

令和 6 年 6 月 25 日現在

機関番号：12602

研究種目：学術変革領域研究(B)

研究期間：2021～2023

課題番号：21H05135

研究課題名（和文）大規模多重神経活動記録による脳全体性の解明

研究課題名（英文）Large-scale neural activity recordings and a holistic understanding of the brain

研究代表者

平 理一郎（Hira, Riichiro）

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・准教授

研究者番号：80712299

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 27,300,000 円

研究成果の概要（和文）：本研究では大脳皮質・大脳基底核・小脳・上丘の多重記録・制御の技術開発とともに、これを覚醒動物に適用することでシステム生理学を進めた。ファイバーフォトメトリを用いたドーパミン濃度の測定の実験系を樹立し線条体のドーパミン濃度を計測した。オペラント行動における報酬応答の線条体内局在を発見した。Neuropixels多点電極とカスタム制作の多点光刺激システムを組み合わせることで大脳皮質を刺激した時の基底核・小脳・上丘の計測を行った。これによって脳の広域ループ構造間の同期機構を解明した。Diesel2pメソスコープを開発し、広視野2光子カルシウムイメージングを実現した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では神経伝達物質特異的な蛍光観察法、Neuropixels多点電極とDiesel2pメソスコープによる脳深部構造と大脳皮質の多領域を含む大規模活動記録、光遺伝学による大脳皮質の多点刺激法の開発により、大脳皮質・大脳基底核・小脳・中脳を観察・制御下においた多重記録実験を構築し、脳の全体性原理の理解を進めることができた点で学術的意義がある。また、ドーパミンの基底核における役割はパーキンソン病などの病態解明に繋がらう、脳の広域ループ構造間の同期機構の解明は精神疾患の病態解明の新しい視点を提供する意味で、社会的な意義がある。

研究成果の概要（英文）：In this study, we developed techniques for multiple recording and control of the cerebral cortex, basal ganglia, cerebellum, and superior colliculus, and applied these techniques to awake animals to advance systems neurophysiology. We established an experimental system for measuring dopamine concentration using fiber photometry and measured it in the striatum. We found striatum-location dependent dopamine dynamics during a reward-related task. By combining Neuropixels multi-point electrodes and a custom-made multi-point optical stimulation system, we measured neurons in the basal ganglia, cerebellum, and superior colliculus when the cortex was stimulated. We found a synchronization mechanisms of these structures. A Diesel2p mesoscope was developed for wide-field two-photon calcium imaging.

研究分野：脳神経系

キーワード：大規模計測 2光子カルシウムイメージング 電気生理学 ドーパミン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

領野特異的機能は大脳皮質の際立った特徴であり、ペンフィールド(Penfield, Boldrey 1937)以降の神経科学はこの機能局在説がドグマとなっている。平は頭部固定マウスの行動課題システムを独自に構築し(Hira et al., 2013;2014;2015)、眼窩前頭皮質(OFC)、二次運動野(M2)、一次運動野(M1)、視床 VM 核および VL 核を 2 光子カルシウムイメージングによって可視化する研究を行い、価値と運動の情報表現を明らかにしてきた。また、後頭頂皮質(PPC)およびその周辺領域の 1 万細胞程度を新規の広視野顕微鏡(Yu, Stirman, Yu, Hira, Smith bioRxiv 2020)を用いて 2 光子イメージングすることで、作業記憶が PPC の吻側で、視覚情報と行動の連合が PPC の尾側で処理されていることを見出した(論文準備中)。一方、一つの領域あたり数千細胞の神経活動を丹念に調べると、いずれの連合野にも別の連合野の特徴的な神経活動がわずかに含まれることも明らかになった。このことは、連合野が高次情報を全体で共有していることを意味し、機能局在的な見方に反する。さらに興味深いことに、この一連の研究で、連合野には他の領域の情報をルーティングしている領域と、文脈情報を脳全体にブロードキャストしている領域が存在することがわかってきた。このことは脳の領域間情報共有には、トップダウン-ボトムアップといった階層的関係以上の多様性があることを示唆している。こうした新しい領域間協調性の発見は、単一細胞の解像度を維持しながら多領域の活動を同時に観察する手法を用いることで初めて見出されたものであり、機能局在というドグマを打ち破る潜在性がある。

