

「脳情報の解読と制御」研究領域 領域活動・評価報告書
－平成26年度終了研究課題－

研究総括 川人 光男

1. 研究領域の概要

本研究領域は、運動・判断の脳内情報を利用するための革新的要素技術の創出を目的とし、脳科学の基礎的研究と社会に大きな貢献をすることが期待される応用分野をつなぐ、探索的研究や革新的技術開発を対象とする。

具体的には、ブレイン・マシン・インタフェース(BMI)、ニューロリハビリテーション、ニューロマーケティング、ニューロエコノミクス、ニューロゲノミクス、ニューロエシックスなどの応用分野に資する研究と一体的に、脳の活動から情報を読み出し、操作するための脳情報解読制御技術等の基礎的な研究を進める。

このような観点から、本領域では、脳科学とその応用分野の広がりに対応して、計算・実験神経科学、工学、臨床医学、基礎生物学、経済学を含む社会科学、心理学を含む人文科学、情報学など多方面の研究者を対象とし人材を育成するとともに、次世代の研究の基礎を築く。

2. 事後評価対象の研究課題・研究者名

件数： 6 件(内、大挑戦型 2 件)

※研究課題名、研究者名は別紙一覧表参照

3. 事前評価の選考方針

選考の基本的な考えは下記の通り。

- 1) 選考は、「脳情報の解読と制御」領域に設けた選考委員 14 名の協力を得て、研究総括が行う。
- 2) 選考方法は、書類選考、面接選考及び総合選考とする。
- 3) 選考に当たっては、さきがけ共通の選考基準(URL: <http://www.jst.go.jp/pr/info/info825/besshi4.html>) によった。

4. 事前評価の選考の経緯

一応募課題につき領域アドバイザー3名が書類審査し、書類選考会議において面接選考の対象者を選考した。続いて、面接選考および総合選考により、採用候補課題を選定した。上記選考を経た課題の内、大挑戦型審査会(書類選考会議)へ2課題を推薦した。

選 考	書類選考	面接選考	採択数			
			14 件	内 訳	3 年型	10 件(1 件)
対象数	116 件	28 件			5 年型	4 件(1 件)

()内は大挑戦型としての採択数。

備考:

- 1) 平成21年度採択課題のうち、5 年型課題は次の通りである。
 - ・河野崇研究者、関和彦研究者、西村幸男研究者、駒井章治研究者
- 2) 加えて、以下を今年度の事後評価対象とする。
 - ・竹本研研究者
大挑戦 3 年型課題で、2 年間の研究継続が認められたもの。研究期間は 5 年型と同じ。
 - ・上川内あづさ研究者
ライフイベントにより研究を一時中断し、終了年度が平成 26 年度になったため。

5. 研究実施期間

平成 21 年 10 月～平成 27 年 3 月(5 年型)

平成 23 年 4 月～平成 26 年 9 月(上川内あづさ研究者)

6. 領域の活動状況

領域会議: 12 回

- 第 1 回 掛川市、2008 年 11 月 30 日-12 月 1 日
- 第 2 回 指宿市、2009 年 4 月 18, 19 日
- 第 3 回 掛川市、2009 年 11 月 7-9 日
- 第 4 回 北海道、2010 年 6 月 5, 6 日
- 第 5 回 沖縄、2010 年 11 月 5-7 日 (OIST、電気通信学会研究会と共催シンポジウム)
- 第 6 回 蓼科、2011 年 7 月 23-25 日
- 第 7 回 掛川市、2011 年 12 月 2-4 日
- 第 8 回 淡路市、2012 年 6 月 22-24 日
- 第 9 回 博多市、2012 年 11 月 12-14 日
- 第 10 回 仙台市、2013 年 5 月 24-26 日
- 第 11 回 北海道、2013 年 12 月 6-8 日
- 第 12 回 掛川市、2014 年 10 月 10-12 日

研究総括(または技術参事)の研究実施場所訪問:

- 河野 崇 研究者 (東京大学生産技研、東京都目黒区) 2009 年 12 月 16 日
- 竹本 研 研究者 (横浜市立大学、横浜市) 2010 年 2 月 2 日
- 関 和彦 研究者 (国立精神神経医学研究センター、小平市) 2010 年 2 月 9 日
- 駒井 章治 研究者 (奈良先端科学技術大学院大学、生駒市) 2010 年 4 月 2 日
- 上川内 あづさ 研究者 (東京薬科大学、八王子市) 2011 年 6 月 14 日

市民公開講座

2010 年 8 月 28 日、京都キャンパスプラザ

研究発表会

2013 年 1 月 21 日、JST 東京本部 B1 会議室

2014 年 1 月 20 日、東京大学弥生講堂一条ホール

包括型脳科学研究支援ネットワーク夏のワークショップに JST シンポジウムとして参加

- 第 1 回 2010 年 7 月 28 日 札幌芸文会館(さががけ脳神経回路と共催)
- 第 2 回 2011 年 8 月 22, 23 日 神戸国際会議場(さががけおよび CREST 脳神経回路と共催)
- 第 3 回 2012 年 7 月 24 日、仙台国際センター(さががけおよび CREST 脳神経回路と共催)
- 第 4 回 2013 年 8 月 29 日、名古屋国際会議場(さががけおよび CREST 脳神経回路と共催)

脳情報領域さががけ研究者主体の研究会(脳の自発活動研究会)

- 第 1 回 2012 年 7 月 25 日、仙台
- 第 2 回 2013 年 12 月 8-9 日、北海道

7. 事後評価の手続き

研究者の研究報告書を基に、評価会(研究報告会、領域会議等)での発表・質疑応答、領域アドバイザーの意見などを参考に、下記の流れで研究総括が評価を行った。

(事後評価の流れ)

平成 21 年 11 月の第 3 回領域会議において、研究総括と領域アドバイザーの出席のもとに研究報告会を開催、研究総括・アドバイザーによる指導・助言を行った。

平成 22 年 6 月の第 4 回領域会議において、研究総括と領域アドバイザーの出席のもとに研究報告会を開催、研究総括・アドバイザーによる指導・助言を行った。

平成 22 年 11 月の第 5 回領域会議において、研究総括と領域アドバイザーの出席のもとに研究報告会を開催、研究総括・アドバイザーによる指導・助言を行った。

平成 23 年 7 月の第 6 回領域会議において、研究総括と領域アドバイザーの出席のもとに研究報告会を開催、研究総括・アドバイザーによる評価を行い、研究者からそれを反映した報告を求め、総括・アドバイザーにそのフィードバックを行った。

平成 23 年 12 月の第 7 回領域会議において、研究総括と領域アドバイザーの出席のもとに研究報告会を開催、研究総括・アドバイザーによる評価を行い、研究者からそれを反映した報告を求め、総括・アドバイザーにそのフィードバックを行った。

平成 24 年 6 月の第 8 回領域会議において、研究総括と領域アドバイザーの出席のもとに研究報告会を開催、研究総括・アドバイザーによる評価を行い、研究者からそれを反映した報告を求め、総括・アドバイザーにそのフィードバックを行った。

平成 24 年 11 月の第 9 回領域会議において、研究総括と領域アドバイザーの出席のもとに研究報告会を開催、研究総括・アドバイザーによる評価を行い、研究者からそれを反映した報告を求め、総括・アドバイザーにそのフィードバックを行った。

平成 24 年 12 月 2 期生 5 年型課題については、研究総括に中間研究報告書提出、総括による中間評価の後、フィードバックを行い、1 月末に中間評価報告書を提出。

平成 25 年 5 月の第 10 回領域会議において、研究総括と領域アドバイザーの出席のもとに研究報告会を開催、研究総括・アドバイザーによる評価を行い、研究者からそれを反映した報告を求め、総括・アドバイザーにそのフィードバックを行った。

平成 25 年 12 月の第 11 回領域会議において、研究総括と領域アドバイザーの出席のもとに研究報告会を開催、研究総括・アドバイザーによる評価を行い、研究者からそれを反映した報告を求め、総括・アドバイザーにそのフィードバックを行った。

平成 26 年 10 月の第 12 回領域会議において、研究総括と領域アドバイザーの出席のもとに研究報告会を開催、研究総括・アドバイザーによる評価を行い、研究者からそれを反映した報告を求め、総括・アドバイザーにそのフィードバックを行った。

各年度に半期報告書の提出を求め、必要に応じて、総括からフィードバックを行った。また、必要に応じて、随時、研究の指導を行った。

平成 27 年 1 月 研究報告書提出

平成 27 年 2 月 研究総括による事後評価

平成 27 年 3 月 被評価者への結果通知、評価結果の確認。

8. 事後評価項目

(1) 外部発表(論文、口頭発表等)、特許、研究を通じての新たな知見の取得等の研究成果の状況

(2) 得られた研究成果の科学技術への貢献

(3) 領域内での研究協力、共同研究状況

(4) 大挑戦型についてはさらに、大挑戦型として取り組む挑戦的な研究項目に対する進展についても評価項目とした。

9. 事後評価

本年度の終了課題は平成 21 年採択の 5 年型研究課題(大挑戦 3 年型延長を含む)と平成 22 年度採択の 3 年型課題(ライフイベントによる延期)である。平成 21 年度 5 年型課題は 5 年間の研究期間を生かし、各々 BMI 課題の重要な基礎を築き、当初の提案課題はほぼ完遂されたと考えられる。関、西村研究者は BMI の実用化に不可欠の技術開発を行うとともに、BMI を支える基礎研究にも成果をあげた。河野研究者は BMI の埋め込み装置に不可欠な低消費電子回路の開発に向けて歩を進めた。竹本研究者は、先進的 BMI に含まれる学習の基盤をなす記憶機構の理解とシナプス変容について革新的研究を進めた。平成 21 年度採択の 3 年型課題のうち、ライフイベントで研究期間を繰り下げた上川内研究者はスモールシステムの利点を生かす研究に取り組み、研究の進捗状況は良好であり、当初の提案課題は完遂したと考えられる。全体として、今後の BMI の実用化・発展に寄与する重要な研究成果を得たと考えられる。

