



ムーンショット目標 9

2050年までに、こころの安らぎや活力を増大することで、
精神的に豊かで躍動的な社会を実現

実施状況報告書

2023 年度版

こころの可視化と操作を可能にする

脳科学的基盤開発

内匠 透

神戸大学 大学院医学研究科

 **MOONSHOT**
RESEARCH & DEVELOPMENT PROGRAM



1. 当該年度における研究開発プロジェクトの実施概要

(1) 研究開発プロジェクトの概要

研究開発項目1では、構築したインタラクティブ型ソーシャル VR (iSVR) システム(図1)を用いたマウス社会性行動試験を行う。同時に、カルシウムイメージングによる脳画像データおよび行動動画記録を行い、行動指標に表される脳機能ネットワークを同定する。

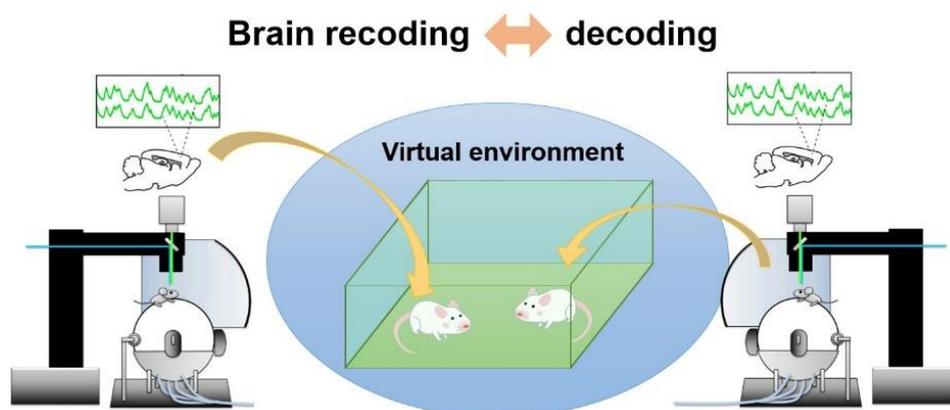


図1 インタラクティブ型ソーシャル VR (iSVR) システム

VR システムを同期させることで二個体から同時に脳活動と行動を記録することができる。これまでの手法では解析することのできなかつた社会性相互作用時の脳機能ネットワーク動態を本システムによって明らかにする。

また、脳内の動的ネットワーク情報に基づき歩行動作など行動を予測する方法論を確立する。カルシウムイメージングの皮質画像や定量化した脳機能ネットワークを特徴量として、機械学習法により歩行動作や社会性相互作用時の行動状態を判別する方法を開発する。

研究開発項目2では、ホログラフィック顕微鏡による経頭蓋光刺激技術を構築し、VRシステムに組み込むことで、光遺伝学的ネットワーク操作法による脳活動予測の検証を行う。

(2) 研究開発プロジェクトの実施状況

研究開発項目1では、マルチモーダル化した VR を二台組み合わせることによって、iSVR システムを構築し、二匹のマウスによる社会行動実験系として確立した。また、社会性行動時にマウスの大脳皮質から経頭蓋カルシウムイメージングを行い、脳画像データおよび行動動画記録を行うことで、社会性相互作用時の脳機能ネットワークを可視化することに成功した。さらに、社会性の視覚情報を提示するとき、嗅覚の感覚情報を加えることで、マルチモーダル情報がマウスの社会行動表現や脳機能ネットワークに与える影響を検討した。

iSVR システムを用いて計測された行動中マウスの皮質活動から、社会刺激と非社会刺激に対する脳機能ネットワーク表現型間に統計的有意差を見出した。マウスアバターと社会性相互作用するときの脳機能ネットワークは脱相関性の変化を生じることが明らかとなった。また、脳内の動的ネットワーク情報に基づきマウスの歩行動作状態を

予測する機械学習モデルを構築し、論文発表した。

研究開発項目2では、前年度までにマウスの頭蓋骨経由で広視野ホログラフィック顕微鏡によるマルチ光スポットを形成可能なことを確認した。その際に、レーザー出力が十分大きくないため、10点程度とスポット数に限りがあることがわかった。そのため、波長 473 nm で出力 300 mW のレーザーを購入し、スポット数の増大化を図った。また、広域での光刺激では、ある程度の領域サイズで神経細胞を光刺激する必要がある。複数スポットの塊を複数箇所と同時に刺激可能なツールとして「マルチ領域・マルチスポット照射機能」を作成した。また、頭蓋骨越しでの光スポット形成に向けて、脳の血管あるいは量子ドットを用いたガイド星としての利用を進め、カルシウムイメージング画像の頭蓋骨越しでの観察方法の確立について研究を行った。

