

令和 6 年 5 月 31 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20H03546

研究課題名（和文）環境に応じた運動を実現する霊長類の脳領域間ネットワーク連関の光計測と制御

研究課題名（英文）Calcium imaging and optogenetic manipulation of cortical network activity underlying adaptive behavior of common marmosets

研究代表者

蝦名 鉄平（Ebina, Teppei）

東京大学・大学院医学系研究科（医学部）・講師

研究者番号：30611206

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,700,000円

研究成果の概要（和文）：新奇の状況における運動機能の神経基盤を明らかにすることを目的として、小型の霊長類であるコモンマーモセットを対象に、感覚運動連合学習中の大脳皮質を対象とした広域1光子カルシウムイメージングと2光子イメージングによる神経活動計測を実施した。結果、学習中の運動前野では、一次運動野と比較して、神経活動の運動方向選択性が大きく変化している事が明らかとなった。これらの結果から、運動前野における運動情報表現の大きな変化が新奇の環境における運動の実行に重要であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

マーモセットは日本が世界に先駆けて遺伝子改変動物の作成に成功している霊長類で、様々な精神神経疾患のモデル動物が開発されている。脳の機能はその機能に関連する脳領域が協調的に活動する事によって実現される。そのため神経活動の乱れ、あるいは欠落は脳機能の低下を招き、時には精神神経疾患の原因にもなる。本研究では健常脳や病態脳機能の基盤となる脳領域間ネットワークの動態を可視化し解析するための方法論を提供する。したがって本研究が遂行される事でマーモセットを利用した方法論が確立されれば、精神神経疾患における脳機能破綻のメカニズム解明に向けた新しい霊長類研究の流れを生み出す事ができると考えている。

研究成果の概要（英文）：We conducted wide-field one-photon and high-resolution two-photon calcium imaging in premotor (PMdc) and primary motor (M1) cortices of common marmosets while they learned a two-target reaching (pull/push) task. Throughout learning, PMdc switched its preferred movement direction, whereas M1 neurons stably retained it. This result suggests that the motor representation changes in PMdc would be required for the learning of a sensorimotor association learning.

研究分野：神経科学

キーワード：コモンマーモセット カルシウムイメージング 大脳皮質運動野 学習

### 1. 研究開始当初の背景

周囲の状況に合わせて動作を実行する機能は大脳皮質の運動前野や補足運動野などの高次の運動野で実行されている。特に運動前野 (Premotor cortex, PM) は高次の感覚処理領域である後頭頂葉 (Posterior Parietal Cortex, PPC) や、運動の誤差学習・運動修正に関連する小脳からの入力を受けており、これを反映する形で運動中の環境の変化や、運動の修正に関連した神経活動が表現されている。しかし運動中の脳内で、どのような情報が実際に PM へと伝搬され、最適な運動の制御につながっているのかはよくわかっていない。例えば、運動誤差に関する情報は小脳だけでなく、PPC でも表現されている (Inoue, Curr. Biol., 2018)。他方、小脳は運動学習だけでなく、感覚情報の処理にも関与している (Ishikawa, eLife, 2015)。このように各々の領域が様々な情報を表現する中で、PM はどの領域からどのような情報を受け取り、運動の情報を生成しているのだろうか。この疑問に答えるためには、PM に伝搬する神経活動や PM へと出力する脳領域の神経活動を同時に計測、制御する事が重要だと思われる。本申請計画では、「ある環境に適した運動の実行が、PM を中心とした脳の領域間ネットワークによってどのように実現されているか」を核心をなす問いとして、これに答えるべく、最新の光計測・制御技術を駆使して研究を進めたい。

