

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：63801

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H02586

研究課題名（和文）視覚情報処理ネットワークの広範な活性化を駆動するハブ神経回路の解析

研究課題名（英文）Visual processing hub that triggers wide-spread network activity

研究代表者

久保 郁（Kubo, Fumi）

国立遺伝学研究所・大学共同利用機関等の部局等・特命准教授

研究者番号：40786373

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）：本研究では、前視蓋クラスターがハブとして働くという仮説の元、新規・前視蓋クラスター特異的系統を用いて、機能的および解剖学的な神経接続の様式を解析した。前視蓋クラスターを人為的に活性化すると、前視蓋およびそれ以外の脳領域において神経活性化が誘導された。さらに、前視蓋クラスター細胞は近傍の領域において局所的な回路を形成するとともに、前視蓋以外の領域にも神経投射を有していた。したがって、本研究から、オプティックフロー情報処理において広範な神経ネットワークが駆動されるメカニズムの一端が明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、オプティックフロー情報処理に重要な役割を果たす神経ネットワークの機能的および解剖学的メカニズムの一端が明らかとなった。本研究成果は、感覚-運動変換の神経メカニズムに関する基本原理の解明に貢献すると言える。また、本研究によって明らかとなった知見を糸口にすることで、ヒトを含むほ乳類における情報処理メカニズムの理解がさらに進展する可能性があると考えられる。

研究成果の概要（英文）：To test a hypothesis that the pretectum cluster acts as a hub, we analyzed the function and anatomy of the pretectal cluster neurons using a transgenic zebrafish that specifically label the pretectum cluster. Artificial activation of the pretectal cluster induced neural activation in the pretectum itself and other brain regions. Furthermore, the pretectal cluster neurons formed local circuits in neighboring areas and also projected to areas outside of the pretectum. These results provide insights into the mechanism by which the pretectal cluster neurons drives the wide-spread neural network in optic flow information processing.

研究分野：神経科学

キーワード：視覚 オプティックフロー 前視蓋 神経ネットワーク ゼブラフィッシュ

1. 研究開始当初の背景

我々ヒトを含む多くの動物は、外界の様々な物体や景色の動きを視覚によって正確に捉えることにより、適切な行動を成し遂げることができる。動物の移動に応じて視野全体が相対的に動くことによって生じる視覚情報は「オプティックフロー」と呼ばれ、自分自身の移動方向やスピードを感知する上で重要な情報源となる。オプティックフローが感知されると、動物の自己移動を補正するような運動が誘発される。魚類においては、時計回り・反時計回りに動く回転性オプティックフローに対しては眼球運動である Optokinetic response (OKR) が引き起こされ、前後方向へ動く並進性オプティックフローに対しては遊泳行動である Optomotor response (OMR) が惹起される。このような感覚—運動変換の過程では、オプティックフローを両眼の視野全体に渡って統合することにより、適切な眼球運動や遊泳行動を引き起こすロバストな機構が必要であると考えられていた。ゼブラフィッシュ仔魚を用いた神経活動イメージング研究から、このようなオプティックフロー情報処理を行う重要な視覚脳領域として、眼からの直接の投射を受ける前視蓋 (pretectum) が同定されている (Kubo et al., *Neuron*, 2014)。前視蓋には、片眼および両眼のオプティックフローに応答する細胞が多数 (約 500 細胞) 存在し、これらが小脳や網様体などの運動制御に関する脳領域に投射することにより、オプティックフロー視覚情報から適切な行動が生み出されると考えられている (Kramer et al., *Neuron*, 2019, Portugess et al., *Neuron*, 2014, Naumann et al., *Cell*, 2016)。

これまでに我々の研究グループは、前視蓋領域の中の特殊な細胞クラスター (= 前視蓋クラスター) が眼で受容したオプティックフロー情報を脳へ伝える重要な中継地点であることを発見した (Wu et al., *Neuron*, 2020)。この前視蓋クラスターは、錯視の一つである運動残効 (motion aftereffect) に対する反応性によって特徴付けられ、片半球あたり 20 細胞程度存在する。さらに、レーザーによる細胞破壊実験から、前視蓋クラスター細胞はオプティックフ