赤色波長カルシウムセンサータンパク質 **RCaMP** によるカルシウムイメージングのために **Cre** 依存的 **RCaMP** 発現マウスを使用し、オプトジェネティクスによる光刺激に **Thy1-ChR2 Tg** マウスを使用し、これらを掛け合わせたマウス系統を作製した。**RCaMP** カルシウムイメージングによる皮質神経活動の計測と **ChR2** の光刺激による神経活動操作を行い、皮質活動が光刺激によって誘導されていることを確認した。光刺激効果の確認には、ホログラフィック顕微鏡導入前にはデジタルマイクロミラーデバイス (**DMD**) によるパターンイルミネーター装置を用い、自発行動に対する光刺激効果を検証した。皮質領域を区画に分けて光刺激することで、マウスの自発的な歩行動作が誘導されるかどうかを調べた。複数匹のマウスを調べた結果、光刺激で行動変化を示した皮質領域が存在することが確認された。その領域は運動や感覚の一次応答領域だけではなく、認知や行動の実行制御や空間ナビゲーションなど高次脳機能に関わる領域であった。これら連合野を含む皮質領野間の活動が自発歩行運動の発生に重要な働きを持つことが示唆された。

(3) プロジェクトマネジメントの実施状況

課題推進者内匠、的場両グループは月1回の ZOOM ミーティング(課題推進者会議)を開催した。

一般講演 SNS 等を通じて積極的な広報、アウトリーチ活動を行った。また、同じ MS9 の他の PM(菊知)とも連携をとりながら幅広い発信を行った。

2. 当該年度の研究開発プロジェクトの実施内容

(1) 研究開発項目1:脳機能ネットワーク動態を可視化するVRシステムの確立

研究開発課題1:マルチモーダルVRシステム構築と脳機能ネットワークの可視化

当該年度実施内容:マルチモーダル化したVRを二台組み合わせることによって、iSVRシステムを構築し、二匹のマウスによる社会行動実験系として確立した。また、社会性行動時にマウスの大脳皮質から経頭蓋カルシウムイメージングを行い、脳画像データおよび行動動画記録を行うことで、社会性相互作用時の脳機能ネットワークを可視化することに成功した。さらに、社会性の視覚情報を提示するとき、嗅覚の感覚情報を加えることで、マルチモーダル情報がマウスの社会行動表現や脳機能ネットワークに与える影響を検討した。

「種を超えた社会的VR環境の構築」の連携プロジェクトでは作り込み作業を神戸大学で実施し、今後の方針を検討した。

課題推進者:内匠 透(神戸大学)

研究開発課題2:脳機能ネットワークの定量化

当該年度実施内容:研究開発課題1で開発したiSVRシステムを用いて計測された行動中マウスの皮質活動から、社会刺激と非社会刺激に対する脳機能ネットワーク表現型間に統計的有意差を見出した。マウスアバターと社会性相互作用するときの脳機能ネットワークは脱相関性の変化を生じることが明らかとなった。また、脳内の動的ネットワーク情報に基づきマウスの歩行動作状態を予測する機械学習モデルを構築し、論文発表した。

アバターやオブジェクトなどの視覚情報に報酬(ポジティブ因子)と罰(ネガティブ因子)を付加し、各条件にアプローチする際のマウスの皮質活動を計測した。報酬・罰取得前後の脳機能ネットワークパターン解析から、こころのポジ、ネガ状態の同定を試みた。オペラント条件付けされた個体では、ポジティブ因子への接近時に運動野間の相関上昇と運動野と視覚野間の相関低下が生じ、ネガティブ因子への接近時には運動野と体性感覚野間の相関上昇が生じていた。しかし、VRシステムを用いたオペラント実験は、視覚的に似た対象を提示したため、学習課題を達成するマウスの割合が少なく、マウスにとっては難易度の高い条件であったことから、今後の実験条件の改良を予定している。

課題推進者:内匠 透(神戸大学)

