

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 4 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C)（特設分野研究）

研究期間：2015～2017

課題番号：15KT0111

研究課題名（和文）深層学習を応用した全脳を対象とする神経活動伝播経路の解明

研究課題名（英文）Estimation of neural activity propagation pathway in the brain by applying deep learning

研究代表者

高田 則雄（TAKATA, Norio）

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・特任講師

研究者番号：50415212

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,800,000円

研究成果の概要（和文）：脳の活動伝搬経路を、全脳の神経活動から推測し、伝播経路に規則や特徴が存在するかを解明することを本研究では試みた。具体的には脳活動の開始部位と終着部位とが明確な場合に、その間の脳回路を神経活動が並列にあるいは直列に伝播するのといった伝搬経路の性質を明らかにすることを目指した。このためにfMRI計測データ（麻醉下マウスの海馬を光遺伝学的に刺激した時の応答を計測したデータ；Takata et al. 2015 PLoS One）を用いて、少数ROIに対して経路推定を行った。この結果3つの経路を有力な候補として推定できた。

研究成果の概要（英文）：In this study, we tried to estimate the activity propagation path in the brain and elucidate the existence of rules and features in the propagation path. Specifically, when the start site and the termination site of brain activity are clear, we aimed to clarify the nature of the propagation pathway such as whether the neural activity propagates in parallel or in series in the brain circuit. In the beginning, path estimation was performed on a small number of ROIs using fMRI measurement data (data obtained by measuring responses of the brain upon optogenetic activation of the hippocampus of an anesthetized mouse; Takata et al. 2015 PLoS One). As a result, we could estimate three paths as potential candidates.

研究分野：in vivo脳生理学

キーワード：深層学習 マウス fMRI 光遺伝学 経路推定 脳活動伝搬

1. 研究開始当初の背景

2005年に「光遺伝学」が誕生し(Boyden et al. 2015 **Nature Neurosci**)、光照射によって特定の細胞集団の活動を任意に上昇させる手段が登場した。この技術を脳海馬に適用した遺伝子改変マウス(Tgマウス)を連携研究者が作出した(Tanaka et al. 2012 **Cell Rep**)。このTgマウスの海馬を光活性化したところ、Tgマウスは駆け回り始めた(Tanaka et al. 2012 **Cell Rep**)。この現象は、神経活動が海馬から大脳皮質運動野へ伝播したことを示唆する。記憶に関わるとされる海馬の活動がどのようにして動物の運動を誘発したのか?この疑問は従来の神経科学の知見では理解困難である。なぜならば解剖学的に海馬が前頭前野などへ投射繊維を持つことは知られているが、海馬がそれらの領域をどのように活性化するのか、またそれらの活動が脳内をどのように伝播して行動へ繋がるのか不明だからである。この謎を解くために、研究代表者はこのTgマウスにfMRI計測を行って(Takata 2013 **Int. Conf. on Optogenetics** など)、海馬光活性化後の脳活動を世界で初めて捉えた(Takata et al. 2015 **PLoS One**)。しかし以下に説明するように、海馬から大脳皮質運動野への活動伝播を抽出することは出来なかった。

脳領域間の活動伝播については全脳探索が可能な機能的MRI(fMRI; functional magnetic resonance imaging)を用いた研究が盛んである(Ogawa et al. 1990 **PNAS**)。しかし海馬活動がどのようにして行動に結びつくのか、fMRIデータに関する従来の手法では解析困難である。例えば一般的な解析手法であるブロックデザインを用いた一般線形理論の場合、実験者が解析の前に神経活動の動態を設定する必要があるため、未知な脳活動や伝播経路は抽出できない。また、fMRIデータを用いた脳領域間の結合推定にGranger Causalityを用いることがある(Valdes-Sosa 2004 **Neuroinformatics**)。これにより活動の時間的な依存関係に基づき、全ての脳領域間の結合を同定できる。しかし同定された結合が、脳活動の始点と終点とを結ぶかは完全に運任せになってしまうため、我々の計測データの場合には不適である。

活動伝播経路の推定の際にはパラメータ数が脳領域の数に応じて激増してしまう。これに類似した状況として多数の隠れ層を持つニューラルネットワーク(Deep Neural Network, DNN)を利用した教師あり学習がある。DNNでは隠れ層に起因するパラメータ数の多さから、従来の最尤法やベイズ法ではパラメータ推定が困難だった。しかし近年提案されたdropoutと呼ばれる正則化法などを施すことで、その性能を最大限に引き出すことができるようになり、画像認識や音声処理などの各分野で従来法を超越した性能をたたき出している(Bengio et al., **IEEE Trans.** 2013)。これらのDNNに対する新し

