

令和 4 年 5 月 31 日現在

機関番号：12601

研究種目：新学術領域研究(研究領域提案型)

研究期間：2017～2021

課題番号：17H06309

研究課題名(和文)脳情報動態を規定する大脳皮質間回路と皮質-皮質下間回路

研究課題名(英文)Brain information dynamics

研究代表者

松崎 政紀(MATSUZAKI, Masanori)

東京大学・大学院医学系研究科(医学部)・教授

研究者番号：50353438

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 105,100,000円

研究成果の概要(和文)：2光子顕微鏡によるカルシウムイメージング法を用いてマウス一次運動野(M1)に投射する1層と3層の視床皮質軸索の活動を計測した。マウスが前肢レバー引き運動課題を学習中に、視床からM1へ送られる2種類の信号が強くなり、互いに異なる時間変化(ダイナミクス)を示した。小脳由来の信号は3層に投射し、「運動課題の成功率」と、大脳基底核由来の信号は1層に投射し、「運動のキネティクスと安定性」と、それぞれ関連していた。またこの課題を行っているときの高次運動野からM1への文脈情報の伝達様式を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、脳全体の理解に不可欠な脳領域間ネットワークの視点から運動学習や運動制御のメカニズムの一端を明らかにしたという点で非常に重要であり、パーキンソン病やジストニアなどの運動失調・運動障害疾患の病態理解に将来的に貢献することが期待される。

研究成果の概要(英文)：We used two-photon calcium imaging to measure the activity of thalamocortical axons projecting to layers 1 and 3 in the mouse primary motor cortex (M1). Two types of signals transmitted from the thalamus to M1 became stronger and showed different temporal changes (dynamics) from each other while the mice learned a forelimb lever-pull task. The cerebellum-originated signal was transmitted to layer 3 and was associated with "success rate in the motor task". The basal ganglia-originated signal was transmitted to layer 1 and was associated with "motor kinetics and stability.". We also clarified the pattern of transmission of contextual information from the higher motor cortex to M1 during this task.

研究分野：神経科学

キーワード：2光子イメージング 運動野 大脳基底核 小脳 マウス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

大脳前頭皮質は、霊長類では前方領野（前頭前野）は大脳基底核と、後方領野（運動前野、運動野）は小脳と強いループ経路を持つ。意思決定や運動学習・制御において、この皮質 皮質下間回路・各領野が重要であることがわかっているが、この記憶構造（大脳基底核と小脳）がどのような情報を前頭皮質に送り、その情報が文脈によってどのように変化するのか、情報がどのように前頭皮質間の領野、複数種の神経細胞によって統合されるのか、を明らかにすることは従来の脳科学的技術では困難であった。しかし 2 光子カルシウムイメージングや光感受性蛍光プローブ、光遺伝学の発達によって、課題実行中のマウスの前頭皮質全層での細胞活動や、そこへ入力する軸索活動を計測・制御可能となり、さらにコンピュータ性能の向上や機械学習などの開発も目覚ましい。特に単一軸索や単一樹状突起の活動計測、異なった種類の細胞集団を別々に標識することはイメージング特有の方法で、げっ歯類の課題で得られたデータを情報科学、機械学習の手法を用いて解読することは、脳回路基本原理の真の理解へ繋がるだけでなく、これまでの各学問分野の限界を突破できる脳情報動態学の確立へ大きく貢献できる状況となった。

2. 研究の目的

高品質多細胞活動データを取得し、その情報を数理的に解読して脳情報動態学の創成に寄与することを大目的とする。行動課題実行中のマウスにカルシウムイメージング法を適用して、皮質間（高次運動野 - 一次運動野）、皮質 皮質下間（運動野 大脳基底核、運動野 小脳）での多細胞活動を計測する。得られた高品質画像データを統計数理解析し、領域内連携により情報フローを見出すことで、いかに認知（文脈）情報と感覚運動情報が前頭皮質内で伝達されるかという動態を解読する。

3. 研究の方法

頭部固定マウスが前肢レバー引き課題を実行中に、2 光子カルシウムイメージング法を用いて、高次運動野（M2）神経細胞、一次運動野（M1）神経細胞、運動視床核から M2 または M1 へ投射する軸索の活動を計測する。これを精緻に数理解析して、それぞれの領域や層の細胞や軸索がどのような課題関連活動を示すかを調べる。細胞が保持する運動情報はデコーディング解析によって定量的に評価する。また課題実行中に光遺伝学的手法によって神経活動を操作することで、これらの神経細胞活動が適切な運動発現に必要なものであるかを検証する。

