

综 述

光纤记录系统在神经科学研究中的应用

张莉唯¹, 毕爱玲^{2,3}, 李谦¹, 毕宏生^{2,3,*}

¹山东中医药大学眼科与视光医学院, 济南 250014; ²山东中医药大学附属眼科医院, 济南 250002; ³山东中医药大学眼科研究所, 山东省中西医结合眼病防治重点实验室, 山东省高校中西医结合眼病防治技术(强化)重点实验室, 济南 250002

摘要: 近年来, 光纤记录系统作为一种记录自由活动动物大脑特定核团神经元活动的技术, 在神经科学领域研究中广受欢迎, 是研究动物神经元活动与行为关系的重要技术手段。本文综述了单通道光纤记录系统、多通道光纤记录系统及多色光纤记录系统在认知、行为学、心理学等神经科学基础及神经疾病中的应用, 并简述了光纤记录系统与功能磁共振成像技术结合、光纤记录系统与递质探针结合在神经科学领域中的应用。

关键词: 光纤记录系统; 单通道、多通道、多色光纤记录系统; 神经科学; 神经疾病
中图分类号: R319

Application of fiber photometry in neuroscience research

ZHANG Li-Wei¹, BI Ai-Ling^{2,3}, LI Qian¹, BI Hong-Sheng^{2,3,*}

¹Shandong University of Traditional Chinese Medicine Medical College of Optometry and Ophthalmology, Jinan 250014, China; ²Affiliated Eye Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250002, China; ³Eye Institute of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Shandong Province Key Laboratory of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine for Prevention and Therapy of Ocular Disease, Key Laboratory of Integrative Medicine for Prevention and Treatment of Ocular Diseases in Colleges and Universities of Shandong Province, Jinan 250002, China

Abstract: In recent years, fiber photometry has been widely used in the field of neuroscience as an important technique for recording the activity of neurons in the specific nuclei of freely moving animal. This review summarized the application of single-channel, multi-channel, and multi-color fiber photometry techniques in the neuroscience research of cognition, behavior, psychology and neurological diseases. In addition, it briefly introduced the applications of fiber photometry combined with functional magnetic resonance imaging technology, and fiber photometry combined with probe technology in the neuroscience research.

Key words: fiber photometry; single-channel, multi-channel, multi-color fiber photometry; neuroscience; neurological disease

1 光纤记录系统

近年来, 光纤记录系统被广泛应用于检测和记录小鼠行为过程中各功能脑区的群体钙信号水平^[1-5]。该技术通过落射式荧光激发, 由多模光纤传导, 并结合微弱光信号检测和特异性荧光标记技术, 对行为活动同步的小鼠特定脑区进行检测和记录^[6]。与光纤记录方法比较, 传统电生理记录方法抗电磁干扰能力弱^[7]、记录不稳定、时程较短、适用方面狭窄。

双光子显微镜检测则需要麻醉动物且固定头部^[8], 同时, 大多数的研究局限在动物的浅层脑皮质区域, 而光纤记录系统则避免了上述缺点。因此光纤记录系统是传统电生理记录、双光子显微镜等方法的补充, 并在神经领域及相关神经疾病研究中具有极为重要的作用。

由光源发出的激发光被二向色镜反射聚焦在多模光纤中, 光纤将激发光传输到特定脑区, 激发被钙指示剂特异性标记的神经元, 并将神经元活动以

荧光形式表现出来。神经元活性或递质水平与荧光信号强度呈正相关，随着神经元活动的增高或者递质水平的升高，荧光信号随之增强，反之亦然。变换的荧光信号经同一根光纤传回探测器，通过光电转换器件转化为可以采集的电压信号，经滤波放大后被实时显示^[9]，从而反映特定行为发生时相关的神经核团的功能。

光纤记录系统按组成结构的不同可分为单通道光纤记录系统、多通道光纤记录系统及多色光纤记录系统。单通道光纤使用一根多模光纤发出激发光，测量一组神经元发出的荧光信号。多通道光纤则将多个多模光纤排列并固定在一个陶瓷插芯中，各光纤在末端分开^[10]，分别将激发光传输到小鼠的不同脑区，测量几组神经元发出的荧光信号。多色光纤记录系统是在单色系统的基础上增加不同的荧光通道^[11,12]，其中得到的新的荧光信号作为参考通道的信号被视为对照数据，可有效地去除背景噪音信号，多色光纤记录系统由同一根光纤同时记录钙离子 (Ca^{2+}) 变化的荧光信号和参考通道的荧光信号。

2 单通道光纤系统在认知、行为学、心理学基础研究及神经疾病中的应用

20 世纪 90 年代，光纤束被应用于探索自由活动状态下的猫在注射可卡因前后海马脑区的神经活动^[13]。2005 年，这种基于光纤的检测方式记录到了非麻醉条件下小鼠脑皮质神经元的钙瞬变现象^[14]。直至 2014 年，光纤记录系统的概念由 Gunaydin 等^[15]提出，并应用在阐明中脑腹侧被盖区 (ventral tegmental area, VTA) 到伏隔核 (nucleus accumbens, NAc) 的神经投射可以编码和预测社交行为中。此后，这种技术被广泛应用在纹状体^[16] (图 1)、海马^[17]、NAc^[18] 等脑区的科学研究中，促进了对不同脑区在抑郁症^[19]、自闭症^[20]、癫痫^[21] 等疾病中作用的深入认识。

2.1 NAc 与觉醒调控

NAc 是基底核的一个较大核团，位于基底核与边缘系统的交界处^[22]。研究表明 NAc 参与行为调控、镇痛、药物成瘾、学习记忆、冲动抑制、觉醒控制等多个行为过程^[22,23]。Luo 等^[24] 在转基因小鼠 NAc 内植入一根光纤后，检测 NAc 多巴胺 D_1 受体 (dopamine receptor $\text{D}_1, \text{D}_1\text{R}$) 表达 (NAc- D_1R) 神经元的钙信

