

令和 6 年 5 月 30 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K21805

研究課題名（和文）線虫を用いた強化学習の試み

研究課題名（英文）Reinforcement learning on *Caenorhabditis elegans*

研究代表者

飯野 雄一（Iino, Yuichi）

東京大学・大学院理学系研究科（理学部）・教授

研究者番号：40192471

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、まず線虫の行動を定量観測し、過去の行動および外部刺激のパターンから次の行動を確率的に予測するニューラルネットワークモデルを作成した。次にこのモデル線虫に対して強化学習モデルを学習させることにより線虫の行動を制御することに成功した。一方、線虫の全頭部神経の活動を同時に観測し、神経活動から後退運動を予測することに成功した。さらに、学習により変化するシナプスを特定し、シナプス放出に関わるシンタキシンのリン酸化が学習により制御され、行動を変化させることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脳の情報の読み取りや操作は脳科学の大きな目標のひとつである。本研究では、線虫を用いて行動モデルを作成し、その上で強化学習を行い、これにより行動を自在にコントロールする方法を取得し、実際の線虫をその方法で制御できることを示した。さらに、分子的な行動制御にも成功し、全頭部のイメージングによる脳活動の読み取り、行動予測にも成功した。これら一連の読み取り、制御技術は将来ブレインマシンインターフェースにより神経損傷患者のリハビリ支援などの技術を開発する際の基盤的な学術的知見として有用となることが期待される。

研究成果の概要（英文）：In this study, we generated a neural network model which predicts the behavior of the nematode *C. elegans* at the next time step based on previous sequence of the behavior and external stimuli, by training the network using observed data of real animals. We next used this model nematode and trained a reinforcement learning model so as to regulate the model animal and succeeded in controlling the behavior of real *C. elegans*. We also observed the neural activity of the whole brain region of the animal and succeeded in predicting the reversal behavior at the next time step. We also found the synapse that change by learning and found that the phosphorylation of syntaxin, a key molecule for synaptic transmission, is regulated by learning and underlie the behavioral changes.

研究分野：線虫を用いた遺伝学、分子生物学、分子イメージング、神経イメージング、行動定量化、数理解析による脳研究

キーワード：線虫 強化学習 行動モデル 確率モデル 4Dイメージング 全脳イメージング 化学走性学習 シナプス可塑性

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、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

ライフ・メディカルサイエンスの進歩に伴い、脳の情報の読み取りや操作がひとつの研究の流れと位置づけられるようになってきていた。最たる例として、Brain-Machine Interface (BMI) ではヒトの脳の活動を読み取り、意図の通りに義手等を動かすことができ始めていた。そのような研究により神経障害患者のリハビリ支援などへの応用が可能となることが期待されている。

研究代表者らはモデル小動物である線虫の神経系の分子的レベルの研究と、回路から行動レベルの研究とを共に進めて来た。特に、化学走性行動における学習に注目し、その分子、神経機構を明らかにしてきた。蛍光プローブによる神経活動の計測に加え、光遺伝学による特定神経の人為的活性化による行動誘起を神経機能解明の一貫として行って来た。一方、近年、焦点面を高速に動かす 4D イメージングによる全神経活動の計測を新学術領域研究 (研究代表者が領域代表) JST/CREST (研究代表者が代表) の共同研究などにより開始し、全頭部神経の活動をニューラルネットによりモデル化するところまで進んで来た。一方で、線虫の行動を精緻に定量化し、確率的リカレントネットワークモデルにより行動を再現することにも成功していた。

2. 研究の目的

線虫は、個体の持つ神経系の構造が電子顕微鏡レベルで完全に解明されている唯一の生物である。つまり、回路の構造が完全に既知である。このことは、この実験動物が神経回路の動作原理を明らかにする格好な材料であることを意味する。この線虫を用い、上記リカレントネットワークモデルによって行動シミュレーターをもとにコンピュータに強化学習を行わせ、線虫の行動をコントロールすること、さらには線虫の学習をコントロールすることを目指した。