2. 研究の目的

脳は多様な領域・領野が協調的に動作するために、全領域に通底する基盤的情報が存在し、脳全体の統一性を維持するメカニズム(単位体性)がその背後にあると考えられる。また、大脳だけでなく、基底核や小脳にも高次情報が見出されていることから、重複した表現間の整合性を維持する機構が問題となる。さらに、動物の発達と生涯の経験や学習に注目すると、長いスパンでの脳機能の持続的発展は、情報を他の領域に転送したり汎用性のある情報を一般化して他の脳領域で使いやすくしたりすることで、脳全体が情報複合体となることで初めて成立すると考えられる。本研究課題では、脳の大規模かつ多重記録方法の開発によって、これら全体性原理について問う。具体的には、大脳皮質・基底核・小脳・視床における高次機能を司る領域をターゲットに、高次領野間の連携機構(全体性原理)を解明することを目的とする。領域・領野間の情報通信は課題の必要に応じて生成され、状況依存的に活動として現れると考えられる。したがって、その全貌を明らかにするためには、多数の高次脳領域の同時慢性的な記録方法に加え、高次脳領域間の投射細胞の同定(コネクトーム)が必要である。こうした全体性理解のための技術的課題の解決も、本研究の目的である。さらに、このような多様かつ多重なデータを統合するために全脳スケールのシミュレーションと統合するための実践的方法論を構築する。

3. 研究の方法

A01-1. 大規模多重記録制御法の開発：世界最大視野の 2 光子顕微鏡(Yu et al., 2020)を基盤としてこれにさらなる開発を加え、1 個体から 10 万細胞同時記録(のべ 200 万細胞)を可能とする。多点ファイバーフォトメトリ法を開発することで、ドーパミンやアセチルコリンなどの神経伝達物質の多領域相関を可視化する。Neuropixels プローブによって 2 光子顕微鏡でアクセスできない小脳や脳深部の神経活動を高密度に記録する。これら 3 つの計測方法を同一個体に同時適用することで、のべ 200 万細胞の 2 光子 Ca イメージング(大脳)、ドーパミンとアセチルコリン濃度ののべ 100 点記録(大脳基底核)、のべ 10000 細胞の電気生理記録(小脳・視床)、を行い、領域・領野間相互作用を詳細に明らかにする。これらの大規模多重記録法は A02 堤とも連携

し多彩な認知行動課題を訓練した動物や精神疾患モデル動物に適用する。

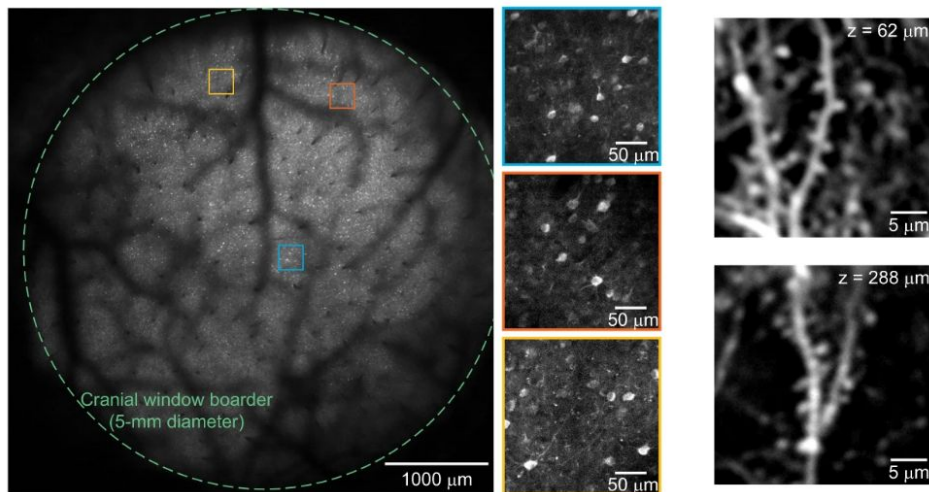
A01-2. AI 複合型閉ループライブコネクトームシステムの開発: 2 光子顕微鏡の視野を多重化し、ある視野で細胞体を記録し、他の視野で軸索活動を時空間的に追跡することが可能である。このライブコネクトームシステムにより、大脳皮質領野間の投射構造を単一軸索解像で明らかにする。また、大脳をスキャン光遺伝学刺激によって刺激し、記録細胞との多シナプス機能マップ(伝達遅延を含む)を単一細胞解像で明らかにする。これらの方法を A01 と同一動物に適用し、大規模多重記録に単一細胞コネクトーム情報を付与することで、A03、A04 の大規模シミュレーションの拘束条件とする。

