

領域略称名：適応回路センサス  
領域番号：21A301

令和6年度  
科学研究費助成事業「学術変革領域研究（A）」  
に係る中間評価報告書

「神経回路センサスに基づく適応機能の構築と遷移  
バイオメカニズム（適応回路センサス）」

領域設定期間

令和3年度～令和7年度

令和6年6月

領域代表者 東京医科歯科大学大学・大学院医歯学総合研究科・

教授・磯村 宜和

# 目 次

## **研究組織**

1	総括班・総括班以外の計画研究	2
2	総括班・総括班以外の計画研究の研究代表者・研究分担者	3
3	公募研究	6

## **研究領域全体に係る事項**

4	研究領域の目的及び概要	10
5	審査結果の所見で指摘を受けた事項への対応状況	12
6	研究の進展状況及び主な成果	13
7	研究発表の状況	29
8	研究組織の連携体制	34
9	若手研究者の育成に係る取組状況	35
10	アウトリーチ活動に係る取組状況	36
11	研究費の使用状況・計画	37
12	今後の研究領域の推進方策	38
13	総括班評価者による評価	40

**研究組織**

(令和6年6月末現在。ただし完了又は廃止した研究課題は完了・廃止時現在。)

**1 総括班及び総括班以外の計画研究**

研究項目[1]	課題番号 研究課題名	研究代表者 氏名	所属研究機関・部局・職	人数[2]
X00 総	21H05238 神経回路センサスに基づく適応機能の構築と遷移バイオメカニズム	磯村 宜和	東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・教授	8
A01 計	21H05239 適応回路の基本設計の構築メカニズム	堀江 健生	大阪大学・大学院生命機能研究科・教授	3
A01 計	21H05240 細胞多様性に基づいた神経回路の構築メカニズム	下郡 智美	理化学研究所・脳神経科学研究センター・副センター長	2
A01 計	21H05241 行動選択を担う神経投射の多様性構築メカニズム	藤山 文乃	北海道大学・大学院医学研究院・教授	2
B01 計	21H05242 行動を最適化するオペラント学習回路ダイナミクス	磯村 宜和	東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・教授	3
B01 計	21H05243 記憶状態の遷移を担う神経回路ダイナミクス	佐々木 拓哉	東北大学・大学院薬学研究科・教授	2
B01 計	21H05244 環境に応答した行動変容を司る遺伝子・細胞機能ダイナミクス	小林 和人	福島県立医科大学・医学部・教授	3
C01 計	21H05245 適応回路を担う網羅的細胞種センサス技術の開発	郷 康広	兵庫県立大学・大学院 情報科学研究科・教授	2
C02 計	21H05246 センサスデータ駆動による適応回路の理論構築	島崎 秀昭	京都大学・大学院情報学研究科・准教授	2
総括班及び総括班以外の計画研究 計 9 件 (廃止を含む)				

[1] 総：総括班、計：総括班以外の計画研究

[2] 研究代表者及び研究分担者の人数（辞退又は削除した者を除く。）

## 2 総括班及び総括班以外の計画研究の研究代表者・研究分担者

研究項目：X00

研究課題名：神経回路センサスに基づく適応機能の構築と遷移バイオメカニズム

代表／ 分担	研究者氏名	所属研究機関・部局・職	役割分担
代表	礪村 宜和	東京医科歯科大学・大学院 医歯学総合研究科・教授	領域代表者、企画運営委員会長、研究支援委員会（生理解析技術班）
分担	小林 和人	福島県立医科大学・医学部・ 教授	研究支援委員会長、研究支援委員会（遺伝子改変技術班）
分担	郷 康広	兵庫県立大学・大学院 情報 科学研究科・教授	遺伝子解析促進委員会長、遺伝子解析促進委員会（連携窓口、連携解析実施班）
分担	佐々木 拓哉	東北大学・大学院薬学研究 科・教授	若手研究支援委員会長
分担	下郡 智美	理化学研究所・脳神経科学 研究センター・副センター 長	国際活動支援委員長
分担	堀江 健生	大阪大学・大学院生命機能 研究科・教授	研究集会委員長、遺伝子解析促進委員会（連携調整窓口、連携解析実施班）
分担	藤山 文乃	北海道大学・大学院医学研 究院・教授	研究支援委員会（構造解析技術班）、広報委員長
分担	島崎 秀昭	京都大学大学院・情報学研 究科・准教授	研究支援委員会（数理・統計技術班）
合計 8 名			

研究項目：A01

研究課題名：適応回路の基本設計の構築メカニズム

代表／ 分担	研究者氏名	所属研究機関・部局・職	役割分担
代表	堀江 健生	大阪大学・大学院生命機能 研究科・教授	研究の総括、シングルセルトランスクリプトーム解析、神経生理学実験
分担	尾崎 遼	筑波大学・医学医療系・准教 授	情報生物学解析
分担	佐藤 ゆたか	京都大学・大学院理学研究 科・准教授	発生生物学実験
合計 3 名			

研究項目：A01

研究課題名：細胞多様性に基づいた神経回路の構築メカニズム

代表／ 分担	研究者氏名	所属研究機関・部局・職	役割分担
代表	下郡 智美	理化学研究所・脳神経科学研究センター・副センター長	研究の統括
分担	中嶋 藍	東京大学・大学院薬学系・准教授	嗅覚回路でのシングルセル RNA-seq, カルシウムイメージング
合計 2 名			

**研究項目 : A01**

**研究課題名 : 行動選択を担う神経投射の多様性構築メカニズム**

代表／ 分担	研究者氏名	所属研究機関・部局・職	役割分担
代表	藤山 文乃	北海道大学・大学院医学研究院・教授	研究の統括
分担	大野 伸彦	自治医科大学・医学部・教授	電子顕微鏡解析
合計 2 名			

**研究項目 : B01**

**研究課題名 : 行動を最適化するオペラント学習回路ダイナミクス**

代表／ 分担	研究者氏名	所属研究機関・部局・職	役割分担
代表	礪村 宜和	東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・教授	研究の統括、神経活動計測
分担	佐藤 暢哉	関西学院大学・文学部・教授	行動解析
分担	苅部 冬紀	北海道大学・医学研究院・助教	単一細胞生理・形態解析
合計 3 名			

**研究項目 : B01**

**研究課題名 : 記憶状態の遷移を担う神経回路ダイナミクス**

代表／ 分担	研究者氏名	所属研究機関・部局・職	役割分担
代表	佐々木 拓哉	東北大学・大学院薬学研究科・教授	研究の統括、実験データ解析

分担	船水 章大	東京大学・定量生命科学研究所・講師	実験データの取得、方法開発
合計 2 名			

**研究項目 : B01**

**研究課題名 : 環境に応答した行動変容を司る遺伝子・細胞機能ダイナミクス**

代表／分担	研究者氏名	所属研究機関・部局・職	役割分担
代表	小林 和人	福島県立医科大学・医学部・教授	研究全体の統括
分担	松下 夏樹	愛知医科大学・医学部・准教授	遺伝子レベルの解析
分担	瀬戸川 将	大阪公立大学・大学院医学研究科・特任助教	細胞レベルの解析 ※令和5年度まで分担者
合計 3 名			

**研究項目 : C01**

**研究課題名 : 適応回路を担う網羅的細胞種センサ技術の開発**

代表／分担	研究者氏名	所属研究機関・部局・職	役割分担
代表	郷 康広	兵庫県立大学・大学院 情報科学研究科・教授	研究全体の推進と統括
分担	二階堂 愛	理化学研究所・生命機能科学研究センター・チームリーダー	1 細胞発現解析, データ解析
合計 2 名			

**研究項目 : C02**

**研究課題名 : センサデータ駆動による適応回路の理論構築**

代表／分担	研究者氏名	所属研究機関・部局・職	役割分担
代表	島崎 秀昭	京都大学・大学院情報学研究科・准教授	適応回路のデータ解析・理論を構築する
分担	田中 琢真	滋賀大学・データサイエンス学部・准教授	適応回路の数理モデリングを行う
合計 2 名			

### 3 公募研究

研究項目[1]	課題番号 研究課題名	研究期間	研究代表者 氏名	所属研究機関・部局・職	人数 [2]
A01 公	22H05483 3次元モデリティー解析法による配偶戦略の性差を生み出す分子神経基盤の解明	令和4年度 ～ 令和5年度	竹内 秀明	東北大学・大学院生命科学 研究科・教授	1
A01 公	22H05493 モデルマウスによる自閉症の神経回路形成メカニズムの解明と治療応用	令和4年度 ～ 令和5年度	川村 敦生	金沢大学・医薬保健研究域 医学系組織細胞学・助教	1
A01 公	22H05498 神経細胞の個性センサスによるセルアセンブリの構築と遷移	令和4年度 ～ 令和5年度	八木 健	大阪大学・大学院生命機能 研究科・教授	1
A01 公	22H05512 動物の温度適応における回路選択・機能構築センサス	令和4年度 ～ 令和5年度	久原 篤	甲南大学・理工学部/統合ニ ューロバイオロジー研究 所・教授	1
A01 公	22H05514 多様な環境に生息する固着性刺胞動物サンゴの適応責任回路の解明	令和4年度 ～ 令和5年度	西辻 光希	福井県立大学・海洋生物資 源学部先端増養殖科学科・ 准教授	1
A01 公	22H05518 分化状態の細胞間格差プロファイリングによる適応回路構築機構の解読	令和4年度 ～ 令和5年度	中川 直樹	国立遺伝学研究所・神経回 路構築研究室・助教	1
A01 公	22H05519 光学・機械学習と網羅的分子情報解析の融合による恐怖記憶特異的ハブ因子の同定	令和4年度 ～ 令和5年度	揚妻 正和	国立研究開発法人量子科学 技術研究開発機構, 量子生 命科学研究所, 主任研究員	1
B01 公	22H05481 トランスラトームダイナミクスから探る適応の多様性	令和4年度 ～ 令和5年度	谷本 拓	東北大学・大学院生命科学 研究科・教授	1
B01 公	22H05485 記憶遷移を担う神経回路ダイナミクスの神経ペプチドによる修飾メカニズム	令和4年度 ～ 令和5年度	殿城 亜矢子	千葉大学・大学院薬学研究 院・准教授	1
B01 公	22H05486 記憶エングラムセンサスによる再固定化から消去への動的な回路遷移の分子基盤の解明	令和4年度 ～ 令和5年度	喜田 聡	東京大学・大学院農学生命 科学研究科・教授	1
B01 公	22H05487 多様な行動を適応的に創出する回路遷移機構のセンサスに基づく解明	令和4年度 ～ 令和5年度	能瀬 聡直	東京大学・大学院新領域創 成科学研究科・教授	1

B01 公	22H05491 生体脳内1細胞での適応回路再編成の時空間分子メカニズムの解明	令和4年度 ～ 令和5年度	三國 貴康	新潟大学・脳研究所・教授	1
B01 公	22H05495 逆行性バーコーディングによる局所神経回路構造の解明	令和4年度 ～ 令和5年度	濱口 航介	京都大学・大学院医学系研究科 生体情報科学講座・准教授	1
B01 公	22H05496 シナプス可塑性による記憶回路のダイナミクス	令和4年度 ～ 令和5年度	後藤 明弘	京都大学・大学院医学研究科 システム神経薬理・特定准教授	1
B01 公	22H05497 前頭前皮質-線条体回路を構成する細胞の機能的活動特性の精査	令和4年度 ～ 令和5年度	野々村 聡	京都大学・ヒト行動進化研究センター・特定助教	1
B01 公	22H05515 歌学習発達に伴う聴覚記憶神経回路の高次機能適応センサス	令和4年度 ～ 令和5年度	杉山(矢崎) 陽子	沖縄科学技術大学院大学・臨界期の神経メカニズム研究ユニット・准教授	1
B01 公	22H05520 能動的推論に基づく意思決定の神経回路機構の解明	令和4年度 ～ 令和5年度	岡本 仁	国立研究開発法人理化学研究所・脳神経科学研究センター・チームリーダー	1
B01 公	22H05521 先読みと試行錯誤の行動戦略にかかわる、適応回路遷移の神経基盤センサス	令和4年度 ～ 令和5年度	小山 佳	量子科学技術研究開発機構・脳機能イメージング研究部・主任研究員	1
C01 公	22H05482 脳変容メカニズムの解明のための転写因子活性センサス	令和4年度 ～ 令和5年度	安部 健太郎	東北大学・大学院生命科学研究所・教授	1
C01 公	22H05517 Simultaneous voltage and calcium imaging and mRNA extraction from single neurons in-vivo	令和4年度 ～ 令和5年度	ROOME, Christopher ルーム クリストファー	沖縄科学技術大学院大学 光ニューロイメージングユニット・スタッフサイエンティスト	1
C02 公	22H05511 構成細胞のスパイク統計特性に着目した適応機能の要素回路抽出法の開発	令和4年度 ～ 令和5年度	坪 泰宏	立命館大学・情報理工学部・教授	1
A01 公	24H01216 視覚を介した配偶者選択における脳の性差と進化の分子基盤の解明	令和6年度 ～ 令和7年度	竹内 秀明	東北大学・大学院生命科学研究所・教授	1
A01 公	24H01219 睡眠の性差を作り出す神経機構の解明	令和6年度 ～ 令和7年度	船戸 弘正	筑波大学・国際統合睡眠医科学研究機構・客員教授	1
A01 公	24H01237 神経細胞の個性センサスによる複雑な回路形成とセルアセンブリの	令和6年度 ～ 令和7年度	八木 健	大阪大学・大学院生命機能研究科・教授	1



	構築と遷移				
A01 公	24H01247 in vivo と in vitro を駆使した固着性刺胞動物サンゴの環境適応責任神経回路の解明	令和 6 年度 ～ 令和 7 年度	西辻 光希	福井県立大学・海洋生物資源学部先端増養殖科学科・准教授	1
A01 公	24H01255 温度適応の多様性を引き起こす適応回路ダイバーシティ	令和 4 年度 ～ 令和 5 年度	久原 篤	甲南大学・理工学部/統合ニューロバイオロジー研究所・教授	1
A01 公	24H01256 分化状態と遺伝子発現の多重プロファイリングによる適応回路構築機構の解読	令和 6 年度 ～ 令和 7 年度	中川 直樹	国立遺伝学研究所・神経回路構築研究室・助教	1
A01 公	24H01260 光学・機械学習と網羅的分子情報解析の融合による恐怖記憶特異的ハブ因子の同定	令和 6 年度 ～ 令和 7 年度	揚妻 正和	国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構, 量子生命科学研究所, 主任研究員	1
B01 公	24H01217 回路適応により生じるトランスラトームダイナミクスと多様性の理解	令和 6 年度 ～ 令和 7 年度	谷本 拓	東北大学・大学院生命科学研究所・教授	1
B01 公	24H01225 多様な行動を適応的に創出する回路遷移機構のセンサに基づく解明	令和 6 年度 ～ 令和 7 年度	能瀬 聡直	東京大学・大学院新領域創成科学研究科・教授	1
B01 公	24H01226 海馬恐怖記憶エングラムセンサによる恐怖回路遷移時の分子動態変化とその役割の解明	令和 6 年度 ～ 令和 7 年度	喜田 聡	東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授	1
B01 公	24H01229 生体脳内 1 細胞での適応回路再編成のトランスクリプトーム・シナプトーム解析	令和 6 年度 ～ 令和 7 年度	三國 貴康	新潟大学・脳研究所・教授	1
B01 公	24H01235 逆行性バーコーディングによる局所回路センサ	令和 6 年度 ～ 令和 7 年度	濱口 航介	京都大学・大学院医学系研究科 生体情報科学講座・准教授	1
B01 公	24H01241 自閉症における社会性回路遷移機構の解明	令和 6 年度 ～ 令和 7 年度	内匠 透	神戸大学・大学院医学研究科・教授	1
B01 公	24H01253 人工シナプスコネクタによる神経再編成と障害回復モデルからの新規適応回路センサ	令和 6 年度 ～ 令和 7 年度	武内 恒成	愛知医科大学・医学部・教授	1
C01 公	24H01218 転写因子活性センサによる脳変容ダイナミズムの解明	令和 6 年度 ～ 令和 7 年度	安部 健太郎	東北大学・大学院生命科学研究所・教授	1

C01 公	24H01221 高効率越シナプス性 AAV ベクター 変異体の開発	令和 6 年度 ～ 令和 7 年度	今野 歩	群馬大学・医学系研究科・講 師	1
C01 公	24H01222 適応回路を規定する 1 細胞空間エ ピゲノムセンサ技術の確立	令和 6 年度 ～ 令和 7 年度	小松 哲郎	群馬大学・生体調節研究所・ 講師	1
C01 公	24H01227 FISH を用いた異なる機能のニュー ロンの新規分取法の開発による 包括的エピゲノム解析	令和 6 年度 ～ 令和 7 年度	岸 雄介	東京大学・定量生命科学研 究所・准教授	1
C01 公	24H01236 神経回路イメージングに基づくク ロマチンセンサ	令和 6 年度 ～ 令和 7 年度	本田 瑞季	広島大学・統合生命科学研 究科(理),・助教	1
C01 公	24H01250 時空間的プロテオーム技術による 適応神経回路の分子機序の網羅的 解析	令和 6 年度 ～ 令和 7 年度	高野 哲也	九州大学・生体防御医学研 究所高等研究院・准教授	1
C02 公	24H01254 個性的な動的情報処理特性をもつ 神経細胞集団が織りなす適応機能 ダイナミクスの抽出	令和 6 年度 ～ 令和 7 年度	坪 泰宏	立命館大学・情報理工学 部・教授	1
公募研究 計 42 件 (廃止を含む)					

[1] 公：公募研究

[2] 公募研究は研究代表者が 1 名で実施

## 研究領域全体に係る事項

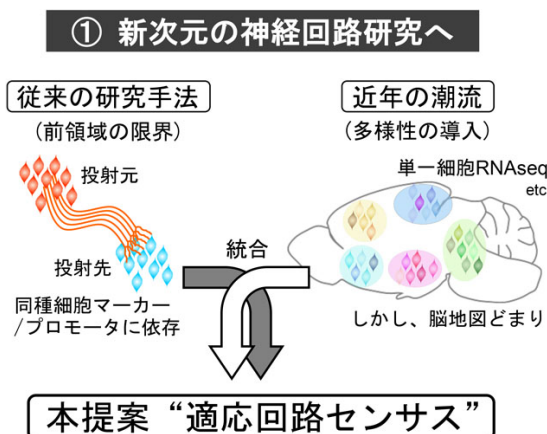
### 4 研究領域の目的及び概要

研究領域全体を通じ、本研究領域の研究目的及び全体構想について、応募時の領域計画書を基に、具体的かつ簡潔に2頁以内で記述すること。なお、記述に当たっては、どのような点が「これまでの学術の体系や方向を大きく変革・転換させる」ものであるか、研究の学術的背景や領域設定期間終了後に期待される成果等を明確にすること。

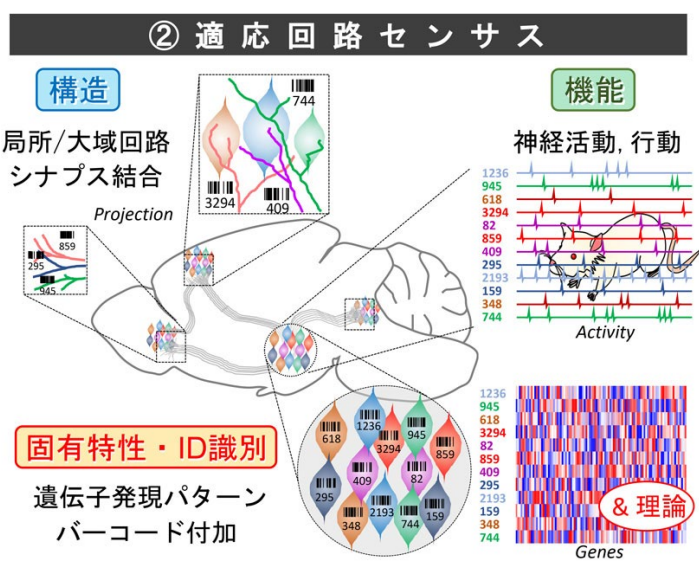
ヒトや他の動物は、体外環境や個体内因の変化に随時適応し、生き抜くための行動をとる。この行動適応は、億単位の神経細胞が織りなす複雑な神経回路の形成と変化(適応回路)によって実現される。例えば、神経回路の基本構造を新規に構築することにより、目的に適する回路基盤が形成される(神経回路の発生発達、運動系投射路の機能形成など)。また、すでに構築した回路の素子や結合状態を適切に遷移させることにより、現行機能を状況の変化に応じてダイナミックに最適化できる(オペラント学習、記憶と再生など)。前身の新学術領域研究(研究領域提案型・生物系)「行動適応を担う脳神経回路の機能シフト機構」(適応回路シフト 平成26~30年度)では、「適応回路はどのような法則で機能的な変化をきたすのか」という共通課題に取り組み、多くの卓越した研究成果が得られた。当時は一部の特異的プロモータや軸索輸送ウイルスベクターの技術を駆使することで、神経細胞サブタイプや投射経路といった同種グループ単位での役割までは理解が深まった(図①左)。

しかしながら、神経細胞が極めて多様な細胞形態と活動特性と細胞間結合を有することは紛れもない事実である。その内部の何千、何万もの遺伝子の発現や修飾もまた多様である。現行の単一プロモータに依存するような手法では、いくら何百、何千もの同種類の神経細胞グループを同時に観測しても、所詮は同種グループの平均的な特徴を粗く捉えているに過ぎない(図①左)。ラジオの電子回路に喩えると、多数のトランジスタ部品を区別なく調べても、何の信号処理回路かを説明できないことと同じである。適応回路の仕組みに本気で迫るためには、絞り込んだ対象回路の構成細胞の固有特性と挙動を“センサ的”に観測することが有効である(図②)。つまり対象回路を点と線からなるネットワークと見立て、点や線を個別に識別したセンサスを敢行して、どの点や線が適応機能に応じて軟らかく(可塑的)、どの点や線が硬い(定常的)のかを情報科学的な解析から見極める。こうして適応現象に本質的な点と線からなる要素回路を抽出し、光遺伝学的操作で適応機能との因果性を確かめてから、理論的な動作原理に落とし込むことが最も着実な道筋である(図③)。しかし、このような研究攻略は長らく技術的な壁に阻まれて夢物語であった。

