

令和 2 年 5 月 28 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K19439

研究課題名(和文)脳内全シナプスの活動ダイナミクス測定に基づく神経回路動作機構の追究

研究課題名(英文)A study of operational mechanisms in neural circuits based on activity measurement of whole synapses in the brain

研究代表者

能瀬 聡直(Nose, Akinao)

東京大学・大学院新領域創成科学研究科・教授

研究者番号：30260037

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,900,000円

研究成果の概要(和文)：複雑な神経回路の挙動を理解するために、大規模シナプスイメージング法を開発し、神経活動ダイナミクス生成機構の解明を目指した。ショウジョウバエ幼虫の中枢神経系に膜局在型カルシウムセンサーを発現させ蛍光イメージングし、得られたデータに統計力学に基づくクラスタリング、トランスファーエントロピーによるネットワーク構造抽出、グラフ理論に基づく構造解析を行なった。その結果、幼虫の異なる運動パターンの背後にある回路モジュール構造の発見に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

中枢神経系において、多様な神経機能を生み出している実体はシナプスであるが、これまでシナプス集団の活動ダイナミクスは技術的な難しさから明らかになっていなかった。本研究では、シナプス活動のイメージングプロトコルの開発と、時系列データから回路構造を推定する新規解析手法の構築によって、異なる運動パターン生成の背後にある回路モジュールの同定に成功した。この成果により、複雑な神経回路から、シナプス集団の活動を追跡し統計的解析を施すことによって、回路に潜む構造を見出すことが可能であることが示され、これにより、神経回路ダイナミクスの定量解析の可能性が大きく拓かれたと考えられる。

研究成果の概要(英文)：To comprehend the dynamics in complicated neural circuits, we developed a novel method for large scale synapse imaging and examined circuit mechanisms for generating functional neural dynamics. We expressed a membrane bound-form calcium sensor in the central nervous system of *Drosophila* larvae and performed time-lapse fluorescence imaging. We analyzed the spatiotemporal fluorescence data by clustering based on statistical physics, extraction of network structure using transfer entropy, and architecture analysis by graph theory. In the end, we succeeded in identifying a novel circuit module underlying generation of multiple patterns of larval locomotion.

研究分野：脳神経科学・神経科学一般

キーワード：ショウジョウバエ カルシウムイメージング 神経回路 シナプス 神経活動ダイナミクス

1. 研究開始当初の背景

動物の示す様々な定型的運動(歩行・呼吸など)は、筋肉の時間・空間的な活動パターンを適切に調整することによって達成される。このようなパターンを自律的に生成する神経回路を、中枢パターン生成器(CPG)と呼ぶ。CPGは、シナプスを介した神経細胞間の複雑な相互作用の結果として、自律的に活動パターンを生成する。またCPGは、それ単体で複数の活動パターンを生成する能力を持ち、上位中枢からの指令や環境に応じて適切な活動パターンを選択することができる。例えば、ヒトの脊髄は複数の歩行様式を生成し、ハエの幼虫(本研究で使用)の神経系は前進・後退方向のぜん動運動を生成する。このようなCPGの複雑な現象を理解するためには、CPGの3次元的な構造に含まれる全神経細胞・シナプスの活動を同時に実測・解析する必要がある。

近年、Ca<sup>2+</sup>イメージング技術によって、多数の神経細胞を同時に観測することが可能となった(Lemon et al., 2015; Pulver et al., 2015; Venkatachalam et al., 2016; Kim et al., 2019)。ただし、このような高次元データは解析自体が困難であるのに対し、解析手法は開発途上であるため(Bruno et al., 2015; Bruno et al., 2017)、CPGの概念は古くから確立している中、そのシナプスレベルでの全体の回路構造は未解明であった。

2. 研究の目的

中枢神経系におけるシナプスの数は膨大であるので、これまで細胞体レベルのイメージングを用いて回路ダイナミクスが解析されてきた。しかし、細胞はあくまで神経発生上の単位であって、神経回路の作動上での単位であるかは明らかではない。個々の細胞から細胞体の活動という単一の情報のみを抽出するのではなく、より多くの情報を含むシナプス単位での活動ダイナミクスを解析することで、従来手法では解決できない回路機能の解明を目指した。

