de recherche, CNRS, Marseille	Examinatrice
Dr VANHOUTTE Peter,	Directeur de recherche, CNRS, Paris	Invité
Dr TRIFILIEFF Pierre,	Directeur de recherche, INRAE, Bordeaux	Directeur de thèse

REMERCIEMENTS

Je tiens en premier lieu à adresser mes remerciements au Dr Philippe Faure et au Dr Éric Burguière pour avoir accepté le rôle de rapporteur de ce travail, ainsi qu'aux Dr Élodie Fino, Dr Shauna Parkes et Dr Laurent Groc pour leur rôle d'examineur et au Dr Peter Vanhoutte en tant que membre invité. Merci à toutes et à tous d'avoir accepté de participer à ce jury et d'avoir consacré du temps à l'évaluation de mon travail.

Je tiens à remercier tout particulièrement les Dr Peter Vanhoutte, Dr Shauna Parkes et Dr Étienne Coutureau pour toutes les discussions à propos du projet, des manips et des analyses qui ont été d'une aide inestimable. Peter, je suis ravie d'avoir rejoint la team hétéromères, merci de m'avoir accueillie quelques jours au labo à Paris et je remercie également Andry Andrianarivelo, Marie-Charlotte Allichon, Lisa Huet et Nicolas Heck pour leur aide technique. Shauna, un immense merci pour le temps que tu m'as accordé de nombreuses fois au cours de ces dernières années, et particulièrement pour l'explication de méthodes d'analyses cet été.

Je tiens ensuite à remercier le Dr Pierre Trifilieff d'avoir été le meilleur des directeurs de thèse que j'aurais pu imaginer. Pierre, je ne sais même pas par quoi commencer. Merci d'avoir accepté ce premier entretien fin 2017, pour mon stage de fin d'études à l'école d'ingénieur, alors que mon profil était plutôt atypique comme tu aimes le souligner. Puis d'avoir accepté que je revienne pour le stage suivant, dans l'optique de continuer en thèse ensuite. Merci de m'avoir soutenue pour toutes les présentations que j'ai eu à faire, d'avoir été toujours présent pour faire des corrections de dossiers, de rapports ou autre, et bien sûr d'avoir toujours été là dès que j'ai eu besoin, pour discuter des manips ou de l'avenir. Merci d'avoir aussi été là quand je me suis mis du PFA dans l'œil (c'est bien de se rappeler les bons souvenirs) et pour mon déménagement, et bien sûr pour tous les bons moments passés avec la team. Bien évidemment, ce manuscrit est le fruit de nombreuses discussions, donc merci de m'avoir fait garder le moral et d'avoir été présent particulièrement au cours de ces derniers mois de rédaction, même si j'imagine que ce n'était pas dans les conditions les plus simples. Au cours de ces six dernières années, et oui ça commence à faire, tu m'as aidé à plus prendre confiance en moi et à me dépasser, donc je te remercie de m'avoir fait confiance dès le début.

Je remercie également les 2 directrices successives du laboratoire, les Dr Sophie Layé et Dr Lucile Capuron pour leur accueil chaleureux, ainsi que l'ensemble des membres du laboratoire. Merci à toute l'équipe du secrétariat, Marie, Isabelle, Flavie, et Florence pour leur aide au quotidien et d'avoir été toujours disponibles. Mille mercis à Kévin d'avoir toujours été d'une réactivité incroyable pour trouver des solutions aux divers problèmes informatiques rencontrés, notamment dans les tous derniers jours avant ce rendu. Merci à Alex pour toutes les fois où j'ai fait appel à toi pour trouver un produit ou du matériel au labo et à Serge pour ta patience dès que je rencontre un souci. Je souhaite remercier l'ensemble de l'équipe animalerie, et particulièrement Greg et Eva pour le soin apporté aux animaux. Greg, merci pour tous tes conseils sur l'entretien de mes plantes, et pour les bons moments passés en dehors du labo.

Merci aux Dr Xavier Fioramonti, Dr Agnès Nadjar et Pr Muriel Darnaudéry pour leurs précieux conseils lors de la préparation du concours de l'EUR, qui ont donc porté leurs fruits.

Je souhaité également remercier les Dr Audrey Durand d'Imetronic pour l'aide continue dès que j'avais un petit souci d'exercice et Dr Sébastien Delcasso d'Aquineuro, pour toute l'aide apportée dans la mise en place de la fiber et dans le traitement du signal. Seb, merci pour ta patience à toute épreuve et pour l'aide que tu m'as apporté dans ces analyses au cours des deux dernières années, et surtout : merci de m'avoir fait découvrir la magie d'AnyDesk, la rédaction aurait été drastiquement différente autrement.

Je souhaite remercier l'ensemble des membres de l'équipe Food-Circus, et particulièrement le Dr Guillaume Ferreira pour tous ses conseils, ses analyses et pour toutes les discussions enrichissantes autour de ce projet. Un grand merci à JC pour me filer régulièrement une bonne partie de ses créneaux de chirs et à Céline pour les génotypages et l'aide apportée pour la coupe des cerveaux cet été.

Je souhaite bien sûr adresser les remerciements les plus chaleureux à l'ensemble de la Trif team, passée et présente. Merci à Marie-Lou de m'avoir montrée le comportement quand je suis arrivée et à Fabien pour les discussions riches et pour la bonne humeur. Chloé, on a passé de super moments pendant le stage ! Un immense merci à Véro de m'avoir formée à la culture cellulaire et pour tous les moments d'échange que nous avons partagé, au labo à remplir les plaques en écoutant France Inter (promis j'ai bien pris soin de tes pipettes !!), en dehors, et encore maintenant. Merci à Andrea pour ta contribution à ce travail et de m'avoir initiée au monde « merveilleux » du préfrontal et de la déval, je suis sûre que ça te manque de trier les pellets. Merci à Zoé pour les coups de mains sur certaines manips quand j'étais en rédaction. Flor, je ne sais pas ce que j'aurais fait sans toi ces derniers mois, un grand merci pour ton aide sur la fin de ces dernières cohortes, et les manips de cet été. Lola, ma *baby sis'* de thèse, merci d'être le rayon de soleil de notre team, ta bonne humeur est contagieuse, ça fait un bien fou ! Et bien sûr, un grand merci à Roman de m'avoir encadrée pendant ces deux stages, et formée à un grand nombre de techniques, à l'art de faire des chirs, merci pour toutes les discussions enrichissantes sur les projets et les manips.

Un grand merci aux étudiants en stage avec qui j'ai eu l'immense chance de travailler : Maewenn Cazala, Mélanie (*Mélanight*) Depret, Rodrigue Ortole, Maï Rousseaud, Romain Thebeaud et Amélie Blanc, ce travail n'aurait pas été possible sans votre participation et ça a été un plaisir de partager ces quelques mois avec chacune et chacun d'entre vous.

Et ce qui fait le sel de NutriNeuro, merci à la fantastique team d'étudiants docs et postdocs du laboratoire, la team des débuts, Anaïs, Camille, Fanny ; Mathou mon chaton, merci d'avoir été toujours présente, je sais que je peux compter sur toi ; Maudus, merci pour ta gentillesse et ta bonne humeur débordante, nos conversations pâté au pomme de terre et vélo me manquent ; à ceux qui sont partis, mon petit John, hâte de venir te voir à Berlin ; à ceux qui sont même revenus : Quentin et Camille, on peut toujours compter sur vous pour aller boire un coup, ceux qui sont partis mais pas trop loin quand même : Pierrot et Steph on sait quel est votre labo de cœur, et à ceux qui sont toujours là : Flore, Simon, Enrica, Rach, Juliette, la team du bureau : Lola, Ivan, Alice, Pauline, Mathou, Matéo, merci d'égayer le bureau, ça n'aurait pas été pareil sans vous. Et Evaaa, merci pour ta bonne humeur constante et toutes nos discussions sur un coin de table ou au milieu d'un parking par 5 degrés, j'ai pour bonne résolution qu'on se dirige plus rapidement vers le bar à l'avenir.

Merci à Constance pour tous les conseils, et les échanges riches voire indispensables au cours de ces deux dernières années.

Merci à tous mes amis, la bande de Paris pour tous les bons moments passés quand je pouvais remonter ; les Spaetzle de BSA, merci à Laure et à Jojo pour leurs encouragements et leurs mots justes à certains moments où j'en ai eu besoin, merci à Juju pour nos discussions « essentielles » pour nous deux il y a un petit bout de temps, promis je viens vite vous voir dans les Landes !!

Enfin, un immense merci à toute ma famille pour leur soutien inconditionnel au cours de ces années de thèse et tout au long de mes études. M-C, ça m'a fait un bien fou cet été de pouvoir partager les arrivées du tour avec toi. Alex, merci pour ton intérêt quand je te faisais la description de certaines dissections.. et merci pour les séjours bretons. Merci à mes sœurs adorées d'être toujours là quand il faut, même à distance, et d'avoir toujours cru en moi, Jeannette ça va être super de te voir sur Paris maintenant, je suis

sûre que tu vas adorer, Sarou c'est quand tu veux pour revenir te faire un weekend bordelais où notre seule préoccupation est de savoir où est-ce qu'on va manger ensuite, Lolo, même à très grande distance, tu as toujours été là pour moi, hâte de revenir faire un petit séjour à L.A. Merci à ma tata chérie pour ses encouragements et son soutien sans faille, merci aussi de m'avoir fait découvrir Oliver Sacks, un univers s'est ouvert à moi. Merci à mon père d'être toujours présent quand j'ai besoin, et d'avoir fait un bon nombre de mes déménagements et à ma mère d'être ma supportrice number one, de toujours trouver les mots, et de réussir à me faire relativiser quand je suis trop tête dans le guidon. Je pense fort à mes cousins Zizou et Nanou qui ont toujours été présents et avec qui j'aurais aimé fêter cette thèse.

Enfin, en dehors du labo, même si on finit toujours par parler manip, merci à Roman d'avoir été présent tout au long de ces cinq dernières années. D'avoir toujours été là quand j'en avais besoin, toujours disponible pour m'aider à trouver des solutions, et de m'avoir soutenue et encouragée tout du long, et particulièrement au cours de ces derniers mois. Tu as toujours été de bon conseil et tu m'as aidée à prendre du recul. Merci pour tout.

PUBLICATIONS

Anna Petitbon, Andrea Contini, Roman Walle, Maria-Florencia Angelo, Maewenn Cazala, Rodrigue Ortola, Javier Correa Vazquez, Romain Thebeaud, Mélanie Depret, Amélie Blanc, Maï Rousseaud, Andry Andrianarivelo, Jacques Barik, Peter Vanhoutte, Pierre Trifilieff. D1/NMDA and D2/NMDA heteromers mediate the effect of mesocorticolimbic dopamine transmission on goal-directed behavior. *In preparation for submission*

Montalban E., Walle R., Castel J., Ansoult A., Hassouna R., Foppen E., Fang X., Hutelin Z., Mickus S., Perszyk E., **Petitbon A.**, Berthelet J., Rodrigues-Lima F., Cebrian-Serrano A., Gangarossa G., Martin C., Trifilieff P., Bosch-Bouju C., Small D.M & Luquet S., The addiction susceptibility TaqIA/Ankyrin repeat and kinase domain containing 1 kinase (ANKK1) controls reward and metabolism through dopamine receptor type 2 (D2R)-expressing neurons, *Biological Psychiatry* (2023), doi: <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2023.02.010>

Roman Walle, **Anna Petitbon**, Giulia R. Fois, Andrea Contini, Rodrigue Ortola, Asma Oummadi, Véronique De Smedt-Peyrusse, Alban de Kerchove d'Exaerde, Brunos Giros, Francis Chaouloff, Guillaume Ferreira, Fabien Ducrocq, François Georges, Pierre Trifilieff. The ventral striatum contributes to energy balance bioRxiv 2022.05.05.490599; doi: <https://doi.org/10.1101/2022.05.05.490599>

Allichon MC, Ortiz V, Pousinha P, Andrianarivelo A, **Petitbon A**, Heck N, Trifilieff P, Barik J, Vanhoutte P. Cell-Type-Specific Adaptions in Striatal Medium-Sized Spiny Neurons and Their Roles in Behavioral Responses to Drugs of Abuse. *Front Synaptic Neurosci.* 2021 Dec 14;13:799274. doi: 10.3389/fnsyn.2021.799274. PMID: 34970134; PMCID: PMC8712310.

Andrianarivelo A, Saint-Jour E, Pousinha P, Fernandez SP, **Petitbon A**, De Smedt-Peyrusse V, Heck N, Ortiz V, Allichon MC, Kappès V, Betuing S, Walle R, Zhu Y, Joséphine C, Bemelmans AP, Turecki G, Mechawar N, Javitch JA, Caboche J, Trifilieff P, Barik J, Vanhoutte P. Disrupting D1-NMDA or D2-NMDA receptor heteromerization prevents cocaine's rewarding effects but preserves natural reward processing. *Sci Adv.* 2021 Oct 22;7(43):eabg5970. doi: 10.1126/sciadv.abg5970. Epub 2021 Oct 20. PMID: 34669474; PMCID: PMC8528421.

COMMUNICATIONS

Liste des communications orales

- Synapse Day – 12/09/2023, Bordeaux - Implication of mesocorticolimbic dopamine transmission in behavioral flexibility: a role for dopamine and glutamate NMDA receptor heteromers
- Annual Meeting of the Basal Ganglia Club – 30/01/2023, Marseille - Implication of medial prefrontal and nucleus accumbens dopamine transmission in goal-directed behavior: a specific role for dopamine and NMDA receptor heteromers?
- NutriNeuro Annual Meeting - 31/03/2022, Bordeaux - Implication of medial prefrontal and nucleus accumbens dopamine transmission in goal-directed behavior: a specific role for dopamine and NMDA receptor heteromers?
- NutriNeuro Annual Meeting - 01/04/2021, Bordeaux - Implication of prefrontal cortex and nucleus accumbens dopaminergic and glutamatergic receptor heteromers in goal-directed behaviors.
- NutriNeuro Annual Meeting - 20/02/2020, Bordeaux - Implication of prefrontal cortex and nucleus accumbens dopaminergic and glutamatergic receptor heteromers in goal-directed behaviors.

Liste des communications affichées

- NeuroFrance 2023 – 24/05/2023, Lyon - Implication of medial prefrontal cortex and nucleus accumbens dopamine transmission in goal-directed behaviors: a role for dopamine and NMDA receptor heteromers?
- Journée Bordeaux Neurocampus 2022 – 08/11/2022, Talence - Implication of medial prefrontal cortex and nucleus accumbens dopamine transmission in goal-directed behaviors: a role for dopamine and NMDA receptor heteromers?
- FENS Forum 2022 - Paris - Implication of medial prefrontal cortex and nucleus accumbens dopamine transmission in goal-directed behaviors: a role for dopamine and NMDA receptor heteromers?
- Monitoring Molecules in Neuroscience 2022 - Lyon - Implication of medial prefrontal cortex and nucleus accumbens dopamine transmission in goal-directed behaviors: a role for dopamine and NMDA receptor heteromers?
- Dopamine Meeting 2022 – Montréal - Implication of medial prefrontal cortex and nucleus accumbens dopamine transmission in goal-directed behaviors: a role for dopamine and NMDA receptor heteromers?
- Journée Bordeaux Neurocampus 2021 – 30/09/2021, Talence - Implication of dopaminergic and glutamatergic receptor heteromers of the prefrontal cortex and nucleus accumbens in discrete components of goal directed behaviors.

RÉSUMÉ

Près d'une personne sur trois est affectée par une pathologie psychiatrique au cours de sa vie. Pour autant les traitements pharmacologiques classiques restent relativement peu efficaces et s'accompagnent souvent d'effets secondaires importants, du fait de leur manque de sélectivité. Un consensus émerge ainsi sur la nécessité d'identifier des mécanismes sous-jacents à des dimensions symptomatiques communes (approche transnosographique) afin de développer une médecine personnalisée en psychiatrie. Dans ce contexte, des troubles des fonctions exécutives – processus cognitifs permettant à un individu de s'adapter à un environnement en constante évolution - sont un symptôme commun à de nombreuses pathologies psychiatriques. Ils sont corrélés à une altération de la transmission dopaminergique au sein du cortex préfrontal médian (mPFC) formant la voie mésocorticale et d'aires sous-corticales telles que le striatum ventral ou noyau accumbens (NAc) constituant la voie mésolimbique. Pourtant, les mécanismes par lesquels cette transmission dopaminergique dite mésocorticolimbique permet à un individu d'adapter son comportement de façon flexible restent à éclaircir. Par ailleurs, dans ces deux structures, l'activité des neurones dopaminoceptifs est fortement régulée par la convergence d'afférences glutamatergiques et dopaminergiques. Cependant, la façon dont les neurones intègrent ces signaux est encore peu caractérisée. Mon projet de thèse préclinique vise ainsi à comprendre comment la transmission dopaminergique mésocorticolimbique module la flexibilité comportementale, et plus particulièrement l'interaction physique – ou hétéromérisation - entre les récepteurs dopaminergiques de type D1 (D1R) ou D2 (D2R) et les récepteurs glutamatergiques de type N-méthyl-d-aspartate (NMDA) au sein du mPFC et du NAc. Nos résultats montrent qu'inhiber la transmission dopaminergique mésocorticolimbique par manipulation chémogénétique, ou bloquer la capacité de récepteurs dopaminergiques et NMDA à former des hétéromères dans le NAc ou le mPFC par utilisation de peptides interférents, perturbe spécifiquement la capacité des animaux à adapter leur réponse suite à un changement de contingence entre action et récompense, dans des tâches permettant d'évaluer la flexibilité comportementale. Ces résultats suggèrent que la transmission dopaminergique mésocorticolimbique est sélectivement impliquée dans la mise à jour d'associations entre une action et ses conséquences et que de tels effets sont largement médiés par les hétéromères de récepteurs D1/NMDA et D2/NMDA du mPFC et du NAc. Ces hétéromères ayant des effets distincts des récepteurs individuels, ces données suggèrent qu'ils pourraient être des cibles de choix pour le développement de traitements thérapeutiques plus spécifiques : leur manipulation pourrait permettre de s'affranchir des effets secondaires liés aux traitements pharmacologiques classiques qui ciblent directement ces récepteurs. En utilisant une approche de senseurs calciques couplée à de la photométrie de fibre, nous avons caractérisé i) la signature neuronale des neurones dopaminoceptifs exprimant D1R ou D2R du mPFC lors d'un conditionnement pavlovien puis opérant et notamment au cours de la réactualisation des associations et ii) l'effet du blocage des hétéromères sur ces activités. Nous avons pu mettre en évidence une réponse calcique au moment de l'appui sur le levier renforcé et des indices prédictifs de la récompense, ainsi qu'une diminution d'activité lors de la consommation de la récompense. Nous montrons que le blocage des hétéromères D1/NMDA et D2/NMDA module certaines de ces composantes d'activité. Ce mécanisme nous permet ainsi de mieux comprendre la mise en place de processus d'adaptation comportementale et constitue donc une cible thérapeutique innovante. Il pourrait permettre d'envisager des traitements personnalisés visant à cibler les troubles de fonctions exécutives et plus particulièrement les altérations de la flexibilité comportementale.

Mots clés :

- | | |
|--------------------------------|------------------------------|
| 1- Flexibilité comportementale | 4- Hétéromères de récepteurs |
| 2- Dopamine | 5- mPFC |
| 3- Glutamate | 6- NAc |

ABSTRACT

Throughout their life, nearly one in three people will be affected by a psychiatric disorder. However, conventional pharmacological treatments remain relatively ineffective, and are often accompanied by significant side effects due to their lack of selectivity. Therefore, a consensus is emerging on the need to identify mechanisms underlying symptomatic dimensions common to several psychiatric pathologies (transnosographic approach); in order to develop personalized medicine in psychiatry. In this context, executive function disorders - the cognitive processes that enable an individual to adapt to a constantly changing environment - are a common symptom of many psychiatric pathologies. Such symptoms are correlated with impaired dopaminergic transmission within the medial prefrontal cortex (mPFC) forming the mesocortical pathway, and subcortical areas such as the ventral striatum or nucleus accumbens (NAc) forming the mesolimbic pathway. However, the mechanisms by which this mesocorticolimbic dopaminergic transmission enables an individual to flexibly adapt his or her behavior remain unclear. Moreover, in both structures, the activity of dopaminergic neurons is strongly regulated by the convergence of glutamatergic and dopaminergic afferents. However, how neurons integrate these signals is still poorly characterized. My preclinical thesis project therefore aims at unraveling how mesocorticolimbic dopaminergic projections modulate behavioral flexibility, and more specifically to establish the role of the physical interaction - or heteromerization - between D1 dopaminergic receptors (D1R) or D2 (D2R) and N-methyl-d-aspartate glutamatergic receptors (NMDA) within the mPFC and NAc. We show that this dopaminergic pathway is crucial for the animal's ability to adapt to changes in the consequences of its actions. From a mechanistic point of view, we demonstrate that D1/NMDA and D2/NMDA receptor heteromers in the mPFC and NAc constitute a central mechanism to mediate the effects of dopamine on executive functions. Indeed, our results show that inhibiting mesocorticolimbic dopaminergic transmission through chemogenetic manipulation, or blocking the ability of dopaminergic and NMDA receptors to form heteromers in NAc or mPFC through the use of interfering peptides, specifically disrupts the ability of animals to adapt their response following a change in contingency between actions and outcomes, in tasks assessing behavioral flexibility. These results suggest that mesocorticolimbic dopaminergic transmission is selectively involved in updating associations between an action and its consequences, and that such effects are largely mediated by dopaminergic and NMDA receptor heteromers. Since these heteromers have distinct effects from their individual receptors, these data suggest that they could be prime targets for the development of more specific therapeutic treatments: their specific manipulation could allow avoiding the side effects associated with conventional pharmacological treatments that target the cognate receptors. Using a calcium sensor approach coupled with fiber photometry, we characterized i) the neural signature of mPFC dopaminergic neurons expressing D1R or D2R during Pavlovian and then operant conditioning, especially during the update of associations, and ii) the effect of heteromer blockade on these activities. We were able to demonstrate the presence of activity peaks at the time of reinforced lever pressing and of cues predicting the reward delivery, as well as a decrease in activity during reward consumption, and some of these signals are modulated by the D1/NMDA and D2/NMDA heteromers. This mechanism provides a better understanding of how behavioral adaptation processes are set in motion, and thus constitutes an innovative therapeutic target. It could lead to the development of personalized treatments targeting executive function disorders and, more specifically, alterations in behavioral flexibility.

Key words :

- | | | | |
|----|------------------------|----|---------------------|
| 1- | Behavioral flexibility | 4- | Receptor Heteromers |
| 2- | Dopamine | 5- | mPFC |
| 3- | Glutamate | 6- | NAc |

UNITÉ DE RECHERCHE

Laboratoire NutriNeuro – UMR INRAE 1286 – Université de Bordeaux

Bâtiment UFR Pharmacie – 2^{ème} Tranche – 2^{ème} étage – CC34

Université de Bordeaux, site de Carreire

146 rue Léo Saignat

33076 Bordeaux Cedex – France

Table des figures

Figure 1 : Composantes d'une récompense.....	24
Figure 2 : Processus de prise de décision.....	25
Figure 3 : Schéma des principaux tests comportementaux utilisés pour évaluer différents aspects de la flexibilité comportementale.....	36
Figure 4 : Différentes nomenclatures utilisées dans la littérature pour décrire les sous-divisions du PFC, et correspondance avec la nouvelle nomenclature	38
Figure 5 : Organisation structurale du mPFC et correspondance avec la nouvelle nomenclature du PFC chez la souris	39
Figure 6 : Organisation des interneurons du cortex préfrontal	41
Figure 7 : Organisation des circuits corticaux impliquant des interneurons	41
Figure 8 : Connectivité du cortex préfrontal médian (mPFC)	42
Figure 9 : Organisation des sous-régions du cortex orbitofrontal chez le rat.....	43
Figure 10 : Subdivisions du striatum chez le rongeur	48
Figure 11 : Voies directes et indirectes du striatum dorsal et du noyau accumbens	51
Figure 12 : Afférences du PFC, du thalamus, de l'amygdale et de l'hippocampe sur les sous-régions du striatum	53
Figure 13 : Voie de synthèse de la dopamine	58
Figure 14 : Noyaux dopaminergiques chez le rongeur adulte	59
Figure 15 : Reconstruction d'un neurone dopaminergique de la SNc	60
Figure 16 : Modèle fonctionnel de l'organisation de la libération de dopamine par des varicosités synaptiques et non synaptiques du striatum.....	61
Figure 17 : Schéma simplifié des voies de signalisations recrutées par l'activation des récepteurs dopaminergiques D1 et D2, d'après.....	63
Figure 18 : Localisation et structure de l'aire tegmentale ventrale	64
Figure 19 : Résumé de l'organisation topographique des neurones pyramidaux D1+ ou D2+ du PFC antérieur de la souris	70
Figure 20 : Modulation dose dépendante de la réponse glutamatergique des mGluRs par des modulateurs allostériques positifs (PAM) ou négatifs (NAM)	77
Figure 21 : Sous-unités de chaque type et agencement des sous-unités des récepteurs ionotropiques au glutamate AMPA, kainate, NMDA et GluD.....	79
Figure 22 : Représentations de la structure d'une sous-unité d'un récepteur iGluR	79
Figure 23 : Structure et agencement des sous-unités théoriques A, B, C et D des récepteurs AMPA	80
Figure 24 : Diversité d'agencement des sous-unités des récepteurs NMDA.....	83
Figure 25 : Expression des sous-unités de NMDAR au cours du développement.....	84
Figure 26 : Composante rapide (AMPA) et lente (NMDAR) des courants postsynaptiques excitateurs à la synapse.....	86
Figure 27 : Contribution des différentes sous-unités des iGluRs au fonctionnement neuronal au cours du développement	87
Figure 28 : Rôle des iGluRs dans le CNS au cours du développement embryonnaire et dans un neurone mature	89
Figure 29 : Critères de définition d'un hétéromère de récepteurs.....	92
Figure 30 : Techniques de détection de la forte proximité entre deux récepteurs	94
Figure 31 : Interaction directe entre les récepteurs D1 et NMDA, et D2 et NMDA.....	103
Figure 32 : Récapitulatif des résultats.....	150

Figure 33 : Effet de l'apprentissage instrumental sur l'expression de l'hétéromère D1/NMDA dans le NAc	159
Figure 34 : Activité des neurones dopaminoceptifs D1+ et D2+ du mPFC au cours du reversal learning ..	162
Figure 35 : Schéma de l'interaction directe entre le récepteur NMDA et le récepteur D1	165
Figure 36 : Evolution de l'activité des neurones D1+ du NAc au cours d'une tâche de consommation suite à l'induction de l'expression du peptide interférent bloquant D1/NMDA	166

Liste des tableaux

Tableau 1 : Proportion des neurones pyramidaux (Pyr) ou des interneurons GABAergiques (GABA) des sous divisions du mPFC exprimant le récepteur D1.	68
Tableau 2 : Proportion des neurones pyramidaux (Pyr) ou des interneurons GABAergiques (GABA) des sous divisions du mPFC exprimant le récepteur D2.	69
Tableau 3 : Liste non exhaustive des hétéromères contenant le récepteur dopaminergique D2.....	98
Tableau 4 : Liste non exhaustive des hétéromères contenant un récepteur dopaminergique de type D1	99

Liste des abréviations

A : Action	LP : Appui levier
A2AR : Récepteur 2A de l'adénosine	LTD : Dépression à long terme
ABD : Domaine de liaison de l'agoniste	LTP : Potentialisation à long terme
AC : Adénylate Cyclase	MAPK : Mitogen activated protein kinase
ACC : Cortex cingulaire antérieur	MD : Noyau thalamique médiodorsal
aDMS, pDMS : DMS antérieur, postérieur	mGluRs : Récepteurs métabotropiques au glutamate
AMPA : Acide α -amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazolepropionique	MO, LO, VO, VLO : Cortex orbitofrontal médian, latéral, ventral, ventrolatéral
AMPC : Adénosine monophosphate cyclique	mPFC : Cortex préfrontal médian
AUC : Aire sous la courbe	MSNs : Neurones épineux moyens
BLA : Amygdale basolatérale	NAc : Nucleus Accumbens
BRET : Transfert d'énergie par résonance de bioluminescence	NMDA : N-méthyl-d-aspartate
CAMKII : Calmodulin-dependent protein kinase II	Nrxn : Neurexine
CCK : Cholécystokinine	NTD : Domaine N-terminal
CIN : Interneurones cholinergiques	O : Récompense
CNS : Système Nerveux Central	OCD : Trouble obsessionnel compulsif
CS : Stimulus conditionné	OFC : Cortex orbitofrontal
CTD : Domaine C-terminal	PA : Potentiel d'action
D1-5R : Récepteur de la dopamine D1-5	PET : Tomographie à émission de positrons
DA : Dopamine	PFC : Cortex préfrontal
DARPP32 : Phosphoprotéine régulée par la dopamine et par l'AMPC	PIT : Pavlovian to instrumental transfer
DLS : Striatum dorsolatéral	PKA : Protéine kinase A
DMS : Striatum dorsomédian	PKC : Protéine kinase C
DREADD : Designed Receptor Exclusively Activated by Designer Drug	PL : Cortex prélimbique
EPSCs : Courants excitateurs postsynaptiques	PLA : Proximity Ligation Assay
EPSPs : Potentiels excitateurs postsynaptiques	PLC : Phospholipase C
ERK : Extracellular signal regulated kinase	PSD : Densité postsynaptique
fMRI : Imagerie par résonance magnétique fonctionnelle	PV : Parvalbumine
FR1 : Fixed Ratio 1	PyrN : Neurone pyramidal
FRET : Transfert d'énergie par résonance de fluorescence / Förster	R : Réponse
FSI : Fast spiking interneuron	RI : Intervalle aléatoire
GPCR : Récepteur activé par les protéines G	RL : Reversal Learning
HFS : Stimulation à haute fréquence	RPE : Erreur de prédiction de la récompense
IC : Cortex insulaire	RR : Ratio aléatoire
iGluRs : Récepteurs ionotropiques au glutamate	S : Stimulus
IL : Cortex Infralimbique	SNc : Substantia Nigra pars compacta
IN : Interneurone	SOM : Somatostatine
KARs : Récepteurs kaïnates	TAN : Tonicly Active Neuron
LFS : Stimulation à basse fréquence	TMD : Domaine transmembranaire
LH : Habénula latérale	VGLUT2 : transporteur vésiculaire du glutamate 2
	VMAT2 : transporteur de monoamine vésiculaire 2
	VP : Pallidum Ventral
	VTA : Aire Tegmentale Ventrale

TABLE DES MATIÈRES

Table des figures	11
Liste des tableaux.....	13
Liste des abréviations	14
INTRODUCTION	22
I. Les processus de prise de décision et de flexibilité comportementale en condition physiologique et pathologique.....	22
A. Récompense et prise de décision	22
1. Notion de récompense	22
2. Processus de prise de décision	24
3. Association d'une valeur à la récompense	25
4. Modulation de la valeur de la récompense.....	26
B. Flexibilité comportementale.....	28
C. Bases neurales chez l'humain	29
D. Altération de ces mécanismes dans plusieurs pathologies psychiatriques et corrélations structurelles	30
1. Schizophrénie	30
2. Dépression Majeure	32
3. Trouble Bipolaire	32
4. Troubles d'utilisation de substance.....	33
5. Troubles obsessionnels compulsifs	34
II. Implication du cortex préfrontal et du striatum dans la flexibilité comportementale dans un contexte d'actions dirigées vers un but: données expérimentales chez le rongeur	35
A. Paradigmes comportementaux permettant l'évaluation de la flexibilité au cours d'actions dirigées vers un but	35
1. Adaptation à un changement de valeur de la récompense	35
2. Adaptation à un changement de l'association entre action et conséquence	36
i. Dégradation de contingence	36
ii. Inversion de contingence	37
B. Le cortex préfrontal et la flexibilité comportementale	38
1. Définitions	38
2. Structure et organisation du cortex préfrontal médian	39
3. Structure et organisation du cortex orbitofrontal.....	43
4. Implication dans la flexibilité comportementale.....	44
i. Cortex préfrontal médian.....	44
ii. Cortex orbitofrontal	45
C. Le striatum dorsal et ventral et la flexibilité comportementale.....	48

1.	Structure et organisation du striatum	48
2.	Composition cellulaire du striatum	49
3.	Connectivité du striatum dorsal	49
i.	Afférences du striatum dorsal	49
ii.	Efférences du striatum dorsal et principales implications comportementales	50
4.	Connectivité du noyau accumbens.....	51
i.	Afférences du noyau accumbens	51
ii.	Efférences du noyau accumbens et principales implications comportementales.....	52
5.	Implication dans la flexibilité comportementale.....	53
i.	Striatum Dorsal.....	53
ii.	Noyau Accumbens.....	54
III.	Transmission dopaminergique mésocorticolimbique et flexibilité comportementale	57
A.	Pathologies psychiatriques et altérations de la transmission dopaminergique.....	57
B.	La dopamine : caractéristiques d'un neuromodulateur aux fonctions multiples.....	57
C.	L'Aire Tegmentale Ventrale	64
1.	Structure de la VTA.....	64
2.	Types cellulaires.....	64
3.	Afférences.....	66
4.	Efférences.....	66
D.	Voie mésocorticale : PFC et dopamine	67
1.	Afférences dopaminergiques.....	67
2.	Expression corticale des récepteurs dopaminergiques.....	67
3.	Efférences des neurones dopaminoceptifs	69
E.	Voie mésolimbique : noyau accumbens et dopamine.....	70
F.	Dopamine mésocorticolimbique et flexibilité comportementale	71
1.	Implication des projections dopaminergiques de la VTA dans la flexibilité comportementale ...	71
2.	Implication de la dopamine du PFC dans la flexibilité comportementale.....	72
3.	Implication de la dopamine au sein des sous-régions du striatum dans la flexibilité comportementale	73
i.	Implication de la dopamine striatale dans l'adaptation de la réponse à un changement de valeur de la récompense	73
ii.	Implication de la dopamine striatale dans l'adaptation de la réponse à un changement de contingence	73
IV.	Interactions entre les systèmes glutamatergiques et dopaminergiques : implication des hétéromères formés par les récepteurs de la dopamine et du glutamate de type NMDA	76
A.	Les récepteurs métabotropiques du glutamate	76
B.	Les récepteurs ionotropiques du glutamate.....	78
1.	Caractéristiques communes aux iGluRs	78
2.	Les récepteurs AMPA	79

3. Les récepteurs kaïnate.....	81
4. Les récepteurs GluD.....	82
5. Les récepteurs NMDA.....	82
6. iGluRs et plasticité synaptique	87
C. Hétéromères de récepteurs.....	89
1. Caractéristiques propres aux hétéromères	90
2. Détection de la colocalisation et de la forte proximité entre récepteurs	92
i. Méthodes classiques d'établissement d'une colocalisation	92
ii. Techniques de détection d'une forte proximité entre récepteurs	93
3. Démonstration de l'interaction directe entre récepteurs.....	95
D. Hétéromères entre GPCRs et récepteurs de la dopamine	96
1. L'exemple de l'hétéromère D2R-A2AR.....	96
2. Autres hétéromères de récepteurs dopaminergiques	97
E. Hétéromères contenant le récepteur NMDA	99
F. Hétéromères de récepteurs dopaminergiques et glutamatergiques de type NMDA	100
1. Au sein du striatum et du noyau accumbens	100
i. Interaction entre l'activité des DAR et des NMDARs	100
ii. Mise en évidence des hétéromères D1/NMDA et D2/NMDA.....	100
iii. Implications comportementales.....	103
2. Au sein du cortex préfrontal médian.....	103
i. Mise en évidence des interactions entre l'activité des DAR et des NMDAR.....	103
ii. Implications comportementales.....	106
OBJECTIFS.....	107
RÉSULTATS	109
DISCUSSION GÉNÉRALE.....	148
I. Synthèse des résultats	148
II. Rôle de la transmission dopaminergique mésocorticolimbique dans la flexibilité comportementale.....	151
A. Une généralisation possible à plusieurs formes de modifications de l'association action – récompense ?.....	151
B. La dopamine du mésencéphale et la flexibilité comportementale	152
C. Rôle des hétéromères du mPFC et du NAc dans la capacité d'adapter la réponse instrumentale	154
1. Expression cellulaire des hétéromères D1/NMDA et D2/NMDA	154
2. Flexibilité comportementale et mPFC	156
3. Noyau accumbens et flexibilité comportementale.....	157
4. Hétéromères D1/NMDA et D2/NMDA et adaptations comportementales	158
III. Evolution de l'activité des neurones dopaminoceptifs du mPFC au cours d'un apprentissage pavlovien et opérant	160
A. Rôle des neurones dopaminoceptifs du mPFC dans la phase consommatoire	160

B. Activité des neurones dopaminoceptifs corticaux au cour de tâches pavloviennes et instrumentales	161
IV. Hétéromères D1/NMDA et D2/NMDA et activité des neurones dopaminoceptifs, en lien avec la flexibilité comportementale.....	163
RÉFÉRENCES	167
ANNEXES	206

PRÉAMBULE

Pour tout individu, prendre des décisions est un processus au cœur de l'existence. Que ce soit pour réaliser des choix de faible importance ou à haut risque, la capacité à effectuer des actions dans le but d'obtenir une récompense ou d'atteindre un objectif précis est primordiale pour naviguer dans un environnement en constante évolution. Dans ce contexte, la compréhension des circuits à l'origine de la mise en place des comportements flexibles et des mécanismes sous-jacents revêt un intérêt majeur.

Ainsi, ce travail de thèse cherche à permettre de mieux comprendre comment l'influx dopaminergique de la voie mésocorticolimbique influence la composante flexible des actions dirigées vers un but, en portant une attention particulière au rôle joué par l'interaction directe entre les récepteurs de la dopamine et du glutamate de type NMDA dans l'intégration de cette transmission.

Dans une première partie, nous allons définir ce que sont les processus de prise de décision et de flexibilité comportementale en nous penchant sur la notion de « récompense » et sur les facteurs pouvant en modifier la valeur. Nous nous intéresserons ensuite aux bases neurales de ces processus chez l'humain avant de détailler certaines conditions pathologiques pour lesquelles ces processus sont altérés, conjointement à des perturbations des structures citées.

Puis, nous nous intéresserons plus en détails aux structures principales impliquées dans la mise en œuvre de ces comportements que sont le cortex préfrontal et le striatum. Nous verrons tout d'abord quels protocoles comportementaux permettent d'évaluer des aspects distincts de la flexibilité comportementale chez le rongeur. Nous présenterons ensuite chacune de ces structures d'un point de vue anatomofonctionnel, et préciserons dans quelle mesure elles participent à la mise en œuvre de ces comportements flexibles.

Nous verrons ensuite qu'on retrouve des altérations de la transmission dopaminergique dans certaines pathologies psychiatriques associées à des déficits de fonctions exécutives. Puis, après une introduction de la dopamine et de ses caractéristiques biochimiques, nous verrons de quelle manière la dopamine est impliquée dans certains des aspects de la flexibilité comportementale en nous concentrant sur les trois structures formant le circuit mésocorticolimbique.

Enfin, nous étudierons le rôle des hétéromères formés par les récepteurs de la dopamine et du glutamate de type NMDA d'un point de vue fonctionnel et comportemental, comme potentiel mécanisme d'intégration de la convergence du glutamate et de la dopamine sur les neurones dopaminoceptifs du striatum et du cortex préfrontal. Pour cela, une présentation des récepteurs du glutamate et particulièrement des récepteurs NMDA sera réalisée, avant de définir ce que sont les mécanismes d'hétéromérisation et les techniques permettant de les mettre en évidence. Nous nous attarderons enfin sur les données concernant les interactions, parfois montrées comme directes, entre récepteurs de la dopamine D1 ou D2 et récepteurs NMDA au sein de ces deux structures.

INTRODUCTION

I. Les processus de prise de décision et de flexibilité comportementale en condition physiologique et pathologique

A. Récompense et prise de décision

1. Notion de récompense

Comme l'explique Wolfram Schultz « Les récompenses sont les objets les plus cruciaux de la vie » (Schultz, 2015). Elles peuvent être définies par les réactions comportementales qu'elles élicitent, et caractérisées par trois fonctions entremêlées que sont l'apprentissage, les comportements d'approche et de prise de décision, et les émotions positives qu'elles induisent.

La notion d'apprentissage fait ici référence à la répétition d'un comportement pour obtenir un renforcement positif (apprentissage par renforcement, *reinforcement learning*). C'est notamment le cas du conditionnement Pavlovien, au cours duquel l'individu apprend qu'un stimulus précédemment sans valeur prédit maintenant l'arrivée d'une récompense, et du conditionnement opérant, durant lequel l'individu associe la réalisation d'une action à l'obtention d'un renforcement positif : l'issue favorable renforce le comportement qui y a mené. Les punitions peuvent également produire un conditionnement pavlovien, mais cette fois négatif, tout comme un renforcement négatif en conditionnement instrumental (Rangel et al., 2008; Schultz, 2015).

Les récompenses sont motivantes et nous font faire un effort pour les obtenir. Cela induit un comportement d'approche, aussi appelé comportement appétitif, correspondant à une phase de recherche de la récompense. Cette phase précède dans de nombreux cas une phase de choix entre différentes récompenses : lorsqu'un individu prend une décision, son but est d'atteindre une issue désirée à savoir de maximiser la valeur attendue et d'éviter une issue non souhaitée (valeur de la conséquence réduite, perte de temps, d'énergie ou de ressources) (J. I. Gold & Shadlen, 2007).

La dernière phase correspond à la consommation de la récompense. Une récompense peut donc correspondre à tout stimulus, objet, activité ou événement entraînant une phase d'approche et une phase de consommation (Schultz, 2015). Enfin, les récompenses ont la capacité de susciter des émotions positives chez l'individu, notamment le plaisir, réponse transitoire participant à l'élaboration d'un état plus durable de bonheur. Le plaisir peut prendre différentes formes et avoir des degrés divers. Un individu ayant éprouvé du plaisir à la suite de la consommation d'une récompense va potentiellement souhaiter obtenir cette récompense à nouveau (notion de désir) (Schultz, 2015). On distingue donc ici la notion de désir (*wanting*) permettant à un sujet de diriger son comportement de façon active vers l'obtention de récompenses connues, de la notion de plaisir (*liking*) correspondant à l'expérience passive induite par l'anticipation ou la consommation d'une récompense (Berridge, 2009). D'un point de vue neurobiologique, les circuits sous-tendant ces deux processus sont d'ailleurs distincts. Celui du *wanting* est rattaché à la composante dopaminergique – qui sera abordée dans la partie III – tandis que celui du *liking* s'articule autour de points clés activateurs ou inhibiteurs des réactions de plaisir (« *hot spots* » vs « *cold spots* », respectivement), situés entre autres dans le shell du noyau accumbens ou dans le pallidum ventral, et dépendants de stimulation par les opioïdes, les endocannabinoïdes ou encore l'orexine (Berridge & Dayan, 2021; Berridge

& Kringelbach, 2015; Nguyen et al., 2021). On peut rattacher à cette notion de « plaisir » celle de l'évitement de situations désagréables ou aversives, telles qu'une punition ou la douleur (H. Kim et al., 2006).

D'un point de vue évolutif, le phénotype est sélectionné à partir de comportements maximisant la propagation des gènes. Ainsi, la fonction distale des récompenses est de potentialiser la valeur adaptative des individus en garantissant leur survie et leur reproduction. L'apprentissage par renforcement, les comportements d'approche et de prise de décision et les émotions positives correspondent donc aux fonctions proximales des récompenses au travers desquelles les individus peuvent survivre, se reproduire et élever la descendance (Schultz, 2015).

On distingue plusieurs catégories de récompenses. Les récompenses primaires comprennent les récompenses permettant d'équilibrer la balance homéostatique (régulation de la faim, de la soif, de la température), et les récompenses reproductives. Toutes les autres récompenses sont donc définies comme non-primaires et peuvent à moyen ou long terme contribuer à la survie, à la reproduction et à la sélection de l'individu d'un point de vue évolutif. Elles peuvent être physiques (ex : objet, argent, tableau), ou immatérielles (ex : spectacle, visite, musique) et peuvent présenter des propriétés sensorielles faisant appel aux cinq sens (Schultz, 2015). Un comportement en lui-même peut également être récompensant, comme c'est par exemple le cas de souris sauvages courant dans une roue d'activité (Meijer & Robbers, 2014). On parle alors de récompense intrinsèque au comportement, par contraste avec des comportements effectués pour atteindre une récompense dite extrinsèque (Barto, 2013).

De ces définitions émergent donc des composantes communes aux récompenses, décrites en **Figure 1**. Elles ont tout d'abord en commun d'avoir une composante sensorielle permettant leur détection, et/ou d'être détectées par des processus cognitifs dans le cas de récompenses relatives à des situations non tangibles (ex : la poésie ou l'humour, qui au-delà d'une perception auditive ou visuelle, nécessitent d'être traitées de manière cognitive). Elles ont ensuite la caractéristique d'être saillantes, c'est-à-dire, d'attirer l'attention, de façon à orienter la réponse. Cette saillance peut être physique, due à de la nouveauté ou de la surprise, ou bien avoir une origine motivationnelle (que ce soit pour une récompense ou pour une punition pour ce dernier trait). Enfin, les récompenses ont une valeur qui détermine leur effet pro-motivationnel. Cette valeur est subjective et propre à l'individu, et est la composante sur laquelle est fondée la notion de récompense. Ces composantes dans leur ensemble permettent de tendre vers une acquisition maximale de récompenses (Schultz, 2015).

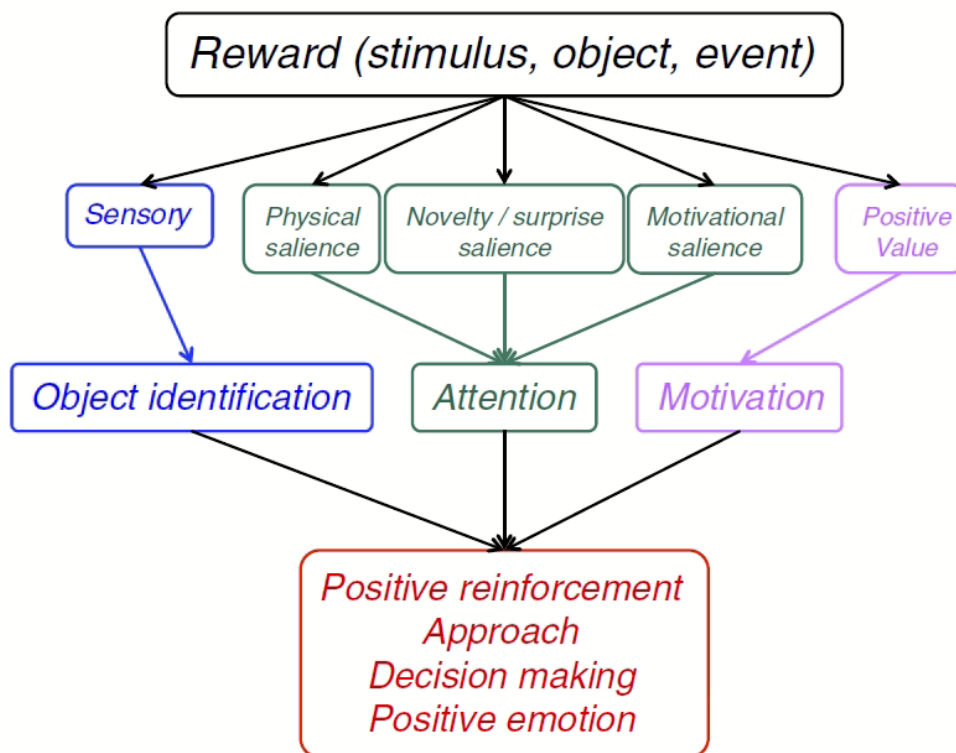


Figure 1 : Composantes d'une récompense (Schultz, 2015)

2. Processus de prise de décision

La prise de décision fondée sur la valeur (*Value-based decision making*) est ainsi omniprésente dans le règne animal et survient lorsqu'un individu fait un choix parmi plusieurs options d'après la valeur subjective qu'il accorde à ces options (J. I. Gold & Shadlen, 2007; Rangel et al., 2008). Ce type de prise de décision peut ainsi être théoriquement structuré en cinq processus. Tout d'abord, la construction d'une **représentation** de la situation qui nécessite de prendre une décision, s'appuyant sur l'identification des états internes (Ex : Homéostasie, sensation de faim) et externes à l'individu (Ex : Niveau de danger, nourriture accessible) ainsi que des options possibles. Deuxièmement, **l'association d'une valeur** à chaque option considérée en fonction de ces paramètres : elles doivent prédire de la façon la plus fiable l'issue de chaque option. Troisièmement, **la sélection d'une des actions** après évaluation de sa valeur en comparaison aux autres. Quatrièmement, une **évaluation de la désirabilité des conséquences** de cette action en comparaison aux conséquences initialement attendues, permettant enfin de **mettre à jour les processus** mentionnés (Représentation, association d'une valeur, sélection d'une action) pour améliorer la qualité des futures décisions (Rangel et al., 2008). Lors de cette dernière étape, la computation entre la valeur réelle de la récompense et sa valeur attendue permet de faire émerger la notion d'erreur de prédiction de la récompense (*Reward Prediction Error*, RPE) – sur laquelle nous reviendrons par la suite –, participant à ce rétrocontrôle des processus mentionnés sous forme de mise à jour. La RPE est positive si la valeur de la récompense obtenue est mieux que ce qui était espéré, et négative si le contraire advient. Ce processus implique fortement le système dopaminergique comme nous le détaillerons par la suite (Schultz, 2016). Les situations réelles sont évidemment plus complexes, caractérisées par des valeurs des récompenses potentielles qui peuvent ne pas être aussi claires, ni stables, tout comme les actions à réaliser pour obtenir ces récompenses et il est plus probable que ces processus soient mis en œuvre de façon parallèle que sérielle (Schultz, 2015). Ces étapes sont résumées dans la **Figure 2**.

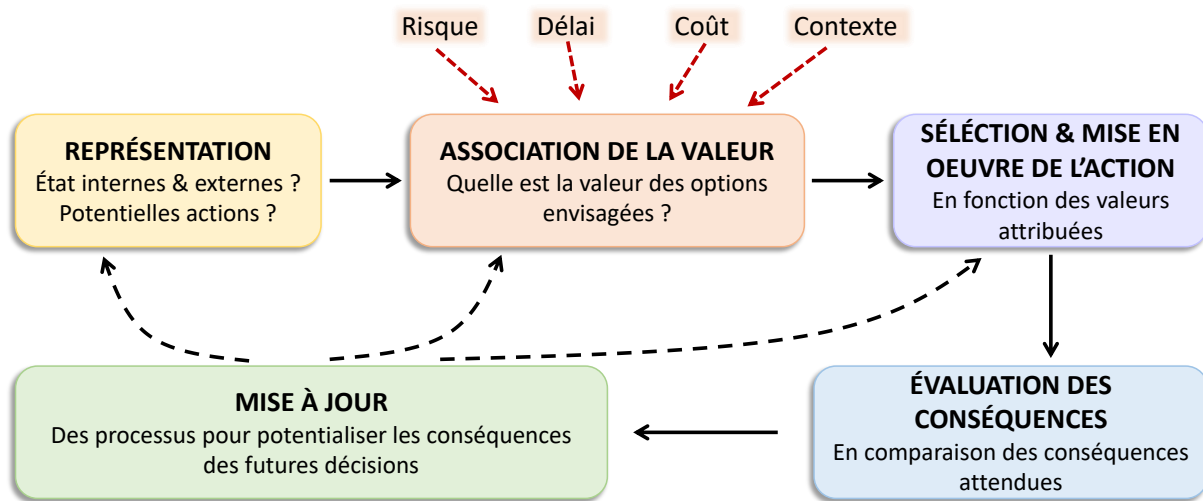


Figure 2 : Processus de prise de décision (adapté de Rangel et al., 2008)

3. Association d'une valeur à la récompense

Plusieurs systèmes d'association de la valeur permettent la mise en place de ces comportements, que ce soit pour favoriser une issue bénéfique (recherche d'une récompense) ou pour éviter une conséquence désagréable (conséquence aversive, punition). On distingue ainsi les systèmes Pavlovien, d'habitude et d'actions dirigées vers un but (Daw & O'Doherty, 2014; Rangel, 2013; Rangel et al., 2008). Les systèmes pavloviens associent une valeur à un comportement pavlovien, c'est-à-dire un comportement de réponse innée (ex : salivation à la vue ou à la détection olfactive de nourriture) ou acquise par conditionnement (Approche d'un signal lumineux qui prédit l'arrivée de nourriture), à un stimulus environnemental ne possédant pas en lui-même de valeur (Daw & O'Doherty, 2014; Rangel, 2013; Rangel et al., 2008).

Les systèmes d'habitude permettent eux d'associer une valeur à un plus grand nombre de réponses en comparaison des systèmes pavloviens. Ils s'appuient sur l'association Stimulus (S) – Réponse (R), fondée sur les expériences passées par un processus d'essai-erreur. De ce fait, l'apprentissage peut être assez lent et la sensibilité à un changement de contingence entre le stimulus et la réponse appropriée peut être grandement diminuée (Daw & O'Doherty, 2014; Rangel, 2013; Rangel et al., 2008).

Enfin les systèmes d'actions dirigées vers un but assignent une valeur aux actions par évaluation des associations Actions (A) – Conséquence (C), et par évaluation de la valeur de ces conséquences (ex : Récompense versus punition). Un choix est considéré comme dirigé vers un but s'il s'appuie sur la représentation de la contingence A-C et sur la conséquence en tant que but souhaité. Par contraste avec le système d'habitude, le système d'actions dirigées met à jour la valeur de l'action dès que la valeur de la récompense est modifiée. A titre d'exemple, pour un rongeur ayant été entraîné à appuyer sur un levier pour obtenir de la nourriture, après avoir été nourri à satiété et ayant ensuite eu accès au levier, le système d'action dirigée va diminuer la valeur de l'action (Appui levier) étant donné que la valeur de la récompense a été diminuée par satiété, tandis que le système d'habitude va continuer à assigner une valeur élevée au levier malgré la satiété. Ces trois systèmes permettent d'expliquer une grande diversité de situations où des individus doivent associer des valeurs à plusieurs actions potentielles, dans le but de prendre une décision. Cependant ces catégories peuvent se chevaucher voire entrer en conflit et la description d'autres systèmes d'associations de valeurs pourrait permettre de mieux comprendre la mise en place de comportements de décision plus complexes (Daw & O'Doherty, 2014; Rangel, 2013; Rangel et al., 2008). Une transition entre action dirigée et habitude peut par exemple être effectuée lorsqu'un individu ayant une course à faire déviant du trajet quotidien pour se rendre au travail, poursuit sa route sur son trajet

habituel, et se rend compte plus tard sur le trajet de sa « distraction » par rapport à son but initial, phénomène appelé « acte manqué » ou « étourderie » (*slip of action ; absentmindedness*) (Watson et al., 2018). Un exemple concernant l'échelle temporelle de la récompense peut également se présenter lorsqu'un individu souhaitant perdre du poids et ayant à disposition de la nourriture palatable doit faire le choix de se diriger vers une récompense à court terme (consommer la nourriture pour satisfaire une envie) ou à long terme (ne pas la consommer pour atteindre un but à plus long terme), créant ainsi un conflit au sein du système d'actions dirigées (Rangel et al., 2008).

4. Modulation de la valeur de la récompense

Dans une situation de choix, l'attribution d'une valeur à une récompense peut être modulée par plusieurs facteurs, et leur computation contribue à l'émergence d'un choix après comparaison entre les valeurs des différentes récompenses potentielles. Nous allons donc présenter ici les différents facteurs entrant en compte dans le processus de prise de décision, par modulation de la valeur de la récompense, en indiquant également les structures cérébrales auxquelles ils sont associés. Nous reviendrons par la suite plus en détail sur les bases neurales des processus de prise de décision associées à un comportement flexible.

Le risque et l'ambiguïté

Le risque fait référence au degré d'incertitude lorsque les probabilités d'occurrence d'un événement sont connues, comme c'est le cas pour prendre une décision à pile ou face (1/2) ou par un lancer de dé (1/6). L'ambiguïté désigne au contraire l'incertitude lorsque ces probabilités ne sont pas entièrement, ou du tout connues. Une grande majorité d'individus est réticente à ces deux types d'incertitude. L'aversion au risque représente un compromis entre quantité et probabilité, selon les préférences de l'individu et peut se traduire par la préférence d'une plus petite récompense avec une plus haute probabilité d'occurrence, en comparaison à une récompense de plus grande taille avec une faible probabilité d'occurrence. Il a été montré chez le singe que les individus préféreraient des options risquées plutôt que des options ambiguës. D'un point de vue fonctionnel, plusieurs études d'imagerie ont mis en évidence un rôle majeur des structures corticales préfrontales (PFC) et orbitofrontales (OFC), ainsi que du striatum, de l'insula mais également du système dopaminergique dans les choix risqués; et de l'OFC, de l'amygdale et de l'insula antérieure dans les choix ambigus (Levy et al., 2010; Rangel et al., 2008; Schultz, 2015).

La dépréciation temporelle de la valeur

Dans des situations réelles du quotidien, il peut exister un délai temporel entre une prise de décision et la survenue de la conséquence qu'elle entraîne. Ce processus correspond à une perte progressive de l'importance de la valeur subjective de la récompense lorsque son occurrence est différée dans le temps. Ce facteur peut être investigué de manière plus approfondie par des tâches telles que le *Delay Discounting*, au cours de laquelle, le sujet a le choix entre obtenir une petite récompense immédiatement ou devoir attendre une certaine durée pour obtenir une récompense plus grande. Il a été montré que l'OFC, le PFC, les cortex, cingulaire antérieur (ACC), prémoteur et pariétal ainsi que le striatum dorsal et ventral étaient impliqués dans la dépréciation temporelle de la valeur. Par ailleurs, les neurones dopaminergiques intègrent les récompenses différées dans le temps par réduction de leur valeur (McClure et al., 2007; Moro et al., 2023; Rangel et al., 2008; Schultz, 2015).

L'état motivationnel

La valeur d'une récompense est fortement liée à l'état interne de l'animal. La déprivation d'une substance particulière va ainsi augmenter sa valeur subjective tandis qu'en condition de satiété pour cette même substance, la valeur s'en retrouve réduite. Cela peut concerner un état général ou spécifique, on distingue par exemple la satiété sensorielle spécifique de la satiété générale. Chez le singe, la satiété spécifique réduit

les réactions comportementales et l'activité de l'OFC lors de l'olfaction, de la dégustation et de la vue de la récompense en question (Critchley & Rolls, 1996). Les états internes de l'individu tel que son état de satiété contribuent donc à créer un besoin qui influence son état motivationnel (Schultz, 2015).

Le coût économique

Les récompenses naturelles ne fournissent pas uniquement des nutriments et des calories, mais nécessitent une dépense de ressource relative à leur recherche et à leur obtention (effort physique, financier), qui rentre dans le calcul de la valeur de cette récompense. On parle alors de coût économique. Que ce soit d'un point de vue financier ou physique, l'individu calcule le ratio coût/bénéfice avant de prendre une décision. Par ailleurs, les mouvements et l'effort peuvent ne pas représenter uniquement un coût pour l'individu, mais également constituer une récompense en tant que telle, comme certaines activités sportives ou de loisirs. Un comportement d'effort peu ainsi augmenter ou réduire le bénéfice net d'une récompense donnée selon les situations. D'un point de vue fonctionnel, l'ACC, l'OFC et le cortex préfrontal dorsolatéral (dlPFC) participent à la computation du facteur « effort » dans le processus de prise de décision (Schultz, 2015).

Le contexte général

Le contexte environnemental dans lequel évolue l'individu (facteurs extrinsèques) joue un rôle central dans la valeur subjective de la récompense (Schultz, 2015). A titre d'exemple, les processus d'extinction de conditionnement pavlovien et de réponse instrumentale sont grandement dépendants du contexte dans lequel se trouve l'individu. En considérant des contextes distincts *A*, *B* ou *C*, au sein desquels peuvent se dérouler les étapes d'entraînement, d'extinction et de potentiel rétablissement de cette réponse, l'équipe de Bouton a pu montrer - en plus du schéma classique *ABA* (rétablissement de la réponse éteinte dans le contexte *B* lorsque l'animal est placé à nouveau dans le contexte d'entraînement initial) – que le rétablissement de la réponse conditionnée ou instrumentale avait lieu dans un nouveau contexte (*B*), lorsque l'entraînement et l'extinction avaient eu lieu en (*A*) (schéma *AAB*), et que la réponse était également retrouvée lorsqu'après avoir effectué l'entraînement en (*A*) et éteint la réponse en (*B*), l'animal était placé dans un nouveau contexte (*C*) (schéma *ABC*) (Bouton & Todd, 2014). La valeur subjective d'une récompense peut donc être retrouvée à la suite d'une extinction, lorsque l'animal est placé dans un nouveau contexte. Par ailleurs, le contexte influence la valeur des récompenses au quotidien, lorsqu'en fonction de celui-ci, une odeur va pouvoir sembler agréable ou bien au contraire désagréable, ou en fonction du label associé à la dégustation d'une boisson (ex : mention d'une marque type *Coca* ou *Pepsi*, ou bien d'un qualificatif type « délicieux »), augmentant alors la notation correspondante, en association à une augmentation d'activité du PFC et de l'OFC (Grabenhorst et al., 2008; McClure et al., 2004). Dans des dégustations de vin, l'affichage du prix des vins influence les notations des vins dégustés ainsi que l'activité de l'OFC (Plassmann et al., 2008).

Le contexte social

Voir et interagir avec des congénères est une récompense en tant que tel, comme l'ont montré plusieurs études. Ce facteur peut donc rentrer en jeu dans la computation de la valeur d'une récompense. Ces processus impliquent notamment le cortex pariétal, l'OFC et le striatum. Par ailleurs, les individus n'apprécient pas de recevoir une récompense moindre que celle d'un congénère quand tous les autres facteurs sont égaux, la comparaison d'une récompense à celle d'autres individus peut affecter la valeur de la récompense en elle-même. Des données suggèrent toutefois qu'observer un congénère obtenir une récompense est récompensant en soi pour l'observateur, et que dans une situation de choix, des macaques

rhésus préfèrent cette option à celle qu'aucun individu ne reçoive de récompense (Rangel et al., 2008; Schultz, 2015).

Ainsi, la prise en compte de l'ensemble de ces facteurs à un instant t permet de computer ces différentes valeurs subjectives de la récompense en une variable unique appelée « utilité totale ». Cette computation permet à l'individu d'être plus efficace et d'affiner sa prise de décision à l'avenir, le détail du calcul de la valeur d'une récompense dans une situation donnée ayant déjà été effectué, et ce même si certaines composantes propres à la situation en questions doivent être mises à jour. Par ailleurs, certaines récompenses peuvent être composées d'ensemble de plus petites récompenses, comme c'est le cas pour un repas, constitué de plusieurs plats, eux-mêmes constitués d'ingrédients variés. Les valeurs de ces différentes composantes forment in fine la valeur de la récompense « repas » plus globale (Schultz, 2015).

B. Flexibilité comportementale

De cette définition de la récompense et des propriétés du processus de prise de décision émerge ainsi la notion de flexibilité comportementale. D'un point de vue éthologique, elle peut englober plusieurs définitions. Des variations du comportement en réponse à des changements de l'environnement peuvent être caractérisées au niveau populationnel, que ce soit entre des populations d'une même espèce vivant dans des environnements aux caractéristiques différentes, ou bien entre des groupes d'âges ou de sexe distincts d'une même population d'un point de vue géographique. Ces variations peuvent entre autres se traduire au niveau des choix alimentaires, des habitats utilisés ou encore des relations sociales entre les groupes. On retrouve cette flexibilité comportementale au travers de mécanismes mis en place pour s'adapter aux changements de l'environnement dans un grand nombre de taxons, recouvrant les insectes aux mammifères en passant par les gastéropodes ou les oiseaux (Lea et al., 2020).

Nous allons maintenant nous concentrer sur ce que recouvre cette notion de flexibilité comportementale au niveau de l'individu. Elle regroupe un ensemble de processus lui permettant d'adapter sa réponse comportementale à une situation particulière, en prenant en compte les expériences passées, les données disponibles de l'environnement à un instant t et son état homéostatique.

La flexibilité comportementale recouvre la capacité à résoudre des problèmes, notamment celle d'apprendre l'inverse d'une tâche pour laquelle l'individu est très entraîné (*Apprentissage Inversé, Reversal Learning*). Ce mécanisme d'adaptation est essentiel étant donné qu'il permet d'inhiber un comportement prédominant. Cette notion peut être étendue à la capacité à s'adapter à des inversions en série, en facilitant l'apprentissage de nouvelles règles, de manière à effectuer ces transitions de façon plus rapide (Izquierdo et al., 2017; Lea et al., 2020). Elle prend en compte de nombreuses formes d'adaptation comportementale, et des manipulations laissant intactes certaines composantes (ex : la résolution de problème) peuvent altérer d'autres processus d'adaptation (ex : l'apprentissage d'une nouvelle règle, ou règle inversée concernant le même problème) (Lea et al., 2020).

L'adaptation de la réponse face à un changement de valeur de la récompense constitue également une forme de flexibilité comportementale. La valeur de la récompense peut être diminuée expérimentalement par un processus de dévaluation par satiété sensorielle spécifique ou par induction d'un comportement de maladie associé à la nourriture (classiquement par injection de chlorure de lithium (LiCl) chez le rongeur) (Balleine, 2019; D. A. Hamilton & Brigman, 2015). La dégradation de contingence entre action et récompense permet également d'estimer la flexibilité du sujet (Balleine, 2019). Nous reviendrons sur ces procédures plus en détails dans la partie II.

C. Bases neurales chez l'humain

Nous allons maintenant nous intéresser aux structures impliquées dans la mise en place de ces comportements de flexibilité dans le cadre de la prise de décision chez l'humain, d'après des données de neuroimagerie.

Concernant les réponses pavloviennes, il a été montré que plusieurs structures pouvaient contrôler les réponses de peur liées à des stimuli négatifs (ex : odeurs), telles que l'amygdale, l'hypothalamus ou encore la substance grise périaqueducule (PAG). Au contraire, les réponses Pavloviennes appétitives impliquent l'amygdale basolatérale (BLA), le cortex orbitofrontal (OFC) ou encore le striatum ventral (Cardinal et al., 2002; Rangel, 2013; Rangel et al., 2008)

Le striatum dorsolatéral (DLS) ou putamen joue un rôle central dans le contrôle des habitudes (de Wit et al., 2012; McNamee et al., 2015; Tricomi et al., 2009). Cette région étant connectée par des boucles au cortex moteur, cela constitue un mécanisme par lequel des stimuli peuvent influencer les actions à réaliser (Rangel, 2013). Des données suggèrent que la représentation de l'association S-R pourrait être encodée par le circuit cortico-thalamique, et que le cortex infralimbique (IL) est nécessaire à la mise en place et au maintien des habitudes (Barker et al., 2014; Coutureau & Killcross, 2003).

Concernant les actions dirigées vers un but, des études ont montré une implication du striatum dorsomédian (DSM) ou noyau caudé dans la représentation des associations A – C. Des données de fMRI ont pu montrer l'implication de zones s'étendant de l'OFC médian et central (mOFC ; cOFC) (Plassmann et al., 2010; Valentin et al., 2007) au vmPFC ventromédian (vmPFC) (de Wit et al., 2012) ou au dlPFC (Plassmann et al., 2010) dans la computation des valeurs des potentielles conséquences au moment d'effectuer un choix entre plusieurs options, dans le cas de récompenses monétaires, sociales, appétitives ou bien de conséquences aversives. Par corrélation, lorsque la valeur d'une récompense est réduite de manière expérimentale (processus de dévaluation), on observe une diminution de l'activité du vmPFC (de Wit et al., 2009). Ces computations peuvent être de l'ordre de quelques centaines de milliseconde, ce qui suggère que le système d'actions dirigées vers un but permet de prendre des décisions de façon extrêmement rapide (Harris et al., 2011). Lors d'une tâche de décision entre deux actions menant à des récompenses ayant différentes probabilités à la suite de la présentation d'un stimulus conditionnant la contingence entre action et récompense, McNamee a pu montrer l'implication de ces quatre structures (Noyau caudé, OFC, vmPFC, dlPFC) dans les comportements dirigés vers un but, notamment lors de la représentation de la récompense au moment de l'action. L'activité du dlPFC reflète en plus la représentation de la récompense et de l'action au moment du stimulus, rôle crucial pour guider l'action. Le cOFC participe à la représentation de la récompense au moment du stimulus tandis que le vmPFC n'y participe que plus tard, au moment de l'exécution de l'action, suggérant que le cOFC encode l'identité d'un objectif au moment de la prise de décision initiale et que celle-ci est ensuite utilisée pour la représentation de la valeur de la récompense par le vmPFC au moment de l'action (McNamee et al., 2015). Des études suggèrent que la comparaison entre les valeurs des conséquences potentielles dépendrait de l'activité d'un circuit incluant le PFC dorsolatéral (dlPFC), l'aire motrice pré-supplémentaire et le lobule pariétal inférieur. Ce circuit module par ailleurs le cortex moteur pour mettre en œuvre la décision (Basten et al., 2010; Hare et al., 2011; Rangel, 2013).

La frontière entre action habituelle et action dirigée peut être fine et modélisée par une tâche se concentrant sur les actes manqués (*Slip of Action Test*, SOAT). Lors de cette tâche, les récompenses potentielles sont tour à tour dévaluées et le sujet doit adapter sa réponse pour ne pas perdre de points et continuer à en gagner. Lors d'essais en condition dévaluée, les participants présentaient une plus grande activité de l'ACC, du gyrus paracingulaire, du IOFC et de l'insula. Les actions habituelles étaient corrélées à

une activation du cortex prémoteur et du cervelet tandis que les actions dirigées étaient associées à une activation du noyau caudé, du dlPFC et de structures frontales (Watson et al., 2018).

Plusieurs études ont montré que l'activité dans le striatum ventral reflète la prédiction d'erreur mais pas la valeur de la récompense ni celle de la décision (Bray & O'Doherty, 2007; Hare et al., 2008; Rodriguez et al., 2006). Au contraire, l'activité de l'OFC et du cortex préfrontal médian (mPFC) reflète la valeur de la récompense (Plassmann et al., 2007; E. T. Rolls et al., 2008).

Si nous nous intéressons maintenant plus particulièrement aux structures impliquées dans la flexibilité comportementale et notamment lors d'une inversion de contingence entre une action et ses conséquences - où l'individu doit surpasser la réponse dominante en adaptant son comportement (processus d'apprentissage inversé ou *reversal learning*) -, il a été montré que ce processus était régulé par le noyau caudé (CN) et plusieurs structures frontales telles que le IPFC, le IOFC ou l'ACC. L'étude de Hampshire et collègues a pu déterminer un rôle plus précis de ces structures dans la mise en œuvre de ce type de comportement. Leur étude d'imagerie (fMRI) révèle que pendant le *Reversal Learning*, le IOFC est particulièrement sensible à la mise en œuvre du reversal, tandis que le IPFC est plus activé pendant le contrôle de l'attention. Au contraire, l'ACC et le CN répondent lorsque de nouvelles recherches sont entreprises pour accéder au feedback récompensant (visualisation d'une image agréable à regarder). Enfin l'activité du mOFC est corrélée au traitement et à l'évaluation de cet aspect récompensant du feedback (Hampshire et al., 2012). D'autres études d'imagerie et de lésion ont montré l'implication du PFC ventral (médial / latéral selon les études) et du striatum ventral dans l'adaptation de la réponse face à un changement de contingence (et non pas dans la phase d'apprentissage de l'association) lors d'une tâche de *reversal learning* (Cools et al., 2002; Fellows & Farah, 2003). Des études de lésion suggèrent l'implication de l'OFC dans le codage de la valeur de la récompense dans une tâche de *reversal learning*, tandis que les lésions du dlPFC pouvaient occasionner un déficit d'attention dans cette même tâche (Hornak et al., 2004). Lors de l'apprentissage d'une nouvelle règle, le IPFC est plus activé lors de la recherche de la règle, le mPFC lorsque cette règle est appliquée, et les IPFC, mPFC et dACC à des degrés variés lors de la découverte de la règle (Cao et al., 2016).

D. Altération de ces mécanismes dans plusieurs pathologies psychiatriques et corrélations structurelles

Ces mécanismes de prise de décision et de flexibilité comportementale sont altérés dans plusieurs pathologies psychiatriques telles que la schizophrénie, les troubles bipolaires, la dépression majeure ou encore les troubles d'abus de substance, en association avec des altérations du fonctionnement des régions impliquées dans ces comportements, précédemment détaillées. L'électroencéphalographie (EEG) conjointement à l'essor des techniques d'imagerie fonctionnelle telles que la tomographie par émission de positons (PET), l'imagerie par résonance magnétique fonctionnelle (fMRI) ou la magnétoencéphalographie (MEG) ont permis des avancées considérables sur l'implications de certaines structures dans des pathologies psychiatriques.

1. Schizophrénie

La schizophrénie est une pathologie psychiatrique se caractérisant par un ensemble de symptômes divisés en trois catégories : les symptômes positifs, négatifs et cognitifs. Les symptômes positifs caractérisés par un comportement psychotique englobent les délires, les hallucinations et un comportement moteur perturbé. Les symptômes négatifs regroupent notamment une diminution de l'expression émotionnelle, une baisse de la motivation (avolition) et dans certains cas une réduction de l'hédonie (anhédonie) ou une incapacité à parler (alogie). Les symptômes cognitifs sont assez variés, mais ils peuvent comprendre un

discours incohérent ou des troubles d'élocution, du raisonnement et de l'attention, des altérations de la mémoire de travail et des fonctions exécutives (Patel et al., 2014; DSM-V : Regier et al., 2013). Cette pathologie affecte une personne sur 300 à travers le monde, soit 24 millions de personnes d'après l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) (World Health Organization, 2022b).

Les individus souffrant de schizophrénie présentent une altération de l'association entre des signaux annonceurs ou non d'une récompense et la saillance appropriée, menant à une saillance aberrante pour des stimuli neutres, résultant en des symptômes positifs, ou à une absence de réponse appropriée à des signaux associés à une récompense, résultant en des symptômes négatifs, et ce en association avec une perturbation des fonctions striatales. Pour certains patients, des divergences ont pu être mises en évidence entre des auto-évaluations relatant une anhédonie générale et des scores affectifs dans la norme pour des expériences plaisantes momentanées. Les symptômes négatifs ne se traduiraient donc pas par une anhédonie en tant que tel mais par une altération de la capacité à se représenter une expérience récompensante de façon appropriée (Whitton et al., 2015). Il a également été montré que des individus schizophrènes ne réalisaient pas d'effort pour effectuer des activités plaisantes, bien qu'ils aient émis une anticipation à faire ces activités, supérieure à celles de sujets contrôles, suggérant que les patients souffrant de cette pathologie ne sont pas capables de mobiliser un effort pour réaliser une tâche récompensante (Whitton et al., 2015). Le striatum ventral a pu être mis en évidence comme une structure centrale dans la détection de l'erreur de prédiction de la récompense (RPE) chez des individus schizophrènes, l'activité de cette structure étant aberrante en réponse à une récompense attendue ou non-attendue (Morris et al., 2012).

Plusieurs études ont montré que des individus schizophrènes présentaient des déficits de fonctions exécutives dans des tâches évaluant l'attention (*set-shifting*), le raisonnement abstrait (Wisconsin Card Sorting Test, WCST), ou la vigilance en association à des altérations du cortex préfrontal dorsolatéral (dlPFC) (Antonova et al., 2004; Leeson et al., 2009; Rüsçh et al., 2007; Seidman et al., 1994). En plus du dlPFC, Rüsçh et collègues ont montré que l'altération des fonctions exécutives chez des individus souffrant de schizophrénie était corrélée à une perturbation du cortex cingulaire antérieur, du gyrus parahippocampique, du thalamus, du cervelet et du pont (Rüsçh et al., 2007). Des études ont également montré une association entre des déficits de la mémoire de travail de patients schizophrènes et des altérations de l'activité du vlPFC (Jansma et al., 2004; Mendrek et al., 2005; Rubinstein et al., 2023). Globalement, un grand nombre d'étude a pu montrer une diminution de l'activité du dlPFC, du cortex cingulaire antérieur (ACC) et du noyau médiodorsal du thalamus, en lien avec une altération des performances dans des tâches évaluant les fonctions exécutives (Bonilha et al., 2008; Minzenberg et al., 2009). En parallèle, une augmentation d'activité dans d'autres structures a pu être constatée telles que le PFC ventrolatéral (vlPFC), certaines sous-régions du cortex temporal et pariétal, l'insula et l'amygdale. Ces structures pourraient agir de manière à compenser les déficits des structures en hypoactivité, de manière à optimiser la réponse comportementale (Minzenberg et al., 2009).

Il a également été montré que les individus souffrant de cette pathologie manifestaient des altérations dans plusieurs mécanismes d'apprentissage par renforcement, dans le comportement exploratoire ou la vitesse d'apprentissage (Hernaus et al., 2018; Strauss et al., 2011). Dans des tâche de *Reversal Learning*, ces patients présentaient notamment une diminution de l'adaptation face à une inversion de contingence par rapport aux sujets contrôles (Leeson et al., 2009; Weiler et al., 2009), pouvant se traduisant par un nombre plus faible d'inversions (Culbreth et al., 2016; Waltz & Gold, 2007). Ces patients présentaient également une diminution du comportement adapté *win-stay/lose-shift*, associé à une diminution du signal BOLD (fMRI) dans l'ACC, le dlPFC et le vmPFC (Culbreth et al., 2016). Des perturbations de la phase d'apprentissage ont pu être observées chez ces patients, cependant les déficits de performance dans une

tâche de *reversal learning* sont également présents dans les sous-groupes ayant réussi l'acquisition (Weiler et al., 2009). Les déficits de performances dans ce type de tâche ont également pu être corrélés à une altération de la RPE, associée à une perturbation de l'activité du striatum ventral (Schlagenhauf et al., 2014). De manière plus générale, ces altérations traduiraient une perturbation de la représentation de la valeur (J. M. Gold et al., 2008).

Par ailleurs, la schizophrénie est associée à un déficit de connectivité de l'OFC (X. Chen et al., 2017) et à une diminution générale de l'influx sanguin dans les mPFC et lPFC (Kanahara et al., 2013), et les patients manifestant des symptômes négatifs présentent un influx réduit dans l'OFC (Kanahara et al., 2013) ainsi qu'une connectivité perturbée dans le dlPFC (Brady et al., 2019).

2. Dépression Majeure

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estime que la dépression affecte 5% des adultes au niveau mondial, soit 280 millions de personnes en 2019 (World Health Organization, 2022a). Les individus souffrant de dépression présentent une variété de symptômes émotionnels, motivationnels, cognitifs et comportementaux. Plusieurs symptômes décrits par le DSM-V peuvent être présents tels qu'une humeur dépressive, une baisse de l'intérêt pour des activités, un gain ou une perte de poids, une insomnie ou hypersomnie, de la fatigue, une réduction de la concentration, des pensées de mort ou de suicide (American Psychiatric Association, 2022b).

La dépression est associée à une augmentation de la connectivité de l'OFC médian et antérieur, révélée par des analyses d'imagerie fonctionnelle, en comparaison de sujets sains (X. Chen et al., 2017). Par ailleurs, les données d'imagerie suggèrent des patterns d'activités opposés entre le vmPFC et le dlPFC. En effet, le vmPFC est hyperactivé au repos chez des patients dépressifs, et cette activité diminue chez des patients en rémission, tandis qu'on constate une hypoactivation du dlPFC au repos et une augmentation de son activité chez les patients en rémission. Ces données suggèrent la présence d'un déséquilibre dans la balance des activités de ces deux structures, qui contribuerait à la mise en place des symptômes de la dépression (Koenigs & Grafman, 2009).

Un grand nombre d'étude a pu mettre en évidence que des troubles des fonctions exécutives, de la cognition et de l'attention sont associés à la dépression majeure (Knight & Baune, 2018; Paelecke-Habermann et al., 2005; Rock et al., 2014; Siqueira et al., 2022). Dans une tâche de *reversal learning*, les patients souffrant de dépression majeure avaient des temps de réaction plus longs que les sujets contrôles, associés à une augmentation de l'activité de l'insula antérieure à la suite d'une mauvaise réponse (punition) et du putamen après une bonne réponse (récompense) (Remijne et al., 2009). Dans une tâche similaire, les patients présentaient une altération de réponse correcte à la suite d'une inversion de contingence entre deux stimuli, signifiée par la présentation d'une récompense précédemment associée à l'autre stimulus. Cette altération n'était pas présente lorsque l'inversion était signifiée par la présentation d'une punition. Par ailleurs, les données d'imagerie montrent une activité réduite du striatum antéroventral à la présentation d'une récompense inattendue (O. J. Robinson et al., 2012).

3. Trouble Bipolaire

La bipolarité est un trouble psychiatrique caractérisé par l'occurrence de phases de manie pour les troubles de type I et par l'alternance avec des phases d'hypomanie et dépressives pour les troubles de type II, d'après le DSM-V (American Psychiatric Association, 2022a). Cette pathologie touche 40 millions de personnes à travers le monde d'après l'OMS (World Health Organization, 2022a). Les phases de manie regroupent un ensemble de symptômes parmi lesquels : des périodes d'euphorie, au cours desquelles l'individu a un

sentiment de grandeur et une haute estime de lui, il ressent moins le besoin de dormir, est à la fois plus loquace, distrait et en même temps augmente les activités dirigées vers un but et son engagement dans des activités aux conséquences pouvant être négatives. Les phases de dépression se caractérisent par divers symptômes décrits précédemment (Vieta et al., 2018).

Les individus souffrant de trouble bipolaire (BD) présentent également des symptômes cognitifs tels qu'une réduction du temps de réaction, des altérations de la mémoire et des fonctions exécutives (Cotrena et al., 2016; Cullen et al., 2016; M. F. Green, 2006; Vieta et al., 2018). Dans des tâches de *reversal learning*, les individus bipolaires performant moins bien que les sujets contrôles au moment du reversal, en association à une activité augmentée des structures fronto-pariétales (Dickstein et al., 2010; Wegbreit et al., 2016).

Des données montrent une activité anormalement élevée dans le striatum ventral au moment de l'anticipation et de la consommation d'une récompense chez des sujets bipolaires en phase de dépression, et au moment des stimuli prédisant la récompense chez des individus bipolaires en état d'euthymie (humeur stable, ni en phase de manie, ni en phase de dépression) (Caseras et al., 2013; Mason et al., 2014; Whitton et al., 2015). Une augmentation de l'activité du vPFC est également présente lors de l'anticipation de la récompense chez les patients bipolaires, en comparaison aux sujets contrôles, et à des sujets souffrant de dépression majeure (Chase et al., 2013).

4. Troubles d'utilisation de substance

Des études épidémiologiques conduites aux Etats-Unis estiment que 8% de la population est affectée par un trouble de l'usage de l'alcool (AUD), et 2 à 3% par l'usage de substances illicites (*Substance Use Disorder*, SUD) (Merikangas & McClair, 2012). Il existe une grande variété de drogues d'abus, et bien que leurs mécanismes d'action puissent différer, elles ont en commun d'activer le système de récompense et peuvent entraîner une perte de contrôle chez le consommateur menant à l'addiction (Nestler, 2005). Le DSM-V établit une liste de symptômes permettant de diagnostiquer ce trouble parmi lesquels figurent le besoin impérieux de consommer la substance (*drug craving*), la volonté d'arrêter mais sans y parvenir, ne pas parvenir à effectuer des tâches quotidiennes ou activités sociales voire arrêter de les faire à cause de l'usage, continuer l'usage malgré des conséquences négatives, un besoin d'une quantité de plus en plus importante pour atteindre le même effet (phénomène de tolérance), ou bien développer des symptômes dus au manque qui sont diminués par l'usage. La sévérité est diagnostiquée selon le nombre de symptômes présents chez un individu. Par ailleurs, l'usage de substances peut mener à l'apparition d'un large spectre de troubles psychiatriques, allant des troubles du sommeil, de l'anxiété, à des délires voire troubles psychotiques (American Psychiatric Association, 2022c).

L'usage à long terme de psychostimulants tels que la cocaïne ou la consommation d'alcool est associé à des déficits de fonctions exécutives et cognitives. C'est notamment le cas de l'inhibition de comportements appris, notamment dans le cas d'un réapprentissage ou changement de contingence entre un stimulus et une réponse. Fillmore & Rush ont notamment montré un déficit dans l'expression d'une réponse adaptée dans une tâche de *reversal learning* chez des sujets polyconsommateurs (Fillmore & Rush, 2006). Ce type de tâche est classiquement altéré chez les sujets addicts, en association avec une dérégulation du circuit frontocortico-striatal (Izquierdo & Jentsch, 2012; Moreno-López et al., 2015). Les effets de l'addiction sur la dévaluation de la récompense sont moins clairs. Des consommateurs de substances performant moins bien que des sujets contrôles dans une tâche de dévaluation de la récompense, suggérant une difficulté à s'adapter en se désengageant d'une réponse apprise (Byrne et al., 2019). Au contraire, d'autres études montrent que ce processus est intact chez des sujets addicts (Hogarth et al., 2019; van Timmeren et al., 2020). Lors de la formation d'une préférence, ces individus présentent une plus faible sensibilité au risque et une plus forte sensibilité à la récompense. Lors de la mise en œuvre d'un choix, ils présentent une

diminution de la motivation, de l'autorégulation (capacité à refréner et surpasser ses pulsions, notamment évaluée par du *delay-discounting*) et de l'inhibition cognitive (d'autres actions possibles). Enfin, durant la phase de mise à jour de ces processus et de rétrocontrôle (*feedback processing*), ils présentent une plus grande persévération et un apprentissage à partir des récompenses plus important par focus de leur attention sur les gains plutôt que sur les pertes (Verdejo-Garcia et al., 2018).

5. Troubles obsessionnels compulsifs

Les troubles obsessionnels compulsifs (*Obsessive compulsive Disorder* – OCD) sont une pathologie psychiatrique de longue durée affectant 2 à 3% de la population (Benzina et al., 2016). Les sujets affectés par des OCD ont des pensées et/ou comportements récurrentes et incontrôlables (« obsessions » & « compulsions »), nuisant à la qualité de vie au quotidien. Les patients présentant un OCD performaient moins bien que des sujets contrôles dans une tâche de *reversal learning*, en association avec une réduction d'activité du circuit OFC-striatal et du dlPFC (Remijnse et al., 2006). Dans une tâche similaire, les sujets OCD présentaient des temps de réaction supérieurs à ceux des individus contrôles, et en plus d'une réduction de l'activité du circuit OFC-striatal au moment de la récompense, ces patients présentaient également une perturbation de l'activité dans l'OFC et l'insula antérieure au moment d'un changement de réponse guidé par la conséquence négative (punition) ou *affective switching* (Remijnse et al., 2009).

~

Nous avons donc établi ce que recouvrait la notion de récompense, et détaillé les paramètres permettant à un individu de prendre une décision, nous permettant ainsi d'aborder la notion de flexibilité comportementale et d'en proposer une définition. Ces processus d'adaptation du comportement sont altérés dans de nombreuses pathologies psychiatriques, et les données d'imagerie chez le sujet sain et en condition pathologique ont permis de mettre en évidence l'implication des structures corticales et striatales dans la flexibilité comportementale. Pour autant, la compréhension précise du rôle de ces structures - et particulièrement des sous-régions qui les composent -, des populations neuronales impliquées et des mécanismes moléculaires sous-jacents n'est pas totale. Nous allons à présent nous intéresser aux manipulations chez l'animal et plus particulièrement chez le rongeur, permettant d'établir des liens de cause à effet entre structure et fonction comportementale.

II. Implication du cortex préfrontal et du striatum dans la flexibilité comportementale dans un contexte d'actions dirigées vers un but: données expérimentales chez le rongeur

A. Paradigmes comportementaux permettant l'évaluation de la flexibilité au cours d'actions dirigées vers un but

Comme nous l'avons vu, la composante flexible de la prise de décision nécessite que les individus se figurent les conséquences de leurs actions, tant du point de vue de la représentation de la valeur d'une récompense que du lien causal existant entre des actions et des conséquences. Nous allons donc nous intéresser à certains tests comportementaux permettant entre autre chez le rongeur, d'évaluer la flexibilité comportementale des individus lors de comportements dirigés vers un but. Ces procédures sont synthétisées dans la **Figure 3**.

1. Adaptation à un changement de valeur de la récompense

L'une des tâches classiquement utilisée pour évaluer l'adaptation d'un animal à une modification de la valeur d'une récompense est la **dévaluation de la récompense** (*Outcome Devaluation*), comme succinctement présentée précédemment, et qui consiste à diminuer la valeur d'une récompense pour l'animal, puis à évaluer l'adaptation de sa réponse.

La dévaluation de la récompense peut être induite de deux manières : par association avec une condition aversive pour l'animal ou bien par satiété sensorielle générale ou spécifique. Un protocole classique consiste à entraîner les animaux à réaliser une action A1 (Ex : appuis sur un levier/nosepoke) pour obtenir une récompense O1 et une action A2 pour obtenir une récompense O2. Dans le cas d'une dévaluation par conditionnement aversif, la consommation d'une des récompenses en fin d'entraînement est associée à une ou des injections injection(s) intrapéritonéale(s) (I.P.) de chlorure de lithium (LiCl), induisant un malaise gastrique chez l'animal. Dans le cas d'une dévaluation par satiété sensorielle spécifique, l'une des deux récompenses O1 ou O2 est donnée *ad libitum*, de façon à diminuer sa valeur pour l'animal. Les animaux sont ensuite placés dans la cage opérante en situation de choix entre les deux actions A1 et A2. Le test est le plus souvent mené en extinction, aucune récompense n'étant distribuée à la suite de A1 ou A2. La réponse physiologique attendue est que l'animal diminue le nombre d'actions réalisées pour obtenir la récompense dévaluée, et en contrepartie, augmente celles pour obtenir la récompense ayant toujours de la valeur (non dévaluée). Les récompenses dévaluées sont généralement randomisées entre les groupes expérimentaux et la tâche peut être répétée pour contrebalancer la récompense dévaluée pour chaque animal. En fin de test d'extinction, un test de consommation « contrôle » peut être réalisé, où les deux récompenses sont successivement disponibles, pour s'assurer que les animaux consomment moins de la récompense dévaluée lorsqu'elle est directement présentée (Balleine & Dickinson, 1998; Colwill & Rescorla, 1985; Paredes-Olay & López, 2002; Schreiner et al., 2020).

La satiété sensorielle spécifique nécessite qu'un animal soit sensible à sa faim ou à son état motivationnel pour une récompense particulière, et qu'il puisse mobiliser et utiliser cette réduction de la faim pour mettre à jour la valeur de l'action menant à l'obtention de cette récompense spécifique. L'animal est à satiété pour cette récompense particulière et cesse de la consommer, mais n'a pas atteint sa satiété « absolue » et est toujours en mesure de consommer une autre nourriture présente (Hendriks et al., 2021; Mook et al., 1983; B. J. Rolls, 1986; B. J. Rolls et al., 1981; Treit et al., 1983). Des données contradictoires existent autour du fait qu'un entraînement prolongé diminuerait la sensibilité à la dévaluation de la récompense en conduisant à une réponse habituelle plutôt qu'à une action dirigée (Adams, 1982; de Wit et al., 2013; Garr & Delamater,

2019; Keefer et al., 2020). Ce test permet d'évaluer si l'animal se représente les conséquences de ses actions en situation de choix, à la suite d'un changement de valeur de la récompense.

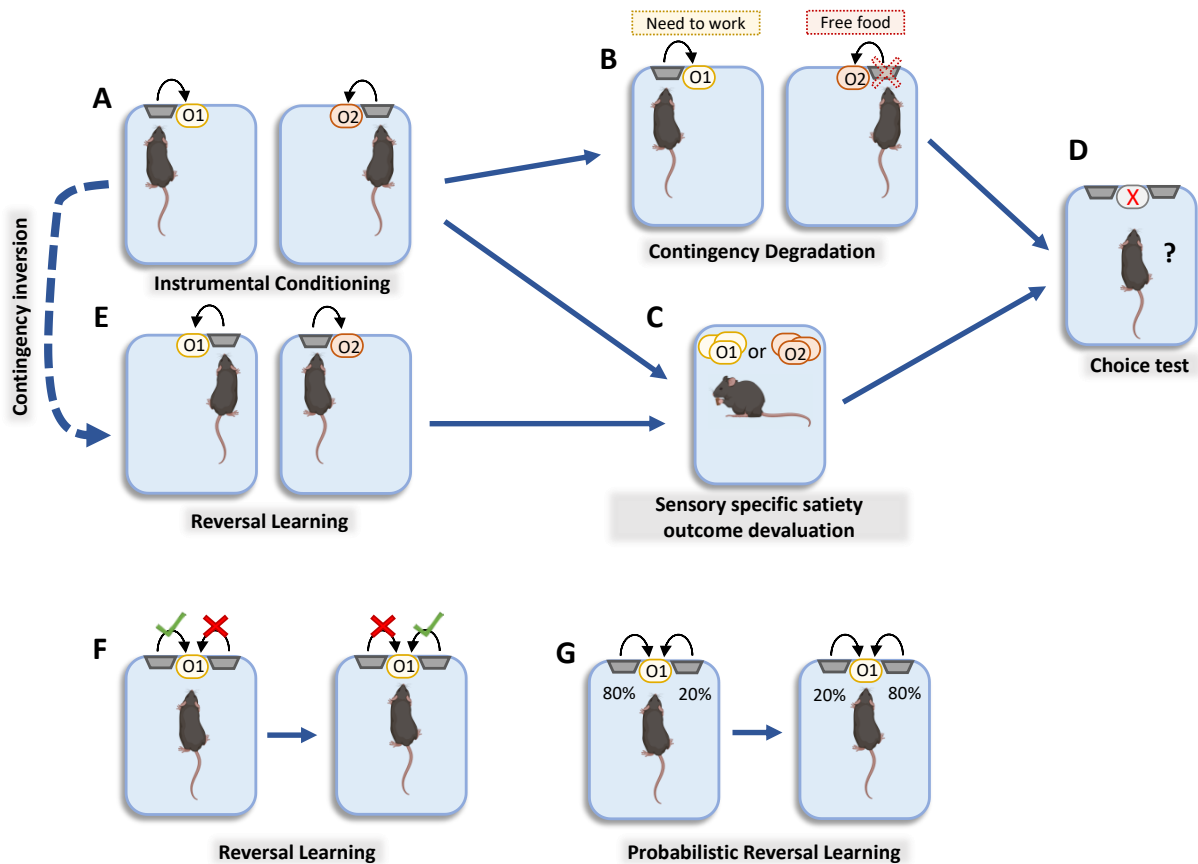


Figure 3 : Schéma des principaux tests comportementaux utilisés pour évaluer différents aspects de la flexibilité comportementale

A : Conditionnement instrumental Action 1 → Récompense 1 (A1 – O1) et A2 – O2. B : Procédure de dégradation de contingence, A1 reste contingente de O1, A2 n'est plus contingente de O2. C : Procédure de dévaluation de la récompense par satiété sensorielle spécifique. D : Test de choix en extinction. E : Inversion des contingences et entraînement aux nouvelles associations. F : Procédure de *reversal learning* avec issue certaine de l'action renforcée et non renforcée. G : Procédure de *reversal learning* avec issue probabiliste de l'action 1 (80% de chance) et de l'action 2 (20% de chance).

2. Adaptation à un changement de l'association entre action et conséquence

D'autres procédures consistent à altérer l'association entre l'action et la récompense, notamment par dégradation, absence ou inversion de contingence.

i. Dégradation de contingence

La contingence entre l'action et la récompense peut être dégradée lorsqu'une récompense est distribuée avec une certaine probabilité sans que l'animal n'ait réalisé d'action, tout en conservant une probabilité de recevoir la récompense après une action. Ce processus peut même être poussé jusqu'à l'absence totale de lien entre la réalisation d'une action ou non et la distribution d'une récompense. Une réponse physiologique attendue de la part de l'animal soumis à ce procédé, est de diminuer son niveau de réponse (Balleine & Dickinson, 1998; Schreiner et al., 2020). Ce protocole peut être mis en œuvre en entraînant initialement les animaux à associer A1-O1 et A2-O2, par exemple avec deux leviers menant à deux récompenses distinctes. Lors de la phase de dégradation, l'une des deux associations est dégradée, partiellement ou totalement,

tandis que l'autre est conservée. Enfin lors du test, les deux actions sont disponibles mais ne conduisent pas à l'obtention de récompense (test en extinction). La réponse physiologique attendue est que l'animal diminue son niveau d'appuis sur le levier « dégradé » en comparaison à ses performances pendant l'entraînement lors de la phase de dégradation et qu'il appuie plus sur le levier « non-dégradé » en comparaison au levier « dégradé » lors de la dégradation et lors du test.

ii. Inversion de contingence

Les associations entre action et conséquence peuvent également être inversées comme nous avons pu le voir dans la partie I. C'est notamment le cas dans des tâches d'apprentissage inversé ou **Reversal Learning** (RL) qui peuvent être réalisées par conditionnement instrumental ou bien spatial (ex : labyrinthe en T) (Grospe et al., 2018), mais ces dernières ne feront pas l'objet ici d'un approfondissement plus détaillé. Nous allons donc nous intéresser aux procédures de *reversal learning* mises en place au travers de protocoles instrumentaux.

Dans ce type de protocole, les animaux sont entraînés à discriminer deux stimuli ou deux actions dont l'un est toujours renforcé et l'autre non. Des protocoles de *reversal learning* probabilistes peuvent également être utilisés pour déterminer si une perturbation de la capacité d'inversion est généralisable à la flexibilité de manière générale ou est plus particulièrement due à une altération de la capacité à adapter le comportement en réponse à un feedback probabiliste, constituant un facteur d'incertitude (Dalton et al., 2014, 2016). Lorsqu'ils atteignent un critère de performance témoignant de leur apprentissage, les conséquences des deux actions sont inversées et les animaux à nouveau entraînés jusqu'à ce qu'ils atteignent le critère de performance. La durée de ce nouvel apprentissage, mesurée en nombre d'essais ou de sessions, ainsi que le nombre d'inversions réussies sur une période donnée sont ainsi des indicateurs de la flexibilité comportementale des animaux. De la même manière que pour la dévaluation de la récompense, une cage opérante équipée de leviers, *nosepokes* ou écrans tactiles peut être utilisée pour mettre en œuvre ce protocole (Izquierdo et al., 2017). Lors de protocoles impliquant des inversions en séries, celles-ci peuvent avoir lieu entre les sessions ou au sein d'une même session entre les essais.

Ces protocoles permettent également l'analyse des stratégies mises en place après une réponse correcte ou incorrecte (essai récompensé ou non, respectivement) pour les essais suivants. Lorsque le sujet effectue un essai récompensé, on peut s'attendre à ce qu'il réalise la même action à l'essai suivant, jusqu'à ce que l'essai ne soit plus récompensé, entraînant un changement de sa réponse vers l'autre action disponible pour l'essai d'après. On parle classiquement de modèle *Win-Stay / Lose-Shift*, caractéristique de la capacité à adapter le comportement, ou au contraire de *Win-Shift / Lose-Stay* lorsque la capacité d'adaptation est perturbée. Ces indicateurs permettent une analyse plus approfondie de la flexibilité comportementale dans ce type de tâche (Dalton et al., 2014, 2016).

Une procédure de *Reversal Learning* peut également être mise en place dans le cadre d'une dévaluation de la récompense. Dans un protocole similaire à celui détaillé précédemment pour la dévaluation de la récompense induite par satiété sensorielle-spécifique, à la suite de l'entraînement initial et du test de dévaluation, les contingences A1-O1 / A2-O2 sont inversées et les animaux sont entraînés avec cette nouvelle contingence pendant un nombre de session fixe, avant d'être soumis à une nouvelle procédure de dévaluation (Mor et al., 2022; Parkes et al., 2018). Ce test permet d'évaluer la capacité des animaux à mettre à jour les associations entre action et récompense, lors d'un test impliquant une altération de la valeur d'une récompense.

B. Le cortex préfrontal et la flexibilité comportementale

Nous allons à présent nous pencher sur les structures impliquées dans la mise en œuvre de ces comportements.

1. Définitions

Le cortex préfrontal est une structure centrale du processus de prise de décisions, et plus particulièrement dans la flexibilité comportementale (Friedman & Robbins, 2022).

Le cortex préfrontal est une région dont la définition structurelle n'a cessé d'évoluer depuis que des recherches y sont consacrées. Sa composition diffère selon les espèces (ex : rongeur et primate), et continue à faire débat au sein d'une même espèce (Le Merre et al., 2021). Le choix des méthodes de délimitation des sous-divisions qui le composent est notamment un enjeu central, et des différences de définition peuvent émerger entre les approches de cytoarchitecture et celles fondées sur la connectivité. Des études récentes chez la souris convergent ainsi vers une distinction de trois sous-divisions de par leur connectivité : le PFC ventrolatéral (vlPFC) comprenant le cortex orbital ventrolatéral (VLO) et latéral (LO), le PFC ventromédian (vmPFC) constitué des cortex prélimbique (PL), infralimbique (IL) et orbital médian (MO), et le PFC dorsomédian (dmPFC) composé de l'aire motrice secondaire (MOs) et du cortex cingulaire antérieur (ACC) (Heidbreder & Groenewegen, 2003; Le Merre et al., 2021) résumée en **Figure 5 B-C**. Un grand nombre d'articles mentionne le mPFC et l'OFC de manière générale, et parfois plus spécifique, dans l'étude du comportement, de l'organisation structurelle ou des connexions avec d'autres structures, comme nous pouvons le voir sur la **Figure 4**. Ainsi, nous allons conserver cette nomenclature et dissocier ces deux grandes divisions du PFC, que sont le mPFC et l'OFC, en précisant – lorsque les informations seront disponibles – les sous régions (Ex : PL, IL, MO, VLO, etc) concernées, de façon à pouvoir comparer les résultats aux données de la littérature.

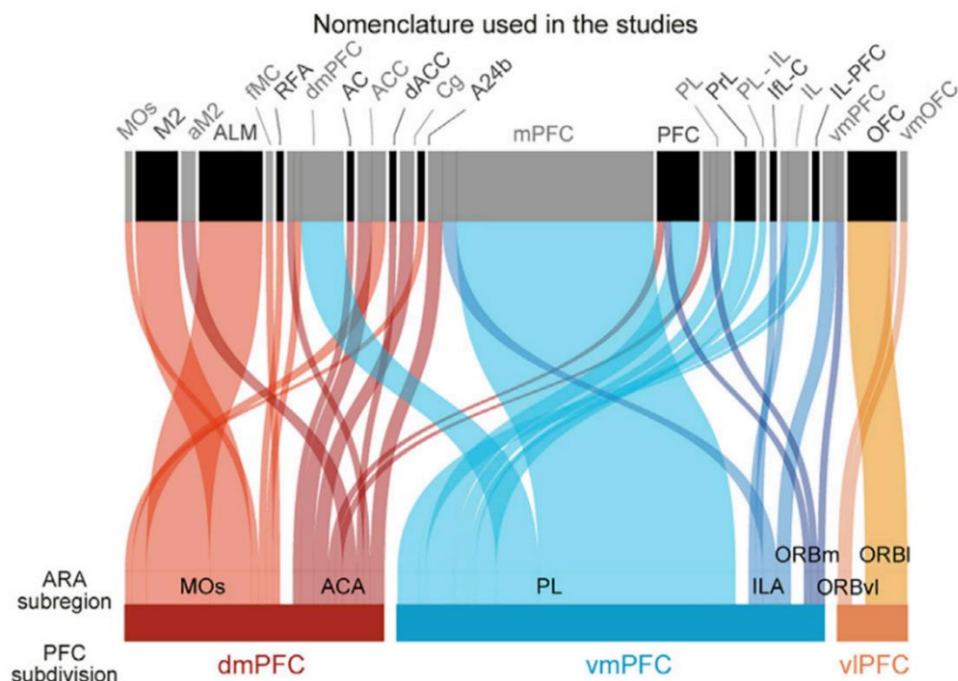


Figure 4 : Différentes nomenclatures utilisées dans la littérature pour décrire les sous-divisions du PFC, et correspondance avec la nouvelle nomenclature

dmPFC : cortex préfrontal dorsomédian ; vmPFC : cortex préfrontal ventromédian ; vlPFC : cortex préfrontal ventrolatéral ; MOs : aire motrice secondaire ; ACA : aire cingulaire antérieure ; PL : aire prélimbique ; ILA : aire infralimbique ; ORBm : aire orbitale médiane ; ORBl : aire orbitale ventrolatérale ; ORBl : aire orbitale latérale. (Le Merre et al., 2021)

2. Structure et organisation du cortex préfrontal médian

Le cortex préfrontal médian (mPFC) intègre les informations en provenance de nombreuses structures et transmet une information traitée et mise à jour vers les structures de sorties, au travers de connexions corticales et sous-corticales. Il joue un rôle central dans de nombreuses fonctions cérébrales telles que les processus cognitifs, la régulation des émotions, la motivation ou encore la sociabilité. Des altérations de son fonctionnement menant à des perturbations de ces processus sont impliquées dans l'étiologie de plusieurs pathologies neurologiques et psychiatriques telles que la dépression, les troubles de l'anxiété, la schizophrénie, les troubles du spectre de l'Autisme, la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson ou encore l'addiction (Xu et al., 2019).

Chez les rongeurs, le mPFC combine des éléments correspondants au cortex cingulaire antérieur (ACC) et au PFC dorsolatéral (dlPFC) du primate, d'après des études d'anatomie, d'électrophysiologie et computationnelles (Seamans et al., 2008). Il est composé de quatre sous-régions distinctes d'un point de vue cytoarchitectural mais pas forcément d'un point de vue des marqueurs moléculaires : l'aire frontale 2 (*Frontal area 2, Fr2*), ou aire motrice secondaire (MOs), l'ACC, le cortex prélimbique (PL) et le cortex infralimbique (IL) (Klune et al., 2021; Le Merre et al., 2021; Ortiz et al., 2020; Riga et al., 2014; Van De Werd et al., 2010; Xu et al., 2019). Comme nous l'avons vu, de nouvelles nomenclatures ont émergé pour caractériser les sous-région du PFC (ex : dmPFC, vlPFC, vmPFC) et également celles du mPFC directement : certaines définitions regroupent l'ACC et la partie dorsale du PL sous le terme mPFC dorsal (dmPFC), et la partie ventrale du PL, l'IL et le cortex pédonculaire dorsal (DPC) sous le terme de mPFC ventral (vmPFC) (Xu et al., 2019). Cependant, de la même manière que pour la distinction mPFC/OFC, nous allons conserver la nomenclature « classique » correspondant au découpage du mPFC en ACC, PL et IL (**Figure 5A**) dans le but d'intégrer nos données à celles des études passées.

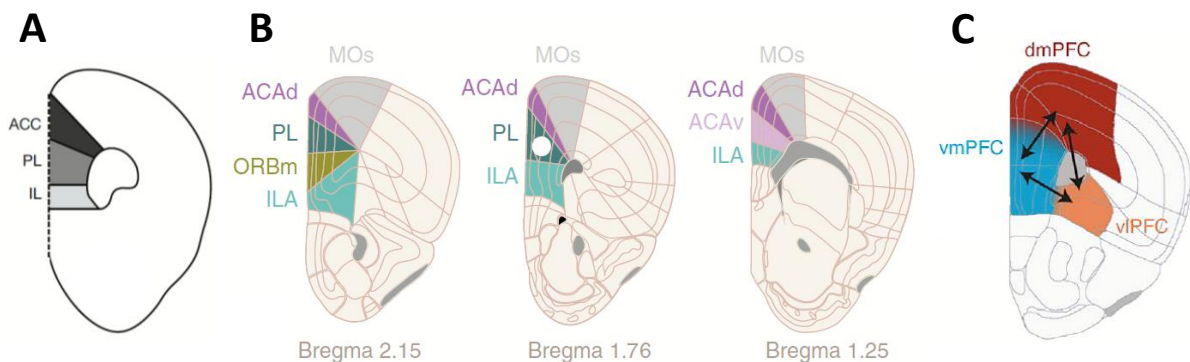


Figure 5 : Organisation structurelle du mPFC et correspondance avec la nouvelle nomenclature du PFC chez la souris
A : nomenclature conservée lors de cette étude, correspondant à l'atlas de Paxinos & Franklin 2004 ; **B** : nomenclature de l'Allen Reference Atlas, sur trois niveau de coupes coronales, distance depuis le Bregma en mm ; **C** : nouvelle nomenclature proposée par Le Merre. ACC : cortex cingulaire antérieur ; ACAd : aire cingulaire antérieure dorsale ; ACAv : aire cingulaire antérieure ventrale ; IL/ILA : aire infralimbique ; MOs : aire motrice secondaire ; ORBm : aire orbitale médiane ; PL : aire prélimbique ; dmPFC : cortex préfrontal dorsomédian ; vlPFC : cortex préfrontal ventrolatéral ; vmPFC : cortex préfrontal ventromédian. (Ährlund-Richter et al., 2019; Anastasiades & Carter, 2021; Le Merre et al., 2021)

Le mPFC s'organise en couches laminaires, la couche I étant la plus superficielle et les couches II/III et V/VI contenant des neurones pyramidaux dont les dendrites apicales se situent dans la couche I, recevant des contacts de nombreuses structures. Le mPFC est agranulaire, il ne possède pas de couche IV à proprement parler comme c'est notamment le cas pour le cortex sensoriel (Anastasiades & Carter, 2021). Au sein des

sous-régions évoquées précédemment, des disparités d'organisation de ces couches existent. A titre d'exemple, la couche V du PL est mieux organisée que celle de l'ACC, tandis que ses couches II et III semblent plus développées que celles des sous-régions avoisinantes, indiquant un traitement de l'information distinct entre ces sous-régions du mPFC (Van De Werd et al., 2010; Xu et al., 2019).

D'un point de vue cellulaire, le mPFC est en moyenne composé de 82% de neurones pyramidaux (PyrN) glutamatergiques excitateurs, de 17% d'interneurones (IN) locaux GABAergiques inhibiteurs et de 1% de neurones neuromodulateurs (dopaminergiques, sérotoninergiques, cholinergiques) (Erö et al., 2018; Le Merre et al., 2021). Les neurones pyramidaux se situent principalement dans les couches II à VI, présentent des différences de propriétés entre les couches (ex : taille du corps cellulaire, morphologie dendritique, propriétés de transmission neuronale) et projettent généralement en extracortical. Au sein d'une sous-division, des différences de projection existent entre les couches. On peut par exemple citer les neurones pyramidaux de la couche VI qui projettent principalement sur le thalamus médiodorsal et plus faiblement sur le striatum dorsal ou ventral, ou encore sur l'hypothalamus latéral (Gabbott et al., 2005).

Les interneurones jouent un rôle majeur dans l'orchestration des dynamiques du réseau cortical. Ils peuvent être classifiés en plusieurs sous-populations d'après leur propriétés morphologiques, l'expression de marqueurs moléculaire (Protéines liant le calcium ou neuropeptides) et leurs caractéristiques fonctionnelles, exprimées en différentes proportions dans les couches I à VI (H. Hu et al., 2014; Rudy et al., 2011; Tremblay et al., 2016). On distingue trois grandes catégories d'interneurones, notamment définies par le non recoupement de l'expression de leur marqueur et couvrant la quasi-totalité des interneurones corticaux (Rudy et al., 2011; Tremblay et al., 2016). Les interneurones parvalbumine (PV+) sont des neurones à décharge rapide (FSI) projetant sur la partie périsomatique des neurones, représentant 40% de la population des interneurones et participant à la régulation de l'activité des projections glutamatergiques (par la régulation du rythme de l'initiation des potentiels d'action des neurones pyramidaux) et à l'émergence des oscillations thêta et gamma (H. Hu et al., 2014; Le Merre et al., 2021; Rudy et al., 2011; Yavorska & Wehr, 2016). Les interneurones exprimant la somatostatine (SST+ ou SOM+) ciblent la région dendritique des neurones et représentent 30% des interneurones du cortex. Ils modulent les inputs reçus par les neurones pyramidaux. Les interneurones exprimant le récepteur de la sérotonine 5HT3a regroupent globalement les 30% restant et comprennent notamment les interneurones exprimant le polypeptide intestinal vasoactif (VIP+) ou encore certains interneurones exprimant la cholécystokinine (CCK+) (S. Lee et al., 2010; Rudy et al., 2011). Contrairement aux PV+ et SOM+ qui inhibent principalement les neurones pyramidaux, les VIP+ inhibent d'autres interneurones. Dans le PL, les PV+ et SOM+ sont distribués sur les couches II à VI tandis que les 5HT3a+ et VIP+ sont distribués sur les couches superficielles (Anastasiades et al., 2019). Les trois classes principales d'interneurones ne sont pas homogènes et peuvent être détaillées en sous-classes et les expressions de certains marqueurs se recoupent entre différents sous-types d'interneurones, complexifiant leur classification, comme c'est notamment le cas pour les interneurones CCK, à la fois exprimés par certains interneurones SOM (10-40% en fonction des couches) et par certains interneurones 5HT3aR (30-90% en fonction des couches) (S. Lee et al., 2010; Rudy et al., 2011; Yavorska & Wehr, 2016). En comparaison à d'autres régions corticales, le mPFC a une densité plus élevée d'interneurones SOM+ et moins élevée de PV+, ce qui pourrait être le reflet de fonctions spécifiques à cette structure (Y. Kim et al., 2017; Le Merre et al., 2021). Certaines caractéristiques des interneurones corticaux sont résumées en **Figure 6**.

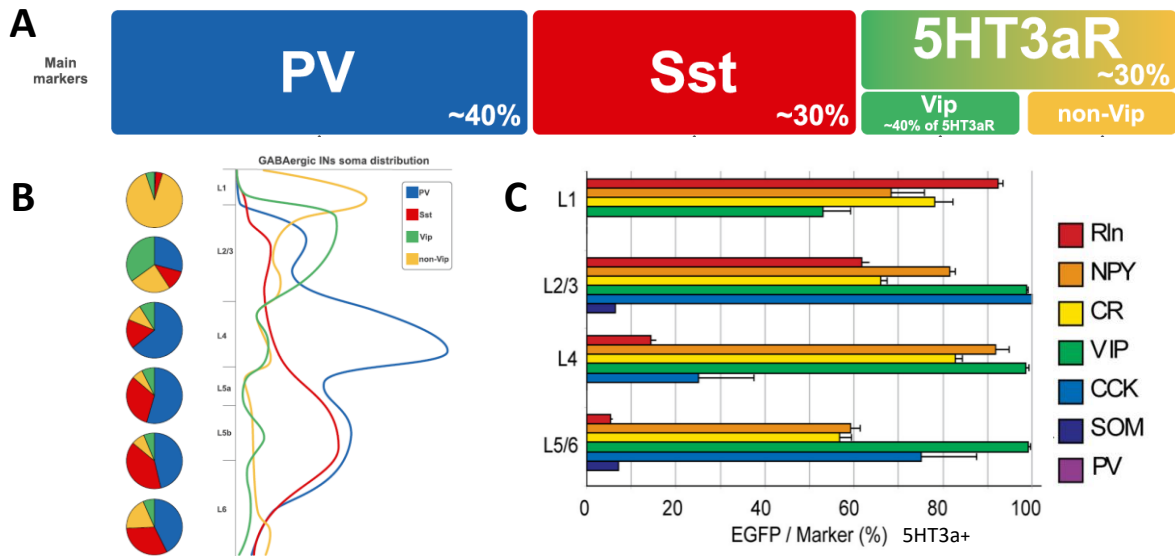


Figure 6 : Organisation des interneurons du cortex préfrontal

A. Classification des interneurons GABAergiques du néocortex selon les principaux marqueurs exprimés. B. Distribution des différentes classes d'interneurons par couches C. Proportion d'interneurons corticaux exprimant le récepteur 5HT3a (EGFP) positifs à divers marqueurs neuronaux par couche. Rln, Reeline ; NPY, neuropeptide Y ; CR, calrétrine ; VIP, peptide intestinal vasoactif ; CCK, cholecystokinine ; SOM/Sst, somatostatine ; PV, parvalbumine ; 5HT3aR : récepteur de la sérotonine de type 3a. (S. Lee et al., 2010; Tremblay et al., 2016)

Les interneurons peuvent agir de plusieurs manières sur le circuit local selon l'organisation de ce circuit. Lorsqu'un IN est excité par une projection extérieure au réseau local et qu'il inhibe alors le PyrN qu'il contacte on parle d'inhibition antérograde ou *Feedforward Inhibition* (FFI). Lorsqu'un IN est activé par un PyrN qu'il inhibe à son tour, ou un PyrN avoisinant, on parle d'inhibition par rétrocontrôle récurrent ou latéral (respectivement). Enfin, lorsqu'un IN inhibe un autre IN, le premier empêchant le second d'inhiber le PyrN sur lequel il projette, on parle de désinhibition (Tremblay et al., 2016) (**Figure 7**).

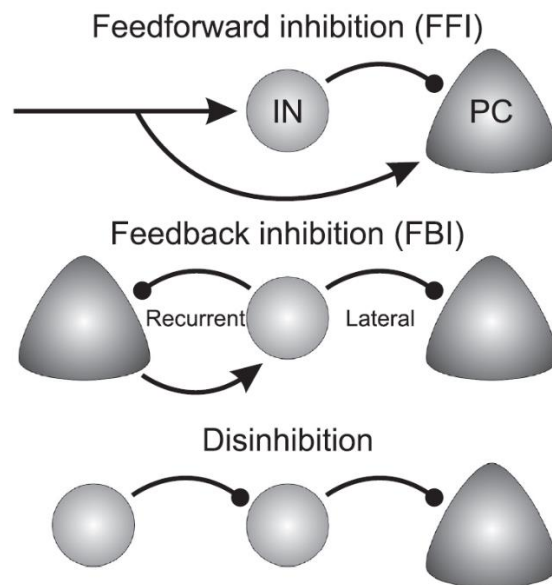


Figure 7 : Organisation des circuits corticaux impliquant des interneurons

Mécanismes d'inhibition antérograde (FFI) ; inhibition par rétrocontrôle (FBI) ; désinhibition. IN : Interneurone ; PC : neurone pyramidal (Tremblay et al., 2016)

Connectivité du mPFC

Les neurones pyramidaux du mPFC reçoivent des projections de nombreuses structures telles que le thalamus, le claustrum, l'amygdale basolatérale (BLA), l'hippocampe ventral, le raphé dorsal, l'aire tegmentale ventrale (VTA) ou encore des projections intra-corticales (Ährlund-Richter et al., 2019; Hoover & Vertes, 2007). Les projections originaires de régions limbiques et corticales ciblent principalement les couches I et II/III. Parmi ces afférences, les projections thalamocorticales sont essentielles pour médier de nombreuses fonctions telles que la mémoire de travail, l'attention ou certains processus cognitifs, les afférences de la BLA sont importantes pour l'encodage, l'expression et la régulation des états émotionnels et celles en provenance de l'hippocampe fournissent des informations contextuelles et jouent un rôle dans l'encodage de la mémoire et le contrôle émotionnel (Anastasiades & Carter, 2021).

De nombreuses connexions sont réciproques et les fibres efférentes du mPFC projettent principalement sur des régions corticales, sur le thalamus, le claustrum, la VTA, la BLA, mais également sur la PAG et le striatum (Anastasiades & Carter, 2021; Vertes, 2004) comme présenté en **Figure 8**. Les projections glutamatergiques vers le core et le shell du noyau accumbens (NAc) jouent un rôle majeur dans les processus cognitifs, incluant la récompense, l'aversion, la motivation et le renforcement. Par ailleurs, des projections GABAergiques vers le NAc ont pu être mises en évidence, contrastant avec la majorité des neurones GABAergiques qui sont des interneurons locaux (Riga et al., 2014). Les projections du PL vers la BLA permettent la mise en place de processus cognitifs de haut niveau ainsi que des réponses émotionnelles. Cette connectivité réciproque entre le PL et la BLA permettrait une communication bidirectionnelle efficace entre ces deux structures, contribuant à la régulation fine des émotions (Riga et al., 2014). On observe par ailleurs une très grande connectivité cortico-corticale et il existe une spécificité d'afférences et de projections pour chaque subdivision du mPFC (ACC, PL, IL), pouvant également dépendre d'un découpage dorso-ventral (dmPFC, vmPFC) (Heidbreder & Groenewegen, 2003; Hoover & Vertes, 2007). C'est notamment le cas des projections du dmPFC et vmPFC vers le striatum dorsal et ventral qui sont organisées de manière topographique (Heidbreder & Groenewegen, 2003). A titre d'exemple le PL projette de manière monosynaptique vers le PFC contralatéral, le claustrum ipsi- et contralatéral, le striatum ipsi- et contralatéral, le thalamus médiadorsal et ventrodorsal, la BLA et la VTA (Anastasiades et al., 2019). Une étude a confirmé que trois sous-populations distinctes du PL, organisées de façon laminaires, projetaient de manière exclusive vers l'amygdale, le NAc et la VTA (Murugan et al., 2017).

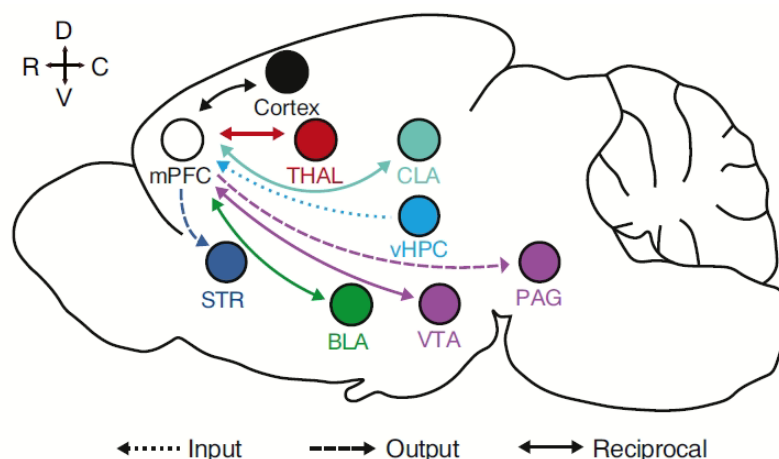


Figure 8 : Connectivité du cortex préfrontal médian (mPFC)

cortex : autres régions corticales ; THAL : thalamus ; CLA : claustrum ; vHPC : hippocampe ventral ; PAG : substance grise périaqueducule ; VTA : aire tegmentale ventrale ; BLA : amygdale basolatérale ; STR : striatum. (Anastasiades & Carter, 2021)

3. Structure et organisation du cortex orbitofrontal

Certaines classifications prennent en compte l'aire orbitale médiane (MO) dans la composition du mPFC (parfois nommé vmPFC comme nous l'avons vu), et les aires orbitofrontales ventrolatérales (VLO) et latérales (LO) dans une autre structure nommée vlPFC ou OFC (Åhrlund-Richter et al., 2019; Heidbreder & Groenewegen, 2003; Le Merre et al., 2021) et il existe une grande divergence de nomenclature ou un manque de précision dans ce qui est dénommé « OFC » (Izquierdo, 2017). Or étant donné qu'une grande partie des travaux réalisés dans le but d'étudier les circuits et les comportements sous-jacents au sein du PFC, dissocient le mPFC et l'OFC de manière générale, nous allons garder cette classification pour le reste de l'étude. Chez le rat, l'OFC est composé de l'aire orbitale médiane (MO), ventrale (VO), ventrolatérale (VLO), latérale (LO), dorsolatérale (DLO) et de l'aire insulaire agranulaire (AI) (Izquierdo, 2017) comme représenté en **Figure 9**. D'un point de vue cellulaire, la composition de l'OFC est comparable à celle du mPFC en terme de proportion PyrN/IN, et en terme de diversité d'interneurones (Erö et al., 2018).

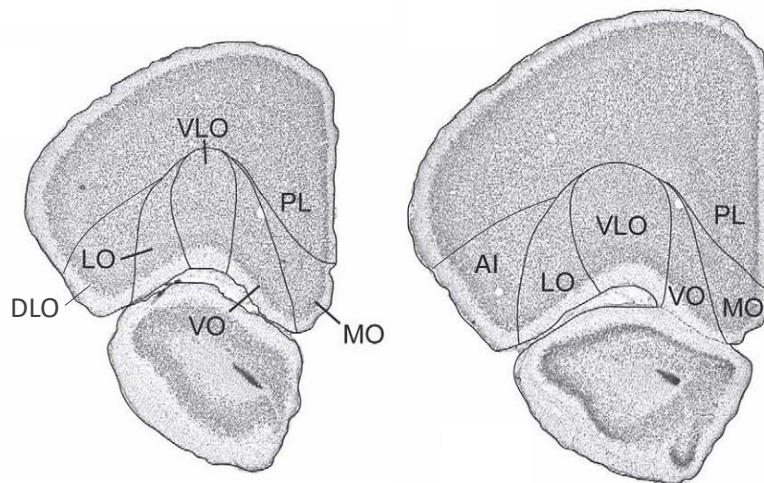


Figure 9 : Organisation des sous-régions du cortex orbitofrontal chez le rat

Coupe antérieure et intermédiaire sur l'axe antéro-postérieur. Cortex orbitofrontal, MO : médian ; VO : ventral ; VLO : ventrolatéral ; DLO : dorsolatéral ; AI : aire insulaire agranulaire ; PL : cortex prélimbique. Adapté de (Hoover & Vertes, 2011)

L'OFC reçoit des afférences intracorticales, et extracorticales du thalamus médiodorsal, de la BLA, de l'hypothalamus latéral ou encore du mésencéphale (M. J. M. Murphy & Deutch, 2018). D'un point de vue antéro-postérieur, une distinction a également pu être mise en évidence entre l'aire LO antérieure et postérieure, notamment en terme d'afférences (Barreiros et al., 2021; Panayi & Killcross, 2018) où les afférences du thalamus semblent y être organisées de manière topographique (Barreiros et al., 2021).

Chez le rat, les aires MO et VO projettent vers les mêmes aires corticales (connexions réciproques VO/MO, ACC, PL, IL), vers le striatum dorsal, le thalamus médiodorsal, l'hypothalamus latéral, l'hippocampe, la substance noire et la VTA. Cependant, leurs projections se distinguent pour d'autres structures. L'aire MO projette vers l'amygdale (basolatérale et centrale) et le noyau accumbens plus que l'aire VO. De manière générale, l'aire MO projette plus vers les structures limbiques que l'aire VO, et ces deux structures projettent peu vers l'aire LO (Hoover & Vertes, 2011).

4. Implication dans la flexibilité comportementale

Depuis plus d'une vingtaine d'années, de nombreuses études se sont attachées à décortiquer le rôle des sous-régions du PFC, et circuits neuronaux sous-jacents dans l'expression de la flexibilité comportementale. Nous allons donc nous intéresser à l'implication de ces sous-régions dans les processus de dévaluation de la récompense, et de changement de contingence (dégradation de contingence et *reversal learning*). Nous nous focaliserons essentiellement sur les recherches impliquant en premier lieu des associations instrumentales A-O, plutôt que celles étudiant des associations pavloviennes S-O.

i. Cortex préfrontal médian

Chez la souris comme chez le rat, l'inactivation du PL altère la capacité d'apprentissage des associations actions (A) – conséquence/récompense (O) (Balleine & Dickinson, 1998; Corbit & Balleine, 2003; Coutureau et al., 2009; Killcross & Coutureau, 2003; Ostlund & Balleine, 2005; Shipman et al., 2018; Tran-Tu-Yen et al., 2009). Les lésions/inactivation du PL avant (Corbit & Balleine, 2003; Killcross & Coutureau, 2003; Ostlund & Balleine, 2005) ou pendant l'acquisition de l'association A-O (Tran-Tu-Yen et al., 2009) altèrent les performances instrumentales lors d'un test de dévaluation de la récompense, ce qui n'est pas le cas lorsqu'elles ont lieu après l'acquisition (Gourley et al., 2010) ou au moment du test de choix en extinction (non récompensé) (Ostlund & Balleine, 2005; Tran-Tu-Yen et al., 2009). Ces données suggèrent que le PL joue un rôle majeur dans l'encodage de l'association A-O, mais pas dans son expression. Plus particulièrement, l'inactivation du PL ne perturbe pas un test de choix récompensé (à la différence du test en extinction) qui suit une procédure de dévaluation (Corbit & Balleine, 2003; Tran-Tu-Yen et al., 2009) suggérant que les animaux sont capables d'adapter leur réponse instrumentale lorsque la récompense est directement observable.

L'inactivation du PL perturbe également les processus de dégradation de contingence. Lorsque l'inactivation du PL a lieu dès la phase d'acquisition de la dégradation, les animaux ne discriminent pas entre l'action dégradée et non dégradée et les performances du test de choix en extinction qui suit sont également altérées, les animaux réalisant alors les deux actions sans distinction (Balleine & Dickinson, 1998; Corbit & Balleine, 2003). On observe les mêmes résultats lors du test de choix en extinction lorsque l'inactivation du PL est effectuée uniquement pendant les sessions de dégradation de contingence (et pas au cours du test), par inhibition chémogénétique de la structure (A. M. Swanson et al., 2017). Collectivement, ces données suggèrent que le PL est impliqué dans l'encodage de l'association action – récompense, de façon à développer une représentation des conséquences de ses actions, ce processus n'étant pas requis lors du test de choix récompensé - étant donné que la conséquence de l'action est directement observable - et également dans la mise à jour des contingences entre A et O.

La durée d'entraînement des animaux peut également influencer la capacité à exprimer une dévaluation instrumentale, des animaux « surentraînés » perdant cette capacité lors d'un test de choix en extinction. On parle alors de la mise en place d'un processus Stimulus (S) – Réponse (R) qui est qualifié d'« habituel ». Plusieurs études ont pu montrer l'implication de l'IL dans la mise en place d'une telle réponse, l'inactivation de cette structure rétablissant la capacité à exprimer une distinction dans les actions conduisant à une récompense dans le test en extinction à la suite d'une dévaluation (Coutureau & Killcross, 2003; Killcross & Coutureau, 2003; Shipman et al., 2018). Cette dernière étude met d'ailleurs en évidence le rôle central du PL dans l'expression de la dévaluation au moment du test, l'inactivation étant réalisée juste avant son commencement, contrairement aux études mentionnées précédemment (Shipman et al., 2018). On peut cependant noter de grandes différences dans le design expérimental avec les tests habituels, ces données devraient donc également être validées par des tests de dévaluation plus classiques. D'un point de vue de l'activité du PL, une procédure de dégradation de contingence entre A – O induit l'expression d'un gène à

réponse précoce (Zif268/EGR1) dans cette structure (Fitoussi et al., 2018) et le conditionnement instrumental y induit la phosphorylation de ERK1/2, marqueur de la plasticité synaptique en lien avec l'activité, dans des neurones projetant sur le DMS postérieur (pDMS) (Hart & Balleine, 2016). L'étude démontre également que cette signalisation pERK est nécessaire à la consolidation de l'apprentissage A-O (Hart & Balleine, 2016).

Bien que des données concernent l'implication du PL dans les processus de dégradation de contingence, les résultats sont moins clairs sur le rôle que jouent les différentes subdivisions du mPFC dans les processus de *reversal learning* (Izquierdo et al., 2017). Plusieurs études ont montré que ni l'IL ni le PL n'étaient impliqués dans l'inversion de contingence en RL (Boulougouris et al., 2007; Chudasama et al., 2001; Dalton et al., 2016; Floresco et al., 2008; Gourley et al., 2010). De façon surprenante, Dalton et collègues montrent que l'inactivation du PL améliore les performances en augmentant le nombre total d'inversions effectuées dans une tâche de RL probabiliste (Dalton et al., 2016). L'inactivation de l'ACC tend à diminuer le nombre d'inversions effectuées mais de manière non significative, en corrélation avec une augmentation de 50% de la latence à répondre (Dalton et al., 2016). Une inactivation globale du mPFC perturbe les performances en RL seulement dans les premières inversions mais pas dans les suivantes (De Bruin et al., 2000). A l'opposé des résultats de Dalton, l'inactivation du PL ou de l'IL effectuée par Verharen, altère les performances dans une tâche de RL probabiliste globalement similaire. L'analyse approfondie de ces résultats révèle l'implication de ces deux sous-régions du mPFC dans l'apprentissage depuis une punition ou plus précisément une absence de récompense (« *time out* », absence de récompense), celle du PL dans l'apprentissage depuis une récompense et celle de l'IL dans la persistance dans une même réponse (« *stickiness* ») (Verharen et al., 2020). L'inactivation de l'ACC reste cependant toujours sans effet sur ces paramètres. Bien que la tâche utilisée soit semblable à celle de Dalton (RL instrumental probabiliste), des différences subsistent concernant notamment le nombre de trials disponibles, la définition d'un trial ou la présence de stimuli signalant la présence ou l'absence de récompense, ces différences méthodologiques pouvant potentiellement être à l'origine de la divergence de résultats pour le PL et pour l'IL.

ii. Cortex orbitofrontal

Plusieurs études montrent que le MO est impliqué dans l'expression de la dévaluation lors d'un test de choix en extinction (Bradfield et al., 2015, 2018; Gourley et al., 2016). L'activation chémogénétique de cette structure au moment du test améliore les performances des animaux en comparaison du groupe contrôle n'ayant pas un entraînement suffisant pour exprimer une dévaluation instrumentale. Un deuxième test après des sessions d'entraînement supplémentaires permet au groupe contrôle de dévaluer tout comme le groupe dont le MO est activé de façon chémogénétique (Gourley et al., 2016). Bradfield et collègues ont testé l'implication du MO dans plusieurs composantes flexibles des actions dirigées vers un but. L'inhibition du MO par lésion ou par inactivation chémogénétique empêche la mise en place du transfert Pavlovien-Instrumental (PIT¹) et altère la capacité des animaux à discriminer les deux leviers dans le teste de choix en extinction suivant la dévaluation de la récompense. Cependant, cette inhibition du MO ne perturbe pas un test de choix récompensé, ni un test de rétablissement de l'association A-O suivant l'extinction de cette réponse (*Outcome-Selective Reinstatement*), dans lesquels les récompenses sont directement observables, par opposition aux tests non récompensés des procédures de dévaluation et de PIT. Par ailleurs, les lésions du MO n'ont pas altéré les performances lors de l'acquisition de la dégradation de contingence (CD) ni lors du test de choix en extinction. Les animaux MO ont donc été capables d'encoder la modification de contingence instrumentale lors de l'acquisition, et de mobiliser cette information pour effectuer une action

¹ *Pavlovian to Instrumental Transfer* (PIT) : Test permettant d'évaluer comment les stimuli conditionnés peuvent influencer la réponse instrumentale (Phase 1 : Association S1-O1/S2-O2 ; Phase 2 : Association A1-O1/ A2-O2 ; Phase 3 : test en extinction : évaluation des actions sur A1&A2 pendant S1 ou pendant S2)

dirigée lors du test de choix, ce qui contraste avec les deux premiers résultats également obtenus en l'absence de la récompense instrumentale. Chez les animaux dont le MO est inactivé, l'information concernant la « causalité » A-O a pu être mobilisée lors du test de choix suivant la CD tandis que dans les autres tests, les informations concernant la récompense associée à l'action (stimulus associé pour le PIT ; valeur de la récompense pour la dévaluation) ne le sont pas. Ces données suggèrent donc que le MO permet d'extraire les caractéristiques relatives à l'identité de la récompense lorsque ces informations sont nécessaires pour choisir entre plusieurs actions de façon à former une représentation de la récompense dépendante d'une action et lorsque les récompenses potentielles ne sont pas directement observables (Bradfield et al., 2015). Plus précisément, cette même équipe a récemment montré que la partie antérieure du MO était impliquée dans ce processus, l'inactivation de cette partie altérant les performances en PIT et en dévaluation comme précédemment, au contraire de l'inactivation de la partie postérieure laissant ces comportements intacts (Bradfield et al., 2018). L'étude de Münster et Hauber est en accord avec ces résultats, l'inhibition de la partie postérieure du MO (pMO) ne perturbant pas des tests de PIT ou de dévaluation de la récompense. Le pMO semble pour sa part être impliqué dans la médiation des fonctions motivationnelles liées à l'effort, la manipulation de son activité modulant les performances dans une tâche de ratio progressif (Münster & Hauber, 2018).

Il a été montré à plusieurs reprises que l'inactivation du LO et du VO n'altère pas la dévaluation instrumentale lorsque les associations entre A-O restaient stables (Balleine et al., 2011; Ostlund & Balleine, 2007a, 2007b; Parkes et al., 2018). L'inhibition du VLO n'altère pas l'apprentissage initial ni l'expression de l'association A-O, mais les performances sont perturbées suite à un changement de contingence, notamment lors du test de l'association spécifique entre A-O ou après un RL. Le VLO encode et stocke donc une représentation de la récompense qui est actuellement associée à une action ou un stimulus, et notamment lorsque la nature de cette récompense change (comme c'est le cas lors de l'association spécifique A-O, ou lors d'un RL) (Parkes et al., 2018). L'inhibition du VLO ne semble pas altérer l'apprentissage de manière générale, mais plutôt induire un déficit dans la reconnaissance et la prise en compte rapide des changements de contingence entre A-O. La poursuite de l'entraînement en condition de changement de contingence permet ainsi de rétablir les performances lors du test (Zimmermann et al., 2017). Dans cette étude, Zimmerman et collègues montrent qu'une diminution de l'expression de *Bdnf* (*Brain derived neurotrophic factor* - Facteur neurotrophique dérivé du cerveau ; facteur de croissance neuronale) dans le VLO ainsi qu'une inhibition chimogénétique de cette structure altèrent la capacité des animaux à adapter leur réponse face à un changement de contingence (dégradation) (Zimmermann et al., 2017). Des études menées chez la souris ont par ailleurs montré que l'inactivation pharmacologique ou chimogénétique de l'OFC (DLO + VO + LO) altère la réponse instrumentale dans un test de choix en extinction suivant une dévaluation de la récompense, au travers de projections vers le striatum dorsal (Gremel et al., 2016; Gremel & Costa, 2013). Ces trois sous-divisions semblent donc être impliquées dans la capacité des animaux à adapter leur réponse instrumentale face à un changement de valeur de la récompense, résultat contrastant avec les études citées précédemment. Ces différences pourraient notamment venir du design expérimental, l'étude de Parkes ayant été réalisée en utilisant deux associations A-O distinctes (Deux leviers et deux récompenses) tandis que les travaux de Gremel n'utilisent qu'une seule association A-O dans des contextes d'entraînement différents selon le protocole utilisé (*Random Ratio* ou *Random Interval*) (Gremel & Costa, 2013; Parkes et al., 2018).

Bien qu'un faible nombre d'études montre que l'OFC n'est pas impliqué dans les processus de reversal learning (De Bruin et al., 2000; Rudebeck et al., 2013), une grande majorité appuie le rôle des sous-régions de cette structure dans cette adaptation à un changement de contingence entre action et récompense (Boulougouris et al., 2007; Chudasama & Robbins, 2003; Dalton et al., 2016; Ghods-Sharifi et al., 2008; McAlonan & Brown, 2003; Verharen et al., 2020). Des lésions de l'OFC (MO + VO + LO) perturbent la capacité

à effectuer la première inversion, mais améliorent les performances des animaux sur les RL suivants, les animaux réalisant moins d'erreur de persistance dans la réponse incorrecte que les contrôles, suggérant ainsi l'implication parallèle d'autres structures pour médier cette réponse (Boulougouris et al., 2007). Gourley et collègues ont montré qu'une lésion de l'OFC n'altère pas la réponse sur la nouvelle action renforcée, mais les animaux n'inhibent pas leur réponse sur l'ancienne action renforcée et persistent dans cette réponse incorrecte (Gourley et al., 2010). Dalton et collègues ont montré que l'inactivation du MO ou du LO perturbait les performances dans une tâche de RL probabiliste (diminution du nombre d'inversions) de manière différente. L'inactivation du MO perturbe l'apprentissage des probabilités d'obtention de la récompense lors de la phase de discrimination initiale, augmente la persévération dans la réponse incorrecte, et réduit l'effet des actions récompensées ou non sur la sélection des actions suivantes. L'altération des performances après inactivation du LO est en partie due à une perturbation de la capacité à ajuster le comportement après une réponse incorrecte qui n'a pas été récompensée et est corrélée à une augmentation de 50% de la latence à répondre. Cette même inactivation dans une tâche de RL où l'issue était certaine n'a globalement pas altéré les performances (pas pour le MO et tendance pour le LO), suggérant que le MO et LO jouent un rôle considérable dans la mise en place d'une réponse flexible lorsque les contingences sont probabilistes (Dalton et al., 2016). Dans l'étude de Verharen, l'inactivation du MO ou du VLO induit globalement les mêmes effets, à savoir une altération des performances en RL probabiliste, avec une implication du MO dans la persistance dans la réponse (« *stickiness* ») et dans l'apprentissage depuis une issue négative (marquée par un « *time out* »). Cependant, contrairement à l'étude de Dalton, le MO n'est ici pas impliqué dans l'apprentissage faisant suite à la distribution d'une récompense, et le VLO n'est pas impliqué dans l'apprentissage qui se faisait à la suite d'une réponse incorrecte (Dalton et al., 2016; Verharen et al., 2020). L'enregistrement de neurones de l'OFC (VO + LO) au cours de RL probabiliste (2 leviers, 80/20% chance) suggère qu'ils encodent la récompense pour générer une préférence pour l'option correcte avec une forte probabilité de distribution de la récompense. L'activité de l'OFC serait ainsi corrélée à l'adaptation à des changements de contingence entre A-O, et sous-tend donc une forte implication dans la flexibilité comportementale en contribuant à orienter le comportement vers l'obtention de récompenses (Amodeo et al., 2017).

Conclusion

Dans l'ensemble, les sous-divisions du mPFC et de l'OFC sont impliquées dans la médiation de la flexibilité comportementale de différentes manières. Dans le mPFC, le PL est classiquement associé à l'encodage des associations Action-Récompense que ce soit pour l'association initiale ou lors de la mise à jour des contingences. Des données récentes indiquent qu'il pourrait également être impliqué dans l'expression flexible des associations A-O suite à un changement de valeur de la récompense, contrairement à ce qui avait été montré jusqu'à présent, mais ces résultats issus d'un protocole particulier au regard de la littérature nécessiteraient d'être confirmés. L'IL joue un rôle majeur dans la mise en place d'une réponse habituelle et semble également être impliqué lors de l'adaptation à un changement de contingence entre A-O comme c'est le cas lors d'un RL. Dans l'OFC, le MO - et particulièrement sa partie antérieure - est impliqué dans l'extraction d'informations relatives à la récompense lorsqu'il est nécessaire de réaliser un choix entre plusieurs actions pour obtenir une récompense qui n'est pas directement observable. Les régions latérales et ventrales de l'OFC ne sont pas impliquées dans l'encodage ni dans l'expression d'associations spécifiques entre actions et récompenses - bien que certains travaux aient montré un certain rôle dans la mise en place d'une association générale entre A-O - mais plutôt dans la mise à jour rapide de telles associations, dans un contexte de dégradation de contingence ou de RL (notamment dans les premières phases, ou lorsque le RL est probabiliste et que l'issue est donc incertaine). Cependant, rares sont les études s'étant intéressées au rôle de sous-populations neuronales spécifiques dans la mise en place de tels comportements, ce qui fait une des originalités du travail présenté dans cette thèse.

C. Le striatum dorsal et ventral et la flexibilité comportementale

Le striatum peut être considéré comme la porte d'entrée des ganglions de la base, réseau de noyaux sous-corticaux impliqués dans le contrôle du mouvement et la mise en œuvre des fonctions exécutives (Lanciego et al., 2012). Nous allons donc nous intéresser au rôle qu'il joue dans la capacité d'adaptation des animaux dans un contexte de recherche de récompense.

1. Structure et organisation du striatum

Le striatum est organisé en parties dorsale et ventrale, elles-mêmes structurées en deux régions chacune. Pour la partie dorsale, on distingue le striatum dorso-médian (DMS), équivalent du noyau caudé chez les humains et primates non-humains, et le striatum dorso-latéral (DLS), équivalent du putamen, d'après les projections glutamatergiques qu'ils reçoivent. La région ventrale, aussi appelée noyau accumbens (NAc), est composée du core (NAc core) et du shell (NAc shell), d'après des distinctions d'afférences, de projections, d'expression de marqueurs (ex : calbindine (CalB) et calrétinine (CalR)) et de fonctions. Le core se situe en dessous du striatum dorsal et entoure la commissure antérieure et le shell correspond à la partie plus médiane et ventrale du NAc (**Figure 10**). On distingue également le shell médian du shell latéral (Burke et al., 2017; S. R. Sesack & Grace, 2010).

Ces sous-régions striatales sont également ségréguées d'un point de vue fonctionnel. De manière générale, le striatum dorsal est impliqué dans la planification du mouvement, les comportements dirigés vers un but et la mise en place des habitudes S-R. Le NAc joue un rôle central dans la sélection d'actions qui facilitent un comportement dirigé vers un but et renforce l'efficacité de ces comportements, notamment dans un environnement complexe ou un contexte présentant de l'incertitude ou des obstacles en vue de l'atteinte de l'objectif. Dans ce contexte, les sous-divisions du NAc semblent avoir des rôles distincts : l'activité du core joue un rôle crucial dans le comportement d'approche de stimuli pertinents sur le plan motivationnel tandis que le shell inhibe les actions non pertinentes ou non récompensées de façon à ce que les objectifs soient atteints de manière plus efficace. Le NAc est également impliqué dans l'encodage des conséquences des actions pouvant par la suite aider à guider les prochaines actions à mettre en œuvre (Floresco, 2015). Cependant, certaines de ces fonctions se recoupent entre ces structures (Burke et al., 2017; Volkow et al., 2017). Le striatum peut également être compartimenté entre le patch (ou striosomes) et la matrice, d'après une distinction de répartition de marqueurs neurochimiques et de connectivité (Brimblecombe & Cragg, 2017), mais cette ségrégation ne fait pas l'objet ici d'une analyse plus détaillée.

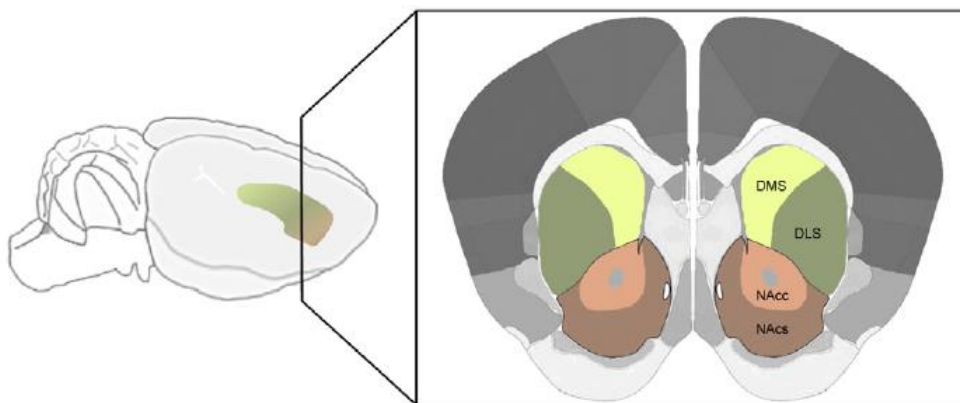


Figure 10 : Subdivisions du striatum chez le rongeur

DMS : striatum dorsomédian ; DLS : striatum dorsolatéral ; NAcc : core du noyau accumbens ; NAcs : shell du noyau accumbens. (Soares-Cunha, Coimbra, Sousa, et al., 2016)

2. Composition cellulaire du striatum

En plus des recouvrements de fonctions évoqués, la partie dorsale et ventrale du striatum ont en commun leur composition cellulaire. Le striatum est composé à 95% de neurones épineux moyens GABAergiques ou MSNs (*Medium Spiny Neurons*) chez le rongeur et de 80% chez le primate (Graveland & DiFiglia, 1985). Ce sont les seuls neurones de projection de cette structure. Les MSNs se divisent en deux sous-populations selon le type de récepteur de la dopamine qu'ils expriment. Les MSNs exprimant les récepteurs de type D1 (D1-MSNs) forment la voie classiquement appelée « directe » et ceux exprimant les récepteurs de type D2 (D2-MSNs) forment la voie dite « indirecte ». Par ailleurs, les MSNs se distinguent par l'expression spécifique de marqueurs moléculaires, les D1-MSNs exprimant la substance P et la dynorphine et les D2-MSNs exprimant l'enképhaline et le récepteur 2A de l'adénosine (A2AR) (Heiman et al., 2008; Soares-Cunha, Coimbra, Sousa, et al., 2016). Nous détaillerons les projections des MSNs en fonction de la partie dorsale et ventrale du striatum par la suite, et une introduction de la dopamine et de ses récepteurs sera faite dans la partie suivante.

Les cinq pourcents restants (chez le rongeur) sont partagés entre des interneurones locaux GABAergiques ou cholinergiques. Les interneurones cholinergiques (CIN) sont des neurones actifs de façon tonique (également appelés TAN), qui libèrent de l'acétylcholine (ACh), représentant environ 1% des cellules du striatum. Ils présentent une arborisation axonale étendue et influencent fortement le fonctionnement du striatum en agissant au travers des récepteurs muscariniques et nicotiques de l'ACh (mAChRs, nAChRs respectivement) (Abudukeyomu et al., 2019; Gonzales & Smith, 2015; Zhou et al., 2002). Il a par ailleurs été montré que les CINs co-libéraient également du glutamate, conférant un nouveau rôle à ces cellules dans la régulation de l'activité striatale (Guzman et al., 2011; Higley et al., 2011). On distingue trois classes principales d'interneurones GABAergiques dans le striatum : les interneurones à décharge rapide (FSI) ou PV+, les interneurones à seuil bas de décharge (*Low-threshold spiking*, LTSI) et les interneurones exprimant la calrétinine (CalR+). Les FSI sont PV+ et comme nous l'avons vu précédemment, peuvent émettre des potentiels d'actions à une fréquence élevée. Ils sont à l'origine d'une forte inhibition antérograde (FFI) sur les MSNs et représentent 0,7% des cellules du striatum. Les LTSIs sont actifs de manière tonique de par leur faible seuil de décharge, tout comme les CINs, c'est pourquoi la nomenclature CIN est préférable à celle de TAN dans le striatum. Ces interneurones impliqués dans la plasticité à long terme (LTP) sont caractérisés par l'expression de SOM (SOM+), d'oxyde nitrique synthase (NOS+) et du neuropeptide Y (NPY+) et ils constituent 0,6% des neurones du striatum (Ibáñez-Sandoval et al., 2011; Tepper et al., 2010). Les interneurones CalR+ sont moins bien caractérisés car exprimés en plus faibles proportions chez la souris (0,5% des neurones striataux) que chez le primate (2 à 4 fois plus de CalR+ que des autres interneurones GABAergiques) (Petryszyn et al., 2014). Plus récemment, des nouveaux types d'interneurones striataux ont pu être mis en évidence tels que ceux exprimant la tyrosine hydroxylase (TH+), classifiés en sous-types de I à IV, les NPY-neurogliaform (NPY-NGF) ou encore les interneurones à adaptation rapide (FAIs) (Burke et al., 2017).

3. Connectivité du striatum dorsal

i. Afférences du striatum dorsal

Le striatum dorsal reçoit des projections en provenance du thalamus, des aires corticales (mPFC, OFC, aires motrices et sensorielles) et de la substance noire compacte (SNc). Plus récemment, quelques projections depuis la VTA ont pu être mises en évidence ainsi que des afférences depuis l'amygdale (CeA, BLA) et les noyaux du raphé. Ces données démontrent une organisation topographique sur un gradient médio-latérale et antéro-postérieure des projections corticostriatales et thalamostriatales et médio-latérale des

projections nigrostriatales (Pan et al., 2010). Les projections corticostriatales représentent entre 60% et 70% des afférences sur les MSNs, selon qu'elles contactent les MSNs de la voie directe ou indirecte, respectivement. Elles proviennent en grande partie des cortex somatosensoriels et moteurs ciblant principalement le DLS, puis des aires préfrontales et limbiques ciblant plus le DMS (Bonnavion et al., 2019; Pan et al., 2010). Les projections thalamostriatales sont les deuxièmes plus importantes, représentant 22% des afférences sur les MSNs de la voie directe et 25% des afférences sur les MSNs de la voie indirecte. Parmi celles-ci, les projections venant du thalamus dorso-médian et des noyaux parafasciculaires sont les plus représentées (Wall et al., 2013). Des différences de proportion d'afférences sur la voie directe et indirecte ont pu être relevées. On peut par exemple citer une fraction plus élevée de projections du cortex moteur sur la voie indirecte, et un plus grand nombre de projections des cortex somatosensoriels et limbiques sur la voie directe. De la même manière, les afférences de l'amygdale ciblent plus la voie directe que la voie indirecte (Wall et al., 2013). Ces résultats doivent cependant être approfondis étant donné que l'injection de traceurs rétrogrades pour chacune des voies, se situe au centre du striatum dorsal, à mi-chemin entre le DMS et le DLS. Étant donné les différences de projection sur ces deux sous-régions, il se peut que les afférences sur les MSNs des voies directes et indirectes ne soient pas les mêmes ou dans les mêmes proportions entre le DMS et le DLS.

ii. Efférences du striatum dorsal et principales implications comportementales

Dans le striatum dorsal, les neurones de la voie directe (D1-MSNs) projettent directement sur des noyaux des ganglions de la base que sont le *Globus Pallidus* interne (GPi) et la substance noire réticulée (SNr). Ceux de la voie indirecte projettent indirectement sur le GPi et la SNr via le *Globus Pallidus* externe (GPe) puis le noyau sous-thalamique (STN) (Bonnavion et al., 2019; A. B. Nelson & Kreitzer, 2014; Soares-Cunha, Coimbra, Sousa, et al., 2016). Une des structures de sortie du GPi et de la SNr étant le thalamus, projetant sur les aires corticales motrices, l'activité des voies directe et indirecte est impliquée dans l'initiation du mouvement. En effet, l'activation de la voie directe (D1-MSNs) inhibe l'activité des projections GABAergiques du GPi et de la SNr sur le thalamus, cette levée d'inhibition facilitant le mouvement, on parle également de voie « Go » (**Figure 11A**). Au contraire, l'activation de la voie indirecte (D2-MSNs) inhibe les projections GABAergiques du GPe sur le STN, cette levée d'inhibition activant les projections glutamatergiques du STN sur le GPi et la SNr, provoquant une inhibition du thalamus et donc une inhibition du mouvement, on parle également de voie « No Go » (**Figure 11B**). (Groenewegen, 2003; Soares-Cunha, Coimbra, Sousa, et al., 2016; Takakusaki et al., 2004). Des données récentes ont mis en évidence que le GPe était également contacté par des D1-MSNs, mais de façon assez faible : 18% des cellules du GPe sont contactées par des D1-MSNs contre 82% par des D2-MSNs (Kupchik et al., 2015).

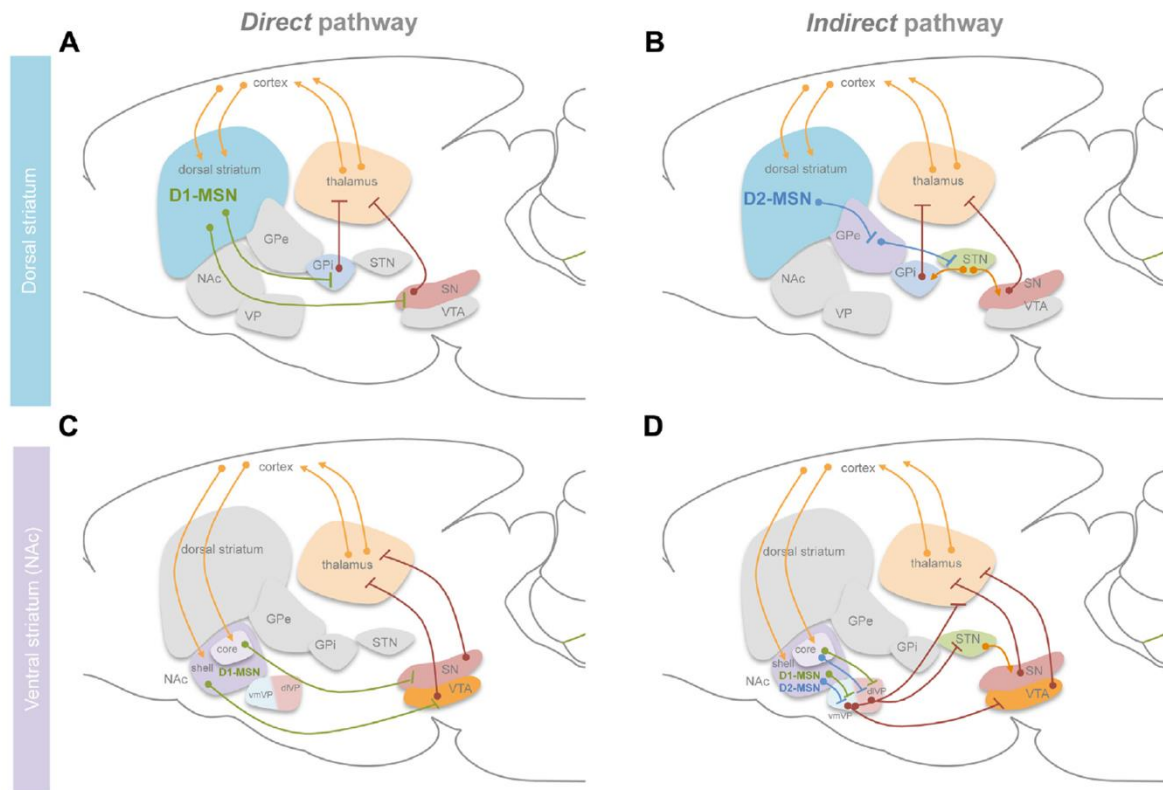


Figure 11 : Voies directes et indirectes du striatum dorsal et du noyau accumbens

Projections des, A : D1-MSNs de la voie directe du striatum dorsal. B : D2-MSNs de la voie indirecte du striatum dorsal. C. D1-MSNs de la voie directe du noyau accumbens. D : D1-MSNs et D2-MSNs de la voie indirecte du noyau accumbens. NAc : noyau accumbens ; GPe : globus pallidus externe ; GPi : globus pallidus interne ; STN : noyau sous-thalamique ; VP : pallidum ventral ; vmVP : pallidum ventral ventromédian ; dVP : pallidum ventral dorsolatéral ; SN : substance noire ; VTA : aire tegmentale ventrale. (Soares-Cunha, Coimbra, Sousa, et al., 2016)

4. Connectivité du noyau accumbens

i. Afférences du noyau accumbens

Le NAc reçoit des afférences glutamatergiques excitatrices du mPFC, du cortex entorhinal, du subiculum ventral de l'hippocampe (vSub), du thalamus et de la BLA. Au niveau cortical, le NAc core reçoit des projections du dmPFC tandis que le shell reçoit des projections du vmPFC. Le vSub projette principalement sur le shell tandis que le subiculum dorsal cible plus le core. La BLA projette sur le NAc de manière topographique : la partie rostrale projette sur le core tandis que la partie caudale projette sur le shell. La proportion d'afférences inhibitrices sur le NAc est relativement faible, mais on peut toutefois noter les projections réciproques GABAergiques du VP ou de la VTA, et il a récemment été mis en évidence l'existence de neurones de projections GABAergiques sur le NAc shell, en provenance du mPFC (A. T. Lee et al., 2014). Enfin, le NAc reçoit plusieurs afférences modulatrices dont la grande majorité est formée par les projections dopaminergiques en provenance de la VTA et dont les implications seront détaillées dans la partie suivante ; mais également des afférences sérotoninergiques (5HT) et non-5HT du raphé dorsal (DR). Le NAc shell reçoit quelques faibles projections noradrénergiques en provenance du locus cœruleus (LC) et du noyau du tractus solitaire (NTS) (S. R. Sesack & Grace, 2010). De plus, plusieurs études ont montré que les projections dopaminergiques de la VTA pouvaient également co-libérer du glutamate dans le shell médian (Eskenazi et al., 2021; Stuber et al., 2010). Le **Figure 12** résume les projections topographiques du PFC, du thalamus, de l'amygdale et de l'hippocampe vers le striatum dorsal et le noyau accumbens.

ii. Efférences du noyau accumbens et principales implications comportementales

Une organisation des projections des D1- et D2-MSNs du NAc fondée sur la dichotomie classique des voies directe et indirecte du striatum dorsal a longtemps prévalu, stipulant que les D1-MSNs projettent directement sur le mésencéphale, le core ciblant préférentiellement la SN médiane et le shell contactant plus la VTA, tandis que les D2-MSNs projettent sur le pallidum ventral (VP) (Heimer et al., 1991; Soares-Cunha, Coimbra, Sousa, et al., 2016). A cela s'ajoute une organisation topographique des projections des D1-MSNs de sous-divisions du shell, les neurones situés dans le shell latéral contactant des neurones GABAergiques de la VTA latérale (latVTA) et ceux du shell médian contactant à la fois des neurones GABAergiques de la VTA médiane (mVTA), mais de façon plus importante les neurones dopaminergiques de la mVTA comme de la latVTA, ces circuits formant ainsi des boucles de rétrocontrôle directes ou indirectes de la transmission DA du mésencéphale (Yang et al., 2018). L'utilisation de virus *rabies* chez des souris DAT-cre, permettant de visualiser les afférences monosynaptiques, a permis de mettre en évidence une densité comparable de projections du core et du shell vers les neurones dopaminergiques de la VTA, et en moindre mesure de la SNc (Watabe-Uchida et al., 2012). Des données récentes ont montré que les neurones de la voie directe projetaient également sur le VP. En effet, 50% des neurones du VP dorsal (dVP) sont contactés par des D1-MSNs du NAc core et 89% par des D2-MSNs, ce qui implique que jusqu'à 50% de ces neurones peuvent être contactés par des D1- et D2-MSNs (Kupchik et al., 2015). De plus, une majorité (>70%) de D1-MSNs du NAc ciblent à la fois la VTA/SN et le VP au travers de collatérales, et dans une plus large mesure que les neurones du striatum dorsal dont moins de 10% des D1-MSNs collatéralisent vers le GP et la SN (Pardo-Garcia et al., 2019). Enfin, le NAc projette également vers d'autres structures parmi lesquelles l'hypothalamus latéral ou le septum latéral (Heimer et al., 1991; Soares-Cunha, Coimbra, Sousa, et al., 2016). Les projections principales des D1- et D2-MSNs sont résumées en **Figure 11 C-D**.