近年、数千数万の遺伝子のトランスクリプト(転写産物)の発現レベルを次世代シーケンサーで網羅的に計測するトランスクリプトーム解析技術が急速な発展を遂げている。特に、生体組織を構成する個々の細胞を微小サンプル操作で単離し、高精度で遺伝子発現パターンを解析する単一細胞RNAシーケンス(scRNA-seq)の有用性が注目されている。今は細胞分離が容易で増殖分化を追いやすい腫瘍組織や血液免疫系への適用が先行し、次々と目覚ましい研究成果が挙げられている。脳神経系についてもトランスクリプトーム解析を導入する動きが海外を中心に活発化しており、全脳領域を網羅する遺伝子発現マッピングの大型プロジェクトの推進や、バーコード化タグを発現する軸索輸送・経シナプス性ウイルスベクターと組み合わせた神経細胞同士の投射結合パターン解析の研究報告など、神経科学との潜在的な相性の良さが徐々に活かされ始めている(図①右)。



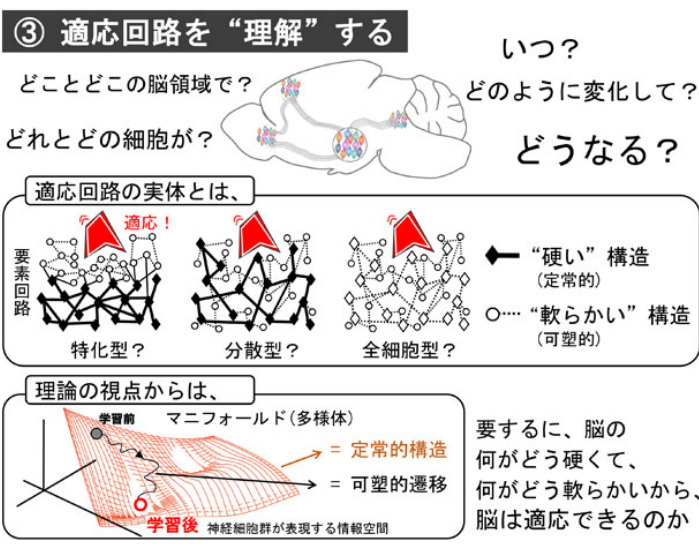
本提案「**神経回路センサスに基づく適応機能の構築と遷移バイオメカニズム**」では、適応脳機能の回路構築と回路遷移の機構に狙いを定め、遺伝子発現プロファイリングを多細胞スパイク記録や2光子レーザー顕微鏡などと組み合わせて、神経回路の構成細胞がどのような特性や挙動を個別に示して適応機能に至るのかを包括的に追跡する(図② 適応回路センサス\*)。この適応回路センサスに基づいて、神経回路の適応機能の回路構築や回路遷移に本質的にかかわる要素回路を特定し、光遺伝学的な操作で適応機能との因果性を確認したうえで、その活動ダイナミクスをもとに理論的にも動作原理を考証することにより、動物



が生存するために脳の機能を随時適応させる適応回路の仕組みを真の細胞レベルで明らかにする(図③)。そのために、最前線の神経科学に加えて、ゲノム生物学、情報生物学、行動解析学、神経計算論など異分野の研究者が結集して神経回路研究に特化した連携体制を構築し、若手・中堅研究者の挑戦的な発想を起爆剤として、既存の枠に収まらない学際的な学問分野を開拓する。

適応脳機能には、神経系の初期発達、感覚機能や運動機能の確立、加齢や疾患による障害とその修復・代償といった回路構造をゆっくりと構築/再構築するもの(回路構築)もあれば、行動学習、記憶、動機づけ、睡眠-覚醒のように回路状態をどんどんと遷移させるようなもの(回路遷移)もある。これらはタイムスケールも遺伝子発現レベルも大きく異なるイベントであるため、前者を対象とする A01 項目「**適応機能の回路構築センサス**」(堀江班、下郡班、藤山班)と後者を対象とする B01 項目「**適応機能の回路遷移センサス**」(磯村班、佐々木班、小林班)の研究項目を設けて、項目ごとに研究感覚を合致させて連携協力を鋭敏化する。さらに、本領域の要となる遺伝子発現プロファイリング技術を独自に磨き、実験班がもたらすビッグデータに基づいて包括的な理論的考証を可能とするために、C01/C02 項目「**適応回路センサス技術開発と理論構築**」(郷班と島崎班)の研究項目を別に設けて、上記両項目との双方向的な連携協力を実効化する。公募班には、多様な生物種と適応脳機能を対象として先鋭的な実験解析技術を駆使する若手・中堅研究者からの研究提案を歓迎し、研究期間が短い公募班も当初計画を着実に遂行しつつ新たな連携協力も生まれるように、総括班と計画班がきめ細かく支援する。

本領域のコンセプト「**適応回路センサス**」は、単に脳領域の遺伝子発現分布を網羅的に検索したり神経細胞サブクラスの投射結合を分類したりする従来のコネクトーム型思考の延長ではなく、行動適応の機能的回路に狙いを定めて、センサス解析データから本質的な要素回路を抽出し、その活動ダイナミクスから理論的に動作原理を考証するものである。将来、単一細胞プロファイリングの時代に我が国の脳神経科学が独自に進化する変革を促し、脳神経疾患の特定回路を標的とした診断・治療への応用や、脳型人工知能の学習則の開発など、他分野や社会一般にも強いインパクトを与えることが期待される。



※センサス census とは、ここでは ID 識別された回路構成細胞の固有特性を詳細に解析することを意味する。

## 5 審査結果の所見で指摘を受けた事項への対応状況

研究領域全体を通じ、審査結果の所見において指摘を受けた事項があった場合には、当該指摘及びその対応状況等について、具体的かつ簡潔に2頁以内で記述すること。

### ①令和3年度「学術変革領域研究（A）」新規採択候補研究領域に係る研究概要・審査結果の所見

（審査結果の所見）

『個体の行動適応は神経回路の構築・遷移によって実現される。本研究領域は、適応脳機能を担う神経回路構築・遷移の仕組みを、精緻な神経活動計測・操作技術と単一細胞レベルの遺伝子発現解析技術を融合して明らかにする、独創的かつ国際的に見ても先進的な研究領域である。ID 識別された細胞が形成する要素回路を抽出することにより脳機能ダイナミクスの本質を明らかにできると考えられ、脳機能研究に新しいパラダイムを構築する可能性が極めて高い。これまで独自の手法で行動適応の基盤となる神経活動・回路解析を行ってきた生理学者や解剖学者、最先端の遺伝子改変技術を有する研究者に加え、トランスクリプトーム解析や数理統計解析を専門とする研究者による充実した研究体制になっており、新進気鋭の若手、女性研究者の活躍も期待される。』

（留意事項）

『特になし。』

（参考意見）

『特になし。』

（2021年9月10日付）

### ②採択時の所見における指摘事項への対応に関するフォローアップ

（結果）

『貴研究領域については、順調に進展していると判断され、指摘等はありませんでした』

（2023年3月29日付）

上記の通り、審査結果の所見（初年度）およびフォローアップ（3年度目）において、研究領域の運営に具体的な対応を要するような指摘事項はいただいていない。

## 6 研究の進展状況及び主な成果

- (1) 及び(2)について、計画研究及びそれと連携している公募研究ごとに、具体的かつ簡潔に記述すること。(一つの計画研究及び連携する公募研究で2頁以内)
- (1) 領域設定期間内及び中間評価実施時までには何をどこまで明らかにしようとし、中間評価実施時までにはどこまで研究が進展しているのか
- (2) 各計画研究で得られた成果、及びそれぞれの計画研究と連携している公募研究で得られた成果について、(計画研究・連携する公募研究の順で記載すること。なお、本研究領域内の共同研究等による成果の場合はその旨を明確にすること。)

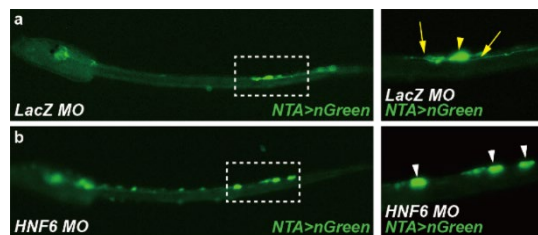
### A01: 堀江 健生

#### (1) 計画研究の進展状況

堀江班は脊索動物の中で最も単純な神経系を持つホヤの幼生をモデルとして、シングルセルトランスクリプトーム (scRNA-seq) 解析を駆使し、適応回路を担う神経細胞種をセンサスすることにより、適応回路の基本設計 (回路発生・回路構築・回路機能) を解明することを目指している。

脳神経系には多様な神経細胞が存在している。個々の神経細胞はそれぞれ特徴的な性質を備えており、脳の高次神経機能を担っている。そのため、各神経細胞の性質がどのような分子機構で決定されるのか、分化した神経細胞がどのように神経回路を構築するのか、神経回路において個々の神経細胞がどのような機能をしているのかを解明することは神経科学、発生生物学にとって根源的な研究課題である。しかしながら、哺乳類では脳を構成する細胞数の多さから、その全貌を解明することは困難である。研究代表者の堀江の研究グループはこの問題を解明するために尾索動物ホヤをモデルとして、ゲノム生物学、情報生物学、発生生物学、神経生理学など様々な手法を組み合わせることで研究を進めている。

ホヤは受精後、約30分ごとに分裂が進み、約18時間で幼生となる。ホヤでは、原腸陥入前の110細胞期に各細胞の運命が一つに限局されることが知られている。その後、原腸胚期、神経胚期、尾芽胚期を経て、オタマジャクシ型の幼生となる。胚発生過程における scRNA-seq データと細胞系譜情報をもとに、情報生物学的な手法を用いて細胞系統樹を作成した。作成した細胞系統樹情報をもとに、各分岐点で強く発現する転写因子をリストアップし、各細胞の分化に関連すると予想される転写因子とシグナル分子の発現を明らかにした。そのうち、ホヤ幼生の尾部に存在し、双極に軸索を伸ばす双極型神経細胞 (Bipolar Tail Neurons) の分化に関連する転写因子同定し、BTN の分化を制御する転写因子ネットワークや双極に伸びた軸索の形成を制御する転写因子を同定した (ChaCha and Horie *et al.*, *PNAS* 2022)。また、BTN の分化を制御する遺伝子ネットワークをもとに BTN を人為的に作り出すことに成功した (ChaCha and Horie 論文投稿準備中)。現在、BTN だけでなく様々な神経細胞種を人為的に作り出す転写因子カクテルの同定を進めている。



BTNの双極に伸びた軸索を形成する転写因子の同定  
a.コントロール。BTN (黄色矢頭) は双極に軸索を伸ばす (黄色矢印)。  
b. HNF6機能阻害胚ではBTN (白色矢頭) は分化するが軸索は形成されない。

ホヤの幼生は基本的体制を脊椎動物と共有するものの、神経系の構造の類似性は限定的であり、その比較には慎重な検討が必要である。そこで、研究分担者の佐藤(ゆ)らは、次に述べるように神経板境界領域細胞を用いて、トランスクリプトームのレベルで細胞の種間類似性を検証する方法論を開発した。

脊椎動物の感覚神経はそのほとんどが、神経胚の神経板境界領域から生じる。神経板境界領域は、まず、プラコード及び神経堤細胞を生じ、そこから、感覚神経を含む多様な外胚葉性・中胚葉性の細胞が生じる。加えて、脊椎動物胚の後方では、神経中胚葉前駆細胞と呼ばれる細胞群が中枢神経系を含む外胚葉性の細胞、および体節などの中胚葉性の細胞を作り出すことが明らかとなっている。

ホヤ胚の神経板境界のうち、前方境界は脊椎動物の頭部プラコードと相同であり、側方境界は脊椎動物の神経堤細胞と相同であることがコンセンサスになりつつある。例えば、前方境界領域は、その位置の類似性だけでなく、特殊化機構における BMP シグナルの働き方などの発生機構のレベルでも良く似ていることを示した (Liu *et al.*, *Dev. Genes Evol.* 2023. 233, 13-23)。側方境界領域では、脊椎動物の側方神経板境界領域を特殊化する遺伝子回路と実質的に同等の遺伝子回路が働いていることも示した。また、特殊

化された細胞の scRNA-seq データを、脊椎動物胚発生における scRNA-seq データと比較したところ、特殊化された後は、ホヤの側方神経板細胞は、神経堤よりは、神経中胚葉前駆細胞と良く似ており、両者の相同性を示していた。この細胞で働く遺伝子回路や、細胞系譜の追跡の実験結果も神経中胚葉細胞との相同性を支持していた。つまり、このホヤの神経板境界側方領域の細胞は、脊椎動物の神経堤及び神経中胚葉細胞の両方の性質を持っており、このことは、神経堤細胞と神経中胚葉細胞が進化的に同じ起源をもっていることを示している。同時に、今回開発した方法が scRNA-seq データの種間比較に有効であることを示している (Ishida & Satou, *Nat. Ecol. Evol.* 2024)。

研究分担者の尾崎らは、神経科学分野における scRNA-seq データ解析技術の開発と応用を進めている。軸索誘導は軸索の成長と神経回路の形成を制御し、細胞間相互作用に依存している。これらの相互作用を理解することは、正常および病的な脳回路形成の理解や神経疾患治療や神経再生法への示唆を提供することが期待される。一方で、既存の scRNA-seq データ解析技術には、軸索誘導因子を通じた細胞間相互作用に特化した機能に欠けていた。そこで、軸索誘導における細胞間相互作用を特に明らかにするために、scRNA-seq データを使用するデータ解析フレームワーク scAG を開発した (Hayakawa & Ozaki, *ISMB/ECCB* 2023)。scAG では、scRNA-seq データと Axon Guidance Related Genes (AGRG) リガンド-レセプターデータベースに基づき、軸索誘導因子を介した細胞間相互作用の推定、それらの時間的変化や条件間変動の解析を行うことができる。scAG を、異なる発達ステージでの野生型および *Fz2* 変異マウスの脳からの scRNA-seq データ (Di Bella *et al.*, *Nature* 2021) に適用したところ、発生ステージ特異的および遺伝型特異的な細胞型ペアと AGRG リガンド-レセプターペアを特定するとともに、軸索成長を導く細胞間の相互作用を網羅的に示すことができた。また、ホヤの scRNA-seq データセットに対しても同様の結果を得ることができた。これらの結果は、scAG が神経回路の形成のための細胞間の協調を明らかにできることを示すものである。

## (2) 計画研究および公募研究と連携して得られた成果

堀江班は、計画班の A01:大野 伸彦、B01:佐藤 暢哉、B01:佐々木 拓哉、公募班の A01:竹内 秀明、B01:能瀬 聡直らと共同研究を行ってきた。

**A01:大野 伸彦** 視神経の発達の違いに関わる遺伝子を同定するために、発育状況が異なるマウスの視神経3種 (片目を閉じて飼育したマウスの健全な視神経、閉じている側の視神経、両眼を閉じた場合の視神経) の(bulk) RNA-seq による比較解析を行い、複数の候補遺伝子を見出した。

**B01:佐藤 暢哉** ラットの異なる学習段階で、背外側および腹側線条体を切り出し、RNA-seq 法を用いて遺伝子発現解析を行ない、複数の候補遺伝子を見出した。さらに、1 細胞核 RNA-seq 法を実施しデータ解析中である。ラットの援助行動学習に関わる脳の遺伝子発現の変化を調べるために、異なる学習段階で、学習あり個体と学習なし個体から3つの脳領域 (前帯状皮質、側坐核、扁桃核) の(bulk) RNA-seq による比較解析を行い、援助行動学習に伴い発現が変動する遺伝子 (の候補) を複数得た。

**A01:竹内 秀明** 配偶戦略の性差を生み出す分子神経基盤解明のためメダカ脳におけるオキシトシンシステムの標的ニューロンの 1 細胞遺伝子発現解析を実施した。特に、生物学的反復実験数の向上と実験コスト低減を目的とした複数サンプル混合と変異情報を利用した情報学的個体分離手法を適用し、統計的検出力の向上を図った。

**B01:能瀬 聡直** ショウジョウバエ幼虫の前進運動と後退運動の間の神経回路遷移において決定的な役割を果たす候補細胞の探索を目的として、活動依存的に色変換する蛍光タンパク質 CaMPARI2 による活動細胞の標識・単離を試みた。研究代表者の堀江の研究室に総括班の予算で購入されたセルソーター (SONY SH800S) およびより高性能なセルソーターを用いて標識細胞の単離を試みたが、単離できた細胞数が少なく、現在、セルソーターによる単離実験の条件検討を進めている。

**B01:佐々木 拓哉** 神経細胞の電気生理学的性質と遺伝子発現を同時計測する Patch-seq データ解析において、データ解析手法の提案と助言を行った。具体的には、電気生理学的パラメータと遺伝子の間で関連解析を行う際に、多重検定補正を行うことで偽陽性率を下げることに、また、事前に遺伝子をクラスタリングすることでノイズに対して頑健な関連解析を行うことなどを提案した。これにより、電気生理学的特徴に関連する遺伝子候補の抽出に貢献した。

## A01: 下郡 智美

### (1) 計画研究の進展状況

哺乳類の脳には、さまざまな形態や神経活動のパターンを持つ細胞が存在するが、そのセルタイプの総数や機能の違い、そしてそれらがどのように生まれるのかについては多くが未解明である。これを明らかにするため、下郡らはマウスの2つの脳領域をモデルとして、セルタイプの分類、セルタイプ特異的な回路形成、その機能の違い、セルタイプが生まれるメカニズムについて研究を行った。まず、視床の内側背側 (MD) と前頭前皮質 (PFC) 回路のセルタイプに注目した。齧歯類の MD-PFC 回路は特定の認知過程や課題において重要な役割を果たすことが示唆されている。PFC にはさまざまなセルタイプが存在し、それらが機能に大きく関与していることも示唆される。一方、MD の小区分 (内側、中央、外側) については、領域やセルタイプに特異的な回路形成と機能を解明するための遺伝学的ツールが不足しているため、分子レベルでの詳細な分離が不十分であった。この課題に対処するため、下郡らは公開されているシングルセルデータベースを用いて、MD の各小区分で特異的に発現している分子を探索した。結果として、MD 小区分に特異的なマーカーおよび複数のサブディビジョンで共通して発現する遺伝子を同定し、それらを異なるグループに分類した。さらに、マウスと霊長類モデルであるコモンマーモセットの MD マーカー遺伝子を各グループに分類して比較したところ、多様な遺伝子発現パターンが明らかになった (Onishi *et al.*, *JCN* 2022)。これらの知見を基に、さらなるセルタイプの同定を目指して、マウスおよびマーモセットの MD で空間トランスクリプトミクス解析を行なっている (継続中)。次に、マウスの体性感覚野 4 層 (バレル皮質) における有棘星状細胞 (SS) と錐体細胞 (PN) がどのように決定されるか、そのメカニズムと多様性の生物学的意義を明らかにすることを目指した。まず、これらの細胞の遺伝子発現パターンを空間トランスクリプトミクスによって調査した。次に、視床軸索が大腦皮質に侵入できないマウス (Cels3 x Dlx5/6 cre) では、本来第一体性感覚野に存在するはずの SS がなく、PN しか存在しないことを明らかにしていることから、このミュータントを使って 10xVisium 解析を行い、発現が変化している遺伝子を同定した。これらの遺伝子の中に細胞分化に関わる因子があると仮定し、候補因子を SS に強制発現させる実験を行い、PN に形態変化を引き起こす因子のスクリーニングに成功した。特に、Smad7 を強制発現させることで、バレル皮質に PN のみが存在する状態を作ること成功した (図 1)。さらに、PN のみが存在する脳での神経回路の接続様式にどのような影響があるかを、順行性および逆行性の方法を用いて詳細に調査した。加えて、回路形成の変化が脳機能に与える影響 (イメージング) と行動変化 (PN のみのマウスでは物質の認知機能が低下) を明らかにし、バレル皮質における細胞多様性の意義を解明した (Young *et al.*, *Nat. Commun.* 2023)。さらに、この細胞多様性が異なる種でも保存されているかを確認するため、発達中のマーモセットを用いて空間トランスクリプトミクスを行い、時空間特異的に発現する遺伝子と種特異的なセルタイプの形成メカニズムを明らかにした (Onishi *et al.*, 論文投稿中)。

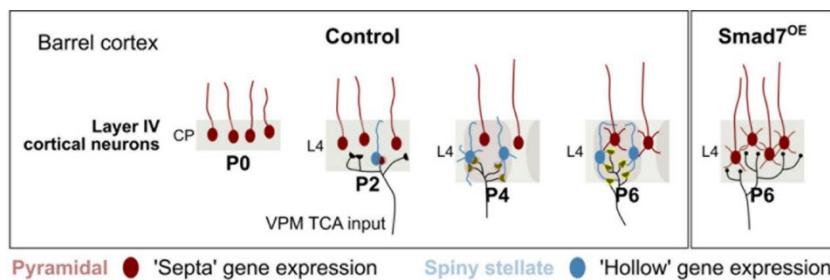


図 1. バレル皮質の発達期でのセルタイプが生まれる様子 (左) 生後 0 日目から 6 日目にかけて視床軸索の到達によってトリガーされ PN が SS に分化する。(右) Smad7 を過剰発現すると SS への分化が抑制され PN のみになる

研究分担者の中嶋は、嗅覚系をモデルとして細胞多様性に基づく神経回路構築メカニズムの解明を目指すプロジェクトを遂行している。これまで、末梢嗅覚組織における情報処理メカニズムに関しては精力的に研究が進められてきたが、梨状皮質をはじめとする嗅覚中枢領域については、形態や発火特性が異なるサブタイプが存在することが明らかになっているものの、それぞれの遺伝的マーカーや、細胞タイプに応じた回路形成の原理は不明であった。これに対し、嗅球・梨状皮質を含む高次嗅覚回路をモデル



として、scRNA-seqによる大規模解析に基づく細胞種の同定、TRAP-seqによる軸索特異的に産生される因子の同定、さらに脳領域間・種間比較を行なうことで、この問題に取り組んでいる。