4. 研究成果

(1) 高次運動野から一次運動野への文脈情報の伝達

M2 と M1 の相互作用を明らかにするためには、両領域を同時計測することが重要である。マウスの前肢 M2 と前肢 M1 領域は隣接せず約 2 mm 離れており、この距離は 2 光子カルシウムイメージングの観察視野である 0.5~1 mm よりも長い。従って通常の方法では、これらの領域を同時計測ができない。そこで、対物レンズ下の空間に着目し、これを可能とする超広視野 2 光子顕微鏡法を開発した。単一細胞解像度が可能な開口数を持つ対物レンズの中から、作動距離が最も長い 8 mm 対物レンズを選択し、そのレンズ下の空間に視野を移動させる機能を持った小型光学装置を挿入する顕微鏡を開発した。この装置は、対となった微小ミラーによって構成される平行移動光学系と、対物レンズの光軸に沿ってミラー対を回転移動させる高速回転位置決めステージから構成されている。この装置によって、顕微鏡の視野を対物レンズや標本の位置を変える

ことなくすばやく移動させることが可能となった。この装置は最大 6 mm 離れた位置まで視野を移動可能であり、2 つの離れた視野への移動と撮影を繰り返すことにより、2 視野の連続的な撮影が実現可能であった。マウス前頭野の連続した 3 視野を取得した後で合成することにより 1.5 mm × 3 mm という連続した広視野でのイメージングにも成功し、これを解析すると、前肢 M2 と前肢 M1 という 2 mm 程度離れた領域間で高い類似性を持つ神経活動を示す細胞ペアが多数存在することを見出した。M2 と M1 それぞれの神経細胞の集団活動は、音刺激誘発性レバー引き課題の試行毎のばらつきとともに同調し、この同調性が試行毎の運動のばらつきよりも強固であることを見出した。従ってこれらの領域は離れているにもかかわらず、強い機能的相互作用をもつことが示唆された。

そこで、次に、自発性 (self-initiated) レバー引きと外的刺激誘発性レバー引き (externally triggered) という異なった運動開始信号が使われる課題において、この異なった文脈情報がどのように M2 から M1 で変換されるかを調べた。霊長類の高次運動野は、これらの文脈で異なった活性化が見られるが、両方の文脈で同じ運動が実行されたときに、外部からの手がかりの有無によって、どのタイプの神経活動が誘発されるかについては、ほとんど知られていない。頭部固定マウスに自発性レバー引き課題 (SI) と外的刺激をトリガーとしたレバー引き課題 (ET) を実行させ、SI ブロックと ET ブロックは、1 回のセッション内で数回切り替えた。タスクの実行中、超広視野 2 光子顕微鏡を用いて、M2 と M1 の 2/3 層ニューロンの同時カルシウムイメージングを行った。予想通り、どちらかのブロックに特異的な活動を示すニューロンの割合は、M1 よりも M2 の方が大きかった。神経集団活動の数理解析により、レバー引きの開始時間付近の M2 集団の活動が SI ブロックと ET ブロックの間で顕著に異なることが示された。これはブロック間での前肢運動や顔面運動を含む身体運動のわずかな違いによって説明できなかった。対照的に、M1 集団の活動の差は M2 集団の活動の差よりも小さく、行動の違いによって十分に説明できた。大多数の試行では、M2 集団の活動は、ブロックスイッチ直後にスイッチ後のブロック型を示した。しかし、いくつかの試行では、M2 集団の活動はスイッチ前のブロック型を示した。また、ET ブロックの外部刺激の間隔で誤ってレバー引きを行った場合の約半数で、M2 集団は ET ブロック型の活動を示した。これらの結果は、誘発される M2 集団の活動のタイプが、現在の文脈と先行する文脈の両方に依存していることを示しており、M1 においてこの文脈情報は小さくなり、その代わりに、より精緻な運動情報が生成される可能性が示唆された。

(2) 小脳と大脳基底核から視床を介した一次運動野への運動情報の伝達と創発

マウスの解剖学実験から、M1 の脳表に近い 1 層は大脳基底核の出力を受ける運動視床細胞から、より深い 3 層は深部小脳核の出力を受ける運動視床細胞から軸索が伸長して M1 ヘシナプス入力していることがわかった。マウスの自発的なレバー引き課題の学習の初期と後期で、これらの層のそれぞれの視床軸索の 2 光子カルシウムイメージングを行った。運動中の脳の揺れによる画像ずれが起こったが、3 平面を高速にイメージングしてそこから画像ずれを補正する解析法を開発することで、個々の軸索シナプス前終末で (軸索ブトン) の活動を定量化した。1 層、3 層ともに視床軸索は、学習を通じて、レバー引きに関する前肢運動の情報表現を増加させたが、それらは投射層に依存しており、様々な時間的ダイナミクスを示した。1 層に入力する軸索ブトンの活動はレバー引き運動の開始時と終了時に強くなり、3 層に入力する軸索ブトンの活動はレバー引きの開始時のみに強くなることがわかった。さらに、レバー引き時の軸索ブトンの活動は、多数の軸索ブトンが参加して順序良く活動していくシーケンス構造を示すことが分かり、そのシーケンスの持続時間は 1 層で長く、3 層では短いことが示された。次に、これらのシグナルが

