

令和 3 年 6 月 9 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K16895

研究課題名（和文）不確実な報酬への行動強化を担うドーパミン細胞の役割の解明

研究課題名（英文）Elucidating the role of dopamine neurons in reinforcing behavior to obtain uncertain rewards

研究代表者

石野 誠也（Ishino, Seiya）

京都大学・医学研究科・特定助教

研究者番号：40812227

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：多くの場合一度では成功しない食餌の探索や求愛行動においては、期待通りにうまくいかない場合にも行動を繰り返すほうが、生存や子孫繁栄に有利な場合がある。しかし、このような心理実態を担う神経メカニズムは不明である。本研究は、光遺伝学法を応用した電気生理学法により中脳ドーパミン（DA）細胞の単一神経活動を計測した。さらに、我々が見出してきた期待した報酬が得られなかった際に活動を上昇する新規DA細胞が、多く投射する線条体部位からDA量を計測した。この新規ドーパミン細胞が構成する神経回路は、期待外れの際に、次の報酬獲得行動に向かうための動機を高める機能を担う可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究によって、学習度合いによる新規ドーパミン細胞の活動の生成過程や行動との関係からその性質が少しずつ明らかになってきた。また、新規ドーパミン細胞は従来型ドーパミン細胞と相補的に働く可能性があり、この2種類のドーパミン細胞の関係性を調べることはドーパミン細胞の根本的役割を解明する重要な鍵となる。さらに研究が進むことにより、ドーパミン機能が深く関わる、ギャンブルなどの依存症全般や統合失調症などの精神疾患の、従来とは異なる角度からの病態の理解や診断、新規ドーパミン細胞を標的とした新規治療法の開発、などの新たな可能性を創造する。

研究成果の概要（英文）：In behaviors that often do not succeed at once, such as food seeking and courtship, repeating actions even if it does not go as expected may be advantageous for survival and procreation. However, the neural mechanism underlying the mental state remains unclear. In this study, we measured spiking activities of midbrain dopamine (DA) neurons by electrophysiology with the application of optogenetics, and also measured the DA concentration in the part of the striatum, which is the main projection region of the novel DA neurons, whose activity increases when the expected reward is not obtained. The neural circuitry, composed of the novel DA neurons in VTA projecting to the striatum, can play a role in motivating the next reward-seeking behavior when the expected reward is not obtained.

研究分野：神経科学

キーワード：報酬 ドーパミン

1. 研究開始当初の背景

(1) 実際に経験する報酬と期待する報酬の差で定義される「報酬予測誤差」に基づいて未来の行動を修正する学習は、状況に応じた柔軟な行動の根幹をなす。従来の研究により、報酬予測誤差の正負と同じ方向に行動を強化・弱化する学習に最も中心的役割を果たすとされるのが、中脳・腹側被蓋野 (VTA) のドーパミン細胞である (引用文献)。例えば、報酬と条件づけされた刺激後に獲得する実際の報酬が、期待する報酬を下回る「期待外れ」の際のドーパミン細胞の活動は、この場合マイナスとなる (陰性) 報酬予測誤差に一致して、数百ミリ秒間急激に低下する。その活動は、教師信号として線条体や前頭前野など他の領域に伝達され、未来の行動を弱下する学習に因果的に影響する。

しかし現実には、期待外れの際に、それを「受け入れて」行動を弱化するよりは、むしろその逆に、それを「バネにして」行動を強化する方が、有利な選択肢となる場合がある。例えば、多くの場合一度では成功しない食餌の探索や求愛・繁殖では、期待外れに対して行動を強化するほうが、生存や子孫繁栄に有利である。一方、この心理が過度であると非効率的であり、ヒトではギャンブル依存などにつながるかもしれない。このように普遍的かつ重要な機能であるにも関わらず、「期待外れ」に対して行動を強化する行動課題が確立されていないことが障壁となり、その神経機構は解明されていない。

(2) 所属研究室の研究グループ長の小川正晃博士らは、以前、ラットが、報酬の期待外れを伴わない確実な報酬を予測する時よりも、期待外れを伴う不確実な報酬を予測する時に行動を早めることを見出し、さらに報酬に関する予測に重要である前頭眼窩野の神経細胞がより多く発火することを見出した (引用文献)。このような行動・発火様式が起こるためには、期待外れに対し行動を強化する心理が強く働いていると推測された (心理モデル: 引用文献)。しかし、この心理に該当するような神経活動の実態や、その活動の成り立ちは不明であった。

