

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 2 日現在

機関番号：14301

研究種目：新学術領域研究（研究領域提案型）

研究期間：2010～2014

課題番号：22115012

研究課題名（和文）多次元データに基づくメゾ回路のシステム同定法の開発

研究課題名（英文）Development of system identification methods of mesoscopic neurocircuitry based on multi-dimensional imaging data

研究代表者

石井 信（Ishii, Shin）

京都大学・情報学研究科・教授

研究者番号：90294280

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 55,700,000円

研究成果の概要（和文）：蛍光顕微鏡画像からの高精細三次元位置合わせ法とそれを用いた超解像法を開発し、マウス運動学習に伴うシナプス構造変化検出に適用した。ラットスライスの機能的多ニューロンカルシウムイメージングデータから、神経間あるいは神経-グリア間相互作用の同定を行う統計的手法を開発した。グリアの活動が大きくなるとその近傍のニューロンの発火率が高まることを示した。また、統計的手法をショウジョウバエ幼虫運動回路のカルシウムイメージングデータに適用し、前進・後退運動の中の異なるフェーズで活動する細胞クラスタがあることを見出した。

研究成果の概要（英文）：We developed a 3D image registration method and a super-resolution method, and applied them to detection of synaptic structure changes during mice motor learning. We also developed a functional connectivity analysis method to identify rats' neuron-neuron or neuron-glia networks based on functional multi-neuron calcium imaging. We found firing rate of neighboring neurons was elevated after glial activities increased. Similar functional connectivity analysis was performed on calcium imaging on fly larvae motor circuits, and we found there were neural clusters which exhibited different activity phases within larvae motor behaviors.

研究分野：計算神経科学、ニューロインフォマティクス、機械学習、画像処理

キーワード：システム同定 ベイズ推定 超解像 構造可視化 シミュレーション

1. 研究開始当初の背景

脳神経系の情報処理原理に迫るためには、多次元データに基づく精密なモデル化、計算機シミュレーションなどの計算論的アプローチが重要である。従来の神経科学が、神経系における階層ごと、条件ごとでの実験に基づく断片的な知識の集積であったこともあり、限られた状況においてのみモデル化研究が成功してきた。こうしたアプローチでは、モデルの大まかなパラメータは決められても、詳細なパラメータが決まらない。メゾ回路の情報処理の動態を知るためには、実際の実験系に対応するように、すなわち、「データ駆動型」でパラメータを決め、そのモデルを用いて回路動作およびその書き換え（可塑性）を再現する必要がある。計測技術の進展、およびスループットの向上により、メゾ回路を含めた脳神経系の大規模かつ長時間の計測が可能となってきたが、それらを解析する技術は未成熟であり、かつ解析に基づき未知パラメータを決定する数理解析手法は未開発である。一方で、近年の計算技術の急速な進展は、従来の画像処理、統計解析の世界を一変した。すなわち、統計的画像処理や、ベイズ法などの大規模計算に基づく精緻なモデル同定技術の出現である。こうした背景の下、本研究では、こうした数理解析技術を、神経系のモデル化に応用することで、メゾ回路の機能発現および可塑性に基づく環境適応機構の解明を目指した。

2. 研究の目的

本研究では、統計的画像処理やモデル同定技術などの数理解析技術を、神経系のモデル化に応用することで、メゾ回路の機能発現および環境適応機構の解明を目指した。具体的には、以下の具体的な項目の達成を目標に掲げた。

(1) イメージングデータに基づき、神経細胞におけるシナプス領域などの微細構造を三次元再構成する画像処理技術「神経超解像法」を開発する。また、モデルとデータとの統合により、局所分子活性化刺激と局所構造可塑との関係を追う手法を開発する。

(2) 神経スパイクやカルシウムイメージングデータに基づき、回路パラメータの同定を行う統計的推定技術（神経システム同定法）を開発する。

(3) メゾ回路に関わる複数種のデータを、モデルを用いて統合するモデルベースデータ同定手法を開発し、メゾ回路の経時変化を追うリバースエンジニアリングの汎用化を進める。