3. 研究の方法

以下のステップにより進めることとした。

- < 神経の人為操作 行動の強化学習 >
- < 神経活動 行動の機械学習 >
- < 線虫の (生物学的な) 学習 >

4. 研究成果

(1) 一連の研究計画に線虫の行動モデルが必要であるので、行動モデルを整備した。線虫は線状の形態を持つため、各瞬間の線虫の姿勢は体の中心線の形態で一義的に表現できる。中心線の数値データに主成分分析という変換を施すことにより 5 つの数値のみでほぼ完全に中心線が再現できることが示されている。この姿勢表現をアイゲンワームと呼ぶ ()。アイゲンワームに加え、体の向き、重心位置と速度角速度を加えた各時点 10 数値を線虫の行動時系列データとした。侵害受容神経に光遺伝学プローブ Chr2 を発現させ、青色光により侵害受容神経が刺激できる線虫を用い、ランダムなタイミングで青色光を照射し、この時系列も入力データとした。行動モデルには MDN-RNN というニューラルネットワークモデルを用いた。これはテレビゲームを行う人工知能として著名な "World Models" () で用いられたモデルで、入力された過去の行動時系列を LSTM という種類の再帰的ニューラルネットワーク (RNN) で処理し、結果が混合正規分布で出力されるネットワーク (MDN) である (図 1、)。このネットワークを実データによって学習させた。この結果、MDN-RNN モデルは過去 100 ステップ (5fps×20 秒) の行動時系列データが入力されると、次のステップの行動状態を確率分布として予測する。線虫は多くの時間、蛇行運動により前進を行うが、突発的に首を曲げて方向を変えたり後退したりする。我々の MDN-RNN モデルはこういった確率的な行動をよく表現していることが定量的評価により確かめられた。

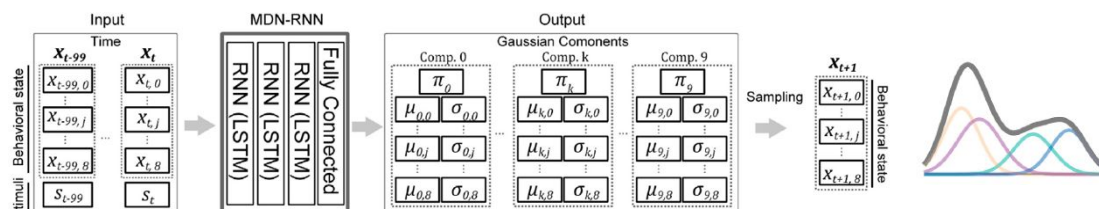


図1 行動数値および光刺激のタイミングを入力とし、再帰的ネットワークを基盤とする MDN-RNN モデルは次の瞬間の行動数値を確率的に予測する。

(2) このモデルを用いて強化学習を行った。上述のように、我々の MDN-RNN モデルは光刺激の有無も入力として受け取り、その影響が出力行動に反映される。定量的評価によると、MDN-CNN モデル上で 1 秒間の光刺激を与えると後退確率が 1 割ほど上昇することが確認された。これは実線虫で観察されていることと同様である。この MDN-RNN モデルが実際の線虫の行動を再現して

いると考え、線虫に所望の行動を取らせるための光刺激パターンを強化学習により取得することを目指した。

強化学習にはディープ Q ネットワーク (DQN) を用いた。目標点をひとつ定め、MDN-RNN によるモデル線虫を自由に移動させる。報酬として目標点までの距離を用い、強化学習エージェントは線虫のゴールからの相対位置と姿勢の情報を与えられて光刺激を行動 (Action) として出力する。この強化学習モデルを学習させることにより、モデル線虫のゴールへの到達確率を上昇させることに成功した。次に、実動物を用いて、学習済みの戦略を用いて光刺激を行った。ここでは、線虫を電動ステージに載せて低倍率の顕微鏡で観測しつつ、強化学習モデルの指示に従い LED の光照射を行った。この結果、強化学習モデルの指示に従うと実際の線虫の目標点での到達確率が上昇した (図 2)。

