

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 5 日現在

機関番号：24405

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K06957

研究課題名(和文) 環境に応じた柔軟な行動を可能にする中脳ドーパミン神経回路の役割

研究課題名(英文) Dopamine signaling in adaptive decision making

研究代表者

松本 英之 (Matsumoto, Hideyuki)

大阪公立大学・大学院医学研究科・助教

研究者番号：50511383

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)：生物は環境との相互作用を通して行動を適応させる。申請者のこれまでの研究から、中脳ドーパミン細胞が環境の状態に応じて信号モードを修飾させることがわかってきている。本研究では、適応行動を制御するドーパミン信号の実態を解明することを目的とした。動物が環境に適応する過程を繰り返し調べることができる行動課題を考案した。この課題において動物は試行錯誤を通してより多くの報酬を得るための適応行動を示した。次に、細胞外神経活動計測と光遺伝学を組み合わせ、個々のドーパミン細胞の応答や投射先別のドーパミン信号を計測する技術を開発した。その結果、環境適応におけるドーパミン信号の多様性と投射回路との対応を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ドーパミンは多様な脳機能に関連する。しかし、中脳ドーパミン系がどのようなメカニズムによって多様な脳機能を適切に制御しているかはあまり明らかではなかった。本研究では、細胞外神経活動計測技術と光遺伝学を組み合わせ、単一細胞レベルの、投射回路別のドーパミン信号を高時間分解能で計測する技術を開発した。さらに、この計測技術を自由行動中の動物に適用し、環境適応におけるドーパミン信号のダイナミクスを詳細に検討する実験系を確立した。本研究により、適応行動におけるドーパミン系の情報処理メカニズムの一端を明らかにした。環境適応における脳の動作原理の理解につながると期待される。

研究成果の概要(英文)：Organisms adapt their behavior through interactions with the environment. We previously showed that midbrain dopamine neurons modify their signaling modes in response to environmental contexts. In this study, we aimed to elucidate dopamine signals that control adaptive behavior in dynamically changing environments. We devised behavioral tasks that animals repeatedly adapt to the new reward environments to maximize their reward. As we expected, animals adapted to the new environments through trial and error, leading to increased rewards. We then applied a new recording technique combining in vivo electrophysiology and optogenetics to record the projection-site specific dopamine signals as well as the responses of individual dopamine neurons. We found diverse and projection-site-identified dopamine signals which will be used for appropriate decision-making.

研究分野：システム神経科学

キーワード：神経回路 ドーパミン モチベーション 電気生理学 光遺伝学 齧歯類

1. 研究開始当初の背景

生物は環境との相互作用を通して柔軟に適応する。環境適応能力は生物の生存と進化に重要である。中脳に分布するドーパミン産生細胞は大脳基底核や前頭前皮質などさまざまな脳領域へ幅広く投射し、環境に応じた行動の柔軟性や実行機能の制御に関与している。申請者らはこれまでに、中脳の腹側被蓋野に分布し、線条体へと投射すると考えられるドーパミン産生細胞が、環境のコンテキスト、状態に応じて報酬や罰などへの応答性を修飾させることを明らかにしてきた (Matsumoto et al., eLife, 2016)。しかし、このドーパミン信号の修飾と行動適応に必要なとされるさまざまなドーパミン機能との関連性はよくわかっていない。また、近年の研究から、異なる脳領域へ軸索を投射するドーパミン産生細胞は異なる性質のドーパミン信号を伝達していることや、異なる脳機能の制御に関連していることなどがわかってきている。しかし、環境適応における投射回路別のドーパミン信号の修飾のパターンや、その修飾と機能制御の関連についてもよく分かっていない。

2. 研究の目的

環境に適応する過程でドーパミンは重要な役割を果たすと考えられる。しかし、異なる性質を持つ個々の中脳ドーパミン細胞が環境適応とどのように関連しているのかはよくわかっていない。本研究では、動物が環境に適応する過程を繰り返し観察できる行動課題を考案し、行動課題中の腹側被蓋野ドーパミン細胞の活動を計測する。さらに記録したドーパミン細胞の投射先を明らかにすることで、適応行動を制御する投射回路特異的なドーパミン信号の修飾を明らかにすることを目的とした。