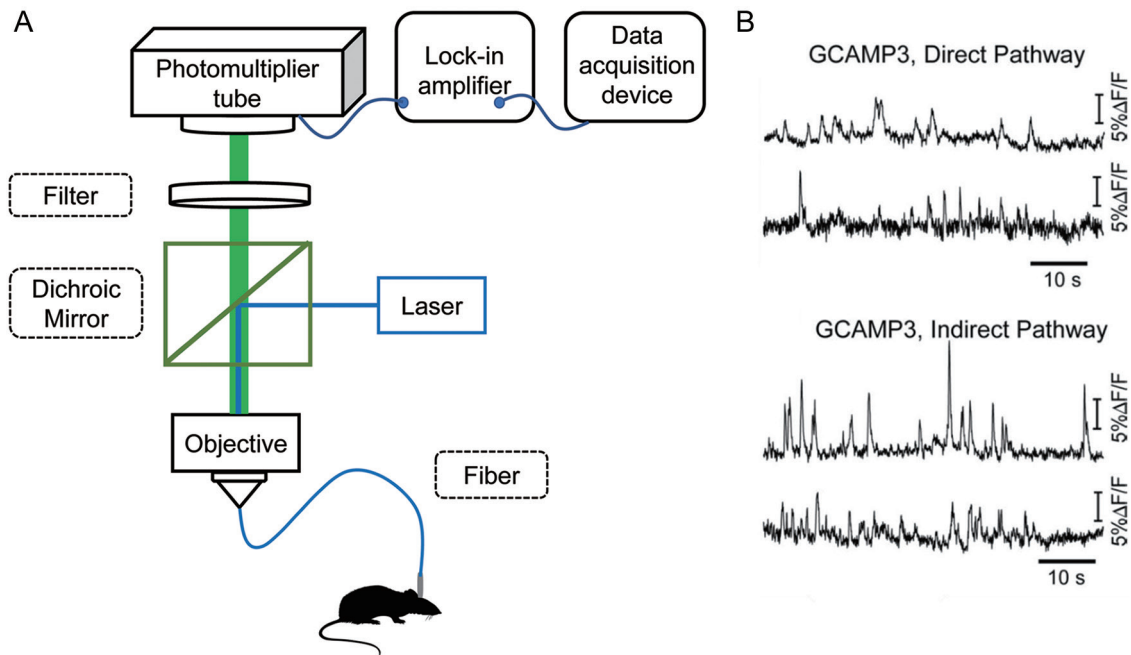


图 1. 单通道光纤记录系统的应用

Fig. 1. Application of single-channel fiber photometry. *A*: Schematic diagram of the structure of the single-channel fiber photometry. *B*: Research on striatum using single-channel fiber photometry. The Ca^{2+} signal recording example comes from two freely moving mice. GCAMP3 fluorescence was recorded in the striatum of two freely moving mice. The inset *B* was reproduced from Cui *et al.*, 2013 with permission^[16].

号,探索 NAc 脑区在觉醒调控中的作用。结果显示, NAc-D₁R 神经元参与觉醒调节,其活性与觉醒程度高度相关。特异性激活该神经元可诱导小鼠从睡眠状态转变为觉醒状态,同时可以延长清醒时间。该研究表明 NAc-D₁R 神经元对于维持和诱导觉醒有重要意义,并构成 NAc 高级行为的基础。

2.2 中缝背核与奖赏相关行为

中缝背核是位于中脑导水管腹侧的一个神经核团,参与包括学习记忆、镇痛效应在内的多种生理功能状态的调控^[25]。Li 等^[26]应用光纤记录法与在体电生理记录法观测中缝背核前脑 5-羟色胺 (5-hydroxytryptamine, 5-HT) 及 γ -氨基丁酸 (γ -aminobutyric acid, GABA) 神经元在各种奖赏状态下的活性变化。结果显示,中缝背核 5-HT 神经元可以被原初奖赏所激活,并且 5-HT 神经元和 GABA 神经元的活性都与动物的行为状态有很强的关联性,但二者却表现出不同的活性。

Zhong 等^[27]利用光纤记录技术检测中缝背核的 5-HT 神经元及 VTA 的多巴胺 (dopamine, DA) 神经元在奖赏学习过程及压力环境下的活性变化。结果显示,随着奖赏学习时间的增长,5-HT 神经元的活性随着预测奖赏出现的声音线索而逐渐增强,最后得到奖赏(蔗糖溶液)时仍被激活。而对于 DA 神经元,对预测奖赏出现的声音也产生逐渐增强的反应,但最终得到奖赏时反应逐渐降低。在整个奖赏学习过程中,5-HT 神经元反映奖赏状态,DA 神经元反映奖赏的可预测性。在压力作用下,5-HT 神经元和 DA 神经元的反应强度降低,提示压力环境有可能抑制两种神经元对奖赏的反应,从而诱发了精神类疾病^[27,28]。

2.3 丘脑室旁核(paraventricular thalamus, PVT)与觉醒及奖赏、惩罚相关行为

PVT 位于背侧中线丘脑,接收来自下丘脑、脑干等输入,并投射到 NAc、中央杏仁核等部位^[29],参与觉醒、学习与记忆等多个方面的功能调控。Ren 等^[30]创新性地发现了 PVT 是维持觉醒的关键核团,他们采用多通道电生理记录和光纤成像技术,发现实验小鼠在睡眠向觉醒转换的过程中 PVT 神经元兴奋性显著增高,并且 PVT 神经元在整个觉醒期间保持高兴奋性。后续的研究进一步证实 PVT 中的视网膜蛋白阳性神经元介导了 PVT 对觉醒的调控作用^[31,32]。

此外,Zhu 等^[33]的研究还发现奖赏和惩罚刺激都可以显著激活 PVT 神经元,且刺激越强,被激

活的程度越大。反复接受中性刺激时,PVT 的响应逐渐减弱,但将中性刺激与奖赏或惩罚偶联后,PVT 又可被重新激活,提示 PVT 只对能够影响行为的刺激做出相应反应。

