

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 10 月 20 日現在

機関番号：24506

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25330342

研究課題名(和文) 様々な動物を対象とする標準脳の構築と活用に向けた統合ソフトウェア環境の開発

研究課題名(英文) Development of construction and application of standard brain protocol and software environment for various animal species

研究代表者

池野 英利 (Ikeno, Hidetoshi)

兵庫県立大学・環境人間学部・教授

研究者番号：80176114

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、共焦点レーザー顕微鏡画像を対象に、脳・神経系の形態情報を統合・共有・比較するための標準脳構築の手続きとそのプロセスを支援するソフトウェア環境の開発を進めた。開発したプロトコルは、主としてカイコガ脳を対象に開発を進め、同じ方法がミツバチなど他の昆虫の標準脳構築にも有効であることが示された。ニューロン特有の形態を抽出するプログラムについては、パフォーマンスの向上と図ると共に操作性を大幅に向上させ、OSを選ばない形で提供することができるようになった。このニューロン形態の抽出、記述手法については、サイズは大きく異なるが同様の形状を持つ樹木の根形態の記述にも応用した。

研究成果の概要(英文)：In this study, we developed a protocol and software tools to construct and use the standard brain for integrating and sharing morphological information about brain and neurons. Our protocol was applied to construction of moth's standard brain. It was shown that the method could be applied to other species, such as honeybee. Our segmentation software was increased in performance and operability, then provided to use on various operating systems. Our neuron segmentation and description methods were applied to other academic field, tree root science, which target at similar morphological characteristics.

研究分野：ニューロインフォマティクス

キーワード：ニューロン セグメンテーション 標準脳 レジストレーション 画像処理

1. 研究開始当初の背景

生物の脳組織および神経細胞間の結合様式は、神経回路の構造、特性と深く結びついており、脳における情報処理メカニズム解明においても重要な情報をもたらす。脳のサイズや構造は、動物の種毎、個体毎に異なっていることから、各個体について実験により得られた組織や細胞に関する情報を統合、活用するために、標準の座標系とも言える「標準脳」が動物種毎に必要とされていた。

2. 研究の目的

動物種毎に異なる形態の標準脳を構築する処理手続きや環境は未だ十分に整備されておらず、一般的な研究手法として確立していない。本研究では、共焦点レーザ顕微鏡画像を対象に、脳・神経系の形態情報を統合・共有・比較するための標準脳構築の手続きとそのプロセスを支援するソフトウェア環境の開発を目的とした。

3. 研究の方法

標準脳作成のプロトコルは、NIH で開発された ImageJ をベースとする画像処理ソフトウェア Fiji を活用したものとし、このソフトによる脳形状の平均化処理、詳細な脳画像やセグメンテーションされた組織、細胞などのレジストレーション方法を確立した。

一方、三次元の樹状構造を持つ、ニューロンの樹状突起、軸索形状のセグメンテーションに関しては、独自ソフトウェアの開発を進めた。

4. 研究成果

標準脳作成のプロトコルは、主としてカイコガ脳を対象に開発を進め、同じ方法がミツバチなど他の昆虫の標準脳構築にも有効であることが示された(図1)。このプロトコルについては書籍の1章としてまとめ、近く刊行される予定である。

さらに、すでに存在する標準脳に対して脳スライス画像をレジストレーションする方法についても研究を進め、マウスの insitu-Hybridization スライス画像を INCF が管理、公開している Waxholm space atlas にレジストレーションした(図2)。このスライス画像は、INCF 日本ノードが運用している BrainTx PF で公開されているデータであり、我が国が先導する研究成果を世界的な共通な枠組みで活用する流れを作ることができた。

なお、このレジストレーションにおいては、数千枚個体から得られた画像を処理する必要があり、当初開発していた逐次的に処理方法では1ヶ月以上かかることが判明した。そのため NIJC が保有する Plato 計算サーバを