まず、梨状皮質の興奮性神経細胞の scRNA-seq による大規模解析を行い、興奮性神経細胞のサブタイプの同定、サブタイプ特異的な層形成・回路形成を決定する因子の同定を試みた。単一細胞 RNA-Seq の実施にあたって、単純な単一細胞への分離では十分な数の生細胞が得られなかったため、梨状皮質の細胞から核を抽出し、合計 2,294 細胞における核内トランスクリプトームを同定することに成功した。遺伝子発現プロファイルから、これらの細胞は 11 種類の細胞種に分類された。さらに、既知の細胞種マーカーを指標に興奮性神経細胞を分類することで、梨状皮質に存在する興奮性細胞中のサブタイプ特異的マーカーとなる遺伝子を同定した。次に、scRNA-seq により明らかになった細胞のサブタイプについて組織学的手法により細胞層特異性を検証し、梨状皮質の中でも細胞層特異的な分布を示す興奮性神経細胞のサブタイプを明らかにした。加えて、これまでに、reeler マウスを用いた組織学的検討により、脳発生における梨状皮質の細胞タイプに応じた細胞層特異性の獲得に reelin が寄与することを明らかにした。

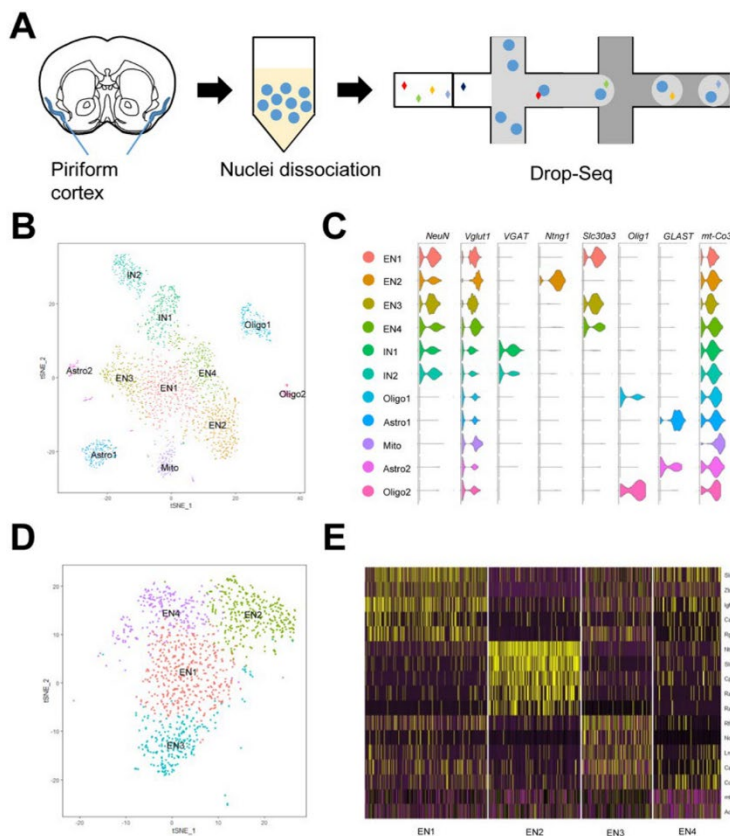


図2. 大規模単一細胞 RNA-Seq による梨状皮質細胞種の分類 (A) 実験の模式図。梨状皮質中の細胞核を分離して、Drop-Seq により単一細胞核 RNA-Seq を行った。(B) 梨状皮質から分離した全 2294 細胞の遺伝子発現プロファイルにしたがって、tSNE による次元圧縮ののち二次元平面上にプロットした。それぞれのクラスターの細胞種は細胞種マーカーを用いて同定し、各クラスター上に示している。EN: 興奮性神経細胞、IN: 抑制性神経細胞、Oligo: オリゴデンドロサイト、Astro: アストロサイト、Mito: ミトコンドリア DNA。(C) 各クラスターごとにマーカーの発現量をバイオリンプロットで示した。(D) 梨状皮質興奮性細胞のクラスターのみで再び tSNE 平面上にプロットした。(E) 各クラスターごとに他クラスターと比較して有意に発現が高かった上位 5 遺伝子(合計 17 遺伝子)をヒートマップで示した。

## (2) 計画研究および公募研究と連携して得られた成果

下郡らは計画班の A01 藤山文乃らと共同研究を行ってきた。

**A01: 藤山文乃** 黒質緻密部での DRD1 と DRD2 の遺伝子の発現の違いから、これらが異なるセルタイプをラベルしていることを発見している。これらのセルタイプに更に特異的に発現する遺伝子を探索するためにマウスサンプルで空間トランスクリプトミクス解析を行なっている。

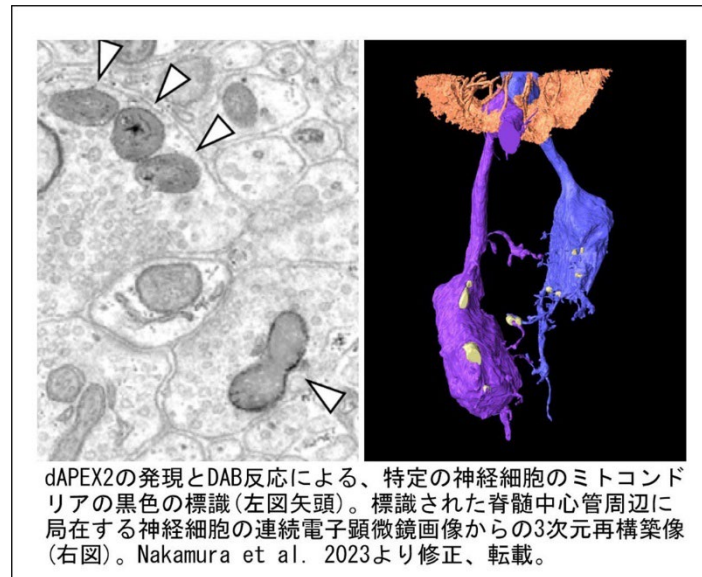
## A01: 藤山 文乃

### (1) 計画研究の進展状況

ヒトを含む動物は、生存のために外的環境や内的要因に応じて行動を臨機応変に適応させる必要があり、報酬に関連する行動の選択は大脳皮質-大脳基底核-視床ループと関連していることが知られている。中脳の黒質緻密部にあるドーパミン作動性ニューロンは、この神経回路において中心的な役割を果たしている。本計画班代表者らを含む複数の研究グループの報告により、黒質緻密部のドーパミン神経細胞は、その領域ごとに不明瞭ながら入出力と相関するトポグラフィーを示すことがわかってきた (Matsuda *et al.*, *J. Neurosci.* 2009; Oh *et al.*, *Brain Struct. Funct.* 2017; Ogata *et al.*, *Front. Neuroanat.* 2022)。また、計画班代表者らの先行研究により、一つのドーパミン神経細胞は計算上、約 75,000 個の線条体神経細胞上に投射していることがわかっている (Matsuda *et al.*, *J. Neurosci.* 2009)。このドーパミン神経細胞は共発現する遺伝子の違いなどにより、複数のサブセットに分類されることが知られているが、どのタイプのドーパミン神経細胞が、どのような投射様式を示し、投射先の線条体のどのタイプの神経細胞にドーパミンを受け渡すのかは全くわかっていない。ではなぜドーパミン神経細胞が投射する相手を見抜くことが必要なのだろうか？ 例えばパーキンソン病の原因は黒質緻密部のドーパミン神経細胞の変性脱落であり、その症状を規定しているのは「本来ドーパミンを受け取るはずの線条体のどの神経細胞が、ドーパミンを受け取れないことによってどのような神経回路の変調をきたしているか」である。つまり、動物の行動や学習への影響を調べるためには「ドーパミン神経細胞の投射相手」を知り、どのようなシナプス様式でドーパミンを受け渡しているのかを知る必要がある。この目的のために、計画班代表者がプレ側のドーパミン神経投射軸索と、ドーパミンを受け取っていることを担保したポスト側の線条体神経細胞の両方を可視化し、分担者の大野教授の三次元電子顕微鏡解析を含む超解像度形態解析技術によるシナプス解析に繋げることが、領域設定期間内の本計画班の目的である。

まず計画班代表者の藤山およびB01 磯村班の分担者の苅部冬紀らはこの目的のために、本領域採択後、ドーパミン神経細胞の順行性経シナプス標識に取り組んできた。2020年に1型アデノ随伴ウイルスベクター (AAV1) が順行性かつ経シナプスに運ばれることが報告された (Zingg *et al.*, *J. Neurosci.* 2020)。しかしこの手法はグルタミン酸やGABAを介した神経回路でのみ応用可能で、ドーパミンなど神経伝達を修飾するタイプの神経伝達物質に対する応用は難しいとされていた。しかし計画班代表者らはドーパミンを介した順行性経シナプス標識に私たちは世界で初めて成功し、論文報告した (Karube *et al.*, *Front. Neuroanat.* 2024)。この成功により、プレ側のドーパミン神経投射軸索と、ポスト側の線条体神経細胞の両方を可視化することが可能になった。一方、研究分担者の大野らはこれらの軸索と神経細胞を電子顕微鏡解析において可視化・同定できる細胞標識技術と、得られる超微形態データの解析技術の開発に取り組んだ。特に有用な細胞標識技術として、細胞小器官局在型ペルオキシダーゼを用いた標識手法が挙げられ、こうした蛋白を発現した細胞をジアミノベンジジン (DAB) と過酸化水素で処理することで、高電子密度のDAB-オスミウム複合体を沈着させ、電子顕微鏡画像中で同定できる。そして、この可視化した軸索や細胞は、ATUMtomeなどによる連続切片の取得と観察、あるいはSBF-SEMのような連続電顕画像取得法により、その微細構造を3次的に解析することが可能である。実際、シナプス小胞局在型の西洋ワサビペルオキシダーゼやミトコンドリア局在型の人工ペルオキシダーゼ (dAPEX2) を、特定のプロモーター下で発現するCreによって発現誘導することに成功した。そして、標識された特定の神経細胞の形態解析技術を開発する中で、脊髄中心管周辺に存在する神経細胞が形成する運動制御に関わる神経回路をモデルとして光学顕微鏡観察と組み合わせることで、シナプスを介した同種の細胞間、あるいは異種の神経細胞との間で形成される神経回路の結合様式を明らかにした (図) (Nakamura *et al.*, *eLife* 2023)。また、こうした標識技術による形態解析によって、暗所飼育などの環境に応じて起こる神経回路の形態変化を捉えられることを示すデータも得られつつある (Osanai *et al.*, in preparation)。さらに、計画班代表者が既に確立している標識技術を用いた微細形態解析を可能とするような、光学顕微鏡観察と電子顕微鏡観察をシームレスに行う光電子相関顕微鏡法 (CLEM) や、細胞に発現するマーカーを標的とした免疫電顕を組み合わせた3次元微細構造解析技術などの可視化技術の開発も行った (Battulga *et al.*, *bioRxiv* 2023)。一方で、得られた電子顕微鏡データの効率的な解析は多くの3次元微細構造解析においてボトルネックになっているが、深層学習による自動セグメンテーションによって、対象によっては顕

著な解析効率の向上が得られている。これらの研究の成果から、計画班代表者らの神経投射軸索およびポスト側の線条体神経細胞の両方の超微形態レベルでの可視化を実装する準備は整いつつある。



残りの領域設定期間においては、計画班代表者らの順行性経シナプス標識によるプレシナプス側・ポストシナプス側の同時可視化と、大野らの超微細レベルでのシナプス解析を実際に繋げる。また、最近のマウスを用いた研究では、黒質緻密部におけるドーパミン神経細胞のトポグラフィと遺伝子プロファイル、さらに入出力様式との関係が明らかにされつつある。ドーパミン神経細胞の遺伝子プロファイルによるサブクラスにおいて、研究代表者および分担者の大野教授が確立する「神経投射およびその投射相手の光学～電子顕微鏡レベルでのシームレスな解析」を応用すれば、ドーパミン神経細胞と線条体神経細胞との間の、遺伝子～シナプス～神経回路レベルの解析が可能になり、神経回路のより深い機能的理解につながると考えている。

## (2) 計画研究および公募研究と連携して得られた成果

計画班代表者の藤山らは B01:磯村班の分担者の苅部冬紀とドーパミン神経細胞の投射部位である線条体において、ドーパミン受容体のサブクラスが偏在している領域を見つけている (Ogata *et al.*, *Front. Neuroanat.* 2022)。この領域の空間的遺伝子発現に関しては A01:下郡班にて解析中である。さらにこの領域を免疫染色で観察すると、2型小胞性グルタミン酸トランスポーター (VGluT2) の免疫活性が他の線条体領域よりも高いことも発見した (Kadono *et al.*, *in preparation*)。さらに、この領域の周辺の線条体及び淡蒼球外節には、従来知られている GABA 作動性細胞とアセチルコリン作動性細胞以外の細胞群が存在することを免疫染色で見出した。この細胞群は、グルタミン酸作動性細胞であると考えられ、形態学的及び電気生理学的手法で現在解析中である。これらのグルタミン酸情報伝達に関わる神経回路をさらに詳細に解析し、神経回路 seq へ進めるため、B01:小林班の分担者の松下夏樹に VGluT2-Cre ラットを作成していただき、現在解析中である。

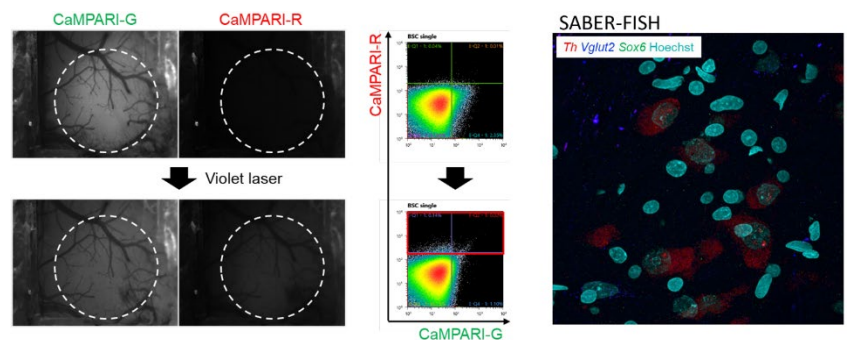
また、藤山班の研究協力者の宮崎憲一と C02:島崎班の分担者の田中琢真は単一スパインにおけるナトリウムイオンの濃度変化と膜電位変化について解析中である。

## B01: 磯村 宜和

### (1) 計画研究の進展状況

研究代表者の磯村らはげっ歯類（ラット・マウス）の行動を最適化するオペラント学習を担う大脳皮質と大脳基底核の適応回路ダイナミクスの仕組みを解明することを目指している。まずラットが前肢でのレバー操作により報酬の水滴を得るオペラント学習課題を遂行中に、大脳皮質や大脳基底核における神経細胞のスパイク活動を電気生理学的に計測した。大脳皮質（嗅内野）や海馬では、オペラント学習の完成に伴い、行動と結果（報酬）に関連するスパイク活動を示す神経細胞が増加し、それらの活動は海馬が嗅内野に先行することを報告した (Soma *et al.*, *Commun. Biol.* 2023)。過去数試行の行動（押す・引く）の選択とその結果（報酬・無報酬）から次の行動を意思決定するオペラント学習課題では、黒質緻密部 SNc のドーパミン細胞もその投射先である線条体の直接路および間接路の投射細胞も、内側系か外側系にかかわらず、次の報酬期待の程度に応じて行動関連活動が増強されることを見出した (Rios *et al.*, *Commun. Biol.* 2023)。これらの研究にはスパイク衝突試験による記録細胞の投射先同定の技術を活用した (Mitani *et al.*, *iScience* 2022)。

現在、学習過程の報酬シグナルを伝える大脳皮質の適応回路の性状を調べるために、二光子レーザー顕微鏡によるカルシウムイメージングとトランスクリプトーム解析を組み合わせる実験系の構築を試みている。すでに広視野二光子レーザー顕微鏡 Diesel2p が本格的に稼働しており、大脳皮質広域の神経細胞の報酬関連活動を計測している

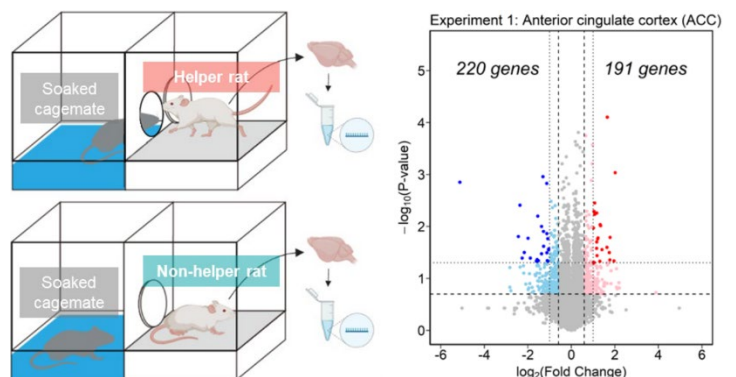


CaMPARI 緑-赤蛍光(左)とSABER-FISH(右)

(研究協力者：平理一郎准教授)。神経細胞には  $\text{Ca}^{2+}/\text{UV}$  依存性の蛍光カルシウムプローブ CaMPARI2 を発現させておき、報酬関連活動を示して細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度が上昇した瞬間に紫外線を照射して緑色蛍光を赤色化する実験デザインで取り組んでいる。多少の技術的困難があったものの、すでに赤色蛍光でラベルされた大脳皮質の神経細胞の分画をセルソーターで確認することに成功しており、今後は郷班（二階堂研究室）と連携して scRNA-seq 解析に持ち込む計画である。また脳組織切片上で各種の遺伝子発現の空間分布を確認するために最新の SABER-FISH 法を導入し終えた。

当初の研究計画にはなかったが、ラットの腹側被蓋野 VTA の内側-外側に分布するドーパミン細胞サブタイプの報酬応答性の違い (Yoshizawa *et al.*, *bioRxiv* 2023) を、サブタイプ特異的遺伝子 (*Sox6*, *Aldh1a1* など) と最初期遺伝子 (*Fos*, *Arc* など) の発現に注目した scRNA-seq 解析により調べる研究も新規に開始した。

研究分担者の佐藤(暢)らは、心理学分野で注目を集めている、社会関係が報酬（正の強化子）というオペラント学習に関与する適応回路を探っている。げっ歯類は餌や水の報酬がなくても、同種他個体の苦痛を取り除くために一種の向社会的行動をとることが報告されてきた。ラットが水浸しになっている同種他個体を助ける行動（援助行動）を学習できるが、同様の訓練を実施しても援助行動を示さない個体も見出される。そこで援助行動を学習したラットと学習しなかつ

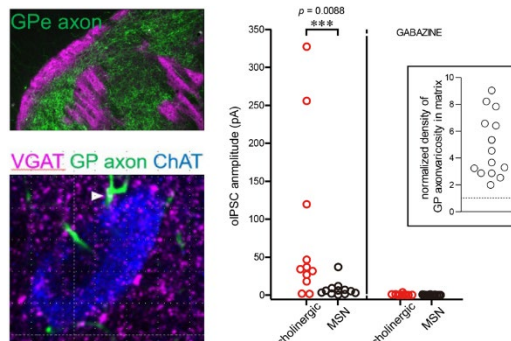


援助行動の実験場面とその学習に関わる遺伝子の候補

かったラットのトランスクリプトーム特性を、bulk RNA-seq 解析による差次的遺伝子発現の解析によって比較した (堀江班との共同研究)。雄の成体 SD ラットに、装置内の仕切りのドアを開放することによって水に浸かった同系統・同週齢・ペア飼育の他個体を水場から安全なエリアに解放する援助行動課題を学習させた (1日1試行)。2試行連続で 90 秒以内にドアを開ける学習基準に達した個体をヘルパー群とし、向社会的行動に関連すると想定される前帯状皮質、側坐核、扁桃核から脳組織を採取した。ヘルパー

群と同じ試行回数でも基準を満たさなかったラット（非ヘルパー群）の脳組織を対照として採取した。これらの試料の bulk RNA-seq 解析を堀江班に依頼し、その結果から有意に発現差を示す候補遺伝子をスクリーニングした。さらに、学習途上（数試行）のラットから得た試料の解析結果とも比較し、援助行動の学習に関する共通候補遺伝子を各脳部位に見出した。現在、q-PCR による定量的な各遺伝子発現の確認を進めている段階である。また、並行して、ラットを対象とした、到達把持運動の遂行途中で得られる触刺激に応じて異なった運動を求める学習課題を開発した（Yoshinaga & Sato, *Behav. Brain Res.* 2024）。

研究分担者の苅部らは、スライス・パッチクランプ法による電気生理学および形態学的解析により、げっ歯類の大脳皮質-大脳基底核-視床の構成回路の詳細な解明に藤山班と共同で取り組んでいる。まず淡蒼球外節(GPe)から線条体への投射回路に関しては、GPe の2種類の GABA 細胞サブタイプはともに線条体へフィードバック投射し、運動・感覚に関連する線条体マトリックス領域への GPe 軸索終末の密度は、高次脳機能に関連する線条体ストリオソーム領域よりも約5倍の高密度で分布していた。GPe 軸索終末は、線条体の中型有棘細胞 MSN と介在細胞の両方をシナプス標的とするが、特にアセチルコリン作動性の介在細胞 (ACh 細胞) は MSN よりも高い頻度かつ大きな抑制性入力を受けており、GPe 由来の GABA 入力シナプスは ACh 細胞の細胞体と近位樹状突起に多く分布することを観察した。



GPeから線条体へのシナプス

一連の所見は、淡蒼球外節-線条体路が線条体の ACh 細胞を介してドーパミン放出を調節する可能性を示唆している。また視床から線条体への興奮性入力に対して淡蒼球外節-線条体路が時間差をもったフィードフォワード抑制をもたらす可能性も浮かび上がる。実際、軸索トレーサーと光遺伝学的手法により、視床の腹側核が淡蒼球外節に興奮性シナプスを形成することを確認している。現在、これらの神経細胞をウイルスベクターで蛍光標識し、scRNA-seq や空間トランスクリプトーム解析するために実験条件の検討を進めている。

## (2) 計画研究および公募研究と連携して得られた成果

磯村らは、計画班の A01:堀江 健生、A01:藤山 文乃、B01:小林 和人、C02:島崎 秀昭、公募班の B01:野々村 聡らと共同研究を行ってきた。

**A01:堀江 健生** ラットの脳皮質や大脳基底核の組織を単一細胞または単一核に分離し、セルソーターで分画・解析する技術の指導を受けた（磯村ら）。今後、細胞分画後の RNA-seq 解析を依頼する予定である。また、ラットの援助行動学習課題前後の RNA-seq 解析を依頼した。今後は、q-PCR による定量解析を進めていく予定である（佐藤ら）。