3. 研究の方法

本研究では、ショウジョウバエ幼虫の運動系をモデルとして、大規模なシナプスイメージングとその解析を進めた。シナプスイメージングを実現するために、膜局在型のカルシウムセンサーCD4::GCaMP6f(図1)を設計し、これをショウジョウバエ幼虫の全神経細胞に発現させた。そして、単離した脳からスピンドスク共焦点顕微鏡を用いてカルシウムイメージングを行なった。得られた時系列画像には、数千個のシナプスの時系列カルシウム濃度変化が記録されている。このデータから個々のシナプスの活動を抽出するために、統計力学的アルゴリズムを適用した。そして、得られたデータからトランスファーエントロピーを用いてネットワーク構造を抽出した。さらにこのネットワークから、幼虫の神経活動の時空間パターンを駆動するユニットをグラフ理論に基づいて推定した。

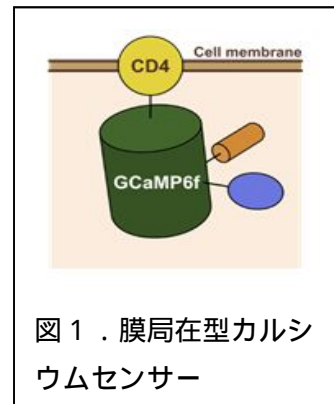


図1. 膜局在型カルシウムセンサー

4. 研究成果

Ca<sup>2+</sup>イメージングによって撮影された、幼虫の前進・後退運動に伴う中枢神経系内の活動伝搬の映像を、約4,000個のブトン(シナプス前部のふくらみ)の活動時系列に分解することに成功した(図2)。

各ブトンの波形情報から相互作用を推定し、ブトン間の結びつきの強さを表すネットワーク構造を抽出することに成功した(図3)。

また、ネットワーク構造のさらなる分析の結果、前進・後退運動の活動パターン間のスイッチングを司ると考えられるシナ

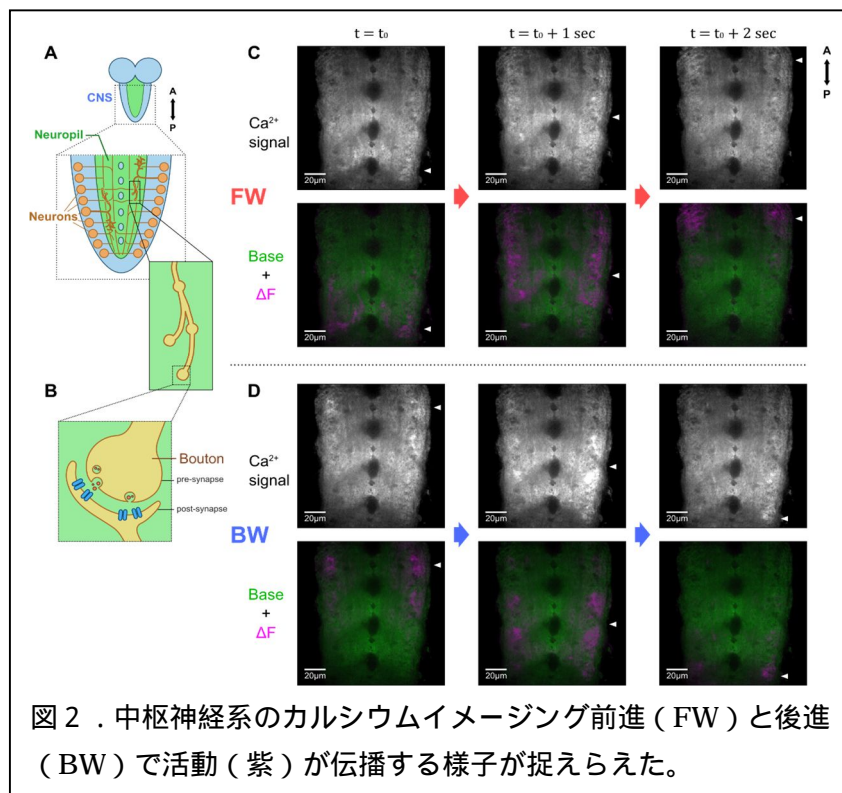


図2. 中枢神経系のカルシウムイメージング前進(FW)と後進(BW)で活動(紫)が伝播する様子が捉えられた。

プス集団( inter-segmental module, ISM とする)を発見した( 図 4 )。前進・後退運動を生成するとき、幼虫の神経系ではそれぞれ逆方向に活動が伝搬する。ISM はその活動波が伝搬する方向に沿って複数配置されており、前進・後退の際に周囲から入力を受けた ISM がそれぞれ逆方向に出力することで、活動波の伝搬方向が逆になる様子を確認した。