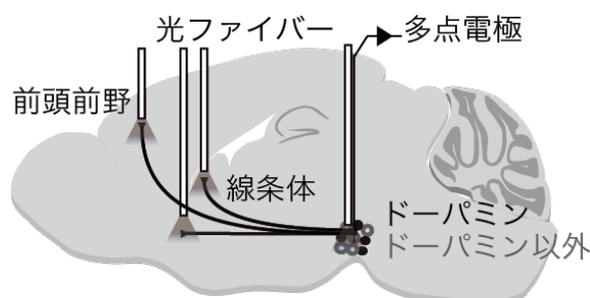


図1：実験系の概略。

3. 研究の方法

(1) 細胞外電気生理計測と光遺伝学を組み合わせた実験系の確立

申請者はこれまで、細胞外電気生理計測技術を利用して、腹側被蓋野ドーパミン細胞から神経活動計測を行ってきた (Matsumoto et al., eLife, 2016)。腹側被蓋野にある細胞のうち、約6割程度がドーパミン細胞であると考えられている。近年の研究から、細胞外電気生理計測によって得られるデータ (活動電位の waveform の形状など) から間接的にドーパミン細胞を判定する方法には限界があることがわかってきている (Ungless and Grace, Trends in Neurosci., 2012)。そこで本研究では、電気生理学的手法と光遺伝学を組み合わせ、ドーパミン細胞を直接同定する実験技術を利用する。ドーパミン細胞特異的に Cre 組換え酵素を発現させる BAC 遺伝子導入ラット (Witten et al., Neuron, 2011) を使用し、この動物の腹側被蓋野にアデノ随伴ウイルスベクター AAV-EF1a-DIO-ChR2 を注入して、Cre 依存的に光感受性陽イオンチャネルであ

るチャンネルロドプシン (ChR2) を発現させる。次に、数十個の細胞から同時活動計測が可能な多チャンネル電極に光ファイバーを貼り合わせたアセンブリ電極を作製する。この電極を利用することで、活動計測している個々の細胞に光ファイバー経由で青色光を照射することができる。もし ChR2 を発現する細胞から記録しているのであれば光照射によって活動電位が発生するため、その活動電位の有無を指標に ChR2 陽性細胞を同定することができる。

本研究では経路特異的なドーパミン信号を同定するため、電気生理学と光遺伝学を組み合わせた実験技術を開発する。上記と同様の方法により、Cre 陽性ドーパミン細胞の軸索に光感受性のオプシンを発現させる。内側前頭前野や側坐核、線条体などに光ファイバー (200 μm 径) をそれぞれ刺入する。光ファイバー経由で投射先に光を照射し、ドーパミン神経軸索で活動電位を発生させる。腹側被蓋野から活動計測された細胞のうち、軸索から細胞体へ向かう活動電位を観測できるかどうかを指標に、各脳領域に投射する ChR2 陽性細胞を同定する。

(2) 適応行動におけるドーパミン神経系の情報処理機構

動物が環境に適応していく過程を調べるため、環境から得られる全体報酬量や選択行動の結果得られる報酬量をランダムな試行数の後に繰り返し変化させる行動課題を開発する。行動箱の中でラットは自由に行動し、自分の好きなタイミングで試行を開始し、二つある選択肢のうち一つを選択した後、対面の壁に設置された報酬ポートから報酬を得る。報酬量を3段階に分け、40-60 試行でランダムにブロックを変化させる。各試行開始までの時間を行動開始の意欲を表す指標として用いる (Wang et al., Nature Neurosci., 2013; Hamid et al., Nature Neurosci., 2016)。行動はビデオや近赤外センサ、加速度計によって記録する。

この行動課題を行う動物に (1) の神経活動計測技術を適用し、行動中に腹側被蓋野から数十個の単一細胞の活動を同時計測する。実験後のオフラインの解析では、多点電極から得た電気信号から活動電位を抽出し、活動電位の特徴等を利用して単一細胞毎の活動電位へ分離するスパイクソーティングとクラスタリングを行う。