**A01:藤山 文乃** 経シナプス性標識により線条体介在細胞のドーパミン入力を明らかにした（苅部: Karube *et al.*, *Front. Neuroanat.* 2024）。

**B01:小林 和人** ラットの神経細胞に特異的プロモータまたは Cre 依存的に蛍光タンパクや光活性化オプシンを発現する各種 AAV ベクターの供与を継続的に受けている（磯村ら）。

**C01:郷 康広** 郷班の二階堂研究室よりごく少数の神経細胞に発現する遺伝子を高感度で検出できる Quartz-Seq2 技術の情報提供と助言を受け、本格的な実験サンプルの調整後に実際の解析を依頼する計画である（磯村ら）。

**C02:島崎 秀昭** ラットの脳皮質スパイクデータの理論的解析を試みている（磯村ら）。

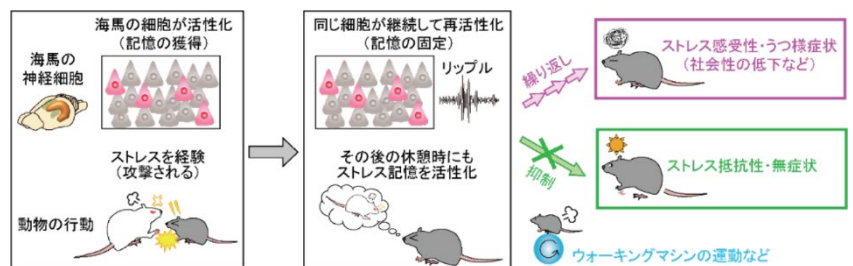
**B01:野々村 聡** ラットの脳基底核回路の行動-報酬活動に関する共同研究を実施し、報酬期待による黒質ドーパミン細胞および線条体の直接路・間接路細胞の行動関連活動の増強作用を報告した（磯村ら: Rios *et al.*, *Commun. Biol.* 2023）。

## B01: 佐々木 拓哉

### (1) 計画研究の進展状況

研究代表者の佐々木らは動物の適応行動に必要な記憶遷移（獲得・固定化・安定化と記憶の状態が変化すること）を担う神経活動について、遺伝子発現と生理特性を結びつけて解析し、記憶各フェーズに重要な神経機構を分子から行動まで因果的に繋ぐ研究を目指した。

記憶の強さはすべての動物で同じではなく、様々な個体差が存在する。このような記憶の個体差を説明する要因として特に重要なのは、記憶の固定化という過程である。これは動物が何らかの出来事を経験した後、休憩時や睡眠時などに、その経験に関する記憶をさらに強くするために長時間にわたって起こる神経メカニズムである。このようなメカニズムの個体差が、記憶形成の後の情動応答など動物の行動にも強く影響する可能性が考えられる。本仮説を調べるために、マウスに他の個体から攻撃されるような社会的敗北ストレスを負荷して、ストレスに関する記憶が海馬においてどのように固定化されるか、その後にマウスはどのような適応行動を示すか詳細に調べた。まずは、記憶に重要な脳領域である海馬の遺伝子発現プロファイルを詳しく調べたところ、カルビンジン遺伝子を強く発現していたマウスは、社会的敗北ストレスを負荷されると、うつ様症状（感受性）を呈しやすかった。そこで、カルビンジン遺伝子を欠損させたマウスを作製したところ、このようなマウスはストレスに対して抵抗性を示すことが分かった。さらに詳細な神経活動を調べるために、こうしたマウスの海馬に金属電極を埋め込み、神経細胞の集合電位を計測したところ、ストレス感受性が高いマウスは、ストレス負荷後に、海馬にて記憶形成に重要な働きを担う「リップル波」が多く観察された。リップル波は、多くの神経細胞が同時に活動する際に生じる脳波であり、神経細胞が経験した記憶の固定化に重要であることが知られている。この結果と一致して、カルビンジン遺伝子を欠損させたマウスや、ストレス抵抗性が高いマウスでは、そのようなリップル波の変化は観察されなかった。さらに、リップル波を直接かつ即時的に消失させる実験技術を用いて、ストレスを負荷したマウスにおいて、腹側海馬のリップル波を選択的に消去したところ、その後のうつ様症状の発症が抑制された。最後に、このような人為的な脳波の操作ではなく、より自然環境での効果を試みて、マウスを強制的にウォーキングマシンに乗せて運動させたところ、海馬のリップル波はほとんど観察されなくなり、その後のうつ様症状の発症も抑制された。以上の結果より、ストレス記憶を固定化するような海馬のリップル波が生じると、その後のストレス感受性が高くなる可能性が示唆された。本研究は、脳の遺伝子発現の解析から始まり、同定された候補遺伝子に基づいて、ストレス記憶に関わる適応回路メカニズムを明らかにした結果であり、本領域が目指す「遺伝子発現と神経活動の研究分野の融合」の一例となる研究成果である（Kuga *et al.*, *Nat. Commun.* 2023）。



近年では、こうしたリップル波は、休憩時や睡眠時だけでなく、記憶形成時の覚醒中にも生じることが知られているが、その意義は完全には解明されていない。そこで本研究では、「覚醒時のリップル波」に含まれる神経細胞の同期活動パターンと、経験が終わった後の記憶固定化に関わる「睡眠時リップル波」のパターンを比較した。その結果、両者は高い類似性を有していることがわかり、この結果から、「覚醒時の神経同期活動」が、後の記憶の固定化にも影響を及ぼすことを示した。従来、海馬の記憶研究では、記憶の形成と固定というプロセスは独立の時期に独立の神経メカニズムとして起こると考えられてきたが、本研究は、この定説の再考を促す新しい概念となる（Yagi *et al.*, *Cell Rep.* 2023）。

その他、動物の適応機能が脳回路に加えて、様々な末梢臓器の活動にどのような影響を受けているか考察した。これまでに、末梢臓器と脳をつなぐ迷走神経の活動が、前頭前皮質や扁桃体の脳波パターンと連動することを見出し、この連動がストレスの負荷によって減弱すること、迷走神経刺激により回復することを示した。脳による外界ストレスに対する適応的な機能に、末梢臓器信号がいかに関与するか考察した新しい知見である（Okonogi *et al.*, *Nat. Commun.* 2024）。

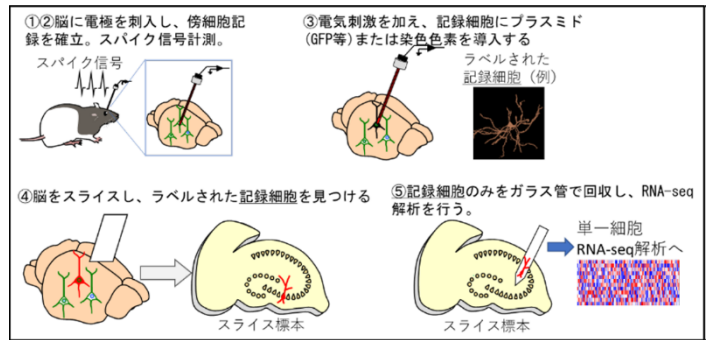
研究分担者の船水らは、経験に基づいて適応行動を学習する脳の神経基盤の解明を、強化学習といった制御理論、マウスの行動実験、神経活動計測、遺伝子発現やエピゲノム計測の統合で目指した。

行動の最適化に向けて、神経細胞群は、経験や感覚情報を表現するだけでなく、他の脳領域や神経細胞に情報を伝達する必要がある。神経細胞群における情報表現と伝達の違いを、知覚意思課題時のマウスの聴覚野の神経細胞群の活動で検証した。行動課題でマウスは、音刺激の周波数の高・低に応じて、左・右のスパウトを選択し、報酬の水を得た。この時、左右スパウトの報酬量や、音周波数の提示頻度をバイアスさせた。マウスは、音の周波数だけでなく、報酬や音提示頻度のバイアスに応じて、行動選択を適切にバイアスさせた。聴覚野の神経活動を二光子顕微鏡で計測した結果、神経細胞は、音刺激だけでなく、報酬や音提示頻度のバイアスも表現した。一方、聴覚野は、同バイアスに依存せずに、音刺激を正確に伝達した。これらは、神経細胞群の情報表現と伝達は異なることを示唆する (Funamizu *et al.*, *Curr. Biol.* 2023)。

上記の通り、適応行動の最適化には、感覚刺激だけでなく、報酬といった事前知識も重要である。事前知識、感覚刺激、これらの統合である行動といったベイズ推定の各要素が、大脳皮質の各領域でどのように表現されるかを検証した。2種類の音長を持つ音周波数弁別課題時に、Neuropixels1.0 電極で、大脳皮質の前頭葉、運動野、聴覚野の神経細胞群の活動を電気生理学的に計測した。その結果、感覚刺激や行動が皮質で局所的に表現される一方で、報酬予測は皮質で大域的に表現された。この結果は、大脳皮質によるベイズ推定の局所・大域表現を示唆する (Ishizu *et al.*, *Nat. Commun.* 2024)。

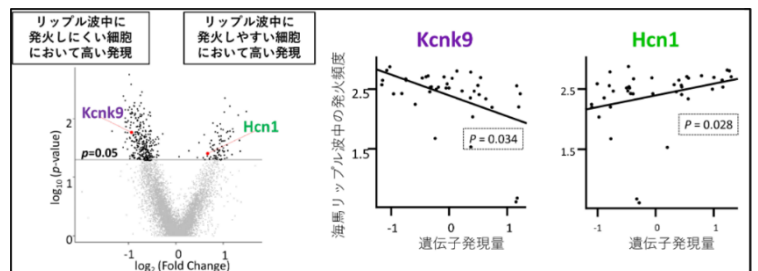
## (2) 計画研究および公募研究と連携して得られた成果

C01: 郷 康広 詳細な生理学および分子生物学的な理解を進めるためには、このような記憶を司る神経細胞の活動が、どのような遺伝子発現プロファイルによって規定されるか調べる必要がある。この問いには既に多くの神経科学的知見があるような印象をもつが、実際に「単一細胞レベルの解像度」をもって、各階層の細胞特性を正確に繋いだ研究はほとんど存在していない。そこで、最先端の生理計測技術とトランスクリプトーム技術を融合して、神経細胞1つ1つの遺伝子発現・形態・生理特性を網羅的に調べる実験技法の確立を試みた。具体的な手順は以下の通りである。



①動物の脳にガラス電極を刺入し、先端を1つの神経細胞に近接させて、スパイク信号を得る(傍細胞記録)。②この細胞から *in vivo* 電気生理計測を行う。③計測後に電極から電気刺激を流して、電極内に充填した色素やプラスミドを導入し、記録細胞をラベルする。④脳をスライスし、ラベルされた記録細胞の細胞形態を記録する。⑤従来のパッチクランプ記録法と同じ要領で、ガラスピペットを用いて、標的細胞を顕微鏡下で回収し、単一細胞 RNA-seq 解析を行う。これまでに本技術はすべて計画通りに確立することができた。特にこのような単一細胞サンプルの遺伝子発現情報を詳細に調べるために、郷班の分担研究者の二階堂らが開発した Quartz-Seq2 法を用いた1細胞遺伝子発現解析を実施した。その結果、海馬錐体ニューロンにおける一部の遺伝子の発現レベルが、*in vivo* 電気生理学的記録によって計測された個々のニューロンのスパイクバースト性、スパイク立ち上がり時間、またはスパイク速度と有意に相関していることを発見した (Yagishita *et al.*, *Front. Neurosci.* 2024)。

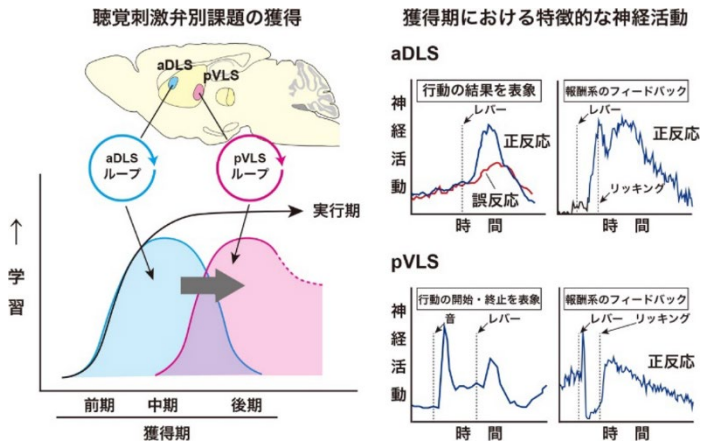
さらに解析を進めて、上述の記憶形成にかかわる海馬リプル波が発生した際の神経発火レベル(神経同期発火への参加のしやすさ)と照合を進めた。これまでの相関解析から、海馬リプル波中に高い発火活動を示したニューロンでは、特に HCN チャンネルをコードする遺伝子 *Hcn1* の発現量が高く、逆に海馬リプル波中に低い活動を示したニューロンでは、特に KCNK チャンネルをコードする遺伝子 *Kcnk9* の発現量が高いことがわかった。これらの結果は、神経活動の最小単位であるイオンチャンネルの発現量の違いが、このようなニューロンの発火パターンの多様性を規定している可能性を示唆する。本知見は、海馬の記憶メカニズムであるリプル波に関与しやすいニューロンとそうでないニューロンの違いについて、単一細胞レベルの遺伝子発現パターンの差を記述した初めての研究例である。



## B01: 小林 和人

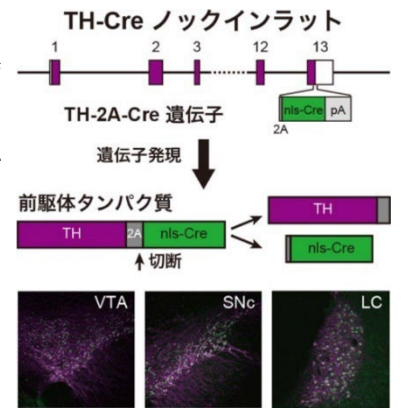
### (1) 計画研究の進展状況

研究代表者の小林らは、環境変化に応答した行動変容として2種類の聴覚刺激に対応して左右のレバーを押し分ける聴覚弁別課題を用いて、動物が学習を獲得する際に働く脳内の細胞動態、とくに線条体を中心とする皮質、視床、腹側中脳を連関する大脳基底核ネットワークの動態を解析するとともに、この獲得過程に重要な役割を果たす線条体領域において発現変動する遺伝子群を探索し、学習の基盤となる遺伝子機能を解析することに取り組んだ。ネットワークの動態については、学習の中期に前部背外側線条体 (aDLS) の活動が増加し、その後期に後部腹外側線条体 (pVLS) の活動が亢進すること、これらの線条体垂領域は学習の獲得に必須の役割を持ち、さらに行動の結果や報酬などに関連する特徴的な神経活動を示すことを明らかにした (Setogawa *et al.*, *eLife* reviewed preprint)。現在、これらの垂領域の活動がどのような経路を介して制御されるのか、どのような経路を介して学習獲得に結び付くのかについてネットワーク動態の解析を進めている。このような解析のために、ウイルスベクターの応用を進めるとともに (Kato *et al.*, *Front. Syst. Neurosci.* 2021; Kobayashi *et al.*, *Neuromethods* 2022)、プロドラッグの末梢投与によって脳内の特定細胞種の活動を促進するイオン透過型受容体化学遺伝学の技術を開発した (Iguchi *et al.*, *Commun. Biol.* 2024)。また、遺伝子発現動態については、郷班と連携し、single-cell RNAseq 法を用いて異なる学習段階で、線条体垂領域から RNA を抽出し、RNAseq 法を用いて遺伝子の発現プロファイル解析を行った。細胞種ごとに学習の異なる段階で特徴的な発現変化を示す遺伝子群の探索を進める。



研究分担者の松下らは、上記の学習獲得の基盤となる遺伝子・細胞機能動態を解析するための遺伝子改変技術の開発に取り組んだ。大脳基底核ネットワークを構成する細胞群において選択的に Cre 組換え酵素を発現する遺伝子改変ラットの作製を試みており、これまでに中脳ドーパミン細胞で Cre を発現する TH-Cre ノックインラット系統を樹立した (Matsushita *et al.*, *J. Neurosci. Methods* 2022)。AAV ベクターにおける FLEX システムを用いた細胞種特異的組換え反応は、非特異的な遺伝子発現が誘導されることが知られており、この発現を抑制し、高精度な発現を実現するために、組換え反応の認識配列の片側にスペーサー配列 (unilateral spacer sequence: USS) を挿入した FLEX/USS システムを開発した (Matsushita *et al.*, *Cell Rep. Methods* 2023; *STAR Protocols* 2023)。TH-Cre ラットはすでに磯村班と共同研究を行っており、今後さらに多くの細胞種特異的な Cre 発現ラットの作製を進める。また、これらの技術を用いて他の計画班や公募班との連携を深める。

研究分担者の松下らは、上記の学習獲得の基盤となる遺伝子・細胞機能動態を解析するための遺伝子改変技術の開発に取り組んだ。大脳基底核ネットワークを構成する細胞群において選択的に Cre 組換え酵素を発現する遺伝子改変ラットの作製を試みており、これまでに中脳ドーパミン細胞で Cre を発現する TH-Cre ノックインラット系統を樹立した (Matsushita *et al.*, *J. Neurosci. Methods* 2022)。AAV ベクターにおける FLEX システムを用いた細胞種特異的組換え反応は、非特異的な遺伝子発現が誘導されることが知られており、この発現を抑制し、高精度な発現を実現するために、組換え反応の認識配列の片側にスペーサー配列 (unilateral spacer sequence: USS) を挿入した FLEX/USS システムを開発した (Matsushita *et al.*, *Cell Rep. Methods* 2023; *STAR Protocols* 2023)。TH-Cre ラットはすでに磯村班と共同研究を行っており、今後さらに多くの細胞種特異的な Cre 発現ラットの作製を進める。また、これらの技術を用いて他の計画班や公募班との連携を深める。



### (2) 計画研究および公募研究と連携して得られた成果

小林らは、計画班の A01:藤山 文乃、B01:磯村 宜和、C01:郷 康広、公募班の A01:揚妻 正和、B01:野々村 聡、B01:喜田 聡、B01:武内 恒成らと共同研究を行ってきた。

**A01:藤山 文乃** 尾側線条体および尾側淡蒼球外節は GABA 作動性抑制性細胞および少数のコリン作動性細胞から構成される。藤山班は、免疫組織染色および in situ hybridization により、この領域に新規な細胞集団が存在することを見いだした。この細胞集団をさらに詳細に解析するため、分担研究者の松下らが開発した VGluT2-Cre ノックインラットを提供した。現在、この遺伝子改変ラットを用いて、神経回路の形態的・電気生理学的解析を進めており、一細胞レベルの神経回路 seq を行う予定である。

**B01:磯村 宜和** 報酬に依存する行動選択課題において、中脳ドーパミンニューロンと線条体直接路・間接路ニューロンの活動の関係性を明らかにするために、それぞれの細胞種の神経活動の同時記録を行った。これらのニューロンを光遺伝学的に同定するために、Cre 遺伝子を選択的に発現する TH-Cre、Tac1-



Cre、Drd2-Cre 遺伝子改変ラット系統を提供した。前述のように、分担研究者の松下らが TH-Cre ノックインラット系統を開発した。In vivo 電位生理記録により、報酬予測は中脳ドーパミンニューロンおよび2種類の線条体投射ニューロンの行動と関連する活動を増強することを明らかにした (Rios *et al.*, *Commun. Biol.* 2023)。

**C01:郷 康広** 聴覚刺激に基づく弁別学習を獲得する際に、学習中期には前部背外側線条体が、後期には後部腹側線条体の活動が亢進し、学習の進行のために両者の回路が時間空間的に統合される可能性が示唆される。聴覚弁別学習を獲得する過程で時期・領域特異的に発現変動する遺伝子を同定するために、ラットの異なる学習段階で、線条体亜領域を切り出し、RNA-seq 法を用いて遺伝子発現解析を行ない、複数の候補遺伝子を見出した。さらに、1細胞核 RNA-seq 法を実施し、データを解析中である。

**A01:揚妻 正和** 恐怖記憶を司る脳神経基盤に着目し、網羅的分子プロファイル解析を通じた責任因子の同定を行なっている。恐怖条件付けにより形成された恐怖記憶の想起に伴う再固定化と消去学習の分子機構を調べるための1細胞核 RNA-seq 解析を進め、恐怖情動記憶の背景にある因子の同定を推進する。1細胞核 RNA-seq 解析を行うための脳領域の切除技術の支援を行った。

**B01:野々村 聡** 神経回路の発達や環境への適応がどのような神経細胞タイプと分子実態によって形成されるかを明らかにするために、前頭前野原皮質—線条体系の細胞機能解析を行っている。線条体の直接路細胞に Cre 遺伝子を発現する遺伝子改変ラット Tac1-Cre 系統と間接路細胞に Cre 遺伝子を発現する Drd2-Cre 系統あるいは分担研究者の松下らが開発した A2AR-Cre ノックインラット系統を提供し、これらを応用した神経回路 seq の解析を行っている。

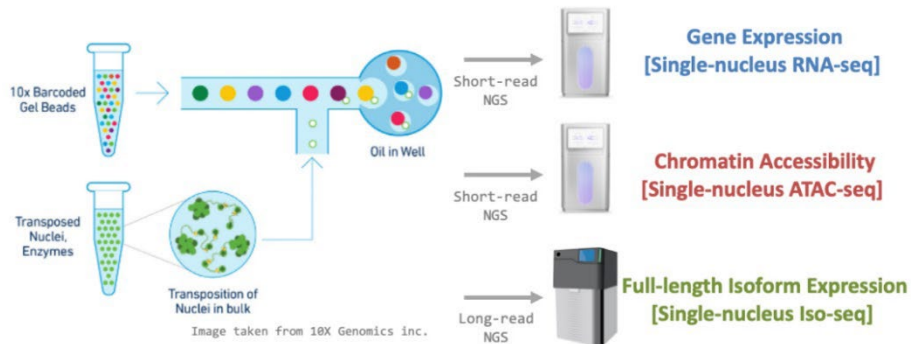
**B01:喜田 聡** 恐怖記憶エンGRAM回路を解析するために、Cre-recombinase (Cre) を発現する逆行性ウイルスシステムを提供した。この逆光性ウイルスを扁桃体に導入し、一方、前頭前野に c-fos-tag システムにより Cre 依存的に ArchT を発現させるウイルスを導入して行動レベルで投射経路の役割を解析した結果、前頭前野の恐怖記憶エンGRAMニューロンから扁桃体ニューロンに向けて恐怖記憶を制御する機能的な投射経路の存在が示された。