マーモセットは日本が世界に先駆けて遺伝子改変動物の作成に成功している霊長類で、パーキンソン病や統合失調症、ADHD など、様々な精神神経疾患のモデル動物が開発されつつある。認知、知覚、運動といった脳の機能は、その機能に関連する脳領域が協調的に活動する事によって実現される。そのため、神経活動の乱れ、あるいは欠落は脳機能の低下を招き、時には精神神経疾患の原因にもなる。本研究では、健常脳や病態脳機能の基盤となる脳領域間ネットワークの動態を可視化・制御し解析するための方法論を提供する。したがって本研究が遂行される事で霊長類、特にマーモセットを利用した方法論が確立されれば、精神神経疾患における脳機能破綻のメカニズム解明に向けた新しい霊長類研究の流れを生み出す事ができると考えている。

### 2. 研究の目的

上記の問いに答えるためには、PM を中心とする大脳皮質運動関連領域の大規模同時神経活動計測や、PM へと至る投射軸索の活動を計測・制御する必要があるが、これにはカルシウムイメージング法や光遺伝学の技術が適していると思われる。そこで本研究では、申請者がこれまでに開発してきた小型霊長類コモンマーモセットのための運動課題と運動中のカルシウムイメージング法 (Ebina, Nat. Commun., 2018)、光遺伝学による神経活動の操作法と前肢運動の制御法 (Ebina, Proc. Natl. Acad. U.S.A., 2019) を組み合わせ、運動の制御を実現する PM を中心とした脳機能ネットワークの神経基盤を明らかにする事を目的とする。

### 3. 研究の方法

#### A. 大脳皮質運動野神経活動の計測と解析

コモンマーモセットは手元のコントローラーを操作して、画面上のカーソルをターゲット位置まで移動させることができる (図1, Ebina, Nat. Commun., 2018)。この到達運動課題中のマーモセット大脳皮質運動野を対象にカルシウムイメージングによる神経活動計測を実施し、運動野の神経活動がどのような運動関連情報を表現しているのかを解析する。

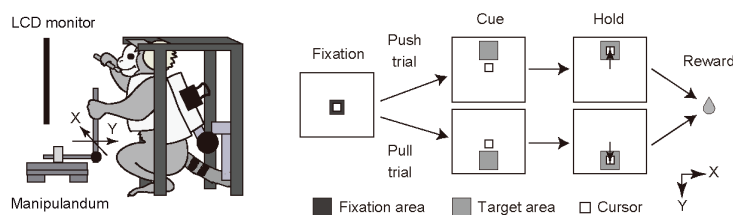


図1. 2方向到達運動課題

#### B. 運動学習による大脳皮質運動野神経活動の変化の解析

先行する研究結果から、この運動課題は20-40日程度の訓練で習得できる事が分かっている。そこで、この訓練課程で運動関連領域の神経活動をカルシウムイメージングにより長期計測して、どのような神経活動の変動が新規のターゲットと運動の連合学習に重要かを明らかにする。

#### C. 光遺伝学による運動関連神経活動生成のメカニズム解明

タスク中のマーモセット大脳皮質運動野の神経活動を光遺伝学的に操作して、その際の行動の変化を解析する。操作する領域やタイミングを変化させ、それぞれの条件における行動の変化を解析する事によって、運動野神経活動の運動機能への因果性を検証する。

### 4. 研究成果

2020年度は基盤技術となる到達運動課題とカルシウムイメージングによる神経活動計測法の改良を進めた。カルシウムイメージングについてはカルシウムセンサータンパク質の導入方法等、実験パラメータの最適化を進めた。タスク装置については装置形状を見直す事で、体動の影響を十分に小さくした状態で高クオリティのイメージングを実施する事が可能となった。また、予定していた2光子カルシウムイメージングによる神経細胞体活動の計測だけでなく、1光子カルシウムイメージングによって複数的大脑皮質領野の活動を同時に計測するための広域イメージング技術の開発に成功した(図2)。