L'activité des D1- et D2-MSNs a été étudiée en grande partie en relation avec leur implication dans la composante motivationnelle, avec l'hypothèse d'une distinction de fonction sur le modèle du striatum dorsal et de ses voies « Go/No Go ». Bien que les rôles antagonistes de ces deux voies sur les comportements dirigés vers une récompense ont été principalement proposés sur la base de manipulations pharmacologiques, ce modèle reste controversé. En effet, tandis que l'activation transitoire par optogénétique des D1-MSNs augmente la capacité de l'animal à fournir un effort pour obtenir une récompense alimentaire (Soares-Cunha, Coimbra, David-Pereira, et al., 2016), leur inhibition a l'effet opposé (Natsubori et al., 2017), renforçant l'idée d'un rôle facilitateur des D1-MSNs sur les comportements motivés. En revanche, les mêmes études montrent que la manipulation de l'activité des D2-MSNs a des effets similaires à ceux obtenus avec les D1-MSNs (Natsubori et al., 2017; Soares-Cunha, Coimbra, David-Pereira, et al., 2016), remettant en cause le modèle des voies « directe » et « indirecte » du core du NAc qui joueraient un rôle antagoniste sur les processus motivationnels. Cependant, il a été montré par utilisation d'une approche de chémogénétique que l'inhibition des D2-MSNs du NAc facilite la motivation (Carvalho Poyraz et al., 2016) et par ailleurs, la surexpression du récepteur D2 dans les D2-MSNs – qui diminue l'excitabilité de ces neurones – facilite les comportements motivés (Gallo et al., 2018; Trifilieff et al., 2013). Une étude récente montre que l'activité des D1- ou D2-MSNs peut induire une récompense ou de l'aversion, selon la durée d'activation des neurones de manière optogénétique, suggérant que les fonctions relatives à la composante motivationnelle des D1- et D2-MSNs sont plus complexes qu'une dichotomie entre ces deux populations neuronales (Soares-Cunha et al., 2020).

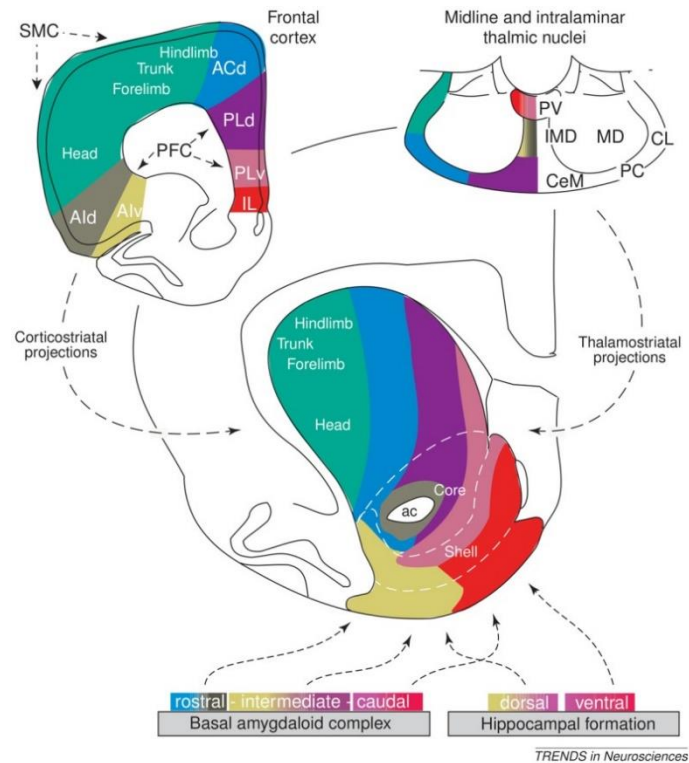


Figure 12 : Afférences du PFC, du thalamus, de l'amygdale et de l'hippocampe sur les sous-régions du striatum

ACd : cortex cingulaire antérieur dorsal ; PLd : cortex prélimbique dorsal ; PLV : cortex prélimbique ventral ; IL : cortex infralimbique ; PFC : cortex préfrontal ; Ald : aire insulaire agrulaire dorsale ; Alv : aire insulaire agrulaire ventrale ; SMC : cortex sensorimoteur ; ac : commissure antérieure ; PV : noyau thalamique paraventriculaire ; IMD : noyau thalamique intermédiodorsal ; MD : noyau thalamique médiodorsal ; CeM : noyau thalamique central médian ; PC : noyau thalamique paracentral ; CL : noyau thalamique centrolatéral. (Mannella et al., 2013)

5. Implication dans la flexibilité comportementale

Nous allons à présent nous intéresser aux rôles joués par les différentes subdivisions du striatum dans la flexibilité comportementale dans des processus nécessitant l'adaptation à un changement de valeur de la récompense ou à un changement de contingence entre une action et sa conséquence.

i. Striatum Dorsal

L'inactivation du pDMS avant l'entraînement ou avant le test bloque le comportement flexible lors du test de choix en extinction (et non pas du test récompensé) au cours de la procédure de dévaluation de la récompense (Yin, Ostlund, et al., 2005), et le blocage des NMDARs dans le pDMS au moment de l'acquisition de l'association A-O empêche les animaux de mettre en œuvre ce même comportement (Yin, Knowlton, et al., 2005), suggérant que cette région est à la fois impliquée dans l'encodage de l'association A-O et dans l'expression flexible de la dévaluation. Le blocage des NMDARs au moment du test n'altère pas la réponse, ni le blocage dans le DLS (Yin, Knowlton, et al., 2005). L'inactivation du DMS antérieur (aDMS) à la suite de l'entraînement perturbe légèrement les performances en test de dévaluation, cependant, les lésions pré-acquisition ne perturbant pas le test de choix, l'aDMS ne semble pas être impliqué ni dans l'encodage de l'association A-O, ni dans l'expression de la dévaluation (Yin, Ostlund, et al., 2005, p. 2). L'entraînement en intervalle aléatoire (Random Interval, RI) perturbe la capacité d'animaux contrôlés à adapter leur réponse suite à une dévaluation de la récompense en comparaison d'un entraînement en ratio aléatoire (Random Ratio, RR) (Gremel & Costa, 2013; Yin et al., 2006). En utilisant ce paradigme, Gremel et Costa ont pu montrer que dans une tâche de dévaluation de la récompense, des lésions du DMS (plutôt de l'aDMS que du pDMS au vu des lésions) perturbaient les performances lors du test de choix en extinction à la suite d'un

entraînement RR, tandis que les lésions du DLS rétablissaient un comportement flexible dirigé vers un but à la suite d'un entraînement en RI (Gremel & Costa, 2013). La divergence de résultats sur l'implication de l'aDMS dans l'encodage de l'association A-O peut potentiellement s'expliquer par la spécificité du test utilisé par Gremel, de la même manière que pour les résultats surprenants, mentionnés précédemment, issus de la même étude et observés à la suite des lésions de l'OFC ventrolatéral.

L'inactivation du pDMS perturbe également l'adaptation à une dégradation de contingence entre A-O, au moment de l'entraînement et au moment du test en extinction (Yin, Ostlund, et al., 2005). L'inactivation de l'aDMS reste sans effet. De façon surprenante, Lex & Hauber ne retrouvent ni l'effet d'une lésion du pDMS sur le test en extinction suivant la dévaluation, ni l'effet sur l'acquisition et l'expression de la dégradation de contingence, mais ils démontrent l'implication des projections du cortex entorhinal vers le pDMS dans cette dernière tâche (Lex & Hauber, 2010a). Globalement, ces résultats indiquent que le pDMS est impliqué dans la formation d'une association spécifique entre action et récompense, que cette région est sensible à un changement de valeur de la récompense au moment de mobiliser et de mettre en œuvre la représentation de cette association et enfin qu'elle joue un rôle central dans la mise à jour des associations A-O.

Concernant le *reversal learning*, Castane et collègues ont montré qu'à la différence de lésions du DLS, des lésions du DMS (que l'on peut même qualifier d'aDMS au vu de la zone lésée) perturbent les performances en RL en augmentant la persistance dans la réponse erronée (Castañé et al., 2010).

ii. Noyau Accumbens

On constate des résultats divergents concernant le rôle du NAc dans l'encodage et l'expression des associations A-O. Dans l'étude de Borchgrave, l'inactivation du NAc en entier n'altère pas le processus de dévaluation instrumentale de la récompense (de Borchgrave et al., 2002). L'inactivation du core du NAc perturbe l'expression de la dévaluation en test d'extinction mais également en test récompensé, à la différence de l'inactivation du shell restée sans effets. Ces résultats suggèrent donc une implication du core du NAc dans l'expression générale de la dévaluation d'une récompense mais pas pour une récompense spécifique (Corbit et al., 2001). Dans le cas d'un conditionnement pavlovien S-O, Singh montre que l'inactivation du core ou du shell perturbe l'expression de la dévaluation de la récompense dans un test de choix en extinction (Singh et al., 2010). D'un point de vue de l'activité de ces deux sous-régions du NAc, West et Carelli ont montré que le core et le shell encodent différemment les informations liées aux stimuli associés à une récompense spécifique après la dévaluation, en lien avec la performance ou avec la valeur de la récompense, respectivement. Pendant l'acquisition, l'activité du core au moment du CS est corrélée au niveau de performance des animaux lors du test instrumental en extinction : plus un grand nombre de neurones du core étaient actifs lors du stimulus, meilleur est la performance lors du test (= moins d'appuis sur le levier dévalué). Au cours du test en extinction, l'activité des neurones du shell était diminuée au moment de la présentation du stimulus dans la condition dévaluée en comparaison de la conditions non dévaluée (West & Carelli, 2016). Ce dernier résultat peut être mis en lien avec l'augmentation de l'expression de *c-fos* (IEG) détectée dans le shell et non dans le core du NAc en réponse au stimulus conditionné à la récompense suite à une dévaluation de l'association S-O (Kerfoot et al., 2007). L'inactivation du core ou du shell du NAc, ou du NAc en entier, n'altère pas les performances dans un test suivant une dégradation de contingence, suggérant que le NAc n'est pas impliqué dans la mise à jour des associations entre A-O (Corbit et al., 2001; de Borchgrave et al., 2002).

Concernant le *reversal learning*, l'inactivation du shell et non du core du NAc altère les performances en RL probabiliste (80/20%) et en RL avec récompense certaine (100%) en diminuant le nombre total d'inversions pour ces deux tests et en augmentant le nombre d'erreurs pour atteindre le critère bien qu'à des stades

différents (dès la phase de discrimination et d'autant plus pour le 1^{er} RL pour le RL probabiliste, et à partir du 2^{ème} RL pour le RL 100%) (Dalton et al., 2014). Ces résultats confirment en partie ceux de Castane n'ayant pas observé d'effet de lésions du core ou du shell du NAc sur les performances en RL (Castañé et al., 2010).

Conclusion

Concernant le striatum dorsal, le pDMS, au contraire de l'aDMS est impliqué dans l'encodage de l'association A-O et dans sa mise à jour à la suite d'une dégradation de contingence, ainsi que dans l'expression flexible d'un comportement adapté à la suite d'un changement de valeur de la récompense. L'aDMS semble plus impliqué dans l'adaptation de la réponse instrumentale face à une inversion de contingence. Le DLS n'est pas impliqué dans l'encodage ni dans l'expression de la dévaluation à la suite d'un entraînement RR permettant la mise en œuvre de ces comportements chez des animaux contrôles, mais il est impliqué dans la mise en place d'une réponse habituelle ne distinguant pas entre les deux actions lorsqu'un entraînement RI est utilisé. Le DLS n'est pas non plus impliqué dans les processus de RL. Concernant le NAc, certains résultats divergent mais le core semble être impliqué dans l'encodage de l'association A-O et/ou dans l'expression de la réponse suite à un changement de valeur de la récompense, les lésions ayant lieu avant l'acquisition, il n'est pas possible de conclure plus précisément sur ce point. Enfin le core du NAc n'est pas impliqué dans l'adaptation à un changement de contingence (dégradation ou inversion), tandis que le shell ne semble pas être sensible à une dégradation de contingence, mais est impliqué dans la mise en place d'une réponse adaptée lors d'une procédure de RL.

D. A l'interface de la flexibilité comportementale : le circuit corticostriatal et l'inclusion des structures dans le réseau plus global

En plus des projections communes du MO antérieur et postérieur vers le DMS, MD ou la VTA, l'étude de Bradfield révèle une densité importante de fibres projetant vers la BLA pour la partie postérieure du MO, et un grand nombre de projections depuis la partie antérieure du MO vers le core du NAc (Bradfield et al., 2018). Étant donné le rôle de ces deux structures (antMO ; NAc) dans l'expression de la dévaluation comme nous avons pu le souligner (Bradfield et al., 2015, 2018; Corbit et al., 2001), la mise en place de ce comportement pourrait notamment être médiée par les projections antMO vers NAc-core (Bradfield et al., 2018). Le PL semble consolider l'association A-O notamment au travers de projections de neurones pyramidaux vers le pDMS, tandis que les projections vers le core du NAc ne semblent pas impliquées dans ce processus. D'autre part, le blocage de ces projections PL→pDMS empêche la phosphorylation ERK/MAPK induite par l'acquisition instrumentale (Hart, Bradfield, & Balleine, 2018; Hart, Bradfield, Fok, et al., 2018). Ces données suggèrent donc un rôle majeur de projection corticostriatales spécifiques dans l'expression d'un conditionnement instrumental.

Au-delà du circuit corticostriatal, plusieurs structures connectées à ce circuit semblent jouer un rôle important dans la mise en place de réponses flexibles. On peut par exemple citer l'amygdale basolatérale (BLA), qui semble jouer un rôle central dans les processus impliquant l'utilisation de la valeur de la récompense pour guider l'action. Les connexions entre la BLA et le cortex insulaire (IC) sont nécessaires pour adapter la réponse à un changement de valeur de la récompense lors d'une procédure de dévaluation (Parkes & Balleine, 2013). L'inactivation des projections de la BLA vers le core du NAc - et non vers le shell - altère l'expression des performances instrumentales à la suite d'une dévaluation de la récompense (Shiflett & Balleine, 2010), tout comme l'inhibition des projections de l'IC vers le core du NAc - et non celles vers la BLA (Parkes et al., 2015). Ces données suggèrent donc l'implication d'un circuit entre ces trois structures dans l'encodage et l'extraction de la valeur d'une récompense lors d'une tâche instrumentale nécessitant de s'adapter au changement de cette valeur (Turner & Parkes, 2020). La BLA est également réciproquement connectée aux structures préfrontales et bien que le PL et la BLA soient nécessaires à la

formation de l'association A – O, des données suggèrent que ce n'est pas le cas des interactions directes entre ces deux structures (Coutureau et al., 2009).

Le thalamus médiodorsal (MD) est également connecté de façon réciproque au mPFC. L'inhibition des projections du MD vers le PL – et non pas celles du PL vers le MD – altère le processus de dégradation de contingence tandis que les déconnexions MD vers PL et PL vers MD perturbent la procédure de dévaluation, suggérant l'implication de l'interconnexion entre ces structures dans la mise en place d'adaptations comportementales distinctes (Alcaraz et al., 2018).

Cette description non exhaustive nous indique ainsi l'importance de considérer le réseau dans lequel s'insèrent les structures corticales et striatales de façon plus globale dans la mise en œuvre de la flexibilité comportementale et pas uniquement le rôle de ces régions étudiées de façon indépendante.

~

Cette partie nous a donc permis de mettre en évidence le rôle clé de sous-divisions du cortex préfrontal et du striatum dans divers comportements mis en œuvre dans le but d'obtenir une récompense et impliquant l'adaptation de la réponse en question. Ces comportements impliquent des formes variées de flexibilité comportementale, qui peuvent être mises en évidence au travers de tests évaluant l'adaptation d'une réponse à un changement de valeur de la récompense ou à une modification de la contingence entre la réponse instrumentale et la récompense.

De nombreuses études indiquent que l'activité du striatum est modulée par la transmission dopaminergique issue du mésencéphale, et des données suggèrent également que l'activité des neurones du PFC et notamment du mPFC est régulée par la dopamine. Ce neuromodulateur, impliqué dans une variété de fonctions, a en grande partie été étudié dans le contexte de la motivation (Berridge, 2007, 2012; J. D. Salamone et al., 2016; J. D. Salamone & Correa, 2012). Nous allons ici nous pencher sur son rôle dans les processus de flexibilité comportementale au sein des structures étudiées précédemment.

III. Transmission dopaminergique mésocorticolimbique et flexibilité comportementale

A. Pathologies psychiatriques et altérations de la transmission dopaminergique

Nous avons pu voir en fin de première partie que plusieurs pathologies psychiatriques étaient associées à des troubles des fonctions exécutives et particulièrement de la flexibilité comportementale, en lien avec l'activité aberrante de certaines structures corticales et striatales. Une littérature fournie suggère également que ces pathologies sont associées à une altération de la transmission dopaminergique mésocorticolimbique.

Concernant la schizophrénie de nombreuses données suggèrent qu'une perturbation de la transmission dopaminergique et des anomalies de la signalisation glutamatergiques sont impliquées dans l'étiologie des symptômes cognitifs et psychotiques. Des données d'imagerie (PET) chez des patients schizophrènes révèlent en effet une densité élevée de récepteurs de la dopamine de type D2 (D2R) en comparaison à des sujets sains (Pearlson et al., 1995; Wong et al., 1997), une occupation élevée à l'état basal des récepteurs D2/D3 du striatum indiquant des niveaux élevés de dopamine synaptique (Abi-Dargham et al., 2000; Kegeles et al., 2010), en parallèle d'une diminution de la libération de dopamine dans le dlPFC, suggérant une hypofonction dopaminergique préfrontale, corrélée à une altération des fonctions exécutives (Slifstein et al., 2015). Certaines études révèlent également une diminution de la liaison de ligands au récepteur D1 dans le striatum et dans le cortex préfrontal en association avec des déficits de fonctions exécutives (Kosaka et al., 2010; Okubo et al., 1997).

Chez des patients bipolaires présentant des épisodes psychotiques, on détecte également une élévation de la densité de récepteurs D2 par rapport à des sujets contrôles (Pearlson et al., 1995; Wong et al., 1997). Des données montrent également que le système de la récompense est suractivé lors des phases de manie, et qu'une plus grande disponibilité du transporteur de la dopamine est observée lors des phases de dépression (Ashok et al., 2017).

Dans le contexte de l'addiction, de nombreuses études montrent de faibles niveaux de D2R ainsi qu'une réduction de la disponibilité des récepteurs dans le striatum de patients addicts, cette réduction ayant par ailleurs été corrélée à une réduction d'activité de l'OFC et du dlPFC (Volkow et al., 2009).

Dans la dépression majeure, on constate une augmentation du potentiel de liaison au récepteur D2 dans le striatum, associée à une réduction de connectivité avec les structures corticales (J. P. Hamilton et al., 2018; Meyer et al., 2006). Ces résultats suggèrent un faible niveau de dopamine dans le striatum chez les sujets souffrant de cette pathologie.

Cette liste est non exhaustive, mais nous voyons ainsi que de nombreuses pathologies psychiatriques ont en commun d'être associées à des perturbations de la transmission dopaminergique, en lien avec les structures impliquées dans les processus de traitement de la récompense et de flexibilité comportementale.

B. La dopamine : caractéristiques d'un neuromodulateur aux fonctions multiples

La dopamine (DA ; contraction de 3,4-dihydroxyphenéthylamine, $C_8H_{11}NO_2$) fait partie de la famille des catécholamines (CAs), et a été initialement identifiée comme un précurseur de la noradrénaline (NE). La dopamine est produite à partir de l'acide aminé L-tyrosine, issue de la conversion de la phénylalanine par la phénylalanine hydroxylase, puis convertie en L-DOPA (3,4-dihydroxyphénylalanine) par l'enzyme Tyrosine Hydroxylase (TH), et enfin convertie en dopamine par l'enzyme DOPA-décarboxylase (Acide L-aminé aromatique décarboxylase) comme résumé sur la **Figure 13**. Après sa synthèse cytoplasmique ou bien sa recapture par le transporteur de la dopamine (DAT), la DA est stockée dans des vésicules par le

transporteur de monoamine vésiculaire 2 (VMAT2) dans lesquelles elle reste jusqu'à sa libération (Morales & Margolis, 2017).

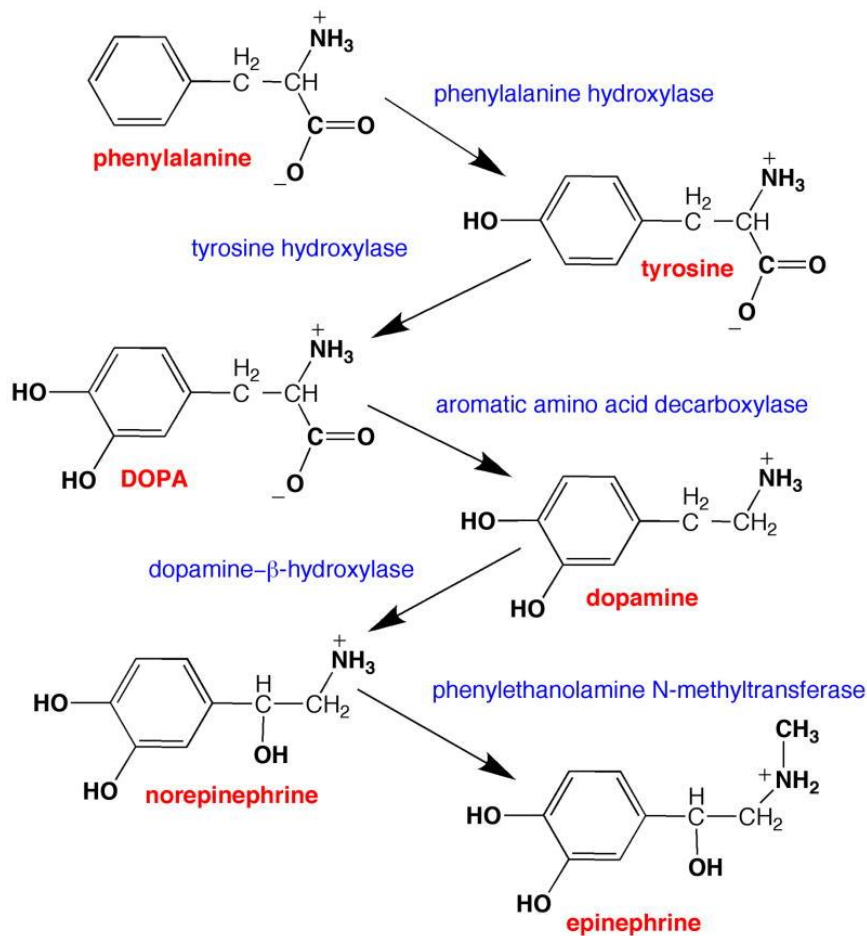


Figure 13 : Voie de synthèse de la dopamine (Daubner et al., 2011)

Dans les années 1950, les travaux de Carlsson ont montré un rôle majeur de la dopamine dans le mouvement. Des souris et lapins rendus cataplectiques par injection intrapéritonéale de réserpine, connue pour empêcher le stockage vésiculaire des CAs en bloquant les transporteurs vésiculaires des monoamines (VMAT), ont retrouvé une motricité normale après injection de L-DOPA (levodopa; L-3,4-dihydroxyphénylalanine), précurseur de la DA (Carlsson et al., 1957; Tritsch & Sabatini, 2012). A partir de là, une branche des neurosciences a commencé à investiguer l'implication de la dopamine dans les comportements et à élucider le fonctionnement des circuits neuronaux sous-jacents dans le but de déterminer les mécanismes cellulaires et moléculaires sous-tendant ces effets. Depuis lors, de nombreuses études ont pu mettre en évidence l'implication de la DA dans plusieurs pathologies neurologiques et troubles psychiatriques tels que la maladie de Parkinson, la maladie de Huntington, le trouble du déficit de l'attention avec ou sans hyperactivité (ADHD), la schizophrénie ou encore l'addiction. Une littérature pléthorique (près de 180,000 résultats PubMed pour « dopamine » au moment de la rédaction, avec plus de 5500 résultats par an sur les dix dernières années) a pu montrer un rôle majeur de cette molécule dans une diversité de fonctions comme le contrôle fin du mouvement et des processus cognitifs de haut niveau tels que l'apprentissage, la mémoire de travail, l'attention, la prise de décision, la motivation ou l'erreur de prédiction de la récompense, dernier processus que nous détaillerons par la suite (Klein et al., 2019; Schultz, 2016; Tritsch & Sabatini, 2012). Cependant la multiplicité d'action de la DA et la complexité du réseau dans lequel elle s'insère ne permet pas encore une compréhension totale des mécanismes médiant ces divers effets comportementaux et des résultats divergents subsistent sur son rôle dans certaines fonctions.

Depuis les années 1960, les différentes études s'étant penché sur l'origine de la dopamine dans le CNS ont pu mettre en évidence l'existence de neuf noyaux produisant de la DA au sein du cerveau des mammifères (aires A8-A16, **Figure 14**) (Björklund & Dunnett, 2007; Dahlstroem & Fuxe, 1964), les neurones au sein de chacun de ces noyaux se distinguant par une différence de projections, de propriétés électrophysiologiques ou encore par l'expression de certaines molécules telles que des enzymes, des transporteurs membranaires et vésiculaires, des neuropeptides, etc.

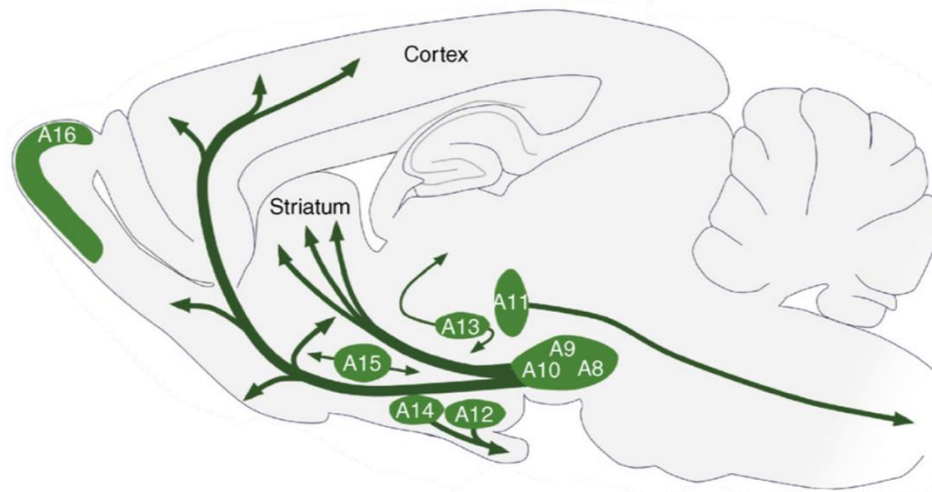


Figure 14 : Noyaux dopaminergiques chez le rongeur adulte (Björklund & Dunnett, 2007)

Les deux noyaux les plus étudiés sont la substance noire compacte (A9) et l'aire tegmentale ventrale (A10) au vu de leur rôle prépondérant dans l'étiologie de la maladie de Parkinson, et dans la signalisation de la récompense et dans le renforcement, respectivement. Ces deux structures produisent le gros de l'afflux de DA vers le circuit des ganglions de la base et le prosencéphale et contiennent la majeure partie des neurones dopaminergiques du CNS. Chez la souris (souche *C57BL/6*), le mésencéphale compte plus de 21,000 neurones dopaminergiques répartis à 38% dans l'aire A9 (SNc) et 51% dans l'aire A10 (VTA) (le reste dans l'aire A8) (E. I. Nelson et al., 1996). À titre de comparaison, on dénombre entre 160,000 et 320,000 neurones TH+ entre ces trois groupes chez le primate non-humain et entre 400,000 et 600,000 chez l'humain (Björklund & Dunnett, 2007). Le cerveau de la souris (souche *Swiss*) comptant environ 70 millions de neurones (Herculano-Houzel et al., 2006) et en prenant en compte une marge d'erreur entre les deux souches, les neurones DA ne représenteraient que 0,03% du total des neurones du cerveau. Cette proportion assez faible contraste avec l'ampleur des effets comportementaux mentionnés, soulevant ainsi la question de la manière avec laquelle ces neurones exercent leur influence sur les structures ciblées. En 2009, Matsuda et collègues ont mis en évidence l'arborisation de grande ampleur des neurones dopaminergiques de la SNc chez le rat (**Figure 15**). En effet, l'axone d'un neurone DA individuel de la SNc mesure en moyenne près de 50cm, ramifiés en moyenne sur un volume de 0,54mm³, et influence en moyenne 2,7% du striatum, soit 75,000 neurones striataux (Matsuda et al., 2009). Par ailleurs, les neurones dopaminergiques sont spontanément actifs à de basses fréquences (1-8Hz) constituant une activité dite « tonique », qui s'établit sur une échelle temporelle relativement lente (minutes) qui peut être ajustée par des pics ou chutes d'activité. Ces pics d'activité constituent le mode « phasique » de décharge, avec des transients d'une durée inférieure à 500ms à des fréquences supérieures à 15Hz (Floresco, 2015; Floresco et al., 2003; Klein et al., 2019; C. Liu et al., 2021; Tritsch & Sabatini, 2012). Ces modes de décharge peuvent activer les récepteurs dopaminergiques de manière différentielle : la décharge tonique permet l'activation des récepteurs ayant une grande affinité pour la DA (D2R) tandis que la décharge phasique résulte en une plus grande concentration de dopamine extracellulaire permettant l'activation des récepteurs ayant une

affinité basse pour la DA (D1R) (Grace et al., 2007; Klein et al., 2019; Marcellino et al., 2012; Tritsch & Sabatini, 2012; Volkow et al., 2017).

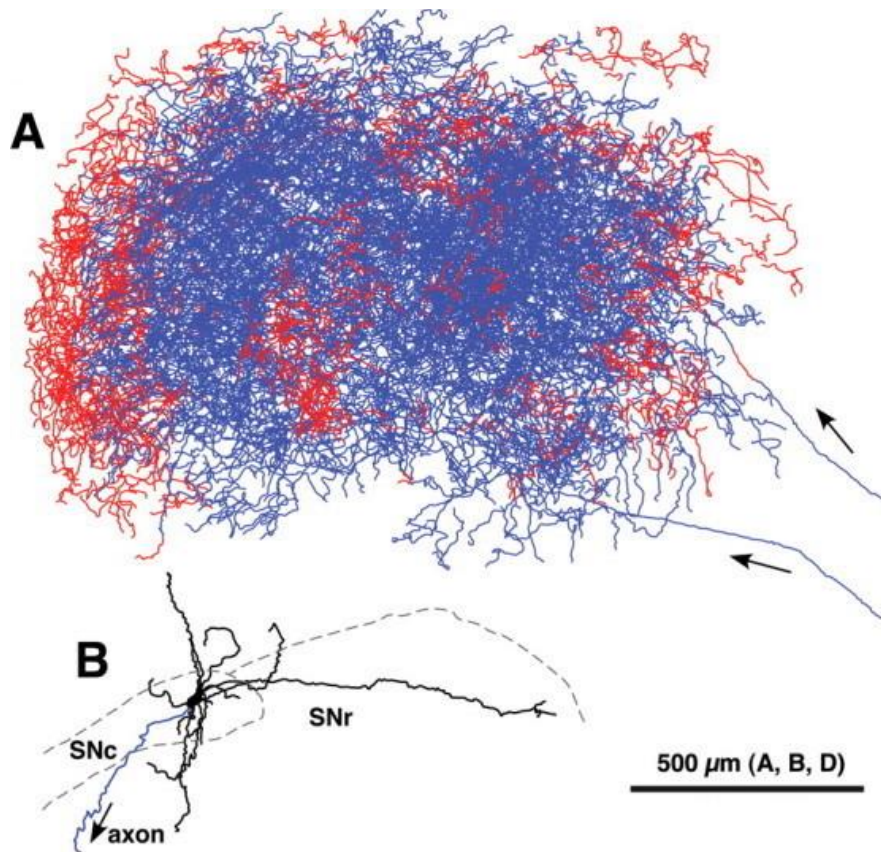


Figure 15 : Reconstruction d'un neurone dopaminergique de la SNc

A, Portion axonale dans le striatum. B, Dendrites dans la SNc. Lignes rouges et bleues : fibres axonales dans le striosome ou la matrice, respectivement. SNc : substance noire compacte ; SNr : substance noire réticulée. (Matsuda et al., 2009)

Un grand nombre d'études suggère qu'à la différence de la transmission synaptique classique de neurotransmetteurs tels que le glutamate ou le GABA, la dopamine diffuse en grande partie de façon volumique (Agnati et al., 1995; Fuxe et al., 2015). Les axones dopaminergiques forment des varicosités, compartiments élargis remplis de vésicules contenant de la DA, dont les propriétés de libération de DA peuvent grandement varier. De plus en plus d'études suggèrent que certaines varicosités pourraient libérer de la DA de manière similaire aux « zones actives » présynaptiques des synapses (C. Liu et al., 2018, 2021), sous forme d'une synapse dopaminergique (Descarries et al., 1996; Paget-Blanc et al., 2022; Uchigashima et al., 2016) (Figure 16).

En parallèle, il existe une diversité dans la distribution des récepteurs D1 et D2 au niveau cellulaire. Des études sur les MSNs du striatum révèlent une expression de ces deux récepteurs de manière périssynaptique (<100nm de la synapse) ou extrasynaptique (>100nm de la synapse), les D1R pouvant être localisés au niveau du soma, du « cou » des épines dendritiques, ou sur les épines elles-mêmes, et les D2R sur les dendrites distales (Caillé et al., 1996; S. Sesack et al., 1994; Uchigashima et al., 2016; Yung et al., 1995).

Il convient de noter que les effets de la DA sont d'autant plus importants que les neurones sont dans un état élevé d'excitabilité (« up state »), au travers des afférences glutamatergiques, et son action est plus ténue lorsque ces neurones sont dans un état moins actif (« down state »). Dans le striatum, la fonction principale de la transmission dopaminergique est donc de moduler l'impact des afférences excitatrices glutamatergiques sur l'activité des MSNs (Floresco, 2015).

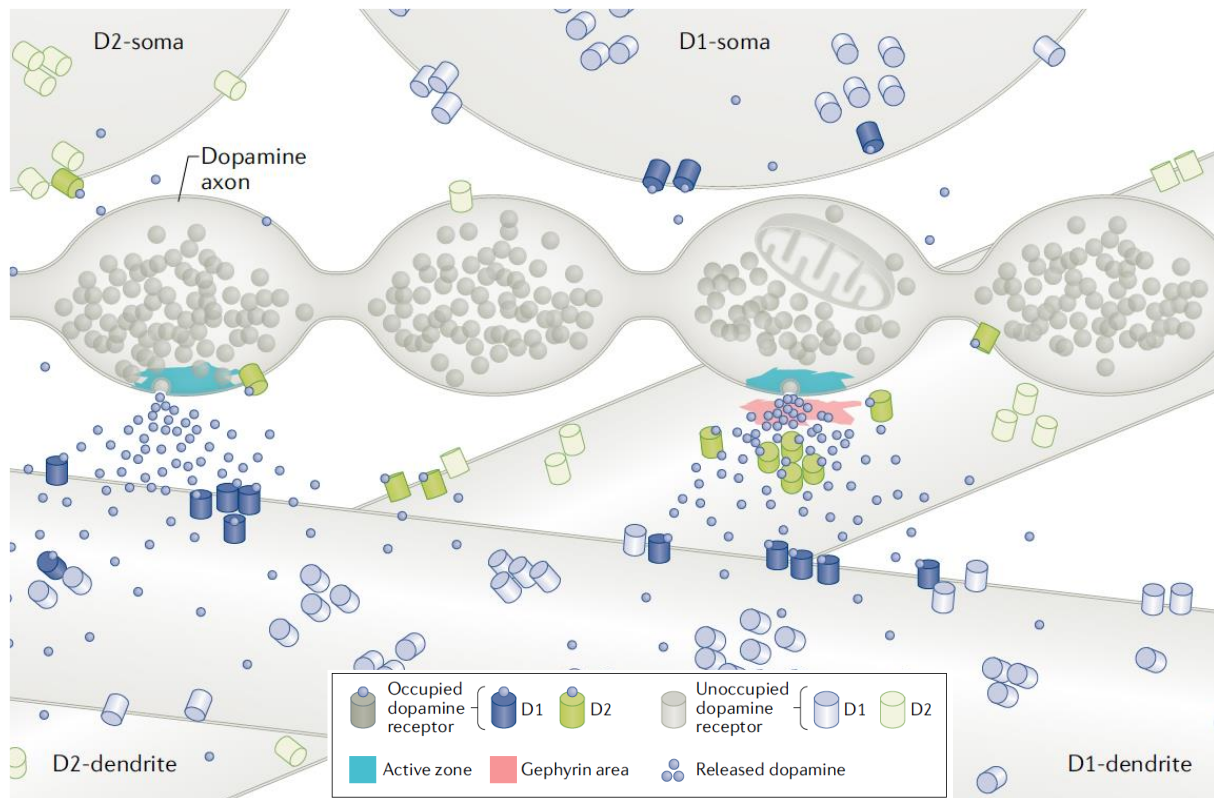


Figure 16 : Modèle fonctionnel de l'organisation de la libération de dopamine par des varicosités synaptiques et non synaptiques du striatum (C. Liu et al., 2021)

Récepteurs dopaminergiques

Les récepteurs de la dopamine font partie de la famille des GPCRs ou récepteurs à sept domaines transmembranaires. Les GPCRs transmettent leur signalisation intracellulaire par interaction avec des protéines G. Lorsqu'un ligand extracellulaire vient se lier au GPCR, le changement de conformation du récepteur vient activer la protéine G. Les protéines G sont composées d'un complexe hétérotrimérique formé par les sous-unités α , β , et γ . A l'état inactif, les protéines G sont liées au guanosine5'diphosphate (GDP). L'activation de la protéine G entraîne le passage du guanosine5'triphosphate (GTP) au GDP au sein de la sous-unité α . Une fois les sous-unités activées, la protéine G module le fonctionnement de divers effecteurs tels que des enzymes, des canaux ioniques et des facteurs de transcription. Lorsque la protéine G repasse à l'état inactif, le GTP est hydrolysé en GDP, ce qui a pour conséquence le réassemblage du complexe α , β , et γ . On distingue plusieurs familles de GPCR, la plupart des récepteurs GPCRS de neurotransmetteurs appartenant au groupe A ou *rhodopsin-like*, comme c'est le cas pour les récepteurs dopaminergiques (Weis & Kobilka, 2018).

Sur la base de leurs propriétés structurales, pharmacologiques et biochimiques, les récepteurs de la dopamine ont été divisés en deux catégories : les récepteurs de type D1 d'une part comprenant les récepteurs D1 (D1R) et D5 (D5R), et les récepteurs de type D2 d'autre part comprenant les récepteurs D2 (D2R), D3 (D3R) et D4 (D4R) (Beaulieu & Gainetdinov, 2011; Sokoloff et al., 1992; Tiberi et al., 1991). Ces récepteurs sont largement exprimés dans le cerveau mais également en périphérie, où l'on retrouve l'ensemble des récepteurs exprimés en proportions variables dans plusieurs organes dont les reins, l'appareil digestif, les vaisseaux sanguins ou encore le cœur (Beaulieu & Gainetdinov, 2011).

Nous allons à présent détailler les caractéristiques de chacune de ces catégories de récepteurs dopaminergiques au regard de leur mécanisme d'action et de leur expression dans le cerveau.

Les récepteurs de type D1

Il sont localisés uniquement en postsynaptique, sur les neurones recevant de la dopamine (neurones dopaminoceptifs) (Beaulieu & Gainetdinov, 2011; Missale et al., 1998). Dans le cerveau, D1R est fortement exprimé dans le striatum dorsal, le NAc, la SN, les bulbes olfactifs, l'amygdale et le cortex frontal, et plus modestement exprimé dans l'hippocampe, le cervelet, le thalamus, et l'hypothalamus. D5R est exprimé à des niveau relativement bas dans plusieurs structures telles que le PFC, le cortex prémoteur, la SN, l'hypothalamus ou l'hippocampe. De très faibles niveau de D5R ont été mis en évidence dans les MSNs du striatum dorsal et du NAc (Beaulieu & Gainetdinov, 2011; Gangarossa, Espallergues, de Kerchove d'Exaerde, et al., 2013; Gangarossa, Espallergues, Mailly, et al., 2013; Missale et al., 1998; Rankin et al., 2009).

Du point de vue de leur signalisation, les D1R activent les protéines G de type $G_{\alpha_s/olf}$ qui stimulent la production d'adénosine monophosphate cyclique (AMPC) par activation de l'adénylate cyclase (AC). L'élévation des niveaux d'AMPC active la protéine kinase A (PKA), induisant la phosphorylation de molécules cibles telles que DARPP-32 (phosphoprotéine régulée par la dopamine et l'AMPC), des récepteurs ionotropiques au glutamate (iGluRs) comme le récepteur NMDA, ou encore divers facteurs de transcription tels que CREB (protéine de liaison de l'élément de réponse à l'AMPC). La PKA induit également l'activation des canaux ioniques voltage dépendants au Ca^{2+} de type L ainsi que l'inhibition des canaux potassiques. DARPP-32 est principalement exprimé dans les MSNs (D1- et D2-) et module de manière bidirectionnelle la PKA, par son action inhibitrice sur la protéine phosphatase 1 (PP1), PP1 inhibant à son tour l'activité de la PKA (Beaulieu & Gainetdinov, 2011; Girault & Nairn, 2021; Soares-Cunha, Coimbra, Sousa, et al., 2016; Svenningsson et al., 2004). La stimulation de D1R augmente également l'entrée de Ca^{2+} par les récepteurs NMDA, activant ainsi un certain nombre de voies de signalisation, dont la voie MEK-ERK1/2, qui peut également être désinhibée par la phosphorylation de DARPP-32, aboutissant alors à la modulation de la transcription des gènes cibles (Beaulieu & Gainetdinov, 2011). Les principales voies de signalisation recrutées par l'activation de D1R sont représentées dans la **Figure 17**. L'activation de ces voies de signalisation par la dopamine ou par un agoniste de D1R conduit donc à une augmentation de l'activité neuronale globale.

Les récepteurs de type D2

Leur motif d'expression cellulaire contraste avec celui des récepteurs de type D1 : D2R et D3R peuvent être exprimés en postsynaptiques sur les neurones dopaminoceptifs mais également en présynaptique sur les neurones dopaminergiques (Beaulieu & Gainetdinov, 2011; Missale et al., 1998). Une autre distinction réside dans la structure génétique de ces récepteurs. Contrairement à D1R et D5R, les récepteurs de type D2 possèdent des introns dans leur séquence génétique, conduisant à l'existence d'une diversité d'isoformes de ces récepteurs. On peut notamment mentionner deux variants du récepteur D2 qui sont considérablement étudiés : D2S (*D2-short*, court) et D2L (*D2-long*) qui diffèrent de 29 acides aminés au niveau de la 3^{ème} boucle intracellulaire (IL3). D2S est principalement exprimé de manière présynaptique et impliqué dans les fonctions d'autorécepteur tandis que D2L semble être exprimé principalement en postsynaptique (De Mei et al., 2009; Giros et al., 1989; Usiello et al., 2000).

On retrouve les niveaux les plus élevés de D2R dans le striatum dorsal, le NAc et le tubercule olfactif. Son expression est également importante dans la SN, la VTA, l'hypothalamus, les aires corticales, le septum, l'amygdale et l'hippocampe. Le récepteur D3 a une distribution moins étendue. On le retrouve exprimé à son plus haut niveau dans les aires limbiques telles que le shell du NAc ou le tubercule olfactif. En moindre mesure, D3R est également détecté dans le striatum, la SNC, la VTA, l'hippocampe, le septum et plusieurs

aires corticales. Le D4R est le récepteur avec le niveau d'expression le plus faible. Son expression est détectée dans le cortex frontal, l'amygdale, l'hippocampe, l'hypothalamus, le GP, la SNr et le thalamus (Beaulieu & Gainetdinov, 2011; Gangarossa, Espallergues, de Kerchove d'Exaerde, et al., 2013; Gangarossa, Espallergues, Mailly, et al., 2013; Missale et al., 1998; Rankin et al., 2009).

Les récepteurs de type D2, et particulièrement D3R et D4R présentent une forte affinité (variant d'un facteur 10 à 100) pour la dopamine en comparaison des récepteurs de type D1, et particulièrement D1R (Beaulieu & Gainetdinov, 2011; Soares-Cunha, Coimbra, Sousa, et al., 2016; Tritsch & Sabatini, 2012).

Au contraire des récepteurs de type D1, les récepteurs de type D2 se couplent aux protéines G de type $G\alpha_{i/o}$, induisant ainsi une inhibition de l'AC et de la production d'AMPc, réduisant donc l'activation de la PKA et de la signalisation qui en découle. Des réponses médiées par l'activation de la protéine $G\beta\gamma$ peuvent également avoir lieu. C'est notamment le cas de l'inhibition des canaux ioniques au Ca^{2+} de type L, de l'activation de la phospholipase C (PLC) et de la protéine kinase C (PKC), augmentant l'IP3 (inositol trisphosphate) et la mobilisation des réserves de Ca^{2+} . Cela conduit alors d'une part à l'activation de la calcineurine par la calmoduline (CaM) entraînant le blocage de l'activité des canaux ioniques au Ca^{2+} de type L, et entraîne d'autre part l'activation de facteurs de transcription tels que MeCP2 au travers de l'activation de CAMKII (protéine kinase dépendante du calcium et de la calmoduline de type II) (Beaulieu & Gainetdinov, 2011; Soares-Cunha, Coimbra, Sousa, et al., 2016). D'autres voies de signalisation peuvent par ailleurs être recrutées par l'activation de ces récepteurs, mais ne seront pas détaillées ici. De la même manière que pour les D1R, les principales voies de signalisation recrutées par l'activation de D2R sont représentées dans la **Figure 17**. L'activation des récepteurs D2 par la dopamine ou par un agoniste conduit donc à une réduction de l'activité neuronale.

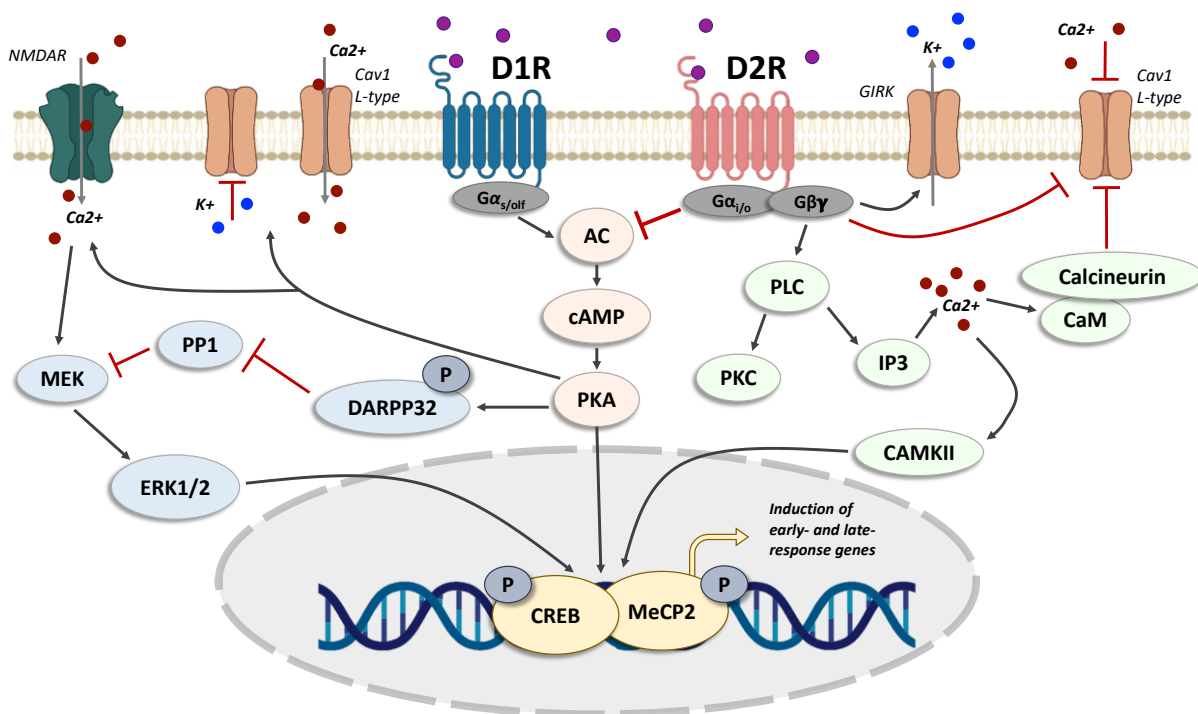


Figure 17 : Schéma simplifié des voies de signalisations recrutées par l'activation des récepteurs dopaminergiques D1 et D2, d'après (Beaulieu & Gainetdinov, 2011; Soares-Cunha, Coimbra, Sousa, et al., 2016). AC : adénylate cyclase ; cAMP : adénosine monophosphate cyclique ; PKA : protéine kinase A ; CaM : calmoduline ; CAMKII : protéine kinase dépendante du calcium et de la calmoduline de type II ; Cav1 L-type : canal calcique de type L dépendant du voltage ; CREB : protéine de liaison de l'élément de réponse à l'AMPc ; D1R : récepteur de la dopamine D1 ; D2R : récepteur de la dopamine D2 ; ERK1/2 : kinases régulées par un signal extracellulaire 1/2 ; GIRK : courant potassique rectifiant activé par les protéines G ; IP3 : inositol trisphosphate ; MeCP2 : protéine de liaison du méthyl-CpG 2 ; MEK : protéine kinase activée par un agent mitogène ; PLC :

est stocké dans des vésicules par le transporteur vésiculaire du GABA (VGAT ou VIAAT). Les neurones GABAergiques sont exprimés à travers la VTA et peuvent être identifiés par un marquage GAD65/67 ou VGAT. De la même manière que pour les neurones dopaminergiques, leur composition est hétérogène notamment par leur expression de certains marqueurs tels que PV ou CCK (Olson & Nestler, 2007), ou bien par leur réponse à l'activation de certains récepteurs qu'ils expriment tels que D2R ou le récepteur aux opioïdes μ (Margolis et al., 2012).

Dans le CNS, le glutamate est produit à partir de glutamine par l'enzyme glutaminase, présente dans tous les neurones et la glie. La présence de glutamate dans la VTA a été établie par la démonstration de l'expression d'ARNm encodant le transporteur vésiculaire du glutamate 2 (VGLUT2). Ces neurones sont particulièrement présents dans la partie médiane de la VTA, où leur nombre dépasse celui des neurones TH+ (Kawano et al., 2006; Yamaguchi et al., 2007, 2015). L'étude de ces neurones chez des souris transgéniques VGLUT2-cre a permis de montrer qu'ils libèrent du glutamate (Hnasko et al., 2012; H.-L. Wang et al., 2015). Ces neurones existent également chez les primates non-humain et chez les humains (Root et al., 2016).

Co-expression

Neurones co-libérant de la DA et du glutamate

Il a été montré que certains neurones TH+ de la VTA (mais pas de la SNc) expriment le gène encodant VGLUT2 (*Slc17a6*). Ces neurones se situent principalement dans la portion médiane de la VTA et ne représentent qu'une faible proportion des neurones TH+ ou VGLUT2+ (Yamaguchi et al., 2011). Ces neurones ont également été décrits chez l'humain et le primate non-humain. Ils expriment la DOPA-décarboxylase et ont donc la capacité à synthétiser de la DA, cependant des sous-ensembles n'expriment pas VMAT2 ou DAT, indispensables à son stockage et à sa recapture (X. Li et al., 2013). Deux mécanismes de libération ont été proposés : une libération d'un pool commun de vésicules contenant la DA ou le glutamate d'après des résultats *in vitro* (Hnasko et al., 2010) et une libération de deux pools distincts. Plusieurs études remettent en cause la première hypothèse, les co-immunoprécipitations et co-marquages immunohistochimiques sur des extraits de NAc n'ayant pas montré de colocalisation (S. Zhang et al., 2015) et des données chez le rat penchent plus vers la seconde hypothèse, des axones de la VTA contactant le NAc contenant des pools indépendants de vésicules (Silm et al., 2019), suggérant une ségrégation de ces vésicules dans des microdomaines axonaux, au sein du même axone (S. Zhang et al., 2015). Un axone de ce type contactant le NAc pourrait donc à la fois fournir une transmission excitatrice rapide par la libération de glutamate et plus lente par une signalisation modulatrice induite par la libération de DA (Eskenazi et al., 2021).

Neurones co-libérant de la DA et du GABA

Une faible proportion des neurones TH+ de la VTA expriment GAD65/67. Ils peuvent cibler l'habénula latérale (LHb), expriment rarement VMAT2 et ne présentent pas une libération axonale de DA dans la LHb (Root et al., 2014; Stamatakis et al., 2013). Ces neurones libèrent du GABA dans le LHb par accumulation vésiculaire médiée par VGAT (Stamatakis et al., 2013), et également dans le NAc et striatum dorsal, mais depuis des axones de neurones TH+, exprimant VMAT2 mais pas GAD65/67 ni VGAT (J.-I. Kim et al., 2015; Tritsch et al., 2014). Ce GABA n'étant pas synthétisé dans le neurone, il est capturé depuis l'environnement extracellulaire par les transporteurs du GABA 1 ou 4, qui seraient présent dans la membrane des terminaisons dopaminergiques (Tritsch et al., 2014). Et VGAT n'étant pas exprimé pour permettre le stockage vésiculaire, le GABA est accumulé par VMAT2 dans des vésicules contenant également de la DA (J.-I. Kim et al., 2015; Tritsch et al., 2014). Il a par ailleurs été montré que les neurones dopaminergiques

pouvaient synthétiser le GABA par un mécanisme impliquant l'aldéhyde déshydrogénase de la famille 1 -A1 (ALDH1A1) (J.-I. Kim et al., 2015).

Neurones co-libérant du GABA et du glutamate

Enfin, parmi les neurones TH- de la VTA, un sous-ensemble exprime à la fois VGLUT2 et GAD65/67 et VGAT. Certains d'entre eux contactent la LHB et certains terminaux axoniques contiennent à la fois VGLUT2 et VGAT et établissent des synapses adjacentes sur les neurones de cette structure (Root et al., 2014). L'activation de ces projections peut induire une inhibition rapide suivie d'une excitation ou bien le contraire, suggérant que cette transmission pourrait permettre une spécificité temporelle précise (Root et al., 2014). Une sous-population de neurones TH+ exprime également VGLUT2 et GAD65/67 mais on ne sait pas à l'heure actuelle si ces neurones libèrent ces trois neurotransmetteurs (Root et al., 2014; Stamatakis et al., 2013; Yamaguchi et al., 2011).

3. Afférences

La VTA reçoit des afférences de différentes structures, mais également des afférences locales des trois types principaux de neurones décrits précédemment.

Les neurones dopaminergiques de la VTA reçoivent des afférences glutamatergiques depuis plusieurs structures dont le mPFC, la LHB, le PAG ou le raphé dorsal (DR), et des afférences GABAergiques notamment depuis le NAc (voir ci-dessous), le VP, le LH ou le DR. Les neurones GABAergiques reçoivent entre autres des afférences glutamatergiques du mPFC, du LHB, du LH ou du DR, et GABAergiques parmi lesquelles certaines viennent du DR, du LH ou du NAc (voir ci-dessous). De manière locale, les neurones dopaminergiques peuvent être contactés par des neurones GABAergiques ou glutamatergiques (Morales & Margolis, 2017).

Des divergences subsistent cependant concernant les groupes de neurones de la VTA ciblés par ces afférences, selon les méthodes de traçage utilisées. C'est notamment le cas des afférences sur les neurones dopaminergiques. Certaines études montrent que les projections du NAc atteignent directement ces neurones (Beier et al., 2015; Faget et al., 2016; Watabe-Uchida et al., 2012) tandis que d'autres soutiennent qu'elles ciblent les neurones GABAergiques de la VTA (Xia et al., 2011). Une autre divergence concerne la connectivité des afférences du mPFC sur les neurones dopaminergiques de la VTA, les neurones ciblés projetant à leur tour sur le mPFC ou bien sur le NAc latéral (Beier et al., 2015; Carr & Sesack, 2000). Le récepteur D2 n'est pas seulement exprimé sur les neurones dopaminergiques de la VTA, mais également sur certains neurones GABAergiques et glutamatergiques (Hnasko et al., 2012; Margolis et al., 2012), la libération locale de DA pouvant ainsi réguler d'autres neurones que les dopaminergiques.

4. Efférences

Les MSNs du NAc sont la cible principale des projections dopaminergiques de la VTA (exprimant DAT, D2R et VMAT2) (Pickel et al., 1988) et les neurones dopaminergiques projettent également vers d'autres structures parmi lesquelles l'amygdale, le cortex, l'hippocampe, le VP ou le LC. La DA est impliquée dans des fonctions variées au sein de ces structures. Dans l'hippocampe par exemple, la dopamine joue un rôle dans plusieurs types de fonctions cognitives telles que la détection de la nouveauté ou encore dans le stockage de la mémoire à long terme (Lisman & Grace, 2005; Wise, 2004). Certaines caractéristiques de ces neurones dépendent des structures ciblées : les neurones dopaminergiques projetant vers le mPFC ont des niveaux de DAT faible en comparaison aux autres structures (Lammel et al., 2008; S. R. Sesack et al., 1998), et chez la souris, le récepteur D2 n'y est pas exprimé (Lammel et al., 2008). Il a été montré de plusieurs manières que les neurones GABAergiques de la VTA projetaient sur les CINs du NAc (Brown et al., 2012) et sur les neurones glutamatergiques de la LHB (Root et al., 2014). D'autres structures de projections putatives

de ce type de neurones restent à confirmer. Il en va de même pour les projections des neurones glutamatergiques de la VTA, les seules projections confirmées sont celles sur les interneurons PV+ du NAc (Qi et al., 2016) et celles sur les neurones glutamatergiques de la LHB (Root et al., 2014). Concernant les neurones co-libérant ces neurotransmetteurs, les neurones DA/Glut libèrent du glutamate au contact des MSNs et des CINs en parallèle de la libération de DA, principalement dans le shell médian du NAc. Ce type de neurones cible également le mPFC (couches profondes de l'IL et du PL (Poulin et al., 2018)), où l'influence sur les neurones pyramidaux semble être faible (Mingote et al., 2015), en comparaison de l'effet excitateur de la libération de glutamate sur les interneurons PV+, ce qui aboutit à l'inhibition des neurones pyramidaux (Kabanova et al., 2015). Les neurones GABA/Glut projettent vers les neurones glutamatergiques de la LHB où ils établissent des synapses inhibitrices et excitatrices comme expliqué précédemment. Enfin, comme détaillé auparavant également, les neurones DA/GABA peuvent contacter les MSNs du striatum dorsal et du NAc (J.-I. Kim et al., 2015; Tritsch et al., 2014).

D. Voie mésocorticale : PFC et dopamine

1. Afférences dopaminergiques

De nombreuses études ont montré que le mPFC reçoit des afférences dopaminergiques en provenance de la VTA (Ellwood et al., 2017; Garris et al., 1993; Hedou et al., 2001; Lavin et al., 2005; Phillips et al., 2004; Thierry et al., 1973) et que l'innervation dopaminergique dans le mPFC est plus forte que celle des portions ventrolatérales de l'OFC (Cerpa et al., 2021; M. J. M. Murphy & Deutch, 2018). La VTA ventromédiane semble cibler particulièrement les couches profondes de l'IL et du PL (Condé et al., 1995; Poulin et al., 2018). Les circuits excitateurs mais également inhibiteurs du mPFC reçoivent des afférences dopaminergiques du mésencéphale. En effet, les terminaisons dopaminergiques contactent les épines dendritiques des neurones pyramidaux des couches profondes du mPFC (Carr & Sesack, 1996; Pérez-López et al., 2018). Des études ont par ailleurs montré que des fibres mésocorticales contactaient des interneurons du mPFC et plus particulièrement les PV+ (Kabanova et al., 2015). Les récepteurs de la dopamine D1 et D2 y sont exprimés, comme nous allons le détailler, permettant à la fois une modulation par la dopamine des synapses excitatrices, mais également un contrôle de l'activité des divers interneurons, et donc de la transmission vers les neurones pyramidaux excitateurs.

Plusieurs études ont mis en évidence une expression importante de TH et une faible expression de DAT dans les projections mésocorticales (Khlgatyan et al., 2019; Lammel et al., 2008; S. R. Sesack, 2014; S. R. Sesack et al., 1998). Des données suggèrent que la dopamine pourrait donc être recapturée par d'autres transporteurs de monoamine tels que le transporteur de la noradrénaline (NET) (Morón et al., 2002; S. R. Sesack, 2014; Valentini et al., 2004) ou bien elle serait dégradée en 3-Méthoxytyramine (3-MT), métabolite principale de la DA dans le PFC, par l'enzyme Catéchol-O-méthyl-transférase (COMT) (Käenmäki et al., 2010; Karoum et al., 1994; S. R. Sesack, 2014).

2. Expression corticale des récepteurs dopaminergiques

Dans les couches II/III des différentes sous-régions du mPFC du rat, l'expression d'ARNm codant pour les récepteurs DA est plus faible que celle pour les récepteurs 5-HT ou NE. Dans ces couches superficielles, la proportion de neurones pyramidaux exprimant D1R est plus faible que celle des interneurons GABAergiques (11-21% vs 25-52%, respectivement) suggérant un rôle principal inhibiteur de la DA sur les projections corticales du mPFC au travers de l'activation des INs par D1R, et tout particulièrement dans l'IL (21% des pyramidaux D1+ vs 52% des INs). Pour la couche V, les proportions de pyramidaux D1+ sont proches de celles de la couche II (16-23%), et la proportion d'INs D1+ reste stable entre ces couches pour

le PL et l'IL mais passe de 25 à 37% pour l'ACC (Santana & Artigas, 2017). L'expression de D1R est majoritaire dans les couches plus profondes et D1R y est principalement exprimé sur les neurones pyramidaux (87% des neurones D1+) (Anastasiades et al., 2019; Wei et al., 2018). Les neurones pyramidaux de la couche VI expriment plus D1R (33-38%) que ceux des couches précédemment citées. La proportion des INs D1+ est également augmentée pour l'ACC (52%) et le PL (38%), mais reste assez stable pour l'IL entre les couches (52-57%) (Anastasiades et al., 2019; Santana & Artigas, 2017; Wei et al., 2018) (**Tableau 1**). On retrouve des interneurones GABAergiques exprimant D1R dans les couches superficielles, correspondant principalement aux interneurones VIP+ faisant partie de la catégorie des interneurones 5HT3a+. Entre 30 et 40% de ces interneurones expriment D1R (Anastasiades et al., 2019). Les D1R peuvent ainsi activer à la fois les circuits excitateurs, médiés par les projections pyramidales, localisés dans les couches profondes et les circuits de désinhibition, médiés par les interneurones locaux VIP+ des couches superficielles, induisant une augmentation de l'excitation du réseau global (Anastasiades et al., 2019).

Tableau 1 : Proportion des neurones pyramidaux (Pyr) ou des interneurones GABAergiques (GABA) des sous divisions du mPFC exprimant le récepteur D1. + 0-15% ; ++ 15-30%, +++ 30-45%, ++++ 45-60%. ACC : cortex cingulaire antérieur ; PL : cortex prélimbique ; IL : cortex infralimbique. A partir des données de (Santana & Artigas, 2017)

D1R		Couches		
		II/III	V	VI
ACC	Pyr	+	++	+++
	GABA	++	+++	++++
PL	Pyr	++	++	+++
	GABA	+++	+++	+++
IL	Pyr	++	++	+++
	GABA	+++	++++	++++

Dans la couche II/III, la différence n'est pas aussi prononcée pour l'expression d'ARNm encodant D2R (5% des pyramidaux, 5-15% des INs) et la proportion de neurones exprimant D2R est relativement faible. Une proportion plus importante de neurones de la couche V exprime D2R (20-25% des pyramidaux, 8-36% des INs). On retrouve une part plus faible des pyramidaux D2+ dans la couche VI en comparaison de la V (6-13% vs 20-25%), et une proportion assez stable pour les INs entre les trois sous-divisions (16-17%) (Santana & Artigas, 2017) (**Tableau 2**). Les interneurones représentent une faible proportion de l'ensemble des neurones exprimant D2R, suggérant que la grande majorité est constituée par des neurones pyramidaux. En effet, on retrouve le récepteur D2 dans plusieurs sous-types d'interneurones dont ceux exprimant PV, NPY, SOM, CalR ou CalB, représentant 10-20% (couche II ou V) des neurones exprimant D2R. Tous types confondus, entre 25-50% des neurones du mPFC expriment D2R, avec des proportions très variables selon les couches et le type d'interneurones (entre 10 et 60%). A titre d'exemple, près de la moitié des NPY+ et SOM+ de la couche II expriment D2R contre 10% des PV+ de cette couche. Les écarts sont un peu moins creusés pour les interneurones de la couche V ((Khilghatyan et al., 2019). Enfin, de 15 à 30% des neurones expriment ces deux récepteurs, selon la couche et la sous-division du mPFC (Wei et al., 2018; Z.-W. Zhang et al., 2010).

Tableau 2 : Proportion des neurones pyramidaux (Pyr) ou des interneurons GABAergiques (GABA) des sous divisions du mPFC exprimant le récepteur D2. + 0-15% ; ++ 15-30%, +++ 30-45%, ++++ 45-60%. ACC : cortex cingulaire antérieur ; PL : cortex prélimbique ; IL : cortex infralimbique. A partir des données de (Santana & Artigas, 2017)

D2R		Couches		
		II/III	V	VI
ACC	Pyr	+	++	+
	GABA	+	+++	++
PL	Pyr	+	++	+
	GABA	+	+	++
IL	Pyr	+	++	+
	GABA	+	++	++

L'expression des récepteurs D5 (type D1) et D3/D4 (type D2) a moins été étudiée. Ils sont exprimés des couches II/III à VI mais de manière plus importante dans les couches superficielles que dans les couches profondes (Ciliax et al., 2000). Les récepteurs D3 et D4 sont eux principalement détectés dans les couches profondes (Y. Li & Kuzhikandathil, 2012; Noaín et al., 2006).

Dans l'OFC, on retrouve une organisation similaire en terme de répartition des récepteurs DA, les neurones D1+ étant principalement situés dans les couches profondes (V-VI) tandis que les neurones exprimant D2R se trouvent dans les couches superficielles. Entre 15 et 20% des neurones de l'OFC expriment D1R et D2R (Wei et al., 2018).

3. Efférences des neurones dopaminoceptifs

Dans le mPFC (vmPFC et dmPFC regroupés), les projections des neurones D2+ sont semblables à celles de l'ensemble des neurones de projections de cette structure, à savoir le mPFC contralatéral, le claustrum/insula, le striatum dorsal et core du NAc, le thalamus, l'amygdale, la SN et VTA (Khilghatyan et al., 2019). L'étude des projections des neurones D1+ du PL indique que les neurones situés dans les couches profondes ciblent principalement le PFC et le claustrum contralatéral, le striatum (ipsi- et contra-), et la BLA (Anastasiades et al., 2019).

Une étude des projections des D1+ et D2+ du mPFC vers les régions striatales et du mésencéphale chez la souris par identification rétrograde révèle une divergence de structures ciblées entre D1+ et D2+ et selon la sous-division du mPFC, formant une organisation topographique selon un axe dorsoventral et médiolatéral. Sur l'axe dorsoventral, les neurones D1+ du PL projettent principalement vers le striatum dorsal, tandis que ceux de l'IL et du MO projettent vers le core du NAc. Concernant les D2+, peu de neurones D2+ du PL projettent vers le striatum dorsal tandis que les D2+ de l'IL et du MO projettent vers le core du NAc tout comme les D1+. Sur l'axe médiolatéral, les D1+ du PL et de l'ACC projettent sur le DMS tandis que ceux du M2, VO, LO et AI projettent sur le DLS. Très peu de D2+ projettent vers le DMS ou le DLS. Les D2+ et pas les D1+ des couches profondes du mPFC projettent vers la SNc. L'organisation des projections des D1+ et D2+ se fait également de manière laminaire, les D1+ projetant vers le striatum dorsal étant principalement situés dans la couche V du PL, ceux projetant vers le NAc dans la couche II/III de l'IL/MO, mais les D2+ projetant vers le NAc à la fois dans la couche II/III et V (S. M. Green et al., 2020) (**Figure 19**).

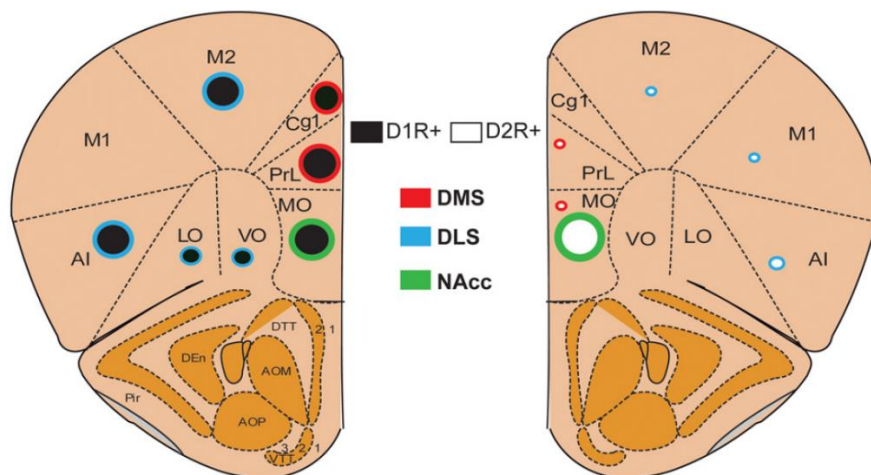


Figure 19 : Résumé de l'organisation topographique des neurones pyramidaux D1+ ou D2+ du PFC antérieur de la souris
 Les neurones D1+ sont représentés par des cercles noirs et les neurones D2+ par des cercles blancs. Les bords des cercles représentent les structures cibles des projections corticostriales. La taille du cercle représente l'abondance des projections vers les régions cibles. Cortex : Cg1, cingulaire antérieure ; PrL, prélimbique ; MO, orbitofrontal médian ; VO, orbitofrontal ventral ; LO, orbitofrontal latéral ; AI, insulaire agranulaire ; M1 : moteur primaire ; M2 : moteur secondaire. DMS, striatum dorsomédian ; DLS, striatum dorsolatéral ; NAcc, noyau accumbens. D1R+, neurones dopaminoceptifs exprimant le récepteur de la dopamine D1 ; D2R+, neurones dopaminoceptifs exprimant le récepteur de la dopamine D2 (S. M. Green et al., 2020)

E. Voie mésolimbique : noyau accumbens et dopamine

Au sein du striatum dorsal, les MSNs présentent une certaine organisation topographique. La partie la plus antérieure présente une distribution aléatoire de D1- et D2-MSNs et la partie la plus postérieure comprend presque uniquement des D1-MSNs (Gangarossa, Espallergues, Mailly, et al., 2013). Des données montrent qu'environ 2% des MSNs du striatum dorsal expriment à la fois D1R et D2R (Frederick et al., 2015; Gagnon et al., 2017).

Dans le noyau accumbens, les D1- et D2-MSNs sont exprimés de manière homogène dans le core. Dans le shell, les D1-MSNs sont également exprimés de façon homogène tandis que la distribution des D2-MSNs présente une certaine hétérogénéité : les parties ventrale et dorso-médiane du shell présentent une très faible expression de D2R dans les MSNs (Gangarossa, Espallergues, de Kerchove d'Exaerde, et al., 2013). Les MSNs exprimant D3R sont majoritairement situés dans la partie médiane et ventro-médiane du shell (Gangarossa, Espallergues, de Kerchove d'Exaerde, et al., 2013). Une proportion assez faible (2-7%) de MSNs exprimant D1R et D2R est retrouvée dans le core du NAc, et une part plus importante (5-15%) dans le shell, pouvant monter à 38% dans le shell dorso-médian (Frederick et al., 2015; Gagnon et al., 2017; Gangarossa, Espallergues, de Kerchove d'Exaerde, et al., 2013).

Les récepteurs D2 situés en présynaptique dans le striatum dorsal et le NAc peuvent moduler la libération de neurotransmetteur. C'est notamment le cas pour la libération corticostriatale de glutamate, mais également pour la libération de dopamine mésolimbique (Ford, 2014; Soares-Cunha, Coimbra, Sousa, et al., 2016). Les CINs sont également à prendre en compte dans l'implication de la DA sur les fonctions striatales étant donné qu'ils expriment le D2R à 80% (Maurice et al., 2004).

Nous avons précédemment vu que le NAc recevait des afférences majoritairement corticales, hippocampiques, du thalamus et de l'amygdale. L'étude des projections monosynaptiques vers le NAc révèle que les afférences vers les D1- et D2-MSNs du core ou du shell sont globalement similaires, et qu'elles

dépendent plus de la sous-région en question. A titre d'exemple, les D1- et D2-MSNs du core reçoivent plus d'afférences corticales que ceux du shell, notamment en provenance du MO et du PL. A l'inverse, le shell est plus contacté par l'hippocampe que le core. Le septum contacte presque uniquement les D1- et D2-MSNs du shell et non du core. On retrouve cependant certaines afférences plus spécifiques de la population neuronale : l'hypothalamus latéral (LH) projette plus sur le shell que sur le core, et plus particulièrement sur les D1-MSNs que sur les D2-MSNs (Z. Li et al., 2018). Les projections des neurones dopaminoceptifs du striatum ont été détaillées précédemment.

F. Dopamine mésocorticolimbique et flexibilité comportementale

Les travaux de Wolfram Schultz dans les années 1990 ont mis en lumière une fonction essentielle de la transmission dopaminergique. L'enregistrement in vivo de neurones dopaminergiques du mésencéphale chez le primate révèle que ces neurones sont activés au moment où l'animal reçoit une récompense inattendue (jus de fruit). Lorsque l'animal a appris que la récompense est annoncée par la présentation d'un stimulus conditionné (CS), l'activité des neurones dopaminergiques se déplace au moment du CS et non plus au moment de la distribution de la récompense. Enfin, lorsque l'occurrence du CS n'est pas suivie de la récompense comme attendu, on observe une dépression de l'activité de ces neurones au moment où la récompense aurait dû être distribuée (Schultz et al., 1997).

Collectivement, ces résultats indiquent que lorsque l'expérience d'une récompense est meilleure que ce qui était attendu, les neurones DA de la VTA augmentent leur décharge, signalant ainsi une différence positive entre la récompense « vécue » et celle anticipée, aux structures en aval de cette transmission. A l'inverse, l'activité des neurones DA diminue lorsqu'une récompense n'est pas à la hauteur de ce qui était attendu, n'a pas lieu voire que l'issue est aversive, signalant ainsi une issue négative par rapport à ce qui était attendu. Ce pattern d'activité des neurones DA constitue le fondement de la théorie de l'erreur de prédiction de la récompense (RPE) (Schultz, 2016).

Intéressons-nous à présent au rôle de la dopamine et à l'implication de ses récepteurs dans les différentes formes de flexibilité comportementale étudiées ici, dans le cadre d'actions dirigées vers un but.

1. Implication des projections dopaminergiques de la VTA dans la flexibilité comportementale

L'inhibition chémogénétique des projections dopaminergiques de la VTA au moment du test de choix en extinction n'altère pas les performances dans une procédure de dévaluation de la récompense par satiété sensorielle spécifique, ni lors du test récompensé (Halbout et al., 2019). Par ailleurs, ni l'activation chémogénétique de la voie mésocorticale ni celle de la voie mésoaccumbens n'altère la capacité des animaux à adapter leur réponse instrumentale à la suite d'une dévaluation par satiété générale (non spécifique) lors du test de choix en extinction comme lors du test récompensé (Verharen et al., 2018).

L'administration de cocaïne ou de D-amphétamine – substances psychostimulantes connues pour générer une forte concentration en DA, par le blocage de sa recapture par la DAT - diminue les performances en RL chez le rat (Verharen et al., 2018). L'activation chémogénétique spécifique des projections mésoaccumbens - et non celle des projections mésocorticales – altère les performances dans une tâche de RL en diminuant le nombre total d'inversions en association à une baisse du comportement *win-stay*. L'enregistrement de l'activité calcique des neurones DA de la VTA au cours de cette tâche révèle une augmentation de l'activité centrée autour de la réponse instrumentale, suivie par une lente diminution de cette activité lors des essais corrects ou bien par une diminution beaucoup plus rapide lors des essais incorrects. De plus, lors des essais incorrects, l'activité diminue plus à la suite de la 1^{ère} inversion qu'avant, contrairement au pattern pour les

essais corrects qui reste le même dans ces deux conditions. Ces données suggèrent que cette activité correspond au RPE à l'origine du feedback permettant l'apprentissage, et que son fonctionnement est altéré en condition d'hyperdopaminergie (induite par les psychostimulants ou par l'activation chémozénétique) du circuit mésoaccumbens, particulièrement au moment du feedback suivant une expérience négative (Verharen et al., 2018). Par contraste, l'activation optogénétique des projections dopaminergiques (souris DAT-cre) VTA→NAc n'a pas d'effet sur les performances en RL, mais l'inhibition de ces projections augmente le nombre d'erreurs ainsi que les comportements Lose→Stay et Win→Shift pendant la première phase du RL (Radke, Kocharian, et al., 2019). L'étude des projections de la VTA exprimant le récepteur 1 du CRF (CRFr1 ; *Corticotropin Releasing Factor* ; récepteur impliqué dans la modulation de l'activité DA mésocorticale en condition de stress) vers les neurones exprimant D1R dans le PL indique que le blocage de ces projections perturbe l'adaptation à une inversion de contingence (RL) lors d'un test de choix en extinction à la suite d'une dévaluation de la récompense (Mor et al., 2022). Dans une tâche de RL instrumentale, des souris KO pour l'autorécepteur D2R présentent des performances altérées, suggérant l'implication des D2R présynaptiques des projections dopaminergiques dans la mise en œuvre de ce comportement flexible (Linden et al., 2018).

Ces données nous indiquent donc que les projections DA de la VTA ne sont pas impliquées dans l'adaptation de la réponse instrumentale suivant une modification de la valeur de la récompense, ni dans l'encodage initial de l'association entre action et récompense, mais les projections dopaminergiques mésocorticales comme mésoaccumbens semblent jouer un rôle central dans la mise à jour de ces associations.

Comme nous l'avons vu, le striatum et le cortex préfrontal sont fortement impliqués dans différents aspects de la flexibilité comportementale permettant la mise en œuvre de comportements adaptés dans le but d'obtenir une récompense. Ces deux structures recevant des projections dopaminergiques de la VTA, nous allons à présent voir quel rôle joue la dopamine au sein de ces régions dans la mise en œuvre de tels comportements.

2. Implication de la dopamine du PFC dans la flexibilité comportementale

Peu d'études se sont penchées sur le rôle de la dopamine dans les différentes sous régions de l'OFC sur les tâches de flexibilité comportementale auxquelles nous nous intéressons, probablement du fait de l'innervation dopaminergique plus faible de l'OFC que du mPFC (Cerpa et al., 2021). Une étude du groupe de Floresco a mis en évidence que le blocage de D1R ou D2R par infusion d'antagonistes altérait de différentes manières les performances dans une tâche de *reversal learning* probabiliste, ainsi que dans une tâche de *discounting* probabiliste, suggérant des rôles dissociables et opposés de ces récepteurs dans différentes formes d'actions dirigées vers un but (Jenni et al., 2021). D'autre part, le blocage local des récepteurs D1 ou D2 du VLO altère les performances dans une tâche de ratio progressif indiquant que la dopamine orbitofrontale est importante pour traduire la motivation en action lors de tâches exigeantes en terme d'effort pour obtenir une récompense (Cetin et al., 2004).

Concernant le mPFC, plusieurs études montrent que dans le PL, la dopamine ne semble pas être impliquée dans la formation de l'association A-O (Lex & Hauber, 2010b; Naneix et al., 2009). A la suite d'une déplétion en DA par injection de 6-OHDA, les animaux ont toujours la capacité à adapter leur réponse instrumentale lors d'un test de choix en extinction à la suite de la dévaluation par satiété d'une des deux récompenses (Lex & Hauber, 2010b; Naneix et al., 2009), bien qu'une diminution globale du niveau d'appui soit constatée, dès l'acquisition (Lex & Hauber, 2010b). Les résultats divergent sur l'implication de la DA du PL dans la mise à jour des associations A-O, au cours d'une dégradation de contingence. Tandis que Lex & Hauber ne trouvent pas d'effet de la déplétion en DA du PL dans l'entraînement ni dans le test en extinction (Lex & Hauber, 2010b), Naneix montre qu'une déplétion similaire, tout comme l'infusion locale d'un antagoniste

des récepteurs D1 et D2 (flupenthixol) perturbe le processus de dégradation, suggérant l'implication de la composante DA dans l'adaptation à un changement de contingence A-O (Naneix et al., 2009). La composante DA de l'IL n'est impliquée ni dans l'expression de la dévaluation de la récompense, ni dans celle de la dégradation de contingence (Naneix et al., 2009). De manière plus générale dans le mPFC, le blocage du récepteur D1 de manière assez faible ou surtout celui du D4R altèrent les performances lors des premières inversions dans une tâche de RL instrumentale (De Bruin et al., 2000) et l'injection systémique d'agoniste des récepteurs D2R/D3R altère les performances en dans une tâche du même type (Boulougouris et al., 2009).

Ces résultats suggèrent donc que dans le mPFC et particulièrement dans le PL, la DA n'est pas impliquée dans l'adaptation face à un changement de valeur de la récompense mais semble être impliquée dans la mise à jour des associations entre action et récompense.

3. Implication de la dopamine au sein des sous-régions du striatum dans la flexibilité comportementale

Nous avons précédemment vu que les sous régions du striatum étaient impliquées dans plusieurs composantes de la flexibilité comportementale permettant la mise en œuvre d'actions dirigées vers un but. Nous allons à présent nous concentrer sur le rôle de la transmission dopaminergique au sein de ces structures dans ces mêmes comportements.

i. Implication de la dopamine striatale dans l'adaptation de la réponse à un changement de valeur de la récompense

Une déplétion en DA du core du NAc précédant la phase d'acquisition altère les performances dans l'expression de la dévaluation de la récompense par satiété sensorielle spécifique, dans une tâche pavlovienne (S-O) et non dans une tâche instrumentale (A-O) (Cunha et al., 2020; Lex & Hauber, 2010c), suggérant d'une part que la transmission DA du core du NAc ne joue pas un rôle central dans l'encodage de l'association A-O, et d'autre part que cette transmission pourrait être impliquée dans la formation de l'association spécifique S-O ou bien dans la capacité d'un stimulus conditionné à mobiliser la valeur actuelle d'une des récompenses pour produire une réponse adaptée (Lex & Hauber, 2010b). Par ailleurs l'inactivation chémogénétique des D2-MSNs du NAc n'altère pas l'expression de la dévaluation instrumentale dans une procédure de dévaluation de la récompense par satiété générale (Carvalho Poyraz et al., 2016).

Une déplétion en DA par injection de 6-OHDA dans le pDMS n'altère pas la réponse instrumentale dans une tâche de dévaluation de la récompense par satiété générale (Lex & Hauber, 2010b), ce qui suggère que cette composante DA n'est pas à l'origine de l'implication du pDMS dans l'encodage de l'association spécifique A-O, ni dans son expression, comme montré par Yin (Yin, Knowlton, et al., 2005; Yin, Ostlund, et al., 2005). Dans une tâche similaire, l'inhibition chémogénétique des D2-MSNs du DMS n'altère pas non plus la réponse instrumentale à la suite de la dévaluation (Carvalho Poyraz et al., 2016).

ii. Implication de la dopamine striatale dans l'adaptation de la réponse à un changement de contingence

La déplétion en DA du pDMS par injection de 6-OHDA perturbe l'adaptation à un changement de contingence lors de l'entraînement et surtout lors du test de choix en extinction (Lex & Hauber, 2010b). Par ailleurs, l'effet de cette déplétion sur les performances lors de l'acquisition et lors du test en extinction semblent dépendre de la durée d'entraînement et de la différence entre la probabilité d'obtenir une récompense après appui sur le levier et la probabilité d'obtenir la récompense sans appuyer sur le levier (Braun & Hauber, 2012). Ces données suggèrent une forte implication de la composante DA du pDMS dans

la mise à jour des associations entre A-O et dans l'expression qui s'ensuit. Dans le NAc, la déplétion unilatérale en DA altère les performances dans l'acquisition de la dégradation de contingence lorsque l'hémisphère droit est lésé (Cunha et al., 2020), mais il n'y a pas de données à ce jour sur l'effet de la déplétion totale en DA du NAc, ni sur l'effet d'une telle déplétion lors de la phase de test en extinction suivant la dégradation de contingence.

Intéressons-nous maintenant à l'implication de la DA dans les sous-divisions du striatum lorsque les contingences A-O (ou S-O selon les études) sont inversées.

Dans le core du noyau accumbens, une étude récente chez la souris montre que l'activation optogénétique des projections DA vers cette sous-région du NAc améliore les performances en RL dans une tâche d'autostimulation (l'appui sur le levier renforcé entraîne la stimulation de la structure ciblée) (van der Merwe et al., 2023). Comme nous l'avons vu lors de l'étude de l'implication des projections de la VTA dans ce type de comportement, l'effet est opposé à celui de Verharen qui a stimulé de façon chémogénétique les projections VTA→NAc lors d'une tâche de RL, ayant induit une altération des performances dans cette tâche, ou à Radke n'ayant pas montré d'effet de l'activation optogénétique (mais par contre un effet de l'inhibition) de ces mêmes projections dans une tâche de RL (Radke, Kocharian, et al., 2019; van der Merwe et al., 2023; Verharen et al., 2018). Il se peut que ces différences soient en partie dues aux différences de modèles (rat vs souris), de technique de modulation de l'activité des projections (optogénétique vs chémogénétique) ou encore à une différence dans les paramètres ou dans la récompense au cours de la tâche de RL (autostimulation vs récompense alimentaire). Bien que l'effet précis reste encore à éclaircir, ces résultats indiquent une forte implication de la dopamine libérée dans le core du NAc dans l'adaptation du comportement face à un changement de contingence entre action et récompense. La transmission dopaminergique phasique est associée à un feedback positif pendant une tâche de RL, permettant la modification d'un comportement établi, comme c'est le cas lors d'une inversion des contingences A-O (Klanker et al., 2015). Radke et collègues obtiennent des résultats similaires par enregistrement de la dynamique de libération de DA dans le NAc par *Fast Scan Cyclic Voltammetry* (FSCV) au moment de la distribution d'une récompense qui n'était pas prévue, notamment dans la première phase de RL (Radke, Kocharian, et al., 2019). Par contraste, dans le DLS, l'activité dopaminergique au cours d'une tâche de RL est associée à la période autour de l'appui levier, suggérant l'implication du DLS dans l'initiation et l'exécution de la réponse opérante, ou dans la motivation à la réaliser (Klanker et al., 2017).

On observe également une dissociation de l'implication des sous-régions du striatum au niveau du rôle que jouent les récepteurs de la dopamine dans la mise en place du RL. Sala-Bayo et collègues ont tout d'abord montré que l'antagonisme des récepteurs de la DA dans le striatum ventral améliorerait les performances en RL, tandis que les performances étaient altérées après infusion d'antagonistes des récepteurs DA dans le striatum dorsal, montrant ainsi le rôle différent que joue la DA dans ces structures lorsque les contingences S-O sont modifiées (Sala-Bayo et al., 2020).

Lors de la phase initiale du RL visuel (Stimuli CS+ et CS- sur un touchscreen), l'infusion d'un antagoniste de D1R dans le shell du NAc diminue le nombre d'erreurs pour atteindre le critère, tandis que l'infusion d'un antagoniste de D2R dans le core du NAc produit le même effet (Sala-Bayo et al., 2020). Ces résultats précisent entre autre les conclusions de l'étude de Verharen, montrant l'effet délétère d'une hyperdopaminergie de la vois mésoaccumbens dans les performances de RL (Verharen et al., 2018). Le blocage de la transmission des D2-MSNs du core du NAc altère les performances en RL S-O (Macpherson et al., 2022), et le blocage des D2R du core décrit par Sala-Bayo améliore les performances en RL S-O, hors, étant donné que les D2R sont couplés à des protéines Gi dont l'action inhibe l'activité des D2-MSNs, ces deux derniers résultats suggèrent que l'activité des D2-MSNs du core du NAc contribue à la capacité de l'individu à adapter son comportement face à un changement de contingence S-O (Macpherson et al., 2022;

Sala-Bayo et al., 2020). Par ailleurs, des études ont également mis en évidence la forte implication de D2R dans le NAc, dans le flexibilité comportementale, notamment dans des tâches de RL instrumental (Haluk & Floresco, 2009; Verharen et al., 2019). Spécifiquement, au sein du NAc et au cours d'une tâche de RL probabiliste, la signalisation DA sur D2R médie l'apprentissage par feedback négatif (omission de la récompense) tandis que l'apprentissage par feedback positif (distribution de la récompense) dépend de la signalisation DA sur les récepteurs D1 (Verharen et al., 2019).

Concernant le striatum dorsal, l'activation optogénétique des projections DA vers le DMS potentialise les performances en RL dans une tâche d'autostimulation, tandis que l'activation des projections vers le DLS induit une altération des performances (van der Merwe et al., 2023). L'antagonisation de D2R dans le DMS altère les performances dans la phase intermédiaires de RL et, toutes les phases dans le DLS, tandis que l'infusion d'un antagoniste de D1R n'a pas d'effet dans aucune des deux structures sur les performances en RL (Sala-Bayo et al., 2020; Verharen et al., 2019). De manière intéressante, la manipulation optogénétique des deux populations de MSNs de l'aDMS entraîne des effets drastiquement différents sur le RL. Tandis que l'inhibition des D2-MSNs de l'aDMS n'a pas d'effet sur le RL, l'activation de cette population tend à améliorer les performances (nombre d'essais pour atteindre le critère), notamment en réduisant l'erreur de persistance dans la réponse. A l'opposé, l'activation des D1-MSNs de l'aDMS altère les performances tandis que leur inhibition les améliore, avec des effets distincts sur les erreurs de persistance et de régression (X. Wang et al., 2019). Ces données suggèrent un rôle complexe de la composant dopaminergique de l'aDMS et du DLS dans l'adaptation à une inversion de contingences A-O.

Conclusion

Ces éléments nous indiquent donc que dans le striatum dorsal (pDMS) comme dans le NAc, la dopamine n'est pas impliquée dans l'encodage de l'association A-O ou dans son expression flexible à la suite d'une dévaluation. Cependant, le NAc joue un rôle majeur dans la mise en place d'une telle réponse lorsqu'il s'agit d'une association Stimulus-Récompense. Au contraire dans le NAc comme dans le striatum dorsal, la dopamine semble être une composante clé de la mise à jour des associations entre action et récompenses (et également S-O dans le NAc), avec une implication différenciée des récepteurs de la dopamine D1 et D2 selon les sous-régions et paramètres de la tâche.

~

Cette troisième partie nous a donc permis de mettre en évidence l'implication de la dopamine dans certaines composantes flexibles des actions dirigées vers un but. En effet, les manipulations des projections dopaminergiques de la VTA, comme celles de la transmission dopaminergique au sein du mPFC et du striatum ventral et dorsal conduisent à des altérations comportementales au cours de tâches de dégradation de contingence ou bien de *reversal learning*, mais pas lorsqu'une adaptation à un changement de valeur de la récompense est nécessaire. Ces données suggèrent donc qu'au sein de ces structures, la dopamine joue un rôle central dans la mise à jour des associations entre action et récompense.

Nous allons à présent nous intéresser aux potentiels mécanismes moléculaires qui sous-tendent ces comportements flexibles.

IV. Interactions entre les systèmes glutamatergiques et dopaminergiques : implication des hétéromères formés par les récepteurs de la dopamine et du glutamate de type NMDA

Comme nous l'avons vu, le cortex préfrontal médian ainsi que le noyau accumbens sont deux structures centrales dans la mise en place d'un comportement flexible dans le cadre d'action dirigées vers un but. Elles ont également en commun de recevoir une majorité de projections glutamatergiques issues de nombreuses structures, modulées par des projections dopaminergiques en provenance de l'aire tegmentale ventrale. Cependant les mécanismes d'intégration de cette convergence d'influx glutamatergiques et dopaminergiques et leur implication comportementale restent encore peu caractérisés. Un des mécanismes ayant récemment émergé sont les interactions directes ou mécanismes d'hétéromérisation entre les récepteurs du glutamate de type NMDA (NMDARs) et les récepteurs de la dopamine de type D1 ou D2. Dans cette partie nous allons donc nous intéresser au fonctionnement des récepteurs du glutamate, avec une attention particulière sur celui des récepteurs NMDA, puis nous allons définir ce que sont les hétéromères de récepteurs et les techniques utilisées pour les mettre en évidence, avant de nous pencher sur l'implication des interactions D1R/NMDAR et D2R/NMDAR du striatum et du cortex préfrontal au niveau cellulaire et comportemental.

Le glutamate est le principal neurotransmetteur exciteur du système nerveux central (CNS). Il peut être synthétisé par plusieurs voies, notamment par la conversion de glutamine - issue d'astrocytes - en glutamate par la *phosphate activated glutaminase*, ou encore par synthèse depuis l' α -keto-glutarate issu du cycle de Krebs. Une partie du glutamate cytoplasmique est accumulée et stockée dans des vésicules par les transporteurs vésiculaires du glutamate (VGLUTs). Suite à la libération du glutamate dans la fente synaptique, celui-ci est recapturé en grande partie par les astrocytes au travers des transporteurs GLT-1/GLAST et dans une moindre mesure par le neurone présynaptique au travers de GLT-1. Au sein de l'astrocyte, le glutamate est converti en glutamine par la glutamine synthétase et une partie est transférée au neurone glutamatergique pour être convertie à nouveau en glutamate (Andersen et al., 2021; Schousboe et al., 2014). Lorsqu'il est libéré dans la fente synaptique, le glutamate peut se fixer sur différentes classes de récepteurs, de type récepteurs ionotropiques du glutamate (iGluRs) (canaux ioniques cationiques ligand dépendants) ou bien métabotropiques (mGluRs) (récepteurs couplés à des protéines G (GPCR), comprenant chacune des sous-types de récepteurs pour médier l'information transmise, qui seront détaillés ci-dessous.

A. Les récepteurs métabotropiques du glutamate

Les récepteurs métabotropiques du glutamate (mGluRs) sont une classe de récepteurs au glutamate participant à une neurotransmission « lente » par contraste avec celle médiée par les récepteurs ionotropiques au glutamate (iGluRs). Les mGluRs sont divisés en huit catégories (mGluR1-8) organisées en trois groupes, et sont couplés à des protéines G. Le groupe I est constitué des mGluR1 et mGluR5 couplés à la phospholipase C (PLC), le groupe II contient les mGluR2 et mGluR3, et le groupe III est formé par les mGluR4, mGluR6, mGluR7 et mGluR8, qui sont tous couplés négativement à la formation d'AMPC médiée par l'adenylate cyclase (AC) (Niswender & Conn, 2010).

Les mGluRs font partie du groupe C des GPCRs, se distinguant par un domaine extracellulaire (ECD) N-terminal assez large contenant le site de liaison du ligand et comprend deux composantes. D'une part, le *Venus Flytrap Domain* (VFD), constitué de deux lobes et formant le site de liaison du glutamate. Les VFD se dimérisent et la liaison d'agonistes à l'un des sites ou aux deux entraîne des changements conformationnels. Trois états principaux du dimère de VFD existent : la conformation inactive dite « ouvert-ouvert », ou active lorsqu'un agoniste se lie à l'un des sites ou aux deux soit « ouvert-fermé » ou « fermé-

fermé.» D'autre part, le domaine riche en cystéines (CRD), reliant le VFD aux 7 domaines transmembranaires (TMD) (McCulloch & Kammermeier, 2021; Niswender & Conn, 2010).

Les récepteurs du groupe I peuvent avoir une signalisation par couplage avec une protéine Gq ou Gi/o et sont principalement exprimés en postsynaptique, où ils participent à plusieurs formes de plasticité synaptique dépendante du calcium ou de l'AMPc. Les récepteurs du groupe II sont uniquement couplés à une protéine Gi/o et peuvent être situés en pré- ou postsynaptique. A l'exception de mGluR6 exprimé en postsynaptique seulement dans la rétine, les récepteurs du groupe III fonctionnent comme autorécepteur en présynaptique. Ils sont couplés à une protéine Gi/o (McCulloch & Kammermeier, 2021).

Les mGluRs fonctionnent sous forme de dimères in vivo, dont l'interaction covalente a lieu par un pont disulfure au niveau du VFD (El Moustaine et al., 2012; Romano et al., 1996). Tous les mGluRs peuvent fonctionner en homodimère, et certains peuvent également s'hétérodimeriser au sein des mGluRs. Les récepteurs du groupe I s'associent uniquement entre eux, au contraire des récepteurs du groupe II et III qui peuvent s'associer entre eux au sein de ces deux groupes (Doumazane et al., 2013).

La réponse de la voie de signalisation lors de la liaison d'un agoniste au site orthostérique du mGluR peut être potentialisée ou affaiblie par l'action de modulateurs allostériques positifs ou négatifs (PAM/NAM) (Figure 20). Il en existe une grande diversité, ayant en commun d'agir par liaison avec le TMD, site allostérique du récepteur. Ces molécules modulatrices variées ont des spécificités de liaisons avec certains types de mGluR avec des propriétés de signalisation particulières (Hampson et al., 2008).

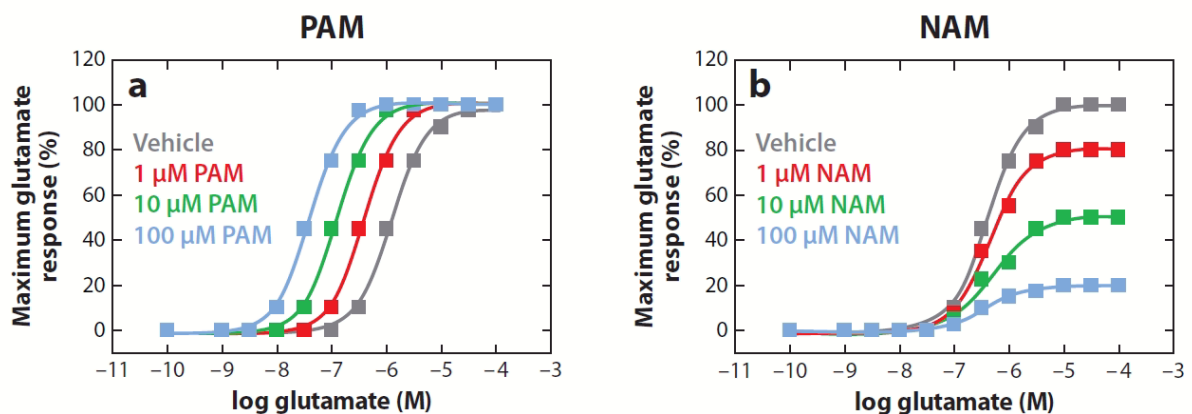


Figure 20 : Modulation dose dépendante de la réponse glutamatergique des mGluRs par des modulateurs allostériques positifs (PAM) ou négatifs (NAM). (Niswender & Conn, 2010)

Il n'est pas encore clairement établi si l'activation des mGluRs peut se faire par liaison du glutamate à un seul des protomères, ou si elle nécessite la liaison du glutamate aux deux membres du dimères, composante qui pourrait varier selon plusieurs critères dont les types de mGluR ou bien s'ils sont homo- ou hétérodimerisés (Niswender & Conn, 2010).

Les récepteurs du groupe I sont majoritairement situés en postsynaptique et leur activation induit une dépolarisation et augmente l'excitabilité neuronale. On retrouve cependant des mGluR1 en présynaptique, qui régulent alors positivement ou négativement la libération de neurotransmetteur, ou encore dans certains neurones dopaminergiques du mésencéphale, où leur activation induit alors une hyperpolarisation (Bellone et al., 2008; Valenti et al., 2002). Les récepteurs du groupe I sont également impliqués dans l'induction de certaines formes de plasticité, telles que la LTP ou la LTD (Niswender & Conn, 2010).

Les récepteurs du groupe II et III sont plus fréquemment situés en présynaptiques où ils inhibent la libération de neurotransmetteurs, aux synapses excitatrices, inhibitrices et neuromodulatrices (Ex : Monoamines, ACh, peptides). Ils jouent également un rôle majeur dans l'induction de la LTD (Pelkey et al., 2005; Pinheiro & Mulle, 2008; Yokoi et al., 1996). Les récepteurs du groupe II peuvent cependant être situés en postsynaptique où ils induisent une hyperpolarisation (Muly et al., 2007). Les récepteurs des groupes II et III ne sont pas seulement impliqués dans la modulation de la transmission synaptique et de l'excitabilité neuronale, ils sont également impliqués dans la régulation métabolique, la transcription de gènes, et divers aspects du fonctionnement de la glie et de sa communication avec les neurones (Niswender & Conn, 2010).

Les motifs d'expression des mGluR II et III en présynaptique varient selon les sites de libération du glutamate. Les récepteurs du groupe II sont principalement localisés dans la partie préterminale de l'axone, loin du site de libération du glutamate tandis que les récepteurs du groupe III sont principalement situés dans la zone active du neurone présynaptique (Pinheiro & Mulle, 2008; Shigemoto et al., 1997; Tamaru et al., 2001).

Le glutamate libéré par le neurone présynaptique peut activer des autorécepteurs (mGluR / iGluR) sur la même cellule. Le *spillover* de glutamate peut également activer des récepteurs présynaptiques d'autres neurones situés à proximité. Le glutamate peut être libéré par des compartiments somatodendritiques actifs, agissant ainsi comme des messagers rétrogrades sur les GluRs présynaptiques. Les astrocytes peuvent également libérer du glutamate (Pinheiro & Mulle, 2008).

B. Les récepteurs ionotropiques du glutamate

Au sein des récepteurs ionotropiques du glutamate, se distinguent quatre catégories : les récepteurs α -amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazolepropionique acid (AMPA), kaïnates (KARs), N-méthyl-D-aspartate (NMDARs) et les récepteurs δ (Traynelis et al., 2010). Par la suite les récepteurs AMPA, kaïnates et δ seront brièvement présentés et plus de détails seront accordés au fonctionnement et au rôle des récepteurs NMDA.

1. Caractéristiques communes aux iGluRs

Les trois principales classes de iGluRs que sont les AMPARs, KARs, et NMDARs, sont perméables aux ions sodium (Na^+) et potassium (K^+), avec une sélectivité dépendante de leur composition en sous-unités. Pour les AMPARs et KARs, cette composition en sous-unités influence également leur perméabilité ou non aux ions calcium (Ca^{2+}), les NMDARs étant systématiquement perméables au calcium mais avec des degrés divers également dépendants des sous-unités (Traynelis et al., 2010).

Les sous-unités des récepteurs iGluR sont composées de quatre domaines distincts : le domaine extracellulaire N-terminal (NTD) impliqué dans l'assemblage des sous-unités et la régulation allostérique des récepteurs, le domaine de liaison au ligand (LBD) composé de deux segments (S1 et S2), le domaine transmembranaire (TMD) composé de trois hélices transmembranaires (M1, M3 et M4) et d'une boucle enchâssée dans la membrane M2 permettant le filtrage sélectif des ions, et le domaine intracellulaire C-terminal (CTD) impliqué dans le trafic membranaire et permettant l'interaction avec les protéines d'ancrage ou de signalisation (Paoletti et al., 2013; Traynelis et al., 2010). Cette composition est schématisée sur la **Figure 22**. La région extracellulaire (ECR) constitue près de 85% de la masse totale du récepteur. Les trois régions NTD/LBD et TMD sont reliées entre elles par des connecteurs peptidiques, rendant ainsi le récepteur très flexible (Greger et al., 2017).

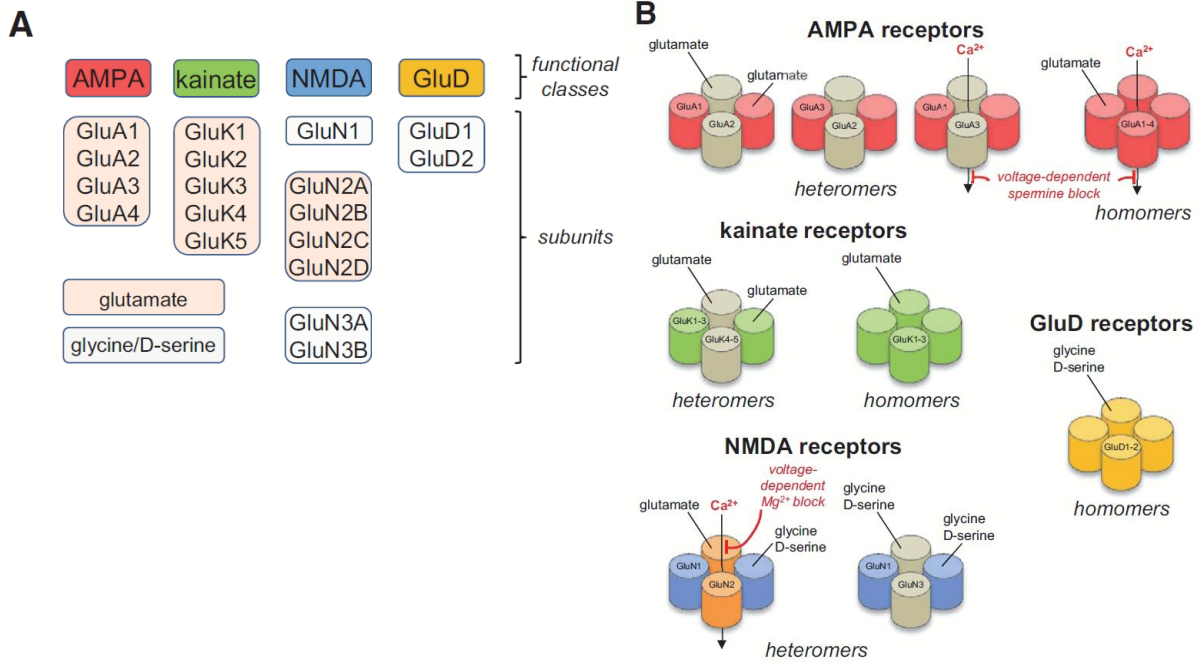


Figure 21 : A, Sous-unités de chaque type et B, agencement des sous-unités des récepteurs ionotropiques au glutamate AMPA, kainate, NMDA et GluD. (Hansen et al., 2021)

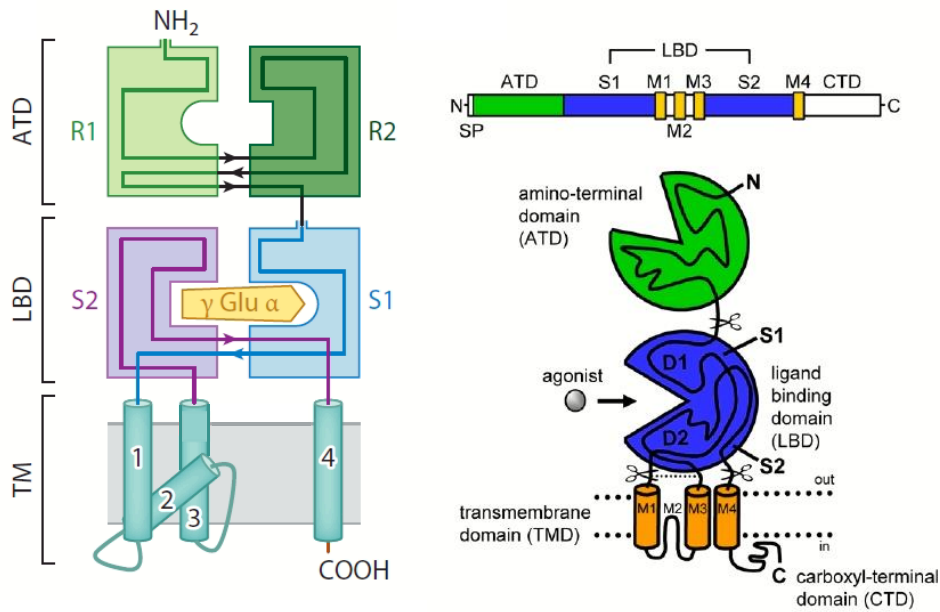


Figure 22 : Représentations de la structure d'une sous-unité d'un récepteur iGluR

ATD : domaine N-terminal ; LBD : domaine de liaison au ligand ; TM : domaine transmembranaire ; CTD : domaine C-terminal. (Kumar & Mayer, 2013; Traynelis et al., 2010)

2. Les récepteurs AMPA

Les récepteurs AMPA sont formés par l'assemblage de quatre sous-unités GluA1-4 (**Figure 21**), encodées par les gènes Gria1-Gria4. Ces quatre sous-unités diffèrent grandement quant à leur contribution à la perméabilité aux ions, à la cinétique du canal, et au trafic des récepteurs et leur agencement en tétramère influence donc particulièrement ces paramètres. Les sous-unités peuvent s'assembler en dimères d'homou ou hétéromères, par interaction du NTD. L'assemblage des récepteurs a lieu dans le réticulum

endoplasmique (RE) (Traynelis et al., 2010). Les hétéromères contenant la sous-unité GluA2 sont majoritaires à travers le CNS (Hansen et al., 2021) et sont imperméables au calcium - contrairement à ceux en étant dépourvus qui le laissent passer, qui ont une conductance élevée et une cinétique de dissociation rapide (Récepteurs AMPA perméables au calcium – CP-AMPA) (Diering & Huganir, 2018).

L'agencement des sous-unités au sein du tétramère est souvent décrit par les relations entre A, B, C et D, représentant ces quatre sous-unités. Au niveau du NTD, les dimères sont formés par A/B et C/D et par ailleurs, les dimères du LBD sont formés par A/D et B/C (**Figure 23**). La principale organisation structurelle des récepteurs AMPA est caractérisée par un agencement des sous-unités en dimères de dimères formant ainsi une forme de 'Y'. Cependant, d'autres configurations plus asymétriques existent, ou encore une configuration plus compacte en forme de 'O' (Kamalova & Nakagawa, 2021).

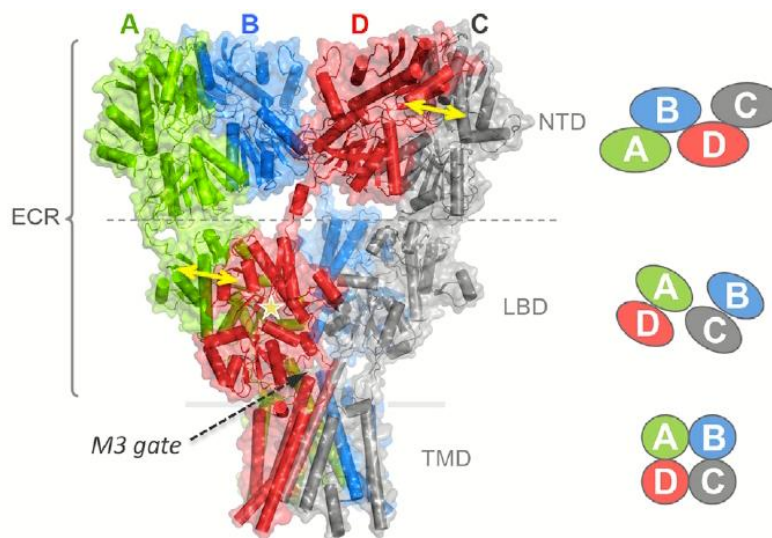


Figure 23 : Structure et agencement des sous-unités théoriques A, B, C et D des récepteurs AMPA

ECR : région extracellulaire ; NTD : domaine N-terminal ; LBD : domaine de liaison au ligand ; TMD : domaine transmembranaire. (Greger et al., 2017)

En plus de l'agencement entre les sous-unités, les récepteurs AMPA s'associent avec des protéines appelées sous-unités auxiliaires. Ces sous-unités modulent plusieurs paramètres dont la perméabilité au Ca^{2+} des récepteurs AMPA (Hansen et al., 2021). Les récepteurs AMPA se lient avec divers sous-unités auxiliaires telles que la stargazine (γ -2) et d'autres membres de la famille des protéines transmembranaires régulatrices des récepteurs AMPA (TARP ; γ -3, γ -4, γ -5, γ -7 and γ -8) et les protéines de type cornichons (CNIH2/CNIH3), mais également la protéine Cystine-knot (CKAMP-44), GSG1L (*germ cell specific gene 1-like protein*) et les SyndIG1/4 (Diering & Huganir, 2018; Greger et al., 2017; Kamalova & Nakagawa, 2021). Les protéines TARPs stabilisent les récepteurs AMPA à la surface de la cellule et à la synapse, et diminuent leur dissociation et leurs cinétiques de désensibilisation. Les CNIHs participent au ciblage en surface de ces récepteurs et tout comme les TARPs, au ralentissement des cinétiques de dissociation (Diering & Huganir, 2018). Les nombreuses possibilités d'assemblage sont à l'origine d'une vaste diversité de fonctionnement des récepteurs AMPA selon leur localisation cellulaire, les types de neurones ainsi que les structures au sein desquelles ils sont exprimés (Greger et al., 2017).

Les sous-unités constitutives des récepteurs AMPA sont exprimées dans les neurones et la glie depuis les premières étapes du développement. On retrouve l'expression d'ARNm de la sous-unité GluA2 dans toutes les structures telles que la plupart des neurones excitateurs du cortex chez la souris, mais dans très peu d'interneurones, également dans tous les neurones glutamatergiques de l'hippocampe, ou encore dans les

cellules de Purkinje du cervelet et dans les MSNs du striatum. Au contraire, la distribution de GluA1, GluA3 et GluA4 est plus hétérogène à travers le CNS (Hansen 2021). A titre d'exemple dans le striatum, les sous-unités GluA1 et GluA4 sont exprimées par une partie des interneurons PV (Parvalbumine), mais pas dans les interneurons cholinergiques ni dans les MSNs, contrairement aux sous-unités GluA2/GluA3 qui constituent la majorité des récepteurs AMPA de ces neurones de projection (Hansen et al., 2021). Les AMPARs sont également retrouvés dans les neurones périphériques et dans tous les types de cellules gliales (Hansen et al., 2021).

L'activité de certains AMPARs pourrait être médiée par une signalisation dépendante de protéines G, leur conférant ainsi une activité métabotrope. A titre d'exemples, certains AMPARs activent des MAP kinases, suggérant l'implication d'une protéine G, interagissent avec des protéines Gi ou encore sont impliqués dans l'inhibition présynaptique de la neurotransmission GABAergique sur des cellules de Purkinje dans le cervelet au travers d'une voie de signalisation métabotrope (Falcón-Moya & Rodríguez-Moreno, 2021; Hansen et al., 2021; Valbuena & Lerma, 2016).

Comme nous allons le détailler par la suite, les AMPARs jouent un rôle central dans la mise en place de formes variées de plasticité synaptique.

3. Les récepteurs kaïnate

Les récepteurs kaïnate (KARs) font partie de la famille des iGluRs, dont la signalisation est médiée par l'activité du canal ionique. Il a cependant été montré que ce type de récepteurs pouvait être couplé à une signalisation métabotrope médiée par une protéine G. La signalisation des KARs postsynaptique est plus médiée par une activité métabotrope (GluK5) que ionotrope de ces récepteurs, et ils contribuent à certaines formes de plasticité synaptique et modulent la transmission inhibitrice (Falcón-Moya & Rodríguez-Moreno, 2021). Ces récepteurs sont exprimés à travers le cerveau et peuvent être localisés en pré-, post-, ou extrasynaptique selon le type cellulaire. Les KARs présynaptiques régulent à la fois la libération de neurotransmetteur excitateur et inhibiteur, ceux exprimés en postsynaptique participent à la transmission excitatrice et ceux situés en extrasynaptique sont impliqués dans l'excitabilité neuronale (Evans et al., 2019).

Les KARs regroupent cinq sous-unités réparties en deux familles selon leur affinité pour le glutamate : les sous-unités à faible affinité (GluK1-GluK3), nécessaires pour l'expression membranaire du récepteur, et les sous-unités à forte affinité (GluK4 et GluK5), indispensables à la localisation synaptique des KARs, et régulant leur cinétique (Valbuena & Lerma, 2016). Les sous-unités GluK1-3 peuvent s'assembler en homomères ou hétéromères fonctionnels, ce qui n'est pas le cas des GluK4-5 qui doivent s'assembler avec GluK1-3 pour former des récepteurs fonctionnels (Hansen et al., 2021) (**Figure 21**).

Une forte densité de KARs est présente dans le CA3 de l'hippocampe, dans le striatum et dans les cellules granulaires du cervelet (Hansen et al., 2021). A l'âge adulte, les sous-unités GluK1 sont principalement exprimées dans les interneurons inhibiteurs tandis que les GluK2 sont majoritaires dans les neurones glutamatergiques et les GluK3 dans plusieurs types neuronaux au sein de plusieurs structures (Hansen et al., 2021; Valbuena & Lerma, 2016). GluK4 a une expression plus restreinte au CNS mature, tandis qu'on retrouve GluK5 de façon abondante à travers le cerveau. Dans le cortex, l'ARNm de GluK3 et GluK5 est exprimé dans la plupart des régions, GluK2 a une forte expression dans le cortex cingulaire, GluK1 a une expression globale plus faible, mais assez dense dans le cortex sensorimoteur et GluK4 a une expression plus faible que les autres sous-unités dans cette structure (Hansen et al., 2021). Dans le reste du cerveau, on retrouve entre autres, GluK2, GluK3, GluK5 dans le striatum ; GluK3 dans la substance noire compacte (SNc) ou encore GluK1 principalement dans le pallidum ventral (VP).

Les KARs régulent de manière bidirectionnelle la croissance neurale à travers une signalisation ionotrope et métabotrope (Valbuena & Lerma, 2016). L'activation des KARs par une signalisation métabotrope facilite ou réduit la libération de glutamate dans plusieurs régions telles que dans l'hippocampe, l'amygdale, le cervelet, le cortex ou encore le globus pallidus et le striatum dorsal (Falcón-Moya & Rodríguez-Moreno, 2021). Effectivement, il a été montré que les récepteurs kaïnates peuvent réguler la libération présynaptique de GABA et de glutamate au travers d'une signalisation second messenger impliquant une protéine G, ou par modification du courant. D'un point de vue mécanistique, la plupart des études démontrent l'activation de protéine Gi/o, de PLC et de PKC. Les mécanismes plus précis d'interaction directe ou par une protéine intermédiaire entre les KARs et les protéines G sont encore peu éclaircis. En comparaison aux AMPARs, les KARs contribuent peu aux courants postsynaptiques et ont des cinétiques plus lentes (Valbuena & Lerma, 2016).

4. Les récepteurs GluD

Les récepteurs δ sont formés des sous-unités GluD1 et GluD2 formant des homomères. Bien que les séquences de ces sous-unités aient de grandes similarités avec celles des autres iGluRs, la fonctionnalité de leur canal ionique reste non élucidée (**Figure 21**). Les GluD postsynaptiques jouent plutôt un rôle dans l'organisation des protéines à la synapse, au travers d'interactions entre leur NTD et des protéines Cbln1-4, elles-mêmes en interaction avec des protéines neurexines (Nrxn) présynaptiques. Ces complexes transsynaptiques Nrxn-Cbln-GluD sont impliqués dans la formation et le maintien des synapses dans plusieurs structures cérébrales (Hansen et al., 2021; Yuzaki & Aricescu, 2017).

Le récepteur GluD1 est exprimé à travers le cerveau mais principalement dans le télencéphale. Il organise les synapses excitatrices dans le striatum dorsal par interaction avec Cbln1 et son implication a été montrée dans la neurotransmission dépendante des MSNs et dans la flexibilité comportementale (J. Liu et al., 2020). Les récepteurs GluD1 peuvent également organiser les synapses inhibitrices entre les interneurons corticaux et les neurones pyramidaux par des interactions avec Cbln4 (secrété par les interneurons SOM) (Hansen et al., 2021; Yasumura et al., 2012). Des études utilisant un modèle de souris KO pour GluD1 ont montré d'un point de vue neuronal, une augmentation de la densité en épines dendritiques dans l'hippocampe et le PFC, conjointement à une diminution de l'expression des sous-unités GluA1 et GluN2B ; et des altérations comportementales de natures diverses telles qu'une augmentation de l'activité spontanée et de l'agressivité, une diminution du comportement anxieux et de l'interaction sociale et des déficits d'apprentissage (Hansen et al., 2021).

Les récepteurs GluD2 sont exprimés à la synapse, dans la partie distale des dendrites des cellules de Purkinje du cervelet. Ils peuvent également former des complexes Nrxn-Cbln1-GluD2 permettant l'accumulation de protéines associées aux sites pré- et postsynaptiques. Dans le cervelet, la signalisation de GluD2 est impliquée dans la LTD aux synapses entre les fibres parallèles et les cellules de Purkinje. Plusieurs études altérant l'expression du gène *Grid2* ont montré l'implication de GluD2 dans le contrôle adaptatif de la locomotion (Hansen et al., 2021).

5. Les récepteurs NMDA

Contrairement aux précédents canaux ionotropiques AMPA et Kaïnates, les récepteurs N-méthyl-D-aspartate NMDA ont la particularité d'être à la fois ligand et voltage dépendants. D'une part, ils se distinguent par le blocage du canal ionique par du magnésium (Mg^{2+}) extracellulaire. Ce blocage peut être levé par une dépolarisation dépendante de l'activation rapide des récepteurs AMPA/kaïnate induite par la libération synaptique de glutamate (Mayer et al., 1984; Nowak et al., 1984). D'autre part, les récepteurs NMDA requièrent la liaison simultanée des co-agonistes que sont la glycine (ou D-Sérine) et le glutamate

pour leur activation (Hansen et al., 2017). La glycine (ou la D-sérine) se fixe sur le LBD de GluN1 ou GluN3 tandis que le glutamate se lie au LBD de GluN2. La concentration extracellulaire de glycine ou de D-sérine est relativement constante, faisant du glutamate le co-agoniste principal du récepteur NMDA et leur liaison dépend de la structure mais également de la localisation des récepteurs au niveau cellulaire. (Hansen et al., 2018). Cette classe de récepteurs permet principalement l'entrée de calcium (Ca²⁺) dans le neurone mais également de sodium (Na⁺) et la sortie de (K⁺) (Fan et al., 2014).

Expression des sous-unités du récepteur NMDA

On distingue sept sous-unités regroupées en trois catégories : la sous-unité GluN1 encodée par le gène GRIN1 possédant huit isoformes, les sous-unités GluN2 (GluN2A, GluN2B, GluN2C, GluN2D) encodées par 4 gènes GRIN2(A-D) et les sous-unités GluN3 (GluN3A et GluN3B) encodées par deux gènes GRIN3(A-B) (**Figure 21**). Les récepteurs NMDA sont uniquement des hétérotétramères composés de deux sous-unités obligatoires GluN1 et deux sous-unités modulatrices GluN2(A-D) ou GluN3(A-B) (Fan et al., 2014). Les sous-unités modulatrices peuvent s'assembler de manière à former des hétérodimères (2 sous-unités GluN2 ou GluN3 identiques) ou des hétérotrimères (2 sous-unités GluN2 distinctes ou assemblage de sous-unités GluN2-GluN3) comme illustré par la **Figure 24** (Paoletti et al., 2013).

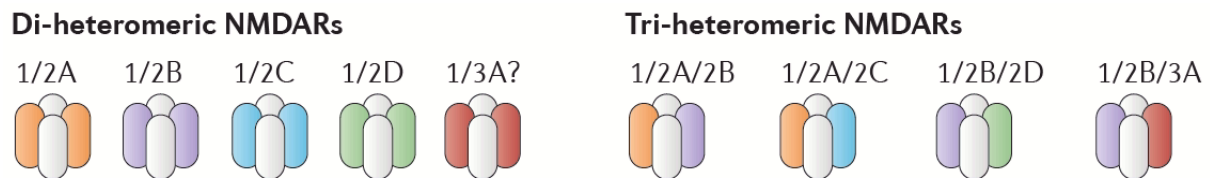


Figure 24 : Diversité d'agencement des sous-unités des récepteurs NMDA (Paoletti et al., 2013)

La composition en sous-unités des récepteurs NMDA varie en fonction du développement (Différence à P0, P14 et à l'âge adulte chez la souris, **Figure 25**), des structures et de leur localisation au niveau synaptique (Paoletti et al., 2013). Elle peut également être modulée par des mutations génétiques affectant les sous-unités, en lien avec des troubles du neurodéveloppement (Burnashev & Szepetowski, 2015) ou encore par la consommation de drogues telles que la cocaïne. En effet, chez les rongeurs, selon qu'elle est administrée par un expérimentateur ou de manière volontaire, on observe respectivement, une augmentation des niveaux d'expression de GluN2B dans le NAc (Smaga et al., 2019), et une diminution de l'expression de GluN1 dans la VTA couplée à des niveaux élevés de GluN1 dans le mPFC et le striatum dorsal, mais également de GluN2A et GluN2B dans cette dernière structure (Hemby, Horman, et al., 2005; Ungless et al., 2001). Des études post mortem chez l'humain ont par ailleurs montré une surexpression du gène GRIN2B (encodant la sous-unité GluN2B) à l'issue d'analyses postmortem d'hippocampes de patients souffrant d'addiction à la cocaïne (Enoch et al., 2014), et une augmentation de l'expression de GluN1 dans la VTA et le NAc (Hemby, Tang, et al., 2005; Tang et al., 2003) de victimes d'overdoses à la cocaïne (Smaga et al., 2019). La composition en sous-unités peut également être modulée par la prise d'opiacées comme le montrent l'augmentation des niveaux d'expression de GluN1 et GluN2B dans le mPFC et IPFC (lateral PFC) et celle des niveaux de GluN1, GluN2A et GluN2B dans l'OFC d'anciens consommateurs de ces substances (Daneshparvar et al., 2019).

Conformément à son rôle obligatoire au sein du récepteur NMDA, la sous unité GluN1 est exprimée dès E13 chez le rongeur et dès la semaine 8 de gestation chez l'humain, et on la retrouve de façon ubiquitaire à l'âge adulte (Ritter et al., 2001, 2002). Cependant, les isoformes de GluN1 ont des motifs d'expression différents selon les structures et selon que les neurones sont excitateurs ou inhibiteurs (Furlanis et al., 2019; Hansen et al., 2021).

Au cours du développement embryonnaire chez le rongeur, les sous-unités GluN2B et GluN2D sont largement exprimées. Ce n'est qu'après la naissance que l'expression des sous-unités GluN2A et GluN2C augmente. A l'âge adulte, GluN2A est exprimé dans la majorité des régions du CNS. GluN2D diminue progressivement une semaine après la naissance et son expression à l'âge adulte chez le rongeur se restreint à de faibles niveaux principalement dans le diencephale et mésencéphale (entre autres : interneurons GABAergiques du cortex et de l'hippocampe ; interneurons cholinergiques du striatum, ou encore certains neurones du thalamus ou des ganglions de la base). L'expression de GluN2B est quant à elle maintenue après la naissance et connaît un pic à P7, avant de se restreindre progressivement au cerveau antérieur. Cette inversion (*switch*) entre GluN2A et GluN2B se déroule à des échelles temporelles différentes selon l'aire corticale et selon le type cellulaire (interneurones vs neurones pyramidaux), et le ratio GluN2A : GluN2B diffère également selon les neurones et les structures (Hansen et al., 2021; W. Li & Pozzo-Miller, 2019). Enfin, l'expression de GluN2C apparaît aux alentours de P10 et est retrouvée principalement dans le cervelet, le noyau latéral du thalamus dorsal et le bulbe olfactif. Dans le cortex, l'hippocampe, le striatum et l'amygdale, GluN2C est très faiblement exprimée, et cette expression serait cantonnée aux astrocytes (Alsaad et al., 2019; Hansen et al., 2021; Paoletti et al., 2013).

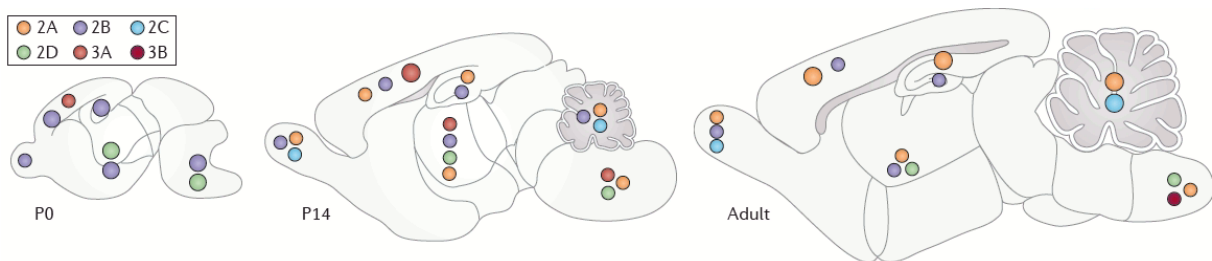


Figure 25 : Expression des sous-unités de NMDAR au cours du développement (Paoletti et al., 2013)

L'expression de GluN3A est faible pendant la phase embryonnaire, atteint son maximum peu après la naissance puis décline peu à peu. Durant la phase postnatale (jusqu'à P14), cette sous-unité est entre autres exprimée dans le thalamus, le néocortex, l'hippocampe, l'hypothalamus, le tronc cérébral, la colonne vertébrale. A l'inverse, GluN3B s'exprime progressivement au cours du développement (à partir de P7), et est principalement exprimée dans les neurones moteurs somatiques, le tronc cérébral et la colonne vertébrale à l'âge adulte, et à de plus faibles niveaux dans le cortex et l'hippocampe (neurones pyramidaux), et dans le striatum, le noyau accumbens et le cervelet (interneurones PV et SOM) (Pérez-Otaño et al., 2016; Wee et al., 2008). Le motif d'expression précoce de GluN2B, GluN2D et GluN3A au cours du développement laisse penser que ces sous-unités jouent un rôle important dans la synaptogenèse et la maturation synaptique. Chez l'adulte, particulièrement dans les structures corticales et hippocampiques, les sous-unités les plus représentées sont GluN2A et GluN2B, suggérant une forte implication dans les fonctions synaptiques et la plasticité synaptique (Hansen et al., 2021; Paoletti et al., 2013; Pérez-Otaño et al., 2016).

Localisation des récepteurs NMDA

Au sein du CNS, on retrouve les récepteurs NMDA en postsynaptique (Densité Postsynaptique, PSD), pérисynaptique, extrasynaptique et présynaptique. Une surexpression de leur localisation extrasynaptique couplée à une forte expression de la sous-unité GluN2B en comparaison à celle de GluN2A à cet endroit ont été associées à une plus forte mort cellulaire (Gladding & Raymond, 2011; Paoletti et al., 2013; Parsons & Raymond, 2014; Petralia, 2012). Les NMDARs présynaptiques modulent la libération de neurotransmetteur, influençant ainsi la transmission synaptique (Corlew et al., 2008). Ils augmentent à la fois la libération spontanée et évoquée de glutamate à la synapse dans le cortex, et régulent également la libération de neurotransmetteurs aux synapses GABAergiques dans cette même structure (Hansen et al., 2021). Les

récepteurs NMDA postsynaptiques sont mobiles et peuvent diffuser latéralement entre la PSD et les sites extra/périsynaptiques (Groc et al., 2009; Ladépêche et al., 2014). C'est particulièrement le cas des NMDARs contenant la sous-unité GluN2B, diffusant entre la synapse et les sites extrasynaptiques, permettant ainsi la régulation de la quantité de récepteurs à la synapse, et de leur composition en sous-unités. Cette diffusion entre la synapse et les sites extrasynaptiques concerne environ 30% des NMDARs, et pour ces récepteurs, le temps passé à la PSD n'est de l'ordre que de quelques secondes. Par ailleurs, en considérant l'ensemble des NMDARs, ceux diffusant et ceux étant plus stables à la synapse, leur temps de résidence synaptique moyen est de l'ordre de quelques minutes, contribuant ainsi à créer un équilibre dynamique entre diffusion des récepteurs et stabilisation à la synapse (Groc et al., 2006a, 2009; Tovar & Westbrook, 2002). La diffusion membranaire des NMDARs peut être modulée par des interactions directes avec de nombreuses protéines telles que CaMKII, des protéines d'échafaudage à la PSD, ou encore par des interactions avec des récepteurs tels que le récepteur ionotropique nicotinique à l'acétylcholine $\alpha 7$ ($\alpha 7$ -nAChR), ou certains GPCRs tels que mGluR5a ou le récepteur aux opioïdes Mu (MOR) ou encore avec les récepteurs de la dopamine, point sur lequel nous reviendrons par la suite (Ladépêche et al., 2014).

Mode d'action des récepteurs NMDA

Le glutamate libéré à la synapse active les iGluRs permettant ainsi l'entrée de courant ce qui résulte en la dépolarisation du neurone postsynaptique. Ces courants excitateurs postsynaptiques (EPSCs) ont deux composantes principales correspondant à l'activation des récepteurs AMPA et NMDA. Les courants synaptiques issus de l'activation des récepteurs AMPA sont caractérisés par une augmentation et une diminution rapide tandis que les récepteurs NMDA sont responsables d'un courant qui s'active plus doucement avec une durée de l'ordre de la dizaine ou centaine de millisecondes suivant la recapture du glutamate (**Figure 26**). Cela reflète en partie l'affinité de liaison de l'agoniste mais également le mécanisme d'activation des récepteurs au cours duquel se succèdent rapidement des transitions entre des états de conformation ouvert lorsque le glutamate est lié, et fermé, jusqu'au retrait total du glutamate du site de liaison conduisant à l'arrêt de l'EPSC (Hansen et al., 2018; Lester et al., 1990; W. Zhang et al., 2008). Cette activation rapide des récepteurs AMPA est à l'origine d'une dépolarisation permettant la levée du bloc Mg^{2+} des récepteurs NMDA. Le courant issu des récepteurs NMDA dépend ainsi à la fois du potentiel membranaire et de la fréquence de libération synaptique, faisant de ces récepteurs des détecteurs de coïncidence qui répondent uniquement à la libération de glutamate présynaptique et à la dépolarisation postsynaptique avec un courant synaptique lent permettant une légère entrée de Ca^{2+} externe dans les épines dendritiques (Hansen et al., 2018; Seeburg et al., 1995). Ce changement de la concentration intracellulaire en calcium est un signal conduisant à de nombreux changements dans le neurone postsynaptique à court ou long terme (Hansen et al., 2018). Lorsque le glutamate est libéré dans la fente synaptique, sa concentration atteint environ 1mM pendant une durée assez brève avant de diminuer progressivement à la suite de la diffusion et de la recapture du glutamate de la fente synaptique par les transporteurs d'acides aminés excitateurs (EAATs, correspondant aux transporteurs du glutamate (Divito & Underhill, 2014)) (Hansen et al., 2017).

La quantité de Ca^{2+} entrant dans la cellule par les récepteurs NMDA dépend de la probabilité d'ouverture du canal ionique (Fraction de temps au cours de laquelle le canal reste ouvert lorsqu'il est activé par un ligand ou par voltage (Lau & Zukin, 2007)), la cinétique de dissociation (L'évolution temporelle de la diminution du courant qui suit le retrait de l'agoniste (Paoletti et al., 2013)) ou encore la perméabilité au Ca^{2+} . Ces paramètres dépendent fortement de la composition en sous unités GluN2 (Hansen et al., 2021). A titre d'exemple, les hétérodimères GluN1/GluN2A ont une probabilité d'ouverture élevée mais une cinétique très rapide tandis que les GluN1/GluN2B ont une probabilité d'ouverture plus faible et une cinétique de dissociation plus lente (Hansen et al., 2021). Leurs conductance, sensibilité au blocage par le

Mg²⁺ et perméabilité au Ca²⁺ restent toutefois plus élevée que celles des hétérodimères contenant les sous-unités GluN2C ou GluN2D (Paoletti et al., 2013). Suite à la liaison répétée d'agoniste, on observe une diminution des courants médiées par les NMDARs, indépendamment du flux ionique, par un mécanisme impliquant l'internalisation des récepteurs NMDA (Valbuena & Lerma, 2016).

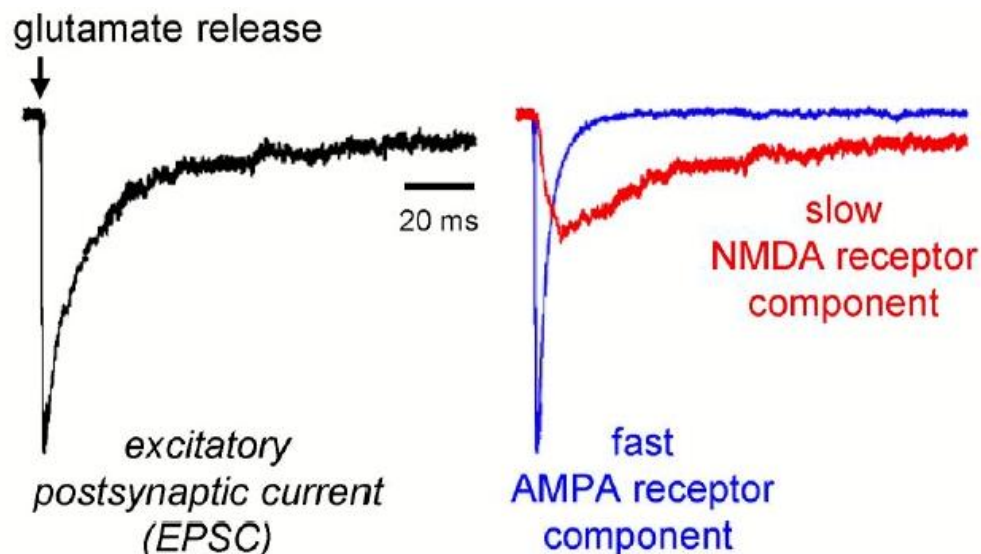


Figure 26 : Composante rapide (AMPA) et lente (NMDAR) des courants postsynaptiques excitateurs (EPSC) à la synapse (Hansen et al., 2018)

Fonctions des récepteurs NMDA

Les récepteurs NMDA sont impliqués dans de nombreuses fonctions cérébrales au cours du développement et à l'âge adulte (Hansen et al., 2021). C'est le cas de la neurogenèse (Mochizuki et al., 2007) et de la migration neuronale (Hirasawa et al., 2003; Mancini & Atchison, 2007) ou encore du développement des neurites, dans la différenciation neuronale des axones et dendrites (Van Horn et al., 2017; Yamasaki et al., 2014) (avec un rôle particulier selon les sous-unités et le type cellulaire). Les NMDARs sont également fortement impliqués dans la formation des synapses. En effet, plusieurs études ont montré l'importance des NMDARs dans la régulation de la formation des épines dendritiques, mais également dans leur maturation et leur stabilisation dans les neurones matures et en développement, à travers leur rôle dans l'élagage synaptique (*pruning*) et le renforcement des synapses immatures (McKinney, 2010; Z. Zhang et al., 2013). Les sous-unités constituant les NMDARs jouent un rôle spécifique dans ces processus : la suppression de GluN2B augmente le nombre de synapses fonctionnelles tandis que la suppression de GluN2A augmente la force des connexions sans affecter le nombre de synapses fonctionnelles ; l'application d'antagoniste de GluN2B empêche la formation de filopodes tandis que l'application d'antagonistes de GluN2A empêche la formation de dendrites secondaires (Gray et al., 2011; Henle et al., 2012) Les NMDARs sont également nécessaires à la formation des synapses inhibitrices (Cserép et al., 2012; Rosato-Siri et al., 2002). Les fonctions principales des récepteurs NMDA et des autres iGluRs sont synthétisées dans les **Figures 27 et 28** issues de (Hansen et al., 2021).

D'un point de vue comportemental, des déficits de flexibilité cognitive induits par un stress chronique chez le rat ont été associés à une altération de la neurotransmission du glutamate dans le mPFC (Jett et al., 2017). Une délétion de la sous-unité obligatoire GluN1 de NMDAR sur les neurones dopaminergiques chez la souris perturbe les performances dans des tâches de discrimination visuelle et de *reversal learning* (Radke, Zweifel, et al., 2019). La délétion et/ou le blocage de GluN2B dans le circuit corticostriatal perturbe

l'apprentissage d'un choix dans le DMS, et altère la capacité à changer de stratégie dans le MO ou dans le mPFC (Brigman et al., 2013). Ces résultats suggèrent donc l'implication des récepteurs NMDA du PFC et du striatum dans diverses composantes des actions dirigées vers un but impliquant une forme de flexibilité.

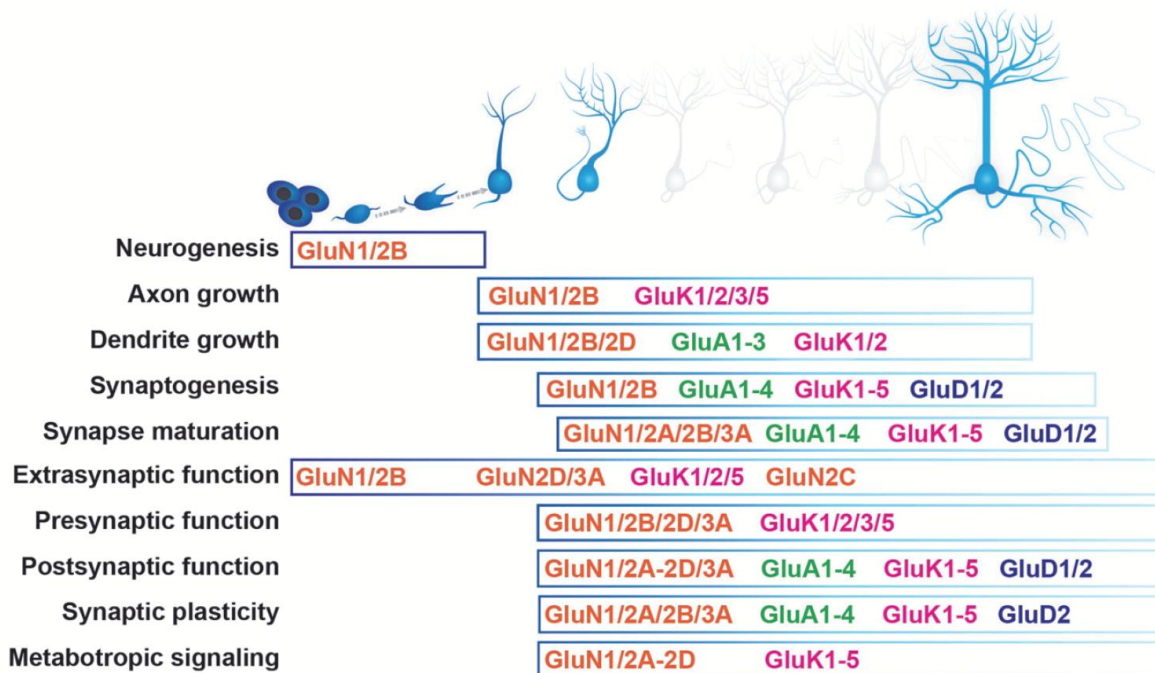


Figure 27 : Contribution des différentes sous-unités des iGluRs au fonctionnement neuronal au cours du développement (Hansen et al., 2021)

6. iGluRs et plasticité synaptique

Les iGluRs jouent un rôle essentiel dans plusieurs formes de plasticité synaptique tels que la plasticité à court terme ou à long terme.

En postsynaptique, les NMDARS traduisent les signaux synaptiques en médiant des courants synaptiques excitateurs et en initiant une signalisation intracellulaire calcium-dépendante, entraînant ainsi des modifications fonctionnelles, structurelles et de la composition moléculaire des synapses (Hansen et al., 2021). Les lentes cinétiques de dissociation des NMDARS permettent une forme d'intégration dendritique par sommation temporelle non-linéaire des potentiels synaptiques dépendants des NMDARS, ou *NMDA spikes* (Antic et al., 2010; Hansen et al., 2021; Palmer et al., 2014; Paoletti et al., 2013).

La plasticité à court terme, entre autres impliquée dans plusieurs formes de mémoire, d'attention ou encore dans le traitement de l'information sensorielle (Fortune & Rose, 2002; Jääskeläinen et al., 2011), fait référence à la capacité des synapses à augmenter ou diminuer la dépolarisation des épines dendritiques et l'activité résultant de la signalisation postsynaptique, lorsque des paires de stimuli présynaptiques arrivent au même bouton présynaptique, à l'échelle de la milliseconde. Ce processus qui ne dure que de quelques secondes à quelques minutes, implique à la fois des mécanismes pré- et postsynaptiques. On distingue deux formes principales de plasticité à court terme : la facilitation synaptique (*Paired-pulse facilitation*, PPF) et la dépression synaptique (*Paired-pulse depression*, PPD) des courants postsynaptiques médié par les AMPARs. Ces formes de plasticité sont caractérisées par une arrivée du deuxième stimulus au bouton présynaptique avant que le flux de Ca²⁺ soit terminé, et par une réponse postsynaptique à un second

stimulus présynaptique diminuée en comparaison au premier. L'activité passée à la synapse est déterminante dans l'orientation vers une facilitation ou dépression synaptique : les synapses ayant une forte probabilité de libération présynaptique tendent vers la dépression synaptique tandis que l'inverse est observé pour les synapses avec une faible probabilité de libération. Ces mécanismes sont principalement médiés par les AMPARs, et très peu par les NMDARs ou les KARs (Hansen et al., 2021).

Les processus de plasticité à long terme que sont la LTP et la LTD font respectivement référence à des formes de plasticité dans lesquelles la stimulation spécifique de fibres glutamatergiques afférentes peut induire une augmentation ou diminution de la signalisation synaptique qui dure dans le temps (heures, jours), se traduisant *in fine* par une modulation de l'efficacité de la connexion, ie : une augmentation ou une diminution du nombre de récepteurs AMPA à la synapse. Ces mécanismes sont supposés être à l'origine de l'encodage et du stockage à long-terme de la mémoire, et les iGluRs sont impliqués dans les trois phrases qui les constituent et que sont : l'induction, l'expression et le maintien (Collingridge et al., 2010; Hansen et al., 2021; Paoletti et al., 2013; Traynelis et al., 2010; Volianskis et al., 2015). Une stimulation à haute fréquence (HFS) augmente grandement la concentration de calcium intracellulaire menant à une potentialisation à long terme (LTP), tandis qu'une stimulation à basse fréquence (LFS) mène à une dépression à long terme (LTD) par une augmentation plus faible de la concentration en Ca²⁺ intracellulaire. La LTD peut également être induite par STDP (*Spike-timing dependent plasticity*) ou par de faibles concentrations d'agoniste (Collingridge et al., 2010; Hansen et al., 2021; Paoletti et al., 2013; Volianskis et al., 2015).

La LTP et la LTD dépendantes des AMPARs nécessitent un influx calcique médié par les NMDARs, et la direction que prend la plasticité est fonction de l'amplitude et du décalage temporel de l'augmentation calcique postsynaptique. Or comme nous l'avons vu, ces paramètres dépendent fortement de la composition en sous-unité, GluN2 notamment, des NMDARs (Paoletti et al., 2013). Le modèle classique veut que GluN2A soit associé à l'induction de LTP alors que GluN2B participerait grandement à la mise en place de la LTD. Cependant, cette dichotomie n'est pas si simpliste et des études ont montré la nécessité de GluN2B pour la LTP mais pas pour la LTD, ou encore que GluN2A n'était pas requis pour la LTP (Foster et al., 2010; Morishita et al., 2007; Müller et al., 2009; Weitlauf et al., 2005). Il semblerait que dans le cas de la LTP, ces deux sous-unités soient impliquées, au travers de l'activité des NMDARs formés par l'hétérodimère GluN1/GluN2A (rôle ionotropique : entrée d'une large quantité de Ca²⁺) et l'hétérotrimère GluN1/GluN2A/GluN2B (rôle structurel : par le recrutement de molécules clés pour la LTP, via des interactions avec le CTD), les deux populations majoritaires dans le cerveau antérieur (Al-Hallaq et al., 2007; Foster et al., 2010; Paoletti et al., 2013; Rauner & Köhr, 2011). L'expression de la LTP est médiée par les cascades de signalisation calcium dépendantes qui augmentent le nombre d'AMPARs à la PSD, par trafic de récepteurs à la membrane, diffusion latérale à la synapse, et capture des AMPARs par la PSD (Opazo et al., 2012; Penn et al., 2017).

LTP et LTD peuvent également être catégorisées selon l'origine de la transmission synaptique étudiée : la plasticité à long terme est généralement médiée par des modifications dépendantes de la transmission des récepteurs AMPA, cependant de nombreuses études montrent aujourd'hui que les NMDARs - nécessaires à l'induction de la LTP médiée par les AMPARs - sont également modulés par la plasticité à long terme (Collingridge et al., 2010; Paoletti et al., 2013). En effet, concernant la LTP, il a notamment été montré que de brèves périodes d'activité synaptique induisaient une augmentation prolongée de la transmission NMDARs dépendante, sans modification de la transmission AMPARs dépendante (Harnett et al., 2009; Hunt & Castillo, 2012; Kwon & Castillo, 2008). L'expression de cette forme de LTP peut se traduire par plusieurs mécanismes tels que l'exocytose de NMDARs, une augmentation de leur expression en surface ou encore par recrutement de NMDARs extrasynaptiques en postsynaptique (Hunt & Castillo, 2012). La LTD dépendante des NMDARs a été démontrée à plusieurs types de synapses, avec des protocoles similaires à

ceux généralement utilisés pour induire la LTD AMPARs dépendante, tels que la LFS. De la même manière que pour la LTP, l'expression de la LTD NMDARs dépendante est assez diverse et peut se traduire par diffusion latérale des NMDARs loin de la synapse, ou par endocytose des récepteurs (Hunt & Castillo, 2012).

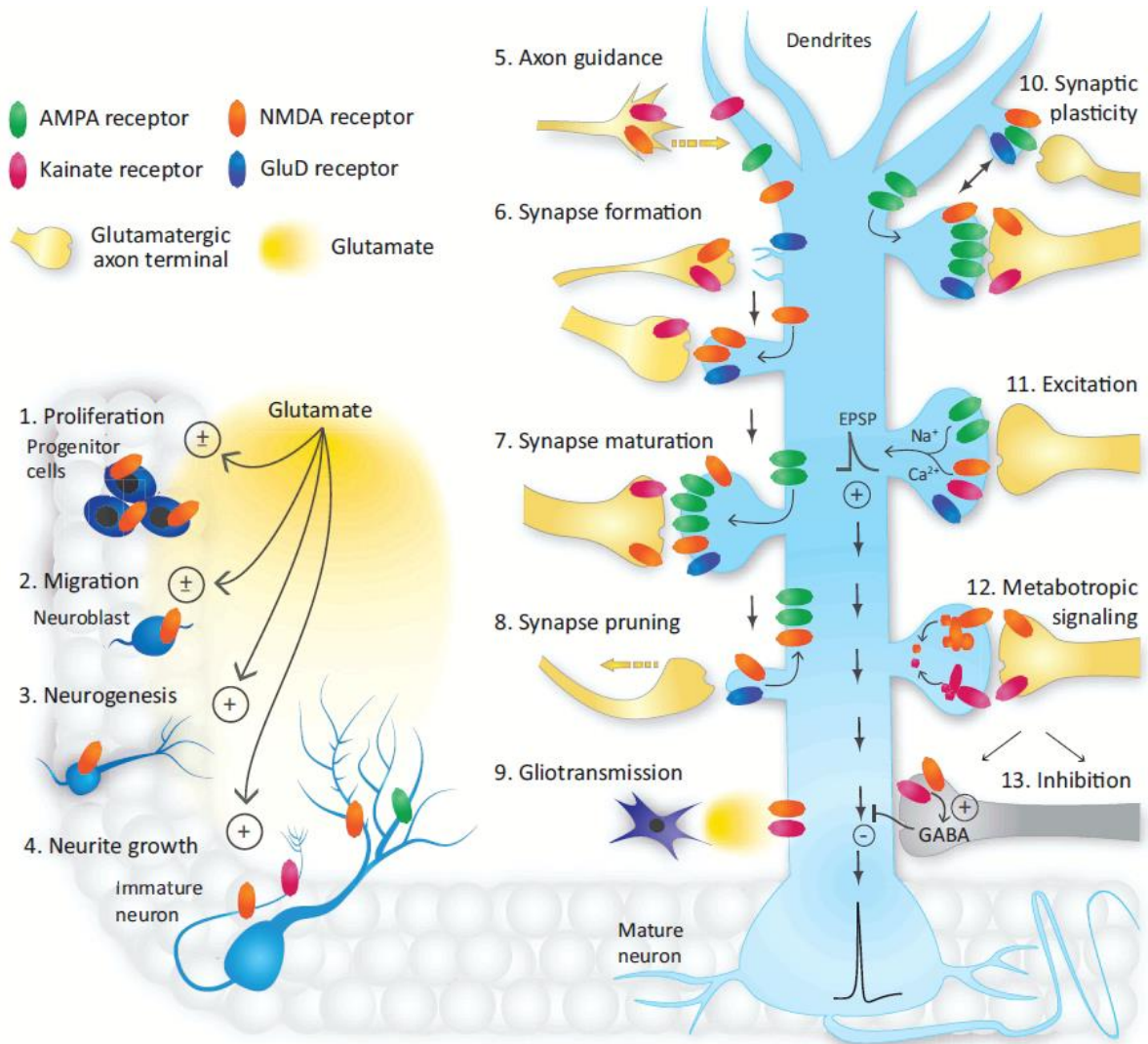


Figure 28 : Rôle des iGluRs dans le CNS au cours du développement embryonnaire et dans un neurone mature (Hansen et al., 2021)

C. Hétéromères de récepteurs

De nombreux mécanismes d'hétéromérisation de récepteurs sont décrits à travers le CNS. On peut notamment citer les dimères de mGluRs, ou encore les sous-types de récepteurs GABA-B. Dans cette partie, nous allons nous intéresser aux interactions entre récepteurs que peuvent former les récepteurs dopaminergiques, les récepteurs glutamatergiques de type NMDA et plus particulièrement celles qu'ils peuvent former entre eux.

Les GPCRs ont la capacité à entrer en interaction directe entre eux, de façon à former des complexes de récepteurs semblables (homomères), ou distincts (hétéromères) in vitro et in vivo. Ces interactions peuvent mener à des modifications de leur propriétés biophysiques intrinsèques, en comparaison de leur fonctionnement en tant que monomère uniquement. Les premières descriptions de ce type d'interaction remontent aux années 1980, et à la mise en évidence par Fuxe et collaborateurs, de la modulation des

propriétés de certains récepteurs à la dopamine ou à la sérotonine par des récepteurs au glutamate et à certains neuropeptides (tels que la substance P, CCK-4 ou CCK-8) (Fuxe et al., 1983). De par leur différentes propriétés intrinsèques, l'entrée en interaction de récepteurs distincts lors de l'hétéromérisation a le potentiel d'induire une plus grande diversité et complexité de signalisation en aval. Il existe une nécessité pour certains récepteurs d'entrer en interaction de façon à former une unité fonctionnelle. C'est le cas notamment de plusieurs récepteurs appartenant à la classe C des GPCR, dont les récepteurs au GABA, GABA-B1 et GABA-B2 ou encore les mGluRs qui s'hétéromérisent, les monomères indépendants étant non fonctionnels. En considérant un récepteur comme une unité fonctionnelle en elle-même, capable de transduire un signal, il est possible de regrouper sous le terme « récepteur hétéromérique », les récepteurs composés de plusieurs sous-unités non fonctionnelles en tant que tel. Cette catégorie englobe ainsi les récepteurs au GABA de type B, les mGluRs, certains récepteurs nicotiques à l'acétylcholine ou encore les récepteurs ionotropiques au glutamate (Ferré et al., 2009). Au contraire, un consensus s'est établi pour définir les hétéromères de récepteurs comme un complexe macromoléculaire composé au moins de deux récepteurs - par ailleurs fonctionnels lorsqu'ils n'interagissent pas - possédant des propriétés biochimiques différentes de celles des monomères qui le composent (Dale et al., 2022; Ferré et al., 2009; Gomes, Ayoub, et al., 2016).

1. Caractéristiques propres aux hétéromères

Pour être définis en tant que tels, les hétéromères de récepteurs doivent présenter des propriétés biochimiques distinctes de celles des protomères qui le composent, relatives à leur pharmacologie. Ces caractéristiques peuvent relever de plusieurs dimensions telles que les propriétés de liaison de ligands, l'impact de l'hétéromère sur les voies de signalisations activées ou encore les conditions de formation, de trafic membranaire ou d'internalisation (**Figure 29**). De nombreuses études suggèrent que ces propriétés distinctes sont le fruit d'interactions allostériques entre les protomères formant l'hétéromère (Dale et al., 2022; Smith & Milligan, 2010).

C'est notamment le cas pour l'affinité de liaison d'un ligand à un récepteur contenu dans l'hétéromère (Milligan & Smith, 2007; Smith & Milligan, 2010). On distingue des modulations allostériques positives comme c'est par exemple le cas pour l'hétéromère de récepteurs opioïdes δ - μ (augmentation de la capacité maximum de liaison d'agonistes de μ R en présence d'agonistes de δ R (Gomes et al., 2004)) mais également des modulations allostériques négatives comme pour le complexe formé par le récepteur à l'angiotensine II AT1 et le récepteur adrénergique β 2 (diminution de l'affinité de leur ligands respectifs quand les récepteurs s'hétéromérisent, en comparaison de celle lorsqu'ils sont sous forme de protomères (Johnstone et al., 2021)) (Dale et al., 2022). C'est également le cas d'hétéromères contenant le récepteur A2A, plusieurs études ayant montré que la liaison d'un agoniste à A2AR réduit l'affinité des ligands de l'autre récepteur formant l'hétéromère (Smith & Milligan, 2010).

Les hétéromères de récepteurs peuvent également moduler le couplage aux protéines G (Dale et al., 2022; Smith & Milligan, 2010). L'hétéromérisation entre les récepteurs adrénergiques β 2 et β 3 entraîne le découplage de chaque récepteur de la protéine $G_{\alpha i}$ tout en maintenant le couplage à la protéine $G_{\alpha s}$ (Breit et al., 2004). Concernant le complexe D2R/A2AR, la stimulation d'A2AR induit le découplage de la protéine $G_{\alpha s}$ de D2R (Ferré et al., 2008). Des échanges de couplage entre les protéines G peuvent également avoir lieu, comme c'est le cas pour le complexe formé par D2R et le récepteur cannabinoïde CB1 (Jarrahian et al., 2004), ce dernier se couplant à la protéine $G_{\alpha s}$ à la place de $G_{\alpha i}$, ou encore pour l'hétéromérisation entre D1R et le récepteur de l'histamine H3 où le couplage de D1R passe de $G_{\alpha s}$ à $G_{\alpha i}$ (Ferrada et al., 2009).