2.4 下丘脑室旁核(paraventricular nucleus, PVN)与防御及压力缓解

PVN 是位于下丘脑内侧的一个重要神经分泌核团。Daviu 等^[34]关注了实验小鼠在面对危机时产生不同防御行为的神经机制,及 PVN 促肾上腺皮质激素释放激素(corticotropin-releasing hormone, CRH)阳性(CRH^{PVN})神经元的活性变化。光纤记录发现 CRH^{PVN} 神经元活性的改变参与了危险逼近时逃跑行为的发生,且 CRH^{PVN} 神经元还可以参与编码压力可控性训练,最终影响逃跑行为的变化。此外,可控的压力训练也可以改变 CRH^{PVN} 神经元的活性,进而改变面对威胁的防御策略。

PVN 还参与应激反应,Yuan 等利用光纤记录系统对自由移动小鼠 PVN 内的 CRH 神经元 Ca²⁺ 变化进行研究,结果发现 PVN-CRH 可以被各种形式的应激源激活。PVN-CRH 神经元活性的增加可以启动应激反应,而奖励消耗则可以快速持久地抑制 PVN 内的 CRH 神经元活性以缓解压力^[35]。

2.5 黑质与癫痫

癫痫是一种常见的慢性中枢神经系统疾病,发病时会引起大脑神经元的异常高频、同步化放电,导致神经元兴奋性异常增高^[36]。癫痫常伴有意识短暂丧失及抽搐的临床表现,具有反复发作,较难根治的特点^[37]。近年来,光纤记录被广泛地应用在癫痫动物模型的研究中^[21,38–40],以阐明癫痫发病机制。

Zhang 等^[38]利用光纤记录的方法检测皮下注射海人酸(kainic acid, KA)后自由活动小鼠的神经元群体实时活动,并将钙信号与小鼠的相关行为做同步性观察。结果显示,皮下注射 KA 可诱导小鼠癫痫发作,通过光纤记录发现小鼠海马 CA1、CA3、齿状回(dentate gyrus, DG)以及内嗅皮层(entorhinal cortex, EC)四个脑区出现癫痫样钙活动,并认为癫痫样病变在行为发生前就已在脑中发生。

Chen 等利用光纤记录技术检测小鼠黑质网状部(substantia nigra pars reticulata, SNr)内 GABA 神经元的钙信号,探索 SNr 在颞叶癫痫中的作用。结果表明在癫痫发作期间该神经元被激活,并且其活性随癫痫发作进程而逐渐增强,为阐明 SNr 的 GABA 神经元在颞叶癫痫中的作用机制提供了依据^[39]。

3 多通道光纤记录系统在认知、行为学、心理学基础研究中的应用

Adelsberger 等^[41]在研究灵长类动物初级运动皮层时提出了一种双通道光纤记录系统——通过分光与增加耦合和探测光路实现。虽然两个通道共用一个光源，但若再增加一个通道则需重新分光，并且需要复制一条耦合和探测光路，使得最终的光学系统变得复杂且庞大^[42]。因此在后续的研究中，付玲教授团队^[42]在单通道基础上，改良了多通道光纤系统，并证明这项技术应用于研究神经回路的可行性。

海马 DG 是一个狭长的灰质带，除内侧面之外都被海马所围绕，与多个脑区有着紧密的功能联系。Li 等^[43]采用多通道光纤系统记录下丘脑乳头体上核 (supramammillary nucleus, SuM) 中 GABA 神经元和海马 DG 颗粒细胞的 Ca^{2+} 变化，研究了 SuM 与 DG 如何调控空间记忆。结果显示这两个脑区或许存在着协同工作的关系。在新位置识别实验时记录

两个脑区的钙信号，发现在记忆提取阶段神经元活性均出现提高，且活性高于学习阶段。说明 SuM 和 DG 神经元可以同步调控记忆的提取，SuM-DG 环路在学习记忆调控中起重要作用，可能成为治疗神经退行性疾病的潜在靶点。

付玲教授团队还提出一种不同于前人的多通道光纤测光方法^[44]——设计将四根多模纤维粘在一起的新型纤维探针，置于自由活动小鼠脑内。结果显示，在小鼠内嗅皮层第二层到海马体 DG 区域的不同投射位置上存在着不同的神经元活动模式。成功验证了该装置可以记录自由活动小鼠轴突末梢的 Ca^{2+} 信号，并在此过程中不受机械约束 (图 2)。