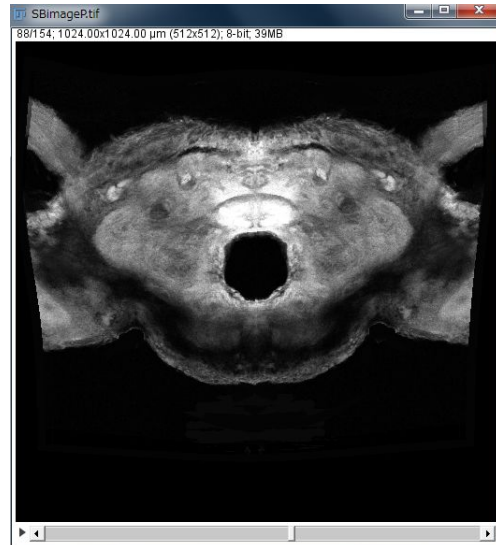


図1 開発したプロトコルにより構築したカイコガ標準脳

活用し、並列的に処理を実施することで7倍以上のパフォーマンス改善が実現し、4日程度で処理を終えることのできるプログラムが完成した。

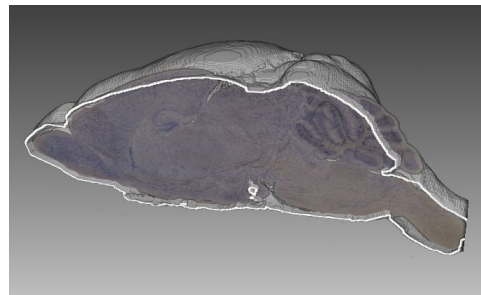
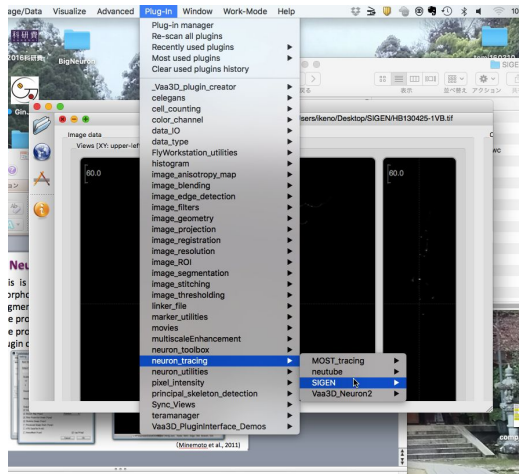


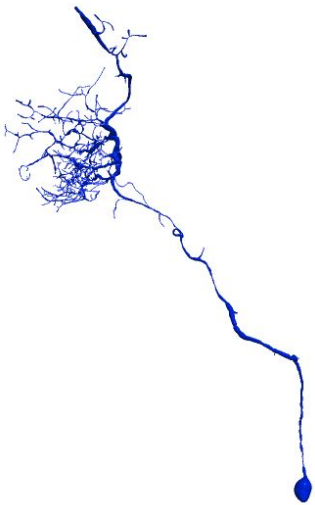
図2 Waxholm 標準脳にレジストレーションされた ISH 画像

さらに、ニューロン特有の形態を抽出するプログラムについては、プログラムを大幅に改良し、パフォーマンスの向上と図ると共に操作性を大幅に向上させ、Windows, MacOSX, LinuxとOSを選ばない形で提供することができるようになった。また、多次元ヴィジュアルイゼーションソフト Vaa3D のプラグインとして提供するために、同ソフトウェアの開発グループとコンタクトをとり、2016年3月に Vaa3D のプラグイン (SIGEN Plugin) として公開した(図3)。

ニューロン形態の抽出、記述手法については、サイズは大きく異なるが同様の形状を持つ樹木の根形態の記述にも応用した。樹木の根については、地中レーダ法により、土壌を掘り取る事無く形態情報を取得することが可能となってきたが、このデータはあ



(a) Vaa3Dのプラグインとして起動したニューロン形態抽出ソフト



(b) ニューロン形態の抽出例

図3 ニューロン形態の抽出

くまでも点データであり、そこから形状を復元・記述する方法について研究を進め、プロトタイプとなるプログラムを開発した。

ただ、このような一連の開発、研究についても、今年度より予算的なサポートを得ることができなかつたため、今年度以降の開発継続は極めて困難な状況となった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

{雑誌論文}(計 14件)

1. Yamashita T., Haupt S. S., Ikeno H., Ai H., Walking patterns induced by learned odors in the honeybee, *Apis mellifera* L., *J. Exp. Biol.*, 2016, 査読有, Vol. 219, 12-16, doi:10.1242/jeb.123356,

2016.