(3) そこで、小川正晃博士らの以前の研究 (引用文献) における行動課題よりも行動が厳密に統制でき、かつ「期待外れ」に対して行動を強化する心理を強く誘導する新規行動課題をラットで開発した。異なる条件刺激と報酬確率 (100, 50, 0%) を条件づけし、それらの間の学習が安定した後、光遺伝学法を用いて正確に VTA のドーパミン細胞を同定した上で、その電気活動を計測した。すると、期待外れが生じるタイミングに、従来の報酬予測誤差仮説に合致して発火頻度が低下するドーパミン細胞の近傍に、逆に発火頻度が増加するドーパミン細胞を発見した。しかし、この新規ドーパミン細胞がどのような認知機能に関連するのか、そして期待外れの際の活動上昇が学習に伴ってどのように生成するかは不明である。

2. 研究の目的

- (1) 期待外れの際に上昇する新規ドーパミン細胞活動の性質の詳細を解明する。
- (2) 期待外れの際に上昇する新規ドーパミン細胞活動の、学習に伴う生成過程を解明する。

3. 研究の方法

(1) 頭部固定下のラットが報酬提示口となったレバーを押すと匂い刺激提示を受け、一定の潜時の後にレバーを引くと匂い刺激と結び付けられた確率 (100%, 50%, 0%) で報酬を得る課題を用いる。この課題では、匂い刺激と報酬確率間関係の学習初期にはレバーを引くスピードが $100\% < 50\% < 0\%$ であるが、学習が進むと $50\% < 100\% < 0\%$ となることをすでに確認している。

(2) ドーパミン細胞特異的に遺伝子組換え酵素の Cre を発現する遺伝子改変ラットと、Cre 依存的に遺伝子を発現するウイルスベクターを用いて、VTA のドーパミン細胞特異的に青色光に反応して陽イオンを細胞内に流入させるチャネルロドプシンを発現する。まず上記の行動課題中に、電極を用いてドーパミン細胞由来と推定される単一神経電気活動を記録する。次に、行動課題の終了後に青色光を照射する。光照射に対する反応潜時や反応する確率などの応答性を利用して、ドーパミン細胞を同定する。新規ドーパミン細胞と行動との関係を解析することで新規ドーパミン細胞がどのような認知機能に関連するかを調べる。

(3) ドーパミン細胞の電気活動計測は、一度に多数の細胞活動を計測することや、数日以上連続して同じ細胞から記録し続けることが技術的に困難であり、学習過程を調べる目的には適さない。また、異なるドーパミン細胞毎に投射先神経回路が分かれている可能性が想定された。そこで、ドーパミン細胞の主な投射先である線条体におけるドーパミン量の変化を学習の初期から計測することでこの目的に取り組む。具体的には、ドーパミン量の増減に応じて蛍光強度が増減する人工的なドーパミンセンサー (緑色蛍光タンパク質 (GFP) が組み込まれたドーパミンの人工受容体) を用いた最先端のドーパミン量イメージング技術 (引用文献) を用いる。条件刺激と報酬確率間関係の学習初期から線条体のドーパミン量の変化を計測する (ファイバーフォトメトリー法: 引用文献 など)。新規ドーパミン細胞が従来型ドーパミン細胞よりも相対的に多く投射している線条体部位のドーパミン量は、学習の初期には従来型ドーパミン細胞の活動により、報酬予測誤差に一致するが、学習度合いが増すにつれて「期待外れ」の場合に活動が増

えることが予想される。

(4) さらに、線条体のドーパミン量の変化から新規ドーパミン細胞が、獲得できるはずの報酬の量や提示のタイミング、確率を反映して期待外れの際の活動量を調節するか、検討する。例えば、50%匂い後に報酬を連続して提示しない場合(消去: extinction)、無報酬を経験する回数が増えるとしばらくは活動増加するがいずれ低下に転ずる、と予想される。このように行動課題を変化させることで詳細に新規ドーパミン細胞の活動の性質を解明する。

4. 研究成果

(1) 頭部固定下のラットが、条件刺激提示後に自ら行動して確率的報酬を得る課題を用い、光遺伝学法を応用した電気生理学法によりドーパミン細胞であることを間違いなく確認した上で単一神経活動を計測した。同定したすべてのドーパミン細胞に対して、確率的報酬を得た場合と得られなかった場合の活動様式を用いて、階層クラスタリング解析を行い分類したところ、期待外れの際に活動が上昇する新規ドーパミン細胞と、報酬に対して活動が上昇し期待外れの際に活動が低下する従来型ドーパミン細胞の2つに分類できた。この結果は、同定していない推定ドーパミン細胞も含めた階層クラスタリング解析でも同様であった。これらの2つの細胞タイプの間には、青色光刺激に対する発火の潜時や確率に関して、違いはなかった。