Une grande question dans le domaine des hétéromères consiste à se demander si les récepteurs s'hétéromérisent une fois à la membrane, ou avant de l'atteindre, et il semblerait que ces processus soient

spécifiques de chaque complexe. A titre d'exemple, des résultats contradictoires ont émergé à propos du trafic de l'hétéromère formé par les récepteurs opioïdes δ et μ , que le complexe se forme à la membrane, à la suite du recrutement d'une protéine G ou bien qu'il se forme dans le réticulum endoplasmique (RE) et dans l'appareil de Golgi avant d'être acheminé à la membrane. Cette formation dans le RE, antérieure à l'ancrage à la membrane, a également été démontrée pour d'autres hétéromères formés de GPCR de type A (Dale et al., 2022). Lorsqu'ils sont transfectés dans des cellules en culture, une grande partie des GPCRs de classe A et C ne sont pas exprimés directement à la membrane plasmique, et il est suggéré que l'hétéromérisation de GPCRS pourrait être nécessaire à la maturation et à l'adressage de ces récepteurs à la surface de la cellule (Dale et al., 2022; Vischer et al., 2011).

Les voies d'internalisation varient également grandement selon le type d'hétéromère. Plusieurs études convergent vers un mécanisme d'internalisation ou un des deux protomères jouerait un rôle prépondérant dans ce processus (Dale et al., 2022). C'est notamment le cas pour le complexe D1R/D3R en système hétérologue, alors que suite à une stimulation par un agoniste, le D1R s'internalise mais pas le D3R, l'hétéromérisation D1R/D3R inhibe l'internalisation de D1R induite par un agoniste, et induit la séquestration cytoplasmique β -arrestine dépendante de ce complexe de récepteurs en réponse à la stimulation simultanée des deux récepteurs (Fiorentini et al., 2008).

La désensibilisation et l'internalisation des GPCRs est principalement médiée par les β -arrestines pour terminer la signalisation induite, mais ces dernières peuvent également être à l'origine de signalisation second messenger. En effet, certains GPCRs peuvent également émettre une signalisation au travers des β -arrestines 1 et 2 (Lefkowitz & Shenoy, 2005) et certains récepteurs à 7 domaines transmembranaires ne fonctionnant pas en association avec une protéine G émettent une signalisation de cette manière (Rajagopal et al., 2010). Il a également été montré que des complexes de GPCR de classe B, β -arrestine et protéine G hétérotrimérique, nommés « mégaplexes » médient une signalisation prolongée de la protéine G pour des GPCRs internalisés en endosomes (Thomsen et al., 2016). L'hétéromérisation de certains récepteurs module ainsi le recrutement de la β -arrestine et la signalisation qui s'ensuit. C'est notamment le cas des hétéromères formés par les récepteurs de l'angiotensine AT1 et AT2. Sans hétéromérisation et à la suite d'une stimulation, le récepteur AT1 recrute la β -arrestine et s'internalise tandis que le récepteur AT2 ne la recrute pas et ne s'internalise donc pas. Cependant, sous forme de complexe AT1-AT2, l'hétéromère ainsi formé s'associe à la β -arrestine-2 suite à l'activation des récepteurs, mais sans s'internaliser, modifiant ainsi les interactions de chacun de ces récepteurs avec la β -arrestine (Dale et al., 2022; Porrello et al., 2011).

L'hétéromérisation peut également modifier la signalisation classique de certains récepteurs en préférant un couplage à la β -arrestine, comme pour les hétéromères de récepteurs aux opiacés μ et δ . Ce complexe recrute la β -arrestine-2, ce qui induit une modification spatiotemporelle de la régulation de la signalisation ERK 1/2 dépendante de ces récepteurs (Rozenfeld & Devi, 2007).

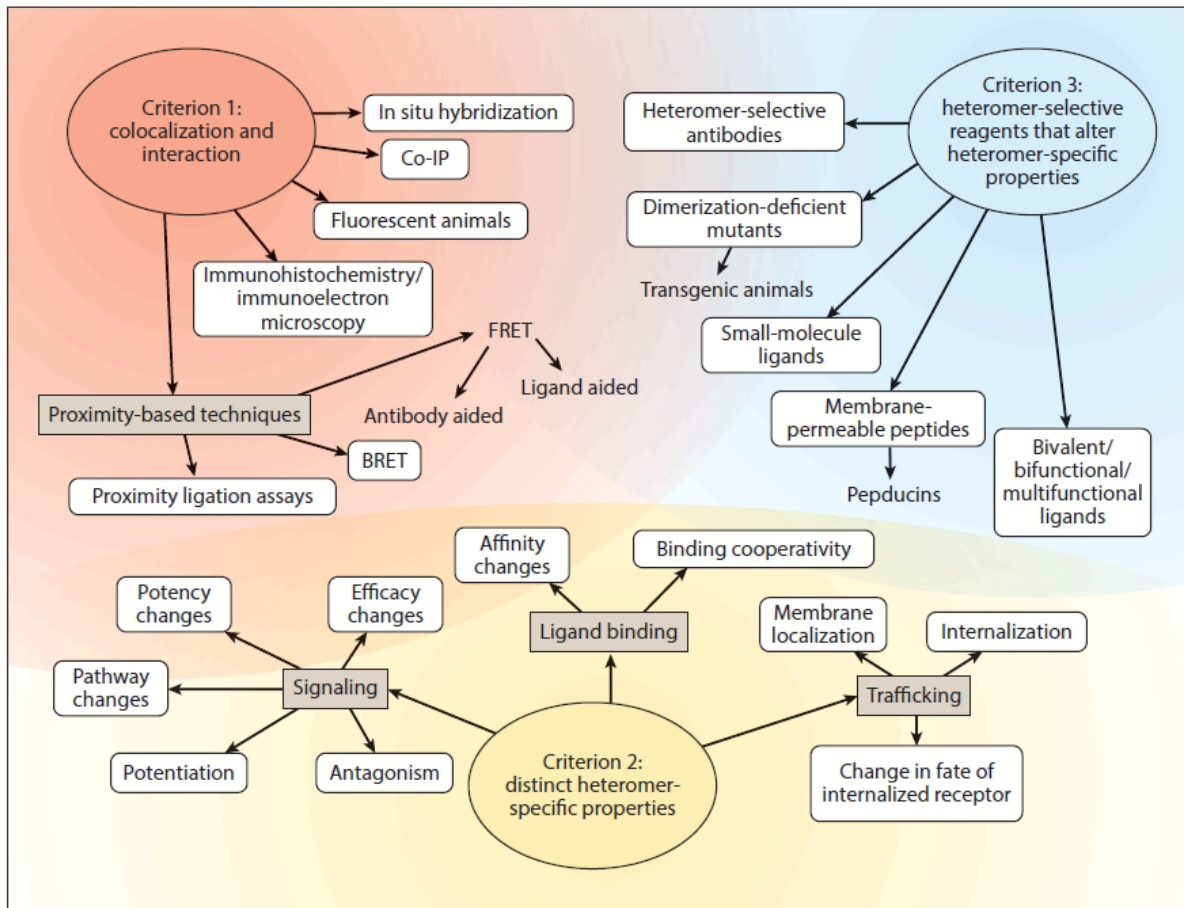


Figure 29 : Critères de définition d'un hétéromère de récepteurs (Gomes, Ayoub, et al., 2016)

2. Détection de la colocalisation et de la forte proximité entre récepteurs

i. Méthodes classiques d'établissement d'une colocalisation

Plusieurs techniques classiquement utilisées permettent de mettre en évidence une colocalisation d'expression de protéines, et notamment de récepteurs (Fernández-Dueñas et al., 2022).

La co-immunoprécipitation consiste à détecter la présence d'une protéine (d'un récepteur) grâce à un anticorps dans un extrait de tissu lysé, en l'immobilisant et le purifiant avant d'analyser par western blot les protéines qui ont été précipitées avec la protéine d'intérêt, ie : les protéines liée à l'antigène détecté (Morato Arús et al., 2016). Cette technique peut constituer une première étape dans la démonstration d'une interaction entre deux récepteurs, mais elle possède plusieurs limites. Entre autres, elle ne permet pas la détection d'une interaction directe ni d'interactions de faibles affinités, l'utilisation de détergents pour solubiliser les protéines membranaires peut induire la formation d'interactions artificielles ou au contraire empêcher la détection de certaines interactions présentes sur le tissu natif ; enfin, la résolution ne permet pas de discriminer la population ou le compartiment neuronal où a lieu l'interaction (Fernández-Dueñas et al., 2022).

Dans le contexte de l'expression de protéines dans une même cellule, l'hybridation in situ a été utilisée pour évaluer la co-expression des protomères de récepteurs dans des cellules individuelles au sein d'une structure. L'hybridation in situ en fluorescence a marqué une étape supplémentaire en permettant la visualisation concomitante de sondes fluorescentes. Cependant, cette technique indique la présence

d'ARNm et non pas de la protéine elle-même, d'autres techniques complémentaires ont donc dû être utilisées pour démontrer la présence d'hétéromères (Gomes, Ayoub, et al., 2016).

Les méthodes classiques d'immunohistochimie, permettent une colocalisation de l'expression de protéines en terme de sous-structure et de population neuronale, mais elles ne démontrent pas une interaction directe entre les récepteurs (Fernández-Dueñas et al., 2022).

Ces techniques ne permettent donc pas d'identifier une interaction entre protéines, mais plutôt de caractériser une co-expression d'ARNm ou de protéines dans une région définie, à relativement grosse échelle. Une nécessité a donc émergé, d'élaborer des techniques permettant l'obtention d'une meilleure résolution dans la détection d'interactions protéiques.

ii. Techniques de détection d'une forte proximité entre récepteurs

Plus récemment, plusieurs techniques offrant une résolution améliorée d'identification d'interaction entre protéines ont vu le jour (Cabello et al., 2009; Fernández-Dueñas et al., 2022).

La technique de microscopie électronique en immunogold (IEM) utilise des particules d'or couplées à des anticorps secondaires de façon à visualiser l'expression des récepteurs au niveau subcellulaire. La microscopie électronique permet d'avoir une meilleure résolution spatiale, sensibilité et ultrastructure que la microscopie optique. Les particules d'or couplées aux anticorps secondaires sont de tailles différentes, ce qui permet non seulement de localiser les différentes protéines au sein d'un compartiment neuronal, mais également de mesurer la distance entre deux particules différentes, de façon à identifier de potentiels oligomères (Cabello et al., 2009; Fernández-Dueñas et al., 2015, 2022).

Le Proximity Ligation Assay est une technique s'appuyant sur les méthodes d'immunohistochimie classique, développée au début des années 2000 (Fredriksson et al., 2002), qui a depuis été utilisée pour mettre en évidence une forte proximité suggérant une interaction, entre deux protéines (**Figure 30 A**). Des anticorps primaires élevés dans des espèces différentes reconnaissent des antigènes d'intérêt, et sont ensuite reconnus eux-mêmes par des anticorps secondaires. La particularité réside dans le couplage des anticorps secondaires à des petites séquences d'ADN simple brin complémentaires. Lorsque les antigènes et donc les brins d'ADN sont en proximité assez élevée (16nm au niveau des brins), ces derniers peuvent entrer en interaction en présence de connecteurs composés d'oligonucléotides. Cette interaction permet de générer un brin d'ADN circulaire amplifiable, servant de modèle à une réaction locale d'amplification de l'ADN par réplication circulaire. Le produit de cette amplification peut ensuite être détecté par hybridation avec des oligonucléotides complémentaires marqués par un fluorophore ou conjugués à la HRP (Horseradish Peroxidase), et détectés ensuite par le substrat DAB (3,3'-Diaminobenzidine). Cette forte proximité entre récepteurs apparaît alors sous forme de point, visualisable en microscopie confocale (avec fluorophore), ou en microscopie plein champs à transmission (HRP couplée à la DAB) (Borrito-Escuela, Romero-Fernandez, et al., 2013; Fernández-Dueñas et al., 2022; Gomes, Sierra, et al., 2016; Söderberg et al., 2008; Trifilieff et al., 2011).

Les techniques de transfert d'énergie par résonance de bioluminescence (BRET) ou fluorescence / Förster (FRET) (RET), ont permis de mettre en évidence l'hétéromérisation de récepteurs exprimés par des cellules en culture, mais leur mise en œuvre sur du tissu reste plus complexe. Le principe est fondé sur le transfert d'énergie entre un donneur et un accepteur, résultant en l'émission de lumière par l'accepteur et une diminution de l'émission par le donneur (Förster, 2012, 1948). Les protéines d'intérêt peuvent être marquées avec des fluorophore, généralement CFP et un dérivé de la GFP (ex : YFP), et l'on parle alors de FRET (**Figure 30 B**) ou avec la YFP et l'enzyme luciférase (Rluc) et l'on parle alors de BRET. Lorsque les protéines taguées sont suffisamment proches (<10nm), dans le cas du FRET, la stimulation du fluorophore

ayant la plus petite longueur d'onde (le donneur ; et donc dégageant l'énergie la plus grande, ici CFP), va entraîner une augmentation de son intensité de fluorescence permettant de stimuler l'accepteur (ici YFP). Cela a pour conséquence d'augmenter l'intensité de fluorescence de l'accepteur tout en diminuant celle du donneur. On mesure ensuite le signal YFP émis par rapport à celui du donneur et ce signal FRET permet donc de mettre en évidence l'interaction entre les deux protéines d'intérêt.

Pour le BRET, la luciférase est sa propre source d'énergie et sur le même principe, lorsque les conditions de proximité/interaction sont remplies, l'énergie dégagée va pouvoir stimuler l'émission d'un signal depuis le fluorophore accepteur (**Figure 30 C**). L'avantage du BRET réside dans la bioluminescence de la luciférase, permettant de ne pas polluer l'échantillon avec le faisceau lumineux de stimulation du donneur et améliorant ainsi le signal en réduisant le bruit de fond. La luminescence résulte de la dégradation catalytique de la coelenterazine par la luciférase (Angers et al., 2000; Fernández-Dueñas et al., 2022; Milligan et al., 2003; Overton & Blumer, 2000). Pour ces deux variantes de RET, on distingue plusieurs limites concernant la détection d'un signal spécifique. Tout d'abord, il est possible que la liaison de la luciférase ou d'une protéine fluorescente modifie la conformation des récepteurs au sein du complexe, altérant potentiellement le signal RET. De plus, ces protéines tag pourraient interférer avec la capacité de chaque protomère à interagir avec d'autres protéines (dont l'autre protomère du complexe), ou avec le fonctionnement de celui-ci (Gomes, Ayoub, et al., 2016).

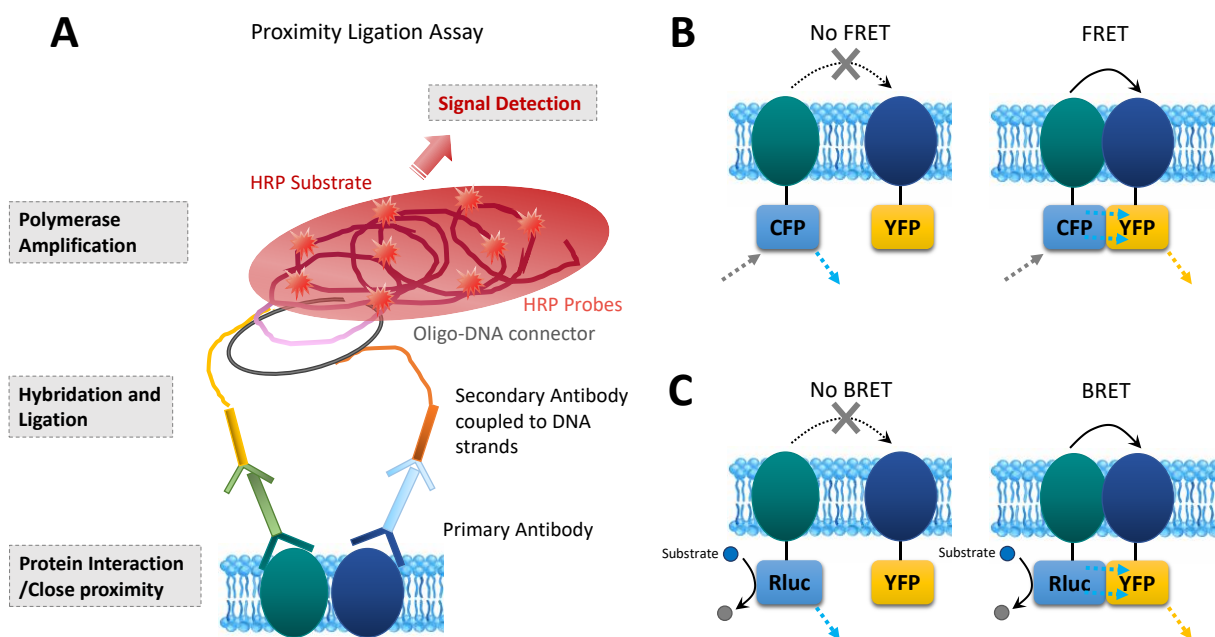


Figure 30 : Techniques de détection de la forte proximité entre deux récepteurs

A, Proximity Ligation Assay ; B, Transfert d'énergie par résonance de fluorescence (FRET) ; C, Transfert d'énergie par résonance de bioluminescence (BRET). HRP : horseradish peroxidase ; CFP : cyan fluorescent protein ; YFP : yellow fluorescent protein ; Rluc : luciférase.

Des améliorations plus récentes de ces techniques ont permis d'augmenter le signal FRET/BRET tout en réduisant le bruit, permettant ainsi une détection plus précise des oligomères de GPCRs. Le transfert d'énergie par résonance de fluorescence en temps résolu (*Time Resolved-FRET* ; TR-FRET) s'appuie sur l'utilisation de fluorophore faisant partie des terres rares, les lanthanides, ayant la particularité d'émettre une fluorescence longue, de l'ordre de plusieurs millisecondes (ex : europium, terbium). La fluorescence émise persistant après l'arrêt de la source lumineuse, permet de générer le signal-FRET tout en évitant le bruit de fond créé par le faisceau d'excitation initial. De plus, la meilleure compatibilité spectrale de ces

fluorophores donneurs avec les accepteurs, contribue également à l'amélioration du ratio signal/bruit (Albizu et al., 2010; Cottet et al., 2012; Fernández-Dueñas et al., 2015, 2022; Mathis, 1995). Cette technique a notamment permis de mettre en évidence la présence d'homodimères de récepteurs à l'ocytocine dans les glandes mammaires chez le rat (tissu natif) (Albizu et al., 2010) ou encore l'hétéromère D2R/A2AR dans le striatum (préparations de membranes striatales) (Fernández-Dueñas et al., 2015). Cependant, bien que permettant d'obtenir un meilleur signal que le FRET seul, cette technique nécessite plusieurs contrôles et la mise en place de corrections pour obtenir un signal TR-FRET spécifique (ex : retrait de plusieurs types de signaux polluant le signal TR-FRET tels que l'autofluorescence de l'échantillon, le signal dû à l'excitation de l'accepteur, ou celui issu du recouvrement spectral entre l'émission du donneur et celle de l'accepteur). Par ailleurs, cette technique n'a pour le moment pas permis de mettre en évidence les mêmes oligomères chez l'humain, probablement dû à la diversité des protocoles de conservation d'échantillons humains (Albizu et al., 2010; Fernández-Dueñas et al., 2015, 2022).

En comparaison des techniques de FRET/BRET classiques, le PLA ne nécessite pas de construction génétique pour exprimer des récepteurs tagués, étant donné que les antigènes sont reconnus par des anticorps adéquats, ce qui permet de l'utiliser sur du tissu natif. Plusieurs études ont d'ailleurs pu implémenter cette méthode sur des échantillons de cerveau humain avec succès, notamment pour étudier l'expression de certains hétéromères en comparaison aux modèles murins (D2R/A2AR) ou dans l'étude de certaines pathologies (ex : contexte d'addiction ; D2R/NMDAR) (Andrianarivelo et al., 2021; Zhu et al., 2020). La résolution constitue également un atout pour cette méthode, permettant de discerner les points PLA au niveau cellulaire. Cependant comme toute méthode, elle comporte toutefois des limites, notamment la distance entre les antigènes. La distance maximale entre deux épitopes, permettant de générer du signal PLA in situ se situe entre 10 et 30nm, fourchette bien plus importante que celle nécessaire pour générer un signal BRET/FRET (<10nm). De plus, la qualité et la spécificité des anticorps primaires est primordiale, et plusieurs contrôles, négatifs (ex : Structures ou cellules n'exprimant pas la protéine, ou dans lesquelles son expression a été réduite (KD) ou abolie (KO) ; structure où la protéine est exprimée mais sans l'un des anticorps primaires dont dépend l'émergence du signal) et positifs (coupes où l'on s'attend à observer du signal, anticorps secondaires tournés vers la même espèce et couplés aux sondes complémentaires) sont nécessaires pour garantir la spécificité du signal PLA (Borroto-Escuela, Romero-Fernandez, et al., 2013).

Certaines de ces techniques sont souvent combinées pour démontrer l'hétéromérisation entre deux ou plusieurs récepteurs (Cabello et al., 2009; Fernández-Dueñas et al., 2015) et cette approche multimodale (plusieurs techniques) semble nécessaire pour caractériser l'expression de ces complexes, étant donné que les techniques présentées n'ont pas toutes les mêmes propriétés (seuils de sensibilité, de résolution spatiale, de proximité des antigènes), et qu'aucune ne les a toutes.

3. Démonstration de l'interaction directe entre récepteurs

La finalisation de la caractérisation d'hétéromères de récepteurs passe par la démonstration du blocage des effets de signalisation, de liaison de ligand, ou de trafic membranaire spécifiques de l'hétéromère, par disruption de l'interaction entre les deux récepteurs. En fonction des propriétés caractérisant un hétéromère de récepteurs, il est attendu que le blocage de l'interaction induise une absence de colocalisation des protomères ou une perte du signal de forte proximité, l'absence des propriétés biochimiques spécifiques à l'hétéromère et une perte des effets in vivo propres à l'hétéromère (Gomes, Ayoub, et al., 2016).

Le blocage de l'interaction physique directe entre les récepteurs, peut être réalisé de plusieurs manières pour tester cette hypothèse. Parmi les différentes techniques existant, on peut par exemple citer l'utilisation d'anticorps spécifiques d'un épitope de l'hétéromère et non des protomères de façon

individuels, permettent de bloquer l'interaction entre les deux récepteurs. Il a notamment été montré que l'application de tels anticorps, spécifique de l'hétéromère entre les récepteurs aux opioïdes δ - μ ou bien spécifique de l'interaction entre le récepteur à l'angiotensine AT1 et le récepteurs aux endocannabinoïdes CB1, permettait de bloquer la signalisation induite par l'hétéromère (Gupta et al., 2010; Rozenfeld et al., 2011). L'utilisation de peptides interférents permettant de bloquer l'interaction physique entre les deux récepteurs est une méthode directe de démonstration de l'existence d'hétéromères. Ces peptides sont construits selon l'une ou l'autre des séquences de chaque récepteur entrant en contact, et ont notamment été utilisés pour bloquer l'interaction entre les récepteurs D1/NMDA ou D2/NMDA, résultant en la perte des effets de signalisation et comportementaux propres à ces hétéromères (Andrianarivelo et al., 2021; Cahill, Pascoli, et al., 2014; X.-Y. Liu et al., 2006, p. 2). Des animaux transgéniques exprimant des protomères de l'hétéromère n'ayant pas la capacité à se dimériser ont permis de confirmer l'implication de certains hétéromères dans certaines fonctions in vivo. On peut notamment mentionner l'utilisation de souris transgéniques surexprimant une forme mutée non fonctionnelle du récepteur de la mélatonine MT2, ayant permis d'interférer avec la formation de l'hétéromère MT1-MT2 au sein des cellules photoréceptrices, conduisant à une atténuation de la sensibilité à la lumière des photorécepteurs (Baba et al., 2013).

D. Hétéromères entre GPCRs et récepteurs de la dopamine

1. L'exemple de l'hétéromère D2R-A2AR

Un grand nombre d'études a pu mettre en évidence l'interaction entre des récepteurs de la dopamine (DA) et d'autres GPCRs. Une de ces interactions les plus décrites, autant sur le plan fonctionnel que comportemental, est l'hétéromère de récepteurs de l'adénosine A2A et de la dopamine D2R.

L'adénosine est principalement produite par le métabolisme de l'ATP libéré conjointement au glutamate depuis les terminaisons synaptiques et les astrocytes. Elle joue un rôle majeur dans le fonctionnement des ganglions de la base. Son action est médiée par des récepteurs appartenant aux GPCRs, dont les sous-types sont A1, A2A, A2B et A3. Les récepteurs A2A sont beaucoup plus exprimés que les autres sous-types dans le striatum et plus particulièrement par les MSNs exprimant l'enképhaline (D2-MSNs, de la voie indirecte), mais pas ceux exprimant la substance P ni sur les interneurons cholinergiques, et projetant vers le GPe, au niveau postsynaptique, dans les dendrites ou épines dendritiques (Cabello et al., 2009; Schiffmann et al., 1991). Plusieurs études ont montré que les récepteurs D2R et A2AR interagissent au travers d'une liaison électrostatique, en force équivalente à une liaison covalente, entre une portion de la partie C-terminale de A2AR et la 3^{ème} boucle intracellulaire IL3 de D2R (Ciruela et al., 2004; Fuxe et al., 2012; Guidolin et al., 2020). L'hétéromérisation D2R/A2AR induit des interactions allostériques négatives par lesquelles les agonistes ou antagonistes de A2AR diminuent l'affinité et l'efficacité des ligands de D2R, et de manière similaire, les agonistes de D2R inhibent l'activation de AC5 (Adenylate cyclase de type 5) dépendante des récepteurs A2A (Andrianarivelo et al., 2019; Bonaventura et al., 2015; Navarro et al., 2018). Cet hétéromère joue un rôle majeur dans la voie de signalisation et le trafic des récepteurs D2. En effet, l'interaction D2R-A2AR résulte en l'échange du couplage de D2R initialement à la protéine Gi, à la β -arrestine-2, formant ainsi un complexe A2AR-D2R- β -arrestine-2 s'internalisant. L'action de la β -arrestine-2 est de ce fait plus rapide et dure moins longtemps, mimant ainsi une signalisation médiée par une protéine G (Borroto-Escuela et al., 2011). Par ailleurs, un antagoniste d'A2AR réduisant la phosphorylation de la kinase Src – protéine impliquée dans l'internalisation de récepteur dépendant de la β -arrestine - induite par D2R et également le recrutement de la β -arrestine-2, diminuant ainsi l'internalisation de D2R et la phosphorylation de ERK (L. Huang et al., 2013) et l'activation d'A2AR ou de D2R induit la co-internalisation du complexe D2R/A2AR (Hillion et al., 2002; L. Huang et al., 2013). Les hétéromères D2R-A2AR sont principalement exprimés dans la partie somatodendritique et au niveau des terminaisons des neurones GABAergiques exprimant l'enképhaline dans le striatum (Guidolin et al., 2020). Par ailleurs, les astrocytes striataux expriment D2R et A2AR, et il a

été récemment montré qu'ils pouvaient former des complexes (Guidolin et al., 2020; Pelassa et al., 2019). De plus en plus de données suggèrent une organisation hétérotetramérique des complexes D2R-A2AR, constitués d'un hétéromère d'homodimères de récepteurs (A2A-A2A et D2R-D2R). Cette conformation multiplierait la mise en place de mécanismes allostériques entre protomères, permettant l'émergence de propriétés pharmacologiques uniques (Casadó-Anguera et al., 2016; Ferré & Ciruela, 2019).

Ces hétéromères constituent un mécanisme d'intérêt pour l'étude de certaines pathologies liées à une altération de la transmission dopaminergique, comme la maladie de Parkinson, la schizophrénie ou encore l'addiction aux psychostimulants. Dans la maladie de Parkinson, la diminution de l'influx dopaminergique sur les neurones de la voie indirecte du striatum dorsal conduit à une diminution de l'activité de D2R et à un output inhibiteur du globus pallidus externe sur les structures cibles réduit, résultant en un déficit du contrôle moteur. Étant donné les interactions antagonistes entre les deux protomères, cibler les hétéromères D2R-A2AR du striatum avec un antagoniste du récepteur A2A pourrait améliorer le signal dopaminergique dépendant de D2R et a fortiori, améliorer le contrôle moteur (Guidolin et al., 2020). Dans la schizophrénie, l'hyperactivité des neurones dopaminergiques mésolimbiques augmente la transmission dopaminergique jusqu'au striatum ventral, médiée par les D2R, conduisant ainsi à une baisse du signal glutamatergique venant du noyau thalamique médiodorsal résultant en une hypoglutamatergie dans le cortex préfrontal. L'utilisation d'agonistes du récepteur A2A pourrait ainsi diminuer la signalisation dopaminergique et ainsi améliorer les taux de glutamate libéré au niveau du cortex préfrontal (Guidolin et al., 2020). L'hétéromérisation D2R/A2AR est également au cœur de nombreuses études concernant son implication dans l'addiction aux psychostimulants. Il a été montré que l'activation d'A2AR et le blocage de D2R empêche la rechute pour la cocaïne (Wydra et al., 2015). Des études ont également mis en évidence que l'auto-administration de cocaïne augmentait le nombre d'hétéromères D2R/A2AR dans le shell du NAc et également une implication directe de ces complexes du NAc dans l'auto-administration de cocaïne chez le rat (Borroto-Escuela et al., 2017; Borroto-Escuela, Wydra, Li, et al., 2018). Dans le shell du noyau accumbens, la formation du complexe A2AR-D2R-Sigma1R serait un mécanisme clé de l'addiction à la cocaïne, notamment dans le maintien de l'autoadministration de cocaïne (Borroto-Escuela, Wydra, Filip, et al., 2018).

Les hétéromères D2R/A2AR sont donc devenus un modèle d'étude des hétéromères de GPCRs, notamment dans la validation de techniques permettant la mise en évidence d'une forte proximité entre les récepteurs.

2. Autres hétéromères de récepteurs dopaminergiques

De nombreuses études, principalement de l'équipe de Susan R. Georges, se sont intéressées à la formation d'un potentiel complexe entre les récepteurs D1 et D2. Ces deux récepteurs sont majoritairement co-exprimés dans le shell du NAc (Gagnon et al., 2017). Le groupe de Georges a détecté ces complexes par PLA dans le striatum de rongeurs et de primates non-humains (Perreault et al., 2016), mais ces résultats n'ont pas été retrouvés par Frederick et collègues, en utilisant la même technique dans des fractions de MSNs exprimant à la fois D1R et D2R (Frederick et al., 2015). Il a été montré qu'un peptide interférent Tat-D1 (correspondant aux acides aminés 396-413 du domaine C-terminal de D1R), conçu par Hasbi et collègues, perturbait l'interaction D1R/D2R, les transients calciques induits par le ligand de D1R SKF83959 et la co-immunoprécipitation d'extraits membranaires, un peptide scramble n'ayant pas d'effet (Hasbi et al., 2014). D'un point de vue comportemental et dans un contexte de troubles d'utilisation de substances, le même groupe a montré que l'injection de cet agoniste des récepteurs D1 et D2 était suffisant pour empêcher la sensibilisation locomotrice induite par l'amphétamine alors que l'expression du peptide interférent Tat-D1 l'augmentait (Shen et al., 2015). Cependant, ce peptide présente des effets pro-locomoteurs et induit une préférence de place en lui-même, ce qui nuance les résultats obtenus (Andrianarivelo et al., 2019; Shen et

al., 2015). Par ailleurs la séquence du peptide Tat-D1 chevauche celle du peptide Tat-D1R-t2 conçu pour bloquer l'hétéromère D1R/NMDAR, et ce dernier induit en lui-même une activation de ERK et une potentialisation des synapses glutamatergiques. Il pourrait ainsi imiter l'interaction D1R/NMDAR, ce qui pourrait expliquer les effets récompensants du peptide Tat-D1 décrits précédemment (Andrianarivelo et al., 2019).

Par ailleurs, un grand nombre d'interactions entre des récepteurs dopaminergiques et d'autres récepteurs ont été mis en évidence dont une partie est synthétisée dans les tableaux ci-dessous.

Tableau 3 : Liste non exhaustive des hétéromères contenant le récepteur dopaminergique D2

Hétéromères contenant le récepteur dopaminergique D2				
Complexe	Détection	Modèle/Structure	Effets	Référence
D2R-A2AR	Cf IV.D.1 (96)	Cf IV.D.1 (96)	Cf IV.D.1 (96)	Cf IV.D.1 (96)
D2-NMDAR	Cf IV.F.1.ii (100)	Cf IV.F.1.ii (100)	Cf IV.F.1.ii (100)	Cf IV.F.1.ii (100)
D2R-sigma1R	Co-IP ; PLA ; BRET ; SRET	HEK293T Rat/Souris Striatum	Inhibition des voies de signalisation suite à l'effet de la cocaïne	(Beggiato et al., 2017; Navarro et al., 2013)
A2AR-D2R-Sigma1R	Co-IP ; BRET ; FRET ; PLA	NAc Shell	Inhibition signalisation D2R / Implication cocaïne addiction	(Borroto-Escuela, Wydra, Filip, et al., 2018)
D2R-Neurotensin1 R	BRET	HEK293T	Modifications de la signalisation D2R (↓ voie CREB ; ↑ voie MAPK)	(Borroto-Escuela, Ravani, et al., 2013)
D2R-CB1	Co-IP, Colocalisation	HEK293	Altération signalisation CB1	(Kearn et al., 2005)
D2R – D3R	Co-IP	Cos-7	Modification voies signalisation D2R/D3R	(Scarselli et al., 2001)
D2R-récepteur de la somatostatine SSTR2/5	Colocalisation ; FRET ; Co-IP ;	HEK293 ; CHO-K1 ; Culture de neurones striataux de rat, Coupes cortex, striatum, SN	Modification d'affinités de ligand pour les récepteurs ; modifications d'internalisation	(Baragli et al., 2007; Rocheville et al., 2000)
D2R-5HT	Colocalisation ; BRET	HEK293	Altération des voies de signalisation	(Borroto-Escuela et al., 2010)
D2R-D1R	Cf IV.D.2.(97)	Cf IV.D.2. (97)	Résultats controversés, cf paragraphe	Cf IV.D.2. (97)

Tableau 4 : : Liste non exhaustive des hétéromères contenant un récepteur dopaminergique de type D1

Hétéromères contenant le récepteur dopaminergique D1				
Complexe	Détection	Modèle	Effets	Référence
D1-NMDAR	Cf IV.F.1.ii (100)	Cf IV.F.1.ii (100)	Cf IV.F.1.ii (100)	Cf IV.F.1.ii (100)
D1R-D3R	Co-IP ; BRET ; Peptide interférant	HEK293	↗ l'affinité de la DA pour le D1R ainsi que le pouvoir stimulateur de la DA pour activer l'AC au travers de D1R	(Bono et al., 2023; Fiorentini et al., 2008; Guitart et al., 2014)
D1R-H3 Histamine R	Colocalisation ; BRET	HEK293 ;	Modification du potentiel de liaison des récepteurs et de la signalisation second messenger	(Ferrada et al., 2009)
D1R-H3-NMDA	Co-IP ; PLA BRET	Système hétérologue Cortex de rat/souris	Empêche mort neuronale - Alzheimer	(Rodríguez-Ruiz et al., 2017)
D1R – Adenosine A1R	Colocalisation ; Co-IP ; PLA ; Peptide interférant	Cellules Ltk- ; Neurones moteurs spinaux de souris	Modification de la production d'AMPC D1R-dépendante ;	(Ginés et al., 2000; Rivera-Oliver et al., 2019)
Autres hétéromères contenant un récepteur dopaminergique de type D1				
D5/GABAa	Co-IP ; Colocalisation	HEK293 ; cultures primaires neurones hippocampe rat	Modification signalisation modification neuronale voies AMPc, activité	(F. Liu et al., 2000)

E. Hétéromères contenant le récepteur NMDA

Plusieurs interactions entre les récepteurs NMDA et d'autres récepteurs sont décrites dans la littérature (Petit-Pedrol & Groc, 2021). On peut notamment citer l'hétéromère entre les récepteurs NMDA et le récepteur CB2, mis en évidence par utilisation d'un protocole de BRET. Du PLA a également été réalisé sur des cultures primaires d'hippocampe et sur coupes de cerveau de modèles murin de la maladie d'Alzheimer (AD). L'activation du récepteur CB2 réduit la signalisation médiée par NMDAR et une augmentation de l'expression de CB2-NMDAR est observée dans la microglie et les neurones de modèles d'AD (Rivas-Santisteban et al., 2021).

Par ailleurs et de façon non exhaustive, on peut mentionner à titre d'exemple l'interaction entre des récepteurs mGluRs et NMDA (mGluR1-GluN1, mGluR5-GluN1) mise en évidence notamment par BRET sur système hétérologue ou par Co-IP sur des échantillons d'hippocampe chez le rat (Perroy et al., 2008), celle entre MOR-GluN1 dans plusieurs structures et montrée par Co-IP (Rodríguez-Muñoz et al., 2012), ou bien l'hétéromère formé par α 7nAChR-GluN2A impliqué dans les courants NMDAR dépendants, dans les voies de signalisations ERK et la disruption de cette interaction entraîne des déficits d'apprentissage et de mémoire (S. Li et al., 2012).

Enfin, plusieurs études ont montré l'interaction entre les récepteurs D1R ou D2R et le récepteur NMDA comme nous allons le détailler par la suite.

F. Hétéromères de récepteurs dopaminergiques et glutamatergiques de type NMDA

1. Au sein du striatum et du noyau accumbens

i. Interaction entre l'activité des DAR et des NMDARs

Depuis une vingtaine d'années, de nombreuses études se sont intéressées aux interactions entre les systèmes dopaminergiques et glutamatergiques. Plus précisément, un rôle facilitateur du récepteur D1 sur les fonctions du récepteur NMDA à l'âge adulte a pu être mis en évidence dans le striatum, notamment par le biais d'une potentialisation des courants NMDA par application d'agonistes des récepteurs D1 (Flores-Hernández et al., 2002; Levine et al., 1996; Tong & Gibb, 2008; Wittmann et al., 2005).

Cet effet potentialisateur reste cependant à préciser, étant donné que certaines études ont pu montrer qu'un traitement similaire entraînait une diminution des courants NMDA (Huppé-Gourgues & O'Donnell, 2012; F. J. S. Lee et al., 2002; Tong & Gibb, 2008; L. Zhang et al., 2014). L'effet d'un agoniste de D1R sur l'activité des courants NMDA dans le NAc et le striatum semble être dépendante de l'âge, et une inversion d'activité semble avoir lieu à l'adolescence (Huppé-Gourgues & O'Donnell, 2012; Tong & Gibb, 2008). En effet, Tong et Huppé ont chacun pu montrer qu'en période néonatale ou chez des rats juvéniles, l'activation de D1R entraînait une inhibition des courants NMDA dépendants, tandis que ce même traitement chez des rats adultes potentialise ces mêmes courants (Huppé-Gourgues & O'Donnell, 2012; Tong & Gibb, 2008). Dans certaines de ces études, on retrouve un effet potentialisateur (Flores-Hernández et al., 2002; Tong & Gibb, 2008; Wittmann et al., 2005) à des âges pour lesquels d'autres études ont montré un effet inhibiteur (Huppé-Gourgues & O'Donnell, 2012; L. Zhang et al., 2014). Ces différences d'âges ou bien l'utilisation de cultures primaires de neurones récoltés au stade embryonnaire (E18) (F. J. S. Lee et al., 2002) peuvent contribuer à la divergence de résultats observés concernant cet effet.

Dans le cas du récepteur D2, la plupart des études ont montré que son activation dans le striatum ou dans le NAc entraînait une diminution des courants NMDA dépendants (André et al., 2010; X.-Y. Liu et al., 2006) tandis qu'une étude réalisée en période néonatale chez le rat (P1-P21) n'a pas montré d'effets de la stimulation de D2R sur les EPSCs (L. Zhang et al., 2014). Des données suggèrent que les endocannabinoïdes (ECBs) contribueraient à ces effets opposés de la dopamine sur les courants synaptiques selon le type cellulaire exprimant D1R ou D2R (André et al., 2010).

Ces données suggèrent ainsi que l'interaction entre ces deux signalisations va dans le sens d'une interaction directe, qui pourrait s'effectuer au travers d'un mécanisme d'hétéromérisation entre ces deux récepteurs, mais qui pourrait également passer par l'action des voies de signalisation, sans interaction directe.

ii. Mise en évidence des hétéromères D1/NMDA et D2/NMDA

Par la suite, plusieurs études ont mis en évidence l'existence d'interactions directes entre les récepteurs de la dopamine D1 ou D2 et le récepteur au glutamate NMDA sur des modèles de culture cellulaire ou de culture de neurones primaires de l'hippocampe et du striatum. Il a notamment été montré que le récepteur D1 interagissait avec la sous-unité GluN1 du récepteur NMDA au niveau des domaines C-terminal de chaque récepteur, et que le récepteur D2 interagissait avec la sous-unité GluN2B au niveau du domaine C-terminal pour GluN2B, et de la troisième boucle intracellulaire (IL3) du GPCR pour D2. Ces interactions forment ainsi un mécanisme d'hétéromérisation ayant des implications au niveau cellulaire et fonctionnel. Au niveau cellulaire, l'hétéromérisation D1/NMDA tend à potentialiser l'activité des D1-MSNs tandis que l'hétéromère D2/NMDA tend à diminuer l'activité des D2-MSNs.

En effet, il a été montré par co-immunoprécipitation et western-blot qu'une séquence comprise entre L387 et L416 du domaine C-terminal du récepteur D1 interagissait avec le domaine C1 (CTD) de la sous-unité GluN1-1a du récepteur NMDA dans le tissu hippocampique, dans des cultures primaires de neurones de l'hippocampe et dans des cultures de cellules cotransfectées (F. J. S. Lee et al., 2002; Pei et al., 2004). La présence de peptide encodant cette séquence peptidique dans des cellules cotransfectées avec les récepteurs D1 et NMDA ou dans des cultures de neurones striataux bloque respectivement la production d'AMPC ou d'adénylate cyclase (AC) dépendant de D1R médiée par le récepteur NMDA (Pei et al., 2004; Scott et al., 2002). L'application d'un peptide codant pour la séquence C-terminale de la sous-unité GluN1 (à la différence de GluN2A) et plus particulièrement de la portion comprise entre D864 et T900 a le même effet, indiquant que les deux séquences de chacun de ces récepteurs sont essentielles pour médier ces effets, suggérant ainsi une interaction directe entre ces deux récepteurs (D1R-t2 – GluN1-1a-C1) et formant ainsi l'hétéromère D1/NMDA (Pei et al., 2004).

Dans des cellules HEK-293 cotransfectées avec D1R et NMDARs ainsi que dans des cultures de neurones striataux, deux séquences du domaine C-terminal du récepteur D1 sont associées à des sous-unités spécifiques du récepteur NMDA de manière fonctionnelle. En effet, l'interaction D1-t2 – GluN1-1a module l'excitotoxicité dépendante des NMDARs par une voie de signalisation dépendante du recrutement de la calmoduline par GluN1 ; et l'interaction D1-t3 – GluN2A module les courants NMDA dépendants, par diminution de l'expression des NMDARs de surface lors de l'activation de D1Rs (F. J. S. Lee et al., 2002).

L'équipe de S. Ferré a permis d'affiner le fonctionnement de cette interaction par la mise en évidence d'interactions électrostatiques entre l'épitope riche en Arginine de la cassette C1 de la partie C-terminale de GluN1 et des résidus acides de la partie t2 de D2R, médiant ainsi l'interaction entre D1R et NMDAR (Woods et al., 2005). Ces résultats soulignent l'importance d'interactions électrostatiques entre épitopes pour D1R/NMDAR et D2R/A2AR. Ce type d'interaction pourrait représenter un mécanisme général d'hétéromérisation entre récepteurs.

L'hétéromère D1/NMDA est également impliqué dans le trafic de récepteur à la membrane et dans leur diffusion latérale. En effet, l'activation des NMDARs dans des cultures de neurones striataux ou dans des cultures de cellules co-exprimant D1R et NMDAR augmente l'expression des D1Rs à la membrane par recrutement des récepteurs D1 cytoplasmiques (Scott et al., 2002) et cet effet est bloqué par l'application ou l'expression du peptide interférant codant pour la séquence de GluN1 interagissant avec D1R (Pei et al., 2004). De la même manière, l'activation des récepteurs D1 facilite le trafic des sous-unités des récepteurs NMDA à la membrane postsynaptique (Dunah & Standaert, 2001). Par ailleurs, la diffusion latérale constitue une des voies principales permettant la localisation de récepteurs D1 dans les épines dendritiques. En effet, dans des cultures organotypiques de striatum de rat et des cultures primaires de neurones de l'hippocampe, les récepteurs NMDA peuvent agir en tant que protéines d'échafaudage, au travers de modifications allostériques de NMDAR, pour recruter directement les récepteurs D1 diffusant latéralement au niveau des épines dendritiques et les stabiliser à la synapse (Ladepêche, Dupuis, et al., 2013; Ladepêche, Yang, et al., 2013; Scott et al., 2006). Cette réserve de D1R ayant la capacité de diffuser latéralement joue ainsi un rôle majeur dans les interactions intraneuronales entre les systèmes dopaminergiques et glutamatergiques. Enfin, dans des neurones de l'hippocampe, les récepteurs D1 et NMDA forment des clusters dynamiques en surface, avoisinant les synapses glutamatergiques et formant ainsi une réserve dynamique de D1R et NMDAR. L'interruption de l'interaction D1R-NMDAR par utilisation de peptide interférent (D1-TAT-t2) ou l'activation de D1R diminue la taille de ces clusters, augmente la densité de NMDARs synaptiques par diffusion latérale de ces récepteurs et favorise la LTP (Ladepêche, Dupuis, et al., 2013). Ces résultats vont à l'opposé de ceux de Cahill, ayant démontré un rôle essentiel du complexe D1R/NMDAR dans le striatum pour la mise en place de la LTP dans les MSNs de la voie directe mais pas ceux

de la voie indirecte (Cahill, Pascoli, et al., 2014). Cette divergence dans les résultats pourrait s'expliquer par des différences dans les structures étudiées et par les stratégies employées pour bloquer l'hétéromérisation D1R/NMDAR, étant donné que le peptide D1-TAT-t2 utilisé peut activer la voie ERK par lui-même (Andrianarivelo et al., 2018, 2019; Cahill, Pascoli, et al., 2014). Le peptide GluN1-C1 quant à lui bloque l'interaction D1R – NMDAR et empêche la LTP striatale induite par une HFS (Cahill, Pascoli, et al., 2014).

Dans les MSNs, l'activation du récepteur D1 augmente les courants médiés par NMDAR et est nécessaire à la formation de LTP NMDA dépendante aux synapses corticostriatales (Fiorentini et al., 2003; Nicola et al., 2000). Ces résultats contrastent avec ceux de l'étude de Lee où l'application d'un agoniste de D1R sur des cultures cellulaires ou des cultures de neurones striataux réduit le pic et l'amplitude des courants NMDA (F. J. S. Lee et al., 2002). Les D1Rs des épines dendritiques sont principalement situées au niveau de la hampe, et en moindre mesure dans la tête de l'épine et à la PSD (Fiorentini et al., 2003). Fiorentini et al ont également montré l'interaction directe entre GluN1 et D1R par BRET. Ils postulent également que les complexes D1-NMDA(GluN1) sont assemblés dans le cytoplasme et délivrés à la membrane en présence de GluN2B, ce qui constitue ainsi un mécanisme de modulation du trafic membranaire des D1R en présence d'agoniste D1R, les GPCR s'internalisant généralement à la suite d'une stimulation (Fiorentini et al., 2003). Sur ce dernier point, on constate une divergence de résultats entre les études de Pei et Fiorentini, Pei et al. montrant que la stimulation des NMDARs, mais pas l'activation de D1R, est nécessaire à la formation des hétéromères D1R-NMDAR. Ces différences de résultats pourraient entre autre s'expliquer par la composition en sous-unité des NMDARs (NR2A chez Pei ; NR2B chez Fiorentini), les différentes sous-unités GluN2 conférant des propriétés spécifiques aux récepteurs NMDA comme nous l'avons vu précédemment.

Plus récemment, Cahill et al. ont montré qu'une costimulation du récepteur NMDA et du récepteur D1 de MSNs induisait une augmentation du nombre de complexes D1/GluN1 détectés par PLA, et que ce phénomène était aboli par l'expression d'un peptide interférent correspondant à la cassette C1 du CTD de GluN1 (D864-T900) entrant en interaction avec D1R (GluN1C1), comme démontré plus tôt. De la même manière, la costimulation des deux récepteurs entraîne une facilitation de l'activité de NMDAR visible par une augmentation des transients calciques au sein des MSNs, cet effet étant également aboli par l'expression du peptide interférent (Cahill, Pascoli, et al., 2014).

L'hétéromère D1/GluN1 contrôle également la mise en place de LTP dans les D1-MSNs, l'application d'agoniste de D1R (SKF38393) potentialisant les EPSCs dépendants de NMDARs, et cet effet étant bloqué par l'application du peptide interférent GluN1C1 (Cahill, Pascoli, et al., 2014). De plus, les données de cette même étude suggèrent que les NMDARs impliqués entrant en interaction avec D1R contiennent la sous-unité GluN2B, et non pas la GluN2A, contrairement aux résultats de l'étude de Lee 2002.

Par ailleurs, il a été montré que des ligands du récepteur D1, agonistes comme antagonistes, pouvaient agir directement sur le récepteur NMDA dans des cultures de cellules HEK n'exprimant pas D1R ainsi que dans des cultures primaires de neurones (E18) de souris KO pour D1R (Cui et al., 2006). Ces ligands inhibent les courants NDMA dépendants lorsque le ligand est appliqué à la suite de la stimulation des NMDAR avec du glutamate (et non pas avant). Cet effet serait médié par l'interaction du groupe amine des ligands de D1R chargé positivement, avec le résidu situé dans le pore de NMDAR correspondant au site d'interaction principal du bloc Mg²⁺. Ce mécanisme pourrait entre autre expliquer les résultats contradictoires suite à l'activation des D1R sur les courants NMDA dépendants. L'inhibition observée dans certaines études pourrait être due à l'effet direct de l'agoniste de D1R sur le récepteur NMDA, de façon indépendante du récepteur D1.

Une étude princeps a mis en évidence l'existence d'une interaction directe entre D2R et la sous-unité GluN2B du récepteur NMDA, et son implication fonctionnelle. En effet, l'activation du récepteur D2 est à

l'origine de l'inhibition induite par la cocaïne de la phosphorylation de Ser1303 sur GluN2B dans le striatum dorsal et le NAc. Liu et al ont également montré l'existence d'une association entre D2R au niveau de la 3^{ème} boucle intracellulaire (IL3) et GluN2B au niveau du CTD, dans les neurones du striatum, potentialisée par la cocaïne. Dans cette même population, l'activation de D2R inhibe les courants NMDA dépendants. Ces résultats suggèrent donc l'existence d'un hétéromère D2/NMDA (X.-Y. Liu et al., 2006). Les interactions entre les récepteurs D1R et NMDAR d'une part et D2R et NMDAR d'autre part, sont schématisées dans la **Figure 31**.



Figure 31 : Interaction directe entre les récepteurs D1 et NMDA, et D2 et NMDA, adapté de (Andrianarivelo et al., 2019)

iii. Implications comportementales

Peu d'études ont investigué les effets du blocage de l'interaction entre ces récepteurs sur des paramètres comportementaux. Toutefois, bien qu'il ne s'agisse pas de la démonstration d'une interaction directe, Smith-Roe et Kelley ont montré que l'activation simultanée de D1R et de NMDAR dans le NAc était nécessaire à l'apprentissage d'une réponse instrumentale appétitive (Smith-Roe & Kelley, 2000). Par la suite, plusieurs études ont montré l'implication de ces hétéromères dans des adaptations comportementales induites par les drogues d'abus. En effet, la sensibilisation locomotrice induite par une injection répétée de cocaïne est abolie par l'expression du peptide interférent GluN1C1 dans le NAc, inhibant l'interaction D1/NMDA (Cahill, Pascoli, et al., 2014) et le complexe D2/NMDA est impliqué dans la réponse hyperlocomotrice à une injection de cocaïne, bloquée par l'expression d'un peptide interférent codant pour la séquence de D2R entrant en interaction avec GluN2B (X.-Y. Liu et al., 2006). Plus récemment, il a été montré dans le NAc que la sensibilisation à la cocaïne était associée à une hétéromérisation D1/NMDA transitoire et à une hétéromérisation D2/NMDA prolongée. De plus, il a pu être mis en évidence que tandis que D1/NMDA régule uniquement la mise en place de la sensibilisation locomotrice induite par la cocaïne ainsi que celle de son effet récompensant, D2/NMDA est à la fois impliqué dans la mise en place, mais également dans le maintien de ces effets dans le temps. Enfin, l'analyse postmortem de cerveaux d'individus souffrant d'usage de psychostimulants a révélé une augmentation de la quantité de complexes D2/NMDA en dépit d'une diminution du niveau d'expression du récepteur D2, suggérant que les D2R exprimés chez ces individus ont plus tendance à s'hétéromériser avec NMDA (Andrianarivelo et al., 2021).

Ces résultats nous montrent ainsi qu'il existe une forte coopération entre les systèmes dopaminergiques et glutamatergiques, qui s'exprime au niveau fonctionnel et comportemental, notamment au travers de l'interaction directe entre les récepteurs D1/NMDA et D2/NMDA.

2. Au sein du cortex préfrontal médian

Dans le cortex préfrontal médian, l'interaction entre récepteurs glutamatergiques et dopaminergique a également pu être mise en évidence, bien qu'une interaction directe n'ait, à l'heure actuelle, pas été démontrée.

i. Mise en évidence des interactions entre l'activité des DAR et des NMDAR

Au sein des aires corticales, les récepteurs D1 et NMDA sont enrichis au niveau des épines dendritiques et cette organisation synaptique dans un même neurone permet de s'intéresser aux potentielles interactions entre les signaux convergents dopaminergiques et glutamatergiques (Petralia et al., 1994; Smiley et al., 1994; Vincent et al., 1993).

Depuis plus d'une vingtaine d'années, de nombreuses études ont pu mettre en évidence le rôle facilitateur de l'activation des récepteurs D1 du PFC sur les courants NMDARs dépendants (G. Chen et al., 2004; Dallérac et al., 2021; Gonzalez-Islas & Hablitz, 2003; Kruse et al., 2009; Leyrer-Jackson & Thomas, 2018; Y.-C. Li et al., 2010; Seamans et al., 2001; Seong & Carter, 2012; K. Y. Tseng & O'Donnell, 2004, 2005; K.-Y. Tseng et al., 2007; J. Wang & O'Donnell, 2001; Wirkner et al., 2004). A titre d'exemple, il a été montré que l'application d'un agoniste des récepteurs D1 augmentait l'excitabilité des neurones pyramidaux de la couche V du cortex préfrontal chez le rat, et que l'application d'un antagoniste de D1R inhibait cet effet (J. Wang & O'Donnell, 2001). Dans cette même étude, les auteurs ont pu mettre en évidence un effet de synergie de la co-activation des récepteurs D1R et NMDAR, l'augmentation de l'excitabilité neuronale à la suite de la costimulation étant plus importante que la somme des réponses suite à l'activation individuelle de chaque récepteur. Cette réponse synergique était inhibée par l'application de l'antagoniste de D1R, mais également par un inhibiteur de la PKA, un chélateur des ions calcium BAPTA et diminuée par un bloqueur des canaux ioniques au Ca²⁺. Ces résultats indiquent donc la présence d'une interaction entre la dopamine et le glutamate au sein du PFC au niveau postsynaptique des neurones pyramidaux, par lequel D1R maintient les réponses médiées par NMDAR au travers d'une voie de signalisation impliquant la PKA et par des mécanismes Ca²⁺ dépendants (K. Y. Tseng & O'Donnell, 2005; J. Wang & O'Donnell, 2001). De manière similaire, dans des neurones pyramidaux de la couche II-III du PFC, l'augmentation des EPSCs résultant de l'activation de D1R peut être attribuée à une voie de signalisation impliquant Ca²⁺, la PKA mais aussi CaMKII (Gonzalez-Islas & Hablitz, 2003). Dans des neurones de PFC en culture, un inhibiteur du PKA bloque l'augmentation de la concentration cytosolique en calcium induite par l'activation de D1R (Kruse et al., 2009) et on retrouve la nécessité de la voie PKA et/ou du calcium intracellulaire pour médier ces effets également dans d'autres études (Y.-C. Li et al., 2010; Seong & Carter, 2012; K. Y. Tseng & O'Donnell, 2004). En contraste de ces résultats, Chen et collègues ont montré que l'augmentation des courants NMDA dépendants médiée par l'activation de D1R était indépendante de la PKA. Elle implique cependant bien des mécanismes dépendants du calcium et plus particulièrement une signalisation impliquant la PKC régulée par la Calmoduline (CaM) (G. Chen et al., 2004). Li et collègues ont également montré qu'en plus d'une régulation par la PKA, la potentialisation des courants NMDAR médiée par D1R impliquait également la PKC (Y.-C. Li et al., 2010).

De façon intéressante, lorsque la couche I (à la différence de couches plus profondes, ex : couche V) est stimulée, l'activation de D1R diminue cette fois l'amplitude des courants NMDARs dépendants (Leyrer-Jackson & Thomas, 2018). Dans le PFC, la stimulation de D1R augmente la phosphorylation des sous-unités GluN1 et GluN2B de NMDAR, ainsi que celle d'ERK1/2, et la co-stimulation de D1R et de NMDAR élève d'autant plus leur phosphorylation (Sarantis et al., 2009). Cette phosphorylation est totalement inhibée par un inhibiteur spécifique de ERK1/2. Ces résultats révèlent ainsi une forte synergie entre D1R et NMDAR, aboutissant en une forte activation de la voie de signalisation ERK1/2, dont semble dépendre la phosphorylation des sous-unités de NMDAR (Sarantis et al., 2009). De manière similaire, dans les neurones de la couche V du PFC, l'amphétamine réduit la transmission synaptique excitatrice (EPSPs) via la libération de dopamine agissant sur les récepteurs de type D1 mais restant sans effet sur les D2R (Mair & Kauer, 2007).

Chez le rat, il a été montré par colocalisation, co-immunoprécipitation et par PLA que D1R et NMDAR pouvaient former un complexe de récepteurs dans le PFC (Kruse et al., 2009; Shanmugasundaram et al.,

2015), cependant, contrairement à ce qui est retrouvé dans le NAc, dans des cultures de neurones primaires du PFC, les NMDARs n'ont pas d'effet sur la production d'AMPC dépendante de D1R (Kruse et al., 2009).

Cette variation des courants NMDARs modulée par l'activité des récepteurs D1 s'expliquerait entre autre par une modification de l'expression de surface des récepteurs NMDA. En effet, dans des cultures de neurones du PFC chez le rat, l'activation de D1R augmente l'expression synaptique et non-synaptique dans des neurones pyramidaux des sous-unités GluN1 et GluN2B de NDMAR par un mécanisme impliquant la phosphorylation de tyrosines de GluN2B ainsi que l'activation de la voie PLC-PKC-Src (Gao & Wolf, 2008; Y.-C. Li et al., 2010) ou la voie de la kinase Fyn (J.-L. Hu et al., 2010). Des mécanismes similaires de régulation du trafic des NMDARs par D1R au travers d'une signalisation impliquant la tyrosine kinase ont été décrits dans le striatum (Hallett et al., 2006).

Concernant les interactions D2/NDMA, plusieurs études ont montré que l'activation de D2R ne module pas les courants NMDA dans le PFC (Gonzalez-Islas & Hablitz, 2003; Wirkner et al., 2004). Cependant Tseng & O'Donnell montrent qu'une application d'un agoniste de D2R induit une diminution de l'excitabilité neuronale dépendante des NMDARs et AMPARs, et impliquant également l'activité des récepteurs au GABA-A (K. Y. Tseng & O'Donnell, 2004; K.-Y. Tseng et al., 2007), et que cette inhibition est dépendante des récepteurs D2/D3 (et non D4) (Beazely et al., 2006). Il est possible que cet effet puisse se généraliser aux récepteurs de type D2, étant donné que l'activation spécifique de D3R par son agoniste spécifique réduit également les courants NMDARs dépendants et que cet effet est aboli par application d'un antagoniste de D3R (Dallérac et al., 2021). Au contraire, dans des interneurones dits « Fast-Spiking », l'activation de D2R augmente l'excitabilité neuronale et le taux de décharge. Ces résultats suggèrent que l'action inhibitrice des D2R sur la réponse des NMDARs pourrait être médiée par les interneurones GABAergiques du PFC. Dans les couches profondes (V et VI) du cortex prélimbique et infralimbique, l'activation des D2R, mais pas de D1R, atténue la transmission synaptique dépendante des neurones pyramidaux médiée par les récepteurs AMPA, et ce par une régulation de l'activité des interneurones GABAergiques (K. Y. Tseng & O'Donnell, 2007).

L'activation des récepteurs D1 joue un rôle majeur dans la LTP intracorticale en facilitant son maintien (et pas son induction), et dépend de la PKA. Ces résultats suggèrent que l'activation de D1R induit l'activation de la PKA, entraînant alors la phosphorylation de substrats dont des facteurs de transcription et des régulateurs de traduction protéique nécessaires aux changements synaptiques à long terme. La dopamine facilite également une LTD dépendante des récepteurs D1 et D2, et de la PKA. Dans le mPFC, l'action de la dopamine, médiée notamment par D1R et la voie PKA, est donc bidirectionnelle et elle module la plasticité synaptique à long terme chez le rongeur en facilitant la LTP et la LTD (Y.-Y. Huang et al., 2004).

L'activation des récepteurs D1 peut également moduler les courants AMPA dépendants, bien que des résultats opposés dans ces études aient pu être observés, cette activation pouvant potentialiser (Gonzalez-Islas & Hablitz, 2003), réduire (Darvish-Ghane et al., 2020; Seamans et al., 2001), ou n'avoir pas d'effet sur ces courants (H. Wang et al., 2008).

De la même manière que dans le striatum, ces données dans le PFC suggèrent que l'interaction entre ces deux signalisations pourrait être due à une interaction directe, qui pourrait s'effectuer par l'action d'hétéromères formés par ces récepteurs, mais qui pourrait également passer par l'action des voies de signalisation, sans interaction directe. Cependant, la démonstration de l'existence d'une interaction directe dans le striatum (Andrianarivelo et al., 2021; Cahill, Pascoli, et al., 2014; X.-Y. Liu et al., 2006) et la similarité des interactions entre les signalisations qui viennent d'être décrites en comparaison à celles dans le striatum suggèrent également l'existence d'hétéromères de récepteurs dopaminergiques et glutamatergiques NMDA dans le PFC.

ii. Implications comportementales

D'un point de vue comportemental, la co-activation des récepteurs D1 et NMDA pourrait être au cœur de certains comportements cognitifs tels que la mémoire de travail et l'apprentissage instrumental (Baldwin et al., 2002; Castner & Williams, 2007). Dans leur étude, Baldwin et collègues montrent notamment que l'infusion d'un antagoniste de D1R dans le mPFC perturbe l'apprentissage instrumental dans une tâche opérante pour de la nourriture. De plus, la co-infusion de faibles doses de cet antagoniste de D1R et d'un antagoniste des NMDAR, qui n'altèrent pas cet apprentissage lorsqu'ils sont injectés séparément, tout comme l'inhibition de la PKA par un inhibiteur sélectif, perturbe également ce comportement. Cependant, les comportements alimentaires et moteurs ne sont pas altérés par ces infusions (Baldwin et al., 2002). Rios-Valentim et collègues démontrent un rôle majeur de l'interaction entre D1R et NMDAR dans la mémoire de travail spatiale, dans une tâche de labyrinthe radial (Rios Valentim et al., 2009). Par ailleurs, les taux de D1R et GluN1 dans le PFC sont augmentés suite à un entraînement dans une tâche de labyrinthe radial (Shanmugasundaram et al., 2015). Chez le singe, l'administration aiguë de doses croissantes d'un antagoniste des récepteurs NMDA, induit une altération dépendante de la dose, des performances de mémoire de travail dans une tâche de réponse retardée oculomotrice (*Oculomotor Delayed Response*, ODR), ainsi qu'une diminution de la capacité de liaison de D2R dans le PFC, sans altérer celle de D1R, et une augmentation des niveaux extracellulaires de dopamine et de glutamate dans cette structure. L'administration chronique du même antagoniste induit également une perturbation des performances dans la tâche d'ODR, une augmentation de la capacité de liaison de D1R sans modifier celle de D2R, ainsi qu'une réduction graduelle des taux de DA et glutamate dans le PFC (Tsukada et al., 2005). Le fonctionnement correct du système dopaminergique (sans hypo- ni hypertransmission DA) semble donc primordial dans le PFC pour la mémoire de travail. Par ailleurs, une forte concentration en dopamine dans le mPFC atténue les courants médiés par les récepteurs NMDA, par l'activation du récepteur D2, et non par celle du D1R (Y.-C. Li et al., 2009).

Au vu de ces différents résultats dans le NAc et dans le mPFC, les hétéromères formés par les récepteurs D1 ou D2 et NMDA, et les voies de signalisation et de transcription qui en dépendent, pourraient constituer un mécanisme moléculaire conservé au sein du réseau mésocorticolimbique, à l'origine de l'intégration de signaux glutamatergique et dopaminergiques convergents, agissant ainsi en tant que détecteurs de coïncidence de ces évènements.

OBJECTIFS

Les processus de flexibilité comportementale sont essentiels à l'adaptation d'un individu à son environnement en constante évolution, notamment dans le contexte du choix d'une action pour atteindre un but. La mise en place de ces adaptations comportementales est sous-tendue par l'activité de plusieurs structures parmi lesquelles le cortex préfrontal médian et le noyau accumbens jouent un rôle central. L'activité de ces structures est notamment modulée par une composante dopaminergique issue du mésencéphale, qui semble jouer un rôle majeur dans la mise en œuvre d'une forme de flexibilité comportementale impliquant des changements de contingence entre actions et récompenses. Cependant, l'implication plus précise de ces projections dopaminergiques dans l'adaptation de la réponse face à un changement de valeur de la récompense faisant suite à une inversion des contingences reste indéterminée.

Par ailleurs, les mécanismes moléculaires par lesquels les neurones dopaminoceptifs du mPFC et du NAc - cibles principales des projections dopaminergiques de l'aire tegmentale ventrale - intègrent la convergence de la transmission glutamatergique et de cette modulation dopaminergique restent à éclaircir. Dans ce contexte, les hétéromères formés par l'interaction directe des récepteurs de la dopamine D1 ou D2 avec le récepteur NMDA (D1/NMDA ; D2/NMDA) semblent être des acteurs clés de l'intégration de ces signaux dans le cortex préfrontal et dans le noyau accumbens. Bien que caractérisés en détail dans le NAc, ces hétéromères ont très peu été caractérisés en tant que tel dans le mPFC, ou uniquement chez le rat. De plus, peu d'études se sont intéressées aux implications comportementales de ces hétéromères, notamment en conditions physiologiques, une partie de ces études s'établissant dans un contexte de réponses comportementales suivant l'administration de psychostimulants. C'est pourquoi, nous soulevons la question du rôle joué par ces hétéromères au sein du NAc et du mPFC au niveau fonctionnel et comportemental dans un contexte d'action dirigée vers un but.

Dans cette thèse, nous avons formulé l'hypothèse générale que les projections dopaminergiques de la VTA sont impliquées dans certains processus de flexibilité comportementale, notamment au travers de l'action d'hétéromères de récepteurs dopaminergiques et glutamatergiques NMDA au sein du mPFC et du NAc, induisant des modifications de l'activité des neurones dopaminoceptifs qui les expriment.

Ce travail de thèse s'est donc articulé autour de trois axes principaux pour tester cette hypothèse.

Objectif 1 : Évaluer l'implication des projections dopaminergiques mésocorticolimbiques dans les mécanismes de flexibilité comportementale.

Nous avons utilisé un modèle de souris transgéniques exprimant l'enzyme cre-recombinase sous le promoteur du transporteur de la dopamine DAT (DATcre), couplé à une approche chimogénétique permettant l'inhibition spécifique des projections dopaminergiques de l'aire tegmentale ventrale au cours de tâches de conditionnement opérant. Pour évaluer la capacité des animaux à se représenter les conséquences de leurs actions, nous avons utilisé un paradigme comportemental bien décrit dans la littérature qu'est la dévaluation de récompense par satiété sensorielle spécifique. Nous avons ensuite inhibé l'activité des neurones dopaminergiques de ces animaux lors de phases précises que sont les sessions d'association spécifique entre actions et récompenses, le test de choix de l'action en condition non récompensée à la suite de la dévaluation et enfin lors des sessions d'apprentissage d'une nouvelle

association entre action et récompense, pour déterminer l'implication de la composante dopaminergique au cours de ces différentes étapes.

Objectif 2 : Établir le rôle des hétéromères de récepteurs dopaminergiques et glutamatergiques de type NMDA du cortex préfrontal médian et du noyau accumbens dans la flexibilité comportementale.

Nous avons tout d'abord caractérisé l'expression des hétéromères D1/NMDA dans les sous régions du cortex préfrontal médian et du striatum chez des animaux WT.

Pour déterminer le rôle de ces hétéromères dans les comportements flexibles, nous avons ensuite utilisé une approche de peptide interférant permettant de bloquer l'interaction directe entre les récepteurs D1/NMDA ou bien D2/NMDA au sein du mPFC ou du NAc chez le rongeur. Les souris exprimant le peptide interférant ou son contrôle au sein de l'une ou l'autre de ces structures ont ensuite été testées dans des procédures semblables à celles de l'objectif 1 à savoir des protocoles de dévaluation de la récompense et d'apprentissage des nouvelles associations action – récompense suite à une inversion des contingences.

Enfin, nous avons cherché à évaluer si a) le blocage simultané des hétéromères D1/NMDA et D2/NMDA du mPFC perturbait l'adaptation de la réponse suite à un changement de contingence, si b) l'activation des projections dopaminergiques de la VTA au moment de cette inversion améliorerait les performances d'animaux contrôles au moment du test, et c) permettait par ailleurs de rétablir les performances des animaux dont les deux hétéromères sont bloqués. Pour cela, nous avons bloqué les deux hétéromères dans le mPFC d'animaux DATcre couplé à l'activation chémo génétique des projections dopaminergiques de la VTA au moment des sessions d'inversion de contingences.

Objectif 3 : Déterminer l'influence des hétéromères D1/NMDA et D2/NMDA du cortex préfrontal médian sur l'activité des neurones dopaminoceptifs au cours de tâches de conditionnement pavlovien et opérant.

Nous avons utilisé des souris transgéniques exprimant la cre-recombinase sous le promoteur du récepteur de la dopamine D1 (D1cre), ou D2 (D2cre), nous permettant de cibler les neurones dopaminoceptifs D1 ou D2 du mPFC. Nous avons ainsi pu exprimer un senseur calcique spécifiquement dans ces populations, ainsi que le peptide interférant bloquant D1/NMDA ou D2/NMDA selon le type de neurones. Cette approche couplée à de la photométrie de fibre a permis de déterminer les motifs d'activité de ces populations neuronales en la présence ou l'absence du peptide interférant, lors de tâches de conditionnement pavlovien, de conditionnement opérant et lors de l'inversion des associations entre action et récompense.

D1/NMDA and D2/NMDA heteromers mediate the effect of mesocorticolimbic dopamine transmission on goal-directed behavior

Anna Petitbon¹, Andrea Contini¹, Roman Walle¹, Maria-Florencia Angelo¹, Maewenn Cazala¹, Rodrigue Ortole¹, Javier Correa Vazquez¹, Romain Thebeaud¹, Mélanie Depret¹, Amélie Blanc¹, Maï Rousseaud¹, Andry Andrianarivelo², Jacques Barik³, Peter Vanhoutte², Pierre Trifilieff¹

¹ NutriNeuro Nutrition et Neurobiologie intégrée, INRAE, UMR 1286, Université de Bordeaux 33076, Bordeaux, France

² Sorbonne Université, UPMC Université Paris 06, UM CR18, Neurosciences Paris Seine, F-75005, Paris, France

³ Université Côte d'Azur, Nice, France ; Institut de Pharmacologie Moléculaire et Cellulaire, CNRS UMR 7275, Valbonne, France

INTRODUCTION

Current theories of decision-making propose that actions are goal-directed when they are guided by desire for the outcome, as well as the belief that a particular action will cause that outcome. The ability to behave in such a goal-directed manner is impaired in a variety of mental disorders such as schizophrenia, bipolar disorders, major depressive disorder or drug addiction (Etkin et al., 2013; F. C. Murphy et al., 2001; Noël et al., 2013). Interestingly, all these disorders are associated with aberrations in dopaminergic transmission (Volkow & Morales, 2015; Whitton et al., 2015), which has been shown to be involved in decision-making (Cerpa et al., 2021; Verharen et al., 2018; Zalocusky et al., 2016; Zeeb et al., 2009). In particular, using operant tasks, in which individuals – human or animal – are asked to perform an action (e.g. lever pressing) to obtain an outcome, previous studies have demonstrated that mesoaccumbens (Verharen et al., 2018) and mesocortical (Naneix et al., 2009, 2013)) dopamine transmissions are neither required for the acquisition of action-outcome associations, nor for action choice in face of changes in outcome value, but necessary for adapting to changes in action-outcome contingencies. However, the mechanisms underlying such an effect of mesocorticolimbic dopamine transmission remain elusive.

As a neuromodulator, dopamine acts in concert with neurotransmitters such as glutamate or GABA to modulate neuronal response through crosstalk in intracellular signaling (Cahill, Salery, et al., 2014; Salery et al., 2020). More recently, heteromerization - that corresponds to direct physical interaction – between dopamine and glutamate NMDA receptors has been identified as a main molecular mechanism that allows integration of dopamine and NMDA-mediated signals (Andrianarivelo et al., 2019). On the one hand, physical interaction of the t2 domain (L387-L416) of the D1 receptor with the C1 cassette (D864-T900) of the GluN1 subunit of the NMDA receptor (Fiorentini et al., 2003; F. J. S. Lee et al., 2002; Pei et al., 2004) tends to act as detector of coincidence of dopamine and glutamate transmissions by facilitating the respective functions of each protomers (Andrianarivelo et al., 2021; Cahill, Pascoli, et al., 2014). On the other hand, interaction of the D2 receptor through residues R220-A234 of the third intracellular loop with the C-terminal domain of the GluN2B subunit of NMDA receptors decreases NMDA currents (André et al., 2010; X.-Y. Liu et al., 2006). D1/NMDA and D2/NMDA heteromers have been mostly studied in striatal medium spiny neurons, but have been detected in pyramidal neurons of the hippocampus and frontal cortex (Kruse et al., 2009; Ladepeche, Dupuis, et al., 2013; X.-Y. Liu et al., 2006). The functional roles of these heteromers have been mostly studied in the ventral striatum, in the context of adaptive response to psychostimulants that strongly recruit dopamine transmission (Andrianarivelo et al., 2021; Cahill, Pascoli, et al., 2014; X.-Y. Liu et al., 2006). However, to which extent D1/NMDA and D2/NMDA heteromers are required to mediate the effect of dopamine transmission in physiological conditions remains largely unknown.

Here, using operant conditioning tasks to probe discrete components of goal-directed behaviors, we show that chemogenetic inhibition of mesocorticolimbic dopamine transmission specifically perturbs adaptation to changes in contingencies, but not acquisition of action-outcome associations, nor their flexible expression in face of changes in reward value. Expression of interfering peptides against D1/NMDA or D2/NMDA heteromers in either the mPFC or the NAc had the same effect than the blockade of dopamine transmission. Chemogenetic stimulation of mesocorticolimbic dopamine transmission did not compensate for the blockade of both D1/NMDA and D2/NMDA heteromers in the mPFC. Finally, using calcium sensors in D1- or D2-expressing neurons of the mPFC coupled with fiber photometry, we show that the blockade of either heteromer mostly impacts the neuronal signature of dopaminergic neurons during reversal of contingencies.

RESULTS

Inhibiting VTA dopaminergic neurons selectively impairs the ability to learn reversal of Action-Outcome (A-O) contingencies but spares acquisition and flexible expression of A-O associations

In order to disentangle the implication of midbrain dopaminergic neurons in discrete components of goal-directed behaviors, we expressed inhibitory DREADD Gi or mCherry control in dopaminergic neurons of the VTA using DAT-cre mice (**Figure 1 A-B**) and injected the DREADD ligand CNO during either learning of specific A-O associations or expression of these associations in an outcome devaluation test, or during the reversal of A-O contingencies.

In a first cohort, animals were initially trained to press on two separate levers to obtain one reward (ex : A1&2→O1, **SF6**). After stabilization of performance, another reward was associated to one of the levers and mice were trained with this new protocol (A1→O1 ; A2→O2) for 8 sessions and were treated with CNO before each session (**Figure 1C**). A two-way repeated measures ANOVA revealed no main effect of session ($F(7, 126) = 1.627, P=0.1337$), neither of group ($F(1, 18) = 0.2827, P=0.6014$) nor an interaction session \times group ($F(7, 126) = 0.6749, P=0.6930$). The ability of animals to express these associations in an outcome-specific manner was next evaluated through an outcome devaluation procedure in the absence of CNO. One outlier in the mCherry group was removed from the analysis. A two-way RM ANOVA revealed that both groups pressed significantly more on the valued lever compared to the devalued one (Devaluation main effect $F(1, 17) = 11.12, P=0.0039$), with neither a group effect ($F(1, 17) = 0.08393, P=0.7755$), nor an interaction group \times devaluation ($F(1, 17) = 0.1334, P=0.7194$) (**Figure 1D**). This result was confirmed through significant devaluation ratio in all groups (**Figure 1E**) (One-sample t-test from 0.5: mCherry $t=3.096, df=8, P=0.0148$; Gi : $t=3.606, df=9, P=0.0057$). A consumption test following the extinction test (**Figure 1F**) resulted in a significant effect of devaluation ($F(1, 17) = 25.18, P<0,001$), but no group effect ($F(1, 7) = 0.6457, P=0.4327$) nor interaction ($F(1, 17) = 0.7472, P=0.3994$).

Another batch of animals was then used to assess the implication of VTA dopaminergic projections for the expression of outcome devaluation. There was no difference in the initial training of the animals (A1→O1 ; A2→O2, **Figure 1G ; SF6**) in the absence of CNO administration as revealed by a two-way RM ANOVA (Group main effect : $F(1, 20) = 0.4376, P=0.5158$; Session main effect : $F(3, 60) = 261.0, P<0.001$; Interaction group \times session : $F(3, 60) = 0.2844, P=0.8364$). During the outcome devaluation test under CNO administration, there was a main devaluation effect (**Figure 1H** ; Two-way RM ANOVA : $F(1, 20) = 19.47, P<0.001$) as well as a group effect ($F(1, 20) = 11.55, P=0.0029$), but no interaction ($F(1, 20) = 1.435, P=0.2449$), suggesting that both groups devalued, despite lower overall lever pressing

in the Cre+ group. Analysis of the devaluation ratio (**Figure 1I**) tended to confirm this hypothesis (One sample t-test ; Cre- : $t=3.533$, $df=10$, $P= 0.0054$; Cre+ : $t=2.212$, $df=10$, $P= 0.0514$), with no differences between groups (Unpaired t-test : $t=0.03175$, $df=20$, $P=0.9750$). The food consumption test (**Figure 1J**) confirmed the efficiency of the devaluation procedure (Two-way RM ANOVA : $F(1, 20) = 37.74$, $P<0,001$) with neither a group effect ($F(1, 20) = 50299$, $P=0.0322$) nor an interaction group \times devaluation ($F(1, 20) = 0.3203$, $P=0.5777$).

We then tested the implication of VTA dopaminergic neurons for reversal learning, i.e. the adaptation to an inversion of contingencies between lever pressings and outcomes ($A1 \rightarrow O2$, $A2 \rightarrow O1$; **SF6**). Animals were treated with CNO before each session of reversal. A two-way RM ANOVA revealed a session effect ($F(3, 60) = 5.130$, $P=0.0032$), but no group effect ($F(1, 20) = 1.246$, $P=0.2775$) and no interaction between those factors ($F(3, 60) = 0.1289$, $P=0.9426$) (**Figure 1K**). During the subsequent devaluation test, in the absence of CNO administration, a two-way RM ANOVA revealed no main effect of devaluation ($F(1, 18) = 1.981$, $P=0.1763$) nor a group effect ($F(1, 18) = 0.009614$, $P=0.9230$), but a significant interaction devaluation \times group ($F(1, 18) = 5.087$, $P=0.0368$) (**Figure 1L**). A subsequent post hoc analysis using Bonferroni's multiple comparisons test revealed a significant difference of the number of presses on the Val vs. Dev levers for the Cre- group ($P=0.0366$), but no difference for the Cre+ group ($P=0.5563$). The analysis of the devaluation ratio further confirmed this result with unpaired t-test revealing a significant difference between groups ($t=3.236$, $df=18$, $P=0.0046$) and a one-sample t-test confirmed the devaluation of the Cre- group ($t=3.494$, $df=9$, $P=0.0068$) but not of the Cre+ group ($t=1.383$, $df=9$, $P=0.2001$) (**Figure 1M**). Finally, a two-way ANOVA for the food consumption test confirmed the efficacy of the devaluation procedure (devaluation : $F(1, 40) = 111.2$, $P<0.001$; group : $F(1, 40) = 2.482$, $P=0.1230$; interaction : $F(1, 40) = 0.4707$, $P=0.4966$) (**Figure 1N**).

Altogether, these findings demonstrate that VTA dopaminergic neurons are not required for neither the acquisition of A-O associations, nor for their flexible expression in face of a change in outcome value, but play a major role in the updating of contingencies between actions and outcomes.

In order to further characterize the cellular and molecular mechanisms underlying such an effect of VTA dopamine transmission, we next targeted heteromers formed by dopamine and glutamate NMDA receptors in the two main brain areas modulated by mesocorticolimbic projections, i.e. the dorso-medial prefrontal cortex (dmPFC) or the nucleus accumbens (NAc).

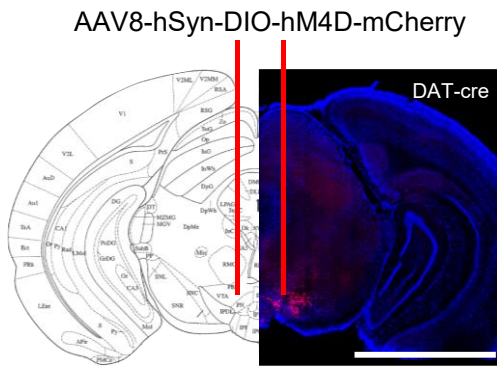
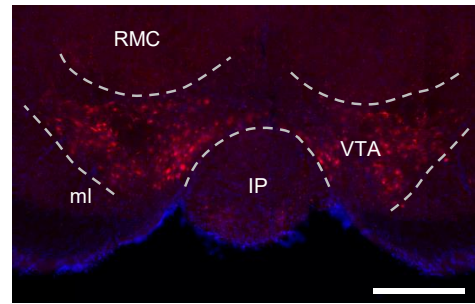
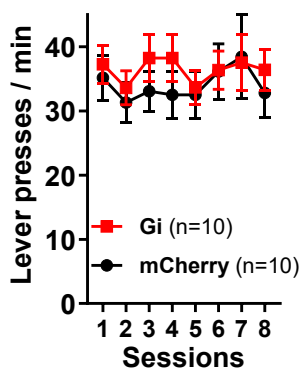
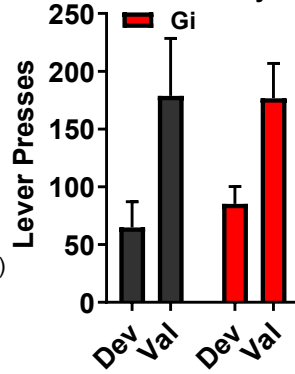
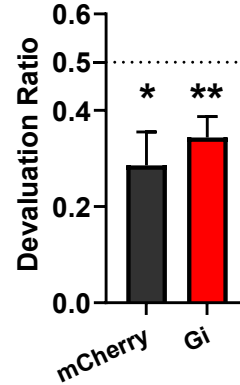
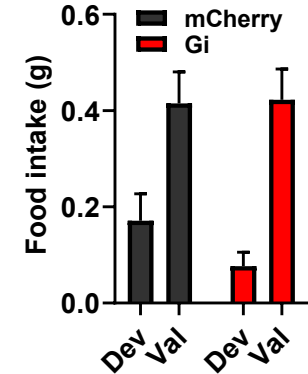
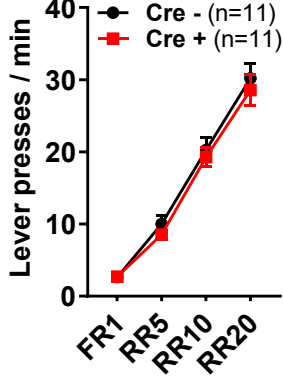
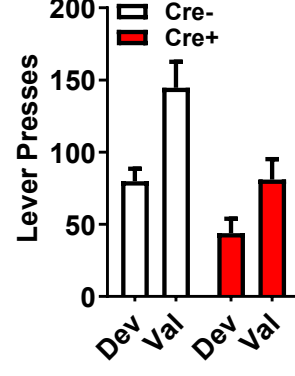
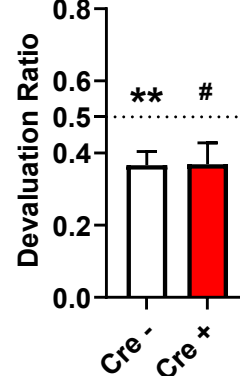
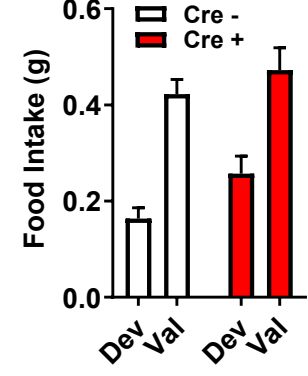
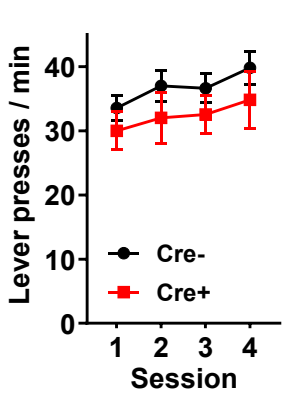
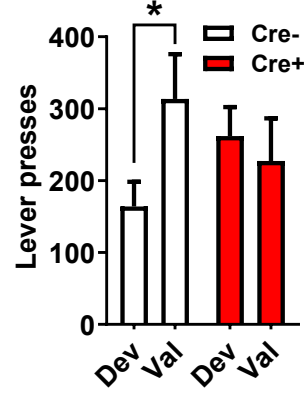
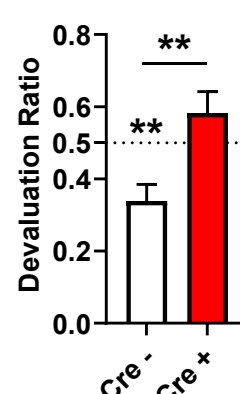
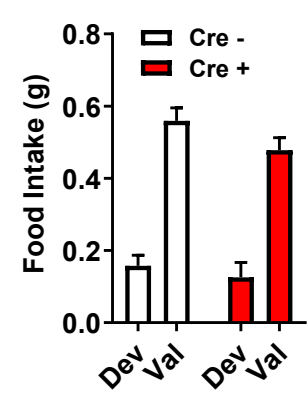
A**B****C****D****E****F****G****H****I****J****K****L****M****N**

Figure 1: Chemogenetic inhibition of VTA dopaminergic neurons impairs the update of A-O contingencies but preserves specific A–O encoding as well as sensory specific satiety outcome devaluation

(A) Bilateral injection of viral vector allowing cre-dependent hM4D-mCherry (Gi) or mCherry expression in the VTA of DAT-cre mice together with representative example of viral infection (mCherry) and nuclear staining with DAPI. Scale bar = 2.5mm. (B) Zoom on the viral spread in the VTA. Scale bar = 500µm. (C) Lever pressing rates during specific action – outcome acquisition (A1→O1 ; A2→O2) under CNO (2mg/kg), $n_{Gi} = 10$, $n_{mCherry} = 10$. (D) Number of lever presses on the devalued (Dev) or valued (Val) levers. (E) devaluation ratio ($\frac{Lever\ presses\ Dev}{Lever\ presses\ Dev+Val}$) during the extinction test. (F) Amount of food consumed during the consumption test following the extinction test for the valued (Val) and devalued (Dev) rewards. (G) Lever pressing rates during action – outcome training $n_{Cre+} = 11$, $n_{Cre-} = 11$. (H) Number of lever presses on each lever. (I) Devaluation ratio during the extinction test under CNO (2mg/kg). (J) Amount of food consumed during the consumption test following the extinction test for the valued (Val) and devalued (Dev) rewards. (K) Rates of lever pressing during the reversal of action – outcome contingencies under CNO (2mg/kg). (L) Number of lever presses on the Val and Dev levers and (M) devaluation ratio during the extinction test. (N) Amount of food consumed during the consumption test following the extinction test for the valued (Val) and devalued (Dev) rewards. All datasets represent Mean +/- SEM. * $P < 0.05$, ** $P < 0.001$, # $P < 0.06$. IP, interpeduncular nucleus; ml, medial lemniscus; RMC, magnocellular red nucleus; VTA, ventral tegmental area.

Interfering with D1/NMDA or D2/NMDA heteromerization in either the dmPFC or the NAc selectively impairs reversal of A-O contingencies

D1-GluN1 complexes were detected through proximity-ligation assay across the mPFC and subregions of the striatum (**SF1**), supporting the existence of D1/NMDA heteromers in these areas (the same analysis is ongoing for D2/NMDA complexes). In order to inhibit D1/NMDA or D2/NMDA heteromers, we used previously-validated viral vectors allowing for the expression of interfering peptides (Andrianarivelo et al., 2021) and subjected animals to the same behavioral procedures as described above. We first targeted the NAc (**Figure 2A-B**). RM two-way ANOVA revealed that blockade of either heteromer had no effect on the learning phase of A-O associations (session effect: $F(3, 243) = 582.8$, $P < 0.001$; peptide effect: $F(2, 81) = 0.5651$, $P = 0.5705$; interaction peptide X session: $F(6, 243) = 1.161$, $P = 0.3280$) (**Figure 2C**). Similarly, all groups displayed comparable performance during the outcome devaluation test as supported by RM two-way ANOVA (devaluation effect: $F(1, 81) = 71.77$, $P < 0.001$; peptide effect: $F(2, 81) = 0.09327$, $P = 0.9110$; interaction devaluation x peptide: $F(2, 81) = 0.08819$, $P = 0.9157$) (**Figure 2D**) as well as analysis of the devaluation ratio (one sample t-test, Ctrl : $t = 6.559$, $df = 42$, $P < 0.001$; C1 : $t = 4.737$, $df = 17$, $P < 0.001$; IL3 : $t = 5.805$, $df = 22$, $P < 0.001$ - One way ANOVA, $F(2, 81) = 0.1294$, $P = 0.8788$) (**Figure 2E**). The food consumption test following the extinction session confirmed the efficacy of outcome devaluation for all groups (RM two-way ANOVA, devaluation effect : $F(1, 81) = 203.1$, $P < 0.001$; peptide effect : $F(2, 81) = 3.272$, $P = 0.0430$; interaction : $F(2, 81) = 1.128$, $P = 0.3288$) (**Figure 2F**). A-O contingencies were then reversed. During reversal learning, there was a session effect for lever pressing frequency (RM two-way ANOVA, $F(3, 225) = 4.211$, $P = 0.0064$), but neither a peptide effect ($F(2, 75) = 1.186$, $P = 0.3111$) nor an interaction ($F(6, 225) = 1.687$, $P = 0.1252$) (**Figure 2G**). However analysis of lever presses during the outcome devaluation procedure through planned orthogonal contrasts revealed a main effect of devaluation ($F(1, 75) = 5.180$, $P = 0.0257$) but no difference of overall responding of C1 and IL3 versus Ctrl groups ($F(1, 75) = 0.304$, $P = 0.5830$) and no group (Ctrl versus rest) X devaluation interaction ($F(1, 75) = 1.380$, $P = 0.2438$) (**Figure 2H**). The analysis of the devaluation ratio confirmed a significant devaluation in the Ctrl group but not in the C1 or IL3 groups (One sample t-test, Ctrl : $t = 3.547$, $df = 39$, $P = 0.0010$; C1 : $t = 0.6461$, $df = 15$, $P = 0.5280$; IL3 : $t = 1.328$, $df = 21$, $P = 0.1983$), although a one-way ANOVA analysis revealed no difference between groups ($F(2, 75) = 0.6655$, $P = 0.5170$) (**Figure 2I**). The devaluation procedure was efficient in all groups as revealed by the post extinction feeding test (RM two-way ANOVA, devaluation effect : $F(1, 76) = 84.61$, $P < 0.001$; peptide effect : $F(2, 76) = 0.3651$, $P = 0.6953$; interaction : $F(2, 76) = 0.4384$, $P = 0.6467$) (**Figure 2J**).

We then assessed the effect of mPFC D1/NMDA or D2/NMDA heteromer blockade (**Figure 3 A-B**). Analysis of the A-O acquisition phase using a RM two-way ANOVA revealed a session effect ($F(3, 210)$

= 542.1, $P < 0.001$), no peptide effect ($F(2, 70) = 2.801, P = 0.0676$), nor an interaction peptide X session ($F(6, 210) = 1.279, P = 0.2683$) (**Figure 3C**). Analysis of the extinction test in the outcome devaluation procedure revealed a devaluation effect (RM two-way ANOVA, $F(1, 69) = 75.45, P < 0.001$), no peptide effect ($F(2, 69) = 2.640, P = 0.0786$), nor an interaction devaluation x peptide ($F(2, 69) = 0.6028, P = 0.5501$) (**Figure 3D**). The devaluation for all groups was confirmed by the analysis of the devaluation ratio (one sample t-test, Ctrl : $t = 4.172, df = 29, P < 0.001$; C1 : $t = 6.056, df = 21, P < 0.001$; IL3 : $t = 5.511, df = 20, P < 0.001$) and there were no differences between groups (One way ANOVA, $F(2, 70) = 1.298, P = 0.2796$) (**Figure 3E**). The food consumption test following the extinction session was similar across all groups (RM two-way ANOVA, devaluation effect : $F(1, 69) = 438.0, P < 0.001$; peptide effect : $F(2, 69) = 0.09665, P = 0.9080$; interaction : $F(2, 69) = 0.01484, P = 0.9853$) (**Figure 3F**). During the inversion of contingencies between A-O, there was a session effect in the lever pressing frequency (RM two-way ANOVA, $F(3, 198) = 2.728, P = 0.0452$), no effect of peptide ($F(2, 66) = 2.747, P = 0.0715$), nor an interaction peptide x session ($F(6, 198) = 1.176, P = 0.3204$) (**Figure 3G**). The analysis of the extinction test during the outcome devaluation procedure through planned orthogonal contrasts revealed a tendency towards overall less responding of C1 and IL3 versus Ctrl ($F(1, 66) = 3.773, P = 0.0563$). There was also a main effect of devaluation ($F(1, 66) = 6.955, P = 0.0104$) and a group (Ctrl versus rest) X devaluation (devalued versus valued) interaction ($F(1, 66) = 3.939, P = 0.051$) (**Figure 3H**). Follow-up simple effects analysis revealed a significant devaluation effect for the Ctrl group ($P = 0.0011$), but not for C1 ($P = 0.2517$) or IL3 ($P = 0.7715$) groups. Analysis of the devaluation ratio confirmed a significant devaluation in the control group but not for the C1 or IL3 groups (One sample t-test, Ctrl : $t = 2.908, df = 27, P = 0.0072$; C1 : $t = 0.8665, df = 20, P = 0.3965$; IL3 : $t = 1.206, df = 19, P = 0.2426$) although a one-way ANOVA analysis revealed no difference between groups ($F(2, 66) = 0.5623, P = 0.5726$) (**Figure 3I**). All groups displayed similar performance in the post-extinction feeding test, confirming efficient devaluation (RM two-way ANOVA, devaluation effect : $F(1, 66) = 82.11, P < 0.001$; peptide effect : $F(2, 66) = 0.06859, P = 0.9338$; interaction : $F(2, 66) = 0.2150, P = 0.8071$) (**Figure 3J**).

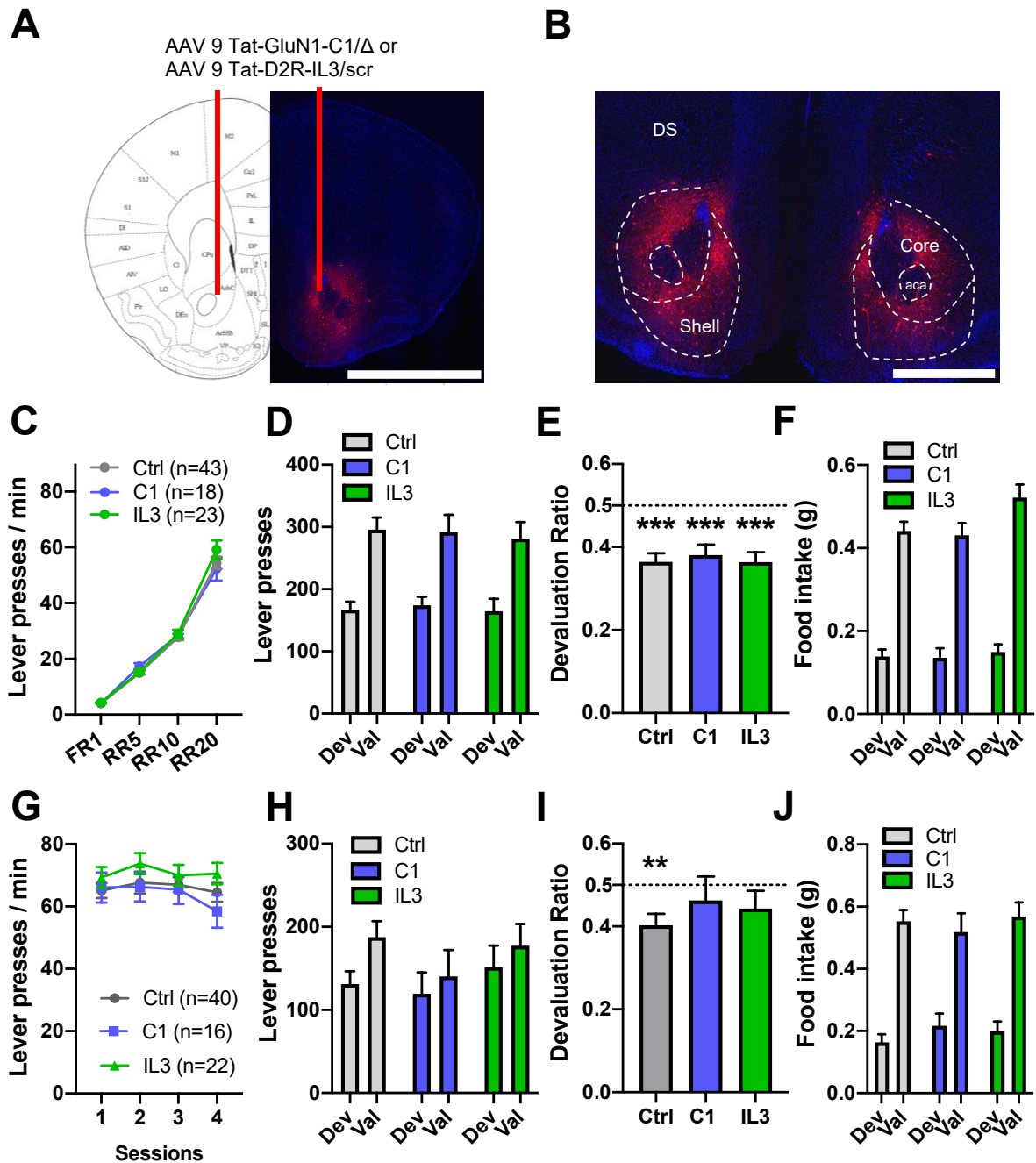


Figure 2 : Blocking NAc D1/NMDA preserves learning and flexible expression of A-O associations but impairs the ability to update contingencies between actions and outcomes

(A) Bilateral injection of viral vector allowing GluN1-C1/ Δ or D2R-IL3/scr expression in the NAc of WT mice together with representative example of viral infection (RFP) and nuclear staining with DAPI. Scale bar= 2.5mm. (B) Zoom on the viral spread in the NAc. Scale bar = 1mm. (C) Lever pressing rates during action – outcome training $n_{Ctrl} = 43$, $n_{C1} = 18$, $n_{IL3} = 23$. (D) Number of lever presses on each lever and (E) devaluation ratio during the extinction test. (F) Subsequent food consumption test. (G) Rates of lever pressing during the reversal of action – outcome contingencies, $n_{Ctrl} = 40$, $n_{C1} = 16$, $n_{IL3} = 22$. (H) Number of lever presses on each lever and (I) devaluation ratio during the extinction test. (J) Subsequent food consumption test. All datasets represent mean +/- SEM. ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$. aca,

anterior commissure ; core, nucleus accumbens core ; DS, dorsal striatum ; shell, nucleus accumbens shell.

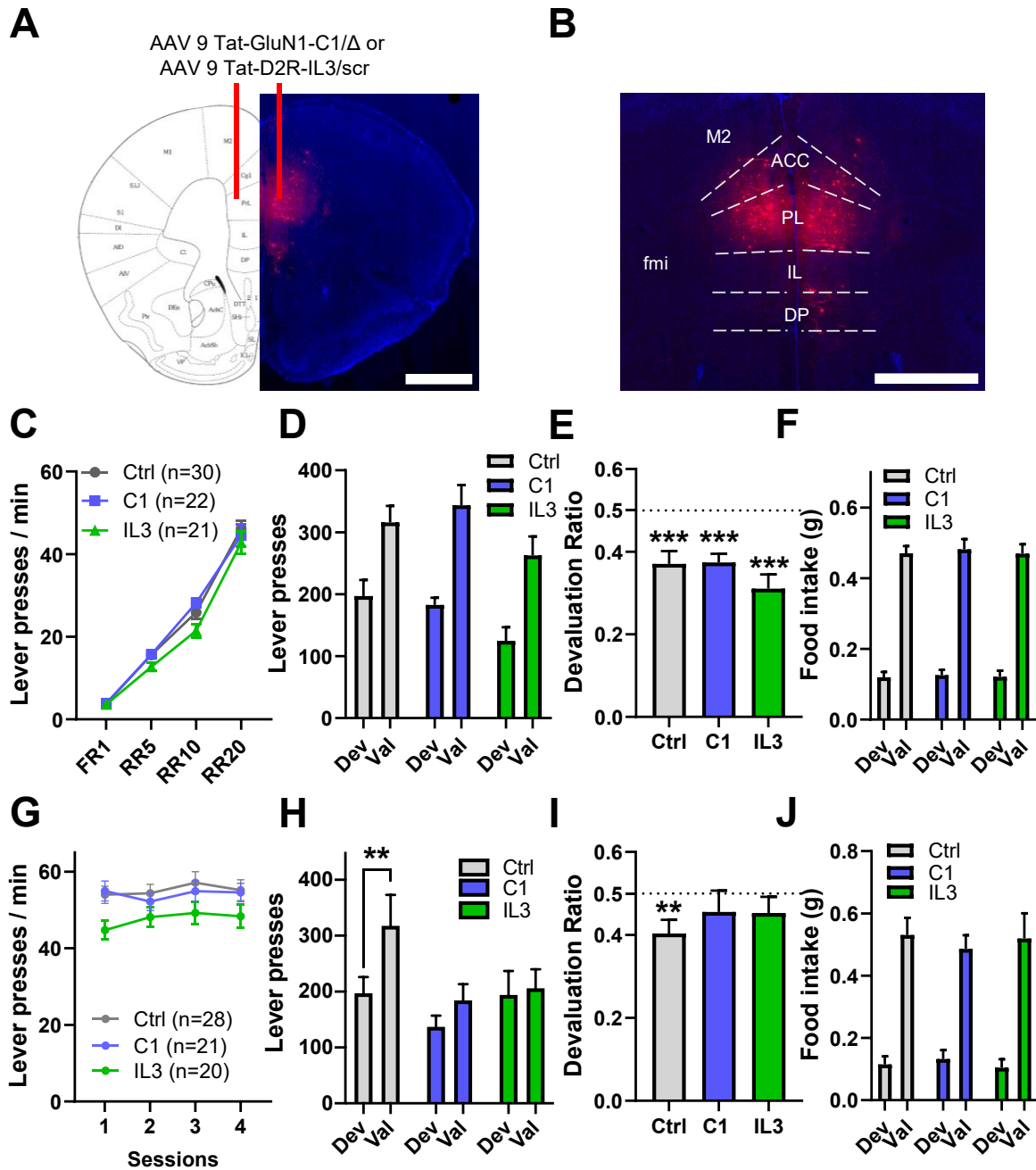


Figure 3 : Blocking mPFC D1/NMDA preserves learning and flexible expression of A-0 associations but impairs the ability to update contingencies between actions and outcomes

(A) Bilateral injection of viral vector allowing GluN1-C1/ Δ or D2R-IL3/scr expression in the mPFC of WT mice together with representative example of viral infection (RFP) and nuclear staining with DAPI. Scale bar= 1mm. (B) Zoom on the viral spread in the mPFC. Scale bar= 1mm. (C) Lever pressing rates during action – outcome training $n_{ctrl} = 30$, $n_{C1} = 22$, $n_{IL3} = 21$. (D) Number of lever presses on each lever and (E) devaluation ratio during the extinction test. (F) Subsequent food consumption test. (G) Rates of lever pressing during the reversal of action – outcome contingencies, $n_{ctrl} = 28$, $n_{C1} = 21$, $n_{IL3} = 20$. (H)

Number of lever presses on each lever and (I) devaluation ratio during the extinction test. (J) Subsequent food consumption test. All datasets represent mean +/- SEM. ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$. ACC, anterior cingulate cortex ; DP, dorsal peduncular cortex ; fmi, forceps minor corpus callosum ; IL, infralimbic cortex ; M2, secondary motor cortex ; PL, prelimbic cortex.

Potentiation of VTA dopamine neurons activity is not sufficient to compensate for the blockade of mPFC D1/NMDA and D2/NMDA heteromers

The aforementioned findings suggest i) that mPFC and NAc D1/NMDA and D2/NMDA heteromers are necessary to mediate the effect of dopamine transmission on reversal learning and ii) that there is a redundancy between dopaminergic systems of the mPFC and NAc for the adaptation to inversions of contingencies. We therefore next assessed whether potentiating VTA dopamine transmission during reversal learning could counteract the effect of blocking both heteromers in the mPFC.

We used DAT-cre mice and injected an AAV bearing a cre-dependent excitatory DREADD hM3D(Gq) in the VTA, together with both viral vectors allowing for the expression of GluN1-C1 and D2R-IL3 interfering peptides in the mPFC (Groups : Control-mCherry n=9 ; Control-Gq n=10 ; Peptides-mCherry n=10 ; Peptides-Gq n=10) and CNO was injected only during reversal learning (**Figure 4 A-B**). We verified the presence of VTA DREADD projections in the mPFC through amplification of the signal (**SF2**). Analysis of the acquisition phase using a RM three-way ANOVA resulted in a session effect ($F(3, 105) = 388.1, P < 0.001$), and a session X peptide effect ($F(3, 105) = 3.848, P = 0.0117$) but no other effect or interaction (peptide effect $F(1, 35) = 0.8109, P = 0.3740$; DREADD effect $F(1, 35) = 0.1041, P = 0.7488$; session X DREADD $F(3, 105) = 0.6831, P = 0.5643$; peptide X DREADD $F(1, 35) = 0.1651, P = 0.6870$; session X peptide x DREADD $F(3, 105) = 0.5666, P = 0.6382$) (**Figure 4C**). Analysis of the outcome devaluation test revealed a devaluation effect (RM three-way ANOVA, $F(1, 35) = 34.27, P < 0.001$) and no other effect or interaction (peptide effect, $F(1, 35) = 1.962, P = 0.1701$; DREADD effect, $F(1, 35) = 0.04017, P = 0.8423$; devaluation x peptide, $F(1, 35) = 0.6771, P = 0.4162$; devaluation x DREADD, $F(1, 35) = 0.3415, P = 0.5627$; peptide x DREADD, $F(1, 35) = 0.1929, P = 0.6632$; deval x peptide x DREADD, $F(1, 35) = 0.2833, P = 0.5979$) (**Figure 4D**). The devaluation for all groups was confirmed by the devaluation ratio (one sample t-test, Ctrl-mCherry : $t = 2.073, df = 8, P = 0.0719$; Ctrl-Gq : $t = 3.419, df = 9, P = 0.0076$; Peptide-mCherry : $t = 6.031, df = 9, P = 0.0002$; Peptide-Gq : $t = 3.166, df = 9, P = 0.0114$) and there were no differences between groups (One way ANOVA, $F(3, 35) = 0.5560, P = 0.6476$) (**Figure 4E**). Food consumption test following the extinction session was similar across all groups (RM two-way ANOVA, devaluation effect : $F(1, 35) = 296.4, P < 0.001$; peptide effect, $F(1, 35) = 0.1942, P = 0.6621$; DREADD effect, $F(1, 35) = 0.3035, P = 0.5852$; devaluation x peptide, $F(1, 35) = 0.3934, P = 0.5346$; devaluation x DREADD, $F(1, 35) = 0.2743, P = 0.6038$; peptide x DREADD, $F(1, 35) = 0.7373, P = 0.3964$; deval x peptide x DREADD, $F(1, 35) = 6.135, P = 0.0182$) (**Figure 4F**). Animals were then subjected to an inversion of contingencies between A-O for four sessions during which all animals received CNO, before being tested in an outcome devaluation procedure. There was an animal loss in the Peptide-Gq group between outcome devaluation and reversal learning procedures and based on the criterion during the extinction test (≥ 50 lever presses in total), one animal per group was excluded from the

analysis, plus one animal that was an outlier (Grubb's test at $\alpha=0.05$) during the test for the Peptide-Gq group (Control-mCherry n=8 ; Control-Gq n=9 ; Peptide-mCherry n=9 ; Control-Gq n=7). During reversal learning, we found a session effect for lever pressing frequency (RM three-way ANOVA, $F(3, 87) = 3.444, P=0.0202$), but no other effect or interaction between factors (peptide effect, $F(1, 29) = 1.310, P=0.2617$; DREADD effect, $F(1, 29) = 2.776, P=0.1065$; session x peptide, $F(3, 87) = 1.291, P=0.2826$; session x DREADD, $F(3, 87) = 0.7550, P=0.5224$; peptide x DREADD, $F(1, 29) = 0.2038, P=0.6550$; session x peptide x DREADD, $F(3, 87) = 1.219, P=0.3075$) (**Figure 4G**). Analysis of the outcome devaluation test through planned orthogonal contrasts revealed a main devaluation effect ($F(1, 29) = 12.766, P=0.0013$), no difference in overall responding of Control-mCherry and Gq groups versus Peptide-mCherry ($F(1, 29) = 0.512, P=0.4799$) and Gq groups and an interaction of groups (Control-mCherry/Gq versus Peptide-mCherry/Gq) X devaluation ($F(1, 29) = 5.834, P=0.0222$) (**Figure 4H**). Follow-up simple effects analyses revealed a significant devaluation effect for the Control-mCherry ($F(1, 29) = 4.251, P=0.0483$) and Control-Gq groups ($F(1, 29) = 16.821, P=0.0003$), but not for the Peptide-mCherry ($F(1, 29) = 1.425, P=0.2423$) or Peptide-Gq group ($F(1, 29) = 0.000, P>0.9999$). Analysis of the devaluation ratio confirmed a significant devaluation for the control-mCherry group and Control-Gq group but not for the Peptide-mCherry or Gq groups (One sample t-test, Ctrl-mCherry : $t=2.700, df=7, P=0.0306$; Ctrl-Gq : $t=3.219, df=8, P=0.0123$; Peptide-mCherry : $t=0.9442, df=8, P=0.3727$; Peptide-Gq : $t=0.3097, df=6, P=0.7673$) although a one-way ANOVA analysis revealed no difference between groups ($F(3, 29) = 1.545, P=0.2239$) (**Figure 4I**). The outcome devaluation procedure was efficient in all groups as assessed through the post-extinction food consumption test (RM three-way ANOVA, devaluation effect : $F(1, 29) = 83.41, P<0.001$; peptide effect : $F(1, 29) = 0.4346, P=0.5149$; DREADD effect, $F(1, 29) = 0.5371, P=0.4695$; devaluation x peptide, $F(1, 29) = 0.3612, P=0.5525$; devaluation x DREADD, $F(1, 29) = 0.3477, P=0.5600$; peptide x DREADD, $F(1, 29) = 0.02068, P=0.8866$; deval x peptide x DREADD, $F(1, 29) = 0.01609, P=0.8999$) (**Figure 4J**).

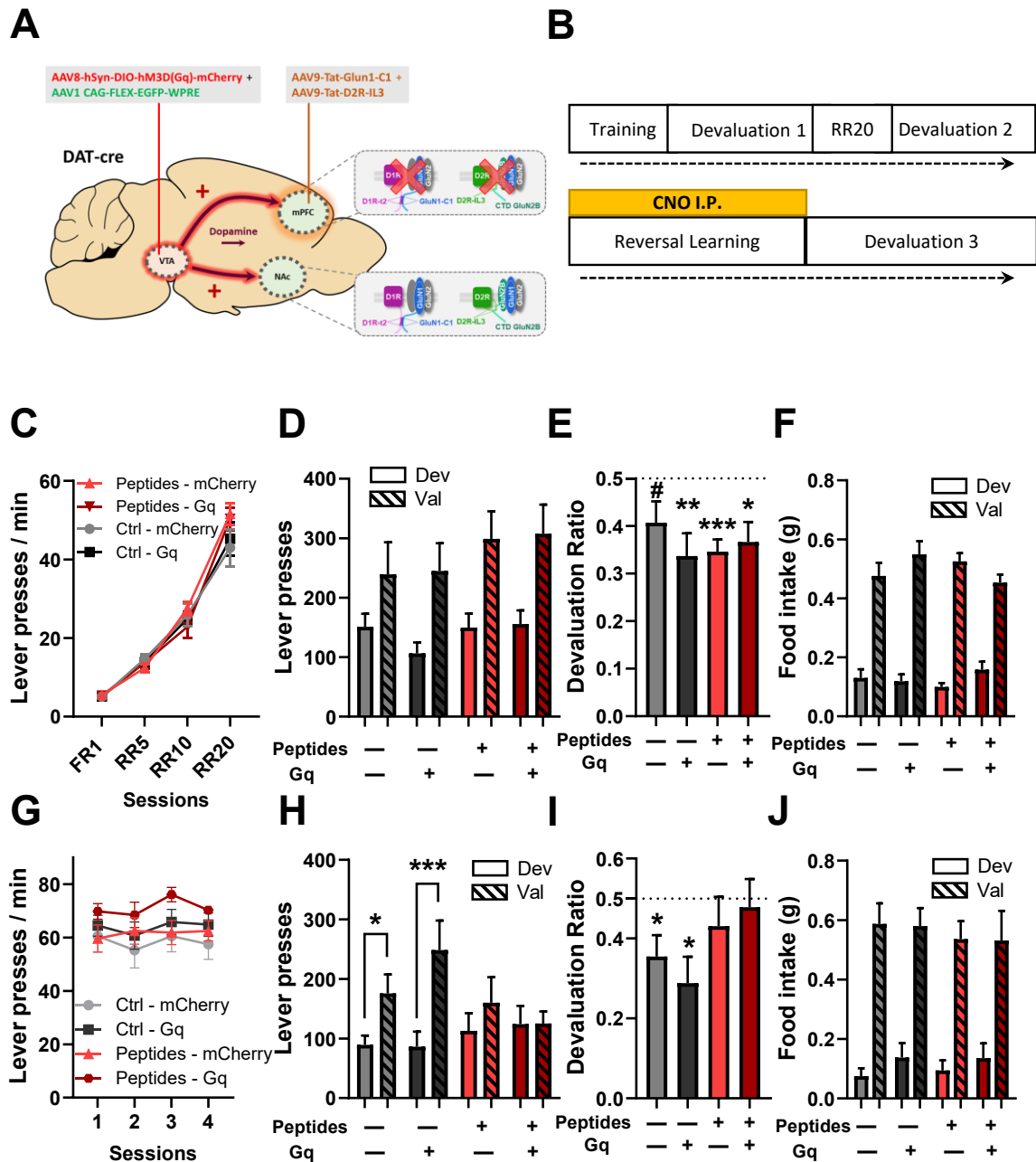


Figure 4 : Chemogenetic potentiation of activity of VTA dopaminergic neurons during reversal learning does not rescue the deficits induced by the simultaneous blockade of mPFC D1/NMDA and D2/NMDA heteromers

(A) Experimental design : in DATcre+ mice, bilateral injection of viral vectors allowing GluN1-C1 and D2R-IL3 expression (or control peptides) in the mPFC and vectors allowing DIO-DREADD-Gq expression together with FLEX-EGFP expression in the VTA. (B) Behavioral protocol. CNO was injected only during reversal learning sessions. (C) Lever pressing rates during action – outcome training $n_{Ctrl-mCherry} = 9$, $n_{Ctrl-Gq} = 10$, $n_{Peptide-mCherry} = 10$, $n_{Peptide-Gq} = 10$. (D) Number of lever presses on each lever and (E) devaluation ratio during the extinction test (-/- : Control-mCherry ; -/+ : Control-Gq ; +/- : Peptide-mCherry ; +/+ : Peptide-Gq). (F) Subsequent food consumption test. (G) Rates of lever pressing during the reversal of action – outcome contingencies, $n_{Ctrl-mCherry} = 8$, $n_{Ctrl-Gq} = 9$, $n_{Peptide-mCherry} = 9$, $n_{Peptide-Gq} = 7$. (H) Number of

lever presses on each lever and (I) devaluation ratio during the extinction test. (J) Subsequent food consumption test. All datasets represent mean +/- SEM. # $P < 0.075$, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

Recording of bulk activity of mPFC dopaminoceptive neurons reveals a main effect of D1/NMDA and D2/NMDA heteromers during reversal learning

In order to establish the neuronal correlate of behavioral deficits induced by heteromers blockade, we recorded bulk calcium dynamics of D1- or D2-expressing neurons of the mPFC through specific expression of the calcium sensor GCaMP8m, coupled with fiber photometry in behaving animals expressing interfering peptides or their controls. For that, D1-cre or D2-cre mice were stereotactically injected in the mPFC with viral vectors expressing DIO-GCaMP8m together with AAV GluN1-C1/ Δ or D2R-IL3/Scr, respectively, and implanted with an optic fiber cannula at the site of injection (**SF3**). Animals were then trained in a pavlovian conditioning task in which a tone cue (CS) predicts reward delivery 3 seconds later (US). This was followed by fixed ratio 1 (FR1) in which the lever press would trigger the CS-US association, and then reversal learning (RL1) in which the previously unreinforced (UL) lever became reinforced (RL) and vice-versa (**SF3**). Of note, unilateral blockade of heteromers had no effect on performance (**SF4**).

For mPFC D1-expressing dopaminoceptive neurons, analysis of early vs. late sessions of pavlovian conditioning revealed an increase of activity at the onset of the CS that attenuated over training for both groups (Δ : $t=6.266$, $df=749$, $P<0.001$; C1 : $t=2.750$, $df=495$, $P=0.0062$) (**SF5**). Reward consumption – measured through the onset of the first lick of the liquid reward – was accompanied by a decrease of activity that was further reduced along with learning (comparison early vs. late - Δ : $t=2.339$, $df=6951$, $P=0.0194$; C1 : $t=6.639$, $df=5054$, $P<0.001$) (**SF5**). During FR1, there was a peak of activity preceding the onset of the lever pressing (LP) – likely correlating with engagement in the action of pressing - that sharpened with learning as revealed by analysis of the AUC (Δ : $t=2.063$, $df=682$, $P=0.0395$; C1 : $t=3.008$, $df=626$, $P=0.0027$) (**Figure 5A-C**), while there were no differences in the maximum response amplitude (Δ : $t=0.4460$, $df=682$, $P=0.6558$; C1 : $t=0.8643$, $df=626$, $P=0.3878$) (**SF3**) in both Δ - and C1-expressing groups. The triggering of the CS by lever pressing ($x=0$) was accompanied by an increase of activity that dampened in the Δ group at late sessions ($t=5.320$, $df=682$, $P<0.001$), while maintained in the C1 group ($t=1.594$, $df=626$, $P=0.1115$) as illustrated by AUC (**Figure 5C**), and lower amplitude of z-score of $\Delta F/F$ for the Δ but not the C1 group (Δ : $t=4.22$, $df=682$, $P<0.001$; C1 : $t=0.7772$, $df=626$, $P=0.4373$) (**SF5**). Analysis of the activity at the licking onset during FR1 confirmed the decrease during reward consumption, with no effect of training in either group (Δ : $t=0.4823$, $df=4594$, $P=0.6296$; C1 : $t=0.9067$, $df=3530$, $P=0.3646$) (**SF3**). Across all sessions of reversal learning, whereas the bulk activity was higher during the period preceding the lever pressing onset for the RL compared to the UL for the Δ group ($t=4.209$, $df=246$, $P<0.001$) (**Figure 5D, F left**), there was no difference for the C1 group ($t=1.289$, $df=302$, $P=0.1985$) (**Figure 5E, F right**). Considering the well-established role of mPFC neurons in value-based decisions making (Euston et al., 2012), it is tempting

to propose that the perturbation of the differential bulk activity of D1-expressing neurons to lever pressing on the UL and the RL by the blockade of D1/NMDA heteromers might directly account for the deficits in reversal learning.

For mPFC D2-expressing dopaminoceptive neurons, the analysis of early vs. late sessions of pavlovian conditioning revealed an increase of activity after the CS onset that diminished for the IL3 group in late vs. early sessions but was maintained in the Scr group (Scr : $t=1.079$, $df=962$, $P=0.2811$; IL3 : $t=2.844$, $df=820$, $P=0.0046$) (**SF5**). Bulk activity of D2-expressing neurons was decreased at the onset of reward consumption (Scr : $t=3.253$, $df=1053$, $P=0.0012$; IL3 : $t=5.022$, $df=919$, $P<0.001$) (**SF5**). Across FR1 training, there was an increase in activity before the onset of LP, that significantly increased over training for the Scr group ($t=2.452$, $df=351$, $P=0.0147$) (**Figure 5G, I top left**) but not for the IL3 group ($t=0.1846$, $df=575$, $P=0.8536$) (**Figure 5H, I top right**). At the CS onset, the increased activity diminished over training for the Scr group ($t=2.898$, $df=351$, $P=0.0040$) (**Figure 5G, I bottom left**), an effect of learning that was absent for the IL3 group ($t=0.2804$, $df=575$, $P=0.7793$) (**Figure 5H, I bottom right**). The analysis of the activity after licking onset during FR1 revealed a further decrease of the activity for both groups (Scr : $t=3.487$, $df=386$, $P=0.0005$; IL3 : $t=5.405$, $df=623$, $P<0.001$) (**SF5**). Across reversal learning sessions, there was a slight decrease of activity for the Scr group during LP ($x=0$) on the RL ($t=4.171$, $df=647$, $P<0.001$) and a trend for the UL ($t=1.846$, $df=325$, $P=0.0658$) (**Figure 5J ; SF5**) compared to baseline. For the IL3 group we observed the opposite pattern, i.e. a slight increase of activity at LP compared to baseline for both the RL ($t=8.177$, $df=931$, $P<0.001$) and the UL ($t=6.630$, $df=1303$, $P<0.001$) (**Figure 5K ; SF5**). However, whereas the analysis of the AUC revealed no difference of activity prior to the LP onset between RL and UL for the Scr group ($t=0.8932$, $df=972$, $P=0.3720$) (**Figure 5L left**), there was a lower activity before LP on UL compared to RL for the IL3 group ($t=2.801$, $df=2235$, $P=0.0051$) (**Figure 5L right**).

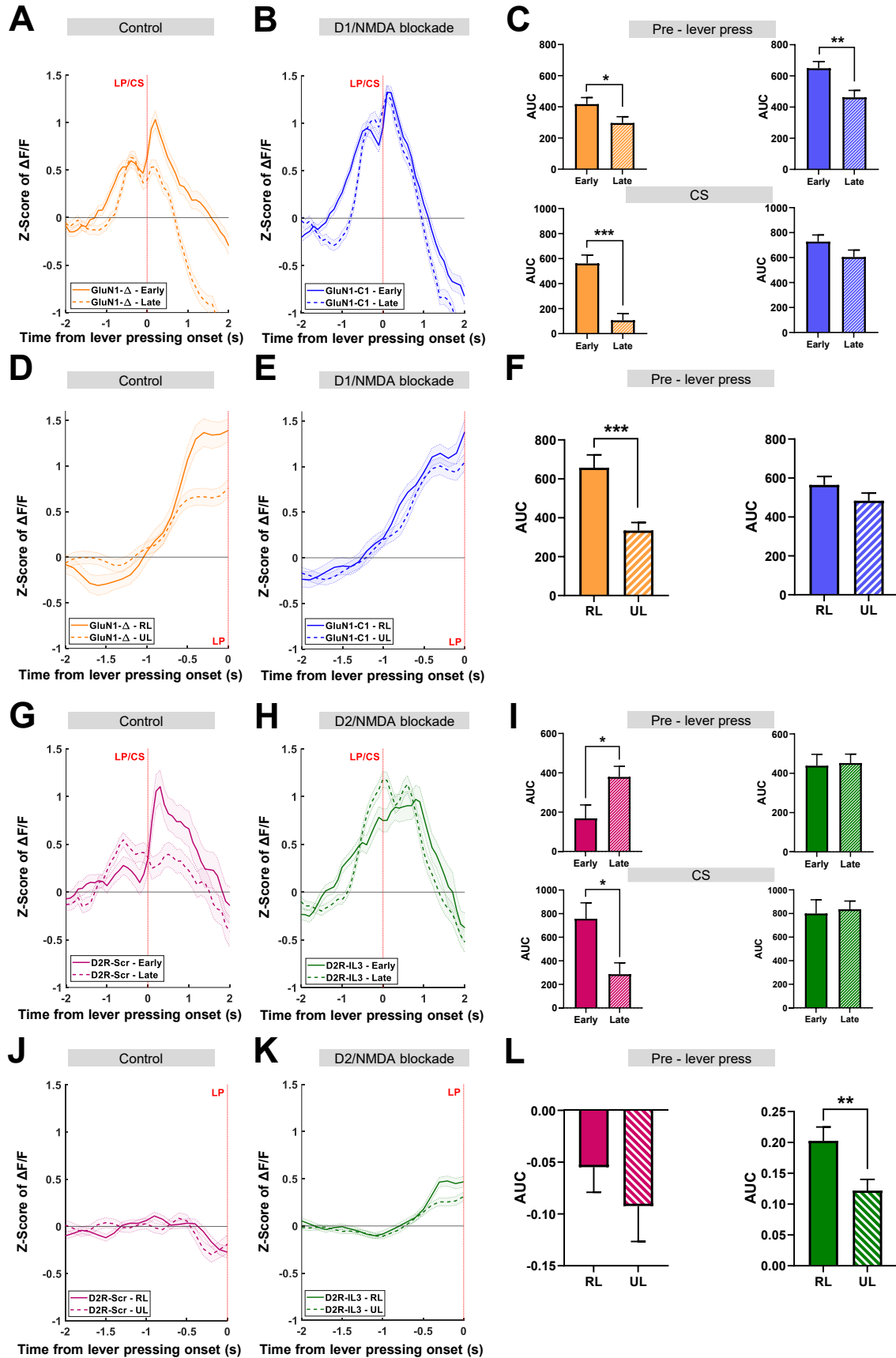


Figure 5 : Effect of D1/NMDA and D2/NMDA heteromer blockade on calcium dynamics of D1- and D2-expressing dopaminoceptive neurons of the mPFC in operant conditioning tasks.

(A - F) Activity of D1-neurons of the mPFC in D1-cre mice and modulation by GluN1-C1 interfering peptide (A-B) Z-score of $\Delta F/F$ during fixed ratio 1 (FR1) trials for early and late training sessions aligned onto the onset of the lever pressing that triggers the CS (nC1 = 4 mice ; n Δ = 6 mice ; Early : 2 first sessions; Last : 2 last sessions ; number of trials : Δ -Early = 307 ; Δ -Late = 378 ; C1-Early = 328 ; C1-Late = 301). (C) Quantification of the activity before the onset of lever press : top, AUC (-1s ; -0.1s) and bottom, z-score of $\Delta F/F$ at x= s, for Δ (left) and C1 (right) during early or late sessions. (D-E) Z-score of $\Delta F/F$ during reversal learning trials (RL1) aligned on lever pressing on the reinforced (RL) or the unreinforced lever (UL) (nC1 = 3 mice ; n Δ = 3 mice ; number of trials : Δ -RL = 73; Δ -UL = 176; C1-RL = 105; C1-UL = 199). (F) Quantification of the activity before the onset of lever press : top, AUC (-0.5s ; 0s) for Δ (left) and C1 (right) during RL or UL. (G - L) Activity of D2-neurons of the mPFC in D2-cre mice and modulation by D2R-IL3 interfering peptide. (G-H) Z-score of $\Delta F/F$ during FR1 trials during early and late training sessions aligned to the onset of lever pressing that triggers the CS (nIL3 = 7 mice ; nScr = 7 mice ; Early : 2 first sessions; Last : 2 last sessions ; number of trials : Scr-Early = 157; Scr-Late = 196; IL3-Early = 219; IL3-Late = 359). (I) Top, quantification of the activity corresponding to lever pressing : AUC (-1s ; -0.1s) and bottom, quantification of the activity after lever pressing, during the CS : AUC (0.1s ; 1s), for Scr (left) and IL3 (right) during early or late sessions. (J - K) Z-score of $\Delta F/F$ during reversal learning trials (RL1) aligned to the onset of lever press responding on reinforced (RL) or unreinforced lever (UL) (nIL3 = 5 mice ; nScr = 3 mice ; number of trials : Scr-RL = 652; Scr-UL = 327; IL3-RL = 937; IL3-UL = 1312). (L) AUC (-0.5s ; 0s) for top (Scr) and bottom (IL3) during RL or UL. AUC, area under the curve ; LP, lever press ; CS, conditioned stimulus. Data represent mean \pm SEM. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

DISCUSSION

The main finding of the current study is that the blockade of D1/NMDA or D2/NMDA heteromers in either the mPFC or the NAc selectively perturbs reversal of associations between action and outcome, similarly to the chemogenetic inhibition of mesocorticolimbic dopamine transmission, suggesting a main role of these receptor complexes in mediating the effect of dopamine transmission in physiological conditions.

The central implication of mesocorticolimbic dopamine transmission in adaptation to changes in contingencies between action and outcome but not action-outcome association or expression, is in accordance with previous studies (Cerpa et al., 2021). In fact, the general manipulation of the mesocorticolimbic pathway (Halbout et al., 2019; Verharen et al., 2018) or lesions of dopaminergic terminals in the prelimbic subregion of the mPFC (Naneix et al., 2009) spare the acquisition of action-outcome associations or their expression in face of changes in outcome value. However, manipulations of dopamine transmission onto the prelimbic area of the mPFC (Mor et al., 2022; Naneix et al., 2009), or the NAc (Radke, Kocharian, et al., 2019; Verharen et al., 2018) perturb adaptation to changes in action-outcome contingencies probed through reversal learning or contingency degradation. A role for dopamine transmission of the NAc in reversal learning was also revealed in non-operant based paradigms (Haluk & Floresco, 2009; Macpherson et al., 2022; Sala-Bayo et al., 2020). The observation that manipulations of mesocorticolimbic dopamine transmission perturb performance when animals have to adapt to changes in contingencies between actions and outcomes - whether it is in reversal learning, contingency degradation or set-shifting tasks – supports that this neuromodulatory pathway is central for adaptation to changes in action causality (Cerpa et al., 2021).

We found similar effects – i.e. selectively on reversal learning - when blocking D1/NMDA or D2/NMDA heteromers in either the NAc or the dorsal mPFC, suggesting that these heteromers are central for specifically mediating the effects of dopamine transmission. Indeed, the prelimbic region of the mPFC is involved as early as in the acquisition of action-outcome associations (Corbit & Balleine, 2003; Killcross & Coutureau, 2003; Ostlund & Balleine, 2005; Tran-Tu-Yen et al., 2009), in addition to adaptation to changes in contingencies (Balleine & Dickinson, 1998; Corbit & Balleine, 2003; A. M. Swanson et al., 2017). Regarding the NAc, the core subregion has been shown to be involved in the encoding (Corbit et al., 2001) and flexible expression (Parkes et al., 2015) of action-outcome association as well as the updating of associations (van der Merwe et al., 2023), while the shell is mostly involved in reversal learning (Dalton et al., 2014). Therefore the selective effect of heteromer blockade on reversal learning is unlikely to result from a broad inhibition of mPFC or NAc subregion, but rather to blunted dopamine signaling.

Recording of bulk activity of dopaminoceptive neurons of the mPFC revealed that both D1- and D2-expressing neurons respond to stimuli that predict reward delivery – in a pavlovian conditioning setting - as well as during the exertion of the action – i.e. lever pressing during an operant tasks – that leads to reward obtention. Even though, to the best of our knowledge, no previous study selectively recorded calcium dynamics of dopaminoceptive neurons of the mPFC in behaving animals, previous findings in primates highlighted the effect of D1 or D2 receptors on the neuronal encoding of stimulus-response associations (Puig et al., 2014; Puig & Miller, 2012, 2015) as well as for rule coding (Ott et al., 2014). Nonetheless, the blockade of either D1/NMDA or D2/NMDA heteromers had little effect on neuronal response to action exertion during initial action-outcome associations. It is during reversal learning that the strongest effects of heteromer blockade were found, with inhibition of D1/NMDA heteromers completely erasing the differential activation to rewarded vs. unrewarded lever press, while the blockade of D2/NMDA heteromers tended to reverse the pattern of activity of D2-expressing neurons related to lever pressing. The functional significance of these patterns of activity of dopaminoceptive neurons of the mPFC during reversal learning, and to which extent their perturbation by heteromer blockade accounts for deficits in reversal learning will require further investigations. Nonetheless, such effects of heteromer blockade further support that, even though dopaminoceptive neurons of the mPFC are likely involved in several discrete components of decision-making, dopamine transmission *per se* is selectively recruited during changes in contingencies, and that D1/NMDA and D2/NMDA heteromers are main players in its action. Of note, in the cortex, dopaminoceptive neurons can be both GABAergic and pyramidal neurons (Anastasiades et al., 2019). Further studies will be needed to determine if both subpopulations express heteromers, and what are the consequences of their blockade on neuronal activity. Moreover, the effect of heteromer blockade on calcium dynamics in the NAc remains to be investigated.

We and others have described a central implication of striatal D1/NMDA and D2/NMDA heteromers in behavioral adaptations to psychostimulants (Andrianarivelo et al., 2021; Cahill, Pascoli, et al., 2014; X.-Y. Liu et al., 2006) – which strongly recruit dopamine transmission. Indirect evidence through pharmacological studies suggested cooperation of D1- and NMDA-dependent transmissions in the NAc and mPFC for instrumental responding (Baldwin et al., 2002; Smith-Roe & Kelley, 2000), however, to the best of our knowledge, the current study is the first to directly demonstrate a functional role of these heteromers in physiological conditions. Further studies will be required to assess the cellular and molecular function of these heteromers in the mPFC and how they exert their effects on the activity and functional role of dopaminoceptive neurons.

MATERIAL AND METHODS

Experimental models and subject details

Adult male mice aged 10 – 28 weeks were group housed (3-10 animals) in standard polypropylene cages and maintained in a temperature (21-23°C) and humidity controlled facility under a 12:12 light-dark cycle (07:00 on) with *ad libitum* access to food and water. All animal care and experimental procedures were in accordance with the INRAE Quality Reference System and with French (Directive 87/148, Ministère de l'Agriculture et de la Pêche) and European (Directive 86/609/EEC) legislations. They followed ethical protocols approved by the Region Aquitaine Veterinary Services (Direction Départementale de la Protection des Animaux, approval ID: B33-063-920) and by the animal ethic committee of Bordeaux CEEA50. Every effort was made to minimize suffering and reduce the number of animals used.

The following mouse lines were used in this study : C57BL/6J were purchased from Janvier Laboratories (Robert Janvier, Le Genest St-Isle, France), D1-Cre (MMRC: 029178-UCD, strain code: Tg(Drd1-cre)FK150Gsat/Mmucd, GENSAT), D2-Cre (MMRC: 017263-UCD, strain code: Tg(Drd2-cre)ER44Gsat/Mmucd, GENSAT), DAT-cre (DAT^{IREScree}, B6.SJL-Slc6a3tm1.1(cre)Bkmn/J, RRID:IMSR_JAX:006660).

Stereotactic viral injections and implantation of optic fibers procedure

Mice analgesia was induced with the subcutaneous injection of Buprenorphine (BUPRECARE, 0.1 mg/kg) 30 minutes prior to the surgical procedure. Animals were then anesthetized with isoflurane (induction at 5%, procedure at 1-2%) and then placed on a stereotactic frame (RWD Life Science) on a heating pad (37°C). A 10µl NanoFil Sub-microliter syringe from WPI was used with a 34G Nanofil blunt needle. AAV used and structures targeted are specified below. AAV were injected at a 100nl/min rate. The syringe was left in place for 5 minutes post injection to prevent backflow and was then slowly removed. At the end of the procedure, postoperative analgesia was ensured with a subcutaneous injection of non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID) Carprofene (CARPROX, 5mg/kg). Mice were sutured and placed on a heating pad until full recovery from the procedure, and were monitored for 3 days post-surgery. Behavioral procedures begun 3 – 4 weeks after the surgeries. Every procedure was used to minimize bacterial contamination and enforce prophylaxis.

D1/NMDA and D2/NMDA heteromer blockade

Viral vectors expressing interfering peptides were the same as the ones used in (Andrianarivelo et al., 2021). Briefly, AAV9-Tet-On-GluN1C1 bicistronically bears the fluorescent reporter protein RFP and the C1 cassette of the GluN1 subunit (₈₆₄DRKSGRAEPDPKKKATFRAITSTLASSFKRRRSSKDT₉₀₀) under doxycycline treatment. The related control virus AAV9-Tet-On-GluN1C1Δ bears a truncated version of C1 that is deleted from a stretch of nine positively charged amino acids (₈₉₀SFKRRRSSK₈₉₈), which are required for D1R-GluN1 interaction. The AAV9-Tet-On-D2R-IL3 encodes a sequence of the IL3 of the D2R (₂₂₅TKRSSRAFRA₂₃₄) interacting with GluN2B. The control AAV9-Tet-On-D2R-scr bears a scrambled sequence (KFARRTSASR) of the D2R-IL3 (full AAV sequences are available upon request). All Tet-On AAV were injected at 5x10¹³ vg/ml in PBS 1X Pluronic 0.001%. The following coordinates and volumes were used for AAV injections in the mPFC (AP : +1.78 ; ML : +/- 0.30 ; DV : -1.70 from the surface of the

brain ; 350-400nl/hemisphere;) and in the NAc (AP : +1.70 ; ML : +/- 0.90 ; DV : -4.00 from the surface of the brain ; 500nl/hemisphere).

Dopaminergic neurons chemogenetic inhibition

For the first experiment, DAT-cre positive mice were injected with AAV8-hSyn1-dlox-hM4D(Gi)_mCherry(rev)-dlox-WPRE-hGHp(A) (6.3×10^{12} vg/ml, v84, Zurich Vector Facility) or AAV8-hSyn1-dlox-mCherry(rev)-dlox-WPRE-hGHp(A) (5.9×10^{12} vg/ml, v116, Zurich Vector Facility). $n_{Gi} = 10$ and $n_{mCherry} = 10$. Mice were injected in the VTA at AP : -3.30 ; ML : +/- 0.50 ; DV : -4.30 from the surface of the brain, at a volume of 300nl/hemisphere. For the second experiment, DAT-cre positive or negative mice were injected with AAV8-hSyn1-dlox-hM4D(Gi)_mCherry(rev)-dlox-WPRE-hGHp(A) (6.3×10^{12} vg/ml, v84, Zurich Vector Facility) in the VTA at the same coordinates and volumes. $n_{Cre+} = 11$ and $n_{Cre-} = 11$.

Dopaminergic neurons chemogenetic activation and mPFC D1/NMDA and D2/NMDA heteromer blockade

DAT-cre positive mice were injected with a mix of AAV1-CAG-FLEX-EGFP-WPRE (1×10^{13} vg/ml, #51502, Addgene) and AAV8-hSyn1-dlox-hM3D(Gq)_mCherry(rev)-dlox-WPRE-hGHp(A) (3.0×10^{12} vg/ml, v89, Zurich Vector Facility) or AAV8-hSyn1-DIO-mCherry in the VTA at the same coordinates and volumes used previously. A mix of AAV9-Tet-On-GluN1C1/AAV9-Tet-On-D2R-IL3 or AAV9-Tet-On-GluN1C1 Δ /AAV9-Tet-On-D2R-scr was injected in the mPFC at the same volume and coordinates used previously. AAV1-CAG-FLEX-EGFP was used to detect VTA dopaminergic projections infected by the AAV mix in the mPFC with EGFP, given that peptide reporter gene is RFP.

In vivo fiber photometry recording of calcium transients in mPFC dopaminoceptive neurons upon blockade of D1/NMDA or D2/NMDA heteromers

For fiber photometry experiments, D1-cre mice received a unilateral injection of a mix of AAV-DJ-hSyn1-dlox-jGCaMP8m(rev)-dlox-WPRE-SV40p(A) (6×10^{12} vg/ml, v628, Zurich Vector Facility) and AAV9-Tet-On-GluN1C1 or AAV9-Tet-On-GluN1C1 Δ vector in the mPFC at the same volume and coordinates used previously. D2-cre mice received a unilateral injection of a mix of AAV-DJ-hSyn1-DIO-GCaMP8m and AAV9-Tet-On-D2R-IL3 or AAV9-Tet-On-D2R-IL3-scr. The optic fiber (Fiber Optic Cannula with Ceramic Ferrule, O.D. 1.25mm, 0.5 NA, 400 μ m core diameter, L=3mm ; R-FOC-BL400C-50NA, RWD) was placed 250 μ m above the injection site (ie DV : -1.45 from the surface of the brain) and immobilized with an opaque dental cement (Super-Bond, Sun Medical ; Meliodent, Kulzer).

Doxycycline induction of interfering peptide expression

Peptide expression induction was achieved through the concomitant I.P. injection of Doxycycline solution (9-Tert-Butyl-Doxycycline HCL 10mg/kg, DMSO 5%, Tween 20 5%, in saline 0.9%) for 5 days as well as continuous supply of Doxycycline in drinking water (Doxycycline Hyclate 2g/L, Sigma ; 9-Tert-Butyl-Doxycycline HCL 80mg/L, TebuBio ; Sucrose 1% ; pH=4,5 ; Evian). Peptide expression was maintained over the whole course of behavioral experiments, through the I.P. injection of the same doxycycline solution every two weeks.

Fiber photometry setup

Both DORIC (GCaMP Bundle-imaging Fiber Photometry System) and RWD (R820 Fiber Photometry) fiber photometry setups were used. A 470nm LED light stimulation coupled to a 405nm isobestic stimulation was delivered through a fiber-optic patch cord (O.D. 1.25mm, Ceramic Ferrule, 400 μ m core diameter, 0.5 NA ; R-FC-L-N5-400-L1, RWD). Intensities were set to reach a 100 μ W power for 470nm LED and 40 μ W for 405nm isobestic LED. Activity was recorded at 10-40Hz (depending on cohorts and setups).

Behavioral Procedures in operant conditioning

Animals were food deprived and maintained at 85-90% of their baseline *ad libitum* weight. Mice were placed in operant chambers (40x30x36, IMETRONIC) equipped with two retractable levers along with food delivery systems at the center (see below). For fiber photometry experiments, diluted sweet milk (17.5%, Nestlé) was delivered in a trough connected to a pump. For behavioral procedures, grain pellets and purified milk pellets (Bioserve / Phymep, 20mg, isocaloric) were distributed through a food dispenser. Reward delivery was associated to the illumination of a LED located above the associated reinforced lever together with the emission of a sound stimulus (65dB, 3000Hz, 200ms). For behavioral analysis, the three main behavioral paradigms are summed up in **SF6**.

Operant protocols for action-outcome specific associations

Magazine Training

Animals were trained to collect reward pellets for 3 days in two different sessions (30 minutes, 13 rewards, daily alternation of the Grain-Milk order). Reward grain or purified pellets were randomly delivered throughout the session simultaneously to the light and sound cues.

Specific Instrumental Conditioning

There were 2 sessions per day during which mice had to press on the lever to receive the associated reward pellet. At first, mice were trained with a Fixed Ratio 1 for 4 days on average. Similarly to the magazine training, the light and sound cues were activated at lever pressing. Once the animals reached the criterion, they were trained in a random ratio (RR), RR5 ($P_{\text{reward}}=0.2$; 2 days), RR10 ($P_{\text{reward}}=0.1$; 2 days), RR20 ($P_{\text{reward}}=0.05$; 4 days). Sessions stopped once the 20 pellets criterion was reached or after 30 minutes.

Initial general instrumental conditioning and specific action – outcome association

This protocol was used to evaluate the implication of dopaminergic projections in the initial specific association between action and outcomes. There were 2 sessions per day during which DATcre mice injected in the VTA with cre dependent inhibitory DREADD (Gi) or mCherry had to press on the lever to receive one reward pellet (Grain or milk pellets randomly distributed between animals). At first, mice were trained with a Fixed Ratio 1, where one pellet was delivered following lever pressing. Once

the animals reached the criterion of 20 pellets in less than 10 minutes (4 days), they were trained in a random ratio (RR), RR5 ($P_{\text{reward}}=0.2$; 2 days), RR10 ($P_{\text{reward}}=0.1$; 2 days), RR20 ($P_{\text{reward}}=0.05$; 4 days). Sessions stopped once the 20 pellets criterion was reached or after 30 minutes. Following the RR20 training, animals were trained for 8 sessions with the specific association Action 1 → Outcome 1 and Action 2 → Outcome 2 (A1→O1, A2→O2) under CNO injection, to inhibit VTA dopaminergic activity.

Sensory Specific Outcome Devaluation

Animals were given access to *ad libitum* grain or milk reward pellets for 80 minutes prior to the test. They were then placed in the operant chamber for a choice test under extinction for 15 minutes, both levers were available but lever pressing led to no reward delivery. Right after the test, animals were given access to both food successively for 15 minutes each. There were at least 2 Outcome Devaluation procedures where the prefeeding pellets were counterbalanced between sessions, separated by 4 days of training in RR20.

Reversal Learning

Following the last Outcome Devaluation, animals were trained in RR20 for 3 days before switching to Reversal Learning. The association between right or left lever and the corresponding reward pellet was reversed. Animals were trained with this new protocol for 4 days before being subjected to a new Outcome Devaluation procedure.

Operant protocols used for fiber photometry recordings

Mice were first trained in Pavlovian conditioning for 12 days (15-20 minutes depending on cohorts). During the session, the house LED was on. The emission of a light and sound stimulus (CS) predicted the delivery of a drop of diluted sweet milk (US). The CS was on for 10 seconds and the US occurred 3 seconds after the CS onset. Once the trough was empty and the CS was off, a new trial began. The inter-trial interval (ITI) lasted 30 seconds.

Animals were then trained in Fixed Ratio 1 (FR1), during which both levers were out but only one was reinforced. Pressing on the non-reinforced lever led to no consequence. When the reinforced lever was pressed, both levers retracted and the CS started with the same pattern as pavlovian training. Levers were out again at the beginning of the new trial, after an ITI of 10 seconds. After FR1 training animals were trained in reversal learning, in which reinforced and non-reinforced lever were switched.

CNO treatment

For chemogenetic manipulations, CNO (2mg/kg) was injected I.P. 30 minutes prior to any test. For specific A-O associations or for reversal learning, CNO was injected before the training sessions but not during the outcome devaluation procedure. For the manipulation during outcome devaluation, the CNO was injected 30 minutes before the beginning of the extinction test (during the prefeeding).

Mouse tissue preparation

Mice received analgesia 30 min prior to the procedure through the subcutaneous injection of Buprenorphine (BUPRECARE, 0.1 mg/kg) before being deeply anesthetized with an I.P. injection of

sodic pentobarbital (Exagon, 300mg/kg) and before being perfused with an ice cold 4% paraformaldehyde (PFA) solution in PBS 1X. Brains were postfixed overnight in a 4% PFA solution, then transferred to PBS 1X, before further use. Brains were sliced (40µm thickness) using a vibratome (Leica) and slices were collected in a cryoprotectant solution containing 30% (v/v) ethylene glycol, 30% (v/v) glycerol, and 0.1 M PBS and stocked at -20°C until further use.

Histology and image acquisition

For dopaminergic neurons activity modulation, interfering peptides and fiber photometry experiments, slices were mounted with Vectashield Hardset mounting medium with DAPI (H-1500, VectorLab, Eurobio Scientific), before being scanned at 20X with a NanoZoomer slide scanner (Hamamatsu). The infections were then assessed in the targeted structures according to mCherry, RFP or GFP expression, respectively.

Immunohistochemistry

Two DAT-cre positive male mice (12 weeks) were bilaterally injected in the VTA with AAV8-hSyn1-DIO-hM3D(Gq) at the coordinates and volumes used previously. 4 weeks post-surgery, brains were extracted and sliced as previously described. mPFC, NAc and VTA slices were sorted on ice in Tris Buffered Saline (TBS) 1X (Tris 50mM, NaCl 150mM, mQ H₂O, pH=7,4), and then rinsed in TBS for 3x10min. Slices were then incubated with blocking/permeabilization solution (10% FBS, 0.5% Triton X-100, TBS 1X) for 2 hours at room temperature (RT) under constant stirring, before being incubated with primary antibodies (Chicken polyclonal anti-mCherry, ab205402, Abcam, 1/500) ; control slice : no primary antibody) overnight at 4°C. Slices were then washed with TBS 1X + 0.2% Triton X-100 (4x20min), and incubated with secondary antibody (Goat anti-chicken – Alexa 647, ab150771, Abcam, 1/100) for 2h at RT. Slices were then washed with TBS (4x10min) before being mounted with Vectashield Hardset mounting medium with DAPI. Acquisition of images was performed using 20X objective on an epifluorescence microscope (Nikon Eclipse E400) through Hamamatsu digital camera (C10600 – Orca-R2) and NIS-Elements acquisition software.

Proximity Ligation Assay

Male WT mice (10 weeks, n=4) were perfused with PFA and processed according to the procedure described. The PLA protocol is adapted from the one of the provider (Duolink - Sigma). 3 slices (anterior PFC, AP=+2.22 ; posterior PFC, AP=+1.78 ; anterior striatum, AP=+1.10, (Franklin & Paxinos, 2001)) per animal were used. Slices were sorted on ice and washed in TBS 1X (3 x 10min). All washing and incubation steps were done under stirring. Except from TBS, FBS, Triton X-100, and primary antibodies, all reagents were provided in the Duolink Brightfield Detection kit (Sigma). They were then quenched with hydrogen peroxide (5min) to suppress endogenous peroxidase activity, then washed with buffer A (from the kit, 3x5min). Slices were then incubated with blocking/permeabilization solution (3% FBS, 0.2% Triton X-100, TBS 1X) for 2 hours at room temperature (RT), before being incubated with primary antibodies (Goat polyclonal anti-D1R 1/200 D1R-Go-Af 1000, Frontier Institute ; rabbit polyclonal anti-GluN1 1/200 ab17345, Abcam ; in blocking solution ; control slice : anti-GluN1 only) overnight at 4°C. Slices were then washed with buffer A (4x30min), and incubated with secondary PLA probes (Anti-Goat Minus probe 1/5, anti-Rabbit Plus probe 1/5 in blocking solution, Duolink, Sigma) for 2h at 37°C. Slices were washed in buffer A (2x5min) and then incubated in the ligation solution (ligation buffer 1/5, ligase

1/40, in mQ H₂O) for 45min at 37°C. Slices were washed in buffer A (2x5min) and then incubated in the amplification solution (amplification buffer 1/5, polymerase 1/80, in mQ H₂O) for 2h at 37°C. Slices were washed in buffer A (2x5min) and then incubated in the detection solution (HRP probes 1/5, in mQ H₂O) for 1h at RT. Slices were washed in buffer A (2x5min) and incubated in the substrate development solution (3,3'-Diaminobenzidine, DAB substrates : A 1/70, B 1/100, C 1/100, D 1/50 in mQ H₂O) for 10min at RT. Slices were washed in buffer A (2x5min) and mounted on slides before drying overnight. Nuclear staining was then performed on the slides for 2min and slides were rinsed with mQ H₂O for 10min. Slides were then dehydrated (95% EtOH 2x2min, 100% EtOH 2x2min, Xylene 2x5min) and mounted with a coverslip using DPX mounting medium.

Quantification of PLA signal

Slides were scanned at 40X over 21 stacks (step = 1µm) using a NanoZoomer slide scanner (Hamamatsu). Nine subregions of the PFC and striatum were determined according to (Franklin & Paxinos, 2001) (ACC, PL, IL, MO, DMS, DLS, Core, medShell, latShell). Six areas (when applicable) per region per hemisphere of 150µm X 150µm were determined using QuPath (examples shown in **SF1**). Acquisitions were then processed in ImageJ (FIJI, National Institutes of Health (NIH)) using a custom macro to determine the best focus of each stack, and a custom macro adapted from the “Find Maxima” macro (Prominence = 14) to detect the PLA dots.

Fiber photometry analysis and statistical analysis

Fiber photometry recordings of D1- or D2-dopamine neurons activity in the mPFC were analyzed using a MATLAB custom script. The isobestic signal was fitted (linear fitting) to the 470 nm signal and $\Delta F/F$ was calculated as $(F_{470nm} - F_{405nm} \text{ fitted})/F_{405nm} \text{ fitted}$ for each time point. The z-score around each behavioral event was then calculated using a baseline of 2.5sec (from -3sec to -0.5sec before the event) as $\frac{\Delta F/F - (\text{means of values in baseline period})}{\text{standard deviation of values in baseline period}}$. Area Under the Curve (AUC) were calculated in MATLAB using the *trapz* function.