4 多色光纤记录系统在行为学、奖赏效应研究中的应用

Kim 等^[45]除了将光纤系统中的光敏传感器更换为采用高灵敏度且低噪的芯片 CMOS 相机，还采用两个激发光源，将参考通道的荧光信号作为对

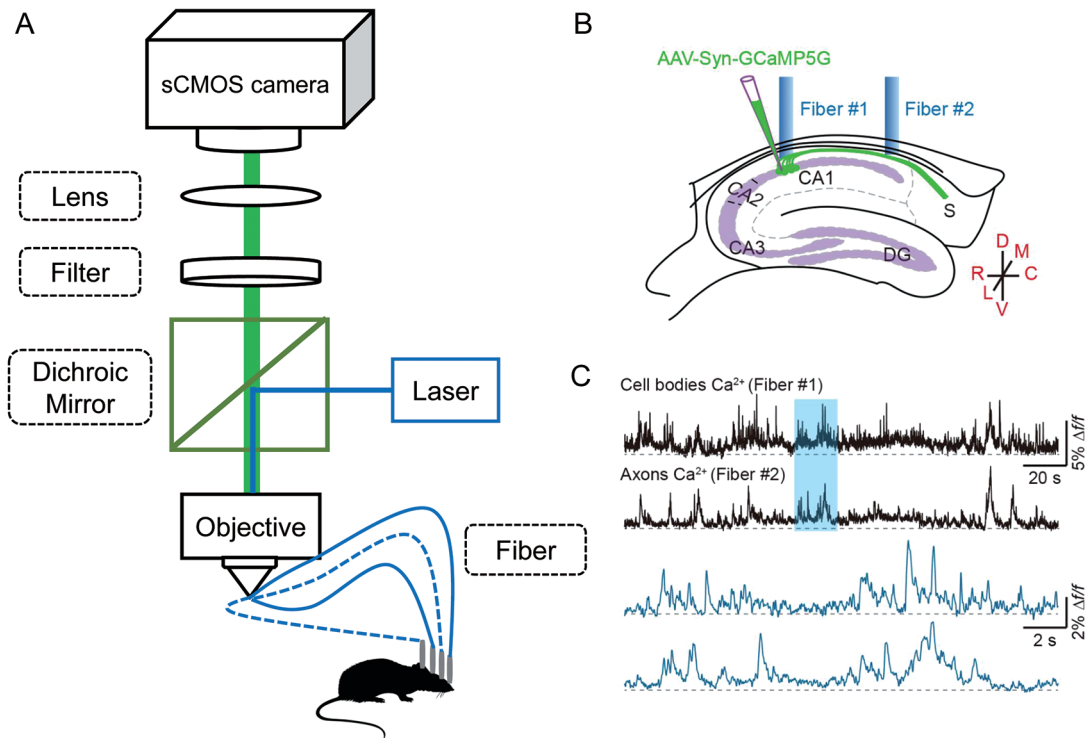


图 2. 多通道光纤记录系统的应用

Fig. 2. Application of multi-channel fiber photometry. A: Schematic diagram of the structure of the multi-channel fiber photometry which have two or more fibers. B: Research on hippocampal dentate gyrus (DG) using multi-channel fiber photometry. This figure shows the injection of the virus into the CA1 pyramidal layer and the recording of Ca^{2+} at the site of virus injection and at the axonal terminals. C: Examples of Ca^{2+} signal recordings are from the cell bodies and axons of freely moving mice. The enlarged part at the bottom is the blue area in the upper image. The insets B and C were reproduced from Qin *et al.*, 2019 with permission^[44].

照组, 对所得数据进行校正, 从而使所得数据更加可靠 (图 3)。

4.1 NAc与成瘾、冲动控制

NAc 是大脑中奖励和成瘾的关键区域, 接受来自 VTA 的大量 DA 输入^[46, 47]。已有研究表明 DA 与药物成瘾等有关, 成瘾药物会引起 NAc 脑区内的 DA 增加, 增强奖赏效应, 导致药物成瘾^[48]。Corkrum 等^[49]利用光遗传学与光纤记录系统结合的方法, 发现 VTA 突触释放 DA 后, NAc 星形胶质细胞的 Ca^{2+} 浓度升高。DA 激活星形胶质细胞上的 D_1R , 因此增加其细胞内的 Ca^{2+} 浓度并释放 ATP / 腺苷, 后者抑制兴奋性突触的传递。星形胶质细胞以往被认为参与觅药行为^[50], 该研究进一步发现星形胶质细胞是 NAc 内 DA 能信号传导的关键元素, 因此提出 NAc 内的星形胶质细胞或许可以作为药物成瘾等疾病的新治疗靶点。

冲动性是指个体容易做出过早的、缺乏远见性

的决定倾向, 是各种神经精神性疾病的特征^[51, 52], 目前有研究探索了 NAc 中快闪中间神经元 (fast-spiking interneurons, FSIs) 在抑制冲动方面的重要作用。研究人员使用光遗传学法和光纤记录法, 借助基因编码的钙指示剂检测 FSIs 和中等多棘神经元 (medium spiny projection neurons, MSNs) 的钙信号, 发现 FSIs 活性减少时, 钙信号相应减弱, 并预示不良行为的发生。此外, Pisansky 等还发现 NAc-FSIs 对 MSNs 的钙信号产生负性调节, 刺激 FSIs 后, MSNs 的钙信号水平降低, 而抑制 FSI 后观察到的冲动性增加可能与此时 MSNs 被 FSI 抑制减少, 进而在 NAc 的输出增多有关。以上结果表明 NAc-FSIs 在冲动控制中起关键作用^[53]。对 NAc 内 FSIs 的认识可为理解、治疗与冲动相关的神经精神性疾病提供基础理论。