い技術は深層学習と呼ばれ、機械学習の最大のブレイクスルーの一つである。一方で脳科学、特にヒトfMRIにおいて応用が始まったばかりであり、分担者の所属する研究グループ(京大情報学・石井信教授研究室)を含めいくつかのグループでDNNを用いたfMRIデータの解析が報告されるに留まる(Koyamada, Nakae et al., **Neuro2014**; Plis et al., 2014 **Front. Neurosci.**)。

2. 研究の目的

従来の脳活動の伝搬経路推定手法を、開始領域と終着領域とを必ず繋ぐ手法に拡張することを目的とした。

3. 研究の方法

このために本研究課題では、従来の脳活動の伝搬経路推定手法を、開始領域と終着領域とを必ず繋ぐ手法に拡張する。この際に開始領域と終着領域を結ぶ伝播経路の全てをパラメータとして取り扱う必要があるが、その総数は領域数に応じて指数的に爆発しデータの数を超越してしまう(中継領域の数10個に対して伝播経路総数は $10! = 3628800$ 個)。このため最尤法など通常の枠組みでは伝播経路を推定できない。パラメータの数が増加しても推定が可能となる工夫(正則化)が必要である。そこで我々はdropout(深層学習の一つ)と呼ばれる正則化法に着目した。これは我々の系と同様に大量の結合をパラメータとしてもつ多層ニューラルネットワーク(Deep Neural Network; DNN)に対して、従来のベイズ法による正則化などよりもはるかに良い推定値を与える正則化だと考えられている。DropoutではDNN中のニューロン群をランダムに選定し、これに入力している結合の推定をあえて行わない(「サボらせる」)ことで、推定に有効なパラメータ数をうまく減らしている。我々はニューロンの学習をサボらせるのではなく、伝播経路の推定をサボらせることで同様の強い正則化を行うことを提案した(下図参照)。これにより全脳探索などのように対象領域数が多い場合にも伝播経路推定が可能な枠組みを構築する。



図1: dropoutを用いた経路推定法

4. 研究成果

脳の活動伝搬経路を、全脳の神経活動から推測し、伝播経路に規則や特徴が存在するか解明することを本研究では試みた。具体的には脳活動の開始部位と終着部位とが明確な場合に、その間の脳回路を神経活動が並列にあるいは直列に伝播するののかといった伝播経路の性質を明らかにすることを目指した。

この目的のために、申請者らが既に報告した fMRI 計測データ（麻酔下マウスの海馬を光遺伝学的に刺激した時の応答を計測したデータ；Takata et al. 2015 *PLoS One*）を用いて、まずは少数 ROI に対して経路推定に取り組んだ。具体的には 7 つの脳部位における fMRI 信号の経時変化について（図 2）、始点と終点の脳部位を定めた時の伝達経路を推定した。

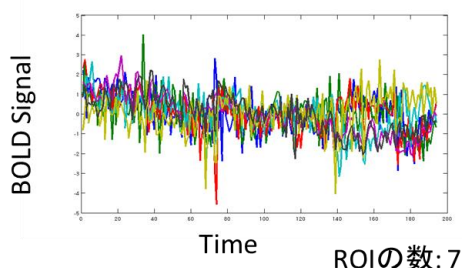


図 2：麻酔下マウスの脳の 7 つの部位における fMRI 信号 (BOLD 信号) の経時変化

この結果、50%以上の確率で活動が伝播したと考えられる複数の経路を推定した（図 3）。

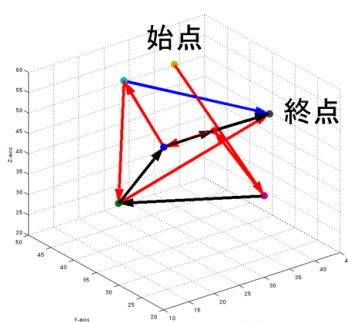


図 3：神経活動の始点と終点を固定した条件で、神経活動の伝播経路の推定に成功した。複数の経路（赤、黒、青色）が、確率 50%以上で神経活動が伝播した経路だと推定した