1. 河野 崇 研究者「機能的シリコン神経ネットワークの構築」

研究進捗状況は良好であり、研究目標を達成した。シリコン神経ネットワークの分野は、神経細胞やシナプスに対応する電子回路を組み合わせて構築した電子回路による神経ネットワークを開発・研究する分野であり、原理的に新しい自律的でロバストな情報処理システムを開発し、次世代の情報基盤を導くとともに、脳神経系との親和性の高さから BMI による脳との接続に適したシステムを開発することが期待できる。本研究では、脳機構の知識を持ち、非線形数学の手法と電子回路設計技術に精通した本研究者が、その特性を生かし、独創性の高い研究成果をあげた。すなわち、電子回路技術と非線形数学に基づく解析技術を有機的に組み合わせ、超低消費電力でコンパクトなシリコン神経ネットワークを構築するための、デバイス非依存性の基盤技術を開発し、さらに実装手法を確立し、約 50nW 以下のきわめて低消費電力で様々な神経活動を再現した。今後の課題は、学習則や規模のより大きいネットワークの実装であるが、その結果、高度な情報処理システムの超低消費

電力化がもたらされ、電力効率の高い自律的ロボットや培養細胞を含んだ高度な埋め込み医療デバイスなどの実現へ寄与することが期待できる。

また、本分野は国際的に数グループが各々異なるアプローチで競っているが、本研究の成果を核として、本研究者らは分野を牽引するグループとして高い評価を受けている。すなわち、チューリッヒ INI やジョージア工科大は単純なモデルで大規模ネットワークをめざし、仏ボルドー第1大は、逆に神経系に近い要素で結合系を構築し、埋め込み医療デバイスへの応用を念頭に置く。近年は、本研究と同様に定性的モデルの実装にシフトしている。ハイデルベルク大は、BMI 用脳シミュレーターを目指すが、消費電力が高く、実用性が疑問視される。なお、これらの成果を背景として、さきがけ「素材・デバイス・システム融合による革新的ナノエレクトロニクスの創成」領域に「定性的モデリングに基づいたシリコン神経ネットワークプラットフォーム」を課題として採択された。

2. 駒井 章治 研究者「光学的 BMI による感覚・運動情報の解読と応用」(大挑戦型)

大挑戦型課題として挑戦的な目標を持つため、当初の目標を完遂するまでには至っていない。しかし、要素的研究課題の一部は達成され、他の部分も進展が求められる。相応の成果を達成しつつあると考える。本研究では、定量的な視覚刺激を与え、時空間的に神経活動を記録し、そのデータを用いて局所神経回路を駆動することにより、特定の行動を引き起こすシステムの開発を目指した。従来の心理物理学的研究の範囲を超えて、得られた脳情報を活用して行動を引き起こす手法を開拓するという点で、BMI の発展に繋がることが期待された。しかし、従来の研究で用いられた手法を超えた研究を行うには当然、従来の技術を改良し、本研究に最適化するための方法論の確立が必要である。本研究では、2光子レーザー走査顕微鏡の高速化、目的に合わせた光遺伝学的ツールの開発・確立、行動課題の確立が必要であった。前2者については幾つかの試みを経て、進展しているが、まだ完成までには至っていない。行動課題については、困難を克服して、げっ歯類の錯視弁別課題を確立するに至った。当初の研究目標はシステム的研究と分子・細胞学的要素研究との間隙を埋めることを目指した挑戦的な融合研究であったが、今後、方法論の確立とともに、これらを用いた融合研究が早期に行われることを期待するものである。

本研究成果が評価され、「共感性」の新学術領域計画班に採択されている。

3. 関 和彦 研究者「感覚帰還信号が内包する運動指令成分の抽出と利用」

研究進捗状況は良好であり、研究目標を達成した。脊髄損傷や脳卒中などによる運動障害は、上位中枢からの指令が遮断され、脊髄の神経回路に届かないために起こる。損傷後も何らかの手段で脊髄を駆動して運動を回復することは多くの患者が望むことであるが、そのためには、上位中枢からの駆動信号に相当する信号を確保することが必要である。本研究ではこの駆動信号を、感覚帰還信号に求め、実現に向けて歩を進めた。従来、上位中枢が運動の指令・継続に決定的役割を果たすと考えられてきたが、近年、本研究を含めて脊髄神経回路が重要な役割を果たすこと、運動により末梢の感覚受容器が刺激されるが、その感覚帰還信号には詳細な運動情報が含まれることが明らかにされてきた。実験的に感覚帰還信号を解読し、その情報を型として用いて脊髄の神経回路を刺激する方法を開発すれば、運動そのものを制御できる。このために、サルを用いた研究により、脊髄刺激によって上肢運動を制御する技術、一次求心神経の活動記録から運動情報を解読する技術を開発した。すなわち、第一に把握運動や到達運動で、脊髄介在ニューロンが複数の手固有筋に対して興奮性に働く事を世界で初めて見出した。この事は、脊髄が単なる中継点ではなく、筋の協調運動のセンターの1つであり、大脳皮質からの運動司令、感覚帰還信号を統合して、最終的な筋活動を作り出している可能性を示す。さらに、同じ把握運動でも初期姿勢により運動軌跡が異なることを反映し、異なった脊髄神経活動が得られることを、中枢支配を排除した標本で示した。これらの機能構造は手の把握運動に際して人工的な脊髄刺激を与える BMI システムが有効に働く事とともに、そのパラメータ設定に求心入力を考慮する必要性が高いことを意味する。第二に、多極アレー電極をサル頸髄に埋め込み約1年間にわたって比較的安定的に脊髄刺激を行い、慢性埋め込み電極による脊髄刺激方法を開発した。これは脊髄損傷や脳卒中の患者に実際にこの方法を適用するために必須の動物実験である。第三にウィルスベクターを用いて一次求心神経に光遺伝子を導入し、光刺激によって神経活動を制御する基盤技術を確認し将来への医療応用の展開のための基礎を固めた。

なお、本研究成果が評価され、新学術領域：脳内身体表現の変容機構の理解と制御に計画班代表、革新的技術による脳機能ネットワークの全容解明プロジェクト、および 臨床研究グループ：脳血管障害とパーキンソン病における脳神経回路障害とその機能回復に関わるトランスレータブル脳・行動指標の開発 機関分担研究者として採択された。

4. 西村 幸男 研究者「人工神経接続によるブレインコンピューターインターフェイス」

研究進捗状況は質・量ともに良好で、当初の研究目標を達成し、さらに研究を進展させている。本研究では、患者さん自身の損傷されずに残った神経と四肢を有効利用し、神経代替装置を介して神経同士をつなぐ“人工神経接続”による閉ループ型の BMI 技術、すなわち“人工的な神経細胞”を介した、随意制御可能な自分の神経活動を用い、自分自身を“制御”、“感じる”ことのできる BMI の実現を目指した。はじめに、人工神経接続に利用可能で安定した生体信号について検討し、次に、人工神経接続に有効な生体信号から電気刺激への信号変換方法について人工神経接続への適応現象から理解し、最後には先に得られた知見を基にして、体内に埋め込み可能な神経機能代替装置を用いて、無拘束・自由行動下の脊髄損傷モデルでの運動機能再建を試みた。

“人工神経接続”による運動機能再建を目的とし、随意制御可能な自分の神経活動を用い、自分自身を“制御”することのできる BCI の実現を目指し、随意制御可能な生体信号の抽出、生体情報から電気刺激への変換方法、それを用いて、脊髄損傷モデル動物とヒト脊髄損傷患者での随意歩行機能再建を行った。脊髄損傷モデルでは、脊髄と筋肉間の人工神経接続により麻痺している手の随意運動制御の再建に成功した。さらに、小型の人工神経接続装置を、無拘束・自由行動下のモデル動物に搭載し、大脳と脊髄との繋がりを強化したり、減弱させたり自在に制御することに成功した。さらに、動物実験で得られた成果をヒト脊髄損傷患者に応用し、健常な上肢の筋電図を用いた非侵襲的な筋—脊髄間の人工神経接続により、麻痺した下肢での随意歩行機能の再建にも成功した。

Innovative Technologies 2013 特別賞(Human 部門)、平成 24 年度科学技術分野の文部科学大臣表彰若手科学者賞、第 13 回 日本生理学会奨励賞(平成 23 年度)、平成 22 年度日本神経科学学会奨励賞を受賞した。

本研究が評価され、1) 第一期脳プロ(H22-24)、2) 第二期脳プロ(H25-29) 3) 新学術 質感脳情報学(H25-26)(公募班)に採択された。また、スポーツ脳科学集会を開催した(H27、1 月)。

5. 竹本 研 研究者「記憶獲得維持の分子システムの解明～記憶の消去は可能か?」(大挑戦型)

