

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 5 月 31 日現在

機関番号：82401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K18355

研究課題名(和文) 中脳ドパミン神経細胞の投射経路特異的な情報表現および神経活動調節機構の解明

研究課題名(英文) Diversity in action and reward encoding of the midbrain dopamine neurons

## 研究代表者

田尾 賢太郎 (Tao, Kentaro)

国立研究開発法人理化学研究所・脳科学総合研究センター・基礎科学特別研究員

研究者番号：10708481

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、行動中の覚醒マウスにおける中脳ドパミン細胞の活動様式を記録・制御することを目的とした。そのために、頭部固定マウスおよびレバーをもちいた報酬履歴にもとづく確率的逆転学習課題を確立し、この課題を遂行中のマウスにおいて黒質緻密部(SNc)ドパミン細胞の神経活動を光遺伝学的に同定、記録した。その結果、ドパミン細胞の神経活動は多様であり、その一部は報酬の予測誤差(直近の試行が報酬有なら活動小)とその履歴(直近の試行が報酬有なら活動大)の両情報を表現していることが判明した。

研究成果の概要(英文)：To investigate how midbrain dopamine neurons encode action and reward on a fine time-scale, we established a probabilistic reversal learning paradigm in head-fixed mice using two levers. By recording activity of optogenetically-identified dopamine neurons from the substantia nigra pars compacta (SNc), we found that dopamine neurons were classified into several groups in terms of action and reward representation. A subset of dopamine neurons encoded both reward prediction error and trial value within a single trial.

研究分野：システム神経生理学

キーワード：電気生理学 ドパミン

## 1. 研究開始当初の背景

腹側被蓋野 (VTA) に存在する中脳ドパミン神経細胞は、前頭前皮質 (PFC) や側坐核、扁桃体など、脳の多様な領域に投射している。その発火活動は一様に報酬信号を符号化していると考えられてきたが、近年の研究により、一部のドパミン細胞は嫌悪刺激に対して正の応答を示すなど、集団としての情報表現は刺激の価値に対して多様であることが明らかになってきた。しかしながら、このような解剖学的多様性と生理学的多様性を統合する直接的な知見は乏しく、放出されたドパミンが下流領域の神経活動を回路・システムレベルでどのように調節するのかについても不明な点が多かった。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、多細胞同時電気生理記録と光遺伝学的技術をもちいて、行動中の覚醒マウスにおける中脳ドパミン神経細胞の活動様式を投射経路にもとづいて記録・制御し、速い潜時で下流領域の神経活動に与える影響を解明することであった。

## 3. 研究の方法

頭部固定状態の覚醒マウスにおいて、レーザーダイオード一体型シリコンプローブ (ダイオードプローブ) をもちいた多電極電気生理記録を実施した。

VTA および黒質緻密部 (SNc) ドパミン細胞の標識には DAT-cre マウスを使用した。光感受性タンパク質であるチャンネルロドプシン ChR2(H134R) を発現させるために Ai32 (CAG-FLEX-ChR2(H134R)-EYFP) マウスと交配、あるいはアデノ随伴ウイルス (AAV; pAAV-EF1 $\alpha$ -DIO-ChR2(H134R)-EYFP) を標的的部位に注入した。

## 4. 研究成果

### (1) 古典的条件づけ学習課題における VTA ドパミン神経細胞活動の観察

聴覚刺激を条件刺激としてもちいた古典的報酬条件づけ課題を学習した頭部固定マウスにおいて、VTA ドパミン細胞を光遺伝学的に同定、慢性電気生理記録した。その結果、従来報告がなされていた外側 VTA のみならず、内側 VTA に位置するドパミン細胞もまた報酬予測誤差を表現していることが明らかになった。内側領域には皮質や扁桃体など多様な領域へ投射するドパミン細胞が存在することを考慮すると、ドパミン細胞の報酬表現は、その投射先に非依存であることが予想された。