これらの結果は、本研究で新たに開発した大規模シナプスイメージング法の有用性を示すものであり、複雑な神経回路から、シナプス集団の活動を追跡し統計的解析を施すことによって、回路に潜む構造を見出すことの可能性を実証するものである。これにより、神経回路ダイナミクスの定量解析の可能性が大きく拓かれたと考えられる。

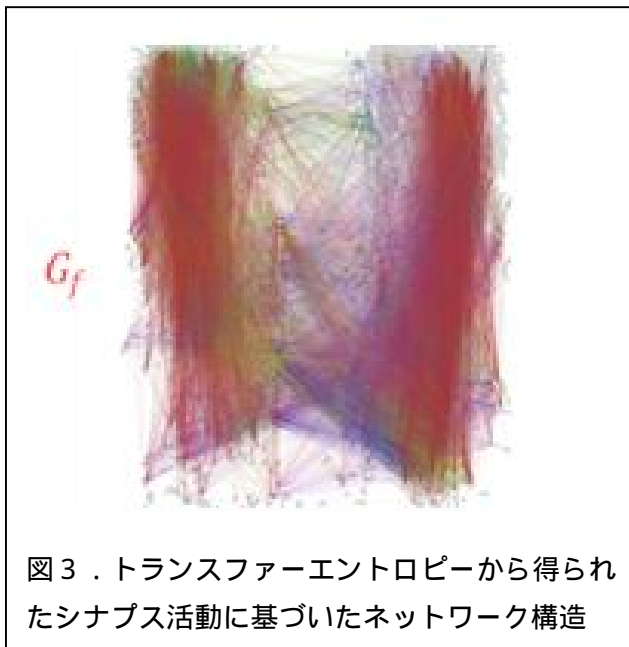


図 3 . トランスファーエントロピーから得られたシナプス活動に基づいたネットワーク構造

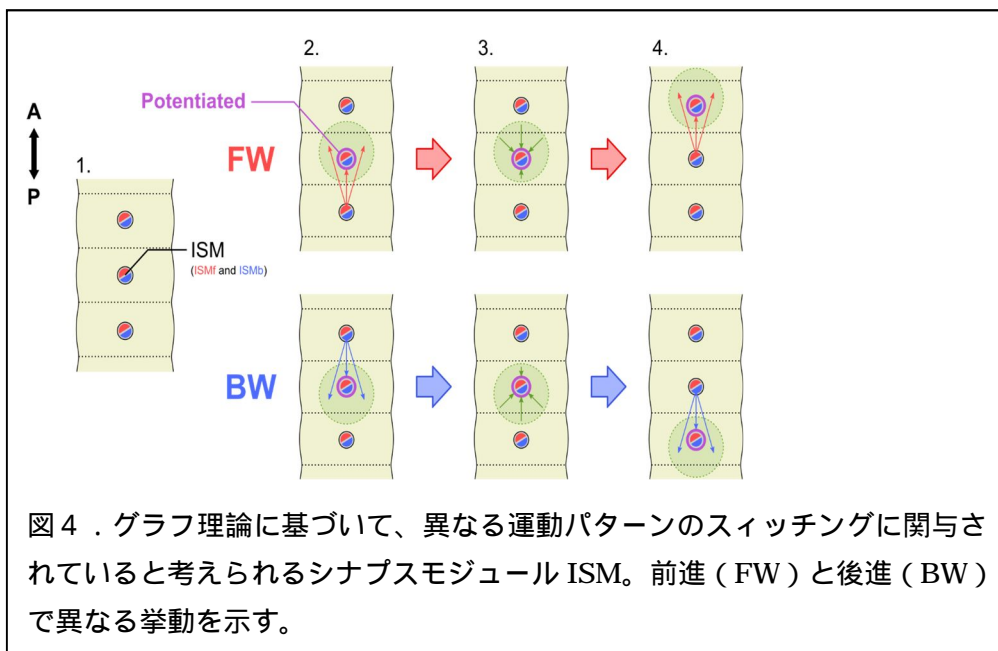


図 4 . グラフ理論に基づいて、異なる運動パターンのスイッチングに関与されていると考えられるシナプスモジュール ISM。前進 (FW) と後進 (BW) で異なる挙動を示す。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Yoon Youngteak, Park Jeonghyuk, Taniguchi Atsushi, Kohsaka Hiroshi, Nakae Ken, Nonaka Shigenori, Ishii Shin, Nose Akinao	4. 巻 33
2. 論文標題 System level analysis of motor-related neural activities in larval Drosophila	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Neurogenetics	6. 最初と最後の頁 179 ~ 189
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/01677063.2019.1605365	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 該当する
1. 著者名 Kohsaka Hiroshi, Zwart Maarten F., Fushiki Akira, Fetter Richard D., Truman James W., Cardona Albert, Nose Akinao	4. 巻 10
2. 論文標題 Regulation of forward and backward locomotion through intersegmental feedback circuits in Drosophila larvae	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-019-10695-y	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 Park Jeonghyuk, Kondo Shu, Tanimoto Hiromu, Kohsaka Hiroshi, Nose Akinao	4. 巻 8
2. 論文標題 Data-driven analysis of motor activity implicates 5-HT2A neurons in backward locomotion of larval Drosophila	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 10307
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-28680-8	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 Takagi Suguru, Cocanougher Benjamin Thomas, Niki Sawako, Miyamoto Dohjin, Kohsaka Hiroshi, Kazama Hokto, Fetter Richard Doty, Truman James William, Zlatic Marta, Cardona Albert, Nose Akinao	4. 巻 96
2. 論文標題 Divergent Connectivity of Homologous Command-like Neurons Mediates Segment-Specific Touch Responses in Drosophila	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Neuron	6. 最初と最後の頁 1373 ~ 1387.e6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neuron.2017.10.030	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 該当する

1. 著者名 能瀬聡直、高坂洋史、伏木彬	4. 巻 68(5)
2. 論文標題 光によるショウジョウバエ中枢回路の機能解剖	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 生体の科学	6. 最初と最後の頁 478-479
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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23件 (うち招待講演 9件 / うち国際学会 13件)

1. 発表者名 Nose A
2. 発表標題 Functional connectomics of motor circuits in Drosophila larvae
3. 学会等名 Max Planck / HHMI Connectomics Conference Berlin 2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Zeng X, Kawasaki T, Inada K, Kazama H, Nose A
2. 発表標題 Experience-driven development of motor circuits in Drosophila
3. 学会等名 52th Annual Meeting of the Japanese Society of Developmental Biologists (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Zeng X, Kawasaki T, Inada K, Kazama H, Nose A
2. 発表標題 Embryonic development of the motor circuits in Drosophila: emergence of coordinated neural activities and the role of sensory feedback
3. 学会等名 第42回日本神経科学大会 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 A. Nose, X. Zeng, K. Inada and H. Kazama