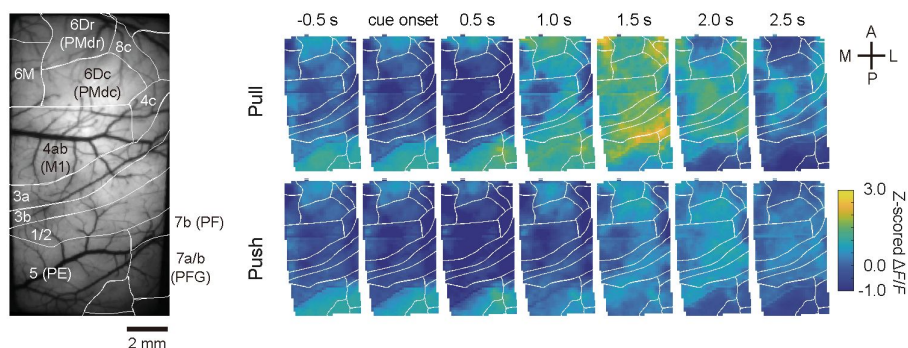


図2. マーモセット大腦皮質背側部の広域1光子カルシウムイメージング

2021年度は前年度に開発した広域カルシウムイメージング法によって、視覚キューに対応して2種類の運動を実行する課題を学習している時のコモンマーモセット大腦皮質を対象とした神経活動計測を実施した。結果、霊長類的大脑皮質運動野では、運動前野が一次運動野よりも早いタイミングで活動する事、この傾向が学習の期間によらず常に保たれている事が明らかとなった。また、2種類の運動に対する神経活動の選択性を解析したところ、学習の期間で運動前野における選択性が大きく変動する一方で、一次運動野ではその変化は比較的小さい事が明らかとなった。これらの結果から、運動前野における運動情報表現の大きな変化が新奇の環境における運動の実行に重要であることが示唆された(図3)。

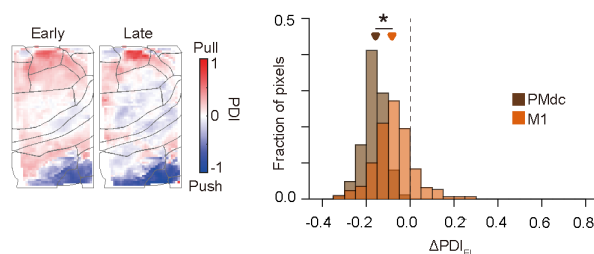


図3. 学習過程における運動野神経活動の運動方向選択性的変化

2022年度は2021年度に広域1光子イメージングによって明らかとなった、運動学習期間中の運動前野と一次運動野の神経活動の変動が単一ニューロンレベルでも観察されるのかについて検討を進めた。2光子イメージングによる同一神経細胞集団の計測を行い、データを解析した結果、運動前野における単一ニューロン活動の運動方向選択性は運動学習の期間を通して大きく変動していたのに対し、一次運動野ではそのような変動が見られなかった。

2023年度は一次運動野と運動前野のニューロンについて、神経活動の運動方向選択性と空間分布の関係について検討した。結果、どちらの運動野においても近傍のニューロンは似た運動方向選択性を示しており、クラスター様の空間分布を取っている事が明らかとなった。また、運動学習の前後で空間分布に変動があるかを解析し、一次運動野では学習期間を通して近傍ニューロン間の運動方向情報の類似度が同等であったのに対し、運動前野では学習前期における類似度が後期よりも高くなっていた。以上の結果は、運動前野における運動情報表現の単一ニューロンレベルでの変化が新奇の環境における運動の実行に重要であることを示唆している。

予定していた光遺伝学実験については期間内に実施する事が出来なかったが、イメージング実験による結果を論文にまとめ、現在論文を投稿中である(Ebina et al., bioRxiv, 2023)。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Ebina Teppei, Sasagawa Akitaka, Hong Dokyeong, Setsuie Rieko, Obara Keitaro, Masamizu Yoshito, Kondo Masashi, Terada Shin-Ichiro, Ozawa Katsuya, Uemura Masato, Takaji Masafumi, Watakabe Akiya, Kobayashi Kenta, Ohki Kenichi, Yamamori Tetsuo, Murayama Masanori, Matsuzaki Masanori	4. 巻 -
2. 論文標題 Dynamics of motor direction representation in the primate premotor and primary motor cortices during sensorimotor learning	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 bioRxiv	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） 10.1101/2023.09.13.556461	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 -