### (2) VTA ドパミン細胞の投射選択的な標識の

## ための条件検討

VTA ドパミン細胞電気生理記録の実験結果を踏まえ、さらにそれらを軸索投射選択的に電気生理記録するため、DAT-cre マウスおよび逆行性感染ウイルスであるイヌアデノウイルス (CAV) をもちいて二重標識を試みた。この CAV は Cre 依存的にフリップアーゼ (Flp) を発現するため、これを任意の VTA 下流領域に、Flp 依存的に ChR2 を発現する AAV を VTA に投与することでドパミン細胞が投射選択的に標識されるという機構である。しかしながら条件検討の結果、VTA において観察される感染細胞密度が非常に低く、ダイオードプローブをもちいた多細胞同時記録には不適であると判断された。したがって本研究では、より高度な認知課題における中脳 (VTA+SNc) ドパミン細胞の神経活動に着目することにした。

### (3) 古典的条件づけ学習課題における SNc ドパミン神経細胞活動の観察

シリコンプローブの二次元的なチャンネル配置を活用して、VTA の外側に位置する SNc のドパミン細胞から神経活動を記録することにも成功した。SNc ドパミン細胞もまた報酬に応答するものの、VTA において観察されるような報酬予測による神経活動の減算が確認されない細胞も存在したことから、SNc および VTA ではそれぞれ独自の報酬表現がなされていると推測された。

### (4) 頭部固定状態の覚醒マウスをもちいた意思決定課題の確立

頭部固定マウスに意思決定課題を遂行させる行動試験系として、2本の給水口一体型レバーをもちいたオペラント学習システムを構築した。レバーおよびその角度を検出するロータリーエンコーダはリニアアクチュエータによって駆動されており、マウスに対して任意のタイミングで提示可能である。

このシステムをもちいて、報酬履歴にもとづく確率的逆転学習課題を確立した (図 1)。

### (5) 確率的逆転学習課題における SNc ドパミン神経細胞活動の観察

上述のとおり確立した確率的逆転学習課題遂行中のマウスにおいて、ダイオードプローブをもちいて SNc ドパミン細胞の神経活動を慢性的に記録した。ここまで着目してきた VTA ではなく隣接領域の SNc を標的とした理由としては、近年の軸索イメージングやサイクリックボルタンメトリーをもちいた報告により SNc ドパミン細胞の神経活動には多様性があることが示唆されていたが、それを直接的に証明する電気生理学的知見は存在しなかったこと、そもそもげっ歯類にお

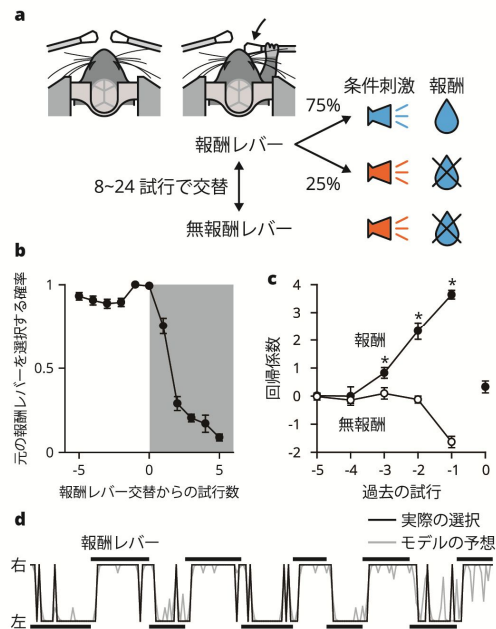


図 1 | 報酬履歴にもとづく確率的逆転学習課題  
**a**, 課題の概要。頭部固定マウスに 2 本の給水口一体型レバーを提示し、左右どちらか的一方を選択させる。報酬レバーは非明示的に交替するため、マウスは報酬履歴にもとづきレバーを選択する必要がある。**b**, 報酬レバーが交替する前後の選択確率。**c**, ロジスティック回帰モデルの回帰係数。マウスの選択には 3 試行前までの報酬履歴が有意に反映されている。 $*p < 0.05$  **d**, モデルより予測されたマウスの選択と、実際の行動履歴 ( $n = 206$  trials)。