(2) 研究開発項目2:オプトジェネティクスによる脳機能ネットワーク光操作

研究開発課題2:ホログラフィック顕微鏡による経頭蓋光刺激技術の確立

当該年度実施内容:神経細胞に十分な光エネルギーを照射するため、出力 300 mW、波長 473 nm のレーザーを導入した。そのため、はじめにスポット強度の均一化を図った結果を示す。図2に示すように視野 6.6 mm 角でのスポット強度分布は周辺部で強度が小さくなる傾向がある。これは位相変調型空間光変調素子で光の方向を大きく曲げるために生じるものである。スポット強度の均一化を図るために、周辺部分のスポットに対する位相分布の係数を大きくし、中心部分に対する係数を小さくした。視野を 21 × 21 の領域に分割し、補正マップを作成した。その補正マップを用い、スポットを形成した結果を図3および表1に示す。撮影画像の露光時間を 60 ms から 100 ms まで変化させたときのスポット強度画像が図2である。図3 (a)と図2 (c)の比較から露光時間を長くすることで左下のスポットも十分に視認できることがわかる。表1はスポット強度の平均値と標準偏差を示す。露光時間を 100 ms とすることでスポット強度のばらつきが補正前に比べて7ポイント上昇し、18%程度のばらつきに抑えられている。



図2 補正前のスポットパターン

次に、広域での光刺激において、複数スポットの塊を複数箇所と同時に形成可能なツールとして、マルチ領域・マルチスポット照射機能を追加した。今後は、この機能をもとに生きたマウスでの反応を調べて、最適なスポット数及びスポット群の大きさを調査する。

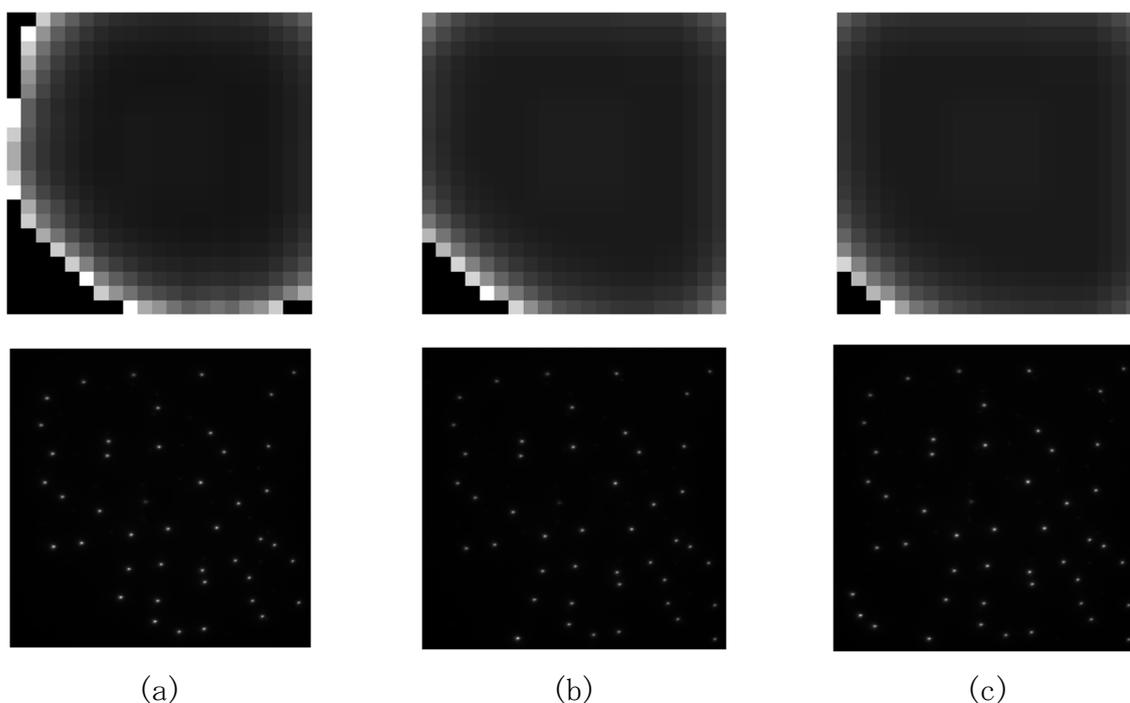


図3 補正係数マップと補正後のスポット像 ; (a) 露光時間 60 ms, (b) 80 ms, (c) 100 ms

表1 スポット強度のばらつき補正結果

	補正前	wm60	wm80	wm100
照射数	48	43	45	48
平均	27,007	25,848	24,643	21,921
標準偏差	6,651	3,934	4,608	3,839
変動係数(%)	25	15	19	18