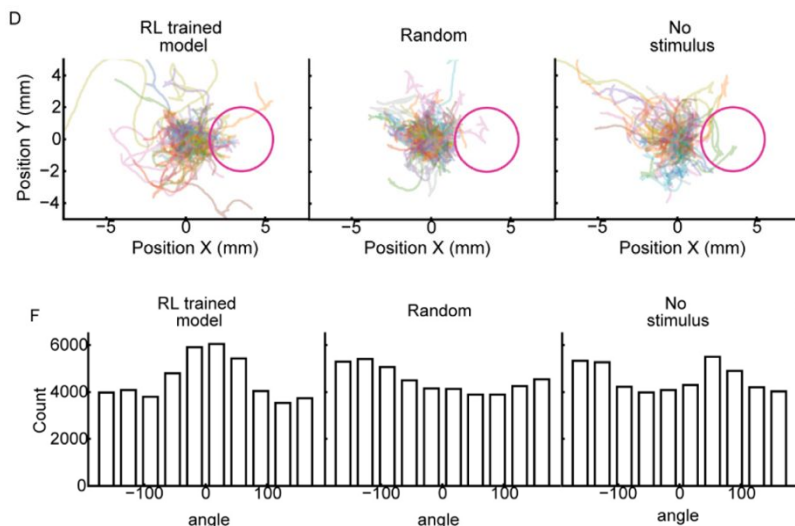


図 2 モデル線虫を用いて学習させた強化学習モデルを用いて実線虫を光遺伝学的に制御した結果。上段：線虫の軌跡。1 匹ずつの軌跡を異なる色で示している。設定したゴール位置を赤丸で囲った。機械学習モデルの指示に従い光刺激した場合にゴールへの到達が増えた (左)。下段：行動中のゴール方向からの角度の分布。強化学習エージェントにより制御した場合にはゴールに向かう (角度 0 近く) 方向に進んでいることが多かった。

以上、強化学習により線虫の行動に所望の行動を取らせることができた。

(3) 一方、前述のように、研究代表者等は全神経にカルシウムプローブを発現させた線虫を高速共焦点顕微鏡で撮影し、多数の神経の神経活動を同時に得る 4D イメージングの実験系を構築している。この測定結果を用いて、神経活動から行動を予測するモデルを作成することを試みた。今回、微小流路内に固定した線虫の 4D イメージングデータを用いたため、直接的に行動データを取得することはできないが、後退行動と 1 対 1 に対応しているコマンド神経の活動が記録できているため、これらの神経の活動を自由行動中の後退とみなすことができる。

線虫では全神経回路の構造が明らかになっているため、この情報を利用した。まず、対象とする神経細胞を定め、対象神経にシナプス入力する神経群 (プレシナプス神経群) の過去 (約 1 分間) の活動時系列から対象神経の次の時点 (1 秒後) での活動を予測するモデル、gKDR-GMM モデルを作成した。カーネル次元削減法 gKDR (gradient Kernel Dimension Reduction) () を用い

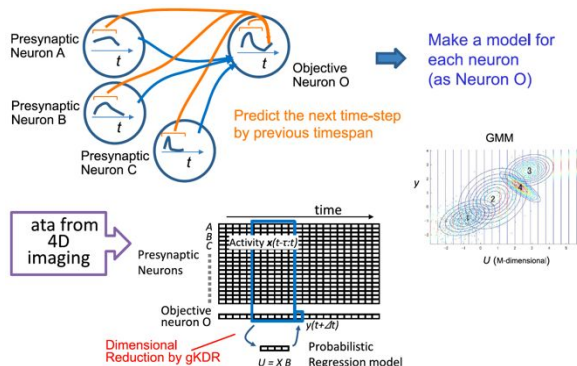


図 3 gKDR-GMM モデル。対象神経の未来の神経活動を予測するため、その神経にシナプス入力を行う神経の過去の活動時系列を用いる。これを gKDR 法により次元削減し、低次元の U という変数の数値に変換する。U の値をもとに対象神経の次の時点での活動を混合ガウス分布で表現する。

て、多数の数値からなるプレシナプス神経群活動を、対象神経の予測に最も重要な 3~5 個の数値で表現する。この縮約された表現をもとに、対象神経の活動を混合正規分布モデル (GMM) で確率的に予測する (図 3)。

線虫の神経活動には与えた感覚刺激と独立な自発的活動が多く見られることが知られているが、そのうちの一群が、お互いに相関を持って変化している。これらは前進運動のコマンド神経とそれと同期活動する神経群および、それとは反相関した、後退運動に付随する神経群である。このような相関反相関関係も gKDR-GMM モデルによるシミュレーションでかなりよく再現されることが定量的に確認され、AVA の活動時系列の確率的予測ができるようになった (図 4)。