For statistical analysis, Graphpad Prism (version 10.0.1) was used. All data are displayed as means +/- SEM. Data sets were tested for normality and subsequent test were performed accordingly. Unpaired two-tailed Student's t-test or Mann-Whitney test were used for the comparison of two independent groups. For the analysis of more than two groups with one factor, one-way analysis of variance (ANOVA, parametric) or Kruskal-Wallis test (non-parametric), were used. When two or three factors were present, two-way or three-way (repeated-measures, RM, when applicable) analysis were performed, respectively. The ANOVA were followed by Bonferroni post hoc test, and the Kruskal-Wallis test by Dunn's multiple comparison test, when applicable. One-sample t-test were used to compare group means to a fixed value. Planned orthogonal contrasts were performed to analyze the data from choice tests under extinction following reversal learning when three or more groups were present, using PSY software designed by Kevin Bird, Dusan Hadzi-Pavlovic and Andrew Isaac from the School of Psychology and School of Psychiatry at the University of New South Wales. These contrasts tested for the main group effect (Control group or groups versus Interfering peptide groups), the main devaluation effect (Valued versus Devalued) and the interaction. Simple effects were then performed accordingly. Statistical significance was * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

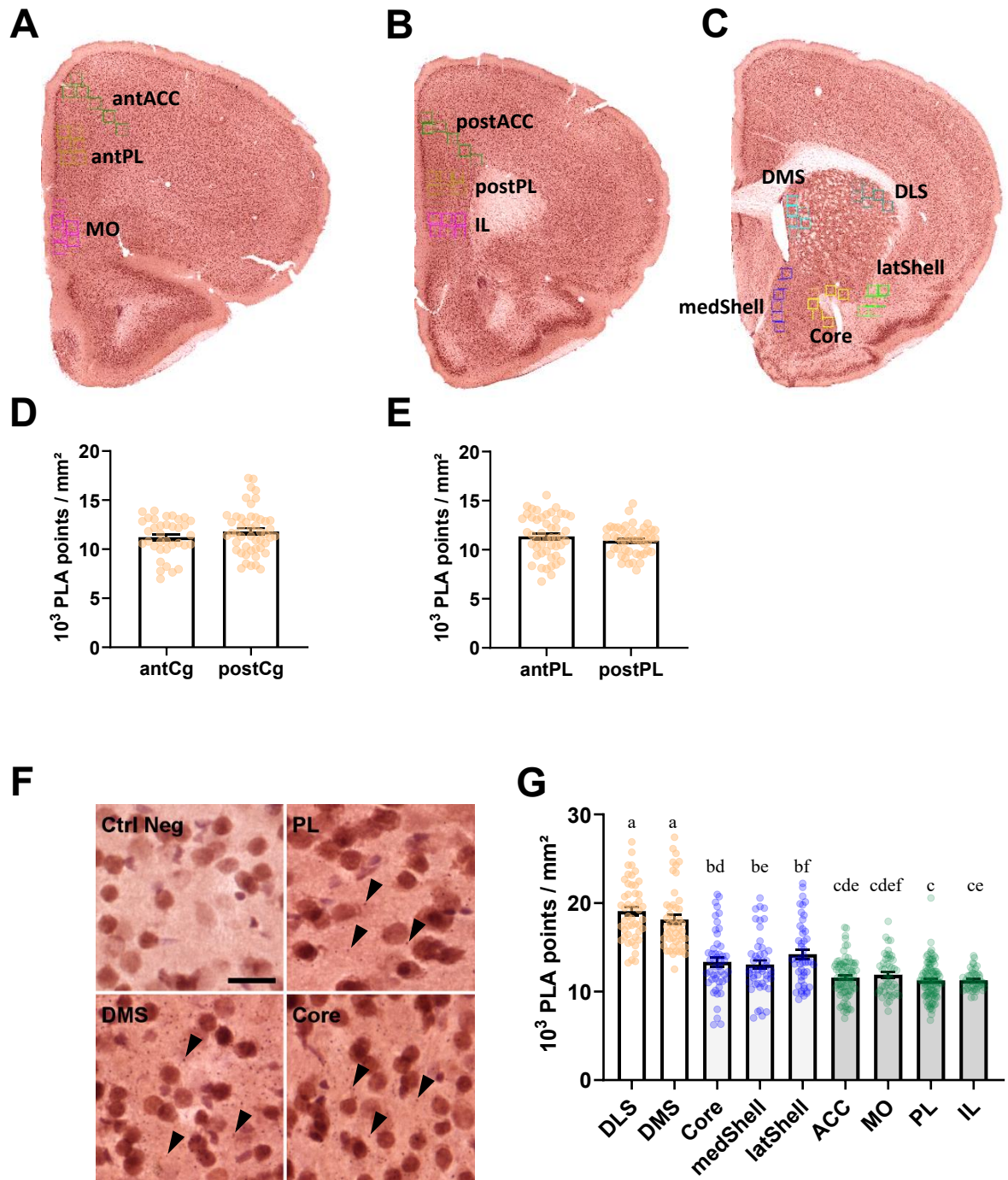
REFERENCES

- Anastasiades, P. G., Boada, C., & Carter, A. G. (2019). Cell-Type-Specific D1 Dopamine Receptor Modulation of Projection Neurons and Interneurons in the Prefrontal Cortex. *Cerebral Cortex (New York, N.Y.: 1991)*, 29(7), 3224-3242. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhy299>
- André, V. M., Cepeda, C., Cummings, D. M., Jocoy, E. L., Fisher, Y. E., William Yang, X., & Levine, M. S. (2010). Dopamine modulation of excitatory currents in the striatum is dictated by the expression of D1 or D2 receptors and modified by endocannabinoids. *The European Journal of Neuroscience*, 31(1), 14-28. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2009.07047.x>
- Andrianarivelo, A., Saint-Jour, E., Pousinha, P., Fernandez, S. P., Petitbon, A., De Smedt-Peyrusse, V., Heck, N., Ortiz, V., Allichon, M.-C., Kappès, V., Betuing, S., Walle, R., Zhu, Y., Joséphine, C., Bemelmans, A.-P., Turecki, G., Mechawar, N., Javitch, J. A., Caboche, J., ... Vanhoutte, P. (2021). Disrupting D1-NMDA or D2-NMDA receptor heteromerization prevents cocaine's rewarding effects but preserves natural reward processing. *Science Advances*, 7(43), eabg5970. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abg5970>
- Andrianarivelo, A., Saint-Jour, E., Walle, R., Trifilieff, P., & Vanhoutte, P. (2019). Modulation and functions of dopamine receptor heteromers in drugs of abuse-induced adaptations. *Neuropharmacology*, 152, 42-50. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2018.12.003>
- Baldwin, A. E., Sadeghian, K., & Kelley, A. E. (2002). Appetitive instrumental learning requires coincident activation of NMDA and dopamine D1 receptors within the medial prefrontal cortex. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 22(3), 1063-1071. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-03-01063.2002>
- Balleine, B. W., & Dickinson, A. (1998). Goal-directed instrumental action : Contingency and incentive learning and their cortical substrates. *Neuropharmacology*, 37(4-5), 407-419. [https://doi.org/10.1016/s0028-3908\(98\)00033-1](https://doi.org/10.1016/s0028-3908(98)00033-1)
- Cahill, E., Pascoli, V., Trifilieff, P., Savoldi, D., Kappès, V., Lüscher, C., Caboche, J., & Vanhoutte, P. (2014). D1R/GluN1 complexes in the striatum integrate dopamine and glutamate signalling to control synaptic plasticity and cocaine-induced responses. *Molecular Psychiatry*, 19(12), 1295-1304. <https://doi.org/10.1038/mp.2014.73>
- Cahill, E., Salery, M., Vanhoutte, P., & Caboche, J. (2014). Convergence of dopamine and glutamate signaling onto striatal ERK activation in response to drugs of abuse. *Frontiers in Pharmacology*, 4, 172. <https://doi.org/10.3389/fphar.2013.00172>
- Cerpa, J.-C., Coutureau, E., & Parkes, S. L. (2021). Dopamine and noradrenaline modulation of goal-directed behavior in orbital and medial prefrontal cortex : Toward a division of labor? *Behavioral Neuroscience*, 135(2), 138-153. <https://doi.org/10.1037/bne0000426>
- Corbit, L. H., & Balleine, B. W. (2003). The role of prelimbic cortex in instrumental conditioning. *Behavioural Brain Research*, 146(1-2), 145-157. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2003.09.023>
- Corbit, L. H., Muir, J. L., & Balleine, B. W. (2001). The role of the nucleus accumbens in instrumental conditioning : Evidence of a functional dissociation between accumbens core and shell. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 21(9), 3251-3260. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.21-09-03251.2001>
- Dalton, G. L., Phillips, A. G., & Floresco, S. B. (2014). Preferential involvement by nucleus accumbens shell in mediating probabilistic learning and reversal shifts. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 34(13), 4618-4626. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5058-13.2014>
- Etkin, A., Gyurak, A., & O'Hara, R. (2013). A neurobiological approach to the cognitive deficits of psychiatric disorders. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 15(4), 419-429. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2013.15.4/aetkin>
- Euston, D. R., Gruber, A. J., & McNaughton, B. L. (2012). The Role of Medial Prefrontal Cortex in Memory and Decision Making. *Neuron*, 76(6), 1057-1070. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.12.002>
- Fiorentini, C., Gardoni, F., Spano, P., Di Luca, M., & Missale, C. (2003). Regulation of dopamine D1 receptor trafficking and desensitization by oligomerization with glutamate N-methyl-D-aspartate receptors. *The Journal of Biological Chemistry*, 278(22), 20196-20202. <https://doi.org/10.1074/jbc.M213140200>
- Franklin, K., & Paxinos, G. (2001). *The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates* : Academic Press.
- Halbout, B., Marshall, A. T., Azimi, A., Liljeholm, M., Mahler, S. V., Wassum, K. M., & Ostlund, S. B. (2019). Mesolimbic dopamine projections mediate cue-motivated reward seeking but not reward retrieval in rats. *eLife*, 8, e43551. <https://doi.org/10.7554/eLife.43551>

- Haluk, D. M., & Floresco, S. B. (2009). Ventral striatal dopamine modulation of different forms of behavioral flexibility. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 34(8), 2041-2052. <https://doi.org/10.1038/npp.2009.21>
- Killcross, S., & Coutureau, E. (2003). Coordination of actions and habits in the medial prefrontal cortex of rats. *Cerebral Cortex (New York, N.Y.: 1991)*, 13(4), 400-408. <https://doi.org/10.1093/cercor/13.4.400>
- Kruse, M. S., Prémont, J., Krebs, M.-O., & Jay, T. M. (2009). Interaction of dopamine D1 with NMDA NR1 receptors in rat prefrontal cortex. *European Neuropsychopharmacology: The Journal of the European College of Neuropsychopharmacology*, 19(4), 296-304. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2008.12.006>
- Ladepêche, L., Dupuis, J. P., Bouchet, D., Doudnikoff, E., Yang, L., Campagne, Y., Bézard, E., Hossy, E., & Groc, L. (2013). Single-molecule imaging of the functional crosstalk between surface NMDA and dopamine D1 receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(44), 18005-18010. <https://doi.org/10.1073/pnas.1310145110>
- Lee, F. J. S., Xue, S., Pei, L., Vukusic, B., Chéry, N., Wang, Y., Wang, Y. T., Niznik, H. B., Yu, X., & Liu, F. (2002). Dual regulation of NMDA receptor functions by direct protein-protein interactions with the dopamine D1 receptor. *Cell*, 111(2), 219-230. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(02\)00962-5](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(02)00962-5)
- Liu, X.-Y., Chu, X.-P., Mao, L.-M., Wang, M., Lan, H.-X., Li, M.-H., Zhang, G.-C., Parelkar, N. K., Fibuch, E. E., Haines, M., Neve, K. A., Liu, F., Xiong, Z.-G., & Wang, J. Q. (2006). Modulation of D2R-NR2B interactions in response to cocaine. *Neuron*, 52(5), 897-909. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2006.10.011>
- Macpherson, T., Kim, J. Y., & Hikida, T. (2022). Nucleus Accumbens Core Dopamine D2 Receptor-Expressing Neurons Control Reversal Learning but Not Set-Shifting in Behavioral Flexibility in Male Mice. *Frontiers in Neuroscience*, 16, 885380. <https://doi.org/10.3389/fnins.2022.885380>
- Mor, D., Becchi, S., Bowring, J., Tsoukalas, M., & Balleine, B. W. (2022). CRF-receptor1 modulation of the dopamine projection to prelimbic cortex facilitates cognitive flexibility after acute and chronic stress. *Neurobiology of Stress*, 16, 100424. <https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2021.100424>
- Murphy, F. C., Rubinsztein, J. S., Michael, A., Rogers, R. D., Robbins, T. W., Paykel, E. S., & Sahakian, B. J. (2001). Decision-making cognition in mania and depression. *Psychological Medicine*, 31(4), 679-693. <https://doi.org/10.1017/s0033291701003804>
- Naneix, F., Marchand, A. R., Di Scala, G., Pape, J.-R., & Coutureau, E. (2009). A role for medial prefrontal dopaminergic innervation in instrumental conditioning. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 29(20), 6599-6606. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1234-09.2009>
- Naneix, F., Marchand, A. R., Pichon, A., Pape, J.-R., & Coutureau, E. (2013). Adolescent stimulation of D2 receptors alters the maturation of dopamine-dependent goal-directed behavior. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 38(8), 1566-1574. <https://doi.org/10.1038/npp.2013.55>
- Noël, X., Brevers, D., & Bechara, A. (2013). A neurocognitive approach to understanding the neurobiology of addiction. *Current Opinion in Neurobiology*, 23(4), 632-638. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2013.01.018>
- Ostlund, S. B., & Balleine, B. W. (2005). Lesions of medial prefrontal cortex disrupt the acquisition but not the expression of goal-directed learning. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 25(34), 7763-7770. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1921-05.2005>
- Ott, T., Jacob, S. N., & Nieder, A. (2014). Dopamine receptors differentially enhance rule coding in primate prefrontal cortex neurons. *Neuron*, 84(6), 1317-1328. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.11.012>
- Parkes, S. L., Bradfield, L. A., & Balleine, B. W. (2015). Interaction of insular cortex and ventral striatum mediates the effect of incentive memory on choice between goal-directed actions. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 35(16), 6464-6471. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4153-14.2015>
- Pei, L., Lee, F. J. S., Moszczynska, A., Vukusic, B., & Liu, F. (2004). Regulation of dopamine D1 receptor function by physical interaction with the NMDA receptors. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 24(5), 1149-1158. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3922-03.2004>
- Puig, M. V., Antzoulatos, E. G., & Miller, E. K. (2014). Prefrontal dopamine in associative learning and memory. *Neuroscience*, 282, 217-229. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2014.09.026>

- Puig, M. V., & Miller, E. K. (2012). The Role of Prefrontal Dopamine D1 Receptors in the Neural Mechanisms of Associative Learning. *Neuron*, 74(5), 10.1016/j.neuron.2012.04.018. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.04.018>
- Puig, M. V., & Miller, E. K. (2015). Neural Substrates of Dopamine D2 Receptor Modulated Executive Functions in the Monkey Prefrontal Cortex. *Cerebral Cortex (New York, N.Y.: 1991)*, 25(9), 2980-2987. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhu096>
- Radke, A. K., Kocharian, A., Covey, D. P., Lovinger, D. M., Cheer, J. F., Mateo, Y., & Holmes, A. (2019). Contributions of nucleus accumbens dopamine to cognitive flexibility. *The European Journal of Neuroscience*, 50(3), 2023-2035. <https://doi.org/10.1111/ejn.14152>
- Sala-Bayo, J., Fiddian, L., Nilsson, S. R. O., Hervig, M. E., McKenzie, C., Mareschi, A., Boulos, M., Zhukovsky, P., Nicholson, J., Dalley, J. W., Alsiö, J., & Robbins, T. W. (2020). Dorsal and ventral striatal dopamine D1 and D2 receptors differentially modulate distinct phases of serial visual reversal learning. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 45(5), 736-744. <https://doi.org/10.1038/s41386-020-0612-4>
- Salery, M., Trifilieff, P., Caboche, J., & Vanhoutte, P. (2020). From Signaling Molecules to Circuits and Behaviors : Cell-Type-Specific Adaptations to Psychostimulant Exposure in the Striatum. *Biological Psychiatry*, 87(11), 944-953. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2019.11.001>
- Smith-Roe, S. L., & Kelley, A. E. (2000). Coincident activation of NMDA and dopamine D1 receptors within the nucleus accumbens core is required for appetitive instrumental learning. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 20(20), 7737-7742. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.20-20-07737.2000>
- Swanson, A. M., DePoy, L. M., & Gourley, S. L. (2017). Inhibiting Rho kinase promotes goal-directed decision making and blocks habitual responding for cocaine. *Nature Communications*, 8(1), 1861. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-01915-4>
- Tran-Tu-Yen, D. A. S., Marchand, A. R., Pape, J.-R., Di Scala, G., & Coutureau, E. (2009). Transient role of the rat prelimbic cortex in goal-directed behaviour. *The European Journal of Neuroscience*, 30(3), 464-471. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2009.06834.x>
- van der Merwe, R. K., Nadel, J. A., Copes-Finke, D., Pawelko, S., Scott, J. S., Ghanem, M., Fox, M., Morehouse, C., McLaughlin, R., Maddox, C., Albert-Lyons, R., Malaki, G., Groce, V., Turocy, A., Aggadi, N., Jin, X., & Howard, C. D. (2023). Characterization of striatal dopamine projections across striatal subregions in behavioral flexibility. *The European Journal of Neuroscience*. <https://doi.org/10.1111/ejn.15910>
- Verharen, J. P. H., de Jong, J. W., Roelofs, T. J. M., Huffels, C. F. M., van Zessen, R., Luijendijk, M. C. M., Hamelink, R., Willuhn, I., den Ouden, H. E. M., van der Plasse, G., Adan, R. A. H., & Vanderschuren, L. J. M. J. (2018). A neuronal mechanism underlying decision-making deficits during hyperdopaminergic states. *Nature Communications*, 9(1), 731. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-03087-1>
- Volkow, N. D., & Morales, M. (2015). The Brain on Drugs : From Reward to Addiction. *Cell*, 162(4), 712-725. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.07.046>
- Whitton, A. E., Treadway, M. T., & Pizzagalli, D. A. (2015). Reward processing dysfunction in major depression, bipolar disorder and schizophrenia. *Current Opinion in Psychiatry*, 28(1), 7-12. <https://doi.org/10.1097/YCO.0000000000000122>
- Zalocusky, K. A., Ramakrishnan, C., Lerner, T. N., Davidson, T. J., Knutson, B., & Deisseroth, K. (2016). Nucleus accumbens D2R cells signal prior outcomes and control risky decision-making. *Nature*, 531(7596), 642-646. <https://doi.org/10.1038/nature17400>
- Zeeb, F. D., Robbins, T. W., & Winstanley, C. A. (2009). Serotonergic and dopaminergic modulation of gambling behavior as assessed using a novel rat gambling task. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 34(10), 2329-2343. <https://doi.org/10.1038/npp.2009.62>

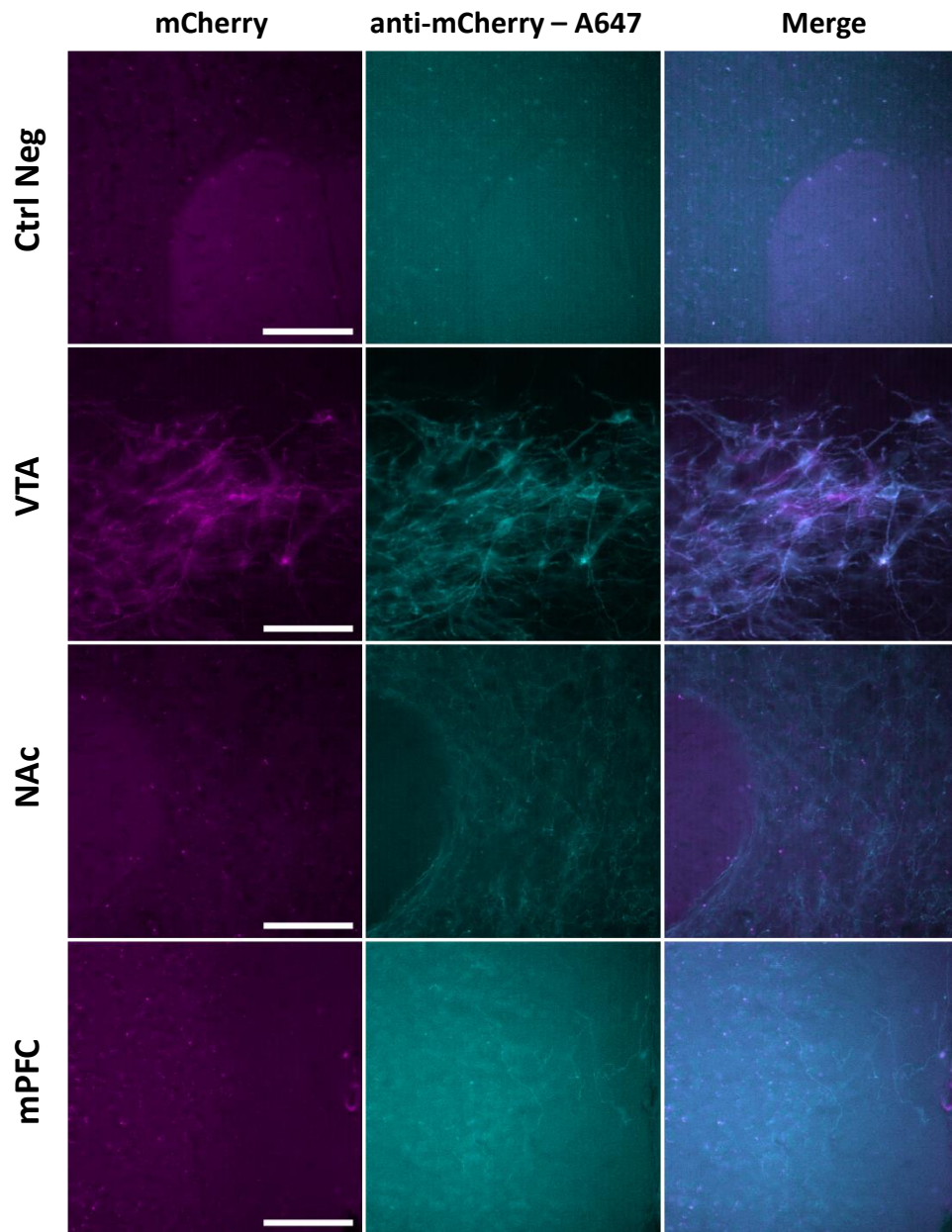
SUPPLEMENTARY FIGURES



Supplementary Figure 1 : Striatal and cortical expression of D1/NMDA heteromer

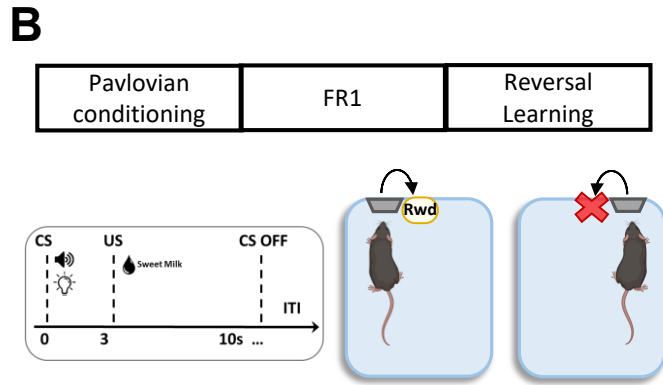
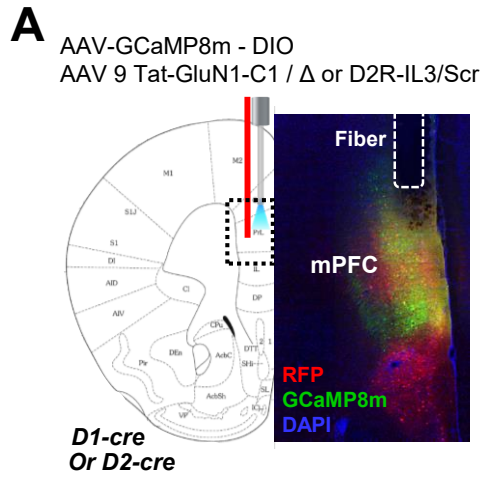
(A - C) Localization of regions of interest per structure in (A) anterior mPFC, (B) posterior mPFC and (C) striatum. (D - E) Quantification of PLA points (x10³) per mm² in (D) anterior Cg versus posterior Cg and (E) anterior PL versus posterior (PL). There was no difference between antACC and postACC groups (unpaired t-test, $t=1.242$, $df=82$, $P=0.2179$) and neither between antPL and postPL groups (unpaired t-test, $t=1.173$, $df=94$, $P=0.2438$) so each pair was pooled to form the ACC and PL groups, respectively. (F) PLA assay of D1/GluN1 expression in the prefrontal cortex and striatum. Top Left, negative control in the DMS ; Top Right, prelimbic cortex ; Bottom Left, dorsomedial striatum ; Bottom Right, nucleus

accumbens core. Black arrows indicate PLA points. Scale = 20 μ m. (G) Quantification of PLA points ($\times 10^3$) per mm^2 . Same letters (a-f) represent groups that do not significantly differ. The quantification of PLA points using a Kruskal-Wallis test resulted in significant difference in population distribution $H(8) = 218.4$, $P < 0.001$. Dunn's multiple comparison test revealed significant differences between dorsal and ventral parts of the striatum (DMS, DLS vs. ventral striatal subregions : $P < 0.001$), differences between dorsal striatum and PFC subregions ($P < 0.001$) as well as specific differences between distinct subregions of the ventral striatum and PFC (Core vs. PL : $P < 0.01$; Core vs. IL : $P < 0.05$; medShell vs. PL : $P < 0.05$; latShell vs. ACC : $P < 0.01$; latShell vs. PL : $P < 0.001$; latShell vs. IL : $P < 0.01$). There were no differences between subregions of the PFC. $n=4$ mice. Number of regions per structure: ACC, anterior cingulate cortex $n=84$; Core, nucleus accumbens core $n=48$; DLS, dorsolateral striatum $n=48$; DMS, dorsomedial striatum $n=48$; IL, infralimbic cortex $n=48$; latShell, nucleus accumbens lateral shell $n=48$; medShell, nucleus accumbens medial shell $n=48$; MO, medial orbitofrontal cortex $n=48$; PL, prelimbic cortex $n=97$.



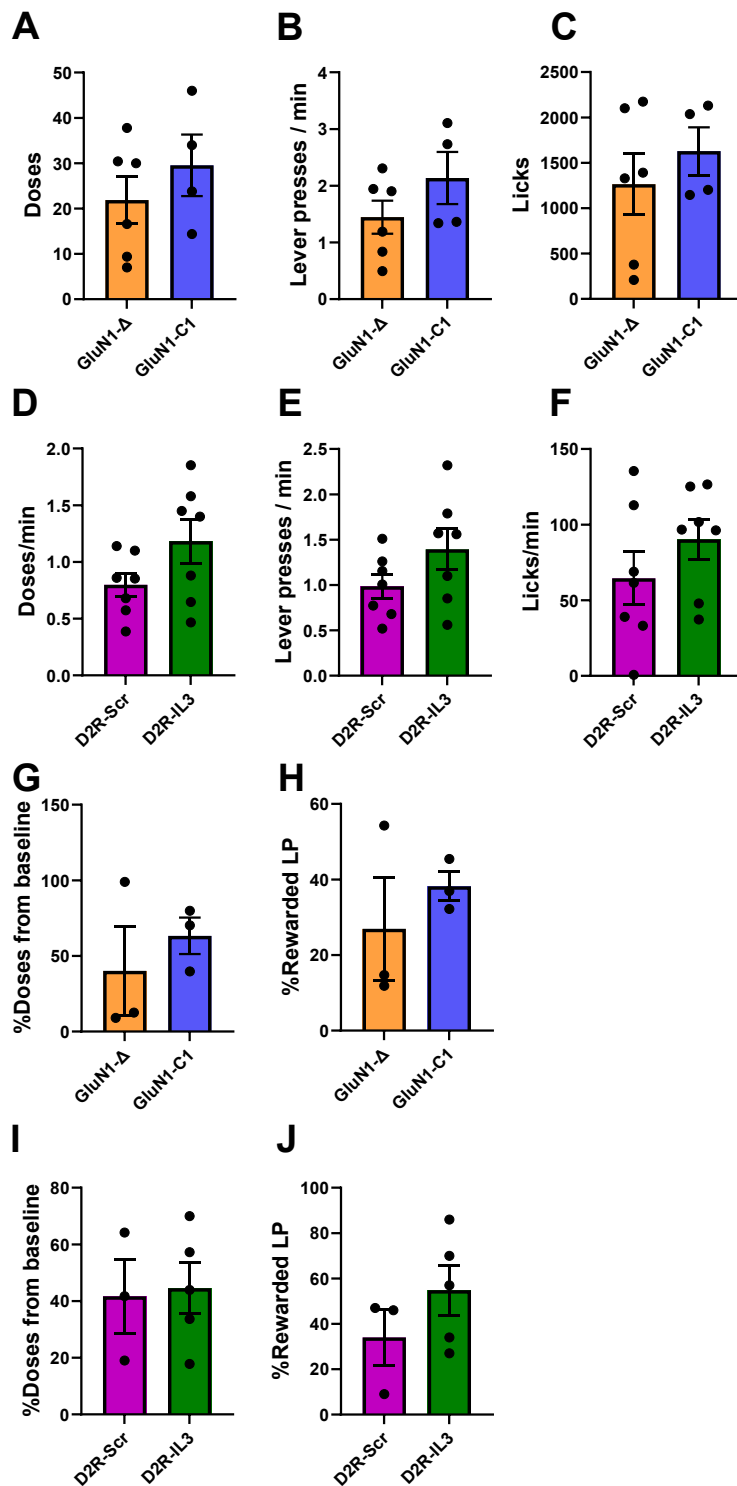
Supplementary Figure 2 : mPFC dopaminergic projections from the VTA through DIO-hM3D(Gq) injection in DAT-cre mice

Expression of (Left) mCherry, (Middle) anti-mCherry A647, (Right) Merge, in a negative control, in the VTA, in the NAc and in the mPFC of DAT-cre mice injected in the VTA with DIO-hM3D(Gq). Amplification of mCherry signal with anti-mCherry/A647.



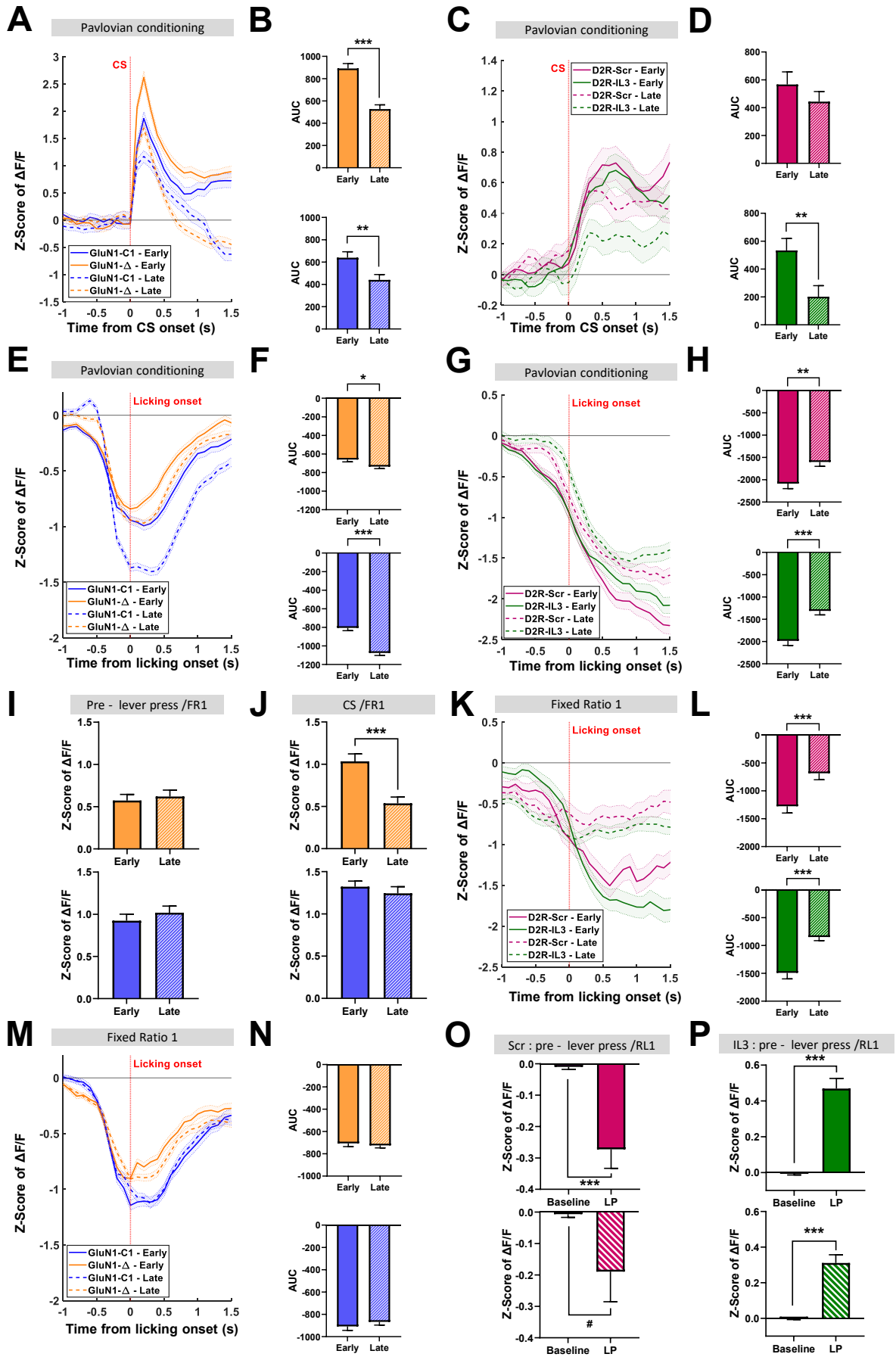
Supplementary Figure 3 : Experimental design used to assess the impact of D1/NMDA or D2/NMDA blockade on mPFC D1+ or D2+ dopaminoceptive neurons activity during pavlovian and operant protocols.

A, mPFC injection and expression of GCaMP8m-DIO together with interfering peptide for D1/NMDA or D2/NMDA or control peptide in D1-cre or D2-cre mice. B, Behavioral protocol.



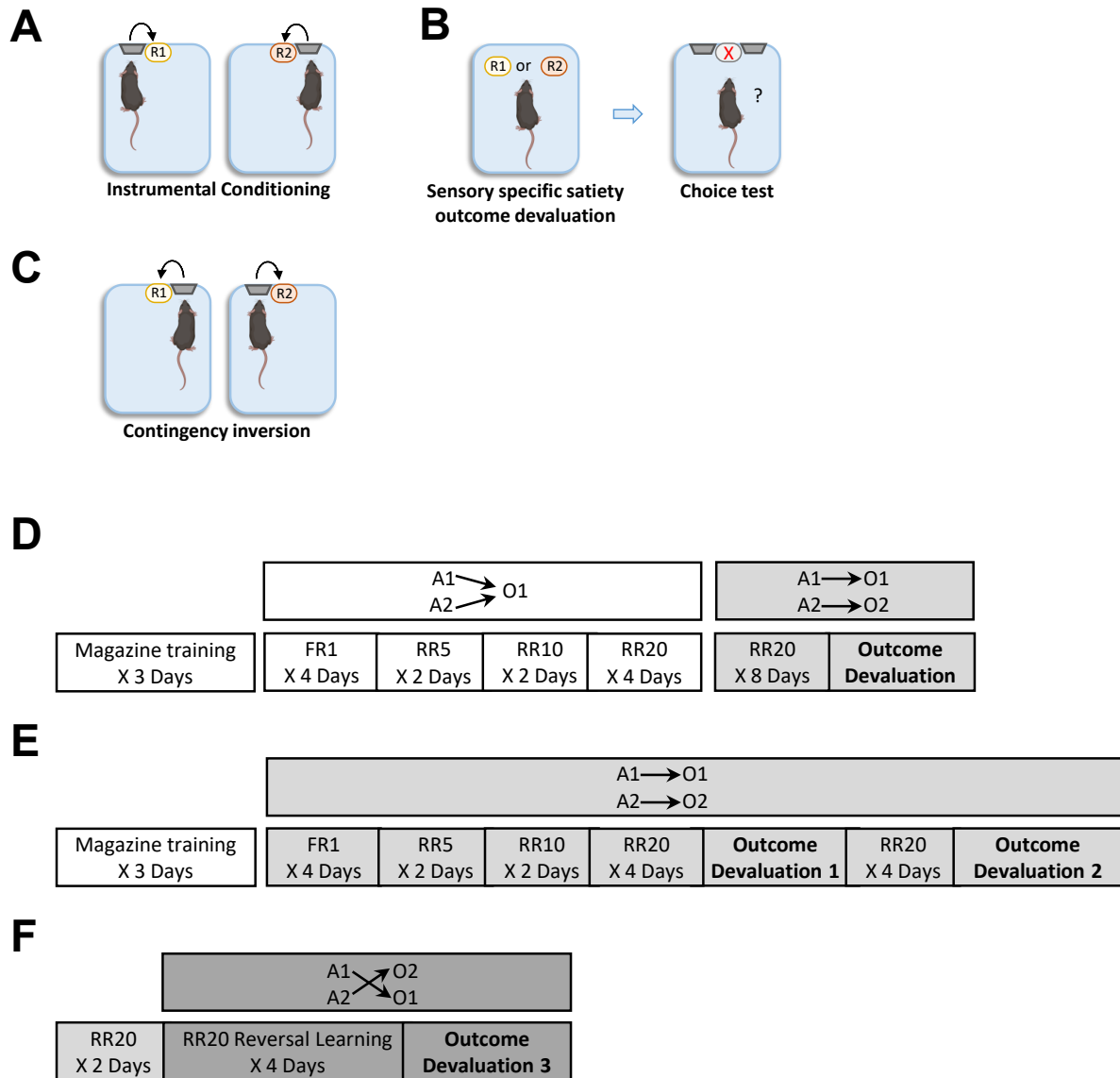
Supplementary Figure 4 : Operant conditioning analysis of fiber photometry experiments

D1/NMDA blockade during fixed ratio 1 : (A) Number of doses. (B) Lever pressing frequency on the reinforced lever. (C) Number of licks. D2/NMDA blockade during FR1 : (D) Doses frequency. (E) Lever pressing frequency on the reinforced lever. (F) Licking frequency. D1/NMDA blockade during reversal learning (RL1) : (G) Percent change in doses received from baseline. (H) Percent of lever presses on the reinforced lever. D2/NMDA blockade during RL1 : (I) Percent change in doses received from baseline. (J) Percent of lever presses on the reinforced lever.



Supplementary Figure 5 : D1/NMDA and D2/NMDA modulation of D1- and D2-dopaminergic neuron activity of the mPFC in operant and pavlovian conditioning tasks.

(A) D1 dopaminergic neurons - D1/NMDA : Z-score of $\Delta F/F$ during pavlovian conditioning around CS onset across training (nC1 = 4 mice ; n Δ = 6 mice ; number of trials : Δ -Early = 375 ; Δ -Late = 378 ; C1-Early = 248; C1-Late = 251) and (B) AUC (0s ; 0.5s) for Δ (top) and C1 (bottom) during early or late sessions (3 first ; 3 last). (C) D2 dopaminergic neurons - D2/NMDA : Z-score of $\Delta F/F$ during pavlovian conditioning around CS onset across training (nIL3 = 8 mice ; nScr = 8 mice ; number of trials : Scr-Early = 438; Scr-Late = 526; IL3-Early = 385; IL3-Late = 437) and (D) AUC (0s ; 1s) for Scr (top) and IL3 (bottom) during early or late sessions (3 first ; 3 last). (E) D1 dopaminergic neurons - D1/NMDA : Z-score of $\Delta F/F$ during pavlovian conditioning around licking onset across training (nC1 = 4 mice ; n Δ = 6 mice ; number of trials : Δ -Early = 3260; Δ -Late = 3702; C1-Early = 2428; C1-Late = 2637) and (F) AUC (-0.5s ; 0.5s) for Δ (top) and C1 (bottom) during early or late sessions (3 first ; 3 last). (G) D2 dopaminergic neurons - D2/NMDA : Z-score of $\Delta F/F$ during pavlovian conditioning around licking onset across training (nIL3 = 8 mice ; nScr = 8 mice ; number of trials : Scr-Early = 485; Scr-Late = 570; IL3-Early = 437; IL3-Late = 484) and (H) AUC (-1s ; 1s) for Scr (top) and IL3 (bottom) during early or late sessions (3 first ; 3 last). (I) D1 dopaminergic neurons - D1/NMDA : quantification of the activity before lever pressing during fixed ratio 1, z-score of $\Delta F/F$ at $x = -0.3s$, for Δ (top) and C1 (bottom) during early or late sessions and (J) quantification of the activity after lever pressing, during CS, z-score of $\Delta F/F$ at $x = 0.2s$, for Δ (top) and C1 (bottom) during early or late sessions. (K) D2 dopaminergic neurons - D2/NMDA : Z-score of $\Delta F/F$ during operant conditioning around licking onset across training (nIL3 = 7 mice ; nScr = 7 mice ; number of trials : Scr-Early = 175; Scr-Late = 214; IL3-Early = 231; IL3-Late = 397) and (L) AUC (0s ; 1s) for Scr (top) and IL3 (bottom) during early or late sessions (2 first ; 2 last). AUC, area under the curve ; LP, lever press ; CS, conditioned stimulus. Data represent mean \pm SEM. # $P < 0.07$, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$. (M) D1 dopaminergic neurons - D1/NMDA : Z-score of $\Delta F/F$ during operant conditioning around licking onset across training (nC1 = 4 mice ; n Δ = 6 mice ; number of trials : Δ -Early = 2004; Δ -Late = 2601; C1-Early = 1602; C1-Late = 1934) and (N) AUC (-0.5s ; 0.5s) for Δ (top) and C1 (bottom) during early or late sessions (2 first ; 2 last). (O) D2 dopaminergic neurons - D2/NMDA : quantification of the Scr group activity before lever pressing during reversal learning, z-score of $\Delta F/F$ between baseline (-3s ; -1s) and LP ($x=0$) for, top (RL) or bottom (UL) and (P) quantification of the IL3 group activity before lever pressing during RL1, z-score of $\Delta F/F$ between baseline (-3s ; -1s) and LP ($x=0$) for, top (RL) or bottom (UL).



Supplementary Figure 6 : Behavioral protocols used to assess flexible goal-directed responding.

Experimental paradigms and designs used to assess (D) specific action – outcome association, (A ; B; E) flexible responding following a devaluation of the reward, (C ; F) expression of adaptive response following an inversion in contingencies between action and outcomes (reversal learning).

DISCUSSION GÉNÉRALE

I. Synthèse des résultats

L'objectif général de ces travaux de thèse était d'étudier l'implication de la transmission dopaminergique mésocorticolimbique dans la mise en place de comportements flexibles lors d'actions dirigées vers un but, avec l'hypothèse que les hétéromères de récepteurs de la dopamine et du glutamate au sein du cortex préfrontal médian et du noyau accumbens joueraient un rôle central pour médier les effets de la dopamine. Pour cela, nous avons combiné des approches génétiques et comportementales sur un modèle animal, nous permettant ainsi d'évaluer le rôle précis des projections dopaminergiques du mésencéphale et celui des hétéromères D1/NMDA et D2/NMDA du mPFC et du NAc dans la flexibilité comportementale.

Dans un premier temps, nous avons cherché à évaluer l'implication des projections dopaminergiques mésocorticolimbiques dans les mécanismes de flexibilité comportementale (**Objectif 1**). Nous avons utilisé un modèle de souris DATcre, conjointement à une approche chémogénétique, au travers de l'expression de DREADD inhibitrices Gi dans la VTA, permettant d'inhiber spécifiquement les projections dopaminergiques au cours de tâches de conditionnement opérant. Afin de tester la capacité des animaux à se représenter les conséquences de leurs actions, nous avons utilisé un protocole de dévaluation de la récompense par satiété sensorielle spécifique. Nos résultats indiquent tout d'abord que l'inhibition des projections dopaminergiques au cours de l'association spécifique entre actions et récompenses n'altère pas la capacité des animaux à adapter leur réponse au cours du teste de choix en extinction. Ensuite, l'inhibition de ces projections au moment du test en extinction ne perturbe pas non plus la capacité des animaux à exprimer une dévaluation instrumentale à la suite d'une modification de valeur de la récompense. Enfin, l'inhibition de ces projections lors des sessions d'entraînement en inversion de contingence (*reversal learning*) altère les performances lors du test de choix. Ces résultats indiquent donc que la transmission dopaminergique mésocorticolimbique n'est pas impliquée dans la mise en place de l'association action – récompense, ni dans son expression flexible suite à une dévaluation de la récompense, mais joue un rôle majeur dans la capacité des animaux à adopter une réponse flexible suite à un changement de contingence entre action et récompense.

De façon à mieux caractériser les mécanismes cellulaires et moléculaires qui sous-tendent cet effet, nous avons ensuite ciblé les hétéromères formés par les récepteurs de la dopamine et du glutamate de type NMDA dans les deux principales structures modulées par ces projections mésocorticolimbiques, à savoir le cortex préfrontal médian ou le noyau accumbens (**Objectif 2**). Nous avons tout d'abord quantifié l'expression des hétéromères D1/NMDA dans les sous régions du mPFC et du striatum. Puis, par utilisation de peptide interférents exprimés localement au travers d'injections de vecteurs viraux, nous avons bloqué les interactions directes entre D1/NMDA ou D2/NMDA dans le mPFC ou dans le NAc de souris WT. En utilisant des protocoles comportementaux semblables, nous avons pu mettre en évidence que le blocage de ces hétéromères dans le mPFC comme dans le NAc altérait la capacité des animaux à répondre de manière flexible lors d'un test de dévaluation faisant suite à une inversion des contingences entre action et récompense, tout en préservant l'adaptation de leur réponse suivant un changement de valeur de la récompense. Ces résultats suggèrent donc le rôle central des hétéromères D1/NMDA et D2/NMDA au sein de ces deux structures dans la mise à jour des associations entre action et récompense.

Nous avons par la suite cherché à évaluer si a) le blocage simultané des hétéromères D1/NMDA et D2/NMDA du mPFC perturbait l'adaptation de la réponse suite à un changement de contingence, si b)

l'activation de la transmission dopaminergiques mésocorticolimbique au moment de cette inversion améliorerait les performances d'animaux contrôles au moment du test, et c) permettait par ailleurs de rétablir les performances des animaux dont les deux hétéromères sont bloqués. Nous avons donc bloqué les deux hétéromères dans le mPFC d'animaux DAT^{Cre} en association avec l'activation chémozénétique des projections dopaminergiques de la VTA au moment de l'inversion des contingences. L'altération des performances des animaux exprimant les deux peptides interférents au cours du test de choix en extinction confirme le rôle des hétéromères D1/NMDA et D2/NMDA du mPFC dans la mise à jour des associations entre action et récompense. Par ailleurs, la stimulation chémozénétique des projections dopaminergiques au moment du *reversal learning* chez les animaux dont les deux hétéromères sont bloqués n'a pas permis de rétablir l'expression de la dévaluation, suggérant la nécessité de ces interactions dans le mPFC pour la mise en place de cette adaptation comportementale. Enfin, l'activation de la transmission dopaminergique au moment du *reversal learning* chez des animaux contrôles pour les peptides interférents n'a pas significativement augmenté les performances au cours du test de choix en extinction, bien qu'une tendance soit observée.

Afin d'établir le corrélat neuronal des déficits comportementaux induits par le blocage des hétéromères, nous avons enregistré la dynamique calcique de population des neurones dopaminoceptifs du mPFC exprimant le récepteur D1 ou D2 par expression spécifique du senseur calcique GCaMP8m, couplée à de la photométrie de fibre chez des animaux se comportant et exprimant un des peptides interférents ou son contrôle (**Objectif 3**). Les principaux résultats concernent l'évolution de l'activité durant les sessions de *reversal learning* (RL1). Tandis que l'activité des neurones dopaminoceptifs D1 qui précède l'appui levier est plus élevée pour le levier renforcé que pour le levier non renforcé chez le groupe contrôle, aucune différence n'est constatée pour le groupe exprimant le peptide interférent bloquant D1/NMDA. A l'inverse, on n'observe pas de différence d'activité précédent l'appui levier entre le levier renforcé et non renforcé pour les neurones D2 du mPFC exprimant le peptide contrôle, tandis que l'activité des neurones D2 exprimant le peptide bloquant D2/NMDA est plus faible pour le levier non renforcé que pour le levier renforcé. On constate également une diminution de l'activité chez les contrôles durant cette période, contrairement à l'activité du groupe peptide interférent qui augmente avant l'appui levier.

Les principales conclusions de notre étude sont résumées dans la **Figure 32**.

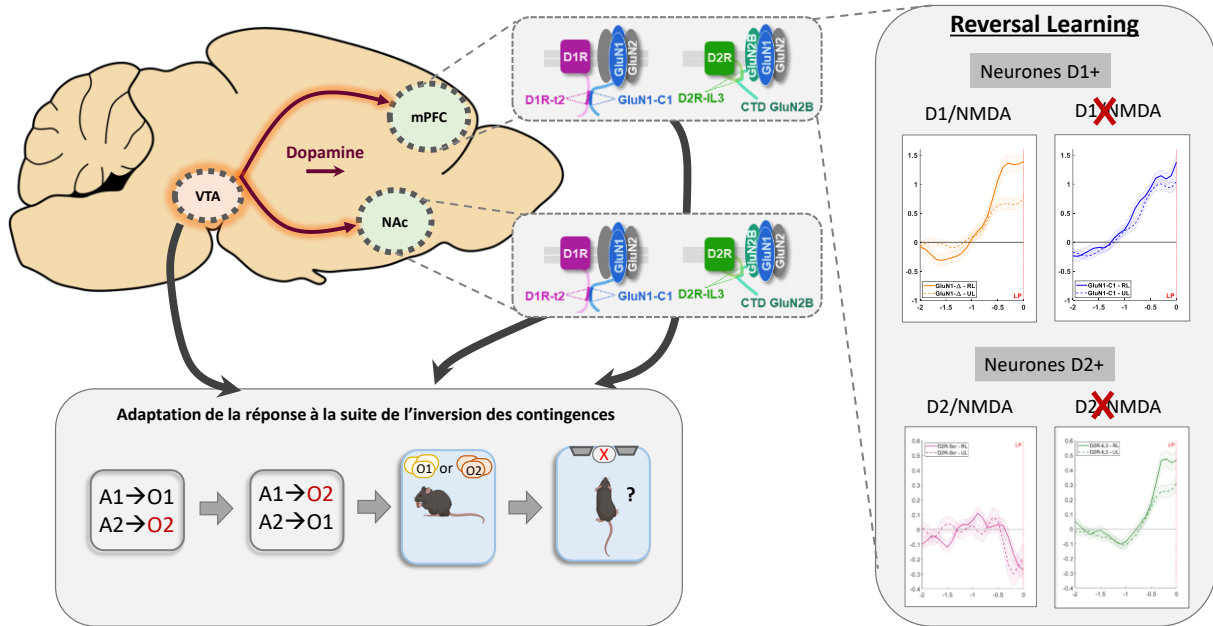


Figure 32 : Récapitulatif des résultats

La transmission dopaminergique mésocorticolimbique joue un rôle central dans la mise à jour des associations entre action et récompense et son effet est médié par l'action des hétéromères D1/NMDA et D2/NMDA du noyau accumbens et du cortex préfrontal médian. Dans cette structure, les hétéromères influencent fortement l'activité des neurones dopaminoceptifs D1+ et D2+ au moment de la réalisation de l'action dans une tâche de reversal learning.

II. Rôle de la transmission dopaminergique mésocorticolimbique dans la flexibilité comportementale

A. Une généralisation possible à plusieurs formes de modifications de l'association action – récompense ?

D'un point de vue comportemental, nos résultats indiquent une implication centrale de la transmission dopaminergique mésocorticolimbique - au travers des hétéromères de récepteurs D1/NMDA et D2/NMDA – dans la mise à jour des associations entre action et récompense (A – O) dans une tâche impliquant une inversion de ces contingences et testée au cours d'une procédure de dévaluation de la récompense par satiété sensorielle spécifique. Ces résultats posent notamment la question d'une altération partielle ou totale de ce mécanisme. Nous avons souhaité savoir si une période d'entraînement supplémentaire à l'inversion des associations à la suite du premier test permettrait de rétablir les performances chez les groupes exprimant les peptides interférents. Cependant, les résultats souvent mitigés pour ce test, y compris chez les groupes contrôles, ne nous ont pas permis de conclure sur ce point (résultats non montrés). En effet, ce test constituait souvent la 4ème ou 5ème procédure de dévaluation de la récompense, et les performances globales diminuaient drastiquement, nous conduisant à devoir exclure un plus grand nombre d'animaux de l'analyse. C'est ainsi une des raisons qui nous a conduit à adapter la tâche de *reversal learning* utilisée au cours des enregistrements de l'activité des neurones dopaminoceptifs du mPFC. En effet, l'utilisation d'un paradigme plus classique mis en œuvre dans plusieurs études (Dalton et al., 2016; Verharen et al., 2018) avec un levier renforcé et un levier non renforcé nous a permis d'observer l'activité de ces neurones au cours de chaque session d'entraînement, et non pas uniquement au cours d'un test de choix difficilement répétable dans le temps et ainsi assez peu approprié à des mesures d'imagerie in vivo qui nécessitent un grand nombre de répétitions. A la différence de certaines études, les animaux ont été entraînés sur plusieurs sessions mais il serait intéressant d'évaluer l'implication de ces hétéromères lors d'inversions en série - dès l'atteinte d'un critère - au cours d'une même session afin de déterminer si les hétéromères sont également impliqués dans ces mécanismes de flexibilité « online ». L'équipe de Vandershuren a notamment montré l'implication de la voie mésoaccumbens et non pas mésocorticale dans la mise en œuvre de ces processus (nombre d'inversions) (Verharen et al., 2018).

Nous pouvons par ailleurs nous demander si ces mécanismes sont généralisables à d'autres formes de flexibilité comportementale impliquant l'adaptation à une modification des contingences entre A et O, comme c'est le cas lors d'une dégradation de contingence, processus au cours duquel les associations $A1 \rightarrow O1/A2 \rightarrow O2$ ne changent pas mais où l'une des deux actions n'est plus prédictive de la récompense, ou bien lors de procédures de *reversal learning* similaires à celles utilisées lors de l'enregistrement de l'activité calcique des neurones dopaminoceptifs du mPFC à savoir levier renforcé versus levier non renforcé. Il serait donc nécessaire d'évaluer le rôle de cette transmission dopaminergique et des hétéromères D1/NMDA et D2/NMDA au cours de ces procédures. En l'occurrence, au cours des protocoles opérants utilisés lors des enregistrements d'activité calcique des neurones dopaminoceptifs du mPFC, nous n'avons pas observé de différence entre les groupes contrôle et peptide interférent concernant les performances comportementales lors de l'entraînement instrumental (FR1) ni lors de l'inversion des contingences (RL). Tout d'abord, étant donné le faible nombre d'animaux par groupe, il serait intéressant de tester ce protocole sur un plus grand nombre d'animaux. Par ailleurs, les animaux utilisés pour mesurer l'activité des neurones dopaminoceptifs D1 ou D2 du mPFC n'ont reçu qu'une injection unilatérale de vecteur viral exprimant le peptide interférent. Il serait donc utile de répliquer ces manipulations en ciblant cette fois les deux hémisphères simultanément comme c'est le cas lors de nos manipulations comportementales. Enfin, l'ambiguïté/incertitude de la réponse peut jouer un rôle majeur dans la mise en œuvre du comportement. Il a entre autre été montré que l'inactivation du mPFC entraînait une

perturbation des premières inversions dans une tâche de RL mais pas dans les inversions suivantes (De Bruin et al., 2000), et que l'inactivation du MO ou LO altérerait les performances dans une tâche de RL probabiliste (probabilité de récompense sur le levier renforcé = 80% ; 20% sur le levier non renforcé) mais pas dans une tâche de RL dans laquelle l'issue est certaine (probabilité de récompense sur le levier renforcé = 100% ; 0% sur le levier non renforcé) (Dalton et al., 2016). Ces résultats suggèrent donc l'implication de certaines sous-régions du PFC dans les premières étapes suivant un changement de contingence – lorsque l'issue n'est pas certaine pour l'animal étant donné le changement de règle – ou bien dans l'adaptation à une modification de contingence contenant une part d'incertitude de l'issue et non pas lorsqu'elle est certaine. Lors de la procédure de *reversal learning* utilisée pour établir l'implication des projections dopaminergiques et des hétéromères du mPFC et du NAc dans la flexibilité comportementale, bien que les contingences aient été inversées, les animaux sont entraînés de façon indépendante sur chacun des leviers (un seul levier disponible par session), et l'appui est ainsi systématiquement récompensé, bien que la récompense change lors de l'inversion. Les animaux se retrouvent donc confrontés à un choix uniquement lors du test en extinction, et l'absence de récompense délivrée favorise l'incertitude de la réponse. Bien que des différences d'activités aient été constatées au cours des sessions de FR1 et de RL1 lors de l'enregistrement de l'activité des neurones D1 ou D2 du mPFC, celles-ci n'aboutissent pas à des différences comportementales, et il serait donc intéressant de tester les animaux dans un paradigme permettant la répétition des inversions comme c'est le cas actuellement, mais en introduisant une composante « d'incertitude », par exemple au travers d'un *reversal learning* probabiliste, et de tester si les différences d'activité corrèlent alors avec les performances comportementales.

Nous avons également fait le choix d'utiliser une forme de récompense différente lors de l'enregistrement de l'activité des neurones D1 ou D2 du mPFC, à savoir du lait condensé sucré dilué, que lors des tests de comportements uniquement (pellets), de façon à pouvoir discerner précisément les périodes de consommation de la récompense pour les analyses d'activité calcique, nous ne pouvons donc pas exclure que cette modification de la récompense utilisée puisse être impliquée dans l'absence d'effet observé.

Au cours des manipulations des hétéromères D1/NMDA et D2/NMDA du mPFC et du NAc, les peptides interférents étaient exprimés de manière continue et ce, dès le début des protocoles comportementaux. Nos données évoquent un effet similaire à celui obtenu lors de l'inhibition des projections dopaminergiques au cours des sessions d'inversion des contingences. Nous ne pouvons toutefois pas exclure que ce blocage chronique de l'hétéromérisation altère un processus antérieur au *reversal learning*, qui impacterait ensuite le processus d'encodage de la nouvelle association. De façon à confirmer plus finement l'implication des hétéromères D1/NMDA et D2/NMDA dans la mise à jour des associations entre action et récompense, il serait donc pertinent d'effectuer le blocage des hétéromères uniquement pendant la phase d'entraînement au RL.

B. La dopamine du mésencéphale et la flexibilité comportementale

Dans un premier temps nous avons souhaité valider le modèle utilisé pour étudier l'implication de la composante dopaminergique dans la flexibilité comportementale. Des études rapportant en effet une faible expression de la DAT dans les projections mésocorticales (Lammel et al., 2008; S. R. Sesack et al., 1998), nous avons voulu nous assurer que la manipulation chémogénétique (par inhibition ou activation) des projections dopaminergiques issues de la VTA par utilisation de souris transgéniques DAT^{cre} ciblerait de façon effective le mPFC en plus du NAc, parmi les structures de projection. Pour cela, des souris DAT-cre positives ont été injectées dans la VTA avec un vecteur viral permettant l'expression de DREADD dépendant hm3D(Gq). Le signal mCherry a ensuite été amplifié par immunohistochimie avec un anticorps anti-mCherry/A647 et l'analyse nous indique que le signal mCherry seul est faiblement détecté dans le mPFC mais révélé par l'amplification du signal. Ces résultats nous indiquent donc qu'on retrouve bien des

projections dopaminergiques de la VTA dans le mPFC, validant l'utilisation du modèle de souris DATcre pour la manipulation de la transmission dopaminergique mésocorticale. Il reste à déterminer si cette approche permet de cibler la totalité des projections ou seulement une partie.

Nous avons tout d'abord montré que l'inhibition des projections dopaminergiques de la VTA lors de l'apprentissage de l'association spécifique entre action et récompense n'altérait pas les performances lors du test de choix durant la procédure de dévaluation de la récompense, suggérant que la dopamine mésocorticolimbique n'est pas impliquée dans la mise en place de l'association spécifique entre action et récompense. Peu de données sont disponibles sur le rôle de la dopamine issue de la VTA dans l'apprentissage de ces associations spécifiques. Nous pouvons toutefois noter que la dopamine de la voie nigrostriée semble jouer un rôle central dans l'acquisition d'une réponse instrumentale pour obtenir une récompense (S. Robinson et al., 2007), à la différence de la dopamine de la voie mésolimbique plus impliquée dans l'acquisition d'une association entre un stimulus conditionné et une récompense (Yin et al., 2008). Nos données d'inhibition générale des projections dopaminergiques de la VTA rejoignent donc les conclusions selon lesquelles la transmission dopaminergique mésolimbique n'est pas impliquée dans la mise en place de l'association entre action et récompense.

L'absence d'effet de l'inhibition des projections dopaminergiques au cours du test de choix en extinction lors de la procédure de dévaluation est en accord avec les données de la littérature concernant la modulation de l'activité dopaminergique dans ce type de tâche. En effet, l'équipe d'Ostlund a obtenu des résultats similaires chez des rats TH:Cre+ dont les projections depuis la VTA étaient inhibées de manière chémogénétique au moment du test dans une tâche de dévaluation comparable (Halbout et al., 2019). L'équipe de Vanderschuren a par ailleurs montré chez le rat que ni l'activation chémogénétique de la voie mésocorticale ni celle de la voie mésoaccumbens lors du test de choix en extinction n'altère la capacité des animaux à adapter leur réponse instrumentale à la suite d'une dévaluation par satiété générale (Verharen et al., 2018). Ces résultats indiquent donc que la dopamine mésocorticolimbique n'est pas impliquée dans l'adaptation de la réponse instrumentale faisant suite à un changement de valeur de la récompense.

Plusieurs études suggèrent que les neurones dopaminergiques de la VTA jouent un rôle clé dans la mise à jour des associations entre action et récompense, bien que des divergences sur les circuits impliqués émergent. L'activation chémogénétique de la voie mésolimbique chez le rat - et non celle des projections mésocorticales - altère les performances dans une tâche de RL (Verharen et al., 2018), et tandis que cette altération n'est pas retrouvée par l'activation optogénétique de ces mêmes projections mésolimbiques chez des souris DATcre, l'inhibition de ces projections perturbe les performances en RL (Radke, Kocharian, et al., 2019). Par ailleurs, une étude du groupe de Balleine chez le rat démontre que l'inactivation des projections entre la VTA et les neurones D1+ du PL contralatérales avant les sessions d'entraînement au RL altère les performances au cours du test de choix suivant la dévaluation d'une des récompenses (Mor et al., 2022). L'altération des performances que nous démontrons lors du test à la suite de l'inhibition des projections DA lors de l'entraînement au RL est donc en accord avec le rôle de la transmission dopaminergique mésolimbique et/ou mésocorticale décrit précédemment dans la mise à jour des associations entre action et récompense.

Bien que l'effet ne soit pas statistiquement significatif, nos résultats semblent montrer une tendance à l'amélioration des performances au cours du test de choix lorsque les projections dopaminergiques du mésencéphale sont activées de façon chémogénétique lors des sessions d'entraînement à l'inversion des contingences. Ces résultats contrastent notamment avec ceux de Verharen cités précédemment montrant qu'une hyperactivation de la voie dopaminergique mésolimbique altère les performances en RL (Verharen et al., 2018). On peut toutefois noter que cette hyperactivation ne concerne que la voie mésolimbique dans

leur étude et que le paradigme comportemental utilisé n'est pas le même. En effet à la différence de notre étude utilisant une inversion des associations entre A1-O1 et A2-O2, testée lors d'une procédure de dévaluation, leur étude utilise un paradigme de RL successifs entre levier renforcé et non renforcé au cours d'une même session. La dopamine pourrait donc être impliquée dans l'encodage « rapide » et/ou dans la récupération de ces associations « fluctuantes », nécessitant des niveaux spécifiques de dopamine, et l'hyperactivation de ces projections mésolimbiques pourrait ainsi perturber ce processus d'encodage/rappel dynamique de l'association en « bruyant » le signal nécessaire. La tendance relevée dans nos résultats va cependant dans le même sens que les résultats de van der Merwe, ayant montré que l'activation optogénétique des projections DA vers le core du NAc améliore les performances en RL dans une tâche d'autostimulation (van der Merwe et al., 2023), bien que la tâche et la récompense utilisées soient différentes. Dans un premier temps, l'augmentation du nombre d'animaux pour cette partie de notre étude pourrait permettre d'affiner l'analyse de ces résultats. De plus, l'étude précise de la dynamique de libération de dopamine – par exemple par utilisation du senseur de la dopamine encodé génétiquement dLight couplé à de la photométrie de fibre (Patriarchi et al., 2018) – dans le NAc et dans le mPFC au cours de phases distinctes de RL intra-session, inter-session ou lors de l'entraînement au RL indépendant pour chaque levier ainsi que lors du test de choix qui suit, permettrait de mieux comprendre le rôle de la dopamine dans les différentes formes de modification d'une contingence entre action et récompense. Verharen montre à ce propos que l'altération comportementale observée suite à l'hyperactivation de la voie mésoaccumbens semble être le fruit d'une interférence spécifique de l'apprentissage par feedback négatif guidé par le RPE (Verharen et al., 2018).

En résumé, toutes ces données suggèrent donc que la dopamine joue un rôle central dans la modulation fine des comportements flexibles, en permettant une mise à jour dynamique des associations entre action et récompense à plusieurs échelles temporelles (RL « online » versus RL sur plusieurs sessions).

C. Rôle des hétéromères du mPFC et du NAc dans la capacité d'adapter la réponse instrumentale

Pour déterminer l'implication des hétéromères D1/NMDA et D2/NMDA du mPFC et du NAc dans la flexibilité comportementale, nous avons bloqué l'interaction directe par expression de peptides interférents - au travers de l'injection de vecteurs viraux - développés en collaboration avec l'équipe de Peter Vanhoutte (Sorbonne Université). La validité de cette approche pour bloquer l'hétéromérisation D1/NMDA ou D2/NMDA sans perturber les fonctions intrinsèques des récepteurs a précédemment été confirmée dans le noyau accumbens (Andrianarivelo et al., 2021; Cahill, Pascoli, et al., 2014).

1. Expression cellulaire des hétéromères D1/NMDA et D2/NMDA

La stratégie virale utilisée dans notre étude pour bloquer l'hétéromérisation entre D1R ou D2R et NMDAR n'est pas spécifique d'une population neuronale particulière. Il a toutefois été montré par l'utilisation d'une stratégie identique que les hétéromères D1/NMDA et D2/NMDA du NAc étaient respectivement exprimés sur des D1- ou D2-MSNs (Andrianarivelo et al., 2021). Étant donné que les récepteurs D2 et NMDA sont également exprimés par les interneurons cholinergiques (Gallo, 2019; Landwehrmeyer et al., 1995) du NAc, et au vu de leur implication dans certaines formes de flexibilité comportementale (Aoki et al., 2015; Ragozzino et al., 2009), notamment au travers de l'action de D2R (Gallo et al., 2022, p. 202), déterminer si l'hétéromère D2/NMDA est exprimé sur cette population et son potentiel rôle dans la mise en place de comportements flexibles permettrait de mieux comprendre le mode d'action de ces hétéromères. Dans le cortex préfrontal, bien que dans des proportions variables selon les types de récepteurs, les couches et les sous-régions, D1R et D2R sont exprimés par les neurones pyramidaux et par les interneurons GABAergiques (Santana & Artigas, 2017). Bloquer spécifiquement l'hétéromérisation dans l'une ou l'autre

des populations permettrait d'avoir une vision plus fine du rôle de ces hétéromères dans les comportements étudiés. Cette manipulation pourrait être effectuée par l'élaboration d'une construction virale permettant l'expression du peptide interférent sous le contrôle du promoteur CaMKII (expression restreinte aux neurones pyramidaux) ou bien *Dlx* (expression restreinte aux interneurons GABAergiques).

Au-delà de leur expression sur les différentes populations, nous pouvons nous poser la question de leur expression au niveau neuronal. Dans le striatum, les hétéromères D1/NMDA et D2/NMDA ont été détectés au niveau de la synapse, dans la densité postsynaptique (PSD) de neurones striataux (Fiorentini et al., 2003; X.-Y. Liu et al., 2006). Cette interaction est cependant temporaire et peut être modulée par la diffusion latérale des D1R depuis les sites pérисynaptiques vers la membrane de la PSD par l'activation des NMDARs sur cultures de neurones striataux (Scott et al., 2002, 2006) et inversement, l'activation des récepteurs D1 facilite le trafic des sous-unités des récepteurs NMDA à la membrane postsynaptique (Dunah & Standaert, 2001). Par ailleurs, des données issues de cultures cellulaires évoquent un pré-assemblage de D1R et de GluN1 dans le réticulum endoplasmique et le recrutement de cet oligomère à la membrane par la sous unité GluN2B (Fiorentini et al., 2003).

Dans le PFC, les complexes ont été détectés par co-immunoprécipitation à la PSD pour D2/NMDA et dans la fraction membranaire pour D1/NMDA, mais la confirmation de ces résultats et de la localisation de l'interaction par d'autres études est toutefois nécessaire. D'autre part, les D1R et D2R sont principalement exprimés dans les portions extrasynaptiques des épines dendritiques et sur les dendrites également (Bordelon-Glausier et al., 2008; Smiley et al., 1994; Yao et al., 2008) et de la même manière que dans le striatum, cette localisation favorise l'interaction entre ces récepteurs dopaminergiques et les récepteurs NMDA, pouvant être modulée par l'action de D1R sur l'expression membranaire des NMDARs (Gao & Wolf, 2008).

Les hétéromères D1/NMDA et D2/NMDA sont également détectés dans les neurones de l'hippocampe (F. J. S. Lee et al., 2002; X.-Y. Liu et al., 2006; Pei et al., 2004), structure recevant également des projections dopaminergiques de la VTA. Les récepteurs D1 et NMDA y forment des clusters dynamiques en surface, proches des synapses glutamatergiques : suite à la libération de dopamine, ces interactions sont perturbées et favorisent la redistribution latérale des deux récepteurs, les D1R vers les sites extrasynaptique et les NMDARs vers la PSD (Ladepêche, Dupuis, et al., 2013). L'expression des complexes D1/NMDA et leur mode d'action semblent donc différer entre ceux exprimés dans le striatum et ceux exprimés dans l'hippocampe.

D'autre part, l'existence de NMDAR présynaptiques dans plusieurs structures telles que le cortex, l'hippocampe ou encore le striatum (Bouvier et al., 2015) permet d'envisager l'interaction avec le D2R présynaptique au sein de ces structures. Une étude de Lammel a cependant montré que les projections dopaminergiques mésocorticales n'exprimaient pas l'autorécepteur D2 (Lammel et al., 2008). Dans notre cas, cette hypothèse semble donc plus plausible pour le striatum, et particulièrement dans le noyau accumbens où il a été montré que l'activation des NMDARs présynaptiques contenant GluN2B dans les terminaisons dopaminergiques facilite la libération de dopamine par l'augmentation des niveaux de calcium dans le compartiment présynaptique (A. Salamone et al., 2014). Les NMDARs et les D2Rs pourraient donc théoriquement interagir pour réguler la libération de dopamine au sein du noyau accumbens, processus pouvant avoir de fortes implications comportementales. Les vecteurs viraux utilisés dans notre étude pour bloquer l'hétéromérisation n'étant toutefois pas rétrogrades, ces considérations ne sont pas à prendre en compte directement pour l'analyse de nos résultats.

Intéressons-nous maintenant à l'analyse des résultats comportementaux issus de la manipulation des hétéromères D1/NMDA et D2/NMDA dans le mPFC et dans le NAc, au vu de la littérature décrite pour

chacune de ces structures, en lien avec la transmission dopaminergique, et au regard des données disponibles concernant les implications comportementales de ces hétéromères.

2. Flexibilité comportementale et mPFC

Il semble établi que la sous-région prélimbique du mPFC est impliquée dans la mise en place initiale des associations entre actions et récompenses (Corbit & Balleine, 2003; Killcross & Coutureau, 2003; Ostlund & Balleine, 2005; Tran-Tu-Yen et al., 2009), et son implication a également été décrite dans certains processus de mise à jour de ces associations comme c'est le cas lors d'une dégradation de contingence (Balleine & Dickinson, 1998; Corbit & Balleine, 2003; A. M. Swanson et al., 2017). Bien que les peptides interférents bloquant D1/NMDA ou D2/NMDA soient exprimés majoritairement dans la portion prélimbique du mPFC dès le début du protocole expérimental, donc dans la phase d'encodage de l'association A – O mais également au moment du test de dévaluation, leur action ne perturbe pas la capacité des animaux à adapter leur réponse instrumentale suite à un changement de valeur de la récompense, indiquant un encodage et une expression intacts des associations initiales A1 – O1 et A2 – O2. Ces résultats vont ainsi dans le sens de l'absence d'implication de la dopamine dans le PL dans l'expression de la dévaluation mais suggèrent cependant que l'action du PL dans l'encodage initial des contingences A – O n'est pas médiée par les hétéromères D1/NMDA ou D2/NMDA. Enfin, l'altération des performances lors du test de choix en extinction suivant le *reversal learning* suggère que ces hétéromères jouent un rôle central au sein du PL dans la mise à jour des associations A – O et que l'action du PL dans la réponse flexible lors d'une dégradation de contingence comme décrit précédemment pourrait passer par l'action de ces hétéromères. Ces tâches n'étant toutefois pas similaires, il serait utile de tester l'implication de ces hétéromères au sein du PL dans une procédure de dégradation de contingence.

Bien que certains résultats semblent diverger, les données de la littérature indiquent que dans le mPFC et plus précisément dans le PL, la dopamine est impliquée dans la mise à jour des associations entre action et récompense. Une déplétion en DA du PL entraîne notamment une altération des performances lors du test suivant une dégradation de contingence, tout comme l'infusion locale d'un antagoniste des récepteurs D1 et D2 (Naneix et al., 2009), et l'activation des récepteurs D2/D3 ou bien dans une moindre mesure le blocage des récepteurs D1 dans le mPFC altère les performances dans une tâche de RL (Boulougouris et al., 2009; De Bruin et al., 2000). Le rôle du récepteur D1 dans le cortex préfrontal a principalement été démontré dans le cadre de la mémoire de travail (Seamans et al., 2001; Williams & Goldman-Rakic, 1995; Zahrt et al., 1997). Une étude chez le singe révèle que les récepteurs D1 du vlPFC sont impliqués dans la formation de nouvelles associations Stimulus – Réponse et moins dans la mise en œuvre d'associations déjà familières, l'application locale d'un antagoniste de D1R augmentant notamment la persistance dans la réponse incorrecte (Puig et al., 2014; Puig & Miller, 2012). Par ailleurs, l'inhibition locale des D1R du PL/IL chez le rat perturbe la mise en place d'une nouvelle stratégie dans une tâche de discrimination de la réponse ou du stimulus visuel dans un labyrinthe en croix, en augmentant la persistance à appliquer la stratégie initiale (Ragozzino, 2002). Des résultats comparables ont été mis en évidence pour le récepteur D2. Le blocage des D2Rs dans le vlPFC du singe altère également les performances lors de la mise en place d'une nouvelle association S-R (Puig et al., 2014; Puig & Miller, 2015), et le blocage de D2R dans le mPFC (PL) du rat perturbe les processus de changement de stratégie dans la même tâche que celle de Ragozzino et augmente les erreurs de persistance de la même manière que pour le blocage des D1R (Floresco et al., 2006). Bien que chez le singe, la sous-région étudiée ne soit pas identique à celle que nous avons ciblé, et qu'il s'agisse d'associations S – R et non pas A – O ou bien d'une tâche de discrimination spatiale, ces données et les nôtres vont dans le sens d'une implication des récepteurs D1 et D2 du PFC dans la flexibilité comportementale et particulièrement dans la mise en place d'une nouvelle stratégie.

Bien que l'OFC reçoive moins de dopamine que le mPFC, quelques études ont pu montrer un rôle de la dopamine au sein de cette structure dans certaines composantes des actions dirigées vers un but (Cerpa et al., 2021; Jenni et al., 2021). En considérant le rôle des régions latérales et ventrales de l'OFC dans la mise à jour rapide des associations entre action et récompense (Dalton et al., 2016; Verharen et al., 2020), ainsi que l'expression relativement homogène de D1/NMDA dans les sous régions corticales que nous avons démontrée, il serait intéressant de déterminer si cette capacité à mettre à jour les associations passe par le mécanisme d'hétéromérisation de D1/NMDA et/ou D2/NMDA en bloquant ces interactions au cours de protocoles de RL similaires à ceux que nous avons utilisés.

Au vu de l'ensemble de ces résultats, il semblerait donc que les effets de la dopamine dans le mPFC dorsal sur la mise à jour des associations entre action et récompense passent par un rôle clé des récepteurs D1 et D2, au travers de leur hétéromérisation avec les récepteurs NMDA.

3. Noyau accumbens et flexibilité comportementale

Peu d'études se sont penchées sur le rôle précis du NAc dans les processus de flexibilité comportementale similaires à ceux décrits dans cette thèse, et leur analyse indique que le core serait impliqué dans l'encodage de l'association A – O ou dans son expression flexible (Corbit et al., 2001) tandis que le shell participerait à la mise en place d'une réponse adaptée lors d'une procédure de RL avec issue certaine ou lors d'un RL probabiliste (Dalton et al., 2014). De la même manière que pour le mPFC, l'expression des peptides interférents ciblant D1/NMDA ou D2/NMDA a eu lieu dès le début des procédures de comportement. Au sein du NAc, nos résultats indiquent que ces hétéromères ne sont pas impliqués dans l'encodage ni dans l'expression flexible des associations A – O. Les zones d'injection des vecteurs viraux exprimant les peptides couvrant en moyenne à la fois le core et la partie médiane du shell, nous pouvons conclure que de façon similaire au PL, l'action du core pour médier l'encodage ou l'expression des associations A – O ne se fait pas au travers des hétéromères D1/NMDA ou D2/NMDA et que le rôle du shell dans le RL pourrait être médié par leur action. La tâche de RL utilisée par Dalton (levier renforcé versus non renforcé, avec issue probabiliste ou certaine) est cependant différente de celle que nous utilisons dans le cadre d'une dévaluation de la récompense, et un effet du NAc core ou shell n'a pas été retrouvé lors d'une procédure de dégradation de contingence (de Borchgrave et al., 2002), ne permettant donc pas de généraliser l'action du shell à toute forme de changement de contingence. Il pourrait ainsi être intéressant de tester l'implication de ces hétéromères dans le NAc, au cours d'une tâche de RL classique comprenant un levier renforcé versus levier non renforcé. Par ailleurs, cibler plus précisément chacune de ces sous régions (core ou shell) lors des injections virales permettrait d'affiner l'analyse des résultats au vu de la littérature. L'implication de chacune de ces sous-régions n'étant pas non plus connue dans la mise à jour des associations A – O dans une procédure similaire à celle que nous avons utilisée, il serait également intéressant de déterminer leur rôle au cours de ce processus, au travers de lésions ou bien d'inactivations pharmacologiques ou chémogénétiques, nous permettant par la suite de conclure quant au rôle des hétéromères D1/NMDA et D2/NMDA dans la mise en œuvre de cette forme de flexibilité comportementale.

Bien que dans le NAc, la dopamine semble jouer un rôle majeur dans la mise en place, l'expression et la mise à jour des associations stimulus – récompense (Macpherson et al., 2022; Sala-Bayo et al., 2020), certaines études soulignent également son rôle dans la mise à jour des associations actions – récompense. C'est notamment le cas de l'étude de van der Merwe, citée précédemment, ayant montré le rôle du core du NAc dans l'amélioration des performances en RL dans une tâche d'autostimulation (van der Merwe et al., 2023). Des études ont également mis en évidence la contribution des récepteurs D1 et D2 du NAc aux performances en RL, ainsi qu'à des composantes spécifiques de l'apprentissage au cours de la tâche permettant la mise en place d'une réponse adaptée (Haluk & Floresco, 2009; Verharen et al., 2019). Les résultats que nous avons obtenus pourraient ainsi suggérer que la mise en place d'une réponse adaptée

lors de tâches de *reversal learning* s'effectue au travers de l'action des hétéromères D1/NMDA et D2/NMDA.

Comme nous l'avons rappelé précédemment, étant donné le rôle décrit des projections dopaminergiques entre la SN et le DMS dans l'encodage d'une association générale action – récompense (par exemple dans un paradigme utilisant un levier renforcé versus non renforcé) (S. Robinson et al., 2007; Yin et al., 2008), et au vu de la quantité d'hétéromères que nous rapportons dans le striatum dorsal, il serait intéressant d'étudier l'effet de leur blocage dans le DMS lors de l'acquisition des associations A – O et lors de la procédure initiale de dévaluation de la récompense.

4. Hétéromères D1/NMDA et D2/NMDA et adaptations comportementales

La mise en évidence de l'implication des hétéromères D1/NMDA et D2/NMDA du mPFC et du NAc dans la mise à jour des associations entre action et récompense est une des originalités de ce travail. Comme cela a été présenté, la plupart des études ayant évalué le rôle de ces hétéromères au niveau comportemental l'ont fait dans le contexte de l'administration de drogues d'abus.

De façon intéressante, seules deux études à notre connaissance de l'équipe de Kelley ont évalué les effets comportementaux de l'inhibition simultanée des récepteurs D1 et NMDA du NAc ou du mPFC, sur l'apprentissage instrumental appétitif. Il a en effet été montré que la co-infusion locale dans le NAc ou le mPFC, d'antagonistes de D1R et de NMDAR à de faibles doses n'ayant pas d'effet comportemental lorsqu'administrés de façon individuelle, empêchait l'apprentissage de la réponse instrumentale (Baldwin et al., 2002; Smith-Roe & Kelley, 2000). Ces données suggèrent ainsi l'implication d'une interaction entre les deux récepteurs - qui pourrait potentiellement passer par un mécanisme d'hétéromérisation au vu de la littérature fournie à ce sujet dans le striatum – dans la médiation de cet apprentissage. Nos résultats indiquent cependant que l'hétéromère D1/NMDA n'est pas impliqué dans l'apprentissage de la réponse instrumentale étant donné que les peptides interférents sont exprimés dans le mPFC ou dans le NAc dès le début de l'entraînement. L'effet synergique dans ces deux études pourrait donc ne pas être le fruit d'une interaction directe mais potentiellement passer par l'activation de voies de signalisations des récepteurs de façon indépendante, qui seraient inhibées par l'application des deux antagonistes. Par ailleurs, bien que l'infusion de chacun des antagonistes à de faibles doses n'ait pas d'effet sur le comportement étudié, il est tout de même possible que l'inhibition simultanée des D1R et des NMDAR entraîne des altérations comportementales, ne passant pas uniquement par une interaction D1/NMDA. L'utilisation des peptides interférents dans notre étude a entre autre pour avantage de ne théoriquement pas altérer la signalisation constitutive des récepteurs formant l'hétéromère (vérifié dans le NAc comme indiqué précédemment).

Les études s'étant intéressées au rôle de ces hétéromères dans la mise en place d'adaptations comportementales liées à la prise de psychostimulants ont montré une implication des D1/NMDA et D2/NMDA du NAc dans la mise en place et/ou le maintien de la sensibilisation locomotrice induite par la cocaïne (Andrianarivelo et al., 2021; Cahill, Pascoli, et al., 2014; X.-Y. Liu et al., 2006), ainsi que le rôle de D2/NMDAR dans la persistance des effets comportementaux liés à la cocaïne (Andrianarivelo et al., 2021). De plus, l'analyse de tissus humains postmortem a montré une augmentation de la capacité des récepteurs D2 et NMDA à s'hétéromériser dans le NAc, malgré une réduction de la quantité de D2R, confortant le rôle de cet hétéromère dans la persistance des effets comportementaux induits par la cocaïne (Andrianarivelo et al., 2021). Ces données mettent donc en évidence des avantages potentiels de stratégies thérapeutiques ciblant ces hétéromères et particulièrement l'hétéromérisation des récepteurs D2/NMDA. Cette même étude a par ailleurs montré que le blocage des deux hétéromères n'altérait pas l'effet récompensant de la nourriture - à la différence de la cocaïne - dans une tâche de préférence de place conditionnée, supportant donc l'hypothèse d'une implication spécifique des hétéromères dans l'effet récompensant des

psychostimulants, qui permettrait ainsi d'envisager des traitements thérapeutiques ciblant les hétéromères sans pour autant altérer les processus de récompense alimentaire pour un individu. Nos données démontrant cependant un rôle majeur de D1/NMDA et D2/NMDA dans certaines formes de flexibilité comportementale lors d'actions dirigées vers un but, les recherches doivent être approfondies pour trouver des stratégies permettant de contrecarrer les réponses comportementales mises en place suite à la prise de psychostimulants, sans compromettre la capacité de l'individu à adapter ses actions à son environnement.

Enfin, la sensibilisation locomotrice à la cocaïne est associée à une augmentation transitoire de l'hétéromérisation des D1/NMA et prolongée des D2/NMDA dans le NAc. Nous pouvons ainsi nous demander si la nécessité des hétéromères pour médier certains comportements est forcément associée à une augmentation de leur nombre. Des données préliminaires présentées en **Figure 33** indiquent que l'apprentissage instrumental n'a pas d'effet sur la quantité d'hétéromères D1/NMDA exprimés dans les sous régions du striatum, en corrélation avec leur absence d'effet comportemental. Au vu de nos résultats comportementaux impliquant D1/NMDA et D2/NMDA dans le mPFC et dans le NAc, nous pourrions donc poser la question de l'impact du processus de *reversal learning* sur l'expression de ces hétéromères au sein de ces structures, en nous attendant à une potentielle augmentation de leur nombre. Cependant, les processus d'adaptation à un changement de contingence sont indispensables de façon régulière voire quotidienne dans la vie d'un individu, la quantité d'hétéromères ne cesse-t-elle alors d'augmenter ? Ou ces augmentations sont-elles plus transitoires en lien direct avec les situations rencontrées ? L'augmentation maintenue des D2/NMDA chez les sujets addicts constituerait alors un processus pathologique. Une première étape serait donc d'approfondir l'étude de la dynamique de formation des hétéromères D1/NMDA et D2/NMDA, de manière similaire à ce qui a été fait pour les neurones de l'hippocampe (Ladepeche, Dupuis, et al., 2013), par des techniques de FRAP (Fluorescence Recovery After Photobleaching) ou de SPT (Single Particle Tracking) sur des neurones en culture issus du mPFC ou du NAc, ou même sur tranches directement (Dupuis & Groc, 2020).

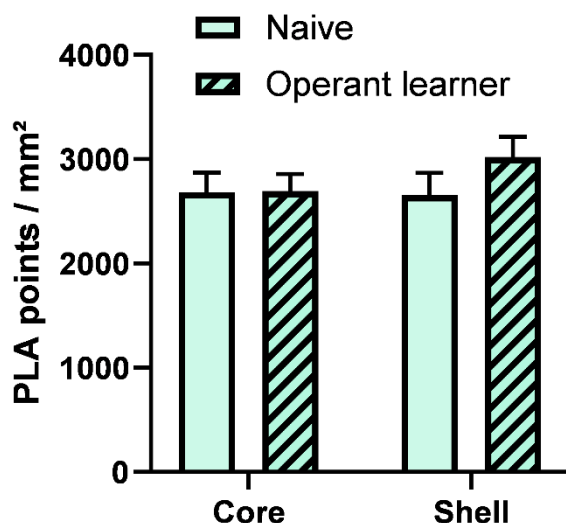


Figure 33 : Effet de l'apprentissage instrumental sur l'expression de l'hétéromère D1/NMDA dans le NAc

Quantification du signal PLA pour D1/NMDA chez des souris naïves (*littermates*) et des souris entraînées dans un protocole d'apprentissage instrumental. RM two-way ANOVA : Effet de la structure, $F(1, 190) = 0.6088$, $P=0.4362$; Effet de l'apprentissage, $F(1, 190) = 0.9745$, $P=0.3248$; Interaction, $F(1, 190) = 0.8514$, $P=0.3573$. $n=39-60$ régions/structure, $n_{\text{Naïf}} = 7$ souris ; $n_{\text{Opérant}} = 10$ souris.

III. Evolution de l'activité des neurones dopaminoceptifs du mPFC au cours d'un apprentissage pavlovien et opérant

A ce jour, il n'y a pas d'études à notre connaissance ayant évalué chez le rongeur l'activité spécifique des neurones dopaminoceptifs du cortex préfrontal à la fois dans des tâches de conditionnement pavlovien, opérant, et notamment dans un contexte de flexibilité comportementale. C'est pourquoi les travaux décrits ici présentent un intérêt particulier pour permettre une meilleure compréhension du fonctionnement des neurones dopaminoceptifs du mPFC dans diverses composantes des actions dirigées vers un but que sont la réponse au stimulus conditionné, la phase consommatoire, la phase instrumentale et son évolution après inversion des contingences.

En considérant la proportion majoritaire de neurones pyramidaux par rapport aux interneurons dans le mPFC, et bien que les récepteurs de la dopamine soient à la fois exprimés sur les neurones pyramidaux et sur les interneurons du PFC (Anastasiades et al., 2019), nous pouvons considérer que l'activité calcique globale enregistrée traduit principalement l'activité des neurones pyramidaux de la structure. Cependant, étant donné le rôle central des interneurons dans la régulation locale de l'activité du réseau de neurones pyramidaux (Tremblay et al., 2016), il serait intéressant de dissocier l'activité des neurones pyramidaux D1+ ou D2+ de celle des interneurons D1+ ou D2+ dans des tâches comportementales similaires, en utilisant par exemple les mêmes modèles de souris transgéniques D1cre ou D2cre, couplés à l'injection de vecteur viraux exprimant le senseur calcique GCaMP sous le promoteur CaMKII (expression restreinte aux neurones pyramidaux) ou bien Dlx (expression restreinte aux interneurons GABAergiques).

A. Rôle des neurones dopaminoceptifs du mPFC dans la phase consommatoire

Intéressons-nous tout d'abord à l'activité lors de la phase consommatoire. La consommation de la récompense est accompagnée d'une diminution de l'activité qui précède le premier lick, pour les neurones D1+ comme pour les neurones D2+ et qui est modulée de manière opposée entre neurones D1+ et D2+ en fonction des sessions. Pour les neurones D1+ on observe une diminution plus prononcée de l'activité au cours du temps en pavlovien et non en FR1, tandis que pour les neurones D2+, on relève une moindre diminution de l'activité au cours des sessions en pavlovien, et ensuite également dans les sessions de FR1, retournant quasiment au niveau de la baseline. Pour les neurones D1+ particulièrement, l'inhibition de leur activité semble donc corrélée avec le déclenchement de la consommation de la récompense à travers les sessions. A l'inverse de ces résultats, l'étude de l'équipe de Di Leone démontre que les neurones D1+ du mPFC sont activés (augmentation du signal Fos) suite à la consommation alimentaire et que la stimulation de ces neurones (principalement pyramidaux) augmente la quantité de nourriture consommée en libre accès ainsi que le nombre de réponses instrumentales effectuées pour obtenir une récompense tandis que leur inhibition réduit la consommation (Land et al., 2014). Des résultats semblables aux nôtres ont été trouvés dans le NAc shell, où une pause dans l'activité neuronale, notamment médiée par les D1-MSNs, est nécessaire pour permettre la consommation alimentaire (Krause et al., 2010; O'Connor et al., 2015). Notre équipe a par ailleurs montré que les D1- et D2-MSNs du NAc régulent de manière opposée la balance entre consommation alimentaire et dépenses énergétique médiée par l'exercice physique, et que la dérégulation de l'activité entre ces deux populations pourrait jouer un rôle central dans la survenue de troubles du comportement alimentaire (Walle et al., 2022).

Pour les neurones D2+, la perte progressive de leur inhibition au moment de la consommation de la récompense suggère que leur implication dans ce processus diminue au cours des sessions. Ces données rappellent l'évolution de la décharge des neurones dopaminergiques du mésencéphale au cours d'un conditionnement pavlovien mise en évidence par Schultz, au cours duquel la réponse est initialement

associée à la consommation de la récompense puis se décale sur le CS, à l'origine de la théorie du RPE (Schultz et al., 1997), à la différence qu'ici, la réponse au CS en pavlovien ne diffère pas entre les premières et les dernières sessions, et celle lors du FR1 diminue entre les premières et les dernières sessions. D'autre part, nous ne retrouvons pas un motif d'activation inverse pour les neurones D1+, auquel on pourrait s'attendre si l'activité de ces neurones dopaminoceptifs au moment de la consommation était uniquement lié à l'influx dopaminergique. Cette activité des neurones D2+ autour du début de la consommation pourrait donc en partie refléter la décharge des neurones dopaminergiques de la VTA dans le mPFC, mais l'activité des neurones D1+ et D2+ semble également être modulée par d'autres inputs durant cette période de la tâche. Bien qu'une diminution globale de l'activité au cours du temps ne puisse pas être exclue, cette hypothèse seule ne semble pas expliquer les variations d'activités observées étant donné que l'amplitude de réponse autour de l'appui levier en FR1 est supérieure à celle en pavlovien, et que la différence d'amplitude mesurée par l'AUC autour du lick en FR1 n'est pas retrouvée autour de l'appui levier au cours des mêmes sessions.

B. Activité des neurones dopaminoceptifs corticaux au cours de tâches pavloviennes et instrumentales

Nos résultats indiquent que les neurones D1+ et D2+ du mPFC répondent positivement au stimulus conditionné (CS) comme le montre l'augmentation d'activité qui suit son déclenchement. On observe une diminution de l'activité au cours des sessions pour les neurones D1+ et non pour les D2+. Chez le singe, l'enregistrement *in vivo* de l'activité neuronale dans le vlPFC révèle une réactivité à la présentation du stimulus. Par ailleurs, l'implication de ces neurones dans la formation de nouvelles associations S – R, est accompagnée par une réduction plus importante de leur activité au moment du stimulus, induite par le blocage des D1R ou des D2R, lors des nouvelles associations que lors des associations familières (Puig et al., 2014; Puig & Miller, 2012, 2015). Bien que les sous-régions ne soient pas exactement les mêmes, ces résultats corrélés aux nôtres indiquent donc que la réponse des neurones du PFC au moment du stimulus est dépendante de l'activité des récepteurs D1 et D2, suggérant un rôle majeur de l'activité des neurones D1+ et D2+ dans la mise en œuvre de la flexibilité comportementale.

Lors de l'entraînement instrumental en FR1, la détection de l'appui sur le levier est précédée par un pic d'activité suivi d'une diminution pouvant correspondre aux phases d'anticipation puis de réalisation de l'action (sans que nous puissions discriminer plus finement le déroulé de ces phases). On retrouve un pic d'activité également au CS, à la suite directe de l'appui pour les neurones D1+ comme D2+. Entre les premières et dernières sessions d'entraînement, les deux populations suivent des motifs d'activité similaires juste après le CS, à savoir une moindre activation des neurones au cours des sessions. Une différence entre ces populations est cependant observée entre les premières et dernières sessions d'entraînement au cours de la phase précédant l'appui levier. Tandis que la fenêtre d'activité des neurones D1+ est plus restreinte dans les dernières sessions en comparaison aux premières, sans modification de l'amplitude de la réponse, l'activité globale des neurones D2+ augmente dans cette même période. La divergence majeure d'activité entre les neurones D1+ et D2+ réside toutefois dans l'activité au moment de l'appui levier lors des sessions de *reversal learning*. Nous avons souhaité comparer ici les réponses précédant les appuis sur le levier renforcé (RL, précédemment non renforcé) et sur le « nouveau » levier non renforcé (UL) de façon à déterminer si des motifs particuliers d'activité se dégagent et s'ils différaient entre neurones D1+ et D2+. Pour les neurones D1+ de manière globale (sur toutes les sessions), on constate une différence d'activité avant l'appui levier entre le RL et le UL, l'activité pour le levier renforcé étant supérieure à celle du non renforcé. Ces données suggèrent donc un rôle important joué par cette population dans la discrimination entre une action menant à une récompense ou non, par un encodage de la valeur de l'action préférée (conduisant à une récompense), et rejoignent les conclusions des études de

Puig et Miller et de Ott concernant le rôles des récepteurs D1 sur l'activité neuronale du PFC au cours de tâches de flexibilité comportementale par association pavlovienne ou instrumentale (Ott et al., 2014; Puig & Miller, 2012).

Pour les neurones D2+, un motif inverse est constaté, correspondant à une diminution d'activité dans la phase précédant l'appui levier, indiscriminée entre le RL et l'UL. Bien que l'amplitude de cette activité soit environ trois fois plus faible (en valeur absolue) que celle constatée pour les neurones D1+ pour le levier renforcé, nous avons cherché à savoir à quoi pouvait être due cette diminution d'activité. Nous avons alors comparé l'activité des neurones D2+ durant cette phase anticipatoire selon l'appui sur le RL ou sur l'UL au cours des premières et dernières sessions du *reversal learning*, ces résultats sont présentés en **Figure 34**, en incluant également l'activité des neurones D1+ et D2+ au cours de l'ensemble des sessions de *reversal learning*, issue des figures principales des résultats, de façon à faciliter la lecture. Les données ne révèlent pas de différence au cours des sessions pour le levier non renforcé, l'activité au moment de l'appui levier étant réduite dès les premières sessions (**Figure 34 D ; H**). Cependant pour le levier devenu renforcé, on constate une diminution d'activité suivie d'une augmentation au moment de l'appui dans les premières sessions, puis un pattern inverse consistant en une augmentation d'activité précédant l'appui suivie d'une réduction du signal (**Figure 34 C ; G**), semblable au motif d'activité observé avant l'appui levier en FR1 pour les neurones D2+ et D1+. Pour les neurones D2+, ces données nous amènent à conclure qu'un décalage de l'activité s'opère depuis la réalisation de l'action vers la période d'anticipation, lors de la formation d'une nouvelle association au cours des sessions de *reversal learning*. Ces dernières données ne prenant en compte que les 2 premières et dernières sessions de *reversal learning*, il est possible que le moyennage global des sessions, présenté en figure principale et rappelé ici (**Figure 34 B ; F**), ait conduit à une perte d'information au moment de l'anticipation de l'appui et à la conservation de l'inhibition du signal au moment de l'appui.

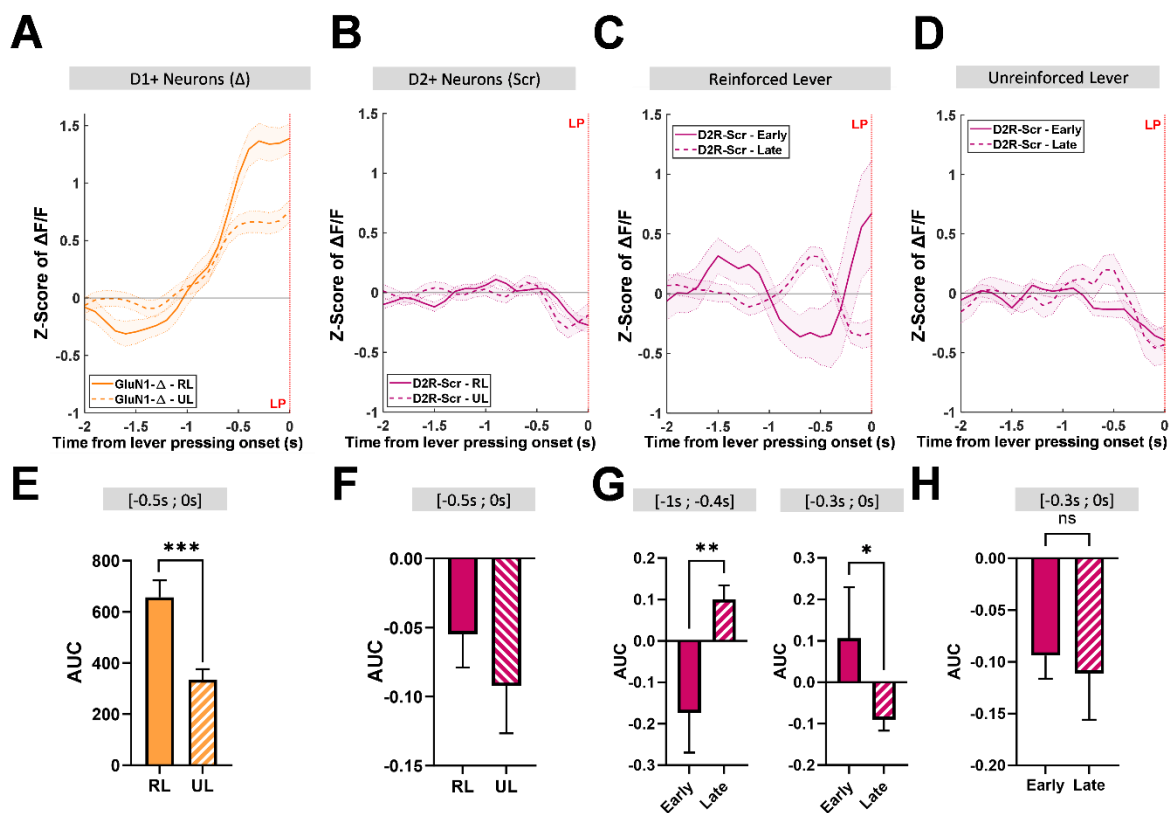


Figure 34 : Activité des neurones dopaminoceptifs D1+ et D2+ du mPFC au cours du reversal learning

(A ; E) D1+ neurons : Z-score of $\Delta F/F$ before lever pressing on the reinforced lever (RL) or unreinforced lever (UL), AUC between -0.5s and 0s, ($t=4.209$, $df=246$, $P<0.001$). (B ; F) D2+ Neurons : Z-score of $\Delta F/F$ before lever pressing on RL or UL, AUC between -0.5s and 0s, ($t=0.8932$, $df=972$, $P=0.3720$). (C ; G) Z-score of $\Delta F/F$ before lever pressing on the reinforced lever (RL) during early and late sessions, Left, AUC between -1s and -0.4s, ($t=3.272$, $df=187$, $P=0.0013$), Right, AUC between -0.3s and 0s, ($t=2.430$, $df=187$, $P=0.0161$). (D ; H) Z-score of $\Delta F/F$ before lever pressing on the unreinforced lever, AUC between -0.3s and 0s, ($t=0.3507$, $df=385$, $P=0.7260$).

Ces données suggèrent donc de manière générale qu'au cours d'une tâche instrumentale, les neurones D1+ et D2+ du mPFC encodent initialement la valeur du CS, qui diminue au cours des sessions, suggérant à nouveau qu'au moment du stimulus, ces neurones pourraient traduire une forme d'incertitude de l'issue de l'action. Au contraire pour les neurones D1+, l'activité traduisant l'encodage de l'action reste stable au cours des sessions, bien que cet encodage soit plus rapide (pas de changement d'amplitude mais AUC plus faible), et augmente pour les neurones D2+. Les données d'inversion des contingences confortent l'hypothèse de l'encodage de la valeur de l'action renforcée par les neurones D1+ et bien que pour les neurones D2+, un décalage de la valeur entre la réalisation de l'action et son anticipation soit observé au cours des sessions, on constate une inhibition de ces neurones au moment de l'appui sur le levier renforcé et non renforcé suggérant qu'ils sont de moins en moins impliqués dans la mise en œuvre de la réponse instrumentale au cours du temps. Ces données peuvent être mises en relation avec plusieurs études chez le primate dont celles décrites précédemment, montrant l'implication des neurones du vlPFC exprimant D1R ou D2R dans l'encodage d'une nouvelle association S – R (Puig et al., 2014; Puig & Miller, 2012, 2015). On peut également citer une étude ayant montré que les récepteurs D1 et D2 du PFC facilitent l'encodage de nouvelles règles dans une tâche de changement de règle numérique, par des mécanismes distincts mais complémentaires : alors que la stimulation spécifique du D1R induit une augmentation de l'activité neuronale en réponse à la règle préférée, la stimulation spécifique du D2R supprime les réponses neuronales à la règle non préférée (Ott et al., 2014). Nous pouvons donc proposer un modèle selon lequel au cours d'une inversion de contingence, les neurones D1+ du mPFC encoderaient positivement l'action renforcée tandis que les neurones D2+ encoderaient négativement l'action non renforcée, participant tous deux de manière complémentaire à la mise en place d'une réponse adaptée pour obtenir une récompense.

IV. Hétéromères D1/NMDA et D2/NMDA et activité des neurones dopaminoceptifs, en lien avec la flexibilité comportementale

De manière générale, bien que nous n'ayons pas comparé directement l'activité neuronale des D1+ ou D2+ entre les groupes contrôles et les groupes exprimant le peptide interférant étant donné le nombre d'animaux parfois réduit dans certains groupes et pour certaines tâches, il ne semble pas y avoir de modification unidirectionnelle de l'activité globale entre les groupes GluN1- Δ et GluN1-C1 pour les neurones D1+, ni entre D2R-Scr et D2R-IL3 pour les neurones D2+. On peut cependant noter une activité globalement inférieure des GluN1-C1 par rapport aux contrôles au cours des sessions de conditionnement pavlovien (au moment du CS et au moment de la consommation), mais supérieure au cours du FR1 (autour de l'appui levier). On peut rapprocher cette tendance observée au cours du conditionnement pavlovien, de l'effet facilitateur de l'activation de D1R sur les courants NMDA décrit dans le PFC (Kruse et al., 2009; Leyrer-Jackson & Thomas, 2018; K. Y. Tseng & O'Donnell, 2004). Ici, le peptide interférant GluN1-C1 semble donc entraîner l'inhibition de cet effet facilitateur par le blocage de l'interaction entre D1R et NMDAR, bien que nous ne constatons pas cette tendance tout au long de la procédure comportementale. Dans le PFC, bien que certaines études n'aient pas montré d'effet (Gonzalez-Islas & Hablitz, 2003; Wirkner et al., 2004), l'activation de D2R semble réduire l'excitabilité neuronale des pyramidaux en augmentant celle des

interneurones GABAergiques (Beazely et al., 2006; K. Y. Tseng & O'Donnell, 2004, 2007; K.-Y. Tseng et al., 2007). Etant donné que nous ne distinguons pas les sous-populations GABAergiques et glutamatergiques parmi les neurones dopaminoceptifs enregistrés et même si la part de neurones pyramidaux est majoritaire, l'enregistrement global de ces deux populations pourrait expliquer que nous ne discernions pas de tendance claire de l'effet du blocage de D2/NMDA sur l'activité neuronale, à l'exception de la période de *reversal learning* sur laquelle nous reviendrons après. Ces considérations renforcent donc l'intérêt de discerner l'effet du blocage des hétéromères sur l'activité des neurones pyramidaux et sur celle des interneurones GABAergiques. Par ailleurs, nous ne savons pas quelle est la proportion d'hétéromères exprimés sur les pyramidaux et les interneurones, il serait donc utile de quantifier l'expression des D1/NMDA et D2/NMDA sur ces différentes populations.

Comme expliqué dans la première partie de cette discussion, nous ne retrouvons pas la différence au niveau comportemental entre les groupes exprimant le peptide interférent et leurs contrôles, démontrée lors du test de choix en extinction lors de la dévaluation à la suite de l'inversion des contingences, dans la tâche de *reversal learning* utilisée lors des enregistrements d'activité calcique. Cependant, cette absence d'effet comportemental n'est pour autant pas synonyme d'absence d'effet sur l'activité neuronale, quand bien même celui-ci ne serait pas traduit au niveau du comportement, et l'étude de cette activité pourrait nous informer sur les mécanismes pouvant se mettre en place, à l'origine des déficits constatés au cours de la dévaluation post inversion. Suite au blocage des hétéromères D1/NMDA et D2/NMDA dans le mPFC, l'effet principal que nous constatons concerne l'activité dans la phase précédant l'appui levier entre le levier renforcé et non renforcé. Pour les neurones D1+, on ne distingue pas de différence entre la réponse pour le levier renforcé et non renforcé contrairement au groupe contrôle pour lequel cette réponse est deux fois plus élevée. Ces résultats suggèrent donc que ce déficit de modification d'activité pourrait être à l'origine des altérations constatées dans l'adaptation de la réponse suite à un changement de contingence. Par ailleurs, la diminution d'activité au cours des sessions de FR1 lors du CS n'est pas retrouvée lorsque le peptide interférent GluN1-C1 est exprimé, ce qui pourrait être à l'origine de l'absence de transfert de l'encodage de la valeur d'un levier à l'autre au moment du *reversal learning*.

Pour les neurones D2+, l'analyse précédemment effectuée dans cette discussion nous indique que ces neurones modifient leur activité dans la phase précédant l'appui levier entre les premières et les dernières sessions du *reversal learning*, en générant un rebond d'activité avant l'appui levier puis une inhibition au moment de l'appui. Ce motif est semblable à celui observé sur le levier non renforcé, suggérant que les neurones D2 ne répondent plus voire s'inhibent au moment de l'appui levier, sans discriminer l'action renforcée de la non-renforcée. Au contraire, les neurones exprimant le peptide interférent D2R-IL3 ne présentent pas cette réduction progressive de l'activité au cours des sessions lors de l'appui levier et répondent par un pic d'activité n'évoluant pas au cours des sessions. De plus, on constate une différence d'amplitude dans cette augmentation d'activité, absente chez les contrôles, celle pour le levier renforcé étant supérieure à celle du non renforcé. Cela suggère ainsi que les perturbations comportementales après l'inversion des contingences lorsque les D2/NMDA sont bloqués pourraient être dues à cet artefact d'activité précédant l'appui levier lors du *reversal learning*. On constate également que la réduction d'activité au cours des sessions de FR1 pendant le CS n'est pas non plus retrouvée lorsque les neurones expriment D2R-IL3, ce qui pourrait engendrer l'activité aberrante lors du *reversal learning*. En présence du peptide interférent, nous constatons ainsi qu'à deux périodes où l'activité des neurones D2+ aurait dû être réduite, elle était largement accrue, ce qui semble correspondre au blocage de l'effet inhibiteur de l'excitabilité neuronale dépendante de NMDAR et induite par stimulation de D2R (Beazely et al., 2006; K. Y. Tseng & O'Donnell, 2004, 2007).

De façon globale, l'ensemble de ces données suggère que les modifications d'activité des neurones dopaminoceptifs D1+ et D2+ du mPFC lors de la phase instrumentale initiale et lors de l'inversion des associations sont nécessaires à la mise en place d'une réponse adaptée et qu'elles sont respectivement médiées au moins en partie par les hétéromères D1/NMDA et D2/NMDA. Ces données suggèrent également un rôle en partie distinct des neurones D1+ et D2+ du mPFC dans la mise en place d'un comportement flexible faisant suite à un changement de contingence entre action et récompense, en cohérence avec les données issues des études chez le primate (Ott et al., 2014; Puig et al., 2014).

Dans cette étude nous avons évalué l'effet du blocage des hétéromères D1/NMDA sur l'activité des neurones dopaminoceptifs D1 du mPFC et l'effet du blocage de D2/NMDA sur l'activité des neurones D2 de manière indépendante. Etant donné que les projections cortico-corticales sont nombreuses et que les hétéromères pourraient être exprimés également sur les interneurons modulant localement l'activité des neurones pyramidaux, il serait intéressant de déterminer l'effet du blocage d'un des hétéromères à la fois sur les neurones dopaminoceptifs D1 et D2 du mPFC chez un même animal. L'utilisation de la souris transgénique D1flpD2cre exprimant la flippase sous le promoteur du récepteur D1 et la cre recombinase sous le promoteur de D2R (Bonnavion et al., 2023; Walle et al., 2022), permettrait d'exprimer spécifiquement des senseurs de l'activité calcique distincts flp- ou cre-dépendants (ex : GCaMP et jRGECO) dans chacune de ces populations neuronales, et d'enregistrer conjointement l'activité de ces deux populations au cours de tâches comportementales, en présence ou absence de peptide interférent pour l'un ou l'autre des hétéromères.

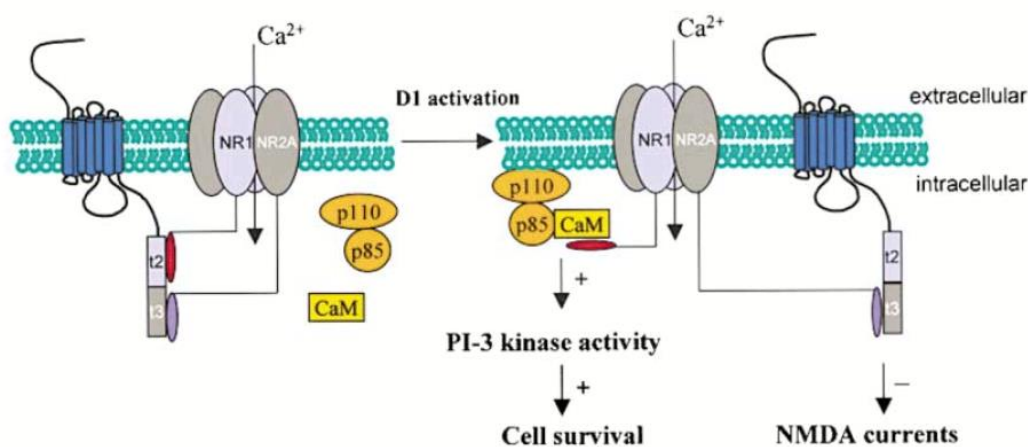


Figure 35 : Schéma de l'interaction directe entre le récepteur NMDA et le récepteur D1 (F. J. S. Lee et al., 2002)

Nous pouvons également nous poser la question de l'interactions avec d'autres sous-unité des récepteurs NMDA et du rôle que joue la composition en sous-unités dans les effets mentionnés. Lee et collègue ont notamment montré par approche de peptide interférent que l'interaction d'une séquence de D1 avec GluN1 modulait l'excitotoxicité dépendante des NMDARs, et que celle entre une séquence distincte de D1 et GluN2A modulait les courants médiés par NMDA, en réduisant leur expression à la membrane lors de l'activation des récepteurs D1 (F. J. S. Lee et al., 2002). Ces données suggèrent donc que bien que nous bloquions l'interaction D1/GluN1, une interaction entre D1R et NMDAR serait toujours possible au travers de GluN2A, à l'origine d'une réduction des NMDARs membranaires dépendante de l'action de D1R et conduisant ainsi à la modulation des courants NMDA dépendants (Figure 35). La composition en sous-unité peut également influencer le fonctionnement des hétéromères comme en témoignent les études de Pei et

de Fiorentini, trouvant des résultats contradictoires sur le rôle de D1R dans la formation des complexes D1/NMDA, qui pourraient être imputables à la différence des sous-unités variables composants NMDAR, Pei utilisant GluN2A et Fiorentini utilisant GluN2B. Or étant donné le rôle complexe de ces sous unités dans divers processus tels que la LTP, la LTD, ou la mobilité de surface (Groc et al., 2006b; Hansen et al., 2021; Paoletti et al., 2013), il semble important de déterminer si la composition des NMDARs impliqués dans les complexes D1/NMDA ou D2/NMDA varie selon les différentes populations neuronales ou les sous-régions étudiées.

Enfin, des résultats préliminaires du blocage de D1/NMDA dans le NAc indiquent un potentiel effet des hétéromères sur l'activité des D1-MSNs dans une tâche de consommation alimentaire (**Figure 36**). Bien qu'effectuées sur peu d'animaux, une diminution d'activité au moment de la consommation de la récompense - semblable à celle observée dans les neurones dopaminoceptifs du mPFC – a été constatée ainsi qu'un effet du peptide interférent au moment de la consommation de la récompense, qui n'est pas présent lors de l'exploration de la cupule vide. Nous souhaitons donc compléter la compréhension de l'effet des hétéromères sur l'activité des MSNs du NAc en évaluant l'impact du blocage de D1/NMDA ou D2/NMDA sur les D1- ou D2-MSNs dans des protocoles de conditionnement pavlovien et opérant similaires à ceux utilisés dans le mPFC.

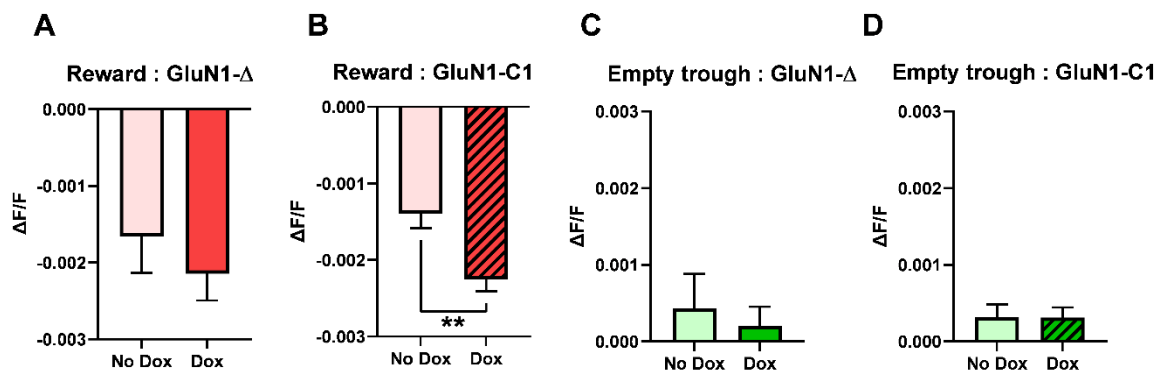


Figure 36 : Evolution de l'activité des neurones D1+ du NAc au cours d'une tâche de consommation suite à l'induction de l'expression du peptide interférent bloquant D1/NMDA
 (A – B) $\Delta F/F$ au cours de la période de consommation de la récompense, avant (No Dox) et après (Dox) induction de l'expression du peptide contrôle GluN1- Δ (A) (nTrials : No Dox = 10, Dox = 9, unpaired t-test, $t=0.8021$, $df=17$, $P=0.4336$), ou peptide interférent GluN1-C1 (B) (nTrials : No Dox = 25, Dox = 20, unpaired t-test, $t=3.371$, $df=43$, $P=0.0016$). (C – D) $\Delta F/F$ au cours de l'exploration de la cupule vide, avant et après induction de l'expression du peptide contrôle GluN1- Δ (C) (nTrials : No Dox = 10, Dox = 9, unpaired t-test, $t=0.4305$, $df=17$, $P=0.6722$) ou peptide interférent GluN1-C1 (D) (nTrials : No Dox = 25, Dox = 20, unpaired t-test, $t=0.01341$, $df=43$, $P=0.9894$). nGluN1- Δ = 1 souris ; nGluN1-C1 = 3 souris. ** $P<0.01$. Les données représentent la moyenne de $\Delta F/F \pm SEM$.

RÉFÉRENCES

- Abi-Dargham, A., Rodenhiser, J., Printz, D., Zea-Ponce, Y., Gil, R., Kegeles, L. S., Weiss, R., Cooper, T. B., Mann, J. J., Van Heertum, R. L., Gorman, J. M., & Laruelle, M. (2000). Increased baseline occupancy of D2 receptors by dopamine in schizophrenia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *97*(14), 8104-8109. <https://doi.org/10.1073/pnas.97.14.8104>
- Abudukeyoumu, N., Hernandez-Flores, T., Garcia-Munoz, M., & Arbuthnott, G. W. (2019). Cholinergic modulation of striatal microcircuits. *The European Journal of Neuroscience*, *49*(5), 604-622. <https://doi.org/10.1111/ejn.13949>
- Adams, C. D. (1982). Variations in the Sensitivity of Instrumental Responding to Reinforcer Devaluation. *The Quarterly Journal of Experimental Psychology Section B*, *34*(2b), 77-98. <https://doi.org/10.1080/14640748208400878>
- Agnati, L. F., Zoli, M., Strömberg, I., & Fuxe, K. (1995). Intercellular communication in the brain: Wiring versus volume transmission. *Neuroscience*, *69*(3), 711-726. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(95\)00308-6](https://doi.org/10.1016/0306-4522(95)00308-6)
- Ährlund-Richter, S., Xuan, Y., van Lunteren, J. A., Kim, H., Ortiz, C., Pollak Dorocic, I., Meletis, K., & Carlén, M. (2019). A whole-brain atlas of monosynaptic input targeting four different cell types in the medial prefrontal cortex of the mouse. *Nature Neuroscience*, *22*(4), 657-668. <https://doi.org/10.1038/s41593-019-0354-y>
- Albizu, L., Cottet, M., Kralikova, M., Stoev, S., Seyer, R., Brabet, I., Roux, T., Bazin, H., Bourrier, E., Lamarque, L., Breton, C., Rives, M.-L., Newman, A., Javitch, J., Trinquet, E., Manning, M., Pin, J.-P., Mouillac, B., & Durroux, T. (2010). Time-resolved FRET between GPCR ligands reveals oligomers in native tissues. *Nature Chemical Biology*, *6*(8), 587-594. <https://doi.org/10.1038/nchembio.396>
- Alcaraz, F., Fresno, V., Marchand, A. R., Kremer, E. J., Coutureau, E., & Wolff, M. (2018). Thalamocortical and corticothalamic pathways differentially contribute to goal-directed behaviors in the rat. *eLife*, *7*, e32517. <https://doi.org/10.7554/eLife.32517>
- Al-Hallaq, R. A., Conrads, T. P., Veenstra, T. D., & Wenthold, R. J. (2007). NMDA di-heteromeric receptor populations and associated proteins in rat hippocampus. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *27*(31), 8334-8343. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2155-07.2007>
- Alsaad, H. A., DeKorver, N. W., Mao, Z., Dravid, S. M., Arikath, J., & Monaghan, D. T. (2019). In the Telencephalon, GluN2C NMDA Receptor Subunit mRNA is Predominately Expressed in Glial Cells and GluN2D mRNA in Interneurons. *Neurochemical Research*, *44*(1), 61-77. <https://doi.org/10.1007/s11064-018-2526-7>
- American Psychiatric Association. (2022a). Bipolar and Related Disorders. In *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*. American Psychiatric Association Publishing. https://doi.org/10.1176/appi.books.9780890425787.x03_Bipolar_and_Related_Disorders
- American Psychiatric Association. (2022b). Depressive Disorders. In *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*. American Psychiatric Association Publishing. https://doi.org/10.1176/appi.books.9780890425787.x04_Depressive_Disorders
- American Psychiatric Association. (2022c). Substance-Related and Addictive Disorders. In *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*. American Psychiatric Association Publishing. https://doi.org/10.1176/appi.books.9780890425787.x16_Substance_Related_Disorders
- Amodeo, L. R., McMurray, M. S., & Roitman, J. D. (2017). Orbitofrontal cortex reflects changes in response-outcome contingencies during probabilistic reversal learning. *Neuroscience*, *345*, 27-37. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2016.03.034>
- Anastasiades, P. G., Boada, C., & Carter, A. G. (2019). Cell-Type-Specific D1 Dopamine Receptor Modulation of Projection Neurons and Interneurons in the Prefrontal Cortex. *Cerebral Cortex (New York, N.Y.: 1991)*, *29*(7), 3224-3242. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhy299>
- Anastasiades, P. G., & Carter, A. G. (2021). Circuit organization of the rodent medial prefrontal cortex. *Trends in Neurosciences*, *44*(7), 550-563. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2021.03.006>
- Andersen, J. V., Markussen, K. H., Jakobsen, E., Schousboe, A., Waagepetersen, H. S.,

- Rosenberg, P. A., & Aldana, B. I. (2021). Glutamate metabolism and recycling at the excitatory synapse in health and neurodegeneration. *Neuropharmacology*, *196*, 108719. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2021.108719>
- André, V. M., Cepeda, C., Cummings, D. M., Jocoy, E. L., Fisher, Y. E., William Yang, X., & Levine, M. S. (2010). Dopamine modulation of excitatory currents in the striatum is dictated by the expression of D1 or D2 receptors and modified by endocannabinoids. *The European Journal of Neuroscience*, *31*(1), 14-28. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2009.07047.x>
- Andrianarivelo, A., Saint-Jour, E., Pousinha, P., Fernandez, S. P., Petitbon, A., De Smedt-Peyrusse, V., Heck, N., Ortiz, V., Allichon, M.-C., Kappès, V., Betuing, S., Walle, R., Zhu, Y., Joséphine, C., Bemelmans, A.-P., Turecki, G., Mechawar, N., Javitch, J. A., Caboche, J., ... Vanhoutte, P. (2021). Disrupting D1-NMDA or D2-NMDA receptor heteromerization prevents cocaine's rewarding effects but preserves natural reward processing. *Science Advances*, *7*(43), eabg5970. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abg5970>
- Andrianarivelo, A., Saint-Jour, E., Trifilieff, P., & Vanhoutte, P. (2018). Unraveling the Functions of Endogenous Receptor Oligomers in the Brain Using Interfering Peptide: The Example of D1R/NMDAR Heteromers. In K. FUXE & D. O. Borroto-Escuela (Éds.), *Receptor-Receptor Interactions in the Central Nervous System* (p. 317-328). Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8576-0_20
- Andrianarivelo, A., Saint-Jour, E., Walle, R., Trifilieff, P., & Vanhoutte, P. (2019). Modulation and functions of dopamine receptor heteromers in drugs of abuse-induced adaptations. *Neuropharmacology*, *152*, 42-50. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2018.12.003>
- Angers, S., Salahpour, A., Joly, E., Hilaiet, S., Chelsky, D., Dennis, M., & Bouvier, M. (2000). Detection of beta 2-adrenergic receptor dimerization in living cells using bioluminescence resonance energy transfer (BRET). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *97*(7), 3684-3689. <https://doi.org/10.1073/pnas.97.7.3684>
- Antic, S. D., Zhou, W.-L., Moore, A. R., Short, S. M., & Ikonou, K. D. (2010). The decade of the dendritic NMDA spike. *Journal of Neuroscience Research*, *88*(14), 2991-3001. <https://doi.org/10.1002/jnr.22444>
- Antonova, E., Sharma, T., Morris, R., & Kumari, V. (2004). The relationship between brain structure and neurocognition in schizophrenia: A selective review. *Schizophrenia Research*, *70*(2-3), 117-145. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2003.12.002>
- Aoki, S., Liu, A. W., Zucca, A., Zucca, S., & Wickens, J. R. (2015). Role of Striatal Cholinergic Interneurons in Set-Shifting in the Rat. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *35*(25), 9424-9431. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0490-15.2015>
- Ashok, A. H., Marques, T. R., Jauhar, S., Nour, M. M., Goodwin, G. M., Young, A. H., & Howes, O. D. (2017). The dopamine hypothesis of bipolar affective disorder: The state of the art and implications for treatment. *Molecular Psychiatry*, *22*(5), 666-679. <https://doi.org/10.1038/mp.2017.16>
- Baba, K., Benleulmi-Chaachoua, A., Journé, A.-S., Kamal, M., Guillaume, J.-L., Dussaud, S., Gbahou, F., Yettou, K., Liu, C., Contreras-Alcantara, S., Jockers, R., & Tosini, G. (2013). Heteromeric MT1/MT2 melatonin receptors modulate photoreceptor function. *Science Signaling*, *6*(296), ra89. <https://doi.org/10.1126/scisignal.2004302>
- Baldwin, A. E., Sadeghian, K., & Kelley, A. E. (2002). Appetitive instrumental learning requires coincident activation of NMDA and dopamine D1 receptors within the medial prefrontal cortex. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *22*(3), 1063-1071. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-03-01063.2002>
- Balleine, B. W. (2019). The Meaning of Behavior: Discriminating Reflex and Volition in the Brain. *Neuron*, *104*(1), 47-62. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2019.09.024>
- Balleine, B. W., & Dickinson, A. (1998). Goal-directed instrumental action: Contingency and incentive learning and their cortical substrates. *Neuropharmacology*, *37*(4-5), 407-419. [https://doi.org/10.1016/s0028-3908\(98\)00033-1](https://doi.org/10.1016/s0028-3908(98)00033-1)
- Balleine, B. W., Leung, B. K., & Ostlund, S. B. (2011). The orbitofrontal cortex, predicted value, and choice. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1239*, 43-50. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2011.06270.x>

- Baragli, A., Alturaihi, H., Watt, H. L., Abdallah, A., & Kumar, U. (2007). Heterooligomerization of human dopamine receptor 2 and somatostatin receptor 2 Co-immunoprecipitation and fluorescence resonance energy transfer analysis. *Cellular Signalling*, *19*(11), 2304-2316. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2007.07.007>
- Barker, J. M., Taylor, J. R., & Chandler, L. J. (2014). A unifying model of the role of the infralimbic cortex in extinction and habits. *Learning & Memory*, *21*(9), 441-448. <https://doi.org/10.1101/lm.035501.114>
- Barreiros, I. V., Panayi, M. C., & Walton, M. E. (2021). Organization of Afferents along the Anterior-posterior and Medial-lateral Axes of the Rat Orbitofrontal Cortex. *Neuroscience*, *460*, 53-68. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2021.02.017>
- Barto, A. G. (2013). *Intrinsic Motivation and Reinforcement Learning* (G. Baldassarre & M. Mirolli, Éd.s.; p. 17-47). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-32375-1_2
- Basten, U., Biele, G., Heekeren, H. R., & Fiebach, C. J. (2010). How the brain integrates costs and benefits during decision making. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *107*(50), 21767-21772. <https://doi.org/10.1073/pnas.0908104107>
- Beaulieu, J.-M., & Gainetdinov, R. R. (2011). The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors. *Pharmacological Reviews*, *63*(1), 182-217. <https://doi.org/10.1124/pr.110.002642>
- Beazely, M. A., Tong, A., Wei, W.-L., Van Tol, H., Sidhu, B., & MacDonald, J. F. (2006). D2-class dopamine receptor inhibition of NMDA currents in prefrontal cortical neurons is platelet-derived growth factor receptor-dependent. *Journal of Neurochemistry*, *98*(5), 1657-1663. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2006.04064.x>
- Beggiato, S., Borelli, A. C., Borroto-Escuela, D., Corbucci, I., Tomasini, M. C., Marti, M., Antonelli, T., Tanganelli, S., Fuxe, K., & Ferraro, L. (2017). Cocaine modulates allosteric D2- σ 1 receptor-receptor interactions on dopamine and glutamate nerve terminals from rat striatum. *Cellular Signalling*, *40*, 116-124. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2017.09.007>
- Beier, K. T., Steinberg, E. E., DeLoach, K. E., Xie, S., Miyamichi, K., Schwarz, L., Gao, X. J., Kremer, E. J., Malenka, R. C., & Luo, L. (2015). Circuit Architecture of VTA Dopamine Neurons Revealed by Systematic Input-Output Mapping. *Cell*, *162*(3), 622-634. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.07.015>
- Bellone, C., Lüscher, C., & Mameli, M. (2008). Mechanisms of synaptic depression triggered by metabotropic glutamate receptors. *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS*, *65*(18), 2913-2923. <https://doi.org/10.1007/s00018-008-8263-3>
- Benzina, N., Mallet, L., Burguière, E., N'Diaye, K., & Pelissolo, A. (2016). Cognitive Dysfunction in Obsessive-Compulsive Disorder. *Current Psychiatry Reports*, *18*(9), 80. <https://doi.org/10.1007/s11920-016-0720-3>
- Berridge, K. C. (2007). The debate over dopamine's role in reward: The case for incentive salience. *Psychopharmacology*, *191*(3), 391-431. <https://doi.org/10.1007/s00213-006-0578-x>
- Berridge, K. C. (2009). « Liking » and « wanting » food rewards: Brain substrates and roles in eating disorders. *Physiology & Behavior*, *97*(5), 537-550. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2009.02.044>
- Berridge, K. C. (2012). From prediction error to incentive salience: Mesolimbic computation of reward motivation. *The European Journal of Neuroscience*, *35*(7), 1124-1143. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2012.07990.x>
- Berridge, K. C., & Dayan, P. (2021). Liking. *Current Biology: CB*, *31*(24), R1555-R1557. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2021.09.069>
- Berridge, K. C., & Kringelbach, M. L. (2015). Pleasure systems in the brain. *Neuron*, *86*(3), 646-664. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.02.018>
- Björklund, A., & Dunnett, S. B. (2007). Dopamine neuron systems in the brain: An update. *Trends in Neurosciences*, *30*(5), 194-202. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2007.03.006>
- Bonaventura, J., Navarro, G., Casadó-Anguera, V., Azdad, K., Rea, W., Moreno, E., Brugarolas, M., Mallol, J., Canela, E. I., Lluís, C., Cortés, A., Volkow, N. D., Schiffmann, S. N., Ferré, S., & Casadó, V. (2015). Allosteric interactions between agonists and antagonists within the adenosine A2A receptor-dopamine D2 receptor heterotetramer. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *112*(27), E3609-3618. <https://doi.org/10.1073/pnas.1507704112>

- Bonilha, L., Molnar, C., Horner, M. D., Anderson, B., Forster, L., George, M. S., & Nahas, Z. (2008). Neurocognitive deficits and prefrontal cortical atrophy in patients with schizophrenia. *Schizophrenia Research*, *101*(1-3), 142-151. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2007.11.023>
- Bonnavion, P., Fernández, E. P., Varin, C., & de Kerchove d'Exaerde, A. (2019). It takes two to tango : Dorsal direct and indirect pathways orchestration of motor learning and behavioral flexibility. *Neurochemistry International*, *124*, 200-214. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2019.01.009>
- Bonnavion, P., Varin, C., Fakhfour, G., Olondo, P. M., Groote, A. D., Cornil, A., Lopez, R. L., Fernandez, E. P., Isingrini, E., Rainer, Q., Xu, K., Tzavara, E., Vigneault, E., Dumas, S., d'Exaerde, A. de K., & Giros, B. (2023). *Unexpected contributions of striatal projection neurons coexpressing dopamine D1 and D2 receptors in balancing motor control* (p. 2022.04.05.487163). bioRxiv. <https://doi.org/10.1101/2022.04.05.487163>
- Bono, F., Mutti, V., Tomasoni, Z., Sbrini, G., Missale, C., & Fiorentini, C. (2023). Recent Advances in Dopamine D3 Receptor Heterodimers : Focus on Dopamine D3 and D1 Receptor-Receptor Interaction and Striatal Function. *Current Topics in Behavioral Neurosciences*, *60*, 47-72. https://doi.org/10.1007/7854_2022_353
- Bordelon-Glausier, J. R., Khan, Z. U., & Muly, E. C. (2008). Quantification of D1 and D5 dopamine receptor localization in layers I, III, and V of Macaca mulatta prefrontal cortical area 9 : Coexpression in dendritic spines and axon terminals. *The Journal of Comparative Neurology*, *508*(6), 893-905. <https://doi.org/10.1002/cne.21710>
- Borroto-Escuela, D. O., Narváez, M., Wydra, K., Pintsuk, J., Pinton, L., Jimenez-Beristain, A., Di Palma, M., Jastrzębska, J., Filip, M., & Fuxe, K. (2017). Cocaine self-administration specifically increases A2AR-D2R and D2R-sigma1R heteroreceptor complexes in the rat nucleus accumbens shell. Relevance for cocaine use disorder. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, *155*, 24-31. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2017.03.003>
- Borroto-Escuela, D. O., Ravani, A., Tarakanov, A. O., Brito, I., Narváez, M., Romero-Fernandez, W., Corrales, F., Agnati, L. F., Tanganelli, S., Ferraro, L., & Fuxe, K. (2013). Dopamine D2 receptor signaling dynamics of dopamine D2-neurotensin 1 receptor heteromers. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *435*(1), 140-146. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2013.04.058>
- Borroto-Escuela, D. O., Romero-Fernandez, W., Garriga, P., Ciruela, F., Narváez, M., Tarakanov, A. O., Palkovits, M., Agnati, L. F., & Fuxe, K. (2013). G protein-coupled receptor heterodimerization in the brain. *Methods in Enzymology*, *521*, 281-294. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-391862-8.00015-6>
- Borroto-Escuela, D. O., Romero-Fernandez, W., Tarakanov, A. O., Ciruela, F., Agnati, L. F., & Fuxe, K. (2011). On the existence of a possible A2A-D2-β-Arrestin2 complex : A2A agonist modulation of D2 agonist-induced β-arrestin2 recruitment. *Journal of Molecular Biology*, *406*(5), 687-699. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2011.01.022>
- Borroto-Escuela, D. O., Romero-Fernandez, W., Tarakanov, A. O., Marcellino, D., Ciruela, F., Agnati, L. F., & Fuxe, K. (2010). Dopamine D2 and 5-hydroxytryptamine 5-HT_{2A} receptors assemble into functionally interacting heteromers. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *401*(4), 605-610. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2010.09.110>
- Borroto-Escuela, D. O., Wydra, K., Filip, M., & Fuxe, K. (2018). A2AR-D2R Heteroreceptor Complexes in Cocaine Reward and Addiction. *Trends in Pharmacological Sciences*, *39*(12), 1008-1020. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2018.10.007>
- Borroto-Escuela, D. O., Wydra, K., Li, X., Rodriguez, D., Carlsson, J., Jastrzębska, J., Filip, M., & Fuxe, K. (2018). Disruption of A2AR-D2R Heteroreceptor Complexes After A2AR Transmembrane 5 Peptide Administration Enhances Cocaine Self-Administration in Rats. *Molecular Neurobiology*, *55*(8), 7038-7048. <https://doi.org/10.1007/s12035-018-0887-1>
- Boulougouris, V., Castañé, A., & Robbins, T. W. (2009). Dopamine D2/D3 receptor agonist quinpirole impairs spatial reversal learning in rats : Investigation of D3 receptor involvement in persistent behavior. *Psychopharmacology*, *202*(4), 611-620. <https://doi.org/10.1007/s00213-008-1341-2>
- Boulougouris, V., Dalley, J. W., & Robbins, T. W. (2007). Effects of orbitofrontal, infralimbic and prelimbic cortical lesions on serial spatial reversal learning in the rat. *Behavioural Brain Research*, *179*(2), 219-228. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2007.02.005>
- Bouton, M. E., & Todd, T. P. (2014). A fundamental role for context in instrumental learning and extinction. *Behavioural Processes*, *104*, 13-19. <https://doi.org/10.1016/j.beproc.2014.02.012>

- Bouvier, G., Bidoret, C., Casado, M., & Paoletti, P. (2015). Presynaptic NMDA receptors : Roles and rules. *Neuroscience*, 311, 322-340. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.10.033>
- Bradfield, L. A., Dezfouli, A., van Holstein, M., Chieng, B., & Balleine, B. W. (2015). Medial Orbitofrontal Cortex Mediates Outcome Retrieval in Partially Observable Task Situations. *Neuron*, 88(6), 1268-1280. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.10.044>
- Bradfield, L. A., Hart, G., & Balleine, B. W. (2018). Inferring action-dependent outcome representations depends on anterior but not posterior medial orbitofrontal cortex. *Neurobiology of Learning and Memory*, 155, 463-473. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2018.09.008>
- Brady, R. O., Gonsalvez, I., Lee, I., Öngür, D., Seidman, L. J., Schmahmann, J. D., Eack, S. M., Keshavan, M. S., Pascual-Leone, A., & Halko, M. A. (2019). Cerebellar-Prefrontal Network Connectivity and Negative Symptoms in Schizophrenia. *The American Journal of Psychiatry*, 176(7), 512-520. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2018.18040429>
- Braun, S., & Hauber, W. (2012). Striatal dopamine depletion in rats produces variable effects on contingency detection : Task-related influences. *The European Journal of Neuroscience*, 35(3), 486-495. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2011.07969.x>
- Bray, S., & O'Doherty, J. (2007). Neural coding of reward-prediction error signals during classical conditioning with attractive faces. *Journal of Neurophysiology*, 97(4), 3036-3045. <https://doi.org/10.1152/jn.01211.2006>
- Breit, A., Lagacé, M., & Bouvier, M. (2004). Hetero-oligomerization between beta2- and beta3-adrenergic receptors generates a beta-adrenergic signaling unit with distinct functional properties. *The Journal of Biological Chemistry*, 279(27), 28756-28765. <https://doi.org/10.1074/jbc.M313310200>
- Brigman, J. L., Daut, R. A., Wright, T., Gunduz-Cinar, O., Graybeal, C., Davis, M. I., Jiang, Z., Saksida, L. M., Jinde, S., Pease, M., Bussey, T. J., Lovinger, D. M., Nakazawa, K., & Holmes, A. (2013). GluN2B in corticostriatal circuits governs choice learning and choice shifting. *Nature Neuroscience*, 16(8), 1101-1110. <https://doi.org/10.1038/nn.3457>
- Brimblecombe, K. R., & Cragg, S. J. (2017). The Striosome and Matrix Compartments of the Striatum : A Path through the Labyrinth from Neurochemistry toward Function. *ACS Chemical Neuroscience*, 8(2), 235-242. <https://doi.org/10.1021/acscchemneuro.6b00333>
- Brown, M. T. C., Tan, K. R., O'Connor, E. C., Nikonenko, I., Muller, D., & Lüscher, C. (2012). Ventral tegmental area GABA projections pause accumbal cholinergic interneurons to enhance associative learning. *Nature*, 492(7429), 452-456. <https://doi.org/10.1038/nature11657>
- Burke, D. A., Rotstein, H. G., & Alvarez, V. A. (2017). Striatal Local Circuitry : A New Framework for Lateral Inhibition. *Neuron*, 96(2), 267-284. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.09.019>
- Burnashev, N., & Szepietowski, P. (2015). NMDA receptor subunit mutations in neurodevelopmental disorders. *Current Opinion in Pharmacology*, 20, 73-82. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2014.11.008>
- Byrne, K. A., Otto, A. R., Pang, B., Patrick, C. J., & Worthy, D. A. (2019). Substance Use is Associated with Reduced Devaluation Sensitivity. *Cognitive, affective & behavioral neuroscience*, 19(1), 40-55. <https://doi.org/10.3758/s13415-018-0638-9>
- Cabello, N., Gandía, J., Bertarelli, D. C. G., Watanabe, M., Lluís, C., Franco, R., Ferré, S., Luján, R., & Ciruela, F. (2009). Metabotropic glutamate type 5, dopamine D2 and adenosine A2a receptors form higher-order oligomers in living cells. *Journal of Neurochemistry*, 109(5), 1497-1507. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2009.06078.x>
- Cahill, E., Pascoli, V., Trifilieff, P., Savoldi, D., Kappès, V., Lüscher, C., Caboche, J., & Vanhoutte, P. (2014). D1R/GluN1 complexes in the striatum integrate dopamine and glutamate signalling to control synaptic plasticity and cocaine-induced responses. *Molecular Psychiatry*, 19(12), 1295-1304. <https://doi.org/10.1038/mp.2014.73>
- Cahill, E., Salery, M., Vanhoutte, P., & Caboche, J. (2014). Convergence of dopamine and glutamate signaling onto striatal ERK activation in response to drugs of abuse. *Frontiers in Pharmacology*, 4, 172. <https://doi.org/10.3389/fphar.2013.00172>
- Caillé, I., Dumartin, B., & Bloch, B. (1996). Ultrastructural localization of D1 dopamine receptor immunoreactivity in rat striatonigral neurons and its relation with dopaminergic innervation.

- Brain Research*, 730(1-2), 17-31.
[https://doi.org/10.1016/0006-8993\(96\)00424-6](https://doi.org/10.1016/0006-8993(96)00424-6)
- Cao, B., Li, W., Li, F., & Li, H. (2016). Dissociable roles of medial and lateral PFC in rule learning. *Brain and Behavior*, 6(11), e00551.
<https://doi.org/10.1002/brb3.551>
- Cardinal, R. N., Parkinson, J. A., Hall, J., & Everitt, B. J. (2002). Emotion and motivation: The role of the amygdala, ventral striatum, and prefrontal cortex. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 26(3), 321-352.
[https://doi.org/10.1016/s0149-7634\(02\)00007-6](https://doi.org/10.1016/s0149-7634(02)00007-6)
- Carlsson, A., Lindqvist, M., & Magnusson, T. (1957). 3,4-Dihydroxyphenylalanine and 5-hydroxytryptophan as reserpine antagonists. *Nature*, 180(4596), 1200.
<https://doi.org/10.1038/1801200a0>
- Carr, D. B., & Sesack, S. R. (1996). Hippocampal afferents to the rat prefrontal cortex: Synaptic targets and relation to dopamine terminals. *The Journal of Comparative Neurology*, 369(1), 1-15.
[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9861\(19960520\)369:1<::AID-CNE1>3.0.CO;2-7](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9861(19960520)369:1<::AID-CNE1>3.0.CO;2-7)
- Carr, D. B., & Sesack, S. R. (2000). Projections from the rat prefrontal cortex to the ventral tegmental area: Target specificity in the synaptic associations with mesoaccumbens and mesocortical neurons. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 20(10), 3864-3873.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.20-10-03864.2000>
- Carvalho Poyraz, F., Holzner, E., Bailey, M. R., Meszaros, J., Kenney, L., Kheirbek, M. A., Balsam, P. D., & Kellendonk, C. (2016). Decreasing Striatopallidal Pathway Function Enhances Motivation by Energizing the Initiation of Goal-Directed Action. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 36(22), 5988-6001.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0444-16.2016>
- Casadó-Anguera, V., Bonaventura, J., Moreno, E., Navarro, G., Cortés, A., Ferré, S., & Casadó, V. (2016). Evidence for the heterotetrameric structure of the adenosine A2A-dopamine D2 receptor complex. *Biochemical Society Transactions*, 44(2), 595-600.
<https://doi.org/10.1042/BST20150276>
- Caseras, X., Lawrence, N. S., Murphy, K., Wise, R. G., & Phillips, M. L. (2013). Ventral striatum activity in response to reward: Differences between bipolar I and II disorders. *The American Journal of Psychiatry*, 170(5), 533-541.
<https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2012.12020169>
- Castañé, A., Theobald, D. E. H., & Robbins, T. W. (2010). Selective lesions of the dorsomedial striatum impair serial spatial reversal learning in rats. *Behavioural Brain Research*, 210(1), 74-83.
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2010.02.017>
- Castner, S. A., & Williams, G. V. (2007). Tuning the engine of cognition: A focus on NMDA/D1 receptor interactions in prefrontal cortex. *Brain and Cognition*, 63(2), 94-122.
<https://doi.org/10.1016/j.bandc.2006.11.002>
- Cerpa, J.-C., Coutureau, E., & Parkes, S. L. (2021). Dopamine and noradrenaline modulation of goal-directed behavior in orbital and medial prefrontal cortex: Toward a division of labor? *Behavioral Neuroscience*, 135(2), 138-153.
<https://doi.org/10.1037/bne0000426>
- Cetin, T., Freudenberg, F., Fächtemeier, M., & Koch, M. (2004). Dopamine in the orbitofrontal cortex regulates operant responding under a progressive ratio of reinforcement in rats. *Neuroscience Letters*, 370(2-3), 114-117.
<https://doi.org/10.1016/j.neulet.2004.08.002>
- Chase, H. W., Nusslock, R., Almeida, J. R., Forbes, E. E., LaBarbara, E. J., & Phillips, M. L. (2013). Dissociable patterns of abnormal frontal cortical activation during anticipation of an uncertain reward or loss in bipolar versus major depression. *Bipolar Disorders*, 15(8), 839-854.
<https://doi.org/10.1111/bdi.12132>
- Chen, G., Greengard, P., & Yan, Z. (2004). Potentiation of NMDA receptor currents by dopamine D1 receptors in prefrontal cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(8), 2596-2600.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0308618100>
- Chen, X., Liu, C., He, H., Chang, X., Jiang, Y., Li, Y., Duan, M., Li, J., Luo, C., & Yao, D. (2017). Transdiagnostic differences in the resting-state functional connectivity of the prefrontal cortex in depression and schizophrenia. *Journal of Affective Disorders*, 217, 118-124.
<https://doi.org/10.1016/j.jad.2017.04.001>
- Chudasama, Y., Bussey, T. J., & Muir, J. L. (2001). Effects of selective thalamic and prelimbic cortex lesions on two types of visual discrimination and reversal learning. *The European Journal of Neuroscience*, 14(6), 1009-1020.
<https://doi.org/10.1046/j.0953-816x.2001.01607.x>

- Chudasama, Y., & Robbins, T. W. (2003). Dissociable contributions of the orbitofrontal and infralimbic cortex to pavlovian autoshaping and discrimination reversal learning: Further evidence for the functional heterogeneity of the rodent frontal cortex. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *23*(25), 8771-8780. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-25-08771.2003>
- Ciliax, B. J., Nash, N., Heilman, C., Sunahara, R., Hartney, A., Tiberi, M., Rye, D. B., Caron, M. G., Niznik, H. B., & Levey, A. I. (2000). Dopamine D(5) receptor immunolocalization in rat and monkey brain. *Synapse (New York, N.Y.)*, *37*(2), 125-145. [https://doi.org/10.1002/1098-2396\(200008\)37:2<125::AID-SYN7>3.0.CO;2-7](https://doi.org/10.1002/1098-2396(200008)37:2<125::AID-SYN7>3.0.CO;2-7)
- Ciruela, F., Burgueño, J., Casadó, V., Canals, M., Marcellino, D., Goldberg, S. R., Bader, M., Fuxe, K., Agnati, L. F., Lluís, C., Franco, R., Ferré, S., & Woods, A. S. (2004). Combining mass spectrometry and pull-down techniques for the study of receptor heteromerization. Direct epitope-epitope electrostatic interactions between adenosine A2A and dopamine D2 receptors. *Analytical Chemistry*, *76*(18), 5354-5363. <https://doi.org/10.1021/ac049295f>
- Collingridge, G. L., Peineau, S., Howland, J. G., & Wang, Y. T. (2010). Long-term depression in the CNS. *Nature Reviews Neuroscience*, *11*(7), 459-473. <https://doi.org/10.1038/nrn2867>
- Colwill, R. M., & Rescorla, R. A. (1985). Postconditioning devaluation of a reinforcer affects instrumental responding. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, *11*(1), 120-132. <https://doi.org/10.1037/0097-7403.11.1.120>
- Condé, F., Maire-Lepoivre, E., Audinat, E., & Crépel, F. (1995). Afferent connections of the medial frontal cortex of the rat. II. Cortical and subcortical afferents. *The Journal of Comparative Neurology*, *352*(4), 567-593. <https://doi.org/10.1002/cne.903520407>
- Cools, R., Clark, L., Owen, A. M., & Robbins, T. W. (2002). Defining the neural mechanisms of probabilistic reversal learning using event-related functional magnetic resonance imaging. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *22*(11), 4563-4567. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-11-04563.2002>
- Corbit, L. H., & Balleine, B. W. (2003). The role of prelimbic cortex in instrumental conditioning. *Behavioural Brain Research*, *146*(1-2), 145-157. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2003.09.023>
- Corbit, L. H., Muir, J. L., & Balleine, B. W. (2001). The role of the nucleus accumbens in instrumental conditioning: Evidence of a functional dissociation between accumbens core and shell. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *21*(9), 3251-3260. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.21-09-03251.2001>
- Corlew, R., Brasier, D. J., Feldman, D. E., & Philpot, B. D. (2008). Presynaptic NMDA receptors: Newly appreciated roles in cortical synaptic function and plasticity. *The Neuroscientist: A Review Journal Bringing Neurobiology, Neurology and Psychiatry*, *14*(6), 609-625. <https://doi.org/10.1177/1073858408322675>
- Cotrena, C., Branco, L. D., Shansis, F. M., & Fonseca, R. P. (2016). Executive function impairments in depression and bipolar disorder: Association with functional impairment and quality of life. *Journal of Affective Disorders*, *190*, 744-753. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2015.11.007>
- Cottet, M., Faklaris, O., Maurel, D., Scholler, P., Doumazane, E., Trinquet, E., Pin, J.-P., & Durroux, T. (2012). BRET and Time-resolved FRET strategy to study GPCR oligomerization: From cell lines toward native tissues. *Frontiers in Endocrinology*, *3*, 92. <https://doi.org/10.3389/fendo.2012.00092>
- Coutureau, E., & Killcross, S. (2003). Inactivation of the infralimbic prefrontal cortex reinstates goal-directed responding in overtrained rats. *Behavioural Brain Research*, *146*(1-2), 167-174. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2003.09.025>
- Coutureau, E., Marchand, A. R., & Di Scala, G. (2009). Goal-directed responding is sensitive to lesions to the prelimbic cortex or basolateral nucleus of the amygdala but not to their disconnection. *Behavioral Neuroscience*, *123*(2), 443-448. <https://doi.org/10.1037/a0014818>
- Critchley, H. D., & Rolls, E. T. (1996). Hunger and satiety modify the responses of olfactory and visual neurons in the primate orbitofrontal cortex. *Journal of Neurophysiology*, *75*(4), 1673-1686. <https://doi.org/10.1152/jn.1996.75.4.1673>
- Cserép, C., Szabadits, E., Szőnyi, A., Watanabe, M., Freund, T. F., & Nyíri, G. (2012). NMDA receptors in GABAergic synapses during postnatal development. *PLoS One*, *7*(5), e37753. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0037753>
- Cui, C., Xu, M., & Atzori, M. (2006). Voltage-dependent block of N-methyl-D-aspartate receptors by dopamine D1 receptor ligands. *Molecular*

- Pharmacology*, 70(5), 1761-1770.
<https://doi.org/10.1124/mol.106.028332>
- Culbreth, A. J., Gold, J. M., Cools, R., & Barch, D. M. (2016). Impaired Activation in Cognitive Control Regions Predicts Reversal Learning in Schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin*, 42(2), 484-493.
<https://doi.org/10.1093/schbul/sbv075>
- Cullen, B., Ward, J., Graham, N. A., Deary, I. J., Pell, J. P., Smith, D. J., & Evans, J. J. (2016). Prevalence and correlates of cognitive impairment in euthymic adults with bipolar disorder: A systematic review. *Journal of Affective Disorders*, 205, 165-181.
<https://doi.org/10.1016/j.jad.2016.06.063>
- Cunha, A. M., Teixeira, F. G., Guimarães, M. R., Esteves, M., Pereira-Mendes, J., Soares, A. R., Almeida, A., Sousa, N., Salgado, A. J., & Leite-Almeida, H. (2020). Unilateral accumbal dopamine depletion affects decision-making in a side-specific manner. *Experimental Neurology*, 327, 113221.
<https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2020.113221>
- Dahlstroem, A., & Fuxe, K. (1964). EVIDENCE FOR THE EXISTENCE OF MONOAMINE-CONTAINING NEURONS IN THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM. I. DEMONSTRATION OF MONOAMINES IN THE CELL BODIES OF BRAIN STEM NEURONS. *Acta Physiologica Scandinavica. Supplementum*, SUPPL 232:1-55.
- Dale, N. C., Johnstone, E. K. M., & Pflieger, K. D. G. (2022). GPCR heteromers: An overview of their classification, function and physiological relevance. *Frontiers in Endocrinology*, 13, 931573.
<https://doi.org/10.3389/fendo.2022.931573>
- Dallérac, G., Li, X., Lecouflet, P., Morisot, N., Sacchi, S., Asselot, R., Pham, T. H., Potier, B., Watson, D. J. G., Schmidt, S., Levasseur, G., Fossat, P., Besedin, A., Rivet, J.-M., Coyle, J. T., Collo, G., Pollegioni, L., Kehr, J., Galante, M., ... Mothet, J.-P. (2021). Dopaminergic neuromodulation of prefrontal cortex activity requires the NMDA receptor coagonist d-serine. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 118(23), e2023750118.
<https://doi.org/10.1073/pnas.2023750118>
- Dalton, G. L., Phillips, A. G., & Floresco, S. B. (2014). Preferential involvement by nucleus accumbens shell in mediating probabilistic learning and reversal shifts. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 34(13), 4618-4626.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5058-13.2014>
- Dalton, G. L., Wang, N. Y., Phillips, A. G., & Floresco, S. B. (2016). Multifaceted Contributions by Different Regions of the Orbitofrontal and Medial Prefrontal Cortex to Probabilistic Reversal Learning. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 36(6), 1996-2006.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3366-15.2016>
- Daneshparvar, H., Sadat-Shirazi, M.-S., Fekri, M., Khalifeh, S., Ziaie, A., Esfahanizadeh, N., Vousooghi, N., & Zarrindast, M.-R. (2019). NMDA receptor subunits change in the prefrontal cortex of pure-opioid and multi-drug abusers: A post-mortem study. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*, 269(3), 309-315.
<https://doi.org/10.1007/s00406-018-0900-8>
- Darvish-Ghane, S., Quintana, C., Beaulieu, J.-M., & Martin, L. J. (2020). D1 receptors in the anterior cingulate cortex modulate basal mechanical sensitivity threshold and glutamatergic synaptic transmission. *Molecular Brain*, 13(1), 121.
<https://doi.org/10.1186/s13041-020-00661-x>
- Daubner, S. C., Le, T., & Wang, S. (2011). Tyrosine hydroxylase and regulation of dopamine synthesis. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 508(1), 1-12.
<https://doi.org/10.1016/j.abb.2010.12.017>
- Daw, N., & O'Doherty, J. (2014). Multiple Systems for Value Learning. In *Neuroeconomics: Decision Making and the Brain: Second Edition* (p. 393-410). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416008-8.00021-8>
- De Bruin, J. P., Feenstra, M. G., Broersen, L. M., Van Leeuwen, M., Arens, C., De Vries, S., & Joosten, R. N. (2000). Role of the prefrontal cortex of the rat in learning and decision making: Effects of transient inactivation. *Progress in Brain Research*, 126, 103-113.
[https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(00\)26010-X](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(00)26010-X)
- De Mei, C., Ramos, M., Iitaka, C., & Borrelli, E. (2009). Getting specialized: Presynaptic and postsynaptic dopamine D2 receptors. *Current Opinion in Pharmacology*, 9(1), 53-58.
<https://doi.org/10.1016/j.coph.2008.12.002>
- de Borchgrave, R., Rawlins, J. N. P., Dickinson, A., & Balleine, B. W. (2002). Effects of cytotoxic nucleus accumbens lesions on instrumental conditioning in rats. *Experimental Brain Research*, 144(1), 50-68.
<https://doi.org/10.1007/s00221-002-1031-y>
- Descarries, L., Watkins, K. C., Garcia, S., Bosler, O., & Doucet, G. (1996). Dual character, asynchronous

- and synaptic, of the dopamine innervation in adult rat neostriatum: A quantitative autoradiographic and immunocytochemical analysis. *The Journal of Comparative Neurology*, 375(2), 167-186. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9861\(19961111\)375:2<167::AID-CNE1>3.0.CO;2-0](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9861(19961111)375:2<167::AID-CNE1>3.0.CO;2-0)
- de Wit, S., Corlett, P. R., Aitken, M. R., Dickinson, A., & Fletcher, P. C. (2009). Differential engagement of the ventromedial prefrontal cortex by goal-directed and habitual behavior toward food pictures in humans. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 29(36), 11330-11338. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1639-09.2009>
- de Wit, S., Ridderinkhof, K. R., Fletcher, P. C., & Dickinson, A. (2013). Resolution of outcome-induced response conflict by humans after extended training. *Psychological Research*, 77(6), 780-793. <https://doi.org/10.1007/s00426-012-0467-3>
- de Wit, S., Watson, P., Harsay, H. A., Cohen, M. X., van de Vijver, I., & Ridderinkhof, K. R. (2012). Corticostriatal connectivity underlies individual differences in the balance between habitual and goal-directed action control. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 32(35), 12066-12075. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1088-12.2012>
- Dickstein, D. P., Finger, E. C., Skup, M., Pine, D. S., Blair, J. R., & Leibenluft, E. (2010). Altered neural function in pediatric bipolar disorder during reversal learning. *Bipolar Disorders*, 12(7), 707-719. <https://doi.org/10.1111/j.1399-5618.2010.00863.x>
- Diering, G. H., & Haganir, R. L. (2018). The AMPA Receptor Code of Synaptic Plasticity. *Neuron*, 100(2), 314-329. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.10.018>
- Divito, C. B., & Underhill, S. M. (2014). Excitatory amino acid transporters: Roles in glutamatergic neurotransmission. *Neurochemistry International*, 73, 172-180. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2013.12.008>
- Doumazane, E., Scholler, P., Fabre, L., Zwier, J. M., Trinquet, E., Pin, J.-P., & Rondard, P. (2013). Illuminating the activation mechanisms and allosteric properties of metabotropic glutamate receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(15), E1416-1425. <https://doi.org/10.1073/pnas.1215615110>
- Dunah, A. W., & Standaert, D. G. (2001). Dopamine D1 receptor-dependent trafficking of striatal NMDA glutamate receptors to the postsynaptic membrane. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 21(15), 5546-5558. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.21-15-05546.2001>
- Dupuis, J. P., & Groc, L. (2020). Surface trafficking of neurotransmitter receptors: From cultured neurons to intact brain preparations. *Neuropharmacology*, 169, 107642. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2019.05.019>
- El Moustaine, D., Granier, S., Doumazane, E., Scholler, P., Rahmeh, R., Bron, P., Mouillac, B., Banères, J.-L., Rondard, P., & Pin, J.-P. (2012). Distinct roles of metabotropic glutamate receptor dimerization in agonist activation and G-protein coupling. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(40), 16342-16347. <https://doi.org/10.1073/pnas.1205838109>
- Ellwood, I. T., Patel, T., Wadia, V., Lee, A. T., Liptak, A. T., Bender, K. J., & Sohal, V. S. (2017). Tonic or Phasic Stimulation of Dopaminergic Projections to Prefrontal Cortex Causes Mice to Maintain or Deviate from Previously Learned Behavioral Strategies. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 37(35), 8315-8329. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1221-17.2017>
- Enoch, M.-A., Rosser, A. A., Zhou, Z., Mash, D. C., Yuan, Q., & Goldman, D. (2014). Expression of glutamatergic genes in healthy humans across 16 brain regions; altered expression in the hippocampus after chronic exposure to alcohol or cocaine. *Genes, Brain, and Behavior*, 13(8), 758-768. <https://doi.org/10.1111/gbb.12179>
- Erö, C., Gewaltig, M.-O., Keller, D., & Markram, H. (2018). A Cell Atlas for the Mouse Brain. *Frontiers in Neuroinformatics*, 12, 84. <https://doi.org/10.3389/fninf.2018.00084>
- Eskenazi, D., Malave, L., Mingote, S., Yetnikoff, L., Ztaou, S., Velicu, V., Rayport, S., & Chuhma, N. (2021). Dopamine Neurons That Cotransmit Glutamate, From Synapses to Circuits to Behavior. *Frontiers in Neural Circuits*, 15, 665386. <https://doi.org/10.3389/fncir.2021.665386>
- Etkin, A., Gyurak, A., & O'Hara, R. (2013). A neurobiological approach to the cognitive deficits of psychiatric disorders. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 15(4), 419-429. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2013.15.4/aetkin>

- Euston, D. R., Gruber, A. J., & McNaughton, B. L. (2012). The Role of Medial Prefrontal Cortex in Memory and Decision Making. *Neuron*, 76(6), 1057-1070. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.12.002>
- Evans, A. J., Gurung, S., Henley, J. M., Nakamura, Y., & Wilkinson, K. A. (2019). Exciting Times : New Advances Towards Understanding the Regulation and Roles of Kainate Receptors. *Neurochemical Research*, 44(3), 572-584. <https://doi.org/10.1007/s11064-017-2450-2>
- Faget, L., Osakada, F., Duan, J., Ressler, R., Johnson, A. B., Proudfoot, J. A., Yoo, J. H., Callaway, E. M., & Hnasko, T. S. (2016). Afferent Inputs to Neurotransmitter-Defined Cell Types in the Ventral Tegmental Area. *Cell Reports*, 15(12), 2796-2808. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2016.05.057>
- Falcón-Moya, R., & Rodríguez-Moreno, A. (2021). Metabotropic actions of kainate receptors modulating glutamate release. *Neuropharmacology*, 197, 108696. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2021.108696>
- Fan, X., Jin, W. Y., & Wang, Y. T. (2014). The NMDA receptor complex : A multifunctional machine at the glutamatergic synapse. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 8, 160. <https://doi.org/10.3389/fncel.2014.00160>
- Fellows, L. K., & Farah, M. J. (2003). Ventromedial frontal cortex mediates affective shifting in humans : Evidence from a reversal learning paradigm. *Brain: A Journal of Neurology*, 126(Pt 8), 1830-1837. <https://doi.org/10.1093/brain/awg180>
- Fernández-Dueñas, V., Bonaventura, J., Aso, E., Luján, R., Ferré, S., & Ciruela, F. (2022). Overcoming the Challenges of Detecting GPCR Oligomerization in the Brain. *Current Neuropharmacology*, 20(6), 1035-1045. <https://doi.org/10.2174/1570159X19666211104145727>
- Fernández-Dueñas, V., Taura, J. J., Cottet, M., Gómez-Soler, M., López-Cano, M., Ledent, C., Watanabe, M., Trinquet, E., Pin, J.-P., Luján, R., Durroux, T., & Ciruela, F. (2015). Untangling dopamine-adenosine receptor-receptor assembly in experimental parkinsonism in rats. *Disease Models & Mechanisms*, 8(1), 57-63. <https://doi.org/10.1242/dmm.018143>
- Ferrada, C., Moreno, E., Casadó, V., Bongers, G., Cortés, A., Mallol, J., Canela, E. I., Leurs, R., Ferré, S., Lluís, C., & Franco, R. (2009). Marked changes in signal transduction upon heteromerization of dopamine D1 and histamine H3 receptors. *British Journal of Pharmacology*, 157(1), 64-75. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2009.00152.x>
- Ferré, S., Baler, R., Bouvier, M., Caron, M. G., Devi, L. A., Durroux, T., Fuxe, K., George, S. R., Javitch, J. A., Lohse, M. J., Mackie, K., Milligan, G., Pflieger, K. D. G., Pin, J.-P., Volkow, N. D., Waldhoer, M., Woods, A. S., & Franco, R. (2009). Building a new conceptual framework for receptor heteromers. *Nature Chemical Biology*, 5(3), 131-134. <https://doi.org/10.1038/nchembio0309-131>
- Ferré, S., & Ciruela, F. (2019). Functional and Neuroprotective Role of Striatal Adenosine A2A Receptor Heterotetramers. *Journal of Caffeine and Adenosine Research*, 9(3), 89-97. <https://doi.org/10.1089/caff.2019.0008>
- Ferré, S., Quiroz, C., Woods, A. S., Cunha, R., Popoli, P., Ciruela, F., Lluís, C., Franco, R., Azdad, K., & Schiffmann, S. N. (2008). An update on adenosine A2A-dopamine D2 receptor interactions : Implications for the function of G protein-coupled receptors. *Current Pharmaceutical Design*, 14(15), 1468-1474. <https://doi.org/10.2174/138161208784480108>
- Fillmore, M. T., & Rush, C. R. (2006). Polydrug abusers display impaired discrimination-reversal learning in a model of behavioural control. *Journal of Psychopharmacology (Oxford, England)*, 20(1), 24-32. <https://doi.org/10.1177/0269881105057000>
- Florentini, C., Busi, C., Gorruso, E., Gotti, C., Spano, P., & Missale, C. (2008). Reciprocal regulation of dopamine D1 and D3 receptor function and trafficking by heterodimerization. *Molecular Pharmacology*, 74(1), 59-69. <https://doi.org/10.1124/mol.107.043885>
- Florentini, C., Gardoni, F., Spano, P., Di Luca, M., & Missale, C. (2003). Regulation of dopamine D1 receptor trafficking and desensitization by oligomerization with glutamate N-methyl-D-aspartate receptors. *The Journal of Biological Chemistry*, 278(22), 20196-20202. <https://doi.org/10.1074/jbc.M213140200>
- Fitoussi, A., Renault, P., Le Moine, C., Coutureau, E., Cador, M., & Dellu-Hagedorn, F. (2018). Inter-individual differences in decision-making, flexible and goal-directed behaviors : Novel insights within the prefronto-striatal networks. *Brain Structure & Function*, 223(2), 897-912. <https://doi.org/10.1007/s00429-017-1530-z>
- Floresco, S. B. (2015). The nucleus accumbens : An interface between cognition, emotion, and

- action. *Annual Review of Psychology*, 66, 25-52.
<https://doi.org/10.1146/annurev-psych-010213-115159>
- Floresco, S. B., Block, A. E., & Tse, M. T. L. (2008). Inactivation of the medial prefrontal cortex of the rat impairs strategy set-shifting, but not reversal learning, using a novel, automated procedure. *Behavioural Brain Research*, 190(1), 85-96.
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2008.02.008>
- Floresco, S. B., Magyar, O., Ghods-Sharifi, S., Vexelman, C., & Tse, M. T. L. (2006). Multiple dopamine receptor subtypes in the medial prefrontal cortex of the rat regulate set-shifting. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 31(2), 297-309.
<https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300825>
- Floresco, S. B., West, A. R., Ash, B., Moore, H., & Grace, A. A. (2003). Afferent modulation of dopamine neuron firing differentially regulates tonic and phasic dopamine transmission. *Nature Neuroscience*, 6(9), 968-973.
<https://doi.org/10.1038/nn1103>
- Flores-Hernández, J., Cepeda, C., Hernández-Echeagaray, E., Calvert, C. R., Jokel, E. S., Fienberg, A. A., Greengard, P., & Levine, M. S. (2002). Dopamine enhancement of NMDA currents in dissociated medium-sized striatal neurons: Role of D1 receptors and DARPP-32. *Journal of Neurophysiology*, 88(6), 3010-3020.
<https://doi.org/10.1152/jn.00361.2002>
- Ford, C. P. (2014). The role of D2-autoreceptors in regulating dopamine neuron activity and transmission. *Neuroscience*, 282, 13-22.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2014.01.025>
- Förster, T. (2012). Energy migration and fluorescence. 1946. *Journal of Biomedical Optics*, 17(1), 011002.
<https://doi.org/10.1117/1.JBO.17.1.011002>
- Förster, Th. (1948). Zwischenmolekulare Energiewanderung und Fluoreszenz. *Annalen der Physik*, 437(1-2), 55-75.
<https://doi.org/10.1002/andp.19484370105>
- Fortune, E. S., & Rose, G. J. (2002). Roles for short-term synaptic plasticity in behavior. *Journal of Physiology, Paris*, 96(5-6), 539-545.
[https://doi.org/10.1016/S0928-4257\(03\)00009-3](https://doi.org/10.1016/S0928-4257(03)00009-3)
- Foster, K. A., McLaughlin, N., Edbauer, D., Phillips, M., Bolton, A., Constantine-Paton, M., & Sheng, M. (2010). Distinct roles of NR2A and NR2B cytoplasmic tails in long-term potentiation. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 30(7), 2676-2685.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4022-09.2010>
- Franklin, K., & Paxinos, G. (2001). *The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates*: Academic Press.
- Frederick, A. L., Yano, H., Trifileff, P., Vishwasrao, H. D., Biezonski, D., Mészáros, J., Urizar, E., Sibley, D. R., Kellendonk, C., Sonntag, K. C., Graham, D. L., Colbran, R. J., Stanwood, G. D., & Javitch, J. A. (2015). Evidence against dopamine D1/D2 receptor heteromers. *Molecular Psychiatry*, 20(11), 1373-1385.
<https://doi.org/10.1038/mp.2014.166>
- Fredriksson, S., Gullberg, M., Jarvius, J., Olsson, C., Pietras, K., Gústafsdóttir, S. M., Ostman, A., & Landegren, U. (2002). Protein detection using proximity-dependent DNA ligation assays. *Nature Biotechnology*, 20(5), 473-477.
<https://doi.org/10.1038/nbt0502-473>
- Friedman, N. P., & Robbins, T. W. (2022). The role of prefrontal cortex in cognitive control and executive function. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 47(1), 72-89.
<https://doi.org/10.1038/s41386-021-01132-0>
- Furlanis, E., Traunmüller, L., Fucile, G., & Scheiffele, P. (2019). Landscape of ribosome-engaged transcript isoforms reveals extensive neuronal-cell-class-specific alternative splicing programs. *Nature Neuroscience*, 22(10), 1709-1717.
<https://doi.org/10.1038/s41593-019-0465-5>
- Fuxe, K., Agnati, L. F., Benfenati, F., Celani, M., Zini, I., Zoli, M., & Mutt, V. (1983). Evidence for the existence of receptor—Receptor interactions in the central nervous system. Studies on the regulation of monoamine receptors by neuropeptides. *Journal of Neural Transmission. Supplementum*, 18, 165-179.
- Fuxe, K., Agnati, L. F., Marcoli, M., & Borroto-Escuela, D. O. (2015). Volume Transmission in Central Dopamine and Noradrenaline Neurons and Its Astroglial Targets. *Neurochemical Research*, 40(12), 2600-2614.
<https://doi.org/10.1007/s11064-015-1574-5>
- Fuxe, K., Borroto-Escuela, D. O., Marcellino, D., Romero-Fernandez, W., Frankowska, M., Guidolin, D., Filip, M., Ferraro, L., Woods, A. S., Tarakanov, A., Ciruela, F., Agnati, L. F., & Tanganelli, S. (2012). GPCR heteromers and their allosteric receptor-receptor interactions. *Current*

- Medicinal Chemistry*, 19(3), 356-363.
<https://doi.org/10.2174/092986712803414259>
- Gabbott, P. L. A., Warner, T. A., Jays, P. R. L., Salway, P., & Busby, S. J. (2005). Prefrontal cortex in the rat : Projections to subcortical autonomic, motor, and limbic centers. *The Journal of Comparative Neurology*, 492(2), 145-177.
<https://doi.org/10.1002/cne.20738>
- Gagnon, D., Petryszyn, S., Sanchez, M. G., Bories, C., Beaulieu, J. M., De Koninck, Y., Parent, A., & Parent, M. (2017). Striatal Neurons Expressing D1 and D2 Receptors are Morphologically Distinct and Differently Affected by Dopamine Denervation in Mice. *Scientific Reports*, 7, 41432. <https://doi.org/10.1038/srep41432>
- Gallo, E. F. (2019). Disentangling the diverse roles of dopamine D2 receptors in striatal function and behavior. *Neurochemistry International*, 125, 35-46.
<https://doi.org/10.1016/j.neuint.2019.01.022>
- Gallo, E. F., Greenwald, J., Yeisley, J., Teboul, E., Martyniuk, K. M., Villarin, J. M., Li, Y., Javitch, J. A., Balsam, P. D., & Kellendonk, C. (2022). Dopamine D2 receptors modulate the cholinergic pause and inhibitory learning. *Molecular Psychiatry*, 27(3), 1502-1514.
<https://doi.org/10.1038/s41380-021-01364-y>
- Gallo, E. F., Meszaros, J., Sherman, J. D., Chohan, M. O., Teboul, E., Choi, C. S., Moore, H., Javitch, J. A., & Kellendonk, C. (2018). Accumbens dopamine D2 receptors increase motivation by decreasing inhibitory transmission to the ventral pallidum. *Nature Communications*, 9(1), 1086.
<https://doi.org/10.1038/s41467-018-03272-2>
- Gangarossa, G., Espallergues, J., de Kerchove d'Exaerde, A., El Mestikawy, S., Gerfen, C. R., Hervé, D., Girault, J.-A., & Valjent, E. (2013). Distribution and compartmental organization of GABAergic medium-sized spiny neurons in the mouse nucleus accumbens. *Frontiers in Neural Circuits*, 7, 22.
<https://doi.org/10.3389/fncir.2013.00022>
- Gangarossa, G., Espallergues, J., Maily, P., De Bundel, D., de Kerchove d'Exaerde, A., Hervé, D., Girault, J.-A., Valjent, E., & Krieger, P. (2013). Spatial distribution of D1R- and D2R-expressing medium-sized spiny neurons differs along the rostro-caudal axis of the mouse dorsal striatum. *Frontiers in Neural Circuits*, 7, 124.
<https://doi.org/10.3389/fncir.2013.00124>
- Gao, C., & Wolf, M. E. (2008). Dopamine receptors regulate NMDA receptor surface expression in prefrontal cortex neurons. *Journal of Neurochemistry*, 106(6), 2489-2501.
<https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2008.05597.x>
- Garr, E., & Delamater, A. R. (2019). Exploring the relationship between actions, habits, and automaticity in an action sequence task. *Learning & Memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, 26(4), 128-132.
<https://doi.org/10.1101/lm.048645.118>
- Garris, P. A., Collins, L. B., Jones, S. R., & Wightman, R. M. (1993). Evoked extracellular dopamine in vivo in the medial prefrontal cortex. *Journal of Neurochemistry*, 61(2), 637-647.
<https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1993.tb02168.x>
- Ghods-Sharifi, S., Haluk, D. M., & Floresco, S. B. (2008). Differential effects of inactivation of the orbitofrontal cortex on strategy set-shifting and reversal learning. *Neurobiology of Learning and Memory*, 89(4), 567-573.
<https://doi.org/10.1016/j.nlm.2007.10.007>
- Ginés, S., Hillion, J., Torvinen, M., Le Crom, S., Casadó, V., Canela, E. I., Rondin, S., Lew, J. Y., Watson, S., Zoli, M., Agnati, L. F., Verniera, P., Lluís, C., Ferré, S., Fuxe, K., & Franco, R. (2000). Dopamine D1 and adenosine A1 receptors form functionally interacting heteromeric complexes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(15), 8606-8611.
<https://doi.org/10.1073/pnas.150241097>
- Girault, J.-A., & Nairn, A. C. (2021). DARPP-32 40 years later. *Advances in Pharmacology (San Diego, Calif.)*, 90, 67-87.
<https://doi.org/10.1016/bs.apha.2020.09.004>
- Giros, B., Sokoloff, P., Martres, M. P., Riou, J. F., Emorine, L. J., & Schwartz, J. C. (1989). Alternative splicing directs the expression of two D2 dopamine receptor isoforms. *Nature*, 342(6252), 923-926.
<https://doi.org/10.1038/342923a0>
- Gladding, C. M., & Raymond, L. A. (2011). Mechanisms underlying NMDA receptor synaptic/extrasynaptic distribution and function. *Molecular and Cellular Neurosciences*, 48(4), 308-320.
<https://doi.org/10.1016/j.mcn.2011.05.001>
- Gold, J. I., & Shadlen, M. N. (2007). The neural basis of decision making. *Annual Review of Neuroscience*, 30, 535-574.
<https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.29.051605.113038>
- Gold, J. M., Waltz, J. A., Prentice, K. J., Morris, S. E., & Heerey, E. A. (2008). Reward processing in

- schizophrenia : A deficit in the representation of value. *Schizophrenia Bulletin*, 34(5), 835-847. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbn068>
- Gomes, I., Ayoub, M. A., Fujita, W., Jaeger, W. C., Pflieger, K. D. G., & Devi, L. A. (2016). G Protein-Coupled Receptor Heteromers. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 56, 403-425. <https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-011613-135952>
- Gomes, I., Gupta, A., Filipovska, J., Szeto, H. H., Pintar, J. E., & Devi, L. A. (2004). A role for heterodimerization of mu and delta opiate receptors in enhancing morphine analgesia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(14), 5135-5139. <https://doi.org/10.1073/pnas.0307601101>
- Gomes, I., Sierra, S., & Devi, L. A. (2016). Detection of Receptor Heteromerization Using In Situ Proximity Ligation Assay. *Current protocols in pharmacology*, 75, 2.16.1-2.16.31. <https://doi.org/10.1002/cpph.15>
- Gonzales, K. K., & Smith, Y. (2015). Cholinergic interneurons in the dorsal and ventral striatum : Anatomical and functional considerations in normal and diseased conditions. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1349(1), 1-45. <https://doi.org/10.1111/nyas.12762>
- Gonzalez-Islas, C., & Hablitz, J. J. (2003). Dopamine enhances EPSCs in layer II-III pyramidal neurons in rat prefrontal cortex. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 23(3), 867-875. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-03-00867.2003>
- Gourley, S. L., Lee, A. S., Howell, J. L., Pittenger, C., & Taylor, J. R. (2010). Dissociable regulation of instrumental action within mouse prefrontal cortex. *The European Journal of Neuroscience*, 32(10), 1726-1734. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2010.07438.x>
- Gourley, S. L., Zimmermann, K. S., Allen, A. G., & Taylor, J. R. (2016). The Medial Orbitofrontal Cortex Regulates Sensitivity to Outcome Value. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 36(16), 4600-4613. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4253-15.2016>
- Grabenhorst, F., Rolls, E. T., & Bilderbeck, A. (2008). How cognition modulates affective responses to taste and flavor : Top-down influences on the orbitofrontal and pregenual cingulate cortices. *Cerebral Cortex (New York, N.Y.: 1991)*, 18(7), 1549-1559. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhm185>
- Grace, A. A., Floresco, S. B., Goto, Y., & Lodge, D. J. (2007). Regulation of firing of dopaminergic neurons and control of goal-directed behaviors. *Trends in Neurosciences*, 30(5), 220-227. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2007.03.003>
- Graveland, G. A., & DiFiglia, M. (1985). The frequency and distribution of medium-sized neurons with indented nuclei in the primate and rodent neostriatum. *Brain Research*, 327(1-2), 307-311. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(85\)91524-0](https://doi.org/10.1016/0006-8993(85)91524-0)
- Gray, J. A., Shi, Y., Usui, H., During, M. J., Sakimura, K., & Nicoll, R. A. (2011). Distinct modes of AMPA receptor suppression at developing synapses by GluN2A and GluN2B : Analysis of single-cell GluN2 subunit deletion in vivo. *Neuron*, 71(6), 1085-1101. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.08.007>
- Green, M. F. (2006). Cognitive impairment and functional outcome in schizophrenia and bipolar disorder. *The Journal of Clinical Psychiatry*, 67 Suppl 9, 3-8; discussion 36-42.
- Green, S. M., Nathani, S., Zimmerman, J., Fireman, D., & Urs, N. M. (2020). Retrograde Labeling Illuminates Distinct Topographical Organization of D1 and D2 Receptor-Positive Pyramidal Neurons in the Prefrontal Cortex of Mice. *ENeuro*, 7(5), ENEURO.0194-20.2020. <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0194-20.2020>
- Greger, I. H., Watson, J. F., & Cull-Candy, S. G. (2017). Structural and Functional Architecture of AMPA-Type Glutamate Receptors and Their Auxiliary Proteins. *Neuron*, 94(4), 713-730. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.04.009>
- Gremel, C. M., Chancey, J. H., Atwood, B. K., Luo, G., Neve, R., Ramakrishnan, C., Deisseroth, K., Lovinger, D. M., & Costa, R. M. (2016). Endocannabinoid Modulation of Orbitofrontal Circuits Gates Habit Formation. *Neuron*, 90(6), 1312-1324. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.04.043>
- Gremel, C. M., & Costa, R. M. (2013). Orbitofrontal and striatal circuits dynamically encode the shift between goal-directed and habitual actions. *Nature Communications*, 4, 2264. <https://doi.org/10.1038/ncomms3264>
- Groc, L., Bard, L., & Choquet, D. (2009). Surface trafficking of N-methyl-D-aspartate receptors : Physiological and pathological perspectives.