当該年度実施内容:広域での経頭蓋カルシウムイメージング画像の回復技術の確立に向けて、ターゲットとなる神経細胞の周辺に存在する血管からの蛍光画像または人為的に導入した量子ドットからの蛍光画像の劣化を指標として、神経細胞の劣化した蛍光画像を復元する方法の開発を進めている。今年度は蛍光波長 800 nm の量子ドットを用いて、マウス脳組織の切片を載せることで、脳組織に由来する散乱による蛍光画像の劣化を表す点像分布関数を求めた。この劣化点像分布関数を用いて、デコンボリューションによる回復を行った。蛍光分布としては改善は見られるものの細部での回復が十分でないため、点像分布関数の推定精度を高める方法を検討する。また、量子ドット周辺にある神経細胞からのカルシウム蛍光像が回復できることも検証するのが今後の課題である。

課題推進者:的場 修(神戸大学)

研究開発課題3:光遺伝学的ネットワーク操作法による脳活動予測の検証

当該年度実施内容:赤色波長カルシウムセンサータンパク質 **RCaMP** によるカルシウムイメージングのために **Cre** 依存的 **RCaMP** 発現マウスを使用し、オプトジェネティクスによる光刺激に **Thy1-ChR2 Tg** マウスを使用し、これらを掛け合わせたマウス系統を作製した。**RCaMP** カルシウムイメージングによる皮質神経活動の計測と **ChR2** の光刺激による神経活動操作を行い、皮質活動が光刺激によって誘導されていることを確認した。光刺激効果の確認には、ホログラフィック顕微鏡導入前にはデジタルマイクロミラーデバイス (**DMD**) によるパターンイルミネーター装置を用い、自発行動に対する光刺激効果を検証した。皮質領域を区画に分けて光刺激することで、マウスの自発的な歩行動作が誘導されるかどうかを調べた。複数匹のマウスを調べた結果、光刺激で行動変化を示した皮質領域が存在することが確認された。その領域は運動や感覚の一次応答領野だけではなく、認知や行動の実行制御や空間ナビゲーションなど高次脳機能に関わる領域であった。これら連合野を含む皮質領野間の活動が自発歩行運動の発生に重要な働きを持つことが示唆された。

ホログラフィック顕微鏡と **VR** システムを組み合わせた実験系構築については、土台となる新しい **VR** システムを組み立てた。今後ホログラフィック顕微鏡の光学系を導入する予定である。

課題推進者:内匠 透(神戸大学)

3. 当該年度のプロジェクトマネジメント実施内容

(1) 研究開発プロジェクトのガバナンス

進捗状況の把握

- PM がいる医学部楠地区に、本部 URA1名の配置を依頼する。
- 課題推進者内匠、的場両グループは月1回の ZOOM ミーティング(課題推進者会議)を開催する。
- 課題推進者両グループとも同じ所属機関なので、必要がある場合はサイトビジットが容易である。