A01-3. 回路トポロジーとダイナミクスによる大規模シミュレーションへの統合: 課題の学習中・逆転学習・再学習において A01-1,2 の多重計測技術を慢性的に適用する。多領域に通底する情報や、情報の転送の仕組みを明らかにし、大規模シミュレーションで検証する。大規模データとシミュレーションの比較を容易とする Viewer を作成、公開する。

4 . 研究成果

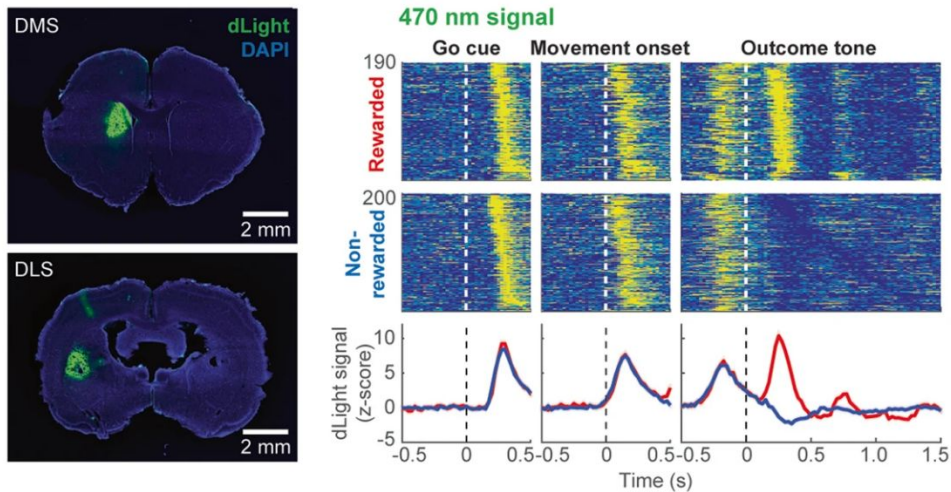
A01-1. 大規模多重記録制御法の開発

Diesel2p メズスコープの製造に関する論文を発表した(Yu et al., 2021 Nat. Commun.)。この顕微鏡は図に示すように 5mm x 5mm(対角線方向で約 7mm)の視野を有しており、拡大するとシナプス後部構造スパインの解像度を有している。我々はこの顕微鏡を日本で再設計し日本企業の技術で製造することに成功し、広視野 2 光子カルシウムイメージングを実現した(学会発表: 今村ら、2023 日本生理学会; 平ら 2021 日本神経科学学会)。