- Neuroscience*, 158(1), 4-18.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2008.05.029>
- Groc, L., Heine, M., Cousins, S. L., Stephenson, F. A., Lounis, B., Cognet, L., & Choquet, D. (2006a). NMDA receptor surface mobility depends on NR2A-2B subunits. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(49), 18769-18774.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0605238103>
- Groc, L., Heine, M., Cousins, S. L., Stephenson, F. A., Lounis, B., Cognet, L., & Choquet, D. (2006b). NMDA receptor surface mobility depends on NR2A-2B subunits. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(49), 18769-18774.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0605238103>
- Groenewegen, H. J. (2003). The basal ganglia and motor control. *Neural Plasticity*, 10(1-2), 107-120.
<https://doi.org/10.1155/NP.2003.107>
- Grospe, G. M., Baker, P. M., & Ragozzino, M. E. (2018). Cognitive Flexibility Deficits Following 6-OHDA Lesions of the Rat Dorsomedial Striatum. *Neuroscience*, 374, 80-90.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2018.01.032>
- Guidolin, D., Marcoli, M., Tortorella, C., Maura, G., & Agnati, L. F. (2020). Adenosine A2A-dopamine D2 receptor-receptor interaction in neurons and astrocytes: Evidence and perspectives. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 169, 247-277.
<https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2019.11.004>
- Guitart, X., Navarro, G., Moreno, E., Yano, H., Cai, N.-S., Sánchez-Soto, M., Kumar-Barodia, S., Naidu, Y. T., Mallol, J., Cortés, A., Lluís, C., Canela, E. I., Casadó, V., McCormick, P. J., & Ferré, S. (2014). Functional selectivity of allosteric interactions within G protein-coupled receptor oligomers: The dopamine D1-D3 receptor heterotetramer. *Molecular Pharmacology*, 86(4), 417-429.
<https://doi.org/10.1124/mol.114.093096>
- Gupta, A., Mulder, J., Gomes, I., Rozenfeld, R., Bushlin, I., Ong, E., Lim, M., Maillet, E., Junek, M., Cahill, C. M., Harkany, T., & Devi, L. A. (2010). Increased abundance of opioid receptor heteromers after chronic morphine administration. *Science Signaling*, 3(131), ra54.
<https://doi.org/10.1126/scisignal.2000807>
- Guzman, M. S., De Jaeger, X., Raulic, S., Souza, I. A., Li, A. X., Schmid, S., Menon, R. S., Gainetdinov, R. R., Caron, M. G., Bartha, R., Prado, V. F., & Prado, M. A. M. (2011). Elimination of the vesicular acetylcholine transporter in the striatum reveals regulation of behaviour by cholinergic-glutamatergic co-transmission. *PLoS Biology*, 9(11), e1001194.
<https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001194>
- Halbout, B., Marshall, A. T., Azimi, A., Liljeholm, M., Mahler, S. V., Wassum, K. M., & Ostlund, S. B. (2019). Mesolimbic dopamine projections mediate cue-motivated reward seeking but not reward retrieval in rats. *eLife*, 8, e43551.
<https://doi.org/10.7554/eLife.43551>
- Hallett, P. J., Spoelgen, R., Hyman, B. T., Standaert, D. G., & Dunah, A. W. (2006). Dopamine D1 activation potentiates striatal NMDA receptors by tyrosine phosphorylation-dependent subunit trafficking. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 26(17), 4690-4700.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0792-06.2006>
- Haluk, D. M., & Floresco, S. B. (2009). Ventral striatal dopamine modulation of different forms of behavioral flexibility. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 34(8), 2041-2052.
<https://doi.org/10.1038/npp.2009.21>
- Hamilton, D. A., & Brigman, J. L. (2015). Behavioral flexibility in rats and mice: Contributions of distinct frontocortical regions. *Genes, Brain, and Behavior*, 14(1), 4-21.
<https://doi.org/10.1111/gbb.12191>
- Hamilton, J. P., Sacchet, M. D., Hjørnevik, T., Chin, F. T., Shen, B., Kämpe, R., Park, J. H., Knutson, B. D., Williams, L. M., Borg, N., Zaharchuk, G., Camacho, M. C., Mackey, S., Heilig, M., Drevets, W. C., Glover, G. H., Gambhir, S. S., & Gotlib, I. H. (2018). Striatal dopamine deficits predict reductions in striatal functional connectivity in major depression: A concurrent 11C-raclopride positron emission tomography and functional magnetic resonance imaging investigation. *Translational Psychiatry*, 8(1), 264.
<https://doi.org/10.1038/s41398-018-0316-2>
- Hampshire, A., Chaudhry, A. M., Owen, A. M., & Roberts, A. C. (2012). Dissociable roles for lateral orbitofrontal cortex and lateral prefrontal cortex during preference driven reversal learning. *NeuroImage*, 59(4), 4102-4112.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2011.10.072>
- Hampson, D., Rose, E., & Antflick, J. (2008). The Structures of Metabotropic Glutamate Receptors. In *The Glutamate Receptors* (p. 363-386).
https://doi.org/10.1007/978-1-59745-055-3_9

- Hansen, K. B., Wollmuth, L. P., Bowie, D., Furukawa, H., Menniti, F. S., Sobolevsky, A. I., Swanson, G. T., Swanger, S. A., Greger, I. H., Nakagawa, T., McBain, C. J., Jayaraman, V., Low, C.-M., Dell'Acqua, M. L., Diamond, J. S., Camp, C. R., Perszyk, R. E., Yuan, H., & Traynelis, S. F. (2021). Structure, Function, and Pharmacology of Glutamate Receptor Ion Channels. *Pharmacological Reviews*, *73*(4), 298-487. <https://doi.org/10.1124/pharmrev.120.000131>
- Hansen, K. B., Yi, F., Perszyk, R. E., Furukawa, H., Wollmuth, L. P., Gibb, A. J., & Traynelis, S. F. (2018). Structure, function, and allosteric modulation of NMDA receptors. *The Journal of General Physiology*, *150*(8), 1081-1105. <https://doi.org/10.1085/jgp.201812032>
- Hansen, K. B., Yi, F., Perszyk, R., Menniti, F. S., & Traynelis, S. F. (2017). NMDA receptors in the central nervous system. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, *1677*, 1-80. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7321-7_1
- Hare, T. A., O'Doherty, J., Camerer, C. F., Schultz, W., & Rangel, A. (2008). Dissociating the role of the orbitofrontal cortex and the striatum in the computation of goal values and prediction errors. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *28*(22), 5623-5630. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1309-08.2008>
- Hare, T. A., Schultz, W., Camerer, C. F., O'Doherty, J. P., & Rangel, A. (2011). Transformation of stimulus value signals into motor commands during simple choice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *108*(44), 18120-18125. <https://doi.org/10.1073/pnas.1109322108>
- Harnett, M. T., Bernier, B. E., Ahn, K.-C., & Morikawa, H. (2009). Burst-timing-dependent plasticity of NMDA receptor-mediated transmission in midbrain dopamine neurons. *Neuron*, *62*(6), 826-838. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2009.05.011>
- Harris, A., Adolphs, R., Camerer, C., & Rangel, A. (2011). Dynamic construction of stimulus values in the ventromedial prefrontal cortex. *PloS One*, *6*(6), e21074. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021074>
- Hart, G., & Balleine, B. W. (2016). Consolidation of Goal-Directed Action Depends on MAPK/ERK Signaling in Rodent Prelimbic Cortex. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *36*(47), 11974-11986. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1772-16.2016>
- Hart, G., Bradfield, L. A., & Balleine, B. W. (2018). Prefrontal Corticostriatal Disconnection Blocks the Acquisition of Goal-Directed Action. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *38*(5), 1311-1322. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2850-17.2017>
- Hart, G., Bradfield, L. A., Fok, S. Y., Chieng, B., & Balleine, B. W. (2018). The Bilateral Prefronto-striatal Pathway Is Necessary for Learning New Goal-Directed Actions. *Current Biology: CB*, *28*(14), 2218-2229.e7. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2018.05.028>
- Hasbi, A., Perreault, M. L., Shen, M. Y. F., Zhang, L., To, R., Fan, T., Nguyen, T., Ji, X., O'Dowd, B. F., & George, S. R. (2014). A peptide targeting an interaction interface disrupts the dopamine D1-D2 receptor heteromer to block signaling and function in vitro and in vivo : Effective selective antagonism. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, *28*(11), 4806-4820. <https://doi.org/10.1096/fj.14-254037>
- Hedou, G., Homberg, J., Feldon, J., & Heidbreder, C. A. (2001). Expression of sensitization to amphetamine and dynamics of dopamine neurotransmission in different laminae of the rat medial prefrontal cortex. *Neuropharmacology*, *40*(3), 366-382. [https://doi.org/10.1016/s0028-3908\(00\)00174-x](https://doi.org/10.1016/s0028-3908(00)00174-x)
- Heidbreder, C. A., & Groenewegen, H. J. (2003). The medial prefrontal cortex in the rat : Evidence for a dorso-ventral distinction based upon functional and anatomical characteristics. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *27*(6), 555-579. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2003.09.003>
- Heiman, M., Schaefer, A., Gong, S., Peterson, J., Day, M., Ramsey, K. E., Suárez-Fariñas, M., Schwarz, C., Stephan, D. A., Surmeier, D. J., Greengard, P., & Heintz, N. (2008). Development of a BACarray translational profiling approach for the molecular characterization of CNS cell types. *Cell*, *135*(4), 738-748. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.10.028>
- Heimer, L., Zahm, D. S., Churchill, L., Kalivas, P. W., & Wohltmann, C. (1991). Specificity in the projection patterns of accumbal core and shell in the rat. *Neuroscience*, *41*(1), 89-125. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(91\)90202-y](https://doi.org/10.1016/0306-4522(91)90202-y)
- Hemby, S. E., Horman, B., & Tang, W. (2005). Differential regulation of ionotropic glutamate receptor subunits following cocaine self-administration.

- Brain Research*, 1064(1-2), 75-82.
<https://doi.org/10.1016/j.brainres.2005.09.051>
- Hemby, S. E., Tang, W., Muly, E. C., Kuhar, M. J., Howell, L., & Mash, D. C. (2005). Cocaine-induced alterations in nucleus accumbens ionotropic glutamate receptor subunits in human and non-human primates. *Journal of Neurochemistry*, 95(6), 1785-1793.
<https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2005.03517.x>
- Hendriks, A. E. M., Nederkoorn, C., van Lier, I. M. J., van Belkom, B., Bast, A., & Havermans, R. C. (2021). Sensory-specific satiety, the variety effect and physical context: Does change of context during a meal enhance food intake? *Appetite*, 163, 105179.
<https://doi.org/10.1016/j.appet.2021.105179>
- Henle, F., Dehmel, M., Leemhuis, J., Fischer, C., & Meyer, D. K. (2012). Role of GluN2A and GluN2B subunits in the formation of filopodia and secondary dendrites in cultured hippocampal neurons. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 385(2), 171-180.
<https://doi.org/10.1007/s00210-011-0701-3>
- Herculano-Houzel, S., Mota, B., & Lent, R. (2006). Cellular scaling rules for rodent brains. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(32), 12138-12143.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0604911103>
- Hernaus, D., Xu, Z., Brown, E. C., Ruiz, R., Frank, M. J., Gold, J. M., & Waltz, J. A. (2018). Motivational deficits in schizophrenia relate to abnormalities in cortical learning rate signals. *Cognitive, Affective & Behavioral Neuroscience*, 18(6), 1338-1351. <https://doi.org/10.3758/s13415-018-0643-z>
- Higley, M. J., Gittis, A. H., Oldenburg, I. A., Balthasar, N., Seal, R. P., Edwards, R. H., Lowell, B. B., Kreitzer, A. C., & Sabatini, B. L. (2011). Cholinergic interneurons mediate fast VGluT3-dependent glutamatergic transmission in the striatum. *PLoS One*, 6(4), e19155.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0019155>
- Hillion, J., Canals, M., Torvinen, M., Casado, V., Scott, R., Terasmaa, A., Hansson, A., Watson, S., Olah, M. E., Mallol, J., Canela, E. I., Zoli, M., Agnati, L. F., Ibanez, C. F., Lluís, C., Franco, R., Ferré, S., & Fuxe, K. (2002). Coaggregation, cointernalization, and codesensitization of adenosine A2A receptors and dopamine D2 receptors. *The Journal of Biological Chemistry*, 277(20), 18091-18097.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M107731200>
- Hirasawa, T., Wada, H., Kohsaka, S., & Uchino, S. (2003). Inhibition of NMDA receptors induces delayed neuronal maturation and sustained proliferation of progenitor cells during neocortical development. *Journal of Neuroscience Research*, 74(5), 676-687.
<https://doi.org/10.1002/jnr.10795>
- Hnasko, T. S., Chuhma, N., Zhang, H., Goh, G. Y., Sulzer, D., Palmiter, R. D., Rayport, S., & Edwards, R. H. (2010). Vesicular glutamate transport promotes dopamine storage and glutamate corelease in vivo. *Neuron*, 65(5), 643-656.
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.02.012>
- Hnasko, T. S., Hjelmstad, G. O., Fields, H. L., & Edwards, R. H. (2012). Ventral tegmental area glutamate neurons: Electrophysiological properties and projections. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 32(43), 15076-15085.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3128-12.2012>
- Hogarth, L., Lam-Cassettari, C., Pacitti, H., Currah, T., Mahlberg, J., Hartley, L., & Moustafa, A. (2019). Intact goal-directed control in treatment-seeking drug users indexed by outcome-devaluation and Pavlovian to instrumental transfer: Critique of habit theory. *The European Journal of Neuroscience*, 50(3), 2513-2525.
<https://doi.org/10.1111/ejn.13961>
- Hoover, W. B., & Vertes, R. P. (2007). Anatomical analysis of afferent projections to the medial prefrontal cortex in the rat. *Brain Structure & Function*, 212(2), 149-179.
<https://doi.org/10.1007/s00429-007-0150-4>
- Hoover, W. B., & Vertes, R. P. (2011). Projections of the medial orbital and ventral orbital cortex in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 519(18), 3766-3801.
<https://doi.org/10.1002/cne.22733>
- Hornak, J., O'Doherty, J., Bramham, J., Rolls, E. T., Morris, R. G., Bullock, P. R., & Polkey, C. E. (2004). Reward-related reversal learning after surgical excisions in orbito-frontal or dorsolateral prefrontal cortex in humans. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 16(3), 463-478.
<https://doi.org/10.1162/089892904322926791>
- Hu, H., Gan, J., & Jonas, P. (2014). Interneurons. Fast-spiking, parvalbumin⁺ GABAergic interneurons: From cellular design to microcircuit function. *Science (New York, N.Y.)*, 345(6196), 1255-1263.
<https://doi.org/10.1126/science.1255263>
- Hu, J.-L., Liu, G., Li, Y.-C., Gao, W.-J., & Huang, Y.-Q. (2010). Dopamine D1 receptor-mediated NMDA receptor insertion depends on Fyn but not Src

- kinase pathway in prefrontal cortical neurons. *Molecular Brain*, 3, 20. <https://doi.org/10.1186/1756-6606-3-20>
- Huang, L., Wu, D.-D., Zhang, L., & Feng, L.-Y. (2013). Modulation of A_{2a} receptor antagonist on D₂ receptor internalization and ERK phosphorylation. *Acta Pharmacologica Sinica*, 34(10), 1292-1300. <https://doi.org/10.1038/aps.2013.87>
- Huang, Y.-Y., Simpson, E., Kellendonk, C., & Kandel, E. R. (2004). Genetic evidence for the bidirectional modulation of synaptic plasticity in the prefrontal cortex by D1 receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(9), 3236-3241. <https://doi.org/10.1073/pnas.0308280101>
- Hunt, D. L., & Castillo, P. E. (2012). Synaptic plasticity of NMDA receptors: Mechanisms and functional implications. *Current Opinion in Neurobiology*, 22(3), 496-508. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2012.01.007>
- Huppé-Gourgues, F., & O'Donnell, P. (2012). D₁-NMDA receptor interactions in the rat nucleus accumbens change during adolescence. *Synapse (New York, N.Y.)*, 66(7), 584-591. <https://doi.org/10.1002/syn.21544>
- Ibáñez-Sandoval, O., Tecuapetla, F., Unal, B., Shah, F., Koós, T., & Tepper, J. M. (2011). A novel functionally distinct subtype of striatal neuropeptide Y interneuron. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 31(46), 16757-16769. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2628-11.2011>
- Izquierdo, A. (2017). Functional Heterogeneity within Rat Orbitofrontal Cortex in Reward Learning and Decision Making. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 37(44), 10529-10540. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1678-17.2017>
- Izquierdo, A., Brigman, J. L., Radke, A. K., Rudebeck, P. H., & Holmes, A. (2017). The neural basis of reversal learning: An updated perspective. *Neuroscience*, 345, 12-26. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2016.03.021>
- Izquierdo, A., & Jentsch, J. D. (2012). Reversal learning as a measure of impulsive and compulsive behavior in addictions. *Psychopharmacology*, 219(2), 607-620. <https://doi.org/10.1007/s00213-011-2579-7>
- Jääskeläinen, I. P., Ahveninen, J., Andermann, M. L., Belliveau, J. W., Raij, T., & Sams, M. (2011). Short-term plasticity as a neural mechanism supporting memory and attentional functions. *Brain Research*, 1422, 66-81. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2011.09.031>
- Jansma, J. M., Ramsey, N. F., van der Wee, N. J. A., & Kahn, R. S. (2004). Working memory capacity in schizophrenia: A parametric fMRI study. *Schizophrenia Research*, 68(2-3), 159-171. [https://doi.org/10.1016/S0920-9964\(03\)00127-0](https://doi.org/10.1016/S0920-9964(03)00127-0)
- Jarrahian, A., Watts, V. J., & Barker, E. L. (2004). D2 dopamine receptors modulate Galpha-subunit coupling of the CB1 cannabinoid receptor. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 308(3), 880-886. <https://doi.org/10.1124/jpet.103.057620>
- Jenni, N. L., Li, Y. T., & Floresco, S. B. (2021). Medial orbitofrontal cortex dopamine D1/D2 receptors differentially modulate distinct forms of probabilistic decision-making. *Neuropsychopharmacology*, 46(7), 1240-1251. <https://doi.org/10.1038/s41386-020-00931-1>
- Jett, J. D., Bulin, S. E., Hatherall, L. C., McCartney, C. M., & Morilak, D. A. (2017). Deficits in cognitive flexibility induced by chronic unpredictable stress are associated with impaired glutamate neurotransmission in the rat medial prefrontal cortex. *Neuroscience*, 346, 284-297. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2017.01.017>
- Johnstone, E. K. M., See, H. B., Abhayawardana, R. S., Song, A., Rosengren, K. J., Hill, S. J., & Pflieger, K. D. G. (2021). Investigation of Receptor Heteromers Using NanoBRET Ligand Binding. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(3), 1082. <https://doi.org/10.3390/ijms22031082>
- Kabanova, A., Pabst, M., Lorkowski, M., Braganza, O., Boehlen, A., Nikbakht, N., Pothmann, L., Vaswani, A. R., Musgrove, R., Di Monte, D. A., Sauvage, M., Beck, H., & Blaess, S. (2015). Function and developmental origin of a mesocortical inhibitory circuit. *Nature Neuroscience*, 18(6), 872-882. <https://doi.org/10.1038/nn.4020>
- Käenmäki, M., Tammimäki, A., Myöhänen, T., Pakarinen, K., Amberg, C., Karayiorgou, M., Gogos, J. A., & Männistö, P. T. (2010). Quantitative role of COMT in dopamine clearance in the prefrontal cortex of freely moving mice. *Journal of Neurochemistry*, 114(6), 1745-1755. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2010.06889.x>

- Kamalova, A., & Nakagawa, T. (2021). AMPA receptor structure and auxiliary subunits. *The Journal of Physiology*, *599*(2), 453-469. <https://doi.org/10.1113/JP278701>
- Kanahara, N., Sekine, Y., Haraguchi, T., Uchida, Y., Hashimoto, K., Shimizu, E., & Iyo, M. (2013). Orbitofrontal cortex abnormality and deficit schizophrenia. *Schizophrenia Research*, *143*(2-3), 246-252. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2012.11.015>
- Karoum, F., Chrapusta, S. J., & Egan, M. F. (1994). 3-Methoxytyramine is the major metabolite of released dopamine in the rat frontal cortex: Reassessment of the effects of antipsychotics on the dynamics of dopamine release and metabolism in the frontal cortex, nucleus accumbens, and striatum by a simple two pool model. *Journal of Neurochemistry*, *63*(3), 972-979. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1994.63030972.x>
- Kawano, M., Kawasaki, A., Sakata-Haga, H., Fukui, Y., Kawano, H., Nogami, H., & Hisano, S. (2006). Particular subpopulations of midbrain and hypothalamic dopamine neurons express vesicular glutamate transporter 2 in the rat brain. *The Journal of Comparative Neurology*, *498*(5), 581-592. <https://doi.org/10.1002/cne.21054>
- Kearn, C. S., Blake-Palmer, K., Daniel, E., Mackie, K., & Glass, M. (2005). Concurrent stimulation of cannabinoid CB1 and dopamine D2 receptors enhances heterodimer formation: A mechanism for receptor cross-talk? *Molecular Pharmacology*, *67*(5), 1697-1704. <https://doi.org/10.1124/mol.104.006882>
- Keefer, S. E., Bacharach, S. Z., Kochli, D. E., Chabot, J. M., & Calu, D. J. (2020). Effects of Limited and Extended Pavlovian Training on Devaluation Sensitivity of Sign- and Goal-Tracking Rats. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, *14*, 3. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2020.00003>
- Kegeles, L. S., Abi-Dargham, A., Frankle, W. G., Gil, R., Cooper, T. B., Slifstein, M., Hwang, D.-R., Huang, Y., Haber, S. N., & Laruelle, M. (2010). Increased synaptic dopamine function in associative regions of the striatum in schizophrenia. *Archives of General Psychiatry*, *67*(3), 231-239. <https://doi.org/10.1001/archgenpsychiatry.2010.10>
- Kerfoot, E. C., Agarwal, I., Lee, H. J., & Holland, P. C. (2007). Control of appetitive and aversive taste-reactivity responses by an auditory conditioned stimulus in a devaluation task: A FOS and behavioral analysis. *Learning & Memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, *14*(9), 581-589. <https://doi.org/10.1101/lm.627007>
- Khghatyan, J., Quintana, C., Parent, M., & Beaulieu, J.-M. (2019). High Sensitivity Mapping of Cortical Dopamine D2 Receptor Expressing Neurons. *Cerebral Cortex (New York, N.Y.: 1991)*, *29*(9), 3813-3827. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhy261>
- Killcross, S., & Coutureau, E. (2003). Coordination of actions and habits in the medial prefrontal cortex of rats. *Cerebral Cortex (New York, N.Y.: 1991)*, *13*(4), 400-408. <https://doi.org/10.1093/cercor/13.4.400>
- Kim, H., Shimojo, S., & O'Doherty, J. P. (2006). Is Avoiding an Aversive Outcome Rewarding? Neural Substrates of Avoidance Learning in the Human Brain. *PLoS Biology*, *4*(8), e233. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0040233>
- Kim, J.-I., Ganesan, S., Luo, S. X., Wu, Y.-W., Park, E., Huang, E. J., Chen, L., & Ding, J. B. (2015). Aldehyde dehydrogenase 1a1 mediates a GABA synthesis pathway in midbrain dopaminergic neurons. *Science (New York, N.Y.)*, *350*(6256), 102-106. <https://doi.org/10.1126/science.aac4690>
- Kim, Y., Yang, G. R., Pradhan, K., Venkataraju, K. U., Bota, M., García Del Molino, L. C., Fitzgerald, G., Ram, K., He, M., Levine, J. M., Mitra, P., Huang, Z. J., Wang, X.-J., & Osten, P. (2017). Brain-wide Maps Reveal Stereotyped Cell-Type-Based Cortical Architecture and Subcortical Sexual Dimorphism. *Cell*, *171*(2), 456-469.e22. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.09.020>
- Klanker, M., Fellinger, L., Feenstra, M., Willuhn, I., & Denys, D. (2017). Regionally distinct phasic dopamine release patterns in the striatum during reversal learning. *Neuroscience*, *345*, 110-123. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2016.05.011>
- Klanker, M., Sandberg, T., Joosten, R., Willuhn, I., Feenstra, M., & Denys, D. (2015). Phasic dopamine release induced by positive feedback predicts individual differences in reversal learning. *Neurobiology of Learning and Memory*, *125*, 135-145. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2015.08.011>
- Klein, M. O., Battagello, D. S., Cardoso, A. R., Hauser, D. N., Bittencourt, J. C., & Correa, R. G. (2019). Dopamine: Functions, Signaling, and Association with Neurological Diseases. *Cellular and Molecular Neurobiology*, *39*(1), 31-59. <https://doi.org/10.1007/s10571-018-0632-3>
- Klune, C. B., Jin, B., & DeNardo, L. A. (2021). Linking mPFC circuit maturation to the developmental regulation of emotional memory and cognitive

- flexibility. *ELife*, 10, e64567. <https://doi.org/10.7554/eLife.64567>
- Knight, M. J., & Baune, B. T. (2018). Cognitive dysfunction in major depressive disorder. *Current Opinion in Psychiatry*, 31(1), 26-31. <https://doi.org/10.1097/YCO.0000000000000378>
- Koenigs, M., & Grafman, J. (2009). The functional neuroanatomy of depression : Distinct roles for ventromedial and dorsolateral prefrontal cortex. *Behavioural Brain Research*, 201(2), 239-243. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2009.03.004>
- Kosaka, J., Takahashi, H., Ito, H., Takano, A., Fujimura, Y., Matsumoto, R., Nozaki, S., Yasuno, F., Okubo, Y., Kishimoto, T., & Suhara, T. (2010). Decreased binding of [11C]NNC112 and [11C]SCH23390 in patients with chronic schizophrenia. *Life Sciences*, 86(21-22), 814-818. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2010.03.018>
- Krause, M., German, P. W., Taha, S. A., & Fields, H. L. (2010). A pause in nucleus accumbens neuron firing is required to initiate and maintain feeding. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 30(13), 4746-4756. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0197-10.2010>
- Kruse, M. S., Prémont, J., Krebs, M.-O., & Jay, T. M. (2009). Interaction of dopamine D1 with NMDA NR1 receptors in rat prefrontal cortex. *European Neuropsychopharmacology: The Journal of the European College of Neuropsychopharmacology*, 19(4), 296-304. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2008.12.006>
- Kumar, J., & Mayer, M. L. (2013). Functional insights from glutamate receptor ion channel structures. *Annual Review of Physiology*, 75, 313-337. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-030212-183711>
- Kupchik, Y. M., Brown, R. M., Heinsbroek, J. A., Lobo, M. K., Schwartz, D. J., & Kalivas, P. W. (2015). Coding the direct/indirect pathways by D1 and D2 receptors is not valid for accumbens projections. *Nature Neuroscience*, 18(9), 1230-1232. <https://doi.org/10.1038/nn.4068>
- Kwon, H.-B., & Castillo, P. E. (2008). Long-term potentiation selectively expressed by NMDA receptors at hippocampal mossy fiber synapses. *Neuron*, 57(1), 108-120. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2007.11.024>
- Ladepêche, L., Dupuis, J. P., Bouchet, D., Doudnikoff, E., Yang, L., Campagne, Y., Bézard, E., Hosy, E., & Groc, L. (2013). Single-molecule imaging of the functional crosstalk between surface NMDA and dopamine D1 receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(44), 18005-18010. <https://doi.org/10.1073/pnas.1310145110>
- Ladépêche, L., Dupuis, J. P., & Groc, L. (2014). Surface trafficking of NMDA receptors : Gathering from a partner to another. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 27, 3-13. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2013.10.005>
- Ladepêche, L., Yang, L., Bouchet, D., & Groc, L. (2013). Regulation of dopamine D1 receptor dynamics within the postsynaptic density of hippocampal glutamate synapses. *PLoS One*, 8(9), e74512. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0074512>
- Lammel, S., Hetzel, A., Häckel, O., Jones, I., Liss, B., & Roeper, J. (2008). Unique properties of mesoprefrontal neurons within a dual mesocorticolimbic dopamine system. *Neuron*, 57(5), 760-773. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2008.01.022>
- Lammel, S., Lim, B. K., & Malenka, R. C. (2014). Reward and aversion in a heterogeneous midbrain dopamine system. *Neuropharmacology*, 76 Pt B(0), 351-359. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2013.03.019>
- Lanciego, J. L., Luquin, N., & Obeso, J. A. (2012). Functional neuroanatomy of the basal ganglia. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2(12), a009621. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a009621>
- Land, B. B., Narayanan, N. S., Liu, R.-J., Gianessi, C. A., Brayton, C. E., Grimaldi, D. M., Sarhan, M., Guarnieri, D. J., Deisseroth, K., Aghajanian, G. K., & DiLeone, R. J. (2014). Medial prefrontal D1 dopamine neurons control food intake. *Nature Neuroscience*, 17(2), 248-253. <https://doi.org/10.1038/nn.3625>
- Landwehrmeyer, G. B., Standaert, D. G., Testa, C. M., Penney, J. B., & Young, A. B. (1995). NMDA receptor subunit mRNA expression by projection neurons and interneurons in rat striatum. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 15(7 Pt 2), 5297-5307. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.15-07-05297.1995>
- Lau, C. G., & Zukin, R. S. (2007). NMDA receptor trafficking in synaptic plasticity and neuropsychiatric

- disorders. *Nature Reviews. Neuroscience*, 8(6), 413-426. <https://doi.org/10.1038/nrn2153>
- Lavin, A., Nogueira, L., Laphin, C. C., Wightman, R. M., Phillips, P. E. M., & Seamans, J. K. (2005). Mesocortical dopamine neurons operate in distinct temporal domains using multimodal signaling. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 25(20), 5013-5023. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0557-05.2005>
- Le Merre, P., Åhrlund-Richter, S., & Carlén, M. (2021). The mouse prefrontal cortex: Unity in diversity. *Neuron*, 109(12), 1925-1944. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2021.03.035>
- Lea, S. E. G., Chow, P. K. Y., Leaver, L. A., & McLaren, I. P. L. (2020). Behavioral flexibility: A review, a model, and some exploratory tests. *Learning & Behavior*, 48(1), 173-187. <https://doi.org/10.3758/s13420-020-00421-w>
- Lee, A. T., Vogt, D., Rubenstein, J. L., & Sohal, V. S. (2014). A class of GABAergic neurons in the prefrontal cortex sends long-range projections to the nucleus accumbens and elicits acute avoidance behavior. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 34(35), 11519-11525. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1157-14.2014>
- Lee, F. J. S., Xue, S., Pei, L., Vukusic, B., Chéry, N., Wang, Y., Wang, Y. T., Niznik, H. B., Yu, X., & Liu, F. (2002). Dual regulation of NMDA receptor functions by direct protein-protein interactions with the dopamine D1 receptor. *Cell*, 111(2), 219-230. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(02\)00962-5](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(02)00962-5)
- Lee, S., Hjerling-Leffler, J., Zagha, E., Fishell, G., & Rudy, B. (2010). The Largest Group of Superficial Neocortical GABAergic Interneurons Expresses Ionotropic Serotonin Receptors. *The Journal of Neuroscience*, 30(50), 16796-16808. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1869-10.2010>
- Leeson, V. C., Robbins, T. W., Matheson, E., Hutton, S. B., Ron, M. A., Barnes, T. R. E., & Joyce, E. M. (2009). Discrimination learning, reversal, and set-shifting in first-episode schizophrenia: Stability over six years and specific associations with medication type and disorganization syndrome. *Biological Psychiatry*, 66(6), 586-593. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2009.05.016>
- Lefkowitz, R. J., & Shenoy, S. K. (2005). Transduction of receptor signals by beta-arrestins. *Science (New York, N.Y.)*, 308(5721), 512-517. <https://doi.org/10.1126/science.1109237>
- Lester, R. A., Clements, J. D., Westbrook, G. L., & Jahr, C. E. (1990). Channel kinetics determine the time course of NMDA receptor-mediated synaptic currents. *Nature*, 346(6284), 565-567. <https://doi.org/10.1038/346565a0>
- Levine, M. S., Altemus, K. L., Cepeda, C., Cromwell, H. C., Crawford, C., Ariano, M. A., Drago, J., Sibley, D. R., & Westphal, H. (1996). Modulatory actions of dopamine on NMDA receptor-mediated responses are reduced in D1A-deficient mutant mice. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 16(18), 5870-5882. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.16-18-05870.1996>
- Levy, I., Snell, J., Nelson, A. J., Rustichini, A., & Glimcher, P. W. (2010). Neural representation of subjective value under risk and ambiguity. *Journal of Neurophysiology*, 103(2), 1036-1047. <https://doi.org/10.1152/jn.00853.2009>
- Lex, B., & Hauber, W. (2010a). Disconnection of the entorhinal cortex and dorsomedial striatum impairs the sensitivity to instrumental contingency degradation. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 35(8), 1788-1796. <https://doi.org/10.1038/npp.2010.46>
- Lex, B., & Hauber, W. (2010b). The role of dopamine in the prelimbic cortex and the dorsomedial striatum in instrumental conditioning. *Cerebral Cortex (New York, N.Y.: 1991)*, 20(4), 873-883. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhp151>
- Lex, B., & Hauber, W. (2010c). The role of nucleus accumbens dopamine in outcome encoding in instrumental and Pavlovian conditioning. *Neurobiology of Learning and Memory*, 93(2), 283-290. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2009.11.002>
- Leyrer-Jackson, J. M., & Thomas, M. P. (2018). Layer-specific effects of dopaminergic D1 receptor activation on excitatory synaptic trains in layer V mouse prefrontal cortical pyramidal cells. *Physiological Reports*, 6(15), e13806. <https://doi.org/10.14814/phy2.13806>
- Li, S., Li, Z., Pei, L., Le, A. D., & Liu, F. (2012). The $\alpha 7$ nACh-NMDA receptor complex is involved in cue-induced reinstatement of nicotine seeking. *The Journal of Experimental Medicine*, 209(12),

- 2141-2147.
<https://doi.org/10.1084/jem.20121270>
- Li, W., & Pozzo-Miller, L. (2019). Differences in GluN2B-Containing NMDA Receptors Result in Distinct Long-Term Plasticity at Ipsilateral versus Contralateral Cortico-Striatal Synapses. *ENeuro*, 6(6), ENEURO.0118-19.2019. <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0118-19.2019>
- Li, X., Qi, J., Yamaguchi, T., Wang, H.-L., & Morales, M. (2013). Heterogeneous composition of dopamine neurons of the rat A10 region: Molecular evidence for diverse signaling properties. *Brain Structure & Function*, 218(5), 1159-1176. <https://doi.org/10.1007/s00429-012-0452-z>
- Li, Y., & Kuzhikandathil, E. V. (2012). Molecular characterization of individual D3 dopamine receptor-expressing cells isolated from multiple brain regions of a novel mouse model. *Brain Structure & Function*, 217(4), 809-833. <https://doi.org/10.1007/s00429-012-0383-8>
- Li, Y.-C., Liu, G., Hu, J.-L., Gao, W.-J., & Huang, Y.-Q. (2010). Dopamine D(1) receptor-mediated enhancement of NMDA receptor trafficking requires rapid PKC-dependent synaptic insertion in the prefrontal neurons. *Journal of Neurochemistry*, 114(1), 62-73. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2010.06720.x>
- Li, Y.-C., Xi, D., Roman, J., Huang, Y.-Q., & Gao, W.-J. (2009). Activation of glycogen synthase kinase-3 beta is required for hyperdopamine and D2 receptor-mediated inhibition of synaptic NMDA receptor function in the rat prefrontal cortex. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 29(49), 15551-15563. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3336-09.2009>
- Li, Z., Chen, Z., Fan, G., Li, A., Yuan, J., & Xu, T. (2018). Cell-Type-Specific Afferent Innervation of the Nucleus Accumbens Core and Shell. *Frontiers in Neuroanatomy*, 12, 84. <https://doi.org/10.3389/fnana.2018.00084>
- Linden, J., James, A. S., McDaniel, C., & Jentsch, J. D. (2018). Dopamine D2 Receptors in Dopaminergic Neurons Modulate Performance in a Reversal Learning Task in Mice. *ENeuro*, 5(1), ENEURO.0229-17.2018. <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0229-17.2018>
- Lisman, J. E., & Grace, A. A. (2005). The hippocampal-VTA loop: Controlling the entry of information into long-term memory. *Neuron*, 46(5), 703-713. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2005.05.002>
- Liu, C., Goel, P., & Kaeser, P. S. (2021). Spatial and temporal scales of dopamine transmission. *Nature Reviews Neuroscience*, 22(6), 345-358. <https://doi.org/10.1038/s41583-021-00455-7>
- Liu, C., Kershberg, L., Wang, J., Schneeberger, S., & Kaeser, P. S. (2018). Dopamine Secretion Is Mediated by Sparse Active Zone-like Release Sites. *Cell*, 172(4), 706-718.e15. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.01.008>
- Liu, F., Wan, Q., Pristupa, Z. B., Yu, X. M., Wang, Y. T., & Niznik, H. B. (2000). Direct protein-protein coupling enables cross-talk between dopamine D5 and gamma-aminobutyric acid A receptors. *Nature*, 403(6767), 274-280. <https://doi.org/10.1038/35002014>
- Liu, J., Shelkar, G. P., Gandhi, P. J., Gawande, D. Y., Hoover, A., Villalba, R. M., Pavuluri, R., Smith, Y., & Dravid, S. M. (2020). Striatal glutamate delta-1 receptor regulates behavioral flexibility and thalamostriatal connectivity. *Neurobiology of Disease*, 137, 104746. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2020.104746>
- Liu, X.-Y., Chu, X.-P., Mao, L.-M., Wang, M., Lan, H.-X., Li, M.-H., Zhang, G.-C., Parelkar, N. K., Fibuch, E. E., Haines, M., Neve, K. A., Liu, F., Xiong, Z.-G., & Wang, J. Q. (2006). Modulation of D2R-NR2B interactions in response to cocaine. *Neuron*, 52(5), 897-909. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2006.10.011>
- Macpherson, T., Kim, J. Y., & Hikida, T. (2022). Nucleus Accumbens Core Dopamine D2 Receptor-Expressing Neurons Control Reversal Learning but Not Set-Shifting in Behavioral Flexibility in Male Mice. *Frontiers in Neuroscience*, 16, 885380. <https://doi.org/10.3389/fnins.2022.885380>
- Mair, R. D., & Kauer, J. A. (2007). Amphetamine depresses excitatory synaptic transmission at prefrontal cortical layer V synapses. *Neuropharmacology*, 52(1), 193-199. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2006.07.004>
- Mancini, J. D., & Atchison, W. D. (2007). The NR2B subunit in NMDA receptors is functionally important during cerebellar granule cell migration. *Neuroscience Letters*, 429(2-3), 87-90. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2007.09.079>
- Mannella, F., Gurney, K., & Baldassarre, G. (2013). The nucleus accumbens as a nexus between values and goals in goal-directed behavior: A review and a new hypothesis. *Frontiers in Behavioral*

- Neuroscience*, 7, 135.
<https://doi.org/10.3389/fnbeh.2013.00135>
- Marcellino, D., Kehr, J., Agnati, L. F., & Fuxe, K. (2012). Increased affinity of dopamine for D(2) -like versus D(1) -like receptors. Relevance for volume transmission in interpreting PET findings. *Synapse (New York, N.Y.)*, 66(3), 196-203. <https://doi.org/10.1002/syn.21501>
- Margolis, E. B., Toy, B., Himmels, P., Morales, M., & Fields, H. L. (2012). Identification of rat ventral tegmental area GABAergic neurons. *PLoS One*, 7(7), e42365. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0042365>
- Mason, L., O'Sullivan, N., Montaldi, D., Bentall, R. P., & El-Deredey, W. (2014). Decision-making and trait impulsivity in bipolar disorder are associated with reduced prefrontal regulation of striatal reward valuation. *Brain: A Journal of Neurology*, 137(Pt 8), 2346-2355. <https://doi.org/10.1093/brain/awu152>
- Mathis, G. (1995). Probing molecular interactions with homogeneous techniques based on rare earth cryptates and fluorescence energy transfer. *Clinical Chemistry*, 41(9), 1391-1397.
- Matsuda, W., Furuta, T., Nakamura, K. C., Hioki, H., Fujiyama, F., Arai, R., & Kaneko, T. (2009). Single nigrostriatal dopaminergic neurons form widely spread and highly dense axonal arborizations in the neostriatum. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 29(2), 444-453. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4029-08.2009>
- Maurice, N., Mercer, J., Chan, C. S., Hernandez-Lopez, S., Held, J., Tkatch, T., & Surmeier, D. J. (2004). D2 dopamine receptor-mediated modulation of voltage-dependent Na⁺ channels reduces autonomous activity in striatal cholinergic interneurons. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 24(46), 10289-10301. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2155-04.2004>
- Mayer, M. L., Westbrook, G. L., & Guthrie, P. B. (1984). Voltage-dependent block by Mg²⁺ of NMDA responses in spinal cord neurones. *Nature*, 309(5965), 261-263. <https://doi.org/10.1038/309261a0>
- McAlonan, K., & Brown, V. J. (2003). Orbital prefrontal cortex mediates reversal learning and not attentional set shifting in the rat. *Behavioural Brain Research*, 146(1-2), 97-103. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2003.09.019>
- McClure, S. M., Ericson, K. M., Laibson, D. I., Loewenstein, G., & Cohen, J. D. (2007). Time Discounting for Primary Rewards. *The Journal of Neuroscience*, 27(21), 5796-5804. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4246-06.2007>
- McClure, S. M., Li, J., Tomlin, D., Cypert, K. S., Montague, L. M., & Montague, P. R. (2004). Neural correlates of behavioral preference for culturally familiar drinks. *Neuron*, 44(2), 379-387. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2004.09.019>
- McCulloch, T. W., & Kammermeier, P. J. (2021). The evidence for and consequences of metabotropic glutamate receptor heterodimerization. *Neuropharmacology*, 199, 108801. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2021.108801>
- McKinney, R. A. (2010). Excitatory amino acid involvement in dendritic spine formation, maintenance and remodelling. *The Journal of Physiology*, 588(Pt 1), 107-116. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2009.178905>
- McNamee, D., Liljeholm, M., Zika, O., & O'Doherty, J. P. (2015). Characterizing the Associative Content of Brain Structures Involved in Habitual and Goal-Directed Actions in Humans: A Multivariate fMRI Study. *The Journal of Neuroscience*, 35(9), 3764-3771. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4677-14.2015>
- Meijer, J. H., & Robbers, Y. (2014). Wheel running in the wild. *Proceedings. Biological Sciences*, 281(1786), 20140210. <https://doi.org/10.1098/rspb.2014.0210>
- Mendrek, A., Kiehl, K. A., Smith, A. M., Irwin, D., Forster, B. B., & Liddle, P. F. (2005). Dysfunction of a distributed neural circuitry in schizophrenia patients during a working-memory performance. *Psychological Medicine*, 35(2), 187-196. <https://doi.org/10.1017/s0033291704003228>
- Merikangas, K. R., & McClair, V. L. (2012). Epidemiology of Substance Use Disorders. *Human genetics*, 131(6), 779-789. <https://doi.org/10.1007/s00439-012-1168-0>
- Meyer, J. H., McNeely, H. E., Sagrati, S., Boovariwala, A., Martin, K., Verhoeff, N. P. L. G., Wilson, A. A., & Houle, S. (2006). Elevated putamen D(2) receptor binding potential in major depression with motor retardation: An [11C]raclopride positron emission tomography study. *The American Journal of Psychiatry*, 163(9),

- 1594-1602.
<https://doi.org/10.1176/ajp.2006.163.9.1594>
- Milligan, G., Ramsay, D., Pascal, G., & Carrillo, J. J. (2003). GPCR dimerisation. *Life Sciences*, *74*(2-3), 181-188.
<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2003.09.005>
- Milligan, G., & Smith, N. J. (2007). Allosteric modulation of heterodimeric G-protein-coupled receptors. *Trends in Pharmacological Sciences*, *28*(12), 615-620.
<https://doi.org/10.1016/j.tips.2007.11.001>
- Mingote, S., Chuhma, N., Kusnoor, S. V., Field, B., Deutch, A. Y., & Rayport, S. (2015). Functional Connectome Analysis of Dopamine Neuron Glutamatergic Connections in Forebrain Regions. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *35*(49), 16259-16271.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1674-15.2015>
- Minzenberg, M. J., Laird, A. R., Thelen, S., Carter, C. S., & Glahn, D. C. (2009). Meta-analysis of 41 functional neuroimaging studies of executive function in schizophrenia. *Archives of General Psychiatry*, *66*(8), 811-822.
<https://doi.org/10.1001/archgenpsychiatry.2009.91>
- Missale, C., Nash, S. R., Robinson, S. W., Jaber, M., & Caron, M. G. (1998). Dopamine receptors: From structure to function. *Physiological Reviews*, *78*(1), 189-225.
<https://doi.org/10.1152/physrev.1998.78.1.189>
- Mochizuki, N., Takagi, N., Kurokawa, K., Kawai, T., Besshoh, S., Tanonaka, K., & Takeo, S. (2007). Effect of NMDA receptor antagonist on proliferation of neurospheres from embryonic brain. *Neuroscience Letters*, *417*(2), 143-148.
<https://doi.org/10.1016/j.neulet.2007.02.066>
- Mook, D. G., Brane, J. A., Kushner, L. R., & Whitt, J. A. (1983). Glucose solution intake in the rat: The specificity of postingestive satiety. *Appetite*, *4*(1), 1-9. [https://doi.org/10.1016/s0195-6663\(83\)80039-7](https://doi.org/10.1016/s0195-6663(83)80039-7)
- Mor, D., Becchi, S., Bowring, J., Tsoukalas, M., & Balleine, B. W. (2022). CRF-receptor1 modulation of the dopamine projection to prelimbic cortex facilitates cognitive flexibility after acute and chronic stress. *Neurobiology of Stress*, *16*, 100424.
<https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2021.100424>
- Morales, M., & Margolis, E. B. (2017). Ventral tegmental area: Cellular heterogeneity, connectivity and behaviour. *Nature Reviews. Neuroscience*, *18*(2), 73-85.
<https://doi.org/10.1038/nrn.2016.165>
- Morato Arús, X., Borroto Escuela, D., Fuxe, K., Fernández-Dueñas, V., & Ciruela, F. (2016). Co-immunoprecipitation from Brain (p. 19-29). https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3064-7_2
- Moreno-López, L., Perales, J. C., van Son, D., Albein-Urios, N., Soriano-Mas, C., Martínez-Gonzalez, J. M., Wiers, R. W., & Verdejo-García, A. (2015). Cocaine use severity and cerebellar gray matter are associated with reversal learning deficits in cocaine-dependent individuals. *Addiction Biology*, *20*(3), 546-556.
<https://doi.org/10.1111/adb.12143>
- Morishita, W., Lu, W., Smith, G. B., Nicoll, R. A., Bear, M. F., & Malenka, R. C. (2007). Activation of NR2B-containing NMDA receptors is not required for NMDA receptor-dependent long-term depression. *Neuropharmacology*, *52*(1), 71-76.
<https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2006.07.005>
- Moro, A. S., Saccenti, D., Ferro, M., Scaini, S., Malgaroli, A., & Lamanna, J. (2023). Neural Correlates of Delay Discounting in the Light of Brain Imaging and Non-Invasive Brain Stimulation: What We Know and What Is Missed. *Brain Sciences*, *13*(3), 403.
<https://doi.org/10.3390/brainsci13030403>
- Morón, J. A., Brockington, A., Wise, R. A., Rocha, B. A., & Hope, B. T. (2002). Dopamine uptake through the norepinephrine transporter in brain regions with low levels of the dopamine transporter: Evidence from knock-out mouse lines. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *22*(2), 389-395.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-02-00389.2002>
- Morris, R. W., Vercammen, A., Lenroot, R., Moore, L., Langton, J. M., Short, B., Kulkarni, J., Curtis, J., O'Donnell, M., Weickert, C. S., & Weickert, T. W. (2012). Disambiguating ventral striatum fMRI-related BOLD signal during reward prediction in schizophrenia. *Molecular Psychiatry*, *17*(3), 235, 280-289. <https://doi.org/10.1038/mp.2011.75>
- Müller, T., Albrecht, D., & Gebhardt, C. (2009). Both NR2A and NR2B subunits of the NMDA receptor are critical for long-term potentiation and long-term depression in the lateral amygdala of horizontal slices of adult mice. *Learning & Memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, *16*(6), 395-405. <https://doi.org/10.1101/lm.1398709>
- Muly, E. C., Mania, I., Guo, J.-D., & Rainnie, D. G. (2007). Group II metabotropic glutamate receptors in

- anxiety circuitry: Correspondence of physiological response and subcellular distribution. *The Journal of Comparative Neurology*, 505(6), 682-700. <https://doi.org/10.1002/cne.21525>
- Münster, A., & Hauber, W. (2018). Medial Orbitofrontal Cortex Mediates Effort-related Responding in Rats. *Cerebral Cortex (New York, N.Y.: 1991)*, 28(12), 4379-4389. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhx293>
- Murphy, F. C., Rubinsztein, J. S., Michael, A., Rogers, R. D., Robbins, T. W., Paykel, E. S., & Sahakian, B. J. (2001). Decision-making cognition in mania and depression. *Psychological Medicine*, 31(4), 679-693. <https://doi.org/10.1017/s0033291701003804>
- Murphy, M. J. M., & Deutch, A. Y. (2018). Organization of afferents to the orbitofrontal cortex in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 526(9), 1498-1526. <https://doi.org/10.1002/cne.24424>
- Murugan, M., Jang, H. J., Park, M., Miller, E. M., Cox, J., Taliaferro, J. P., Parker, N. F., Bhave, V., Hur, H., Liang, Y., Nectow, A. R., Pillow, J. W., & Witten, I. B. (2017). Combined Social and Spatial Coding in a Descending Projection from the Prefrontal Cortex. *Cell*, 171(7), 1663-1677.e16. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.11.002>
- Naneix, F., Marchand, A. R., Di Scala, G., Pape, J.-R., & Coutureau, E. (2009). A role for medial prefrontal dopaminergic innervation in instrumental conditioning. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 29(20), 6599-6606. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1234-09.2009>
- Naneix, F., Marchand, A. R., Pichon, A., Pape, J.-R., & Coutureau, E. (2013). Adolescent stimulation of D2 receptors alters the maturation of dopamine-dependent goal-directed behavior. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 38(8), 1566-1574. <https://doi.org/10.1038/npp.2013.55>
- Natsubori, A., Tsutsui-Kimura, I., Nishida, H., Bouchekioua, Y., Sekiya, H., Uchigashima, M., Watanabe, M., de Kerchove d'Exaerde, A., Mimura, M., Takata, N., & Tanaka, K. F. (2017). Ventrolateral Striatal Medium Spiny Neurons Positively Regulate Food-Incentive, Goal-Directed Behavior Independently of D1 and D2 Selectivity. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 37(10), 2723-2733. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3377-16.2017>
- Navarro, G., Cordoní, A., Casadó-Anguera, V., Moreno, E., Cai, N.-S., Cortés, A., Canela, E. I., Dessauer, C. W., Casadó, V., Pardo, L., Lluís, C., & Ferré, S. (2018). Evidence for functional pre-coupled complexes of receptor heteromers and adenylyl cyclase. *Nature Communications*, 9(1), 1242. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-03522-3>
- Navarro, G., Moreno, E., Bonaventura, J., Brugarolas, M., Farré, D., Aguinaga, D., Mallol, J., Cortés, A., Casadó, V., Lluís, C., Ferre, S., Franco, R., Canela, E., & McCormick, P. J. (2013). Cocaine inhibits dopamine D2 receptor signaling via sigma-1-D2 receptor heteromers. *PLoS One*, 8(4), e61245. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061245>
- Nelson, A. B., & Kreitzer, A. C. (2014). Reassessing models of basal ganglia function and dysfunction. *Annual Review of Neuroscience*, 37, 117-135. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-071013-013916>
- Nelson, E. I., Liang, C.-L., Sinton, C. M., & German, D. C. (1996). Midbrain dopaminergic neurons in the mouse: Computer-assisted mapping. *Journal of Comparative Neurology*, 369(3), 361-371. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9861\(19960603\)369:3<361::AID-CNE3>3.0.CO;2-3](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9861(19960603)369:3<361::AID-CNE3>3.0.CO;2-3)
- Nestler, E. J. (2005). Is there a common molecular pathway for addiction? *Nature Neuroscience*, 8(11), 1445-1449. <https://doi.org/10.1038/nn1578>
- Nguyen, D., Naffziger, E. E., & Berridge, K. C. (2021). Positive Affect: Nature and brain bases of liking and wanting. *Current Opinion in Behavioral Sciences*, 39, 72-78. <https://doi.org/10.1016/j.cobeha.2021.02.013>
- Nicola, S. M., Surmeier, J., & Malenka, R. C. (2000). Dopaminergic modulation of neuronal excitability in the striatum and nucleus accumbens. *Annual Review of Neuroscience*, 23, 185-215. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.23.1.185>
- Niswender, C. M., & Conn, P. J. (2010). Metabotropic glutamate receptors: Physiology, pharmacology, and disease. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 50, 295-322. <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.011008.145533>
- Noaín, D., Avale, M. E., Wedemeyer, C., Calvo, D., Peper, M., & Rubinstein, M. (2006). Identification of brain neurons expressing the dopamine D4 receptor gene using BAC transgenic mice. *The European Journal of Neuroscience*, 24(9),

- 2429-2438. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2006.05148.x>
- Noël, X., Brevers, D., & Bechara, A. (2013). A neurocognitive approach to understanding the neurobiology of addiction. *Current Opinion in Neurobiology*, 23(4), 632-638. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2013.01.018>
- Nowak, L., Bregestovski, P., Ascher, P., Herbet, A., & Prochiantz, A. (1984). Magnesium gates glutamate-activated channels in mouse central neurones. *Nature*, 307(5950), 462-465. <https://doi.org/10.1038/307462a0>
- Oades, R. D., & Halliday, G. M. (1987). Ventral tegmental (A10) system : Neurobiology. 1. Anatomy and connectivity. *Brain Research*, 434(2), 117-165. [https://doi.org/10.1016/0165-0173\(87\)90011-7](https://doi.org/10.1016/0165-0173(87)90011-7)
- O'Connor, E. C., Kremer, Y., Lefort, S., Harada, M., Pascoli, V., Rohner, C., & Lüscher, C. (2015). Accumbal D1R Neurons Projecting to Lateral Hypothalamus Authorize Feeding. *Neuron*, 88(3), 553-564. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.09.038>
- Okubo, Y., Suhara, T., Suzuki, K., Kobayashi, K., Inoue, O., Terasaki, O., Someya, Y., Sassa, T., Sudo, Y., Matsushima, E., Iyo, M., Tateno, Y., & Toru, M. (1997). Decreased prefrontal dopamine D1 receptors in schizophrenia revealed by PET. *Nature*, 385(6617), 634-636. <https://doi.org/10.1038/385634a0>
- Olson, V. G., & Nestler, E. J. (2007). Topographical organization of GABAergic neurons within the ventral tegmental area of the rat. *Synapse (New York, N.Y.)*, 61(2), 87-95. <https://doi.org/10.1002/syn.20345>
- Opazo, P., Sainlos, M., & Choquet, D. (2012). Regulation of AMPA receptor surface diffusion by PSD-95 slots. *Current Opinion in Neurobiology*, 22(3), 453-460. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2011.10.010>
- Ortiz, C., Navarro, J. F., Jurek, A., Martin, A., Lundeberg, J., & Meletis, K. (2020). Molecular atlas of the adult mouse brain. *Science Advances*, 6(26), eabb3446. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abb3446>
- Ostlund, S. B., & Balleine, B. W. (2005). Lesions of medial prefrontal cortex disrupt the acquisition but not the expression of goal-directed learning. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 25(34), 7763-7770. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1921-05.2005>
- Ostlund, S. B., & Balleine, B. W. (2007a). Orbitofrontal cortex mediates outcome encoding in Pavlovian but not instrumental conditioning. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 27(18), 4819-4825. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5443-06.2007>
- Ostlund, S. B., & Balleine, B. W. (2007b). The contribution of orbitofrontal cortex to action selection. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1121, 174-192. <https://doi.org/10.1196/annals.1401.033>
- Ott, T., Jacob, S. N., & Nieder, A. (2014). Dopamine receptors differentially enhance rule coding in primate prefrontal cortex neurons. *Neuron*, 84(6), 1317-1328. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.11.012>
- Overton, M. C., & Blumer, K. J. (2000). G-protein-coupled receptors function as oligomers in vivo. *Current Biology: CB*, 10(6), 341-344. [https://doi.org/10.1016/s0960-9822\(00\)00386-9](https://doi.org/10.1016/s0960-9822(00)00386-9)
- Paelecke-Habermann, Y., Pohl, J., & Leprow, B. (2005). Attention and executive functions in remitted major depression patients. *Journal of Affective Disorders*, 89(1-3), 125-135. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2005.09.006>
- Paget-Blanc, V., Pfeffer, M. E., Pronot, M., Lapios, P., Angelo, M.-F., Walle, R., Cordelières, F. P., Levet, F., Claverol, S., Lacomme, S., Petrel, M., Martin, C., Pitard, V., De Smedt Peyrusse, V., Biederer, T., Perrais, D., Trifilieff, P., & Herzog, E. (2022). A synaptic analysis reveals dopamine hub synapses in the mouse striatum. *Nature Communications*, 13(1), 3102. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-30776-9>
- Palmer, L. M., Shai, A. S., Reeve, J. E., Anderson, H. L., Paulsen, O., & Larkum, M. E. (2014). NMDA spikes enhance action potential generation during sensory input. *Nature Neuroscience*, 17(3), 383-390. <https://doi.org/10.1038/nn.3646>
- Pan, W. X., Mao, T., & Dudman, J. T. (2010). Inputs to the dorsal striatum of the mouse reflect the parallel circuit architecture of the forebrain. *Frontiers in Neuroanatomy*, 4, 147. <https://doi.org/10.3389/fnana.2010.00147>
- Panayi, M. C., & Killcross, S. (2018). Functional heterogeneity within the rodent lateral orbitofrontal cortex dissociates outcome devaluation and reversal learning deficits. *eLife*, 7, e37357. <https://doi.org/10.7554/eLife.37357>

- Paoletti, P., Bellone, C., & Zhou, Q. (2013). NMDA receptor subunit diversity : Impact on receptor properties, synaptic plasticity and disease. *Nature Reviews. Neuroscience*, *14*(6), 383-400. <https://doi.org/10.1038/nrn3504>
- Pardo-Garcia, T. R., Garcia-Keller, C., Penalzoza, T., Richie, C. T., Pickel, J., Hope, B. T., Harvey, B. K., Kalivas, P. W., & Heinsbroek, J. A. (2019). Ventral Pallidum Is the Primary Target for Accumbens D1 Projections Driving Cocaine Seeking. *Journal of Neuroscience*, *39*(11), 2041-2051. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2822-18.2018>
- Paredes-Olay, C., & López, M. (2002). Lithium-induced outcome devaluation in instrumental conditioning : Dose-effect analysis. *Physiology & Behavior*, *75*(5), 603-609. [https://doi.org/10.1016/s0031-9384\(02\)00663-7](https://doi.org/10.1016/s0031-9384(02)00663-7)
- Parkes, S. L., & Balleine, B. W. (2013). Incentive memory : Evidence the basolateral amygdala encodes and the insular cortex retrieves outcome values to guide choice between goal-directed actions. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *33*(20), 8753-8763. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5071-12.2013>
- Parkes, S. L., Bradfield, L. A., & Balleine, B. W. (2015). Interaction of insular cortex and ventral striatum mediates the effect of incentive memory on choice between goal-directed actions. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *35*(16), 6464-6471. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4153-14.2015>
- Parkes, S. L., Ravassard, P. M., Cerpa, J.-C., Wolff, M., Ferreira, G., & Coutureau, E. (2018). Insular and Ventrolateral Orbitofrontal Cortices Differentially Contribute to Goal-Directed Behavior in Rodents. *Cerebral Cortex (New York, N.Y.: 1991)*, *28*(7), 2313-2325. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhx132>
- Parsons, M. P., & Raymond, L. A. (2014). Extrasynaptic NMDA receptor involvement in central nervous system disorders. *Neuron*, *82*(2), 279-293. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.03.030>
- Patel, K. R., Cherian, J., Gohil, K., & Atkinson, D. (2014). Schizophrenia : Overview and Treatment Options. *Pharmacy and Therapeutics*, *39*(9), 638-645.
- Patriarchi, T., Cho, J. R., Merten, K., Howe, M. W., Marley, A., Xiong, W.-H., Folk, R. W., Broussard, G. J., Liang, R., Jang, M. J., Zhong, H., Dombeck, D., von Zastrow, M., Nimmerjahn, A., Gradinaru, V., Williams, J. T., & Tian, L. (2018). Ultrafast neuronal imaging of dopamine dynamics with designed genetically encoded sensors. *Science (New York, N.Y.)*, *360*(6396), eaat4422. <https://doi.org/10.1126/science.aat4422>
- Pearlson, G. D., Wong, D. F., Tune, L. E., Ross, C. A., Chase, G. A., Links, J. M., Dannals, R. F., Wilson, A. A., Ravert, H. T., & Wagner, H. N. (1995). In vivo D2 dopamine receptor density in psychotic and nonpsychotic patients with bipolar disorder. *Archives of General Psychiatry*, *52*(6), 471-477. <https://doi.org/10.1001/archpsyc.1995.03950180057008>
- Pei, L., Lee, F. J. S., Moszczynska, A., Vukusic, B., & Liu, F. (2004). Regulation of dopamine D1 receptor function by physical interaction with the NMDA receptors. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *24*(5), 1149-1158. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3922-03.2004>
- Pelassa, S., Guidolin, D., Venturini, A., Averna, M., Frumento, G., Campanini, L., Bernardi, R., Cortelli, P., Buonaura, G. C., Maura, G., Agnati, L. F., Cervetto, C., & Marcoli, M. (2019). A2A-D2 Heteromers on Striatal Astrocytes : Biochemical and Biophysical Evidence. *International Journal of Molecular Sciences*, *20*(10), 2457. <https://doi.org/10.3390/ijms20102457>
- Pelkey, K. A., Lavezzari, G., Racca, C., Roche, K. W., & McBain, C. J. (2005). MGluR7 is a metaplastic switch controlling bidirectional plasticity of feedforward inhibition. *Neuron*, *46*(1), 89-102. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2005.02.011>
- Penn, A. C., Zhang, C. L., Georges, F., Royer, L., Breillat, C., Hosy, E., Petersen, J. D., Humeau, Y., & Choquet, D. (2017). Hippocampal LTP and contextual learning require surface diffusion of AMPA receptors. *Nature*, *549*(7672), 384-388. <https://doi.org/10.1038/nature23658>
- Pérez-López, J. L., Contreras-López, R., Ramírez-Jarquín, J. O., & Tecuapetla, F. (2018). Direct Glutamatergic Signaling From Midbrain Dopaminergic Neurons Onto Pyramidal Prefrontal Cortex Neurons. *Frontiers in Neural Circuits*, *12*, 70. <https://doi.org/10.3389/fncir.2018.00070>
- Pérez-Otaño, I., Larsen, R. S., & Wesseling, J. F. (2016). Emerging roles of GluN3-containing NMDA receptors in the CNS. *Nature Reviews. Neuroscience*, *17*(10), 623-635. <https://doi.org/10.1038/nrn.2016.92>

- Perreault, M. L., Hasbi, A., Shen, M. Y. F., Fan, T., Navarro, G., Fletcher, P. J., Franco, R., Lanciego, J. L., & George, S. R. (2016). Disruption of a dopamine receptor complex amplifies the actions of cocaine. *European Neuropsychopharmacology: The Journal of the European College of Neuropsychopharmacology*, *26*(9), 1366-1377. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2016.07.008>
- Perroy, J., Raynaud, F., Homburger, V., Rousset, M.-C., Telley, L., Bockaert, J., & Fagni, L. (2008). Direct interaction enables cross-talk between ionotropic and group I metabotropic glutamate receptors. *The Journal of Biological Chemistry*, *283*(11), 6799-6805. <https://doi.org/10.1074/jbc.M705661200>
- Petit-Pedrol, M., & Groc, L. (2021). Regulation of membrane NMDA receptors by dynamics and protein interactions. *The Journal of Cell Biology*, *220*(1), e202006101. <https://doi.org/10.1083/jcb.202006101>
- Petralia, R. S. (2012). Distribution of extrasynaptic NMDA receptors on neurons. *TheScientificWorldJournal*, *2012*, 267120. <https://doi.org/10.1100/2012/267120>
- Petralia, R. S., Yokotani, N., & Wenthold, R. J. (1994). Light and electron microscope distribution of the NMDA receptor subunit NMDAR1 in the rat nervous system using a selective anti-peptide antibody. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *14*(2), 667-696. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.14-02-00667.1994>
- Petryszyn, S., Beaulieu, J.-M., Parent, A., & Parent, M. (2014). Distribution and morphological characteristics of striatal interneurons expressing calretinin in mice: A comparison with human and nonhuman primates. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, *59-60*, 51-61. <https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2014.06.002>
- Phillips, A. G., Ahn, S., & Floresco, S. B. (2004). Magnitude of dopamine release in medial prefrontal cortex predicts accuracy of memory on a delayed response task. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *24*(2), 547-553. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4653-03.2004>
- Pickel, V. M., Towle, A. C., Joh, T. H., & Chan, J. (1988). Gamma-aminobutyric acid in the medial rat nucleus accumbens: Ultrastructural localization in neurons receiving monosynaptic input from catecholaminergic afferents. *The Journal of Comparative Neurology*, *272*(1), 1-14. <https://doi.org/10.1002/cne.902720102>
- Pinheiro, P. S., & Mulle, C. (2008). Presynaptic glutamate receptors: Physiological functions and mechanisms of action. *Nature Reviews. Neuroscience*, *9*(6), 423-436. <https://doi.org/10.1038/nrn2379>
- Plassmann, H., O'Doherty, J. P., & Rangel, A. (2010). Appetitive and aversive goal values are encoded in the medial orbitofrontal cortex at the time of decision making. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *30*(32), 10799-10808. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0788-10.2010>
- Plassmann, H., O'Doherty, J., & Rangel, A. (2007). Orbitofrontal Cortex Encodes Willingness to Pay in Everyday Economic Transactions. *The Journal of Neuroscience*, *27*(37), 9984-9988. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2131-07.2007>
- Plassmann, H., O'Doherty, J., Shiv, B., & Rangel, A. (2008). Marketing actions can modulate neural representations of experienced pleasantness. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *105*(3), 1050-1054. <https://doi.org/10.1073/pnas.0706929105>
- Porrello, E. R., Pflieger, K. D. G., Seeber, R. M., Qian, H., Oro, C., Abogadie, F., Delbridge, L. M. D., & Thomas, W. G. (2011). Heteromerization of angiotensin receptors changes trafficking and arrestin recruitment profiles. *Cellular Signalling*, *23*(11), 1767-1776. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2011.06.011>
- Poulin, J.-F., Caronia, G., Hofer, C., Cui, Q., Helm, B., Ramakrishnan, C., Chan, C. S., Dombeck, D. A., Deisseroth, K., & Awatramani, R. (2018). Mapping projections of molecularly defined dopamine neuron subtypes using intersectional genetic approaches. *Nature Neuroscience*, *21*(9), 1260-1271. <https://doi.org/10.1038/s41593-018-0203-4>
- Puig, M. V., Antzoulatos, E. G., & Miller, E. K. (2014). Prefrontal dopamine in associative learning and memory. *Neuroscience*, *282*, 217-229. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2014.09.026>
- Puig, M. V., & Miller, E. K. (2012). The Role of Prefrontal Dopamine D1 Receptors in the Neural Mechanisms of Associative Learning. *Neuron*, *74*(5), 10.1016/j.neuron.2012.04.018. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.04.018>

- Puig, M. V., & Miller, E. K. (2015). Neural Substrates of Dopamine D2 Receptor Modulated Executive Functions in the Monkey Prefrontal Cortex. *Cerebral Cortex (New York, N.Y.: 1991)*, 25(9), 2980-2987. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhu096>
- Qi, J., Zhang, S., Wang, H.-L., Barker, D. J., Miranda-Barrientos, J., & Morales, M. (2016). VTA glutamatergic inputs to nucleus accumbens drive aversion by acting on GABAergic interneurons. *Nature Neuroscience*, 19(5), 725-733. <https://doi.org/10.1038/nn.4281>
- Radke, A. K., Kocharian, A., Covey, D. P., Lovinger, D. M., Cheer, J. F., Mateo, Y., & Holmes, A. (2019). Contributions of nucleus accumbens dopamine to cognitive flexibility. *The European Journal of Neuroscience*, 50(3), 2023-2035. <https://doi.org/10.1111/ejn.14152>
- Radke, A. K., Zweifel, L. S., & Holmes, A. (2019). NMDA receptor deletion on dopamine neurons disrupts visual discrimination and reversal learning. *Neuroscience letters*, 699, 109-114. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2019.02.001>
- Ragozzino, M. E. (2002). The effects of dopamine D(1) receptor blockade in the prelimbic-infralimbic areas on behavioral flexibility. *Learning & Memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, 9(1), 18-28. <https://doi.org/10.1101/lm.45802>
- Ragozzino, M. E., Mohler, E. G., Prior, M., Palencia, C. A., & Rozman, S. (2009). Acetylcholine activity in selective striatal regions supports behavioral flexibility. *Neurobiology of Learning and Memory*, 91(1), 13-22. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2008.09.008>
- Rajagopal, S., Kim, J., Ahn, S., Craig, S., Lam, C. M., Gerard, N. P., Gerard, C., & Lefkowitz, R. J. (2010). Beta-arrestin- but not G protein-mediated signaling by the « decoy » receptor CXCR7. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(2), 628-632. <https://doi.org/10.1073/pnas.0912852107>
- Rangel, A. (2013). Regulation of dietary choice by the decision-making circuitry. *Nature Neuroscience*, 16(12), 1717-1724. <https://doi.org/10.1038/nn.3561>
- Rangel, A., Camerer, C., & Montague, P. R. (2008). A framework for studying the neurobiology of value-based decision making. *Nature Reviews Neuroscience*, 9(7), 545-556. <https://doi.org/10.1038/nrn2357>
- Rankin, M. L., Hazelwood, L. A., Benjamin Free, R., Namkung, Y., Rex, E. B., Roof, R. A., & Sibley, D. R. (2009). 3.1 Molecular Pharmacology of the Dopamine Receptors. In L. Iversen, S. Iversen, S. Dunnett, & A. Bjorklund (Éds.), *Dopamine Handbook* (p. 0). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780195373035.003.0006>
- Rauner, C., & Köhr, G. (2011). Triheteromeric NR1/NR2A/NR2B receptors constitute the major N-methyl-D-aspartate receptor population in adult hippocampal synapses. *The Journal of Biological Chemistry*, 286(9), 7558-7566. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.182600>
- Regier, D. A., Kuhl, E. A., & Kupfer, D. J. (2013). The DSM-5 : Classification and criteria changes. *World Psychiatry: Official Journal of the World Psychiatric Association (WPA)*, 12(2), 92-98. <https://doi.org/10.1002/wps.20050>
- Remijnse, P. L., Nielen, M. M. A., van Balkom, A. J. L. M., Cath, D. C., van Oppen, P., Uylings, H. B. M., & Veltman, D. J. (2006). Reduced orbitofrontal-striatal activity on a reversal learning task in obsessive-compulsive disorder. *Archives of General Psychiatry*, 63(11), 1225-1236. <https://doi.org/10.1001/archpsyc.63.11.1225>
- Remijnse, P. L., Nielen, M. M. A., van Balkom, A. J. L. M., Hendriks, G.-J., Hoogendijk, W. J., Uylings, H. B. M., & Veltman, D. J. (2009). Differential fronto-striatal and paralimbic activity during reversal learning in major depressive disorder and obsessive-compulsive disorder. *Psychological Medicine*, 39(9), 1503-1518. <https://doi.org/10.1017/S0033291708005072>
- Riga, D., Matos, M. R., Glas, A., Smit, A. B., Spijker, S., & Van den Oever, M. C. (2014). Optogenetic dissection of medial prefrontal cortex circuitry. *Frontiers in Systems Neuroscience*, 8, 230. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2014.00230>
- Rios Valentim, S. J., Gontijo, A. V. L., Peres, M. D., Rodrigues, L. C. de M., & Nakamura-Palacios, E. M. (2009). D1 dopamine and NMDA receptors interactions in the medial prefrontal cortex : Modulation of spatial working memory in rats. *Behavioural Brain Research*, 204(1), 124-128. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2009.05.026>
- Ritter, L. M., Unis, A. S., & Meador-Woodruff, J. H. (2001). Ontogeny of ionotropic glutamate receptor expression in human fetal brain. *Brain Research. Developmental Brain Research*, 127(2), 123-133. [https://doi.org/10.1016/s0165-3806\(01\)00126-2](https://doi.org/10.1016/s0165-3806(01)00126-2)
- Ritter, L. M., Vazquez, D. M., & Meador-Woodruff, J. H. (2002). Ontogeny of ionotropic glutamate receptor subunit expression in the rat

- hippocampus. *Brain Research. Developmental Brain Research*, 139(2), 227-236. [https://doi.org/10.1016/s0165-3806\(02\)00572-2](https://doi.org/10.1016/s0165-3806(02)00572-2)
- Rivas-Santisteban, R., Lillo, A., Lillo, J., Rebassa, J.-B., Contestí, J. S., Saura, C. A., Franco, R., & Navarro, G. (2021). N-Methyl-D-aspartate (NMDA) and cannabinoid CB2 receptors form functional complexes in cells of the central nervous system : Insights into the therapeutic potential of neuronal and microglial NMDA receptors. *Alzheimer's Research & Therapy*, 13(1), 184. <https://doi.org/10.1186/s13195-021-00920-6>
- Rivera-Oliver, M., Moreno, E., Álvarez-Bagnarol, Y., Ayala-Santiago, C., Cruz-Reyes, N., Molina-Castro, G. C., Clemens, S., Canela, E. I., Ferré, S., Casadó, V., & Díaz-Ríos, M. (2019). Adenosine A1-Dopamine D1 Receptor Heteromers Control the Excitability of the Spinal Motoneuron. *Molecular Neurobiology*, 56(2), 797-811. <https://doi.org/10.1007/s12035-018-1120-y>
- Robinson, O. J., Cools, R., Carlisi, C. O., Sahakian, B. J., & Drevets, W. C. (2012). Ventral striatum response during reward and punishment reversal learning in unmedicated major depressive disorder. *The American Journal of Psychiatry*, 169(2), 152-159. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2011.11010137>
- Robinson, S., Rainwater, A. J., Hnasko, T. S., & Palmiter, R. D. (2007). Viral restoration of dopamine signaling to the dorsal striatum restores instrumental conditioning to dopamine-deficient mice. *Psychopharmacology*, 191(3), 567-578. <https://doi.org/10.1007/s00213-006-0579-9>
- Rocheville, M., Lange, D. C., Kumar, U., Patel, S. C., Patel, R. C., & Patel, Y. C. (2000). Receptors for dopamine and somatostatin : Formation of hetero-oligomers with enhanced functional activity. *Science (New York, N.Y.)*, 288(5463), 154-157. <https://doi.org/10.1126/science.288.5463.154>
- Rock, P. L., Roiser, J. P., Riedel, W. J., & Blackwell, A. D. (2014). Cognitive impairment in depression : A systematic review and meta-analysis. *Psychological Medicine*, 44(10), 2029-2040. <https://doi.org/10.1017/S0033291713002535>
- Rodríguez, P. F., Aron, A. R., & Poldrack, R. A. (2006). Ventral-striatal/nucleus-accumbens sensitivity to prediction errors during classification learning. *Human Brain Mapping*, 27(4), 306-313. <https://doi.org/10.1002/hbm.20186>
- Rodríguez-Muñoz, M., Sánchez-Blázquez, P., Vicente-Sánchez, A., Berrocoso, E., & Garzón, J. (2012). The mu-opioid receptor and the NMDA receptor associate in PAG neurons : Implications in pain control. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 37(2), 338-349. <https://doi.org/10.1038/npp.2011.155>
- Rodríguez-Ruiz, M., Moreno, E., Moreno-Delgado, D., Navarro, G., Mallol, J., Cortés, A., Lluís, C., Canela, E. I., Casadó, V., McCormick, P. J., & Franco, R. (2017). Heteroreceptor Complexes Formed by Dopamine D1, Histamine H3, and N-Methyl-D-Aspartate Glutamate Receptors as Targets to Prevent Neuronal Death in Alzheimer's Disease. *Molecular Neurobiology*, 54(6), 4537-4550. <https://doi.org/10.1007/s12035-016-9995-y>
- Rolls, B. J. (1986). Sensory-specific Satiety. *Nutrition Reviews*, 44(3), 93-101. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.1986.tb07593.x>
- Rolls, B. J., Rolls, E. T., Rowe, E. A., & Sweeney, K. (1981). Sensory specific satiety in man. *Physiology & Behavior*, 27(1), 137-142. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(81\)90310-3](https://doi.org/10.1016/0031-9384(81)90310-3)
- Rolls, E. T., McCabe, C., & Redoute, J. (2008). Expected value, reward outcome, and temporal difference error representations in a probabilistic decision task. *Cerebral Cortex (New York, N.Y.: 1991)*, 18(3), 652-663. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhm097>
- Romano, C., Yang, W. L., & O'Malley, K. L. (1996). Metabotropic glutamate receptor 5 is a disulfide-linked dimer. *The Journal of Biological Chemistry*, 271(45), 28612-28616. <https://doi.org/10.1074/jbc.271.45.28612>
- Root, D. H., Mejias-Aponte, C. A., Zhang, S., Wang, H.-L., Hoffman, A. F., Lupica, C. R., & Morales, M. (2014). Single rodent mesohabenular axons release glutamate and GABA. *Nature Neuroscience*, 17(11), 1543-1551. <https://doi.org/10.1038/nn.3823>
- Root, D. H., Wang, H.-L., Liu, B., Barker, D. J., Mód, L., Szocsics, P., Silva, A. C., Maglóczy, Z., & Morales, M. (2016). Glutamate neurons are intermixed with midbrain dopamine neurons in nonhuman primates and humans. *Scientific Reports*, 6, 30615. <https://doi.org/10.1038/srep30615>
- Rosato-Siri, M., Grandolfo, M., & Ballerini, L. (2002). Activity-dependent modulation of GABAergic

- synapses in developing rat spinal networks in vitro. *The European Journal of Neuroscience*, 16(11), 2123-2135. <https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.2002.02291.x>
- Rozenfeld, R., & Devi, L. A. (2007). Receptor heterodimerization leads to a switch in signaling: Beta-arrestin2-mediated ERK activation by mu-delta opioid receptor heterodimers. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 21(10), 2455-2465. <https://doi.org/10.1096/fj.06-7793com>
- Rozenfeld, R., Gupta, A., Gagnidze, K., Lim, M. P., Gomes, I., Lee-Ramos, D., Nieto, N., & Devi, L. A. (2011). AT1R-CB₁R heteromerization reveals a new mechanism for the pathogenic properties of angiotensin II. *The EMBO Journal*, 30(12), 2350-2363. <https://doi.org/10.1038/emboj.2011.139>
- Rubinstein, D. Y., Eisenberg, D. P., Carver, F. W., Holroyd, T., Apud, J. A., Coppola, R., & Berman, K. F. (2023). Spatiotemporal Alterations in Working Memory-Related Beta Band Neuromagnetic Activity of Patients With Schizophrenia On and Off Antipsychotic Medication: Investigation With MEG. *Schizophrenia Bulletin*, 49(3), 669-678. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbac178>
- Rudebeck, P. H., Saunders, R. C., Prescott, A. T., Chau, L. S., & Murray, E. A. (2013). Prefrontal mechanisms of behavioral flexibility, emotion regulation and value updating. *Nature Neuroscience*, 16(8), 1140-1145. <https://doi.org/10.1038/nn.3440>
- Rudy, B., Fishell, G., Lee, S., & Hjerling-Leffler, J. (2011). Three groups of interneurons account for nearly 100% of neocortical GABAergic neurons. *Developmental Neurobiology*, 71(1), 45-61. <https://doi.org/10.1002/dneu.20853>
- Rüsch, N., Spoletini, I., Wilke, M., Bria, P., Di Paola, M., Di Iulio, F., Martinotti, G., Caltagirone, C., & Spalletta, G. (2007). Prefrontal-thalamic-cerebellar gray matter networks and executive functioning in schizophrenia. *Schizophrenia Research*, 93(1-3), 79-89. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2007.01.029>
- Sala-Bayo, J., Fiddian, L., Nilsson, S. R. O., Hervig, M. E., McKenzie, C., Mareschi, A., Boulos, M., Zhukovsky, P., Nicholson, J., Dalley, J. W., Alsiö, J., & Robbins, T. W. (2020). Dorsal and ventral striatal dopamine D1 and D2 receptors differentially modulate distinct phases of serial visual reversal learning. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 45(5), 736-744. <https://doi.org/10.1038/s41386-020-0612-4>
- Salamone, A., Zappettini, S., Grilli, M., Olivero, G., Agostinho, P., Tomé, A. R., Chen, J., Pittaluga, A., Cunha, R. A., & Marchi, M. (2014). Prolonged nicotine exposure down-regulates presynaptic NMDA receptors in dopaminergic terminals of the rat nucleus accumbens. *Neuropharmacology*, 79, 488-497. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2013.12.014>
- Salamone, J. D., & Correa, M. (2012). The mysterious motivational functions of mesolimbic dopamine. *Neuron*, 76(3), 470-485. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.10.021>
- Salamone, J. D., Pardo, M., Yohn, S. E., López-Cruz, L., SanMiguel, N., & Correa, M. (2016). Mesolimbic Dopamine and the Regulation of Motivated Behavior. *Current Topics in Behavioral Neurosciences*, 27, 231-257. https://doi.org/10.1007/7854_2015_383
- Salery, M., Trifilieff, P., Caboche, J., & Vanhoutte, P. (2020). From Signaling Molecules to Circuits and Behaviors: Cell-Type-Specific Adaptations to Psychostimulant Exposure in the Striatum. *Biological Psychiatry*, 87(11), 944-953. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2019.11.001>
- Santana, N., & Artigas, F. (2017). Laminar and Cellular Distribution of Monoamine Receptors in Rat Medial Prefrontal Cortex. *Frontiers in Neuroanatomy*, 11, 87. <https://doi.org/10.3389/fnana.2017.00087>
- Sarantis, K., Matsokis, N., & Angelatou, F. (2009). Synergistic interactions of dopamine D1 and glutamate NMDA receptors in rat hippocampus and prefrontal cortex: Involvement of ERK1/2 signaling. *Neuroscience*, 163(4), 1135-1145. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2009.07.056>
- Scarselli, M., Novi, F., Schallmach, E., Lin, R., Baragli, A., Colzi, A., Griffon, N., Corsini, G. U., Sokoloff, P., Levenson, R., Vogel, Z., & Maggio, R. (2001). D2/D3 dopamine receptor heterodimers exhibit unique functional properties. *The Journal of Biological Chemistry*, 276(32), 30308-30314. <https://doi.org/10.1074/jbc.M102297200>
- Schiffmann, S. N., Jacobs, O., & Vanderhaeghen, J. J. (1991). Striatal restricted adenosine A2 receptor (RDC8) is expressed by enkephalin but not by substance P neurons: An in situ hybridization histochemistry study. *Journal of Neurochemistry*, 57(3), 1062-1067.

- <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1991.tb08257.x>
- Schlagenhauf, F., Huys, Q. J. M., Deserno, L., Rapp, M. A., Beck, A., Heinze, H.-J., Dolan, R., & Heinz, A. (2014). Striatal dysfunction during reversal learning in unmedicated schizophrenia patients. *NeuroImage*, *89*(100), 171-180. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2013.11.034>
- Schousboe, A., Scafidi, S., Bak, L. K., Waagepetersen, H. S., & McKenna, M. C. (2014). Glutamate metabolism in the brain focusing on astrocytes. *Advances in Neurobiology*, *11*, 13-30. https://doi.org/10.1007/978-3-319-08894-5_2
- Schreiner, D. C., Renteria, R., & Gremel, C. M. (2020). Fractionating the all-or-nothing definition of goal-directed and habitual decision-making. *Journal of Neuroscience Research*, *98*(6), 998-1006. <https://doi.org/10.1002/jnr.24545>
- Schultz, W. (2015). Neuronal Reward and Decision Signals: From Theories to Data. *Physiological Reviews*, *95*(3), 853-951. <https://doi.org/10.1152/physrev.00023.2014>
- Schultz, W. (2016). Dopamine reward prediction error coding. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, *18*(1), 23-32. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2016.18.1/wschultz>
- Schultz, W., Dayan, P., & Montague, P. R. (1997). A neural substrate of prediction and reward. *Science (New York, N.Y.)*, *275*(5306), 1593-1599. <https://doi.org/10.1126/science.275.5306.1593>
- Scott, L., Kruse, M. S., Forssberg, H., Brismar, H., Greengard, P., & Aperia, A. (2002). Selective up-regulation of dopamine D1 receptors in dendritic spines by NMDA receptor activation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *99*(3), 1661-1664. <https://doi.org/10.1073/pnas.032654599>
- Scott, L., Zelenin, S., Malmersjö, S., Kowalewski, J. M., Markus, E. Z., Nairn, A. C., Greengard, P., Brismar, H., & Aperia, A. (2006). Allosteric changes of the NMDA receptor trap diffusible dopamine 1 receptors in spines. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *103*(3), 762-767. <https://doi.org/10.1073/pnas.0505557103>
- Seamans, J. K., Durstewitz, D., Christie, B. R., Stevens, C. F., & Sejnowski, T. J. (2001). Dopamine D1/D5 receptor modulation of excitatory synaptic inputs to layer V prefrontal cortex neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *98*(1), 301-306. <https://doi.org/10.1073/pnas.98.1.301>
- Seamans, J. K., Laphs, C. C., & Durstewitz, D. (2008). Comparing the prefrontal cortex of rats and primates: Insights from electrophysiology. *Neurotoxicity Research*, *14*(2-3), 249-262. <https://doi.org/10.1007/BF03033814>
- Seeburg, P. H., Burnashev, N., Köhr, G., Kuner, T., Sprengel, R., & Monyer, H. (1995). The NMDA receptor channel: Molecular design of a coincidence detector. *Recent Progress in Hormone Research*, *50*, 19-34. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-571150-0.50006-8>
- Seidman, L. J., Yurgelun-Todd, D., Kremen, W. S., Woods, B. T., Goldstein, J. M., Faraone, S. V., & Tsuang, M. T. (1994). Relationship of prefrontal and temporal lobe MRI measures to neuropsychological performance in chronic schizophrenia. *Biological Psychiatry*, *35*(4), 235-246. [https://doi.org/10.1016/0006-3223\(94\)91254-8](https://doi.org/10.1016/0006-3223(94)91254-8)
- Seong, H. J., & Carter, A. G. (2012). D1 receptor modulation of action potential firing in a subpopulation of layer 5 pyramidal neurons in the prefrontal cortex. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *32*(31), 10516-10521. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1367-12.2012>
- Sesack, S., Aoki, C., & Pickel, V. (1994). Ultrastructural localization of D2 receptor-like immunoreactivity in midbrain dopamine neurons and their striatal targets. *The Journal of Neuroscience*, *14*(1), 88-106. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.14-01-00088.1994>
- Sesack, S. R. (2014). Chapter Fifteen - Prefrontal Cortical Dopamine Transmission: Ultrastructural Studies and Their Functional Implications. In V. Pickel & M. Segal (Éds.), *The Synapse* (p. 467-501). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-418675-0.00015-8>
- Sesack, S. R., & Grace, A. A. (2010). Cortico-Basal Ganglia reward network: Microcircuitry. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, *35*(1), 27-47. <https://doi.org/10.1038/npp.2009.93>
- Sesack, S. R., Hawrylak, V. A., Matus, C., Guido, M. A., & Levey, A. I. (1998). Dopamine axon varicosities

- in the prelimbic division of the rat prefrontal cortex exhibit sparse immunoreactivity for the dopamine transporter. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 18(7), 2697-2708. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.18-07-02697.1998>
- Shanmugasundaram, B., Sase, A., Miklosi, A. G., Sialana, F. J., Subramaniyan, S., Aher, Y. D., Gröger, M., Höger, H., Bennett, K. L., & Lubec, G. (2015). Frontal cortex and hippocampus neurotransmitter receptor complex level parallels spatial memory performance in the radial arm maze. *Behavioural Brain Research*, 289, 157-168. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2015.04.043>
- Shen, M. Y. F., Perreault, M. L., Fan, T., & George, S. R. (2015). The dopamine D1-D2 receptor heteromer exerts a tonic inhibitory effect on the expression of amphetamine-induced locomotor sensitization. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 128, 33-40. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2014.11.011>
- Shiflett, M. W., & Balleine, B. W. (2010). At the limbic-motor interface: Disconnection of basolateral amygdala from nucleus accumbens core and shell reveals dissociable components of incentive motivation. *The European Journal of Neuroscience*, 32(10), 1735-1743. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2010.07439.x>
- Shigemoto, R., Kinoshita, A., Wada, E., Nomura, S., Ohishi, H., Takada, M., Flor, P. J., Neki, A., Abe, T., Nakanishi, S., & Mizuno, N. (1997). Differential presynaptic localization of metabotropic glutamate receptor subtypes in the rat hippocampus. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 17(19), 7503-7522. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.17-19-07503.1997>
- Shipman, M. L., Trask, S., Bouton, M. E., & Green, J. T. (2018). Inactivation of prelimbic and infralimbic cortex respectively affects minimally-trained and extensively-trained goal-directed actions. *Neurobiology of Learning and Memory*, 155, 164-172. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2018.07.010>
- Silm, K., Yang, J., Marcott, P. F., Asensio, C. S., Eriksen, J., Guthrie, D. A., Newman, A. H., Ford, C. P., & Edwards, R. H. (2019). Synaptic Vesicle Recycling Pathway Determines Neurotransmitter Content and Release Properties. *Neuron*, 102(4), 786-800.e5. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2019.03.031>
- Singh, T., McDannald, M. A., Haney, R. Z., Cerri, D. H., & Schoenbaum, G. (2010). Nucleus Accumbens Core and Shell are Necessary for Reinforcer Devaluation Effects on Pavlovian Conditioned Responding. *Frontiers in Integrative Neuroscience*, 4, 126. <https://doi.org/10.3389/fnint.2010.00126>
- Siqueira, A. S. S., Biella, M. M., Borges, M. K., Mauer, S., Apolinario, D., Alves, T. C. de T. F., Jacob-Filho, W., Oude Voshaar, R. C., & Aprahamian, I. (2022). Decision-making executive function profile and performance in older adults with major depression: A case-control study. *Aging & Mental Health*, 26(8), 1551-1557. <https://doi.org/10.1080/13607863.2021.1950617>
- Slifstein, M., van de Giessen, E., Van Snellenberg, J., Thompson, J. L., Narendran, R., Gil, R., Hackett, E., Girgis, R., Ojeil, N., Moore, H., D'Souza, D., Malison, R. T., Huang, Y., Lim, K., Nabulsi, N., Carson, R. E., Lieberman, J. A., & Abi-Dargham, A. (2015). Deficits in prefrontal cortical and extrastriatal dopamine release in schizophrenia: A positron emission tomographic functional magnetic resonance imaging study. *JAMA Psychiatry*, 72(4), 316-324. <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2014.2414>
- Smaga, I., Sanak, M., & Filip, M. (2019). Cocaine-induced Changes in the Expression of NMDA Receptor Subunits. *Current Neuropharmacology*, 17(11), 1039-1055. <https://doi.org/10.2174/1570159X17666190617101726>
- Smiley, J. F., Levey, A. I., Ciliax, B. J., & Goldman-Rakic, P. S. (1994). D1 dopamine receptor immunoreactivity in human and monkey cerebral cortex: Predominant and extrasynaptic localization in dendritic spines. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91(12), 5720-5724. <https://doi.org/10.1073/pnas.91.12.5720>
- Smith, N. J., & Milligan, G. (2010). Allosteric at G protein-coupled receptor homo- and heteromers: Uncharted pharmacological landscapes. *Pharmacological Reviews*, 62(4), 701-725. <https://doi.org/10.1124/pr.110.002667>
- Smith-Roe, S. L., & Kelley, A. E. (2000). Coincident activation of NMDA and dopamine D1 receptors within the nucleus accumbens core is required for appetitive instrumental learning. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 20(20), 7737-7742.

- <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.20-20-07737.2000>
- Soares-Cunha, C., Coimbra, B., David-Pereira, A., Borges, S., Pinto, L., Costa, P., Sousa, N., & Rodrigues, A. J. (2016). Activation of D2 dopamine receptor-expressing neurons in the nucleus accumbens increases motivation. *Nature Communications*, *7*, 11829. <https://doi.org/10.1038/ncomms11829>
- Soares-Cunha, C., Coimbra, B., Sousa, N., & Rodrigues, A. J. (2016). Reappraising striatal D1- and D2-neurons in reward and aversion. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *68*, 370-386. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2016.05.021>
- Soares-Cunha, C., de Vasconcelos, N. A. P., Coimbra, B., Domingues, A. V., Silva, J. M., Loureiro-Campos, E., Gaspar, R., Sotiropoulos, I., Sousa, N., & Rodrigues, A. J. (2020). Nucleus accumbens medium spiny neurons subtypes signal both reward and aversion. *Molecular Psychiatry*, *25*(12), 3241-3255. <https://doi.org/10.1038/s41380-019-0484-3>
- Söderberg, O., Leuchowius, K.-J., Gullberg, M., Jarvius, M., Weibrecht, I., Larsson, L.-G., & Landegren, U. (2008). Characterizing proteins and their interactions in cells and tissues using the in situ proximity ligation assay. *Methods (San Diego, Calif.)*, *45*(3), 227-232. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2008.06.014>
- Sokoloff, P., Andrieux, M., Besançon, R., Pilon, C., Martres, M. P., Giros, B., & Schwartz, J. C. (1992). Pharmacology of human dopamine D3 receptor expressed in a mammalian cell line : Comparison with D2 receptor. *European Journal of Pharmacology*, *225*(4), 331-337. [https://doi.org/10.1016/0922-4106\(92\)90107-7](https://doi.org/10.1016/0922-4106(92)90107-7)
- Stamatakis, A. M., Jennings, J. H., Ung, R. L., Blair, G. A., Weinberg, R. J., Neve, R. L., Boyce, F., Mattis, J., Ramakrishnan, C., Deisseroth, K., & Stuber, G. D. (2013). A unique population of ventral tegmental area neurons inhibits the lateral habenula to promote reward. *Neuron*, *80*(4), 1039-1053. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.08.023>
- Strauss, G. P., Frank, M. J., Waltz, J. A., Kasanova, Z., Herbener, E. S., & Gold, J. M. (2011). Deficits in positive reinforcement learning and uncertainty-driven exploration are associated with distinct aspects of negative symptoms in schizophrenia. *Biological Psychiatry*, *69*(5), 424-431. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2010.10.015>
- Stuber, G. D., Hnasko, T. S., Britt, J. P., Edwards, R. H., & Bonci, A. (2010). Dopaminergic terminals in the nucleus accumbens but not the dorsal striatum corelease glutamate. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *30*(24), 8229-8233. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1754-10.2010>
- Svenningsson, P., Nishi, A., Fisone, G., Girault, J.-A., Nairn, A. C., & Greengard, P. (2004). DARPP-32 : An integrator of neurotransmission. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, *44*, 269-296. <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.44.101802.121415>
- Swanson, A. M., DePoy, L. M., & Gourley, S. L. (2017). Inhibiting Rho kinase promotes goal-directed decision making and blocks habitual responding for cocaine. *Nature Communications*, *8*(1), 1861. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-01915-4>
- Swanson, L. W. (1982). The projections of the ventral tegmental area and adjacent regions : A combined fluorescent retrograde tracer and immunofluorescence study in the rat. *Brain Research Bulletin*, *9*(1-6), 321-353. [https://doi.org/10.1016/0361-9230\(82\)90145-9](https://doi.org/10.1016/0361-9230(82)90145-9)
- Takakusaki, K., Saitoh, K., Harada, H., & Kashiwayanagi, M. (2004). Role of basal ganglia-brainstem pathways in the control of motor behaviors. *Neuroscience Research*, *50*(2), 137-151. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2004.06.015>
- Tamaru, Y., Nomura, S., Mizuno, N., & Shigemoto, R. (2001). Distribution of metabotropic glutamate receptor mGluR3 in the mouse CNS : Differential location relative to pre- and postsynaptic sites. *Neuroscience*, *106*(3), 481-503. [https://doi.org/10.1016/s0306-4522\(01\)00305-0](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(01)00305-0)
- Tang, W.-X., Fasulo, W. H., Mash, D. C., & Hemby, S. E. (2003). Molecular profiling of midbrain dopamine regions in cocaine overdose victims. *Journal of Neurochemistry*, *85*(4), 911-924. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2003.01740.x>
- Tepper, J. M., Tecuapetla, F., Koós, T., & Ibáñez-Sandoval, O. (2010). Heterogeneity and diversity of striatal GABAergic interneurons. *Frontiers in Neuroanatomy*, *4*, 150. <https://doi.org/10.3389/fnana.2010.00150>
- Thierry, A. M., Blanc, G., Sobel, A., Stinus, L., & Glowinski, J. (1973). Dopaminergic terminals in the rat cortex. *Science (New York, N.Y.)*, *182*(4111),

- 499-501.
<https://doi.org/10.1126/science.182.4111.499>
- Thomsen, A. R. B., Plouffe, B., Cahill, T. J., Shukla, A. K., Tarrasch, J. T., Dosey, A. M., Kahsai, A. W., Strachan, R. T., Pani, B., Mahoney, J. P., Huang, L., Breton, B., Heydenreich, F. M., Sunahara, R. K., Skiniotis, G., Bouvier, M., & Lefkowitz, R. J. (2016). GPCR-G Protein-β-Arrestin Super-Complex Mediates Sustained G Protein Signaling. *Cell*, 166(4), 907-919. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.07.004>
- Tiberi, M., Jarvie, K. R., Silvia, C., Falardeau, P., Gingrich, J. A., Godinot, N., Bertrand, L., Yang-Feng, T. L., Fremeau, R. T., & Caron, M. G. (1991). Cloning, molecular characterization, and chromosomal assignment of a gene encoding a second D1 dopamine receptor subtype: Differential expression pattern in rat brain compared with the D1A receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 88(17), 7491-7495. <https://doi.org/10.1073/pnas.88.17.7491>
- Tong, H., & Gibb, A. J. (2008). Dopamine D1 receptor inhibition of NMDA receptor currents mediated by tyrosine kinase-dependent receptor trafficking in neonatal rat striatum. *The Journal of Physiology*, 586(Pt 19), 4693-4707. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2008.158931>
- Tovar, K. R., & Westbrook, G. L. (2002). Mobile NMDA receptors at hippocampal synapses. *Neuron*, 34(2), 255-264. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(02\)00658-x](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(02)00658-x)
- Tran-Tu-Yen, D. A. S., Marchand, A. R., Pape, J.-R., Di Scala, G., & Coutureau, E. (2009). Transient role of the rat prelimbic cortex in goal-directed behaviour. *The European Journal of Neuroscience*, 30(3), 464-471. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2009.06834.x>
- Traynelis, S. F., Wollmuth, L. P., McBain, C. J., Menniti, F. S., Vance, K. M., Ogden, K. K., Hansen, K. B., Yuan, H., Myers, S. J., & Dingledine, R. (2010). Glutamate receptor ion channels: Structure, regulation, and function. *Pharmacological Reviews*, 62(3), 405-496. <https://doi.org/10.1124/pr.109.002451>
- Treit, D., Spetch, M. L., & Deutsch, J. A. (1983). Variety in the flavor of food enhances eating in the rat: A controlled demonstration. *Physiology & Behavior*, 30(2), 207-211. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(83\)90007-0](https://doi.org/10.1016/0031-9384(83)90007-0)
- Tremblay, R., Lee, S., & Rudy, B. (2016). GABAergic Interneurons in the Neocortex: From Cellular Properties to Circuits. *Neuron*, 91(2), 260-292. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.06.033>
- Tricomi, E., Balleine, B. W., & O'Doherty, J. P. (2009). A specific role for posterior dorsolateral striatum in human habit learning. *The European Journal of Neuroscience*, 29(11), 2225-2232. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2009.06796.x>
- Trifilieff, P., Feng, B., Urizar, E., Winiger, V., Ward, R. D., Taylor, K. M., Martinez, D., Moore, H., Balsam, P. D., Simpson, E. H., & Javitch, J. A. (2013). Increasing dopamine D2 receptor expression in the adult nucleus accumbens enhances motivation. *Molecular Psychiatry*, 18(9), 1025-1033. <https://doi.org/10.1038/mp.2013.57>
- Trifilieff, P., Rives, M.-L., Urizar, E., Piskorowski, R. A., Vishwasrao, H. D., Castrillon, J., Schmauss, C., Slättman, M., Gullberg, M., & Javitch, J. A. (2011). Detection of antigen interactions ex vivo by proximity ligation assay: Endogenous dopamine D2-adenosine A2A receptor complexes in the striatum. *BioTechniques*, 51(2), 111-118. <https://doi.org/10.2144/000113719>
- Tritsch, N. X., Oh, W.-J., Gu, C., & Sabatini, B. L. (2014). Midbrain dopamine neurons sustain inhibitory transmission using plasma membrane uptake of GABA, not synthesis. *ELife*, 3, e01936. <https://doi.org/10.7554/eLife.01936>
- Tritsch, N. X., & Sabatini, B. L. (2012). Dopaminergic modulation of synaptic transmission in cortex and striatum. *Neuron*, 76(1), 33-50. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.09.023>
- Tseng, K. Y., & O'Donnell, P. (2004). Dopamine-glutamate interactions controlling prefrontal cortical pyramidal cell excitability involve multiple signaling mechanisms. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 24(22), 5131-5139. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1021-04.2004>
- Tseng, K. Y., & O'Donnell, P. (2005). Post-pubertal emergence of prefrontal cortical up states induced by D1-NMDA co-activation. *Cerebral Cortex (New York, N.Y.: 1991)*, 15(1), 49-57. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhh107>
- Tseng, K. Y., & O'Donnell, P. (2007). D2 dopamine receptors recruit a GABA component for their attenuation of excitatory synaptic transmission in the adult rat prefrontal cortex. *Synapse (New York, N.Y.)*, 61(10), 843-850. <https://doi.org/10.1002/syn.20432>

- Tseng, K.-Y., Lewis, B. L., Lipska, B. K., & O'Donnell, P. (2007). Post-pubertal disruption of medial prefrontal cortical dopamine-glutamate interactions in a developmental animal model of schizophrenia. *Biological Psychiatry*, *62*(7), 730-738. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2006.10.012>
- Tsukada, H., Nishiyama, S., Fukumoto, D., Sato, K., Kakiuchi, T., & Domino, E. F. (2005). Chronic NMDA antagonism impairs working memory, decreases extracellular dopamine, and increases D1 receptor binding in prefrontal cortex of conscious monkeys. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, *30*(10), 1861-1869. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300732>
- Turner, K. M., & Parkes, S. L. (2020). Prefrontal regulation of behavioural control : Evidence from learning theory and translational approaches in rodents. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *118*, 27-41. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2020.07.010>
- Uchigashima, M., Ohtsuka, T., Kobayashi, K., & Watanabe, M. (2016). Dopamine synapse is a neuroligin-2-mediated contact between dopaminergic presynaptic and GABAergic postsynaptic structures. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *113*(15), 4206-4211. <https://doi.org/10.1073/pnas.1514074113>
- Ungless, M. A., Whistler, J. L., Malenka, R. C., & Bonci, A. (2001). Single cocaine exposure in vivo induces long-term potentiation in dopamine neurons. *Nature*, *411*(6837), 583-587. <https://doi.org/10.1038/35079077>
- Usiello, A., Baik, J. H., Rougé-Pont, F., Picetti, R., Dierich, A., LeMeur, M., Piazza, P. V., & Borrelli, E. (2000). Distinct functions of the two isoforms of dopamine D2 receptors. *Nature*, *408*(6809), 199-203. <https://doi.org/10.1038/35041572>
- Valbuena, S., & Lerma, J. (2016). Non-canonical Signaling, the Hidden Life of Ligand-Gated Ion Channels. *Neuron*, *92*(2), 316-329. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.10.016>
- Valenti, O., Conn, P. J., & Marino, M. J. (2002). Distinct physiological roles of the Gq-coupled metabotropic glutamate receptors Co-expressed in the same neuronal populations. *Journal of Cellular Physiology*, *191*(2), 125-137. <https://doi.org/10.1002/jcp.10081>
- Valentin, V. V., Dickinson, A., & O'Doherty, J. P. (2007). Determining the neural substrates of goal-directed learning in the human brain. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *27*(15), 4019-4026. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0564-07.2007>
- Valentini, V., Frau, R., & Di Chiara, G. (2004). Noradrenaline transporter blockers raise extracellular dopamine in medial prefrontal but not parietal and occipital cortex : Differences with mianserin and clozapine. *Journal of Neurochemistry*, *88*(4), 917-927. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2003.02238.x>
- Van De Werd, H. J. J. M., Rajkowska, G., Evers, P., & Uylings, H. B. M. (2010). Cytoarchitectonic and chemoarchitectonic characterization of the prefrontal cortical areas in the mouse. *Brain Structure & Function*, *214*(4), 339-353. <https://doi.org/10.1007/s00429-010-0247-z>
- van der Merwe, R. K., Nadel, J. A., Copes-Finke, D., Pawelko, S., Scott, J. S., Ghanem, M., Fox, M., Morehouse, C., McLaughlin, R., Maddox, C., Albert-Lyons, R., Malaki, G., Groce, V., Turocy, A., Aggadi, N., Jin, X., & Howard, C. D. (2023). Characterization of striatal dopamine projections across striatal subregions in behavioral flexibility. *The European Journal of Neuroscience*. <https://doi.org/10.1111/ejn.15910>
- Van Horn, M. R., Strasser, A., Miraucourt, L. S., Pollegioni, L., & Ruthazer, E. S. (2017). The Gliotransmitter d-Serine Promotes Synapse Maturation and Axonal Stabilization In Vivo. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *37*(26), 6277-6288. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3158-16.2017>
- van Timmeren, T., Quail, S. L., Balleine, B. W., Geurts, D. E. M., Goudriaan, A. E., & van Holst, R. J. (2020). Intact corticostriatal control of goal-directed action in Alcohol Use Disorder : A Pavlovian-to-instrumental transfer and outcome-devaluation study. *Scientific Reports*, *10*(1), 4949. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-61892-5>
- Verdejo-Garcia, A., Chong, T. T.-J., Stout, J. C., Yücel, M., & London, E. D. (2018). Stages of dysfunctional decision-making in addiction. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, *164*, 99-105. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2017.02.003>
- Verharen, J. P. H., Adan, R. A. H., & Vanderschuren, L. J. M. J. (2019). Differential contributions of striatal dopamine D1 and D2 receptors to

- component processes of value-based decision making. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 44(13), 2195-2204. <https://doi.org/10.1038/s41386-019-0454-0>
- Verharen, J. P. H., de Jong, J. W., Roelofs, T. J. M., Huffels, C. F. M., van Zessen, R., Luijendijk, M. C. M., Hamelink, R., Willuhn, I., den Ouden, H. E. M., van der Plasse, G., Adan, R. A. H., & Vanderschuren, L. J. M. J. (2018). A neuronal mechanism underlying decision-making deficits during hyperdopaminergic states. *Nature Communications*, 9(1), 731. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-03087-1>
- Verharen, J. P. H., den Ouden, H. E. M., Adan, R. A. H., & Vanderschuren, L. J. M. J. (2020). Modulation of value-based decision making behavior by subregions of the rat prefrontal cortex. *Psychopharmacology*, 237(5), 1267-1280. <https://doi.org/10.1007/s00213-020-05454-7>
- Vertes, R. P. (2004). Differential projections of the infralimbic and prelimbic cortex in the rat. *Synapse (New York, N.Y.)*, 51(1), 32-58. <https://doi.org/10.1002/syn.10279>
- Vieta, E., Berk, M., Schulze, T. G., Carvalho, A. F., Suppes, T., Calabrese, J. R., Gao, K., Miskowiak, K. W., & Grande, I. (2018). Bipolar disorders. *Nature Reviews. Disease Primers*, 4, 18008. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2018.8>
- Vincent, S. L., Khan, Y., & Benes, F. M. (1993). Cellular distribution of dopamine D1 and D2 receptors in rat medial prefrontal cortex. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 13(6), 2551-2564. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.13-06-02551.1993>
- Vischer, H. F., Watts, A. O., Nijmeijer, S., & Leurs, R. (2011). G protein-coupled receptors : Walking hand-in-hand, talking hand-in-hand? *British Journal of Pharmacology*, 163(2), 246-260. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01229.x>
- Volianskis, A., France, G., Jensen, M. S., Bortolotto, Z. A., Jane, D. E., & Collingridge, G. L. (2015). Long-term potentiation and the role of N-methyl-D-aspartate receptors. *Brain Research*, 1621, 5-16. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2015.01.016>
- Volkow, N. D., Fowler, J. S., Wang, G. J., Baler, R., & Telang, F. (2009). Imaging dopamine's role in drug abuse and addiction. *Neuropharmacology*, 56 Suppl 1(Suppl 1), 3-8. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2008.05.022>
- Volkow, N. D., & Morales, M. (2015). The Brain on Drugs : From Reward to Addiction. *Cell*, 162(4), 712-725. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.07.046>
- Volkow, N. D., Wise, R. A., & Baler, R. (2017). The dopamine motive system : Implications for drug and food addiction. *Nature Reviews. Neuroscience*, 18(12), 741-752. <https://doi.org/10.1038/nrn.2017.130>
- Wall, N. R., De La Parra, M., Callaway, E. M., & Kreitzer, A. C. (2013). Differential innervation of direct- and indirect-pathway striatal projection neurons. *Neuron*, 79(2), 347-360. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.05.014>
- Walle, R., Petitbon, A., Fois, G. R., Contini, A., Ortole, R., Oummedi, A., Smedt-Peyrusse, V. D., d'Exaerde, A. de K., Giros, B., Chaouloff, F., Ferreira, G., Ducrocq, F., Georges, F., & Trifilieff, P. (2022). *The ventral striatum contributes to energy balance* (p. 2022.05.05.490599). [bioRxiv. https://doi.org/10.1101/2022.05.05.490599](https://doi.org/10.1101/2022.05.05.490599)
- Waltz, J. A., & Gold, J. M. (2007). Probabilistic reversal learning impairments in schizophrenia : Further evidence of orbitofrontal dysfunction. *Schizophrenia Research*, 93(1-3), 296-303. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2007.03.010>
- Wang, H., Wu, L.-J., Kim, S. S., Lee, F. J. S., Gong, B., Toyoda, H., Ren, M., Shang, Y.-Z., Xu, H., Liu, F., Zhao, M.-G., & Zhuo, M. (2008). FMRP acts as a key messenger for dopamine modulation in the forebrain. *Neuron*, 59(4), 634-647. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2008.06.027>
- Wang, H.-L., Qi, J., Zhang, S., Wang, H., & Morales, M. (2015). Rewarding Effects of Optical Stimulation of Ventral Tegmental Area Glutamatergic Neurons. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 35(48), 15948-15954. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3428-15.2015>
- Wang, J., & O'Donnell, P. (2001). D(1) dopamine receptors potentiate nmda-mediated excitability increase in layer V prefrontal cortical pyramidal neurons. *Cerebral Cortex (New York, N.Y.: 1991)*, 11(5), 452-462. <https://doi.org/10.1093/cercor/11.5.452>
- Wang, X., Qiao, Y., Dai, Z., Sui, N., Shen, F., Zhang, J., & Liang, J. (2019). Medium spiny neurons of the anterior dorsomedial striatum mediate reversal learning in a cell-type-dependent manner. *Brain*

- Structure & Function*, 224(1), 419-434.
<https://doi.org/10.1007/s00429-018-1780-4>
- Watabe-Uchida, M., Zhu, L., Ogawa, S. K., Vamanrao, A., & Uchida, N. (2012). Whole-brain mapping of direct inputs to midbrain dopamine neurons. *Neuron*, 74(5), 858-873.
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.03.017>
- Watson, P., van Wingen, G., & de Wit, S. (2018). Conflicted between Goal-Directed and Habitual Control, an fMRI Investigation. *ENeuro*, 5(4), ENEURO.0240-18.2018.
<https://doi.org/10.1523/ENeuro.0240-18.2018>
- Wee, K. S.-L., Zhang, Y., Khanna, S., & Low, C.-M. (2008). Immunolocalization of NMDA receptor subunit NR3B in selected structures in the rat forebrain, cerebellum, and lumbar spinal cord. *The Journal of Comparative Neurology*, 509(1), 118-135.
<https://doi.org/10.1002/cne.21747>
- Wegbreit, E., Cushman, G. K., Weissman, A. B., Bojanek, E., Kim, K. L., Leibenluft, E., & Dickstein, D. P. (2016). Reversal-learning deficits in childhood-onset bipolar disorder across the transition from childhood to young adulthood. *Journal of affective disorders*, 203, 46-54.
<https://doi.org/10.1016/j.jad.2016.05.046>
- Wei, X., Ma, T., Cheng, Y., Huang, C. C. Y., Wang, X., Lu, J., & Wang, J. (2018). Dopamine D1 or D2 receptor-expressing neurons in the central nervous system. *Addiction Biology*, 23(2), 569-584. <https://doi.org/10.1111/adb.12512>
- Weiler, J. A., Bellebaum, C., Brüne, M., Juckel, G., & Daum, I. (2009). Impairment of probabilistic reward-based learning in schizophrenia. *Neuropsychology*, 23(5), 571-580.
<https://doi.org/10.1037/a0016166>
- Weis, W. I., & Kobilka, B. K. (2018). The Molecular Basis of G Protein–Coupled Receptor Activation. *Annual review of biochemistry*, 87, 897-919.
<https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-060614-033910>
- Weitlauf, C., Honse, Y., Auberson, Y. P., Mishina, M., Lovinger, D. M., & Winder, D. G. (2005). Activation of NR2A-containing NMDA receptors is not obligatory for NMDA receptor-dependent long-term potentiation. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 25(37), 8386-8390.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2388-05.2005>
- West, E. A., & Carelli, R. M. (2016). Nucleus Accumbens Core and Shell Differentially Encode Reward-Associated Cues after Reinforcer Devaluation. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 36(4), 1128-1139.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2976-15.2016>
- Whitton, A. E., Treadway, M. T., & Pizzagalli, D. A. (2015). Reward processing dysfunction in major depression, bipolar disorder and schizophrenia. *Current Opinion in Psychiatry*, 28(1), 7-12.
<https://doi.org/10.1097/YCO.0000000000000122>
- Williams, G. V., & Goldman-Rakic, P. S. (1995). Modulation of memory fields by dopamine D1 receptors in prefrontal cortex. *Nature*, 376(6541), 572-575.
<https://doi.org/10.1038/376572a0>
- Wirkner, K., Krause, T., Köles, L., Thümmel, S., Al-Khrasani, M., & Illes, P. (2004). D1 but not D2 dopamine receptors or adrenoceptors mediate dopamine-induced potentiation of N-methyl-D-aspartate currents in the rat prefrontal cortex. *Neuroscience Letters*, 372(1-2), 89-93.
<https://doi.org/10.1016/j.neulet.2004.09.015>
- Wise, R. A. (2004). Dopamine, learning and motivation. *Nature Reviews. Neuroscience*, 5(6), 483-494.
<https://doi.org/10.1038/nrn1406>
- Wittmann, M., Marino, M. J., Henze, D. A., Seabrook, G. R., & Conn, P. J. (2005). Clozapine potentiation of N-methyl-D-aspartate receptor currents in the nucleus accumbens: Role of NR2B and protein kinase A/Src kinases. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 313(2), 594-603.
<https://doi.org/10.1124/jpet.104.080200>
- Wong, D. F., Pearlson, G. D., Tune, L. E., Young, L. T., Meltzer, C. C., Dannals, R. F., Ravert, H. T., Reith, J., Kuhar, M. J., & Gjedde, A. (1997). Quantification of neuroreceptors in the living human brain: IV. Effect of aging and elevations of D2-like receptors in schizophrenia and bipolar illness. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism: Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 17(3), 331-342.
<https://doi.org/10.1097/00004647-199703000-00010>
- Woods, A. S., Ciruela, F., Fuxe, K., Agnati, L. F., Lluís, C., Franco, R., & Ferré, S. (2005). Role of electrostatic interaction in receptor-receptor heteromerization. *Journal of Molecular Neuroscience: MN*, 26(2-3), 125-132.
<https://doi.org/10.1385/JMN:26:2-3:125>

- World Health Organization. (2022a). *Mental Disorders*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/mental-disorders>
- World Health Organization. (2022b). *Schizophrenia*. <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/schizophrenia>
- Wydra, K., Suder, A., Borroto-Escuela, D. O., Filip, M., & Fuxe, K. (2015). On the role of A₂A and D₂ receptors in control of cocaine and food-seeking behaviors in rats. *Psychopharmacology*, *232*(10), 1767-1778. <https://doi.org/10.1007/s00213-014-3818-5>
- Xia, Y., Driscoll, J. R., Wilbrecht, L., Margolis, E. B., Fields, H. L., & Hjelmstad, G. O. (2011). Nucleus accumbens medium spiny neurons target non-dopaminergic neurons in the ventral tegmental area. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *31*(21), 7811-7816. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1504-11.2011>
- Xu, P., Chen, A., Li, Y., Xing, X., & Lu, H. (2019). Medial prefrontal cortex in neurological diseases. *Physiological Genomics*, *51*(9), 432-442. <https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00006.2019>
- Yamaguchi, T., Qi, J., Wang, H.-L., Zhang, S., & Morales, M. (2015). Glutamatergic and dopaminergic neurons in the mouse ventral tegmental area. *The European Journal of Neuroscience*, *41*(6), 760-772. <https://doi.org/10.1111/ejn.12818>
- Yamaguchi, T., Sheen, W., & Morales, M. (2007). Glutamatergic neurons are present in the rat ventral tegmental area. *The European Journal of Neuroscience*, *25*(1), 106-118. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2006.05263.x>
- Yamaguchi, T., Wang, H.-L., Li, X., Ng, T. H., & Morales, M. (2011). Mesocorticolimbic glutamatergic pathway. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *31*(23), 8476-8490. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1598-11.2011>
- Yamasaki, M., Okada, R., Takasaki, C., Toki, S., Fukaya, M., Natsume, R., Sakimura, K., Mishina, M., Shirakawa, T., & Watanabe, M. (2014). Opposing role of NMDA receptor GluN2B and GluN2D in somatosensory development and maturation. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *34*(35), 11534-11548. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1811-14.2014>
- Yang, H., de Jong, J. W., Tak, Y., Peck, J., Bateup, H. S., & Lammel, S. (2018). Nucleus Accumbens Subnuclei Regulate Motivated Behavior via Direct Inhibition and Disinhibition of VTA Dopamine Subpopulations. *Neuron*, *97*(2), 434-449.e4. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.12.022>
- Yao, W.-D., Spealman, R. D., & Zhang, J. (2008). Dopaminergic Signaling in Dendritic Spines. *Biochemical pharmacology*, *75*(11), 2055-2069. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2008.01.018>
- Yasumura, M., Yoshida, T., Lee, S.-J., Uemura, T., Joo, J.-Y., & Mishina, M. (2012). Glutamate receptor $\delta 1$ induces preferentially inhibitory presynaptic differentiation of cortical neurons by interacting with neurexins through cerebellin precursor protein subtypes. *Journal of Neurochemistry*, *121*(5), 705-716. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2011.07631.x>
- Yavorska, I., & Wehr, M. (2016). Somatostatin-Expressing Inhibitory Interneurons in Cortical Circuits. *Frontiers in Neural Circuits*, *10*, 76. <https://doi.org/10.3389/fncir.2016.00076>
- Yin, H. H., Knowlton, B. J., & Balleine, B. W. (2005). Blockade of NMDA receptors in the dorsomedial striatum prevents action-outcome learning in instrumental conditioning. *The European Journal of Neuroscience*, *22*(2), 505-512. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2005.04219.x>
- Yin, H. H., Knowlton, B. J., & Balleine, B. W. (2006). Inactivation of dorsolateral striatum enhances sensitivity to changes in the action-outcome contingency in instrumental conditioning. *Behavioural Brain Research*, *166*(2), 189-196. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2005.07.012>
- Yin, H. H., Ostlund, S. B., & Balleine, B. W. (2008). Reward-guided learning beyond dopamine in the nucleus accumbens : The integrative functions of cortico-basal ganglia networks. *The European Journal of Neuroscience*, *28*(8), 1437-1448. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2008.06422.x>
- Yin, H. H., Ostlund, S. B., Knowlton, B. J., & Balleine, B. W. (2005). The role of the dorsomedial striatum in instrumental conditioning. *The European Journal of Neuroscience*, *22*(2), 513-523. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2005.04218.x>
- Yokoi, M., Kobayashi, K., Manabe, T., Takahashi, T., Sakaguchi, I., Katsuura, G., Shigemoto, R., Ohishi, H., Nomura, S., Nakamura, K., Nakao, K., Katsuki, M., & Nakanishi, S. (1996). Impairment

- of hippocampal mossy fiber LTD in mice lacking mGluR2. *Science (New York, N.Y.)*, 273(5275), 645-647.
<https://doi.org/10.1126/science.273.5275.645>
- Yung, K. K., Bolam, J. P., Smith, A. D., Hersch, S. M., Ciliax, B. J., & Levey, A. I. (1995). Immunocytochemical localization of D1 and D2 dopamine receptors in the basal ganglia of the rat: Light and electron microscopy. *Neuroscience*, 65(3), 709-730.
[https://doi.org/10.1016/0306-4522\(94\)00536-e](https://doi.org/10.1016/0306-4522(94)00536-e)
- Yuzaki, M., & Aricescu, A. R. (2017). A GluD Coming-Of-Age Story. *Trends in Neurosciences*, 40(3), 138-150.
<https://doi.org/10.1016/j.tins.2016.12.004>
- Zahrt, J., Taylor, J. R., Mathew, R. G., & Arnsten, A. F. (1997). Supranormal stimulation of D1 dopamine receptors in the rodent prefrontal cortex impairs spatial working memory performance. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 17(21), 8528-8535.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.17-21-08528.1997>
- Zalocusky, K. A., Ramakrishnan, C., Lerner, T. N., Davidson, T. J., Knutson, B., & Deisseroth, K. (2016). Nucleus accumbens D2R cells signal prior outcomes and control risky decision-making. *Nature*, 531(7596), 642-646.
<https://doi.org/10.1038/nature17400>
- Zeeb, F. D., Robbins, T. W., & Winstanley, C. A. (2009). Serotonergic and dopaminergic modulation of gambling behavior as assessed using a novel rat gambling task. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 34(10), 2329-2343.
<https://doi.org/10.1038/npp.2009.62>
- Zhang, L., Bose, P., & Warren, R. A. (2014). Dopamine preferentially inhibits NMDA receptor-mediated EPSCs by acting on presynaptic D1 receptors in nucleus accumbens during postnatal development. *PLoS One*, 9(5), e86970.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0086970>
- Zhang, S., Qi, J., Li, X., Wang, H.-L., Britt, J. P., Hoffman, A. F., Bonci, A., Lupica, C. R., & Morales, M. (2015). Dopaminergic and glutamatergic microdomains in a subset of rodent mesoaccumbens axons. *Nature Neuroscience*, 18(3), 386-392.
<https://doi.org/10.1038/nn.3945>
- Zhang, W., Howe, J. R., & Popescu, G. K. (2008). Distinct gating modes determine the biphasic relaxation of NMDA receptor currents. *Nature Neuroscience*, 11(12), 1373-1375.
<https://doi.org/10.1038/nn.2214>
- Zhang, Z., Peterson, M., & Liu, H. (2013). Essential role of postsynaptic NMDA receptors in developmental refinement of excitatory synapses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(3), 1095-1100.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1212971110>
- Zhang, Z.-W., Burke, M. W., Calakos, N., Beaulieu, J.-M., & Vaucher, E. (2010). Confocal Analysis of Cholinergic and Dopaminergic Inputs onto Pyramidal Cells in the Prefrontal Cortex of Rodents. *Frontiers in Neuroanatomy*, 4, 21.
<https://doi.org/10.3389/fnana.2010.00021>
- Zhou, F.-M., Wilson, C. J., & Dani, J. A. (2002). Cholinergic interneuron characteristics and nicotinic properties in the striatum. *Journal of Neurobiology*, 53(4), 590-605.
<https://doi.org/10.1002/neu.10150>
- Zhu, Y., Mészáros, J., Walle, R., Fan, R., Sun, Z., Dwork, A. J., Trifilieff, P., & Javitch, J. A. (2020). Detecting G protein-coupled receptor complexes in postmortem human brain with proximity ligation assay and a Bayesian classifier. *BioTechniques*, 68(3), 122-129.
<https://doi.org/10.2144/btn-2019-0083>
- Zimmermann, K. S., Yamin, J. A., Rainnie, D. G., Ressler, K. J., & Gourley, S. L. (2017). Connections of the Mouse Orbitofrontal Cortex and Regulation of Goal-Directed Action Selection by Brain-Derived Neurotrophic Factor. *Biological Psychiatry*, 81(4), 366-377.
<https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2015.10.026>

ANNEXES

NEUROSCIENCE

Disrupting D1-NMDA or D2-NMDA receptor heteromerization prevents cocaine's rewarding effects but preserves natural reward processing

Andry Andrianarivelo^{1,2,3}, Estefani Saint-Jour^{1,2,3}, Paula Pousinha^{4,5}, Sebastian P. Fernandez^{4,5}, Anna Petitbon⁶, Veronique De Smedt-Peyrusse⁶, Nicolas Heck^{1,2,3}, Vanesa Ortiz^{4,5}, Marie-Charlotte Allichon^{1,2,3}, Vincent Kappès^{1,2,3}, Sandrine Betuing^{1,2,3}, Roman Walle⁶, Ying Zhu^{7,8}, Charlene Joséphine⁹, Alexis-Pierre Bemelmans⁹, Gustavo Turecki¹⁰, Naguib Mechawar¹⁰, Jonathan A. Javitch^{7,8,11}, Jocelyne Caboche^{1,2,3}, Pierre Trifilieff⁶, Jacques Barik^{4,5}, Peter Vanhoutte^{1,2,3*}

Addictive drugs increase dopamine in the nucleus accumbens (NAc), where it persistently shapes excitatory glutamate transmission and hijacks natural reward processing. Here, we provide evidence, from mice to humans, that an underlying mechanism relies on drug-evoked heteromerization of glutamate *N*-methyl-D-aspartate receptors (NMDAR) with dopamine receptor 1 (D1R) or 2 (D2R). Using temporally controlled inhibition of D1R-NMDAR heteromerization, we unraveled their selective implication in early phases of cocaine-mediated synaptic, morphological, and behavioral responses. In contrast, preventing D2R-NMDAR heteromerization blocked the persistence of these adaptations. Interfering with these heteromers spared natural reward processing. Notably, we established that D2R-NMDAR complexes exist in human samples and showed that, despite a decreased D2R protein expression in the NAc, individuals with psychostimulant use disorder display a higher proportion of D2R forming heteromers with NMDAR. These findings contribute to a better understanding of molecular mechanisms underlying addiction and uncover D2R-NMDAR heteromers as targets with potential therapeutic value.

INTRODUCTION

Drug addiction is characterized by compulsive patterns of drug-seeking and drug-taking behavior despite detrimental consequences and a high rate of relapse after abstinence. A hallmark of addictive drugs is their ability to increase dopamine (DA) concentration in discrete brain regions, which persistently shapes excitatory glutamate transmission within the reward circuit, thereby hijacking natural reward processing (1, 2). This calls for a better understanding of the precise molecular events underlying the detrimental interplay between DA and glutamate signaling triggered by drugs of abuse.

The enduring behavioral alterations induced by protracted drug exposure are largely believed to result from persistent drug-evoked neuronal adaptations within the striatum, especially in its ventral part, the nucleus accumbens (NAc) (1, 3). The striatum is indeed a key target structure of drugs of abuse that integrates convergent glutamate inputs from limbic, thalamic, and cortical regions, encoding components of drug-associated stimuli and environment,

and DA signals that mediate reward prediction error and incentive values (4). Integration of DA and glutamate signals is achieved by the two segregated subpopulations of γ -aminobutyric acid–releasing (GABAergic) medium-sized spiny neurons (MSNs) expressing either the dopamine receptor (DAR) type 1 (D1R) or type 2 (D2R), although a fraction of MSN in the NAc expresses both receptors (5). Cell type–specific manipulations of neuronal activity showed that inhibiting and activating D1R-MSN dampen and potentiate long-term drug-evoked responses, respectively, in line with their “proreward” action (2, 6–9). By contrast, most studies support an inhibitory role of D2R-MSN activation on drug-mediated adaptations (6, 7, 10–12). These studies, based on direct manipulations of MSN activity, were instrumental in highlighting the role of MSNs as putative players in drug-related behavioral adaptations. However, they do not establish how drugs of abuse persistently affect the functionality of each MSN subpopulation or the underlying cellular and molecular mechanisms. In this context, increasing evidence suggests that such a central role of MSN subpopulations in drug-induced behavioral adaptations originates, at least in part, from DA-dependent long-lasting changes at excitatory striatal synapses. Long-term potentiation of specific glutamatergic afferents impinging onto D1R-MSNs induced by DA is responsible for both the induction and maintenance of long-lasting behavioral adaptations to repeated cocaine exposure (13–15). Glutamate transmission onto D2R-MSNs seems to be spared by cocaine exposure but selectively altered during cocaine craving after long access to high doses of cocaine (16).

It is therefore timely to identify molecular mechanisms by which drug-evoked increases in DA can permanently hijack glutamate transmission onto MSNs. Although a number of studies have described the cross-talk between D1R and glutamate receptors of the

¹CNRS, UMR 8246, Neuroscience Paris Seine, F-75005 Paris, France. ²INSERM, UMR-S 1130, Neuroscience Paris Seine, Institute of Biology Paris Seine, F-75005 Paris, France. ³Sorbonne Université, UPMC Université Paris 06, UM CR18, Neuroscience Paris Seine, F-75005 Paris, France. ⁴Université Côte d'Azur, Nice, France. ⁵Institut de Pharmacologie Moléculaire et Cellulaire, CNRS UMR7275, Valbonne, France. ⁶Université Bordeaux, INRAE, Bordeaux INP, NutriNeuro, 33000 Bordeaux, France. ⁷Division of Molecular Therapeutics, New York State Psychiatric Institute, New York, NY 10032, USA. ⁸Department of Psychiatry, Columbia University, New York, NY 10032, USA. ⁹Commissariat à l'Énergie Atomique et aux Énergies Alternatives (CEA), Département de la Recherche Fondamentale, Institut de biologie François Jacob, MIRCen, and CNRS UMR 9199, Université Paris-Sud, Université Paris-Saclay, Neurodegenerative Diseases Laboratory, Fontenay-aux-Roses, France. ¹⁰Douglas Mental Health University Institute, Department of Psychiatry, McGill University, Montreal, QC, Canada. ¹¹Department of Pharmacology, Columbia University, New York, NY 10032, USA.

*Corresponding author. Email: peter.vanhoutte@sorbonne-universite.fr

N-methyl-D-aspartate (NMDAR) subtype as a key player in the behavioral effects of psychostimulants (2, 17–22), the underlying molecular mechanisms remain elusive. Moreover, the processes by which DA impairs D2R-MSN activity to promote long-lasting drug-induced reinforcement are yet unknown.

Heteromeric complexes formed between DARs and glutamate NMDAR have been proposed as integrators of DA and glutamate signals in both MSN populations (23). Receptor heteromers are of particular interest not only because of their ability to dynamically modulate the component receptor's functions in time and space but also because they exhibit functional properties distinct from the component receptors, making them attractive targets for the development of more selective pharmacological strategies (24–27). Most evidence generated to date regarding DAR-NMDAR heteromers' functions comes from *in vitro* and *ex vivo* studies, and their potential role in long-term drug-induced adaptations has been overlooked. D1R heteromers formed with glutamate ionotropic receptor NMDA type subunit 1 (GluN1) subunits of NMDAR have been described *in vitro* (28, 29) and *ex vivo* in the striatum (30, 31). We established that acutely perturbing D1R-NMDAR interaction blunts the facilitation of NMDAR signaling by DA in D1R-MSN in striatal slices, as well as cocaine-induced locomotor sensitization (31). However, the impact of chronic disruption of D1R-NMDAR on the sensitizing and rewarding effects of repeated cocaine exposure is unknown. In contrast, the interaction of D2R with GluN2B subunits of NMDAR has been shown to mediate the inhibition of NMDA currents by DA in D2R-MSNs and control acute stereotypic locomotor responses to high cocaine doses (32). Nonetheless, the implication of D2R-NMDAR heteromerization in long-lasting behavioral alterations induced by cocaine has not been studied. However, D2R-dependent transmission is largely believed to be a main actor in the development of addiction based on clinical and preclinical findings (2, 33).

We therefore investigated whether heteromers formed by DAR and NMDAR constitute molecular substrates by which drugs of abuse enduringly alter glutamate transmission and mediate long-lasting sensitizing and rewarding effects of cocaine. We found that repeated cocaine exposure triggers a transient increase in D1R-NMDAR heteromerization throughout the entire striatum, which returns to baseline after an abstinence period. By contrast, cocaine induces a stable increase in heteromerization of D2R-NMDAR that is mostly restricted to the NAc and persists over 7 days of abstinence. Using a temporally controlled disruption of these receptor heteromers, combined with electrophysiological recordings, imaging, and behavioral assessments, we showed that D1R-NMDAR heteromerization controls the development of cocaine-evoked long-term synaptic plasticity and morphological changes in D1R-MSNs, as well as behavioral adaptations. D2R-NMDAR heteromerization not only contributes to the development of the sensitizing and rewarding effects of cocaine but, more importantly, also mediates the persistence of these adaptations after a period of abstinence, followed by a reexposure to the drug. The targeting of either type of heteromers preserves natural reward processing. Notably, we found that these receptor complexes also exist in human postmortem brain samples and showed that, despite a substantial decrease in D2R protein expression, individuals with a history of psychostimulant use disorder display a significantly higher proportion of D2R that form heteromers with GluN2B-containing NMDAR in the NAc. Our results support a model by which the heteromerization of DA and glutamate receptors induced by drugs of abuse in D1R- and D2R-MSNs is a key

molecular event underlying the detrimental interplay between these two neurotransmitter systems in drug addiction. The role of D2R-NMDAR heteromers in the persistence of the sensitizing and rewarding effects of drugs makes them potential targets not only for treating addiction in humans but also, more broadly, in multiple neuropsychiatric disorders.

RESULTS

Detection and temporally controlled disruption of striatal D1R-NMDAR and D2R-NMDAR heteromerization *in vivo*

A prerequisite for the study of DAR-NMDAR heteromer modulation and function in cocaine-evoked adaptations was to develop approaches to both visualizing and interfering with receptor interactions *in vivo*. Detection of endogenous D1R-NMDAR proximity was first assessed in the NAc of naïve mice through proximity ligation assay (PLA) (34). The bright-field PLA assay yielded a brown punctate signal for D1R-NMDAR complexes that was absent when one of the two primary antibodies was omitted (Fig. 1A), similar to what was previously found when PLA was performed in D1R receptor knockout mice (31). To study the function of D1R-NMDAR heteromers, we designed an adeno-associated virus (AAV)-based strategy to disrupt heteromers in a spatially and temporally controlled manner (Fig. 1B). The AAV-Tet-On-GluN1C1 allows a doxycycline (dox)-inducible bicistronic expression of the red fluorescent protein (RFP) reporter protein together with a peptide corresponding to the C1 cassette (D₈₆₄-T₉₀₀) of GluN1 that binds to D1R (28). This peptide blocks D1R-NMDAR interaction *in vitro* while preserving the functions of individual D1R and NMDAR independently of their heteromerization (31). The control virus, Tet-On-GluN1C1Δ, encodes a C1 cassette deleted of nine amino acids that are required for electrostatic interactions between D1R and GluN1 (35). This mutated cassette does not interfere with D1R-GluN1 interaction *in vitro* (31). After stereotaxic injections in the NAc, the treatment with dox triggered a rapid and sustained expression of the RFP reporter (Fig. 1B). Analysis of D1R-NMDAR proximity in RFP-positive neurons showed that Tet-On-GluN1C1 significantly reduced D1R-NMDAR PLA puncta when compared to the control AAV (Fig. 1, C and D). Notably, we also verified that blocking D1R-NMDA heteromerization altered downstream cocaine-mediated signaling events (20, 31), including GluN2B phosphorylation and extracellular signal-regulated kinase pathway activation (fig. S1), without compromising neuronal survival (Fig. 1E). As for D1R-NMDAR heteromers, bright-field PLA detection of D2R-NMDAR proximity appeared as a brown punctate signal, which disappeared upon omission of one primary antibody (Fig. 1F). To interfere with D2R-NMDAR interaction, we generated AAV-Tet-On-D2R-IL3, which drives a dox-inducible expression of a peptide corresponding to a small fragment (T₂₂₅-A₂₃₄) located within the third intracellular loop (IL3). This IL3 domain is known to play a key role for D2R-NMDAR interaction (32). Since critical amino acids responsible for D2R-NMDAR interaction have not been yet identified within this D2R-IL3 fragment, we used a control virus (Tet-On-D2R-IL3-scr) driving the expression of a scrambled peptide (Fig. 1G). We found that Tet-On-D2R-IL3 efficiently reduced D2R-NMDAR PLA puncta (Fig. 1, H and I) while preserving neuronal survival (Fig. 1J). Together, these results validate both an efficient disruption of receptor heteromerization and the accuracy of using PLA to detect DAR-NMDAR heteromers *in vivo*.

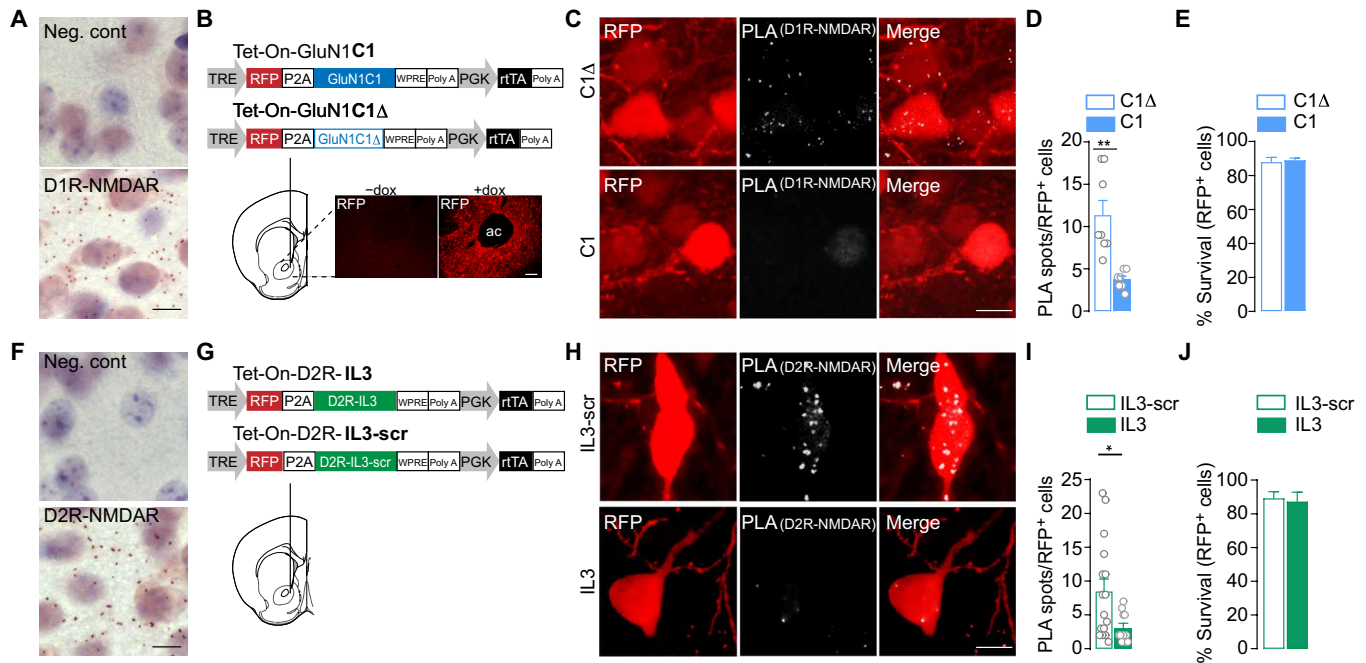


Fig. 1. Detection and temporally controlled disruption of striatal D1R-NMDAR and D2R-NMDAR heteromerization in vivo. (A) Example images of D1R-NMDAR heteromer PLA detection and related negative (Neg. cont) showing the absence of signal when one primary antibody is omitted. (B) Top: Viral-based strategy for expression of interfering peptide to disrupt D1R-NMDAR interaction [Tet-On-GluN1C1 (C1)] and control [Tet-On-GluN1C1Δ (C1Δ)] in the NAc. Bottom: Example image of dox (+dox)-mediated RFP expression [anterior commissure (ac)]. TRE, tetracycline response element; P2A, 2A peptide; PGK, phosphoglycerate kinase 1 promoter; rtTA, reverse tetracycline-controlled transactivator. (C) Example image of D1R-NMDAR heteromer detection by PLA in C1Δ- and C1-transduced neurons. (D) Quantifications of the fluorescent PLA signal in C1Δ- and C1-transduced neurons. Two-sided Student's *t* test, $t = 4.078$, $df = 13$, $**P = 0.0013$, $n = 7$ to 8 cells from four mice per group. (E) Neuronal survival of C1Δ- and C1-transduced neurons. Two-sided Student's *t* test, $t = 0.354$ $df = 6$, $P = 0.735$, $n = 4$ mice per group. (F) Same as in (A), for D2R-NMDAR heteromer PLA detection. (G) Viral strategy for expression of interfering peptide to prevent D2R-NMDAR heteromerization [Tet-On-D2R-IL3 (IL3)] and control [Tet-On-D2R-IL3-scr (IL3-scr)]. (H) Representative image D2R-NMDAR heteromer detection by PLA in IL3-scr- and IL3-transduced neurons. (I) Quantifications of the fluorescent PLA signal in IL3-scr- and IL3-infected neurons. Two-sided Student's *t* test, $t = 2.393$, $df = 25$, $*P = 0.0246$, $n = 11$ to 16 cells from 4 mice per group. (J) Neuronal survival of IL3-scr- and IL3-transduced neurons. Two-sided Student's *t* test, $t = 0.2767$ $df = 6$, $P = 0.7913$, $n = 4$ mice per group. Scale bars, 10 μm . Error bars denote SEMs.