**B01:武内 恒成** 新規人工シナプスコネクターを用いた脊髄損傷後の軸索再生の研究にあたって、小林らによって開発されたウイルスベクターを用いて再生された軸索を標識同定するための共同研究を進めている。また、神経回路においてウイルスベクターの神経細胞軸索における感染経路を同定する共同研究を行っている。

## C01: 郷 康広

### (1) 計画研究の進展状況

研究代表者の郷らは多様な細胞種から構成される脳を対象とし、同一細胞から複数の分子情報を取得すべく技術開発を行った。脳は、空間的（脳領域）にも時間的（発達・加齢）にもダイナミックに細胞の種類や構成が変化する。研究の再現性を担保するために必要なサンプル数（生物学的反復実験数）の向上が実験コストの観点からハードルが高いため、一度の実験に用いるサンプルから、可能な限り複数の異なる分子情報を取得し、多面的に解析・理解することが望ましい。そのために、10X Genomics 社 Chromium を用いて同一細胞核から遺伝子発現情報（Single-nucleus RNA-seq）とクロマチン・アクセシビリティ情報（Single-nucleus ATAC-seq）を取得するシステムを確立した。加えて、ロングリード型 NGS を用いた完全長 RNA 配列情報も同一細胞核から取得する技術開発も行なった（下図）。完全長転写産物情報の取得とスプライシングバリエーション解析は、発達、細胞タイプ、疾患感受性、種間差など様々な細胞の状態を規定する重要な情報を含むため、それらの情報を加味したマルチモーダルな解析を進め多面的に現象の理解を進めることが重要である。実際に、ヒトと類人猿の死後脳や疾患霊長類モデルを用いた解析に適用した。ヒトと類人猿の比較解析から、ヒト特異的エクソンを持つ遺伝子を約 600 個同定し、エピゲノム制御を含めた遺伝子制御ネットワークとそれが基盤となり生み出される「ヒトらしさ」の統合的な解析を進めている。



研究分担者の二階堂らは、一般的に困難とされる成体脳での 1 細胞 RNA シーケンスを実現するための技術開発を実施した。成体脳はアクソンのミエリン由来のデブリなどが多く含まれるため 1 細胞採取が困難であり、一般的には 1 細胞核を対象とした RNA シーケンスが用いられる。しかし 1 細胞核 RNA シーケンスは細胞を用いた手法と比較して、細胞質に含まれる RNA を検出できないため、検出される遺伝子が相対的に少なくなる。そこで、パッチクランプのような電気生理実験で用いられる手法を Quartz-Seq2 法に応用し、成体脳から健康な 1 細胞を採取することで、1 細胞 RNA シーケンスを行う手法を開発した (Shima *et al.*, *Cell Rep.* 2023)。マウス精神疾患モデルの視床室傍核 (PVT) ニューロンから平均 8,700 遺伝子の検出でき、既報の手法の 4 倍程度の遺伝子検出率 (Zeisel *et al.*, *Cell* 2018) を示すことが明らかになった。この手法で得られた PVT ニューロンの遺伝子発現パターンから 5 つの細胞種に分類できることが明らかになった。それぞれの細胞型の投射パターンを解析したところ、別々の脳領域に投射しており、そのうちのひとつは食欲関連神経ペプチドと強い関連があることが明らかになった。このように成体脳から高感度の遺伝子発現と取得し神経投射の解析と統合することで、神経回路と細胞型の関連を明らかにできることを示せた。今後はこの技術を用いて計画班や公募班と連携を進める。



### (2) 計画研究および公募研究と連携して得られた成果

郷らは、計画班の B01:佐々木 拓哉、B01:小林 和人、公募班の A01:揚妻 正和、A01:竹内 秀明、B01:杉山 (矢崎) 陽子、B01:野々村 聡、C01:安部 健太郎らと共同研究を行ってきた。

**B01:佐々木 拓哉** 海馬の鋭波リップルは記憶の定着に重要であり、多数の海馬ニューロンが同期発火することが知られているが、同期パターンには多様性があり、遺伝子発現や解剖学的投射パターンに起因すると考えられているが分子実態は不明である。この問題を解析するために、*in vivo* 並列細胞記録、細胞

標識、1細胞遺伝子発現解析を組み合わせることで、同一ニューロンの発火特性と遺伝子発現プロファイルを同定する実験手法を開発した。神経活動記録、蛍光色素による細胞標識、顕微鏡下でガラスピペットを用いた標識神経細胞の採取後、分担研究者の二階堂らが開発した Quartz-Seq2 法を用いた 1細胞遺伝子発現解析を実施した。その結果、海馬錐体ニューロンにおける一部の遺伝子の発現レベルが、*in vivo* 電気生理学的記録によって直接測定されたスパイクバースト性、スパイク立ち上がり時間、またはスパイク速度と有意に相関していることを示し論文として発表した (Yagishita *et al.*, *Front. Neurosci.* 2024)。

**B01: 小林 和人** 聴覚刺激に基づく弁別学習を獲得する際に、学習中期には背外側線条体が、後期には腹側線条体の活動が亢進し、学習の進行のために両者の回路が時間空間的に統合される可能性が示唆される。聴覚弁別学習を獲得する過程で時期・領域特異的に発現変動する遺伝子を同定するために、ラットの異なる学習段階で、背外側および腹側線条体を切り出し、RNA-seq 法を用いて遺伝子発現解析を行ない、複数の候補遺伝子を見出した。さらに、1細胞核 RNA-seq 法を実施しデータ解析中である。

**A01: 揚妻 正和** 恐怖記憶を司る脳神経基盤に着目し、網羅的分子プロファイル解析を通じた責任因子の同定を行なっている。恐怖条件付けにより形成された恐怖記憶の想起に伴う再固定化と消去学習の分子機構を調べるための 1細胞核 RNA-seq 解析を進め、恐怖情動記憶の背景にある因子の同定を推進する。

**A01: 竹内 秀明** 配偶戦略の性差を生み出す分子神経基盤解明のためメダカ脳におけるオキシトシンシステムの標的ニューロンの 1細胞遺伝子発現解析を実施した。特に、生物学的反復実験数の向上と実験コスト低減を目的とした複数サンプル混合と変異情報を利用した情報学的個体分離手法を適用し、統計的検出力の向上を図った。

**B01: 杉山 (矢崎) 陽子** 親の歌を学習するキンカチョウをモデルとして「歌記憶責任回路」を構成する神経細胞群と、その投射先の領域の神経細胞群を 1細胞核 RNA-seq により遺伝子発現プロファイリングを実施した。

**B01: 野々村 聡** 神経回路の発達や環境への適応がどのような神経細胞タイプと分子実態によって形成されるかを明らかにするために、低毒性狂犬病ウイルスを用いた回路と遺伝子発現を同時に見る神経回路 seq 系を構築している。

**C01: 安部 健太郎** 脳機能変容に関わる神経回路を定量的転写因子活性プロファイルと 1細胞トランスクリプトーム情報を統合的に解析する実験手法の開発を行ない、慢性ストレス状態のマウスに対して適応した結果をプレプリントとして公開した (Yamamoto *et al.*, *bioRxiv* 2023)。

二階堂らは、公募班の A01:八木 健、A01:中川 直樹らと共同研究を行なってきた。

**A01:八木 健** 二階堂らが開発した 1細胞完全長トータル RNA シーケンス法 RamDA-seq (Hayashi *et al.*, *Nat. Commun.* 2018) は、どれだけ長い RNA でも 1細胞から検出できる RNA シーケンス手法である。また、この手法は細胞固定などで切断・分解された RNA であっても原理的に増幅可能である。この手法を用いて、公募班の八木班と連携し、プロトカドヘリンのアイソフォームと神経投射パターン、神経活動の関連を調べた。パッチクランプで神経活動を 1細胞レベルで計測した後、計測した細胞内 RNA を PCR チューブに回収し、RamDA-seq を実施した。RamDA-seq のデータよりアイソフォームの構造と発現量を定量化するデータ解析パイプラインを構築し、神経投射パターンとの関連を調べる手法を開発した。現在、投射パターンとアイソフォームに統計的な関連があるか解析中である。

**A01:中川 直樹** PFA 固定されたマウス成体脳からレーザーマイクロダイセクションで得られた検体を RamDA-seq により遺伝子発現解析する手法を開発した。まず脱クロスリンク操作やバッファの量の最適化を実施した。その結果、バッファの大きな改変なく RamDA-seq が実施できることが明らかになった。さらに脱クロスリンクの有無がデータの質に大きな影響を及ぼさないことも明らかになった。現在、脳切片のイメージングによる発火特性、樹状突起形態などの細胞表現型と遺伝子発現の関連を調べるために検体数を増やした実験を進めている。

## C02: 島崎 秀昭

### (1) 計画研究の進展状況

研究代表者の島崎らは、刻々と変化する環境に効率的かつ柔軟に適応する生物の適応能力の情報論的な機構を遺伝子・回路レベルで明らかにすることを目標とし、そのために必要な神経細胞集団の時系列解析技術と適応学習の理論を一貫した数理モデルで構築することを目指して研究を行った。この目標に向けて、物理学・機械学習・統計学で標準的に用いられるリカレントニューラルネットワークモデルを採用し、①神経細胞情報を取り込んだ神経ダイナミクスの解析手法の構築、②適応学習モデルの構築と理論的学習則の導出、③神経ダイナミクスの状態遷移の可視化、を領域設定期間内の目標とした。このうち中間評価実施時まで以下を実施した。

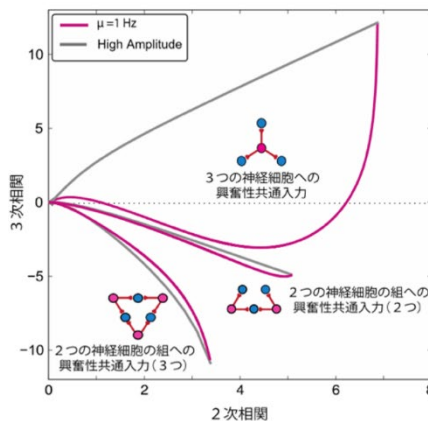
①について、高次相関を伴うリカレントニューラルネットワークを用いて、神経スパイク時系列データから回路構造・細胞種別を特定する手法の開発が完了し、論文が出版された (Shomali *et al.*, *Commun. Biol.* 2023)。②について、スパイク時系列を用いた外界への適応学習を行うために、スパイクパターンに対するスパース事前分布を理論的に定義することに成功し、これに基づく統計分布モデルを提案して学術誌に投稿した (Rodríguez-Domínguez, Shimazaki. *arXiv* 2308.13257, 2023)。現在、提案した事前分布に基づくベイズ生成モデルおよび学習則について研究を進めている。③について、多様な個性を持つ神経細胞からなるリカレントニューラルネットワークが生成する神経スパイク活動の時間的方向性 (エントロピー生成) について理論解析を行い、その厳密解を得た (Aguilera *et al.*, *Nat. Commun.* 2023)。これにより、神経細胞の特性の多様性と神経ダイナミクスの関係が理論的に明らかになった。現在、この知見に基づき、スパイク時系列データからエントロピー生成を推定する技術を構築中である (石原, 島崎. 信学技報, 123(90), 143-148, 2023)。

### (2) 計画研究および公募研究と連携して得られた成果

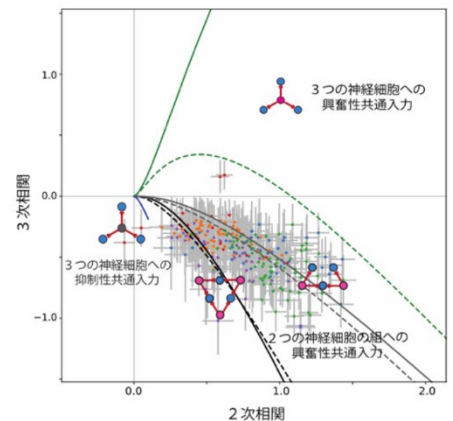
神経ネットワークは多様な神経細胞と回路構造からなる。適応回路センサスで明らかにされる細胞種・回路構造と神経細胞活動との関係を明らかにすることは、細胞種・回路構造に基づく計算論を構築する上で必要な技術となる。そこで、神経スパイク活動データの相関構造から背後の局所神経回路網の構造や構成神経細胞の細胞種別を特定する手法の研究・開発を行った (Shomali *et al.*, *Commun. Biol.* 2023)。この研究では、記録された神経細胞の活動データだけから、記録していない神経細胞からの入力構造やタイプ (興奮・抑制) が判別できることを示した。

本手法では3つの神経細胞に着目し、観測している3つの神経細胞への投射結合の方式 (共通入力がある3つの神経細胞に投射する構造・2つの神経細胞のペアごとに独立の共通入力がある構造)、結合のタイプ (興奮性・抑制性) の組み合わせのもとで、3つの神経細胞がどのような集団活動を示すのかを表す理論式

神経細胞活動の相関構造と回路構造の関係を表す地図



マウス第一次視覚野神経細胞の活動相関と回路構造の推定

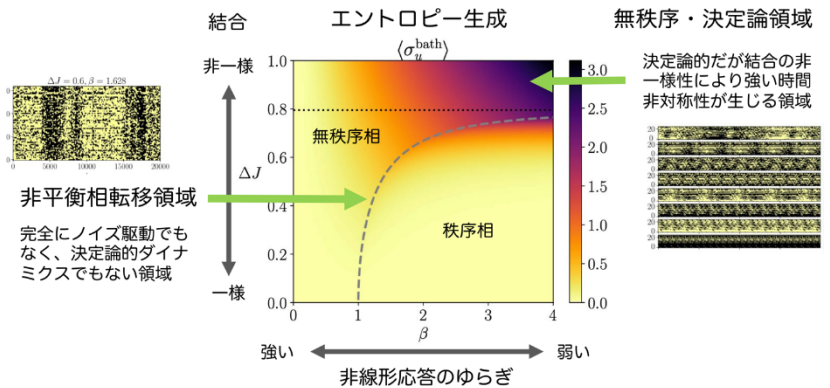


を求めた。3つの神経細胞の集団活動としては、2つの神経細胞間の同期的活動を記述する2次相関に加えて、3つの神経細胞の集団的振る舞いを記述する3次相関にも注目し、どの結合構造に基づく活動が、活動の相関構造を表す空間のどの部分を占めるかを調べた (上図左パネル)。それぞれの回路構造に対応する領域は、異なる共通入力の強さ・異なる個性 (発火頻度) を持つ神経細胞による活動をカバーしている。詳細な回路構造・結合様式と神経細胞集団活動の統計構造を一貫して記述した枠組みはこれまでになく、今回初めて両者を対比させる図を描くことができた。

さらに本手法をサル・マウスの視覚野の活動に適用することで、興奮性の局所的な共通入力が存在することを示した (マウスについて、図右パネル)。サルの第一次視覚野では、約 300 $\mu$ m 以内に位置する3

つの神経細胞は正の2次相関とともに、負の3次相関で特徴付けられるスパースな活動することが報告されていたが (Ohiorhenuan *et al.*, *Nature* 2010)、このような活動は抑制性細胞から共通入力を受けるのではなく、複数の興奮性の共通入力、それぞれ異なる2つの神経細胞のペアに入力する回路網によって実現されることを示した。この発見により、神経細胞集団のスパースな活動を生成するメカニズムとして、従来考えられていた抑制性細胞に基づくネットワーク構造を廃し、興奮性結合に基づくネットワーク構造を提案した。本論文は当該雑誌で注目論文としてトップページに掲載された。

次に、適応回路センサスで明らかにされる非一様な神経細胞から構成されるネットワークの挙動を明らかにするための理論研究を行った (Aguilera *et al.*, *Nat. Commun.* 2023)。本研究は非対称な結合を持つ非平衡リカレントニューラルネットワークを対象に行った。このモデルは結合強度の変更に伴い、全神経細胞が同時発火もしくは活動を休止する秩序相から、乱雑な発火をする無秩序相への秩序・無秩序相転移を示すことを確認した。このモデルに対し、神経活動の時間非対称性を表すエントロピー生成の厳密解を導出した。これにより神経活動の時間非対称性を正確に予測することが可能となった。その結果、神経活動の時間非対称性は、秩序-無秩序相転移点の近くでピークを示すものの、多様かつ強い結合を有するネットワークが示す準決定論的無秩序相においても顕著に上昇することが明らかとなった (下図)。神経活動のエントロピー生成は覚醒レベルと正の相関があることが知られているが (Lynn *et al.*, *PNAS* 2021)、今回の発見によりエントロピー生成の上昇には臨界状態もしくは無秩序準決定論領域への接近という2つのメカニズムがあることが明らかにされた。これら2つの状態は計算論的な位置づけが異なり、どちらの状態も脳活動として報告されている。準決定論領域では繰り返し現れる神経活動パターンを生成することができ、海馬等で見られる繰り返しパターンを用いた情報表現が可能である。一方、臨界状態では統計的に揺らぎを伴う時系列が生成されるが、大脳皮質の様々な部位で神経細胞の活動が臨界状態近傍にあることを支持する実験結果が多数報告され、その計算論上の利点が議論されている。今回の発見により、神経細胞の個性の多様性により、時間的方向性を持ち、かつ異なる計算論的意義を持つダイナミクスが生み出されることが明らかとなった。



本研究は、神経細胞集団活動の巨視的な状態を定量化する手法の構築に必要な理論となっている。並行して、神経スパイク時系列データから時事刻々、エントロピー生成およびその他の神経細胞集団活動の巨視的な状態を推定する技術を作成している (石原, 島崎. 信学技報, 123(90), 143-148, 2023)。

**A01: 藤山 文乃** シナプス入力による AMPA 受容体を介した  $\text{Na}^+$  の流入の動態は  $\text{Na}^+$  イメージングによって明らかになってきている。しかし、その樹状突起への拡散は、濃度のみ依存する拡散方程式ではなく電場にも依存する Nernst-Planck の式でシミュレーションを行う必要があり、十分明らかになっていない。Nernst-Planck の式の数値計算には分岐点で不整合が起こりやすいなどの問題があるため、これを緩和するモデルを作り、数値計算を行いつつ、実験を組み立てている。

**B01: 磯村 宜和** 神経スパイク時系列データ解析について、理論系博士課程学生 1 名を磯村班に 1 ヶ月間派遣し、共同研究を行った。このほかに、島崎班として公募班と以下の共同研究を行った。

**B01: 岡本 仁** 仮想空間上でのゼブラフィッシュを用いた過去の共同研究 (Torigoe *et al.*, *Nat. Commun.* 2021) に基づき、同実験装置に基づく新たなオプトジェネティクス行動実験の統計解析について助言を行った。

**C02: 坪 泰宏** データ解析手法および数理理論についての助言を相互に行った。特に坪班の研究者が毎週島崎班を訪問したことで、大規模スパイク時系列データに関する知見が共有され、研究に大きな進展をもたらした。

## 7 研究発表の状況

研究項目ごとに計画研究・公募研究の順で、本研究領域により得られた研究成果の発表の状況（主な雑誌論文、学会発表、書籍、産業財産権、主催シンポジウム等の状況。令和6年6月末までに掲載等が確定しているものに限る。）について、具体的かつ簡潔に5頁以内で記述すること。なお、雑誌論文の記述に当たっては、新しいものから順に発表年次をさかのぼり、研究代表者（発表当時、以下同様。）には二重下線、研究分担者には一重下線、corresponding author には左に\*印を付すこと。