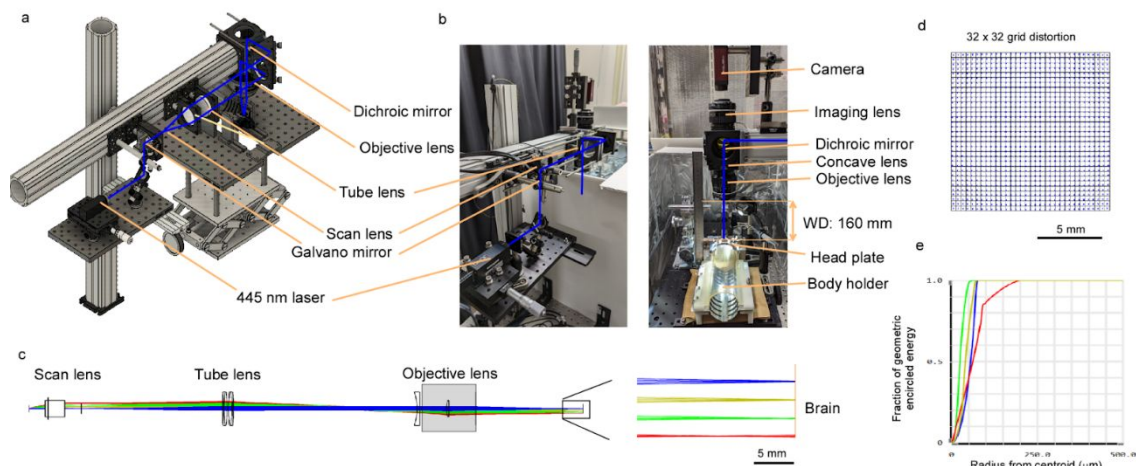
左、GCaMP6s 遺伝子導入マウス的大脑に直径 5mm のガラス窓を付け、Diesel2p を使って 2 光子カルシウムイメージングを行った。右、Thy1-GFP 遺伝子導入マウス的大脑皮質 5 層錐体細胞の 1 層における樹状突起上のスパインを可視化した。Yu et al., 2021 Nat. Commun.より改変。

脳深部の蛍光観察のため、ファイバーフォトメトリのシステムを自作し、dLight を用いて線条体のドーパミン濃度を測定し、線条体の部位によるドーパミンダイナミクスの違いを発見し、論文発表した(Rios et al., 2023 Commun. Biol.)。dLight の青・紫励起の緑蛍光と、jRCaMP1a の黄色励起・赤蛍光の同時計測にも成功した。



ファイバーフォトメトリによる線条体(DLS, DMS)のドーパミン濃度の計測。Rios et al., 2023 Communications biology より改変。

脳深部の神経活動が大腦皮質の神経活動とどのような関係にあるかを知るため、Neuropixels プローブを用いた電気生理と光遺伝学的刺激を組み合わせた。レーザーを走査することで大腦皮質の任意の点を光刺激できるようなスキャン光学系を設計・製作した。ChR2 遺伝子導入ラットにおいて大腦皮質の広い領野を 1024 点刺激しながら、大腦基底核や小脳において 384 電極でスパイク活動を同時記録することに成功した(学会発表: 吉田ら 2021 日本神経科学学会; 杉野ら、2023 日本生理学会)。

