

多階層光遺伝学による大脳皮質の認知・学習機構の解明

Elucidation of cognitive and learning mechanism of Cerebral cortex by multiscale optogenetics

課題番号：19H05642

大木 研一（OHKI Kenichi）

東京大学・大学院医学系研究科・教授



研究の概要（4行以内）

脳はどのようにして複雑な情報処理を行っているのだろうか？脳はどのようにして学習を通して神経回路を改変し、複雑な機能を獲得しているのだろうか？シナプスレベルから全脳レベルにいたる多階層で、脳の認知と学習の素過程から個体レベルでの認知・学習との因果関係を検証し、脳の情報処理と学習則の原理を解明する。

研究分野：神経科学

キーワード：大脳皮質、視覚野、イメージング、光遺伝学、神経回路、情報処理

1. 研究開始当初の背景

大脳の情報処理を考える上で、視覚系はモデル系として長く研究されてきたが、一次視覚野の線分に対する選択性から、側頭葉における顔等の複雑な物体に対する選択性がどのような回路で作られていくのか、その理解は進んでいない。これは、高次視覚野の神経細胞の受容野が非線形的であるため系統的に調べる方法がないこと、個々の神経細胞に入力する情報と出力する情報を同時に調べる方法がないことによる。次に、脳がどのようにして学習を通して神経回路を改変し、このような複雑な機能を獲得しているのかについて、可塑性の学習則については、Hebb 則や STDP など時間タイミングについての学習則が知られているが、細胞が担う情報についての学習則が知られておらず、どのように複雑な機能を獲得しているのか不明である。

2. 研究の目的

脳の情報処理の素過程として、個々の神経細胞がどのような情報を受け取り、それを組み合わせて、複雑な情報を出力しているのかを解明することを第一の目標とする。次に、学習・記憶の素過程として、個々のシナプスに入力する情報がどのように変化するのか、シナプス可塑性の学習則をとくに情報の視点から解明し、それがその細胞の機能変化とどう関係しているのかを解明することを第二の目標とする。そのため、光遺伝学を駆使してスパインレベルの機能イメージング法を開発し、個々のシナプスに入力する情報を可視化し、その変化を継続的に観察し、脳の情報処理の素過程と、学習・記憶の素過程を解明する。さらに、細胞集団のイメージングと組み合わせ、これらの素過程がネットワーク全体と

しての学習にどのように寄与しているのかを解明する。最後に、光遺伝学を用いて細胞集団を人工的に活性化し、細胞集団の活動と知覚・学習の因果関係を解明する。

3. 研究の方法

- (1)光遺伝学を用いたスパインレベルの機能イメージング法の開発（方法については4. 参照）
- (2)脳の情報処理の素過程の解明： 深層学習を用いて高次視覚野の神経細胞の複雑な受容野を系統的に調べる方法を開発し、項目(1)の方法を用いて、高次視覚野の神経細胞が、どのような情報を受け取り、それを組み合わせる複雑な形等の情報を抽出しているのかを解明する。
- (3)脳の学習の素過程と学習則の解明： 動物が新規図形を学習しているときの高次視覚野の神経細胞の反応性の変化と、個々のスパインに入力する情報の変化を継時的に観察し、シナプスの学習則を情報という視点から解明する。
- (4)学習・記憶にともなう細胞集団による情報表現の変化： (3)で観察した個々の神経細胞の学習に伴う変化が、ネットワーク全体としての学習にどのように寄与しているのかを解明する。
- (5)全脳での領野レベルでの光抑制の方法の開発、領野内の細胞集団の光活性化： 細胞集団の活動と知覚・学習の因果関係を検証するため、光抑制と光活性化の二つの方法を開発する。
- (6)高次視覚野における細胞集団の活動と知覚・学習の因果関係の検証： (5)で開発した2つの方法を用いて、細胞集団の活動と知覚の因果関係を検証する。

4. これまでの成果

- (1)光遺伝学を用いたスパインレベルの機能イメージング法の開発： 興奮性ニューロンに、

GCaMP6s と SwiChR++ を発現させ、一過性の光照射で細胞体を約 1 時間不活性化し、活動電位の逆伝播が生じない条件下で、個々のスパイン活動を正確に測定することが可能になった (Kondo et al., in prep.)。 (開発完了)

(2) 脳の情報処理の素過程の解明: 様々な視覚刺激に対する高次視覚野の細胞の反応を、深層学習のネットワークに写し取り、そのネットワークを調べることによって、高次視覚野の細胞の機能を解析する方法を開発した。マウス高次視覚野の LM 野のニューロンは、複雑な図形に選択的な反応を示した (Ukita et al., in prep.)。