研究の進捗状況は良好であり、研究目標はほぼ達成された。大挑戦型の研究として、非常に挑戦的な、いわばハイリスク・ハイインパクトな課題に挑んだが、研究に精進して成果をあげ、2 年間の期間延長の間にさらに研究が加速され、in vivo での研究目標を達成したことは高く評価できる。脳活動の基礎は学習により獲得された記憶である。脳内での情報伝達・記憶の最小単位はシナプスレベルにある。本研究では、記憶に関する機構をシナプスレベルで解明し、これに操作を加え、記憶を変容させる新技術開発に系統的に挑戦し、in vivo での測定を可能とした点に大きな価値がある。2 光子顕微鏡と組み合わせることで、この新技術は、記憶の分子機構の解明に寄与することが期待される。学習・記憶の過程で AMPA 受容体 GluR1 は極めて重要な役割を担う。この GluR1 を光で機能破壊するため、CALI 法を用いた。この方法は光照射依存的に活性酸素を放出する光増感剤を用いるタンパク質機能破壊法である。活性酸素の拡散半径は数 nm であるため、目的分子の特異的な機能破壊が期待できる。受容体と光増感剤は特異的抗体で結合される。この新技術は、同じ細胞内局在を示す NMDA 受容体を機能破壊せず、外来性・内因性の GluR1 だけを壊す高い特異性を持つ。これらの抗体の開発は培養細胞、初代培養神経細胞、in vivo と段階を追って改良が続けられ、in vivo で実用となる抗体の開発に成功した。なお、特許を 1 件出願している。

In vivo でシナプス変容を行動課題で確認する手段として、文脈的恐怖条件付け学習を用いた。この学習は、海馬の CA3-CA1 シナプスの AMPA 受容体依存的に起こる。学習成績は明箱から暗箱に入るまでの時間の長さで定量化できる。学習後 0.5-2hr で光照射すると、効果的に記憶が消去できることを見出した。また、学習後 24hr では記憶は消去できなかった。これは GluA1 ホモマーのシナプス移行が学習後 0.5-2hr で起こり、24hr では起こっていないことと一致する。学習前の光照射は、その後の学習には影響しないことから、新たにシナプスに運ばれる GluA1 を機能破壊することで記憶は消去されることがしめされた。また、学習後 1 時間で光照射後、急性スライスを作製し、光照射で GluA1 ホモマーが実際に機能破壊されたことも確認した。なお、光照射直後と翌日での行動テスト結果には差がみられず、GluA1 ホモマー機能破壊による記憶消去は不可逆的であることが示唆された。

さらに開発した CALI 技術を、記憶がコードされているシナプスを特定する基礎技術として発展させる方向に歩を進めている。個々のシナプスの状態を二光子顕微鏡でモニタしつつ、光操作を行い、シナプスの持つ時空間的情報と記憶コードの関係を探索する。GluA1 のシナプス移行をより安定的にモニタするため、pH 依存性 GFP(SEP)を GluA1 に融合し、それをニューロンに発現する実験系を導入した。臨界期のマウスバレル皮質のイメージングを行い、特定の遺伝子変異を持つマウスでは、臨界期が大幅に延長し、adult マウスでも GluA1 がシナプス移行をし続けることを明らかにできた。現在はこの実験系をマウス海馬に導入することを目指している。

6. 上川内 あづさ 研究者「ショウジョウバエ脳において聴覚情報処理を行う神経基盤の解明」

研究進捗状況は良好であり、研究目標は達成された。BMI を用いた身体システムを実用化するためには脳活動の解読装置の適切な設計が必須であるが、その理解のためには人や霊長類での複雑なシステムでの解析とともに、昆虫など、複雑な行動を比較的少数の神経細胞で行うスモールシステムの研究も有用な情報を与える。本研究では、スモールシステムの利点を生かした研究として、ショウジョウバエの脳情報解読を解明する目的で、聴覚情報処理システムを構成する神経回路の網羅的解析を進めた。ショウジョウバエは、同種間でのコミュニケーションに羽音を使うことが知られており、脳の神経細胞数が片半球で数万個と少なく、特定の細胞の機能だけを操作する分子遺伝学的手法が整備されており、音情報処理システムを構成する聴覚神経回路の精密な構造機能相関地図を作成する為の理想的なモデル生物である。分子遺伝学を駆使した神経解剖学的解析およびその機能を解明するカルシウムイメージングの結果、脳内部での聴覚神経細胞群の投射様式と応答特性の体系的な解明に成功した。特に、これまで機能不明であった細胞群 D が、これまでに解析されている他の細胞群 A, B, C, E と異なり、ショウジョウバエの求愛歌や羽音の主成分である 100 Hz から 200 Hz あたりの振動に応答性のピークを持つことを発見した。5 つの細胞群の全貌が明らかになったことにより、外界の空気の振動や流れが、ハエ脳内部の 5 群の細胞応答様式に対応して、5 次元空間の神経活動地図上に表現されることを示した。さらに聴覚行動を画像解析により自動定量するアルゴリズムを開発し、大量のデータ処理を可能とし、これを用いて 2 種のショウジョウバエの機能解析を行い、特有の時間パターンを持つパルス音に対して種固有の特徴的な応答を示すことを見出した。さらに、高次聴覚神経回路の機能構造を解明するため、触角基部にある「耳」に内在する感覚神経細胞サブグループの応答性を、カルシウムイメージング法を用いて解析した。この結果からショウジョウバエの脳内では、特定のパルス間隔の音刺激を選別するバンドパスフィルターが内蔵され则认为される。この機能は求愛歌の種特異的な認識に重要であり、その神経回路構成の解明は、音コミュニケーションの成立原理を理解するためには欠かせない。以上の結果は、形態学的マッピングに機能面の拡充を行い、音受容器から脳の高次処理領域に至る聴覚神経回路の全貌を単一細胞レベルで同定し、これらの構成する神経回路での情報符号化様式の全体像を理解することに歩を進めたものと考えられる。

本研究成果により、平成 24 年度日本神経科学学会奨励賞を受賞し、新学術領域「記憶ダイナミズム」の計画班員に採択されている。

10. 評価者

研究総括

川人 光男 (株)国際電気通信基礎技術研究所 脳情報通信総合研究所 所長

領域アドバイザー(五十音順。所属、役職は平成 27 年 3 月末現在)

伊佐 正 自然科学研究機構生理学研究所教授

入来 篤史 理化学研究所シニアチームリーダー

大須賀美恵子 大阪工業大学教授

太田 淳 奈良先端科学技術大学院大学教授

加我 君孝 国立病院機構東京医療センター名誉センター長

片山 容一 日本大学教授

神崎 亮平 東京大学教授

西條 辰義 高知工科大学教授

佐倉 統 東京大学教授

笹井 芳樹^{※2} 理化学研究所グループディレクター

清水 公治 京都大学教授

下條 信輔^{※1} カリフォルニア工科大学教授

銅谷 賢治 沖縄科学技術大学院大学教授

宮井 一郎 大道会森之宮病院院長代理

※1 下條信輔アドバイザーは平成21年9月より参画、現在に至る。その他のアドバイザーは、すべて当初より参画。

※2 笹井芳樹アドバイザーは平成26年8月まで参画

(参考)

件数はいずれも、平成 27 年3月末現在。

(1)外部発表件数

	国 内	国 際	計
論 文	1	41	42
口 頭	78	64	142
その他	12	4	16
合 計	91	109	200

(2)特許出願件数

国 内	国 際	計
3	0	3

(3)受賞等

・西村幸男

Innovative Technologies 2013 特別賞(Human 部門)(平成 25 年度)

平成 24 年度科学技術分野の文部科学大臣表彰若手科学者賞(平成 24 年度)

第 13 回 日本生理学会奨励賞 (平成 23 年度)

平成 22 年度日本神経科学学会奨励賞(平成 22 年度)

・上川内あづさ

平成 24 年度日本神経科学学会奨励賞(平成 24 年度)

(4)招待講演

国際 15 件

国内 18 件

別紙

「脳情報の解読と制御」研究領域 事後評価実施 研究課題名および研究者氏名

(5年型)

研究者氏名 (参加形態)	研究課題名 (研究実施場所)	現職(平成27年3月末現在) (応募時所属)	研究費 (百万円)
河野 崇 (兼任)	機能的シリコン神経ネットワークの構築 (東京大学生産技術研究所)	東京大学生産技術研究所 准教授 (同上)	87
駒井 章治 (兼任)	光学的BMIによる感覚・運動情報の解読と応用 (奈良先端科学技術大学院大学)	奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス研究科 准教授 (同上)	100
関 和彦 (兼任)	感覚帰還信号が内包する運動指令成分の抽出と利用 (国立精神・神経医療研究センター)	国立精神・神経医療研究センター神経研究所 部長 (自然科学研究機構 生理学研究所 助教)	126
西村 幸男 (兼任)	人工神経接続によるブレインコンピューターインターフェイス (自然科学研究機構 生理学研究所)	自然科学研究機構 生理学研究所 准教授 (ワシントン大学医学部 訪問研究員)	92

(大挑戦3年型で2年延長)

研究者氏名 (参加形態)	研究課題名 (研究実施場所)	現職(平成27年3月末現在) (応募時所属)	研究費 (百万円)
竹本 研 (兼任)	記憶獲得維持の分子システムの解明～記憶の消去は可能か？ (横浜市立大学 医学部)	横浜市立大学医学部 助教 (同上)	73

