

令和 3 年 4 月 17 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：2016～2020

課題番号：16H06529

研究課題名（和文）生後脳神経新生を介した「個性」創発機構

研究課題名（英文）Individuality caused by postnatal neurogenesis

研究代表者

今吉 格（Imayoshi, Itaru）

京都大学・生命科学研究科・教授

研究者番号：60543296

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 66,700,000円

研究成果の概要（和文）：げっ歯類モデル動物を用いて、個性を研究するための行動解析装置の開発に加えて、データマイニング技術を導入し、空間学習課題遂行中のマウス行動パターンの微細変化を解析する技術を開発し、学術論文発表した。また、生後脳ニューロン新生が嗅覚神経回路に与える影響を明らかにして、学術論文発表した。加えて、脳の発生・発達・成熟過程に介入する実験手法として、遺伝子発現の新規光制御技術の開発を行った。また本手法を用いて、マウス脳・海馬における神経幹細胞のニューロン新生を光操作し、生後脳ニューロン新生に摂動を与える新規実験手法の確立に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

動物行動の多様性は、人間社会においては個性として健在しており、その背景にある神経基盤の理解や、創発機構については着目が集まっている。本研究課題においては、マウスをモデル動物を用いて、生後脳ニューロン新生と個性創発機構の関係について、その一旦を明らかにすることができた。また、生後脳ニューロン新生に摂動を与える技術の開発にも成功し、今後の、個性創発機構の研究の重要な手法になると期待されるとともに、脳神経系の再生医学研究への発展についても期待される。

研究成果の概要（英文）：In rodent animal models, we developed behavior monitoring systems to analyze individuality. We introduced data mining technology and applied it to mice behaviors in spatial learning and memory tasks. We also showed that adult neurogenesis in the olfactory bulb is essential for plasticity in the olfactory-related brain circuit. In addition, we optimized light-controllable gene expression systems and showed this system can control postnatal/adult neurogenesis in the hippocampus.

研究分野：ニューロン新生

キーワード：個性創発 ニューロン新生 神経幹細胞 光遺伝学

### 1. 研究開始当初の背景

動物実験モデルとして使用されている近交系のマウスやラットにおいても、個体ごとに個性があるという事実、実験者は日々の実験、研究活動の中で直面している。近交系の実験マウス・ラットは、遺伝的に均一であり、ほぼすべての遺伝子は同一であると考えられる。そのような近交系の実験マウスを、しかも、同じ父親・母親に由来する同腹子マウスを用いた場合でも、それぞれのマウスは代表値(平均値や中間値)からのズレを示す。従来、動物行動学や行動薬理学の研究分野では、ズレをノイズと見なし、実験マウス群の代表値と、それらの統計的有為差に意味を見出して来た。そのため、『代表値からのズレに、それぞれのマウスの個体差を生み出すメカニズムが内包されている』、という観点で研究が行われてきた事例は非常に少ない。さらには、行動実験のスコアとして、古典的に使用されている行動指標の数値は同じであっても、それぞれのマウスのより微細な行動パターンに着目すると、質的に異なる行動要素が内在している、という状況を多くの実験者は経験している。具体的な例では、記憶・学習課題において、学習の習熟度や記憶の固定化度合いを示す指標はほぼ同じであっても、その課題を学習するためにマウスがとる戦略は複数パターンあり、また、記憶の想起に使用していると考えられる手がかりは個々のマウスによって大きく異なっている。すなわち、古典的な評価指標では、一見同じような能力や特性を持つと評価されたマウス個体間でも、実は要素レベルの行動・振る舞いでは、個々のマウスによって多種多様な個性が内包されており、その個性を創発する脳神経回路基盤にも揺らぎが存在していると考えられた。

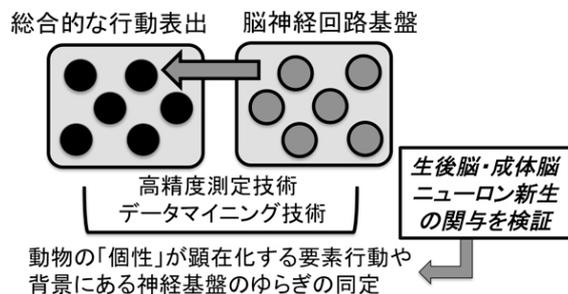
近年の分子遺伝学、発生工学技術の急速な発展により、脳神経系の発生・発達メカニズムについて多くの知見が得られて来た。特に、遺伝情報により先天的に規定された脳の設計図については、様々な重要遺伝子の同定や機能解析を通じて、その大枠は理解されつつあると言っても過言ではない。また、環境からの感覚刺激入力を中心に、どのような外部入力が脳神経回路の成熟に寄与するのか、という研究も精力的に進められている。そのような状況で、脳の設計図や外部入力の揺らぎが、どのように動物の個性を生み出し得るのか?という問題は、脳の発生・発達・可塑性の研究分野における次なる主要な研究テーマであると考えられた。