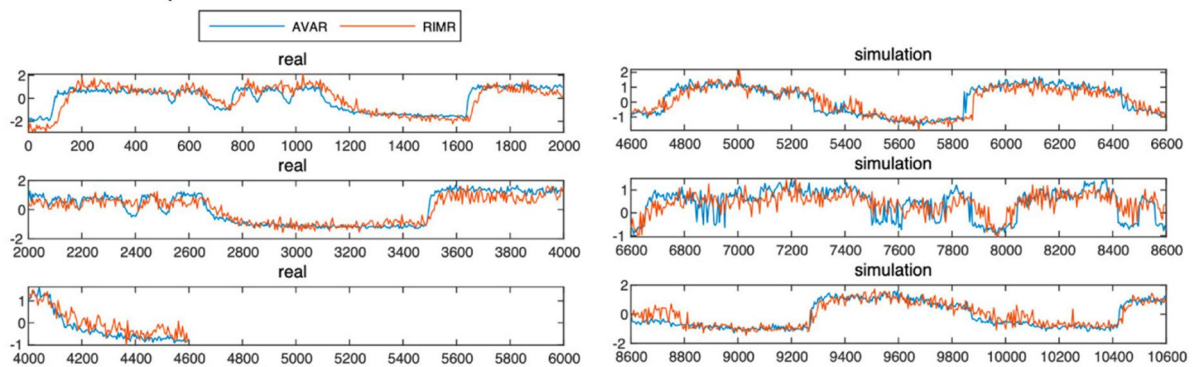


図 4 後退コマンド神経 AVAR と、それと高い相関をもって活動する RIMR 神経の活動。左が 4D イメージングで実際に測定されたデータ、右が実データにより学習させた gKDR-GMM モデルを用いて生成させた活動時系列。

また、特定の神経を人為的に刺激した際の他の神経の活動も gKDR-GMM モデルで予測でき、この予測は実動物を用いた実験結果と正の相関を持つことが示された ()。

(4) 線虫の塩に対する化学走性には連合学習が見られる。例えば、高い塩濃度で餌を摂食した線虫は高い塩濃度を好むようになり、逆に高い塩濃度で飢餓を経験させると高い塩濃度を避けるようになる。そこで、学習によって変化するシナプスを全脳レベルで見つけることを試みた。しかし、いくつかの困難に遭遇した。異なる塩濃度で学習させて個体の全脳活動を測定したが、神経活動の個体差の方が大きく ()、この方法では学習に対応するシナプスの同定ができなかった。同じ個体を用い、学習前に神経活動を測定した個体を学習させて再度測定することも試みた。複数回微小流路に線虫を挿入、離脱する作業により線虫の状態が悪化し、使用に耐えるイメージング結果が得られなかった。微小流路を用いず自由行動中の線虫の全脳イメージングも試みた。光学系の量子効率が悪いためか蛍光の褪色が早く長時間の記録ができなかった。

(5) 分子神経科学の手法を用いて伝達が変化するシナプスと分子機構を見出した。これまでの遺伝学的研究により、ジアシルグリセロール(DAG)経路が塩濃度記憶による塩濃度指向性行動の制御に関わること、この分子経路は ASER 感覚神経で働くことを明らかにしていた。一方、線虫に与える塩の濃度を変化させると ASER 神経のシナプス部位での DAG の量が逆方向に変化することを見出していた ()。DAG の下流では DAG により活性化される n 型プロテインキナーゼ C である PKC-1 が働くことも分かっていたがその下流が不明であった。そこで、神経特異的リン酸化プロテオミクスを取得する方法を開発し、PKC-1 の活性に依存して変化するリン酸化タンパク質を検索したところ、PKC-1 に依存してシナプス放出に重要なシタキシン UNC-64 の 65 番目のセリンがリン酸化されることを見出した。このセリンをアミノ酸置換することにより実際に塩濃度指向性が変化した。つまり、この分子的操作により記憶を書き換えることができることができた。

ASER 感覚神経はグルタミン酸を神経伝達物質として用いており、ASER 感覚神経からの出力を受け取る介在神経である AIB 神経には興奮性と抑制性のグルタミン酸受容体が存在する。これらのグルタミン酸受容体はグルタミン酸への親和性が異なる (抑制性受容体の方が親和性が高い)ことが明らかになった。シタキシン UNC-64 の活性変化により ASER 感覚神経からのシナプス放出量が変わると、受容体の親和性が異なることによって、興奮性伝達優位か抑制性伝達優位かが変化し、探索行動中の塩濃度変化が塩への誘引行動を引き起こすか忌避行動を引き起こすかが異なってくる。これにより、過去の記憶を反映したシタキシン UNC-64 のリン酸化レベルの変化が塩への指向性行動を変化させるしくみが明らかとなった ()。