(3年型でライフイベントによる期間繰り下げ)

研究者氏名 (参加形態)	研究課題名 (研究実施場所)	現職(平成27年3月末現在) (応募時所属)	研究費 (百万円)
上川内あずさ (兼任)	ショウジョウバエ脳において聴覚情報処理を行う神経基盤の解明 (名古屋大学大学院 理学研究科)	名古屋大学大学院理学研究科 教授 (東京薬科大学生命科学部 助教)	40

研 究 報 告 書

「機能的シリコン神経ネットワークの構築」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 平成21年10月～平成27年3月

研 究 者: 河野 崇

1. 研究のねらい

脳神経系は、感覚器官から継続的に流入する大量の情報を瞬時に処理し、重要な情報だけを効率よく取り出して必要なアクションを判断、適切に運動器官を駆動することができる優れた情報処理システムである。シリコン神経ネットワークは、神経細胞やシナプスに対応する電子回路(シリコンニューロン、シリコンシナプス)を組み合わせることで構築した電子回路による神経ネットワークであり、脳神経系の優れた情報処理を忠実に模倣した、現行のデジタルコンピュータと異なる原理で動作する自律的でロバストな情報処理システムを目指して研究されている。このような情報処理システムは、次世代の情報基盤としてだけでなく、脳神経系との親和性の高さからBMIによる脳との接続に適したシステムとしても重要視されている。本分野の難しさは、動作原理が未だ解明されていない脳神経系を、電子回路で実装するための方法論が確立されていない点にある。このため特に、これまでの研究では神経ネットワークの特徴を忠実に模倣した回路を実現するコストが非常に高かった。

本研究課題では、理論神経科学分野で培われてきた定性的神経モデリングに関する非線形数学の技術と、超低消費電力電子回路技術とを有機的に組み合わせることにより、神経細胞・シナプスの特徴を忠実にとらえたシリコンニューロン・シリコンシナプスを実現し、超低消費電力でコンパクトなシリコン神経ネットワークを構築するための基盤技術の確立を目指す。ロボット制御やBMIへの応用を念頭に、局所神経ネットワークと同等のシステムによるアクチュエータ制御やセンサ情報の前処理を行うローカルな情報処理系を視野に入れ、機能の明らかにされている運動パターン生成神経ネットワークの模倣システムの構築を試みる。これらの技術によって、より脳神経系に近い高度な情報処理システムの超低消費電力化がもたらされ、電力効率の高い自律的ロボットや高度な埋め込み医療デバイスなどの実現へ寄与することが期待できる。

2. 研究成果

(1) 概要

超低消費電力シリコン神経ネットワーク構築の基盤技術確立のため、(研究テーマA)定性的神経モデリングを用いたシリコン神経ネットワークモデルの設計手法の確立と、(研究テーマB)シリコン神経ネットワークの超低消費電力アナログ集積回路を用いた実装手法の確立とを行った。さらに、(研究テーマC)それらの成果を用いて神経モデリングの手法を発展させ、脳神経科学分野へフィードバックした。

研究テーマAでは、定性的神経モデリングで用いられる非線形数学の解析手法を応用することによって、神経活動のメカニズムをよく再現でき、かつ、電子回路実装に適したシリコンニューロンモデルを設計する手法を確立した。既に提案済みであった手法を基にパラメータ電圧のチューニング手法の開発などの拡張と整備を行い、それらを用いて超低消費電力アナログCMOS(相補型金属酸化膜半導体)集積回路での実装に適したシリコンニューロン及びシナプスモデルを開発した[(1)-1, (3)-1,2]。また、BiCMOS(バイポーラとCMOSとの混在)集積回路での実装への適用可能性も検討[(1)-2]し、本設計手法が使用するデバイスに依存せず、将来のデバイスの進化にも対応できることを確かめた。またFPGAを利用して数百ニューロンのシリコン神経ネットワークモデルのプロトタイピングも行った。

研究テーマBの目的は実装技術の確立であり、研究テーマAで開発したシリコンニューロン及びシナプスモデルを電子回路化し、集積回路試作サービスにより実装した。回路実験結果をモデルにフィードバックし、回路の改良も行なって新たな集積回路を試作することを繰り返し、約50nW以下の消費電力で自発的バースト発火を含む様々な神経活動を再現できるシリコンニューロン回路を実現した[(1)-4,(3)-4]。この回路を2個搭載したシリコン神経ネットワークチップを試作し、2ニューロン結合系を実装、運動パターンジェネレータとして機能することを報告した[(3)-5]。さらに、消費電力を10分の1程度まで低減する回路を考案した[(3)-6]。

研究テーマCでは、研究テーマBの回路実験結果を元に、方形波バーストと呼ばれるクラスの神経細胞をノイズ存在下での挙動を元により詳しくモデル化する手法を提案した[(1)-3,(3)-3]。

(2) 詳細

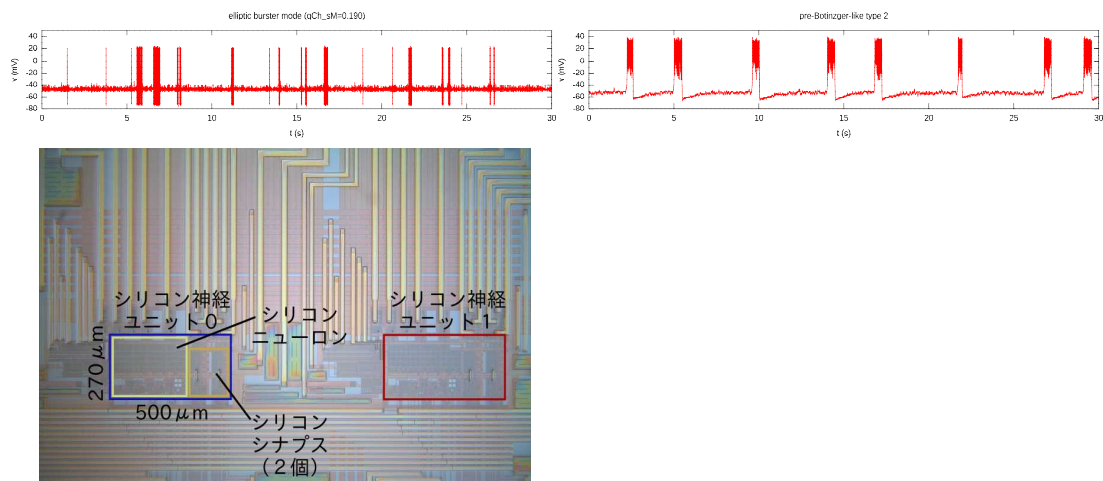
研究テーマA「定性的神経モデリングを用いたシリコンニューロン及びシナプスモデルの設計手法の確立」

神経細胞膜を通過するイオン粒子のダイナミクスを記述したイオンコンダクタンスモデルは神経活動を精度よく再現できるが、複雑な微分方程式であり、その電子回路実装も複雑になってしまう。このため、目的の神経活動を再現するために必要な回路のコントロールが難しく、消費電力、実装面積の面でもディスアドバンテージが大きい。逆に、神経活動を極端に簡略化して表現したインテグレート・アンド・ファイアモデルに基づいた神経モデルはシンプルな回路で実装でき、チューニングが簡単で低消費電力ではあるが、神経活動を部分的にしか再現できない。これに対し、定性的神経モデルが単純な多項式で記述される微分方程式でありながら神経活動をよく再現できることに着目し、非線形数学の技術を用いて、同等の微分法定式を超低消費電力電子回路で実装しやすい式によって記述することによりシリコン神経モデルを設計する手法を既に提案していたが、本研究において、各シリコンニューロン回路のナルクラインや分岐図を実験的に描出してパラメータ電圧を適切にチューニングする手法を開発するなどの拡張、整備を行った。この手法を用いて、超低消費電力アナログCMOS集積回路での実装に適したシリコンニューロン及びシナプスモデルを開発した[(1)-1,(3)-1,2]。このモデルは、シンプルな超低消費電力回路として実績のあるサブスレッショルド領域のMOSTランジスタを用

いた差動対回路と τ セル積分回路のみで実装できるように設計されており、本設計手法によって回路構成に特殊な工夫を入れることなく低電力化、シンプル化が可能であることを示した。また、BiCMOS集積回路を用いて実装された他研究グループのシリコンニューロン回路に対して本手法を応用した解析を行い[(1)–2]、本設計手法がCMOSプロセス以外にも適用可能であることを確かめた。また、FPGA上に上記シリコンニューロン及びシナプスモデルと同等のダイナミクスを持つモデルを実装して数百ニューロンの全結合ネットワークのシミュレーションを行うことにより、上記モデルがシリコン神経ネットワークの構成部品として意図した特性を満たすことを確かめた。