Behavioral sensitization to cocaine is associated with transient D1R-NMDAR heteromerization and prolonged D2R-NMDAR heteromerization in the NAc

We investigated whether a cocaine regimen that triggers persistent behavioral adaptations can modulate the formation of these receptor complexes in vivo in the striatum. Mice were subjected to five daily injections of cocaine (15 mg/kg), which elicits a progressive locomotor sensitization (Fig. 2A) that is known to persist despite several weeks of abstinence. This behavioral paradigm is a straightforward model to study the mechanisms involved in drug-induced behavioral adaptations (2, 36). Mice were euthanized 1 day after the last injection to detect endogenous DAR-NMDAR proximity in distinct striatal subregions through PLA (34). We found that cocaine-treated mice displayed increased D1R-NMDAR heteromerization in the dorsolateral striatum (DL Str) and dorsomedial striatum (DM Str), as well as in the NAc core and NAc shell subdivisions (Fig. 2B). Cocaine also increased D2R-NMDAR heteromerization, but primarily in the NAc, with a smaller effect in the DL Str (Fig. 2C). This increased heteromerization occurred in the absence of changes in global expression levels of the component receptors (fig. S2A,B). Notably and as previously observed (37), repeated cocaine exposure decreases expression levels of the synaptic scaffold protein postsynaptic density 95 (PSD-95) (fig. S2C), which could

partly explain our results as the interaction of NMDAR and D1R with PSD-95, through partly overlapping domains, has been described to prevent D1R-NMDAR interaction (38).

To study the kinetics of receptor heteromerization, mice were subjected to a cocaine-induced locomotor sensitization paradigm, followed by 1-week abstinence period and a challenge injection of saline or cocaine. We found that cocaine-mediated D1R-NMDAR heteromerization was transient, as it returned to baseline levels after 7 days of abstinence in the NAc core, DM Str, and DL Str and was significantly decreased below saline-treated mice in the NAc shell. After a challenge injection of cocaine, D1R-NMDAR heteromerization increased again in all striatal subregions except in the DL Str, after the challenge injection of cocaine (Fig. 2D). Notably, D2R-NMDAR heteromerization appeared to be sustained ($15 \pm 3.5\%$ compared to the saline-treated group) over the abstinence period, specifically in the NAc core. The challenge injection of cocaine further increased D2R-NMDAR heteromers in the NAc, but not in dorsal parts of the striatum (Fig. 2D). To assess the role of D1R or D2R stimulation for receptor heteromerization, mice underwent a cocaine-locomotor sensitization followed by an abstinence period. Before a cocaine challenge, mice received an intraperitoneal injection of D1R or D2R antagonist that blunted the expression of behavioral sensitization. This allowed us to show that the stimulation

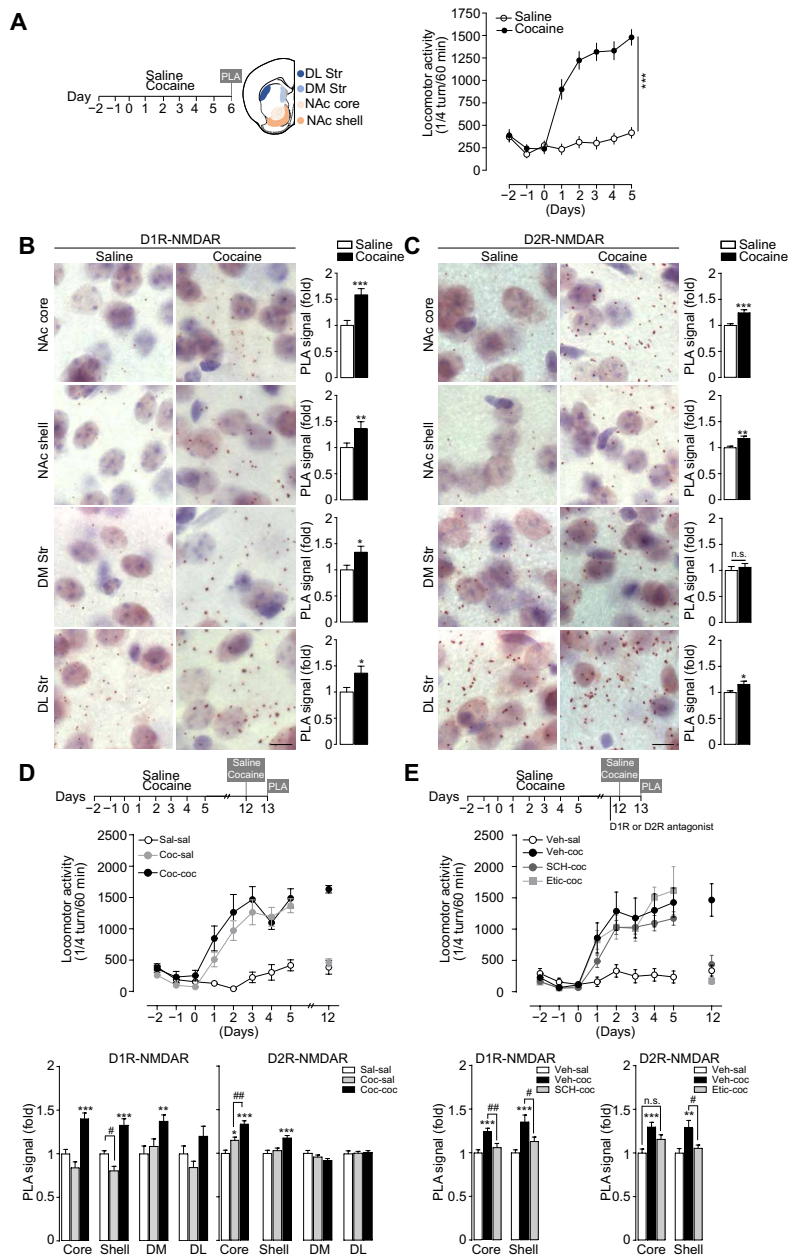


Fig. 2. Behavioral sensitization to cocaine is associated with transient D1R-NMDAR heteromerization and prolonged D2R-NMDAR heteromerization in the NAc.

(A) Experimental time frame [NAc core and NAc shell and measurements of locomotor activity before and during 5 days of saline or cocaine (15 mg/kg) injections]. Two-way analysis of variance (ANOVA): treatment effect, $F_{1,24} = 67.79$, $***P < 0.0001$ saline versus cocaine on day 5, $n = 13$ mice per group. DM, dorso-medial striatum; DL, dorso-lateral striatum. (B) Detection and quantifications of D1R-NMDAR heteromerization in saline- and cocaine-treated groups. PLA signal is represented as fold increase normalized to the saline group. Two-sided Student's t test: $*P < 0.05$, $**P < 0.01$, and $***P < 0.001$ (saline versus cocaine); $n = 28$ to 84 fields of view per structure (NAc core, 4; NAc shell, 12; DM, 6; DL, 6; fields of view per mice) from seven mice per group. (C) Same as for (B) for D2R-NMDAR heteromerization. (D) Experimental time frame, measurements of locomotor activity, and quantifications of D1R-NMDAR and D2R-NMDAR heteromerization. PLA signal is represented as fold increase normalized to the saline group. One-way ANOVA: $*P < 0.05$, $**P < 0.01$, and $***P < 0.001$ (saline-saline versus cocaine-saline/cocaine-cocaine); $\#P < 0.05$ and $\#\#P < 0.01$ (cocaine-saline versus cocaine-cocaine); $n = 28$ to 84 fields of view per structure from seven mice per group. (E) Same as for (D) except that mice received either a vehicle solution (Veh) or the D1R antagonist SCH23390 (SCH) or the D2R antagonist eticlopride (Etic) before a cocaine challenge. One-way ANOVA: $**P < 0.01$ and $***P < 0.001$ (vehicle-saline versus vehicle-cocaine); $\#P < 0.05$ and $\#\#P < 0.01$ (vehicle-cocaine versus SCH-cocaine or cocaine versus Etic-cocaine); n.s., not significant; $n = 28$ to 84 fields of view per structure from seven mice per group. Scale bars, 10 μm (B and C). Error bars denote SEMs.

of D1R or D2R was essential for cocaine-induced D1R-NMDAR and D2R-NMDAR heteromerization, respectively (Fig. 2E). Together, these data show that behavioral sensitization to cocaine is associated with a DAR-dependent transient heteromerization

of D1R-NMDAR throughout the whole striatum, whereas D2R-NMDAR heteromerization occurs primarily in the NAc and is maintained in the core subdivision during a 7-day abstinence from cocaine.

Cocaine-evoked potentiation of glutamate transmission onto D1R-MSNs requires D1R-NMDAR heteromerization

Long-lasting changes of glutamate transmission at cortical projections onto D1R-MSN of the NAc have been causally implicated in the development of cocaine-induced locomotor sensitization (13). To study the contribution of D1R-NMDAR heteromerization to drug-induced plasticity at these synapses, we injected mice with Tet-On-GluN1C1 together with a mixture of AAV-PPTA-Cre, driving the expression of the Cre recombinase under the control of the D1R-MSN-specific preprotachykinin (PPTA) promoter, and AAV-Double-floxed inverse Open reading frame (DIO)-eGFP (enhanced green fluorescent protein) to tag D1R-MSN (fig. S3A) (7, 39, 40). These mice were supplemented with dox before and during daily injections of saline or cocaine for 5 days, followed by a 10-day abstinence period. As previously shown (16), cocaine triggered an increase in AMPA/NMDA (A/N) ratio, an index of synaptic plasticity,

in D1R-MSN of mice injected with the control virus in the NAc. By contrast, while preserving basal synaptic transmission in the saline-treated group, the inhibition of D1R-GluN1 heteromerization blunted the cocaine-evoked increase in A/N ratio (Fig. 3, A and B), without modifying the amplitude or the kinetics of NMDAR excitatory postsynaptic currents (EPSCs; Fig. 3, C and D). These data show that D1R-NMDAR heteromerization controls cocaine-evoked changes in glutamate transmission in D1R-MSNs.

D1R-NMDAR heteromerization controls the development of cocaine-induced locomotor sensitization

We next evaluated the role of D1R-NMDAR heteromerization in the behavioral sensitizing properties of cocaine by supplementing Tet-On-AAV-injected mice with dox before and during saline or cocaine administration (Fig. 3E). Uncoupling D1R from GluN1 subunits of NMDAR did not affect basal locomotion nor the acute hyperlocomotor

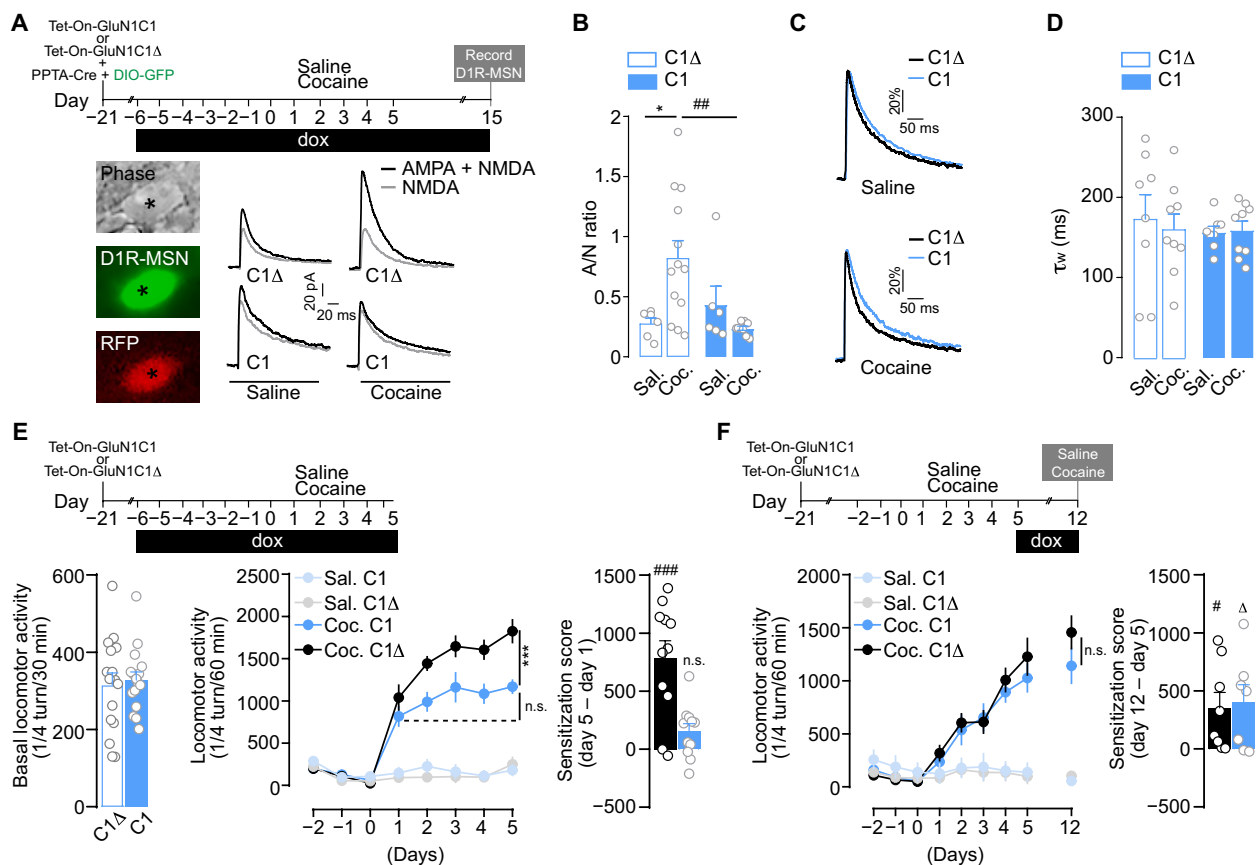


Fig. 3. D1R-NMDAR heteromerization controls cocaine-evoked potentiation of glutamate transmission onto D1R-MSN and the development of behavioral sensitization. (A) Experimental design and example trace of AMPA+NMDA (black) and NMDA (gray) currents in neurons (asterisk) expressing GFP [i.e., D1R-MSN (see fig. S3A)], and C1 or C1Δ (RFP+). (B) A/N ratios. Two-way ANOVA: virus effect, $F_{1,30} = 2.511$, $*P = 0.033$ and $##P = 0.0061$, $n = 3$ to 4 mice per group and $n = 6$ to 13 cells per group. (C) Comparison of representative recordings of pharmacologically isolated NMDAR EPSCs, normalized to the peak amplitude (in percentage). (D) Deactivation kinetics of NMDAR EPSCs. Two-way ANOVA: virus effect, $F_{1,30} = 0.205$, $P > 0.999$, $n = 3$ to 4 mice per group and $n = 8$ to 9 cells per group. (E) Top: Experimental time frame and basal locomotor activity. Bottom left: Two-sided Student's t test, $t = 0.332$, $df = 30$, $P = 0.742$, $n = 16$ mice per group. Bottom middle: Inhibition of D1R-NMDAR heteromerization during the development of locomotor sensitization. Three-way ANOVA: virus effect, $F_{1,256} = 13.72$, $***P = 0.0003$; $n.s.$, $P > 0.9999$, $n = 7$ to 11 mice per group. Bottom right: Sensitization scores of cocaine-treated mice injected with Tet-On-GluN1C1Δ (black) or Tet-On-GluN1C1 (blue). One-sample Student's t test: $t = 5.289$, $df = 10$, $###P = 0.0004$ (cocaine C1Δ versus 0); $t = 2.197$; $df = 10$; $n.s.$, $P > 0.05$ (cocaine C1 versus 0). (F) Top: Experimental time frame. Bottom left: Inhibition of D1R-NMDAR heteromerization during 7 days of abstinence, followed by a challenge cocaine injection. Three-way ANOVA: virus effect, $F_{1,243} = 0.6160$, $P > 0.9999$, $n = 7$ to 8 mice per group. Bottom right: Sensitization scores of cocaine-treated mice injected with Tet-On-GluN1C1Δ (black) or Tet-On-GluN1C1 (blue). One-sample Student's t test, $t = 5.289$, $df = 7$, $##P = 0.0325$ (cocaine C1Δ versus 0); $t = 2.599$, $df = 6$, $\Delta P = 0.0407$ (cocaine C1 versus 0). Error bars denote SEMs.

response triggered by the first cocaine injection but fully blocked the development of the behavioral sensitization induced by subsequent injections (Fig. 3E). Notably, dox supplementation did not alter body weight, basal locomotion, or behavioral sensitization to cocaine in mice that were not injected with Tet-On viruses (fig. S4, A to C).

By temporally controlling expression of the interfering peptides, we assessed the contribution of D1R-NMDAR heteromerization to the maintenance phase of locomotor sensitization. Mice injected with Tet-On viruses were treated with saline or cocaine for 5 days in the absence of dox. As expected, these mice displayed a similar cocaine-induced locomotor sensitization regardless of the virus injected. To switch off D1R-NMDAR heteromerization after behavioral sensitization, dox was given after the last saline or cocaine injection and during a 7-day abstinence period, followed by a challenge injection of saline or cocaine (Fig. 3F, top). We found that mice displayed the same level of sensitization in response to the cocaine challenge regardless of the AAV used, demonstrating that D1R-NMDAR heteromerization is not required for the maintenance of locomotor sensitization (Fig. 3F, bottom). Since cocaine also enhanced D1R-NMDAR heteromerization in the dorsal striatum (Fig. 2B), we also targeted heteromers in this striatal subregion and obtained the same results (fig. S4, D and E). Overall, these data show that D1R-NMDAR heteromerization in the striatum controls the development, but not the maintenance, of cocaine's sensitizing effects.

D2R-NMDAR heteromerization is involved in the development and maintenance of cocaine's sensitizing effects

In light of the significant and persistent impact of cocaine on D2R-NMDAR heteromerization in the NAc (Fig. 2, C to E), we studied the consequences of disrupting D2R-NMDAR interaction on glutamate transmission onto D2R-MSN and on the sensitizing effects of cocaine using AAV-Tet-On-D2R-IL3 (see Fig. 1, G to I). Because repeated cocaine exposure does not modify A/N ratio in D2R-MSN (16), the influence of uncoupling D2R from NMDAR was studied in saline-treated animals with virally tagged D2R-MSN owing to the coinjection of AAV-PPE-Cre, driving the expression of the Cre recombinase under the control of the D2R-MSN-specific preproenkephalin (PPE) promoter (7) and AAV-DIO-eGFP (fig. S3B). We found that inhibiting D2R-NMDAR heteromerization did not alter, by itself, A/N ratio in D2R-MSN (Fig. 4, A and B). The AAV-Tet-On-D2R-IL3 also left unchanged the amplitude and kinetics of NMDA currents (Fig. 4, C and D), indicating a lack of nonspecific effects of our strategy on NMDAR functionality. Notably, disrupting D2R-NMDAR interaction with AAV-Tet-On-D2R-IL3 also spared the ability of a D2R agonist to inhibit cyclic adenosine-3',5'-monophosphate (cAMP) production in a heterologous system (Fig. 4E), demonstrating that our interfering strategy selectively perturbs D2R-NMDAR heteromerization while preserving the functions of individual component receptors.

At the behavioral level, interfering with D2R-NMDAR heteromerization preserved basal locomotion but blunted the development of cocaine-induced locomotor sensitization (Fig. 4F). Notably, as opposed to D1R-NMDAR complexes, we found that the inhibition of D2R-NMDAR heteromerization during the abstinence period also reduced the maintenance of the behavioral sensitization compared to cocaine-treated mice injected with the control virus (Fig. 4G). These mice were euthanized 24 hours after the last cocaine exposure to analyze expression levels of Δ FosB, which has been shown to be persistently expressed in response to cocaine (41). Although modulating Δ FosB expression levels in D2R-MSN has

been shown to not affect behavioral responses to cocaine (42–44), Δ FosB expression was used here as a readout for potential signaling and transcriptional alterations induced in D2R-MSN as a consequence of D2R-NMDAR heteromer disruption during abstinence and re-exposure to cocaine. Notably, we observed a significant increase in the number of Δ FosB-positive D2R-MSN after the cocaine challenge upon inhibition of D2R-NMDAR interaction (fig. S5A). This suggests that D2R-NMDAR heteromer disruption is associated with signaling pathway activation in D2R-MSN. Regardless, these data demonstrate that D2R-NMDAR heteromerization controls both the development and the maintenance of cocaine's sensitizing effects.

Differential roles of D1R-NMDAR and D2R-NMDAR heteromers in controlling the rewarding effects of cocaine

We next investigated the role of these heteromers in the rewarding effects of cocaine using a conditioned place preference (CPP) paradigm. Mice injected in the NAc with a control virus and supplemented with dox developed a significant cocaine-induced CPP, which was blunted when D1R and NMDAR were uncoupled (Fig. 5A). Although single or repeated cocaine administration has been shown to trigger dendritic spine formation in D1R-MSN (39, 45), there is no study showing these morphological changes in the NAc in the context of CPP. Mice were thus euthanized the day after the behavioral test to perform a three-dimensional morphological analysis of GFP-tagged D1R-MSN. Control mice, which developed CPP to cocaine, displayed a significant increase in dendritic spine density in D1R-MSN, which was inhibited when D1R and NMDAR were uncoupled (Fig. 5B). To study the implication of D1R-NMDAR heteromerization on cocaine-induced reinstatement of CPP, AAV-injected mice were initially trained for CPP in the absence of dox. Once mice developed CPP, dox was added to alter D1R-NMDAR interaction during an extinction period, followed by a cocaine-induced reinstatement of CPP. We observed that the inhibition of D1R-NMDAR interaction did not alter the kinetics of extinction nor the reinstatement of CPP (Fig. 5C), thus supporting a critical role for D1R-NMDAR heteromers in the development of the rewarding effects of cocaine, as observed for locomotor sensitization, but not in the extinction or reinstatement of CPP.

The uncoupling of D2R from NMDAR also blocked the development of cocaine CPP (Fig. 5D), but this was not correlated to morphological changes in D2R-MSNs since the CPP paradigm did not trigger any modification of dendritic spine density in D2R-MSN regardless of the AAV used (Fig. 5E). Inhibiting D2R-NMDAR heteromerization once the mice had developed CPP did not affect the extinction of CPP but significantly reduced cocaine-induced reinstatement of CPP (Fig. 5F). Notably, this inhibitory effect of D2R-NMDAR heteromer disruption on cocaine-induced reinstatement of CPP was associated with an increased expression of Δ FosB in D2R-MSN (fig. S5B), similar to what we observed after a challenge injection of cocaine in the locomotor sensitization paradigm.

Together, these results indicate that D2R-NMDAR heteromerization is required for both the development and reinstatement of cocaine-induced CPP, independently of morphological changes in GFP-tagged D2R-MSNs.

Inhibiting D1R-NMDAR or D2R-NMDAR heteromerization does not alter CPP for food

Manipulating D1R-NMDAR or D2R-NMDAR heteromerization *in vivo* allowed us to reveal their selective implication in controlling

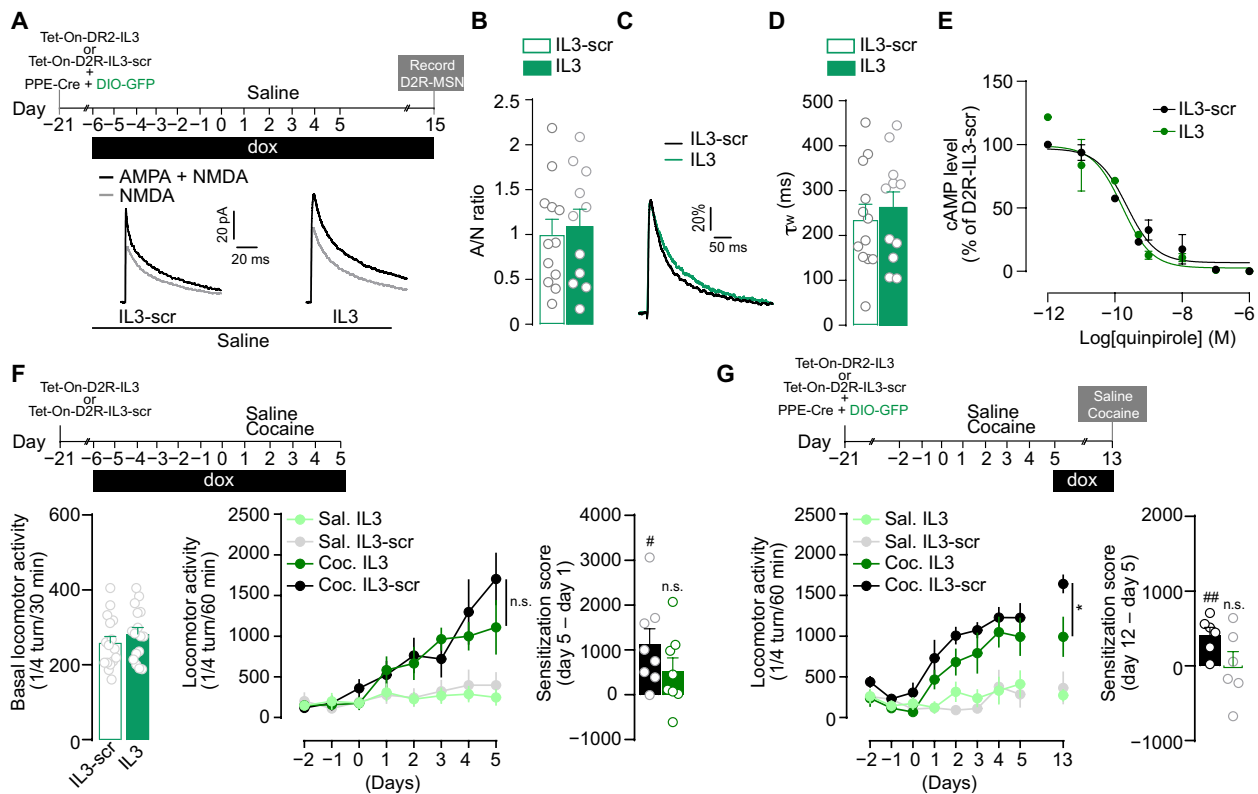


Fig. 4. D2R-NMDAR heteromerization is involved in the development and maintenance of cocaine's sensitizing effects. (A) Experimental time frame and representative traces of AMPA + NMDA (black) and NMDA (gray) currents in neurons expressing GFP [i.e., D2R-MSN (see fig. S3B)] and IL3 or IL3-scr (RFP⁺) (B) A/N ratios. Two-sided Student's *t* test: $t = 0.3397$, $df = 21$, $P = 0.7375$, $n = 4$ to 6 mice per group and $n = 11$ to 12 cells per group. (C) Comparison of representative recordings of pharmacologically isolated NMDAR EPSCs, normalized to the peak amplitude (in percentage). (D) Deactivation kinetics of NMDA EPSCs. Two-sided Student's *t* test: $t = 0.5129$, $df = 21$, $P = 0.6134$, $n = 11$ to 12 cells to group. (E) Tet-On-D2R-IL3 spares quinpirole-induced inhibition of forskolin-induced accumulation of cAMP. LogIC₅₀ is -9.78 for D2R-IL3 and -9.65 for D2R-IL3-Scr. $n = 3$ independent experiments per condition. (F) Top: Experimental time frame. Bottom left: Basal locomotor activity. Two-sided Student's *t* test, $t = 0.994$, $df = 30$, $P = 0.3282$, $n = 16$ mice per group. Bottom middle: Inhibition of D2R-NMDAR heteromerization blunts the development of locomotor sensitization. Three-way ANOVA: virus effect, $F_{1,192} = 1.984$; n.s., $P > 0.9999$; $n = 6$ to 8 mice per group. Bottom right: Sensitization scores of cocaine-treated mice injected with Tet-On-D2R-IL3-scr (black) or Tet-On-D2R-IL3 (green). One-sample Student's *t* test, $t = 3.258$, $df = 7$, $\#P = 0.0139$ (cocaine IL3-Scr versus 0); $t = 1.782$, $df = 7$, $P > 0.05$ (cocaine IL3 versus 0). (G) Top: Experimental time frame. Bottom left: Impact of D2R-NMDAR heteromer inhibition on the maintenance of cocaine-evoked locomotor sensitization. Three-way ANOVA: virus effect, $F_{1,198} = 7.278$, $\#P = 0.0330$, $n = 6$ mice per group. Bottom right: Sensitization scores of cocaine-treated mice injected with Tet-On-D2R-IL3-scr (black) or Tet-On-D2R-IL3 (green). One-sample Student's *t* test: $t = 4.170$, $df = 5$, $\#\#P = 0.0087$ (cocaine IL3-Scr versus 0); $t = 0.00$, $df = 5$, $P > 0.05$ (cocaine IL3 versus 0). Error bars denote SEMs.

distinct phases of long-term cocaine-evoked adaptations. We next examined whether receptor heteromerization also controls non-drug reward processing. We found that disrupting either heteromer subtype, using comparable conditions as for our studies with cocaine, failed to alter the reinforcing properties of food (Fig. 6), supporting a role of these heteromers in controlling the rewarding effects of cocaine but not a nondrug reward.

D2R-NMDAR heteromerization is increased in postmortem brain samples from individuals with psychostimulant use disorder despite decreased D2R expression

As evidenced above in mice, D2R-NMDAR heteromerization plays a cardinal role in the maintenance of cocaine's effects without affecting natural reward processing, which positions this heteromer subtype as a potential therapeutic target for drug addiction. We therefore investigated whether D2R-NMDAR heteromerization could be detected in human brain tissues and if it was modulated in subjects with a history of psychostimulant dependence.

PLA has recently been shown to be a suitable approach to detecting single proteins or receptor heteromers, including D2R-A2AR (adenosine A2 receptor), in human brain samples (46, 47). We therefore performed single detection of D2R, the GluN2B subunit of NMDAR, and D2R-NMDAR heteromers in postmortem human samples from control subjects and matched individuals with a history of psychostimulant dependence. Although often suffering from a polydrug use disorder, these individuals were selected for their main dependence on psychostimulants and the presence of traces of psychostimulants in their blood at the time of death (table S1). From whole-slide images of caudate putamen samples, automated detection of PLA signal was performed from 25 high-magnification images per subjects randomly selected within the ventral part of the samples, which corresponds to the mouse NAC (fig. S6).

D2R single detection produced a dense punctate pattern in control subjects (Fig. 7A), as already reported (46). As expected, this signal was absent when PLA was performed in the absence of the primary antibody. We detected a significant decrease in relative

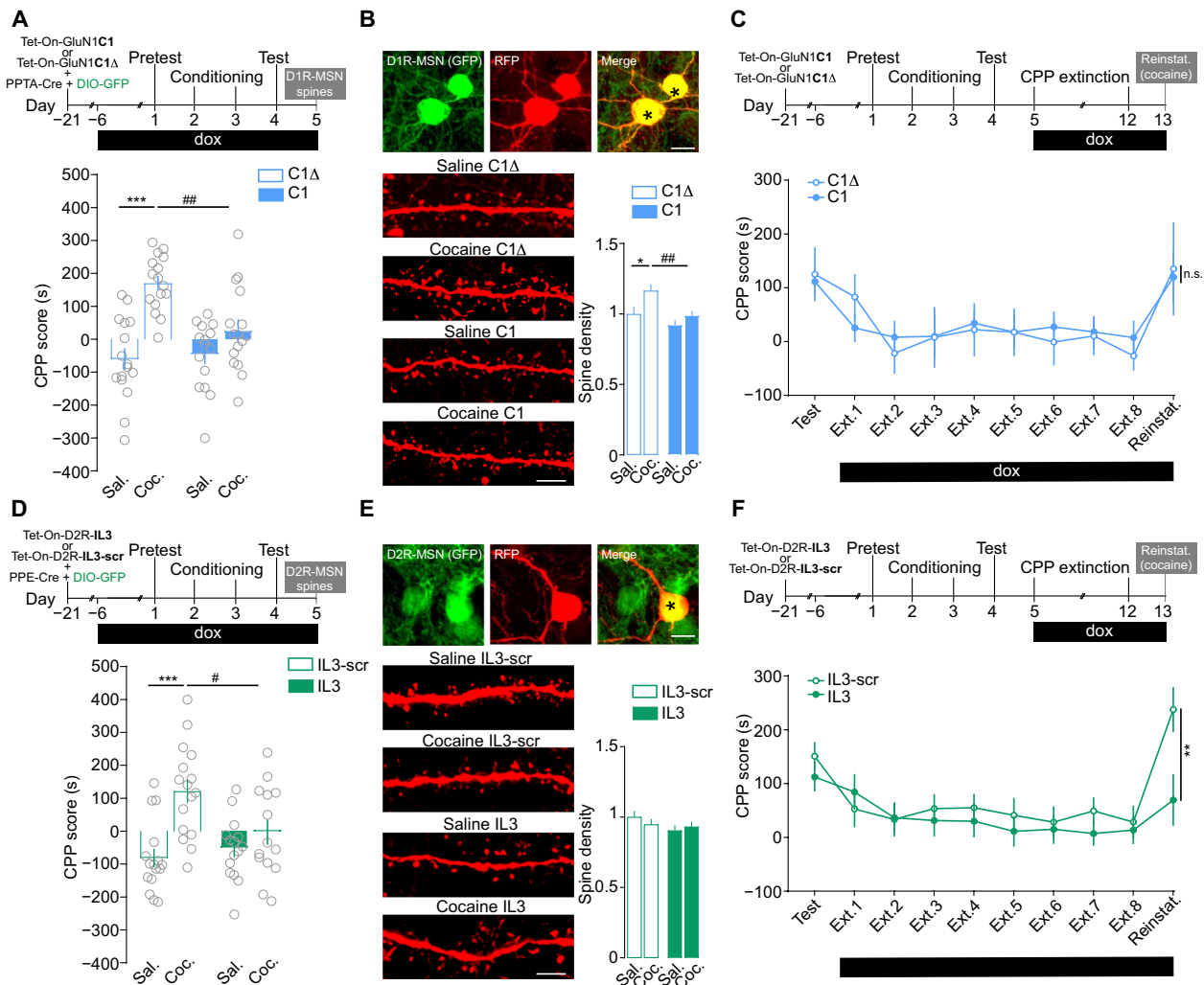


Fig. 5. Differential roles of D1R-NMDAR and D2R-NMDAR heteromerization in controlling the rewarding effects of cocaine. (A) Experimental time frame and CPP score upon inhibition of D1R-NMDAR heteromerization. Two-way ANOVA: virus effect, $F_{1,59} = 5.281$, $***P < 0.0001$ and $##P = 0.0040$, $n = 15$ to 16 mice per group. (B) Top: Low magnification images of D1R-MSN (GFP⁺; see fig. S3A) infected (RFP) shown by the asterisks. Scale bar, 10 μm . Bottom: High magnification of dendritic segments. Scale bar, 5 μm . Spine density analysis. Two-way ANOVA: virus effect, $F_{1,162} = 11.14$, $*P = 0.0446$ and $##P = 0.0043$, $n = 27$ to 69 dendrites from six mice per group. (C) Experimental time frame to study the impact of D1R-NMDAR uncoupling on the extinction and cocaine-induced reinstatement (Reinstat.) of CPP. Two-way ANOVA: virus effect, $F_{1,24} = 0.004$, $P > 0.999$ (cocaine C1 versus cocaine C1 Δ , CPP score on relapse day), $n = 10$ to 16 mice per group. (D) Same as for (A) upon inhibition of D2R-NMDAR heteromerization. Two-way ANOVA: virus effect, $F_{1,57} = 2.424$, $***P < 0.0001$ and $\#P = 0.0396$, $n = 14$ to 16 mice per group. (E) Top: Low-magnification images of D2R-MSN (GFP; see fig. S3B) infected (RFP) shown by the asterisk. Scale bar, 10 μm . Bottom: High-magnification of dendritic segments. Scale bar, 5 μm . Spine density analysis. Two-way ANOVA: virus effect, $F_{1,166} = 0.1268$; n.s., $P > 0.999$ (saline IL3-scr versus cocaine IL3-scr); $n = 30$ to 53 dendrites from six mice per group. (F) CPP score upon inhibition of D2R-NMDAR during CPP during extinction and cocaine-induced reinstatement. Two-way ANOVA: virus effect, $F_{1,31} = 0.899$, $**P = 0.0018$ (cocaine IL3 versus cocaine IL3-scr CPP score on reinstatement day), $n = 16$ to 17 mice per group. Error bars denote SEMs.

D2R protein expression in samples from individuals with psychostimulant use disorder compared to control subjects (Fig. 7, A and B), consistent with the well-established decrease in striatal D2R availability reported in individuals suffering from psychostimulant misuse by positron emission tomography (PET) imaging (33, 48–51). By contrast, the single detection of GluN2B subunits of NMDAR produced a dense PLA signal that was not different between both groups of subjects (Fig. 7, C and D). The double recognition of D2R-NMDAR proximity yielded a punctate signal in control subjects, which was undetectable when one of the two primary antibodies was omitted (Fig. 7E). In samples from individuals with psychostimulant use disorder, there was a trend toward an increase in D2R-NMDAR

heteromers (Fig. 7F) despite the marked decrease in D2R levels. We therefore analyzed whether a correlation between individual receptor levels and D2R-NMDAR heteromerization could exist in individuals with a history of psychostimulant use disorder. We found a significant inverse correlation between these two parameters for D2R (Fig. 7G), but not GluN2B (Fig. 7H), suggesting that despite the lower levels of D2R expression, the remaining pool of D2R was preferentially involved in D2R-NMDAR heteromerization. In accordance, when normalizing the D2R-NMDAR PLA signal to D2R levels for each individual, we found a significant increase in relative D2R heteromerization with NMDAR in samples from people with psychostimulant use disorder when compared to controls (Fig. 7I).

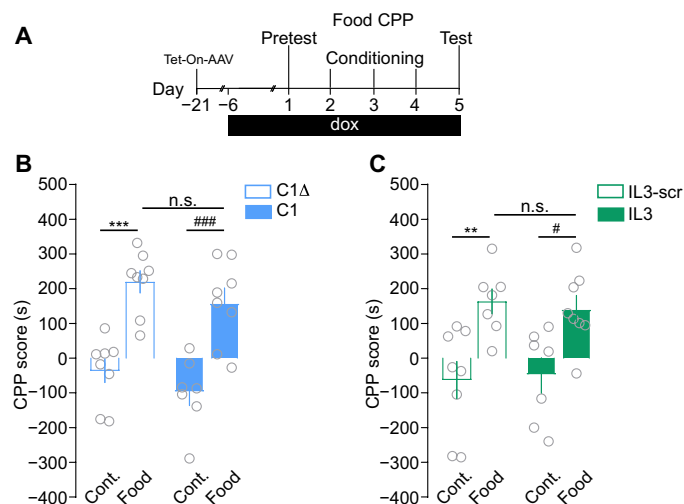


Fig. 6. Inhibiting D1R-NMDAR or D2R-NMDAR heteromerization does not alter CPP for food. (A) Experimental time frame to study the consequences of inhibition of heteromerization on the development of food-induced CPP. (B) Impact of inhibiting D1R-NMDAR heteromerization on the CPP score. Two-way ANOVA: virus effect, $F_{1,27} = 2.756$, $***P = 0.0002$ (control C1 Δ versus food C1 Δ); $###P = 0.0002$ (control C1 versus food C1); n.s., $P > 0.999$ (food C1 versus food C1 Δ); $n = 7$ to 8 mice per group. (C) Effect of inhibiting D2R-NMDAR heteromerization on the CPP score. Two-way ANOVA: virus effect $F_{1,26} = 0.007$, $**P < 0.0098$ (control IL3-scr versus food IL3-scr); $\#P = 0.0366$ (control IL3 versus food IL3); n.s., $P > 0.999$ (food IL3 versus food IL3-scr); $n = 7$ to 8 mice per group. Error bars denote SEMs.

Expression levels of D1R and GluN1 subunits of NMDAR, as well as D1R-NMDAR heteromerization, were also analyzed by PLA from the same human postmortem samples. Comparable levels of these two proteins were found in caudate putamen from control subjects and individuals with a history of psychostimulant misuse (fig. S7, A to D). By contrast, we observed decreased D1R-NMDAR heteromerization in individuals with psychostimulant use disorders (fig. S7, E to H). This latter result is reminiscent of the lower D1R-NMDAR interaction that we observed in mice after a 7-day period of abstinence in the NAc shell (see Fig. 2D).

To the best of our knowledge, these results provide the first direct evidence of a decreased D2R protein expression in the striatum of individuals with psychostimulant use disorder, which is associated with an increase in D2R-NMDAR heteromerization. Together with our interventional approach in mice, our data support D2R-NMDAR heteromers as therapeutic targets of potential interest in addiction.

DISCUSSION

Optogenetic studies have shown that distinct phases of drug-induced behavioral adaptations rely on DA-evoked synaptic adaptations at specific glutamate inputs onto MSN subpopulations (13–15, 52, 53). Nonetheless, the underlying molecular mechanisms remain poorly understood (2). This is an important issue because the identification of events responsible for such a detrimental interplay between DA and glutamate signaling may help in the development of innovative strategies with therapeutic potential. Here, we provide multiple lines of evidence, from mice to humans, that the heteromerization of glutamate NMDAR with D1R or D2R is modulated by psychostimulants and differentially controls the development and maintenance phases of cocaine-evoked long-term adaptations.

The focus on DAR and NMDAR heteromers as potential integrators of DA and glutamate inputs that may control drug-mediated adaptations stems from *in vitro* and *ex vivo* studies showing that such a direct physical interaction allows a reciprocal fine-tuning of the component receptors' functions (23, 27). In particular, patch clamp recording from striatal slices showed that D1R-NMDAR and D2R-NMDAR interactions facilitate and inhibit NMDAR-mediated signaling upon DA increase, respectively (31, 32). An appealing hypothesis would therefore be that, by linking DA to glutamate signaling in opposite ways, these heteromers could constitute molecular substrates for drugs of abuse to exert their differential effects on the activity of MSN subtypes, which has been proposed to underlie the switch from recreational drug consumption to addiction (3, 54).

In agreement with this model, our PLA analysis showed that locomotor sensitization induced by repeated cocaine injections was associated with an increase in both heteromers in the NAc. We also found that this increased heteromerization requires DAR stimulation. While the PLA method cannot establish the direct physical contact of the two proteins or the stoichiometry of the complex, it does indicate that the proteins are in close molecular proximity (34). Nonetheless, previous studies have provided evidence for direct interactions between the D1R-NMDAR and D2R-NMDAR (28, 32), and we find that our viral minigenes selectively decrease the PLA signals; we therefore interpret these PLA data as support for receptor heteromerization. While in-depth characterization of the molecular events responsible for this increased receptor interaction upon cocaine exposure is beyond the scope of this study, a possible explanation may lie in the observation that repeated cocaine exposure decreases PSD-95 expression in the NAc (37). PSD-95 is a known endogenous inhibitor of D1R-NMDAR interaction (38) that also binds to D2R (55) and the C-terminal end of GluN2B subunits of NMDAR (56). Although the PLA approach is able to provide a snapshot of the impact of cocaine on receptor heteromerization *in situ* in their native environment (31, 34, 57), future work is needed to investigate whether heteromerization of DAR and NMDAR is an input-specific process and whether it relies on the modulation of receptor surface expression and/or dynamics.

The development of the sensitizing effects of cocaine has been previously causally linked to the potentiation of glutamate transmission at cortical projections onto D1R-MSN of the NAc (13). Since we observed that preventing D1R-NMDAR heteromerization reversed both alterations in A/N ratio and the development of behavioral sensitization while sparing the function of individual component receptors [see (31)], our results suggest that D1R-NMDAR heteromers are key molecular platforms for the development of cocaine-induced long-term adaptations. In contrast, disrupting D1R-NMDAR interaction during abstinence from cocaine did not disrupt maintenance of the sensitized state, supporting a preferential role of this heteromer subtype in the initial phases of cocaine-mediated adaptations. In agreement with this hypothesis, we observed that preventing D1R-NMDAR heteromerization during CPP conditioning also blocked the development of the rewarding effects of cocaine but failed to alter the extinction and reinstatement phases. This critical time window of D1R-NMDAR heteromer function restricted to the early developmental phase of cocaine-evoked adaptations agrees with our observation that cocaine-induced D1R-NMDAR heteromerization is a transient mechanism that does not outlast a 7-day abstinence period. Instead, the temporally controlled disruption of D2R-NMDAR

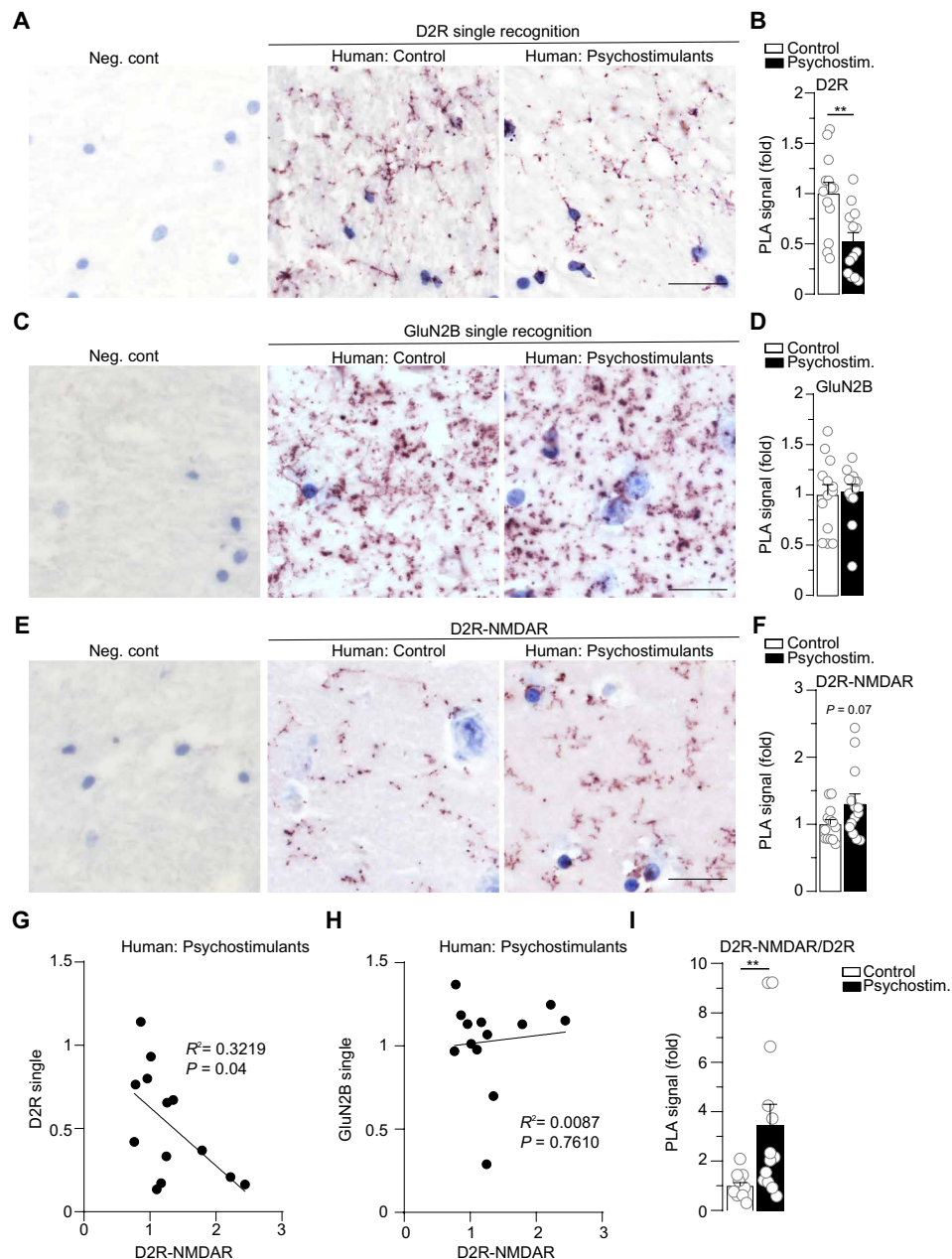


Fig. 7. D2R-NMDAR heteromerization is increased in postmortem brain samples from individuals with psychostimulant use disorder despite decreased D2R expression. (A) Representative images of D2R single recognition by PLA in human control subjects (Human: Control) or individuals having suffered from psychostimulant use disorder (Human: Psychostimulants) and negative control, in which the primary antibody is omitted (left; Neg. cont; see fig. S6). (B) Quantifications of D2R single PLA signal represented as fold decrease compared to control subjects. Two-sided Student's *t* test: $t = 3.331$ $df = 24$, $**P = 0.0028$, $n = 13$ subjects per group. (C) Example images of GluN2B subunit of NMDAR single detection and Neg. cont. (D) Quantifications of GluN2B PLA signal. Two-sided Student's *t* test: $t = 0.224$ $df = 24$, $P = 0.8243$, $n = 13$ subjects per group. (E) Illustrative images of D2R-NMDAR heteromer detection by PLA and Neg. cont (GluN2B antibody omitted). (F) Quantifications of D2R-NMDAR PLA signal. Two-sided Student's *t* test: $t = 1.868$ $df = 24$, $P = 0.074$, $n = 13$ subjects per group. (G) Pearson correlation between D2R expression levels and D2R-NMDAR heteromerization for each sample from all individuals having suffered from psychostimulant use disorder. $R^2 = 0.3219$, $P = 0.0432$. (H) Same as in (G) for the Pearson correlation between GluN2B expression levels and D2R-NMDAR. $R^2 = 0.0087$, $P = 0.761$. (I) Quantifications of D2R-NMDAR PLA signal normalized to D2R expression levels for each subject. Two-sided Student's *t* test, $t = 2.882$ $df = 24$, $**P = 0.0082$, $n = 13$ subjects per group. Scale bars, 25 μm (A, C, and E). Error bars denote SEMs.

heteromers revealed their important role in controlling both the development and maintenance of the sensitizing and rewarding effects of cocaine. In agreement with these findings, we found that D2R-NMDAR heteromerization persisted through abstinence from cocaine. Moreover, this persistent heteromerization was specifically

observed in the NAC core, which has been identified as a common output structure of neuronal circuits involved in both cue- and drug-induced reinstatement (58). Since the optogenetic activation of D2R-MSNs in the NAC has been shown to preserve cocaine-induced locomotor sensitization but to blunt its expression after abstinence

(59), our results support a model by which inhibiting endogenous D2R-NMDAR interaction during abstinence hinders the persistence of cocaine-evoked responses by potentiating D2R-MSN activity. Since D2R-GluN2B heteromerization has been shown to mediate the D2R agonist-induced inhibition of NMDAR functions *ex vivo* (32), we reasoned that disrupting D2R-NMDAR interaction, by preventing the inhibitory effect of DA on NMDAR signaling, could artificially activate signaling pathways and transcription in D2R-MSN. To test this hypothesis, we studied expression levels of Δ FosB in D2R-MSN upon blockade of D2R-NMDAR interaction. Δ FosB expression has been used here as a reporter gene for the activation of signaling pathways and gene expression. We found that disrupting D2R-NMDAR heteromerization during an abstinence period was associated with an increase in Δ FosB in D2R-MSN upon reexposure to the drug. Because Δ FosB overexpression in D2R-MSN has been shown not to affect behavioral responses to cocaine (42–44), the increased Δ FosB expression in D2R-MSN that we observed upon blockade of D2R-NMDAR heteromerization is unlikely responsible for the alteration of the persistence of the sensitization and rewarding effects of cocaine CPP but rather reflects the ability of D2R-NMDAR to modulate cocaine-induced signaling in D2R-MSN. Nevertheless, our results strongly support that D2R-NMDAR heteromerization is a key molecular mechanism triggered by cocaine that alter signaling in D2R-MSN and contributes to the persistence of cocaine-evoked adaptations.

Notably, there exists another epitope within the IL3 of D2R (_{217RRRRKRR222}) that is involved in the interaction of D2R with A2AR (60). Furthermore, cocaine self-administration has been shown to trigger an increase in D2R-A2AR heteromerization in the NAc (61), which plays a functional role at the behavioral level (62). On the basis of these findings and as opposed to previous work targeting D2R-NMDAR heteromerization (32), we designed AAV-Tet-On-D2R-IL3 to express a fragment of D2R-IL3 that does not include the D2R-IL3 fragment responsible for D2R-A2AR interaction. This suggests that the inhibition of the development and persistence of cocaine-evoked adaptations that we observed are likely due to a direct inhibitory effect of AAV-Tet-On-D2R-IL3 on D2R-NMDAR interaction. However, because D2R binds to both NMDAR and A2AR, we cannot exclude the possibility that disrupting D2R-NMDAR interaction may indirectly modulate D2R-A2AR heteromerization. Regardless, our results strongly support D2R-NMDAR heteromers as molecular targets with a potential therapeutic value.

Direct manipulations of MSN activity have clearly revealed that D1R-MSN and D2R-MSN activation facilitates and blunts the development and maintenance phases of psychostimulant-induced behavioral adaptations, respectively (2). Notably, our findings that D1R-NMDAR and D2R-NMDAR heteromerization controls distinct phases of cocaine-induced locomotor sensitization highlight that these receptor complexes mediate discrete properties of MSN subpopulations and play complementary roles to mediate the full panel of cocaine-induced adaptations. In further support of specific functions of DA and glutamate receptor heteromers, we established that their roles in shaping reward processing depend on the nature of the reward since the disruption of either receptor heteromer blocked the development of cocaine-induced CPP but spared food-mediated CPP. Although the mechanisms underlying this selectivity to drug reward remain to be established, our findings suggest that targeting DA-glutamate receptor heteromers has the potential to preferentially alleviate pathological adaptations induced by drugs of abuse. In particular, the role for D2R-NMDAR heteromerization in maintaining cocaine-induced adaptations, combined with its lack

of implication in reward processing to a natural reinforcer, suggests that D2R-NMDAR heteromers are targets of choice from a translational standpoint. This first led us to investigate whether this heteromer subtype could be detected in postmortem human samples and modulated in subjects with a history of psychostimulant consumption.

Our PLA analysis revealed a strong reduction of D2R protein levels in the NAc of individuals with psychostimulant use disorder. This first observation of a decreased D2R protein expression in postmortem brain samples from individuals having suffered from psychostimulant misuse is consistent with the down-regulation of D2R mRNA levels that has been described after long-term cocaine exposure in rats (63). This finding could also partly account for the decrease in D2R binding readily observed with PET imaging in the striatum of subjects with psychostimulant use disorder (33, 48–51). Despite this down-regulation of D2R protein, the proportion of D2R forming heteromers with GluN2B subunits of NMDAR was three-fold higher in samples from subjects with a history of psychostimulant misuse compared to control subjects. Notably, individuals with psychostimulant use disorder bearing the lowest D2R expression displayed the highest density of D2R-NMDAR. This raises questions regarding the underlying molecular mechanism of D2R-NMDAR heteromer formation in response to psychostimulant exposure in human. On the basis of our findings in mice that cocaine-induced D2R-NMDAR heteromerization depends on D2R stimulation, it is tempting to speculate that repeated increases of phasic DA levels resulting from recurrent psychostimulant consumption could be responsible for the higher D2R-NMDAR receptor proximity. By contrast, we observed a decreased D1R-NMDAR heteromerization in subjects with psychostimulant use disorder. This decrease might be linked to the transient nature of cocaine-induced D1R-NMDAR heteromerization that we identified in mice treated with cocaine and subjected to an abstinence period. In the case of human samples, although the history of drug use disorder was accurately characterized, we do not have information about when these individuals last consumed psychostimulants. Therefore, the decrease in D1R-NMDAR heteromers that we measured in subjects with a history of psychostimulant use disorder may result from the delay between the last drug consumption and the time of death. By contrast, the increase in D2R-NMDAR heteromerization that we observed in the ventral striatum of subjects with psychostimulant use disorder agrees with our finding that cocaine-induced D2R-NMDAR heteromerization in the NAc core of mice outlasts a 7-day abstinence period. Nonetheless, the increased D2R-NMDAR heteromerization that we observed in human samples from individuals with psychostimulant use disorder, together with interventional approaches in mice, emphasizes their roles in the persistence of cocaine's behavioral effects. These findings constitute an important breakthrough in our understanding of the molecular bases of cocaine-induced adaptations and highlight the potential benefit of targeting D2R-NMDAR heteromerization not only in the field of addiction but also potentially for multiple neuropsychiatric disorders associated with an imbalance of DA and glutamate transmission.

MATERIALS AND METHODS

Animals

Six-week-old C57BL/6J male mice were purchased from Janvier Labs (Le Genest-Saint-Isle, France). The animals were housed four per cage, in a 12-hour light/12-hour dark cycle, under stable temperature (22°C) and humidity (60%) conditions with *ad libitum*

access to food and water. They were acclimatized to the animal facility for at least 1 week. All experiments were carried out in accordance with the standard ethical guidelines [European Community Council Directive on the Care and Use of Laboratory Animals (86/609/EEC) and the French National Committee (2010/63)].

Drugs

Drugs were administrated intraperitoneally in a volume of 10 ml/kg. Cocaine hydrochloride (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) was dissolved in a saline solution [0.9% (w/v) NaCl].

9-*tert*-butyl dox hydrochloride (9TB-dox; tebu-bio, Le Perray-en-Yvelines, France) was dissolved in a saline solution containing dimethyl sulfoxide (DMSO; 5%) and Tween 20 (5%). SCH23390 (0.25 mg/kg) or eticlopride (0.5 mg/kg) dissolved in a saline solution [0.9% (w/v) NaCl] were administered 30 min before the challenge cocaine injection.

Viral constructions

All AAV recombinant genomes were packaged in serotype 9 capsids. AAV-Tet-On-GluN1C1 bicatrically expresses the fluorescent reporter protein RFP and the C1 cassette of the GluN1 subunit (₈₆₄DRKSGRAEPPDKKATFRAITSTLASSFKRRRSSKDT₉₀₀) upon dox treatment. The related control virus AAV-Tet-On-GluN1C1Δ expresses a truncated version of C1 that is deleted from a stretch of nine positively charged amino acids (₈₉₀SFKRRRSSK₈₉₈), which are required for D1R-GluN1 interaction (54). The AAV-Tet-On-D2R-IL3 encodes a sequence of the IL3 of the D2R (₂₂₅TKRSSRAFRA₂₃₄) interacting with GluN2B. The control AAV-Tet-On-D2R-scr expresses a scrambled sequence (KFARRTSASR) of the D2R-IL3 (full AAV sequences are available upon request). All Tet-On AAV were injected bilaterally by infusing 0.7 μl of a solution at 5.10^{15} viral genomes/ml per hemisphere for the NAc (2 μl for the dorsal striatum). The AAV-PPTA-Cre and AAV-PPE-Cre contain an expression cassette consisting of the Cre recombinase driven by the promoter of the PPTA gene or the PPE gene, which are specifically expressed in D1R-MSN and D2R-MSN, respectively (see fig. S3) (7, 39, 40). AAV PPTA-Cre or AAV-PPE-Cre were coinjected with the AAV-pCAG-DIO-eGFP-Woodchuck hepatitis virus Post-translational Regulatory Element (WPRE) (Upenn) expressing flexed eGFP under the cytomegalovirus/actin hybrid promoter (CAG). All viruses were diluted in phosphate-buffered saline (PBS) with 0.001% pluronic.

Stereotaxic injections

Mice were anesthetized with ketamine (150 mg/kg) and xylazine (10 mg/kg) and placed on a stereotaxic apparatus (David Kopf Instruments, Tujunga, CA, USA). Craniotomies were realized using the following coordinates: 1.7 mm rostral to the bregma, 1.2 mm lateral to midline, and 4.6 mm ventral to the skull surface to target the NAc and 1 mm rostral to the bregma, 1.8 mm lateral to midline, and 3.25 mm ventral to the skull surface for the dorsal striatum. Viral injections were performed bilaterally at a rate of 0.15 μl/min using a 10-μl syringe (Hamilton 1700 series, PHYMED, Paris, France) with a 200-μm gauge needle (PHYMED, Paris, France) mounted on a microinfusion pump (Harvard Apparatus, Holliston, MA). After the injection, the needle was left in place for an additional 8 min to avoid backflow.

Dox treatments

Three weeks after stereotaxic injections of Tet-On-AAV, the expression of the constructs was triggered by daily intraperitoneal

injection of 9TB-dox (10 mg/kg) for 4 days. To maintain expression, mice were then supplemented with a mix containing dox HCl (2 mg/ml), 9TB-dox HCl (80 μg/ml), and sucrose (1%) added in drinking water.

Behavioral testing

All behavioral tests were conducted during the light phase (8:00 to 19:00). Animals were randomly assigned to the saline or cocaine groups after viral injection. Before behavioral testing, mice were handled daily for 7 days in the experiment room. All mice were perfused with 4% (w/v) paraformaldehyde (PFA) 24 hours after behavior to systematically verify the accuracy of stereotaxic injections and expression of the RFP reporter protein. Mice that did not meet quality criterion (i.e., nonbilateral expression, off-target diffusion, excessive backflow, or low RFP expression) were discarded from the study.

Locomotor activity and cocaine psychomotor sensitization

Locomotor activity was measured in a low-luminosity environment inside a circular corridor (Immetronic, Pessac, France) containing four infrared beams placed at each 90° angle. Locomotor activity was expressed as a cumulative count of crossings between quarters of the corridor for the indicated time. Mice were treated with dox 7 days before and until the end of the experiment. Mice were habituated to the test apparatus for 3 days; basal locomotor activity was recorded on the third day of habituation. Cocaine sensitization experiments consisted of five daily 90 min sessions during which spontaneous activity was recorded for 30 min before saline or cocaine (15 mg/kg) injections, and locomotor activity was then measured for 60 min after injections. To study the consequences of uncoupling DAR from NMDAR on the maintenance of cocaine-induced locomotor sensitization, mice were treated for five consecutive days with saline or cocaine in the absence of dox. After the last injections, mice were supplemented with dox during an abstinence period, followed by a challenge injection of saline or cocaine. To analyze whether cocaine-treated groups injected with Tet-On viruses developed significant behavioral sensitization, we calculated a sensitization score defined as the locomotor at day 5 minus locomotion at day 1. Similarly, to assess the impact of Tet-On viruses on the maintenance of locomotor sensitization in the cocaine-treated groups, we calculated a sensitization score corresponding to the locomotion at day 12 (cocaine challenge) minus the locomotion at day 5. One-sample Student's *t* tests were used to determine whether sensitization scores obtained in each group were significantly different from 0, corresponding to the sensitization score of animals displaying an absence of sensitization.

Cocaine CPP

To study the impact of DAR-NMDAR heteromerization on the development of CPP, mice were treated with dox for 7 days before and until the end of the experiment. The CPP was performed in a two-compartment Plexiglas Y-maze apparatus (Imetronic). Each compartment contains different visual cues and floor textures for which mice did not show any preference on average before conditioning. All sessions lasted 20 min. On day 1, mice were placed in the center of the apparatus and allowed to explore both compartments freely. Time spent in each compartment was automatically recorded. Mice spending more than 70% of the time in one compartment were excluded. On day 2, to avoid any initial preference bias, mice were randomly assigned to one or the other compartment

for each group. Mice were injected with saline and placed immediately in the assigned closed compartment for 20 min. After 1 hour, mice were injected with saline or cocaine and placed in the other closed compartment. This was repeated on day 3. The test was performed on day 4, during which mice had a free access to both chambers. The CPP score was calculated as the difference between the time spent in the cocaine-paired chamber during day 4 and the time spent in this compartment on day 1. CPP extinction and maintenance experiments were performed on the cocaine groups of mice injected with Tet-On-AAV that developed a preference for the cocaine-paired chamber in the absence of dox. Mice were then treated with dox until the behavioral assessment. For the extinction phase, mice were injected with saline and put back in the apparatus with free access to both compartments for 20 min daily for 8 days. On the ninth day, mice were injected with cocaine and allowed to explore both compartments.

For palatable food-induced CPP, mice were food-deprived to 90% of initial ad libitum weight and treated with dox 7 days before and during behavioral assessment. Experiments were performed in the same apparatus and conditions as for cocaine-induced CPP with the following modifications: On day 2, after random group assignment, mice were placed immediately in the assigned closed compartment containing chocolate crisps (Chocapic, Nestlé, Vevey, Switzerland) or nothing for 20 min. After 1 hour, mice were placed in the other closed compartment. This was repeated on days 3 and 4. The test was performed on day 5.

Mouse tissue preparation

Mice were anesthetized with an intraperitoneal injection of Euthasol (100 mg/kg; Le Vet, Oudewater, The Netherlands) and perfused transcardially with 0.1 M $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$ (pH 7.5) containing 4% PFA at 4°C, delivered with a peristaltic pump at 20 ml/min for 5 min. Brains were then extracted, postfixed overnight in 4% PFA, and stored at 4°C. Coronal sections (30 μm in thickness) were performed with a vibratome (Leica, Nussloch, Germany) and kept at -20°C in a cryoprotective solution containing 30% (v/v) ethylene glycol, 30% (v/v) glycerol, and 0.1 M PBS.

Immunohistochemistry

On day 1, free-floating sections were rinsed three times for 5 min in tris-buffered saline [TBS; 0.9% NaCl and 0.1 M tris base (pH 7.5)]. Sections were then incubated in blocking solution containing 3% normal goat serum, 0.2% Triton X-100 (Sigma-Aldrich), and 50 mM NaF for 2 hours at room temperature (RT) before overnight 4°C incubation with primary antibodies (see Table 1) diluted in the blocking buffer. On day 2, after three 10-min rinses in TBS, sections were incubated for 90 min with secondary antibodies (see Table 1). The anti-FosB antibody recognizes full-length FosB and ΔFosB , but at the time point studied (24 hours after cocaine), all FosB-immunoreactive protein represents ΔFosB (43). After three 5-min rinses in TBS, sections were incubated for 5 min with Hoechst (Invitrogen) for nuclei counterstaining. Three 5-min TBS and two tris buffer [0.1 M tris base (pH 7.5)] washes were performed before sections were mounted in ProLong Gold (Invitrogen).

Immunoblotting

Mice were euthanized by decapitation, and their heads were immediately snap-frozen in liquid nitrogen. Microdiscs of NAc were punched out using disposable biopsy punches (1 mm in diameter)

(Kai Medical) and stored in individual tubes at -80°C . Microdiscs were then homogenized by sonication in a lysis solution containing 50 mM tris HCl, 2% SDS, and 0.5 M urea diluted in water. Protein concentrations were determined using a Bicinchoninic Acid (BCA) assay kit (Pierce, Rockford, IL). A fixed amount of protein (30 μg per lane) was separated by SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (12%) before electrophoretic transfer onto nitrocellulose membranes. Membranes were incubated for 1 hour at RT in a blocking solution containing TBS with 0.1% Tween and 5% nonfat dry milk. Membranes were incubated at 4°C overnight with primary antibodies (see Table 1). Membranes were then washed three times in TBS-Tween and then incubated for 1 hour at RT with secondary antibodies (see Table 1) coupled to horseradish peroxidase (HRP). Immunoreactive bands were detected by chemiluminescent detection (ECL kit, GE Healthcare), and images were acquired using the ImageQuant LAS 4000 (GE Healthcare Life Science). The densitometry of immunoreactive bands was quantified using ImageJ and normalized to the loading control.

Human brain samples

Brain samples from individuals with a history of substance dependence, with toxicological evidence of current psychostimulant use, and from matched healthy controls ($n = 13$ per group; table S1) were provided by the Suicide section of the Douglas-Bell Canada Brain Bank (DBCBB). Brains were donated to the DBCBB by familial consent through the Quebec Coroner's Office, which ascertained the cause of death. Two months after death, psychological autopsies with next-of-kin were conducted, as previously described (64).

Dissections of ventral striatum were performed with the guidance of a human brain atlas (65) on 0.5-cm-thick formalin-fixed coronal brain sections at an anatomical level equivalent to plate 15 of this atlas (-7.5 mm from the center of the anterior commissure). Tissue was extracted rostral to the anterior commissure and ventral to the tip of the anterior limb of internal capsule and fixed by immersion in formalin until paraffin embedding. The latter was completed using a Leica ASP200S automated processor. Tissue blocks were dehydrated in increasing gradients of alcohol (70, 95, and $3 \times 100\%$) for 1.5 hours each, followed by clearing in three changes of 100% xylene (2 hours and 2×1.5 hours). The samples were then infiltrated in three changes of molten paraffin, 3 hours each before embedding. Slices of 6 μm in thickness were then prepared with microtome at the histology facility of the ICM Institute (Paris).

Proximity ligation assay

PLA on mouse brain sections (30 μm in thickness) was performed in 48-well plates according to the manufacturer's instructions for free-floating sections. PLA on human postmortem paraffin-embedded tissue was performed on sections mounted on Superfrost plus slides (Thermo Fisher Scientific). Human caudate putamen sections (6 μm in thickness) were deparaffinized in xylene, rehydrated in graded ethanol series, and washed briefly in TBS. For antigen retrieval, sections were boiled for 6 min in sodium citrate buffer (10 mM; pH 6). For bright-field PLA, sections were incubated for 30 min at RT in TBS containing 1% H_2O_2 to block endogenous peroxidase. After three 5-min rinses with TBS containing 0.1% Triton X-100, sections were incubated for 1 hour at RT with blocking buffer (Duolink blocking buffer for PLA) and then with primary antibodies (see Table 1) diluted in the Duolink antibody dilution buffer overnight at 4°C. Anti-rat PLA plus and minus probes were made using the

Table 1. List of primary and secondary antibodies. IHC, immunohistochemistry; WB, Western blot; IgG, immunoglobulin G.

Primary antibody	Reference	Application	Dilution	Secondary antibody	Antibody origin	Dilution
Rabbit polyclonal to phospho-GluN2B (Y1472)	Abcam, Cambridge, UK; ref.: ab3856	IHC	1:200	Alexa Fluor 488 goat anti-rabbit IgG	Thermo Fisher Scientific, Waltham USA, ref.: A11034	1:500
Rabbit monoclonal to phospho-Erk1/2 (Thr ²⁰² /Tyr ²⁰⁴)	Cell Signaling Technology, Danvers, USA; ref.: 43705	IHC	1:400	Alexa Fluor 488 goat anti-rabbit IgG	Thermo Fisher Scientific, ref.: A11034	1:500
Rat monoclonal to D1R	Sigma-Aldrich, St Louis, USA; ref.: D2944	PLA	Dual PLA: 1:200; single PLA: 1:200			
		WB	1:500	ECL goat anti-rat IgG, HRP-linked	GE Healthcare, Chicago, USA; ref.: NA935	1:5000
Rabbit polyclonal to NMDAR1	Abcam, Cambridge, UK; ref.: ab17345	PLA	Dual PLA: 1:200; single PLA: 1:400			
Rabbit polyclonal to D2R	Millipore, Burlington, USA; ref.: ABN462	PLA	Dual PLA: 1:200; single PLA: 1:400			
		WB	1:500	WB: ECL goat anti-rabbit IgG, HRP-linked	GE Healthcare; ref.: NA934	1:5000
Mouse monoclonal to NMDAR2B NT	Millipore; ref.: MAB5782	PLA	Dual PLA: 1:200; single PLA: 1:500			
		WB	1:500	WB: ECL goat anti-mouse IgG, HRP-linked	GE Healthcare, Chicago, USA; ref.: NA931	1:5000
Mouse monoclonal to NMDAR1 CT	Millipore; ref.: 05-432	WB	WB: 1:200	WB: ECL goat anti-mouse IgG, HRP-linked	GE Healthcare; ref.: NA931	1:5000
Rabbit polyclonal to Fos B	Santa Cruz Biotechnology; ref.: sc-48	IHC	1:500	Cy5 goat anti-rabbit IgG	Jackson ImmunoResearch; ref.: AB_2338013	1:1000

PLA Probemaker Kit (Sigma-Aldrich) with a goat anti-rat immunoglobulin G antibody (Jackson ImmunoResearch) according to the manufacturer's instructions. Immunofluorescent PLA and the remaining procedures for bright-field PLA were performed as previously described (31). For bright-field PLA, nuclei were counterstained using the Duolink nuclear stain. In this study, we used both single-recognition PLA, using only one primary antibody to detect single antigen, and dual recognition to detect DAR-NMDAR complexes using two primary antibodies.

Image acquisition and analysis

For immunocytochemistry and fluorescent PLA staining, images were taken with a confocal laser scanning microscope (SP5, Leica) using a 20× and a 63× objective (oil immersion; Leica) respectively. The pinhole was set to 1 Airy unit; excitation wavelength and emission range were 495 nm and 500 to 550 nm for green PLA signal, 488 nm and 500 to 550 nm for Alexa Fluor 488, and 590 to 650 nm for RFP. Laser intensity and detector gain were constant for all image acquisitions. Images were acquired in a range of 5 μm with a z-step of 0.2 μm. Conditions were run in duplicate, and quantifications were made from at least four images per condition. Four mice were used for each condition. Maximum projection images were analyzed using ImageJ [National Institutes of Health (NIH), Bethesda, MD].

For PLA image quantification, ImageJ was used to construct a mask from RFP-positive cells. The mask was then fused with the PLA signal-containing channel using the image multiply function. The PLA punctate signal was quantified on the resulting image in ICY using the spot detector function (detector: scale, 3:65; filtering: minimum size, 6; maximum size, 30); these parameters were chosen manually from random images to obtain optimal signal-to-noise ratio and minimal false positive in images from negative control conditions. RFP-positive cells showing at least one PLA puncta for one or the other heteromer subtypes were included, as this allowed us to identify the MSN subtype analyzed (D1R-MSN versus D2R-MSN). RFP-positive cells that did not present any D1R-GluN1 or D2R-GluN2B PLA signal were discarded.

Mouse bright-field PLA images were taken using a microscope (Leica, DM4000) with a 63× objective. A minimum of six random fields per structure per mice were taken.

For human bright-field PLA, whole-slide images were taken using a Zeiss AxioScan with a 40× magnification and z-stack with a 1-μm step interval. Whole-slide scanned images were visualized with ZEN Blue edition lite software (Zeiss, version 3.1). Twenty-five regions of interest of 500 μm by 500 μm were generated randomly in the NAc and were exported as TIFF files using the image export plugin. The z-stack with the maximum number of PLA signal in the focus was chosen for each image.

Human and mouse bright-field PLA images were analyzed using an ImageJ homemade macro that uses the Find Maxima tool to detect the PLA punctate with prominence set to >40. Results are represented as the mean PLA signal density per field of views. For quantification of immunohistochemistry experiments, immunoreactive cells were analyzed using ImageJ, considering the cells with immunofluorescence above a fixed threshold.

Neuronal survival

Neuronal survival was quantified manually on the basis of Hoechst-counterstained nuclei. Survival was defined as the percentage of viable neurons exhibiting large, uniform nuclei and even distribution of Hoechst among RFP-positive cells over RFP-positive cells classified as apoptotic on the basis of, at least, two of the following criteria: condensed nuclei, single chromatin clump, small nuclei size, non-circular nuclei shape, and increased Hoechst intensity.

Spine density analysis

Twenty-four hours after the CPP paradigm, mice were perfused and brains were sliced as described above. Dendrite spine analysis was performed on RFP-positive dendrites from D1R-MSN and D2R-MSN identified on the basis of the presence of GFP driven by the coinjection of AAV-PPTA-Cre/AAV-pCAG-DIO-eGFP or AAV-PPE-Cre/pCAG-DIO-eGFP, respectively. Image stacks were taken using a confocal laser scanning microscope (SP5, Leica). For analysis of D1R-MSN, images were collected through a 63× objective with a pixel size of 65 nm and a z-step of 200 nm. For D2R-MSN, images were collected through a 40× objective with a pixel size of 95 nm and a z-step of 300 nm. The excitation wavelength was 488 nm for GFP and 561 nm for RFP, with an emission range of 500 to 550 nm and 570 to 650 nm, respectively. Images were acquired in sequential mode with a Hybrid detector (Leica). Deconvolution with experimental point spread function from fluorescent beads using a maximum likelihood estimation algorithm was performed with Huygens software (Scientific Volume Imaging). NeuronStudio software was used to reconstruct the dendrite and detect dendritic spines with manual correction.

Patch clamp recordings

Mice were anesthetized [ketamine (150 mg/kg)/xylazine (10 mg/kg)] and transcardially perfused with artificial cerebrospinal fluid (aCSF) for slice preparation. Coronal 250- μ m slices containing the NAC were obtained in bubbled ice-cold 95% O₂/5% CO₂ aCSF containing 2.5 mM KCl, 1.25 mM NaH₂PO₄, 10 mM MgSO₄, 0.5 mM CaCl₂, 11 mM glucose, 234 mM sucrose, and 26 mM NaHCO₃, using a HM650V vibratome (Microm, France). Slices were then incubated in aCSF containing 119 mM NaCl, 2.5 mM KCl, 1.25 mM NaH₂PO₄, 1.3 mM MgSO₄, 2.5 mM CaCl₂, 26 mM NaHCO₃, and 11 mM glucose, at 37°C for 1 hour, and then kept at RT. Slices were transferred and kept at 31°C in a recording chamber superfused with aCSF (2 ml/min) in the continuous presence of 50 μ M picrotoxin (dissolved in DMSO; Sigma-Aldrich, France) to block GABAergic transmission. Neurons were visualized by combined epifluorescent and infrared/differential interference contrast visualization using an Olympus upright microscope holding 5× and 40× objectives. Whole-cell voltage clamp recording techniques were used to measure synaptic responses using a MultiClamp 700B (Molecular Devices, Sunnyvale, CA). Signals were collected and stored using a Digidata 1440A converter and pCLAMP 10.2 software (Molecular Devices,

CA). AMPAR/NMDAR ratio was assessed using an internal solution containing 130 mM CsCl, 4 mM NaCl, 2 mM MgCl₂, 1.1 mM EGTA, 5 mM Hepes, 2 mM Na₂ adenosine 5'-triphosphate, 5 mM sodium creatine phosphate, 0.6 mM Na₃ guanosine 5'-triphosphate, and 0.1 mM spermine. Synaptic currents were evoked by stimuli (60 μ s) at 0.1 Hz through a glass pipette placed 200 μ m from the patched neurons. Evoked EPSCs were obtained at $V = +40$ mV in the absence and presence of the AMPAR antagonist 6,7-dinitroquinoxaline-2,3-dione. In all cases, 30 consecutive EPSCs were averaged, and offline analyses were performed using Clampfit 10.2 (Axon Instruments, USA) and Prism (GraphPad, USA). Pharmacologically isolated EPSC NMDAR decay time, recorded from cells voltage clamped at +40 mV, was fitted with a double exponential function, using Clampfit software, to calculate both slow and fast decay time constants, τ_{fast} and τ_{slow} , respectively. The weighted time constant ($\tau_{weighted}$) was calculated using the relative contribution from each of these components, applying the formula: $\tau_w = [(af \cdot \tau_f) + (as \cdot \tau_s)] / (af + as)$, where af and as are the relative amplitudes of the two exponential components and τ_f and τ_s are the corresponding time constants.

cAMP accumulation assay

Human embryonic kidney 293 cells stably expressing the D2R (66) were grown on polylysine (poly-D-lysine hydrobromide, Sigma-Aldrich) and transfected with Tet-On plasmids encoding either the D2R-IL3 or D2R-IL3-scr peptides and the Tag RFP (4 μ g per well), complexed with Lipofectamine 2000 transfection reagent (Invitrogen), in Dulbecco's modified Eagle medium (DMEM, high glucose, GlutaMAX Supplement, pyruvate, Gibco), and incubated for 5 hours. After transfection, cells were rinsed and wells were filled with DMEM supplemented with 10% fetal bovine serum and antibiotics to induce D2R expression [hygromycin (2 μ l/ml; Sigma-Aldrich), blasticidin (1.5 μ l/ml; ant-bl-1, Cayla InvivoGen), and tetracycline (1 μ l/ml; T7660-5g, Sigma-Aldrich)] and incubated overnight. Peptide expression was induced by addition of dox solution (1 μ g/ml), incubating for 48 hours. Following the dox treatment, cells were rinsed in DMEM before pretreatment with 1 mM isobutylmethylxanthine (IBMX; Sigma-Aldrich) for 15 min. Cells were then stimulated for 30 min with the indicated concentrations of agonist quinpirole (Tocris), in the presence of 1 mM IBMX and 10 μ M forskolin (Tocris). Endogenous phosphodiesterase activity was stopped by aspiration of the medium and the addition of 0.1 M HCl (300 μ l per well). After centrifugation at 600g for 10 min, protein concentration of supernatants was quantified by BCA (Uptima, Interchim). cAMP levels were determined in samples containing 10 μ g of protein. The accumulation of cAMP was measured using a cAMP Enzyme Immunoassay kit (Sigma-Aldrich) as described by the manufacturer using Victor3 (PerkinElmer) plate reader. The curve fit was obtained by GraphPad Prism 8 (GraphPad Software Inc.).

Statistical analysis

Results were analyzed with GraphPad Prism (version 8.0.1). Sample size was predetermined on the basis of published studies, pilot experiments, and in-house expertise. All data are displayed as means \pm SEM. Two-tailed Student's *t* test was used for the comparison of two independent groups. For more than two group comparison, one-way, two-way, or three-way repeated-measures analysis of variance (ANOVA) was performed followed by Bonferroni post hoc test. Data distribution was assumed to be normal, and variances were assumed to be homogenous. The main effect and post hoc statistical

significances are given in the appropriate figure legend for each experiment.

SUPPLEMENTARY MATERIALS

Supplementary material for this article is available at <https://science.org/doi/10.1126/sciadv.abg5970>

[View/request a protocol for this paper from Bio-protocol.](#)

REFERENCES AND NOTES

- C. Lüscher, R. C. Malenka, Drug-evoked synaptic plasticity in addiction: From molecular changes to circuit remodeling. *Neuron* **69**, 650–663 (2011).
- M. Salery, P. Trifilieff, J. Caboche, P. Vanhoutte, From signaling molecules to circuits and behaviors: Cell-type-specific adaptations to psychostimulant exposure in the striatum. *Biol. Psychiatry* **87**, 944–953 (2020).
- N. D. Volkow, M. Morales, The brain on drugs: From reward to addiction. *Cell* **162**, 712–725 (2015).
- S. E. Hyman, R. C. Malenka, E. J. Nestler, Neural mechanisms of addiction: The role of reward-related learning and memory. *Annu. Rev. Neurosci.* **29**, 565–598 (2006).
- J. Bertran-Gonzalez, C. Bosch, M. Maroteaux, M. Matamalas, D. Herve, E. Valjent, J.-A. Girault, Opposing patterns of signaling activation in dopamine D1 and D2 receptor-expressing striatal neurons in response to cocaine and haloperidol. *J. Neurosci.* **28**, 5671–5685 (2008).
- S. M. Ferguson, D. Eskenazi, M. Ishikawa, M. J. Wanat, P. E. M. Phillips, Y. Dong, B. L. Roth, J. F. Neumaier, Transient neuronal inhibition reveals opposing roles of indirect and direct pathways in sensitization. *Nat. Neurosci.* **14**, 22–24 (2011).
- T. Hikida, K. Kimura, N. Wada, K. Funabiki, S. Nakanishi, Distinct roles of synaptic transmission in direct and indirect striatal pathways to reward and aversive behavior. *Neuron* **66**, 896–907 (2010).
- A. V. Kravitz, L. D. Tye, A. C. Kreitzer, Distinct roles for direct and indirect pathway striatal neurons in reinforcement. *Nat. Neurosci.* **15**, 816–818 (2012).
- M. K. Lobo, H. E. Covington, D. Chaudhury, A. K. Friedman, H. Sun, D. Dames-Werno, D. M. Dietz, S. Zaman, J. W. Koo, P. J. Kennedy, E. Mouzon, M. Mogri, R. L. Neve, K. Deisseroth, M.-H. Han, E. J. Nestler, Cell type-specific loss of BDNF signaling mimics optogenetic control of cocaine reward. *Science* **330**, 385–390 (2010).
- R. Bock, J. H. Shin, A. R. Kaplan, A. Dobi, E. Markey, P. F. Kramer, C. M. Gremel, C. H. Christensen, M. F. Adrover, V. A. Alvarez, Strengthening the accumbal indirect pathway promotes resilience to compulsive cocaine use. *Nat. Neurosci.* **16**, 632–638 (2013).
- P. F. Durieux, B. Bearzatto, S. Guiducci, T. Buch, A. Waisman, M. Zoli, S. N. Schiffmann, A. de Kerchove d'Exaerde, D2R striatopallidal neurons inhibit both locomotor and drug reward processes. *Nat. Neurosci.* **12**, 393–395 (2009).
- P. F. Durieux, S. N. Schiffmann, A. de Kerchove d'Exaerde, Differential regulation of motor control and response to dopaminergic drugs by D1R and D2R neurons in distinct dorsal striatum subregions: Dorsal striatum D1R- and D2R-neuron motor functions. *EMBO J.* **31**, 640–653 (2012).
- V. Pascoli, M. Turiault, C. Lüscher, Reversal of cocaine-evoked synaptic potentiation resets drug-induced adaptive behaviour. *Nature* **481**, 71–75 (2012).
- V. Pascoli, J. Terrier, J. Espallergues, E. Valjent, E. C. O'Connor, C. Lüscher, Contrasting forms of cocaine-evoked plasticity control components of relapse. *Nature* **509**, 459–464 (2014).
- V. Pascoli, A. Hiver, R. V. Zessen, M. Loureiro, R. Achargui, M. Harada, J. Flakowski, C. Lüscher, Stochastic synaptic plasticity underlying compulsion in a model of addiction. *Nature* **564**, 366–371 (2018).
- J. Terrier, C. Lüscher, V. Pascoli, Cell-type specific insertion of GluA2-lacking AMPARs with cocaine exposure leading to sensitization, cue-induced seeking and incubation of craving. *Neuropsychopharmacology* **41**, 1779–1789 (2016).
- C. L. Heuser, R. D. Palmiter, Expression of mutant NMDA receptors in dopamine D1 receptor-containing cells prevents cocaine sensitization and decreases cocaine preference. *J. Neurosci.* **25**, 6651–6657 (2005).
- J. Schumann, R. Yaka, Prolonged withdrawal from repeated noncontingent cocaine exposure increases NMDA receptor expression and ERK activity in the nucleus accumbens. *J. Neurosci.* **29**, 6955–6963 (2009).
- L. R. Beutler, M. J. Wanat, A. Quintana, E. Sanz, N. S. Bamford, L. S. Zweifel, R. D. Palmiter, Balanced NMDA receptor activity in dopamine D1 receptor (D1R)- and D2R-expressing medium spiny neurons is required for amphetamine sensitization. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **108**, 4206–4211 (2011).
- V. Pascoli, A. Besnard, D. Hervé, C. Pagès, N. Heck, J.-A. Girault, J. Caboche, P. Vanhoutte, Cyclic adenosine monophosphate-independent tyrosine phosphorylation of NR2B mediates cocaine-induced extracellular signal-regulated kinase activation. *Biol. Psychiatry* **69**, 218–227 (2011).
- V. Pascoli, E. Cahill, F. Bellivier, J. Caboche, P. Vanhoutte, Extracellular signal-regulated protein kinases 1 and 2 activation by addictive drugs: A signal toward pathological adaptation. *Biol. Psychiatry* **76**, 917–926 (2014).
- M. E. Joffe, S. R. Vitter, B. A. Grueter, GluN1 deletions in D1- and A2A-expressing cell types reveal distinct modes of behavioral regulation. *Neuropharmacology* **112**, 172–180 (2017).
- A. Andrianarivelo, E. Saint-Jour, R. Walle, P. Trifilieff, P. Vanhoutte, Modulation and functions of dopamine receptor heteromers in drugs of abuse-induced adaptations. *Neuropharmacology* **152**, 42–50 (2019).
- D. O. Borroto-Escuela, J. Carlsson, P. Ambrogini, M. Narváez, K. Wydra, A. O. Tarakanov, X. Li, C. Millón, L. Ferraro, R. Cuppini, S. Tanganelli, F. Liu, M. Filip, Z. Diaz-Cabiale, K. Fuxe, Understanding the role of GPCR heteroreceptor complexes in modulating the brain networks in health and disease. *Front. Cell. Neurosci.* **11**, 37 (2017).
- S. Ferré, C. Quiroz, M. Orru, X. Guitart, G. Navarro, A. Cortés, V. Casadó, E. I. Canela, C. Lluis, R. Franco, Adenosine A(2A) receptors and A(2A) receptor heteromers as key players in striatal function. *Front. Neuroanat.* **5**, 36 (2011).
- K. Fuxe, D. O. Borroto-Escuela, W. Romero-Fernandez, M. Palkovits, A. O. Tarakanov, F. Ciruela, L. F. Agnati, Moonlighting proteins and protein-protein interactions as neurotherapeutic targets in the G protein-coupled receptor field. *Neuropsychopharmacology* **39**, 131–155 (2014).
- M. Wang, A. H. Wong, F. Liu, Interactions between NMDA and dopamine receptors: A potential therapeutic target. *Brain Res.* **1476**, 154–163 (2012).
- F. J. S. Lee, S. Xue, L. Pei, B. Vukusic, N. Chéry, Y. Wang, Y. T. Wang, H. B. Niznik, X. Yu, F. Liu, Dual regulation of NMDA receptor functions by direct protein-protein interactions with the dopamine D1 receptor. *Cell* **111**, 219–230 (2002).
- L. Pei, F. J. S. Lee, A. Moszczynska, B. Vukusic, F. Liu, Regulation of dopamine D1 receptor function by physical interaction with the NMDA receptors. *J. Neurosci.* **24**, 1149–1158 (2004).
- C. Fiorentini, F. Gardoni, P. Spano, M. D. Luca, C. Missale, Regulation of dopamine D1 receptor trafficking and desensitization by oligomerization with glutamate N-methyl-D-aspartate receptors. *J. Biol. Chem.* **278**, 20196–20202 (2003).
- E. Cahill, V. Pascoli, P. Trifilieff, D. Savoldi, V. Kappès, C. Lüscher, J. Caboche, P. Vanhoutte, D1R/GluN1 complexes in the striatum integrate dopamine and glutamate signalling to control synaptic plasticity and cocaine-induced responses. *Mol. Psychiatry* **19**, 1295–1304 (2014).
- X.-Y. Liu, X.-P. Chu, L.-M. Mao, M. Wang, H.-X. Lan, M.-H. Li, G.-C. Zhang, N. K. Parelkar, E. E. Fibuch, M. Haines, K. A. Neve, F. Liu, Z.-G. Xiong, J. Q. Wang, Modulation of D2R-NR2B interactions in response to cocaine. *Neuron* **52**, 897–909 (2006).
- P. Trifilieff, F. Ducrocq, S. van der Veldt, D. Martinez, Blunted dopamine transmission in addiction: Potential mechanisms and implications for behavior. *Semin. Nucl. Med.* **47**, 64–74 (2017).
- P. Trifilieff, M.-L. Rives, E. Urizar, R. Piskorski, H. Vishwasrao, J. Castrillon, C. Schmauss, M. Slättnam, M. Gullberg, J. Javitch, Detection of antigen interactions ex vivo by proximity ligation assay: Endogenous dopamine D2-adenosine A2A receptor complexes in the striatum. *Biotechniques* **51**, 111–118 (2011).
- A. S. Woods, F. Ciruela, K. Fuxe, L. F. Agnati, C. Lluis, R. Franco, S. Ferré, Role of electrostatic interaction in receptor-receptor heteromerization. *J. Mol. Neurosci.* **26**, 125–132 (2005).
- T. E. Robinson, K. C. Berridge, The neural basis of drug craving: An incentive-sensitization theory of addiction. *Brain Res. Rev.* **18**, 247–291 (1993).
- W.-D. Yao, R. R. Gainetdinov, M. I. Arbuckle, T. D. Sotnikova, M. Cyr, J.-M. Beaulieu, G. E. Torres, S. G. N. Grant, M. G. Caron, Identification of PSD-95 as a regulator of dopamine-mediated synaptic and behavioral plasticity. *Neuron* **41**, 625–638 (2004).
- J. Zhang, T.-X. Xu, P. J. Hallett, M. Watanabe, S. G. N. Grant, O. Isacson, W.-D. Yao, PSD-95 uncouples dopamine-glutamate interaction in the D1/PSD-95/NMDA receptor complex. *J. Neurosci.* **29**, 2948–2960 (2009).
- M. Dos Santos, M. Salery, B. Forget, M. A. Garcia Perez, S. Betuing, T. Boudier, P. Vanhoutte, J. Caboche, N. Heck, Rapid synaptogenesis in the nucleus accumbens is induced by a single cocaine administration and stabilized by mitogen-activated protein kinase interacting kinase-1 activity. *Biol. Psychiatry* **82**, 806–818 (2017).
- S. Yagishita, A. Hayashi-Takagi, G. C. R. Ellis-Davies, H. Urakubo, S. Ishii, H. Kasai, A critical time window for dopamine actions on the structural plasticity of dendritic spines. *Science* **345**, 1616–1620 (2014).
- E. J. Nestler, Molecular basis of long-term plasticity underlying addiction. *Nat. Rev. Neurosci.* **2**, 119–128 (2001).
- M. B. Kelz, J. Chen, W. A. Carlezon, K. Whisler, L. Gilden, A. M. Beckmann, C. Steffen, Y.-J. Zhang, L. Marotti, D. W. Self, T. Tkatch, G. Baranaukas, D. J. Surmeier, R. L. Neve, R. S. Duman, M. R. Picciotto, E. J. Nestler, Expression of the transcription factor Δ FosB in the brain controls sensitivity to cocaine. *Nature* **401**, 272–276 (1999).
- M. K. Lobo, S. Zaman, D. Dames-Werno, J. W. Koo, R. C. Bagot, J. A. DiNieri, A. Nugent, E. Finkel, D. Chaudhury, R. Chandra, E. Riberio, J. Rabkin, E. Mouzon, R. Cacho, J. F. Cheer, M.-H. Han, D. M. Dietz, D. W. Self, Y. L. Hurd, V. Vialou, E. J. Nestler, Δ FosB

- induction in striatal medium spiny neuron subtypes in response to chronic pharmacological, emotional, and optogenetic stimuli. *J. Neurosci.* **33**, 18381–18395 (2013).
44. B. A. Grueter, A. J. Robison, R. L. Neve, E. J. Nestler, R. C. Malenka, Δ FosB differentially modulates nucleus accumbens direct and indirect pathway function. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **110**, 1923–1928 (2013).
 45. J. Kim, B.-H. Park, J. H. Lee, S. K. Park, J.-H. Kim, Cell type-specific alterations in the nucleus accumbens by repeated exposures to cocaine. *Biol. Psychiatry* **69**, 1026–1034 (2011).
 46. Y. Zhu, J. Mészáros, R. Walle, R. Fan, Z. Sun, A. J. Dwork, P. Trifilieff, J. A. Javitch, Detecting G protein-coupled receptor complexes in postmortem human brain with proximity ligation assay and a Bayesian classifier. *Biotechniques* **68**, 122–129 (2019).
 47. Y. Zhu, A. J. Dwork, P. Trifilieff, J. A. Javitch, Detection of G protein-coupled receptor complexes in postmortem human brain by proximity ligation assay. *Curr. Protoc. Neurosci.* **91**, e86 (2020).
 48. G. F. Koob, N. D. Volkow, Neurobiology of addiction: A neurocircuitry analysis. *Lancet Psychiatry* **3**, 760–773 (2016).
 49. N. D. Volkow, J. S. Fowler, A. P. Wolf, D. Schlyer, C. Y. Shiu, R. Alpert, S. L. Dewey, J. Logan, B. Bendriem, D. Christman, Effects of chronic cocaine abuse on postsynaptic dopamine receptors. *Am. J. Psychiatry* **147**, 719–724 (1990).
 50. N. D. Volkow, G.-J. Wang, J. S. Fowler, J. Logan, S. J. Gatley, A. Gifford, R. Hitzemann, Y.-S. Ding, N. Pappas, Prediction of reinforcing responses to psychostimulants in humans by brain dopamine D2 receptor levels. *AJP* **156**, 1440–1443 (1999).
 51. N. D. Volkow, G.-J. Wang, J. S. Fowler, F. Tomasi, F. Telang, Addiction: Beyond dopamine reward circuitry. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **108**, 15037–15042 (2011).
 52. M. Creed, N. R. Ntamatji, R. Chandra, M. K. Lobo, C. Lüscher, Convergence of reinforcing and anhedonic cocaine effects in the ventral pallidum. *Neuron* **92**, 214–226 (2016).
 53. A. F. MacAskill, J. M. Cassel, A. G. Carter, Cocaine exposure reorganizes cell type- and input-specific connectivity in the nucleus accumbens. *Nat. Neurosci.* **17**, 1198–1207 (2014).
 54. M. K. Lobo, E. J. Nestler, The striatal balancing act in drug addiction: Distinct roles of direct and indirect pathway medium spiny neurons. *Front. Neuroanat.* **5**, 41 (2011).
 55. P. Sun, J. Wang, W. Gu, W. Cheng, G. Jin, E. Friedman, J. Zheng, X. Zhen, PSD-95 regulates D1 dopamine receptor resensitization, but not receptor-mediated Gs-protein activation. *Cell Res.* **19**, 612–624 (2009).
 56. P. Paoletti, C. Bellone, Q. Zhou, NMDA receptor subunit diversity: Impact on receptor properties, synaptic plasticity and disease. *Nat. Rev. Neurosci.* **14**, 383–400 (2013).
 57. A. L. Frederick, H. Yano, P. Trifilieff, H. D. Vishwasrao, D. Biezonski, J. Mészáros, E. Urizar, D. R. Sibley, C. Kellendonk, K. C. Sonntag, D. L. Graham, R. J. Colbran, G. D. Stanwood, J. A. Javitch, Evidence against dopamine D1/D2 receptor heteromers. *Mol. Psychiatry* **20**, 1373–1385 (2015).
 58. P. W. Kalivas, K. McFarland, Brain circuitry and the reinstatement of cocaine-seeking behavior. *Psychopharmacology (Berl)* **168**, 44–56 (2003).
 59. S. S. Song, B. J. Kang, L. Wen, H. J. Lee, H. Sim, T. H. Kim, S. Yoon, B.-J. Yoon, G. J. Augustine, J.-H. Baik, Optogenetics reveals a role for accumbal medium spiny neurons expressing dopamine D2 receptors in cocaine-induced behavioral sensitization. *Front. Behav. Neurosci.* **8**, 336 (2014).
 60. F. Ciruela, J. Burgueño, V. Casadó, M. Canals, D. Marcellino, S. R. Goldberg, M. Bader, K. Fuxe, L. F. Agnati, C. Lluis, R. Franco, S. Ferré, A. S. Woods, Combining mass spectrometry and pull-down techniques for the study of receptor heteromerization. Direct epitope–epitope electrostatic interactions between adenosine A_{2A} and dopamine D₂ receptors. *Anal. Chem.* **76**, 5354–5363 (2004).
 61. D. O. Borroto-Escuela, M. Narváez, K. Wydra, J. Pintsuk, L. Pinton, A. Jimenez-Beristain, M. Di Palma, J. Jastrzębska, M. Filip, K. Fuxe, Cocaine self-administration specifically increases A2AR-D2R and D2R-sigma1R heteroreceptor complexes in the rat nucleus accumbens shell. Relevance for cocaine use disorder. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **155**, 24–31 (2017).
 62. D. O. Borroto-Escuela, K. Wydra, X. Li, D. Rodríguez, J. Carlsson, J. Jastrzębska, M. Filip, K. Fuxe, Disruption of A2AR-D2R heteroreceptor complexes after A2AR transmembrane 5 peptide administration enhances cocaine self-administration in rats. *Mol. Neurobiol.* **55**, 7038–7048 (2018).
 63. D. Belin, A. Belin-Rauscent, J. E. Murray, B. J. Everitt, Addiction: Failure of control over maladaptive incentive habits. *Curr. Opin. Neurobiol.* **23**, 564–572 (2013).
 64. A. Dumais, A. D. Lesage, M. Alda, G. Rouleau, M. Dumont, N. Chawky, M. Roy, J. J. Mann, C. Benkelfat, G. Turecki, Risk factors for suicide completion in major depression: A case-control study of impulsive and aggressive behaviors in men. *AJP* **162**, 2116–2124 (2005).
 65. J. K. Mai, G. Paxinos, T. Voss, *Atlas of the Human Brain* (Elsevier, Academic Press, ed. 3, 2008).
 66. M. Michino, P. Donthamsetti, T. Beuming, A. Banala, L. Duan, T. Roux, Y. Han, E. Trinquet, A. H. Newman, J. A. Javitch, L. Shi, A single glycine in extracellular loop 1 is the critical determinant for pharmacological specificity of dopamine D2 and D3 receptors. *Mol. Pharmacol.* **84**, 854–864 (2013).

Acknowledgments: We would like to thank the imaging facility of the IBPS and the histology facility of the Institut du Cerveau et de Moëlle épinière (ICM). **Funding:** This work was supported by the CNRS; the INSERM; Sorbonne Université, Faculté des Sciences et Ingénierie; Université de Bordeaux; Institut National de Recherche pour l'Agriculture, l'Alimentation et l'Environnement (INRAE); Université Côte d'Azur; the Agence Nationale pour la Recherche (ANR); ANR-15-CE16-001 to P.V. and P.T., ANR-18-CE37-0003-02 to J.B. and P.V., and ANR-10-IDEX-03-02 and ANR-16-CE16-0022 to P.T.; the Fondation pour la Recherche Médicale (FRM); DPA20140629798 to J.C. and DEQ20180339159 to J.B.); Institut de Recherche en Santé publique (IReSP) Aviesan APP-addiction 2019 (to P.V., P.T., and J.B.); NARSAD Young Investigator Grants from the Brain and Behavior Foundation (to P.T.); the BioPsy LabEx excellence cluster (to J.C. and P.V.); the LabEx BRAIN (to P.T.); NIH grant MH54137 (to J.A.J.); and the Hope for Depression Research Foundation (to J.A.J.). The DBCBB is funded by platform support grants from the RQSHA and HBHL (CFREF). A.A. and R.W. are recipients of PhD fellowships from the French Ministry of Research. A.P. is a recipient of a PhD fellowship from the "Ecole Universitaire de Recherche" (EUR Neuro, Bordeaux Neurocampus). E.S.-J. is the recipient of a fourth-year PhD fellowship from the FRM. **Authors contributions:** A.A. performed most PLA, viral injections, behavioral studies, immunohistochemistry, confocal imaging, and biochemistry and statistical analysis with the help of E.S.-J., M.-C.A., V.K, S.B., V.O., and R.W. Dendritic spine analysis was performed by N.H. and A.A. Electrophysiological recordings were performed by P.P. and S.P.F. Viruses were designed by P.V. and A.-P.B. and produced by C.J. and A.-P.B., and cAMP assays were performed by V.D.S.-P. and A.P. G.T. and N.M. obtained, characterized, and provided human brain samples. Y.Z. and J.A.J. helped A.A. for PLA experiments from human tissues and related quantifications. A.A., J.C., P.T., J.B., and P.V. designed experiments and wrote the manuscript, which was edited by the other authors. **Competing interests:** The authors declare that they have no competing interests. **Data and materials availability:** All data needed to evaluate the conclusions in the paper are present in the paper and/or the Supplementary Materials.

Submitted 15 January 2021

Accepted 30 August 2021

Published 20 October 2021

10.1126/sciadv.abg5970

Citation: A. Andrianarivelo, E. Saint-Jour, P. Pousinha, S. P. Fernandez, A. Petitbon, V. De Smedt-Peyrusse, N. Heck, V. Ortiz, M.-C. Allichon, V. Kappès, S. Betuing, R. Walle, Y. Zhu, C. Joséphine, A.-P. Bemelmans, G. Turecki, N. Mechawar, J. A. Javitch, J. Caboche, P. Trifilieff, J. Barik, P. Vanhoutte, Disrupting D1-NMDA or D2-NMDA receptor heteromerization prevents cocaine's rewarding effects but preserves natural reward processing. *Sci. Adv.* **7**, eabg5970 (2021).

Disrupting D1-NMDA or D2-NMDA receptor heteromerization prevents cocaine's rewarding effects but preserves natural reward processing

Andry Andrianarivelo, Estefani Saint-Jour, Paula Pousinha, Sebastian P. Fernandez, Anna Petitbon, Veronique De Smedt-Peyrusse, Nicolas Heck, Vanesa Ortiz, Marie-Charlotte Allichon, Vincent Kapps, Sandrine Betuing, Roman Walle, Ying Zhu, Charlene Josphine, Alexis-Pierre Bemelmans, Gustavo Turecki, Naguib Mechawar, Jonathan A. Javitch, Jocelyne Caboche, Pierre Trifilieff, Jacques Barik, and Peter Vanhoutte

Sci. Adv., **7** (43), eabg5970.
DOI: 10.1126/sciadv.abg5970

View the article online

<https://www.science.org/doi/10.1126/sciadv.abg5970>

Permissions

<https://www.science.org/help/reprints-and-permissions>

Use of this article is subject to the [Terms of service](#)

Science Advances (ISSN) is published by the American Association for the Advancement of Science. 1200 New York Avenue NW, Washington, DC 20005. The title *Science Advances* is a registered trademark of AAAS.
Copyright © 2021 The Authors, some rights reserved; exclusive licensee American Association for the Advancement of Science. No claim to original U.S. Government Works. Distributed under a Creative Commons Attribution NonCommercial License 4.0 (CC BY-NC).

1 **Nucleus accumbens Medium Spiny Neuron network controls the** 2 **balance between feeding and activity-mediated energy expenditure**

3 Roman Walle ^{1,*}, Anna Petitbon ¹, Giulia R. Fois ², Christophe Varin³, Andrea Contini ¹, Rodrigue Ortole
4 ¹, Asma Oummadi ¹, Véronique De Smedt-Peyrusse ¹, Bruno Giros ^{4,5}, Francis Chaouloff ⁶, Guillaume
5 Ferreira ¹, Alban de Kerchove d'Exaerde³, Fabien Ducrocq ¹, François Georges ² and Pierre Trifilieff ^{1,*}

6 ¹ Université de Bordeaux, INRAE, Bordeaux INP, NutriNeuro, 33000, Bordeaux, France

7 ² Univ. Bordeaux, CNRS, IMN, UMR5293 F-33000 Bordeaux

8 ³Laboratory of Neurophysiology, ULB Neuroscience Institute, WELBIO, Université Libre de Bruxelles (ULB),
9 Brussels, Belgium

10 ⁴Department of Psychiatry, Douglas Hospital, McGill University; Montreal, QC, Canada.

11 ⁵ Université de Paris Cité, INCC UMR 8002, CNRS ; F-75006 Paris, France.

12 ⁶ Endocannabinoids and NeuroAdaptation, NeuroCentre INSERM U1215, 33077 Bordeaux, France; Université de
13 Bordeaux, 33077 Bordeaux, France

14 *Correspondence to Pierre Trifilieff (pierre.trifilieff@inrae.fr) or Roman Walle (roman.walle@live.fr)

16 **Contact information:** Pierre Trifilieff (Lead contact) or Roman Walle

17 INRAE, UMR 1286, Laboratoire NutriNeuro, Université de Bordeaux, Batiment UFR
18 Pharmacie - 2eme Tranche - 2eme Etage – CC34, 146 rue Léo Saignat, 33076 BORDEAUX
19 Cedex - France.

20 pierre.trifilieff@inrae.fr; roman.walle@live.fr

21 Phone: +33557571248

38 **ABSTRACT**

39 Overeating-related pathologies and anorexia nervosa are increasingly considered as opposite
40 ends of eating disorders (ED) spectrum. Accordingly, accumulating evidence points to opposite
41 dysregulations of common brain systems in these pathologies, the Nucleus Accumbens (NAc)
42 in particular. However, to which extent alterations in NAc activity are sufficient to elicit ED-like
43 behavioral dimensions remains to be established. Using acute, bidirectional, chemogenetic
44 modulation of each NAc medium spiny neuron (MSN) subpopulation, we found that dopamine
45 D1 receptor-expressing Medium Spiny Neurons (MSNs) and D2-MSNs oppositely regulate the
46 balance between food intake and exercise-induced energy expenditure. As opposed to the
47 limited effect of repeated chemogenetic manipulations of each MSN subpopulation, the
48 concomitant manipulation of both MSN subpopulations had sustained effects. Repeated
49 activation of D1-MSNs combined with repeated inhibition of D2-MSNs biased behavior toward
50 activity-related energy expenditure leading to weight/fat loss, whilst the opposite manipulations
51 favored energy intake and hence weight/fat gain. These results suggest that dysregulations of
52 NAc dopaminoceptive MSN network might be at the core of EDs.

53 **Keywords:** Eating disorders, energy balance, motivation, nucleus accumbens, medium spiny
54 neurons, chemogenetics

55

56

57

58

59

60

61

62

63

64

65

66

67 INTRODUCTION

68 Overeating/obesity-related pathologies and anorexia nervosa (AN) are multifactorial diseases
69 resulting from an interaction between genetic and environmental factors. They can be
70 considered as extreme two ends of the spectrum of eating disorders (EDs), wherein psychiatric
71 symptoms are coupled to metabolic alterations, making them increasingly viewed as “metabo-
72 psychiatric” diseases (1,2). Such a continuum in ED subtypes is supported by genome-wide
73 association studies (GWAS) revealing an inverse genetic correlation between AN and obesity
74 (3), as well as overlapping environmental factors (4). Dimensional approaches through the
75 RDoC framework to EDs reveals alterations in common domains such as negative (stress,
76 anxiety) and positive (motivation, reward processing) valence systems (5). In particular,
77 beyond the opposite feeding patterns, which might be related to inverse alterations of food-
78 related reward valuation (5), reward processing tends to be dysregulated in opposite manners
79 in overeating and AN. In particular, an increased drive to exercise due to an enhanced
80 reinforcing value of physical activity is a typical feature of AN that persists after remission and
81 might even precede the development of the disease (6–9). On the other hand, obesity is
82 associated to physical hypoactivity even after recovery (10). These differential alterations of
83 physical activity in EDs have been proposed to be linked to the rewarding impact of exercise
84 and/or the motivation to engage in physical activity (11,12). Such overlapping symptomatic
85 dimensions in EDs suggest opposite dysfunctions within common brain networks, especially
86 the reward system.

87 In regard to its well-established role in reward processing, motivation and locomotor activity,
88 the nucleus accumbens (NAc) has received particular attention as it stands as a hub within the
89 reward system, computing sensory, cognitive and reward information to modulate goal-
90 directed behaviors (13). Functional imaging reveals that NAc activity is regulated in opposite
91 manner in AN and obese subjects in response to food cues (14). Hence, this suggests that the
92 reward system is hyperresponsive in AN while hyporesponsive in obese subjects (15), at least
93 in relation to food-related stimuli. In the same vein, studies aiming at addressing the integrity
94 of dopamine transmission found decreased and increased striatal dopaminergic D2/3 receptor
95 binding in obese subjects (16,17) and in AN individuals (14,18), respectively, even though
96 these latter imaging data are controversial (19–22).

97 Altogether, these findings point to dopamine-dependent transmission of the NAc playing a key
98 role in the pathophysiology of EDs. In the NAc, the vast majority of neurons is accounted for
99 by dopaminergic medium spiny neurons (MSNs) which are equally divided in two
100 subpopulations expressing either D1 (D1-MSNs) or D2 (D2-MSNs) receptors. The respective
101 roles of D1- and D2-MSNs of the NAc have been the subject of extensive investigation for their

102 implication in food-related reward processing and motivational processes (23–29). Recent
103 studies also highlight a direct role of both MSN subpopulations of the NAc in the regulation of
104 food intake. In particular, D1-MSNs of the NAc shell have been shown to negatively regulate
105 feeding (30–33), with their chronic disruption facilitating the development of obesity (34,35).
106 On the other hand, striatal overexpression of the D2 receptor restricted to the developmental
107 period facilitates weight gain due to decreased energy expenditure (36), while downregulation
108 of striatal D2 receptor at adulthood leads to compulsion towards palatable food (37).
109 Conversely, its overexpression in the NAc induces rapid weight loss in female mice exposed
110 to the so-called activity-based anorexia (ABA) model (35). Interestingly, such effects of
111 manipulations of D2 receptor expression mainly result from physical activity-related energy
112 expenditure rather than from a direct effect on food intake (35,38,39). However, how MSN
113 subpopulations act in concert to regulate the balance between energy intake and expenditure
114 and to which extent dysregulation of MSN network could be sufficient to mimic specific obesity-
115 or AN-related dimensions still remain unknown.

116 To solve this issue, we used a chemogenetic approach to manipulate individual subpopulations
117 of NAc MSNs. The rationale for using such long-lasting manipulation was to mimic to some
118 extent the changes in resting state functional connectivity of the NAc described in obesity (40–
119 42) and AN (43,44). We first found that acutely inhibiting NAc MSNs blunts (D1-MSNs) or
120 facilitates (D2-MSNs) the willingness to exert an effort for palatable food. However, we also
121 unraveled that whilst D1-MSNs exert strong satietogenic effects, D2-MSNs display an
122 orexigenic control over both regular and palatable food. Such effects were accompanied by
123 opposite influence on voluntary physical activity. These effects were in line with the observation
124 that food consumption correlates with higher relative activity of D2-MSNs over D1-MSNs
125 assessed through calcium sensors coupled with fiber photometry, while wheel-running
126 parallels with higher bulk activation of D1-MSNs as compared to D2-MSNs. Upon chronic
127 manipulation, either D1-MSNs inhibition or D2-MSNs activation resulted in weight/fat gain,
128 mostly due to physical hypoactivity. On the other hand, repeated activation of D1-MSNs
129 increased physical activity and food consumption (despite an initial decrease in food intake)
130 which led to the maintenance of energy balance. When MSNs were concomitantly
131 manipulated, inhibition of D1-MSNs together with activation of D2-MSNs led to an obesity-like
132 phenotype which was mostly related to a decrease in exercise-mediated energy expenditure.
133 Conversely, chronic activation of D1-MSNs together with D2-MSNs inhibition led to an AN-like
134 phenotype, translating in an exaggerated physical activity not fully compensated by food
135 intake. Altogether, these findings point to NAc MSNs network being at the crossroad between
136 reward processing and energy balance, further supporting that dysfunction of that network
137 could be a main player in ED etiology.

138 MATERIALS AND METHODS

139 Experimental models and subject details

140 Adult male D1-Cre, D2-Cre, D1-Flp-YFP and D1Flp/D2cre (homemade breeding from D1Flp
141 and D2cre mice) mice were used in this study (see table 1 for details). Mice (12 to 28 weeks
142 old) were group housed (4-7 animals), unless otherwise specified, in standard polypropylene
143 cages and maintained in a temperature and humidity controlled environment under a 12:12
144 light-dark cycle (07:30 on) with *ad libitum* access to water and food. For food consumption
145 experiments, mice were housed in standard polypropylene individual cages. All behavioral
146 procedures were carried out during the light phase unless otherwise specified. Mice were
147 habituated to handling prior to behavioral procedures, and to injection proceeding before test
148 day. All animal care and experimental procedures were in accordance with the INRAE Quality
149 Reference System and to French legislations (Directive87/148, Ministère de l'Agriculture et de
150 la Pêche) and European (Directive 86/609/EEC). They followed ethical protocols approved by
151 the Region Aquitaine Veterinary Services (Direction Départementale de la Protection des
152 Animaux, approval ID: B33-063-920) and by the animal ethic committee of Bordeaux CEEA50.
153 Every effort was made to minimize suffering and reduce the number of animals used.

154 Stereotaxic viral injections and implantation of optic fibers

155 Mice analgesia was achieved with the subcutaneous injection of buprenorphine (0.05 mg/kg).
156 The animals were then anesthetized using isoflurane (4% induction, 1.5% maintenance) and
157 placed in a stereotaxic frame onto a heating pad. The AAV8-hSyn-DIO-hM4D-mCherry virus
158 (titer of 4.5×10^{12} vg/ml) was used for the Cre-dependent expression of hM4D(Gi) receptor,
159 the AAV8-hSyn-DIO-hM3D-mCherry virus (titer of 5.2×10^{12} vg/ml) was used for the Cre-
160 dependent expression of hM3D(Gq) receptors and the AAV8-hSyn-DIO-mCherry virus (1×10^{13}
161 vg/ml) was used for the cre dependent expression of mCherry. The AAV8-hSyn1-dFRT-
162 mCherry(rev)-dFRT-WPRE-hGHp(A) and AAV8-hSyn1-dlox-EGFP(rev)-dlox-WPRE-hGHp(A)
163 were used for the labelling of D1-Flp and D2-cre expressing neurons (titer of $4-5 \times 10^{12}$ vg/ml).
164 The AAV8-hSyn1-dFRT-hM4D(Gi)-mCherry(rev)-dFRT-WPRE-hGHp(A) and AAV8-hSyn1-
165 dFRT-hM3D(Gq)-mCherry(rev)-dFRT-WPRE-hGHp(A), were used for the flp-dependent
166 expression of hM3D(Gq) and hM4D(Gi)-receptors (titer of 4×10^{12} vg/ml). A total of 0.5 μ l of
167 virus solution was injected bilaterally in the nucleus accumbens using a 10 μ l Hamilton syringe
168 at a rate of 100nl/mn at the following stereotaxic coordinates relative to Bregma (in mm) : AP=
169 +1,7 ; ML= +/- 1,1 ; DV= -4 from the surface of the brain. The syringe was left in place for 5
170 min before being slowly removed. For measures of calcium dynamics by fiber photometry, the
171 AAV5-hSyn1-dlox-jGCaMP8m(rev)-dlox-WPRE-SV40p(A) viral vector was used for the cre-
172 dependent expression of GCaMP8m (8.0×10^{12} vg/ml). An optic fiber (RWD Fiber Optic

173 Cannulae 0,5 NA, 400 μ m flat tip, L:6mm) was implanted just above the viral vector infusion
174 site (DV= -3,75) and immobilized with an opaque dental cement. The skin incision was sutured,
175 postoperative analgesia was prolonged with subcutaneous injections, and mice were place on
176 a heating pad until full recovery from the anesthesia. Behavioral experiments were started 3
177 to 4 weeks after the surgeries.

178 **Ventral tegmental area recordings**

179 Stereotaxic surgery for electrophysiology experiments was performed under isoflurane
180 anesthesia as previously described (45). Recording pipettes were inserted into the VTA with
181 the skull flat, at the following coordinates: -3.16mm from bregma; 0.5mm from midline. A glass
182 micropipette (tip diameter=2-3 μ m, 4-6Mohm) filled with a 2% pontamine sky blue solution in
183 0.5M sodium acetate was lowered into the VTA. DA neurons were identified according to well-
184 established electrophysiological features (Grace, 1988; Ungless et al., 2004). These included:
185 1) an half action potential width ≥ 1.1 ms; 2) slow spontaneous firing rate (<10Hz); 3) single and
186 burst spontaneous firing patterns. Through these electrodes, the extracellular potential was
187 recorded with an Axoclamp2B amplifier in the bridge mode. The extracellular potential
188 amplified 10 times by the Axoclamp2B amplifier was further amplified 100 times and filtered
189 (low-pass filter at 300 Hz and high-pass filter at 0.5 kHz) via a differential AC amplifier (model
190 1700; A-M Systems, Carlsborg, WA). Single neuron spikes were discriminated and digital
191 pulses were collected on-line using a laboratory interface and software (CED 1401, SPIKE 2,
192 Cambridge Electronic Design). Four parameters of VTA DA neuron impulse activity were
193 computed over 200-second epochs after a 5-minute stable baseline period: 1) the basal firing
194 rate, 2) the basal bursting rate, 3) the mean number of spikes per bursts and 4) the number of
195 spontaneously active cells per track. The onset of a burst was defined as the occurrence of
196 two spikes with an interspike interval <80msec (46).

197 **Behavioral Procedures**

198 For all behavioral experiments, mice received CNO (0.5 or 2mg/kg as indicated in the text; see
199 table 2 for details) or 0,9% saline solution intraperitoneal (IP) injections 30 min before the
200 beginning of the test. For the experiments requiring training sessions, there were no injections
201 during these steps. CNO solution (2mg/kg or 0.5mg/kg when mentioned, dissolved in sterile
202 0.9% saline) was prepared daily and protected from light. For acute CNO treatment
203 experiments, each mouse received either CNO or saline in a counterbalanced manner for
204 within subject analysis, across 2 sessions of each behavioral test at minimum. Experimental
205 designs were randomized regarding genotype, virus type, home-cage and testing chamber.

206 ***Operant conditioning***

207 Mice were placed under food deprivation and maintained at 85-90% of their baseline *ad libitum*
208 weight. Fourteen operant chambers (30x40x36 cm, Imetronic Bordeaux), each located into a
209 soundproof and light-attenuating cabinet were used. They consisted of 2 plexiglas panels and
210 2 PVC panels on top of a metal grid floor, lit by a houselight located at the top of the chamber
211 during sessions. A trough was located on the center of one PVC panel, 4cm above the metal
212 grid, and was surrounded by 2 equally distant retractable metal levers (2x4x1cm). A cue light
213 was located 8.5 cm above each lever. The reinforcer was composed of a 15 μ l drop of
214 sweetened condensed milk (3.25 Kcal/g) diluted at 10% in tap water delivered in the trough.
215 Both levers were extended at the beginning of each session, except for pavlovian training.
216 Only one lever was reinforced across all operant procedures and pressing on the non-
217 reinforced lever had no consequence. For each mouse, all of the operant procedures were
218 executed in the same operant chamber. Operant chambers were connected to a computer
219 equipped with POLY Software (Imetronic), which allowed for control of the sessions
220 parameters and recording of the data (number of presses on both levers, number of licks in
221 the full or empty trough).

222 ***Pavlovian Training***

223 Three to 4 weeks after AAV injections, animals started pavlovian training. Mice were placed in
224 the operant chamber for 30 min sessions, one session per day, during which a reward – a drop
225 of sweetened condensed milk – was delivered in the trough every minute, associated with the
226 emission of a sound (65 db, 3000 Hz, 200ms) and the illumination of the diode located above
227 the future reinforced lever. The reward had to be consumed by the animal in order for a new
228 reward to be delivered. The learning criterion was set at a mean of 20 rewards earned out of
229 30, across at least 3 daily consecutive sessions.

230

231 ***Fixed Ratio Training (FR)***

232 When the mice reached the pavlovian training criterion, animals started operant conditioning
233 sessions during which they had to press on the reinforced lever in order to obtain the reward.
234 Reinforced lever presses were signaled by the emission of the sound and the cue light.
235 Operant learning started with daily 1-hour fixed ratio 1 schedule of reinforcement (FR1), during
236 which each reinforced-lever press was rewarded. The learning criterion was set at 100 reward
237 dose earned, across four consecutive sessions.

238 ***Random Ratio Training (RR)***

239 Once all the mice completed the operant learning criterion, their ability to press on the
240 reinforced lever in order to receive a reward was increased using random ratio schedules.
241 During the sessions, each lever press on the reinforced lever had a given probability of being
242 reinforced (pRR5=0.2, pRR10=0.1, pRR20=0.05). Animals underwent those 3 different ratio
243 across one-hour sessions, each day, 5 days a week. Moving from one ratio to the next one
244 was achieved once lever response values across two consecutive sessions were stable.

245 ***Progressive Ratio Task (PRx2)***

246 The motivational component of operant conditioning was evaluated using a progressive ratio
247 task. During the session, the first reward was delivered after two lever presses on the
248 reinforced lever and the following required amount of lever presses doubled after every reward
249 earned. Session was considered terminated after 1 hour or when animals failed to lever press
250 for three minutes, thus defining the session duration. PRx2 tasks were intercalated by RR20
251 sessions to prevent operant responding extinction. Mice underwent two PRx2 tasks with IP
252 saline injections for basal performances. Then 4 PRx2 tasks were carried out, during which
253 each mouse received CNO (2 mg/kg or 0.5mg/kg ; IP) or saline IP injection twice. Order of
254 Saline/CNO administration was counterbalanced within groups.

255 ***Licking microstructures***

256 A homemade setup was used to record licking microstructures (47,48). The test was run in
257 polypropylene cages equipped with a feeding bottle and a metal grid floor connected to a
258 computer with a dedicated software. The animal's contact between the grid floor and the
259 metallic sipping tip of the bottle allowed for the precise detection of licks. Mice were habituated
260 to the testing chamber with bottles filled with water for 2 days through 30 min sessions. On the
261 test day, the bottle was filled with 10% condensed sweet milk diluted in tap water and mice
262 were injected with CNO (2 mg/kg) or saline solution 30 min before the beginning of the 30-min
263 testing session. The system allowed the detection of the total number of licks, total number of
264 bursts and number of licks per burst. Bursts were defined as sequences of high frequency
265 licks, in which the interlick interval was less than 250ms. Relation between number of licks per
266 burst and hedonic reactivity have been demonstrated in (48–50).

267 ***Motor coordination in rotarod***

268 A rotarod apparatus (Bioseb) was used to assess motor coordination and balance of mice
269 under CNO (2mg/kg). Mice were placed on the rod rotating at 4rpm. During the test, the rotation
270 of the rod increased from 4rpm to 40rpm in 300 sec. The latency to fall was recorded.

271 ***Measure of 48-hour ad libitum food intake***

272 Single-housed mice were food deprived for 2 hours and were injected with CNO (2 mg/kg ; IP)
273 30mn before the onset of the dark phase. Chow pellets were placed in a dish into the cage.
274 Food dishes were weighed after 1 ; 2 ; 4 ; 12 ; 24 and 48 hours. The same test was performed
275 with animal receiving simultaneous CNO (2mg/kg; IP) and leptin infusions (5mg/kg; IP) 3 hours
276 before dark phase, or CNO (2mg/kg; IP) and ghrelin infusions (3mg/kg; IP) at the beginning of
277 the light phase (9.30 AM). In this latter condition, chow pellets were placed in a dish into the
278 cage 30 minute after injections (10.00 AM).

279 ***Fasting Refeeding procedure***

280 Single-housed mice previously exposed to high fat diet (Research Diet ref: D12451), were food
281 deprived for 12 hours, then injected with CNO (2 mg/kg or 0.5mg/kg ; IP) 30mn before the
282 onset of the dark phase. Following high fat diet access, food was weighed at 1 ; 2 ; 4 ; 12 ; 24
283 and 48 hours.

284 ***Pavlovian conditioning for the measure of food intake***

285 Food-deprived mice were placed in the operant chamber for 20 min sessions, during which a
286 drop of sweetened condensed milk was delivered 3 seconds after the emission of a sound (65
287 db, 3000 Hz, 7s) and the illumination of a diode lasting 10 seconds (ITI : 45s after reward
288 consumption). Animal were first trained during 10 sessions. During the last two sessions,
289 animals were received i.p. saline or CNO (2mg/kg) injections in a counterbalanced manner, 30
290 minutes before the trials. Licking patterns were analyzed as a proxy for reward consumption.

291 ***In vivo fiber photometry recording of calcium transients during voluntary wheel running*** 292 ***or free-feeding***

293 Animals expressing GCaMP8m in either D1- or D2-MSNs of the NAc (see above) were singled-
294 housed with *ad libitum* access to a running wheel and *ad libitum* food during 2 weeks. Two
295 days before testing, either the running wheel was removed or animals were food restricted.
296 The behavioral apparatus consisted in a four-chamber maze composed of two waiting areas
297 each leading to distinct compartments containing either palatable food pellets or a running
298 wheel. A session consisted in recording baseline activity in the waiting area for 60 sec, then
299 the door was opened giving access to either the running wheel or 6 food pellets distributed
300 every 30 sec. Animals were recorded during 3 min. 2-3 sessions per day were performed (for
301 either the running wheel or food consumption) during 6 consecutive days.

302 Animals' behavior was recorded and behavioral epochs identified through the BORIS
303 Software, allowing further alignment with fiber photometry signal.

304 Fiber photometry data were acquired with Doric Neuroscience Studio software through a fiber
305 photometry console controlling excitation lights, demodulated fluorescence signals and
306 received timestamps of behavioral events (Doric Lenses). Fiber photometry uses the same
307 fiber to both excite and record from animal via optical fiber patch cord (RWD Optic Fiber 0,5
308 NA, 400µm flat tip, L:1m). Blue excitation light (460 nm Doric Lenses LED) and isosbestic light
309 (405 nm Doric Lenses LED) passed through a filter cube (iFMC4; Doric Lenses). Light intensity
310 at the tip of the fiber was measured before every recording session and kept at 40 µW for
311 isosbestic light and at 100 µW for blue excitation light. During recording, both light stimulations
312 were alternatively triggered at 10hz. Then fluorescence signals were collected through a
313 Fluorescence Detector Amplifier (DC x1 ,Doric Lenses). Signals were sampled at 12048.19Hz.

314 Fiber photometry signals were analyzed using custom MATLAB (MathWorks) scripts. Signals
315 were demodulated according to the 460 nm and the 405 nm light emission and resampled at
316 10 Hz. The isosbestic signal (405 nm signal) was scaled using a least-squares linear
317 regression to best fit the 460 nm signal. This scaled isosbestic signal was subtracted from the
318 calcium-sensitive signal at 460 nm to compute a movement corrected, and bleaching-corrected
319 change in fluorescence (ΔF), then the $\Delta F/F$ was calculated by dividing the change in
320 fluorescence by the scaled isosbestic signal. For each behavioral event, the photometry
321 signals were z-scored using a pre-event baseline ranging from -40 s to -30 s for 'feeding room
322 entrance', 'feeding period', 'running room entrance', 'running period' events, or from -8 s to -5
323 s for 'feeding', 'stop running', and 'locked wheel' events. Resulting photometry signals were
324 then analyzed to first determine significant event-related transients around behavioral events
325 in either D1- or D2-MSNs. For each event, using the compilation of peri-event z-scored
326 photometry signals, a bootstrapping procedure was used to calculate confidence intervals
327 (95% CI, 2000 random resampling with replacement). A 95% CI was calculated for each time
328 point using the 2.5 and 97.5 percentiles of the bootstrap distribution and was then expanded
329 by a factor of $\sqrt{(n/(n-1))}$ to account for narrowness bias (Jean-Richard-dit-Bressel et al.,
330 2020, PMID 32116547; Liu et al., 2020, PMID 32669355). Significant transients were defined
331 during periods for which the 95% CI does not contain 0 (corresponding to the pre-event
332 baseline) for at least 1 s. Second, we compared photometry signals recorded from D1-MSNs
333 and D2-MSNs around each behavioral event using permutation tests (2000 random partitions)
334 (Maris and Oostenveld, 2007, PMID 17517438). Signals were defined as significantly different
335 if the exact permutation-based p-value stays below the significance threshold set at 0.05 for at
336 least 1 s.

337 ***Effect of acute manipulation of MSNs on wheel-running/free-feeding***

338 The setup consisted of a magnetic fast-track running wheel mounted onto a mouse igloo
339 shelter (BioServ) and connected to a magnet odometer. Single-housed mice had free access
340 to regular chow and the running wheel for 2 days for habituation. On the test day, mice were
341 fasted for 12 hours then placed in the cage with the running wheel and *ad libitum* chow placed
342 inside the cage for 2 hours for baseline consumption and wheel activity. CNO (2 mg/kg) or
343 saline was then injected and food intake and wheel activity were recorded every hour for 3
344 hours. For each condition (pre- or post infusion), data are expressed as the difference between
345 CNO and saline condition, divided by the value under saline condition. Animals with at least
346 one outlier ratio value (Grubb's method) were excluded from analysis.

347 ***Effect of chronic manipulation of MSNs on wheel-running/free-feeding***

348 Single-housed mice were exposed to a running wheel and standard diet for 1 week prior to the
349 beginning of the test. 24-hour wheel running activity, food consumption and weight variation
350 were recorded and defined as a baseline. On the first day of the test animals' food was
351 switched to HFD and CNO (2mg/kg) was administered every day before the onset of the dark
352 period for 23 days, during which variation of percentage of the aforementioned parameters
353 were evaluated. Measurements were pursued for 10 days with no CNO administration.
354 Subsequently, mice were subjected to progressive food restriction over 7 days (decrease of
355 0.5 g per day, starting at 3g) with a daily CNO infusion and free access to the running wheel.

356 **Glucose Tolerance Test**

357 Single-housed mice were food deprived 5 hours prior to the test at 09:00. Glycemia was
358 measured using single-use test strips and glycemia meter (ACCU-CHEK Performa, Roche).
359 The tip of the tail of the animal was cut for the first measurement, in order to obtain 1-2 drops
360 of blood. For the following blood tests, the tail was massaged from the base to the tip so that
361 a small volume of blood comes out. The first drop was wiped away and the second drop was
362 used to measure glycemia. Mice were injected with CNO (2mg/kg ; IP) or saline 20 minutes
363 prior to the beginning of the test. Glucose (2g/kg ; IP) was injected to the mice at t=0mn. Nine
364 blood samples were collected throughout the test (-30mn before CNO/Saline injection; 0mn
365 before glucose injection ; +15mn ; +30mn ; +45mn ; +60mn ; +90mn ; +120mn ; +180mn) and
366 mice were left quiet in a closed soundproof room in between samples.

367 **MRI for body composition**

368 Before and after CNO (2 mg/kg) injection/withdrawal period, total mass tissue including fat
369 mass, fluid mass, and lean mass content were measured using magnetic resonance imaging
370 (EchoMRI, minispec LF90II; Bruker, Wissembourg, France)

371 **Immunohistochemistry**

372 Mice were deeply anesthetized using a lethal IP dose of sodic pentobarbital (Exagon,
373 300mg/kg) together with lidocaine (Lurocaine 30m g/kg), and transcardially perfused with an
374 ice cold 4% paraformaldehyde solution in PBS 1X. Brains were removed and immersed in 4%
375 PFA overnight at 4°C, then transferred in cryoprotectant solution (30% glycerol ; 30% ethylene
376 glycol in PBS-1X pH 7.4), and stored at -20°C until further use. Brains were rinsed in PBS 1X
377 for 30 min before slicing. 40µm coronal sections were collected using a vibratome (Leica) into
378 cryoprotectant solution and stored at -20°C until further use. Brain slices were mounted on
379 slides and coverslipped with VectaShield containing DAPI mounting medium (Vector Labs).
380 mCherry expression was visualized with a Hamamatsu NANOZOOMER 2.0HT microscope
381 (Bordeaux Imaging Center facilities). For mCherry signal amplification, brain sections were
382 rinsed in PBS-1X, treated with blocking buffer (10% Fetal Bovine Serum in TBS: Tris 0.1M,
383 NaCl 0.9%, pH 7.4) for 2 h at room temperature (RT) and incubated overnight at 4°C with
384 primary antibody against mCherry (rabbit; 1:1000). For GFP signal amplification primary
385 antibody against EGFP (mouse; 1:1000). Sections were then incubated with the secondary
386 antibodies (donkey anti-rabbit; 1:1000 and goat anti-mouse; 1:1000) conjugated to a
387 fluorophore for 2 hours RT and mounted on slides and coverslipped with VectaShield
388 containing DAPI mounting medium and the signal was visualized with a Hamamatsu
389 NANOZOOMER 2.0HT microscope. To evaluate viral expression in cholinergic interneurons,
390 the procedure was repeated with a primary antibody against ChAT (Choline acetyl transferase;
391 goat ; 1:500) and a secondary antibody (donkey anti-goat ; 1:1000).

392 **RESULTS**

393 **D1-MSNs and D2-MSNs of the NAc core respectively facilitate and diminish incentive** 394 **processes towards palatable food**

395 Activating or inhibitory DREADDs were expressed in either D1- or D2-expressing neurons of
396 the NAc core through stereotaxic injections in D1- or D2-cre mice (Figure 1A). In accordance
397 with the literature (51–53), D2-MSNs exclusively project to the ventral pallidum (VP), while D1-
398 MSNs of the NAc core project to both the VP and the SNc/VTA resulting in an increase and
399 decrease of firing activity of VTA-DA neurons, respectively (Figure 1 B,G ; SF1). The
400 antagonistic effects of D1- and D2-MSNs of the NAc in the modulation of motivational
401 processes in the context of food-seeking behavior have been recently challenged (26,29).
402 Here, we found that chemogenetic activation or inhibition of D2-MSNs did not impact licking
403 patterns during consumption of a palatable sweetened milk solution (SF1), a proxy for hedonic
404 reactivity (55,47,48), but decreased and increased performance in a progressive ratio task,

405 respectively (Figure 1C-E; SF1), without alteration in motoric abilities (Figure 2F, SF1),
406 supporting an “amotivational” effect of D2-MSNs of the NAc core.

407 Similarly, chemogenetic manipulations of D1-MSNs spared hedonic reactivity (SF1).
408 Regarding reward processing, inhibition of D1-MSNs decreased performance in the
409 progressive ratio task (SF1), in accordance with their pro-motivational role. However,
410 surprisingly, chemogenetic activation of D1-MSNs led to a comparable decrease in lever
411 presses and breakpoint (SF1). This was accompanied by an inability to increase press rate as
412 a function of ratio requirement in the progressive ratio task (SF1). Decreasing the dose of CNO
413 recapitulated the blunted performance under D1-MSNs inhibition that was previously observed
414 with higher dose of CNO (Figure 2H-J). Similarly, despite spared abilities to maintain press
415 rate as a function of increasing ratio requirement (Figure 2K), activation of D1-MSNs still
416 resulted in decreased performance in the progressive ratio task (Figure 2H-J). Considering the
417 previously described satietogenic effect of NAc shell D1-MSNs activation (30,31), we
418 hypothesized that the diminution of lever pressing in our conditions could be related to a
419 decreased hunger drive rather than blunted motivational performance *per se*.

420 **NAc D1-MSNs and D2-MSNs exert opposite effects on food consumption**

421 We therefore tested the effect of chemogenetic manipulations of MSN subpopulations on food
422 intake (SF2). In the absence of effort required – i.e. when the reward was delivered in a
423 pavlovian conditioning setting –, D2-MSN inhibition in food-deprived animals decreased
424 consumption of the sweetened milk reward, while their activation had the opposite effect
425 (Figure 2A and SF2). The mirroring pattern was observed under manipulation of D1-MSNs
426 (Figure 2E and SF2). To confirm the effect on food intake *per se*, we assessed the effects of
427 modulating MSNs activity on *ad libitum* food consumption. Inhibition of D2-MSNs acutely
428 decreased chow consumption, hence resulting in lower cumulative food intake over 48 hours
429 (Figure 2B). D2-MSNs activation had the opposite effect, though the increased chow
430 consumption was delayed (Figure 2C), which might be related to an initial dominant decrease
431 of the motivational drive to retrieve chow pellets over the orexigenic effect. Such effects on
432 food intake resulted in a significant weight loss for D2-MSNs inhibition and weight gain for D2-
433 MSNs activation, these being maintained for 48 hours (Figure 2D). Of note, these effects were
434 not related to differences in peripheral glucose tolerance (SF2). Manipulation of D1-MSNs
435 activity resulted in opposite findings with their inhibition leading to acute increased food intake
436 whilst their activation strongly decreased it (Figure 2 F, G), with no effect on glucose
437 metabolism (SF3). However, these acute effects on food intake were not accompanied by
438 significant changes in weight at 24 or 48 hours (Figure 2H).

439 As food intake and willingness to work for a food reward were regulated in opposite manners
440 by MSN manipulations, we next aimed at determining whether an increase in the motivational
441 valence of food might lead to different outcomes on food intake. We therefore challenged mice
442 in a fasting/refeeding protocol wherein animals were allowed access to palatable food (high-
443 fat) after an overnight fasting (SF2). We found effects comparable to those measured during
444 *ad libitum* chow intake, i.e. D2-MSNs inhibition decreased food intake while their activation had
445 a delayed orexigenic effect (SF2). Manipulation of D1-MSNs triggered the opposite effects
446 (SF2). Both high (2 mg/kg) and low (0.5 mg/kg) doses of CNO resulted in similar outcomes,
447 with milder effects at 0.5 mg/kg. We therefore kept CNO at the dose of 2 mg/kg for the following
448 experiments.

449 **The effects of acute chemogenetic NAc MSN manipulations on food intake occur at the** 450 **expense of voluntary physical activity**

451 As mentioned above, alterations in voluntary physical activity are typical symptoms of EDs that
452 go in opposite directions with food consumption. We therefore asked whether MSN
453 manipulations might differentially alter food intake and voluntary wheel running. We performed
454 a choice protocol in which fasted mice had free access to food and a running wheel (Figure
455 3A). The acute satietogenic effect of D2-MSNs inhibition was accompanied by increased wheel
456 running distance, while activation of D2-MSNs resulted in a strong decrease in physical activity
457 with no significant effect on food intake, in accordance with the delayed effect of such
458 manipulation on feeding (Figure 3B ; SF3). In opposite, inhibition of D1-MSNs increased and
459 decreased food intake and wheel running, respectively, while the strong satietogenic effect of
460 D1-MSNs activation was accompanied by increased wheel running (Figure 3C ; SF3).

461 **Opposite balance between NAc D1- and D2-MSNs activities during food consumption** 462 **and voluntary physical activity**

463 The opposite and bidirectional effects of manipulations of MSN subpopulations on the choice
464 between food intake and wheel-running led us to investigate the bulk activity pattern of D1-
465 and D2-MSNs of the NAc core during food consumption and wheel running through recording
466 of calcium dynamics coupled with fiber photometry (Figure 3D). In food- or wheel running-
467 deprived animals, both D1- and D2-MSN bulk activities were comparably increased when
468 animals engaged towards either food consumption or the running wheel (Figure 3E, G and
469 SF3). Interestingly, the activity of both D1- and D2-MSNs dropped during the first reward
470 consumption, with the relative activity of D2-MSNs remaining significantly higher than that of
471 D1-MSNs (Figure 3E). This pattern of bulk activity was further confirmed when calcium
472 responses were averaged for every reward consumptions (Figure 3F). In opposite, during
473 running, the relative activity of D1-MSNs remained significantly higher than that of D2-MSNs

474 (Figure 3G). Interestingly, when animals stopped running, voluntarily or when the wheel was
475 blocked, D2-MSNs activity remained higher than that of D1-MSNs (SF3). Altogether, these
476 findings support that the balance of activity between D1- and D2-MSNs of the NAc core is
477 biased towards D2-MSNs during food consumption while voluntary wheel running correlates
478 with higher activity of D1-MSNs over D2-MSNs.

479 **Chronic activation of NAc D2-MSNs leads to increased fat mass related to decreased** 480 **voluntary physical activity**

481 Altogether, our findings suggest that the opposite effects of D1- and D2-MSNs manipulation
482 on food intake do not reflect alterations of reward processing *per se*, but could rather
483 correspond to an imbalance between energy supply and physical activity-mediated
484 expenditure, which is a typical feature of EDs (56). Therefore, we next asked whether
485 repeatedly manipulating MSNs activity could be sufficient for the development of some obesity-
486 or AN-like phenotypes. To do so, mice were housed individually with free access to high fat
487 diet and a running wheel in order to evaluate the relative preference between the two rewards.
488 CNO was administered every day at the onset of the dark period for 3 weeks (Figure 4A).

489 Chronic D2-MSNs activation (D2 Gq) transiently increased food consumption (Figure 4B). This
490 was accompanied by decreased voluntary wheel running throughout the entire period of CNO
491 activation compared to controls (Figure 4C). These resulted in a significantly higher gain of fat
492 mass measured at the end of the chronic CNO period (Figure 4D, SF4). Importantly, cessation
493 of CNO administration led to an immediate reversion of voluntary physical activity, together
494 with a significant decrease in food consumption (Figure 4B-C), resulting in significant weight
495 and fat mass loss compared to controls (Figure 4D, SF4). Despite the acute increase in wheel
496 running and decrease in food consumption, as previously found (Figure 3), animals subjected
497 to chronic inhibition of D2-MSNs (D2 Gi) did not significantly differ from controls for any of the
498 main variables measured (Figure 4B-D, SF4).

499 **Enhanced voluntary wheel running under chronic activation of D1-MSNs is** 500 **compensated by increased food consumption**

501 Despite the strong satietogenic effect of D1-MSNs activation (D1 Gq) the very first day of CNO
502 administration, the higher voluntary physical activity that was maintained across chronic D1-
503 MSNs activation was accompanied by higher food consumption during the entire period of
504 CNO administration compared to controls (Figure 4E, F). As a consequence, animals with
505 chronic activation of D1-MSNs did not differ from controls in terms of body weight, fat and lean
506 mass variation (Figure 4G, SF4), suggesting that energy expenditure resulting from increased
507 physical activity was compensated by higher energetic supply. Cessation of CNO

508 administration progressively normalized both wheel running and food intake relative to
509 controls, leading to significant gain in fat mass in the D1 Gq group (Figure 4G, SF4).

510 Chronic inhibition of D1-MSNs (D1 Gi) blunted wheel running, with no difference in food
511 consumption compared to controls (Figure 4E, F). This resulted in significant weight gain and
512 increase in fat mass as compared to the D1 Gq group (Figure 4G, SF4). Interestingly, lower
513 voluntary physical activity was maintained despite cessation of CNO administration (Figure 4F)
514 with no change in body weight or fat mass (Figure 4G, SF4).

515 **Concomitant chronic manipulation of both MSN subpopulations bypasses the**
516 **equilibrium between activity-related energy expenditure and energy intake**

517 Altogether, our findings suggest that decreased energy expenditure due to lower voluntary
518 wheel running, as observed under activation of D2-MSNs or inhibition of D1-MSNs, does not
519 lead to compensatory decrease in food intake. Such an alteration of energy balance results in
520 an obesity-like phenotype, which is in line with previous observation consecutive to decreased
521 expression of the D2 receptor (38,39) – which results in disinhibition of D2-MSNs. However,
522 enhanced running-induced energy expenditure, as we found under D1-MSNs activation led to
523 compensatory increase in food intake, thus maintaining energy balance, as reflected by the
524 maintenance of weight and fat mass.

525 Considering the dichotomic effect of D1- and D2-MSN manipulations on energy intake and
526 activity-related energy expenditure, we then tested whether the concomitant manipulation of
527 both neuronal subpopulations would potentiate the aforementioned effects, eventually leading
528 to bidirectional disruption of the balance between food intake and activity-induced energy
529 expenditure. We took advantage of a unique mouse model expressing the flippase
530 recombinase in D1-expressing neurons (57) and crossed this mouse line with the D2-cre line,
531 thereby allowing the concomitant manipulation of both NAc MSN subpopulations (Figure 5A).
532 Simultaneous activation of D1-MSNs together with inhibition of D2-MSNs strongly increased
533 wheel running. However, in this case, after an acute decrease the first day of CNO
534 administration, food consumption remained equivalent to control animals (Figure 5B-C),
535 leading to weight and fat loss (Figure 5D, SF5). In opposite, the concomitant inhibition of D1-
536 MSNs together with activation of D2-MSNs resulted in significantly lower wheel running
537 compared to controls, together with an initial increase in food consumption over the first 3 days,
538 that returned to control levels thereafter (Figure 5B-C). Such a behavioral pattern resulted in
539 weight gain and increased fat mass (Figure 5D, SF5). Cessation of CNO administration
540 normalized voluntary physical activity in both groups (Figure 5C). Interestingly, this was
541 accompanied by an increase of food intake (Figure 5B) and weight gain in animals in which
542 D1- and D2-MSNs were previously activated and inhibited, respectively (Figure 5D, SF5).

543 Conversely, food intake (Figure 5B, SF5) and body weight (Figure 5D, SF5) were decreased
544 in animals in which D1- and D2-MSNs were previously simultaneously inhibited and activated,
545 respectively. Interestingly, the concomitant manipulations of D1- and D2-MSNs did not
546 interfere with the ability of leptin and ghrelin to exert their respective anorexigenic and
547 orexigenic effects (SF5), suggesting that the influence of MSN subpopulations on food intake
548 is independent of such hormones.

549 To further assess to which extent the effect of chronic manipulation of MSNs on voluntary
550 activity could overcome metabolic signals related to energy intake, animals were subjected to
551 a gradual food deprivation in the presence of the running wheel. Under such conditions, all
552 groups displayed a decrease in weight that was significantly enhanced under concomitant
553 activation of D1-MSNs and inhibition of D2-MSNs. This effect was likely due to higher activity-
554 related energy expenditure since these animals displayed higher voluntary wheel running
555 despite food restriction (Figure 5E).

556 **DISCUSSION**

557 Beyond the well-documented role of NAc core MSNs in the modulation of incentive processes,
558 the present study highlights an underestimated differential implication of D1- and D2-MSN
559 subpopulations in the balance between food intake and physical activity-induced energy
560 expenditure. As an illustration, the use of the above-mentioned double transgenic mice reveals
561 that repeated (i) activation of D2-MSNs together with (ii) inhibition of D1-MSNs is sufficient to
562 elicit an obesity-like phenotype as assessed by a decrease in energy expenditure. In opposite,
563 repeated hyperactivity of D1-MSNs together with hypoactivity of D2-MSNs directs the
564 energetic balance towards physical activity at the expense of energy intake, which are typical
565 features of AN.

566 Even though dimensional approaches to EDs is just starting to emerge, increasing evidence
567 supports alterations in common domains across EDs, especially those linked to reward-related
568 positive valence system (5). In particular, reward valuation is elevated in individuals with
569 obesity-related binge eating syndromes, but excessively diminished in patients with AN (58–
570 60). Similarly, increased willingness to work for disorder-specific reward, i.e. exercise and food
571 for AN and bulimia, respectively, are increased (7,61), suggesting that alterations in effort
572 valuation are a main feature of EDs (5). Such reward-related symptoms correlate with opposite
573 brain activity patterns, especially in cortico-striatal circuits (15), hence reinforcing the
574 hypothesis that overeating-related pathologies and AN correspond to the two ends of an ED
575 spectrum. Our data suggest that opposite alterations in the activity of NAc MSN subcircuits
576 could underlie a subset of symptomatic dimensions of ED phenotypes, in particular the balance
577 between calorie intake and activity-related energy expenditure.

578 We found that the bulk activity balance between MSN subpopulations was in favor of D2-MSNs
579 during food intake while towards D1-MSNs during voluntary physical exercise. In accordance,
580 acute manipulations of the two subtypes of MSNs led to opposite consequences on food intake
581 and voluntary physical activity in opposite manner highlighting the implication of these neuronal
582 subpopulations in the regulation of energy balance. However, it is important to stress that,
583 under chronic manipulations, the homeostatic system – likely comprising hypothalamic
584 network - seems to be able to overcome alteration of MSNs' activity. Thus, under chronic
585 activation of D1-MSNs, despite an acute decrease in food intake, enhanced energy
586 expenditure through physical activity is accompanied by increased food intake, allowing
587 maintenance of fat mass and body weight. It is only when both MSN subpopulations are
588 concomitantly manipulated, i.e. activation and inhibition of D1- and D2-MSNs, respectively,
589 that such a homeostatic system does not fully compensate for energy expenditure, hence
590 leading to weight loss. Nonetheless, animals still eat comparable amount of food than controls,
591 suggesting that the energetic imbalance mainly results from exaggerated physical activity-
592 mediated energy expenditure rather than reduced food consumption. Similarly, when D1-
593 MSNs or D2-MSNs are respectively subjected to chronic inhibition and activation, weight/fat
594 gain mostly originates from decreased physical activity since animals consume comparable
595 amount of food than controls. Yet, avoidance and compulsion towards exercise are typical
596 features of obesity-related disorders and AN, respectively, that have been proposed to be one
597 main pathophysiological mechanism leading to, and even preceding, the development of EDs
598 (6,62,63). Even though speculative, overall, our findings suggest that chronic dysfunction of
599 NAc MSN network activity could participate to the etiology of EDs by altering, positively or
600 negatively, the willingness to engage in, and/or the rewarding value of, physical activity.

601 Of importance is the observation that wheel-running, rather than reflecting non-specific
602 locomotor responses, is a goal-directed behavior accounted for by the reinforcing value of
603 exercise. Thus, as for other natural rewards such as food, rats/mice are willing to exert efforts,
604 i.e. lever presses or nose pokes, to access a wheel (64–66). In accordance, our findings using
605 chemogenetic inhibition demonstrate that D1-MSNs facilitate both wheel-running and
606 willingness to exert effort to obtain a food reward, while D2-MSNs rather play an opposite role.
607 These data further suggest that alterations in voluntary physical activity under MSNs
608 manipulation reflect changes in reward/incentive processes and reveal the antagonistic role of
609 the two NAc MSN subpopulations on this dimension. However, such an opposite effect of D1-
610 and D2-MSNs on motivational processes has been recently challenged. Similarly to our
611 findings, the chemogenetic inhibition of D2-MSNs of the NAc enhances performance in a
612 motivational task (23,24), while optogenetic manipulations of D2-MSNs of the NAc rather
613 support a “pro-motivational” role, similarly to D1-MSNs (25–27). However, recent data clarified

614 this discrepancy, showing that optogenetic stimulation of D2-MSNs during reward-predicting
615 cue enhances operant responding, while the very same manipulation during reward
616 consumption has the opposite effect (29). Such a dissociated role of D2-MSNs on distinct
617 phases of the motivational dimension remains unclear and might involve reward prediction
618 error mechanisms through dynamic feedback modulation of VTA dopamine neurons (29).
619 Nonetheless, through the use of long-lasting chemogenetic approach, our results support that
620 chronic increase or decrease in D2-MSNs excitability, as putatively found in some pathological
621 conditions, will likely lead to enhanced and blunted motivational processes, respectively.

622 In addition to their antagonistic effect on the “ability to exert effort”, our results reveal that D1-
623 MSNs inhibit, whereas D2-MSNs of the NAc enhance food intake. To the best of our
624 knowledge, such a role of D2-MSNs has not been reported before. However, even though a
625 recent study showed that activation of D1- and D2-MSNs of the NAc enhance and terminate
626 sugar intake, respectively (67), the acute anorexigenic potency of D1-MSNs has been
627 previously described for the NAc shell, through projections onto the lateral hypothalamus and
628 the midbrain (30–32). Together with the current study, these observations suggest that, under
629 physiological conditions, the recruitment of the NAc network in favor of D1-MSNs would bias
630 behavior towards effort exertion – including food-seeking – at the expense of food
631 consumption. In opposite, a predominant activity of D2-MSNs would blunt voluntary activity
632 whilst promoting food intake. Such a pivotal role of the NAc MSN network is in accordance
633 with the implication of the NAc as a “sensory sentinel”, allowing rapid control over food
634 consumption in response to motivational or sensory signals (30,31,68,69). It remains to be
635 determined whether these behavioral dimensions bidirectionally modulated by MSNs depend
636 on distinct subpopulations in the NAc and/or their projecting areas. Nonetheless, the current
637 work suggests that a chronic imbalance in the MSN network of the NAc could be sufficient to
638 alter homeostatic balance, eventually leading to EDs.

639

640

641

642 **Acknowledgments:** We thank the Bordeaux Imaging Center funded by ANR-10-INBS-04 for
643 imaging, Motac Neuroscience for lending the rotarod apparatus, Céline Ducroix-Crépy and
644 Jean-Christophe Helbling (INRAE UMR 1286) for genotyping and the staff from the animal
645 facility of INRAE UMR 1286 for animal care.

646 **Funding:** This study was supported by INRAE and University of Bordeaux; Idex Bordeaux
647 “chaire d’installation” (ANR-10-IDEX-03-02) (PT), NARSAD Young Investigator Grants from

648 the Brain and Behavior Foundation (PT), ANR “SynLip” (ANR-16-CE16-0022) (PT), ANR
649 “FrontoFat” (ANR-20-CE14-0020) (PT), ANR StriaPOM (ANR-21-CE14-0018) (PT), Institut de
650 Recherche en Santé publique (IReSP) Aviesan APP-addiction 2019 (PT), Labex “BRAIN” (PT
651 and RW), Region Nouvelle Aquitaine 2014-1R30301-00003023 (PT); Fondation pour la
652 Recherche Médicale (FRM “Environnement et Santé”) (GF and PT), ANR “HA-CTion” (ANR-
653 19-HBPR-0002) (GF and PT); PRESTIGE-2017-2-0031 (AC), “Fondation pour la Recherche
654 Médicale” SPF201809007095 (AC); Canadian Institute for Health Research (201309OG-
655 312343-PT; 201803PJT-399980-PT) (BG); FD and RW are recipients of PhD fellowships from
656 the French Ministry of Research. AP is a recipient of a PhD fellowship from the “Ecole
657 Universitaire de Recherche” (EUR Neuro, Bordeaux Neurocampus); AKE is Research Director
658 of FRS-FNRS and WELBIO investigator. AKE was supported by grants from from FRS-FNRS
659 (#23587797, #33659288, #33659296), Fondation Simone et Pierre Clerdent (Prize 2018) and
660 Fondation ULB.

661
662 **Authors contributions:** RW, GF, FD, FG and PT designed research, RW, AP, GRF, AC, RO,
663 AO, VDP and FD performed research, RW, FD, FG and PT supervised research, RW, AP,
664 GRF, CV, AC, FD, FG and PT analyzed data, AKE, BG and FC provided expertise, reagents
665 and material, RW, FC, GF, FD, FG and PT wrote the manuscript. All authors edited and
666 approved the manuscript.

667
668 **Declaration of interests:** The authors declare no competing interests.

669

670

671

672

673

674

675

676

677

678

679 **REFERENCES**

- 680 1. Watson HJ, Yilmaz Z, Thornton LM, Hübel C, Coleman JRI, Gaspar HA, et al.
681 Genome-wide association study identifies eight risk loci and implicates metabo-
682 psychiatric origins for anorexia nervosa. *Nat Genet.* 2019 Aug;51(8):1207–14.
- 683 2. Weiss F, Barbuti M, Carignani G, Calderone A, Santini F, Maremmani I, et al.
684 Psychiatric Aspects of Obesity: A Narrative Review of Pathophysiology and
685 Psychopathology. *J Clin Med.* 2020 Jul 23;9(8).
- 686 3. Bulik-Sullivan B, Finucane HK, Anttila V, Gusev A, Day FR, Loh PR, et al. An atlas
687 of genetic correlations across human diseases and traits. *Nat Genet.* 2015
688 Nov;47(11):1236–41.
- 689 4. Krug I, Villarejo C, Jiménez-Murcia S, Perpiñá C, Vilarrasa N, Granero R, et al.
690 Eating-related environmental factors in underweight eating disorders and obesity:
691 are there common vulnerabilities during childhood and early adolescence? *Eur*
692 *Eat Disord Rev.* 2013 May;21(3):202–8.
- 693 5. Wildes JE, Marcus MD. Application of the Research Domain Criteria (RDoC)
694 framework to eating disorders: emerging concepts and research. *Curr Psychiatry*
695 *Rep.* 2015 May;17(5):30.
- 696 6. Casper RC. Not the Function of Eating, but Spontaneous Activity and Energy
697 Expenditure, Reflected in “Restlessness” and a “Drive for Activity” Appear to Be
698 Dysregulated in Anorexia Nervosa: Treatment Implications. *Front Psychol.*
699 2018;9:2303.
- 700 7. Klein DA, Schebendach JE, Gershkovich M, Bodell LP, Foltin RW, Walsh BT.
701 Behavioral assessment of the reinforcing effect of exercise in women with
702 anorexia nervosa: further paradigm development and data. *Int J Eat Disord.* 2010
703 Nov 1;43(7):611–8.
- 704 8. Shroff H, Reba L, Thornton LM, Tozzi F, Klump KL, Berrettini WH, et al. Features
705 associated with excessive exercise in women with eating disorders. *Int J Eat*
706 *Disord.* 2006 Sep;39(6):454–61.
- 707 9. Taranis L, Meyer C. Associations between specific components of compulsive
708 exercise and eating-disordered cognitions and behaviors among young women.
709 *Int J Eat Disord.* 2011 Jul;44(5):452–8.
- 710 10. Matikainen-Ankney BA, Kravitz AV. Persistent effects of obesity: a neuroplasticity
711 hypothesis. *Ann N Y Acad Sci.* 2018 Sep;1428(1):221–39.
- 712 11. Rizk M, Mattar L, Kern L, Berthoz S, Duclos J, Viltart O, et al. Physical Activity in
713 Eating Disorders: A Systematic Review. *Nutrients.* 2020 Jan 9;12(1).
- 714 12. Ruegsegger GN, Booth FW. Running from Disease: Molecular Mechanisms
715 Associating Dopamine and Leptin Signaling in the Brain with Physical Inactivity,
716 Obesity, and Type 2 Diabetes. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2017;8:109.