次に覚醒下のマウスを用いて、海馬を光活性化した時の脳活動応答の計測に成功した。マウスの fMRI 計測は一般的に麻酔下で行われてきたため（Gao et al. 2017 *NeuroImage*）、研究代表者らはまず覚醒マウスの fMRI 撮像手技を確立した（Yoshida/Takata et al 2016 *J Neurosci Methods*）。この手法を用いて、6 匹の覚醒下マウスを用いて fMRI 撮像の最中に海馬を光活性化し、その応答計測に成功した。

現在は大規模 ROI 数に対する解析に着手した。この結果、マウスの脳 MRI 研究には大規模 ROI を構築できる標準脳が存在しないことに気がついた。そこでまずマウス用の標準脳の作成に取り組んでいる（基盤研究 C「マウス全脳に対応する脳領域名の総数を 1 から 860 まで可変な標準脳の構築」2016~2018 年度）。

本研究では麻酔下マウスの海馬活動が脳

のどの部位へ伝搬するのか、少数 ROI についての推定に成功した。既に取得した覚醒マウスからの fMRI 計測データに対して、現在構築中のマウス標準脳を適用し、大規模 ROI を用いた経路推定に現在取り組んでいる。これに成功すれば、脳内活動伝播の構造についてより深い理解を得られると期待する。

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 13 件）

- (1) Takata, N., Sugiura, Y., Yoshida, K., Koizumi, M., Nishida, H., Honda, K., Yano, R., Komaki, Y., Matsui, K., Suematsu, M., Mimura, M., Okano, H. & Tanaka, K. F. Optogenetic astrocyte activation evokes BOLD fMRI response with oxygen consumption without neuronal activity modulation. *Glia* (2018). in press, 査読あり
- (2) Natsubori, A., Tsutsui-Kimura, I., Nishida, H., Boucheikioua, Y., Sekiya, H., Uchigashima, M., Watanabe, M., de Kerchove d'Exaerde, A., Mimura, M., Takata, N. & Tanaka, K. F. Ventrolateral striatal medium spiny neurons positively regulate food-incentive, goal-directed behavior independently of D1 and D2 selectivity. *J. Neurosci.* 37, 2723–2733 (2017). doi: 10.1523/JNEUROSCI.3377-16.2017 査読あり
- (3) Tsutsui-Kimura, I., Takiue, H., Yoshida, K., Xu, M., Yano, R., Ohta, H., Nishida, H., Boucheikioua, Y., Okano, H., Uchigashima, M., Watanabe, M., Takata, N., Drew, M. R., Sano, H., Mimura, M. & Tanaka, K. F. Dysfunction of ventrolateral striatal dopamine receptor type 2-expressing medium spiny neurons impairs instrumental motivation. *Nat. Commun.* 8, 14304 (2017). doi: 10.1038/ncomms14304 査読あり
- (4) Li, Y., Nakae, K., Ishii, S. & Naoki, H. Uncertainty-Dependent Extinction of Fear Memory in an Amygdala-mPFC Neural Circuit Model. *PLoS Comput. Biol.* 12, e1005099 (2016). doi: 10.1371/journal.pcbi.1005099. 査読あり
- (5) Oba, S., Nakae, K., Ikegaya, Y., Aki, S., Yoshimoto, J. & Ishii, S. Empirical Bayesian significance measure of neuronal spike response. *BMC Neurosci.* 17, 27 (2016). doi: 10.1186/s12868-016-0255-x. 査読あり
- (6) Yoshida, K., Mimura, Y., Ishihara, R., Nishida, H., Komaki, Y., Minakuchi, T., Tsurugizawa, T., Mimura, M., Okano, H., Tanaka, K. F. & Takata, N. Physiological effects of a habituation procedure for

functional MRI in awake mice using a cryogenic radiofrequency probe. *J. Neurosci. Methods* 274, 38–48 (2016). doi: doi: 10.1186/s12868-016-0255-x. 査読あり

(7) 高田則雄 海馬神経細胞～光遺伝学的 fMRI を用いた全脳活動解析、分子精神医学 (2016) <https://ci.nii.ac.jp/naid/40020718115> 査読なし

