

戦略的創造研究推進事業 CREST
研究領域「光の特性を活用した生命機能の時空間
制御技術の開発と応用」
研究課題「神経回路の4次元解析法の開発とサブ
ネットワークの機能解明」

研究終了報告書

研究期間 2018年10月～2024年03月

研究代表者：小坂田 文隆
(名古屋大学 大学院創薬科学研究科
准教授)

§ 1 研究実施の概要

(1)実施概要

我々の知覚、記憶、そしてこころの働きは、脳全体で 1 千億個を超えるニューロン群が大規模な神経ネットワークを構成することで実現される。ニューロン同士はシナプスを介して互いに結合を形成し、互いに情報をやりとりすることで機能を獲得する。視覚などの感覚、および記憶などの機能は脳内で複数の領域に局在しており、個別のニューロン同士はさらにそれぞれの領域内でより特定のタスクに特化した精密な『サブネットワーク』を構成する。知覚・記憶は個別タスクの統合により実現されるため、個々のサブネットワークがいかんにして各タスクに特化した処理を実現しているのか、各サブネットワークにて処理されたタスク同士がいかんにして統合されるのか、さらには、脳が可塑的に変化する際に、ネットワークの最小単位として考えられるサブネットワーク構造がいかんに貢献するのかを解明することが、多様で柔軟な脳機能の理解に必須である。しかし、サブネットワークの動態と役割は計測技術の限界からこれまで解析は困難であった。我々はサブネットワークの理解には、1. 4 次元計測、2. 摂動解析、3. 数理モデルのアプローチが重要であると考えた。本研究では、サブネットワークの解明に必要な新たな技術開発に取り組み、それらをマウス脳およびオルガノイドに適用することで、サブネットワークの構造と機能に迫る。

(2)顕著な成果

<優れた基礎研究としての成果>

1.

概要: 脳の機能は、神経回路の相互作用により生み出される。しかし一つの神経回路を標識する手法は存在したが、異なる神経回路をそれぞれ標識し、それらの相互作用を解析する手法は今まで存在しなかった。我々は狂犬病ウイルスベクターの感染システムを開発することにより、神経回路標識の多重化に成功した。この手法を用いることで、同一個体で複数の回路の同時標識を可能にし、回路の相互作用の解析が初めて可能になった。さらに、ウイルスベクターを用いて生体脳における単一細胞の入出力を標識し、脳の情報処理に基本単位である単一神経細胞ネットワークの可視化に成功した。

2.

概要: 予測符号化理論に着目し、VR システム、ウイルスベクター、光学イメージング、電気生理、光遺伝学、ウイルスベクター、数理モデルを通じて、予測符号化で仮定されている予測情報処理の階層的な情報処理機構を実験的に初めて示した。さらに、脳機能は、脳内の局所神経回路および領域間相互作用が協調的に働くことにより生み出されることから、アセンブロイドを用いて局所回路および大脳皮質と視床間の領域間相互作用をそれぞれ要素還元的に再構成した。大脳皮質のサブネットワークの構造と機能、情報処理における役割を明らかにした。

3.

概要: 世界的に注目されている時空間集光を用いたスキャンレスパターン照明技術では、近接するスポット間干渉によるパターンの乱れや深さ方向の相互作用領域が1細胞よりも大きな $20\ \mu\text{m}$ ($1/e^2$ 幅) 以上と低く 1 細胞分解能を達成できないという問題があった。これらの問題を解決するために、時空間集光技術に時間多重化時空間ライン集光技術を導入し、深さ方向の相互作用領域は $5.3\ \mu\text{m}$ ($1/e^2$ 幅) と非常に高く、スポット間干渉も抑制することに成功した。

<科学技術イノベーションに大きく寄与する成果>

1.

概要: 深部イメージングでは、試料への照射パワーが高くなるため、時間多重化による多焦点面同時イメージングでは熱的ダメージが懸念されるという問題があった。試料へのレーザー照射パワーを低減し、蛍光パルスを同期検出することによって、低いレーザーパワーの照射で試料への熱的ダメージなく、8 個の焦点面を同時に 2 光子イメージングできる技術を確認した。

2.