- 717 13. Floresco SB. The Nucleus Accumbens: An Interface Between Cognition, Emotion,
718 and Action. *Annual Review of Psychology*. 2015 Jan 3;66(1):25–52.
- 719 14. Frank GKW, Reynolds JR, Shott ME, Jappe L, Yang TT, Tregellas JR, et al.
720 Anorexia nervosa and obesity are associated with opposite brain reward
721 response. *Neuropsychopharmacology*. 2012 Aug;37(9):2031–46.
- 722 15. Kaye WH, Wierenga CE, Bailer UF, Simmons AN, Wagner A, Bischoff-Grethe A.
723 Does a shared neurobiology for foods and drugs of abuse contribute to extremes
724 of food ingestion in anorexia and bulimia nervosa? *Biol Psychiatry*. 2013 May
725 1;73(9):836–42.
- 726 16. Volkow ND, Wang GJ, Telang F, Fowler JS, Thanos PK, Logan J, et al. Low
727 dopamine striatal D2 receptors are associated with prefrontal metabolism in
728 obese subjects: possible contributing factors. *Neuroimage*. 2008 Oct
729 1;42(4):1537–43.
- 730 17. Wang GJ, Volkow ND, Logan J, Pappas NR, Wong CT, Zhu W, et al. Brain
731 dopamine and obesity. *Lancet*. 2001 Feb 3;357(9253):354–7.
- 732 18. Bailer UF, Frank GK, Price JC, Meltzer CC, Becker C, Mathis CA, et al. Interaction
733 between serotonin transporter and dopamine D2/D3 receptor radioligand
734 measures is associated with harm avoidant symptoms in anorexia and bulimia
735 nervosa. *Psychiatry Res*. 2013 Feb 28;211(2):160–8.
- 736 19. Broft A, Slifstein M, Osborne J, Kothari P, Morim S, Shingleton R, et al. Striatal
737 dopamine type 2 receptor availability in anorexia nervosa. *Psychiatry Res*. 2015
738 Sep 30;233(3):380–7.
- 739 20. Dang LC, Samanez-Larkin GR, Castellon JJ, Perkins SF, Cowan RL, Zald DH.
740 Associations between dopamine D2 receptor availability and BMI depend on age.
741 *NeuroImage*. 2016 Sep;138:176–83.
- 742 21. Gaiser EC, Gallezot JD, Worhunsky PD, Jastreboff AM, Pittman B, Kantrovitz L,
743 et al. Elevated Dopamine D2/3 Receptor Availability in Obese Individuals: A PET
744 Imaging Study with [¹¹C](+)-PHNO. *Neuropsychopharmacology*. 2016
745 Dec;41(13):3042–50.
- 746 22. Karlsson HK, Tuominen L, Tuulari JJ, Hirvonen J, Parkkola R, Helin S, et al.
747 Obesity Is Associated with Decreased μ -Opioid But Unaltered Dopamine D2
748 Receptor Availability in the Brain. *Journal of Neuroscience*. 2015 Mar
749 4;35(9):3959–65.
- 750 23. Carvalho Poyraz F, Holzner E, Bailey MR, Meszaros J, Kenney L, Kheirbek MA,
751 et al. Decreasing Striatopallidal Pathway Function Enhances Motivation by
752 Energizing the Initiation of Goal-Directed Action. *Journal of Neuroscience*. 2016
753 Jun 1;36(22):5988–6001.
- 754 24. Gallo EF, Meszaros J, Sherman JD, Chohan MO, Teboul E, Choi CS, et al.
755 Accumbens dopamine D2 receptors increase motivation by decreasing inhibitory
756 transmission to the ventral pallidum. *Nature Communications [Internet]*. 2018 Dec

- 757 [cited 2018 Jul 2];9(1). Available from: [http://www.nature.com/articles/s41467-](http://www.nature.com/articles/s41467-018-03272-2)
758 018-03272-2
- 759 25. Natsubori A, Tsutsui-Kimura I, Nishida H, Bouchekioua Y, Sekiya H, Uchigashima
760 M, et al. Ventrolateral Striatal Medium Spiny Neurons Positively Regulate Food-
761 Incentive, Goal-Directed Behavior Independently of D1 and D2 Selectivity. *The*
762 *Journal of Neuroscience*. 2017 Mar 8;37(10):2723–33.
- 763 26. Soares-Cunha C, Coimbra B, David-Pereira A, Borges S, Pinto L, Costa P, et al.
764 Activation of D2 dopamine receptor-expressing neurons in the nucleus
765 accumbens increases motivation. *Nat Commun*. 2016 Jun 23;7:11829.
- 766 27. Soares-Cunha C, Coimbra B, Domingues AV, Vasconcelos N, Sousa N,
767 Rodrigues AJ. Nucleus Accumbens Microcircuit Underlying D2-MSN-Driven
768 Increase in Motivation. *eneuro*. 2018;5(2):ENEURO.0386-18.2018.
- 769 28. Soares-Cunha C, de Vasconcelos NAP, Coimbra B, Domingues AV, Silva JM,
770 Loureiro-Campos E, et al. Nucleus accumbens medium spiny neurons subtypes
771 signal both reward and aversion. *Mol Psychiatry*. 2020 Dec;25(12):3241–55.
- 772 29. Soares-Cunha C, Correia R, Domingues AV, Coimbra B, Vasconcelos NA de,
773 Pinto L, et al. Distinct role of nucleus accumbens D2-MSN projections to ventral
774 pallidum in different phases of motivated behavior. *bioRxiv*.
775 2022;2020.11.27.401042.
- 776 30. Bond CW, Trinko R, Foscue E, Furman K, Groman SM, Taylor JR, et al. Medial
777 Nucleus Accumbens Projections to the Ventral Tegmental Area Control Food
778 Consumption. *J Neurosci*. 2020 Jun 10;40(24):4727–38.
- 779 31. O'Connor EC, Kremer Y, Lefort S, Harada M, Pascoli V, Rohner C, et al.
780 Accumbal D1R Neurons Projecting to Lateral Hypothalamus Authorize Feeding.
781 *Neuron*. 2015 Nov 4;88(3):553–64.
- 782 32. Thoeni S, Loureiro M, O'Connor EC, Lüscher C. Depression of Accumbal to
783 Lateral Hypothalamic Synapses Gates Overeating. *Neuron*. 2020 Jul
784 8;107(1):158-172.e4.
- 785 33. Zhu X, Ottenheimer D, DiLeone RJ. Activity of D1/2 Receptor Expressing Neurons
786 in the Nucleus Accumbens Regulates Running, Locomotion, and Food Intake.
787 *Front Behav Neurosci* [Internet]. 2016 Apr 12 [cited 2021 Jan 13];10. Available
788 from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4828436/>
- 789 34. Matikainen-Ankney BA, Legaria AA, Pan Y, Vachez YM, Murphy CA, Schaefer
790 RF, et al. Nucleus Accumbens D1 Receptor-Expressing Spiny Projection
791 Neurons Control Food Motivation and Obesity. *Biological Psychiatry*. 2023 Mar
792 15;93(6):512–23.
- 793 35. Welch AC, Zhang J, Lyu J, McMurray MS, Javitch JA, Kellendonk C, et al.
794 Dopamine D2 receptor overexpression in the nucleus accumbens core induces
795 robust weight loss during scheduled fasting selectively in female mice. *Mol*
796 *Psychiatry*. 2019 Dec 20;

- 797 36. Labouesse MA, Sartori AM, Weinmann O, Simpson EH, Kellendonk C, Weber-
798 Stadlbauer U. Striatal dopamine 2 receptor upregulation during development
799 predisposes to diet-induced obesity by reducing energy output in mice. *Proc Natl*
800 *Acad Sci U S A*. 2018 Oct 9;115(41):10493–8.
- 801 37. Johnson PM, Kenny PJ. Dopamine D2 receptors in addiction-like reward
802 dysfunction and compulsive eating in obese rats. *Nature Neuroscience*. 2010
803 May;13(5):635–41.
- 804 38. Beeler JA, Faust RP, Turkson S, Ye H, Zhuang X. Low Dopamine D2 Receptor
805 Increases Vulnerability to Obesity Via Reduced Physical Activity, Not Increased
806 Appetitive Motivation. *Biological Psychiatry*. 2016 Jun;79(11):887–97.
- 807 39. Friend DM, Devarakonda K, O’Neal TJ, Skirzewski M, Papazoglou I, Kaplan AR,
808 et al. Basal Ganglia Dysfunction Contributes to Physical Inactivity in Obesity. *Cell*
809 *Metabolism*. 2017 Feb;25(2):312–21.
- 810 40. Coveleskie K, Gupta A, Kilpatrick LA, Mayer ED, Ashe-McNalley C, Stains J, et
811 al. Altered functional connectivity within the central reward network in overweight
812 and obese women. *Nutr Diabetes*. 2015 Jan;5(1):e148.
- 813 41. Donofry SD, Stillman CM, Erickson KI. A review of the relationship between eating
814 behavior, obesity and functional brain network organization. *Soc Cogn Affect*
815 *Neurosci*. 2020 Nov 10;15(10):1157–81.
- 816 42. Pujol J, Blanco-Hinojo L, Martínez-Vilavella G, Deus J, Pérez-Sola V, Sunyer J.
817 Dysfunctional Brain Reward System in Child Obesity. *Cereb Cortex*. 2021 Jul
818 29;31(9):4376–85.
- 819 43. Haynos AF, Hall LMJ, Lavender JM, Peterson CB, Crow SJ, Klimes-Dougan B, et
820 al. Resting state functional connectivity of networks associated with reward and
821 habit in anorexia nervosa. *Hum Brain Mapp*. 2018 Sep 25;40(2):652–62.
- 822 44. Uniacke B, Wang Y, Biezonski D, Sussman T, Lee S, Posner J, et al. Resting-
823 state connectivity within and across neural circuits in anorexia nervosa. *Brain*
824 *Behav*. 2018 Dec 27;9(1):e01205.
- 825 45. Georges F, Aston-Jones G. Activation of ventral tegmental area cells by the bed
826 nucleus of the stria terminalis: a novel excitatory amino acid input to midbrain
827 dopamine neurons. *J Neurosci*. 2002 Jun 15;22(12):5173–87.
- 828 46. Grace AA. In vivo and in vitro intracellular recordings from rat midbrain dopamine
829 neurons. *Ann N Y Acad Sci*. 1988;537:51–76.
- 830 47. Ducrocq F, Hyde A, Fanet H, Oummadi A, Walle R, De Smedt-Peyrusse V, et al.
831 Decrease in Operant Responding Under Obesogenic Diet Exposure is not
832 Related to Deficits in Incentive or Hedonic Processes. *Obesity*. 2019
833 Feb;27(2):255–63.
- 834 48. Ducrocq F, Walle R, Contini A, Oummadi A, Caraballo B, van der Veldt S, et al.
835 Causal Link between n-3 Polyunsaturated Fatty Acid Deficiency and Motivation
836 Deficits. *Cell Metab*. 2020 Apr 7;31(4):755-772.e7.

- 837 49. Johnson AW. Characterizing ingestive behavior through licking microstructure:
838 Underlying neurobiology and its use in the study of obesity in animal models.
839 International Journal of Developmental Neuroscience. 2018 Feb;64:38–47.
- 840 50. Ward RD, Kellendonk C, Kandel ER, Balsam PD. Timing as a window on cognition
841 in schizophrenia. *Neuropharmacology*. 2012 Mar;62(3):1175–81.
- 842 51. Baimel C, McGarry LM, Carter AG. The Projection Targets of Medium Spiny
843 Neurons Govern Cocaine-Evoked Synaptic Plasticity in the Nucleus Accumbens.
844 *Cell Rep*. 2019 Aug 27;28(9):2256-2263.e3.
- 845 52. Kupchik YM, Brown RM, Heinsbroek JA, Lobo MK, Schwartz DJ, Kalivas PW.
846 Coding the direct/indirect pathways by D1 and D2 receptors is not valid for
847 accumbens projections. *Nature Neuroscience*. 2015 Jul 27;18(9):1230–2.
- 848 53. Pardo-Garcia TR, Garcia-Keller C, Penaloza T, Richie CT, Pickel J, Hope BT, et
849 al. Ventral Pallidum Is the Primary Target for Accumbens D1 Projections Driving
850 Cocaine Seeking. *J Neurosci*. 2019 Mar 13;39(11):2041–51.
- 851 54. Beier KT, Steinberg EE, DeLoach KE, Xie S, Miyamichi K, Schwarz L, et al. Circuit
852 Architecture of VTA Dopamine Neurons Revealed by Systematic Input-Output
853 Mapping. *Cell*. 2015 Jul 30;162(3):622–34.
- 854 55. Johnson AW. Characterizing ingestive behavior through licking microstructure:
855 Underlying neurobiology and its use in the study of obesity in animal models. *Int*
856 *J Dev Neurosci*. 2018 Feb;64:38–47.
- 857 56. Lowe MR. Weight suppression is a risk factor for eating disorders: Implications for
858 etiology, maintenance, and treatment. *Am J Clin Nutr*. 2020 Oct 1;112(4):907–8.
- 859 57. Bonnavion P, Varin C, Fakhfour G, Groote AD, Cornil A, Isingrini E, et al.
860 Unexpected inhibition of motor function by dopamine activation of D1/D2 co-
861 expressing striatal neurons [Internet]. *bioRxiv*; 2022 [cited 2022 Apr 13]. p.
862 2022.04.05.487163. Available from:
863 <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2022.04.05.487163v1>
- 864 58. Manwaring JL, Green L, Myerson J, Strube MJ, Wilfley DE. Discounting of Various
865 types of rewards by women with and without binge eating Disorder: Evidence for
866 general rather than specific Differences. *Psychol Rec*. 2011;61(4):561–82.
- 867 59. Steinglass JE, Figner B, Berkowitz S, Simpson HB, Weber EU, Walsh BT.
868 Increased capacity to delay reward in anorexia nervosa. *J Int Neuropsychol Soc*.
869 2012 Jul;18(4):773–80.
- 870 60. Wierenga CE, Bischoff-Grethe A, Melrose AJ, Irvine Z, Torres L, Bailer UF, et al.
871 Hunger does not motivate reward in women remitted from anorexia nervosa. *Biol*
872 *Psychiatry*. 2015 Apr 1;77(7):642–52.
- 873 61. Schebendach J, Broft A, Foltin RW, Walsh BT. Can the reinforcing value of food
874 be measured in bulimia nervosa? *Appetite*. 2013 Mar;62:70–5.

- 875 62. Casper RC. The “drive for activity” and ‘restlessness’ in anorexia nervosa:
876 potential pathways. *J Affect Disord.* 2006 May;92(1):99–107.
- 877 63. Ekkekakis P, Vazou S, Bixby WR, Georgiadis E. The mysterious case of the public
878 health guideline that is (almost) entirely ignored: call for a research agenda on the
879 causes of the extreme avoidance of physical activity in obesity. *Obes Rev.* 2016
880 Apr;17(4):313–29.
- 881 64. Collier G, Hirsch E. Reinforcing properties of spontaneous activity in the rat.
882 *Journal of Comparative and Physiological Psychology.* 1971;77(1):155–60.
- 883 65. Iversen IH. Techniques for establishing schedules with wheel running as
884 reinforcement in rats. *J Exp Anal Behav.* 1993 Jul;60(1):219–38.
- 885 66. Hurel I, Redon B, Scocard A, Malezieux M, Marsicano G, Chaouloff F. Beyond
886 the Activity-Based Anorexia Model: Reinforcing Values of Exercise and Feeding
887 Examined in Stressed Adolescent Male and Female Mice. *Front Pharmacol.*
888 2019;10:587.
- 889 67. Sandoval-Rodríguez R, Parra-Reyes JA, Han W, Rueda-Orozco PE, Perez IO, de
890 Araujo IE, et al. D1 and D2 neurons in the nucleus accumbens enable positive
891 and negative control over sugar intake in mice. *Cell Reports.* 2023 Mar
892 28;42(3):112190.
- 893 68. Baldo BA, Kelley AE. Discrete neurochemical coding of distinguishable
894 motivational processes: insights from nucleus accumbens control of feeding.
895 *Psychopharmacology (Berl).* 2007 Apr;191(3):439–59.
- 896 69. Kelley AE, Baldo BA, Pratt WE, Will MJ. Corticostriatal-hypothalamic circuitry and
897 food motivation: integration of energy, action and reward. *Physiol Behav.* 2005
898 Dec 15;86(5):773–95.

899

900

901

902

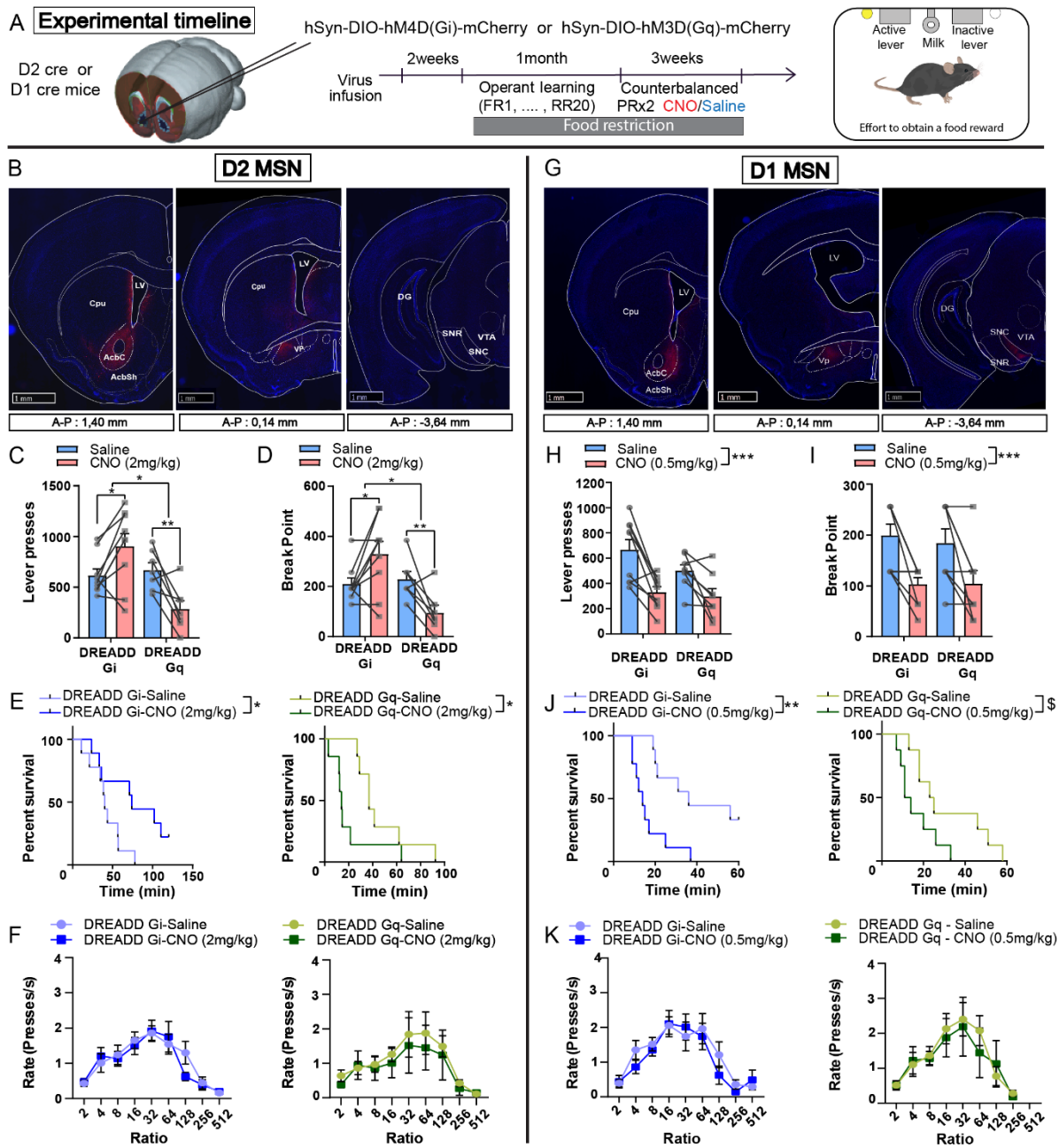
903

904

905

906

907

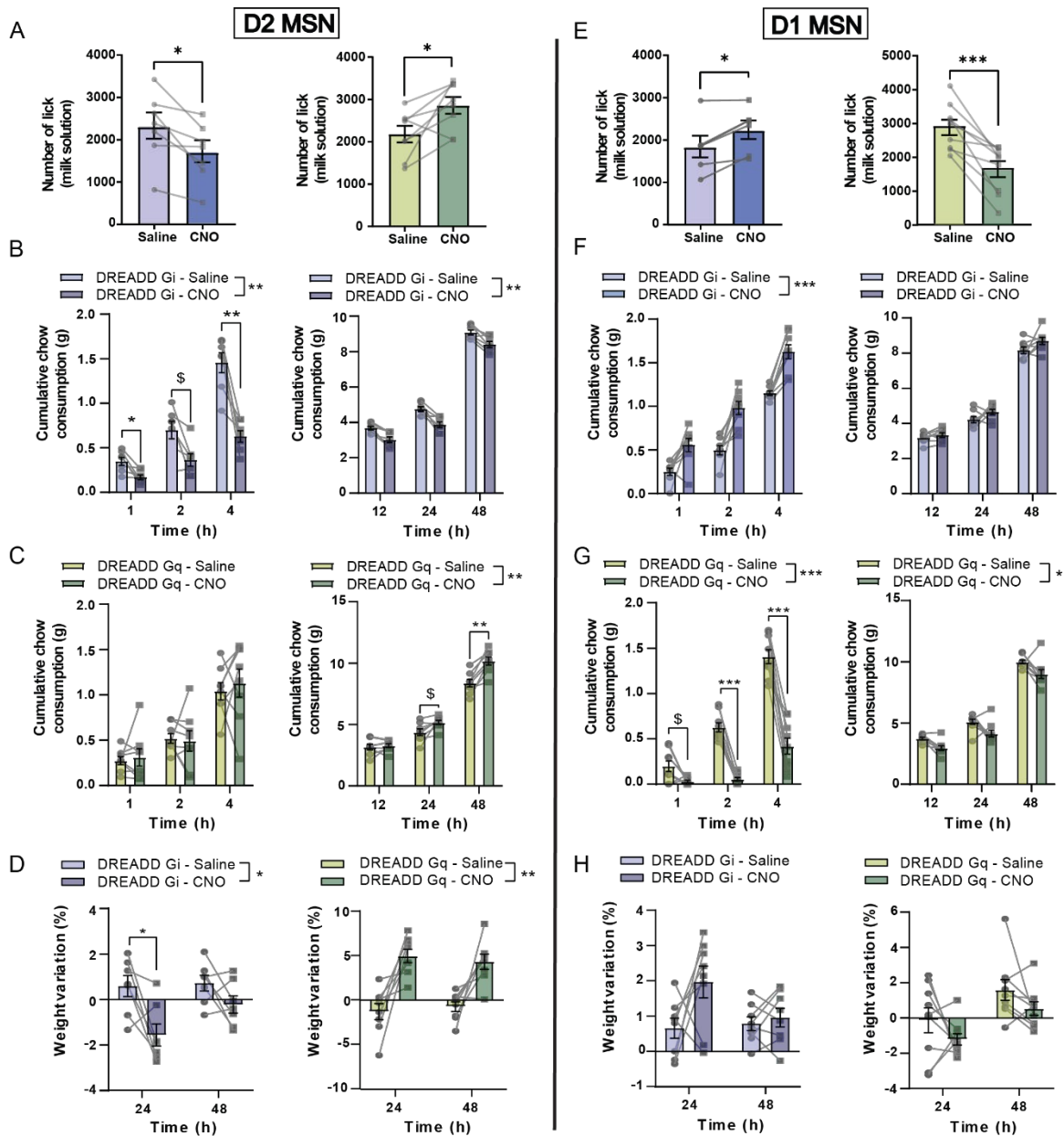


909

910 **Figure 1: Effect of chemogenetic manipulations of D2- and D1-MSNs of the NAc on the**
 911 **motivational dimension of feeding behavior.**

912 (A) Experimental timeline. (B) Representative coronal sections for mCherry expression after
 913 injection DREADD-mCherry-carrying viral vector in the NAc core of D2-cre mice (left),
 914 highlighting projections in the ventral pallidum (VP, middle) but not the midbrain (right). (C-F)
 915 Chemogenetic-mediated D2-MSNs activation (DREADD Gq) and inhibition (DREADD Gi)
 916 under administration of CNO at 2 mg/kg respectively decrease and (increase) the number of
 917 reinforced lever presses (C), breakpoint (D) and the percentage of mice that keep on

918 responding as a function of time (E) in the PR schedule. Changes in operant responding is not
919 related to alterations in ratio requirement plotted as the rate of lever presses as a function of
920 PR ratios (F). (G) Representative coronal sections for mCherry expression after injection
921 DREADD-mCherry-carrying viral vector in the NAc core of D1-cre mice (left), highlighting
922 projections in the ventral pallidum (VP, middle) and the midbrain (right). (H-K) Chemogenetic-
923 mediated D1-MSNs activation (DREADD Gq) and inhibition (DREADD Gi) with CNO at 0.5
924 mg/kg decrease the number of reinforced lever presses (H), breakpoint (I) and the percentage
925 of mice that keep on responding as a function of time (J) in the PR schedule. Ratio requirement
926 is spared (K). Data are averages of 2 PR sessions under CNO or saline administrations in a
927 within-subject, counterbalanced manner. AcbC: Accumbens core; AcbSh: Accumbens shell;
928 Cpu: Caudate Putamen; DG: Dentate Gyrus; LV: Lateral ventricle; SNC: *Substantia nigra pars*
929 *compacta*; SNR: *Substantia nigra pars reticulata*; Vp: Ventral Pallidum; VTA: Ventral tegmental
930 area. D2-cre: DREADD Gi n=9, DREADD Gq n=7; D1-cre: DREADD Gi n=9, DREADD Gq
931 n=8. * : p<0.05 ; ** : p<0.01 ; *** : p<0.001 ; Error bars = s.e.m. See Table 2 for statistical
932 analyses.

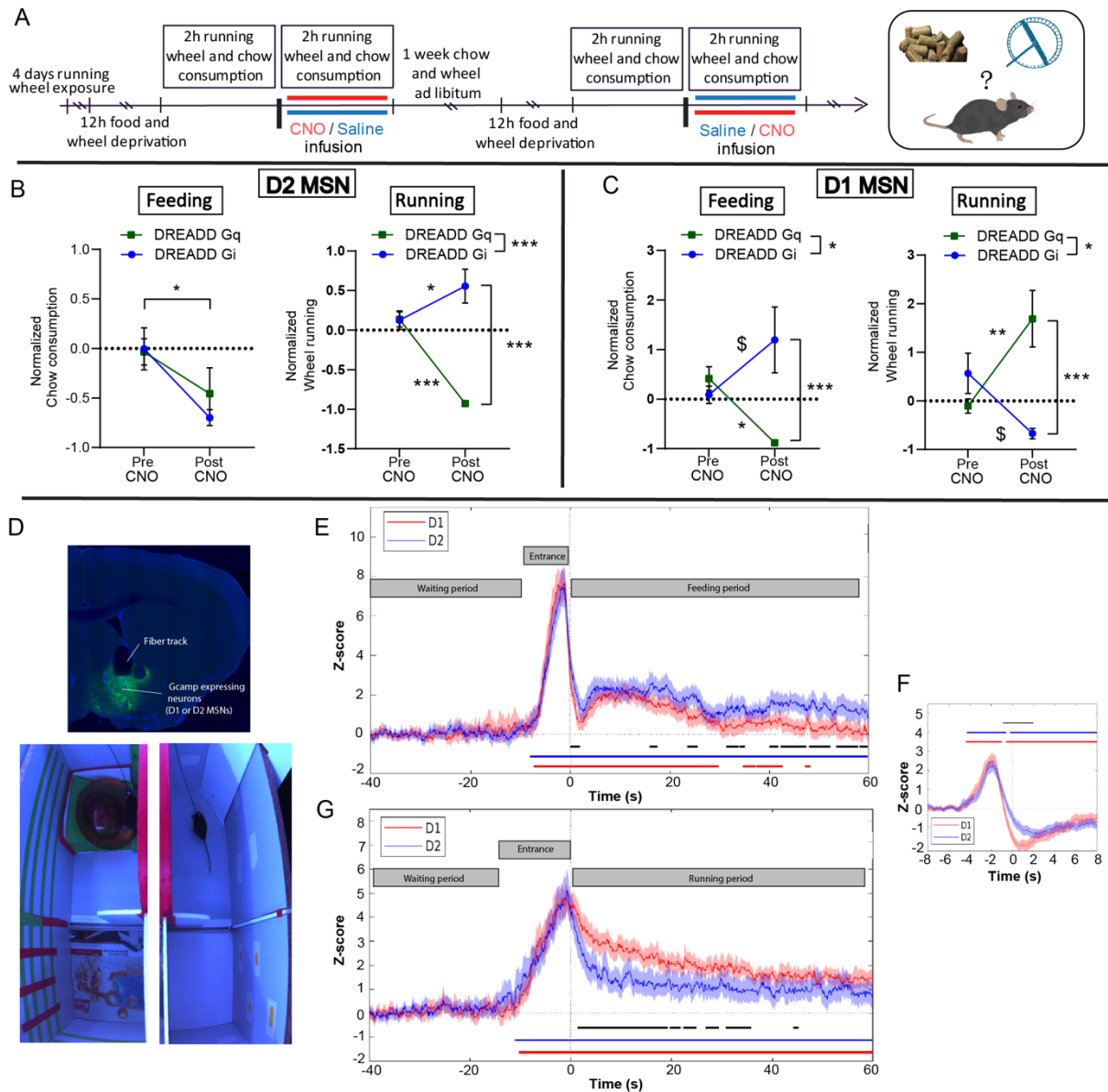


933

934 **Figure 2: Effect of chemogenetic manipulations of D2- and D1-MSNs of the NAc on *ad***
 935 ***libitum* food consumption.**

936 (A) Chemogenetic-mediated inhibition of D2-MSNs (DREADD Gi) decreases the amount of
 937 licks for a sweetened milk solution during a pavlovian conditioning task under food deprivation
 938 (left), while their activation (DREADD Gq) increases consumption (right). (B-D) Chemogenetic-
 939 mediated inhibition of D2-MSNs (DREADD Gi) decreases chow consumption as shown by
 940 cumulative food intake (B), while their activation (DREADD Gq) increases food consumption
 941 with a delayed effect (24-48h) (C). These effects on food intake lead to significant changes in
 942 body weight at 24-48h (D). (E) Chemogenetic-mediated inhibition of D1-MSNs (DREADD Gi)
 943 increases the amount of licks for a sweetened milk solution during a pavlovian conditioning
 944 task under food deprivation (left), while their activation (DREADD Gq) decreases consumption

945 (right). (F-H) Chemogenetic-mediated inhibition (F) and activation (G) of D1-MSNs increases
 946 and decreases food intake, respectively, with no significant change on weight variation at 24-
 947 48h (H). (CNO: 2mg/kg); D2-cre: DREADD Gi n=7, DREADD Gq n=8; D1-cre: DREADD Gi
 948 n=8, DREADD Gq n=9. * : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$; *** : $p < 0.001$; Error bars = s.e.m. See Table
 949 2 for statistical analyses.

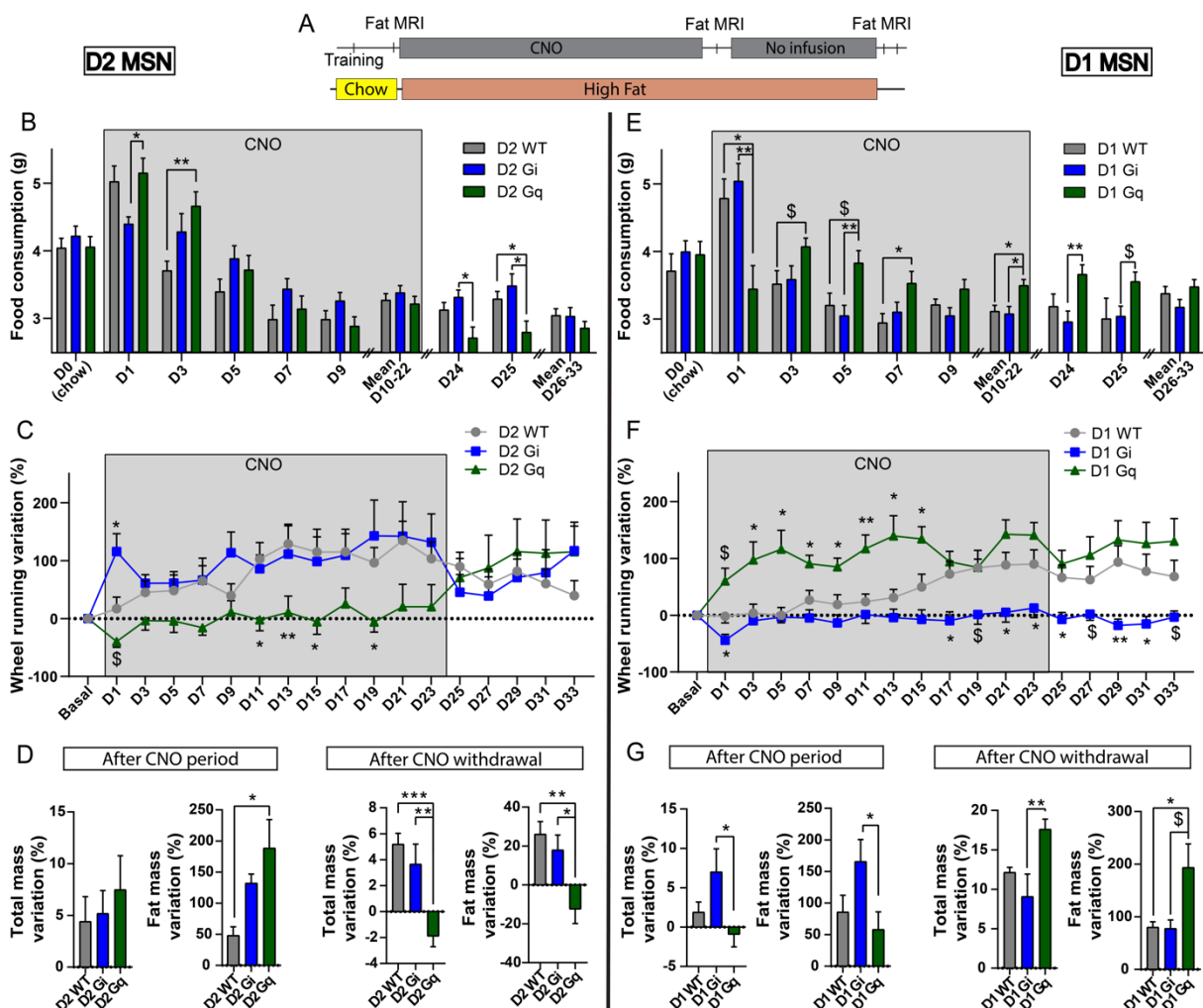


950

951 **Figure 3: Effect of chemogenetic manipulations of D2- and D1-MSNs of the NAc in a**
 952 **wheel-running/free-feeding choice procedure.**

953 (A) Experimental timeline. (B-C) Normalized chow consumption and wheel running comparing
 954 1-hour pre-CNO and 1-hour post-CNO injection. Both D2-MSNs activation and inhibition lead
 955 to decreased food intake (B, left). D2-MSNs activation strongly decreases, while their inhibition
 956 diminishes, wheel running (B, right). D1-MSNs inhibition increases food intake and decreases

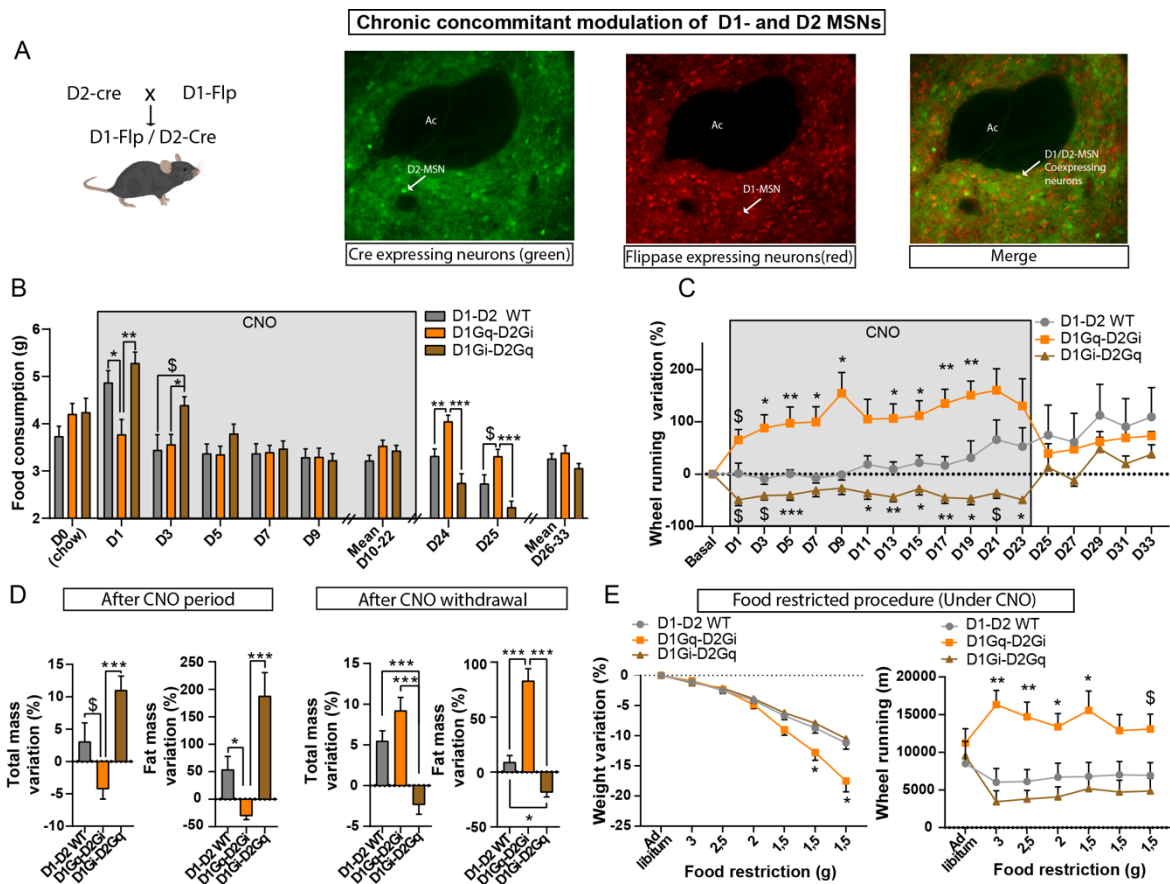
957 wheel-running, while their activation decreases and increases food intake and wheel-running
 958 respectively (C). (CNO : 2mg/kg). D2-cre: DREADD Gi n=7, DREADD Gq n=7 ; D1-cre:
 959 DREADD Gi n=8, DREADD Gq n=8. * : p<0.05 ; ** : p<0.01 ; *** : p<0.001 ; Error bars = s.e.m.
 960 See Table 2 for statistical analyses. (D) Representative coronal sections for GCaMP
 961 expression in D1- or D2-MSNs and track of the fiber optic in the NAc. (E) Normalized calcium
 962 activity of D1 and D2-MSNs during feeding trials (Z score ; 12 trials / animal). (F) Peri-event
 963 analysis of pellet consumption (Z score ; 72 events / animal). (G) Normalized calcium activity
 964 of D1 and D2-MSNs during wheel-running trials (Z score ; 12 trials / animal). D2-cre: n=5 ; D1-
 965 cre: n=5; Blue and red bars represent statistical difference to baseline, black bar significant
 966 difference between the relative activity of both MSN subpopulations.



967
 968 **Figure 4: Effect of chronic chemogenetic manipulations of D2-MSNs and D1-MSNs of**
 969 **the NAc in a wheel-running/high-fat free-feeding choice procedure.**

970 (A) Experimental design. (B-D) High-fat consumption over time (B), variation in wheel running
 971 (C) and variation in total and fat mass (D) were measured under chronic D2-MSNs inhibition
 972 (D2 Gi) and activation (D2Gq) compared to WT controls, as well as after CNO cessation. (E-

973 G) The same design was followed for chronic D1-MSNs manipulations. (CNO: 2mg/kg); D2-
 974 WT n=9; D2-Gi n=8; D2-Gq n=9; D1-WT n=12; D1-Gi n=11; D1-Gq n=12. \$: 0.05<p<0.1; *:
 975 p<0.05; **: p<0.01; Error bars = s.e.m. See Table 2 for statistical analyses.



976

977 **Figure 5: Effect of chronic and simultaneous chemogenetic manipulations of D2-MSNs**
 978 **and D1-MSNs of the NAc in a wheel-running/high-fat free-feeding choice procedure.**

979 (A) Representative pattern of expression of cre-dependent GFP and flp-dependent mCherry
 980 in double transgenic D1-FlpxD2-cre mice showing a virtually complete exclusion of
 981 expressions. (B-D) High-fat consumption over time (B), variation in wheel running (C) and
 982 variation in total and fat mass (D) were measured under chronic manipulations of both MSN
 983 populations (D1Gq-D2Gi: concomitant activation of D1-MSNs and inhibition of D2-MSNs;
 984 D1Gi-D2Gq: concomitant inhibition of D1-MSNs and activation of D2-MSNs) compared to WT
 985 controls, as well as after CNO cessation. (E) Weight variation (left) and wheel running (right)
 986 were recorded during a gradual food (high fat) restriction procedure under chronic CNO. (CNO:
 987 2mg/kg); D1-D2 WT n=11 ; D1Gi-D2Gq n=11, D1Gq-D2Gi n=8. \$: 0.05<p<0.1 * : p<0.05 ; **
 988 : p<0.01; *** : p<0.001 Error bars = s.e.m. See Table 2 for statistical analyses.

989

990

991

992 **TABLES**993 **Table 1: Key resources**

REAGENT or RESOURCE	SOURCE	IDENTIFIER
Antibodies		
Primary antibody anti-DS red (rabbit)	Takara Bio	632496
Primary antibody anti-GFP (mouse)	Clontech	632280
Primary antibody anti-Choline acetyl transferase (goat)	Merck Millipore	AB144P
Secondary antibody anti-rabbit alexa 568 (donkey)	ThermoFisher	A-10042
Secondary antibody anti-rabbit alexa 488 (donkey)	ThermoFisher	A-21206
Secondary antibody anti-goat alexa 568 (donkey)	ThermoFisher	A-11057
Secondary antibody anti-goat alexa 488 (donkey)	ThermoFisher	A-11055
Bacterial and Virus Strains		
AAV8-hSyn1-DIO-EGFP ?	University of Zurich	v115
AAV8-hSyn1-dFRT-mCherry	University of Zurich	v188
AAV8-hSyn-DIO-hM4D(Gi)-mCherry	Addgene	44362-AAV8
AAV8-hSyn-DIO-hM4D(Gi)-mCherry	University of Zurich	V84
AAV8-hSyn-DIO-hM3D(Gq)-mCherry	Addgene	44361-AAV8
AAV8-hSyn-DIO-hM3D(Gq)-mCherry	University of Zurich	V89
AAV8-hSyn1-dFRT-hM4D(Gi)-mCherry(rev)-dFRT-WPRE-hGHp(A)	University of Zurich	V189
AAV8-hSyn1-dFRT-hM3D(Gq)-mCherry(rev)-dFRT-WPRE-hGHp(A)	University of Zurich	V190
AAV8-hSyn1-dlox-jGCaMP8m(rev)-dlox-WPRE-SV40p(A)	University of Zurich	V628
Chemicals, Peptides, and Recombinant Proteins		
Clozapine-N-Oxide (CNO)	ENZO	BML-NS105
Recombinant Mouse Leptin Protein, CF	Bio-Techne	498-OB-05M
Ghrelin	Bachem	H-4862.1000
Critical Commercial Assays		
ACCU-CHEK Performa	Roche	N/A
Fiber Optic Cannulae 0,5 NA, 400µm flat tip, L:6mm	RWD	N/A
Experimental Models: Organisms/Strains		
Mouse: C57BL/6J	Janvier Labs	N/A
Mouse: Tg(Drd1-cre)FK150Gsat/Mmucd	GENSAT	RRID: MMRRC_029178-UCD
Mouse: Tg(Drd2-cre)ER44Gsat/Mmucd	GENSAT	RRID: MMRRC_017263-UCD
Mouse D1Flp (D1 expressing flippase and YFP)	Produced by the Laboratory of B. Giros	N/A

994

995

996

997

998

999

1000 **Table 2:** Summary of statistical analyses

Data	Statistical test	n	Outcome measure	P value
Figure 1				
Figure 1C	Two-way RM ANOVA	D2 cre mice: Dreadd Gi = 9 Dreadd Gq= 7	Lever presses	Virus effect F(1, 14)=6.604 P=0.0222 CNO effect F(1, 14)=0.3902 P=0.5423 Interaction F(1, 14)=19.29 P=0.0006 Bonferroni's multiple comparisons test: DREADD Gi : Sal vs CNO p=0.0258 DREADD Gq : Sal vs CNO p=0.0096
Figure 1D	Two-way RM ANOVA	D2 cre mice: Dreadd Gi = 9 Dreadd Gq= 7	Break point	Virus effect F(1, 14)=6.773 P=0.0209 CNO effect F(1, 14)=0.04977 P=0.8267 Interaction F(1, 14)=14.92 P=0.0017 Bonferroni's multiple comparisons test: DREADD Gi : Sal vs CNO p=0.0310 DREADD Gq : Sal vs CNO p=0.0327
Figure 1E	Log-rank (Mantel-Cox) test	D2 cre mice: Dreadd Gi = 9	Survival Curve	$\chi^2=4.511$; P Value=0.0337
Figure 1E	Gehan-Breslow-Wilcoxon test	D2 cre mice: Dreadd Gq= 7	Survival Curve	$\chi^2=6.338$; P Value=0.0118
Figure 1F	Mixed-effects model (Geisser-Greenhouse's epsilon correction)	D2 cre mice: Dreadd Gi = 9	Rate (presses/s)	Ratio effect F(3.138, 25.10)=20.67 P<0.0001 (ϵ correction : 0.3922) CNO effect F(1.000, 8.000)=0.1515 P=0.7073 (ϵ correction : 1.000) Interaction F(3.379, 27.03)=1.024 P=0.4040 (ϵ correction : 0.4224)
Figure 1F	Mixed-effects model (Geisser-Greenhouse's epsilon correction)	D2 cre mice: Dreadd Gq= 7	Rate (presses/s)	Ratio effect F(1.245, 7.469)=4.953 P=0.0539 (ϵ correction : 0.1556) CNO effect F(1.000, 6.000)=2.183 P=0.1900 (ϵ correction : 1.000) Interaction F(2.468, 12.34)=0.7316 P=0.5278 (ϵ correction : 0.3085)
Figure 1H	Two-way RM ANOVA	D1 cre mice: Dreadd Gi = 9 Dreadd Gq=8	Lever presses	Virus effect F(1, 15)=1.992 P=0.1785 CNO effect F(1, 15)=28.22 P<0.0001 Interaction F(1, 15)=1.658 P=0.2174
Figure 1I	Two-way RM ANOVA	D1 cre mice: Dreadd Gi = 9 Dreadd Gq=8	Break point	Virus effect F(1, 15)=0.06963 P=0.7955 CNO effect F(1, 15)=25.29 P=0.0001 Interaction F(1, 15)=0.2090 P=0.6541
Figure 1J	Log-rank (Mantel-Cox) test	D1 cre mice: Dreadd Gi = 9	Survival Curve	$\chi^2=8.910$; P Value=0.0028
Figure 1J	Log-rank (Mantel-Cox) test	D1 cre mice: Dreadd Gq= 8	Survival Curve	$\chi^2=3.652$; P Value=0.0560

Figure 1K	Mixed-effects model (Geisser-Greenhouse's epsilon correction)	D1 cre mice: Dreadd Gi = 9	Rate (presses/s)	Ratio effect F(2.171, 17.37)=17.20 P<0.0001 (ε correction : 0.2713) CNO effect F(1, 8)=1.422 P=0.2673 (ε correction : 1.000) Interaction F(2.167, 14.90)=1.135 P=0.3517 (ε correction : 0.2709)
Figure 1K	Mixed-effects model (Geisser-Greenhouse's epsilon correction)	D1 cre mice: Dreadd Gq=8	Rate (presses/s)	Ratio effect F(1.361, 9.525)=9.687 P<0.0001 (ε correction : 0.1944) CNO effect F(1, 7)=0.3425 P=0.5768 (ε correction : 1.000) Interaction F(2.055, 13.80)=1.131 P=0.3605 (ε correction : 0.2936)
Figure 2				
Figure 2A	Paired T-test	D2 cre mice Dreadd Gi = 7	Number of lick	t=3,232, df=6, p=0.0179
Figure 2A	Paired T-test	D2 cre mice Dreadd Gq = 8	Number of lick	t=2,761, df=7, p=0,0281
Figure 2B	Mixed-effects model (Geisser-Greenhouse's epsilon correction)	D2 cre mice Dreadd Gi = 7	Cumulative Chow consumption (1h - 4h)	Time effect F(1.537, 9.224)=135.9 P<0.0001 (ε correction : 0.7687) CNO effect F(1.000, 6.000)=23.20 P=0.0029 (ε correction : 1.000) Interaction F(1.826, 10.96)= 23.79 P=0.0001 (ε correction : 0.9130) Bonferroni's multiple comparisons test: DREADD Gi Sal vs CNO: 1h p=0.0488; 2h p<0.0527; 4h p=0.0042
Figure 2B	Mixed-effects model (Geisser-Greenhouse's epsilon correction)	D2 cre mice Dreadd Gi = 7	Cumulative Chow consumption (12h - 48h)	Time effect F(1.973, 12.84)=3332 P<0.0001 (ε correction : 0.9863) CNO effect F(1.000, 6.000)=25.13 P=0.0024 (ε correction : 1.000) Interaction F(1.158, 6.9472)=1.009 P=0.3630 (ε correction : 0.3630)
Figure 2C	Mixed-effects model (Geisser-Greenhouse's epsilon correction)	D2 cre mice Dreadd Gq = 8	Cumulative Chow consumption (1h - 4h)	Time effect F(1.083, 7.584)=154.1 P<0.0001 (ε correction : 0.5417) CNO effect F(1.000, 7.000)=0.09415 P=0.7679 (ε correction : 1.000) Interaction F(1.100, 7.898)=0.4557 P=0.5376 (ε correction : 0.5499)
Figure 2C	Mixed-effects model (Geisser-Greenhouse's epsilon correction)	D2 cre mice Dreadd Gq = 8	Cumulative Chow consumption (12h - 48h)	Time effect F(1.352, 9.461)=1206 P<0.0001 (ε correction : 0.6758) CNO effect F(1.000, 7.000)=15.05 P=0.0061 (ε correction : 1.000) Interaction F(1.180, 8.260)=25.34 P=0.0007 (ε correction : 0.5900) Bonferroni's multiple comparisons test: DREADD Gq Sal vs CNO: 12h p>0.9999; 24h p<0.0011; 48h p<0.0001

Figure 2D	Mixed-effects model (Geisser-Greenhouse's epsilon correction)	D2 cre mice Dreadd Gi = 7	Weight variation	Time effect $F(1.000, 6.000)=19.95$ $P=0.0043$ (ϵ correction : 1.000) CNO effect $F(1.000, 6.000)=7.204$ $P=0.0363$ (ϵ correction : 1.000) Interaction $F(1.000, 6.000)=13.50$ $P=0.0104$ (ϵ correction : 1.000) Šídák's multiple comparisons test : DREADD Gq Sal vs CNO: 24h $p=0.0500$; 48h $p=0.2485$
Figure 2D	Mixed-effects model (Geisser-Greenhouse's epsilon correction)	D2 cre mice Dreadd Gq = 8	Weight variation	Time effect $F(1.000, 7.000)=0.008117$ $P=0.9307$ (ϵ correction : 1.000) CNO effect $F(1.000, 7.000)=26.40$ $P=0.0013$ (ϵ correction : 1.000) Interaction $F(1.000, 7.000) = 1.854$ $P=0.2155$ (ϵ correction : 1.000)
Figure 2E	Paired T-test	D1 cre mice Dreadd Gi = 6	Number of lick	$t=3,798$, $df=5$, $p=0.0127$
Figure 2E	Paired T-test	D1 cre mice Dreadd Gq = 9	Number of lick	$t=5,236$, $df=8$, $p=0,0008$
Figure 2F	Mixed-effects model (Geisser-Greenhouse's epsilon correction)	D1 cre mice Dreadd Gi = 8 1 D1Gi were excluded with Grubbs' method (Alpha = 0.01)	Cumulative Chow consumption (1h - 4h)	Time effect $F(1.271, 8.896)=242.4$ $P<0.0001$ (ϵ correction : 0.6355) CNO effect $F(1.000, 7.000)=35.33$ $P=0.0005$ (ϵ correction : 1.000) Interaction $F(1.555, 10.88)=3.055$ $P=0.0975$ (ϵ correction : 0.7773)
Figure 2F	Mixed-effects model (Geisser-Greenhouse's epsilon correction)	D1 cre mice Dreadd Gi = 8 1 D1Gi were excluded with Grubbs' method (Alpha = 0.01)	Cumulative Chow consumption (12h - 48h)	Time effect $F(1.263, 8.839)=1072$ $P<0.0001$ (ϵ correction : 0.6314) CNO effect $F(1.000, 7.000)=3.908$ $P=0.0886$ (ϵ correction : 1.000) Interaction $F(1.839, 12.87)=1.434$ $P=0.2723$ (ϵ correction : 0.9194)
Figure 2G	Mixed-effects model (Geisser-Greenhouse's epsilon correction)	D1 cre mice Dreadd Gq = 9	Cumulative Chow consumption (1h - 4h)	Time effect $F(1.150, 9.198)=156.9$ $P<0.0001$ (ϵ correction : 0.5749) CNO effect $F(1.000, 8.000)=108.8$ $P<0.0001$ (ϵ correction : 1.000) Interaction $F(1.136, 9.086)=40.59$ $P<0.0001$ (ϵ correction : 0.5679) Bonferroni's multiple comparisons test: DREADD Gq Sal vs CNO: 1h $p=0.0840$; 2h $p<0.0001$; 4h $p<0.0001$
Figure 2G	Mixed-effects model (Geisser-Greenhouse's epsilon correction)	D1 cre mice Dreadd Gq = 9 1 outlier value removed with Grubbs' method (Alpha = 0.01)	Cumulative Chow consumption (12h - 48h)	Time effect $F(1.948, 18.58)=1293$ $P<0.0001$ (ϵ correction : 0.9738) CNO effect $F(1.000, 8.000)=14.62$ $P=0.0051$ (ϵ correction : 1.000) Interaction $F(1.342, 9.392)=0.2907$ $P=0.3203$ (ϵ correction : 0.6708)
Figure 2H	Mixed-effects model (Geisser-Greenhouse's epsilon correction)	D1 cre mice Dreadd Gi = 8	Weight variation	Time effect $F(1.000, 7.000)=3.292$ $P=0.1125$ (ϵ correction : 1.000) CNO effect $F(1.000, 7.000)=3.695$ $P=0.0960$ (ϵ correction : 1.000)

		1 D1Gi were excluded with Grubbs' method (Alpha = 0.01)		Interaction F(1.000, 7.000)=5.499 P=0.0515 (ε correction : 1.000)
Figure 2H	Mixed-effects model (Geisser-Greenhouse's epsilon correction)	D1 cre mice Dreadd Gq = 9	Weight variation	Time effect F(1.000, 8.000)= 26.45 P=0.0009 (ε correction : 1.000) CNO effect F(1.000, 8.000)=2.831 P=0.1310 (ε correction : 1.000) Interaction F(1.000, 8.000)=0.001205 P=0.9732 (ε correction : 1.000)
Figure 3				
Figure 3B	Two-way RM ANOVA	D2Gi = 7 D2Gq = 7 1 D2Gq was excluded with Grubbs' method (Alpha = 0.01)	Chow consumption (ratio CNO/SAL)	Infusion effect F(1, 12)=8.570 P=0.0127 Virus effect F(1, 12)=0.3412 P=0.5700 Interaction F(1, 12)=0.5111 P=0.4823
Figure 3B	Two-way RM ANOVA	D2Gi = 7 D2Gq = 7 1 D2Gq was excluded with Grubbs' method (Alpha = 0.01)	Wheel running activity (ratio CNO/SAL)	Infusion effect F(1, 12)=8.410 P=0.0113 Virus effect F(1, 12)=23.88 P=0.0004 Interaction F(1, 12)=46.90 P<0.0001 Bonferroni's multiple comparisons test: D2Gi vs D2Gq: Pre infusion p>0.9999 ; Post infusion p<0.0001 Pre infusion vs Post infusion : D2Gi p=0.0326 D2Gq p<0.0001
Figure 3C	Two-way RM ANOVA	D1Gi = 8 D1Gq = 8 1 D1Gi and 1 D2Gq were excluded with Grubbs' method (Alpha = 0.01)	Chow consumption (ratio CNO/SAL)	Infusion effect F(1, 14)=0.06936 P=0.7961 Virus effect F(1, 14)=5.686 P=0.0318 Interaction F(1, 14)=10.97 P=0.0058 Bonferroni's multiple comparisons test: D1Gi vs D1Gq: Pre infusion p>0.9999 ; Post infusion p=0.0008 Pre infusion vs Post infusion : D1Gi p=0.0980 D1Gq p=0.0483
Figure 3C	Two-way RM ANOVA	D1Gi = 8 D1Gq = 8 1 D1Gi and 1 D2Gq were excluded with Grubbs' method (Alpha = 0.01)	Wheel running activity (ratio CNO/SAL)	Infusion effect F(1, 14)=0.6277 P=0.4414 Virus effect F(1, 14)=4.852 P=0.0449 Interaction F(1, 14)=18.60 P=0.0007 Bonferroni's multiple comparisons test: D1Gi vs D1Gq: Pre infusion p=0.4164 ; Post infusion p=0.0002 Pre infusion vs Post infusion : D1Gi p=0.0520 D1Gq p=0.0057
Figure 3E			Calcium activity during feeding trials (Zscore ; D1 vs D2)	
Figure 3G			Calcium activity during wheel running trials (Zscore D1 vs D2)	

Figure 3F			Peri-event analysis of pellet consumption (Zscore D1 vs D2)	
Figure 4				
Figure 4B	Mixed-effects model (Geisser-Greenhouse's epsilon correction)	D2 WT = 9 D2 GI = 8 D2 Gq = 9	High fat consumption D1-9 ; D24-25	Time effect $F(3.466, 79.71)=70.40$ $P<0.0001$ (ϵ correction : 0.3851) Virus effect $F(2, 23)=0.6509$ $P=0.5309$ Interaction $F(18.207)=4.489$ $P<0.0001$ Bonferroni's multiple comparisons test: D2Gq vs D2WT: Day3 $p=0.0091$; Day25 $p=0.0330$ D2Gq vs D2Gi: Day1 $p=0.0256$; Day24 $p=0.0197$; Day25 $p=0.0312$
Figure 4B	One way ANOVA	D2 WT = 9 D2 GI = 8 D2 Gq = 9	High fat consumption mean D10-D22	$F(2, 23)=0.6708$ $P=0.5210$
Figure 4B	One way ANOVA	D2 WT = 9 D2 GI = 8 D2 Gq = 9	High fat consumption mean D26-D33	$F(2, 23)=1.567$ $P=0.2302$
Figure 4C	Mixed-effects model (Geisser-Greenhouse's epsilon correction)	D2 WT = 7 D2 GI = 7 D2 Gq = 8 (2 WT, 1 D1-Gi and 1 D1-Gq animals were exposed to a running wheel without recording) 5 outlier values removed with Grubbs' method (Alpha = 0.01)	Running wheel variation D1-9 ; D24-25	Time effect $F(3.868, 72.36)=4.052$ $P=0.0055$ (ϵ correction : 0.2276) Virus effect $F(2, 19)=1.659$ $P=0.2167$ Interaction $F(34, 318)=3.536$ $P<0.0001$ Bonferroni's multiple comparisons test: D2Gi vs D2WT: Day1 $p=0.0272$ D2Gq vs D2WT: Day11 $p=0.0305$; Day13 $p=0.0038$; Day15 $p=0.0208$; Day19 $p=0.0328$; Day21 $p=0.0145$; Day23 $p=0.0228$
Figure 4D	One way ANOVA	D2 WT = 9 D2 GI = 8 D2 Gq = 9	Weight variation following CNO period	$F(2, 23)=0.3597$ $P=0.7017$
Figure 4D	One way ANOVA	D2 WT = 9 D2 GI = 8 D2 Gq = 9 1 outlier value removed with Grubbs' method (Alpha = 0.01)	Fat mass variation following CNO period	$F(2, 22)=5.397$ $P=0.0124$ Bonferroni's multiple comparisons test: D2WT vs D2Gq $p=0.0104$
Figure 4D	One way ANOVA	D2 WT = 9 D2 GI = 8 D2 Gq = 9	Weight variation following CNO withdrawal	$F(2, 23)=12.67$ $P=0.0002$ Bonferroni's multiple comparisons test: D2WT vs D2Gq $p=0.0002$ D2Gi vs D2Gq $p=0.0040$
Figure 4D	One way ANOVA	D2 WT = 9 D2 GI = 8 D2 Gq = 9	Fat mass variation following CNO withdrawal	$F(2, 23)=8.537$ $P=0.0017$ Bonferroni's multiple comparisons test: D2WT vs D2Gq $p=0.0020$ D2Gi vs D2Gq $p=0.0184$
Figure 4E	Mixed-effects model (Geisser-Greenhouse's epsilon correction)	D1 WT = 12 D1 GI = 11 D1 Gq = 12 2 outlier values removed	High fat consumption D1-9 ; D24-25	Time effect $F(3.418, 108.4)=34.19$ $P<0.0001$ (ϵ correction : 0.4883) Virus effect $F(2, 32)=1.470$ $P=0.2451$ Interaction $F(14.222)=6.702$ $P<0.0001$

		with Grubbs' method (Alpha = 0.01)		Bonferroni's multiple comparisons test: D1Gq vs D1WT: Day1 p=0.0183; Day3 p=0.0771; Day5 p=0.0612; Day7 p=0.0411 D1Gq vs D1Gi: Day1 p=0.0022; Day5 p=0.0096; Day24 p=0.0082; Day25 p=0.0558
Figure 4E	One way ANOVA	D1 WT = 12 D1 GI = 11 D1 Gq = 12	High fat consumption mean D10-D22	F(2, 32)=6.579 P=0.0040 Bonferroni's multiple comparisons test: D1Gq vs D1WT: p=0.0152 D1Gq vs D1Gi: p=0.0084
Figure 4E	One way ANOVA	D1 WT = 12 D1 GI = 11 D1 Gq = 12	High fat consumption mean D26-D33	F(2, 32)=2.153 P=0.1327
Figure 4F	Mixed-effects model (Geisser-Greenhouse's epsilon correction)	D1 WT = 9 D1 GI = 11 D1 Gq = 11 (3 WT and 1 D1-Gq animals were exposed to a running wheel without recording) 1 outlier value removed with Grubbs' method (Alpha = 0.01)	Running wheel variation D1-9 ; D24-25	Time effect F(4.651, 128.9)=10.12 P<0.0001 (ε correction : 0.2736) Virus effect F(2, 28)=11.07 P=0.0003 Interaction F(34.471)=3.334 P<0.0001 Bonferroni's multiple comparisons test: D1Gq vs D1WT: Day1 p=0.0531; Day3 p=0.0223; Day5 p=0.0129; Day7 p=0.0218; Day9 p=0.0213; Day11 p=0.0086; Day13 p=0.0290; Day15 p=0.0285 D1Gi vs D1WT: Day1 p=0.0299; Day17 p=0.0187 ; Day19 p=0.0703; Day21 p=0.0174; Day25 p=0.0223; Day27 p=0.0770; Day29 p=0.0090; Day31 p=0.0325; Day33 p=0.0808
Figure 4G	One way ANOVA	D1 WT = 12 D1 GI = 11 D1 Gq = 12	Weight variation following CNO period	F(2, 32)=4.039 P=0.0273 Bonferroni's multiple comparisons test: D1Gi vs D1Gq p=0.0220
Figure 4G	One way ANOVA	D1 WT = 12 D1 GI = 11 D1 Gq = 12	Fat mass variation following CNO period	F(2, 32)=3.492 P=0.0425 Bonferroni's multiple comparisons test: D1Gi vs D1Gq p=0.0463
Figure 4G	One way ANOVA	D1 WT = 12 D1 GI = 11 D1 Gq = 11 1 outlier value removed with Grubbs' method (Alpha = 0.01)	Weight variation following CNO withdrawal	F(2, 31)=5.789 P=0.0073 Bonferroni's multiple comparisons test: D1Gi vs D1Gq p=0.0063
Figure 4G	Kruskal-Wallis test	D1 WT = 12 D1 GI = 10 D1 Gq = 11 2 outlier values removed with Grubbs' method (Alpha = 0.01)	Fat mass variation following CNO withdrawal	Kruskal-Wallis statistic: 9.225 ; P=0.0099 Dunn's multiple comparisons test D1WT vs D1Gq p=0.0139 D1Gi vs D1Gq p=0.0544
Figure 5				
Figure 5B	Mixed-effects model (Geisser-Greenhouse's epsilon correction)	D1-D2 WT = 11 D1Gq-D2Gi = 8 D1Gi-D2Gq = 11	High fat consumption D1-9 ; D24-25	Time effect F(4.272, 115.3)=32.84 P<0.0001 (ε correction : 0.6103) Virus effect F(2, 27)=0.3648 P=0.6977 Interaction F(14.189)=7.911, P<0.0001 Bonferroni's multiple comparisons test:

				WT vs D1GqD2Gi: Day1 p=0.0498; Day24 p=0.0056; Day25 p=0.0769 WT vs D1GiD2Gq: Day3 p=0.0648; Day24 p=0.0967 D1GiD2Gq vs D1GqD2Gi: Day1 p=0.0057; Day3 p=0.0277; Day24 p=0.0004; Day25 p=0.0001
Figure 5B	One way ANOVA	D1-D2 WT = 11 D1Gq-D2Gi = 8 D1Gi-D2Gq = 11	High fat consumption mean D10-22	F(2, 27)=1.880 P=0.1720
Figure 5B	One way ANOVA	D1-D2 WT = 11 D1Gq-D2Gi = 8 D1Gi-D2Gq = 11	High fat consumption mean D26-33	F(2, 27)=1.425 P=0.2580
Figure 5C	Mixed-effects model (Geisser-Greenhouse's epsilon correction)	D1-D2 WT = 9 D1Gq-D2Gi = 8 D1Gi-D2Gq = 9 (2 WT and 2 D1Gq-D2Gi animals were exposed to a running wheel without recording) 6 outlier values removed with Grubbs' method (Alpha = 0.01)	Running wheel variation	Time effect F(2.425, 53.64)=2.841 P=0.0573 (ε correction : 0.1427) Virus effect F(2, 23)=8.839 P=0.0014 Interaction F(34.376)=3.486 P<0.0001 Bonferroni's multiple comparisons test: WT vs D1Gq-D2Gi: Day1 p=0.0791; Day3 p=0.0122; Day5 p=0.0013; Day7 p=0.0148; Day9 p=0.0105; Day13 p=0.0106; Day15 p=0.0164; Day17 p=0.0059; Day19 p=0.0010 D1Gi-D2Gq vs WT: Day1 p=0.0966; Day3 p=0.0600; Day5 p=0.0005; Day11 p=0.0336; Day13 p=0.0039; Day15 p=0.0331; Day17 p=0.0047; Day19 p=0.0282; Day21 p=0.0568; Day23 p=0.0443
Figure 5D	One way ANOVA	D1-D2 WT = 11 D1Gq-D2Gi = 8 D1Gi-D2Gq = 11	Weight variation (D1-D23)	F(2, 27)=9.421 P=0.0008 Bonferroni's multiple comparisons test: WT vs D1Gi-D2Gq: p=0.0638 D1Gq-D2Gi vs D1Gi-D2Gq p=0.0006
Figure 5D	Kruskal-Wallis test	D1-D2 WT = 11 D1Gq-D2Gi = 7 D1Gi-D2Gq = 11 1 outliers value removed with Grubbs' method (Alpha = 0.01)	Fat mass variation (D1-D23)	Kruskal-Wallis statistic: 16.74 P=0.0002 Dunn's multiple comparisons test WT vs D1Gq-D2Gi p=0.0408 D1Gq-D2G vs D1Gi-D2Gq p<0.0001
Figure 5D	One way ANOVA	D1-D2 WT = 11 D1Gq-D2Gi = 8 D1Gi-D2Gq = 11	Weight variation (D23-D36)	F(2, 27)=19.79 P<0.0001 Bonferroni's multiple comparisons test: WT vs D1Gi-D2Gq p=0.0004 D1Gq-D2Gi vs D1Gi-D2Gq p<0.0001
Figure 5D	One way ANOVA	D1-D2 WT = 11 D1Gq-D2Gi = 8 D1Gi-D2Gq = 11	Fat mass variation (D23-D36)	F(2, 27)=52.97 P<0.0001 Bonferroni's multiple comparisons test: WT vs D1Gi-D2Gq p=0.0171 WT vs D1Gq-D2Gi p<0.0001 D1Gq-D2Gi vs, D1Gi-D2Gq p<0.0001
Figure 5E	Mixed-effects model (Geisser-Greenhouse's epsilon correction)	D1-D2 WT = 11 D1Gq-D2Gi = 8 D1Gi-D2Gq = 11	Weight variation (Food restricted procedure)	Time effect F(1.421, 38.36)=348.2 P<0.0001 (ε correction : 0.2368) Virus effect F(2, 27)=4.600 P=0.0191 Interaction F(12, 162)=10.63 P<0.0001 Bonferroni's multiple comparisons test:

				WT vs, D1Gq-D2Gi : 1.5g(Day5) p=0.0467; 1.5g(Day6) p=0.0212
Figure 5E	Mixed-effects model (Geisser-Greenhouse's epsilon correction)	D1-D2 WT = 9 D1Gq-D2Gi = 8 D1Gi-D2Gq = 9 (2 WT and 2 D1Gq-D2Gi animals were exposed to a running wheel without recording) 1 outlier value removed with Grubbs' method (Alpha = 0.01)	Running wheel variation (Food restricted procedure)	Time effect F(3.503, 79.39)=1.644 P=0.1784 (ε correction : 0.5838) Virus effect F(2, 23)=7.484 P=0.0031 Interaction F(12, 136)=5.156 P<0.0001 Bonferroni's multiple comparisons test: WT vs D1Gq-D2Gi: 3g p=0.0027 ; 2.5g p=0.0085 ; 2g p=0.0429 ; 1.5(1) p=0.0318 ; 1.5(3) p=0.0648
Supplementary figure				
Supplementary Figure 1				
Figure Supp 1A	Mann Whitney test	D2cre mice (n=6), neurons Saline:42 / CNO:44	Firing rate (Hz)	U=712, P= 0.0612
Figure Supp 1A	Mann Whitney test	D2cre mice (n=6), neurons Saline:42 / CNO:44	Bursting rate (Hz)	U=579.5, P=0.0026
Figure Supp 1A	Mann Whitney test	D2cre mice (n=6), neurons Saline:42 / CNO:44	%SIB	U=627, P= 0.0097
Figure Supp 1A	Mann Whitney test	D2cre mice (n=6), neurons Saline:42 / CNO:44	MSB	U=791, P= 0.2369
Figure Supp 1C	Mixed-effects model (Geisser-Greenhouse's epsilon correction)	D2 GI = 9 D2 Gq = 7	Lever press (Learning)	Time effect F(1.121, 8.972)=139.2, P<0.0001 (ε correction : 0.3738) lever effect F(1.545, 12.36)=177.2 P<0.0001 (ε correction : 0.5151) Interaction F(1.299, 7.508)=46.80 P<0.0001 (ε correction : 0.1444) Bonferroni's multiple comparisons test: Reinforced Lever (L1): D1 Gi vs D1 Gq p=0.7850 Non reinforced Lever (L2): D1 Gi vs D1 Gq p=0.5598
Figure Supp 1D	Two-way RM ANOVA	D2 cre mice: Dreadd Gi = 8 Dreadd Gq= 7	Lick/burst	Virus effect F(1.13)=0.04570 P=0.8340 CNO effect F(1.13)=6.896 P=0.0209 Interaction F(1.13)=0.03268 P=0.8593
Figure Supp 1E	Two-way RM ANOVA	D2 GI =8 D2 Gq = 7	RPM	Virus effect F(1, 13)=1.871 P=0.1946 CNO effect F(1, 13)=1.976 P=0.1833 Interaction F(1, 13)=0.3563 P=0.5608
Figure Supp 1F	Unpaired T-test	D1cre mice (n=4), neurons Saline:40 / CNO:39	Firing rate (Hz)	t(77)=3.888, p=0.0002
Figure Supp 1F	Mann Whitney test	D1cre mice (n=4), neurons Saline:40 / CNO:39	Bursting rate (Hz)	U=530.5, P=0.0133
Figure	Mann Whitney test	D1cre mice (n=4), neurons Saline:40 / CNO:39	%SIB	U=634.5, P= 0.1534

Supp 1F				
Figure Supp 1F	Unpaired T-test	D1cre mice (n=4), neurons Saline:40 / CNO:39	MSB	t(77)=1.953, p=0.0545
Figure Supp 1H	Mixed-effects model (Geisser-Greenhouse's epsilon correction)	D1 Gi = 9 D1 Gq = 8	Lever press (Learning)	Time effect F(1.104, 8.833)=103.7 P<0.0001 (ε correction : 0.3680) lever effect F(1.555, 12.44)=110.4 P<0.0001 (ε correction : 0.5184) Interaction F(1.925, 13.69)=45.22 P<0.0001 (ε correction : 0.2139) Bonferroni's multiple comparisons test: Reinforced Lever (L1): D1 Gi vs D1 Gq p=0.3512 Non reinforced Lever (L2): D1 Gi vs D1 Gq p>0.9999
Figure Supp 1I	Two-way RM ANOVA	D1 Gi = 9 D1 Gq = 8	Lever presses CNO (2mg/kg)	Virus effect F(1.15)=11.59 P=0.0039 CNO effect F(1.15)=13.59 P=0.0022 Interaction F(1.15)=0.3135 P=0.5838
Figure Supp 1I	Two-way RM ANOVA	D1 Gi = 9 D1 Gq = 8	Break point CNO (2mg/kg)	Virus effect F(1.15)=9.109 P=0.0086 CNO effect F(1.15)=17.29 P=0.0008 Interaction F(1.15)=0.002770 P=0.9587
Figure Supp 1J	Log-rank (Mantel-Cox) test	D1 Gi = 9	Survival Curve CNO (2mg/kg)	DREADD Gi Sal vs CNO: χ ² =8.320 ; P Value=0.0039
Figure Supp 1J	Log-rank (Mantel-Cox) test	D1 Gq = 8	Survival Curve CNO (2mg/kg)	DREADD Gq Sal vs CNO χ ² =0.154 ; P Value=0.6981
Figure Supp 1H	DREADD Gi : Mixed-effects model (Geisser-Greenhouse's epsilon correction)	D1 Gi = 9	Rate (presses/s) CNO (2mg/kg)	Ratio effect F(2.634, 21.07)=13.85 P<0.0001 (ε correction : 0.3292) CNO effect F(1.000, 8.000)=0.8356 P=0.3874 (ε correction : 1.000) Interaction F(4.193, 32.49)=1.724 P=0.1664 (ε correction : 0.5241)
Figure Supp 1H	DREADD Gq : Mixed-effects model (Geisser-Greenhouse's epsilon correction)	D1 Gq = 8	Rate (presses/s) CNO (2mg/kg)	Ratio effect F(2.371, 16.60)=4.209 P=0.0281 (ε correction : 0.3534) CNO effect F(1.000, 7.000)=15.63 P=0.0055 (ε correction : 1.000) Interaction F(2.449, 16.65)=7.832 P=0.0039 (ε correction : 0.2854) Bonferroni's multiple comparisons test: Salin vs CNO : ratio 16, P=0.0757 ; ratio 32, P=0.0165 ; ratio 64, P=0.0139
Figure Supp 1L	Two-way RM ANOVA	D1 Gi = 11 D1 Gq=10	Lick/burst	Virus effect F(1, 19)=3.917 P=0.0625 CNO effect F(1, 19)=2.378 P=0.1395 Interaction F(1, 19)=0.9080 P=0.3526
Figure Supp 1M	Two-way RM ANOVA	D1 Gi = 8 D1 Gq = 8	RPM	Virus effect F(1, 14)=0.04791 P=0.8299 CNO effect F(1, 14)=1.774 P=0.2042 Interaction F(1, 14)=0.05004 P=0.8262
Supplementary Figure 2				

Figure Supp 2E	Mixed-effects model (Geisser-Greenhouse's epsilon correction)	D2 cre mice Dreadd Gi = 7	% Blood glucose change vs baseline	Time effect F(2.576, 15.46)=104.2 P<0.0001 (ε correction : 0.3220) CNO effect F(1.000, 6.000)=1.070 P=0.3409 (ε correction : 1.000) Interaction F(3.077, 18.46)=0.4382 P=0.7330 (ε correction : 0.3846)
Figure Supp 2E	Mixed-effects model (Geisser-Greenhouse's epsilon correction)	D2 cre mice Dreadd Gq = 8	% Blood glucose change vs baseline	Time effect F(1.698, 11.89)=55.82 P<0.0001 (ε correction : 0.2123) CNO effect F(1.000, 7.000)=0.01822 P=0.8964 (ε correction : 1.000) Interaction F(2.704, 18.93)=1.226 P=0.3380 (ε correction : 0.3380)
Figure Supp 2E	Mixed-effects model (Geisser-Greenhouse's epsilon correction)	D1 cre mice Dreadd Gi = 9	% Blood glucose change vs baseline	Time effect F(1.901, 15.21)=74.77 P<0.0001 (ε correction : 0.2376) CNO effect F(1.000, 8.000)=0.1887 P=0.6754 (ε correction : 1.000) Interaction F(2.197, 17.58)=0.3944 P=0.6987 (ε correction : 0.2747)
Figure Supp 2E	Mixed-effects model (Geisser-Greenhouse's epsilon correction)	D1 cre mice Dreadd Gq = 9	% Blood glucose change vs baseline	Time effect F(2.193, 17.54) = 130.8 P<0.0001 (ε correction : 0.2741) CNO effect F(1.000, 8.000) = 2.419 P=0.1585 (ε correction : 1.000) Interaction F(3.290, 26.32) = 1.257 P=0.3601 (ε correction : 0.4113)
Figure Supp 2F	Mixed-effects model (Geisser-Greenhouse's epsilon correction)	D2 cre Dreadd Gi = 7	Fasting refeeding: Chow consumption (1h - 24h) CNO : 2mk/kg	Time effect F(1.652, 9.912)=899.7 P<0.0001 (ε correction : 0.4130) CNO effect F(1.000, 6.000)=15.96 P=0.0072 (ε correction : 1.000) Interaction F(1.969, 11.82)=16.90 P=0.0004 (ε correction : 0.4923) Bonferroni's multiple comparisons test: DREADD GI Sal vs CNO: 1h p=0.0012 ; 2h p=0.0027 ; 4h p=0.0057
Figure Supp 2F	Mixed-effects model (Geisser-Greenhouse's epsilon correction)	D2 cre Dreadd Gi =7	Fasting refeeding: Chow consumption (1h - 24h) CNO : 0.5mk/kg	Time effect F(1.515, 9.089)=484.677 P<0.0001 (ε correction : 0.3787) CNO effect F(1.000, 6.000)=0.1468 P=0.7148 (ε correction : 1.000) Interaction F(1.000, 7.000)=7.520 P=0.0210 Bonferroni's multiple comparisons test: DREADD GI Sal vs CNO: 1h p=0.0280 ; 2h p=0.0099
Figure Supp 2F	Mixed-effects model (Geisser-Greenhouse's epsilon correction)	D2 cre Dreadd Gq = 8	Fasting refeeding: Chow consumption (1h - 24h) CNO : 2mk/kg	Time effect F(1.251, 8.754)=201.0 P<0.0001 (ε correction : 0.3126) CNO effect F(1.000, 7.000)=17.16 P=0.0043 (ε correction : 1.000) Interaction F(1.152, 8.067)=6.396 P=0.00321 (ε correction : 0.2881) Bonferroni's multiple comparisons test: DREADD Gq Sal vs CNO: 12-24h p=0.0370

Figure Supp 2F	Mixed-effects model (Geisser-Greenhouse's epsilon correction)	D2 cre Dreadd Gq = 7 (1 animals excluded)	Fasting refeeding: Chow consumption (1h - 24h) CNO : 0.5mk/kg	Time effect F(1.246, 7.478)=104.9 P<0.0001 (ε correction : 0.3116) CNO effect F(1.000, 6.000)=0.5173 P=0.4990 (ε correction : 1.000) Interaction F(2.218, 13.31)=1.949 P=0.1787 (ε correction : 0.5545)
Figure Supp 2F	Mixed-effects model (Geisser-Greenhouse's epsilon correction)	D1 cre Dreadd Gi = 9	Fasting refeeding: Chow consumption (1h - 24h) CNO : 2mk/kg	Time effect F(1.181, 9.451)=414.5 P<0.0001 (ε correction : 0.2953) CNO effect F(1.000, 8.000)=0.3249 P=0.5843 (ε correction : 1.000) Interaction F(2.622, 20.32)=3.468 P=0.0400 (ε correction : 0.6556)
Figure Supp 2F	Mixed-effects model (Geisser-Greenhouse's epsilon correction)	D1 cre Dreadd Gi = 8 1 outlier value removed with Grubbs' method (Alpha = 0.01)	Fasting refeeding: Chow consumption (1h - 24h) CNO : 0.5mk/kg	Time effect F(1.309, 9.163)=813.7 P<0.0001 (ε correction : 0.3272) CNO effect F(1.000, 7.000)=9.101P=0.0195 (ε correction : 1.000) Interaction F(1.5658, 10.95)=3.844 P=0.0623 (ε correction : 0.3911) Bonferroni's multiple comparisons test: DREADD Gq Sal vs CNO: 1-24h p>0.9999
Figure Supp 2F	Mixed-effects model (Geisser-Greenhouse's epsilon correction)	D1 cre Dreadd Gq = 8 2 outlier values removed with Grubbs' method (Alpha = 0.01)	Fasting refeeding: Chow consumption (1h - 24h) CNO : 2mk/kg	Time effect F(1.407, 9.851)=195.6 P<0.0001 (ε correction : 0.3518) CNO effect F(1.000, 7.000)=16.21 P=0.0050 (ε correction : 1.000) Interaction F(1.548, 10.06)=2.039 P=0.1836 (ε correction : 0.3870)
Figure Supp 2F	Mixed-effects model (Geisser-Greenhouse's epsilon correction)	D1 cre Dreadd Gq = 9	Fasting refeeding: Chow consumption (1h - 24h) CNO : 0.5mk/kg	Time effect F(1.938, 15.50)=606.0 P<0.0001 (ε correction : 0.4844) CNO effect F(1.000, 8.000)=14.46 P=0.0052 (ε correction : 1.000) Interaction F(1.642, 13.14)=8.142 P=0.1406 (ε correction : 0.4106) Bonferroni's multiple comparisons test: DREADD Gq Sal vs CNO: 1h p=0.0080 ; 2h p=0.0111 ; 4h p=0.0072
Supplementary Figure 3				
Figure Supp 3A	Mixed-effects model (Geisser-Greenhouse's epsilon correction)	D2 cre mice Dreadd Gi = 7	Chow consumption	Time effect F(1.782, 26.72)=15.45 P<0.0001 (ε correction : 0.4454) CNO effect F(1.000, 60.00)=0.5417 P=0.4646 (ε correction : 1.000) Interaction F (1.533, 22.99)=4.968 P=0.0227 (ε correction : 0.3632) Bonferroni's multiple comparisons test: DREADD Gi Sal vs CNO: 3h p=0.0006
Figure Supp 3A	Mixed-effects model (Geisser-Greenhouse's epsilon correction)	D2 cre mice Dreadd Gq = 8	Chow consumption	Time effect F(1.922, 13.45)=3.763 P=0.0517 (ε correction : 0.4805) CNO effect F(1.000, 7.000)=2.435 P=0.1626 (ε correction : 1.000) Interaction F (1.647, 11.53)=1.052 P=0.3664 (ε correction : 0.4118)

Figure Supp 3B	Mixed-effects model (Geisser-Greenhouse's epsilon correction)	D2 cre mice Dreadd Gi = 7	Wheel running activity	Time effect $F(1.894, 11.36)=11.19$ $P=0.0023$ (ϵ correction : 0.4735) CNO effect $F(1.000, 6.000)=17.85$ $P=0.0055$ (ϵ correction : 1.000) Interaction $F(1.582, 9.490)=4.728$ $P=0.0438$ (ϵ correction : 0.3954) Bonferroni's multiple comparisons test: DREADD Gi Sal vs CNO: 3h $p=0.0871$; 5h $p=0.0231$
Figure Supp 3B	Mixed-effects model (Geisser-Greenhouse's epsilon correction)	D2 cre mice Dreadd Gq = 8 2 outlier values removed with Grubbs' method (Alpha = 0.01)	Wheel running activity	Time effect $F(2.084, 14.59)=35.25$ $P<0.0001$ (ϵ correction : 0.5210) CNO effect $F(1.000, 7.000)=14.38$ $P=0.0068$ (ϵ correction : 1.000) Interaction $F(1.762, 11.45)=9.475$ $P=0.0045$ (ϵ correction : 0.4404) Bonferroni's multiple comparisons test: DREADD Gq Sal vs CNO: 3h $p=0.0011$; 4h $p=0.0726$;
Figure Supp 3C	Mixed-effects model (Geisser-Greenhouse's epsilon correction)	D1 cre Dreadd Gi = 9	Chow consumption	Time effect $F(1.856, 14.84)=10.76$ $P=0.0015$ (ϵ correction : 0.4639) CNO effect $F(1.000, 8.000)=1.739$ $P=0.2238$ (ϵ correction : 1.000) Interaction $F(2.506, 20.06)=3.931$ $P=0.0287$ (ϵ correction : 0.6269) Bonferroni's multiple comparisons test: DREADD Gq Sal vs CNO: 1-24h $p>0.9999$
Figure Supp 3C	Mixed-effects model (Geisser-Greenhouse's epsilon correction)	D1 cre Dreadd Gq = 9 2 outlier values removed with Grubbs' method (Alpha = 0.01)	Chow consumption	Time effect $F(2.569, 20.55)=21.55$ $P<0.0001$ (ϵ correction : 0.6422) CNO effect $F(1.000, 8.000)=6.794$ $P=0.0313$ (ϵ correction : 1.000) Interaction $F(2.150, 16.12)=6.184$ $P=0.0091$ (ϵ correction : 0.5374) Bonferroni's multiple comparisons test: DREADD Gq Sal vs CNO: 3h $p=0.0043$
Figure Supp 3D	Mixed-effects model (Geisser-Greenhouse's epsilon correction)	D1 cre Dreadd Gi = 9 2 outlier values removed with Grubbs' method (Alpha = 0.01)	Wheel running activity	Time effect $F(2.393, 19.15)=48.19$ $P<0.0001$ (ϵ correction : 0.5983) CNO effect $F(1.000, 8.000)=2.106$ $P=0.1848$ (ϵ correction : 1.000) Interaction $F(2.518, 18.89)=5.949$ $P=0.0067$ (ϵ correction : 0.6295) Bonferroni's multiple comparisons test: DREADD Gi Sal vs CNO: 3h $p=0.0328$
Figure Supp 3D	Mixed-effects model (Geisser-Greenhouse's epsilon correction)	D1 cre Dreadd Gq = 9	Wheel running activity	Time effect $F(1.858, 14.86)=1.387$ $P=0.2787$ (ϵ correction : 0.4644) CNO effect $F(1.000, 8.000)=12.14$ $P=0.0083$ (ϵ correction : 1.000) Interaction $F(1.420, 11.36)=10.31$ $P=0.0048$ (ϵ correction : 0.3551) Bonferroni's multiple comparisons test:

				DREADD Gq Sal vs CNO: 3h p=0.0097 ; 4h p=0.0536 ; 5h p=0.0450
Figure Supp 3G			Peri-event (Start Run) (Zscore ; D1 vs D2)	
Figure Supp 3G			Peri-event (Stop Run) (Zscore ; D1 vs D2)	
Figure Supp 3G			Peri-event (Forced Stop Run) (Zscore ; D1 vs D2)	
Figure Supp 3G			Peri-event Comparison (Zscore ; Start Run vs Stop Run)	
Supplementary Figure 5				
Figure Supp 5B	One way ANOVA	D2 WT = 8 D2 Gi = 8 D2 Gq = 9 1 outlier value removed with Grubbs' method (Alpha = 0.01)	Lean mass variation (mean D1-D23)	F(2, 22)=7.281 P=0.0037 Bonferroni's multiple comparisons test: D2 WT vs D2 Gi p=0.0342 D2 WT vs D2 Gq p=0.0039
Figure Supp 5B	One way ANOVA	D2 WT = 9 D2 Gi = 8 D2 Gq = 9	Lean mass variation (mean D23-D36)	F(2, 23)=3.737 P=0.0393 Bonferroni's multiple comparisons test: D2 WT vs, D2 Gq p=0.0825
Figure Supp 5E	One way ANOVA	D1 WT = 12 D1 Gi = 11 D1 Gq = 12	Lean mass variation (mean D1-D23)	F(2, 32)=2.193 P=0.1280
Figure Supp 5B	One way ANOVA	D1 WT = 12 D1 Gi = 11 D1 Gq = 12	Lean mass variation (mean D23-D36)	F(2, 32)=0.7046 P=0.5018
Supplementary Figure 5				
Figure Supp 5B	One way ANOVA	D1-D2WT= 11 D1Gi-D2Gq = 8 D1Gq-D2Gi = 11	Lean mass variation (mean D1-D23)	F(2, 32)=6.872 P=0.0039 Bonferroni's multiple comparisons test: D1-D2 WT vs D1Gi-D2Gq p=0.0948 D1Gq-D2Gi vs D1Gi-D2Gq p=0.0034
Figure Supp 5B	One way ANOVA	D1-D2WT= 10 D1Gi-D2Gq = 8 D1Gq-D2Gi = 10 2 outlier values removed with Grubbs' method (Alpha = 0.01)	Lean mass variation (mean D23-D36)	F(2, 25)=15.07 P<0.0001 Bonferroni's multiple comparisons test: D1-D2 WT vs D1Gi-D2Gq p=0.0104 D1Gq-D2Gi vs D1Gi-D2Gq p<0.0001
Figure Supp 5C	Two-way RM ANOVA	D1-D2WT= 8 D1Gq-D2Gi = 7 D1Gi-D2Gq = 7	Cumulative Chow consumption 2h under leptin or saline	Group effect F(2, 19)=92.61 P<0.0001 Leptin effect F(1, 19)=14.83 P=0.0011 Interaction F(2, 19)=0.8090 P=0.4601

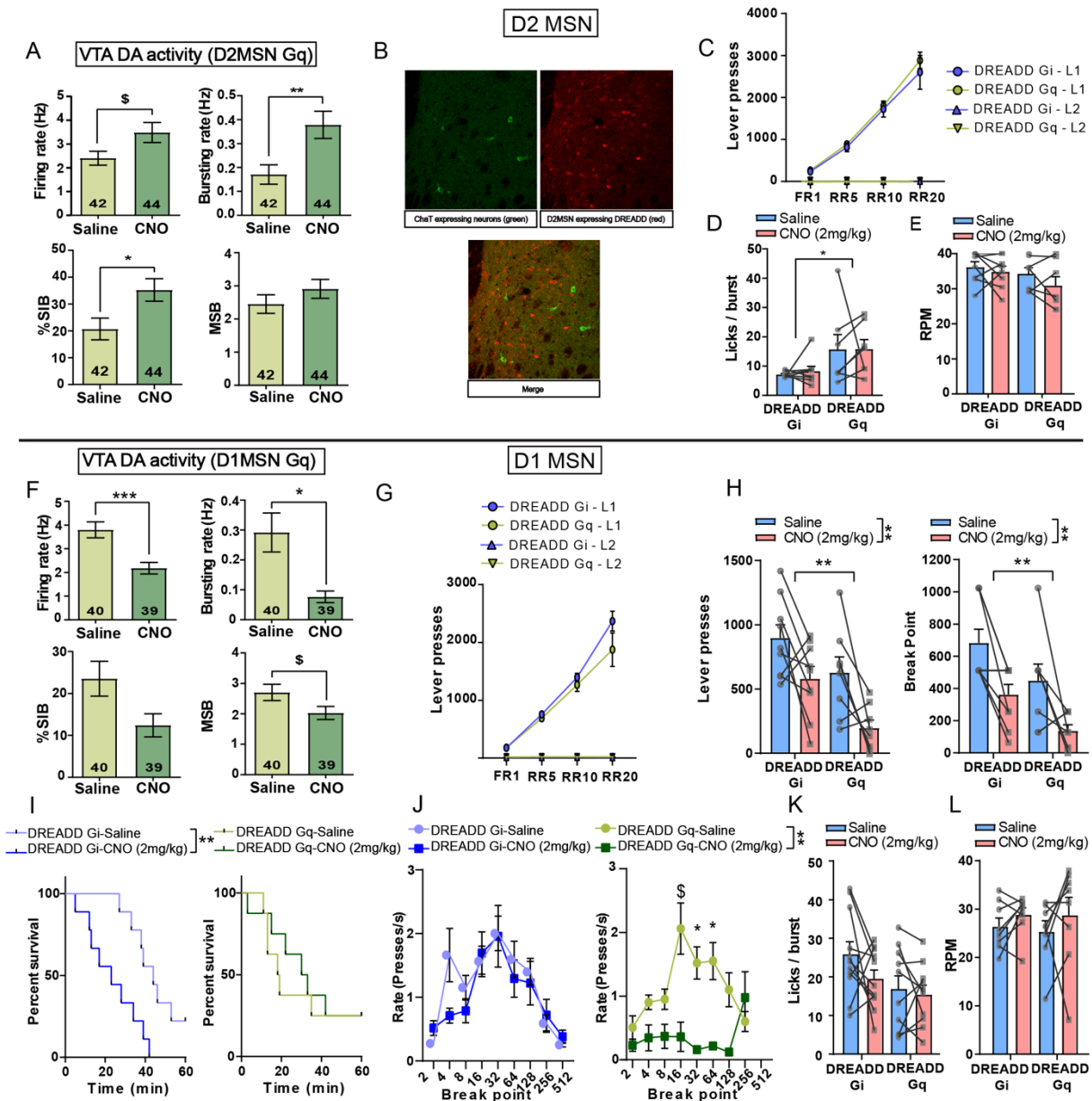
Figure Supp 5C	Two-way RM ANOVA	D1-D2WT= 8 D1Gq-D2Gi = 7 D1Gi-D2Gq = 7	Cumulative Chow consumption 24h under leptin or saline	Group effect F(2, 19)=19.20 P=0.0543 Leptin effect F(1, 19)=54.72 P<0.0001 Interaction F(2, 19)= 3.410 P<0.0001
Figure Supp 5D	Mixed-effects model	D1-D2WT= 8 D1Gq-D2Gi = 7 D1Gi-D2Gq = 7 1 outlier value removed with Grubbs' method (Alpha = 0.01)	Cumulative Chow consumption 2h under ghrelin or saline	Group effect F(1, 18)=30.26 P<0.0001 Ghrelin effect F(2, 19)=80.60 P<0.0001 Interaction F(2, 18)= 16.60 P<0.0001 Bonferroni's multiple comparisons test: Saline : D1-D2 WT vs D1Gq-D2Gi p=0.0032 D1-D2 WT vs D1Gi-D2Gq p>0.9999 D1Gq-D2Gi vs D1Gi-D2Gq p=0.0547 Ghrelin : D1-D2 WT vs D1Gq-D2Gi p<0.0001 D1-D2 WT vs D1Gi-D2Gq p=0.0025 D1Gq-D2Gi vs D1Gi-D2Gq p<0.0001
Figure Supp 5D	Two-way RM ANOVA	D1-D2WT= 8 D1Gq-D2Gi = 7 D1Gi-D2Gq = 7	Cumulative Chow consumption 24h under ghrelin or saline	Group effect F(2, 19)=9.446 P=0.0014 Ghrelin effect F(1, 19)=6.859 P=0.0169 Interaction F(2, 19)= 2.327 P=0.1247
Figure 5E	Mixed-effects model (Geisser-Greenhouse's epsilon correction)	D1-D2WT= 8 D1Gq-D2Gi = 8 D1Gi-D2Gq = 9	Weight loss during ABA protocol	Time effect F(3.230, 67.83)=324.2 P<0.0001 (ε correction : 0.6460) group effect F(1, 22)=10.45 P<0.0001 Interaction F(10, 105)=7.702 P<0.0001 Bonferroni's multiple comparisons test: D1-D2WT vs D1Gq-D2Gi : D2 p=0.0684 ; D3 p=0.0584 ; D5 p=0.0767 D1-D2WT vs D1Gi-D2Gq : D2 p=0.0073 ; D3 p=0.0168 ; D4 p=0.0165; D5 p=0.0116
Figure 5H	Log-rank (Mantel-Cox) test	D1-D2WT= 8 D1Gq-D2Gi = 8 D1Gi-D2Gq = 9	Survival Curve	χ ² =7.043 ; P Value=0.0296
Figure 5E	Mixed-effects model (Geisser-Greenhouse's epsilon correction)	D1-D2WT= 8 D1Gq-D2Gi = 8 D1Gi-D2Gq = 9	Wheel running activity during ABA protocol	Time effect F(2.906, 61.29)=53.66 P<0.0001 (ε correction : 0.2642) group effect F(2, 22)=7.078 P:0.0042 Interaction F(22, 232)=9.935 P<0.0001 Bonferroni's multiple comparisons test: D1-D2WT vs D1Gq-D2Gi : D1 night p=0.0684 D1-D2WT vs D1Gi-D2Gq : D1 night p=0,0154 ; D1 day p= 0,0975 ; D2 night p=0,0117 ; D3 night p=0,0126 ; D4 night p=0.0744 ; D5 night p=0.0368
Figure 5E	Mixed-effects model	D1-D2WT= 8 D1Gq-D2Gi = 8 D1Gi-D2Gq = 9	Chow consumption during ABA protocol	Time effect F(2.492, 52.96)=53.66 P<0.0001 (ε correction : 0.6230) group effect F(2, 22)=2.496 P:10.45 Interaction F(8, 85)=0.4240 P:90.37

	(Geisser-Greenhouse's epsilon correction)			
--	---	--	--	--

1001

1002

1003 **SUPPLEMENTARY FIGURES**



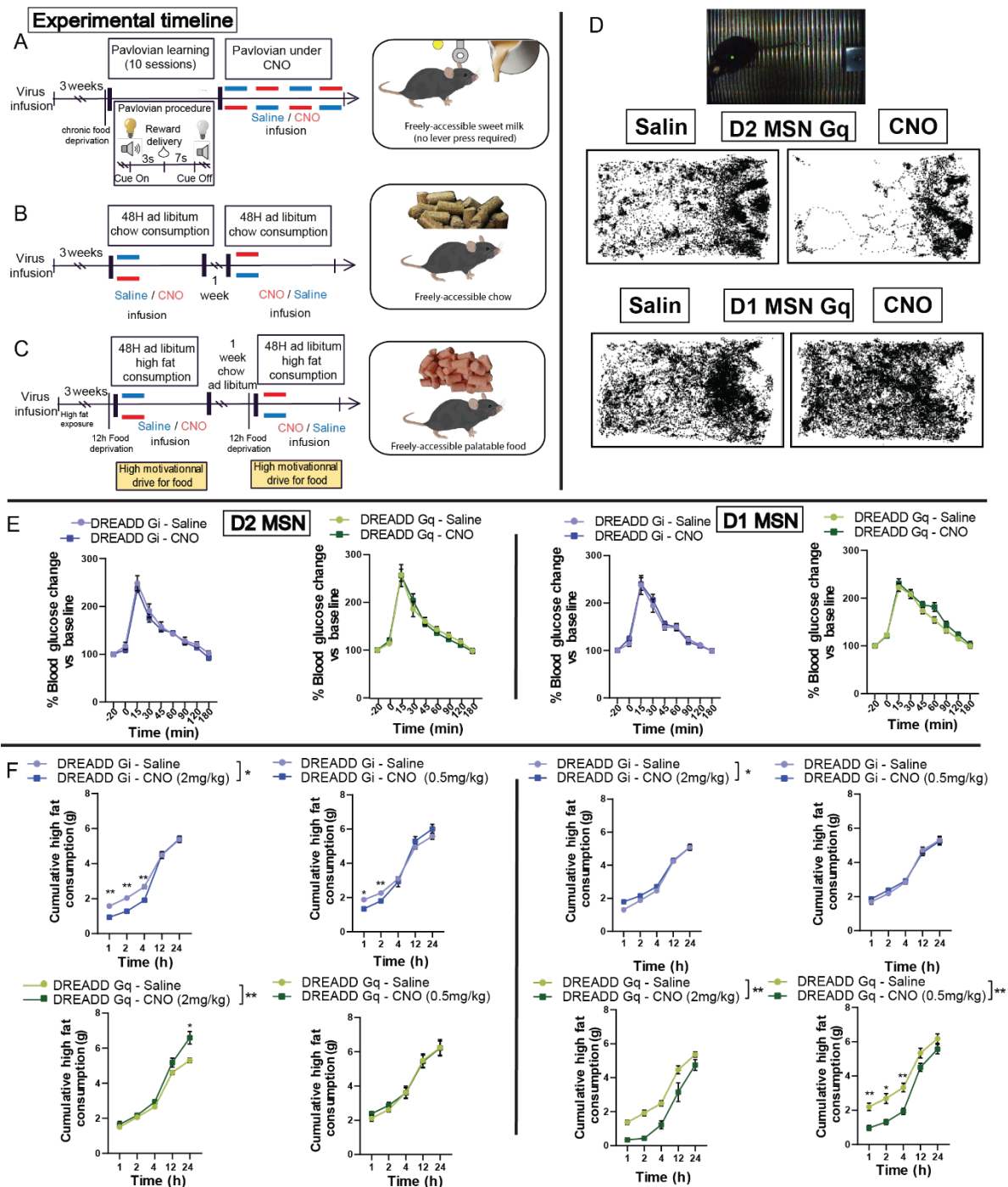
1004

1005 **Suppl. Figure 1 (relates to Figure 1):**

1006 (A) In vivo recording of DA neurons of the VTA in D2-cre mice expressing the activating
 1007 DREADD HM3Dq showing that, compared to saline, CNO (2 mg/kg) injection leads to a trend
 1008 of an increase in firing rate (top left) and significant increase in bursting rate (top right) and
 1009 % spike in burst (SIB, bottom left) while the mean spike in burst is spared (MSB, bottom right).

1010 Numbers in bars indicate the number of neurons recorded. (B) Representative picture of NAc
1011 coronal section (X40) with immuno-labeled ChAT (Choline acetyl transferase) in green, (Top
1012 left), immuno-labeled DREADD in red (Top right) and merge (Bottom) supporting a lack of
1013 DREADD expression in cholinergic interneurons. (C) Number of lever presses on the
1014 reinforced (L1) and non-reinforced (L2) levers across the different schedules of reinforcement
1015 in D2-cre mice expressing either DREADD Gi or DREADD Gq in the NAc, in the absence of
1016 CNO administration. (D) Licking microstructures (number of licks per burst) during
1017 consumption of a palatable solution (milk) in D2-cre mice expressing DREADD Gi or Gq. (E)
1018 Rotation per min (RPM) in a rotarod in D2-cre mice under inhibition (DREADD Gi) or activation
1019 (DREADD Gq) of D2-MSNs. (F) In vivo recording of DA neurons of the VTA in D1-cre mice
1020 expressing the activating DREADD HM3Dq showing that, compared to saline, CNO (2 mg/kg)
1021 injection leads to a significant decrease in firing and bursting rates (top) but spared %SIB and
1022 MSB (bottom). Numbers in bars indicate the number of neurons recorded. (G) Coronal sections
1023 of D1-cre mouse brains expressing cre-dependent DREADD fused to mCherry in the NAc core
1024 at LH level. (H) Number of lever presses on the reinforced (L1) and non-reinforced (L2) levers
1025 across the different schedules of reinforcement in D1-cre mice expressing either DREADD Gi
1026 or DREADD Gq in the NAc, in the absence of CNO administration. (I) Effect of 2 mg/kg CNO
1027 in D1-cre mice expressing DREADDs Gi or Gq on the number of lever presses (left), breakpoint
1028 (right) and (J) percent survival in the PR task. (K) Rate of lever presses as a function of ratio
1029 requirement during the PR task. (L) Licking microstructures (number of licks per burst) during
1030 consumption of a palatable solution (milk) under inhibition (DREADD Gi) or activation
1031 (DREADD Gq) of D1-MSNs. (M) Rotation per min (RPM) in a rotarod in D1-cre mice under
1032 inhibition (DREADD Gi) or activation (DREADD Gq) of D2-MSNs. (CNO: 2mg/kg) For
1033 electrophysiology experiment: D2-Gq n=6 ; D1-Gq n=4. For behavioral experiment: D2-cre:
1034 DREADD Gi n=9, DREADD Gq n=7; D1-cre: DREADD Gi n=9, DREADD Gq n=8. \$:
1035 0.05<p<0.1 ; * : p<0.05 ; ** : p<0.01 ; *** : p<0.001 ; Error bars = s.e.m. See Table 2 for
1036 statistical analyses

1037

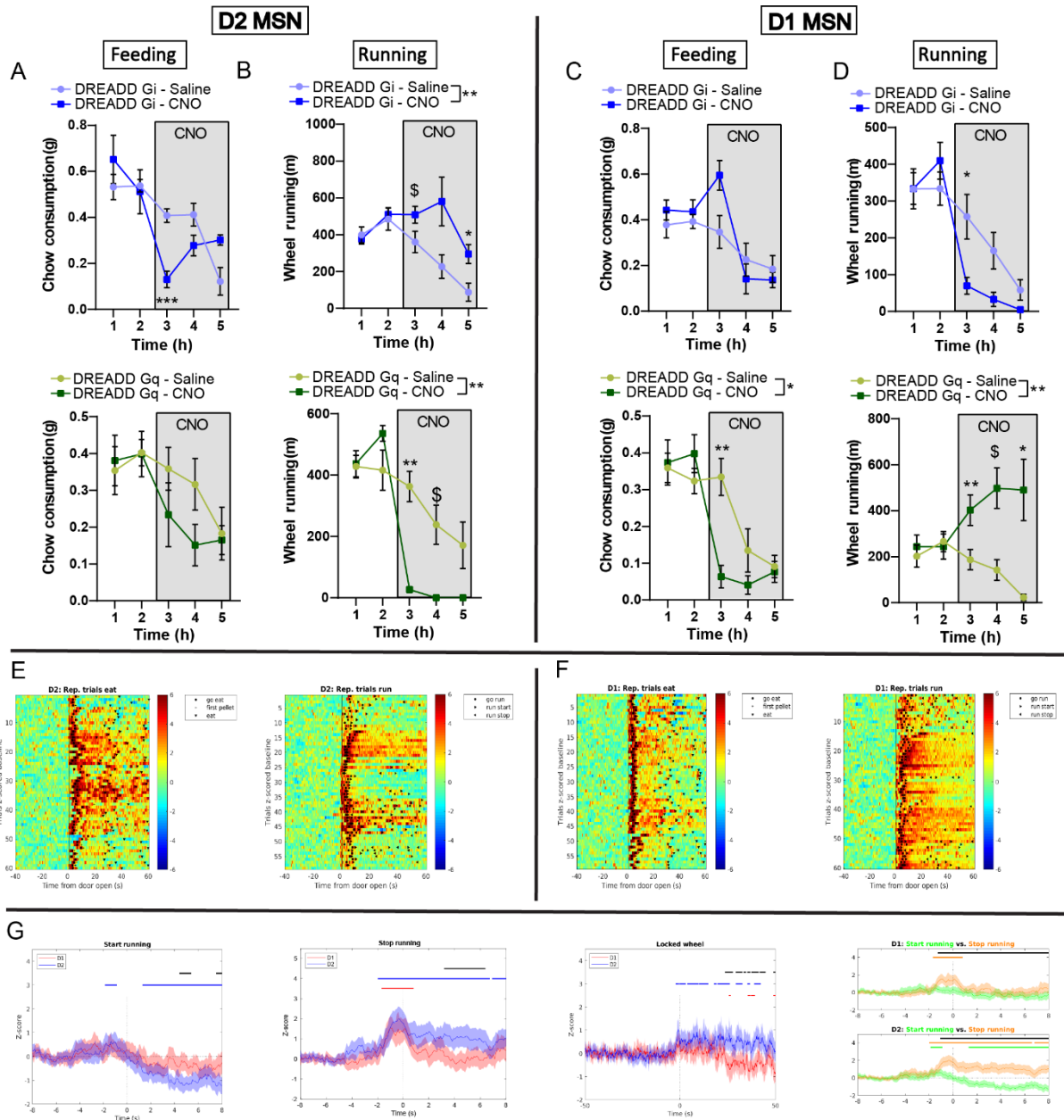


1038

1039 **Suppl. Figure 2 (relates to Figure 2):**

1040 (A-C) Experimental design for free-feeding procedures, i.e. pavlovian conditioning with
 1041 sweetened milk reward in a food-deprived animals (A), chow consumption over 48 hours (B)
 1042 and fasting-refeeding procedure with high fat diet (C). (D) Representative trajectories during
 1043 pavlovian conditioning under chemogenetic activation of D2-MSNs (top) or D1-MSNs (bottom).
 1044 (E) Glucose tolerance test under acute chemogenetic inhibition (DREADD Gi) or activation
 1045 (DREADD Gq) of NAc D2-MSNs (left) and D1-MSNs (right). (F) Cumulative high fat
 1046 consumption in D2-cre and D1-cre mice expressing DREADD Gi (top) or Gq (bottom) under

1047 CNO 2mg/kg (left) or 0,5 mg/kg (right). D2-cre: DREADD Gi n=7, DREADD Gq n=8; D1-cre:
 1048 DREADD Gi n=9, DREADD Gq n=9. * : p<0.05 ; ** : p<0.01 ; *** : p<0.001 ; Error bars = s.e.m.
 1049 See Table 2 for statistical analyses.

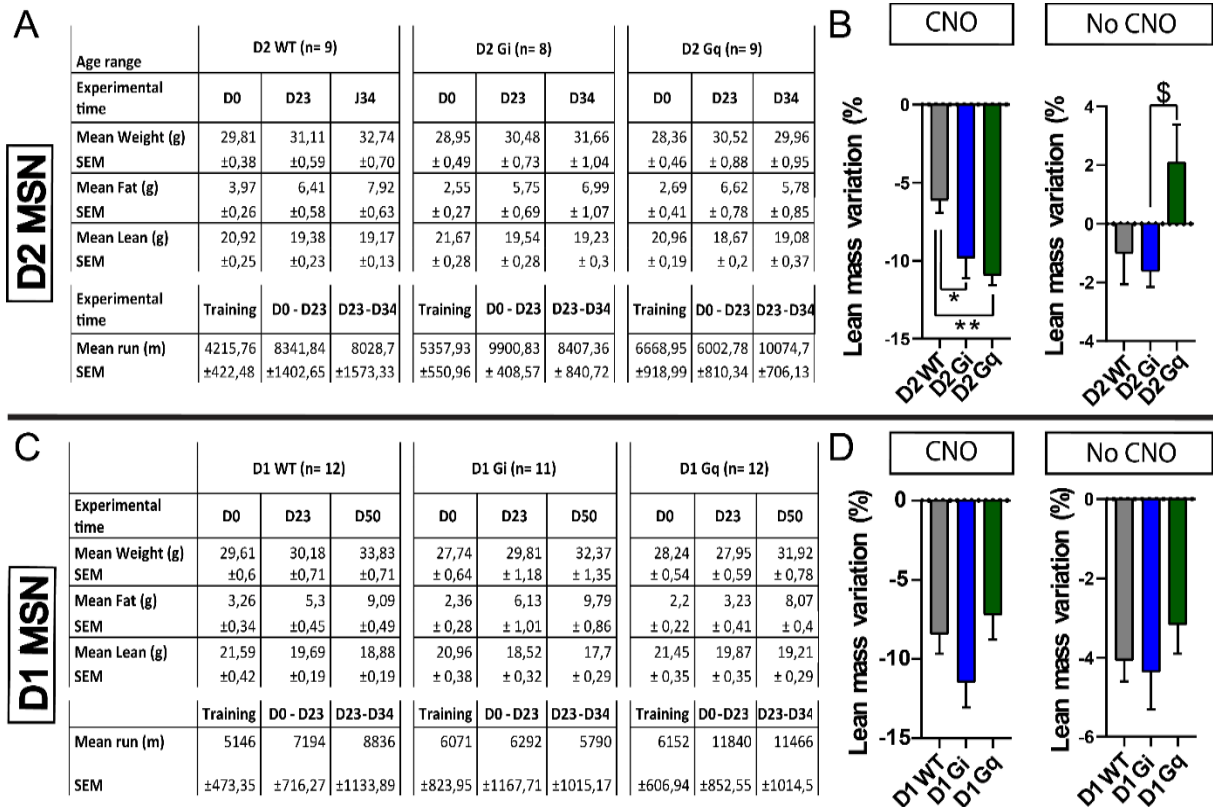


1050

1051 **Suppl. Figure 3 (relates to Figure 3):**

1052 Chemogenetic-mediated inhibition of D2-MSNs decreases and increases food intake (A, top)
 1053 and wheel-running (B, top), respectively. D2-MSNs activation spares food intake (A, bottom)
 1054 but strongly decreases voluntary wheel-running (B, bottom). D1-MSNs inhibition increases
 1055 food intake (C, top) while decreasing wheel-running (D, top), while their activation decreases
 1056 and increases food intake (C, bottom) and wheel-running (D, bottom), respectively. (CNO:

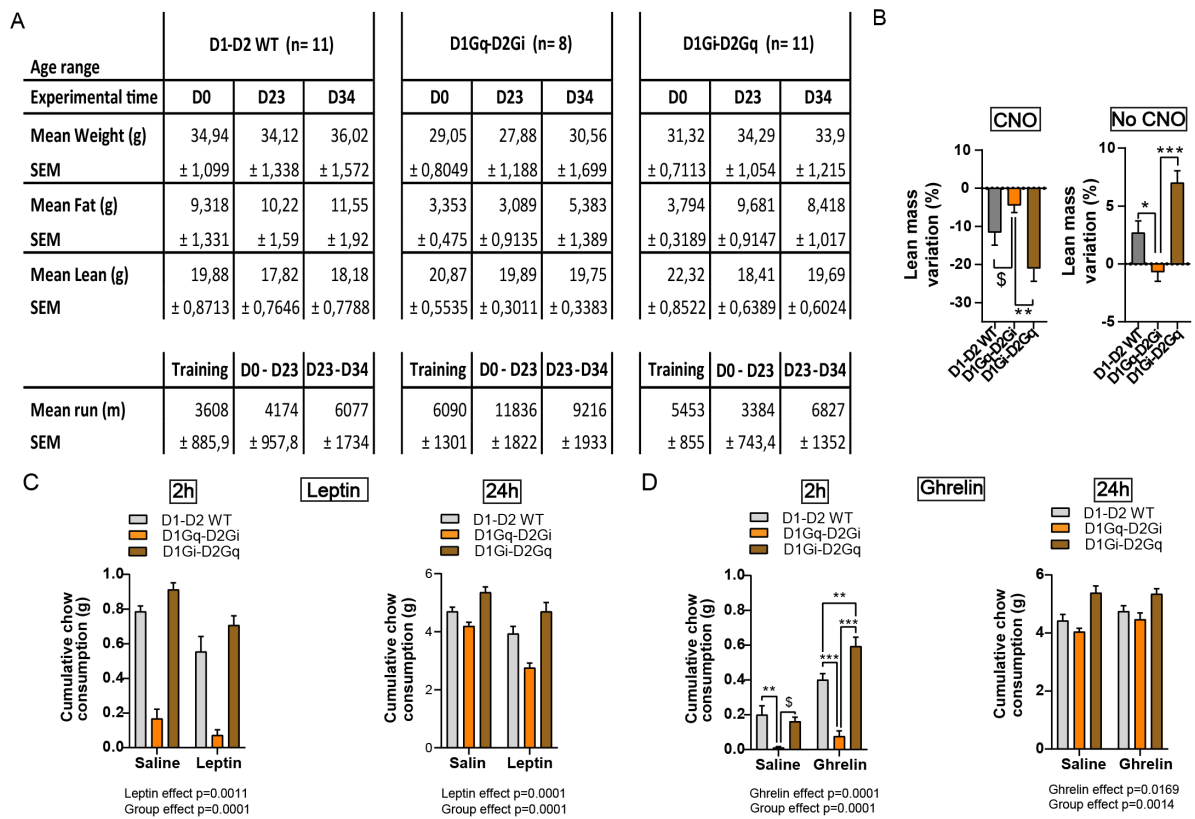
1057 2mg/kg) ; Fiberphotometry experiment: D2-cre n=5 ; D1-cre: n=5 ; Chemogenetic experiment:
 1058 D2-cre: DREADD Gi n=7, DREADD Gq n=8 ; D1-cre: DREADD Gi n=9, DREADD Gq n=9. * :
 1059 p<0.05 ; ** : p<0.01 ; *** : p<0.001 ; Error bars = s.e.m. See Table 2 for statistical analyses. (E)
 1060 Heat maps of changes in fluorescence (Z score) in D2-MSNs, for feeding (left) or wheel running
 1061 (right) trials. Events are aligned to door opening. (F) Heat maps of changes in fluorescence (Z
 1062 score) in D1-MSNs, for feeding (left) or wheel running (right) trials. Events are aligned to door
 1063 opening. (G) Peri-event analysis of voluntary run stop (left), forced run stop (right).



1064

1065 **Suppl. Figure 4 (relates to Figure 4):**

1066 (A) Table for mass parameters (grams) and running (meters) for chemogenetic manipulations
 1067 of D2-MSNs. (B) Variation in lean mass at the end of chronic chemogenetic manipulation of
 1068 D2-MSNs (CNO) and after CNO withdrawal (No CNO). (C) Table for mass parameters (grams)
 1069 and running (meters) for chemogenetic manipulations of D1-MSNs. (D) Variation in lean mass
 1070 at the end of chronic chemogenetic manipulation of D2-MSNs (CNO) and after CNO withdrawal
 1071 (No CNO). (CNO: 2mg/kg); D2- WT n=9 ; D2-Gi n=8, D2-Gq n=9. \$: 0.05<p<0.1; * : p<0.05 ;
 1072 ** : p<0.01; Error bars = s.e.m. / D1-WT n=12 ; D1-Gi n=11, D1-Gq n=12. * : p<0.05 ; ** :
 1073 p<0.01; Error bars = s.e.m. See Table 2 for statistical analyses.



1074

1075 **Suppl. Figure 5 (relates to Figure 5):**

1076 (A) Table for mass parameters (grams) and running (meters) for chemogenetic concomitant
 1077 manipulation of D1- and D2-MSNs. (B) Variation in lean mass at the end of chronic
 1078 simultaneous chemogenetic manipulation of D1- and D2-MSNs (CNO) and after CNO
 1079 withdrawal (No CNO). (C-D) Standard chow consumption under acute CNO (2mg/kg) together
 1080 with Ghrelin (3mg/kg) or leptin (5mg/kg) infusions under concomitant chemogenetic
 1081 manipulation of D1- and D2-MSNs. (D1Gq-D2Gi: activation of D1-MSNs together with
 1082 inhibition of D2-MSNs; D1Gi-D2Gq: inhibition of D1-MSNs together with activation of D2-
 1083 MSNs; D1-D2 WT: WT animals). D1-D2 WT n=11 ; D1Gi-D2Gq n=11, D1Gq-D2Gi n=8. \$:
 1084 0.05<p<0.1 * : p<0.05 ; ** : p<0.01 ; *** : p<0.001 Error bars = s.e.m. See Table 2 for statistical
 1085 analyses.

1086



Cell-Type-Specific Adaptions in Striatal Medium-Sized Spiny Neurons and Their Roles in Behavioral Responses to Drugs of Abuse

Marie-Charlotte Allichon^{1,2,3}, Vanesa Ortiz^{4,5}, Paula Pousinha^{4,5}, Andry Andrianarivelo^{1,2,3†}, Anna Petitbon⁶, Nicolas Heck^{1,2,3}, Pierre Trifilieff⁶, Jacques Barik^{4,5} and Peter Vanhoutte^{1,2,3*}

OPEN ACCESS

Edited by:

Emmanuel Valjent,
Centre National de la Recherche
Scientifique (CNRS), France

Reviewed by:

Rosario Moratalla,
Spanish National Research Council
(CSIC), Spain
John Q. Wang,
University of Missouri–Kansas City,
United States

*Correspondence:

Peter Vanhoutte
peter.vanhoutte@
sorbonne-universite.fr

† Present address:

Andry Andrianarivelo,
CNRS UMR 8003, Université de
Paris, Paris, France

Received: 21 October 2021

Accepted: 26 November 2021

Published: 14 December 2021

Citation:

Allichon M-C, Ortiz V, Pousinha P, Andrianarivelo A, Petitbon A, Heck N, Trifilieff P, Barik J and Vanhoutte P (2021) Cell-Type-Specific Adaptions in Striatal Medium-Sized Spiny Neurons and Their Roles in Behavioral Responses to Drugs of Abuse. *Front. Synaptic Neurosci.* 13:799274. doi: 10.3389/fnsyn.2021.799274

¹ CNRS, UMR 8246, Neuroscience Paris Seine, Paris, France, ² INSERM, UMR-S 1130, Neuroscience Paris Seine, Institute of Biology Paris Seine, Paris, France, ³ Sorbonne Université, UPMC Université Paris 06, UM CR18, Neuroscience Paris Seine, Paris, France, ⁴ Université Côte d'Azur, Nice, France, ⁵ Institut de Pharmacologie Moléculaire et Cellulaire, CNRS UMR 7275, Valbonne, France, ⁶ Université Bordeaux, INRAE, Bordeaux INP, NutriNeuro, Bordeaux, France

Drug addiction is defined as a compulsive pattern of drug-seeking- and taking- behavior, with recurrent episodes of abstinence and relapse, and a loss of control despite negative consequences. Addictive drugs promote reinforcement by increasing dopamine in the mesocorticolimbic system, which alters excitatory glutamate transmission within the reward circuitry, thereby hijacking reward processing. Within the reward circuitry, the striatum is a key target structure of drugs of abuse since it is at the crossroad of converging glutamate inputs from limbic, thalamic and cortical regions, encoding components of drug-associated stimuli and environment, and dopamine that mediates reward prediction error and incentive values. These signals are integrated by medium-sized spiny neurons (MSN), which receive glutamate and dopamine axons converging onto their dendritic spines. MSN primarily form two mostly distinct populations based on the expression of either DA-D1 (D1R) or DA-D2 (D2R) receptors. While a classical view is that the two MSN populations act in parallel, playing antagonistic functional roles, the picture seems much more complex. Herein, we review recent studies, based on the use of cell-type-specific manipulations, demonstrating that dopamine differentially modulates dendritic spine density and synapse formation, as well as glutamate transmission, at specific inputs projecting onto D1R-MSN and D2R-MSN to shape persistent pathological behavioral in response to drugs of abuse. We also discuss the identification of distinct molecular events underlying the detrimental interplay between dopamine and glutamate signaling in D1R-MSN and D2R-MSN and highlight the relevance of such cell-type-specific molecular studies for the development of innovative strategies with potential therapeutic value for addiction. Because drug addiction is highly prevalent in patients with other psychiatric disorders when compared to the

general population, we last discuss the hypothesis that shared cellular and molecular adaptations within common circuits could explain the co-occurrence of addiction and depression. We will therefore conclude this review by examining how the nucleus accumbens (NAc) could constitute a key interface between addiction and depression.

Keywords: striatum, addiction, psychiatric disorders, synaptic plasticity, signaling, receptor tracking

INTRODUCTION

Drug addiction is defined as a compulsive pattern of drug-seeking/taking behavior despite damaging consequences, as well as a high rate of relapse after an abstinence period. Over the past years, research on preclinical models of addiction established that pathological behavior induced by addictive substances originate from long-lasting alterations of synaptic transmission (Lüscher and Janak, 2021). Drug-evoked changes in synaptic efficacy occur at specific synapses within discrete neuronal populations of the reward circuit and impact both the trafficking and functions of multiple neurotransmitter receptors, as well as downstream signaling pathways and gene expression programs (Nestler and Lüscher, 2019; Salery et al., 2020). This cell-type- and synapse-specific impact of drugs of abuse on synaptic and nuclear events shapes an enduring remodeling of the reward circuitry, which has been proposed to contribute to the transition from casual drug intake to addiction (Nestler, 2014; Lüscher and Janak, 2021).

A hallmark of drugs of abuse is to artificially increase dopamine concentration in the mesocorticolimbic system (Di Chiara and Imperato, 1988), which persistently modulates excitatory glutamate transmission within the reward circuit (Lüscher and Malenka, 2011), thereby hijacking natural reward processing (Keiflin and Janak, 2015). Studies on preclinical models of addiction, as well as Positron Emission Tomography (PET) imaging in humans, strongly support that behavioral alterations resulting from protracted drug exposure involve dopamine-evoked neuronal plasticity mechanisms taking place within the striatum, especially its ventral part, the nucleus accumbens (NAc) (Volkow and Morales, 2015; Salery et al., 2020). The NAc is indeed considered as a key target structure of addictive substances because it receives a dense glutamatergic innervation originating from limbic, thalamic and cortical regions, which encodes components of drug-associated stimuli and environment, along with dopamine projections from the ventral tegmental area (VTA) that mediates reward prediction error and incentive values (Hyman and Malenka, 2001).

The integration of converging glutamate and dopamine inputs by the striatum is critical for its central role in action selection execution, cognition, as well as reward-dependent learning and memory (Hyman and Malenka, 2001; Wickens et al., 2007). Signal integration is mostly achieved by the foremost neuronal population of the striatum that is composed of GABAergic medium-sized spiny neurons (MSN) receiving glutamate axon terminals and dopamine afferents converging onto their dendritic spines (Moss and Bolam, 2008; Doig et al., 2010). MSN primarily form two segregated populations based on the expression of either DA-D1 (D1R) or DA-D2 (D2R) receptors, which are G protein-coupled receptors positively and

negatively coupled to adenylyl cyclase though their respective coupling to $G_{s/olf}$ and $G_{i/o}$ subtypes (Felder et al., 1991; Corvol et al., 2001). These two MSN subtypes display distinct projections within the cortico-basal ganglia network with the D1R-MSN and D2R-MSN forming the direct and the indirect pathway, respectively. The classical view is that the activation of direct pathway MSN promotes movement initiation, motivation and reinforcement learning, whereas the activation of the indirect pathway leads to opposite outcomes. Upon dopamine increase, the stimulation of D1R facilitates the activation of D1R-MSN, which promotes reinforcement whereas the stimulation of D2R inhibits D2R-MSN, thereby dampening their “anti-reward” functions (Gerfen and Surmeier, 2011).

Based on this model, it has been proposed that the surge of dopamine evoked in the NAc by drugs of abuse sets a high rewarding value of the drug and drug-associated cues as a consequence of concomitant stimulation of D1R and D2R, resulting in an imbalance between the activities of direct and indirect pathway neurons (Lobo and Nestler, 2011). However, recent evidence challenges a dichotomic model stipulating that the direct and indirect pathways play strictly opposite roles in motivated behavior, reward processing and addiction. In fact, about 5–15% of NAc MSN express both dopamine receptor (DAR) subtypes depending on NAc subregions (Bertran-Gonzalez et al., 2008) and roughly half of NAc D1R-MSN has been shown to project in the ventral pallidum (VP), which is the canonical output structure of indirect pathway MSN (Kupchik et al., 2015; Baimel et al., 2019; Pardo-Garcia et al., 2019). Furthermore, reciprocal lateral inhibitions between the two MSN subtypes has been described, locally in the striatum, and argue in favor of a synergistic, rather than dichotomic, role of direct and indirect pathway MSN in motivated behavior (Burke et al., 2017). Accordingly, it has been shown that NAc D1R-MSN and D2R-MSN are concomitantly activated when rats are trained to press a lever to obtain a food reward (Natsubori et al., 2017). These few examples highlight the need to precisely characterize drug of abuse-evoked adaptations taking place in the two MSN populations and define their roles in controlling behavioral adaptations.

Current cell-type-specific approaches provided new insights into the cellular, molecular and morphological changes in identified neuronal populations, notably owing to the development of reporter mouse lines expressing fluorescent proteins or Cre-recombinase under the control of cell-specific promoters, *drd1a* and *drd2/Adora2a* for D1R-MSN and D2R-MSN, respectively (Gong et al., 2003, 2007; Lemberger et al., 2007; Shuen et al., 2008; Durieux et al., 2009; Valjent et al., 2009), combined with cell-type-specific manipulation of neuronal activity. Since most of the work done on cell-type-specific

impacts of drugs is based on the use of psychostimulant, this review will be focused on studies using this class of addictive substances. We will review how the differential impact of drugs on MSN subtypes at the level of synaptic plasticity, receptor trafficking, protein-protein interactions and intracellular signaling, shapes persistent pathological behavior to psychostimulants. As a perspective, we will also discuss studies showing that multiple drug-evoked adaptations in NAc MSN strikingly parallel the ones observed in preclinical models of other psychiatric disorders, which could sustain the high comorbidity between addictions and other psychiatric disorders.

INPUT-SPECIFIC AND DRUG-EVOKED SYNAPTIC PLASTICITY CHANGES ONTO MSN SUBPOPULATIONS

The transition from recreational to compulsive drug use has been proposed to involve a transition from ventromedial to dorsolateral striatal sub-regions (Belin et al., 2009; Everitt and Robbins, 2016). Therefore, long-lasting cellular and molecular alterations in the NAc and dorsomedial striatum (DMS) are believed to constitute a main step toward the development of addiction and most studies aiming at identifying the neuronal mechanisms of addiction have focused on these brain sub-regions. As detailed elsewhere (Salery et al., 2020), even if some subtleties exist depending on the type of neuronal manipulation (ablation, chemogenetic, and optogenetic manipulations), the tasks used (sensitization, conditioned-place preference, and self-administration) and the behavioral phases studied (acute responses, sensitization, withdrawal, extinction, and reinstatement), studies using cell-specific approaches to selectively manipulate the activity of MSN subpopulations broadly support the classical model of basal ganglia (Albin et al., 1989; DeLong, 1990; Kravitz et al., 2010), with D1R-MSN and D2R-MSN from the NAc and DMS playing antagonistic roles in psychostimulant-induced behavioral alterations. Briefly, ablation (Durieux et al., 2012), reversible blockade of synaptic transmission (Hikida et al., 2010), optogenetic inhibition (Ferguson et al., 2011; Chandra et al., 2013; Calipari et al., 2016) or chemogenetic silencing (Ferguson et al., 2011; Yager et al., 2019) of D1R-MSN tends to dampen behavioral adaptations to psychostimulants, while their optogenetic (Lobo et al., 2010) or chemogenetic (Heinsbroek et al., 2017) activation enhances these behavioral responses. In the case of D2R-MSN, their ablation (Durieux et al., 2009) or chemogenetic inhibition (Ferguson et al., 2011; Bock et al., 2013; Heinsbroek et al., 2017) tends to enhance psychostimulant-evoked adaptations, while their activation by chemogenetic (Farrell et al., 2013) or optogenetic (Lobo et al., 2010; Bock et al., 2013; Song et al., 2014) has opposite effects.

Few studies started to explore the output targets of MSN subpopulations involved in such psychostimulant-induced adaptations. For instance, selective inhibition of D1R-MSN-to-VP projections is sufficient to reduce reinstatement of cocaine seeking (Pardo-Garcia et al., 2019), while stimulation

of putative D1R-MSN-to-lateral hypothalamus projections enhances drug seeking (Larson et al., 2015). In the same vein, depotentiation of D1R-MSN-to-VP projections after repeated cocaine exposure abolishes locomotor sensitization (Creed et al., 2016).

The aforementioned findings support the dichotomic view of D1R-MSN and D2-MSN playing antagonistic roles in drug-induced adaptations. Intriguingly, this goes against recent findings suggesting that the two MSN subtypes rather seem to act in a concerted fashion to control reward-related behavioral responses (Cui et al., 2013; Tecuapetla et al., 2016; Vicente et al., 2016; Sheng et al., 2019). In fact, optogenetic-mediated self-stimulation was described for both D1R-MSN and D2R-MSN of the NAc (Cole et al., 2018) and dorsolateral striatum (DLS) (Vicente et al., 2016). Comparably, inhibition of either MSN subpopulations in the NAc similarly increases unproductive reward seeking (Lafferty et al., 2020). In similar vein, transient optogenetic manipulations of both D1R-MSN and D2R-MSN in the NAc support a pro-motivational role for both cell types (Soares-Cunha et al., 2016, 2018; Natsubori et al., 2017; Tsutsui-Kimura et al., 2017). However, chemogenetic inhibition of NAc or DMS D2R-MSN rather potentiate performance in a motivational task (Carvalho Poyraz et al., 2016; Gallo et al., 2018). Such discrepancies between chemogenetic and optogenetic may stem from differences in duration and/or timing of D2R-MSN manipulations, but also from differential effects on feedback modulation by DA transmission (Olivetti et al., 2020; Soares-Cunha et al., 2020). Of note, activity and recruitment of MSN subpopulations in discrete phases of reward-seeking also seem to differ between sub-regions of the NAc (Tsutsui-Kimura et al., 2017). Altogether, these data regarding non-drug reward suggest a complex interplay between both MSN subpopulations for the control of reward processing rather than purely antagonistic actions, and call for caution regarding the interpretation of the results obtained through manipulations of MSN activity on drug-related behaviors since they could reflect perturbations of reward processing *per se*, rather than specific alterations of drug-induced behavioral adaptations. They also raise the intriguing idea that psychostimulant exposure may induce enduring alterations that bias MSN microcircuits toward a more dichotomic dynamic. This is in accordance with the observation that repeated cocaine exposure strengthens afferences from the basolateral amygdala onto D1R-MSN, but not D2R-MSN (MacAskill et al., 2014) and progressively enhances and dampens the activity of D1R-MSN and D2-MSN, respectively (van Zessen et al., 2021).

In this context, the work from the Luscher's group was pioneer in establishing causal links between drug-induced synaptic adaptations onto D1R-MSN and specific behavioral alterations. They first showed that cocaine-induced locomotor sensitization is associated with a potentiation of cortical excitatory inputs onto NAc D1R-MSN, but not D2R-MSN, which optogenetic-mediated depotentiation reverses cocaine-induced sensitization (Pascoli et al., 2012). It has been proposed that the decrease in G protein-gated inwardly rectifying K⁺ (GIRK)-dependent signaling in the prelimbic cortex induced by repeated cocaine exposure (Hearing et al., 2013) may participate to cocaine-evoked increase of glutamate transmission onto D1R-MSN.

Genetic ablation of GIRK channel activity in cortical pyramidal neurons has indeed been shown to selectively enhance AMPA receptor-dependent glutamate transmission onto NAc D1R-MSN and increase the motor effects of cocaine (Marron Fernandez de Velasco et al., 2017). Using cocaine self-administration, the Lüscher's group further demonstrated that drug withdrawal induces a potentiation of cortical and hippocampal projections onto NAc D1R-MSNs. Strikingly, optogenetic manipulations of such projections during the withdrawal period was sufficient to reverse specific facets of cocaine self-stimulation, i.e., vigor and seeking when hippocampal and cortical inputs were manipulated, respectively (Pascoli et al., 2014b). More recently, they also established that compulsive self-stimulation of dopaminergic transmission – as a model of drug addiction – relies on the potentiation of excitatory projections from the orbitofrontal cortex onto D1R-MSNs of the dorsal striatum (Pascoli et al., 2018). This elegant set of studies highlights that discrete pathway-specific synaptic alterations mediate specific components of psychostimulant addiction and place D1R-MSN as the main subpopulation involved in such processes. However, increases in glutamate transmission onto D2R-MSN have also been reported after long access to a high dose of cocaine in the self-administration (Terrier et al., 2016) and in mice that have been trained for cocaine-administration but refrained from cocaine seeking when placed in an extinguished context (Roberts-Wolfe et al., 2018). However, further studies need to be conducted to unravel the contribution of changes in glutamate transmission onto D2R-MSN in drug-induced behavioral adaptations. This is a key issue since lateral inhibition of D2R-MSN onto D1R-MSN in the NAc has been suggested to play a main role in cocaine-induced locomotor sensitization (Dobbs et al., 2016; Burke et al., 2017), and recent work showed that cocaine-induced CPP is accompanied by a strengthening of the coupling between hippocampal place cells and D2R-MSN (Sjulson et al., 2018). Nonetheless, it is now timely to further explore molecular mechanisms underlying drug-evoked changes of synaptic efficacy at specific inputs projecting onto MSN subpopulations because it may contribute to the identification of relevant molecular targets for the treatment of addiction (Südhof, 2017).

CELL-TYPE-SPECIFIC SIGNALING TRIGGERED BY DRUGS OF ABUSE AND THEIR ROLE IN BEHAVIORAL ADAPTATIONS

The above described studies demonstrate that dopamine-mediated synaptic plasticity at specific glutamate input onto MSN shapes distinct components of behavioral adaptations to psychostimulants. Therefore, identifying the molecular basis underlying the imbalance between dopamine and glutamate transmission triggered by drugs appears as a major challenge, which may contribute to the development of innovative therapeutic strategies.

Because D1R and D2R are respectively coupled to $G_{s/olf}$ and $G_{i/o}$ subtypes, the increase of dopamine concentration

induced by drugs in the NAc activates the cyclic adenosine monophosphate (cAMP) and downstream protein kinase A (PKA) pathway in D1R-MSN, while repressing it in D2R-MSN. When dopamine concentration rises, multiple PKA targets, including glutamate receptors, are therefore regulated in opposite ways in both MSN populations, which leads to a facilitation of glutamate-dependent activation of D1R-MSN and to its inhibition in D2R-MSN (Gerfen and Surmeier, 2011; Gardoni and Bellone, 2015; van Huijstee and Mansvelter, 2015). Accordingly, *in vivo* deep brain live calcium (Ca^{2+}) imaging performed in the dorsal striatum of anesthetized *drd1a-eGFP* or *drd2-eGFP* mice showed that an acute cocaine injection produces a fast increase of intracellular Ca^{2+} in D1R-MSN, while a progressive decrease is observed in D2R-MSN (Luo et al., 2011). The modulation of both MSN's activity by cocaine was shown to rely on the stimulation of DAR, therefore reflecting a DAR-dependent opposite modulation of neuronal activity of both MSN subtypes by cocaine. This was further confirmed by fiber photometry Ca^{2+} imaging in the NAc of freely moving mice where a single injection increases and decreases the frequency of Ca^{2+} transients in D1R-MSN and D2R-MSN, respectively. Of note, mice that have been conditioned in a cocaine-induced CCP paradigm displayed, on the test day, a transient Ca^{2+} rise in NAc D1R-MSN before entering the drug-paired compartment, while Ca^{2+} decreases in D2R-MSN when the animal stays in this compartment (Calipari et al., 2016). Altogether, these studies show that both cocaine and cocaine-associated cues modulate neuronal activity, and therefore Ca^{2+} signaling, in D1R-MSN and D2R-MSN in an opposite manner. This raised question as to the molecular mechanisms by which the stimulation of DAR controls glutamate-dependent excitation of MSN and Ca^{2+} signals in MSN in response to drugs.

N-methyl-D-aspartate receptors (NMDAR) are Ca^{2+} -permeable ionotropic glutamate receptors that have long been recognized as essential for synaptic plasticity, as well as learning and memory (Paoletti et al., 2013). They are expressed by all MSNs and D1R stimulation has been shown to potentiate NMDAR functions (Flores-Hernández et al., 2002; Wittmann et al., 2005). The cell-type-specific role of NMDAR in psychostimulant adaptive behavior was first assessed by Heusner and Palmiter (2005) who generated a mouse line expressing in D1R-expressing cells a mutated version of the obligatory GluN1 subunit of NMDAR with reduced Ca^{2+} permeability. This manipulation prevented cocaine-induced locomotor sensitization and CPP (Heusner and Palmiter, 2005), therefore showing that NMDAR expressed in D1R-expressing neuron contribute to the development of the sensitizing and rewarding effects of cocaine. By contrast, the selective deletion of GluN1 in adenosine A2 receptor (A2AR)-expressing MSN (mostly overlapping with D2R-MSN) preserved amphetamine-mediated CPP (Lambot et al., 2016).

In support of an essential role of NAc NMDAR in drug-adaptive behavior, it has been shown that the inhibition of amphetamine-induced CPP and locomotor sensitization observed in mice bearing a deletion of GluN1 in all D1R-expressing neuron could be rescued by viral-mediated restoration

of GluN1 expression in NAc D1R-MSN, or GluN1 deletion from all MSN (Beutler et al., 2011). Regarding the rewarding effects of cocaine, the deletion of GluN1 in D1R-, but not in A2AR-expressing cells, does not impact the development and extinction of cocaine-induced CPP but blunts cocaine-induced CPP reinstatement (Joffe et al., 2017). As observed for the sensitizing effects of cocaine (Beutler et al., 2011), the deletion of GluN1 in both D1R- and A2AR-expressing cells rescues the inhibition of CPP reinstatement of mice bearing a selective knock-out of GluN1 in D1R-expressing cells (Joffe et al., 2017). A balanced NMDAR signaling in D1R- and D2R-expressing cells seems therefore permissive for drug-adaptive behavior.

Altogether these studies support a functional role of the crosstalk between DAR- and NMDAR-dependent signaling in the NAc in long-lasting responses to psychostimulants. To dissect the molecular mechanisms underlying this crosstalk, we developed an *in vitro* model recapitulating main features of signaling events triggered *in vivo* in the striatum in response to acute cocaine exposure. Using cultured striatal neurons stimulated with a D1R agonist or a low dose of glutamate used separately or in combination (Pascoli et al., 2011; Cahill et al., 2014a), we showed that the stimulation of D1R triggers a cAMP-independent potentiation of NMDAR containing the GluN2B subunit. Upon D1R stimulation, the β/γ subunit of $G_{s/olf}$ activates the tyrosine kinase Fyn, which in turn phosphorylates Tyr¹⁴⁷²-GluN2B subunits of NMDAR (Pascoli et al., 2011). This phosphorylation event favors surface expression of NMDAR at synaptic sites (Hallett, 2006) and facilitates NMDAR-dependent Ca^{2+} signals (Pascoli et al., 2011). This crosstalk between D1R and NMDAR has a functional role since the inhibition of Fyn, or pharmacological blockade of GluN2B, blunts the development of cocaine-induced locomotor sensitization and CPP (Pascoli et al., 2011). Downstream from the receptors, the D1R-mediated potentiation of GluN2B-containing NMDAR triggers a Ca^{2+} -dependent activation of the extracellular signal-regulated (ERK) pathways in the striatum in response to acute cocaine exposure (Pascoli et al., 2011), therefore explaining why cocaine-evoked ERK activation in the striatum requires the coincident stimulation of D1R and NMDAR (Valjent et al., 2000; Pascoli et al., 2011, 2014a; Cahill et al., 2014a,b). The ERK pathway is activated selectively in D1R-MSN (Bertran-Gonzalez et al., 2008) by virtually all drugs of abuse (Valjent et al., 2004) and its pharmacological blockade alters the long-term potentiation at cortical inputs onto D1R-MSN (Pascoli et al., 2012). ERK activation in the striatum also controls morphological changes of D1R-MSN induced by cocaine (Ren et al., 2010; Kim et al., 2011; Dos Santos et al., 2017), as well as the development of the sensitizing and rewarding effects of this drug (Valjent et al., 2000, 2006b) and the reconsolidation of drug-paired contextual cues memories (Miller and Marshall, 2005; Valjent et al., 2006a). The key role of the ERK pathway in persistent drug-adaptive behavior relies on the fact that, once activated in dendrites, ERK translocates to the nucleus (Trifilieff et al., 2009), where it launches epigenetic and transcriptional regulations in D1R-MSN that have been exhaustively reviewed elsewhere (Cahill et al., 2014b;

Pascoli et al., 2014a; Salery et al., 2020). Downstream from D1R and NMDAR, the activity of the Wiskott-Aldrich syndrome protein family verprolin homologous protein 1 (WAVE1), which controls actin polymerization, is also modulated by cocaine exposure. Cell-type-specific manipulation of WAVE1 expression revealed that the selective role of WAVE1 signaling in D1R-, but not in D2R-expressing neurons, in both the development of cocaine-induced CPP and the maintenance of locomotor sensitization, as well as in cocaine-evoked feedback regulation of glutamate transmission onto D1R-MSN (Ceglia et al., 2017).

The canonical cAMP/PKA pathway recruited downstream from D1R stimulation also participates to the potentiation of NMDAR through the direct targeting of NMDAR subunits (Flores-Hernández et al., 2002; Cepeda and Levine, 2006). This pathway also indirectly modulates the amplitude of striatal ERK activation and shapes behavioral responses to psychostimulants in a cell-type-specific manner through the targeting of the cAMP-regulated phosphoprotein (DARPP-32). Once phosphorylated by PKA on Thr³⁴, activated DARPP32 inhibits the protein phosphatase 1 (PP1), which reinforces the phosphorylation of MEK and ERK (Valjent et al., 2005). Cell-type-specific analysis of DARPP32 activity revealed that a PKA-dependent activation of DARPP32 occurs in D1R-MSN in response to cocaine, whereas its cyclin-dependent kinase 5 (cdk-5)-mediated inhibition is detected in D2R-MSN (Bateup et al., 2008), which is consistent with the selective activation of ERK in D1R-MSN. At the behavioral level, deletion of DARPP32 in D1R-MSN or D2R-MSN respectively blunts and increases responses to cocaine (Bateup et al., 2010). The fact that DARPP32 constitutive inactivation in all MSN (Valjent et al., 2005) reduces responses to psychostimulants, suggests that activation of cAMP/PKA/DARPP32 pathways in D1R-MSN predominates over DARPP32 signaling in D2R-MSN to drive drug-adaptive behavior. Activation of the cAMP/PKA/DARPP32 also leads to a PP1-mediated inhibition of the striatal-enriched tyrosine phosphatase (STEP) targeting ERK, therefore reinforcing ERK activation downstream from D1R. STEP is also involved in the crosstalk between D1R- and NMDAR-signaling since STEP promotes NMDAR endocytosis, through the dephosphorylation of GluN2B subunits and therefore modulates the duration of NMDAR-mediated ERK activation (Paul et al., 2003). However, the cell-type-specific function of STEP in D1R-MSN and D2R-MSN in drugs of abuse-induced behavioral adaptations has not been addressed.

The integration of dopamine and glutamate receptor-dependent signaling therefore controls a complex intracellular signaling network, more precisely characterized in D1R-MSN than in D2R-MSN, which drives electrophysiological, morphological and behavioral long-term effects of psychostimulants. As a consequence, the targeting of dopamine and glutamate receptors has been envisioned to alleviate addiction symptoms in human. However, this approach is associated with a loss of efficacy over time and the appearance of deleterious side effects (Cahill et al., 2014b), likely due to the implication of dopamine and glutamate receptors in multiple

physiological functions. This observation supports that there is need for the identification of new strategies to inhibit the dialogue between dopamine and NMDA receptors.

ROLES OF DOPAMINE RECEPTOR HETEROMERIZATION IN DRUGS OF ABUSE-EVOKED BEHAVIORAL RESPONSES

As discussed above, preclinical models of drug exposure established that distinct phases of drug-adaptive behaviors are driven by dopamine-evoked modulation of synaptic transmission at specific glutamate inputs onto MSN subpopulations (Pascoli et al., 2012, 2014b, 2018; MacAskill et al., 2014; Creed et al., 2016). This calls for a better understanding of the precise molecular events underlying the detrimental interplay between dopamine and glutamate signaling triggered by drugs of abuse. In this context, growing evidence supports that receptor heteromerization, which corresponds to direct physical interaction between receptors of distinct subtypes, is a potent mechanism by which receptors can reciprocally fine-tune their functions. The rising interest for these receptor heteromers mostly stems from their functional properties that are distinct from the individual component receptors. Their ability to dynamically modulate binding affinity of component receptors and downstream signaling pathways positions receptor heteromers as targets to consider for the development of more selective pharmacological treatment for multiple neurological and psychiatric disorders (Fiorentini et al., 2003; Cristina et al., 2006; Wang et al., 2012; Borroto-Escuela et al., 2017). Dopamine receptors have been shown to form oligomers with multiple partner receptors (Andrianarivelo et al., 2019). This chapter will be focused on studies that have provided evidence for a functional role of endogenous heteromers formed between dopamine and glutamate receptors in the striatum on drug-adaptive behavior.

Heteromers formed between DAR and NMDAR have been the subject of intense investigations and are considered as key players for the integration of converging dopamine and glutamate signals (Andrianarivelo et al., 2019). Seminal studies from Fang Liu's group established the existence of direct physical interactions between C-terminal ends of D1R and GluN1 subunits of NMDAR in rat hippocampal tissues (Lee et al., 2002). These heteromers were later detected in the striatum *in vivo* (Cahill et al., 2014a), including at synapses (Fiorentini et al., 2003). The stimulation of NMDAR has been shown to increase the presence of D1R in dendritic spines of MSN through a mechanism involving D1R-GluN1 interaction (Scott et al., 2006), therefore suggesting that D1R-NMDAR complexes are formed within, or at close proximity, of synapses. Functionally, D1R-NMDAR heteromerization is required for the potentiation of NMDA-mediated post-synaptic currents by a D1R agonist, as well as for electrically evoked long-term potentiation of cortical inputs onto D1R-MSN (Cahill et al., 2014a). These latter results therefore position D1R-NMDAR heteromers as molecular bridges linking changes in dopamine transmission

to the modulation of glutamate synapses impinging onto D1R-MSN. By contrast, the direct binding of D2R to GluN2B subunits of NMDAR has been shown to mediate the inhibition of NMDAR by dopamine in D2R-MSN (Liu et al., 2006). These observations raise questions about the potential involvement of those two heteromers subtypes in the activation of D1R-MSN and inhibition of D2R-MSN triggered by drug-evoked increase in dopamine. To address this issue, the impact of repeated exposures to psychostimulant on DAR-NMDAR interactions has been studied in both MSN subtypes. We observed that cocaine-induced locomotor sensitization is associated with an increased heteromerization of both D1R-NMDAR and D2R-NMDAR in the NAc (Andrianarivelo et al., 2021). However, the dynamics of these receptor interactions differs since cocaine-evoked D1R-NMDAR heteromerization appears as a transient phenomenon, whereas D2R-NMDAR heteromerization in the NAc core subdivision outlasts a one-week abstinence period. Owing to a temporally controlled disruption of D1R-NMDAR heteromerization in the NAc, it was shown that D1R-NMDAR interactions are required for cocaine-induced ERK activation and for the potentiation of glutamate transmission onto D1R-MSN induced by repeated cocaine exposures. At the behavioral level, inhibiting D1R-NMDAR selectively blocks the development of cocaine-induced locomotor sensitization and CPP but preserves the maintenance of these behaviors. By contrast, inhibiting D2R-NMDAR complexes alters the maintenance of cocaine's sensitizing effects as well as the reinstatement of cocaine-induced CPP (Andrianarivelo et al., 2021), therefore showing that DAR-NMDAR heteromerization in both MSN subtypes shapes distinct components of psychostimulant-adaptive behaviors. Notably, the implication of these heteromers depends on the nature of the reward since disrupting either heteromer subtype in the NAc preserves food reward processing (Andrianarivelo et al., 2021). The involvement of D2R-NMDAR heteromerization in controlling the maintenance of the sensitizing and rewarding effects of cocaine without impacting on natural reward processing points those heteromers as targets of potential therapeutic value. This assumption is reinforced by the fact that such heteromers are also detected in human post-mortem caudate putamen samples from subjects with psychostimulant use disorder and matched controls (Andrianarivelo et al., 2021). Notably, we found a sharp decrease of D2R protein contents in samples from individuals with psychostimulant use disorder, which could partly explain the diminished bioavailability of D2R described in psychostimulant-dependent subjects by PET-imaging (Volkow et al., 1999; Koob and Volkow, 2016; Trifilieff et al., 2017). However, despite this decreased D2R expression, the remaining pool of D2R forming D2R-NMDAR heteromers was threefold higher in subjects with psychostimulant misuse when compared to matched controls (Andrianarivelo et al., 2021), therefore reinforcing that targeting D2R-NMDAR heteromers may be a strategy to pursue in order to alleviate addiction symptoms in human.

In addition to NMDAR, D1R has been shown to form heteromers with D3R both *in vitro* in heterologous systems and *in vivo* in the NAc (Fiorentini et al., 2008; Marcellino et al., 2008), which holds potential interests in preclinical models of addiction. The D3R is enriched in the shell subdivision of the

NAC and is predominantly expressed in D1R-MSN (Sokoloff et al., 1990; Schwartz et al., 1998). Pharmacological activation of D3R potentiates the rewarding effects of cocaine (Caine and Koob, 1995), whereas D3R blockade has the opposite effects (Xi et al., 2005). Accordingly, mice bearing a deletion of D3R display an enhanced acute locomotor response to cocaine, an increased sensitivity to the rewarding effects of amphetamine (Xu et al., 1997), as well as an enhancement of both cocaine-self administration and motivation for cocaine-taking/seeking behavior (Song et al., 2012), therefore supporting that alterations of D3R signaling represent a vulnerability factor toward psychostimulant addiction. D1R-D3R interaction has been shown to increase upon stimulation of both receptors with dopamine and to reciprocally modulate component receptor functions (Fiorentini et al., 2008). Allosteric interactions within this heterodimer are associated with a positive cross-talk between both receptors that drives a downstream beta-arrestin 1-biased signaling triggering ERK activation and promoting locomotor responses (Marcellino et al., 2008; Guitart et al., 2014, 2019). Even though D3R expression and D1R-D3R heteromers have been shown to increase in preclinical models of L-DOPA induced dyskinesia and to promote dyskinesia (Farré et al., 2015; Solis et al., 2017), further work is needed to characterize the potential implication of D1R-D3R heteromers in drug-evoked long-term adaptations.

DRUG-EVOKED MORPHOLOGICAL CHANGES IN MEDIUM-SIZED SPINY NEURONS SUBTYPES AND REGULATION OF SYNAPTOGENESIS

Psychostimulant-evoked connectivity changes of dopaminergic neurons may contribute to the long-lasting effects of psychostimulants. In fact, acute and repeated cocaine injections, as well as cocaine self-administration, trigger an increase of MSN dendritic spine density (Golden and Russo, 2012; Marie et al., 2012; Dos Santos et al., 2017), which has been correlated to an increase in synapse density, as detected by electron microscopy after repeated cocaine exposure (Alcantara et al., 2011). The enhancement of spine density is cell-type-specific as it is confined to D1R-MSN (Dobi et al., 2011; Kim et al., 2011). Multiple strategies, including knock-out, pharmacological dissections, and virally mediated knock-down have been used to identify the molecular bases of this structural plasticity (Russo et al., 2010; Golden and Russo, 2012). The picture that has emerged is the one of pluralism, with multiple molecular pathways appearing as essential for cocaine-induced increased spine density. Extracellular signals, including BDNF or glutamate and dopamine acting in synergy, activate signaling pathways such as Akt (Cahill et al., 2016) or ERK (Ren et al., 2010), which impact on neuronal morphology by modulating actin dynamics through monomeric G proteins such as Rac1 (Dietz et al., 2012). By targeting transcription factors, these same signaling pathways also regulate transcriptional levels of others kinases, such as CDK5 (Kumar et al., 2005) or CaMKII (Robison et al., 2013),

which are themselves controlling structural plasticity (Norrholm et al., 2003). Redundancy between components of this complex signaling network is exemplified by the observation that selective inhibition of the transcription factors Elk1 (Besnard et al., 2011) or CREB (Brown et al., 2011), which are activated downstream from the ERK pathway, fully blocks cocaine-evoked increase in MSN dendritic spine density. Extracellular matrix proteins and cell-cell adhesion also play an essential role in cocaine-induced increase in spine density, notably through integrins (Chen et al., 2008; Wiggins et al., 2009; Kerrisk and Koleske, 2013), SynCAM1 (Giza et al., 2013), or thrombospondin (Wang et al., 2021).

Those studies have been conducted on fixed cerebral tissues, although spine formation involves distinct steps with spine growth, eventually followed by spine maintenance. A time-lapse study allowed to distinguish between these two steps and unraveled distinct underlying molecular mechanisms that are both dependent ERK activation. Spine formation was followed in D1R-MSN by two-photon microscopy in adult striatal slices after co-stimulation with glutamate and a D1R agonist, a co-stimulation paradigm recapitulating the main molecular events triggered by cocaine *in vivo* (Pascoli et al., 2011). This approach established that ERK activation, but neither transcription nor translation, was essential for spine growth. By contrast, the ERK-mediated activation of the cytoplasmic kinase MNK-1, as well as translation, but not transcription, was required for spine maintenance during the hour following spine growth. Hence, spine growth relies on ERK acting on cytoplasmic targets, while early spine maintenance could rely on an ERK-mediated activation of local translation since MNK-1 is known to target the translation initiation factor eIF4E (Bramham et al., 2016). However, long-term spine maintenance involves transcriptional regulation since the blockade of ERK-dependent activation of the transcription factor Elk-1 inhibits spine density increase (Besnard et al., 2011). These findings therefore support a three-step model by which the rapid activation of ERK induced by cocaine initially instructs spine growth, likely through the targeting of cytoplasmic substrates. In a second step, ERK activates local translation through MNK-1 for early spine stabilization and ERK activation finally drives gene expression, notably *via* the targeting of Elk-1, which is required for long-term spine maintenance.

An open question is whether the increased spine density observed after repeated injections is solely due to the first injection, or whether each injection would induce new spines. A single cocaine administration leads to a rapid and long-lasting increase in spine density, which is detectable as early as 1-h post-cocaine exposure and lasts as long as 1 month after cocaine administration (Dos Santos et al., 2017). The fact that the increase in MSN spine density is not higher after chronic regimen compared to single injection may indicate that the enhancement of spine density after chronic cocaine is not the simple sum of repeated waves of spine growth. Accordingly, *in vivo* time-lapse imaging in the prefrontal cortex revealed that each cocaine injection induces spine formation, with some spines being eliminated and others being maintained, drawing a progressive increase in density reaching an overall stable increased density after five cocaine injections (Muñoz-Cuevas et al., 2013). Along those lines, a meta-analysis of articles in which

spine density was measured after various regimens of cocaine administration (Anderson and Self, 2017) reported that, while all studies observed increased spine density after repeated cocaine injections, the only studies reporting long-lasting increase in spine density used protracted regimens of cocaine exposure. This observation supports that, while a single cocaine injection induces spine density increase, not all spines are stabilized and repeated injections induce repeated spine growth phases leading to more persistent increase in spine density. Although comparing the percentages of dendritic spine increase between studies is difficult, it also appears that the amplitude of this increase is not lower after a single injection as compared to chronic regimens, therefore suggesting that the repetition of cocaine administration does not scale up spine density but would allow the persistence over time of newly formed spines. Structural plasticity thus seems a progressive process through repetition of cocaine administration leading to a stabilized increased spine number on D1R-MSN dendrites.

Another important question is how psychostimulant-evoked changes in spine density relate to functional plasticity? An important parameter to consider for this question is also the size of the spine, more specifically the volume of the spine head, since it correlates with synaptic transmission efficacy (Holler et al., 2021). In the case of a single cocaine administration, the increased spine head volume (Dos Santos et al., 2017) correlates with increased synaptic events in activated c-Fos-positive MSN (Koya et al., 2012) and long-term potentiation (Pascoli et al., 2012). However, the picture is far less clear for other regimens of cocaine administration. Chronic cocaine injection induces a reduction of AMPA/NMDA currents ratio (Kourrich et al., 2007) as a consequence of decreased AMPA currents at single synapse (Khibnik et al., 2016), which seems in contradiction with an increased spine density. Following withdrawal from cocaine, the AMPA/NMDA currents ratio is then increased (Kourrich et al., 2007), while spine density remains stable. One possible explanation for this discrepancy is that chronic cocaine induces silent synapses, which have been shown to become active after withdrawal. Hence, while a first cocaine injection would create more dendritic spines and potentiate glutamatergic transmission, repeated injection would induce new spines hosting silent synapses that would become active upon deprivation (Boudreau et al., 2007; Graziane et al., 2016). Along those lines, some studies reported that chronic cocaine increases the percentage of spines with small size, which is compatible with an increase of AMPAR-lacking silent synapses (LaPlant et al., 2010; Dietz et al., 2012; Cahill et al., 2016; Wang et al., 2021), whereas an enhancement of dendritic spine heads has been reported after a protracted withdrawal from cocaine (Graziane et al., 2016). By contrast, other studies reported either no changes (Dumitriu et al., 2012; Heck et al., 2015) or an increase (Dobi et al., 2011) in spine size 1 or 2 days after the last cocaine injection. Nevertheless, a prevailing hypothesis is that an increase in density of small spines followed by an increase in density of larger spines may correspond to cocaine-evoked initial generation of silent synapses followed by their unsilencing during prolonged withdrawal (Wright et al., 2020).