4. 研究成果

(1) 細胞外電気生理計測と光遺伝学を組み合わせた実験系の確立

ChR2 が中脳ドーパミン細胞特異的に発現しているか調べるため、AAV-EF1a-DIO-ChR2 注入後に全脳切片を作製した。ドーパミン細胞のマーカであるチロシンヒドロキシラーゼ (TH) の陽性細胞の細胞体と軸索を観察し、TH 陽性の細胞体や軸索に特異的に ChR2 が発現していることを確かめた。次にドーパミン細胞の活動を同定するため、シリコンプローブ多点電極に貼り付けた光ファイバーおよび投射先に刺入した光ファイバーより光照射を行なった。シリコンプローブに貼り付けた光ファイバーから光照射すると、5 ミリ秒以内に活動電位を発生させる細胞がいた。光照射に対する活動電位の発生確率が高いこと、光照射で発生した活動電位と自発的な活動電位の waveform 相関が高いこと、また光照射から活動電位発生までの潜時の揺らぎが極小であることを基準として、これらを満たす細胞をドーパミン細胞と同定した。このような特性は、テトロド電極を利用して細胞種の同定を行なった先行研究の結果 (Matsumoto et al., eLife, 2016 など) と一致していた。以上より、シリコンプローブ等の多点電極で効率よくドーパミン細胞種を同定する実験系の準備が整った。

投射先脳領域を光照射すると、計測された細胞のうちのいくつかが約 10-15 ミリ秒後に活動電位を発生させた。この投射先光照射によって生じる活動電位の潜時は、投射先あるいは細胞毎にほぼ一定であった。また、自発的な活動電位が発生した直後に投射先へ光照射しても活動電位が観察されなかった。このことは、光照射によって軸索で発生して細胞体へ向かう活動電位が、

細胞体で発生して軸索へ向かう自発的な活動電位と衝突して消失する現象によって説明ができる（スパイク衝突試験；Guyenet and Aghajanian, Brain Res., 1978）。以上から、多点電極を用いて大規模な神経活動同時記録を行いながら、特定細胞種を同定したり、投射先を同定したりする実験系の準備が整った。

(2) 報酬に基づく動物の適応的行動の定量的解析

選択行動：試行ブロックがスイッチして左右の選択で得られる報酬量が増減した場合、ブロックスイッチから約 10 試行以内で選択行動のスイッチが観察された。この選択行動のスイッチは報酬量に依存しており、スイッチ後の報酬量が多いほど選択行動のスイッチも早い傾向が観察された。

試行開始行動：全体の報酬量が増減するブロックスイッチの場合、ラットが試行を開始するまでの時間は、報酬量が増加するスイッチでは短くなり、減少するスイッチでは長くなった。また、直近の過去 10 試行において大きい報酬を得た回数が多いほど、試行開始時間は短くなった。つまり、報酬量や報酬獲得回数と試行開始時間の間には負の相関があることがわかった。これは、報酬の獲得頻度が多いほど動物の行動開始意欲が大きいことを反映していると考えられる。このように、動物はたくさんの報酬が得られるように自分の選択行動や試行開始行動を能動的に変容させる適応行動を示すことがわかった。

動物の行動結果から、動物の選択行動や試行開始行動は過去の報酬に大きく影響されることがわかった。次にこれらの行動がどれくらい過去の報酬の影響を受けるのか調べるため、過去 10 試行の報酬獲得の有無が現在の選択行動や試行開始行動に与える影響を線形回帰分析した。その結果、本研究課題では動物の適応行動は過去 5 試行程度の報酬履歴の影響を強く受けていることがわかった。