概要: 光学技術の応用として光学式 BMI を開発した。事前に設定した領域レベルの脳活動パターンを、脳は自ら創発することで、課題を遂行できることが明らかになった。新たなデジタル薬理学の確立に資する重要な基礎的知見である。

3.

概要: 神経回路解析のための新規ウイルスベクターの開発を目指し、細胞と共生可能な持続感染性ウイルスの創出に成功した。感染細胞は 100 代以上継代可能で、細胞とウイルスは 1 年以上共存可能であった。したがって、この持続感染株はベクターとしても毒性が低いことが期待される。

< 代表的な論文 >

1. Suzuki T, Morimoto N, Akaike A, Osakada F. Multiplex neural circuit tracing with G-deleted rabies viral vectors. *Frontiers in Neural Circuits*. 2020, 13, 1-23.

概要: 神経回路の相互作用を解析する目的で、狂犬病ウイルスベクターによる回路マッピングの多重化を行った。

2. Onda M, Takeuchi RF, Isobe K, Suzuki T, Masaki Y, Morimoto N, Osakada F. Temporally multiplexed dual-plane imaging of neural activity with four-dimensional precision. *Neurosci Res*. 2021, 171, 9-18.

概要: 脳の 4 次元機能解析を実現するために、2 平面から同時に高速 2 光子イメージング可能な顕微鏡の開発した

3. Kodera T, Takeuchi RF, Takahashi S, Suzuki K, Kassai H, Aiba A, Shiozawa S, Okano H, Osakada F. Modeling the marmoset brain using embryonic stem cell-derived cerebral assembloids. *Biochem Biophys Res Commun*. 2023, 657, 119-127.

概要: 大脳皮質の局所回路の形成原理を理解するために、興奮性神経細胞と抑制性神経細胞の相互作用を、多能性幹細胞由来のアセンブロイドを用いて要素還元的に再構成し、大脳皮質の発生・発達に伴う抑制性細胞の遊走および自発活動の変化について明らかにした。

§ 2 研究実施体制

(1) 研究チームの体制について

① 神経生物学グループ

研究代表者: 小坂田 文隆 (名古屋大学・大学院創薬科学研究科・准教授)

② 光学技術グループ

研究分担者: 磯部 圭佑 (理化学研究所・光量子光学研究センター・上級研究員)

(2) 国内外の研究者や産業界等との連携によるネットワーク形成の状況について

国内研究者との連携として、小坂田と磯部は、今吉 格 博士 (京都大学・教授) と情報交換・共同開発を行った。小坂田と磯部は、Spencer Smith ラボで広視野 2 光子顕微鏡開発に携わった平 理一郎 博士 (東京医科歯科大学・准教授) と広視野用対物レンズについて情報交換した。小坂田は、理論研究との融合を目指して本田 直樹 博士 (広島大学・教授) および雨森 賢一 博士 (京都大学 特任准教授) と共同研究を実施した。小坂田は、勝野 雅央 博士 (名古屋大学 医学部 神経内科・教授)、山下 貴之 博士 (藤田医科大学・教授)、南本 敬史 博士 (QST・グリーンリーダー) および下條 雅文 博士 (QST・研究員) と全脳イメージングに関する共同研究を、辻村 啓太 博士 (名古屋大学 理学研究科・講師)、古屋敷 智之 博士 (神戸大学・教授) と回路病態解析に関する共同研究を、高橋 悟 博士 (旭川医科大学・教授) とヒト神経オルガノイドに関する共同研究を実施した。海外研究者との連携として、小坂田は、Xiangmin Xu 博士 (UCI)、Hiroki Taniguchi 博士 (Max Planck Florida/Ohio State Univ.) と国際的共同研究を実施した。小坂田と磯部は各々民間企業との連携体制を構築した。