研究開発プロジェクトの展開

- 上記の通り、課題推進者両グループとも緊密に連携をとるので、研究開発の進捗、成果を踏まえた時機を逸しない柔軟な対応をとる。

連携プロジェクト提案の作り込み

- 「種を超えた社会的 VR 環境の構築」の連携プロジェクトに関して、筒井 PM、松元 PM グループと対面、オンライン会議による作り込み作業を行う。

(2) 研究成果の展開

- 知財戦略、スタートアップに関しては、所属機関の産官学連携本部および(株)神戸大学イノベーションとの連携をとりながら、前向きに挑戦する。

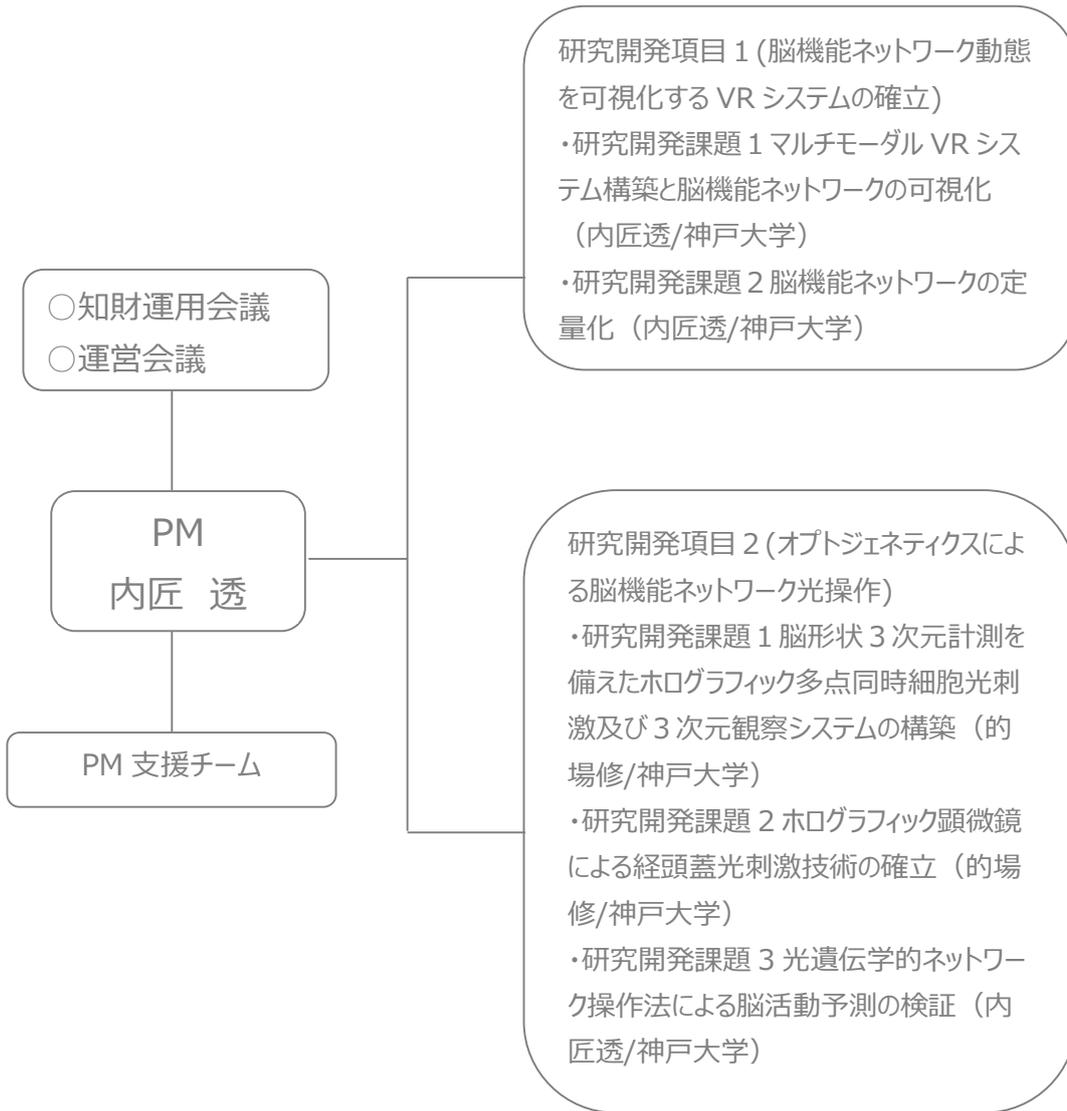
(3) 広報、アウトリーチ

- 一般講演、ホームページ、SNS 等を通じて積極的な広報、アウトリーチ活動を行う。また、同じ MS9 の他の PM とも連携をとりながら幅広い発信を模索する。
- 令和5年4月2日には、共生社会を育む“こころ”のサイエンス一般公開講演会を神戸大学百年記念館六甲ホールで開催した。
- 令和6年3月20日には、菊知 PM が主催する金沢大学子どもこころサミット 市民公開イベント(石川県立図書館)で講演した。

(4) データマネジメントに関する取り組み

- 本プロジェクトで得られるデータは主にマウス脳の基礎的データであり、公開を原則とするとともに、将来のデータサイエンス解析に利用できるものを作成する。

4. 当該年度の研究開発プロジェクト推進体制図



知財運用会議 構成機関と実施内容

運営会議 実施内容

1 ヶ月に 1 回の運営会議を行う。

5. 当該年度の成果データ集計

知的財産権件数				
	特許		その他産業財産権	
	国内	国際(PCT 含む)	国内	国際
未登録件数	0	0	0	0
登録件数	0	0	0	0
合計(出願件数)	0	0	0	0

会議発表数			
	国内	国際	総数
招待講演	10	3	13
口頭発表	3	1	4
ポスター発表	2	2	4
合計	15	6	21

原著論文数(※proceedings を含む)			
	国内	国際	総数
件数	0	4	4
(うち、査読有)	0	4	4

その他著作物数(総説、書籍など)			
	国内	国際	総数
総説	0	3	3
書籍	0	0	0
その他	0	0	03
合計	0	3	

受賞件数		
国内	国際	総数
0	0	0

プレスリリース件数
4

報道件数
4

ワークショップ等、アウトリーチ件数
6