2. 発表標題 Regulation of embryonic motor circuit formation by somatosensory feedback
3. 学会等名 The Joint Research Area Meeting Scientific Research on Innovative Areas. “Artificial Intelligence and Brain Science” and “Adaptive Circuit Shift” (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 H. Kohsaka, M.F. Zwart, A. Fushiki, R.D. Fetter, J.W. Truman, A. Cardona, and A. Nose
2. 発表標題 A modular structure in premotor circuits for bidirectional axial locomotion
3. 学会等名 Behavioral neurogenetics of Drosophila larva (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Y. Liu, A. Nose and H. Kohsaka
2. 発表標題 Neural activities related to axial locomotion in the terminal segments of Drosophila larval CNS
3. 学会等名 2019 ASIA-PACIFIC DROSOPHILA NEUROBIOLOGY CONFERENCE (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 S. Takagi and A. Nose
2. 発表標題 Optogenetic and connectome analyses of the neural circuits regulating escape behaviors in Drosophila larvae
3. 学会等名 第10回光操作研究会・第2回脳情報動態 合同国際シンポジウム (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 X. Zeng, T. Kawasaki, K. Inada, H. Kazama and A. Nose
2. 発表標題 Embryonic development of the motor circuits in Drosophila: emergence of coordinated neural activities and the role of sensory feedback
3. 学会等名 Behavioral Neurogenetics of Drosophila Larva (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 S. Takagi and A. Nose
2. 発表標題 Neural circuits regulating divergent escape responses in Drosophila larvae: implication for evo-devo of adaptive behaviors
3. 学会等名 The 41st Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 A. Nose
2. 発表標題 Regulation of motor circuit development by proprioceptive feedback
3. 学会等名 2019 ASIA-PACIFIC DROSOPHILA NEUROBIOLOGY CONFERENCE (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Akinao Nose
2. 発表標題 Circuit mechanisms of action selection in Drosophila larvae, Systems biology of the brain
3. 学会等名 "Reconstructing the connectome of the fruit fly larva" : CUSO Staromics PhD-program Workshop (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Akinao Nose
2. 発表標題 Optophysiological and connectome analyses of the neural circuits regulating escape behaviors in Drosophila larvae
3. 学会等名 日本比較生理生化学会第39回福岡大会（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Suguru Takagi, Benjamin T. Cocanougher, Sawako Niki, Dohjin Miyamoto, Hiroshi Kohsaka, Hokto Kazama, Richard D. Fetter, James W. Truman, Marta Zlatic, Albert Cardona, Akinao Nose.
2. 発表標題 Divergent connectivity of homologous command-like neurons mediates segment-specific touch responses in Drosophila
3. 学会等名 CSHLMeeting "Neurobiology of Drosophila" (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 高木 優, Benjamin Cocanougher, 二木 佐和子, 宮本 道人, 高坂 洋史, 風間 北斗, Richard Fetter, James Truman, Marta Zlatic, Albert Cardona, 能瀬 聡直
2. 発表標題 Divergent connectivity of command-like neurons mediates segment-specific touch responses in Drosophila larvae
3. 学会等名 第17回 東京大学生命科学シンポジウム
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Kohsaka, H., Zwart, M.F., Fushiki, A., Fetter, R. D., Truman, J. W., Cardona, A. and Nose, A.
2. 発表標題 Bidirectional feedback circuits regulate propagation of motor activity in opposite directions
3. 学会等名 第40回日本神経科学大会
4. 発表年 2017年