研究テーマB「シリコン神経ネットワークの超低消費電力アナログ集積回路による実装手法の確立」

研究テーマAで開発したモデルを回路化し、台湾TSMC社のLSI試作サービスを用いて試作、回路実験によって評価し、その結果をモデルと回路構成にフィードバックして改良するプロセスを繰り返し、製造ばらつきやノイズ存在下で目的の動作を実現するために必要な技術を確認した。最初に、研究テーマAで開発したモデルをTSMC社で提供されている0.35 μm CMOSプロセスを用いて上記プロセスを数回繰り返して、回路実装面積の縮小、ナルクライン描出回路の改良、回路レイアウトの工夫により製造ばらつきの影響低減を行った。これにより、ホジキン分類クラスI及びII、発火周波数順応、方形波バースタ(図1左上)、楕円バースタ(図2左下)の5クラスの神経活動を実現可能なシリコンニューロン回路[(1)–4,(3)–4]を、約50nWの消費電力、約400 $\mu\text{m} \times 270 \mu\text{m}$ の実装面積(最初の試作では620 $\mu\text{m} \times 360 \mu\text{m}$)で実現することができた。レギュラースパイキング細胞が発火周波数順応、ファーストスパイキング細胞がホジキン分類クラスII、延髄の呼吸中枢やヒルなどの心拍リズム生成細胞が方形波バースタ、視床の毛様体細胞が楕円バースタに属すると言われており、本回路が幅広い神経細胞を模倣できることがわかる。さらに、本回路にGABA、NMDA、AMPAシナプスと同等のダイナミクスを持つシリコンシナプス回路を2個(90 $\mu\text{m} \times 240 \mu\text{m}$)付加したシリコン神経ユニット(約500 $\mu\text{m} \times 270 \mu\text{m}$)を設計し、これを2ユニット搭載したシリコン神経ネットワークチップを試作した(図1右)。本チップを用いて2ニューロン結合系を構築し、最もシンプルな運動パターンジェネレータであるハーフセンターオシレータを実現した[(3)–5]。



さらなる低電力化を目指して、差動対ベースの積分回路及びカスコード回路ベースのシグモイド関数回路を考案すると共に電源電圧を 1V まで低減するなど回路構成の工夫を行い、TSMC社の $0.25\mu\text{m}$ CMOSプロセスを用いて約 3nW の消費電力でホジキン分類クラスI及びIIとクラスI* が実現可能なシリコンニューロンを設計し[(3)-6]、回路実験による評価を行った。また、待機電力が数 pW のシリコンシナプス回路の設計も行い、より低電力なシリコン神経ネットワークチップの実現へ道筋をつけた。

研究テーマC「神経モデリングの手法へのフィードバック」

研究テーマBで試作したシリコン神経ネットワークチップの回路実験において、方形波バーストモードで遅い変数と早い変数の時定数の比が比較的小さい場合、内在ノイズの影響でバースト発火のリズムが大きく乱されることが分かった。シリコンニューロンモデルを解析してシリコン神経膜(早いシステム)の分岐構造に原因があることを解明し、シリコンニューロンモデルへフィードバックを行うと共に、呼吸中枢で方形波バーストを行う神経細胞のイオンコンダクタンスモデルを解析し、これまで明確に推定する方法のなかった定数をノイズ存在下での挙動を元に評価できることを示した[(1)-3, (3)-3]。

3. 今後の展開

今後は、本研究成果を発展させ、ヘブ則や非対称性STDPなどの学習則を実装したシナプス回路や、チップ間通信などマルチチップシステム構築に必要な機能などを備えたシリコン神経ネットワークチップを実現し、より低電力で大規模なシリコン神経ネットワークのための基盤技術の構築を目指す。そのようなシリコン神経ネットワークを用いた情報処理について、計算論的脳神経科学の立場から検討を行い、パターン認識や連想記憶などのタスクを行う小～中規模ネットワークを実装する。それらを組み合わせることによってより複雑、高度な情報処理を行うことのできるネットワークを実現し、現行のデジタルコンピュータに比べて大幅に低消費電力でありながらより複雑で知的な情報処理を実行できる新しい情報処理基盤技術の構築を目指す。この際、ネ

ネットワーク間の情報伝達に適した情報コーディングに着目することにより、「構築による解析」の立場から脳神経系における情報処理様式解明に寄与できると期待している。また、本研究成果のシリコン神経ネットワークチップは様々な神経細胞を模倣することができるため、培養神経細胞などと多様なハイブリッドネットワークを構築することができる。このような試みを通して、シリコン神経ネットワークチップのBMIや医療デバイス等への応用可能性を探ることで脳神経科学への寄与を目指す。

4. 評価

(1) 自己評価

(研究者)

従来手法では、多様な神経活動をよく再現するためにはイオンコンダクタンスモデルを実装し、複雑で消費電力の大きい回路を用いるしかなかったが、本研究課題では定性的神経モデリングの手法を用いることによりブレークスルーを実現した。これは、非線形数学の手法と電子回路設計技術とを有機的にからめることにより初めて可能になる研究であり、これら両方に精通している研究者にしかできないと自負している。最終年度には、ホジキン分類クラスⅠ、ⅡとクラスⅠ*を実現できる回路を約3nWの消費電力で実現したが、これは、実現できる神経活動に制限のある他グループの最先端回路と同等の消費電力であり、研究目的を十分に達成したと考えている。本研究の成果を発展させ、超低消費電力シリコン神経ネットワークプラットフォームを構築する研究提案がさががけに採択され、来年度より研究を開始する予定である。この研究では、現行のデジタルコンピュータでは難しい柔軟で知的な情報処理を自律的に実行できる超低消費電力情報処理システムの基盤技術の実現と、「構築による解析」の立場から脳神経科学へのフィードバックとを目指す。これにより、近年のエネルギー問題、情報ネットワークの複雑化、情報量の爆発的増加、高齢化等による社会構造変化に対応することのできる次世代情報処理基盤の整備につながると期待される。また、このような超低消費電力シリコン神経ネットワークは脳神経系との親和性が高く、BMI接続に適した情報処理システムになることが予想される。これにより、情報化社会基盤と各個人とのよりシームレスなインタラクションが可能になると考えられる。このように本研究成果は将来の社会システムの発展と安定化に大きく貢献すると期待される。

(2) 研究総括評価(本研究課題について、研究期間中に実施された、年2回の領域会議での評価フィードバックを踏まえつつ、以下の通り、事後評価を行った)。

(研究総括)

研究進捗状況は良好であり、研究目標を達成した。シリコン神経ネットワークの分野は、神経細胞やシナプスに対応する電子回路を組み合わせて構築した電子回路による神経ネットワークを開発・研究する分野であり、原理的に新しい自律的でロバストな情報処理システムを開発し、次世代の情報基盤を導くとともに、脳神経系との親和性の高さからBMIによる脳との

接続に適したシステムを開発することが期待できる。本研究では、脳機構の知識を持ち、非線形数学の手法と電子回路設計技術に精通した本研究者が、その特性を生かし、独創性の高い研究成果をあげた。すなわち、電子回路技術と非線形数学に基づく解析技術を有機的に組み合わせ、超低消費電力でコンパクトなシリコン神経ネットワークを構築するための、デバイス非依存性の基盤技術を開発し、さらに実装手法を確立し、約 50nW以下のきわめて低消費電力で様々な神経活動を再現した。今後の課題は、学習則や規模のより大きいネットワークの実装であるが、その結果、高度な情報処理システムの超低消費電力化がもたらされ、電力効率の高い自律的ロボットや培養細胞を含んだ高度な埋め込み医療デバイスなどの実現へ寄与することが期待できる。

また、本分野は国際的に数グループが各々異なるアプローチで競っているが、本研究の成果を核として、本研究者らは分野を牽引するグループとして高い評価を受けている。すなわち、チューリッヒ INI やジョージア工科大は単純なモデルで大規模ネットワークをめざし、仏ボルドー第 1 大は、逆に神経系に近い要素で結合系を構築し、埋め込み医療デバイスへの応用を念頭に置く。近年は、本研究と同様に定性的モデルの実装にシフトしている。ハイデルベルク大は、BMI 用脳シミュレーターを目指すが、消費電力が高く、実用性が疑問視される。なお、これらの成果を背景として、さきがけ「素材・デバイス・システム融合による革新的ナノエレクトロニクスの創成」領域に「定性的モデリングに基づいたシリコン神経ネットワークプラットフォーム」を課題として採択された。

5. 主な研究成果リスト

(1) 論文(原著論文)発表

1. Nobuyuki Mizoguchi, Yuji Nagamatsu, Kazuyuki Aihara, and Takashi Kohno. “A two-variable silicon neuron circuit based on the Izhikevich model”. Journal of Artificial Life and Robotics. 2011, Vol. 16, Issue 1, pp. 383–388.
2. Filippo Grassia, Timothee Levi, Sylvain Saighi, and Takashi Kohno. “Bifurcation analysis in a silicon neuron”. Journal of Artificial Life and Robotics. 2012, Vol. 17, Issue 1, pp. 53–58.
3. Takashi Kohno and Kazuyuki Aihara, “Improving noise resistance of intrinsic rhythms in a square-wave burster model”. BioSystems. 2013, Vol. 112, pp. 276–283.
4. Takashi Kohno and Kazuyuki Aihara, “Silicon neuronal networks towards brain-morphic computers”. IEICE NOLTA Journal. 2014. Vol. 5, No. 3, pp. 379–390.

