

令和 4 年 5 月 27 日現在

機関番号：12601

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2021

課題番号：19K23772

研究課題名（和文）超広視野2光子顕微鏡を用いた大脳新皮質運動野における領域間情報処理機構の解明

研究課題名（英文）Hierarchical information processing mechanism in motor cortex revealed by super-wide-field two-photon microscopy

研究代表者

寺田 晋一郎 (Terada, Shin-Ichiro)

東京大学・大学院医学系研究科（医学部）・助教

研究者番号：40847274

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,100,000円

研究成果の概要（和文）：大脳新皮質は領域間で特異的な入出力構造を為すことで複雑な情報処理を実現していると考えられているが、その情報処理原理は未だに不明である。本研究では、超視野2光子顕微鏡と呼ばれる、特定の層構造を対象とした領域間活動を単一細胞解像度で計測可能とする顕微鏡技術を用いることで、運動課題実行時のマウス高次運動野（M2）と一次運動野（M1）が試行単位でどのように相互作用しているのかについて明らかにした。また、M2からM1へは密な軸索投射が存在するため、そのようなトップダウンの入力において、どのような情報が伝達されているのかについても明らかにすることで、両領域間における情報処理原理についての理解を進めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

複数脳領域から高い空間解像度で神経活動の大規模同時計測を可能とする光学顕微鏡技術はまだ開発されてから間もない。本研究では開発した手法や投射軸索イメージング技術を組み合わせることで、脳領域間の情報伝達について調べるに当たり当技術が有用であることを示した。

パーキンソン病患者では自発的には運動開始が困難だが、外発キューに対しては問題なく運動開始が可能であることが知られている。本研究では両課題において分離した活動を示す脳領域を明らかとしたため、今後さらに本研究を推し進めることで、疾患への理解にも深くつながることが期待される。

研究成果の概要（英文）：The neocortex is thought to realize complex information processing by forming specific input-output structures between regions. However, the principle of this information processing is still unknown. In this study, we used super-wide-field two-photon microscopy, a microscopy technique that enables single-cell resolution measurement of interregional activity in a specific layer, to clarify how the mouse higher motor cortex (M2) and primary motor cortex (M1) interact on a trial-by-trial basis during motor task execution. In addition, since there is a dense axonal projection from M2 to M1, we also clarified what kind of information is transmitted in such top-down input, thereby advancing our understanding of the principles of information processing between the two areas.

研究分野：脳神経科学

キーワード：2光子顕微鏡 運動制御 カルシウムイメージング パーキンソン病

## 1. 研究開始当初の背景

大脳新皮質は哺乳類にのみ存在する構造であり、多様な認知機能の根幹をなしていると考えられている。大脳新皮質はその結合関係や機能に基づき、ヒトの場合半球だけで 180 もの領域に分類されている。各領域は層構造をなしており、領域間で特異的な入出力構造を為すことで複雑な情報処理を実現していると考えられているが、複数領域で特定の層から密に神経活動を計測することは技術的に困難であり、その情報処理原理は未だに不明である。

## 2. 研究の目的

本研究課題では、超視野 2 光子顕微鏡 (Terada et al., *Nat. Commun.*, 2018 [1]) と呼ばれる、特定の層構造を対象とした領域間活動を単一細胞解像度で計測可能とする顕微鏡技術を用いることで、運動課題実行時のマウス高次運動野 (M2) と一次運動野 (M1) が試行単位でどのように相互作用しているのかについて明らかにする。また、M2 から M1 へは密な軸索投射が存在するため、そのようなトップダウンの入力において、どのような情報が伝達されているかについて明らかにすることで、両領域間における情報処理原理について明らかにすることを目的とする。

## 3. 研究の方法

顕微鏡下に頭部を固定したマウスにおいて、音提示に対しレバーを引くと報酬が得られるという外発性レバー引き課題と、一定時間経過後に自発的にレバーを引くと報酬が得られる内発性レバー引き課題という 2 種類の課題を学習させる。M2 および M1 の神経細胞にアデノ随伴ウィルスを用いることでカルシウムプローブ (R-CaMP1.07) を発現させ、課題遂行時の脳活動を超視野 2 光子顕微鏡にて取得する。また、M2 のみにカルシウムプローブを発現させたマウスにおいて、M1 の第 1 層を対象とした 2 光子イメージングを行うことで、M2 から M1 へと投射している軸索の活動を計測する。上記によって得られた神経活動データに対し、課題種別依存的な神経活動について集団活動に基づくデコーディングを行うことで明らかにし、運動の遂行時にどのような情報が M2 および M1 で表現されており、また M2 から M1 へと送られているかを明らかにする。