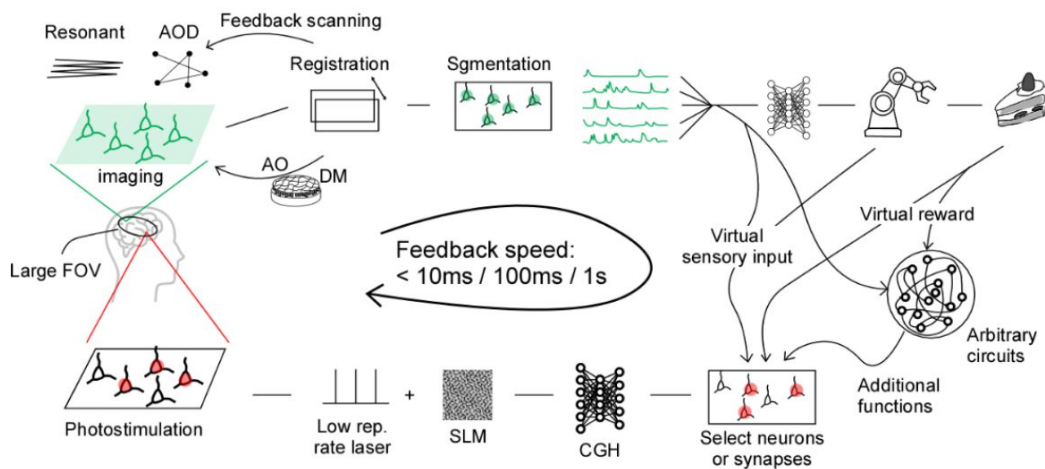


光刺激のための新規スキャン光学系。

A01-2.AI 複合型閉ループライブコネクトームシステムの開発

Diesel2p で得た画像を real time に解析し、これを元にスキャナーを制御するループ構造を作ることに成功した。さらに、Diesel2p の撮像速度を上げるために、同時に 4 点(2 平面、それぞれ異なる深さ)の計測ができる計測システムを FPGA を用いて構築した。神経細胞活動に刺激と記録を同時に行うため、ChrimsonR と GCaMP6s を同時に発現させる実験系を樹立した。頭部固定マウスの新規行動課題を樹立し、課題中の 2 光子カルシウムイメージングを行う系とこれらを融合することに成功した。さらに、軸索の光抑制を行うことができる eOPN3(光依存的な Gi タンパク)を AAV で発現させ、軸索末端を光刺激することで、頭部固定マウスの舌なめ行動を抑制することに成功した。これらの実験系、すなわち大規模 2 光子カルシウムイメージング、光刺激、

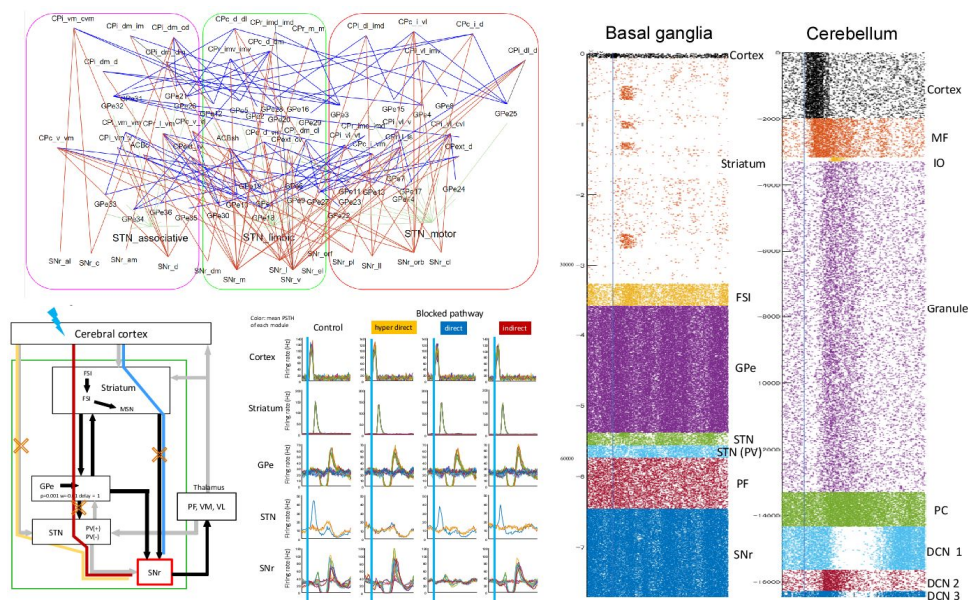
条件付けなどの行動課題を組み合わせる実験を行うパースペクティブを含めた総説論文を発表した(Hira 2023 Neurophotonics)。