以上、本研究の成果により、分子レベルから個体レベルまでの制御機構が定量的に明らかとなることによって、行動や記憶の制御を行う方策の端緒が得られた。今後の BMI の発展にも資する成果であると考えられる。

<引用文献>

Stephens, G.J., Johnson-Kerner, B., Bialek, W., and Ryu, W.S. (2008). Dimensionality and Dynamics in the Behavior of *C. elegans*. PLoS Comput Biol 4, e1000028. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1000028>.

Ha, D., and Schmidhuber, J. (2018). Recurrent World Models Facilitate Policy Evolution.

Advances in Neural Information Processing Systems 31 (NeurIPS 2018), https://papers.nips.cc/paper_files/paper/2018/hash/2de5d16682c3c35007e4e92982f1a2ba-Abstract.html

Fukumizu, K., and Leng, C. (2014). Gradient-Based Kernel Dimension Reduction for Regression.

Journal of the American Statistical Association 109, 359-370. <https://doi.org/10.1080/01621459.2013.838167>.

Ohno, H., Sakai, N., Adachi, T., and Iino, Y. (2017). Dynamics of Presynaptic Diacylglycerol in a Sensory Neuron Encode Differences between Past and Current Stimulus Intensity.

Cell Reports 20, 2294-2303. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.08.038>.

(以下本研究成果発表論文)

Mori, K., Yamauchi, N., Wang, H., Sato, K., Toyoshima, Y., and Iino, Y. (2022). Probabilistic generative modeling and reinforcement learning extract the intrinsic features of animal behavior.

Neural Networks 145, 107-120. <https://doi.org/10.1016/j.neunet.2021.10.002>.

Toyoshima, Y., Sato, H., Nagata, D., Kanamori, M., Jang, M.S., Kuze, K., Oe, S., Teramoto, T., Iwasaki, Y., Yoshida, R., et al. (2024). Ensemble dynamics and information flow deduction from whole-brain imaging data.

PLoS Computational Biology 20, e1011848. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1011848>.

Hiroki, S., Yoshitane, H., Mitsui, H., Sato, H., Umatani, C., Kanda, S., Fukada, Y., and Iino, Y. (2022). Molecular encoding and synaptic decoding of context during salt chemotaxis in *C. elegans*.

Nat Commun 13, 2928. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-30279-7>.

5. 主な発表論文等

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

| | |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名 Hiroki, S., Yoshitane, H., Mitsui, H., Sato, H., Umatani, C., Kanda, S., Fukada, Y., and Iino, Y. | 4. 巻 13 |
| 2. 論文標題 Molecular encoding and synaptic decoding of context during salt chemotaxis in <i>C. elegans</i> | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 NATURE COMMUNICATIONS | 6. 最初と最後の頁 (1)2928 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-022-30279-7 | 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 Hiroki, S., and Iino, Y. | 4. 巻 119 |
| 2. 論文標題 The redundancy and diversity between two novel PKC isotypes that regulate learning in <i>Caenorhabditis elegans</i> | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. | 6. 最初と最後の頁 (3)e2106974119 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1073/pnas.2106974119 | 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 Mori, K., Yamauchi, N., Wang, H., Sato, K., Toyoshima, Y., and Iino, Y. | 4. 巻 145 |
| 2. 論文標題 Probabilistic generative modeling and reinforcement learning extract the intrinsic features of animal behavior | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Neural Netw | 6. 最初と最後の頁 107-120 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neunet.2021.10.002 | 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 Toyoshima Yu, Wu Stephen, Kanamori Manami, Sato Hirofumi, Jang Moon Sun, Oe Suzu, Murakami Yuko, Teramoto Takayuki, Park Chanhyun, Iwasaki Yuishi, Ishihara Takeshi, Yoshida Ryo, Iino Yuichi | 4. 巻 18 |
| 2. 論文標題 Neuron ID dataset facilitates neuronal annotation for whole-brain activity imaging of <i>C. elegans</i> | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 BMC Biology | 6. 最初と最後の頁 30 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12915-020-0745-2 | 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 Toyoshima, Y., Sato, H., Nagata, D., Kanamori, M., Jang, M. S., Kuze, K., Oe, S., Teramoto, T., Iwasaki, Y., Yoshida, R., Ishihara, T., & Iino, Y. | 4. 巻 20 |
| 2. 論文標題 Ensemble dynamics and information flow deduction from whole-brain imaging data | 5. 発行年 2024年 |
| 3. 雑誌名 PLOS Computational Biology | 6. 最初と最後の頁 e1011848 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pcbi.1011848 | 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 - |