(4) メゾ回路の発現および環境適応のモデル化研究を行う。樹状突起および軸索などの形態変化に関する計算機シミュレーションとその解析を行うことで、メゾ回路の機能と可塑機構の理論化を進める。

3. 研究の方法

○神経超解像法の開発

以下の3つの技術課題に取り組むことで、神経超解像法の開発を進める。(1)これまでに開発してきたベイズ超解像法を、同一対象から複数枚の画像を得る状況での実体顕微鏡および共焦点顕微鏡からの画像に適用することで、高精細化を行う。神経細胞におけるシナプス領域などの微細構造を可視化することを目指す。(2)これまでに開発してきた三次元再構成技術を、神経細胞の微細構造などが可視化できるように拡張を行う。また、スパインやブートンなどシナプス構造の三次元可視化への適用を試みる。(3)上記の二つの技術をあわせることで、共焦点顕微鏡による画像スタックからの高精細三次元再構成を行う。神経スパイン、樹状突起のシャフト構造の可視化に応用する。また、ニューラルネットワークの一種であるコンボリユーションアルネットワークの適用も進める。この手法は電子顕微鏡画像からの神経構造再構成（コネクトーム）研究にも用いられたものであり、光学顕微鏡からのコネクトーム研究にも利用可能と思われる。これらは、領域内の松崎によるマウス神経細胞、能瀬によるショウジョウバエ運動回路をテストベッドとして開発を進める。また Kyonsoo Hong (米国 New York 大学) から提供される画像も用いる。

○神経システム同定法の開発

少数の神経細胞からなる回路において、タイムラプスイメージングデータからの解析により、神経間接続の強さなどの回路パラメータを推定するシステム同定法の開発を行う。池谷による機能的多ニューロンカルシウムイメージング(fMCI)データに適用し、海馬CA1領域における自発発火に潜む回路パラメータの推定を試みる。画像データの高精細化には神経超解像法を用いることができる。さらに、神経システム同定法の高スループット化を図り、長時間、かつ多点からのスパイクデータあるいはカルシウムイメージングデータに基づき、中から大規模な回路の結合性の変化を追えるようにする。また、神経システム同定法は統計的手法に基づくため、データのゆらぎに起因する推定間違いは不可避である。そのため、推定結果の信頼性の確保（偽陽性制御）を可能とする評価基準の確立を図る。

○形態変化モデルの構築とメゾ回路機能の理論化

メゾ回路の発現および環境適応のモデル化研究を実施する。樹状突起の形態変化の計算機シミュレーションとその理論的解析を行うことで、樹状突起における形態変化の計算原理に迫る。また、軸索などの形態変化に関する計算機シミュレーションを行う。これらにより、メゾ回路機能の理論化を進める。

4. 研究成果

近年の統計的画像処理や、ベイズ法などの精緻なモデル同定技術の出現に鑑みて、これらの数理解析技術を、神経系のデータ解析およびモデル化に応用することで、メゾ回路の機能発現および環境適応の原理の解明を目指した。そのために、共焦点顕微鏡や二光子顕微鏡のイメージングデータに基づき神経系の微細構造を三次元再構成する画像処理技術（神経超解像法）と、神経スパイクやカルシウムイメージングデータに基づき回路パラメータの同定を行う統計的推定技術（神経システム同定法）を開発してきた。また、それらを用いて、メゾ回路に関わる多次元データから回路機能の経時変化を追う手法の開発を進め、領域内共同研究によるデータに適用してきた。さらに、神経スパインの構造可塑性および神経軸索の走向方向決定のモデル化とその計算的解析により神経細胞の計算基盤と形態との関係に関する理論化を進めてきた。以下では、「3. 研究の方法」に記載した3つの研究トピックに分けて、それに関わる成果を報告する。