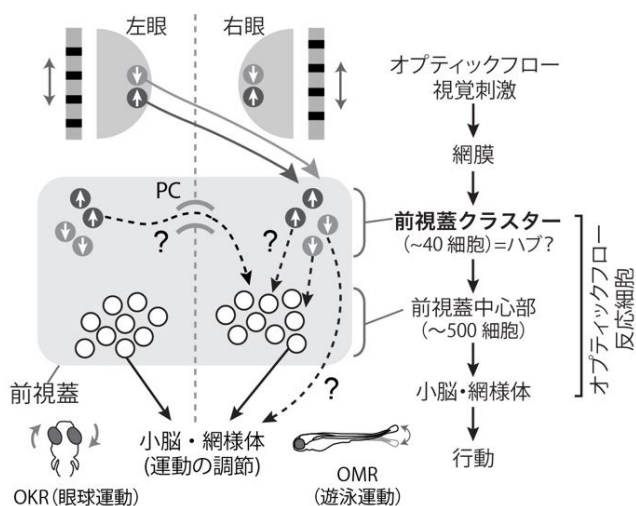


図1: オプティックフロー情報処理の神経回路モデル
前視蓋クラスターは、眼で受容されたオプティックフロー情報を脳全体へと伝えるハブとして働くと考えられる。矢印は、オプティックフローの方向性を示す。すでに実験的に示された神経投射を実線で、仮説的な神経投射を点線で示す。OKR: Optokinetic response, OMR: Optomotor Response, PC: Posterior Commissure, 後交連

ロー情報処理に必須な機能を持つことが明らかとなった。これらの結果から、我々は、オプティックフロー情報はまず少数の細胞群から形成される局所的な前視蓋クラスターに中継され、その後このクラスターが直接的あるいは間接的に脳全体に情報を伝播するハブとして働くという神経ネットワークモデルを提唱した (図1)。しかし、このモデルを支持する神経回路レベル、また解剖学レベルの知見は明らかになっていなかった。

2. 研究の目的

本研究では、「前視蓋クラスターが

広範な神経ネットワークが駆動するハブとして働く」という上記の仮説を、ゼブラフィッシュにおける神経科学的手法を用いて検証することを目的とした。前視蓋クラスターがハブとしての機能するためには、その下流においてオプティックフロー情報処理ネットワーク全体の活性化を誘導し、行動制御に変換する仕組みがあると予想された。本研究においては、我々が独自に見出した前視蓋クラスター特異的ゼブラフィッシュシステムを用いることにより「前視蓋クラスターが広範な神経ネットワークを駆動するメカニズムについて、機能的および解剖学的観点から明らかにすること」を目的とした。

3. 研究の方法

(1) 前視蓋クラスターが引き起こす機能的神経活動ネットワークの全脳解析

前視蓋クラスター細胞が、脳全体に渡るネットワークの活性化を引き起こすかどうかを明らかにするために、前視蓋クラスター細胞を光遺伝学的に活性化させた際の全脳にわたる神経ネットワーク解析を行う。我々はこれまで、前視蓋クラスター細胞を標識する Gal4 トランスジェニック系統(以下「前視蓋クラスターGal4 系統」と呼ぶ)を同定していた。このシステムを用いることにより、神経活動を活性化するための光遺伝学エフェクターである ChrimsonR (Klapoetke et al., 2014) を前視蓋クラスター細胞に特異的に発現させる。この系統から得られた仔魚において、光刺激装置 Digital Micromirror Device (DMD)を用いて光刺激を行うことによって、前視蓋クラスター細胞を光遺伝学的に活性化し、それと同時に、全脳にわたる神経活動を二光子カルシウムイメージングにより記録する。

(2) 前視蓋クラスター細胞が形成する神経投射ネットワークの解析

前視蓋クラスター細胞が、脳内においてどのような神経配線を展開することでオプティックフロー情報処理のハブとして機能しているかを明らかにするために、前視蓋クラスター細胞の神経投射パターンの解析を行う。具体的には、上述の前視蓋クラスターGal4 系統を用いて単一神経細胞の形態を可視化し、その神経投射パターンを明らかにする。複数個体から得られた神経投射データを画像レジストレーション技術 ANTs を用いて標準座標軸上にマッピングすることにより、異なる前視蓋クラスター細胞の神経投射パターンを相互に直接比較する。さらに標準座標軸上でアノテーションされている脳領域を参照することで、神経細胞の投射先を同定する。

4. 研究成果

(1) 前視蓋クラスターが引き起こす神経活動ネットワークの全脳解析

神経活動の光遺伝学操作とイメージングを同時に行う all-optical 実験系の構築

前視蓋クラスター細胞を光遺伝学的に活性化させ、それによって誘発される神経活動パターンをカルシウムイメージングにより観察するための実験系を構築した。蛍光緑色域において GCaMP による神経活動のイメージングを行うため、前視蓋クラスター細胞の活性化を行う光遺伝学アクチュエータとして、長波長シフトした Chrimson を選定した。既存の二光子顕微鏡システムに光刺激装置 Digital Micromirror Device (DMD)を搭載することにより、神経活動の操作と記録を同時に行うことのできる all-optical 実験系を構築した(図 2A)。