[学会発表] 計9件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 7件)

| |
|--|
| 1. 発表者名 Ayaka Matsumoto, Chenqi Zhang, Akihiro Isozaki, Keisuke Goda, Yu Toyoshima, Yuichi Iino |
| 2. 発表標題 Investigating how worms integrate sensory and motor information in salt klinotaxis |
| 3. 学会等名 CeNeuro2022 (国際学会) |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Shingo Hiroki, Hirofumi Sato, Yu Toyoshima, Llian Mabardi, Hikari Yoshitane, Hinako Mitsui, Manami Kanamori, Chie Umatani, Shinji Kanda, Mashiro Tomoioka, Koichi Hashimoto, Hirofumi Kunitomo, Yoshitaka Fukada, Takeshi Ishihara & Yuichi Iino |
| 2. 発表標題 Molecules and neural network underlying salt preference |
| 3. 学会等名 CeNeuro2022(C. elegans Topic Meeting: Neuronal Development, Synaptic Function and Behavior) (国際学会) |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Ukyo T. Tazawa, Koyo Kuze, Ayaka Matsumoto, Yu Toyoshima, Suzu Oe, Takayuki Teramoto, Takeshi Ishihara, Yuichi Iino |
| 2. 発表標題 Analysis of neural activity underlying turning movement by tracking-imaging of freely moving C. elegans. |
| 3. 学会等名 NEURO2022 (国際学会) |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 久世晃暢、田澤右京、豊島有、大江紗、寺本孝行、石原健、飯野雄一 |
| 2. 発表標題 線虫が侵害受容から忌避応答を引き起こす神経回路の解析 |
| 3. 学会等名 NEURO2022 (国際学会) |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Shingo Hiroki, Hirofumi Sato, Yu Toyoshima, Llian Mabardi, Hikari Yoshitane, Hinako Mitsui, Manami Kanamori, Chie Umatani, Shinji Kanda, Mashiro Tomoioka, Koichi Hashimoto, Hirofumi Kunitomo, Yoshitaka Fukada, Takeshi Ishihara & *Yuichi Iino |
| 2. 発表標題 Molecules and neural network underlying salt preference |
| 3. 学会等名 CeNeuro2022 (C. elegans Topic Meeting: Neuronal Development, Synaptic Function and Behavior) (招待講演) (国際学会) |
| 4. 発表年 2022年 |

| |
|------------------------------------|
| 1. 発表者名 山内直寛、森啓太、飯野雄一、銅谷賢治 |
| 2. 発表標題 線虫の行動制御神経回路機構の強化学習による探索 |
| 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 Keita Mori |
| 2. 発表標題 Disentangling behavioral dynamics with MDN-RNN |
| 3. 学会等名 NeurIPS2020 (国際学会) |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 山内直寛 |
| 2. 発表標題 線虫の混合密度再帰型ニューラルネットワークによる行動シミュレーションと強化学習による行動制御 |
| 3. 学会等名 第43回神経科学大会 |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Koyo Kuze, Karin Suwazono, Midori Wakana, Moon Sun Jang, Hirofumi Kunitomo, Yu Toyoshima, Yuichi Iino |
| 2. 発表標題 Classification of C. elegans behaviors based on centroid movement and posture analyses |
| 3. 学会等名 24th International C. elegans Conference (国際学会) |
| 4. 発表年 2023年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

| |
|--|
| 飯野研究室 http://molecular-ethology.bs.s.u-tokyo.ac.jp/labHP/J/JTop.html |
|--|

| | | |
|---------------------------|-----------------------|----|
| 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 |
|---------|---------|
|---------|---------|