4.2 NAc通路奖赏效应

Calipari 等^[54]使用光纤记录系统研究控制女性

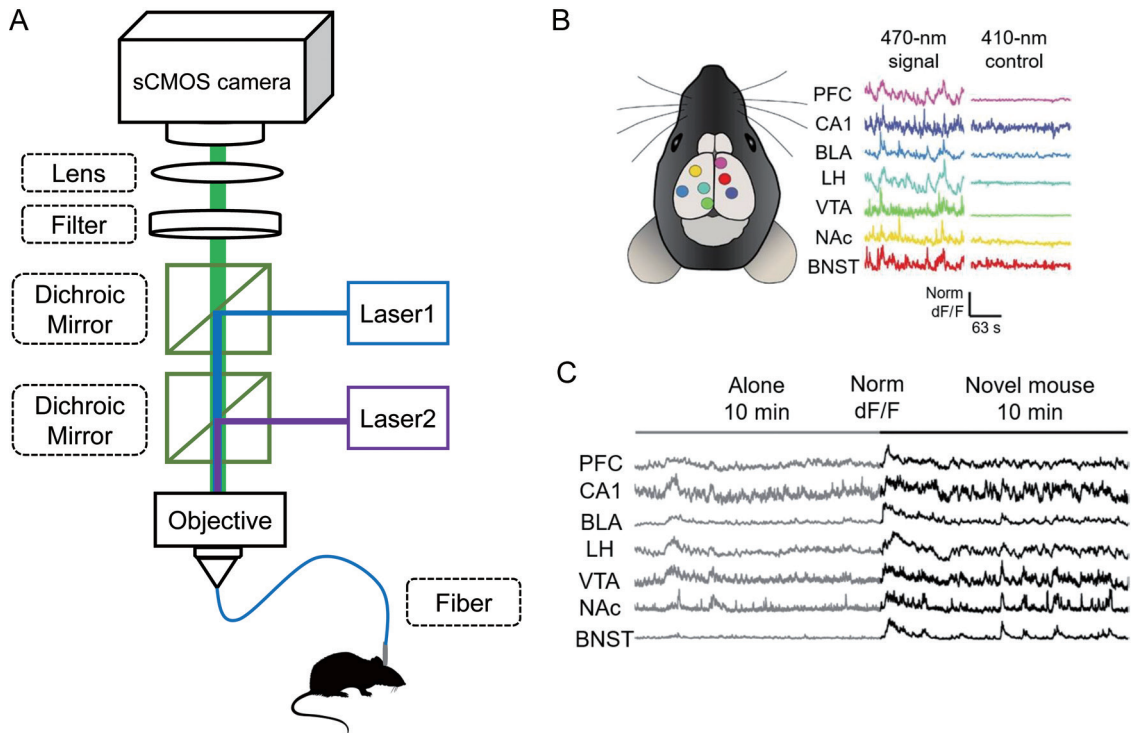


图 3. 多色光纤记录系统的应用

Fig. 3. Application of multi-color fiber photometry. *A*: Schematic diagram of the structure of the multi-color fiber photometry. *B*: The image on the left shows the schematic diagram of the optical fiber positions in seven different regions of the brain of mice expressing GCaMP6f. The image on the right is an example of Ca^{2+} signal recording of a freely moving mouse excited by 470 nm and 410 nm. *C*: When the experimental mouse was alone or in association with another new mouse, GCaMP6f fluorescence traces from seven different regions of the brain of the experimental mouse were recorded. Norm, normalized. The insets *B* and *C* were reproduced from Kim *et al.*, 2016 with permission^[45].

可卡因的奖赏机制，在 VTA 和 NAc 植入两根独立的光纤分别记录在 DA 神经元胞体及突起的 Ca^{2+} 变化。结果显示，在清醒且自由活动的发情期雌性小鼠中，VTA 的 DA 神经元基础活性明显增高，而在可卡因作用下，所有实验动物的 VTA 神经活动出现降低，并且这种抑制作用对发情期雌性小鼠更强。

NAc 参与形成中脑边缘多巴胺系统，研究人员运用类似的研究方法探索了中脑边缘 DA 系统中与厌恶刺激有关的神经回路。使用光纤记录在厌恶和奖励调节任务期间，同时记录了不同 NAc 亚核中 DA 神经元末端的 Ca^{2+} 活性。结果显示腹侧伏隔核内侧壳层 (vNAcMed) 主要被厌恶结果和预测厌恶的线索激活，伏隔核外侧壳层 (NAcLat) 则被预测奖励的信号所激活。通过对中脑边缘 DA 系统的神经回路的详细分析，解释了不同中脑边缘 DA 子系统的不同功能^[55]。

5 光纤记录系统与功能磁共振成像(functional magnetic resonance imaging, fMRI)结合的应用

5.1 单通道光纤记录系统与fMRI结合的应用

fMRI 具有无创性、空间分辨率高等多项特点^[56]，近年来被广泛应用于科学研究及临床等多个领域。狭义上的 fMRI 指的是血氧水平依赖 (blood oxygen level dependent, BOLD) 磁共振成像^[57]，其测得的 BOLD 信号可以很好地反映神经活动。通常将电生理技术与 fMRI 结合使用时，电生理会受到 fMRI 本身的电磁干扰^[58, 59]而使得该项技术具有较大的挑战性。

之前的研究结果已经证明光纤记录可以与 fMRI 相结合^[60]，并且不受电磁干扰，可以同步记录细胞 Ca^{2+} 活性及 BOLD 信号。Liang 等^[7]进一步证明了结合使用这两种技术同时测量 fMRI 和钙信号的可行性和有效性，他们发现联合使用光纤记录和 fMRI 具有可重现性以及记录特异性细胞的神经活动的优点。该装置也为神经和血管的联合研究提供了一种新的工具。Schlegel 等^[61]运用类似的方法在植入光纤后，对神经元及星形胶质细胞的 Ca^{2+} 和 BOLD 信号同步记录，分析进行无任务实验以及后爪刺激实验时这两种信号之间的关系。他们将光纤记录与 fMRI 结合，从而从机械角度分析来自单个神经元群体的 BOLD 信号，最终揭示潜在的神经机制。

5.2 多通道光纤记录系统与fMRI结合的应用

fMRI 除了可以与前文所述的单通道光纤结合使用，还可以与多通道光纤联合使用。Wang 等^[62]

设计了一种可以同步获得 fMRI 的 BOLD 信号及星形胶质细胞钙信号的装置。他们在大脑两个半球的体感皮层使用了双通道光纤系统，并成功观测到了星形胶质细胞的 Ca^{2+} 信号及 BOLD 信号。实验结果证明了 fMRI 的 BOLD 信号与星形胶质细胞的 Ca^{2+} 峰高度相关，星形细胞 Ca^{2+} 和 fMRI 的 BOLD 信号依赖于大脑状态的波动。

6 光纤记录系统与递质探针结合的应用

光纤记录系统也可与递质探针相结合，用于检测递质的释放变化。Lin 等^[63]利用光纤记录技术证明奖赏刺激和厌恶刺激都可以激活中缝背核 DA 神经元，并且结合使用遗传编码 DA 荧光探针和在体光纤技术，在中缝背核的两个下游核团 (终纹床核和杏仁核中部) 检测到了由奖赏刺激和厌恶刺激引起的 DA 释放。

Qiu 等^[64]在腹腔注射右美托咪定后，使用光纤记录技术发现 VTA 中 DA 神经元活动明显增强。实验小鼠腹腔注射右美托咪定后，应用光纤记录和新型 DA 神经递质探针结合技术发现 NAc 与内侧前额叶皮层的 DA 分泌明显增加。

7 小结与展望

光纤记录系统也存在着一些无法回避的问题：例如与双光子成像相比，光纤记录法不具有单神经元分辨率，无法在细胞水平上提供具有分辨率的结果，所得到的数据被解释为群体神经元活动的结果。与电生理技术相比，光纤系统不具有高时间分辨率。与深脑钙成像技术相比，光纤记录法除了没有细胞分辨率，也无法研究神经元空间编码特征，无法进行成像。因此，光纤记录法传递的行为信息要少得多。此外，与 fMRI 相比，光纤系统中的多模光纤因扰乱传输的图像而不能简单地用于成像。