(2) 特許出願

研究期間累積件数:0 件

(3) その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)



1. Takashi Kohno and Kazuyuki Aihara. "A mathematical-structure-based aVLSI silicon neuron model". Proceedings of the 2010 International Symposium on Nonlinear Theory and its Applications. 2010, pp. 261–264, 7th, Sep.
2. Yohei Nakamura, Kazuyuki Aihara, and Takashi Kohno. "A three-variable silicon neuron circuit". Proceedings of International Symposium on Artificial Life and Robotics 2011. 2011, pp. 342–345, 29th, Jan.
3. Takashi Kohno and Kazuyuki Aihara. "Improving Noise Tolerance of Intrinsic Rhythm in Biological and Silicon Neuron Models". BIOCOMP 2012, Mathematical Modeling and Computational Topics in Biosciences. 2012, pp. 114–115, 8th, Jun.
4. Munehisa Sekikawa and Takashi Kohno. "Bifurcation Structure of a Class 2 Silicon Nerve Membrane Integrated Circuit". Proceedings of 2012 International Symposium on Nonlinear Theory and its Applications. 2012, pp. 824–827, 26th, Oct.
5. Munehisa Sekikawa and Takashi Kohno. "A laboratory experiment of a half center oscillator integrated-circuit". Nonlinear Dynamics of Electronic Systems 2013. 2013, 11th, Jul.
6. Takashi Kohno and Kazuyuki Aihara. "A Qualitative-Modeling-Based Low-Power Silicon Nerve Membrane". Proceedings of 21st IEEE International Conference on Electronics Circuits and Systems. 2014, pp. 199–202, 9th, Dec.

研究報告書

「光学的 BMI による感覚・運動情報の解釈と応用」

研究タイプ: 大挑戦型(※大挑戦型課題として延長無/増額無)

研究期間: 平成 21 年 10 月～平成 27 年 3 月

研究者: 駒井 章治

1. 研究のねらい

光学的手法を用いた BMI を実現すべく、2光子レーザー走査顕微鏡の高速化、光遺伝学ツールの開発と確立、行動課題の確立を行い、これらを融合することにより、より緻密な脳情報の解釈と制御を行うことを本研究のねらいとした。

本研究課題では 2 光子レーザー走査顕微鏡等の光学技術および光感受性チャネルタンパク質を用いた選択的光学刺激を用いることによって、認知行動課題および運動遂行の神経基盤を担う局所回路の同定と、同局所回路刺激による行動制御を目的としている。具体的には Oregon Green488 BAPTA-1 (OGB-1) や GCaMP 等のカルシウム指示薬による多点同時活動記録および Two-photon Targeted Patch (TPTP) 法による細胞選択的記録を用いて視覚、体性感覚などの様々な感覚に対し、様々な物理量の刺激を提示することによって得られた神経活動から逆相関法や Bayes 推定法といった手法により入力信号を推定する。バー(主観的輪郭によるバーも含む)による視覚刺激の方位や方向を変化させることによる神経活動を計測し、単一細胞レベルでの神経コードの読み取りを試みる。ここで推定された入力信号を光感受性チャネルタンパク質等を利用して選択的に特定の神経回路に戻すことによって、動物行動を模倣することが可能か否かを検討する。これにより実際に観察している神経回路がどういった情報をコードしており、かつそのコードされている情報がどういった行動を規定しているのかが明らかになるものと考えられる。ここで得られた研究結果は BMI へのさらなる応用に寄与できるものと考えられる。

2. 研究成果

(1) 概要

本研究課題は大挑戦型であり様々な技術を用いることで、脳機能理解の上で未踏の領域に踏み込むことを目的としている。具体的には、脳機能の最小単位(局所回路)の機能を理解し、その応用として時空間分解能の良いブレイン・マシン・インターフェイスを実現することを目指す。これまでこの目的を達成するために必要な各種計測技術・ツールの開発を並行して行い大きく4つの研究課題に関して取り組んできた。脳機能を内外から観測する目的で神経と行動のイメージング技術の確立をめざし、微細刺激を行うための分子、光学ツールの作成とともに、脳神経移植技術の確立をめざしてきた。それぞれの課題は未だ道半ばではあるが、着実にそのゴールに向けて前進を続けてきている。本報告書ではこれまでの軌跡を取りまとめるとともに、今後の展開について述べる。

(2) 詳細

研究テーマ A「顕微鏡等の光学技術の開発」

2 光子レーザー走査顕微鏡の改良については深部観察を可能にするためにパルス列変調を用いた。低コストでダメージが少ない条件で、尖頭エネルギーを保つことが可能となった。更に昨年度は高速化を図るべくスキヤナの改良を試みてきた。Digital Mirror Device (DMD)を用いた高速刺激装置の作成の試みについては、歪曲収差の補正が困難であるためこの方法は実用的でないことが明らかとなった。しかし可視光を用いたケージド・グルタミン酸を利用した精密刺激にはある程度応用可能であることがわかったため、同様の方法を用いて光強度を上げ利用可能なものとした。これについては企業との共同研究により製品化されており、一定の成果を見たと考えられる。LCOS (Liquid Crystal on Silicon)を用いた高速且つ高解像度な刺激を可能にするシステムを構築も検討したが、本研究課題では3次元刺激が必要であるため、更なる検討を要することが明らかとなった。現在KNT スキヤナを用いることでスキヤニングを高速化することを試みるための機種選定を行っている。『KTN スキヤナ』は、カリウム(K)、タンタル(Ta)、ニオブ(Nb)から成る光学結晶を利用した光デバイスであり、KTN 結晶の「電圧を加えると屈折率を自在に変えられる」という性質を利用すれば、入射したレーザー光の進む方向を自由に変わると考える。

小型光学 ECoG の開発については京都大学工学部の小寺教授のご指導、ご協力の下、香川大学の鈴木准教授と共同研究を行わせていただく事となった。MEMS 技術を用いてレンズを搭載した多点計測が可能なデバイスのプロトタイプを作製した。スライスを用いて光遺伝学への応用が可能なものとしてプロトタイプを作成したが、グリッド上ではあるが任意の場所を刺激することは可能となったが、平面的な刺激にとどまり、生体脳への応用のためにはさらなる検討が必要となることが明らかとなった。この点をクリアした後に小型化を図り、個体脳への応用が可能なものに作り込んでいく予定である。光遺伝学用遺伝子改変動物の作成の事前準備としておよびMEMS デバイス開発のスピードアップのためにES細胞を用いて神経細胞への分化誘導の条件確立も行いつつある。

研究テーマ B「光遺伝学ツールの開発」

独マックスプランク研究所の Rolf Sprengel 博士により供与された AAV をバックボーンとするチャンネルロドプシン、ハロロドプシンの同時発現誘導ウイルスベクターを改良し、より操作の簡便なレンチウイルスベクターへの乗せ替えを試みてきた。しかし両分子の他に蛍光分子を発現させる必要があるため分子量が大きくなり、作製が困難であった。そこでそれぞれのロドプシン分子を単独で発現するウイルスベクターを一先ず作製し、光応答性を確認した。ここでは培養細胞の培養条件や形質転換の条件、ベクター精製条件等の条件検討を行い、一連のウイルスベクター作成フローを確立することができた。しかしここでハロロドプシンを発現する神経細胞は抑制応答を示すが、チャンネルロドプシン分子が光応答を示さないことが明らかとなった。点変異の疑いがあったため幾度となくシーケンスを行ったが、配列に異常は見られなかった。そこで新たにプラスミドを購入し、これまで作製してきたバックボーンに導入し、利用可能なものの確立を行うこととした。通常型の hChR2(H134R)および長期活性型の hChR2(C128A)、チャンネル動態の非常に速い ChETA を導入したウイルスベクターの作成を行った。更に抑制性として eNpHR3.0 および Arch-T の導入も行った。

研究テーマ C「局所神経回路解析に資する行動解析」

行動試験に関しては、バイオリソースが抱負な齧歯類、特にマウスを用いて認知課題を行ってきた。タッチパネルを設置したオペラントチャンバーに強化子を提示するポートを設置し、垂直、水平バーの弁別課題と、縞模様の途中で位相をずらしたものの、縞模様の途中にギャップを設置したもの、カニツツアタイプの錯視課題を行うことで、視覚刺激による視覚弁別課題を行ってきた。試行依存性を排除する目的で、視覚刺激の空間分布を均一にするような統制刺激を用意し、これを用いての弁別課題を行ってきた。その結果バーの弁別課題では 80%を超える正答率、錯視課題においても 70%を超える正答率を得ることができるようになり、齧歯類を用いてもこういった視覚弁別課題を行うのに必要な能力を備えていることが明らかとなった。

研究テーマ D 「神経幹細胞移植による脳活動制御と機能回復」

特定の神経活動を制御するためにはオンラインで、活動を検知し、これを単一細胞レベルで制御することが必要とされる。細胞種としては比較的均一で、機能的には極めて多様性である大脳皮質から、目的の神経細胞に対して漏れなく刺激・抑制を行うことは極めて困難である。しかしながら脳の大きな部分を占める大脳皮質の機能を理解するためにはこの問題を解決する必要がある。一つの方略として事前に光遺伝学的操作を行うための分子を導入した神経細胞を移植し、その後これら神経細胞が定着し機能させられる条件の解明を目指した。移植細胞は個体の経験によらず、移植後の入力にのみ依存してネットワークを構築する。一方で強制的に入力を与えることにより、周辺の神経細胞を巻き込んで機能ネットワークを構築することが想定される。そこで移植神経細胞を中心とした機能ネットワークの経験による構築過程と、構築されたネットワークの生理機能を移植細胞を中心に検討することにより、ネットワーク形成様式の解明と特定の細胞を中心に形成される機能ネットワークの生理機能の解明につながるものと考えられる。そこで、正常脳に対して神経幹細胞を移植し、人為的に入力を与えることで見られる神経応答の変化様式を詳細に解析することを試みた。