○神経超解像法の開発

三次元レーザースキャン型蛍光顕微鏡画像からの高精細三次元位置合わせ法とそれを用いた超解像法を開発した。本手法によれば、サブフレームレベルの位置合わせを行うことで、*in vivo* イメージング特有の観察試料のゆがみをある程度解消できるため、従来のフレーム間での位置合わせ法に比して、三次元再構成精度において向上を得ることができる。本手法は、麻酔下マウスの *in vivo* 二光子イメージングからの4次元データなどに適用を行い、結果としてスパインレベルでの活動の可視化ができるようになった。また、ベイズ法に基づき、サブピクセル位置合わせとデコンボリューションを同時に行う超解像アルゴリズムを開発(Kanemura, et al., 2010)し、アフリカツメガエル発達期神経回路構造に関する実体顕微鏡画像に適用した(Nishiyama, et al., 2011) (New York University, Hong 研究室との共同研究)。また、二光子顕微鏡画像からの神経スパインの高精細可視化に成功した(東京大学河西研究室との共同研究)。三次元回転不変特徴量を用いたスパインの画像からの自動抽出アルゴリズムを開発し、マウス神経の二光子顕微鏡画像からのスパイン抽出に適用した(基礎生物学研究所松崎研究室)。同様の手法を、ショウジョウバエ全脳回路の共焦点顕微鏡画像からのシナプス前構造体ブートの抽出に適用した。さらに、こうした画像処理技術の応用として、ショウジョウバエの脳全体にわたる共焦点顕微鏡画像に基づき、神経回路構造をトラッキングする手法を開発し、モノアミン(オクトパミン、ドーパミン)神経について脳全体にわたる神経回路構造を同定した(Skibbe, et al., 2015) (東京大学伊藤

研究室との共同研究)。

○神経システム同定法の開発

ラットの海馬 CA3 領域のスライスにおいて神経細胞とグリア細胞(アストロサイト)の活動を同時に計測した機能的多ニューロンカルシウムイメージングデータ(100Hz, 10分間)をテストベッドとして、神経間相互作用あるいは神経-グリア間相互作用の機能的なモデリングを行う統計的手法を開発した。まず、機能的多ニューロンカルシウムイメージングの時空間データには、ディスクスピンから来るアーチファクトがあるが、それを除去しつつ、個々の神経細胞(主に細胞体)およびそのスパイク活動に分離する時空間因子分析法を開発した(Takahashi, et al., 2011)。神経間相互作用については、プレシナプス細胞の活動がポストシナプス細胞に与える影響を応答関数としてモデル化する一般化線形モデルとそれに基づく機能的コネクトミクス法、また、そこで偽陽性制御を行うための経験ベイズ検定法を開発した。神経回路を模したシミュレーションによる評価によれば、従来しばしば用いられてきたグレンジャー因果検定法よりも安定かつ保守的な偽陽性制御ができることが分かった(Oba, et al., in revision)。また、神経-グリア間について多次元自己回帰モデルを導入した新しい機能的コネクトミクス法を開発し、さらに得られた機能的結合全体に対する妥当性評価のためのサロゲート法を開発した。上記の機能的多ニューロンカルシウムイメージングデータに適用した結果、グリアの活動が大きくなると、それに付随してその近傍のニューロンの発火率が高まることを示した。一方でニューロンの発火率が高まってもグリアには大きな影響がないことも分かった(Nakae, et al., 2014) (東京大学池谷研究室との共同研究)。こうした統計的手法をさらに、ショウジョウバエ幼虫の脊髄神経系のカルシウムイメージングデータに適用した。カルシウム活動の時間平均画像から、一部の細胞に対し人手によるラベリングを行い、それに基づきそれ以外の細胞を自動的に同定する手法を開発した。脊髄神経回路に特徴的である伝搬波について細胞レベルでの活動を特徴抽出するための手法を開発した。脊髄神経系では、伝搬波上で異なるフェーズを有する細胞クラスタがあり、クラスタ間ではフェーズが徐々にずれていくことで、神経回路全体として伝搬波を形成していることを見出した(東京大学能瀬研究室との共同研究)。

○形態変化モデルの構築とメゾ回路機能の理論化

樹状突起の計算原理の理解のため、樹状突起スパインにおける入力タイミング依存の構造可塑性について、スパイン内シグナル伝達モデルを構築した。特に、側坐核中型有棘細胞のスパインにおいて、神経入力、神経出力、