- A01:計画研究 堀江 健生** ※著者順 [番目/著者数] ※原則 Pubmed 掲載の雑誌論文(プレプリント除く)  
Ishida T, \*Satou Y. Ascidian embryonic cells with properties of neural-crest cells and neuromesodermal progenitors of vertebrates. *Nat Ecol Evol.* 2024 (in press).
- Liu B, Ren X, \*Satou Y. BMP signaling is required to form the anterior neural plate border in ascidian embryos. *Dev Genes Evol.* 2023; 233(1):13-23.
- \*Sasakura Y, Horie T. Improved genome editing in the ascidian *Ciona* with CRISPR/Cas9 and TALEN. *Methods Mol Biol.* 2023; 2637:375-388.
- Sakamoto A, Hozumi A, Shiraiishi A et al. [Horie T 5/6] The TRP channel PKD2 is involved in sensing the mechanical stimulus of adhesion for initiating metamorphosis in the chordate *Ciona*. *Dev Growth Differ.* 2022; 64(7):395-408.
- \*Krasovec G, Hozumi A, Yoshida T et al. [Horie T 8/10] d-Serine controls epidermal vesicle release via NMDA receptor, allowing tissue migration during the metamorphosis of the chordate *Ciona*. *Sci Adv.* 2022; 8(10):eabn3264.
- Chacha PP, Horie T, Kusakabe TG et al. [\*Horie T 6/7] Neuronal identities derived by misexpression of the POU IV sensory determinant in a protovertebrate. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2022; 119(4):e2118817119.
- Akahoshi T, Utsumi MK, Oonuma K et al. [Horie T 5/8] A single motor neuron determines the rhythm of early motor behavior in *Ciona*. *Sci Adv.* 2021; 7(50):eabl6053.
- A01:計画研究 下郡 智美**
- \*Nakashima A, \*Takeuchi H. Shaping the olfactory map: cell type-specific activity patterns guide circuit formation. *Front Neural Circuits.* 2024; 18:1409680.
- Kaizuka T, Suzuki T, Kishi N et al. [Shimogori T 8/11] Remodeling of the postsynaptic proteome in male mice and marmosets during synapse development. *Nat Commun.* 2024; 15(1):2496.
- Minegishi M, \*Kuchimaru T, Nishikawa K et al. [Shimogori T 22/27] Secretory GFP reconstitution labeling of neighboring cells interrogates cell-cell interactions in metastatic niches. *Nat Commun.* 2023; 14(1):8031.
- Bilgic M, \*Wu Q, Suetsugu T et al. [Shimogori T 6/11] Truncated radial glia as a common precursor in the late corticogenesis of gyrencephalic mammals. *elife.* 2023; 12:RP91406.
- Young TR, Yamamoto M, Kikuchi SS et al. [\*Shimogori T 10/10] Thalamocortical control of cell-type specificity drives circuits for processing whisker-related information in mouse barrel cortex. *Nat Commun.* 2023; 14(1):6077.
- \*Hata J, Nakae K, Tsukada H et al. [Shimogori T 25/29] Multi-modal brain magnetic resonance imaging database covering marmosets with a wide age range. *Sci Data.* 2023; 10(1):221.
- Dumas DB, Gornati SV, Adolfs Y et al. [Shimogori T 4/6] Anatomical development of the cerebellothalamic tract in embryonic mice. *Cells.* 2022; 11(23):3800.
- Onishi K, Kikuchi SS, Abe T et al. [\*Shimogori T 5/5] Molecular cell identities in the mediodorsal thalamus of infant mice and marmoset. *J Comp Neurol.* 2022; 530(7):963-977. その他、論文4報(省略)
- A01:計画研究 藤山 文乃**
- \*Ohno N, Karube F, Fujiyama F. Volume electron microscopy for genetically and molecularly defined neural circuits. *Neurosci Res* 2024 (in press)
- \*Fujiyama F, \*Karube F, Hirai Y. Globus pallidus is not independent from striatal direct pathway neurons: an up-to-date review. *Mol Brain.* 2024; 17(1):34.
- \*Fujiyama F, Karube F. Pre- and Postembedding Immunoelectron microscopy to analyze the central nervous system. *Methods Mol Biol.* 2024; 2794:45-62.
- \*Karube F, Yang Y, Kobayashi K et al. [Fujiyama F 4/4] Anterograde trans-neuronal labeling of striatal interneurons in relation to dopamine neurons in the substantia nigra pars compacta. *Front Neuroanat.* 2024; 18:1325368. ※磯村班 [\*Karube F 1/4]
- Tamatsu Y, Azechi H, Takahashi R et al. [Fujiyama F 6/7] Optogenetic activation of the ventral tegmental area-hippocampal pathway facilitates rapid adaptation to changes in spatial goals. *iScience.* 2023; 26(12):108536.
- Nakamura Y, Kurabe M, Matsumoto M et al. [Ohno N 10/11] Cerebrospinal fluid-contacting neuron tracing reveals structural and functional connectivity for locomotion in the mouse spinal cord. *elife.* 2023; 12:e83108.
- Ogata K, Kadono F, Hirai Y et al. [\*Fujiyama F 7/7] Conservation of the direct and indirect pathway dichotomy in mouse caudal striatum with uneven distribution of dopamine receptor D1- and D2-expressing neurons. *Front Neuroanat.* 2022; 16:809446. ※磯村班 [\*Karube F 6/7] その他、論文1報(省略)
- A01:公募研究 揚妻 正和**
- Takahashi T, Zhang H, Agetsuma M et al. [3/7] Large-scale cranial window for in vivo mouse brain imaging utilizing fluoropolymer nanosheet and light-curable resin. *Commun Biol.* 2024; 7(1):232.
- \*Agetsuma M, Sato I, Tanaka YR et al. [1/13] Activity-dependent organization of prefrontal hub-networks for associative learning and signal transformation. *Nat Commun.* 2023; 14(1):5996.
- Kishimoto T, Agetsuma M, Hoshino A et al. [2/4] Needle-type pressure sensor with silicone oil and parylene membrane inside for minimally invasive measurement. *Electr Eng Jpn.* 2023; 106:e12420.
- \*Carrillo-Reid L, Agetsuma M, Kropff E. Editorial: Reconfiguration of neuronal ensembles throughout learning. *Front Syst Neurosci.* 2023; 17:1161967.
- \*Tabata H, Sasaki M, Agetsuma M et al. [3/13] Erratic and blood vessel-guided migration of astrocyte progenitors in the cerebral cortex. *Nat Commun.* 2022; 13(1):6571.
- A01:公募研究 川村 敦生**
- Nitahara K, Kawamura A, Kitamura Y et al. [2/6] Chromatin remodeler CHD8 is required for spermatogonial proliferation and

- early meiotic progression. *Nucleic Acids Res.* 2024; 52(6):2995-3010.
- Kawamura A, \*Nishiyama M. Deletion of the autism-related gene Chd8 alters activity-dependent transcriptional responses in mouse postmitotic neurons. *Commun Biol.* 2023; 6(1):593.
- A01:公募研究 久原 篤**
- Okahata M, Sawada N, Nakao K et al. [\*Kuhara A 5/5] Screening for cold tolerance genes in *C. elegans*, whose expressions are affected by anticancer drugs camptothecin and leptomycin B. *Sci Rep.* 2024; 14(1):5401.
- Ohnishi K, \*Sokabe T, Miura T et al. [\*Kuhara A 6/6] G protein-coupled receptor-based thermosensation determines temperature acclimatization of *Caenorhabditis elegans*. *Nat Commun.* 2024; 15(1):1660.
- \*Ohta A, Yamashiro S, \*Kuhara A. Temperature acclimation: Temperature shift induces system conversion to cold tolerance in *C. elegans*. *Neurosci Res.* 2023; 194:1-6.
- Motomura H, Ioroi M, Murakami K et al. [\*Kuhara A 4/5] Head-tail-head neural wiring underlies gut fat storage in *Caenorhabditis elegans* temperature acclimation. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2022; 119(32):e2203121119.
- A01:公募研究 竹内 秀明**
- Kayo D, Kimura S, Yamazaki T et al. [Takeuchi H 5/6] Spatio-temporal control of targeted gene expression in combination with CRISPR/Cas and Tet-On systems in Medaka. *Genesis.* 2024; 62(1):e23519.
- Seki T, Takeuchi H, \*Ansai S. Optogenetic control of medaka behavior with channelrhodopsin. *Dev Growth Differ.* 2023; 65(6):288-299.
- Daimon M, Katsumura T, Sakamoto H et al. [Takeuchi H 5/5] Mating experiences with the same partner enhanced mating activities of naïve male medaka fish. *Sci Rep.* 2022; 12(1):19665.
- A01:公募研究 中川 直樹**
- \*Nakagawa N, \*Iwasato T. Activity-dependent dendrite patterning in the postnatal barrel cortex. *Front Neural Circuits.* 2024; 18:1409993.
- \*Nakagawa N, \*Iwasato T. Golgi polarity shift instructs dendritic refinement in the neonatal cortex by mediating NMDA receptor signaling. *Cell Rep.* 2023; 42(8):112843.
- A01:公募研究 西辻 光希**
- A01:公募研究 八木 健**
- Hirokane K, Nakamura T, Terashita T et al. [Yagi T 6/8] Representation of rhythmic chunking in striatum of mice executing complex continuous movement sequences. *Cell Rep.* 2024; 43(6):114312.
- Shiratsuchi G, Konishi S, Yano T et al. [Yagi T 14/18] Dual-color live imaging unveils stepwise organization of multiple basal body arrays by cytoskeletons. *EMBO Rep.* 2024; 25(3):1176-1207.
- \*Hagihara H, Shoji H, Hattori S et al. [Yagi T 112/131] Large-scale animal model study uncovers altered brain pH and lactate levels as a transdiagnostic endophenotype of neuropsychiatric disorders involving cognitive impairment. *elife.* 2024; 12:RP89376.
- \*Kanadome T, Hoshino N, Nagai T et al. [\*Yagi T 4/5] Protocol to visualize trans-interaction of clustered protocadherin using cIPAD, a fluorescent indicator, in cultured human cells and mouse neurons. *STAR Protoc.* 2024; 5(1):102844.
- Kawamura N, Osuka T, Kaneko R et al. [\*Yagi T 8/9] Reciprocal connections between parvalbumin-expressing cells and adjacent pyramidal cells are regulated by clustered protocadherin  $\gamma$ . *eNeuro.* 2023; 10(10):ENEURO.0250-23.2023.
- Hoshino N, Kanadome T, Takasugi T et al. [\*Yagi T 13/13] Visualization of trans homophilic interaction of clustered protocadherin in neurons. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2023 Sep; 120(38):e2301003120.
- Hashimoto A, Kawamura N, Tarusawa E et al. [Yagi T 15/16] Microglia enable cross-modal plasticity by removing inhibitory synapses. *Cell Rep.* 2023; 42(5):112383.
- Suzuki K, Yamaga K, Tokumasu R et al. [Yagi T 7/11] Double mutation of claudin-1 and claudin-3 causes alopecia in infant mice. *Ann NY Acad Sci.* 2023; 1523(1):51-61.
- Hirokane K, Nakamura T, Kubota Y et al. [Yagi T 5/7] Emergence of rhythmic chunking in complex stepping of mice. *iScience.* 2023; 26(5):106765.
- Kobayashi H, Takemoto K, Sanbo M et al. [\*Yagi T 9/9] Isoform requirement of clustered protocadherin for preventing neuronal apoptosis and neonatal lethality. *iScience.* 2022; 26(1):105766.
- \*Hirayama T, Kadooka Y, Tarusawa E et al. [Yagi T 16/16] CTCF loss induces giant lamellar bodies in Purkinje cell dendrites. *Acta Neuropathol Commun.* 2022; 10(1):172.
- \*Uchimura A, Matsumoto H, Satoh Y et al. [Yagi T 12/12] Early embryonic mutations reveal dynamics of somatic and germ cell lineages in mice. *Genome Res.* 2022; 32(5):945-955.
- A01:公募研究 船戸 弘正** ※新規採択 2024 年
- Okabe Y, \*Murakoshi N, \*Kurebayashi N et al. [Funato H 8/21] An inherited life-threatening arrhythmia model established by screening randomly mutagenized mice. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2024; 121(17):e2218204121.
- Tagawa N, Mori K, Koebis M et al. [\*Funato H 7/7] Activation of lateral preoptic neurons is associated with nest-building in male mice. *Sci Rep.* 2024; 14(1):8346.
- Nakata S, Iwasaki K, Funato H et al. [3/5] Neuronal subtype-specific transcriptomic changes in the cerebral neocortex associated with sleep pressure. *Neurosci Res.* 2024; S0168-0102(24)00042-7.
- B01:計画研究 磯村 宜和**
- Otomo K, Omura T, Nozawa Y et al. [Karube F 37/44] descSPIM: an affordable and easy-to-build light-sheet microscope optimized for tissue clearing techniques. *Nat Commun.* 2024; 15(1):4941.
- Yoshinaga Y, \*Sato N. Reach-to-Grasp and tactile discrimination task: A new task for the study of sensory-motor learning. *Behav Brain Res.* 2024; 466:115007.
- Hayashi T, \*Sato N. Contribution of the retrosplenial cortex to route selection in a complex maze. *Neurosci Res.* 2024; 202:52-59.
- \*Rios A, Nonomura S, Kato S et al. [\*Isomura Y 12/12] Reward expectation enhances action-related activity of nigral dopaminergic and two striatal output pathways. *Commun Biol.* 2023; 6(1):914. ※小林班 [Kobayashi K 9/12] ※野々村班 [Nonomura S 2/12]
- \*Soma S, Ohara S, Nonomura S et al. [\*Isomura Y 9/9] Rat hippocampal CA1 region represents learning-related action and reward events with shorter latency than the lateral entorhinal cortex. *Commun Biol.* 2023; 6(1):584. ※野々村班 [Nonomura S 3/9]
- Mitani K, Kawabata M, \*Isomura Y et al. [3/4] Automated and parallelized spike collision tests to identify spike signal projections.

- iScience*. 2022; 25(10):105071.
- \*Sato N, Sato A. How to turn the corner: Discrimination of path shapes in rats. *Learn Behav*. 2022; 50(2):254-262.
- Kitano K, Yamagishi A, Horie K et al. [\*Sato N 5/5] Helping behavior in prairie voles: A model of empathy and the importance of oxytocin. *iScience*. 2022; 25(4):103991. その他、論文2報 (※藤山班に掲載)
- B01:計画研究 佐々木 拓哉**
- Ishizu K, Nishimoto S, Ueoka Y et al. [\*Funamizu A 4/4] Localized and global representation of prior value, sensory evidence, and choice in male mouse cerebral cortex. *Nat Commun*. 2024 22;15(1):4071.
- Yagishita H, Go Y, Okamoto K et al. [\*Sasaki T 6/6] A method to analyze gene expression profiles from hippocampal neurons electrophysiologically recorded in vivo. *Front Neurosci*. 2024; 18:1360432. ※郷班 [Go Y 2/6]
- Araki T, Hiragi T, Kuga N et al. [Sasaki T 8/10] Microglia induce auditory dysfunction after status epilepticus in mice. *Glia*. 2024; 72(2):274-288.
- Dewa KI, \*Arimura N, Kakegawa W et al. [Sasaki T 20/31] Neuronal DSCAM regulates the peri-synaptic localization of GLAST in Bergmann glia for functional synapse formation. *Nat Commun*. 2024; 15(1):458. ※郷班 [Go Y 25/31]
- Okonogi T, Kuga N, Yamakawa M et al. [\*Sasaki T 6/6] Stress-induced vagal activity influences anxiety-relevant prefrontal and amygdala neuronal oscillations in male mice. *Nat Commun*. 2024; 15(1):183.
- Bénac N, Ezequiel Saraceno G, Butler C et al. [Sasaki T 8/15] Non-canonical interplay between glutamatergic NMDA and dopamine receptors shapes synaptogenesis. *Nat Commun*. 2024; 15(1):27.
- \*Funamizu A, Marbach F, Zador AM. Stable sound decoding despite modulated sound representation in the auditory cortex. *Curr Biol*. 2023; 33(20):4470-4483.e7.
- Yagi S, Igata H, Ikegaya Y et al. [\*Sasaki T 4/4] Awake hippocampal synchronous events are incorporated into offline neuronal reactivation. *Cell Rep*. 2023; 42(8):112871.
- Kudara M, Matsumoto N, Kuga N, et al. [\*Sasaki T 7/7] An open-source application to identify the three-dimensional locations of electrodes implanted into the rat brain from computed tomography images. *Neurosci Res*. 2023; 193:20-27.
- \*Cheng A, Kawahata I, Wang Y et al. [\*Sasaki T 14/15] Epsin2, a novel target for multiple system atrophy therapy via  $\alpha$ -synuclein/FABP7 propagation. *Brain*. 2023; 146(8):3172-3180.
- Aoki Y, Yokoi T, Morikawa S et al. [\*Sasaki T 6/6] Effects of theta phase precessing optogenetic intervention on hippocampal neuronal reactivation and spatial maps. *iScience*. 2023; 26(7):107233.
- Shiozaki H, \*Kuga N, Kayama T et al. [\*Sasaki T 5/5] Selective serotonin reuptake inhibitors suppress sharp wave ripples in the ventral hippocampus. *J Pharmacol Sci*. 2023;152(2):136-143.
- Kuga N, Nakayama R, Morikawa S et al. [\*Sasaki T 9/9] Hippocampal sharp wave ripples underlie stress susceptibility in male mice. *Nat Commun*. 2023; 14(1):2105.
- Kuga N, \*Sasaki T. Memory-related neurophysiological mechanisms in the hippocampus underlying stress susceptibility. *Neurosci Res*. 2022; S0168-0102(22)00213-9.
- Sato DX, Inoue YU, Kuga N et al. [Sasaki T 10/14] Humanized substitutions of Vmat1 in mice alter amygdala-dependent behaviors associated with the evolution of anxiety. *iScience*. 2022; 25(8):104800.
- Kuga N, Abe R et al. [\*Sasaki T 5/5] Prefrontal-amygdalar oscillations related to social behavior in mice. *elife*. 2022; 11:e78428.
- Konno D, Ikegaya Y, \*Sasaki T. Weak representation of awake/sleep states by local field potentials in aged mice. *Sci Rep*. 2022; 12(1):7766.
- Sugisawa E, Kondo T, Kumagai Y et al. [Sasaki T 10/13] Nociceptor-derived Reg3 $\gamma$  prevents endotoxic death by targeting kynurenine pathway in microglia. *Cell Rep*. 2022; 38(10):110462.
- Kayama T, Ikegaya Y, \*Sasaki T. Phasic firing of dopaminergic neurons in the ventral tegmental area triggers peripheral immune responses. *Sci Rep*. 2022; 12(1):1447. その他、論文9報 (省略)
- B01:計画研究 小林 和人**
- Iguchi Y, Fukabori R, Kato S, et al. [\*Kobayashi K 18/18] Chemogenetic activation of mammalian brain neurons expressing insect Ionotropic Receptors by systemic ligand precursor administration. *Commun Biol*. 2024; 7(1):547.
- \*Matsushita N, Kato S, Nishizawa K et al. [\*Kobayashi K 8/8] Protocol for highly selective transgene expression through the flip-excision switch system by using a unilateral spacer sequence in rodents. *STAR Protoc*. 2023; 4(4):102667.
- Matsushita N, Kato S, Nishizawa K et al. [\*Kobayashi K 8/8] Highly selective transgene expression through the flip-excision switch system by using a unilateral spacer sequence. *Cell Rep Methods*. 2023; 3(2):100393.
- Matsushita N, Nishizawa K, Kato S et al. [\*Kobayashi K 9/9] Catecholaminergic cell type-specific expression of Cre recombinase in knock-in transgenic rats generated by the Combi-CRISPR technology. *J Neurosci Methods*. 2022; 381:109707.
- Kato S, Nishizawa K, \*Kobayashi K. Thalamostriatal system controls the acquisition, performance, and flexibility of learning behavior. *Front Syst Neurosci*. 2021; 15:729389. その他、論文1報 (※磯村班に掲載)
- B01:公募研究 岡本 仁**
- Tanimoto Y, Kakinuma H, Aoki R et al. [\*Okamoto H 6/6] Transgenic tools targeting the basal ganglia reveal both evolutionary conservation and specialization of neural circuits in zebrafish. *Cell Rep*. 2024; 43(3):113916.
- Shibayama K, Nakajo H, Tanimoto Y, et al. [\*Okamoto H 7/7] The serotonergic neurons derived from rhombomere 2 are localized in the median raphe and project to the dorsal pallium in zebrafish. *Neurosci Res*. 2024; S0168-0102(24)00039-7.
- Kinoshita M, \*Okamoto H. Acetylcholine potentiates glutamate transmission from the habenula to the interpeduncular nucleus in losers of social conflict. *Curr Biol*. 2023; 33(11):2121-2135.e4.
- Yonezawa Y, \*Guo L et al. [Okamoto H 48/49] Identification of a functional susceptibility variant for adolescent idiopathic scoliosis that upregulates early growth response 1 (EGR1)-mediated UNCX expression. *J Bone Miner Res*. 2023; 38(1):144-153.
- B01:公募研究 小山 佳**
- Oyama K, Majima K, Nagai Y et al. [1/18] Distinct roles of monkey OFC-subcortical pathways in adaptive behavior. *Nat Commun*. 2024 (in press).
- \*Oyama K, \*Nagai Y, Minamimoto T. Targeted delivery of chemogenetic adeno-associated viral vectors to cortical sulcus regions in macaque monkeys by handheld injections. *Bio Protoc*. 2023; 13(23):e4897.
- Hori Y, \*Nagai Y, Hori Y et al. [Oyama K 4/12] Multimodal imaging for validation and optimization of ion channel-based chemogenetics in nonhuman primates. *J Neurosci*. 2023; 43(39):6619-6627.



\*Miyakawa N, Nagai Y, Hori Y et al. [[Oyama K](#) 6/15] Chemogenetic attenuation of cortical seizures in nonhuman primates. *Nat Commun.* 2023; 14(1):971.

**B01:公募研究 喜田 聡**

\*Hori H, Fukushima H, Nagayoshi T et al. [[Kida S](#) 10/10] Fear memory regulation by the cAMP signaling pathway as an index of reexperiencing symptoms in posttraumatic stress disorder. *Mol Psychiatry.* 2024 (in press).

Arihara Y, Fukuyama Y, [Kida S](#). Consolidation, reconsolidation, and extinction of contextual fear memory depend on de novo protein synthesis in the locus coeruleus. *Brain Res Bull.* 2023; 202:110746.

\*[Kida S](#). Interaction between reconsolidation and extinction of fear memory. *Brain Res Bull.* 2023; 195:141-144.

\*Yu Z, Sakai M, Fukushima H et al. [[Kida S](#) 9/10] Microarray dataset of gene transcription in mouse microglia and peripheral monocytes in contextual fear conditioning. *Data Brief.* 2022; 46:108862.

\*Yu Z, Sakai M, Fukushima H et al. [[Kida S](#) 9/10] Contextual fear conditioning regulates synapse-related gene transcription in mouse microglia. *Brain Res Bull.* 2022; 189:57-68.

\*Iwakura Y, Kawahara-Miki R, [Kida S](#) et al. [3/15] Elevation of EGR1/zif268, a neural activity marker, in the auditory cortex of patients with schizophrenia and its animal model. *Neurochem Res.* 2022; 47(9):2715-2727.

**B01:公募研究 後藤 明弘**

Nakamura T, Sakaguchi H, Mohri H et al. [[Goto A](#) 5/10] Dispensable role of Rac1 and Rac3 after cochlear hair cell specification. *J Mol Med (Berl).* 2023; 101(7):843-854.

\*[Goto A](#), [Hayashi Y](#). Offline neuronal activity and synaptic plasticity during sleep and memory consolidation. *Neurosci Res.* 2023; 189:29-36.

\*[Goto A](#). Synaptic plasticity during systems memory consolidation. *Neurosci Res.* 2022; 183:1-6.

**B01:公募研究 杉山(矢崎) 陽子**

Louder MIM, Kuroda M, Taniguchi D et al. [[Yazaki-Sugiyama Y](#) 11/11] Transient sensorimotor projections in the developmental song learning period. *Cell Rep.* 2024; 43(5):114196.

**B01:公募研究 谷本 拓**

\*Fuse N, Hashiba H, Ishibashi K et al. [[Tanimoto H](#) 9/10] Neural control of redox response and microbiota-triggered inflammation in *Drosophila* gut. *Front Immunol.* 2023; 14:1268611.

Venkatasubramani AV, Ichinose T, Kanno M et al. [[Tanimoto H](#) 5/7] The fruit fly acetyltransferase chameau promotes starvation resilience at the expense of longevity. *EMBO Rep.* 2023; 24(10):e57023.

\*Ichinose T, Kondo S, Kanno M et al. [[Tanimoto H](#) 7/7] Translational regulation enhances distinction of cell types in the nervous system. *eLife.* 2023; 12:RP90713.

Oikawa I, Kondo S, Hashimoto K et al. [[Tanimoto H](#) 6/8] A descending inhibitory mechanism of nociception mediated by an evolutionarily conserved neuropeptide system in *Drosophila*. *eLife.* 2023; 12:RP85760.