(2) 新規ドーパミン細胞として分類された細胞がどのような認知機能を担うのかを解析した。第一に、50%報酬期待があるが報酬を得られなかった場合と、そもそも報酬期待が0%で報酬が得られなかった場合を比較した。その結果、ほとんどの新規ドーパミン細胞は、0%よりも50%で報酬が得られなかった場合に活動が増加していた。この結果は、新規ドーパミン細胞は、期待よりも報酬が少ないことに反応するのであって、期待度合いと関係無しに報酬無しに対して反応するわけではないことを支持する。第二に、期待外れの際の活動と、その後の期待外れを乗り越えようとする行動との関係を解析した。その結果、新規ドーパミン細胞に分類された細胞全体として、期待外れの際の活動上昇と次の報酬獲得行動を開始するまでの潜時が負の相関を示した。この結果から、新規ドーパミン細胞の活動は、期待外れの際に、次の報酬獲得行動に向かうための動機を高める機能を担う可能性が示された。

(3) 次に、ドーパミン細胞の主な投射先である線条体のドーパミン量をファイバーフォトメトリ法によって計測した。線条体の複数個所からドーパミン量を計測した結果、期待外れの際にドーパミン量が増える部位を特定した。また実際にその部位に、新規ドーパミン細胞を多く見つけたVTA部位から入力が入っていることを、解剖学的に確認した。

この部位におけるドーパミン量の変化を学習の初期から記録したところ、予想通り、学習の初期は、報酬予測誤差と一致し、報酬に対してドーパミン量が顕著に増加し、学習が進んでいくと期待外れに対して増加するようになった。しかし、従来型ドーパミン細胞は、期待外れに対して活動が抑制されるため、新規ドーパミン細胞が相対的に多く投射する線条体部位でも期待外れに対するドーパミン量は、多くの場合わずかにベースラインを超える程度であった。

この部位におけるドーパミン量と次の報酬獲得行動を開始するまでの潜時との関係を調べたところ、電気生理実験の結果と同様に、負の相関が見られた。この相関関係は学習の初期から見られた。しかし、上記課題を学習後に、不確実な報酬確率の条件刺激後に報酬を連続して提示しない、報酬提示の消去課題を行ったところ、その相関はより強くなった。

(4) これらの結果から、新規ドーパミン細胞が構成するVTAから線条体への神経回路は、行動が自動化されていない学習段階で、期待外れの際に諦めることなく、あるいはさらに多くの報酬を求めて、次の報酬獲得行動への動機を高める役割を担うことが示唆される。今後は、報酬量や報酬を獲得するための認知的コストを操作することで、さらに詳細に新規ドーパミン細胞の性質を調べていく。このように様々な行動課題と記録方法を駆使し、多面的に調べていくことで新規ドーパミン細胞の本質的役割を解明していく。

<引用文献>

- Schultz W, Dayan P, Montague PR. A neural substrate of prediction and reward. (1997) *Science*, 275: 1593-1599. (査読あり)
- Ogawa M, van der Meer M, Esber G, Cerri D, Stalnaker TA, Schoenbaum G. Risk-Responsive Orbitofrontal Neurons Track Acquired Salience. (2013) *Neuron*, 77: 251-258. (査読あり)
- Esber GR, Haselgrove M. Reconciling the influence of predictiveness and uncertainty on stimulus salience: A model of attention in associative learning. (2011) *Proc Biol Sci*. 278: 2553-2561. (査読あり)
- Sun F, Zhou J, Dai B, Qian T, Zeng J, Li X, ... Li Y. Next-generation GRAB sensors for monitoring dopaminergic activity in vivo. (2020) *Nature Methods*, 1-11. (査読あり)
- Lerner TN, Shilyansky C, Davidson TJ, Evans KE, Beier KT, Zalocusky KA, ... Deisseroth K. Intact-Brain Analyses Reveal Distinct Information Carried by SNc

Dopamine Subcircuits. (2015) Cell, 162: 635-647. (査読あり)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 石野 誠也, Sarpong Gideon, 鎌田 泰輔, 向平 妃沙, 司 怜央, 小川 正晃
2. 発表標題 不確実な報酬への行動を強化するドーパミン細胞の潜在的役割
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>https://researchmap.jp/ishino</p>
--

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------