即使光纤记录系统存在着以上的不足，但仍从某种程度上补充了电生理等传统记录方法，丰富了神经科学研究的工具，有着不可替代的作用。光纤记录系统凭借其良好的柔韧性、导光性，在检测自由行为动物大脑深层特定细胞群方面展现了特有的优势，目前已被延展更多功能及形式并广泛应用于研究大脑的各个脑区，为神经系统的科学研究及临床治疗提供了更多的参考依据。光纤记录相较于传统电生理记录方法，抗电磁干扰能力强，可应用于中医电针及条件性恐惧实验等研究，且光纤系

统具有记录稳定、适用广泛等优点，可与其他技术结合使用。相信在未来光纤记录系统与更多其他技术相结合后，可以在神经生理、病理学等基础研究中得到更加广泛的应用。

* * *

致谢：本综述受国家重点研发计划 (No. 2019YFC-1710200, 2019YFC1710204) 资助。

参考文献

- 1 Verharen JPH, Luijendijk MCM, Vanderschuren LJMJ, Adan RAH. Dopaminergic contributions to behavioral control under threat of punishment in rats. *Psychopharmacology* 2020; 237(6): 1769–1782.
- 2 Yang Z, Wu G, Liu M, Sun X, Xu Q, Zhang C, Lei H. Dysfunction of orbitofrontal GABAergic interneurons leads to impaired reversal learning in a mouse model of obsessive-compulsive disorder. *Curr Biol* 2021; 31(2): 381–393. e4.
- 3 Lafferty CK, Yang AK, Mendoza JA, Britt JP. Nucleus accumbens cell type- and input-specific suppression of unproductive reward seeking. *Cell Rep* 2020; 30(11): 3729–3742.e3.
- 4 Pan S, Mayoral SR, Choi HS, Chan JR, Kheirbek MA. Preservation of a remote fear memory requires new myelin formation. *Nat Neurosci* 2020; 23(4): 487–499.
- 5 Chen L, Lu YP, Chen HY, Huang SN, Guo YR, Zhang JY, Li QX, Luo CY, Lin SW, Chen ZN, Hu LH, Wang WX, Li HY, Cai P, Yu CX. Ventral tegmental area GABAergic neurons induce anxiety-like behaviors and promote palatable food intake. *Neuropharmacology* 2020; 173: 108114.
- 6 Jaramillo AA, Williford KM, Marshall C, Winder DG, Centanni SW. BNST transient activity associates with approach behavior in a stressful environment and is modulated by the parabrachial nucleus. *Neurobiol Stress* 2020; 13: 100247.
- 7 Liang Z, Ma Y, Watson GDR, Zhang N. Simultaneous GCaMP6-based fiber photometry and fMRI in rats. *J Neurosci Methods* 2017; 289: 31–38.
- 8 Miura I, Overton ETN, Nakai N, Kawamata T, Sato M, Takumi T. Imaging the neural circuit basis of social behavior: insights from mouse and human studies. *Neurol Med Chir (Tokyo)* 2020; 60(9): 429–438.
- 9 Montardy Q, Zhou Z, Liu X, Lei Z, Zeng P, Chen C, Liu Y, Huang K, Wei M, Wang L. Glutamatergic and gabaergic neuronal populations in the dorsal Periaqueductual Gray have different functional roles in aversive conditioning. *Neurosci Lett* 2020; 732: 135059.
- 10 Iino Y, Sawada T, Yamaguchi K, Tajiri M, Ishii S, Kasai H, Yagishita S. Dopamine D2 receptors in discrimination learning and spine enlargement. *Nature* 2020; 579(7800): 555–560.
- 11 Martianova E, Aronson S, Proulx CD. Multi-fiber photometry to record neural activity in freely-moving animals. *J Vis Exp* 2019; (152). doi: 10.3791/60278.
- 12 Leopold AV, Shcherbakova DM, Verkhusha VV. Fluorescent biosensors for neurotransmission and neuromodulation: engineering and applications. *Front Cell Neurosci* 2019; 13: 474.
- 13 Rector DM, Poe GR, Harper RM. Imaging of hippocampal and neocortical neural activity following intravenous cocaine administration in freely behaving cats. *Neuroscience* 1993; 54(3): 633–641.
- 14 Adelsberger H, Garaschuk O, Konnerth A. Cortical calcium waves in resting newborn mice. *Nat Neurosci* 2005; 8(8): 988–990.
- 15 Gunaydin LA, Grosenick L, Finkelstein JC, Kauvar IV, Fenno LE, Adhikari A, Lammel S, Mirzabekov JJ, Airan RD, Zalocusky KA, Tye KM, Anikeeva P, Malenka RC, Deisseroth K. Natural neural projection dynamics underlying social behavior. *Cell* 2014; 157(7): 1535–1551.
- 16 Cui G, Jun SB, Jin X, Pham MD, Vogel SS, Lovinger DM, Costa RM. Concurrent activation of striatal direct and indirect pathways during action initiation. *Nature* 2013; 494(7436): 238–242.
- 17 Fuhrmann F, Justus D, Sosulina L, Kaneko H, Beutel T, Friedrichs D, Schoch S, Schwarz MK, Fuhrmann M, Remy S. Locomotion, theta oscillations, and the speed-correlated firing of hippocampal neurons are controlled by a medial septal glutamatergic circuit. *Neuron* 2015; 86(5): 1253–1264.
- 18 Calipari ES, Bagot RC, Purushothaman I, Davidson TJ, Yorgason JT, Peña CJ, Walker DM, Pirpinias ST, Guise KG, Ramakrishnan C, Deisseroth K, Nestler EJ. *In vivo* imaging identifies temporal signature of D1 and D2 medium spiny neurons in cocaine reward. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2016; 113(10): 2726–2731.
- 19 Muir J, Lorsch ZS, Ramakrishnan C, Deisseroth K, Nestler EJ, Calipari ES, Bagot RC. *In vivo* fiber photometry reveals signature of future stress susceptibility in nucleus accumbens. *Neuropsychopharmacology* 2017; 43(2): 255–263.
- 20 Selimbeyoglu A, Kim CK, Inoue M, Lee SY, Hong ASO, Kauvar I, Ramakrishnan C, Fenno LE, Davidson TJ, Wright M, Deisseroth K. Modulation of prefrontal cortex excitation/inhibition balance rescues social behavior in CNTNAP2-deficient mice. *Sci Transl Med* 2017; 9(401): eaah6733.
- 21 Khoshkhou S, Vogt D, Sohal VS. Dynamic, cell-type-specific roles for GABAergic interneurons in a mouse model of optogenetically inducible seizures. *Neuron* 2017; 93(2): 291–298.