2. 平野恭弘, 山瀬敬太郎, 谷川東子, 檀浦正子, 大橋瑞江, 藤堂千景, 池野英利, 減災の観点から樹木根系を非破壊的に推定する地中レーダ法の現状と課題, *日本緑化工学会誌*, 2015, 査読有, Vol. 41, 319-325.
3. 藤堂千景, 山瀬敬太郎, 谷川東子, 大橋瑞江, 池野英利, 檀浦正子, 平野恭弘, 間伐がスギの最大引き倒し抵抗モーメントにもたらす影響, *日本緑化工学会誌*, 2015, 査読有, Vol. 41, 309-314.
4. 山瀬敬太郎, 谷川東子, 池野英利, 藤堂千景, 大橋瑞江, 檀浦正子, 平野恭弘, 異なる土壌環境下における根系構造と引き抜き抵抗力との関係, *日本緑化工学会誌*, 2015, 査読有, Vol. 41, 301-307.
5. Rautenberg R., Kumaraswamy A., Cantero A.T., Doblender C., Norouziyan M., Kai K., Ai H., Wachtler T., Ikeno H., NeuronDepot: Keeping your colleagues in sync by combining modern cloud storage services, the local file system, and simple web applications, *Front. Neuroinf.*, 2014, 査読有, Vol. 8, 55, doi:10.3389/fninf.2014.00055.
6. Namiki S., Daimon T., Iwatsuki C., Shimada T., Kanzaki R., Antennal lobe organization and pheromone usage in bombycid moths, *Biology Letters*, 2014, 査読有, Vol. 10, 1-4, doi:10.1098/rsbl.2014.0096.
7. Namiki S., Iwabuchi S., Kono P.P., Kanzaki R., Information flow through neural circuits for pheromone orientation in the moth, *Nature Communications*, 2014, 査読有, Vol. 5, 5919, doi: 10.1038/ncomms6919.
8. 吉田明宏, 藍浩之, 鱗翅類の翅辺縁部に分布する振動受容感覚器, *昆虫と自然*, 2014, 査読有, Vol. 49, 11-16.
9. Ikeno H., Akamatsu T., Hasegawa Y., Ai H., Effect of Olfactory Stimulus on the Flight Course of a Honeybee, *Apis mellifera*, in a Wind Tunnel, *Insects*, 2014, 査読有, Vol. 5, 92-104, doi: 10.3990/insects5010092.
10. Kimura T., Ohashi M., Crailsheim K., Schmickl T., Okada R., Radspieler G., Ikeno H., Development of a New Method to Track Multiple Honey Bees with Complex Behaviors on a Flat Laboratory Arena, *PLoS ONE*, 2014, 査読有, Vol. 9, e84656, doi: 10.1371/journal.pone.0084656.
11. Okada R., Ikeno H., Kimura T., Ohashi M., Aonuma H., Ito E., Error in the Honeybee Waggle Dance Improves Foraging Flexibility, *Scientific Reports*, 2014, 査読有, Vol.4, 4175, doi:

- 10.1038/srep04175.
12. Tanikawa T., Hirano Y., Dannoura K., Ymase K., Aono K., Ishii M., Igarashi T., Ikeno H., Kanazawa Y., Root orientation can affect detection accuracy of ground-penetrating radar, 2013, 査読有, *Plant Soil*, Vol. 373, 317-327, doi:10.1007/s11104-013-1798-6.
 13. Ai H., Hagio H., Morphological analysis of the primary center receiving spatial information transferred by the waggle dance of honeybees, *J. Comp. Neurol.*, 2013, 査読有, Vol. 521, 2570-2584, doi: 10.1002/cne.23299.
 14. Ai H., Sensors and sensory processing for airborne vibrations in silk moths and honeybees, *Sensors*, 2013, 査読有, Vol. 13, 9344-9363, doi: 10.3390/s130709344.
- [学会発表](計 37件)
1. Ai H., Kai K., Watanabe H., Itoh T., Kumaraswamy A., Rautenberg P., Wachtler T., Ikeno H., Honeybee interneurons responsive to the pulsed vibration produced by waggle dance, *International congress of neuroethology*, 3/30-4/3, 2016 (Uruguay) (招待講演)
 2. Ai H., Kai K., Watanabe H., Kumaraswamy A., Rautenberg P., Wachtler T., Ikeno H., Comprehensive analyses of interneurons arborizing in the primary vibration center in honeybee brain, 第40回日本比較内分泌学会大会・日本比較生理生化学会第37回大会合同大会, 12/11-12/13, 2015 (広島県広島市)
 3. 山下俊也, 池野英利, 長谷川雄二, 伊東綱男, 藍浩之, 学習した匂いと尻振りダンス振動によって誘発されるミツバチの歩行の解析, *日本動物学会第86回大会*, 9/17-9/19, 2015 (新潟県新潟市)
 4. 山下俊也, Haupt S.S., 池野英利, 伊東綱男, 藍浩之, ミツバチにおける学習した匂いによって誘発される歩行の経時変化と音刺激による影響, *日本動物学会九州支部第68回大会*, 5/23-5/24, 2015 (福岡県福岡市)
 5. Ikeno H., Miyamoto D., Kazawa T., Kanzaki R., A method for construction and application of standard brain model based on the confocal images, *Advances in Neuroinformatics 2015 tutorial session*, 11/27, 2015, 東京大学(東京)(招待講演)
 6. Ikeno H., Miyamoto D., Okamura-Oho Y., Nishibe H., Sato A., Furuichi T., Kanzaki R., Development of protocol and software for registration in situ hybridization image into the standard brain, *Advances in Neuroinformatics 2015*, 11/26-11/27, 2015, 東京大学(東京)(招待講演)
 7. 澤井穂高, 岡田龍一, 吉田澗, 大橋瑞江, 木村敏文, 池野英利, ミツバチの採餌行動におけるエネルギー収支, *日本生態学会第63回全国大会*, 3/20-3/24, 2016 (宮城県仙台市)
 8. Yoshida M., Ohashi M., Kimura T., Okada R., Ikeno H., Seasonal changes of energy gain and consumption in a honeybee colony, *日本生態学会第63回全国大会*, 3/20-3/24, 2016 (宮城県仙台市)
 9. Long P. D., Yamasaki M., Ito Y., Okada R., Ikeno H., Phototaxis behavior of ambrosia beetle *Platypus quercivorus* before and after flight, *日本生態学会第63回全国大会*, 3/20-3/24, 2016 (宮城県仙台市)
 10. 大橋瑞江, 池野英利, 柿添哲也, 山瀬敬太郎, 谷川東子, 檀浦正子, 藤堂千景, 平野恭弘, レーダを用いた樹木根系の非かく乱調査-海岸クロマツ個体の水平根の広がり, *日本生態学会第63回全国大会*, 3/20-3/24, 2016 (宮城県仙台市)
 11. Ishihara A., Ikeno H., Wagatsuma H., Inagaki K., Usui S., Satoh T., Yamazaki T., Kannon T., Yamaguchi Y., Okumura Y., Kamiyama Y., Asai Y., Hirata Y., Development of an on-line simulation platform for neuroscience research, *INCF Congress Neuroinformatics 2015*, 8/20-8/22, 2015 (Cairns, Australia)
 12. 池野英利, Kumaraswamy A., 甲斐加樹来, 藍浩之, Rautenberg P., Wachtler T., 形態的特徴を考慮した神経細胞形態の再構築手法に関する研究, 第25回日本神経回路学会全国大会, 9/2-9/5, 2015, 電気通信大学(東京都調布市)
 13. 深谷智史, 奥田直人, 岡田龍一, 伊東康人, 池野英利, 山崎理正, カシノナガキクイムシの飛翔能力は何によって決まるのか, 第127回日本森林学会大会, 3/27-3/30, 2016, 日本大学(神奈川県藤沢市)
 14. Miyamoto D., Kazawa T., Goto A., Ikeno H., Kanzaki R., Constructing a massively parallelized morphological detailed neural circuit simulation of silkworm brain with a neuron database, *Joint meeting of the 11th International Neuroethology Conference and the 36th Annual Meeting of the Japanese Society for Comparative Physiology and Biochemistry*, 7/28-8/1, 2014, 札幌コンベンションセンター(北海道札幌)