1. 発表者名 Shoya Ohura, Hiroshi Kohsaka, Akinao Nose
2. 発表標題 Identification of interneurons that regulate backward locomotion during light-avoidance behavior in Drosophila larvae
3. 学会等名 第40回日本神経科学大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Suguru Takagi, Benjamin T. Cocanougher, Sawako Niki, Dohjin Miyamoto, Hiroshi Kohsaka, Hokto Kazama, Richard D. Fetter, James W. Truman, Marta Zlatic, Albert Cardona, Akinao Nose
2. 発表標題 A segment-specific sensorimotor pathway mediates touch-triggered backward escape response in Drosophila larvae
3. 学会等名 第40回日本神経科学大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Atsuki Hiramoto, Julius Jonaitis, Sawako Niki, Dohjin Miyamoto, Richard Fetter, Albert Cardona, Stefan Pulver, Akinao Nose.
2. 発表標題 Identification of neuronal circuitry that regulate backward escape behavior in Drosophila larvae
3. 学会等名 第40回日本神経科学大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Shoya Ohura, Hiroshi Kohsaka, Akinao Nose
2. 発表標題 ショウジョウバエ幼虫の光逃避行動において後退運動を制御する介在神経細胞の同定
3. 学会等名 第40回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 松尾悠司、能瀬聡直、高坂洋史
2. 発表標題 ショウジョウバエ近縁種における幼虫行動特性の比較解析
3. 学会等名 第40回日本分子生物学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 xiangsunze zeng, Tappei Kawasaki, Akinao Nose
2. 発表標題 Sensory feedback regulates the development of locomotor circuits in Drosophila embryos.
3. 学会等名 第40回日本分子生物学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 xiangsunze zeng, Tappei Kawasaki, Akinao Nose.
2. 発表標題 Sensory feedback regulates the development of locomotor circuits in Drosophila embryos.
3. 学会等名 Behavioral adaptation and functional recovery from pathological states
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 xiangsunze zeng, Tappei Kawasaki, Akinao Nose.
2. 発表標題 Sensory feedback regulates the development of locomotor circuits in Drosophila embryos.
3. 学会等名 次世代脳プロジェクト冬のシンポジウム
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 S. Takagi and A. Nose	4. 発行年 2019年
2. 出版社 Circuit architecture for somatotopic action selection in Invertebrates	5. 総ページ数 6
3. 書名 Neuroscience	

〔産業財産権〕

〔その他〕

能瀬・高坂研究室 <a href="http://bio.phys.s.u-tokyo.ac.jp/">http://bio.phys.s.u-tokyo.ac.jp/</a>
---

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
---------------------------	-----------------------	----