Kurogi Y, Imura E, Mizuno Y, et al. [[Tanimoto H](#) 9/11] Female reproductive dormancy in *Drosophila* is regulated by DH31-producing neurons projecting into the corpus allatum. *Development.* 2023; 150(10):dev201186.

\*Thoma V, Sakai S, Nagata K et al. [[Tanimoto H](#) 11/11] On the origin of appetite: GLWamide in jellyfish represents an ancestral satiety neuropeptide. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2023; 120(15):e2221493120.

**B01:公募研究 殿城 亜矢子**

Kanoh T, Mizoguchi T et al. [[Tonoki A](#) 3/4] Modeling of age-related neurological disease: utility of zebrafish. *Front Aging Neurosci.* 2024; 16:1399098.

\*Kakizawa S, Park JJ, [Tonoki A](#). Biology of cognitive aging across species. *Geriatr Gerontol Int.* 2024; 24 Suppl 1:15-24.

Lyu S, Terao N, Nakashima H et al. [[Tonoki A](#) 5/5] Neuropeptide diuretic hormone 31 mediates memory and sleep via distinct neural pathways in *Drosophila*. *Neurosci Res.* 2023; 192:11-25.

Hou X, Hayashi R, Itoh M et al. [[Tonoki A](#) 4/4] Small-molecule screening in aged *Drosophila* identifies mGluR as a regulator of age-related sleep impairment. *Sleep.* 2023; 46(5):zsad018.

\*[Tonoki A](#), Nagai S, Yu Z et al. [1/10] Nitric oxide-soluble guanylyl cyclase pathway as a contributor to age-related memory impairment in *Drosophila*. *Aging Cell.* 2022; 21(9):e13691.

**B01:公募研究 能瀬 聡直**

Liu Y, Hasegawa E, [Nose A](#) et al. [3/5] Synchronous multi-segmental activity between metachronal waves controls locomotion speed in *Drosophila* larvae. *eLife.* 2023; 12:e83328.

Sun X, [Nose A](#), [Kohsaka H](#). A vacuum-actuated soft robot inspired by *Drosophila* larvae to study kinetics of crawling behaviour. *PLoS One.* 2023; 18(4):e0283316.

Fukumasu K, [Nose A](#), [Kohsaka H](#). Extraction of bouton-like structures from neuropil calcium imaging data. *Neural Netw.* 2022; 156:218-238.

Giachello CNG, Hunter I, Pettini T et al. [[Nose A](#) 11/13] Landgraf M, Baines RA. Electrophysiological validation of monosynaptic connectivity between premotor interneurons and the aCC motoneuron in the *Drosophila* larval CNS. *J Neurosci.* 2022; 42(35):6724-6738.

\*Park J, Chung YR, [Nose A](#). Comparative analysis of high- and low-level deep learning approaches in microsatellite instability prediction. *Sci Rep.* 2022; 12(1):12218.

Sun X, Liu Y, Liu C et al. [[Nose A](#) 6/7] A neuromechanical model for *Drosophila* larval crawling based on physical measurements. *BMC Biol.* 2022; 20(1):130.

**B01:公募研究 野々村 聡 →**

論文 2 報 (※磯村班に掲載)

**B01:公募研究 濱口 航介**

\*Nishioka T, Attachaipanich S, [Hamaguchi K](#) et al. [3/7] Error-related signaling in nucleus accumbens D2 receptor-expressing neurons guides inhibition-based choice behavior in mice. *Nat Commun.* 2023; 14(1):2284.

[Hamaguchi K](#), Takahashi-Aoki H, [Watanabe D](#). Prospective and retrospective values integrated in frontal cortex drive predictive choice. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2022; 119(48):e2206067119.

**B01:公募研究 三國 貴康**

\*Hanaoka K, Iwaki S, Yagi K et al. [[Mikuni T](#) 11/18] General design strategy to precisely control the emission of fluorophores via a twisted intramolecular charge transfer (TICT) process. *J Am Chem Soc.* 2022; 144(43):19778-19790.

**B01:公募研究 武内 恒成** ※新規採択 2024 年

Saijo Y, \*Nagoshi N, Kawai M et al. [[Takeuchi K](#) 10/13] Human-induced pluripotent stem cell-derived neural stem/progenitor cell ex vivo gene therapy with synaptic organizer CPTX for spinal cord injury. *Stem Cell Reports*. 2024; 19(3):383-398.

\*Wakatsuki A, Lin Y, Kojima S et al. [[Takeuchi K](#) 5/6] Inhibitory effects of estetrol on the invasion and migration of immortalized human endometrial stromal cells. *Endocr J*. 2024; 71(2):199-206.

\*Shibata Y, Tanaka Y, Sasakura H et al. [[Takeuchi K](#) 12/13] Endogenous chondroitin extends the lifespan and healthspan in *C. elegans*. *Sci Rep*. 2024; 14(1):4813.

**B01:公募研究 内匠 透** ※新規採択 2024 年**C01:計画研究 郷 康広**

Shibata Y, Toji N, Wang H et al. [[Go Y](#) 4/5] Expansion of learning capacity elicited by interspecific hybridization. *Sci Adv*. 2024 (in press).

Toji N, Sawai A, Wang H et al. [[Go Y](#) 6/7] A predisposed motor bias shapes individuality in vocal learning. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2024; 121(3):e2308837121.

\*Tsuyuzaki K, Ishii M, \*[Nikaido I](#). Sctensor detects many-to-many cell-cell interactions from single cell RNA-sequencing data. *BMC Bioinformatics*. 2023; 24(1):420.

Bond DM, Ortega-Recalde O, Laird MK, et al. [[Go Y](#) 18/26] The admixed brushtail possum genome reveals invasion history in New Zealand and novel imprinted genes. *Nat Commun*. 2023; 14(1):6364.

\*Shima Y, Skibbe H, Sasagawa Y et al. [[Nikaido I](#) 9/11] Distinctiveness and continuity in transcriptome and connectivity in the anterior-posterior axis of the paraventricular nucleus of the thalamus. *Cell Rep*. 2023; 42(10):113309.

Ogura N, Sasagawa Y, Ito T et al. [[Nikaido I](#) 11/13] WUSCHEL-RELATED HOMEBOX 13 suppresses de novo shoot regeneration via cell fate control of pluripotent callus. *Sci Adv*. 2023; (27):eadg6983.

Takada H, Sasagawa Y, Yoshimura M et al. [\*[Nikaido I](#) 8/9]. Single-cell transcriptomics uncovers EGFR signaling-mediated gastric progenitor cell differentiation in stomach homeostasis. *Nat Commun*. 2023; 14(1):3750.

\*Tsuyuzaki K, Yamamoto K, Toyoshima Y et al. [\*[Nikaido I](#) 9/9] WormTensor: a clustering method for time-series whole-brain activity data from *C. elegans*. *BMC Bioinformatics*. 2023; 24(1):254.

Ninomiya T, Noritake A, Tatsumoto S et al. [[Go Y](#) 4/5] Cognitive genomics of learning delay and low level of social performance monitoring in macaque. *Sci Rep*. 2022; 12(1):16539.

Asogwa NC, Toji N, He Z et al. [[Go Y](#) 8/9] Nicotinic acetylcholine receptors in a songbird brain. *J Comp Neurol*. 2022; 530:1966-1991.

Lin CW, Septyaningtrias DE, Chao HW et al. [[Nikaido I](#) 11/14] A common epigenetic mechanism across different cellular origins underlies systemic immune dysregulation in an idiopathic autism mouse model. *Mol Psychiatry*. 2022; 27(8):3343-3354.

Wibisana JN, Inaba T, Shinohara H et al. [[Nikaido I](#), 8/10] Enhanced transcriptional heterogeneity mediated by NF-κB super-enhancers. *PLoS Genet*. 2022; 18(6):e1010235.

Herbig M, Isozaki A, Di Carlo D et al. [[Nikaido I](#) 11/12] Best practices for reporting throughput in biomedical research. *Nat Methods*. 2022; 19(6):633-634.

Amorim ST, Tsuyuzaki K, [Nikaido I](#) et al. [3/4] Improved MeSH analysis software tools for farm animals. *Anim Genet*. 2022; 53(1):171-172.

その他、論文 7 報 (※うち 2 報は佐々木班に掲載)

**C01:公募研究 安部 健太郎**

Kawaji T, Fujibayashi M, \*[Abe K](#). Goal-directed and flexible modulation of syllable sequence within birdsong. *Nat Commun*. 2024; 15(1):3419.

Yamamoto H, \*[Abe K](#). Protocol for viral vector-mediated measurement of transcription factor activity of mouse brain. *STAR Protoc*. 2022; 3(3):101633.

**C01:公募研究 ROOME Christopher****C01:公募研究 本田 瑞季** ※新規採択 2024 年**C01:公募研究 高野 哲也** ※新規採択 2024 年

Ito Y, Nagamoto S, \*[Takano T](#). Synaptic proteomics decode novel molecular landscape in the brain. *Front Mol Neurosci*. 2024; 17:1361956.

**C01:公募研究 今野 歩** ※新規採択 2024 年

Kinoshita K, Motomura K, Ushida K et al. [[Konno A](#) 5/11] Nurr1 overexpression in the primary motor cortex alleviates motor dysfunction induced by intracerebral hemorrhage in the striatum in mice. *Neurotherapeutics*. 2024; e00370.

**C01:公募研究 岸 雄介** ※新規採択 2024 年

\*Miyoshi G, Ueta Y, Yagasaki Y et al. [[Kishi Y](#) 4/7] Developmental trajectories of GABAergic cortical interneurons are sequentially modulated by dynamic FoxG1 expression levels. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2024; 121(16):e2317783121.

**C01:公募研究 小松 哲郎** ※新規採択 2024 年**C02:計画研究 島崎 秀昭**

\*Aguilera M, Igarashi M, [Shimazaki H](#). Nonequilibrium thermodynamics of the asymmetric Sherrington-Kirkpatrick model. *Nat Commun*. 2023; 14(1):3685.

\*Shomali SR, Rasuli SN, Ahmadabadi MN et al. [\*[Shimazaki H](#) 4/4] Uncovering hidden network architecture from spiking activities using an exact statistical input-output relation of neurons. *Commun Biol*. 2023; 6(1):169.

\*Isomura T, [Shimazaki H](#), Friston KJ. Canonical neural networks perform active inference. *Commun Biol*. 2022; 5(1):55.

**C02:公募研究 坪 泰宏**

\*Teramae J, \*[Tsubo Y](#). Dual sampling neural network: Learning without explicit optimization. *Phys Rev Res*. 2022; 4, 043051.

\*Shinomoto S, [Tsubo Y](#), Marunaka Y. Detection and categorization of severe cardiac disorders based solely on heart period measurements. *Sci Rep*. 2022; 12(1):17019.

Imaizumi Y et al. [[Tsubo Y](#) 3/5] A neuronal prospect theory model in the brain reward circuitry. *Nat Commun*. 2022; 13(1):5855.

Kato M, Okumura T, [Tsubo Y](#) et al. [3/7] Spatiotemporal dynamics of odor representations in the human brain revealed by EEG decoding. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2022; 119(21):e2114966119.

総計 17 1 報

※原則として Pubmed 掲載の雑誌論文(プレプリント除く)

※各班間の重複は除いた

## 8 研究組織の連携体制

研究領域全体を通じ、本研究領域内の研究項目間、計画研究及び公募研究間の連携体制について、図表などを用いて具体的かつ簡潔に1頁以内で記述すること。

本領域の研究項目間（A01, B01, C01, C02）、計画研究及び公募研究間の連携体制を下表に示す。特に本領域の特色である遺伝子解析支援（トランスクリプトーム解析）を担当する堀江班と郷班は多くの計画班・公募班との連携協力を実現している。遺伝子改変技術支援（遺伝子改変動物・ウイルスベクター一供与）を担当する小林班も計画班・公募班ともに幅広く連携している。

計画研究と他の計画研究および公募研究との連携状況は、以下のTableに示すとおりである。

20240611

A01計画	堀江班	下郡班	藤山班	磯村班	佐々木班	小林班	郷班	島崎班
堀江班				◎	○	◎		
下郡班			◎					
藤山班		◎		◎※		◎		◎
<b>B01計画</b>								
磯村班	◎		◎※		○	◎		◎
佐々木班				○			◎※	○
小林班	◎		◎	◎※			◎	
<b>C01計画</b>								
郷班	○			◎	◎※	◎		
<b>C01計画☒</b>								
島崎班		○	◎	○	○			
<b>A01公募</b>								
竹内班	◎						◎	
川村班								
八木班	◎						◎	
久原班	◎							
西辻班	○						○	
中川班						◎	◎	
揚妻班						○	◎	
船戸班（後期）								
<b>B01公募</b>								
谷本班								
殿城班								
喜田班						◎		
能瀬班	◎							
三國班		○						
濱口班							○	
後藤班								
野々村班				◎※		◎	◎	
杉山(矢崎)班	○						◎	
岡本班								○
小山班					○		○	
内匠班（後期）		◎※						
武内班（後期）						◎		
<b>C01公募</b>								
安部班							◎※	
ルーム班								
岸班（後期）					◎			
小松班（後期）								
今野班（後期）					◎	○		
高野班（後期）		○						
本田班（後期）								
<b>C02公募</b>								
坪班								○

◎： 具体的な共同研究、技術共有、研究リソース共有を実施中

◎※：◎のうえ、共著論文作成（執筆中含む）

○： 技術協力、情報交換、共同研究を予定している

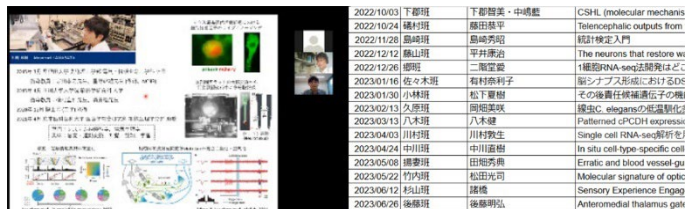
## 9 若手研究者の育成に係る取組状況

研究領域全体を通じ、本研究領域の研究遂行に携わった若手研究者（研究協力者やポスドク、途中で追加・削除した者を含む。）の育成に係る取組状況について、具体的かつ簡潔に1頁以内で記述すること。なお、本研究領域が育成に取り組んだ「若手研究者」の定義を始めに示すこと。

これまでに本領域では下記の若手研究者の育成に係る取組みを実施した（ここでの若手研究者は大学院生～学位取得後5年以内のポスドクと定義する）。

### ① 隔週でのACC勉強会の開催

毎月第2、第4月曜日12-13時に「ACC勉強会」をオンライン開催した。これまでに本領域の計画班が各3回、1期公募班が各1回ずつ担当し（全44回）、それぞれの班の担当者（研究代表者だけではなく、その研究室のポスドク・大学院生など）が最新の研究紹介や文献紹介、専門分野のチュートリアルなど情報交換を行った。多くの若手研究者を含む領域関係者が毎回20-60名参加し、活発な議論を行った。本勉強会は、録画によるオンデマンド配信も行っている。今後も定期的開催予定である。



2022/10/03	下野班	中嶋 聡	CSHL (molecular mechan
2022/10/24	藤村班	藤村 謙平	Teleostrophic outputs from
2022/11/28	島崎班	島崎 秀昭	統計検定入門
2022/12/12	藤山班	平井 洋治	The neurons that restore wi
2022/12/26	棚田班	二階堂 愛	1細胞RNA-seq技術はど
2023/01/16	佐々木班	松村 奈津子	脳シナプス形成におけるDS
2023/01/30	小林班	松下 夏樹	その後継者候補遺伝子の機
2023/02/13	久藤班	岡本 悠	線虫C. elegansの高感度化
2023/03/13	八木班	八木 健	Patterned cDN expression
2023/04/03	川村班	川村 敦生	Single cell RNA-seq解析を
2023/04/24	中川班	中川 直樹	In situ cell-type-specific cell
2023/05/08	鎌野班	田畑 秀典	Erratic and blood vessel-gu
2023/05/22	竹内班	松田 光司	Molecular signature of optic
2023/06/12	杉山班	唐橋 博	Sensory Experience Engag
2023/06/26	後藤班	後藤 弘弘	Anteromedial thalamus gel

### ② 第46回日本神経科学大会サテライトイベント「適応回路研究の新潮流に挑む若手研究者の集い」の開催

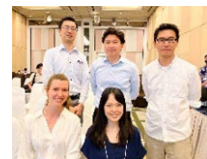
第46回日本神経科学大会（仙台）（2023年8月1日）にて、学会が終了した後の19-21時に、同学会のポスター発表会場を利用して、共催サテライトイベントを実施し、学生・ポスドク52名がポスター発表31件について活発な議論を行った。5名の大学院生に優秀発表賞を授与した。



### ③ 各学会における若手研究者中心のシンポジウム・サテライトイベントの開催支援

以下の各学会活動に対して共催等の支援を行った。

- ・日本神経科学大会2022（2022年6月30日～7月2日 沖縄）公募シンポジウム1件を共催した。海外からの若手研究者の講演者1名の旅費を支援した。
- ・日本神経科学大会2023（2023年8月1日～8月4日 仙台）公募シンポジウム計4件を共催した。海外からの若手研究者を中心とする講演者5名の旅費を支援した。
- ・日本神経回路学会全国大会2023（2023年9月4日～6日 東京）を共催し、会場費と講演の支援を行った。本大会では、佐々木班の船水が実行委員長を務め、過去最大の331名の参加があった。大会前日には、適応回路センサス・行動変容・統一理論の3学術変革領域が、サテライトイベント「理論と実験の融合のための神経科学チュートリアル」を企画し、若手を多く含む研究者100名が参加した。
- ・2024年も日本神経科学大会（福岡）の公募シンポジウムや日本神経回路学会（札幌）のサテライトイベントの共催支援を予定している。



### ④ 学生・ポスドク対象の「統計解析」「単一細胞RNAseq解析」の基礎講習会の開催

- ・島崎班・島崎が、大規模データの統計解析の取り扱い技術向上を目的として、学生・ポスドク向けに「統計解析入門レクチャー」をオンライン開催した（2022年11月28日、2024年3月23日、計2回）。
- ・堀江班・尾崎が、1細胞RNA-seqデータ解析技術の向上を目的として、学生・ポスドク向けに対面での「ハンズオン講習会」を開催した（2024年1月16日～17日 筑波大学）。参加者22名

### ⑤ 学生対象のASCONE2023「脳科学への数理的アプローチ」の共催

全国の学部生や修士課程の大学院生向けを対象とした合宿形式の勉強会ASCONE2023「脳科学への数理的アプローチ」（2023年11月28日-12月1日 千葉）を共催し、参加者の旅費と滞在費を支援した。脳科学の面白さや最先端の知見を伝えた。



### ⑥ 領域会議における参加者への託児支援

秋の領域会議への参加者の子供のべ8名への託児支援を行った（2022年10月27日～29日、2023年10月12日～14日、計2回）。

## 10 アウトリーチ活動に係る取組状況

研究領域全体を通じ、一般向けのアウトリーチ活動に係る取組状況について、具体的かつ簡潔に1頁以内で記述すること。

本領域の研究者による一般向けのアウトリーチ活動に係る取組みを挙げる（主要な取組みのみ抜粋）。

### ① 一般公開シンポジウムの開催

「最先端技術で迫る脳の働きと多様性」（2024年3月10日 大阪大学） 高校生、大学生、一般者向けに本領域の研究成果を紹介する公開シンポジウムを開催した。

企画司会：堀江健生、藤山文乃 講演者：堀江健生、竹内秀明、安部健太郎、佐々木拓哉、西本伸志（2025年度にも一般公開シンポジウムを開催予定）

### ② 「適応回路センサス」ニュースレターの発行

各年度、本領域の計画班・公募班の研究内容や研究成果、領域会議、勉強会、共催企画、学会シンポジウム参加記などの紹介を掲載したニュースレターを発行し国内の研究機関や研究者に発送した。

- ・第1号：2022年5月13日発行
- ・第2号：2023年2月8日発行
- ・第3号：2024年3月4日発行
- （第4号：2025年3月、第5号：2026年3月発行予定）



### ③ 「適応回路センサス」ホームページの開設および更新

領域概要、研究組織、研究成果、イベント・募集などの最新情報を公開している。 URL: <https://ac-census.org/>

### ④ 各種イベントの主催・共催

- ・[適応回路センサス][行動変容生物学]領域合同シンポジウム「神経回路研究の新潮流」（2022年12月15日オンライン）
- ・[グリアデコード][臨界期生物学][適応回路センサス]領域合同シンポジウム「細胞多様性－回路多様性－機能多様性」（2024年1月19日オンライン）
- ・「適応回路センサス」ハンズオン講習会（2024年1月16日～17日 筑波大学）

### ⑤ 新聞・メディア報道

- ・ここまできたシングルセル解析[実践編]:日経バイオテク 2021年3月14日（堀江健生）
- ・脊椎動物進化 ホヤで解明「無脊椎」でも遺伝子の働き一致:京都新聞 2024年4月5日（堀江健生）
- ・温度変化に対応する線虫 神経細胞が腸の脂質量調整:科学新聞 2022年9月16日（他に読売新聞）（久原篤）
- ・動物の温度感知 関与分子解明「CPCR」がセンサー役:神戸新聞 2024年3月14日（他に科学新聞）（久原篤）
- ・わずか1ミリ線虫に魅せられて 透明な体「生きた試験管」:神戸新聞 2024年6月15日（久原篤）
- ・トラウマの記憶 仕組み解明 自然科学研究機構 マウスの脳実験で:毎日新聞 2023年10月7日（他に日経新聞、中日新聞、テレビ大阪、月刊『化学』、雑誌『Newton』など）（揚妻正和）
- ・最新脳科学 ドーパミンがあなたの行動を決めている「あきらめない」の正体:NewsPicks 2023年5月8日（磯村宜和）
- ・社交性の脳メカニズム解明に光:河北新報 2022年6月7日（他に科学新聞）（佐々木拓哉）
- ・精神症状 ストレスの記憶影響:河北新報 2023年5月27日（佐々木拓哉）
- ・迷走神経が脳活動と連動 情動に影響する内臓状態:科学新聞 2024年1月10日（佐々木拓哉）
- ・バナナなどのおい物質 脳細胞の働きすスメル効果 福島医大など研究チーム発表 記憶や運動機能改善:福島民報 2024年5月28日（他に福島民友新聞）（小林和人）
- ・脳を持たないクラゲ 信号物質で食欲調節:毎日新聞 2023年6月29日（他に日経新聞、河北新報）（谷本拓）
- ・実験用サル遺伝的多様性守る:読売新聞 2023年8月31日（郷康広）
- ・仲間見たくて、さえずり変える 小鳥 東北大の研究チーム発表:朝日新聞 2024年5月17日（他に河北新報、仙台放送）（安部健太郎）