### 2. 研究の目的

実験データの平均値の統計的有為差に重きを置き、個々のデータの平均値からのズレが持つ潜在的意味には目をつぶって来たという歴史的背景を鑑みると、動物の個性をどのように科学的に評価・検証していくのか?という問題は容易では無く、新たな評価手法・方法論が必要であることは明白である。近年、計測機器の高精度化、小型化や低侵襲化の著しい進歩に伴い、動物の行動実験や脳活動の計測実験から得られるデータ量は飛躍的に増加している。また、ビッグデータを扱うデータマイニングの重要性の理解が進み、情報科学者・技術者が脳科学研究のデータを扱う下地は整いつつある。研究対象としては先延ばしにされてきた「個性」という動物の性質を、発生生物学者・神経科学者・心理学者や情報科学者が共同し、科学的に検証できる状況が到来していると考えられた。

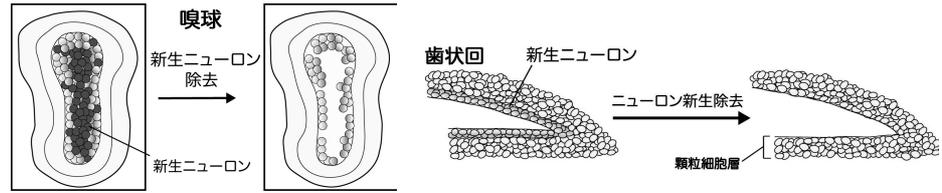
本研究課題では、マウス・ラットを実験モデル動物に使用し、げっ歯類モデルで個性を研究するための方法論の開発を行った。認知・行動的表出としての個性の表現型に加えて、背景にある神経生物学的基盤を測定・評価する方法論を開発し、それらの多変量解析、ネットワーク解析等を通じて、個性創発のメカニズムを検証できるような研究手法の確立を目指した。また、ヒトを対象とした実験心理学や精神病理学研究で用いられている行動課題や、神経活動測定法の中で、マウス・ラットにも適応可能なものを選定・改良し、げっ歯類モデルで得られた実験結果や作業仮説が、ヒトを含めた他の動物の個性創発にも一般性を持って当てはまるのかについて検証を行った。

また、生後発達期における脳の発達・成熟に寄与し、個性創発のメカニズムとして関与し得る脳の性質として、ニューロン新生という現象に着目した。ニューロン新生は、生後脳・成体脳においても脳内に内在する神経幹細胞から新しいニューロンが生まれ、神経回路に組み込まれるという現象である。既存のニューロンの神経接続の変化や可塑的变化に加えて、脳神経回路を構成する素子であるニューロンそのものが、生後脳でも新たに産生・追加されるという現象は、脳の可塑的性質の端的な現象として知られている。研究代表者は、生後脳・成体脳でのニューロン新生に早くから着目し、その機能的意義の一端を明らかにして来た。本研究課題では、生後脳でのニューロン新生に着目し、生後発達期の脳の変化がどのように個性創発につながるのか?というメカニズムを検証する。また生後発達期に限らず、ニューロン新生は一生涯続く脳の可塑



的性質であるため、同一個体の個性の経時的変化にニューロン新生がどのように関係しているのか？について検証を行った。

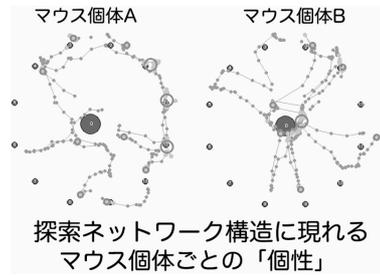
### マウス嗅球と海馬・歯状回における神経細胞



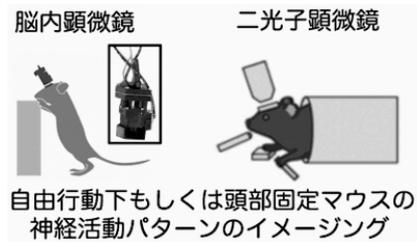
### 3. 研究の方法

マウス・ラットなどのげっ歯類モデル動物を用いて、個性を研究するための方法論の開発を行った。行動解析装置の開発に加えて、データマイニング技術を導入し、それぞれの実験動物の要素行動及びそれらの間の関係性を抽出することで、個性を顕在化させるためのプラットフォーム構築を行った。さらに、脳内顕微鏡や二光子顕微鏡を用いて、個性創発の神経生物学的基盤を研究するための計測技術の最適化を行った。