移植神経細胞の分化運命は個体活動もしくは神経活動に依存することが明らかとなった(学会発表済、論文準備中)。つまり神経細胞移植後に行動学的に活動を上昇させることによって、神経細胞への分化特に興奮性神経細胞に分化する確率を上昇させることが明らかとなった。今後はより詳細な分化誘導の条件を検討するとともに、移植神経細胞を中心に構築されたネットワークの解析を行う予定である。これらのことは損傷脳に対する脳・神経移植の条件の理解につながるのと同時に、精神疾患や発達障害への応用、さらにはニューロリハビリテーションへの応用も可能となると考えられる。

3. 今後の展開

これまで確立に努めてきたいくつかの技術や手法はそれぞれが目標に近づいてきた。今後はこれら技術を組み合わせることで脳の情報処理の実際的なところの理解を深めていく予定である。脳に関する研究結果は世に溢れているが、未だ解決に至っていない脳情報処理の一般則の理解を目指すと共に、我々動物の行動(特に日常行動)のあり方についての原理原則の解明を目指したいと考えている。

4. 評価

(1) 自己評価

(研究者)

本研究課題は「光学的 BMI による感覚・運動情報の解読と応用」と題した大挑戦型研究であり、各種技術を用いることで、局所回路機能の理解と応用を目的とした。光遺伝学導入のために作成した分子ツールの確立に非常に時間がかかってしまったことは否定しようもない事実である。信頼のおけるソースから供与いただいたものであったために過信してしまったことが原因であったといえる。制限酵素地図による確認やシーケンスを何度となく繰り返し、トランスフェクションの条件検討を慎重に行ったが、正しくインサートを挿入することが困難であった。しかしここで困難を克服した経験によりウイルスベクターやターゲティングベクター作成のノウハウを得る好機となったことも事実である。今後様々な分子を特定神経細胞に導入する際にこれまでの経験が我々の強みとなって研究を援助してくれるものと期待している。光遺伝学遂行にあたり、全世界の研究者が直面している前述のような大きな問題は未だ解決の糸口を見ないが、光遺伝学が神経科学研究推進の大きな一歩であることは間違いない。今ここで少し時間をいただき、時間をかけてこれらのツールと向き合うことができたことに心から感謝したい。脳機能の最小単位(局所回路)の機能を理解し、その応用として時空間分解能の良いブレイン・マシン・インターフェイスを実現する。この大きな目的を達成するために必要な各種計測技術・ツールの開発を並行して行ってきた。脳機能を内外から観測する目的で神経と行動のイメージング技術の確立をめざし、微細刺激を行うための分子、光学ツールの作成とともに、脳神経移植技術の確立をめざしてきた。それぞれの課題は未だ道半ばではあるが、着実にそのゴールに向けて前進を続けてきている。それぞれの技術やツールを組み合わせ、データを得ることはもちろん困難を極めるものである。すべてを最適化せずして、データは得られない。しかし最もローテクで手付かずであった「マウスを使った錯視弁別課題」についても一定の成果を見つつあり、論文に投稿しているところである。解析対象および解析ツールが出揃ってきたので、今後はこれを十分に活用し脳の真の理解に必要なことを進めていきたいと考える。

本研究課題の目的を達成するために分子生物学、光学、行動科学が三位一体となって遂行する必要があったが、この手の研究としては伊佐先生が報告された研究が好例であるといえよう(Kinoshita ら, 2012)。ここからも本研究課題は今後の神経科学のあるべき姿の縮図を示したものであるといえる。個人研究であるさきがけ研究においてこういった課題の遂行は非常に困難であった。若手であるからこそ個人研究という枠にとどまらず、むしろグループ研究を促進できるような仕組みを検討していただければと考える。

本報告に合わせて、各方面からのサポートや共同研究により本研究課題が進められたことを心から感謝するとともに、ここに感謝の意を表したい。

(2) 研究総括評価(本研究課題について、研究期間中に実施された、年2回の領域会議での評価フィードバックを踏まえつつ、以下の通り、事後評価を行った)。

(研究総括)

大挑戦型課題として挑戦的な目標を持つため、当初の目標を完遂するまでには至っていない。しかし、要素的研究課題の一部は達成され、他の部分も進展が求められる。相応の成果を

達成しつつあると考える。本研究では、定量的な視覚刺激を与え、時空間的に神経活動を記録し、そのデータを用いて局所神経回路を駆動することにより、特定の行動を引き起こすシステムの開発を目指した。従来の心理物理学的研究の範囲を超えて、得られた脳情報を活用して行動を引き起こす手法を開拓するという点で、BMI の発展に繋がることが期待された。しかし、従来の研究で用いられた手法を超えた研究を行うには当然、従来の技術を改良し、本研究に最適化するための方法論の確立が必要である。本研究では、2光子レーザー走査顕微鏡の高速化、目的に合わせた光遺伝学的ツールの開発・確立、行動課題の確立が必要であった。前2者については幾つかの試みを経て、進展しているが、まだ完成までには至っていない。行動課題については、困難を克服して、げっ歯類の錯視弁別課題を確立するに至った。当初の研究目標はシステム的研究と分子・細胞学的要素研究との間隙を埋めることを目指した挑戦的な融合研究であったが、今後、方法論の確立とともに、これらを用いた融合研究が早期に行われることを期待するものである。

本研究成果が評価され、「共感性」の新学術領域計画班に採択されている。

5. 主な研究成果リスト

(1) 論文(原著論文)発表

1. Harada A., Shiosaka S., Ishikawa Y. and Komai S., Acute stress increases neuropsin mRNA expression in the mouse hippocampus through the glucocorticoid pathway., *Neuroscience Letters* **436** 273-277, 2008

(2) 特許出願

研究期間累積件数: 1 件

(3) その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

学会発表

▼2014/11/16

Author/Presenter : Jin Watanabe and Shoji Komai

Title : Mutual influence of mice in social context.

Society for Neuroscience, 43rd Annual Meeting, Washington DC, USA

▼2014/07/08

Author/Presenter : Jin Watanabe, Shota Okabe, Reina Yamada, Takatomi Kubo, Takefumi Kikusui, Kazushi Ikeda and Shoji Komai

Title : Mutual Influence of mice in social context.

FENS2014, Milan, Italy

▼2013/6/20

Author/Presenter : Yusuke Suzuki, Kazushi Ikeda and Shoji Komai

Title : Neuronal correlates of fine motor control under panic-like state.

日本神経科学学会、京都

▼2012/10/16

Author/Presenter : Yusuke Suzuki, Kazushi Ikeda and Shoji Komai

Title : Segmentation of a gap-crossing action into fine motions under an emergency situation in rats.

Society for Neuroscience, 42nd Annual Meeting, New Orleans, USA

▼2012/10/16

Author/Presenter : Fumi Okuyama and Shoji Komai

Title : Subjective contours in mouse early visual cortex.

Society for Neuroscience, 42nd Annual Meeting, New Orleans, USA

▼2010/11/17

Author/Presenter : S. S. N. HO, S. KOMAI, I. VAN WELIE, M. HAUSER

Title : Synaptic integration in cerebellar Golgi cells during sensory stimulation

Society for Neuroscience, 40th Annual Meeting, San Diego, USA

▼2010/11/16

Author/Presenter : Mitsunori Arai and Shoji Komai

Title : Integration of exogenous neural stem cells in the adult mice cortex with neuronal activity.

Society for Neuroscience, 40th Annual Meeting, San Diego, USA

▼2009/10/20

Author/Presenter : Mitsunori Arai and Shoji Komai

Title : Functional differentiation of neural stem cell into excitatory and inhibitory neurons

Society for Neuroscience, 39th Annual Meeting, Chicago, USA

著作物

- Komai S., 20. Activity regulation in the study of neural plasticity, “Optogenetics.” Springer Japan, Tokyo, in press.
- Cetin A., Komai S., Behavioral control by light-exciting and silencing neuronal activity. “Methods in Neuroethological Research.” Springer Japan, Tokyo, 2013.
- 駒井章治、神経活動に伴う神経可塑性現象の解明、「オプトジェネティクス(光遺伝学)」、株式会社エヌ・ティー・エス、東京、2013.