## 11 研究費の使用状況・計画

研究領域全体を通じ、研究費の使用状況や今後の使用計画、研究費の効果的使用の工夫、設備等（本研究領域内で共用する設備・装置の購入・開発・運用、実験資料・資材の提供など）の活用状況について、総括班研究課題の活動状況と併せて具体的かつ簡潔に1頁以内で記述すること。

### 研究技術支援

本領域では、特に堀江班と郷班による遺伝子発現解析の研究技術支援に注力しており、初年度の研究費で1細胞マルチオミクス解析システム 10X Genomics Chromium を両班に1台ずつ設置し、郷班には自動分注システム epMotion 5073、堀江班にはセルソーター Sony SH800S も導入した。当時の半導体不足による納期遅れもあったが、今では計画班や公募班との連携協力にフル稼働している状態である（8.研究組織の連携体制）。この研究支援サービスを円滑化するために、博士号を保有し実験装置と解析手法に精通する専門オペレーター（堀江班2名・郷班2名）を配置してきめ細かく対応している（うち2名を総括班予算にて雇用）。両班には予め消耗品費を配分し、高額で使用期限の短い Chromium 用試薬キットを最適な時期に購入している。また藤山班に導入したマイクロエンドスコープ Mightex OASIS Implant は拡張性が高い in vivo イメージングツールとして、構造解析技術班としての形態解析と他の研究班の機能解析を結びつけるために有効活用している。計画班や公募班に各種ウイルスベクターや遺伝子改変マウス・ラットを供給する小林班は、総括班からの消耗品費（試薬代）の追加補充を受けて各班の要請に応えた研究関連ツールを迅速に提供している。

### 研究室滞在支援

本領域内の共同研究や連携協力を加速するために、相手先の研究室に滞在する旅費を総括班から支援する制度を運用している。2022年度は7名、2023年度は15名と積極的な利用実績を挙げている。

### 領域会議・学術集会

本領域の領域会議は年2回、春～初夏にはオンライン形式で半日開催し（第1,3,5回）、秋には3日間の日程で現地開催している（第2,4回）。そのうち第2回領域会議（2022年10月）は伊豆今井浜東急ホテル（静岡県）で開催し、計画班・公募班の研究参加者を中心に70名が参加して活発な研究報告と学術交流をおこなった。総括班からは会議室、スクリーン・プロジェクター、音響機器などの使用料などに支出した。また、毎朝・全員分のコロナ感染の検査キットを購入し、研究者の育児支援の観点から託児室も設けた。第4回領域会議（2023年10月）は淡路夢舞台国際会議場（兵庫県）で開催し74名が参加した。コロナ感染検査を省略したこと以外は前年同様に総括班から有効に支出した。第6回領域会議も淡路島での開催を予定している（2024年10月）。

また毎冬には学術変革領域研究(A)合同企画を実施しており、2022年にはオンラインでの[適応回路センサス][行動変容生物学]合同シンポジウム、2023年には[グリアデコード][臨界期生物学][適応回路センサス]合同シンポジウムを開催した。後者ではウェビナー運営の外部委託料を支出した。

本領域主催の国際シンポジウム（2023年2月埼玉県和光市）では、海外評価委員の Nenad Sestan 教授（Yale 大学）の招聘旅費を支出した。第45回日本神経科学大会（2022年7月沖縄）の共催シンポジウムでは Sandra Reinert 博士、第46回日本神経科学大会（2023年8月仙台）の共催シンポジウムでは Louis-Eric Trudeau、Stephanie Borgland、Yoland Smith、Ayano Matsushima、Taro Kitazawa 各博士の海外旅費を支出して招聘した。若手研究者向け合宿 ASCONE も共催し、講演者3名（毛内拓、近添淳一、濱口航介各博士）の謝金と交通費を支援した。その他の各種イベントにも、総括班は広報案内や参加登録や取次ぎなど有形無形の支援を実施している。

### 広報・アウトリーチ

本領域の活動は随時ホームページ (<https://ac-census.org/>) で発信しており、毎年ニュースレターも発行・送付している。これらは外部委託により効果的かつ効率的な広報活動を実現している。また一般公開シンポジウム（2023年3月）で招聘した講演者（西本伸志博士）の講演謝金やポスター印刷にも支出した。

### 事務局

本領域の事務局では事務員2名を時間雇用し、領域全体の円滑な事務調整や会計処理に従事している。

今後も全方位的な総括班活動を積極的に展開し、本領域の研究活動のアウトプットを最大化したい。

## 12 今後の研究領域の推進方策

研究領域全体を通じ、今後の本研究領域の推進方策について、「これまでの学術の体系や方向を大きく変革・転換させることを先導する」観点から、具体的かつ簡潔に2頁以内で記述すること。なお、記述に当たっては、今後実施する公募研究の役割を明確にすること。また、研究推進上の問題点がある場合や、国際的なネットワークの構築等の取組を行う場合は、その対応策や計画についても記述すること。

### 学術変革を先導する研究領域の推進方策

2021年秋に発足した本領域の活動も2年半が経過し、さまざまな脳機能の適応回路の仕組みを神経科学とトランスクリプトームの融合で理解するという学術変革の狙いに沿って、計画班と公募班の両方から研究成果が順調に挙がりつつある。特に<7. 研究発表の状況>に示すように、発表論文計171報には *Nat Methods* 誌1報、*Nat Ecol Evol* 誌1報、*Nat Commun* 誌20報をはじめとして、*Proc Natl Acad Sci USA* 誌9報、*Cell Report* 誌8報、*Sci Adv* 誌4報など高インパクト・ジャーナルの掲載論文が多数含まれていることは、本領域の活動が着実に成果につながっていることの証左である。本領域には超一流のスーパー研究者はいないものの、30代と40代を中心とする若手・中堅研究者が適応回路センサスの研究コンセプトを研究成果として具現化する主力になっていることを強調したい。

本領域の成功の鍵は「人的交流」と考えている。本領域の発足時(2021年秋)はCOVID-19パンデミック下で先行き不透明な社会情勢であったが、翌秋には公募班を迎えて対面3日間の領域会議(静岡県下田市)を敢行した。その翌年も日本神経科学学会(小林和人大会長)のサテライト企画(宮城県仙台市)や領域会議(兵庫県淡路島)で領域参加者の直接交流を図った。またZoomによるACC勉強会(隔週月曜日)やSlackによる情報交換の場も設けることで、オンラインでの効率的かつ継続的な交流も実施している。このような人的交流の試みは今後さらに強化して領域活動の一層の活性化につなげたい。

本領域の最大の特徴として、遺伝子解析促進委員会の連携解析実施班によるウェット・ドライ両面でのトランスクリプトーム解析支援が挙げられる。実際、<8. 研究組織の連携体制>に示すように、同支援を担当する堀江班と郷班は、いくつもの計画班や公募班と共同研究や連携協力を進めており、この学術変革領域があってこそその真の学際融合が実現しつつある。<9. 若手研究者の育成に係る取組状況>で紹介した、隔週でオンライン開催しているACC勉強会での実践的な情報交換や、堀江班の尾崎が開催した一細胞RNA-seqデータ解析のハンズオン講習会も、異なる研究室に所属する若手研究者向けの技術交流として学際融合の機運を後押ししている。このようなトランスクリプトーム解析支援や若手研究者の育成交流も引き続き手厚く推進していきたい。

一方、本領域の推進においてやや不足に感じることは、研究項目C02として適応回路センサスの理論的解析を担う公募班の体制が前期・後期続いて手薄なことである。これは理論系研究者からの応募が他項目と比べて低調だったことに起因するが、対応策としてC02計画班の島崎らが中心となって領域外を含む理論系研究者のコミュニティから適応回路センサスへの関心と協力を呼び込むこととしたい。

今後の全体方針として、まずはそれぞれの計画研究と公募研究の推進と、領域内の共同研究や連携協力の展開に取り組む。その過程を通じて、適応回路センサスに適する実験技術や解析技術の開発を支援し共有する。さらには生物種間での適応回路センサスの比較検証と一般化が視野に入ってくる。本領域はホヤに始まり、線虫、ショウジョウバエ、メダカ、キンカチョウ、マウス、ラット、マーモセットと多彩な生物種の適応回路が研究対象となっている。これらの対象回路の構造や機能の種間比較には、網羅的遺伝子発現プロファイルの詳細な情報が説得力を与える。このような学術変革の集大成として、日本神経科学学会の公式学会誌である *Neurosci Res* 誌から適応回路センサス特集号として計12報の総説論文を発行する予定で編集作業を進めている。さらに、<10. アウトリーチ活動に係る取組状況>で紹介した社会との接点を通じて、「適応回路センサス」という学問の大切さと面白さを発信していきたい。

以上、本領域ならではの研究の共通性と多様性を新たな学問の創出に有効に活かすことのできる方策を推進してゆきたい。

### 今後の総括班活動

本領域の総括班は、今後も引き続き、すべての計画研究班と公募研究班の研究課題の遂行と学術関連活動を総合的に支援していく。企画運営委員会(磯村委員長)は本領域全体の活動方針を決定し、事務局において総括班の予算と事務を適切に管理する。研究支援委員会(小林委員長)では、構造解析(藤山)、生理解析(佐々木、船水、磯村)、行動解析(佐藤(暢))、遺伝子改変(小林、松下)、数理・統計(島崎、

尾崎、田中) 各技術班が支援をおこなう。また研究室滞在支援制度で実践的な実験技術の習得を支援し、共同研究や技術共有を促進する。遺伝子解析促進委員会(郷委員長)は網羅的遺伝子発現解析のエントリーを促進するために特設する。そのうち、連携解析実施班(堀江、郷、尾崎、二階堂)は、生理学研究所/兵庫県立大学と大阪大学の二拠点にセルソーターや RNA-seq 装置とオペレータ技術員を配し、本領域内のトランスクリプトーム解析の支援を実施する。連携調整窓口(堀江、郷)は、連携解析実施班に加えて、他機関との連携や外注利用の橋渡しと経費の相談に乗る。若手研究支援委員会(佐々木委員長)は若手主体の勉強会や研究見学を支援する。国際活動支援委員会(下郡委員長)は国際シンポジウムを開催し、若手研究者の海外派遣を支援する。研究集会委員会(堀江委員長)は領域会議や研究会などの学術集會を定期的に開催する。広報委員会(藤山委員長)はホームページとニュースレターを通じた広報活動や一般公開シンポジウムの開催などのアウトリーチ活動を担当する。外部評価委員会は、渡辺雅彦教授(北海道大学)、狩野方伸教授(東京大学)、佐藤矩行教授(OIST)、海外アドバイザーの Nenad Sestan 教授(Yale 大学)から構成され、本領域の運営推進の評価と助言を仰ぐ。本領域の事務局(東京医科歯科大学内)は領域内の運営・事務業務を遂行する。

## 今後の公募研究の役割

本領域の公募班は前期・後期ともに 21 班が採択され、計画班 8 班とあわせて全 29 班 40 研究室の運営体制で推進している。そのうち前期から継続する公募班は、領域内の共同研究や連携協力の恩恵を受けて、トランスクリプトームと神経科学を融合する共同研究や連携協力が実現しつつある。発足当時から、「この領域がなかったら RNA-seq は試そうとも思わなかった」という神経科学者の声をよく聞いている。当初トランスクリプトーム解析はほぼ未経験だった公募班も、今では支援を受けて未発表データの蓄積が相当進んでいる状況になっている。引き続き総括班が支援することで、これらの継続班からの研究成果が後期に続々と生み出されるものと期待している。

さらに後期では公募班は 8 班が入れ替わり、今後の領域活動に新たな風を吹き込むことが期待される。新公募班の A01 項目 **船戸班**はマウスの視床下部が睡眠の性差を生み出す仕組みをトランスクリプトーム解析により解明することを目指す。B01 **内匠班**はバーチャルリアリティとイメージングを駆使して社会行動を担う神経回路の「ソーシャルセル」の役割に迫り、**武内班**は人工シナプスコネクターによる脊髄損傷後の機能回復に重要な回路構築を探る。すなわち A01 項目と B01 項目に睡眠、自閉症、脊髄損傷という生活や疾患に関連する研究が強化されたといえる。

残り 5 班は C01 項目として採択された公募班である。前期の公募研究では、適応回路センサスの技術開発を担う C01 項目と理論的解析を担う C02 項目の陣容が残念ながら手薄であった。このうち C01 項目が大幅に増強されたことにより、今後の領域内の共同研究や連携協力を新旧で活性化する相乗効果をもたらすであろう。具体的には、C01 **岸班**は FISH 法で染め分けた神経細胞分取法の開発による包括的エピゲノム解析を試みる。**小松班**はエピゲノム状態を FISH により可視化する独自イメージング技術を使って、1 細胞解像度での適応脳機能を担うゲノム領域およびエピゲノム制御の包括的理解に挑む。**今野班**は適応回路センサスに最適な高効率の順行性および逆行性越シナプス AAV ベクターを開発する。**高野班**はシナプス近傍分子群に対する近位依存性ビオチン標識(BioID)法を応用し、適応回路機能を制御する分子成分を網羅的に探索する時空間プロテオーム技術を開発する。**本田班**は組織局所の遺伝子発現情報を得る光単離化学(PIC)法を改良し、神経細胞の活動時の遺伝子発現とその制御情報を同時に抽出できる空間マルチプロファイリング技術の開発を目指す。新公募班の参画は、狭義のトランスクリプトームに留まらず、エピゲノムやプロテオームといった質的に異なるオミックス技術の多様性と拡張性を適応回路センサスにもたらすはずである。このような公募研究の研究対象と技術開発の充実は、適応回路センサスの学問創出の推進を一層加速するものと期待している。

## 研究推進上の問題点への対応

本領域の研究推進上の問題点として、前述のように C02 項目の適応回路センサスの理論的解析を担う研究体制がやや不足していることである。これは理論系研究者からの応募が奮わなかったことに起因するが、領域外を含む理論系研究者との共同研究や連携協力を勧奨する機会を増やして対応したい。また、他の学術変革領域研究(A)(B)や国内外の多様な研究者との学術交流も積極的に進めたい。



## 13 総括班評価者による評価

研究領域全体を通じ、総括班評価者による評価体制（総括班評価者の氏名や所属等）や本研究領域に対する評価コメントについて、具体的かつ簡潔に2頁以内で記述すること。

### 渡辺 雅彦（北海道大学 大学院医学研究院・教授）

本学術変革領域は、さまざまな脳機能の適応回路の仕組みを、神経科学とトランスクリプトームの融合で理解するという共通目標を掲げ、トップレベルの神経科学研究者と最先鋭の単一細胞 RNA-seq/バインフォマティクス専門家を結集し、そこに多くの若手・中堅の計画研究者を配し、前期21班・後期は8班が入れ替わる公募研究を採択して、国際的優位性と学際的融合性を有する研究組織として活動してきた。発足当初の2021年秋はCOVID-19パンデミックで困難な社会状況の下、領域会議や学会のサテライト企画、Zoomによる勉強会やSlackによる情報交換の場、単一細胞RNAseq解析技術・データ解析講習会、数理的アプローチ講習会などを積極的に開催して、若手研究者の育成と交流に努めてきた。その成果は、PNAS, Nat Commun, Commun Biol, Current Biol, Aging Cell等のトップジャーナルにすでに多数発表されている。本領域研究が開始してからの実質的な業績は今後後半に向けて結実することが期待され、その質と量ともに注目していきたい。また、計画研究間の連携体制は活発である一方、計画研究班と公募研究班との間の連携体制は一部にとどまる傾向があり、後半の領域研究で総括班が中心となって積極的に連携強化し、領域としての研究活動がより一層盛り上がることを期待する。アウトリーチ活動の積極的に実施している。研究項目C02の適応回路センサスの理論的解析を担う公募班への応募が少なく体制が手薄であるという点については、領域外を含む理論系研究者のコミュニティから本領域へ呼び込むことで改善を図る予定としている。

### 狩野 方伸（帝京大学 先端総合研究機構・特任教授）

本学術変革領域研究は、平成26～30年度に実施された新学術領域研究「行動適応を担う脳神経回路の機能シフト機構」（適応回路シフト）のコンセプトを発展させ、single cell RNA-seqやATAC-seq等のトランスクリプトーム解析技術を導入して、構成細胞の固有特性と挙動を“センサス的”に観測することで、適応回路の成り立ちを追求するしようというタイムリーな内容である。磯村宜和領域代表者を中心に、初期発達、感覚機能や運動機能の確立、加齢や疾患による障害とその修復・代償における神経回路のゆっくりとした変化を研究対象とするA01項目（堀江班、下郡班、藤山班）、行動学習、記憶、動機づけ、睡眠-覚醒の基盤をなす神経回路の変容を研究対象とするB01項目（磯村班、佐々木班、小林班）に加えて、本研究領域の要となる遺伝子発現プロファイリング技術開発・支援と包括的な理論的考証担当するC01/C02項目（郷班と島崎班）から構成されている。これに、それぞれ独自の実験系を対象に神経回路機能を研究する42件の公募研究を加えて、きわめて強力な研究グループを構成している。調整力に富む磯村領域代表のリーダーシップの下で、計画班および公募班の間の連携は極めて活発に行われている。既に39件の実質的な共同研究、技術共有、リソースの共有が行われている。この中から既に8編の共同論文作成に至っているのは、領域内の連携体制が極めて良好に機能していることを示している。特に、C01/C02項目の郷班と島崎班は多くの班員の研究をサポートし、共同研究を推進しており、本研究領域の狙い通りの実績を挙げている。これまで、計画研究代表者・分担者および公募研究代表者から、170編以上の査読付き英文雑誌への論文発表が行われており、この中にはNature Communications 20報（うち9編が主要著者論文）、Proc Natl Acad Sci 8報（うち5報が主要著者論文）、Cell Reports 8報（うち4報が主要著者論文）などのhigh profile journalに発表したものが含まれる。ポスドクや大学院生中心のオンライン勉強会をこれまで44回開催し、日本神経科学学会大会などの学会での若手中心のシンポジウム開催支援など、若手研究者育成の取り組みも極めて積極的に行われている。一般向けの公開シンポジウムの開催、ニューズレターの発行、新聞・メディアへの発表など、アウトリーチ活動も活発に行われている。以上、本研究領域は、これまでのところ順調に運営され、極めて多くの成果を挙げており、高く評価することができる。今後の更なる研究の発展を期待する。

## 佐藤 矩行 (沖縄科学技術大学院大学 OIST・教授)

本領域研究「神経回路センサスに基づく適応機能の構築と遷移バイオメカニズム」では、動物の環境変化などに適応する神経回路の形成と変化を、適応機能回路構築センサスおよび適応機能回路遷移センサスとして、その分子生物学的・細胞生物学的メカニズムを scRNA-seq 法を駆使して明らかにしようとする挑戦的なものである。生物科学では新しい技術の開発がその分野の進展を大きく促すということがしばしば起こる。scRNA-seq 法はその一つの例であろう。顕微鏡学的技術・電気生理学的技術などの長く歴史ある研究によって多くの知見の蓄積した脳・神経科学に、単一細胞遺伝子発現技術を導入し、この複雑な生命現象を別角度から、総合的な視点に立った理解を目指す。

本領域研究は(1)scRNA-seq という技術的核があること、(2) 主宰する総括班・計画研究班研究者が柔らかな頭脳を持った中堅研究者であること、(3) 公募班研究者も若手が多いこと、などの特徴が領域全体としての研究を進める原動力になっている。すでに多くの成果が着実に論文公表に結びつけられている。また領域代表者が「本領域の成功の鍵は人的交流と考える」と述べているように、多様なバックグラウンド・アプローチを持った研究者の交流と切磋琢磨が生まれており、今後に期待したい。一つの提案として、ある一つの現象・テーマを参加者全員で討論するような場を設けてみてはどうであろうか。

しかし一方で、この複雑な生命現象が本領域研究の成果だけで理解されるとはとても思えない。個人的には、本領域研究の表立った成果(論文発表など)もさることながら、scRNA-seq を導入した成果がこの大問題へのより高次元の研究・理解にどう繋がっていくのかに留意した研究の方向性をも模索して欲しい。その一つとして、本報告書に述べている「理論的解析を担う研究者の参画と理論的議論の活性化」は大切であろう。一般的に言って実験研究者の発想は幾分限られるようなところがある。方法論を異にした理論からの疑問・問いかけが、本領域の研究全体に刺激を与えてくれる可能性がある。

## Nenad Sestan (Yale School of Medicine, Professor)

With great enthusiasm, I present this mid-term evaluation report on the "Adaptive Circuit Census." I am Nenad Sestan, currently holding the esteemed position of the Harvey and Kate Cushing Professor of Neuroscience at Yale University, USA. Throughout this period, I have closely monitored the progress achieved by several leading scientists engaged in the research domain of "Adaptive Circuit Census." This transformative research project is dedicated to unraveling the intricate mechanisms governing the construction and evolution of neural circuits that underlie adaptive brain functions.

By combining advanced technologies for measuring and manipulating neuronal circuit activity with comprehensive gene expression analysis, the program has already made a significant progress and published many impactful studies in leading international journals at identifying these key circuits based on the intrinsic properties of their constituent cells and experimentally verify their causal relationships. Additionally, the program's principal investigators have brought the understanding of adaptive brain functions at a new level of detail by exploring theoretical operating principles. This research area has already made several very significant contributions to brain science, achieving many outstanding results. Key accomplishments include: Elucidating Neuronal Identity, Determining Motor Behavior Rhythms, Understanding Brain Circuit Operations, Linking Social Behavior and Brain Oscillations, Advancing Genetic Manipulation Techniques. These achievements are crucial for our understanding of brain science, as they have identified circuits responsible for adaptive brain functions and verified their causal relationships.

Looking ahead, I anticipate continued progress in identifying key circuits, verifying their causality, and exploring theoretical operating principles. This work will be facilitated by cutting-edge measurement and analysis techniques, as well as effective collaboration within the research group. This collaborative approach is expected to open new horizons and propel brain science research forward.

In conclusion, the "Adaptive Circuit Census" research area is poised to continue making groundbreaking discoveries. These discoveries will pave the way for future advancements in brain science and nurture the next generation of scientists.