

令和元年6月20日現在

機関番号：14603

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2017～2018

課題番号：17H06866

研究課題名(和文)自由行動下マウスの脳複数部位計測に向けた埋め込み型デバイスの開発

研究課題名(英文) Implantable imaging device for fluorescence imaging from deep brain regions of freely moving mouse

研究代表者

須永 圭紀 (Sunaga, Yoshinori)

奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・博士研究員

研究者番号：40807640

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は行動に伴う脳機能解明に向け、自由行動下動物の脳深部複数領域を同時計測可能な埋め込み型イメージングデバイスの開発を目的としている。本目的を実現するため、ラットやマウスの脳に直接埋め込み可能な超小型イメージングデバイスの開発と自由行動下動物に対するイメージングシステムの構築、そして実際に動物実験を行い開発したデバイスの評価を行った。その結果、ラット脳深部に位置する腹側被蓋野(VTA)において、神経活動に伴うGCaMP蛍光の観察を達成した。現在VTAを中心とした領域における蛍光イメージング実験を行っており、今後VTAと関係の深い領域との同時計測を行う予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでのイメージング技術では観察することが困難であった、マウスやラットの脳深部の複数部位同時脳機能イメージングを実現する点に特色がある。自由行動中動物の脳深部複数部位における神経活動イメージングを可能とすれば、脳機能解明への力強いツールとなると考えている。加えて、単純な顕微鏡光学系の縮小化では達成できない、脳表に対して垂直方向の領域の観察が可能である。マウス脳深部の複数部位同時神経活動計測が可能となれば、記憶・感情や学習機能を始めとする脳機能解明の研究が大きく進展するものと期待できる。

研究成果の概要(英文)：This study aims to develop an implantable imaging device for measure multiple deep brain area from freely moving animal to reveal brain functions associated with behavior. In order to realize this purpose, we developed a dedicated imaging device that can be implanted into the rat and mouse brain directly, and we also established an imaging system for freely moving animals. We evaluated performance of the device from animal experiments. As a result, in the ventral tegmental area (VTA) located in the deep part of the brain, we observed GCaMP fluorescence related with neural activities. We are working for fluorescence imaging experiments around VTA to observe more detail, and we plan to get data simultaneously from VTA and another area in next step.

研究分野：生体医工学

キーワード：脳機能イメージング 埋植型デバイス 蛍光イメージング GCaMP

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

脳は、部位によって異なる役割を担っており、また脳内の様々な部位間には様々な神経ネットワークが形成されている。例えば、短期記憶を司る海馬と感情を司る扁桃体の関りが深いことは有名である。科学の発展に伴い、脳のメカニズムは徐々に明らかになってきたが、高次脳機能を解明していくためには、脳内の様々な部位間のネットワークを解明していくことが重要であると考えられる。しかし、実験動物を拘束する必要性や侵襲性の高さから、実験動物に負荷を与えずに脳深部を含む複数部位を同時計測可能な方法は未だ確立されていない状況である。

神経科学研究では、マウス等実験動物の脳神経活動の計測が行われてきた。例えば、光ファイバーや超小型の顕微鏡を使った脳機能イメージング手法が開発され、自由行動下における体性感覚野の観察や神経細胞の機能解明などの画期的な成果が報告されている[1-2]。しかし、現在報告されている脳機能観察用デバイスは小型動物の頭部のサイズに対し大きく行動が制限される。また、脳深部観察においては脳へのダメージが大きいことが懸念されるうえ、これらのデバイスは構造上観察可能な領域が狭く異なる領域を同時に観察することは困難である。そのため、動物の脳にできる限りダメージを与えずに脳の複数領域を観察可能な、脳機能観察用デバイスの開発が重要な課題となっている。 [1] I. Ferezou, S et al., *Neuron* vol.50, pp.617-29, 2006. [2] K. K. Ghosh et al., *Nat. Methods* vol.8 (10), pp.871-878, 2011

2. 研究の目的

本研究は行動に伴う脳機能解明に向け、自由行動下動物の脳深部複数領域を同時計測可能な埋め込み型イメージングデバイス・システムを開発することを目的としている。マウスやラットの脳内に直接埋め込み可能なサイズの蛍光イメージングデバイスを開発し、超低侵襲かつ高感度な脳深部計測を目指す。マウス脳深部の複数部位同時神経活動計測が可能となれば、記憶・学習機能を始めとする脳機能解明の研究が大きく進展するものと期待できる。また、脳表から脳深部まで、様々な部位における神経活動観察を同時に行うことで、脳のネットワークの解明やパーキンソン病といった脳疾患の解明にも大きく貢献できると考える。