およびドーパミン入力の三種についてタイミング依存の構造可塑性が生じることを観察した実験データを説明するシミュレーションを達成した(Yagishita, et al., 2014)。シミュレーションにより、このタイミング依存構造可塑性が、動物が情動に駆動され素早く入力と出力の関係を学習するのに必要であることを示した(東京大学河西研究室との共同研究)。また、発達期の神経軸索の伸展方向を決めるのは、細胞外の誘因性物質が細胞内伝わり、誘導するカルシウムシグナルにおける上流および下流のクロストークである。この系の分子ネットワークのモデル化を進め、単細胞生物の細胞走性を特徴づける単方向性に比して、神経軸索の遊走を特徴づける双方向性が、カルシウムシグナルの下流に位置する興奮性・抑制性のシグナル伝達系における非線形相互作用に依存していることを理論的に解明し、また培養細胞を用いた実験によるサポートを得た(Naoki, et al., submitted)(New York University, Hong 研究室との共同研究)。

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 23 件)

Morioka, H., Kanemura, A., Hirayama, J., Shikauchi, M., Ogawa, T., Ikeda, S., Kawanabe, M., & Ishii, S. Learning a common dictionary for subject-transfer decoding with resting calibration. *NeuroImage*, **111**, 167-178. DOI: 10.1016/j.neuroimage (2015). 査読有。

Skibbe, H., Reiser, M., Maeda, S., Koyama, M., Oba, S., Ito, K., & Ishii, S. Efficient Monte Carlo image analysis for the location of vascular entity. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, **34**(2), 628-643. DOI:10.1109/TMI.2014.2364404 (2015). 査読有。

Kunkel, S., Schmidt, M., Eppler, J.M., Plesser, H.E., Masumoto, G., Igarashi, J., Ishii, S., Fukai, T., Morrison, A., Diesmann, M., & Helias, M. Spiking network simulation code for petascale computers. *Frontiers in Neuroinformatics*, **8**, 78. DOI: 10.3389/fninf.2014.00078 (2014). 査読有。

Yagishita, S., Hayashi-Takagi, A., Ellis-Davies, G.C.R., Urakubo, H., Ishii, S., & Kasai, H. A critical time window for dopamine actions on the structural plasticity of dendritic spines. *Science*, **345**(6204), 1616-1620. DOI:10.1126/science.1255514 (2014). 査読有。

Nakae, K., Ikegaya, Y., Ishikawa, T., Oba, S., Urakubo, H., Koyama, M. & Ishii, S. A statistical method of identifying interactions in neuron-glia systems based on functional multicell Ca²⁺ imaging. *PLoS Computational Biology*, **10**(11), e1003949. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1003949 (2014). 査読有。

Morioka, H., Kanemura, A., Morimoto, S., Yoshioka, T., Oba, S., Kawanabe, M., & Ishii, S. Decoding spatial attention by using cortical currents estimated from electroencephalography with near-infrared spectroscopy prior information. *NeuroImage*, **90**, 128-139. DOI: 10.1016/j.neuroimage. (2014). 査読有。

Takahashi, N., Oba, S., Yukinawa, N., Ujita, S., Mizunuma, M., Matsuki, N., Ishii, S., & Ikegaya, Y. High-speed multineuron calcium imaging using Nipkow-type confocal microscopy. *Current Protocols in Neuroscience*, **2**, Unit2.14. DOI:10.1002/0471142301.ns0214s57 (2011). 査読有。

Nishiyama, M., Togashi, K., von Schimmelmann, M. J., Lim, C.-J., Maeda, S., Yamashita, N., Goshima, Y., Ishii, S., & Hong, K. Semaphorin 3A induces Ca(V)_{2.3} channel-dependent conversion of axons to dendrites. *Nature Cell Biology*, **13**(6), 676-685. Doi: 10.1038/ncb2255 (2011). 査読有。

Toriyama, M., Sakumura, Y., Shimada, T., Ishii, S., & Inagaki, N. A diffusion-based neurite length-sensing mechanism involved in neuronal symmetry breaking. *Molecular Systems Biology*, **6**(1), 394. DOI: 10.1038/msb.2010.51 (2010). 査読有。

Kanemura, A., Maeda, S., & Ishii, S. Sparse Bayesian learning of filters for efficient image expansion. *IEEE Transactions on Image Processing*, **19**(6), 1480-1490. DOI>10.1109/TIP.2010.2043010 (2010). 査読有。