2光子カルシウムイメージングと光刺激を動物の行動中に同時適用し、クローズドループを構成する構想図。Hira 2023 Neurophotonics. より改変。

A01-3. 回路トポロジーとダイナミクスによる大規模シミュレーションへの統合

五十嵐班はスパコン富岳を用いた大規模シミュレーションを進めているが、その規模は実験系の研究室である平班が容易に扱うことができない。この大規模シミュレーションと実験データとの融合のために、五十嵐と協同でイチケビッチモデルを用いた中規模スパイクングネットワークを自前で構築した。大脳基底核に関しては特にマウスのコネクトームデータに忠実に従い、細胞数や各ニューロンの発火特性も模倣した。その結果、大脳皮質の刺激時の小脳核および黒質緻密部の発火パターンをシミュレーション上で再現することに成功した(学会発表:山本ら、2023 日本生理学会)。



イチケビッチモデルを用いた中規模スパイクングネットワークシミュレーション。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Yu Che-Hang, Stirman Jeffrey N., Yu Yiyi, Hira Riichiro, Smith Spencer L.	4. 巻 12
2. 論文標題 Diesel2p mesoscope with dual independent scan engines for flexible capture of dynamics in distributed neural circuitry	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 6639
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-021-26736-4	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 該当する

1. 著者名 Rios Alain, Nonomura Satoshi, Kato Shigeki, Yoshida Junichi, Matsushita Natsuki, Nambu Atsushi, Takada Masahiko, Hira Riichiro, Kobayashi Kazuto, Sakai Yutaka, Kimura Minoru, Isomura Yoshikazu	4. 巻 6
2. 論文標題 Reward expectation enhances action-related activity of nigral dopaminergic and two striatal output pathways	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 914
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s42003-023-05288-x	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 Hira Riichiro	4. 巻 11
2. 論文標題 Closed-loop experiments and brain machine interfaces with multiphoton microscopy	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Neurophotonics	6. 最初と最後の頁 33405
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1117/1.NPh.11.3.033405	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 Hira Riichiro, Townsend Leah B., Smith Ikuko T., Yu Che-Hang, Stirman Jeffrey N., Yu Yiyi, Smith Spencer LaVere	4. 巻 10.1101
2. 論文標題 Mesoscale functional architecture in medial posterior parietal cortex	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 bioRxiv	6. 最初と最後の頁 555017
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1101/2023.08.27.555017	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Yoshizawa Tomohiko, Miyamura Yuuto, Ochi Yuta, Hira Riichiro, Funahashi Makoto, Sakai Yutaka, Cui Yilong, Isomura Yoshikazu	4. 巻 10.1101
2. 論文標題 Working memory-based and -free reward prediction in a dual dopamine system in the basal ganglia	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 bioRxiv	6. 最初と最後の頁 531239
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1101/2023.03.06.531239	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計19件(うち招待講演 2件/うち国際学会 5件)