1. 著者名 Nomura Shinosuke, Terada Shin-Ichiro, Ebina Teppei, Uemura Masato, Masamizu Yoshito, Ohki Kenichi, Matsuzaki Masanori	4. 巻 -
2. 論文標題 ARViS: A bleed-free multi-site automated injection robot for accurate, fast, and dense delivery of virus to mouse and marmoset brains	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 bioRxiv	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） 10.1101/2024.01.15.575593	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 -

1. 著者名 Obara Keitaro, Ebina Teppei, Terada Shin-Ichiro, Uka Takanori, Komatsu Misako, Takaji Masafumi, Watakabe Akiya, Kobayashi Kenta, Masamizu Yoshito, Mizukami Hiroaki, Yamamori Tetsuo, Kasai Kiyoto, Matsuzaki Masanori	4. 巻 14
2. 論文標題 Change detection in the primate auditory cortex through feedback of prediction error signals	5. 発行年 2023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/s41467-023-42553-3	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 Matsuzaki Masanori, Ebina Teppei	4. 巻 12
2. 論文標題 Optical deep-cortex exploration in behaving rhesus macaques	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 4656
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-021-24988-8	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 Hasegawa Ryota, Ebina Teppei, Tanaka Yasuhiro R., Kobayashi Kenta, Matsuzaki Masanori	4. 巻 15
2. 論文標題 Structural dynamics and stability of corticocortical and thalamocortical axon terminals during motor learning	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0234930
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0234930	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 Okamoto Kazuki, Ebina Teppei, Fujii Naoki, Konishi Kuniaki, Sato Yu, Kashima Tetsuhiko, Nakano Risako, Hioki Hiroyuki, Takeuchi Haruki, Yumoto Junji, Matsuzaki Masanori, Ikegaya Yuji	4. 巻 7
2. 論文標題 Tb3+-doped fluorescent glass for biology	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 eabd2529
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.abd2529	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 Matsuzaki Masanori, Ebina Teppei	4. 巻 64
2. 論文標題 Common marmoset as a model primate for study of the motor control system	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Current Opinion in Neurobiology	6. 最初と最後の頁 103 ~ 110
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.conb.2020.02.013	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20件 (うち招待講演 5件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 蝦名鉄平
2. 発表標題 カルシウムイメージングによる神経活動の計測
3. 学会等名 第33回 日本神経回路学会全国大会 サテライトシンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 蝦名鉄平
2. 発表標題 マニピュラタムを用いたコモンマーモセットのための前肢運動課題の開発
3. 学会等名 日本神経科学大会（ランチョンセミナー）（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 山根 ゆか子、蝦名 鉄平、笹川 瑛貴、寺田 晋一郎、上村 允人、大木 研一、松崎 政紀、銅谷 賢治
2. 発表標題 前肢運動課題学習中マーモセットの広域カルシウムイメージングにより捉えた感覚運動ネットワークの変化
3. 学会等名 第46回 日本神経科学大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Kawabata, M., Hirayama, Y., Ebina, T., Matsuzaki, M., and Isomura, Y.
2. 発表標題 Establishing cognitive behavioral tasks for torso-fixed marmoset.
3. 学会等名 第13回 日本マーモセット研究会大会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Kawabata, M., Hirayama, Y., Ebina, T., Isomura, Y., Matsuzaki, M.
2. 発表標題 Establishing cognitive behavioral tasks with dexterity movements for marmoset.
3. 学会等名 日本動物心理学会 第83回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 蝦名 鉄平、笹川 瑛貴、ホン ドギョン、正水 芳人、寺田 晋一郎、上村 允人、大木 研一、渡我部 昭哉、小林 惠太、山森 哲雄、松崎 政紀
2. 発表標題 コモンマーモセット運動野における感覚運動学習による神経活動の変化
3. 学会等名 第46回 日本神経科学大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 野村 晋ノ介、寺田 晋一郎、蝦名 鉄平、近藤 将史、松崎 政紀
2. 発表標題 マウスおよびマーモセット脳への正確・迅速・高密度なウイルス注入を実現する多点自動インジェクションロボットの開発
3. 学会等名 第46回 日本神経科学大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 瀬原 慧祐、近藤 将史、蝦名 鉄平、平山 由香、寺田 晋一郎、正水 芳人、高司 雅史、渡我部 昭哉、井上 謙一、山森 哲雄、松崎 政紀
2. 発表標題 動機づけ課題中の霊長類大脳皮質神経活動への自発的な体動の寄与
3. 学会等名 第46回 日本神経科学大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 蝦名鉄平
2. 発表標題 非ヒト霊長類大脳皮質神経活動の光計測と制御技術開発による脳システムの理解
3. 学会等名 第16回 Motor Control研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 蝦名鉄平
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 第16回 Motor Control研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 1.正水 芳人、蝦名 鉄平、田中 康裕、根岸 みどり、尾上 弘晃、竹内 昌治、松崎 政紀
2. 発表標題 神経回路を創出するための基盤技術開発
3. 学会等名 第83回応用物理学会秋季学術講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Ebina, T., Sasagawa, A., Hong, D., Masamizu, Y., Terada, S.I., Uemura, M., Ohki, K., Watakabe, A., Kobayashi, K., Yamamori, T., and Matsuzaki, M.
2. 発表標題 Reorganization of neuronal activity in the marmoset premotor and primary motor cortices during sensorimotor learning.
3. 学会等名 第12回 日本マーモセット研究会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 蝦名鉄平
2. 発表標題 マーモセットのための前肢運動課題の開発と運動野神経細胞活動の2光子イメージング
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会（招待講演）
4. 発表年 2021年