いて光遺伝学に同定した SNc ドパミン細胞の電気生理記録が本研究遂行当時には実施されていなかったこと、本研究結果 (3) により当該実験系をもちいることでそれが達成可能であると予想されたことが挙げられる。

実験の結果、ドパミン細胞の反応は一様ではなく、以下の 3 群に分類されることを発見した。すなわち、(1) 報酬および報酬予測誤差を表象する群、(2) 報酬のみを表象する群、(3) 報酬及び運動を表象する群、である。このうち第一の細胞群については、強化子として報酬に先行する聴覚刺激に対する応答が予測誤差を表象している (直近の試行が報酬有ならば活動小) のみならず、各試行開始時の一過性応答もまた報酬履歴を反映している (直近の試行が報酬有ならば活動大)、すなわち各試行の価値を表象していることが判明した (図 2)。

以上の結果は、運動調節との関連が長らく着目されてきたげっ歯類の SNc ドパミン細胞神経活動もまた、報酬およびその予測誤差について複雑かつ多様な情報表現をおこなっていることを示唆するものである。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

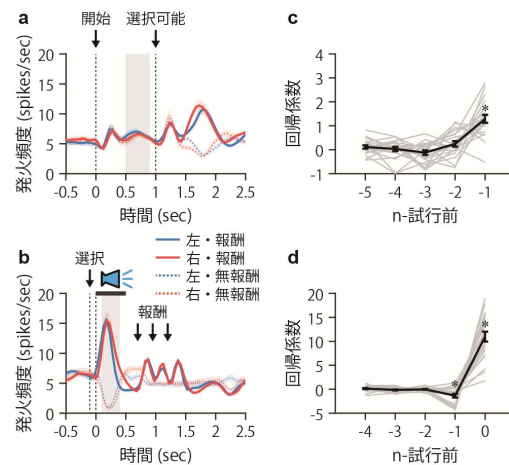


図 2 | 確率的逆転学習課題における SNc ドパミン細胞の活動様式

**a, b**, 試行開始の瞬間 (**a**) または強化子提示の瞬間 (**b**) で整列した、報酬および報酬予測誤差を表象するドパミン細胞群の活動 ( $n = 21$  units from 4 animals). **c, d**, **a** または **b** の網掛け部分の発火頻度の報酬履歴によるロジスティック回帰モデルにおける回帰係数。 $*p < 0.05$

【雑誌論文】(計 0 件)

【学会発表】(計 2 件)

1. Tao K, Fujisawa S. Fast dopaminergic modulation of prefrontal neuronal circuit activity. Program No. 81.10. 2016 Neuroscience Meeting Planner. San Diego, CA. Society for Neuroscience, 2016. Online. 2016 年 11 月 12 日, アメリカ合衆国
2. Tao K, Fujisawa S. Fine timescale dopaminergic modulation of prefrontal neuronal circuit activity. Program No. 531.14. 2015 Neuroscience Meeting Planner. Chicago, IL. Society for Neuroscience, 2015. Online. 2015 年 10 月 20 日, アメリカ合衆国

【図書】(計 0 件)

【産業財産権】

出願状況 (計 0 件)

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

取得状況 (計 0 件)

名称：  
 発明者：  
 権利者：

種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

#### 6．研究組織

##### (1)研究代表者

田尾 賢太郎 (TAO, Kentaro)  
独立行政法人理化学研究所・脳科学総合研究  
センター・基礎科学特別研究員  
研究者番号：10708481

##### (2)研究分担者

##### (3)連携研究者

##### (4)研究協力者

藤澤 茂義 (FUJISAWA, Shigeyoshi)  
独立行政法人理化学研究所・脳科学総合研究  
センター・チームリーダー  
研究者番号：20589395