- 市)
15. Ikeno H., Kai K., Iizuka S., Kumaraswamy A., Rautenberg P., Wachtler T., Ai H., Reproducible segmentation method of neural morphology from LSM images, *Joint meeting of the 11th International Neuroethology Conference and the 36th Annual Meeting of the Japanese Society for Comparative Physiology and Biochemistry*, 7/28-8/1, 2014, 札幌コンベンションセンター (北海道札幌市)
 16. Kai K., Kumaraswamy A., Rautenberg P., Wachtler T., Ikeno H., Ai H., Neural basis of vibratory signal processing of the honeybee, *Apis mellifera*, *Joint meeting of the 11th International Neuroethology Conference and the 36th Annual Meeting of the Japanese Society for Comparative Physiology and Biochemistry*, 7/28-8/1, 2014, 札幌コンベンションセンター (北海道札幌市)
 17. Ikeno H., Kamiyama Y., Ishihara A., Hirata Y., Satoh S., Yamazaki T., Wagatsuma H., Okumura Y., Inagaki K., Kannon T., Asai Y., Yamaguchi Y., Usui S., Simulation Platform: Application Server for Testing and Sharing Mathematical Model and Experimental Data, *INCF Japan Node International Workshop: Advances in Neuroniformatics 2014*, 9/25-9/26, 2014, 理化学研究所 (埼玉県和光市)
 18. Kanzaki R., Kazawa T., Takashima A., Shiga S., Ikeno H., Yamaguchi Y., The Invertebrate Brain Platform (IVB-PF) - Comparative Expositions and Data Collection about Invertebrate Brain Platform, *INCF Japan Node International Workshop: Advances in Neuroniformatics 2014*, 9/25-9/26, 2014, 理化学研究所 (埼玉県和光市)
 19. Ikeno H., Segmentation of neuronal structure from confocal image and its applications, *Meeting Honeybee Standard Brain* (招待講演), 3/16-3/17, 2015, Freie Universitat Berlin (Berlin, Germany) (招待講演)
 20. 甲斐加樹来, 池野英利, 藍浩之, ミツバチ脳内の触角機械感覚運動中枢からキノコ体に投射する介在ニューロン, *日本動物学会第85回大会*, 9/11-9/13, 2014, 東北大学 (宮城県仙台市)
 21. Ikeno H., Kazawa T., Kanzaki R., Okumura Y., Yamaguchi Y., Usui S., Toward collaboration in NIJC platforms: Standard brain database linked with application server, *INCF Congress Neuroinformatics 2013*, 8/27-8/29, 2013, Karolinska Institute (Stockholm, Sweden)
 22. Ai H., Kishi N., How does the waggle dance communication mature after the adult emergence?, *Joint meeting of the 11th International Neuroethology Conference and the 36th Annual Meeting of the Japanese Society for Comparative Physiology and Biochemistry*, 7/28-8/1, 2014, 札幌コンベンションセンター (北海道札幌市)
 23. Harada A., Ai H., Sugahara M., Okada R., Sakura M., Sensory responses to the oriental orchid odors in the Japanese and European honeybees, *Joint meeting of the 11th International Neuroethology Conference and the 36th Annual Meeting of the Japanese Society for Comparative Physiology and Biochemistry*, 7/28-8/1, 2014, 札幌コンベンションセンター (北海道札幌市)
 24. Ai H., The parallel systems in the primary auditory center of the honeybee, *11th Goettingen Meeting of German Neuroscience Society*, 3/18-3/21, 2015 (Goettingen, Germany) (招待講演)
 25. Ai H., Topological organization of vibration-sensitive neurons of honeybee, *Meeting Honeybee Standard Brain* (招待講演), 3/16-3/17, 2015, Freie Universitat Berlin (Berlin, Germany) (招待講演)
 26. Kanzaki R., Analysis and synthesis of odor-source localization in insects: From genes, neural networks, and behavior to robots, *Joint meeting of the 11th International Neuroethology Conference and the 36th Annual Meeting of the Japanese Society for Comparative Physiology and Biochemistry*, 7/28-8/1, 2014, 札幌コンベンションセンター (北海道札幌市) (招待講演)
 27. Kanzaki R., Neural Basis of Odor-Source Localization in the Silkworm: from genes, neural networks and behavior to robots, *Annual Talks 2015 - Biology Across Scales*, 1/5-1/8, 2015 (Bangalore, India) (招待講演)
 28. Miyamoto D., Kazawa T., Goto A., Kanzaki R., Acceleration of NEURON simulator for morphological detailed multi-compartment Hodgkin-Huxley type simulation toward real-time speed, *INCF Japan Node International Workshop: Advances in Neuroniformatics 2014*, 9/25-9/26, 2014,