- 22 Zhang XJ (张秀娟), Xu MY. Research progress of nucleus accumbens function. *J Harbin Med Univ (哈尔滨医科大学学报)* 2002; 36(4): 334–336 (in Chinese with English abstract).
- 23 Liu XL (刘希堃), Li L. Recent advances in magnetic resonance imaging for anatomy and function of nucleus accumbens. *Chin J Clin Anat (中国临床解剖学杂志)* 2016; 34(2): 235–238 (in Chinese with English abstract).
- 24 Luo YJ, Li YD, Wang L, Yang SR, Yuan XS, Wang J, Cherasse Y, Lazarus M, Chen JF, Qu WM, Huang ZL. Nucleus accumbens controls wakefulness by a subpopulation of neurons expressing dopamine D1 receptors. *Nat Commun* 2018; 9(1): 1576.
- 25 Guan YD (关雅迪), Han F. The study of 5-HT dorsal raphe nucleus in the pathogenesis of post-traumatic stress disorder. *Guide Chin Med (中国医药指南)* 2014; 12(22): 71–72 (in Chinese with English abstract).
- 26 Li Y, Zhong W, Wang D, Feng Q, Liu Z, Zhou J, Jia C, Hu F, Zeng J, Guo Q, Fu L, Luo M. Serotonin neurons in the dorsal raphe nucleus encode reward signals. *Nat Commun* 2016; 7: 10503.
- 27 Zhong W, Li Y, Feng Q, Luo M. Learning and stress shape the reward response patterns of serotonin neurons. *J Neurosci* 2017; 37(37): 8863–8875.
- 28 Hollon NG, Burgeno LM, Phillips PE. Stress effects on the neural substrates of motivated behavior. *Nat Neurosci* 2015; 18(10): 1405–1412.
- 29 Choi EA, Jean-Richard-Dit-Bressel P, Clifford CWG, McNally GP. Paraventricular thalamus controls behavior during motivational conflict. *J Neurosci* 2019; 39(25): 4945–4958.
- 30 Ren S, Wang Y, Yue F, Cheng X, Dang R, Qiao Q, Sun X, Li X, Jiang Q, Yao J, Qin H, Wang G, Liao X, Gao D, Xia J, Zhang J, Hu B, Yan J, Wang Y, Xu M, Han Y, Tang X, Chen X, He C, Hu Z. The paraventricular thalamus is a critical thalamic area for wakefulness. *Science* 2018; 362(6413): 429–434.
- 31 Hua R, Wang X, Chen X, Wang X, Huang P, Li P, Mei W, Li H. Calretinin neurons in the midline thalamus modulate starvation-induced arousal. *Curr Biol* 2018; 28(24): 3948–3959. e4.
- 32 Matyas F, Komlosi G, Babiczky A, Kocsis K, Bartho P, Barsy B, David C, Kanti V, Porrero C, Magyar A, Szucs I, Clasca F, Acsady L. A highly collateralized thalamic cell type with arousal-predicting activity serves as a key hub for graded state transitions in the forebrain. *Nat Neurosci* 2018; 21(11): 1551–1562.
- 33 Zhu Y, Nachtrab G, Keyes PC, Allen WE, Luo L, Chen X. Dynamic salience processing in paraventricular thalamus gates associative learning. *Science* 2018; 362(6413): 423–429.
- 34 Daviu N, Fuzesi T, Rosenegger DG, Rasiah NP, Sterley TL, Peringod G, Bains JS. Paraventricular nucleus CRH neurons encode stress controllability and regulate defensive behavior selection. *Nat Neurosci* 2020; 23(3): 398–410.
- 35 Yuan Y, Wu W, Chen M, Cai F, Fan C, Shen W, Sun W, Hu J. Reward inhibits paraventricular CRH neurons to relieve stress. *Curr Biol* 2019; 29(7): 1243–1251.e4.
- 36 Yu Q (玉倩), Li HX, Wang SG, Lu L, Li H, Liao XQ, Diao LM, Qiu XQ. A Meta analysis of epilepsy combined with depression treated with integrated traditional Chinese and western medicine. *Henan Trad Chin Med (河南中医)* 2020; 40(4): 557–565 (in Chinese with English abstract).
- 37 Gu Q (辜巧). Research progress on the treatment and nursing of epilepsy. *Chin Mod Med (中国当代医药)* 2020; 27(03): 21–24 (in Chinese with English abstract).
- 38 Zhang X, Qiao Z, Liu N, Gao L, Wei L, Liu A, Ma Z, Wang F, Hou S, Li J, Shen H. Stereotypical patterns of epileptiform calcium signal in hippocampal CA1, CA3, dentate gyrus and entorhinal cortex in freely moving mice. *Sci Rep* 2019; 9(1): 4518.
- 39 Chen B, Xu C, Wang Y, Lin W, Wang Y, Chen L, Cheng H, Xu L, Hu T, Zhao J, Dong P, Guo Y, Zhang S, Wang S, Zhou Y, Hu W, Duan S, Chen Z. A disinhibitory nigra-parafascicular pathway amplifies seizure in temporal lobe epilepsy. *Nat Commun* 2020; 11(1): 923.
- 40 Dong X, Zhang X, Wang F, Liu N, Liu A, Li Y, Wei L, Chen F, Yuan S, Zhang K, Hou S, Jiao Q, Hu Q, Guo C, Wu T, Wei S, Shen H. Simultaneous calcium recordings of hippocampal CA1 and primary motor cortex M1 and their relations to behavioral activities in freely moving epileptic mice. *Exp Brain Res* 2020; 238(6): 1479–1488.
- 41 Adelsberger H, Zainos A, Alvarez M, Romo R, Konnerth A. Local domains of motor cortical activity revealed by fiber-optic calcium recordings in behaving nonhuman primates. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014; 111(1): 463–468.
- 42 Guo Q, Zhou J, Feng Q, Lin R, Gong H, Luo Q, Zeng S, Luo M, Fu L. Multi-channel fiber photometry for population neuronal activity recording. *Biomed Opt Express* 2015; 6(10): 3919–3931.
- 43 Li Y, Bao H, Luo Y, Yoan C, Sullivan HA, Quintanilla L, Wickersham I, Lazarus M, Shin YI, Song J. Supramammillary nucleus synchronizes with dentate gyrus to regulate spatial memory retrieval through glutamate release. *Elife* 2020; 9: e53219.
- 44 Qin H, Lu J, Jin W, Chen X, Fu L. Multichannel fiber photometry for mapping axonal terminal activity in a restricted brain region in freely moving mice. *Neurophotonics* 2019;