1. 発表者名 Hira R., Yamauchi Y., Isomura Y
2. 発表標題 In-house manufacture of an inexpensive large field-of-view two-photon microscope
3. 学会等名 第99回日本生理学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yoshizawa T., Miyamura Y., Ochi Y., Hira R., Funahashi M., Sakai Y., Cui Y., Isomura Y
2. 発表標題 A neuronal basis underlying reward prediction based on hidden task rules
3. 学会等名 日本神経科学学会 Neuro 2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yoshida Y., Aoki S., Isomura Y., Hira R
2. 発表標題 High-throughput mapping of multi-synaptic functional pathways from the cerebrum to the cerebellar nucleus studied by Neuropixels and scan-optogenetics
3. 学会等名 日本神経科学学会 Neuro 2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 平 理一郎
2. 発表標題 広視野2光子イメージングによる頭頂連合野と周辺領域の相関構造解析
3. 学会等名 レーザー顕微鏡研究会第46回講演会・シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 平 理一郎
2. 発表標題 大規模神経活動記録と全体性の神経科学
3. 学会等名 神経回路学会シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 平理一郎
2. 発表標題 大脳-小脳連関と大脳-基底核連関の連関
3. 学会等名 次世代脳プロジェクト冬のシンポジウム2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 平理一郎
2. 発表標題 小脳と基底核における変換は大脳皮質でどうマージするのか
3. 学会等名 日本小脳学会 第10回小脳システム研究セッションセミナー（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 平理一郎
2. 発表標題 大規模イメージングや最先端計測技術は脳の理解にブレークスルーをもたらすのか？
3. 学会等名 Motor control研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 宮村裕人, 吉澤知彦, 平理一郎, 磯村宜和.
2. 発表標題 A hierarchical structure of reservoir model enables flexible behavior based on the presence of regularity without synaptic plasticity
3. 学会等名 神経回路学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 今村 啓人、今村 文哉、藤岡 修、鴨志田 敦史、船水 章大、磯村 宜和、平 理一郎
2. 発表標題 FPGAを用いた高速アナログサンプリングソフトウェアの開発と大規模2光子カルシウムイメージングへの応用
3. 学会等名 第46回日本神経科学学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 ALAIN RIOS, SATOSHI NONOMURA, SHIGEKI KATO, JUNICHI YOSHIDA, NATSUKI MATSUSHIDA, ATSUSHI NAMBU, MASAHIKO TAKADA, RIICHIRO HIRA, KAZUTO KOBAYASHI, YUTAKA SAKAI, MINORU KIMURA, YOSHIKAZU ISOMURA
2. 発表標題 Integration of Reward Expectation and Action Selection in the Nigrostriatal System
3. 学会等名 第46回日本神経科学学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 吉澤 知彦、宮村 裕人、越智 祐太、平 理一郎、船橋 誠、酒井 裕、崔 翼龍、磯村 宜和.
2. 発表標題 大脳基底核の二重ドーパミン系による作業記憶依存的・非依存的報酬予測の並列処理
3. 学会等名 第46回日本神経科学学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 吉澤 知彦、宮村 裕人、越智 祐太、平 理一郎、船橋 誠、酒井 裕、崔 翼龍、磯村 宜和.
2. 発表標題 大脳基底核の二重ドーパミン系による作業記憶依存性・非依存性の報酬予測.
3. 学会等名 日本生理学会第100回記念大会（国際学会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 宮村 裕人、吉澤 知彦、平 理一郎、磯村 宜和
2. 発表標題 A multi-reservoir model enabling flexible behavior based on the presence of rule without reorganization of neural circuits.
3. 学会等名 日本生理学会第100回記念大会（国際学会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 杉野 光、吉田 達見、磯村 宜和、平 理一郎
2. 発表標題 High-throughput mapping of multi-synaptic functional pathways from the cerebrum to the SNr.
3. 学会等名 日本生理学会 第100回記念大会（国際学会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 今村 文哉, 今村 啓人, 池田 大雄, 磯村 宜和, 平 理一郎.
2. 発表標題 In-house manufacture of Diesel2p mesoscope and demonstration of large field-of-view two-photon calcium imaging during a conditioning task
3. 学会等名 日本生理学会 第100回記念大会 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 山本 日菜子, 五十嵐 潤, 磯村 宜和, 平 理一郎.
2. 発表標題 げっ歯類の大脳皮質-大脳基底核-小脳回路を用いた中規模スパイ キングニューラルネットワークモデルの構築
3. 学会等名 日本生理学会 第100回記念大会 (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 太田聡史、吉木淳、森裕紀、平理一郎、姫野龍太郎、横田秀夫
2. 発表標題 遺伝子発現パターンを用いた実験用マウス筋骨格モデルの開発
3. 学会等名 日本人類学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 R. Hira, T. Yoshida, H. Sugino, Y. Isomura,
2. 発表標題 High-throughput mapping of multi-synaptic functional pathways from the cerebrum to the cerebellum and basal ganglia.
3. 学会等名 4th UK-JPN neuroscience symposium
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

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

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------