- 理化学研究所 (埼玉県和光市)
29. Kazawa T., Miyamoto D., Goto A., Park H., Ikeno H., Nishikawa I., Kanzaki R., Constructing multi-compartment parallelized simulation from olfactory input to premotor command generation of silkworm brain, *INCF Japan Node International Workshop: Advances in Neuroniformatics 2014*, 9/25-9/26, 2014, 理化学研究所 (埼玉県和光市)
30. 宮本大輔, 加沢知毅, 後藤昂彦, 朴希原, 神崎亮平, 昆虫嗅覚系全脳シミュレーション, *バイオスーパーコンピューティング研究会ウィンタースクール*, 1/30-1/31, 2015, 休暇村伊良湖 (愛知県田原市)
31. Kai K., Ikeno H., Haupt S.S., Rautenberg P.L., Wachtler T., Ai H., Response properties of auditory interneurons in the honeybee brain, *Bernstein Conference*, 9/24-9/27, 2013, Neue Aula (Tuebingen, Germany)
32. Kazawa T., Mori Y., Miyamoto D., Namiki S., Ikeno H., Haupt S.S., Nishikawa I., Kanzaki R., Constructing a multi-compartment parallelized simulation of a premotor area of the silkworm brain, *日本比較生理生化学会第35回大会*, 7/13-7/15, 2013, イーグレ姫路 (兵庫県姫路市)
33. Kimura T., Ohashi M., Crailshem K., Schmickl T., Okada R., Ikeno H., Development of a tracking program, K-Track, for analyzing honeybee's behaviors, *日本比較生理生化学会第35回大会*, 7/13-7/15, 2013, イーグレ姫路 (兵庫県姫路市)
34. Kai K., Ikeno H., Ai H., Physiology and morphology of antenna-vibration sensitive neurons in the dorsal lobe of the honey bee, *Apis mellifera*, *日本比較生理生化学会第35回大会*, 7/13-7/15, 2013, イーグレ姫路 (兵庫県姫路市)
35. 藍浩之, 宮本奈央, 山本千尋, 石橋祥太, 山下俊也, 学習した匂い刺激により生じる歩行様式の性質とその季節変動, *日本動物学会第84回大会*, 9/26-9/28, 2013, 岡山大学 (岡山県岡山市)
36. 藍浩之, ミツバチの尻振りダンスの発現と脳内構造の定量的解析, *第3回ミツバチシンポジウム*, 2/20, 2014, 兵庫県立大学 (兵庫県姫路市)
37. 森友亮, 加沢知毅, 宮本大輔, 神崎亮平, 昆虫全脳シミュレーションに向けたスーパーコンピュータとのリアルタイム通信の検討, *電子情報通信学会ニューロコンピューティング(NC)研究会*, 9/24-9/25, 2013, 新潟大学 (新潟県新潟市)

〔図書〕(計 1 件)

1. 神崎亮平, サイボーグ昆虫、フェロモンを追う, 岩波書店, 2014

〔産業財産権〕
出願状況 (計 0 件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
出願年月日 :
国内外の別 :

取得状況 (計 0 件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
取得年月日 :
国内外の別 :

〔その他〕
ホームページ等
Invertebrate Brain Platform:
<https://invbrain.neuroinf.jp/>
Simulation Platform:
<http://sim.neuroinf.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者
池野英利 (Hidetoshi Ikeno)
兵庫県立大学・環境人間学部・教授
研究者番号 : 80176114

(2) 研究分担者
藍 浩之 (Hiroyuki Ai)
福岡大学・理学部・助教
研究者番号 : 20330897

神崎亮平 (Ryohei Kanzaki)
東京大学・先端科学技術研究センター・教授
研究者番号 : 40221907

西川郁子 (Ikuko Nishikawa)
立命館大学・情報理工学部・教授
研究者番号 : 90212117