- 6(3): 035011.
- 45 Kim CK, Yang SJ, Pichamoorthy N, Young NP, Kauvar I, Jennings JH, Lerner TN, Berndt A, Lee SY, Ramakrishnan C, Davidson TJ, Inoue M, Bito H, Deisseroth K. Simultaneous fast measurement of circuit dynamics at multiple sites across the mammalian brain. *Nat Methods* 2016; 13(4): 325–328.
- 46 Luscher C, Malenka RC. Drug-evoked synaptic plasticity in addiction: from molecular changes to circuit remodeling. *Neuron* 2011; 69(4): 650–663.
- 47 Luscher C. The emergence of a circuit model for addiction. *Annu Rev Neurosci* 2016; 39: 257–276.
- 48 Zhang DL (张栋梁), Shen ZH, Chen DX, Wu ZY, Li H. The relationship between dopamine system and drug addiction. *Chin J Neuroanat (神经解剖学杂志)* 2010; 26(05): 564–568 (in Chinese with English abstract).
- 49 Corkrum M, Covelo A, Lines J, Bellocchio L, Pisansky M, Loke K, Quintana R, Rothwell PE, Lujan R, Marsicano G, Martin ED, Thomas MJ, Kofuji P, Araque A. Dopamine-evoked synaptic regulation in the nucleus accumbens requires astrocyte activity. *Neuron* 2020; 105(6): 1036–1047 e5.
- 50 Scofield MD, Boger HA, Smith RJ, Li H, Haydon PG, Kalivas PW. Gq-DREADD selectively initiates glial glutamate release and inhibits cue-induced cocaine seeking. *Biol Psychiatry* 2015; 78(7): 441–451.
- 51 Dalley JW, Everitt BJ, Robbins TW. Impulsivity, compulsivity, and top-down cognitive control. *Neuron* 2011; 69(4): 680–694.
- 52 Dalley JW, Robbins TW. Fractionating impulsivity: neuropsychiatric implications. *Nat Rev Neurosci* 2017; 18(3): 158–171.
- 53 Pisansky MT, Lefevre EM, Retzlaff CL, Trieu BH, Leipold DW, Rothwell PE. Nucleus accumbens fast-spiking interneurons constrain impulsive action. *Biol Psychiatry* 2019; 86(11): 836–847.
- 54 Calipari ES, Juarez B, Morel C, Walker DM, Cahill ME, Ribeiro E, Roman-Ortiz C, Ramakrishnan C, Deisseroth K, Han MH, Nestler EJ. Dopaminergic dynamics underlying sex-specific cocaine reward. *Nat Commun* 2017; 8: 13877.
- 55 de Jong JW, Afjei SA, Pollak Dorocic I, Peck JR, Liu C, Kim CK, Tian L, Deisseroth K, Lammel S. A neural circuit mechanism for encoding aversive stimuli in the mesolimbic dopamine system. *Neuron* 2019; 101(1): 133–151.e7.
- 56 Hu DM (胡冬梅). The application of fMRI technique in psychological research in China. *J Liaocheng Univ (Nat Sci Ed) (聊城大学学报自然科学版)* 2015; 28(3): 60–64, 89 (in Chinese with English abstract).
- 57 Qin YY (覃媛媛), Zhu WZ, Wang CY. Research progress of brain functional magnetic resonance imaging. *Radiol Pract (放射学实践)* 2013; 28(3): 250 (in Chinese with English abstract).
- 58 Logothetis NK, Wandell BA. Interpreting the BOLD signal. *Annu Rev Physiol* 2004; 66: 735–769.
- 59 Logothetis NK, Pauls J, Augath M, Trinath T, Oeltermann A. Neurophysiological investigation of the basis of the fMRI signal. *Nature* 2001; 412(6843): 150–157.
- 60 Schulz K, Sydekum E, Krueppel R, Engelbrecht CJ, Schlegel F, Schroter A, Rudin M, Helmchen F. Simultaneous BOLD fMRI and fiber-optic calcium recording in rat neocortex. *Nat Methods* 2012; 9(6): 597–602.
- 61 Schlegel F, Sych Y, Schroeter A, Stobart J, Weber B, Helmchen F, Rudin M. Fiber-optic implant for simultaneous fluorescence-based calcium recordings and BOLD fMRI in mice. *Nat Protoc* 2018; 13(5): 840–855.
- 62 Wang M, He Y, Sejnowski TJ, Yu X. Brain-state dependent astrocytic Ca^{2+} signals are coupled to both positive and negative BOLD-fMRI signals. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2018; 115(7): E1647–E1656.
- 63 Lin R, Liang J, Wang R, Yan T, Zhou Y, Liu Y, Feng Q, Sun F, Li Y, Li A, Gong H, Luo M. The raphe dopamine system controls the expression of incentive memory. *Neuron* 2020; 106(3): 498–514.e8.
- 64 Qiu G, Wu Y, Yang Z, Li L, Zhu X, Wang Y, Sun W, Dong H, Li Y, Hu J. Dexmedetomidine activation of dopamine neurons in the ventral tegmental area attenuates the depth of sedation in mice. *Anesthesiology* 2020; 133(2): 377–392.