(8) Ishii, K., Kubo, K.-I., Endo, T., Yoshida, K., Benner, S., Ito, Y., Aizawa, H., Aramaki, M., Yamanaka, A., Tanaka, K., Takata, N., Tanaka, K. F., Mimura, M., Tohyama, C., Kakeyama, M. & Nakajima, K. Neuronal Heterotopias Affect the Activities of Distant Brain Areas and Lead to Behavioral Deficits. *J. Neurosci.* 35, 12432–12445 (2015). doi: 10.1523/JNEUROSCI.3648-14.2015. 査読あり

(9) Natsubori, A., Takata, N. & Tanaka, K. F. Observation and manipulation of glial cell function by virtue of sufficient probe expression. *Front. Cell. Neurosci.* 176, 1–7 (2015). doi: 10.3389/fncel.2015.00176 査読あり

(10) Yoshida, K., Xu, M., Natsubori, A., Mimura, M., Takata, N. & Tanaka, K. F. Identification of the extent of cortical spreading depression propagation by Npas4 mRNA expression. *Neurosci. Res.* 98, 1–8 (2015). doi: 10.1016/j.neures.2015.04.003 査読あり

(11) Nagai, T., Takata, N., Shinohara, Y. & Hirase, H. Adaptive changes of extracellular amino acid concentrations in mouse dorsal striatum by 4-AP-induced cortical seizures. *Neuroscience* 295, 229–236 (2015). doi: 10.1016/j.neuroscience.2015.03.043. 査読あり

(12) Takata, N., Yoshida, K., Komaki, Y., Xu, M., Sakai, Y., Hikishima, K., Mimura, M., Okano, H. & Tanaka, K. F. Optogenetic activation of CA1 pyramidal neurons at the dorsal and ventral hippocampus evokes distinct brain-wide responses revealed by mouse fMRI. *PloS One* 10, e0121417 (2015). doi: 10.1371/journal.pone.0121417 査読あり

(13) Aida, T., Yoshida, J., Nomura, M., Tanimura, A., Iino, Y., Soma, M., Bai, N., Ito, Y., Cui, W., Aizawa, H., Yanagisawa, M., Nagai, T., Takata, N., Tanaka, K. F., Takayanagi, R., Kano, M., Götz, M., Hirase, H. & Tanaka, K. Astroglial Glutamate Transporter Deficiency Increases Synaptic Excitability and Leads to Pathological Repetitive Behaviors in Mice. *Neuropsychopharmacol. Off. Publ. Am. Coll. Neuropsychopharmacol.* 40,

1569–1579 (2015). doi: 10.1038/npp.2015.26 査読あり

[学会発表] (計 3 件)

- (1) 高田則雄 Optogenetic fMRI for the study of BOLD signal induction by astrocytes 第 89 回日本薬理学会 2016
- (2) 高田則雄 Optogenetic-fMRI for investigation of neuronal and glial contribution to BOLD signal 第 38 回日本神経科学学会 2015
- (3) 高田則雄 Optogenetic-fMRI for investigation of astrocytic contribution to BOLD signal The 9th International Conference on Complex Medical Engineering (CME2015) 2015

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称: 神経細胞を含む細胞組織の観察装置及び観察方法
発明者: 高田則雄、佐中薫
権利者: 慶応義塾大学、東京理科大学
種類: 特願
番号: 2018-99487
出願年月日: 平 30. 5. 24
国内外の別: 国内

[その他] (計 3 件)

- (1) 高田則雄 Dissection of downstream targets of the hippocampus using optogenetic fMRI 次世代プロジェクト「異なる時期の虚血が脳の発達に及ぼす影響の多層のアプローチによる解明と治療戦略構築」国際シンポジウム 2017
- (2) 高田則雄 光遺伝学的 fMRI を用いたアストロサイトによる BOLD 信号発生の研究 Neurovascular Unit 研究会 2016
- (3) 高田則雄 光遺伝学的 fMRI の現状と展望 第一回マウス精神疾患モデル MRI 研究会 2015

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高田 則雄 (TAKATA, Norio)
慶應義塾大学・医学部 (信濃町)・特任講師
研究者番号: 50415212

(2) 研究分担者

中江 健 (NAKAE, Ken)
京都大学・情報学研究科・特定研究員
研究者番号: 70617472

(3) 連携研究者

田中 謙二 (TANAKA, Kenji)
慶應義塾大学・医学部 (信濃町)・准教授
研究者番号: 30329700

岡野 栄之 (OKANO, Hideyuki)

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・教授
研究者番号：60160694

(4)研究協力者

吉田 慶多朗 (YOSHIDA, Keitaro)