種々の行動解析実験において、これまで古典的に用いてこられた評価指標に内包される、より微細な要素行動の定量化を可能にする技術を確立を試みた。空間・記憶学習課題であるバーンズ迷路課題の学習過程や判定試験時のデータに対して、学習ストラテジーの解析や、ネットワーク解析という手法を導入する事で、一見同じような学習成績であると判定されたマウス個体間においても、様々な差異が内包されている事を明らかにした。例えば、迷路のゴールに到達するまでに個々のマウスが示す空間探索ストラテジーや、探索ネットワークを構成する様々な指標には、各マウスの「個性」と言える違いが顕在化してくる事が明らかになった。例えば、空間探索の際にマウスが頻繁に立ち寄るハブとして定義される座標と、迷路探索のランドマークとの空間的位置関係は、マウスによって個性があり、ランドマークに物理的に近い場所をハブとして迷路探索を行う個体もいれば、遠い場所にハブを形成して、迷路探索を行う個体もいる。この例のように、データマイニング技術を行動解析データに適用することで、既存の古典的な行動指標に内包される、様々な行動要素が、個々の動物の個性として検出されてくる事が明らかになった。加えて、これらの要素行動は定量比較可能な数値データとして算出されるために、多変量解析を通じて、脳の神経活動や遺伝子発現などとの相関を、定量的に解析する事が可能になった。本研究課題では、バーンズ迷路課題に加えて、8方向放射状迷路試験(8-arm radial maze test)、オペラント学習課題(匂いと報酬の関連学習)、恐怖条件付け課題を、個々の動物の個性がより顕在化するような実験環境として改良し、それぞれについてデータマイニング技術を駆使し、様々な要素行動を数値化できるようなプラットフォームを構築した。



また、上記の行動実験のデータ解析から明らかになる要素行動を制御する脳内メカニズムを解析するために、脳内顕微鏡や二光子顕微鏡を用いた神経活動パターンの解析を行った。研究代表者らの研究グループは、GCaMP プローブを脳のニューロンに発現させた覚醒マウスの神経活動イメージング技術を有している。自由行動下にあるマウスに対しては、Inscopix 社の脳内顕微鏡である nVista を用いることで、頭部固定マウスに対しては二光子顕微鏡を用いることで、高精度に神経活動パターンのイメージングを行った。行動タスク遂行中の神経活動パターンのイメージングデータに対しても、データマイニング技術を適応し、特定の要素行動に相関する神経活動パターンを探索することで、行動レベルでの個性表出の神経回路基盤の同定を試みた。



### 4. 研究成果

げっ歯類モデル動物を用いて、個性を研究するための行動解析装置の開発に加えて、データマイニング技術を導入し、空間学習課題遂行中のマウス行動パターンの微細変化を解析する技術を開発し、学術論文発表した(Suzuki & \*Imayoshi PloS One 2017)。また、生後脳ニューロン新生が嗅覚神経回路に与える影響を明らかにして、学術論文発表した(Li et al., eLife 2018)。加えて、脳の発生・発達・成熟過程に介入する実験手法として、遺伝子発現の新規光制御技術の開発を行った(Yamada et al., Cell Rep 2018; Yamada et al., iScience 2020)。また本手法を用いて、マウス脳・海馬における神経幹細胞のニューロン新生を光操作し、生後脳ニューロン新生に摂動を与える新規実験手法の確立に成功した(Sueda & \*Imayoshi et al., Genes Dev 2019)。

取得した行動解析と神経活動イメージングデータの解析を継続しており、動物の個性を反映する行動パターンの抽出や、その背景にある神経基盤の解析を実施している。また、得られたデー