3. 研究の方法

本研究では、研究代表者がこれまで開発してきた埋め込み型脳機能イメージングデバイスを研究の基盤として、まずは自由行動下動物の脳深部複数部位計測を可能とするデバイス及びシステムの開発を行う。次に、開発したデバイス及びシステムを用いて動物実験を行い、デバイス及びシステムの性能を評価し、それぞれの最適化を行う。その後、最適化した実験系を用いて自由行動下動物の脳深部蛍光イメージング実験を行い、脳神経活動計測が可能であることを実証する。また観察した蛍光反応がターゲットとした神経活動に由来しているかどうか判断を正確に評価・解析する必要があると考えられる。そこで、自由行動下動物実験と平行して、共同研究者の協力を仰ぎつつ得られたデータの評価と解析を行う。行動下実験においては、予期せぬノイズの混入などが懸念されるので、行動実験の様子を記録し対処できる場合は逐一对策を施す。その後、本研究の最終段階として、自由行動下における脳深部複数部位測定の実験を行う。

4. 研究成果

本目的を実現するため研究代表者らは埋め込み型イメージングデバイスの開発と、近年神経科学の分野で有用性の高いGFP(Green Fluorescent Protein)やGCaMP 蛍光をメインターゲットとしたマウスやラットの脳深部計測システムの構築に取り組んできた。これらの取り組みは順調に進み、開発したデバイス・システムを用いて実際に動物実験を行う段階まで到達した。そこで実際に動物実験を行い、脳神経活動計測のデータの収集を中心とした実験に取り組んでいる。本動物実験ではマウスよりも脳が大きく、比較的領域の違いを区別しやすいと考えられるラットをターゲットとし、AAV を用いて特定の領域にGCaMP を発現させ蛍光イメージングを行った。その結果これまでにラットの脳深部に位置する腹側被蓋野(VTA)において、神経活動に伴うGCaMP 蛍光の強度変化の検出に成功している。現在VTAを中心とした領域における詳細な蛍光変化量の差異の検出に取り組んでおり、続いてVTA と関りの深い領域との同時計測を行う予定である。

なお、本研究における動物実験は奈良先端科学技術大学院大学及び University of Houston の動物実験の実施に関する規定に従って行った。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計0件)

〔学会発表〕(計5件)

1. Yoshinori Sunaga, Yasumi Ohta, Makito Haruta, Toshihiko Noda, Kiyotaka Sasagawa, Takashi Tokuda, Yasemin Akay, Metin Akay, Jun Ohta, "GCaMP and GFP imaging in VTA by an implantable imaging device," NEUROSCIENCE 2018, 2018.11.7. San Diego Convention Center, San Diego, USA.
2. Yoshinori Sunaga, Akari Shiraishi, Takahiro Yamaguchi, Makito Haruta, Toshihiko Noda, Kiyotaka Sasagawa, Takashi Tokuda, Yumiko Yoshimura, Jun Ohta "GCaMP imaging associated with visual stimulation by implantable imaging device," NEUROSCIENCE 2017, 2017.11.15. Walter E. Washington Convention Center, Washington, USA.
3. 須永 圭紀, 白石 愛香里, 山口 貴大, 太田 安美, 春田 牧人, 野田 俊彦, 笹川 清隆, 徳田 崇, 太田 淳, "Miniaturized-implantable device for optical imaging and stimulation," 第9回光操作研究会2017, 2017年10月, 東北大学 星陵キャンパス.
4. 須永 圭紀, 白石 愛香里, 山口 貴大, 春田 牧人, 野田 俊彦, 笹川 清隆, 徳田 崇, 吉村 由美子, 太田 淳, "埋植型イメージングデバイスを用いた視覚刺激に伴う GCaMP 蛍光計測," 平成29年度E部門総合研究会, 2017年6月.
5. 須永 圭紀, 白石 愛香里, 山口 貴大, 春田 牧人, 野田 俊彦, 笹川 清隆, 徳田 崇, 吉村 由美子, 太田 淳, "GCaMP 蛍光計測用埋植型 CMOS イメージングデバイスの開発と in vivo 性能評価," 情報センシング研究会 (IST), 2017年6月.

〔図書〕(計0件)

〔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：
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。