1. 発表者名 正水芳人、蝦名鉄平、田中康裕、根岸みどり、尾上弘晃、竹内昌治、松崎政紀
2. 発表標題 生体脳に神経回路を創出するための技術開発
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 正水芳人、蝦名鉄平、田中康裕、根岸みどり、尾上弘晃、竹内昌治、松崎政紀
2. 発表標題 光操作技術を用いた神経回路創出法の技術開発
3. 学会等名 第82回応用物理学会秋季学術講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 蝦名鉄平
2. 発表標題 霊長類の運動を制御する脳領域間ネットワークの光計測と制御
3. 学会等名 脳情報動態・時間生成学・超適応 若手研究者合同シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 蝦名鉄平
2. 発表標題 コモンマームセットの大脳皮質を対象としたin vivo 2光子イメージング
3. 学会等名 第3回 サル脳新技術研究会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小原慶太郎、蝦名鉄平、正水芳人、寺田晋一郎、宇賀貴紀、小松三佐子、一戸紀孝、渡我部昭哉、水上浩明、山森哲雄、笠井清登、松崎政紀
2. 発表標題 カルシウムイメージングによるマーモセット聴覚野からのミスマッチ陰性電位記録
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yamane, Y., Ebina, T., Sasagawa, A., Terada, S., Uemura, M., Ohki, K., Matsuzaki, M., and Doya, K.
2. 発表標題 Signal causality analysis of marmoset wide-field calcium imaging.
3. 学会等名 The 31st Annual Conference of the Japanese Neural Network Society
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Masamizu, Y., Ebina, T., and Matsuzaki, M.
2. 発表標題 Two-photon calcium imaging in the motor cortex of non-human primates during movement tasks
3. 学会等名 The 9th RIEC International Symposium on Brain Functions and Brain Computer
4. 発表年 2020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
---------	---------