[学会発表](計 35 件)

Ishii, S. Reverse engineering-based methods for elucidating functions of neural systems. Neuroscience 2014, 2014.9.11-9.13, パシフィコ横浜(神奈川県横浜市), (招待講演)

Skibbe, H., Reiser, M., & Ishii, S. Efficient Metropolis-Hasting image analysis for the location of vascular entity. 36th German Conference on Pattern Recognition, Lecture Notes in

Computer Science, 2014.9.2-9.5, Munich(Germany)

Ishii, S. A system identification-based approach to neural systems. Nagoya International Symposium on Neural Circuit, 2014.3.24, 名古屋大学(愛知県名古屋市), (招待講演)

石井信. 画像処理に基づく生命システム同定. 第36回分子生物学会ワークショップ, 2013.12.6, 神戸国際会議場(兵庫県神戸市), (招待講演)

Ishii, S. System identification of cellular information processing. IEEE-EMBC Workshop on Systems Biology of Cellular Signaling, 2013.7.3, 大阪府立国際会議場(大阪府大阪市), (招待講演)

Kouno, M., Nakae, K., Oba, S., & Ishii, S. Microscopic image restoration based on tensor factorization of rotated patches. International Symposium on Artificial Life and Robotics, 2012.1.20, B-Con PLAZA (大分県別府市)

Aki, S., Oba, S., Nakae, K., & Ishii, S. A sparse regression method to estimate neuronal structure from spike sequence. International Symposium on Artificial Life and Robotics. 2012.1.20, B-Con PLAZA (大分県別府市)

Tanaka, T., Maeda, S., & Ishii, S. Motion compensated X-ray CT algorithm for moving objects. International Conference on Machine Learning and Applications, 2011.12.20, Honolulu(The United States of America)

Ishii, S. Modeling and simulations of neuronal morphology. Neuroinformatics 2011, 2011.9.5, Boston(The United States of America), (招待講演)

〔図書〕(計1件)

本田直樹, 山尾将隆, 石井信. 細胞運動のシステム同定. 生体の科学. 公益法人金原一郎記念医学医療振興財団 / 医学書院, 385-526(468-469), (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 :
出願年月日 :
取得年月日 :
国内外の別 :

〔その他〕

ホームページ等

研究代表者 (石井信) ホームページ
<http://ishiilab.jp/member/ishii/publications/>

報道関連情報

中日新聞(2015年1月7日)「家電操作に役立つ脳研究のリーダー」

<http://iryuu.chunichi.co.jp/article/detail/20150107163122736>

アウトリーチ活動

SNSS(システム神経生物学スプリングスクール)

- ・ SNSS2011(2011年3月11日~3月14日)
<http://ishiilab.jp/SNSS/SNSS2011/ja/>
- ・ SNSS2012(2012年3月6日~3月9日)
<http://ishiilab.jp/SNSS/SNSS2012/jp/>
- ・ SNSS2013 (2013年3月9日~3月12日)
<http://ishiilab.jp/SNSS/SNSS2013/>
- ・ SNSS2014 (2014年3月6日~3月9日)
<http://ishiilab.jp/SNSS/SNSS2014/jp/>
- ・ SNSS2015 (2015年3月5日~3月8日)
<http://ishiilab.jp/SNSS/SNSS2015/jp/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

石井 信 (ISHII, Shin)
京都大学 大学院情報学研究科・教授
研究者番号 : 90294280

(2)研究分担者

()

研究者番号 :

(3)連携研究者

大羽 成征 (OBA, Shigeyuki)
京都大学 大学院情報学研究科・講師
研究者番号 : 80362838

前田 新一 (MAEDA, Shinichi)
京都大学 大学院情報学研究科・助教
研究者番号 : 20379530

吉本 潤一郎 (YOSHIMOTO, Junichiro)
沖縄科学技術大学院大学・研究員
研究者番号 : 10403346

作村 諭一 (SAKUMURA, Yuichi)

愛知県立大学 情報科学部 情報科学科・准
教授
研究者番号：50324968