V1 の興奮性ニューロンから、スパイン活動の大規模イメージングを行い、個々のニューロンに対して、樹状突起上に約 1000 個のスパインの位置と反応を示したシナプス入力機能マップを作製した。この入力機能マップをもとに、シナプス統合のメカニズムを解析したところ、細胞体と同じ選択性を示すスパインが最も多いこと、それらのスパインが、特定の枝にクラスターを形成していることが分かった。樹状突起統合モデルを立てたところ、細胞体の活動はスパイン入力の数とクラスター、活動電位の閾値により決まり、多数の樹状突起の中でも特定の枝が細胞体活動の決定に強く関係している可能性が示唆された (Kondo et al., in prep.)。

(3) 脳の学習の素過程と学習則の解明: マウスに新規図形の go/no-go 視覚弁別課題を訓練させることに成功した。新規図形 (L 字および逆 L 字) を go 刺激 (報酬刺激) 及び no-go 刺激 (無報酬刺激) として用いた。マウスは約 1-3 週間の訓練後、75% 以上の正答率を示した。広域カルシウムイメージングを用いて神経活動を調べたところ、視覚野の一部の領域で報酬刺激に対する応答が無報酬刺激に対する応答よりも大きいことが観察された。これらの活動パターンを基にして、刺激に対するマウスの行動を予測することができた。 (Yoshida et al., in prep.)。

(4) 学習・記憶にともなう細胞集団による情報表現の変化: 二光子カルシウムイメージングにより、マウスに自然画像を提示したときの V1 の細胞集団の活動を網羅的に計測した。自然画像に対して V1 の少数の細胞がスパースに活動することが観察された。集団活動から自然画像の復元を行ったところ、個々の画像は平均約 20 個の良く応答する細胞から復元できた。また、同じ刺激画像を繰り返し提示すると、応答する細胞やその活動の大きさには揺らぎがあったが、復元される画像は安定していた。この安定した情報表現は個々の細胞の持つ情報が部分的に重複していることにより達成されていた。これらの結果から、V1 のスパースな活動には、神経活動の揺らぎにも関わらず、安定した視覚情報が表現されていた (Yoshida et al., 2020)。

(5) 全脳での領野レベルでの光抑制の方法の開発、領野内の細胞集団の光活性化: マクロズーム顕微鏡にレーザーを装着し、大脳皮質の任意の場所にレーザーを照射できるシステムを

開発した。さらに、2光子顕微鏡に Spatial Light Modulator を装着し、複数の神経細胞を、任意の時空間パターンで活性化できるようになった。

(6) 高次視覚野における細胞集団の活動と知覚・学習の因果関係の検証

光遺伝学により細胞レベルで活動を制御し、マウス V1 細胞での方位選択性の可塑性変化の誘導を試みた。可塑性誘導の条件付け刺激として、特定の傾きの縞模様を視覚刺激として提示すると同時に標的とする細胞を光遺伝学により活性化させた。条件付けを行った細胞で、提示した傾きに対する視覚応答の増強が観察された。 (Yoshida et al., in prep.)。

5. 今後の計画

(1) 項目1は開発終了。

(2) 脳の情報処理の素過程の解明: LM ニューロンのスパイン活動の大規模イメージングを行い、入力がどのように統合されて、複雑な図形への選択性が作られるかを解明する。

(3) 脳の学習の素過程と学習則の解明: マウスが新規図形の go/no-go 視覚弁別課題を学習前、学習中、学習後に、細胞体とスパインの2光子機能イメージングを行い、情報という視点からシナプスの学習則を解明する。

(4) 学習・記憶にともなう細胞集団による情報表現の変化: 新規図形の学習に伴い、dense から sparse な表現様式に変化が起こるか検証する。

(5) 全脳での領野レベルでの光抑制の方法の開発、領野内の細胞集団の光活性化

(a) 抑制性ニューロンに Chrimson を発現させて、不活性化の系を開発する。

(b) 70W の超高出力超短パルスレーザーを導入し、100 個以上のニューロンを任意の時空間パターンで活性化する系を開発する。

(6) 高次視覚野における細胞集団の活動と知覚・学習の因果関係の検証

(a) 多数の高次視覚野を一つ一つ不活性化し、図形弁別課題に対して、どの領野を不活性化したときに成績が最も低下するか検証する。

(b) 細胞集団を(5)の方法を用いて活性化し、細胞集団の活性化が知覚の代替えとなるか、人工的に記憶を作り出せるか検証する。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

1. Chromatic micromaps in primary visual cortex. Chatterjee S, Ohki K, *Reid RC. *Nat Commun*. 2021, in press.

2. Long-Range Interhemispheric Projection Neurons Show Biased Response Properties and Fine-Scale Local Subnetworks in Mouse Visual Cortex. *Hagihara KM, Ishikawa AW, Yoshimura Y, Tagawa Y, Ohki K. *Cereb Cortex*. 2021 Vol.31(2):1307-1315.

3. Natural images are reliably represented by sparse and variable populations of neurons in visual cortex. *Yoshida T, *Ohki K. *Nat Commun*. 2020 Vol.11(1):872.

7. ホームページ等

<https://physiol1.m.u-tokyo.ac.jp/ern24596/>