タの数理モデル解析とともに、光遺伝学的手法の適応を拡張し、個性創発メカニズムの作業仮説の検証を継続しており、まとまった成果が得られ次第、論文発表を実施する計画である。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Sueda, R., *Imayoshi, I. (equal contribution), Harima, Y., and *Kageyama, R.	4. 巻 33
2. 論文標題 High Hes1 expression and resultant Ascl1 suppression regulate quiescent versus active neural stem cells in the adult mouse brain.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Genes Dev	6. 最初と最後の頁 511-523
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1101/gad.323196.118	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 *Imayoshi, I., Tabuchi, S., Matsumoto, M., Kitano, S., Miyachi, H., *Kageyama, R. and Yamanaka, A.	4. 巻 10
2. 論文標題 Light-induced silencing of neural activity in Rosa26 knock-in and BAC transgenic mice conditionally expressing the microbial halorhodopsin eNpHR3.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 3191
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-59984-3.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Kobayashi, T., Piao, W., Takamura, T., Kori, H., Miyachi, H., Kitano, S., Iwamoto, Y., Yamada, M., Imayoshi, I., Shioda, S., Ballabio, A. and Kageyama, R.	4. 巻 10
2. 論文標題 Enhanced lysosomal degradation maintains the quiescent state of neural stem cells.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nat Commun.	6. 最初と最後の頁 5446
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-019-13203-4.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Yamada, M., Nagasaki, C.S., Ozawa, T. and *Imayoshi, I.	4. 巻 152
2. 論文標題 Light-mediated control of gene expression in mammalian cells.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neurosci Res.	6. 最初と最後の頁 66-77
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-019-13203-4.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Yamada Mayumi, Suzuki Yusuke, Nagasaki Shinji C., Okuno Hiroyuki, Imayoshi Itaru	4. 巻 25
2. 論文標題 Light Control of the Tet Gene Expression System in Mammalian Cells	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 487 ~ 500.e6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2018.09.026	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Li Wankun L, Chu Monica W, Wu An, Suzuki Yusuke, Imayoshi Itaru, Komiyama Takaki	4. 巻 7
2. 論文標題 Adult-born neurons facilitate olfactory bulb pattern separation during task engagement	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 eLife	6. 最初と最後の頁 e33006
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7554/eLife.33006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Yamada Mayumi, Nagasaki Shinji C., Suzuki Yusuke, Hirano Yukinori, Imayoshi Itaru	4. 巻 23
2. 論文標題 Optimization of Light-Inducible Gal4/UAS Gene Expression System in Mammalian Cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 101506 ~ 101506
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2020.101506	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計10件 (うち招待講演 10件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 今吉 格
2. 発表標題 神経幹細胞の制御機構 と生後脳ニューロン新生
3. 学会等名 第21回 京都大学・生命科学研究科シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2019年 ~ 2020年

1. 発表者名 今吉 格
2. 発表標題 遺伝子発現の光操作技術 と神経幹細胞研究への応用
3. 学会等名 Chemistry For Neuroscience 2019 (招待講演)
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 今吉 格
2. 発表標題 Regulatory mechanism of neural stem cells revealed by optical manipulation of gene expressions
3. 学会等名 ExCELLS若手リトリート (招待講演)
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 今吉 格
2. 発表標題 Regulatory mechanism of neural stem cells revealed by optical manipulation of gene expressions
3. 学会等名 第17回幹細胞シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2018年～2019年

1. 発表者名 今吉 格
2. 発表標題 Regulatory mechanism of neural stem cells revealed by optical manipulation of gene expressions
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2018年～2019年

1. 発表者名 今吉 格
2. 発表標題 海馬生後ニューロン新生の破綻と発達障害との関係について
3. 学会等名 発達障害研究所公開セミナー 2016 (招待講演)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 今吉 格
2. 発表標題 遺伝子発現動態の光操作から明らかになる神経幹細胞の制御機構
3. 学会等名 第94回日本生理学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 今吉 格
2. 発表標題 Regulatory mechanism of neural stem cells revealed by optical manipulation of gene expressions
3. 学会等名 第11回新潟大学脳研究所共同研究拠点国際シンポジウム (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 今吉 格
2. 発表標題 Toward understanding and manipulation of neural bases underlying animal behaviors and psychiatric diseases
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会シンポジウム (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 今吉 格
2. 発表標題 発生発達期暴露による嗅球神経新生影響～毒性評価としての嗅球利用を探る～
3. 学会等名 第47回日本毒性学会学術年会（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2020年～2021年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 Cry2-C1B1システムを用いたTetシステムの光制御手法	発明者 今吉格、山田真弓、 鈴木裕輔	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2018-163617	出願年 2018年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関