(3) 適応行動におけるドーパミン神経系の情報処理機構の解明

環境に適応する過程において、ドーパミン細胞はどのような応答の修飾を示すのだろうか？このことを調べるため、本研究の行動課題を行う動物から個々のドーパミン細胞の活動電位を計測し、課題中のさまざまなイベントに対する応答や報酬獲得頻度に応じた応答の修飾に着目して解析を行った。その結果、新しい行動—報酬の連合を学習する過程や意欲が増減する過程において、ドーパミン細胞はイベントの種類やタイミングに応じて多様な応答の修飾を示すことがわかった。この多様性と投射回路の関係を検証するため、行動課題終了後に各投射先に刺入した光ファイバーから青色光を照射し、投射先の同定を行った（図 1）。その結果、ドーパミン神経の線条体投射パターンと本研究で得たドーパミン信号の多様性に関連があることが示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Yoshida Ruriko, Takamori Misaki, Matsumoto Hideyuki, Miura Keiji	4. 巻 157
2. 論文標題 Tropical support vector machines: Evaluations and extension to function spaces	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Neural Networks	6. 最初と最後の頁 77 ~ 89
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neunet.2022.10.002	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Tsutsui-Kimura Iku, Matsumoto Hideyuki, Akiti Korleki, Yamada Melissa M, Uchida Naoshige, Watabe-Uchida Mitsuko	4. 巻 9
2. 論文標題 Distinct temporal difference error signals in dopamine axons in three regions of the striatum in a decision-making task	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 eLife	6. 最初と最後の頁 e62390
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7554/eLife.62390	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Watabe-Uchida Mitsuko, Tsutsui-Kimura Iku, Matsumoto Hideyuki, Uchida Naoshige	4. 巻 -
2. 論文標題 Dopamine axon population Ca signals in the striatum during odor cue- and reward-based choice tasks in mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Dryad (data repository)	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Tsuyoshi Ishikawa, Hideyuki Matsumoto, Keiji Miura	4. 巻 -
2. 論文標題 Identification of midbrain dopamine neurons using features from spontaneous spike activity patterns	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 IEEE EMBC 2019	6. 最初と最後の頁 2990-2993
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1109/EMBC.2019.8857574	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 6件）

1. 発表者名 松本英之、水関健司
2. 発表標題 意思決定におけるドーパミンニューロンの異なるモチベーション信号
3. 学会等名 日本生理学会第100回記念大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 松本英之
2. 発表標題 意思決定におけるドーパミン神経系の情報処理機構
3. 学会等名 大阪公立大学 4 研究センター合同セミナー
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Hideyuki Matsumoto
2. 発表標題 Pathway-specific signals of midbrain dopamine neurons in reward-based decisions
3. 学会等名 The NIPS Research Meeting 2022 (Learning & Memory) (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hideyuki Matsumoto, Kenji Mizuseki
2. 発表標題 Projection-specific roles of midbrain dopamine neurons in reward-based decisions
3. 学会等名 The 44th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 瀬戸川将, 岩永功佑, 多田修斗, 斎藤喜人, 石河三貴子, 松本英之, 水関健司, 関口寛人, 大川宜昭
2. 発表標題 運動・認知スキルの獲得メカニズム解明に向けた小動物用多点薄膜皮質脳波計の開発
3. 学会等名 第76回日本体力医学学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Iku Tsutsui-Kimura, Hideyuki Matsumoto, Korleki Akiti, Melissa M Yamada, Naoshige Uchida, Mitsuko Watabe-Uchida
2. 発表標題 Distinct temporal difference error signals in dopamine axons in three regions of the striatum in a decision-making task
3. 学会等名 Society for Neuroscience (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Misaki Takamori, Hideyuki Matsumoto, Ruriko Yoshida, Keiji Miura
2. 発表標題 Classifying neural responses by tropical distances
3. 学会等名 The 43rd Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Misaki Takamori, Hideyuki Matsumoto, Ruriko Yoshida, Keiji Miura
2. 発表標題 Classifying neural responses by tropical distances
3. 学会等名 Fusion of Mathematics and Biology
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hideyuki Matsumoto
2. 発表標題 High resolution Opto-Electrophysiology: a new tool for analyzing brain functions
3. 学会等名 International Workshop on Quantum Sensing and Biophotonic (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松本英之、水関健司
2. 発表標題 報酬に基づく意思決定における腹側被蓋野ニューロンの情報処理
3. 学会等名 第42回日本神経科学大会 / 第62回日本神経化学大会 (NEURO2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 三浦佳二、石川剛史、松本英之
2. 発表標題 自発電気活動に基づくドーパミンと非ドーパミンニューロンの判別
3. 学会等名 第42回日本神経科学大会 / 第62回日本神経化学大会 (NEURO2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 松本英之, 内田光子, 内田直滋	4. 発行年 2020年
2. 出版社 クバプロ	5. 総ページ数 346
3. 書名 ブレインサイエンス・レビュー 2020	

〔産業財産権〕

〔その他〕

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
---------	---------