The above-described studies focus on the impact of psychostimulant on dendritic spine density, size and shape. A key question is how such changes in dendritic spines relate to drug-induced alterations in striatal connectivity? Spines are protrusions hosting glutamatergic post-synapse, an increased spine density implies a change in synaptic integration without bringing information on the origin of the afferents. Both D1R-MSN and D2R-MSN share similar morphology and have the same spine density in the dorsal striatum (Suárez et al., 2014; Suarez et al., 2016; Gagnon et al., 2017) as well as in the NAc (MacAskill et al., 2014). The first dendritic segment is devoid of spines, usually ending with a branching point. Spine density is then constant throughout the dendrite, only the very distal part showing a higher density. Glutamate afferents impinging onto MSN's spines in the dorsal striatum originate from neocortex, thalamus, with very few afferents from the amygdala; while in the NAc glutamate inputs come from neocortex, thalamus, basolateral amygdala, and ventral hippocampus (Sesack and Grace, 2010). Projection neurons from the thalamus express the vesicular Glutamate Transporter of type 2 (VGLUT2), while the other afferents express VGLUT1. In the dorsal striatum, the proportion of spines connected with neocortical VGLUT1 boutons or with thalamic VGLUT2 boutons is similar and this applies to glutamate inputs onto both D1R-MSN and D2-MSN (Doig et al., 2010). However, while all VGLUT1 boutons contact spines, 70% of VGLUT2 boutons contact spines and 30% of VGLUT2 boutons make synapse on the dendritic shaft (Doig et al., 2010). Analysis of dendrites in a knock-in mouse allowing the visualization of all VGLUT1 boutons revealed that 50% of spines are in contact with VGLUT1 boutons in both the core (Heck et al., 2015) and the shell (Dos Santos et al., 2017) subdivisions. Furthermore, spines in contact with VGLUT1 and VGLUT2 boutons are uniformly distributed along the dendrite (Dos Santos et al., 2017). This was confirmed by viral labeling of afferents from prefrontal cortex, amygdala, and thalamus, which has revealed that those afferents do not contact spines in a clustered manner (Xia et al., 2020). Upon acute and chronic cocaine administration, the enhancement of spine density is associated with an increase in spines contacting VGLUT1- and VGLUT2-expressing pre-synaptic boutons in the NAc (Heck et al., 2015; Dos Santos et al., 2017). Interestingly, the percentage of spines in contact with VGLUT1 boutons remains constant, meaning that the ratio of spines in contact with VGLUT1 and VGLUT2 afferents is not modified upon exposure to cocaine. Since afferents from prefrontal cortex, amygdala, and ventral hippocampus all express VGLUT1, further studies are needed to depict the respective contribution of those structures to connectivity change on to MSN subpopulations. However, the viral-mediated labeling of amygdalar afferents, coupled to manipulations of their activity through optogenetic, revealed that inhibition of those afferents blunted cocaine-evoked spine density increase, which, however, does not exclude a similar necessity for other afferents (MacAskill et al., 2014).

Dopaminergic afferents also undergo structural plasticity upon cocaine administration. The majority of dopaminergic boutons do not contact MSN dendrites (Descarries et al., 1996), but their density is such that they are never located further than

1micron from a glutamate synapse (Moss and Bolam, 2008). However, 20% of MSN spines have a dopaminergic bouton apposed to their neck (Moss and Bolam, 2008; Dos Santos et al., 2018). Cocaine-induced locomotor sensitization has been shown to correlate with an increase in dopaminergic boutons in the NAc shell subdivision, with a strong increase in the percentage of spines displaying dopaminergic boutons apposed to the neck of MSN dendritic spines (Dos Santos et al., 2018). This remodeling of dopaminergic connectivity may have an important role in modulating plasticity at glutamate synapse since the release of DA within a short-time window has been shown to unlock the head spine size increase induced by glutamate (Yagishita et al., 2014). One long-standing question remains as whether spines bearing dopaminergic boutons apposed to their neck have distinct integrative properties, and whether those spines are preferentially connected with specific glutamate afferents. Recent studies highlighted that glutamate synapses onto MSN originating from distinct brain regions display distinctive properties (Deroche et al., 2020) and are differentially modulated by dopamine (Christoffel et al., 2021). However, further work is needed to determine if these functional differences recorded by electrophysiology have a morphological counterpart.

The mode of formation of striatal synapses may also have relevant implications for rules of connectivity. While an increased density in MSN dendritic spine contacting VGLUT1 boutons and dopaminergic boutons has been reported in response to repeated cocaine administration, no change in the density of VGLUT1 boutons was detected. This implies that newly formed spines contact already existing boutons, which had been proposed as a possible mode of synaptogenesis in the adult brain (Holtmaat and Svoboda, 2009). Glutamatergic boutons making synapses with two spines has been reported in the striatum by electron microscopy (Doig et al., 2010), and the occurrence of two spines in contact with a single bouton is increased after cocaine exposure (Heck et al., 2015; Dos Santos et al., 2017). In addition, time-lapse analysis of synaptogenesis in adult striatum slice showed that new spines contact VGLUT1 boutons present before initiation of spine growth (Dos Santos et al., 2017). The formation of synapses on preexisting boutons could have important implications for the integrative properties of the striatal network. The case of two spines from the same dendrite connected to a common presynapse implies temporal summation of synaptic inputs arising from the same glutamatergic neuron. In the case of a common presynapse for two dendritic spines from two distinct MSN, the newly formed spine would imply an increase in the number of neurons making inputs to a MSN, rather than an increase in the number of inputs arising from the same glutamatergic neuron. Indeed, in the striatum, boutons along the glutamatergic axon are separated by 10 micrometers on average and exhibit rather linear geometry (Kincaid et al., 1998; Zheng and Wilson, 2002), it is therefore unlikely that a glutamatergic axon builds several connections with one MSN dendrite. Dendritic spines have been widely studied in the context of drugs of abuse, bringing insights in their morphological changes, rules of formation and the associated molecular mechanisms. It should however be noted that a putative causal link between dendritic spine changes and

drug-induced behavior remains an open question as long as the methods by which spine changes are blocked interfere with other cellular functions.

STRESS-INDUCED ADAPTATIONS AND THEIR COMMONALITIES WITH DRUG-INDUCED REMODELING: TOWARD THE IDENTIFICATION OF SHARED MOLECULAR SUBSTRATES

This review provided so far compelling evidence for cell-type-specific adaptations in striatal MSN, their role in the neurobiological impact of psychostimulants on the brain, and how they contribute to substance use disorder (SUD). Although SUD are complex multifactorial psychiatric conditions, stressful experiences constitute a primary factor that can potentiate responses to most licit and illicit abused substances and therefore favor the appearance of addictive behaviors (Sinha, 2001). Importantly, stress has been widely acknowledged to increase drug-craving states, which are a deterrent to quit drug use, and risks of relapse when one individual is experiencing negative life experiences or when exposed to stress-associated cues (George and Koob, 2017; Wemm and Sinha, 2019).

Epidemiological and clinical data indicate that people suffering from SUD often experience, at least, a second psychiatric condition, distinct from drug abuse, such as mood disorders. When two pathologies occur, simultaneously or sequentially, in the same person, they are described as comorbid. In addition to time correlation, comorbidity also implies interactions between the illnesses that affect the course and prognosis of both. A major finding in psychopathology research is that comorbidity is the rule rather than the exception. Comorbid SUD and psychiatric disorders are indeed commonly encountered in our modern society. However, they often lack adequate treatment and are mostly associated with poor prognosis. Therefore, comorbidity has emerged as a major clinical, public, and research issue (Dani and Harris, 2005). The high prevalence of co-occurrence of two psychiatric conditions is likely to reflect common, or at least partially overlapping, neuronal substrates as well as genetic and environmental factors. As for SUD, the likelihood of developing mood disorders is also largely influenced by one's ability to cope with stressful challenges (Riboni and Belzung, 2017). Hence, stress stands as a core component for virtually all psychiatric conditions and therefore a close examination of the impact of stress on the brain is essential to understand the potential underpinning mechanisms contributing to SUD and comorbid psychiatric diseases. The hypothalamo-pituitary adrenal (HPA) axis is the pivot for the stress response. Over activation of the HPA axis can rapidly switch processes from adaptive to maladaptive, and hence, the stress response can favor numbers of mental conditions and impede their remission; for example, exposure to trauma and stress increases the risks of depressive episodes and facilitates their recurrence. Interaction with modulatory systems is key to apprehend how stress impairs coping with the external

world. The noradrenergic system has been historically the primary focus of stress network. However, a core component of mental disorders implicates alterations of reward processes that are now consistently associated with stress reaction (Marinelli and McCutcheon, 2014; Vaessen et al., 2015; Pignatelli et al., 2017). Indeed, stress-induced alterations of the reward circuitry have been reported in both humans and rodents (Russo and Nestler, 2013). In rodents, a causal link has been established between the dysregulation of VTA DA neurons activity and the appearance of depressive-like symptoms including social withdrawal and anhedonia (Barik et al., 2013; Chaudhury et al., 2013). Increased release of dopamine with the NAc has been observed following acute social defeat, repeated forced swim test or exposure to threatening social cues following chronic social defeat (CSD; Tidey and Miczek, 1996; Lemos et al., 2012; Barik et al., 2013). Notably, this modulation of dopamine release relied on the release of corticotropin releasing hormones, and its action at both CRF type 1 and 2 receptors, as well as glucocorticoids, the ultimate actor of the HPA axis, *via* activation of glucocorticoid receptors.

Several models of stress with various degrees of duration and intensity have been developed in order to mimic symptoms reminiscent of human mood disorders including depression (Gray et al., 2015). Although these models cannot fully replicate the complexity of the human condition, they allow to study key aspects of the pathology and to understand the underlying mechanisms. Amongst these models, the CSD model, which induces depressive-like symptoms in mice susceptible to stress, allows the possibility of studying resiliency to stress as a subgroup of mice submitted to CSD do not develop any sign of the pathology (Golden et al., 2011).

As largely evidenced in the sections related to drugs of abuse, dopamine has a key role in filtering excitatory inputs to the NAc. Similarly, stress has been shown to dysregulate excitatory inputs to the NAc in a projection-specific manner. Indeed, an enhancement of thalamic-NAc and ventral hippocampal-NAc synaptic transmission was observed in mice susceptible to CSD (Bagot et al., 2015; Christoffel et al., 2015; Muir et al., 2020). Conversely, the stimulation of mPFC and amygdala inputs promoted resilience to stress (Bagot et al., 2015). When examining the impact of CSD on AMPA/NMDA ratio, increases were observed only at thalamic-NAc, but not PFC-NAc, synapses (Christoffel et al., 2015). Although, clearly revealing a complex impact of stress at a circuit level, these studies did not address whether these changes in synaptic transmission occurred in specific MSNs subpopulations.

Examining stress-induced cell-type-specific adaptations in the NAc, chronic restraint stress was shown to decrease AMPA/NMDA ratio in D1R-expressing neurons, while D2R-expressing neurons remained unaffected (Lim et al., 2012). The authors have used electrical stimulation to measure AMPA/NMDA ratio therefore it remains to be determined if these adaptations occur at selective inputs onto the NAc. These changes in synaptic efficacy were driven by α -melanocyte-stimulating hormone *via* its action on the melanocortin type 4 receptor (Lim et al., 2012). Targeting this signaling pathway *via* Sh-RNA was sufficient to reverse stress-induced anhedonia

(Lim et al., 2012). Within this line of research, CSD stress was shown to decreased excitatory synaptic inputs to D1R-MSN and increased in D2R-MSN in susceptible mice (Francis et al., 2015). Furthermore, this defeat protocol triggered changes in the intrinsic properties and *in vivo* activity of D1R-MSN; indeed, increased excitability of D1R-MSN was reported following CSD. Activation of D1R-MSN *via* optogenetic stimulation reversed social aversion, while their pharmacogenetic silencing conferred stress susceptibility (Francis et al., 2015). In contrast, manipulating D2R-MSN's activity, either enhancing or decreasing, failed to alter behavioral responses to CSD (Francis et al., 2015). These differences in D1R-MSN vs D2R-MSN responsiveness were also reported using exposure to mild repeated foot shocks (Pignatelli et al., 2021). Increased AMPA/NMDA ratio were observed in D1R-MSNs and reflected an increase in AMPAR currents without alterations in NMDAR-mediated responses in stressed mice when compared to control group. These stress-induced potentiation at D1R-MSNs synapses occurred at inputs originating from the ventral hippocampus and were associated to the appearance of anhedonia and passive coping (Pignatelli et al., 2021). Strikingly, these changes in synaptic plasticity were absent in D2R-MSNs (Pignatelli et al., 2021). Regardless of the nature of the stressor, which varied from physical to psychological, D1R- and D2R-MSN are differently affected by stressful experiences. To date, D1R-MSN appear cardinal in the appearance of symptoms reminiscent of psychiatric conditions such as depression and traumatic memories.

Scarce studies examined the impact of stress on inhibitory synapses within the NAc. Recently, a decreased expression of neuroligin-2 was reported in post-mortem tissue analyses from the NAc of depressed patients (Heshmati et al., 2018). These findings were of importance since, in contrast to other members of the neuroligin family of cell adhesion molecules, neuroligin-2 expression is restricted to inhibitory synapses (Ali et al., 2020). Mirroring the clinical data, CSD triggered a down regulation of neuroligin-2 expression (Heshmati et al., 2018). This decrease was restricted to D1R-MSN as CSD failed to alter its level within D2R-MSN. Further evidence for an impact of stress on NAc inhibitory synapses arose from the study of Heshmati et al. (2020) who demonstrated a decrease in vesicular GABA transporter and gephyrin in postmortem NAc tissues from both depressed patients and socially defeated mice, without determining whether one MSN cell-type was preferentially affected (Heshmati et al., 2020). However, the expression of at least three key molecular components of inhibitory synapses were shown to be modulated by stress and therefore constitute a strong impetus to further investigate how stressful life experiences can alter the balance between excitation and inhibition with the NAc.

Alterations in MSN cellular architecture has been associated with dopamine-dependent neuronal adaptations (Alberquilla et al., 2020), especially in the context of drug administration (see previous section). This structural plasticity contributes to a stable rewiring of synaptic connections impinging on the flow of information within delineated brain networks. Using sholl analysis, susceptible mice were shown to present reduced dendritic length and branch points in D1R-, but not

D2R-expressing neurons (Francis et al., 2017; Fox et al., 2020). Yet, the spine density remained unaffected in D1R-MSNs, while it appeared enhanced in D2R-MSNs (Francis et al., 2017; Fox et al., 2020). These changes were specific to the NAc as morphology of D1R-MSNs remained unaltered in the dorsal striatum (Fox et al., 2020). Importantly, when probing for both cell-type- and spine-type-specific comparisons, no changes in synaptic strength were reported in either D1R-MSN or D2R-MSN subpopulations of susceptible mice contrasting with the impact of cocaine (Khibnik et al., 2016). Changes in synaptic strength only occurred in resilient mice, which exhibit an increase of mushroom-shaped spines in D1R-MSN and a decrease in D2R-MSN. A better understanding of the mechanism underpinning these functional adaptations in resilient mice may help design new treatments to ease depressive symptoms.

The differential impact of stress on D1R-MSN and D2R-MSN are also found at the molecular and epigenetic levels. Indeed, alterations in gene expression programs underpin enduring physiological and behavioral adaptations that contribute to the appearance of depression symptomatology. Recently, a whole-genome sequencing of patients with recurrent major deficit disorders identified a significant increase of the signal for the *SIRT1* locus, which encodes a histone deacetylase (CONVERGE consortium, 2015). Increases in SIRT1 is observed following CSD highlighting the translational importance of the findings. Its selective deletion or over-expression in D1R-MSN produced increased and decreased stress coping, respectively, while modulating its expression in D2R-MSN had no consequence on stress outcome (Kim et al., 2016). Of interest, in light of the impact of cocaine on signaling cascades is the modulation by stressful stimuli of the PKA signaling cascade and recruitment of key proteins such as DFosB and CDK5. Along those lines, Plattner et al. (2015) found that the D1-MSN-specific knock-out of CDK5 engendered increased cAMP levels and PKA activity, as well as the appearance of resilience to chronic social stress and increased stress coping in response to acute stressors (Plattner et al., 2015). Δ FosB expression has long been known to be sensitive to chronic stress exposure (Hope et al., 1994), but it is only recently that a more detailed cell-specific analyses of its expression have been revealed. Increased expression of Δ FosB was observed in D1R-MSN of resilient mice (Lobo et al., 2013) and its overexpression in this MSN subtype promotes resiliency (Vialou et al., 2010). In contrast, in D2R-MSN, increased Δ FosB levels were observed in susceptible animals following CSD (Lobo et al., 2013). This balance between resilience and susceptibility relies, at least in part, on the epigenetic regulation of the *fosb* gene with distinct contribution of acetylation and methylation in D1R-MSN and D12R-MSN (Hamilton et al., 2018).

Overall, this review highlights the complexities of adaptations induced by natural and addictive rewards triggered within

the NAc emphasizing the differential contribution of D1R-MSN and D2 MSNs. We described how stress also hijacks the reward system to induce adaptations at specific inputs to the NAc and also in a cell-type-specific manner. Although, much work is needed to build a comprehensive landscape of the enduring changes occurring following these stimuli, the development of viral tools in order to probe for cell- and projection-specific adaptations has already allowed to decipher some of the key sequences of events that underlie pathological states based on the deregulation of the reward system. Facing the high prevalence of comorbidities between SUD and other psychiatric disorders, with about 50% of patients suffering from one condition also developing the other, it has been proposed that brain dysfunctions underlying SUD and other mood disorders, such as depression, may share partly common pathophysiological mechanisms. Future work should therefore focus on the identification of common molecular events that are essential for SUD and other psychiatric conditions. This is in line with the recent push toward transdiagnostic approach of psychiatric disorders and recommendations, notably from the NIDA, stressing that therapeutic developments should focus on both SUD and comorbid mood disorders, rather than treating each disease independently, which holds poor efficacy (Ross and Peselow, 2012; Kelly and Daley, 2013).

AUTHOR CONTRIBUTIONS

All authors listed have made a substantial, direct, and intellectual contribution to the work, and approved it for publication.

FUNDING

The work from PT, JB, and PV's Labs has been supported by the Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS); the Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale National (INSERM); Sorbonne Université, Faculté des Sciences et Ingénierie; Université de Bordeaux; Institut National de Recherche pour l'Agriculture, l'Alimentation et l'Environnement (INRAE); Université Côte d'Azur; the Agence Nationale pour la Recherche (ANR; ANR-15-CE16-001; ANR-18-CE37-0003-02; ANR-10-IDEX-03-02, and ANR-16-CE16-0022); the Fondation pour la Recherche Médicale (FRM; DEQ20180339159 and DPA20140629798); Institut de Recherche en Santé Publique (IReSP) Aviesan APP-addiction 2019 (20II146-00); NARSAD Young Investigator Grants from the Brain and Behavior Foundation; the BioPsy labex excellence cluster; and the labex BRAIN.

REFERENCES

Alberquilla, S., Gonzalez-Granillo, A., Martín, E. D., and Moratalla, R. (2020). Dopamine regulates spine density in striatal projection neurons in a concentration-dependent manner. *Neurobiol. Dis.* 134:104666.

Albin, R. L., Young, A. B., and Penney, J. B. (1989). The functional anatomy of basal ganglia disorders. *Trends Neurosci.* 12, 366–375.

Alcantara, A. A., Lim, H. Y., Floyd, C. E., Garces, J., Mendenhall, J. M., Lyons, C. L., et al. (2011). Cocaine- and morphine-induced synaptic plasticity in the nucleus accumbens. *Synapse* 65, 309–320. doi: 10.1002/syn.20849

- Ali, H., Marth, L., and Krueger-Burg, D. (2020). Neuroligin-2 as a central organizer of inhibitory synapses in health and disease. *Sci. Sig.* 13:eabd8379. doi: 10.1126/scisignal.abd8379
- Anderson, E. M., and Self, D. W. (2017). It's only a matter of time: longevity of cocaine-induced changes in dendritic spine density in the nucleus accumbens. *Curr. Opin. Behav. Sci.* 13, 117–123. doi: 10.1016/j.cobeha.2016.11.013
- Andrianarivelo, A., Saint-Jour, E., Pousinha, P., Fernandez, S. P., Petitbon, A., De Smedt-Peyrusse, V., et al. (2021). Disrupting D1-NMDA or D2-NMDA receptor heteromerization prevents cocaine's rewarding effects but preserves natural reward processing. *Sci. Adv.* 7:eabg5970. doi: 10.1126/sciadv.abg5970
- Andrianarivelo, A., Saint-Jour, E., Walle, R., Trifilieff, P., and Vanhoutte, P. (2019). Modulation and functions of dopamine receptor heteromers in drugs of abuse-induced adaptations. *Neuropharmacology* 152, 42–50. doi: 10.1016/j.neuropharm.2018.12.003
- Bagot, R. C., Parise, E. M., Peña, C. J., Zhang, H.-X., Maze, I., Chaudhury, D., et al. (2015). Ventral hippocampal afferents to the nucleus accumbens regulate susceptibility to depression. *Nat. Commun.* 6:7062. doi: 10.1038/ncomms8062
- Baimel, C., McGarry, L. M., and Carter, A. G. (2019). The projection targets of medium spiny neurons govern cocaine-evoked synaptic plasticity in the nucleus accumbens. *Cell Rep.* 28, 2256–2263.e3. doi: 10.1016/j.celrep.2019.07.074
- Barik, J., Marti, F., Morel, C., Fernandez, S. P., Lanteri, C., Godeheu, G., et al. (2013). Chronic stress triggers social aversion via glucocorticoid receptor in dopaminergic neurons. *Science* 339, 332–335. doi: 10.1126/science.1226767
- Bateup, H. S., Santini, E., Shen, W., Birnbaum, S., Valjent, E., Surmeier, D. J., et al. (2010). Distinct subclasses of medium spiny neurons differentially regulate striatal motor behaviors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 107, 14845–14850. doi: 10.1073/pnas.1009874107
- Bateup, H. S., Svenningsson, P., Kuroiwa, M., Gong, S., Nishi, A., Heintz, N., et al. (2008). Cell type-specific regulation of DARPP-32 phosphorylation by psychostimulant and antipsychotic drugs. *Nat. Neurosci.* 11, 932–939. doi: 10.1038/nn.2153
- Belin, D., Jonkman, S., Dickinson, A., Robbins, T. W., and Everitt, B. J. (2009). Parallel and interactive learning processes within the basal ganglia: relevance for the understanding of addiction. *Behav. Brain Res.* 199, 89–102. doi: 10.1016/j.bbr.2008.09.027
- Bertran-Gonzalez, J., Bosch, C., Maroteaux, M., Matamalas, M., Herve, D., Valjent, E., et al. (2008). Opposing patterns of signaling activation in dopamine D1 and D2 receptor-expressing striatal neurons in response to cocaine and haloperidol. *J. Neurosci.* 28, 5671–5685. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1039-08.2008
- Besnard, A., Bouveyron, N., Kappes, V., Pascoli, V., Pages, C., Heck, N., et al. (2011). Alterations of molecular and behavioral responses to cocaine by selective inhibition of Elk-1 phosphorylation. *J. Neurosci.* 31, 14296–14307. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2890-11.2011
- Beutler, L. R., Wanat, M. J., Quintana, A., Sanz, E., Bamford, N. S., Zweifel, L. S., et al. (2011). Balanced NMDA receptor activity in dopamine D1 receptor (D1R)- and D2R-expressing medium spiny neurons is required for amphetamine sensitization. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 108, 4206–4211. doi: 10.1073/pnas.1101424108
- Bock, R., Shin, J. H., Kaplan, A. R., Dobi, A., Markey, E., Kramer, P. F., et al. (2013). Strengthening the accumbal indirect pathway promotes resilience to compulsive cocaine use. *Nat. Neurosci.* 16, 632–638. doi: 10.1038/nn.3369
- Borrito-Escuela, D. O., Carlsson, J., Ambrogini, P., Narváez, M., Wydra, K., Tarakanov, A. O., et al. (2017). Understanding the role of GPCR heteroreceptor complexes in modulating the brain networks in health and disease. *Front. Cell. Neurosci.* 11:37. doi: 10.3389/fncel.2017.00037
- Boudreau, A. C., Reimers, J. M., Milovanovic, M., and Wolf, M. E. (2007). Cell surface AMPA receptors in the rat nucleus accumbens increase during cocaine withdrawal but internalize after cocaine challenge in association with altered activation of mitogen-activated protein kinases. *J. Neurosci.* 27, 10621–10635. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2163-07.2007
- Bramham, C. R., Jensen, K. B., and Proud, C. G. (2016). Tuning specific translation in cancer metastasis and synaptic memory: control at the MNK-eIF4E axis. *Trends Biochem. Sci.* 41, 847–858. doi: 10.1016/j.tibs.2016.07.008
- Brown, T. E., Lee, B. R., Mu, P., Ferguson, D., Dietz, D., Ohnishi, Y. N., et al. (2011). A silent synapse-based mechanism for cocaine-induced locomotor sensitization. *J. Neurosci.* 31, 8163–8174. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0016-11.2011
- Burke, D. A., Rotstein, H. G., and Alvarez, V. A. (2017). Striatal local circuitry: a new framework for lateral inhibition. *Neuron* 96, 267–284. doi: 10.1016/j.neuron.2017.09.019
- Cahill, E., Pascoli, V., Trifilieff, P., Savoldi, D., Kappes, V., Lüscher, C., et al. (2014a). D1R/GluN1 complexes in the striatum integrate dopamine and glutamate signalling to control synaptic plasticity and cocaine-induced responses. *Mol. Psychiatry* 19, 1295–1304. doi: 10.1038/mp.2014.73
- Cahill, E., Salery, M., Vanhoutte, P., and Caboche, J. (2014b). Convergence of dopamine and glutamate signaling onto striatal ERK activation in response to drugs of abuse. *Front. Pharmacol.* 4:172. doi: 10.3389/fphar.2013.00172
- Cahill, M. E., Bagot, R. C., Gancarz, A. M., Walker, D. M., Sun, H., Wang, Z.-J., et al. (2016). Bidirectional synaptic structural plasticity after chronic cocaine administration occurs through Rap1 small GTPase signaling. *Neuron* 89, 566–582. doi: 10.1016/j.neuron.2016.01.031
- Caine, S. B., and Koob, G. F. (1995). Pretreatment with the dopamine agonist 7-OH-DPAT shifts the cocaine self-administration dose-effect function to the left under different schedules in the rat. *Behav. Pharmacol.* 6, 333–347.
- Calipari, E. S., Bagot, R. C., Purushothaman, I., Davidson, T. J., Yorgason, J. T., Peña, C. J., et al. (2016). In vivo imaging identifies temporal signature of D1 and D2 medium spiny neurons in cocaine reward. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 113, 2726–2731. doi: 10.1073/pnas.1521238113
- Carvalho Poyraz, F., Holzner, E., Bailey, M. R., Meszaros, J., Kenney, L., Kheirbek, M. A., et al. (2016). Decreasing striatopallidal pathway function enhances motivation by energizing the initiation of goal-directed action. *J. Neurosci.* 36, 5988–6001. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0444-16.2016
- Ceglia, I., Lee, K.-W., Cahill, M. E., Graves, S. M., Dietz, D., Surmeier, D. J., et al. (2017). WAVE1 in neurons expressing the D1 dopamine receptor regulates cellular and behavioral actions of cocaine. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 114, 1395–1400. doi: 10.1073/pnas.1621185114
- Cepeda, C., and Levine, M. S. (2006). Where do you think you are going? The NMDA-D1 receptor trap. *Sci. Signal.* 2006:pe20. doi: 10.1126/stke.3332006pe20
- Chandra, R., Lenz, J. D., Gancarz, A. M., Chaudhury, D., Schroeder, G. L., Han, M.-H., et al. (2013). Optogenetic inhibition of D1R containing nucleus accumbens neurons alters cocaine-mediated regulation of Tiam1. *Front. Mol. Neurosci.* 6:13. doi: 10.3389/fnmol.2013.00013
- Chaudhury, D., Walsh, J. J., Friedman, A. K., Juarez, B., Ku, S. M., Koo, J. W., et al. (2013). Rapid regulation of depression-related behaviours by control of midbrain dopamine neurons. *Nature* 493, 532–536. doi: 10.1038/nature11713
- Chen, Q., Xiong, X., Lee, T. H., Liu, Y., Wetsel, W. C., and Zhang, X. (2008). Neural plasticity and addiction: integrin-linked kinase and cocaine behavioral sensitization. *J. Neurochem.* 107, 679–689. doi: 10.1111/j.1471-4159.2008.05619.x
- Christoffel, D. J., Golden, S. A., Walsh, J. J., Guise, K. G., Heshmati, M., Friedman, A. K., et al. (2015). Excitatory transmission at thalamo-striatal synapses mediates susceptibility to social stress. *Nat. Neurosci.* 18, 962–964. doi: 10.1038/nn.4034
- Christoffel, D. J., Walsh, J. J., Hoerbel, P., Heifets, B. D., Llorach, P., Lopez, R. C., et al. (2021). Selective filtering of excitatory inputs to nucleus accumbens by dopamine and serotonin. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 118:e2106648118. doi: 10.1073/pnas.2106648118
- Cole, S. L., Robinson, M. J. F., and Berridge, K. C. (2018). Optogenetic self-stimulation in the nucleus accumbens: D1 reward versus D2 ambivalence. *PLoS One* 13:e0207694. doi: 10.1371/journal.pone.0207694
- CONVERGE consortium (2015). Sparse whole-genome sequencing identifies two loci for major depressive disorder. *Nature* 523, 588–591. doi: 10.1038/nature14659
- Corvol, J. C., Studler, J. M., Schonn, J. S., Girault, J. A., and Hervé, D. (2001). G α olf is necessary for coupling D1 and A2a receptors to adenylyl cyclase in the striatum. *J. Neurochem.* 76, 1585–1588. doi: 10.1046/j.1471-4159.2001.00201.x
- Creed, M., Ntamati, N. R., Chandra, R., Lobo, M. K., and Lüscher, C. (2016). Convergence of reinforcing and anhedonic cocaine effects in the ventral pallidum. *Neuron* 92, 214–226. doi: 10.1016/j.neuron.2016.09.001
- Cristina, M., Chiara, F., Chiara, B., and Ginetta, C. (2006). The NMDA/D1 receptor complex as a new target in drug development. *Curr. Top. Med. Chem.* 6, 801–808.
- Cui, G., Jun, S. B., Jin, X., Pham, M. D., Vogel, S. S., Lovinger, D. M., et al. (2013). Concurrent activation of striatal direct and indirect pathways during action initiation. *Nature* 494, 238–242. doi: 10.1038/nature11846

- Dani, J. A., and Harris, R. A. (2005). Nicotine addiction and comorbidity with alcohol abuse and mental illness. *Nat. Neurosci.* 8, 1465–1470. doi: 10.1038/nn1580
- DeLong, M. R. (1990). Primate models of movement disorders of basal ganglia origin. *Trends Neurosci.* 13, 281–285. doi: 10.1016/0166-2236(90)90110-V
- Deroche, M. A., Lassalle, O., Castell, L., Valjent, E., and Manzoni, O. J. (2020). Cell-type- and endocannabinoid-specific synapse connectivity in the adult nucleus accumbens core. *J. Neurosci.* 40, 1028–1041. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1100-19.2019
- Descarries, L., Watkins, K. C., Garcia, S., Bosler, O., and Doucet, G. (1996). Dual character, asynaptic and synaptic, of the dopamine innervation in adult rat neostriatum: a quantitative autoradiographic and immunocytochemical analysis. *J. Comp. Neurol.* 375, 167–186.
- Di Chiara, G., and Imperato, A. (1988). Drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentrations in the mesolimbic system of freely moving rats. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 85, 5274–5278. doi: 10.1073/pnas.85.14.5274
- Dietz, D. M., Sun, H., Lobo, M. K., Cahill, M. E., Chadwick, B., Gao, V., et al. (2012). Rac1 is essential in cocaine-induced structural plasticity of nucleus accumbens neurons. *Nat. Neurosci.* 15, 891–896. doi: 10.1038/nn.3094
- Dobbs, L. K., Kaplan, A. R., Lemos, J. C., Matsui, A., Rubinstein, M., and Alvarez, V. A. (2016). Dopamine regulation of lateral inhibition between striatal neurons gates the stimulant actions of cocaine. *Neuron* 90, 1100–1113. doi: 10.1016/j.neuron.2016.04.031
- Dobi, A., Seabold, G. K., Christensen, C. H., Bock, R., and Alvarez, V. A. (2011). Cocaine-induced plasticity in the nucleus accumbens is cell specific and develops without prolonged withdrawal. *J. Neurosci.* 31, 1895–1904. doi: 10.1523/JNEUROSCI.5375-10.2011
- Doig, N. M., Moss, J., and Bolam, J. P. (2010). Cortical and thalamic innervation of direct and indirect pathway medium-sized spiny neurons in mouse striatum. *J. Neurosci.* 30, 14610–14618. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1623-10.2010
- Dos Santos, M., Cahill, E. N., Bo, G. D., Vanhoutte, P., Caboche, J., Giros, B., et al. (2018). Cocaine increases dopaminergic connectivity in the nucleus accumbens. *Brain Struct. Funct.* 223, 913–923. doi: 10.1007/s00429-017-1532-x
- Dos Santos, M., Salery, M., Forget, B., Garcia Perez, M. A., Betuing, S., Boudier, T., et al. (2017). Rapid synaptogenesis in the nucleus accumbens is induced by a single cocaine administration and stabilized by mitogen-activated protein kinase interacting kinase-1 activity. *Biol. Psychiatry* 82, 806–818. doi: 10.1016/j.biopsych.2017.03.014
- Dumitriu, D., LaPlant, Q., Grossman, Y. S., Dias, C., Janssen, W. G., Russo, S. J., et al. (2012). Subregional, dendritic compartment, and spine subtype specificity in cocaine regulation of dendritic spines in the nucleus accumbens. *J. Neurosci.* 32, 6957–6966. doi: 10.1523/JNEUROSCI.5718-11.2012
- Durieux, P. F., Bearzatto, B., Guiducci, S., Buch, T., Waisman, A., Zoli, M., et al. (2009). D2R striatopallidal neurons inhibit both locomotor and drug reward processes. *Nat. Neurosci.* 12, 393–395. doi: 10.1038/nn.2286
- Durieux, P. F., Schiffmann, S. N., and de Kerchove d'Exaerde, A. (2012). Differential regulation of motor control and response to dopaminergic drugs by D1R and D2R neurons in distinct dorsal striatum subregions: dorsal striatum D1R- and D2R-neuron motor functions. *EMBO J.* 31, 640–653. doi: 10.1038/emboj.2011.400
- Everitt, B. J., and Robbins, T. W. (2016). Drug addiction: updating actions to habits to compulsions ten years on. *Annu. Rev. Psychol.* 67, 23–50. doi: 10.1146/annurev-psych-122414-033457
- Farré, D., Muñoz, A., Moreno, E., Reyes-Resina, I., Canet-Pons, J., Dopeso-Reyes, I. G., et al. (2015). Stronger dopamine D1 receptor-mediated neurotransmission in dyskinesia. *Mol. Neurobiol.* 52, 1408–1420. doi: 10.1007/s12035-014-8936-x
- Farrell, M. S., Pei, Y., Wan, Y., Yadav, P. N., Daigle, T. L., Urban, D. J., et al. (2013). A *Gas* DREADD mouse for selective modulation of cAMP production in striatopallidal neurons. *Neuropsychopharmacology* 38, 854–862. doi: 10.1038/npp.2012.251
- Felder, C. C., Williams, H. L., and Axelrod, J. (1991). A transduction pathway associated with receptors coupled to the inhibitory guanine nucleotide binding protein Gi that amplifies ATP-mediated arachidonic acid release. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 88, 6477–6480. doi: 10.1073/pnas.88.15.6477
- Ferguson, S. M., Eskenazi, D., Ishikawa, M., Wanat, M. J., Phillips, P. E. M., Dong, Y., et al. (2011). Transient neuronal inhibition reveals opposing roles of indirect and direct pathways in sensitization. *Nat. Neurosci.* 14, 22–24. doi: 10.1038/nn.2703
- Fiorentini, C., Busi, C., Gorruso, E., Gotti, C., Spano, P., and Missale, C. (2008). Reciprocal regulation of dopamine D1 and D3 receptor function and trafficking by heterodimerization. *Mol. Pharmacol.* 74, 59–69. doi: 10.1124/mol.107.043885
- Fiorentini, C., Gardoni, F., Spano, P., Di Luca, M., and Missale, C. (2003). Regulation of dopamine D 1 receptor trafficking and desensitization by oligomerization with glutamate N -methyl-D-aspartate receptors. *J. Biol. Chem.* 278, 20196–20202. doi: 10.1074/jbc.M213140200
- Flores-Hernández, J., Cepeda, C., Hernández-Echeagaray, E., Calvert, C. R., Jokel, E. S., Fienberg, A. A., et al. (2002). Dopamine enhancement of NMDA currents in dissociated medium-sized striatal neurons: role of D1 receptors and DARPP-32. *J. Neurophysiol.* 88, 3010–3020. doi: 10.1152/jn.00361.2002
- Fox, M. E., Chandra, R., Menken, M. S., Larkin, E. J., Nam, H., Engeln, M., et al. (2020). Dendritic remodeling of D1 neurons by RhoA/Rho-kinase mediates depression-like behavior. *Mol. Psychiatry* 25, 1022–1034. doi: 10.1038/s41380-018-0211-5
- Francis, T. C., Chandra, R., Friend, D. M., Finkel, E., Dayrit, G., Miranda, J., et al. (2015). Nucleus accumbens medium spiny neuron subtypes mediate depression-related outcomes to social defeat stress. *Biol. Psychiatry* 77, 212–222. doi: 10.1016/j.biopsych.2014.07.021
- Francis, T. C., Chandra, R., Gaynor, A., Konkalmatt, P., Metzbower, S. R., Evans, B., et al. (2017). Molecular basis of dendritic atrophy and activity in stress susceptibility. *Mol. Psychiatry* 22, 1512–1519. doi: 10.1038/mp.2017.178
- Gagnon, D., Petryszyn, S., Sanchez, M. G., Borjes, C., Beaulieu, J. M., De Koninck, Y., et al. (2017). Striatal neurons expressing D1 and D2 receptors are morphologically distinct and differentially affected by dopamine denervation in mice. *Sci. Rep.* 7:41432. doi: 10.1038/srep41432
- Gallo, E. F., Meszaros, J., Sherman, J. D., Chohan, M. O., Teboul, E., Choi, C. S., et al. (2018). Accumbens dopamine D2 receptors increase motivation by decreasing inhibitory transmission to the ventral pallidum. *Nat. Commun.* 9:1086. doi: 10.1038/s41467-018-03272-2
- Gardoni, F., and Bellone, C. (2015). Modulation of the glutamatergic transmission by dopamine: a focus on Parkinson, Huntington and Addiction diseases. *Front. Cell. Neurosci.* 9:25. doi: 10.3389/fncel.2015.00025
- George, O., and Koob, G. F. (2017). Individual differences in the neuropsychopathology of addiction. *Dialogues Clin. Neurosci.* 19, 217–229.
- Gerfen, C. R., and Surmeier, D. J. (2011). Modulation of striatal projection systems by dopamine. *Ann. Rev. Neurosci.* 34, 441–466. doi: 10.1146/annurev-neuro-061010-113641
- Giza, J. I., Jung, Y., Jeffrey, R. A., Neugebauer, N. M., Picciotto, M. R., and Biederer, T. (2013). The synaptic adhesion molecule SynCAM 1 contributes to cocaine effects on synapse structure and psychostimulant behavior. *Neuropsychopharmacol* 38, 628–638. doi: 10.1038/npp.2012.226
- Golden, S. A., Covington, H. E., Berton, O., and Russo, S. J. (2011). A standardized protocol for repeated social defeat stress in mice. *Nat. Protoc.* 6, 1183–1191. doi: 10.1038/nprot.2011.361
- Golden, S. A., and Russo, S. J. (2012). Mechanisms of psychostimulant-induced structural plasticity. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2:a011957. doi: 10.1101/cshperspect.a011957
- Gong, S., Doughty, M., Harbaugh, C. R., Cummins, A., Hatten, M. E., Heintz, N., et al. (2007). Targeting cre recombinase to specific neuron populations with bacterial artificial chromosome constructs. *J. Neurosci.* 27, 9817–9823. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2707-07.2007
- Gong, S., Zheng, C., Doughty, M. L., Losos, K., Didkovsky, N., Schambra, U. B., et al. (2003). A gene expression atlas of the central nervous system based on bacterial artificial chromosomes. *Nature* 425, 917–925. doi: 10.1038/nature02033
- Gray, J. M., Chaouloff, F., and Hill, M. N. (2015). To stress or not to stress: a question of models. *Curr. Protoc. Neurosci.* 70, 8.33.1–8.33.22. doi: 10.1002/0471142301.ns0833s70
- Graziane, N. M., Sun, S., Wright, W. J., Jang, D., Liu, Z., Huang, Y. H., et al. (2016). Opposing mechanisms mediate morphine- and cocaine-induced generation of silent synapses. *Nat. Neurosci.* 19, 915–925. doi: 10.1038/nn.4313
- Guitart, X., Moreno, E., Rea, W., Sánchez-Soto, M., Cai, N.-S., Quiroz, C., et al. (2019). Biased G protein-independent signaling of dopamine D1-D3 receptor

- heteromers in the nucleus accumbens. *Mol. Neurobiol.* 56, 6756–6769. doi: 10.1007/s12035-019-1564-8
- Guitart, X., Navarro, G., Moreno, E., Yano, H., Cai, N.-S., Sanchez-Soto, M., et al. (2014). Functional selectivity of allosteric interactions within G protein-coupled receptor oligomers: the dopamine D1-D3 receptor heterotetramer. *Mol. Pharmacol.* 86, 417–429. doi: 10.1124/mol.114.093096
- Hallett, P. J. (2006). Dopamine D1 activation potentiates striatal NMDA receptors by tyrosine phosphorylation-dependent subunit trafficking. *J. Neurosci.* 26, 4690–4700. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0792-06.2006
- Hamilton, P. J., Burek, D. J., Lombroso, S. I., Neve, R. L., Robison, A. J., Nestler, E. J., et al. (2018). Cell-type-specific epigenetic editing at the *fosb* gene controls susceptibility to social defeat stress. *Neuropsychopharmacology* 43, 272–284. doi: 10.1038/npp.2017.88
- Hearing, M., Kotecki, L., Marron Fernandez de Velasco, E., Fajardo-Serrano, A., Chung, H. J., Luján, R., et al. (2013). Repeated cocaine weakens GABAB-girk signaling in layer 5/6 pyramidal neurons in the prelimbic cortex. *Neuron* 80, 159–170. doi: 10.1016/j.neuron.2013.07.019
- Heck, N., Dos Santos, M., Amairi, B., Salery, M., Besnard, A., Herzog, E., et al. (2015). A new automated 3D detection of synaptic contacts reveals the formation of cortico-striatal synapses upon cocaine treatment in vivo. *Brain Struct. Funct.* 220, 2953–2966. doi: 10.1007/s00429-014-0837-2
- Heinsbroek, J. A., Neuhofer, D. N., Griffin, W. C., Siegel, G. S., Bobadilla, A.-C., Kupchik, Y. M., et al. (2017). Loss of plasticity in the D2-accumbens pallidal pathway promotes cocaine seeking. *J. Neurosci.* 37, 757–767. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2659-16.2016
- Heshmati, M., Aleyasin, H., Menard, C., Christoffel, D. J., Flanigan, M. E., Pfau, M. L., et al. (2018). Cell-type-specific role for nucleus accumbens neurotrophin-2 in depression and stress susceptibility. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 115, 1111–1116. doi: 10.1073/pnas.1719014115
- Heshmati, M., Christoffel, D. J., LeClair, K., Cathomas, F., Golden, S. A., Aleyasin, H., et al. (2020). Depression and social defeat stress are associated with inhibitory synaptic changes in the nucleus accumbens. *J. Neurosci.* 40, 6228–6233. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2568-19.2020
- Heusner, C. L., and Palmiter, R. D. (2005). Expression of mutant NMDA receptors in dopamine D₁ receptor-expressing cells prevents cocaine sensitization and decreases cocaine preference. *J. Neurosci.* 25, 6651–6657. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1474-05.2005
- Hikida, T., Kimura, K., Wada, N., Funabiki, K., and Nakanishi, S. (2010). Distinct roles of synaptic transmission in direct and indirect striatal pathways to reward and aversive behavior. *Neuron* 66, 896–907. doi: 10.1016/j.neuron.2010.05.011
- Holler, S., Köstinger, G., Martin, K. A. C., Schuhknecht, G. F. P., and Stratford, K. J. (2021). Structure and function of a neocortical synapse. *Nature* 591, 111–116. doi: 10.1038/s41586-020-03134-2
- Holtmaat, A., and Svoboda, K. (2009). Experience-dependent structural synaptic plasticity in the mammalian brain. *Nat. Rev. Neurosci.* 10, 647–658. doi: 10.1038/nrn2699
- Hope, B. T., Nye, H. E., Kelz, M. B., Self, D. W., Iadarola, M. J., Nakabeppu, Y., et al. (1994). Induction of a long-lasting AP-1 complex composed of altered Fos-like proteins in brain by chronic cocaine and other chronic treatments. *Neuron* 13, 1235–1244. doi: 10.1016/0896-6273(94)90061-2
- Hyman, S. E., and Malenka, R. C. (2001). Addiction and the brain: the neurobiology of compulsion and its persistence. *Nat. Rev. Neurosci.* 2, 695–703. doi: 10.1038/35094560
- Joffe, M. E., Vitter, S. R., and Grueter, B. A. (2017). GluN1 deletions in D1- and A2A-expressing cell types reveal distinct modes of behavioral regulation. *Neuropharmacology* 112, 172–180. doi: 10.1016/j.neuropharm.2016.03.026
- Keiflin, R., and Janak, P. H. (2015). Dopamine prediction errors in reward learning and addiction: from theory to neural circuitry. *Neuron* 88, 247–263. doi: 10.1016/j.neuron.2015.08.037
- Kelly, T. M., and Daley, D. C. (2013). Integrated treatment of substance use and psychiatric disorders. *Soc. Work Public Health* 28, 388–406. doi: 10.1080/19371918.2013.774673
- Kerrisk, M. E., and Koleske, A. J. (2013). Arg kinase signaling in dendrite and synapse stabilization pathways: memory, cocaine sensitivity, and stress. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 45, 2496–2500. doi: 10.1016/j.biocel.2013.07.018
- Khibnik, L. A., Beaumont, M., Doyle, M., Heshmati, M., Slesinger, P. A., Nestler, E. J., et al. (2016). Stress and cocaine trigger divergent and cell type-specific regulation of synaptic transmission at single spines in nucleus accumbens. *Biol. Psychiatry* 79, 898–905. doi: 10.1016/j.biopsych.2015.05.022
- Kim, H.-D., Hesterman, J., Call, T., Magazu, S., Keeley, E., Armenta, K., et al. (2016). SIRT1 mediates depression-like behaviors in the nucleus accumbens. *J. Neurosci.* 36, 8441–8452. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0212-16.2016
- Kim, J., Park, B.-H., Lee, J. H., Park, S. K., and Kim, J.-H. (2011). Cell type-specific alterations in the nucleus accumbens by repeated exposures to cocaine. *Biol. Psychiatry* 69, 1026–1034. doi: 10.1016/j.biopsych.2011.01.013
- Kincaid, A. E., Zheng, T., and Wilson, C. J. (1998). Connectivity and convergence of single corticostriatal axons. *J. Neurosci.* 18, 4722–4731. doi: 10.1523/JNEUROSCI.18-12-04722.1998
- Koob, G. F., and Volkow, N. D. (2016). Neurobiology of addiction: a neurocircuitry analysis. *Lancet Psychiatry* 3, 760–773. doi: 10.1016/S2215-0366(16)00104-8
- Kourrich, S., Rothwell, P. E., Klug, J. R., and Thomas, M. J. (2007). Cocaine experience controls bidirectional synaptic plasticity in the nucleus accumbens. *J. Neurosci.* 27, 7921–7928. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1859-07.2007
- Koya, E., Cruz, F. C., Ator, R., Golden, S. A., Hoffman, A. F., Lupica, C. R., et al. (2012). Silent synapses in selectively activated nucleus accumbens neurons following cocaine sensitization. *Nat. Neurosci.* 15, 1556–1562. doi: 10.1038/nn.3232
- Kravitz, A. V., Freeze, B. S., Parker, P. R. L., Kay, K., Thwin, M. T., Deisseroth, K., et al. (2010). Regulation of parkinsonian motor behaviours by optogenetic control of basal ganglia circuitry. *Nature* 466, 622–626. doi: 10.1038/nature09159
- Kumar, A., Choi, K.-H., Renthall, W., Tsankova, N. M., Theobald, D. E. H., Truong, H.-T., et al. (2005). Chromatin remodeling is a key mechanism underlying cocaine-induced plasticity in striatum. *Neuron* 48, 303–314. doi: 10.1016/j.neuron.2005.09.023
- Kupchik, Y. M., Brown, R. M., Heinsbroek, J. A., Lobo, M. K., Schwartz, D. J., and Kalivas, P. W. (2015). Coding the direct/indirect pathways by D1 and D2 receptors is not valid for accumbens projections. *Nat. Neurosci.* 18, 1230–1232. doi: 10.1038/nn.4068
- Lafferty, C. K., Yang, A. K., Mendoza, J. A., and Britt, J. P. (2020). Nucleus accumbens cell type- and input-specific suppression of unproductive reward seeking. *Cell Rep.* 30, 3729–3742.e3. doi: 10.1016/j.celrep.2020.02.095
- Lambot, L., Chaves Rodriguez, E., Houtteman, D., Li, Y., Schiffmann, S. N., Gall, D., et al. (2016). Striatopallidal neuron NMDA receptors control synaptic connectivity, locomotor, and goal-directed behaviors. *J. Neurosci.* 36, 4976–4992. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2717-15.2016
- LaPlant, Q., Vialou, V., Covington, H. E., Dumitriu, D., Feng, J., Warren, B. L., et al. (2010). Dnm3a regulates emotional behavior and spine plasticity in the nucleus accumbens. *Nat. Neurosci.* 13, 1137–1143. doi: 10.1038/nn.2619
- Larson, E. B., Wissman, A. M., Loriaux, A. L., Kourrich, S., and Self, D. W. (2015). Optogenetic stimulation of accumbens shell or shell projections to lateral hypothalamus produce differential effects on the motivation for cocaine. *J. Neurosci.* 35, 3537–3543. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1524-14.2015
- Lee, F. J. S., Xue, S., Pei, L., Vukusic, B., Chéry, N., Wang, Y., et al. (2002). Dual regulation of NMDA receptor functions by direct protein-protein interactions with the dopamine D1 receptor. *Cell* 111, 219–230. doi: 10.1016/S0092-8674(02)00962-5
- Lemberger, T., Parlato, R., Dassel, D., Westphal, M., Casanova, E., Turiault, M., et al. (2007). Expression of Cre recombinase in dopaminergic neurons. *BMC Neurosci.* 8:4. doi: 10.1186/1471-2202-8-4
- Lemos, J. C., Wanat, M. J., Smith, J. S., Reyes, B. A. S., Hollon, N. G., Van Bockstaele, E. J., et al. (2012). Severe stress switches CRF action in the nucleus accumbens from appetitive to aversive. *Nature* 490, 402–406. doi: 10.1038/nature11436
- Lim, B. K., Huang, K. W., Grueter, B. A., Rothwell, P. E., and Malenka, R. C. (2012). Anhedonia requires MC4R-mediated synaptic adaptations in nucleus accumbens. *Nature* 487, 183–189. doi: 10.1038/nature11160
- Liu, X.-Y., Chu, X.-P., Mao, L.-M., Wang, M., Lan, H.-X., Li, M.-H., et al. (2006). Modulation of D2R-NR2B interactions in response to cocaine. *Neuron* 52, 897–909. doi: 10.1016/j.neuron.2006.10.011
- Lobo, M. K., Covington, H. E., Chaudhury, D., Friedman, A. K., Sun, H., Dames-Werno, D., et al. (2010). Cell type-specific loss of BDNF signaling mimics optogenetic control of cocaine reward. *Science* 330, 385–390. doi: 10.1126/science.1188472

- Lobo, M. K., and Nestler, E. J. (2011). The striatal balancing act in drug addiction: distinct roles of direct and indirect pathway medium spiny neurons. *Front. Neuroanat.* 5:41. doi: 10.3389/fnana.2011.00041
- Lobo, M. K., Zaman, S., Domez-Werno, D. M., Koo, J. W., Bagot, R. C., DiNieri, J. A., et al. (2013). FosB induction in striatal medium spiny neuron subtypes in response to chronic pharmacological, emotional, and optogenetic stimuli. *J. Neurosci.* 33, 18381–18395. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1875-13.2013
- Luo, Z., Volkow, N. D., Heintz, N., Pan, Y., and Du, C. (2011). Acute cocaine induces fast activation of D1 receptor and progressive deactivation of D2 receptor striatal neurons: in vivo optical microprobe [Ca²⁺]_i imaging. *J. Neurosci.* 31, 13180–13190. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2369-11.2011
- Lüscher, C., and Janak, P. H. (2021). Consolidating the circuit model for addiction. *Annu. Rev. Neurosci.* 44, 173–195. doi: 10.1146/annurev-neuro-092920-123905
- Lüscher, C., and Malenka, R. C. (2011). Drug-evoked synaptic plasticity in addiction: from molecular changes to circuit remodeling. *Neuron* 69, 650–663. doi: 10.1016/j.neuron.2011.01.017
- MacAskill, A. F., Cassel, J. M., and Carter, A. G. (2014). Cocaine exposure reorganizes cell type- and input-specific connectivity in the nucleus accumbens. *Nat. Neurosci.* 17, 1198–1207. doi: 10.1038/nn.3783
- Marcellino, D., Ferré, S., Casadó, V., Cortés, A., Le Foll, B., Mazzola, C., et al. (2008). Identification of dopamine D1–D3 receptor heteromers: indications for a role of synergistic D1–D3 receptor interactions in the striatum. *J. Biol. Chem.* 283, 26016–26025. doi: 10.1074/jbc.M710349200
- Marie, N., Canestrelli, C., and Noble, F. (2012). Transfer of neuroplasticity from nucleus accumbens core to shell is required for cocaine reward. *PLoS One* 7:e30241. doi: 10.1371/journal.pone.0030241
- Marinelli, M., and McCutcheon, J. E. (2014). Heterogeneity of dopamine neuron activity across traits and states. *Neuroscience* 282, 176–197. doi: 10.1016/j.neuroscience.2014.07.034
- Marron Fernandez de Velasco, E., Carlblom, N., Xia, Z., and Wickman, K. (2017). Suppression of inhibitory G protein signaling in forebrain pyramidal neurons triggers plasticity of glutamatergic neurotransmission in the nucleus accumbens core. *Neuropharmacology* 117, 33–40. doi: 10.1016/j.neuropharm.2017.01.021
- Miller, C. A., and Marshall, J. F. (2005). Molecular substrates for retrieval and reconsolidation of cocaine-associated contextual memory. *Neuron* 47, 873–884. doi: 10.1016/j.neuron.2005.08.006
- Moss, J., and Bolam, J. P. (2008). A dopaminergic axon lattice in the striatum and its relationship with cortical and thalamic terminals. *J. Neurosci.* 28, 11221–11230. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2780-08.2008
- Muir, J., Tse, Y. C., Iyer, E. S., Biris, J., Cvetkovska, V., Lopez, J., et al. (2020). Ventral hippocampal afferents to nucleus accumbens encode both latent vulnerability and stress-induced susceptibility. *Biol. Psychiatry* 88, 843–854. doi: 10.1016/j.biopsych.2020.05.021
- Muñoz-Cuevas, F. J., Athilingam, J., Piscopo, D., and Wilbrecht, L. (2013). Cocaine-induced structural plasticity in frontal cortex correlates with conditioned place preference. *Nat. Neurosci.* 16, 1367–1369. doi: 10.1038/nn.3498
- Natsubori, A., Tsutsui-Kimura, I., Nishida, H., Bouchekioua, Y., Sekiya, H., Uchigashima, M., et al. (2017). Ventrolateral striatal medium spiny neurons positively regulate food-incentive, goal-directed behavior independently of D1 and D2 selectivity. *J. Neurosci.* 37, 2723–2733. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3377-16.2017
- Nestler, E. J. (2014). Epigenetic mechanisms of drug addiction. *Neuropharmacology* 76, 259–268. doi: 10.1016/j.neuropharm.2013.04.004
- Nestler, E. J., and Lüscher, C. (2019). The molecular basis of drug addiction: linking epigenetic to synaptic and circuit mechanisms. *Neuron* 102, 48–59. doi: 10.1016/j.neuron.2019.01.016
- Norrholm, S. D., Bibb, J. A., Nestler, E. J., Ouimet, C. C., Taylor, J. R., and Greengard, P. (2003). Cocaine-induced proliferation of dendritic spines in nucleus accumbens is dependent on the activity of cyclin-dependent kinase-5. *Neuroscience* 116, 19–22. doi: 10.1016/S0306-4522(02)00560-2
- Olivetti, P. R., Balsam, P. D., Simpson, E. H., and Kellendonk, C. (2020). Emerging roles of striatal dopamine D2 receptors in motivated behaviour: implications for psychiatric disorders. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 126, 47–55. doi: 10.1111/bcpt.13271
- Paoletti, P., Bellone, C., and Zhou, Q. (2013). NMDA receptor subunit diversity: impact on receptor properties, synaptic plasticity and disease. *Nat. Rev. Neurosci.* 14, 383–400. doi: 10.1038/nrn3504
- Pardo-García, T. R., García-Keller, C., Penalzoza, T., Richie, C. T., Pickel, J., Hope, B. T., et al. (2019). Ventral pallidum is the primary target for accumbens D1 projections driving cocaine seeking. *J. Neurosci.* 39, 2041–2051. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2822-18.2018
- Pascoli, V., Besnard, A., Hervé, D., Pagès, C., Heck, N., Girault, J.-A., et al. (2011). Cyclic adenosine monophosphate-independent tyrosine phosphorylation of NR2B mediates cocaine-induced extracellular signal-regulated kinase activation. *Biol. Psychiatry* 69, 218–227. doi: 10.1016/j.biopsych.2010.08.031
- Pascoli, V., Cahill, E., Bellivier, F., Caboche, J., and Vanhoutte, P. (2014a). Extracellular signal-regulated protein kinases 1 and 2 activation by addictive drugs: a signal toward pathological adaptation. *Biol. Psychiatry* 76, 917–926. doi: 10.1016/j.biopsych.2014.04.005
- Pascoli, V., Terrier, J., Espallergues, J., Valjent, E., O'Connor, E. C., and Lüscher, C. (2014b). Contrasting forms of cocaine-evoked plasticity control components of relapse. *Nature* 509, 459–464. doi: 10.1038/nature13257
- Pascoli, V., Hiver, A., Van Zessen, R., Loureiro, M., Achargui, R., Harada, M., et al. (2018). Stochastic synaptic plasticity underlying compulsion in a model of addiction. *Nature* 564, 366–371. doi: 10.1038/s41586-018-0789-4
- Pascoli, V., Turiault, M., and Lüscher, C. (2012). Reversal of cocaine-evoked synaptic potentiation resets drug-induced adaptive behaviour. *Nature* 481, 71–75. doi: 10.1038/nature10709
- Paul, S., Nairn, A. C., Wang, P., and Lombroso, P. J. (2003). NMDA-mediated activation of the tyrosine phosphatase STEP regulates the duration of ERK signaling. *Nat. Neurosci.* 6, 34–42. doi: 10.1038/nn989
- Pignatelli, M., Tejada, H. A., Barker, D. J., Bontempi, L., Wu, J., Lopez, A., et al. (2021). Cooperative synaptic and intrinsic plasticity in a dysynaptic limbic circuit drive stress-induced anhedonia and passive coping in mice. *Mol. Psychiatry* 26, 1860–1879. doi: 10.1038/s41380-020-0686-8
- Pignatelli, M., Umanah, G. K. E., Ribeiro, S. P., Chen, R., Karuppagounder, S. S., Yau, H.-J., et al. (2017). Synaptic plasticity onto dopamine neurons shapes fear learning. *Neuron* 93, 425–440. doi: 10.1016/j.neuron.2016.12.030
- Plattner, F., Hayashi, K., Hernández, A., Benavides, D. R., Tassin, T. C., Tan, C., et al. (2015). The role of ventral striatal cAMP signaling in stress-induced behaviors. *Nat. Neurosci.* 18, 1094–1100. doi: 10.1038/nn.4066
- Ren, Z., Sun, W. L., Jiao, H., Zhang, D., Kong, H., Wang, X., et al. (2010). Dopamine D1 and N-methyl-D-aspartate receptors and extracellular signal-regulated kinase mediate neuronal morphological changes induced by repeated cocaine administration. *Neuroscience* 168, 48–60. doi: 10.1016/j.neuroscience.2010.03.034
- Riboni, F. V., and Belzung, C. (2017). Stress and psychiatric disorders: from categorical to dimensional approaches. *Curr. Opin. Behav. Sci.* 14, 72–77. doi: 10.1016/j.cobeha.2016.12.011
- Roberts-Wolfe, D., Bobadilla, A.-C., Heinsbroek, J. A., Neuhofer, D., and Kalivas, P. W. (2018). Drug refraining and seeking potentiate synapses on distinct populations of accumbens medium spiny neurons. *J. Neurosci.* 38, 7100–7107. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0791-18.2018
- Robison, A. J., Vialou, V., Mazei-Robison, M., Feng, J., Kourrich, S., Collins, M., et al. (2013). Behavioral and structural responses to chronic cocaine require a feedforward loop involving FosB and calcium/calmodulin-dependent protein kinase II in the nucleus accumbens shell. *J. Neurosci.* 33, 4295–4307. doi: 10.1523/JNEUROSCI.5192-12.2013
- Ross, S., and Peselow, E. (2012). Co-occurring psychotic and addictive disorders: neurobiology and diagnosis. *Clin. Neuropharmacol.* 35, 235–243. doi: 10.1097/WNF.0b013e318261e193
- Russo, S. J., Dietz, D. M., Dumitriu, D., Morrison, J. H., Malenka, R. C., and Nestler, E. J. (2010). The addicted synapse: mechanisms of synaptic and structural plasticity in nucleus accumbens. *Trends Neurosci.* 33, 267–276. doi: 10.1016/j.tins.2010.02.002
- Russo, S. J., and Nestler, E. J. (2013). The brain reward circuitry in mood disorders. *Nat. Rev. Neurosci.* 14, 609–625. doi: 10.1038/nrn3381
- Salery, M., Trifilieff, P., Caboche, J., and Vanhoutte, P. (2020). From signaling molecules to circuits and behaviors: cell-type-specific adaptations to psychostimulant exposure in the striatum. *Biol. Psychiatry* 87, 944–953. doi: 10.1016/j.biopsych.2019.11.001

- Schwartz, J.-C., Diaz, J., Bordet, R., Griffon, N., Perachon, S., Pilon, C., et al. (1998). Functional implications of multiple dopamine receptor subtypes: the D1/D3 receptor coexistence. *Brain Res. Brain Res. Rev.* 26, 236–242. doi: 10.1016/S0165-0173(97)00046-5
- Scott, L., Zelenin, S., Malmersjö, S., Kowalewski, J. M., Markus, E. Z., Nairn, A. C., et al. (2006). Allosteric changes of the NMDA receptor trap diffusible dopamine 1 receptors in spines. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 103, 762–767. doi: 10.1073/pnas.0505557103
- Sesack, S. R., and Grace, A. A. (2010). Cortico-basal ganglia reward network: microcircuitry. *Neuropsychopharmacology* 35, 27–47. doi: 10.1038/npp.2009.93
- Sheng, M., Lu, D., Shen, Z., and Poo, M. (2019). Emergence of stable striatal D1R and D2R neuronal ensembles with distinct firing sequence during motor learning. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 116, 11038–11047. doi: 10.1073/pnas.1901712116
- Shuen, J. A., Chen, M., Gloss, B., and Calakos, N. (2008). Drd1a-tdTomato BAC transgenic mice for simultaneous visualization of medium spiny neurons in the direct and indirect pathways of the basal ganglia. *J. Neurosci.* 28, 2681–2685. doi: 10.1523/JNEUROSCI.5492-07.2008
- Sinha, R. (2001). How does stress increase risk of drug abuse and relapse? *Psychopharmacology* 158, 343–359. doi: 10.1007/s002130100917
- Sjulson, L., Peyrache, A., Cumpelik, A., Cassataro, D., and Buzsáki, G. (2018). Cocaine place conditioning strengthens location-specific hippocampal coupling to the nucleus accumbens. *Neuron* 98, 926–934.e5. doi: 10.1016/j.neuron.2018.04.015
- Soares-Cunha, C., Coimbra, B., David-Pereira, A., Borges, S., Pinto, L., Costa, P., et al. (2016). Activation of D2 dopamine receptor-expressing neurons in the nucleus accumbens increases motivation. *Nat. Commun.* 7:11829. doi: 10.1038/ncomms11829
- Soares-Cunha, C., Coimbra, B., Domingues, A. V., Vasconcelos, N., Sousa, N., and Rodrigues, A. J. (2018). Nucleus accumbens microcircuit underlying D2-MSN-driven increase in motivation. *eNeuro* 5, ENEURO.0386–18.2018. doi: 10.1523/ENEURO.0386-18.2018
- Soares-Cunha, C., de Vasconcelos, N. A. P., Coimbra, B., Domingues, A. V., Silva, J. M., Loureiro-Campos, E., et al. (2020). Nucleus accumbens medium spiny neurons subtypes signal both reward and aversion. *Mol. Psychiatry* 25, 3241–3255. doi: 10.1038/s41380-019-0484-3
- Sokoloff, P., Giros, B., Martres, M.-P., and Bouthenet, M.-L. (1990). Molecular cloning and characterization of a novel dopamine receptor (D3) as a target for neuroleptics. *Nature* 347, 146–151.
- Solis, O., Garcia-Montes, J. R., Gonzalez-Granillo, A., Xu, M., and Moratalla, R. (2017). Dopamine D3 receptor modulates L-DOPA-induced dyskinesia by targeting D1 receptor-mediated signaling. *Cereb. Cortex* 27, 435–446. doi: 10.1093/cercor/bhv231
- Song, R., Zhang, H.-Y., Li, X., Bi, G.-H., Gardner, E. L., and Xi, Z.-X. (2012). Increased vulnerability to cocaine in mice lacking dopamine D3 receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 109, 17675–17680. doi: 10.1073/pnas.1205297109
- Song, S. S., Kang, B. J., Wen, L., Lee, H. J., Sim, H., Kim, T. H., et al. (2014). Optogenetics reveals a role for accumbal medium spiny neurons expressing dopamine D2 receptors in cocaine-induced behavioral sensitization. *Front. Behav. Neurosci.* 8:336. doi: 10.3389/fnbeh.2014.00336
- Suarez, L. M., Solis, O., Aguado, C., Lujan, R., and Moratalla, R. (2016). L-DOPA oppositely regulates synaptic strength and spine morphology in D1 and D2 striatal projection neurons in dyskinesia. *Cereb. Cortex* 26, 4253–4264. doi: 10.1093/cercor/bhw263
- Suárez, L. M., Solis, O., Carames, J. M., Taravini, I. R., Solis, J. M., Murer, M. G., et al. (2014). L-DOPA treatment selectively restores spine density in dopamine receptor D2-expressing projection neurons in dyskinetic mice. *Biol. Psychiatry* 75, 711–722. doi: 10.1016/j.biopsych.2013.05.006
- Südhof, T. C. (2017). Molecular neuroscience in the 21st century: a personal perspective. *Neuron* 96, 536–541. doi: 10.1016/j.neuron.2017.10.005
- Tecuapetla, F., Jin, X., Lima, S. Q., and Costa, R. M. (2016). Complementary contributions of striatal projection pathways to action initiation and execution. *Cell* 166, 703–715. doi: 10.1016/j.cell.2016.06.032
- Terrier, J., Lüscher, C., and Pascoli, V. (2016). Cell-type specific insertion of GluA2-lacking AMPARs with cocaine exposure leading to sensitization, cue-induced seeking, and incubation of craving. *Neuropsychopharmacology* 41, 1779–1789. doi: 10.1038/npp.2015.345
- Tidey, J. W., and Miczek, K. A. (1996). Social defeat stress selectively alters mesocorticolimbic dopamine release: an in vivo microdialysis study. *Brain Res.* 721, 140–149. doi: 10.1016/0006-8993(96)00159-X
- Trifilieff, P., Ducrocq, F., van der Veldt, S., and Martinez, D. (2017). Blunted dopamine transmission in addiction: potential mechanisms and implications for behavior. *Semin. Nucl. Med.* 47, 64–74. doi: 10.1053/j.semnuclmed.2016.09.003
- Trifilieff, P., Lavaur, J., Pascoli, V., Kappès, V., Brami-Cherrier, K., Pagès, C., et al. (2009). Endocytosis controls glutamate-induced nuclear accumulation of ERK. *Mol. Cell. Neurosci.* 41, 325–336. doi: 10.1016/j.mcn.2009.04.006
- Tsutsui-Kimura, I., Takiue, H., Yoshida, K., Xu, M., Yano, R., Ohta, H., et al. (2017). Dysfunction of ventrolateral striatal dopamine receptor type 2-expressing medium spiny neurons impairs instrumental motivation. *Nat. Commun.* 8:14304. doi: 10.1038/ncomms14304
- Vaessen, T., Hernaus, D., Myin-Germeys, I., and van Amelsvoort, T. (2015). The dopaminergic response to acute stress in health and psychopathology: a systematic review. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 56, 241–251. doi: 10.1016/j.neubiorev.2015.07.008
- Valjent, E., Bertran-Gonzalez, J., Hervé, D., Fisone, G., and Girault, J.-A. (2009). Looking BAC at striatal signaling: cell-specific analysis in new transgenic mice. *Trends Neurosci.* 32, 538–547. doi: 10.1016/j.tins.2009.06.005
- Valjent, E., Corbille, A.-G., Bertran-Gonzalez, J., Herve, D., and Girault, J.-A. (2006a). Inhibition of ERK pathway or protein synthesis during reexposure to drugs of abuse erases previously learned place preference. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 103, 2932–2937. doi: 10.1073/pnas.0511030103
- Valjent, E., Corvol, J.-C., Trzaskos, J. M., Girault, A., and Hervé, D. (2006b). Role of the ERK pathway in psychostimulant-induced locomotor sensitization. *BMC Neurosci.* 11:20. doi: 10.1186/1471-2202-7-20
- Valjent, E., Corvol, J.-C., Pagès, C., Besson, M.-J., Maldonado, R., and Caboche, J. (2000). Involvement of the extracellular signal-regulated kinase cascade for cocaine-rewarding properties. *J. Neurosci.* 20, 8701–8709. doi: 10.1523/JNEUROSCI.20-23-08701.2000
- Valjent, E., Pages, C., Herve, D., Girault, J.-A., and Caboche, J. (2004). Addictive and non-addictive drugs induce distinct and specific patterns of ERK activation in mouse brain. *Eur. J. Neurosci.* 19, 1826–1836. doi: 10.1111/j.1460-9568.2004.03278.x
- Valjent, E., Pascoli, V., Svenningsson, P., Paul, S., Enslen, H., Corvol, J. C., et al. (2005). Regulation of a protein phosphatase cascade allows convergent dopamine and glutamate signals to activate ERK in the striatum. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 102, 491–496.
- van Huijstee, A. N., and Mansvelder, H. D. (2015). Glutamatergic synaptic plasticity in the mesocorticolimbic system in addiction. *Front. Cell. Neurosci.* 8:466. doi: 10.3389/fncel.2014.00466
- van Zessen, R., Li, Y., Marion-Poll, L., Hulo, N., Flakowski, J., and Lüscher, C. (2021). Dynamic dichotomy of accumbal population activity underlies cocaine sensitization. *Elife* 10:e66048. doi: 10.7554/eLife.66048
- Vialou, V., Robison, A. J., LaPlant, Q. C., Covington, H. E., Dietz, D. M., Ohnishi, Y. N., et al. (2010). Δ FosB in brain reward circuits mediates resilience to stress and antidepressant responses. *Nat. Neurosci.* 13, 745–752. doi: 10.1038/nn.2551
- Vicente, A. M., Galvão-Ferreira, P., Tecuapetla, F., and Costa, R. M. (2016). Direct and indirect dorsolateral striatum pathways reinforce different action strategies. *Curr. Biol.* 26, R267–R269. doi: 10.1016/j.cub.2016.02.036
- Volkow, N. D., and Morales, M. (2015). The brain on drugs: from reward to addiction. *Cell* 162, 712–725. doi: 10.1016/j.cell.2015.07.046
- Volkow, N. D., Wang, G.-J., Fowler, J. S., Logan, J., Gatley, S. J., Gifford, A., et al. (1999). Prediction of reinforcing responses to psychostimulants in humans by brain dopamine D2 receptor levels. *Am. J. Psychiatry* 156, 1440–1443. doi: 10.1176/ajp.156.9.1440
- Wang, J., Li, K.-L., Shukla, A., Beroun, A., Ishikawa, M., Huang, X., et al. (2021). Cocaine triggers astrocyte-mediated synaptogenesis. *Biol. Psychiatry* 89, 386–397. doi: 10.1016/j.biopsych.2020.08.012
- Wang, M., Wong, A. H., and Liu, F. (2012). Interactions between NMDA and dopamine receptors: a potential therapeutic target. *Brain Res.* 1476, 154–163. doi: 10.1016/j.brainres.2012.03.029
- Wemm, S. E., and Sinha, R. (2019). Drug-induced stress responses and addiction risk and relapse. *Neurobiol. Stress* 10, 100148. doi: 10.1016/j.yjnstr.2019.100148

- Wickens, J. R., Horvitz, J. C., Costa, R. M., and Killcross, S. (2007). Dopaminergic mechanisms in actions and habits. *J. Neurosci.* 27, 8181–8183. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1671-07.2007
- Wiggins, A. T., Pacchioni, A. M., and Kalivas, P. W. (2009). Integrin expression is altered after acute and chronic cocaine. *Neurosci. Lett.* 450, 321–323. doi: 10.1016/j.neulet.2008.12.006
- Wittmann, M., Marino, M. J., Henze, D. A., Seabrook, G. R., and Conn, P. J. (2005). Clozapine potentiation of N-methyl-D-aspartate receptor currents in the nucleus accumbens: role of NR2B and protein kinase A/Src kinases. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 313, 594–603. doi: 10.1124/jpet.104.080200
- Wright, W. J., Graziane, N. M., Neumann, P. A., Hamilton, P. J., Cates, H. M., Fuerst, L., et al. (2020). Silent synapses dictate cocaine memory destabilization and reconsolidation. *Nat. Neurosci.* 23, 32–46. doi: 10.1038/s41593-019-0537-6
- Xi, Z.-X., Gilbert, J. G., Pak, A. C., Ashby, C. R. Jr., Heidbreder, C. A., and Gardner, E. L. (2005). Selective dopamine D3 receptor antagonism by SB-277011A attenuates cocaine reinforcement as assessed by progressive-ratio and variable-cost-variable-payoff fixed-ratio cocaine self-administration in rats. *Eur. J. Neurosci.* 21, 3427–3438. doi: 10.1111/j.1460-9568.2005.04159.x
- Xia, S., Yu, J., Huang, X., Sesack, S. R., Huang, Y. H., Schlüter, O. M., et al. (2020). Cortical and thalamic interaction with amygdala-to-accumbens synapses. *J. Neurosci.* 40, 7119–7132. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1121-20.2020
- Xu, M., Koeltzow, T. E., Santiago, G. T., Moratalla, R., Cooper, D. C., Hu, X.-T., et al. (1997). Dopamine D3 receptor mutant mice exhibit increased behavioral sensitivity to concurrent stimulation of D1 and D2 receptors. *Neuron* 19, 837–848. doi: 10.1016/S0896-6273(00)80965-4
- Yager, L. M., Garcia, A. F., Donckels, E. A., and Ferguson, S. M. (2019). Chemogenetic inhibition of direct pathway striatal neurons normalizes pathological, cue-induced reinstatement of drug-seeking in rats. *Addict. Biol.* 24, 251–264. doi: 10.1111/adb.12594
- Yagishita, S., Hayashi-Takagi, A., Ellis-Davies, G. C. R., Urakubo, H., Ishii, S., and Kasai, H. (2014). A critical time window for dopamine actions on the structural plasticity of dendritic spines. *Science* 345, 1616–1620. doi: 10.1126/science.1255514
- Zheng, T., and Wilson, C. J. (2002). Corticostriatal combinatorics: the implications of corticostriatal axonal arborizations. *J. Neurophysiol.* 87, 1007–1017. doi: 10.1152/jn.00519.2001
- Conflict of Interest:** The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.
- Publisher's Note:** All claims expressed in this article are solely those of the authors and do not necessarily represent those of their affiliated organizations, or those of the publisher, the editors and the reviewers. Any product that may be evaluated in this article, or claim that may be made by its manufacturer, is not guaranteed or endorsed by the publisher.
- Copyright © 2021 Allichon, Ortiz, Pousinha, Andrianarivelo, Petitbon, Heck, Trifilieff, Barik and Vanhoutte. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

The Addiction-Susceptibility *TaqIA/Ankk1* Controls Reward and Metabolism Through D₂ Receptor-Expressing Neurons

Enrica Montalban, Roman Walle, Julien Castel, Anthony Ansoult, Rim Hassouna, Ewout Foppen, Xi Fang, Zach Hutelin, Sophie Mickus, Emily Perszyk, Anna Petitbon, Jérémy Berthelet, Fernando Rodrigues-Lima, Alberto Cebrian-Serrano, Giuseppe Gangarossa, Claire Martin, Pierre Trifilieff, Clémentine Bosch-Bouju, Dana M. Small, and Serge Luquet

ABSTRACT

BACKGROUND: A large body of evidence highlights the importance of genetic variants in the development of psychiatric and metabolic conditions. Among these, the TaqIA polymorphism is one of the most commonly studied in psychiatry. TaqIA is located in the gene that codes for the ankyrin repeat and kinase domain containing 1 kinase (Ankk1) near the dopamine D₂ receptor (D2R) gene. Homozygous expression of the A1 allele correlates with a 30% to 40% reduction of striatal D2R, a typical feature of addiction, overeating, and other psychiatric pathologies. The mechanisms by which the variant influences dopamine signaling and behavior are unknown.

METHODS: Here, we used transgenic and viral-mediated strategies to reveal the role of Ankk1 in the regulation of activity and functions of the striatum.

RESULTS: We found that *Ankk1* is preferentially enriched in striatal D2R-expressing neurons and that Ankk1 loss of function in the dorsal and ventral striatum leads to alteration in learning, impulsivity, and flexibility resembling endophenotypes described in A1 carriers. We also observed an unsuspected role of Ankk1 in striatal D2R-expressing neurons of the ventral striatum in the regulation of energy homeostasis and documented differential nutrient partitioning in humans with or without the A1 allele.

CONCLUSIONS: Overall, our data demonstrate that the Ankk1 gene is necessary for the integrity of striatal functions and reveal a new role for Ankk1 in the regulation of body metabolism.

<https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2023.02.010>

Psychiatric diseases are multifactorial disorders, and the risk of developing these is influenced by both genetic and environmental factors. Even though classically considered as distinct pathologies, various psychiatric disorders share common symptomatic dimensions such as alterations of mood, cognitive functions, or reward processing, suggesting similar pathophysiological mechanisms. In line with this, the Research Domain Criteria classifies psychiatric illnesses based on common neurobiological, behavioral, or genetic dimensions, aimed at identifying both the mechanisms that are shared across multiple psychiatric disorders and the processes that are unique to specific psychiatric symptoms (1). Interestingly, psychiatric disorders are often accompanied by disturbances in energy metabolism and a higher risk of developing metabolic syndrome, with appetite changes as a core feature of multiple diseases (2). This raises the possibility of an overlap in the pathogenic mechanisms that underlie neuropsychiatric and metabolic symptoms.

It is well established that single nucleotide polymorphisms are associated with a higher risk of developing psychiatric disorders (3). Among single nucleotide polymorphisms, TaqIA

polymorphisms have attracted growing attention. The TaqIA polymorphism was initially believed to be in the D2R gene but was later mapped to the neighboring gene that codes for the ankyrin repeat and kinase domain containing 1 kinase (Ankk1) and corresponds to the single nucleotide polymorphism A2 (T→C) in the position 2137 of the *Ankk1* transcript (4). The TaqIA variant results in an amino acid change (E[GAG]→K [AAG], Glu→Lys) in position 713 of ANKK1 protein in humans. While the minor A1 variant is the ancestral polymorphism, the A2 variant has only recently appeared in primate evolution (5). Ankk1 maps onto chromosome 11 in humans and chromosome 9 in mice, which includes the dopamine receptor D₂ (D2R). TaqIA corresponds to 3 variants, A1/A1, A1/A2, and A2/A2. Approximately 30% of European, 80% of Asian, and 40% of African populations possess 1 or 2 copies of the A1 allele.

Strikingly, in humans, the A1 allele is associated with psychiatric and neurological disorders such as attention-deficit/hyperactivity disorder (6), Parkinson's disease (7), and addiction (8–10) as well as metabolic dysfunction and eating disorders (11–14). A1 carriers are more likely to have increased waist circumference and risk for obesity (14,15). Recent

studies have also reported an association between the presence of A1 and some of the characteristics of anorexia nervosa (13). Of note, weight loss has been reported to be easier in obese individuals bearing the A1 variant. Altogether, this suggests that A1 might be a genetic node for the convergence of neuropsychiatric and metabolic symptoms.

Alterations in reward processing, motivation, working memory, and cognitive flexibility, all characterized by dysregulation of the corticolimbic system and its regulation by dopamine neurotransmission (16,17), are observed across all the pathologies associated with TaqIA (15,18,19). Accordingly, the A1 variant is associated with reduced activity in the prefrontal cortex and striatum during reversal learning (15); reduced activity in the midbrain, prefrontal cortex, and thalamus during consumption of a milk shake (20); and greater impulsivity (15,21,22) or steeper delayed discounting, which are typical features of several psychiatric symptoms and eating disorders. Moreover, homozygous dosage of the A1 allele correlates with an ~30% to 40% reduction in striatal D2R abundance (23–25). Yet, such a decrease in D2R availability is a typical feature of addiction and is believed to be a core endophenotype responsible for compulsive drug consumption (26,27), overeating, and obesity-related reduction in activity (28).

These observations strongly suggest that 1) the interaction between environment and Ankk1 is critical in the susceptibility to reward-related and metabolic-based dysfunctions and 2) perturbations of various components of ingestive behavior in A1 carriers may result from a dysregulation of D2R-dependent dopamine transmission. To date, the molecular and cellular functions of Ankk1 remain largely unknown, primarily because of the lack of animal models. As a consequence, very little is known regarding the mechanisms by which A1 and A2 variants of Ankk1 alter dopamine signaling and, in general, in which direction those variants affect Ankk1 activity and D2R-related function to contribute to the protection or vulnerability to psychiatric and metabolic diseases.

METHODS AND MATERIALS

Animals

Both male and female Ankk1^{lox/lox}, Ankk1^{Δ-D2R} Neurons (Ankk1^{Δ-D2R} N^N), and Drd2-Cre mice were used. Animal protocols were performed in accordance with the regulations and approved by the relevant committee: Paris, guidelines of the French Agriculture and Forestry Ministry for handling animals (decree 87–848) under the approval of the Direction Départementale de la Protection des Populations de Paris (authorization No. C-75-828, license B75-05-22), Animal Care Committee of the University of Paris (APAFIS No. 2015062611174320), Institut de Biologie Paris Seine of Sorbonne University (C75-05-24) (Supplemental Methods).

Human Participants

Thirty-six subjects were recruited from the greater New Haven, Connecticut, area, via flyers or social media advertisements. Subjects were enrolled in this pilot study based on body mass index (BMI) (<26) and underwent indirect calorimetry measurement and genotyping on separate days. All subjects provided written informed consent at the first visit, and the study

was approved by the Yale Human Investigation Committee (Supplemental Methods).

Total RNA Purification, Complementary DNA Preparation, and Real-Time Polymerase Chain Reaction

Real-time quantitative polymerase chain reaction (PCR) was normalized to a housekeeping gene using the delta-delta cycle threshold method (Supplemental Methods).

Pharmacological Treatments

For acute treatments, apomorphine (Tocris) was dissolved in phosphate-buffered saline and injected intraperitoneally (i.p.) (3 mg/kg). Phosphate-buffered saline was used as the vehicle treatment in control conditions. Haloperidol (Tocris) was dissolved in saline and injected i.p. (0.5 mg/kg).

Histology

Mice were anesthetized with pentobarbital (500 mg/kg, i.p.) (Sanofi-Aventis) and transcardially perfused with 4 °C paraformaldehyde (4%) for 5 minutes. Sections were processed as in (29) (Supplemental Methods).

Patch-Clamp Recordings of D2R Spiny Projection Neurons in the Nucleus Accumbens

Mice were anesthetized with isoflurane, decapitated, and coronal brain slice sections were prepared. D2R spiny projection neurons (SPNs) identified in the nucleus accumbens (NAc) were patch-clamped and recorded as described in Supplemental Methods.

Stereotaxic Injections

Ankk1^{lox/lox} animals were anesthetized with isoflurane and received 10 mg/kg i.p. of Buprécare (buprenorphine 0.3 mg), diluted 1/100 in NaCl 9 g/L, and 10 mg/kg of Ketofen (ketoprofen 100 mg), diluted 1/100 in NaCl 9 g/L, and placed on a stereotaxic frame (Model 940; David Kopf Instruments). We bilaterally injected 0.6 μL (dorsal striatum, DS) or 0.3 μL (NAc) of virus (AAV9.CMV.HI.eGFP-Cre.WPRE.SV40 or AAV5.CMV.V.HI.eGFP-Cre.WPRE.SV40) and GFP (green fluorescent protein) controls, (titer ≥ 10¹³ vg/mL, working dilution 1:10) into the DS (lateral = ±1.75; anteroposterior = +0.6; ventral = -3.5, and -3 in mm) or the NAc (lateral = ±1; anteroposterior = +1.55, ventral = -4.5) at a rate of 100 nL/min. The injection needle was carefully removed after 5 minutes waiting at the injection site and 2 minutes waiting halfway to the top.

Behavioral and Metabolic Characterization

Haloperidol-induced catalepsy was measured 45 to 180 minutes after haloperidol injection. The behavior of mice was explored using a food-cued T-maze paradigm, operant conditioning, and binge eating protocols (Supplemental Methods).

Binge Feeding Experiment

Intermittent access to a palatable food (High Fat Diet; ResearchDiet D12492) was provided for 1 hour/day during 4 consecutive days from 10 to 11 AM. During binge sessions, chow pellets were not removed. The amount of the consumed palatable food was measured at the end of each session, and data were presented as kcal/body weight.

Metabolic Efficiency Analysis

All mice were monitored for metabolic efficiency (Labmaster; TSE Systems GmbH). After an initial period of acclimation of at least 2 days in the calorimetry cages, food and water intake, whole energy expenditure, oxygen consumption, carbon dioxide production, respiratory quotient (RQ) ($RQ = VCO_2/VO_2$, in which V is volume), and locomotor activity were recorded as previously described. Additionally, fatty acid oxidation was calculated as previously reported (30). Data are the result of the average of the last 3 days of recording. Before and after indirect calorimetry assessment, body mass composition was analyzed using an Echo Medical Systems EchoMRI (Whole Body Composition Analyzers; EchoMRI).

Statistical Analyses

Compiled data are reported as mean \pm SEM with single data points plotted. Data were analyzed with GraphPad Prism 9. Normal distribution was tested with the Anderson-Darling, D'Agostino Pearson, Shapiro-Wilk, and Kolmogorov-Smirnov tests. Data were analyzed with two-tailed Mann-Whitney, unpaired Student t test, one-way analysis of variance (ANOVA), two-way ANOVA, or repeated-measures ANOVA, as applicable and Holm-Sidak's post hoc test for 2 by 2 comparisons. All tests were two tailed. Significance was considered $p < .05$. Detailed statistical results are reported in Table S3.

RESULTS

Striatal Regional Distribution and Regulation of Ankk1 Messenger RNA

We first showed an enrichment of *Ankk1* messenger RNA (mRNA) expression in the DS as compared to the NAC (Figure 1A, A'). We next reanalyzed available RNA sequencing data from striatal extracts based on translating ribosome affinity purification technology (Figure 1B) (31) and showed that *Ankk1* mRNA is virtually absent in D1R-SPNs and selectively expressed in D2R-SPNs (Figure 1B'). We experimentally confirmed *Ankk1* mRNA enrichment in D2R-expressing neurons (Figure 1B) by performing real-time quantitative PCR on mRNA isolated by translating ribosome affinity purification selectively from D1R- and D2R-SPNs (Figure 1C). Next, we showed that stimulation of dopamine receptors by apomorphine treatment induced downregulation of *Ankk1* mRNA in both NAC and DS 1 and 3 hours after injection (Figure 1D, E).

We then assessed whether *Ankk1* loss of function selectively in D2R-expressing neurons could recapitulate some of the phenotypes of A1 carriers. To do so, we generated *Ankk1*^{lox/lox} mice in which exons 3–8 are flanked with LoxP sites allowing for Cre-targeted deletion of most of the *Ankk1* gene (Figure 1F; Figure S1A), which we crossed with a *Drd2*-Cre line. Specificity of the recombination of the *Ankk1* floxed locus was assessed by PCR on brain punches and peripheral tissues (Figure S1B). Cre-mediated decrease in *Ankk1* mRNA was also validated in the NAc of *Ankk1*^{lox/lox}::*Drd2*-Cre^{+/-} (*Ankk1* ^{Δ -D2R}) mice compared with control *Ankk1*^{lox/lox}::*Drd2*-Cre^{-/-} (*Ankk1*^{lox/lox}) mice (Figure 1G). However, because of the genetic construction of the *Drd2*-Cre bacterial artificial chromosome, which bears an additional copy of *Ankk1* (32), crossing leads to a

downregulation of *Ankk1* rather than a full knock out in D2R-expressing neurons. Interestingly, we found a downregulation of \sim 24% of the *D2r* mRNA in *Ankk1* ^{Δ -D2R} N (Figure 1H), which resembles the \sim 30% reduction of striatal D2R availability in homozygous A1 allele carriers (23). Decreased D2R activity by downregulation of *Ankk1* in D2R-expressing neurons was further supported by blunted cataleptic effects of haloperidol in *Ankk1* ^{Δ -D2R} N mice (Figure 1I) in both males and females (Figure S2A, B). These results suggest that the A1 variant in humans might be associated with a loss of function for the ANKK1 protein.

Specific Invalidation of Ankk1 in D2R Neurons Affects the Integrative Properties of D2R-SPNs

We next performed whole-cell patch clamp recording in brain slices of *Ankk1* ^{Δ -D2R} N and *Drd2*-Cre mice locally injected with a viral vector bearing a Cre-dependent mCherry reporter. First, we confirmed the downregulation of *Ankk1* mRNA in *Ankk1* ^{Δ -D2R} N as compared with *Drd2*-Cre mice (Figure 2A). D2R-SPNs were identified based on mCherry fluorescence (Figure 2B). *Ankk1* downregulation did not affect basic membrane and synaptic properties in D2R-SPNs, as shown by resting membrane potential, resistance and rheobase (Figure 2C; Table S1), and amplitude and frequency of spontaneous excitatory (Figure 2D) and inhibitory (Figure 2E) postsynaptic currents. By contrast, paired-pulse response (50 ms interval) of excitatory inputs onto D2R-SPNs were reduced in *Ankk1* ^{Δ -D2R} N mice, compared with *Drd2*-Cre mice (Figure 2F), suggesting an enhanced presynaptic probability of glutamatergic inputs onto D2R-SPNs (33). Accordingly, spiking probability in response to electrical stimulation of excitatory afferents to the NAc was significantly enhanced in D2R-SPNs of *Ankk1* ^{Δ -D2R} N mice (Figure 2G), reflecting an increase in excitability (34). Overall, these data demonstrate that *Ankk1* downregulation in D2R-expressing neurons enhances glutamatergic transmission onto D2R-SPNs, leading to increased excitability (35).

Effect of Ankk1 Downregulation in D2R-Expressing Neurons on Striatal-Related Learning

We next assessed the effect of *Ankk1* downregulation on tasks known to strongly depend on striatal integrity. We first used striatal-dependent procedural learning, based on an egocentric strategy to learn to locate, without any external cues, the baited arm in a T-maze (36,37) (Figure 3A, right). *Ankk1* ^{Δ -D2R} N mice displayed a strong impairment in the ability to learn the location of the reward in the maze (Figure 3A), supporting a key role of *Ankk1* in procedural learning. We next investigated performance of control and *Ankk1* ^{Δ -D2R} N mice in an operant conditioning paradigm (Figure 3B, right), another striatal-related associative task (38). Both male and female *Ankk1*^{lox/lox} and *Ankk1* ^{Δ -D2R} N mice displayed similar discriminatory performances when analyzing the percentage of lever presses on the reinforced lever (Figures S2C–F and S3A, C, E, F). *Ankk1* ^{Δ -D2R} N displayed enhanced active lever pressing when operant ratios were increased (Figure 3B). Although this result suggests an enhanced motivational component in *Ankk1* ^{Δ -D2R} N mice, performances were similar to control mice in a progressive ratio task (Figure S3A–D). We also analyzed the time to initiate

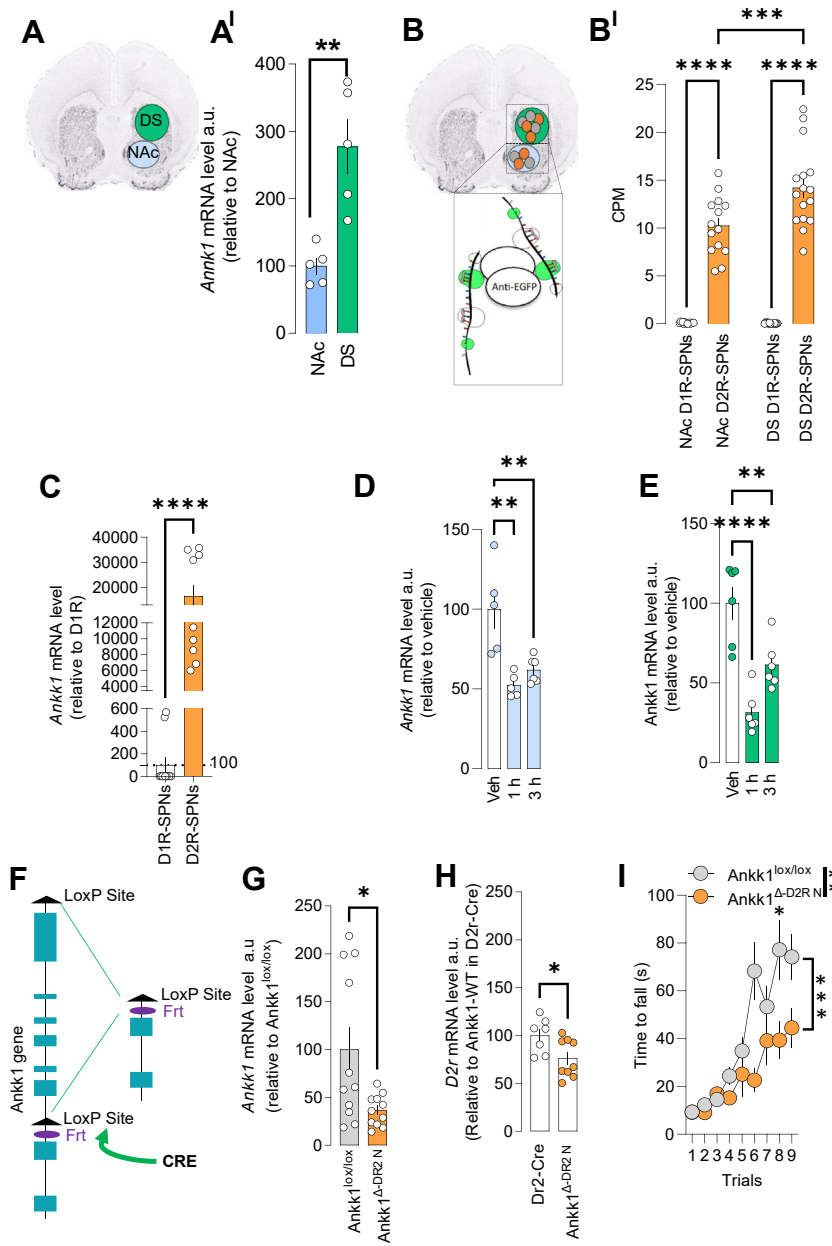


Figure 1. Ankk1 mRNA is expressed in the D2R-SPNs of the DS and NAc and its downregulation leads to a decrease of *D2r* mRNA. **(A)** Schematic representation of the dissected tissue samples on coronal sections of striatum. Brains were rapidly dissected and placed in a stainless-steel matrix with 0.5-mm coronal section interval. A thick slice containing the striatum (3 mm thick) was obtained. The DS (green) and the NAc (light blue) were punched out on ice. **(A')** mRNA was purified from the NAc and DS of C57BL/6 mice and analyzed by real-time quantitative polymerase chain reaction. The expression levels were calculated by the comparative delta-delta cycle threshold method with RPL19 as an internal control. Data points are individual results from different mice ($n = 5$ per group). Means \pm SEM are indicated. Statistical analyses were performed using a two-tailed Mann-Whitney test, $**p = .0079$. **(B)** Schematic representation of the TRAP technique. Briefly, mRNA from either D2R- (orange) or D1R- (gray) SPNs were immunoprecipitated by using antibodies against the EGFP expressed in D2R or D1R ribosomes. **(B')** Analysis of available RNA sequencing data from TRAP reveals a specific enrichment of *Ankk1* mRNA in D2R-SPNs as compared with D1R-SPNs in both NAc and DS. Count per millions in each immunoprecipitation are reported. Data points are individual results from different pools of mice. Means \pm SEM are indicated. Statistical analyses were performed using two-way ANOVA: interaction $F_{1,56} = 8.643, p = .0048$, Nucleus Accumbens/Dorsal Striatum NAc/DS $F_{1,32} = 8.25, p = .0057$, D1/D2 SPNs: $F_{1,56} = 319.5, p < .0001$ Tukey's post hoc test $****p < .0001, ***p = .0007$. **(C)** mRNA level of Ankk1 in isolated D1R- or D2R-SPN populations, analyzed by real-time quantitative polymerase chain reaction from male and female transgenic D1- and D2-TRAP mice. Statistical analyses were performed using two-tailed Mann-Whitney unpaired t test: $****p < .0001$. **(D, E)** mRNA level of *Ankk1* in the NAc **(D)** and the DS **(E)** of mice injected with either saline or apomorphine (3 mg/kg) and sacrificed 1 and 3 hours after injections. Data points are individual results from different mice ($n = 5-6$ per group). Means \pm SEM are indicated. **(D)** Statistical analyses NAc: one-way ANOVA: $F = 11.47, p = .0013$ followed by Dunnett's multiple comparison $p = .0012$, and $p = .0045, **p < .01$. **(E)** DS, one-way ANOVA, $F = 20.87, p < .0001$ followed by Dunnett's multiple comparison $****p < .0001, **p = .0046$. **(F)** Strategy of production of *Ankk1* floxed mice. **(G)** *Ankk1* mRNA levels from the NAc of *Ankk1*^{lox/lox} and *Ankk1* ^{Δ -D2R N} mice. Data are reported as means \pm SEM of results of individual mice ($n = 11$); statistical analyses were performed with two-tailed Mann-Whitney unpaired t

test: $*p = .0473$. **(H)** *D2r* mRNA level from the NAc of *Drd2-Cre* and *Ankk1* ^{Δ -D2R N} mice. Data are reported as means \pm SEM of results of individual mice ($n = 7-9$). Statistical analyses were performed with nonparametric Mann-Whitney test, *D2r* $*p = .0418$. **(I)** The effects of *Ankk1* and *D2r* mRNA downregulation on D2R function were investigated by evaluating catalepsy after haloperidol injection (0.1 mg/kg intraperitoneal). Statistical analyses were performed using two-way ANOVA (18 mice per group); interaction $p = .0008$, genotype $p = .0020$, followed by Sidak's post hoc test: line 6 $p = .018, ***p < .001, **p < .01, *p < .05$. ANOVA, analysis of variance; CPM, counts per million; D2R, D₂ receptor; DS, dorsal striatum; EGFP, enhanced green fluorescent protein; mRNA, messenger RNA; NAc, nucleus accumbens; SPN, spiny projection neuron; TRAP, translating ribosome affinity purification.

and complete the operant task and found no significant difference between control and *Ankk1* ^{Δ -D2R N} mice. Our findings show that downregulation of Ankk1 in D2R-expressing neurons leads to deficits in an egocentric strategy-based procedural learning task as well as in reward-driven operant conditioning paradigms.

Ankk1 Loss of Function in D2R-Expressing Neurons Does Not Alter Energy Homeostasis on a Regular Chow Diet

Given the emerging link between reward-dependent behavior and energy homeostasis metabolism (39), we next explored the consequence of Ankk1 knockdown on metabolic efficiency

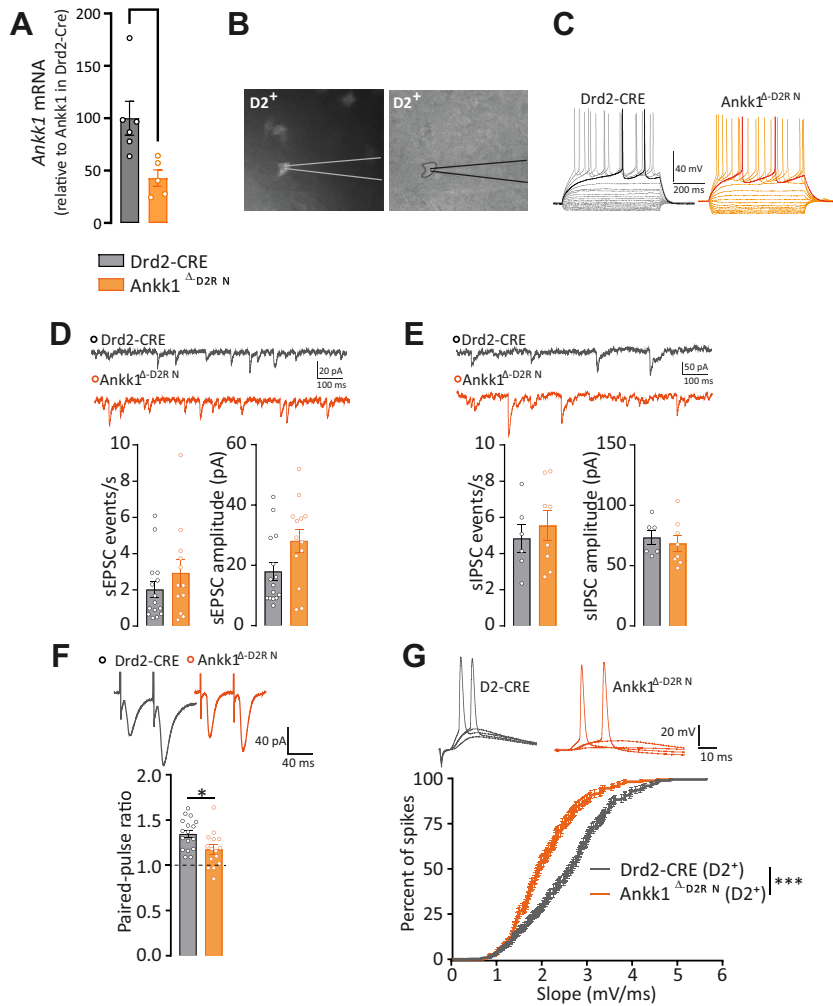


Figure 2. Ankk1 downregulation in D2R-expressing neurons increases their excitability. **(A)** mRNA level of *Ankk1* in the NAc of Drd2-Cre and *Ankk1*^{Δ-D2R N} mice. **(B)** Male and female Drd2-Cre and *Ankk1*^{Δ-D2R N} mice were stereotactically injected with a viral vector carrying a flex AAV-mCherry. D2R-SPNs in the NAc were identified based on red fluorescence and patched. **(C)** Illustrative voltage responses of D2R-SPNs recorded in Drd2-Cre (gray, left) and *Ankk1*^{Δ-D2R N} (orange, right) mice in response to a series of 600-ms current pulses starting at -150 pA with 20 pA increments. **(D)** Ankk1 downregulation does not alter frequency (left) or amplitude (right) of sEPSCs. Mann-Whitney unpaired *t* test *p* = .39 and *p* = .09, respectively (Drd2-Cre: *n* = 15 neurons in 9 mice; *Ankk1*^{Δ-D2R N}: *n* = 14 neurons in 9 mice). **(E)** Ankk1 downregulation does not alter frequency (left) or amplitude (right) of sIPSCs. Mann-Whitney unpaired *t* test *p* = .59 (Drd2-Cre: *n* = 6 neurons in 3 mice, *Ankk1*^{Δ-D2R N}: *n* = 8 neurons in 3 mice). **(F)** In PPR experiments, excitatory fibers were stimulated twice with an interval of 50 ms, while EPSCs were monitored in voltage clamp. In D2R-SPNs, Ankk1 downregulation resulted in a decrease of PPR. Two-tailed Mann-Whitney unpaired *t* test, **p* = .0171 (Drd2-Cre: *n* = 17 neurons in 10 mice; *Ankk1*^{Δ-D2R N}: *n* = 15 neurons in 9 mice). **(G)** The excitability of D2R-SPNs in the NAc was measured by quantifying the spiking probability with increasing electrical stimulation of excitatory inputs. The spiking probability is represented as a function of EPSP slope (mV/ms). Excitability of D2R-SPNs is increased in *Ankk1*^{Δ-D2R N} mice (***p* < .0001) (Drd2-Cre: *n* = 18 neurons in 12 mice; *Ankk1*^{Δ-D2R N}: *n* = 10 neurons in 8 mice). AAV, adeno-associated virus; D2R, D₂ receptor; DS, dorsal striatum; EGFP, enhanced green fluorescent protein; EPSP, excitatory postsynaptic potential; mRNA, messenger RNA; NAc, nucleus accumbens; PPR, paired pulse ratio; sEPSC, spontaneous excitatory postsynaptic current; sIPSC, spontaneous inhibitory postsynaptic current; SPN, spiny projection neuron.

in mice fed ad libitum with a standard diet. Food intake, locomotor activity, metabolic efficiency, and selective carbohydrates versus lipid substrate utilization in *Ankk1*^{lox/lox} and *Ankk1*^{Δ-D2R N} mice were measured as previously described

(30). Both *Ankk1*^{lox/lox} and *Ankk1*^{Δ-D2R N} mice were comparable for body weight (Figure S4A), body composition (Figure S4B, C, D), locomotor activity (Figure S4E), energy intake (Figure S4F), energy expenditure (Figure S4G), and whole-body

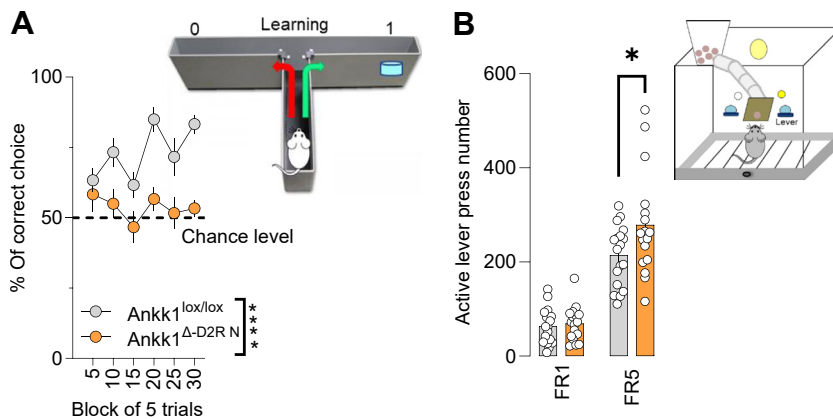


Figure 3. Consequences of Ankk1 downregulation in D2R-expressing neurons on striatal-dependent behaviors and energy metabolism. **(A)** Effect of downregulation of Ankk1 on procedural learning. Acquisition of the food-rewarded arm choice in a T-maze is impaired in *Ankk1*^{Δ-D2R N} mice. Statistical analyses were performed with two-way ANOVA: interaction *p* = .12, genotype *****p* < .0001, *n* = 12 (males 6–8, females 6–4). **(B)** Average of active lever press across FR1 and FR5 of instrumental conditioning. Statistical analyses were performed with two-way ANOVA: interaction *p* = .0115, genotype *p* = .0964, time (learning) *p* < .0001, followed by Sidak's multiple comparison **p* = .014, *n* = 18 (males 12–13, females 6–4). ANOVA, analysis of variance; D2R, D₂ receptor; FR, fixed ratio.

fatty acid oxidation (Figure S4H). Two-way ANOVA of food intake showed a significant interaction in genotype per time, with no significant genotype differences (Figure S4H). Similar results were obtained when male and female mice were analyzed separately (Figure S5A–P).

D2R-Neuron-Specific Ankk1 Knockdown Leads to Changes in Nutrient Partitioning and Protection From Diet-Induced Obesity

Various studies have associated variations of Ankk1 with metabolic changes and, more specifically, with obesity (40–42). Hence, we next explored whether the interaction

between genotype and obesogenic environment would unveil alterations in energy homeostasis regulation in $Ankk1^{\Delta-D2R N}$. Therefore, we subjected $Ankk1^{lox/lox}$ and $Ankk1^{\Delta-D2R N}$ mice to 3 months of a high-fat high-sucrose diet (HFHS) prior to metabolic characterization. Obese mice ($Ob-Ankk1^{\Delta-D2R N}$ and $Ob-Ankk1^{lox/lox}$) showed comparable body weight (Figure 4A) and lean mass (Figure 4B), however, fat mass was decreased in $Ob-Ankk1^{\Delta-D2R N}$ mice (Figure 4C, D). $Ob-Ankk1^{\Delta-D2R N}$ and control mice also displayed similar locomotor activity (Figure 4E), caloric intake (Figure 4F), and a trend toward decreased energy expenditure ($p = .12$) (Figure 4G). Interestingly, upon consumption of the obesogenic diet, $Ankk1^{\Delta-D2R N}$

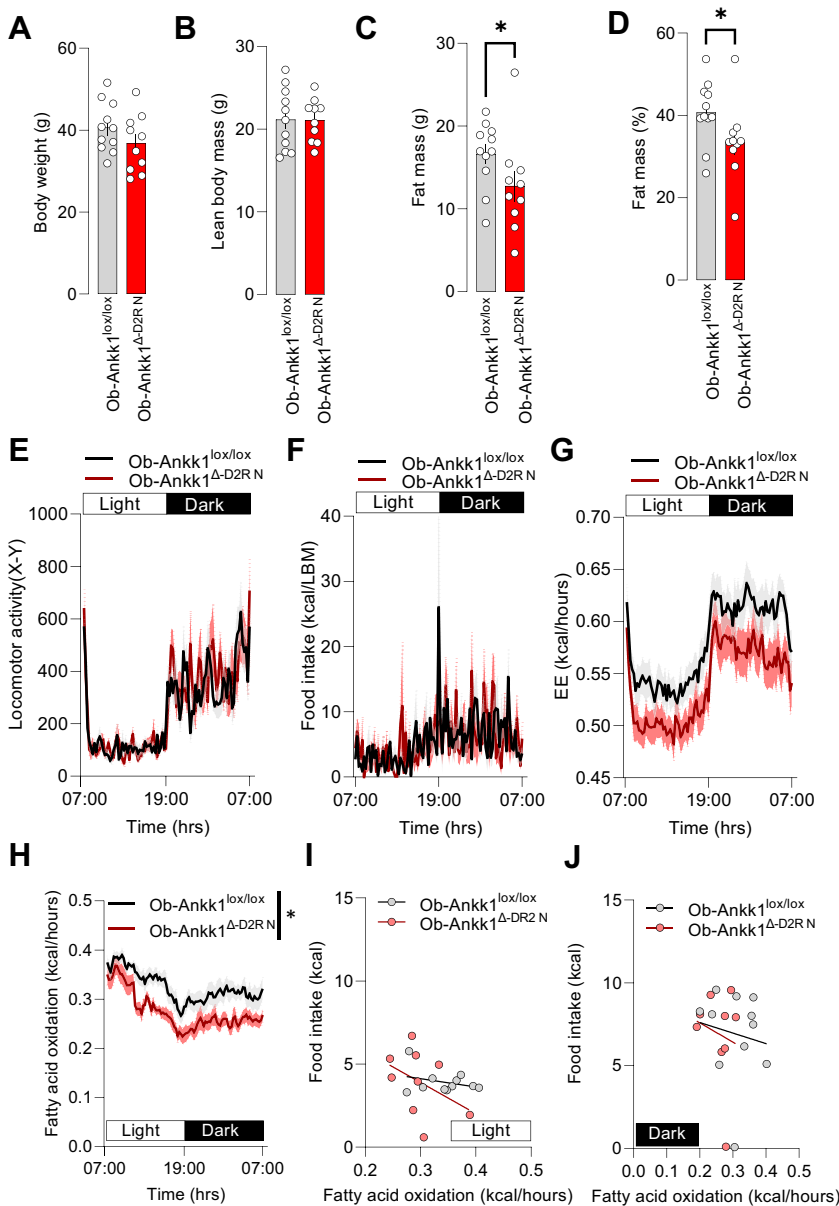


Figure 4. Consequences on metabolism of Ankk1 downregulation in D2R-expressing neurons in a diet-induced obesity paradigm. $Ankk1^{\Delta-D2R N}$ mice do not show alteration in body weight (A) and lean mass (B); however, they do show significant decreases in fat mass $p = .037$ (C) and fat mass % $p = .0430$ (D) (two-tailed Mann-Whitney $n = 11-10$, males 5–6, females 6–4). $Ankk1^{\Delta-D2R N}$ and control mice show similar locomotor activity (E), food intake (F), and energy expenditure (G). $Ankk1^{\Delta-D2R N}$ mice showed decreased fatty acid oxidation (H), two-way ANOVA: interaction $p = .4487$, genotype $p = .0221$, time $p < .0001$. Fatty acid oxidation does not correlate with kcal intake in either light (I) or dark (J) phase. * $p < .05$. ANOVA, analysis of variance; D2R, D₂ receptor; EE, energy expenditure.

displayed a decreased level in fatty acid oxidation (Figure 4H). Such a decrease does not seem to depend on the kilocalorie intake, as shown by the lack of correlation between food intake and fatty acid oxidation (Figure 4I, J). This finding reveals that an obesogenic downregulation of Ankk1 in D2R-expressing neurons is sufficient to induce alterations in peripheral substrate utilization and nutrient partitioning (43,44).

Region-Specific Invalidation of Ankk1 in the Ventral or Dorsal Part of the Striatum Differentially Affect Reward-Driven Behavior

To unveil the neuroanatomical specificity of Ankk1 loss of function within the striatum, we compared the consequence of viral-mediated knockdown of Ankk1 in the DS or NAc. Littermate Ankk1^{lox/lox} mice received stereotaxic injection of AAV-GFP or AAV-Cre in the NAc or in DS to produce controls (Ankk1^{GFP-NAc} and Ankk1^{GFP-DS}) or Ankk1 knockdown (Ankk1^{Δ-NAc} and Ankk1^{Δ-DS}). Accuracy of injection site and consequent change in *Ankk1* levels were assessed through viral-mediated expression of GFP and real-time quantitative PCR (Figure S6A, B for the DS and Figure S6E, F for the NAc). Downregulation of Ankk1 in the DS did not affect the levels of *D2r* mRNA (Figure S6C) or haloperidol-induced catalepsy (Figure S6D); however, knockdown of Ankk1 in the NAc significantly decreased *D2r* mRNA levels (Figure S6G) and blunted haloperidol-induced cataleptic events similar to Ankk1^{Δ-D2RN} mice (Figure S6H). Furthermore, as for Ankk1^{Δ-D2RN}, Ankk1^{Δ-NAc} mice displayed an impairment in learning the egocentric strategy in the T-maze task (Figure 5A), together with enhanced lever pressing from lower ratio requirement in the operant conditioning paradigm (Figure 5B). In this latter task, Ankk1^{Δ-NAc} mice exerted significantly more lever presses on the nonreinforced lever, while performance in the progressive ratio task was unchanged (Figure S7A, B). Ankk1^{Δ-NAc} mice also produced significantly more lever presses on the active lever during the inactive phase, a proxy for impulsive behavior (45). These behavioral alterations were observed in both ad libitum and fasting, indicating that this phenotype is not strictly dependent on hunger state (Figure S7C, D). We also analyzed the time to initiate and complete the operant task and found no significant difference between control and Ankk1^{Δ-NAc} mice.

Altogether, our findings demonstrate that Ankk1 loss of function in the NAc is sufficient to recapitulate some of the behavioral phenotypes of Ankk1^{Δ-D2R N} mice. By contrast, Ankk1^{Δ-DS} mice had similar performance to control mice in both the learning phase of the T-maze paradigm and in operant conditioning for both ratio requirements. However, Ankk1^{Δ-DS} mice displayed a selective deficit in the reversal phase of the T-maze (Figure S8A, B). This latter finding resembles impaired cognitive flexibility described in Taq1A carriers (15,46).

Striatal Deletion of Ankk1 Alters Energy Homeostasis

We next assessed metabolic parameters in Ankk1^{Δ-DS} and Ankk1^{Δ-NAc} mice. Ankk1 loss of function in the NAc did not result in any significant changes in body weight (Figure 5C) or lean mass (Figure 5D) but decreased fat mass (Figure 5E) and fat mass % (Figure 5F). As for the Ankk1^{Δ-D2R N} groups, Ankk1^{Δ-NAc} mice showed unaltered locomotor activity

(Figure 5G) and caloric intake (Figure 5H), although a trend was detected (genotype $p = .056$, interaction $p = .06$). Moreover, Ankk1^{Δ-NAc} displayed a decrease in energy expenditure (Figure 5I) and fatty acid oxidation (Figure 5J), indicating that loss of function of Ankk1 specifically influences peripheral nutrient utilization. Change in fatty acid oxidation correlated with caloric intake (Figure 5K, L) but was independent from body weight and lean mass, which were comparable between the two genotypes (Figure 5C, D). Interestingly, fatty acid oxidation mostly decreased during the light phase (Figure 5L), which might indicate a dissociation between circadian-entrained rhythm and whole-body fatty acid oxidation (47,48). Importantly, when tested on a binge eating paradigm with HFHS, a test aimed at evaluating uncontrolled voracious eating, Ankk1^{Δ-NAc} mice showed enhanced food consumption during the binge period (Figure S5E). We next explored whether the obesogenic environment could magnify the metabolic consequence of Ankk1 knockdown. Mice were fed HFHS for 3 months prior to the replication of the metabolic efficiency assessment. As compared with obese controls (Ob-Ankk1^{GFP-NAc}), Ob-Ankk1^{Δ-NAc} mice showed a decrease in body weight (Figure 6A), comparable lean mass (Figure 6B), a decrease in fat mass (Figure 6C), and a tendency toward decreasing fat mass % (Figure 6D). Ob-Ankk1^{Δ-NAc} mice showed comparable caloric intake (Figure 6E) but higher locomotor activity (Figure 6F) and decreased energy expenditure (Figure 6G). As for Ob-Ankk1^{Δ-D2RN}, Ob-Ankk1^{Δ-NAc} mice displayed lower fatty acid oxidation (Figure 6H), which was independent from food intake (Figure 6I, J). Overall, these data indicate that Ankk1 loss of function in the NAc exerts some protective effect from HFHS-induced disturbance in nutrient intake and partitioning. On the contrary, Ankk1 loss of function in the DS did not result in any relevant alteration in body weight and composition (Figure S6D, G), locomotor activity (Figure S6H), feeding (Figure S6I), or energy expenditure (Figure S6J). However, we could observe a small difference in the light-dark phase distribution of whole fatty acid oxidation in Ankk1^{Δ-DS} mice (Figure S6H). No difference between groups was observed in the binge eating paradigm (Figure S6C). These results underscore the neuroanatomical discrimination of Ankk1-dependent regulation of metabolism in the striatum.

Differential Respiratory Quotient as a Function of Taq1A A1 Allele Status in Human Participants

Given the change in nutrient partitioning associated with Ankk1 loss of function in mice, we hypothesized that a qualitatively similar phenotype could arise from the A1/A2 variant in humans. We used indirect calorimetry during resting state to calculate the RQ, the ratio between carbon dioxide (CO₂) and oxygen (O₂), indicative of substrate utilization (RQ = 1 for carbohydrate and RQ = 0.7 for lipid) in 32 healthy human participants (19 A1- and 13 A1+) (Figure 7). Age, fat mass, and other anthropometric measures were similar for both genotypes (Table S2). The groups also did not differ in hours of sleep and hours since last meal prior to the metabolic measure (Table S2). However, there was a significant difference in sex distribution between A1+ and A1- groups ($p = .0014$) (Table S2), so this factor was included in statistical models. Consistent with the observations in mice, A1+ individuals

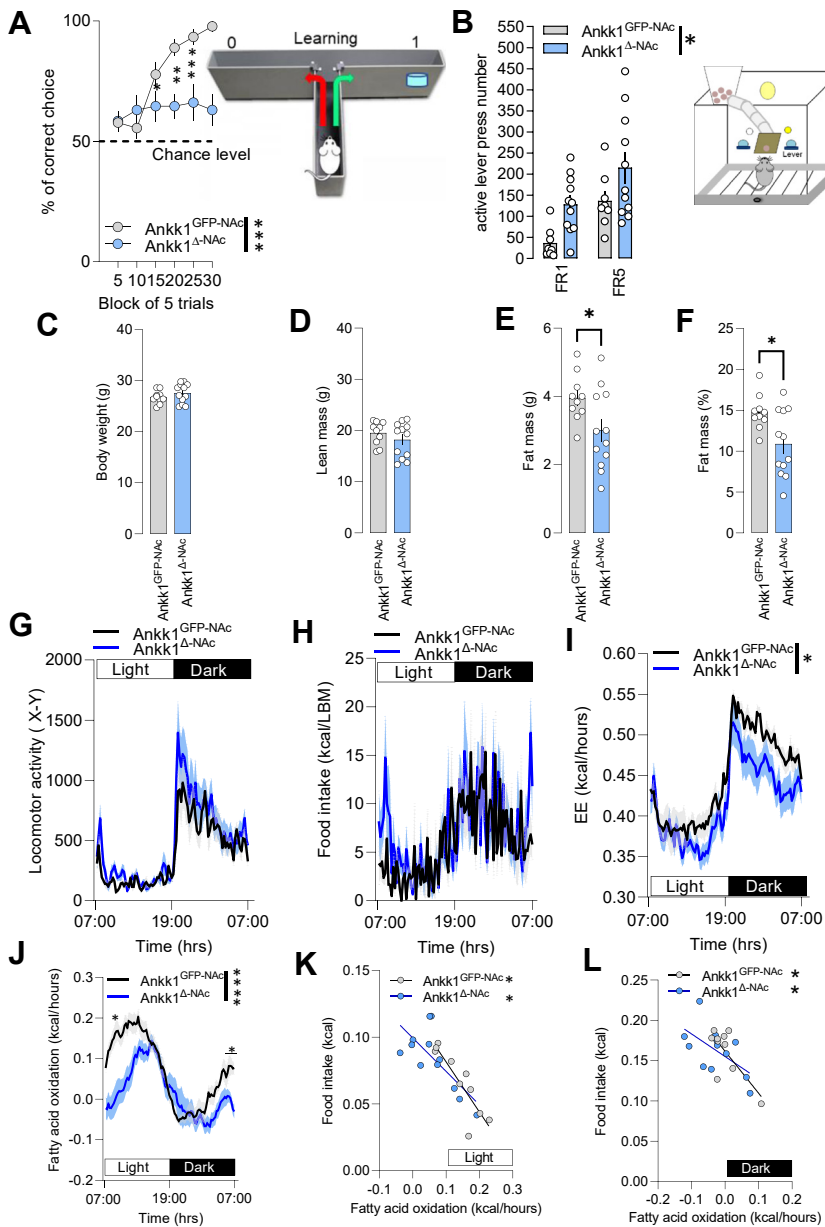


Figure 5. Consequences of Ankk1 downregulation in the NAc on striatal-dependent behaviors and energy metabolism. **(A)** Effect of Ankk1 loss of function in the NAc on procedural learning. Acquisition of the food-rewarded arm choice in a T-maze is impaired in Ankk1 Δ -NAc mice. Statistical analyses were performed with two-way ANOVA: interaction $***p = .0004$, time $p < .0001$, genotype $p < .0001$. Sidak's multiple comparison $*p = 0.0176$, $**p = 0.0055$, $***p = 0.0002$; $n = 9-13$ (males 5-8, females 4-5). **(B)** Average of active lever press across FR1 and FR5 of instrumental conditioning is increased in Ankk1 Δ -NAc as compared with Ankk1 GFP -NAc. Statistical analyses were performed using two-way ANOVA: interaction $p = .776$, learning $p = .0006$, genotype $p = .0162$. $n = 8-11$ (males 4-6, females 4-5). **(C)** Ankk1 loss of function in the NAc does not alter body weight **(C)** and lean mass **(D)** but decreases fat mass **(E)** and fat mass % **(F)**; statistical analyses were performed with two-tailed t test: $t_{20} = 2.284$, $p = .0335$; fat mass $t_{20} = 2.696$, $p = .0139$, respectively. Data are expressed as mean \pm SEM. $n = 10-13$ (males 5-7, females 5-5). Ankk1 Δ -NAc and Ankk1 GFP -NAc showed comparable locomotor activity **(G)** and food intake **(H)**; however, Ankk1 Δ -NAc display decreased energy expenditure **(I)**, statistical analysis by two-way ANOVA: interaction $*p = .034$, time $p < .0001$, $p = .108$, and fatty acid oxidation **(J)**; statistical analysis by two-way ANOVA: interaction $****p < .0001$, time $p < .0001$, genotype $p = .0075$ Sidak's post hoc test $*p < .05$. Fatty acid oxidation significantly correlates with food intake for both light **(K)** and dark **(L)** phases. Statistical analysis light phase: Ankk1 GFP -NAc $*p = .0009$, Ankk1 Δ -NAc $*p = .0083$. Statistical analysis dark phase: Ankk1 GFP -NAc $*p = .0152$, Ankk1 Δ -NAc $*p = .0441$. $****p < .0001$. ANOVA, analysis of variance; EE, energy expenditure; FR, fixed ratio; NAc, nucleus accumbens.

showed a significantly higher resting RQ compared with A1- individuals ($R^2 = 0.41$, $F_6 = 7.31$, $p = .012$). This result suggests a shift toward carbohydrate use as a primary energy source in A1+ and a shift toward fat in A1- at rest. This indicates that the polymorphism affecting the *ANKK1* gene in humans does alter peripheral nutrient utilization. These data support our reverse translational approach and show that the metabolic phenotype observed in mice translates to humans.

DISCUSSION

In this study, we showed for the first time that *Ankk1* mRNA is enriched in striatal D2R-SPNs and that its downregulation in

D2R-expressing neurons is sufficient to alter their activity and to decrease *D2r* mRNA expression and D2R-mediated response. These changes were associated with altered performance in striatal-dependent tasks such as procedural learning and reward-driven operant conditioning. Both D2R-specific and accumbal-restricted knockdown of Ankk1 were similarly associated with change in nutrient partitioning, suggesting a role for Ankk1 in striatal control of energy homeostasis. Finally, we performed a translational study that, in accordance with the mouse data, revealed differential whole-body metabolism in A1 carriers versus noncarriers.

The reduction of *D2r* mRNA expression transcript as a consequence of Ankk1 knockdown are congruent with

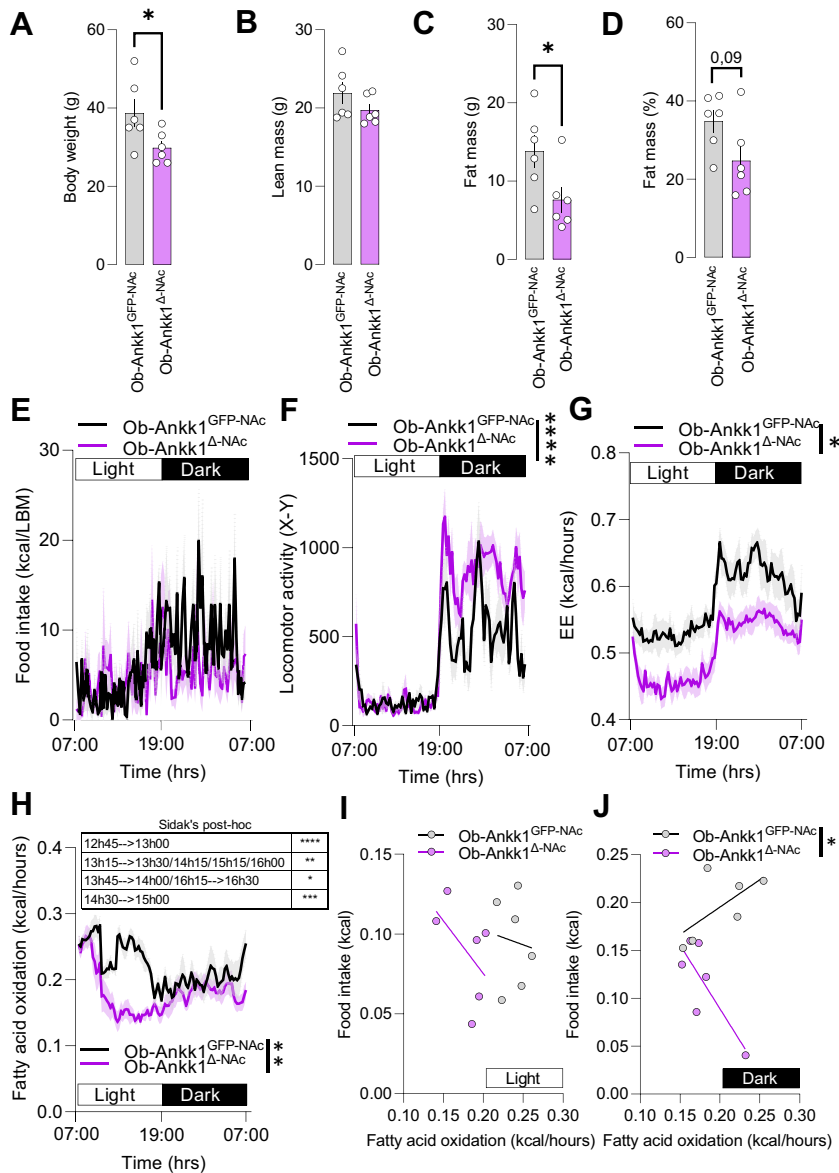


Figure 6. Consequences of Ankk1 loss of function in the NAC on metabolism in a diet-induced obesity paradigm. Ankk1^{Δ-NAC} display decreased body weight (A) two-tailed Mann-Whitney test, *p* = .0455, but not lean mass (B), and decreased fat mass (C) two-tailed Mann-Whitney test, *p* = .0411, but not fat-mass percentage (D) two-tailed Mann-Whitney test, *p* = .0931. (E) Caloric intake is comparable between Ankk1^{GFP-NAC} and Ankk1^{Δ-NAC}, but the Ankk1^{Δ-NAC} group showed increased locomotor activity (F) and decreased energy expenditure (G). Statistical analyses in (F) were performed using two-way ANOVA: interaction *p* < .0001, time *p* < .0001, genotype *p* = .0138. Statistical analyses in (G) were performed using two-way ANOVA: interaction *p* < .0001, time *p* < .0001, genotype *p* = .0222. (H) Downregulation of Ankk1 in the NAC decreases fatty acid oxidation; statistical analyses were performed with two-way ANOVA: interaction *p* < .0001, time *p* < .0001, genotype *p* = .0074. Sidak's post hoc test, **p* < .05, ***p* < .001, ****p* < .0001. (I, J) Fatty acid oxidation does not significantly correlate with food intake in both light (I) and dark (J) phases; however, in the dark phase, slopes of the regression lines are significantly different between the 2 groups, *p* = .0129 (J). Data are expressed as mean ± SEM, *n* = 6 (male 2–4, female 2–4). *****p* < .0001. ANOVA, analysis of variance; EE, energy expenditure; NAC, nucleus accumbens.

published studies pointing at the consequences of TaqI/A variants on D2R abundance, D2R-dependent function (23–25), and impaired reward-related behaviors (49,50). The increase in D2R-SPN activity is consistent with impaired reward-related behaviors (49,51), in particular, regarding the NAC.

In fact, viral-mediated deletion of Ankk1 selectively in the NAC during adulthood recapitulates and even amplifies some of the behavioral phenotypes obtained in Ankk1^{Δ-D2R N}, such as alteration in procedural learning and operant behavior. The consistent deficits we observed in the T-maze task for both Ankk1^{Δ-D2R N} and Ankk1^{Δ-NAC} are unlikely to be solely related to learning inabilities. In fact, even though it has been shown that the T-maze task relies on proprioceptive and egocentric strategies that depend on the integrity of the striatum (52), manipulations of the NAC can spare the acquisition of action-

outcome associations, while impairing flexible adaptation of previously learned rules (53,54) in particular when interfering with D2R-SPNs (55). In accordance, both Ankk1^{Δ-D2R N} and Ankk1^{Δ-NAC} were capable of learning the association between lever pressing and reward obtainment. However, Ankk1^{Δ-NAC} also displayed an increased number of lever presses on the nonrewarded lever, as well as enhanced active lever pressing during the timeout period, a feature considered as a proxy for impulsivity (45,56).

This suggests that the increased operant conditioning responding in Ankk1^{Δ-NAC} as well as Ankk1^{Δ-D2R N} mice might result from increased impulsivity. Importantly, impulsivity has been associated with decreased D2R availability in the NAC (45,57) and represents a main feature of A1 carriers (21,22,58,59). Additionally, selective impairment in the reversal

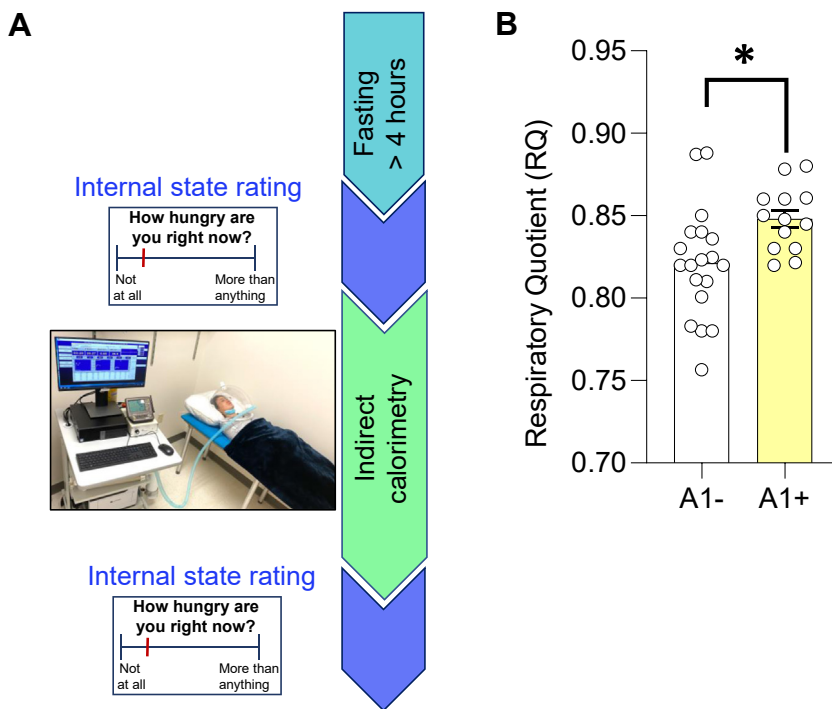


Figure 7. Resting RQ between A1 allele carriers (A1+) and non-A1 carriers (A1-) of Taq1A polymorphism (rs1800497). **(A)** Protocol design. Thirty-two participants with healthy weight (body mass index < 26) underwent metabolic measurements using indirect calorimetry and genotyping from saliva. **(B)** Respiratory quotient measures, data points are individual results from different participants ($n = 19$ in A1- and $n = 13$ in A1+). Means + SEM are indicated. Statistical analysis was performed with an independent t test and controlled for body mass index, sex, age, and study. $*p = .012$. RQ, respiratory quotient.

phase of the T-maze in $Ankk1^{\Delta-DS}$ mice resembles decreased cognitive flexibility observed in Taq1A individuals (15,46). Altogether, the behavioral effects obtained under Ankk1 loss of function are in line with poorer negative outcome learning (60,61) and procedural learning (62), increased impulsivity (21,22,58,59), altered prediction error (60), weaker reward sensitivity [for a review, see (63)], and impaired cognitive flexibility (15,46) associated with the A1 allele.

Of note, in addition to D2R-SPNs, cholinergic interneurons also express *D2r* and therefore could be affected by *Drd2*-Cre-mediated Ankk1 knockdown. While the presence of Ankk1 in cholinergic interneurons remains elusive, one cannot rule out that loss of Ankk1 in cholinergic interneurons using a *Drd2*-Cre driver could contribute to the behavioral and metabolic outputs we observed, given the prominent role of cholinergic interneurons in various striatal functions (31,64).

In addition to the behavioral consequences of Ankk1 knockdown on reward-related behaviors, the present study demonstrates a role for Ankk1 integrity in the control of peripheral substrate utilization in both rodents and humans. In both rodent models of Ankk1 knockdown, the metabolic changes were magnified. This is particularly relevant in the context of interactions of genetic polymorphisms, including Taq1A, and the modern food environment [for review, see (63)] as a risk factor for pathological conditions. Furthermore, while vulnerability for the metabolic defect in Taq1A carriers has been largely attributed to altered reward feeding and over-consumption, the link we established between Ankk1 integrity and nutrient partitioning suggests that an additional component of central control of energy homeostasis might be at play, independent from caloric intake. This is in line with the

associations with Taq1A and insulin sensitivity (41) and as a modulator of weight loss induced by monoamine reuptake inhibitor treatment (40).

In our mice models, Ankk1 loss of function paradoxically seems to protect against increases in body weight and fat mass. This could be the result of an overall change in inter-organ communication and metabolic fluxes (43). Yet, the A1 polymorphism has also been associated with accelerated weight loss (40) and some features of anorexia (13), which share common symptomatic dimensions with compulsive eating, such as deficit in cognitive flexibility, impaired reward processing, and impulsivity (65). However, while the decreased *D2r* mRNA levels under Ankk1 loss of function together with diminished adiposity seem counterintuitive because a decrease in *D2r* in the DS has been associated with obesity (27), the developmental increase in *D2r* has been linked to enhanced predisposition for obesity and metabolic defects (64), and various studies suggest the decrease in D2R levels could correlate with other dimensions linked to obesity that are independent from BMI, such as opportunistic eating or decreased locomotor activity (28). Moreover, although fewer studies are available regarding the NAc, findings in humans and rodents reveal a negative association between ventral striatal D2R and BMI (66), increased D2R in the ventral striatum of obese subjects, and increased accumbal D2R levels following exposure to fat diets (67).

Several molecular mechanisms could account for the decrease in *D2r* and defective D2R-neurons in our model of Ankk1 loss of function or in the Taq1A carrier. Ankk1 has been found to exert transcriptional control of the nuclear factor-kappa B (NF- κ B)-regulated gene (68). Because

2 NF- κ B-responsive elements exist in the *D2r* promoter and positively regulate *D2r* transcription (69), it is possible that a reduced dosage of Ankk1 in heterozygous human carriers and in our animal model of loss of function could lead to decreased *D2r* abundance and altered D2R-SPN functions (23,24).

In conclusion, this work provides the first reverse translational approach exploring the biological functions of Ankk1 in the central regulation of both metabolic and reward functions and further translates the metabolic phenotype discovered in mice to humans. Collectively, our data show that Ankk1 loss of function is sufficient to mimic some of the phenotypic characteristics of Taq1A individuals and point toward Ankk1 as a potential molecular hub connecting striatal D2R-SPNs to the control of energy homeostasis.

A limitation of our study is the lack of precise molecular mechanisms. We cannot rule out the possibility that D₂ receptor abundance is the sole mechanism by which ANKK1 alters D2R-neuron physiology. Future studies are warranted to explore whether and how ANKK1 could be targeted for the treatment of psychiatric and metabolic diseases.

ACKNOWLEDGMENTS AND DISCLOSURES

This work was funded by la Fondation pour la Recherche Médicale (FRM) Project (S.L Grant No. EQU202003010155), (S.L) Modern Diet and Physiology Research Center, the (S.L) Centre National de la Recherche Scientifique through the International Research Project BrainHealth, L'Agence Nationale de la Recherche (S.L Grant Nos. ANR-19-CE37-0020-02 and ANR-20-CE14-0020), The Université Paris Cité, and l'Institut national de recherche pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement (INRAE), Université de Bordeaux. The project has also been supported by the (S.L & P.T) Fédération pour la Recherche sur le Cerveau and the (E.M) Fondation des Treilles Fondation des Treilles créée par Anne Gruner Schlumberger, a notamment pour vocation d'ouvrir et de nourrir le dialogue entre les sciences et les arts afin de faire progresser la création et la recherche contemporaines. Elle accueille également des chercheurs et des écrivains dans le domaine des Treilles (Var) www.les-treilles.com. EM was supported by a postdoctoral fellowship from the FRM.

We thank Dr. Thomas S. Hnasko and Professor Ralph DiLeone for valuable inputs on the study. We thank Olja Kacanski for administrative support, Isabelle Le Parco, Aurélie Djemat, Daniel Quintas, Maggy Boa, Ludovic Maingault, and Angélique Dauvin for animals' care and Florianne Michel for genotyping. We acknowledge the Functional and Physiological Exploration platform of the Université Paris Cité, CNRS, Unité de Biologie Fonctionnelle et Adaptative, F-75013 Paris, France, the viral production facility of the UMR INSERM 1089 and the animal core facility Buffon of the Université Paris Cité/ Institut Jacques Monod. We also thank the animal facility of the Institut de Biologie Paris-Seine (IBPS) of Sorbonne Université, Paris.

EM conceived the project, designed and performed most of the experiments, analyzed and interpreted the data, and wrote the manuscript. RW performed the electrophysiology experiments. JC performed the nucleus accumbens surgeries, EF performed the dorsal striatum surgeries, and AA, RH, AP, and JB performed experiments. JB and AC-S edited the manuscript. XF, ZH, SM, and EP performed the human experiments. GG and FRL discussed the data and provided input to experiments and manuscript; CM supervised experiments; PT supervised the electrophysiology experiments and provided input and improvements to behavioral experiments and manuscript; CB-B supervised and performed the electrophysiology experiments; and DMS participated in the initial conception of the project, conceived and supervised the clinical study, and provided input and corrections on the manuscript. SL conceived and supervised the overall project, analyzed and interpreted the data, secured funding, and provided input and corrections to the manuscript with the help of co-authors.

A previous version of this article was published as a preprint on bioRxiv: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2022.08.12.503577v1>.

The authors report no biomedical financial interests or potential conflicts of interest.

ARTICLE INFORMATION

From the Université Paris Cité, CNRS, Unité de Biologie Fonctionnelle et Adaptative, Paris, France (EM, JC, AA, RH, EF, FR-L, GG, CM, SL); Université Bordeaux, INRAE, Bordeaux INP, NutriNeuro, UMR 1286, Bordeaux, France (RW, AP, PT, CB-B); Modern Diet and Physiology Research Center, New Haven, Connecticut (XF, ZH, SM, EP, DMS, SL); Department of Psychiatry, Yale University School of Medicine, New Haven, Connecticut (XF, ZH, SM, EP, DMS); Université Paris Cité, CNRS, Unité Epigénétique et Destin Cellulaire, Paris, France (JB); Institute for Diabetes and Obesity, Helmholtz Diabetes Center (HDC), Helmholtz Zentrum München, Neuherberg, Germany (AC-S); and the German Center for Diabetes Research, Neuherberg, Germany (AC-S).

Address correspondence to Serge Luquet, Ph.D., at serge.luquet@u-paris.fr, or Enrica Montalban, Ph.D., at enrica.montalban@gmail.com.

Received Sep 6, 2022; revised Jan 21, 2023; accepted Feb 9, 2023.

Supplementary material cited in this article is available online at <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2023.02.010>.

REFERENCES

- Insel T, Cuthbert B, Garvey M, Heinssen R, Pine DS, Quinn K, *et al.* (2010): Research domain criteria (RDoC): Toward a new classification framework for research on mental disorders. *Am J Psychiatry* 167:748–751.
- Mitchell AJ, Vancampfort D, Sweers K, van Winkel R, Yu W, De Hert M (2013): Prevalence of metabolic syndrome and metabolic abnormalities in schizophrenia and related disorders—A systematic review and meta-analysis. *Schizophr Bull* 39:306–318.
- Geschwind DH, Flint J (2015): Genetics and genomics of psychiatric disease. *Science* 349:1489–1494.
- Neville MJ, Johnstone EC, Walton RT (2004): Identification and characterization of ANKK1: A novel kinase gene closely linked to DRD2 on chromosome band 11q23.1. *Hum Mutat* 23:540–545.
- Mota NR, Araujo-Jnr EV, Paixão-Côrtes VR, Bortolini MC, Bau CH (2012): Linking dopamine neurotransmission and neurogenesis: The evolutionary history of the NTAD (NCAM1-TTC12-ANKK1-DRD2) gene cluster. *Genet Mol Biol* 35:912–918.
- Pan YQ, Qiao L, Xue XD, Fu JH (2015): Association between ANKK1 (rs1800497) polymorphism of DRD2 gene and attention deficit hyperactivity disorder: A meta-analysis. *Neurosci Lett* 590:101–105.
- McGuire V, Van Den Eeden SK, Tanner CM, Kamel F, Umbach DM, Marder K, *et al.* (2011): Association of DRD2 and DRD3 polymorphisms with Parkinson's disease in a multiethnic consortium. *J Neurol Sci* 307:22–29.
- Meyers JL, Nyman E, Loukola A, Rose RJ, Kaprio J, Dick DM (2013): The association between DRD2/ANKK1 and genetically informed measures of alcohol use and problems. *Addict Biol* 18:523–536.
- Voisey J, Swagell CD, Hughes IP, van Daal A, Noble EP, Lawford BR, *et al.* (2012): A DRD2 and ANKK1 haplotype is associated with nicotine dependence. *Psychiatry Res* 196:285–289.
- Tsou CC, Chou HW, Ho PS, Kuo SC, Chen CY, Huang CC, *et al.* (2019): DRD2 and ANKK1 genes associate with late-onset heroin dependence in men. *World J Biol Psychiatry* 20:605–615.
- Comings DE, Flanagan SD, Dietz G, Muhleman D, Knell E, Gysin R (1993): The dopamine D2 receptor (DRD2) as a major gene in obesity and height. *Biochem Med Metab Biol* 50:176–185.
- Noble EP, Noble RE, Ritchie T, Syndulko K, Bohlman MC, Noble LA, *et al.* (1994): D2 dopamine receptor gene and obesity. *Int J Eat Disord* 15:205–217.
- Nisoli E, Brunani A, Borgomainerio E, Tonello C, Dioni L, Briscini L, *et al.* (2007): D2 dopamine receptor (DRD2) gene Taq1A polymorphism and the eating-related psychological traits in eating disorders (anorexia nervosa and bulimia) and obesity. *Eat Weight Disord* 12:91–96.
- Stice E, Spoor S, Bohon C, Small DM (2008): Relation between obesity and blunted striatal response to food is moderated by Taq1A A1 allele. *Science* 322:449–452.

15. Jocham G, Klein TA, Neumann J, von Cramon DY, Reuter M, Ullsperger M (2009): Dopamine DRD2 polymorphism alters reversal learning and associated neural activity. *J Neurosci* 29:3695–3704.
16. Whitton AE, Treadway MT, Pizzagalli DA (2015): Reward processing dysfunction in major depression, bipolar disorder and schizophrenia. *Curr Opin Psychiatry* 28:7–12.
17. Ott T, Nieder A (2019): Dopamine and cognitive control in prefrontal cortex. *Trends Cogn Sci* 23:213–234.
18. Nymberg C, Banaschewski T, Bokde AL, Büchel C, Conrod P, Flor H, *et al.* (2014): DRD2/ANKK1 polymorphism modulates the effect of ventral striatal activation on working memory performance. *Neuropsychopharmacology* 39:2357–2365.
19. Beryhill ME, Wiener M, Stephens JA, Lohoff FW, Coslett HB (2013): COMT and ANKK1-Taq1a genetic polymorphisms influence visual working memory. *PLoS One* 8:e55862.
20. Felsted JA, Ren X, Chouinard-Decorte F, Small DM (2010): Genetically determined differences in brain response to a primary food reward. *J Neurosci* 30:2428–2432.
21. White MJ, Morris CP, Lawford BR, Young RM (2008): Behavioral phenotypes of impulsivity related to the ANKK1 gene are independent of an acute stressor. *Behav Brain Funct* 4:54.
22. Hamidovic A, Dlugos A, Skol A, Palmer AA, de Wit H (2009): Evaluation of genetic variability in the dopamine receptor D2 in relation to behavioral inhibition and impulsivity/sensation seeking: An exploratory study with d-amphetamine in healthy participants. *Exp Clin Psychopharmacol* 17:374–383.
23. Jönsson EG, Nöthen MM, Grünhage F, Farde L, Nakashima Y, Propping P, Sedvall GC (1999): Polymorphisms in the dopamine D2 receptor gene and their relationships to striatal dopamine receptor density of healthy volunteers. *Mol Psychiatry* 4:290–296.
24. Pohjalainen T, Rinne JO, Nägren K, Lehtikoinen P, Anttila K, Syvälahti EK, Hietala J (1998): The A1 allele of the human D2 dopamine receptor gene predicts low D2 receptor availability in healthy volunteers. *Mol Psychiatry* 3:256–260.
25. Thompson J, Thomas N, Singleton A, Piggott M, Lloyd S, Perry EK, *et al.* (1997): D2 dopamine receptor gene (DRD2) Taq1 A polymorphism: Reduced dopamine D2 receptor binding in the human striatum associated with the A1 allele. *Pharmacogenetics* 7:479–484.
26. Wang GJ, Volkow ND, Logan J, Pappas NR, Wong CT, Zhu W, *et al.* (2001): Brain dopamine and obesity. *Lancet* 357:354–357.
27. Johnson PM, Kenny PJ (2010): Dopamine D2 receptors in addiction-like reward dysfunction and compulsive eating in obese rats [published correction appears in *Nat Neurosci* 2010;13:1033]. *Nat Neurosci* 13:635–641.
28. Friend DM, Devarakonda K, O'Neal TJ, Skirzewski M, Papazoglou I, Kaplan AR, *et al.* (2017): Basal ganglia dysfunction contributes to physical inactivity in obesity. *Cell Metab* 25:312–321.
29. Berland C, Montalban E, Perrin E, Di Miceli M, Nakamura Y, Martinat M, *et al.* (2020): Circulating triglycerides gate dopamine-associated behaviors through DRD2-expressing neurons. *Cell Metab* 31:773–790.e11.
30. Berland C, Castel J, Terrasi R, Montalban E, Foppen E, Martin C, *et al.* (2022): Identification of an endocannabinoid gut-brain vagal mechanism controlling food reward and energy homeostasis. *Mol Psychiatry* 27:2340–2354.
31. Montalban E, Giralt A, Taing L, Schut EHS, Supiot LF, Castell L, *et al.* (2022): Translational profiling of mouse dopaminergic neurons reveals region-specific gene expression, exon usage, and striatal prostaglandin E2 modulatory effects. *Mol Psychiatry* 27:2068–2079.
32. Schmidt EF, Kus L, Gong S, Heintz N (2013): BAC transgenic mice and the GENSAT database of engineered mouse strains. *Cold Spring Harb Protoc* 2013; 2013.pdb.top073692.
33. Zucker RS, Regehr WG (2002): Short-term synaptic plasticity. *Annu Rev Physiol* 64:355–405.
34. Ducrocq F, Walle R, Contini A, Oummadi A, Caraballo B, van der Veldt S, *et al.* (2020): Causal link between n-3 polyunsaturated fatty acid deficiency and motivation deficits. *Cell Metab* 31:755–772.e7.
35. Francis TC, Yano H, Demarest TG, Shen H, Bonci A (2019): High-frequency activation of nucleus accumbens D1-MSNs drives excitatory potentiation on D2-MSNs. *Neuron* 103:432–444.e3.
36. Oliveira MG, Bueno OF, Pomarico AC, Gugliano EB (1997): Strategies used by hippocampal- and caudate-putamen-lesioned rats in a learning task. *Neurobiol Learn Mem* 68:32–41.
37. Sala-Bayo J, Fiddian L, Nilsson SRO, Hervig ME, McKenzie C, Mareschi A, *et al.* (2020): Dorsal and ventral striatal dopamine D1 and D2 receptors differentially modulate distinct phases of serial visual reversal learning. *Neuropsychopharmacology* 45:736–744.
38. Simpson EH, Balsam PD (2016): The behavioral neuroscience of motivation: An overview of concepts, measures, and translational applications. *Curr Top Behav Neurosci* 27:1–12.
39. Ter Horst KW, Lammers NM, Trinko R, Opland DM, Figeo M, Ackermans MT, *et al.* (2018): Striatal dopamine regulates systemic glucose metabolism in humans and mice. *Sci Transl Med* 10:eaar3752.
40. Mullally JA, Chung WK, LeDuc CA, Reid TJ, Febres G, Holleran S, *et al.* (2021): Weight-loss response to naltrexone/bupropion is modulated by the Taq1A genetic variant near DRD2 (rs1800497): A pilot study. *Diabetes Obes Metab* 23:850–853.
41. Heni M, Kullmann S, Ahlqvist E, Wagner R, Machicao F, Staiger H, *et al.* (2016): Interaction between the obesity-risk gene FTO and the dopamine D2 receptor gene ANKK1/Taq1A on insulin sensitivity. *Diabetologia* 59:2622–2631.
42. Sevgi M, Rigoux L, Kühn AB, Mauer J, Schilbach L, Hess ME, *et al.* (2015): An obesity-predisposing variant of the FTO gene regulates D2R-dependent reward learning. *J Neurosci* 35:12584–12592.
43. Denis RG, Joly-Amado A, Cansell C, Castel J, Martinez S, Delbes AS, Luquet S (2014): Central orchestration of peripheral nutrient partitioning and substrate utilization: Implications for the metabolic syndrome. *Diabetes Metab* 40:191–197.
44. Joly-Amado A, Denis RG, Castel J, Lacombe A, Cansell C, Rouch C, *et al.* (2012): Hypothalamic AgRP-neurons control peripheral substrate utilization and nutrient partitioning. *EMBO J* 31:4276–4288.
45. Guegan T, Cutando L, Ayuso E, Santini E, Fisone G, Bosch F, *et al.* (2013): Operant behavior to obtain palatable food modifies neuronal plasticity in the brain reward circuit. *Eur Neuropsychopharmacol* 23:146–159.
46. Stelzel C, Basten U, Montag C, Reuter M, Fiebach CJ (2010): Frontostriatal involvement in task switching depends on genetic differences in d2 receptor density. *J Neurosci* 30:14205–14212.
47. Chaix A, Lin T, Le HD, Chang MW, Panda S (2019): Time-restricted feeding prevents obesity and metabolic syndrome in mice lacking a circadian clock. *Cell Metab* 29:303–319.e4.
48. Zhao L, Hutchison AT, Liu B, Yates CL, Teong XT, Wittert GA, *et al.* (2022): Time-restricted eating improves glycemic control and dampens energy-consuming pathways in human adipose tissue. *Nutrition* 96:111583.
49. Gallo EF, Meszaros J, Sherman JD, Chohan MO, Teboul E, Choi CS, *et al.* (2018): Accumbens dopamine D2 receptors increase motivation by decreasing inhibitory transmission to the ventral pallidum. *Nat Commun* 9:1086.
50. Trifilieff P, Feng B, Urizar E, Winiger V, Ward RD, Taylor KM, *et al.* (2013): Increasing dopamine D2 receptor expression in the adult nucleus accumbens enhances motivation. *Mol Psychiatry* 18:1025–1033.
51. Hernandez L, Hoebel BG (1988): Food reward and cocaine increase extracellular dopamine in the nucleus accumbens as measured by microdialysis. *Life Sci* 42:1705–1712.
52. Chersi F, Burgess N (2015): The cognitive architecture of spatial navigation: Hippocampal and striatal contributions. *Neuron* 88:64–77.
53. Floresco SB, Ghods-Sharifi S, Vexelman C, Magyar O (2006): Dissociable roles for the nucleus accumbens core and shell in regulating set shifting. *J Neurosci* 26:2449–2457.
54. Verharen JPH, de Jong JW, Roelofs TJM, Huffels CFM, van Zessen R, Luijendijk MCM, *et al.* (2018): A neuronal mechanism underlying decision-making deficits during hyperdopaminergic states. *Nat Commun* 9:731.
55. Macpherson T, Morita M, Wang Y, Sasaoka T, Sawa A, Hikida T (2016): Nucleus accumbens dopamine D2-receptor expressing

- neurons control behavioral flexibility in a place discrimination task in the IntelliCage. *Learn Mem* 23:359–364.
56. Noonan MA, Bulin SE, Fuller DC, Eisch AJ (2010): Reduction of adult hippocampal neurogenesis confers vulnerability in an animal model of cocaine addiction. *J Neurosci* 30:304–315.
 57. Dalley JW, Fryer TD, Brichard L, Robinson ESJ, Theobald DEH, Lääne K, *et al.* (2007): Nucleus accumbens D2/3 receptors predict trait impulsivity and cocaine reinforcement. *Science* 315:1267–1270.
 58. Gullo MJ, St John N, McD Young R, Saunders JB, Noble EP, Connor JP (2014): Impulsivity-related cognition in alcohol dependence: Is it moderated by DRD2/ANKK1 gene status and executive dysfunction? *Addict Behav* 39:1663–1669.
 59. Eisenberg DT, Mackillop J, Modi M, Beauchemin J, Dang D, Lisman SA, *et al.* (2007): Examining impulsivity as an endophenotype using a behavioral approach: A DRD2 TaqI A and DRD4 48-bp VNTR association study. *Behav Brain Funct* 3:2.
 60. Klein TA, Neumann J, Reuter M, Hennig J, von Cramon DY, Ullsperger M (2007): Genetically determined differences in learning from errors. *Science* 318:1642–1645.
 61. Coppin G, Nolan-Poupart S, Jones-Gotman M, Small DM (2014): Working memory and reward association learning impairments in obesity. *Neuropsychologia* 65:146–155.
 62. Lee JC, Mueller KL, Tomblin JB (2016): Examining procedural learning and corticostriatal pathways for individual differences in language: Testing endophenotypes of DRD2/ANKK1. *Lang Cogn Neurosci* 31:1098–1114.
 63. Sun X, Luquet S, Small DM (2017): DRD2: Bridging the genome and ingestive behavior. *Trends Cogn Sci* 21:372–384.
 64. Labouesse MA, Sartori AM, Weinmann O, Simpson EH, Kellendonk C, Weber-Stadlbauer U (2018): Striatal dopamine 2 receptor upregulation during development predisposes to diet-induced obesity by reducing energy output in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 115:10493–10498.
 65. Wagner A, Aizenstein H, Venkatraman VK, Fudge J, May JC, Mazurkewicz L, *et al.* (2007): Altered reward processing in women recovered from anorexia nervosa. *Am J Psychiatry* 164:1842–1849.
 66. Guo J, Simmons WK, Herscovitch P, Martin A, Hall KD (2014): Striatal dopamine D2-like receptor correlation patterns with human obesity and opportunistic eating behavior [published correction appears in *Mol Psychiatry* 2022;27:4369]. *Mol Psychiatry* 19:1078–1084.
 67. South T, Huang XF (2008): High-fat diet exposure increases dopamine D2 receptor and decreases dopamine transporter receptor binding density in the nucleus accumbens and caudate putamen of mice. *Neurochem Res* 33:598–605.
 68. Huang W, Payne TJ, Ma JZ, Beuten J, Dupont RT, Inohara N, Li MD (2009): Significant association of ANKK1 and detection of a functional polymorphism with nicotine dependence in an African-American sample. *Neuropsychopharmacology* 34:319–330.
 69. Bontempi S, Fiorentini C, Busi C, Guerra N, Spano P, Missale C (2007): Identification and characterization of two nuclear factor-kappaB sites in the regulatory region of the dopamine D2 receptor. *Endocrinology* 148:2563–2570.