行動とどのような関係にあるかを解析すると、1層に入力する軸索ブトンのシグナルが強くなると、レバーの速度や軌道が安定になっていること、及び、3層に入力する軸索ブトンのシグナルが強くなると、レバー引きの成功率が上がっていることが明らかになった。さらに、大脳基底核や小脳を損傷させた状態での神経活動測定を行うことで、これらの視床皮質軸索ブトンシグナルが現れるには大脳基底核と小脳の活動の両方が必要であることも明らかになった。また、これらの視床皮質軸索を光遺伝学的手法によって活性化すると前肢運動が誘導され、抑制すると前肢レバー引き運動が減少した。本研究により、運動学習を通して視床から運動野へ少なくとも2種類の情報が転送され、M1で統合されて適切な運動発現が起こっていることが示唆された。

(3) 大脳基底核から視床を介した M2 への運動価値情報の伝達

動物は、オペラント条件付けによって、提示された手がかりの価値を推定し、手がかり提示後に行動するかどうかを決定することができる。このような手がかりの価値を推定するためには線条体が重要な領域であり、M2やM1の運動野が適切な行動のための運動指令を生成していると考えられているが、線条体で推定された手がかり価値情報が、M2やM1にどのように伝達されるのかは不明である。解剖学的には、線条体から下行する投射を最終的に運動視床が受け取り、M2とM1に軸索を送る。そこで、新しい報酬ベースのレバー引き課題を開発した。この課題では、音の周波数が異なる2つのキュー(キューAとB)のうちの1つが各試行でランダムに提示された。キューの提示後、マウスに右前肢でレバーを引くかどうかを選択させた。レバーを引くと、手がかりAでは高確率で、手がかりBでは低確率で水が与えられた。この課題の訓練を行ったところ、手がかりA試行では手がかりB試行よりもレバーを引く頻度が高くなった。課題実行中に、M2とM1の1層で視床皮質投射軸索の2光子カルシウムイメージングを行った。その結果、視床軸索の一部のシナプス前終末の活動は手がかりAの開始後に増加したが、手がかりBの開始後に活動が増加したシナプス前終末は少なかった。M2に投射する軸索のブトンは、M1に投射する軸索のブトンよりも手がかり情報の出現が先行していることが明らかになった。この結果は、運動視床のM2投射軸索が、その後の意思決定に影響を与える手がかり価値情報を伝達していることを示唆している。

このように2光子イメージング技術の改良と、得られたデータから最新の機械学習などを用いた数理解析によって、M2→M1への文脈情報から運動情報への変換、運動学習中における大脳基底核→視床→M1経路と小脳→視床→M1経路の異なった運動情報の伝達の創発、大脳基底核→視床→M2の運動決定情報の伝達、を明らかにした。これらの成果は脳情報動態学の創成に大きく貢献したと考える。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Kondo Masashi、Matsuzaki Masanori	4. 巻 34
2. 論文標題 Neuronal representations of reward-predicting cues and outcome history with movement in the frontal cortex	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 108704 ~ 108704
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2021.108704	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 -
1. 著者名 Tanimoto Sai、Kondo Masashi、Morita Kenji、Yoshida Eriko、Matsuzaki Masanori	4. 巻 14
2. 論文標題 Non-action Learning: Saving Action-Associated Cost Serves as a Covert Reward	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Behavioral Neuroscience	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) 10.3389/fnbeh.2020.00141	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 -
1. 著者名 Hasegawa Ryota、Ebina Teppei、Tanaka Yasuhiro R.、Kobayashi Kenta、Matsuzaki Masanori	4. 巻 15
2. 論文標題 Structural dynamics and stability of corticocortical and thalamocortical axon terminals during motor learning	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0234930
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0234930	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 -
1. 著者名 Ebina Teppei、Obara Keitaro、Watakabe Akiya、Masamizu Yoshito、Terada Shin-Ichiro、Matoba Ryota、Takaji Masafumi、Hatanaka Nobuhiko、Nambu Atsushi、Mizukami Hiroaki、Yamamori Tetsuo、Matsuzaki Masanori	4. 巻 116
2. 論文標題 Arm movements induced by noninvasive optogenetic stimulation of the motor cortex in the common marmoset	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 22844 ~ 22850
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1903445116	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 -