前視蓋クラスターの光遺伝学活性化により誘導される神経ネットワークイメージング

前視蓋クラスター細胞で Chrimson を発現し、かつ神経系全体でカルシウムインディケータ GCaMP を発現するトランスジェニックゼブラフィッシュ仔魚(前視蓋クラスターGal4 系統, UAS:Chrimson, HuC:H2B-GCaMP6s) を作出した(図 2A)。この仔魚を用いて、上記の all-optical 系により前視蓋クラスター細胞を光刺激した際の GCaMP イメージングを行った。第一に、Chrimson を発現する前視蓋クラスター細胞を光遺伝学的に活性化した際に、刺激した細胞自体の神経活動が活性化されるか確認した。その結果、Chrimson を発現細胞自体で GCaMP6s の上昇が観察されたことから、この系を用いて神経活動活性化を引き起こすことができることが確認された(図 2B)。第二に、同様に Chrimson 発現細胞を光遺伝学的に活性化した際に、Chrimson 発現細胞以外の、脳のより広い領域から神経活動イメージングを行った。その結果、Chrimson 発現細胞以外の前視蓋細胞や、前視蓋以外のより広い脳領域(間脳、中脳、後脳)においても神経活動の変化が観察された。このようなネットワーク活動には、神経興奮、神経抑制、どちらも観察された。以上の結果から、前視蓋における神経活動は、興奮性および抑制性神経ネットワークを介して前視蓋外の広い神経領域へと伝播することが示唆された。

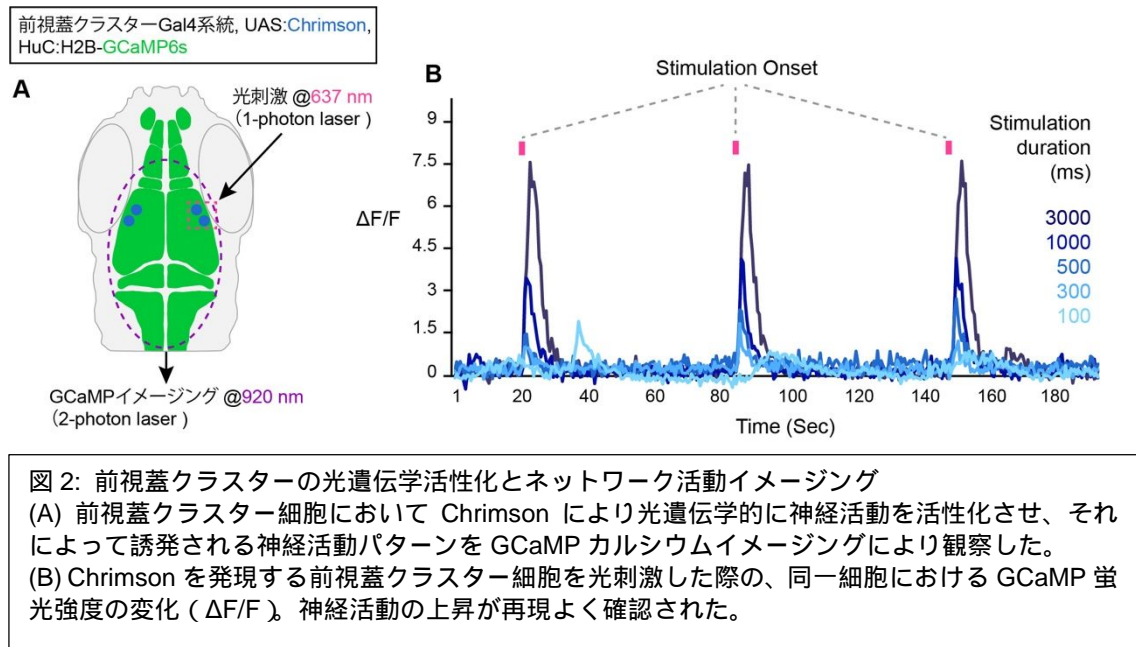


図 2: 前視蓋クラスターの光遺伝学活性化とネットワーク活動イメージング

(A) 前視蓋クラスター細胞において Chrimson により光遺伝学的に神経活動を活性化させ、それによって誘発される神経活動パターンを GCaMP カルシウムイメージングにより観察した。

(B) Chrimson を発現する前視蓋クラスター細胞を光刺激した際の、同一細胞における GCaMP 蛍光強度の変化 ($\Delta F/F$)。神経活動の上昇が再現よく確認された。