## 4. 研究成果

頭部固定を行ったマウスにおいて、外発性レバー引き課題と内発性レバー引き課題の学習に成功した。マウスは頭部固定された状態でも 4 週間程度の訓練で本課題を習得した。また、両課題は同一セッション中に複数回切り替わるようにしてあり、30 分程度のイメージング期間で複数回の課題状況の入れ替わりが観察できるようにした。また、薬理的抑制実験により、本課題において M2 及び M1 が課題の遂行に必要なことを明らかにした。

次に、超視野 2 光子顕微鏡による同時計測により課題遂行時のマウス M2 および M1 の第 2/3 層に位置する神経細胞活動について実施した。課題遂行時の素早い神経活動変化を捉えるため、超視野 2 光子顕微鏡の動作機構について改良を行い、これまで秒間 6 枚程度であった画像取得速度を倍近い秒間 10 枚程度にまで高速化し、より詳細な活動変化について取得可能とした。さらに、動物の体動についても 2 台の高速カメラを用いてビデオ記録しておき、深層学習を用いたトラッキングアルゴリズムを用いて詳細な運動の再構成を行った。上記によって得られたデータに対し、M2、M1 の集団神経活動および体動データそれぞれにサポートベクターマシンによる機械学習を用いた課題種別の判別分析を実施し、領域毎にどの程度活動が分離しているのかについて検討した。その結果、M2 は M1 より高い精度で課題種別のデコーディングが可能であり、より課題種別に依存した情報を持つことが明らかとなった。M2 が持つ情報についてさらに詳しく調べるため、M2 を対象とした慢性 2 光子イメージングを行い、同一細胞の情報表現の日をまたいだ変化について調べた。その結果、M2 には課題種別特異的な情報を安定的に表現する一部の細胞が存在し、その細胞が課題種別依存的な細胞集団情報表現を支えていることを明らかとした。

次に、M2 から M1 への情報の流れを明らかにするため、M1 投射 M2 軸索 (M2 → M1 軸索) の軸索イメージングを M1 第 1 層にて実施した。その結果、M2 → M1 軸索のデコーディング性能は M1 と同等であり、情報が M2 から出力される前に事前に選択されていることが明らかとなった。また、これら経路の下流に流れる情報を明らかにするため、M1 から脊髄へと投射する M1 皮質脊髄路細胞を逆行性アデノ随伴ウィルスを用いることで特異的に染色した。M1 皮質脊髄路細胞の活動は M1 第 2/3 層よりさらに収斂した課題種別非依存的な活動を示し、異なった開始信号に基づく神経活動は同一の運動実行に必要な同一な神経活動へと変化していた。上記結果を合わせることで、運動野における開始キュー依存的な集団情報表現について M2 から M1

の出力までを追って明らかにすることを本研究では成功した。今回の研究で取得されたデータは、同一課題を行っている個体にて、領域や層構造、投射先に基づき分類された極めて密なデータであり、今後さらなる領域間情報処理についての新たな知見をもたらすことが期待される。

[1] Terada, S.I., Kobayashi, K., Ohkura, M., Nakai, J., and Matsuzaki, M. (2018). Super-wide-field two-photon imaging with a micro-optical device moving in post-objective space. *Nat. Commun.* 9, 3550.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Takahisa Inoue, Shin-Ichiro Terada, Masanori Matsuzaki & Jun Izawa	4. 巻 35
2. 論文標題 A small-scale robotic manipulandum for motor control study with rodents	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Advanced Robotics	6. 最初と最後の頁 1-9
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/01691864.2021.1912637	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 Shin-Ichiro Terada、Masanori Matsuzaki	4. 巻 11
2. 論文標題 Silent microscopy to explore a brain that hears butterflies' wings	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Light: Science & Applications	6. 最初と最後の頁 140
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41377-022-00843-3	査読の有無 無
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 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Terada S., Kobayashi K., Matsuzaki M
2. 発表標題 Neural dynamics in the mouse secondary and primary motor cortices during selfinitiated and externally triggered movements
3. 学会等名 Society for Neuroscience 49th Annual Meeting（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 野村 晋ノ介、寺田 晋一郎、松崎 政紀
2. 発表標題 自動インジェクションロボットの開発による>10,000細胞広域カルシウムイメージング
3. 学会等名 第44回 日本神経科学大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小原 慶太郎、蝦名 鉄平、正水 芳人、寺田 晋一郎、宇賀 貴紀、小松 三佐子、一戸 紀孝、渡我部 昭哉、水上 浩明、山森 哲雄、笠井 清登、松崎 政紀
2. 発表標題 カルシウムイメージングによるマーマセット聴覚野からのミスマッチ陰性電位記録
3. 学会等名 第44回 日本神経科学大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 寺田 晋一郎、松崎 政紀
2. 発表標題 Transition of distinct context-dependent ensembles from secondary to primary motor cortex facilitates skilled motor performance
3. 学会等名 第45回 日本神経科学大会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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