1. 著者名 Kato Daisuke, Wake Hiroaki, Lee Philip R., Tachibana Yoshihisa, Ono Riho, Sugio Shouta, Tsuji Yukio, Tanaka Yasuyo H., Tanaka Yasuhiro R., Masamizu Yoshito, Hira Riichiro, Moorhouse Andrew J., Tamamaki Nobuaki, Ikenaka Kazuhiro, Matsukawa Noriyuki, Fields R. Douglas, Nabekura Junichi, Matsuzaki Masanori	4. 巻 68
2. 論文標題 Motor learning requires myelination to reduce asynchrony and spontaneity in neural activity	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Glia	6. 最初と最後の頁 193 ~ 210
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/glia.23713	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 -

1. 著者名 Terada Shin-Ichiro, Kobayashi Kenta, Ohkura Masamichi, Nakai Junichi, Matsuzaki Masanori	4. 巻 9
2. 論文標題 Super-wide-field two-photon imaging with a micro-optical device moving in post-objective space	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nature Communications	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) 10.1038/s41467-018-06058-8	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 -

1. 著者名 Tanaka Yasuyo H., Tanaka Yasuhiro R., Kondo Masashi, Terada Shin-Ichiro, Kawaguchi Yasuo, Matsuzaki Masanori	4. 巻 100
2. 論文標題 Thalamocortical Axonal Activity in Motor Cortex Exhibits Layer-Specific Dynamics during Motor Learning	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Neuron	6. 最初と最後の頁 244 ~ 258.e12
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neuron.2018.08.016	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 -

1. 著者名 Yoshida Eriko, Terada Shin-Ichiro, Tanaka Yasuyo H., Kobayashi Kenta, Ohkura Masamichi, Nakai Junichi, Matsuzaki Masanori	4. 巻 8
2. 論文標題 In vivo wide-field calcium imaging of mouse thalamocortical synapses with an 8?K ultra-high-definition camera	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	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) 10.1038/s41598-018-26566-3	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 -

1. 著者名 Ebina Teppei, Masamizu Yoshito, Tanaka Yasuhiro R., Watakabe Akiya, Hirakawa Reiko, Hirayama Yuka, Hira Riichiro, Terada Shin-Ichiro, Koketsu Daisuke, Hikosaka Kazuo, Mizukami Hiroaki, Nambu Atsushi, Sasaki Erika, Yamamori Tetsuo, Matsuzaki Masanori	4. 巻 9
2. 論文標題 Two-photon imaging of neuronal activity in motor cortex of marmosets during upper-limb movement tasks	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nature Communications	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) 10.1038/s41467-018-04286-6	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 -

1. 著者名 Kondo Masashi, Kobayashi Kenta, Ohkura Masamichi, Nakai Junichi, Matsuzaki Masanori	4. 巻 6
2. 論文標題 Two-photon calcium imaging of the medial prefrontal cortex and hippocampus without cortical invasion	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 eLife	6. 最初と最後の頁 e26839
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7554/eLife.26839	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10件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 長谷川 亮太
2. 発表標題 運動学習過程における皮質間・視床皮質間投射軸索終末構造のダイナミクスと安定化
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松崎政紀
2. 発表標題 Frontal cortical activity with long-range input
3. 学会等名 SfN2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松崎政紀
2. 発表標題 Motor information flow between the mouse motor cortices
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松崎政紀
2. 発表標題 マウス前頭皮質の深部・広域2光子イメージング
3. 学会等名 第41回日本神経科学大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 松崎政紀
2. 発表標題 Wide-field imaging of neural activity with high spatial resolution.
3. 学会等名 FAOPS2019（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松崎政紀
2. 発表標題 Dynamics of thalamocortical activity in the primary motor cortex during motor learning
3. 学会等名 第40回日本神経科学大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 松崎政紀
2. 発表標題 Wide, deep, multi-color, subcellular-resolution imaging from any angle
3. 学会等名 第40回日本神経科学大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 松崎政紀
2. 発表標題 行動課題実行中の小動物における大脳神経 細胞活動の広域深部2光子イメージング
3. 学会等名 第44回日本神経内分泌学会学術集会(招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 松崎政紀
2. 発表標題 Marmoset forelimb-movement tasks for two-photon Ca2+ imaging
3. 学会等名 7th NIPS/CIN Joint Symposium(国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 松崎政紀
2. 発表標題 マーモセット上肢運動課題実行中の2光子イメージングに向けて
3. 学会等名 7th Annual Meeting of Japan Society for Marmoset Research
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<http://plaza.umin.ac.jp/~Matsuzaki-Lab/pub/index.html>

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