(2) 前視蓋クラスター細胞が形成する神経投射ネットワークの解析

前視蓋クラスター細胞が、脳内においてどのような神経配線(軸索および樹状突起)を展開することでオプティックフロー情報処理のハブとして機能しているかを明らかにするために、前視蓋クラスターGal4 系統で標識される細胞の単一神経細胞の神経投射パターンを解析した。約 30 個体から得られた神経投射パターンを相互に比較するために、画像レジストレーション技術 ANTs を用いてこれら神経投射パターンを同一座標上にマッピングした。その結果、多くの前視蓋クラスター細胞は細胞体がある前視蓋周辺に局所的に神経投射を展開していた。その神経投射は、細胞体と同側に留まり、反対側に至ることはなかった。また、一部の神経細胞は、視蓋などの前視蓋以外の領域にも投射することが明らかとなった。以上の結果から、大部分の前視蓋クラスター細胞は局所的な形成する一方、一部の細胞は前視蓋以外の領域に出力を送り、その下流でさらなる情報処理を行うことが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Piu Banerjee, Fumi Kubo, Hirofumi Nakaoka, Rieko Ajima, Takuya Sato, Tatsumi Hirata, Takuji Iwasato	4. 巻 12
2. 論文標題 Spontaneous activity in whisker-innervating region of neonatal mouse trigeminal ganglion	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 16311
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-022-20068-z	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 Fabian Svava, Dominique Foerster, Fumi Kubo, Michal Januszewski, Marco dal Maschio, Philipp J. Schubert, Joergen Kornfeld, Adrian A. Wanner, Eva Laurell, Winfried Denk, Herwig Baier	4. 巻 19
2. 論文標題 Automated synapse-level reconstruction of neural circuits in the larval zebrafish brain	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nature Methods	6. 最初と最後の頁 1357-1366
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41592-022-01621-0	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 Matsuda K and Kubo F	4. 巻 15
2. 論文標題 Circuit Organization Underlying Optic Flow Processing in Zebrafish	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Front. Neural Circuits	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） 10.3389/fncir.2021.709048	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 久保郁	4. 巻 73
2. 論文標題 脳全体のイメージングからわかること	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 生体の科学 連載講座 ヒトを知るモデル動物としてのゼブラフィッシュ-3	6. 最初と最後の頁 81-85
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 -

1. 著者名 久保郁	4. 巻 73
2. 論文標題 錯視を生じる脳のしくみーゼブラフィッシュの運動残効から	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BRAIN and NERVE	6. 最初と最後の頁 1237-1241
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11477/mf.1416201923	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10件 (うち招待講演 8件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 久保 郁
2. 発表標題 動きの視覚情報処理を担う神経回路
3. 学会等名 第5回 三融会・武田神経科学シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 久保 郁
2. 発表標題 神経活動依存的な細胞標識とトランスクリプトーム解析を用いた神経ネットワーク解析
3. 学会等名 第46回日本分子生物学会 (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 久保 郁
2. 発表標題 Genetically targeted pretectal neurons constitute inhibitory circuits for optic flow processing
3. 学会等名 Cold Spring Harbor Laboratory meeting Zebrafish Neurobiology (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 久保 郁
2. 発表標題 ゼブラフィッシュ脳のイメージングから探る視覚機能
3. 学会等名 Neuro2022 ソーラボジャパン株式会社 ランチョンセミナー（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 久保 郁
2. 発表標題 錯視反応を用いた動きの視覚情報処理と予測を担う神経回路の解析
3. 学会等名 Neuro2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 久保 郁
2. 発表標題 動きの視覚情報処理を担う神経回路：錯視反応を用いた解析から
3. 学会等名 日本視覚学会 2022年度 夏季大会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 久保 郁
2. 発表標題 ゼブラフィッシュにおけるオプティックフロー情報処理の神経回路基盤
3. 学会等名 視覚科学フォーラム・生理研研究会「機能と構造の視覚科学研究会」（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 久保 郁
2. 発表標題 動きの視覚情報処理を担う神経回路：錯視反応を用いた解析から
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会 ワークショップ「多様なモデル生物を用いた発生・行動・進化神経科学の最前線」（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 久保 郁
2. 発表標題 ゼブラフィッシュ前視蓋におけるオプティックフロー情報処理回路の機能と神経接続
3. 学会等名 第43回日本神経科学大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 久保 郁
2. 発表標題 Cracking the visual motion processing circuit using optical illusion
3. 学会等名 遺伝研研究会「哺乳類脳の機能的神経回路の構築メカニズム2021」（招待講演）
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

理化学研究所 久保研究室 ホームページ
<http://kubolab.jp/wp/>

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
研究協力者	青木 亮 (Aoki Ryo)		

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