プレスリリース

“Transplanted Stem Cells Become Healthy Functioning Neurons After Exposure to Brain’s Signaling Molecules”, Neurology Today, 7 January 2010; Volume 10(1); P 14–15

研 究 報 告 書

「感覚帰還信号が内包する運動指令成分の抽出と利用」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 平成 21 年 10 月～平成 27 年 3 月

研 究 者: 関 和 彦

1. 研究のねらい

脊髄の断面図を見ると、それがあたかも大脳皮質の縮図であることが分かる。背側には感覚入力を担う一次感覚神経からの情報を受ける細胞、腹側には直接筋肉に指令を送る運動ニューロンが位置し、その間(中間層)には両者の関係性を調節する介在ニューロンが位置する。感覚入力をもとに(一次感覚神経)適切な運動を選択し(介在ニューロン)、運動を引き起こす(運動ニューロン)のが中枢神経系の基本機能の一つと考えれば、脊髄神経回路にはその基本要素が全て備わっている。

脊髄は例えば大脳皮質と比較してもその入出力が他の中枢神経系に比べて分かりやすい事から過去盛んに研究がなされ、それを構成する神経ネットワークについては多くの知見が得られている。例えば20世紀初頭には Charles S. Sherrington によって「運動の基礎単位」と定義され全ての複雑な運動は複数の反射の組み合わせによって説明可能だとまで考えられていた。その後、より上位の運動中枢の研究が進み、脊髄反射以外の筋活動制御系も明らかになってきたが、脊髄反射の組み合わせが運動の基本単位を構成しているという考え方は、筋シナジーや運動プリミティブ仮説という形で現在も有力である。

さて、脊髄損傷や脳卒中などで起こる運動障害の多くは、脊髄下行路の遮断に伴う現象であると考えられる事ができる。つまり、上記の手や足の運動を司る脊髄回路は損傷当時は健全なまま残されているが、それらを目的にあわせて組み合わせるのに必要な皮質や上位中枢との連絡が遮断されたために、異常な運動が見られるのであろう。上記のように、脊髄には目的とする運動を構成する基本単位があるので、それを使う事ができないため運動をうまく行う事ができない、という状況に置かれていると考える事もできる。

本研究は、この点に着目し、損傷後も脊髄に健全な形で存在する運動の基本単位を、下行路の細かな制御なしにうまく駆動できないかと発想した。この脊髄神経回路を働かせるためには下行路に変わる駆動信号が必要である。本研究ではこの駆動信号を、感覚帰還信号に求めた。つまり、同じ運動を繰り返す場合、末梢の感覚受容器はいつも同じパターンで刺激され、それによって一次求心神経には定型的な感覚帰還信号が励起される。この感覚帰還信号は必ず運動の詳細な情報が含まれているはずであり、それを解読し、適切な脊髄神経回路(運動プリミティブや筋シナジー要素)をそれにあわせて刺激する事により、多様な運動が制御できるのではないかと考えた。そのため、本研究期間では、①脊髄刺激によって上肢運動を制御する技術、②一次求心神経の活動記録から運動情報を解読する技術、の確立を目標とした。

2. 研究成果

(1) 概要

5年間の研究期間の中では、大別して3つの研究成果が得られた。第一に筋シナジーの脳内表現に関する研究成果である。脊髄刺激によって上肢運動を制御する技術開発のためには、まず脊髄が他の運動中枢と比較してどのような運動を引き起こす事が可能なのかを知る必要があった。そこで、典型的な上肢の固有運動である把握運動やリーチング運動をサルに訓練し、その際の多数の上肢筋の活動と脊髄神経活動を同時記録した(文献2、7)。その結果、脊髄介在ニューロンは複数の手固有筋に対して興奮性に働く事が判明した。この事は、把握運動を制御する際に脊髄刺激が有効に働く事を意味していた。第二に、慢性埋め込み電極による脊髄刺激方法の開発に関する研究成果である。脊髄損傷や脳卒中の患者(モデル動物として文献1)に上記技術を適用するためには、慢性的に電極を脊髄に埋め込み刺激や記録をする技術が必要であるが、霊長類を対象とした当該技術は存在しなかった。そこで、多極アレー電極をサル頸髄に埋め込み約1年間にわたって比較的安定的に脊髄刺激を行い、運動を誘発する技術を確立した(文献 5、投稿中)。第三に一次求心神経活動の光遺伝学による制御技術の確立である。当初の予定では、DRG 細胞から多極電極で信号記録を行い、そこから運動情報を解読する計画であったが、技術的に困難で未だに実現していない(継続中)。一方、研究開始後に急速に進展してきた光遺伝学の技術を用いれば、体性感覚のモダリティ依存的に求心神経活動を抑制でき、どの種類の求心神経にどのような運動情報が内包しているのか、因果関係も含めて検証できる可能性があった。そこで、ウィルスベクターを用いて求心神経に光遺伝子を導入し、光刺激によって活動制御する基盤技術を確立した。

(2) 詳細

研究成果1「筋シナジーの脳内表現」

我々は、脳と運動神経をつなぐ働きをしている脊髄介在神経に注目。サルがレバーを「つまむ運動」をしている際に、この脊髄介在神経がどのように活動しているのかを記録することに世界で初めて成功した(図1)。さらに、指の運動に関わる筋肉の活動を記録することで、脊髄介在神経の活動が筋肉の活動にどのような影響を及ぼすのかを解析した。その結果、今回記録した多くの脊髄介在神経は一つ一つの筋肉をコントロールしているのではなく、複数の指の筋肉を協調させて活動させていることが明らかになった(図2)。これは、脊髄介在神経が大脳皮質からの神経活動をそのまま運動神経に伝えるだけの単純な中継点ではなく、筋肉を協調させるという複雑な役割を持つことを示している。このような脊髄介在神経は、複雑な手の運動を効率良く行うために重要なのではないかと考えられる。例えば、図2の介在神経Aは複数の指を曲げる筋肉を活動させる働きを持っており、このような介在神経が活動することで複数の指を協調させて物をつまむ運動を引き起こせる可能性が考えられる。この実験結果から、手の運動の際の「指の組み合わせ」が脊髄介在神経によって作られているのではないかと新たな仮説を導くことができた(文献 3、7)。次にそれらの介在ニューロンの活動を運動の時系列にあわせて詳細に解析した。その結果、これらのニューロンには、運動の開始時だけに活動するもの(P型)、運動を継続している際に活動するもの(T型)、またそのどちらでも活動するもの(P+T型)が存在することが分かった(図3A)。さらに、その割合をみてみ

ると多くのニューロンがP+T型を示していることが明らかになった(図3B)。これは、驚くべき結果であった。なぜなら、大脳皮質のニューロンでは、運動開始(P型)か運動継続(T型)のみで活動するものが大半ということが知られていたからである(図3C)。むしろ、このようなP+T型は、手先の筋肉の活動とよく似た特徴であった。そのため、前運動介在ニューロンは大脳皮質からの運動司令(P型やT型)を統合して、最終的な筋活動を作り出している可能性が示された。この結果から、脊髄介在ニューロンは大脳皮質からの情報を筋肉へと単純に「リレー」しているだけではなく、情報の統合や処理を行なっていると考えられる(文献 2)。これらの研究結果は、脊髄刺激によってこれらのニューロンの活性化させる事によって、把握運動の外的制御が可能になる事を強く示唆していた。

研究成果2「慢性埋め込み電極による脊髄刺激方法の開発」

本研究ではサル下位頸髄に多極アレー電極(Microprobe 社 Floating Microelectrode Array)を長期的に埋め込み、上肢運動の誘発閾値の変動を記録する事が第一の目的であった。3頭のサルに当該電極(16 極または 36 極)を埋め込み、麻酔下において定期的に電気刺激を各電極に与え、運動誘発閾値などを観察した。埋め込み後最長 285 日までの運動誘発閾値は埋め込みから2-3ヶ月後に 100 μ A から 300 μ A 程度まで平均して上昇する場合が多かったがその後は一定していた。また、脊髄浅層から深層まで刺激できる様々な長さの刺激電極を埋め込んだが、電極による刺激効果の相違は少なかった。この事は使用した刺激強度の場合、脊髄の広範囲のニューロンが直接・間接に電気刺激によって動員される事を示していた(文献 5、投稿中)。

この実験中に新たな発見があった。つまり、脊髄刺激を様々な腕の初期姿勢において行くと、初期姿勢に応じて刺激効果が変化していた(図4)。この結果は大変興味深かった。つまり、目標到達運動で実際に使われる運動実行プログラムは、手や腕の初期位置によって大きく異なる。例えば、目前にあるコーヒークップに手を伸ばすとして。コーヒークップより手が右にある場合には、手首や肘の屈筋が動員されて目標が達成される。一方、手が左にある場合は反対に伸筋が動員される必要がある。このように、運動指令(コーヒークップを掴む)は手指の初期位置(右にあるか、左にあるか)に応じて柔軟に変更される必要があるのである。

上記の結果は、この変換過程に脊髄神経回路が関連しているという仮説を支持する。そこでこの仮説を持って研究を進め、今回、麻酔下のサルの脊髄を電気刺激した際の筋に誘発される反応(誘発筋電図)が、サルの上肢の姿勢によって顕著に変化する事を発見した。この変化は上位頸髄を完全に切断した後も残存したので脊髄内の現象であり、特に手指筋に顕著であった。また、複数のコントロール実験の結果、この筋出力の姿勢依存性は、姿勢に応じた脊髄反射回路などへの求心性入力の違いによる事が明らかになった。この結果は、多数の求心神経の脊髄入力の総和によって腕の姿勢が脊髄に表現されており(姿勢の内部モデル)、それに応じて脊髄の運動出力が変化している可能性を示唆するものである。特に指においてこの姿勢依存性が大きかった事は、今後脊髄刺激を用いて指運動を制御する場合、前腕の初期位置を考慮に入れた刺激パラメタの調整が必須である事を示唆していた(矢口他、投稿中)。

研究成果3「一次求心神経活動の光遺伝学による制御技術の確立」

ラットの座骨神経または L5-DRG にウィルスベクターを用いてチャンネルロドプシン及びアーキロドプシンを発現させる事に成功した。急性実験の結果、DRG への光刺激によって脊髄における volley 電位が誘発、制御される事が確認された。異なった電動スピードを持つ複数のタイプの感覚神経が光刺激によって興奮し、その振幅と潜時は光刺激強度に依存して変化した。また、慢性留置型の光刺激プローブにおいても同様な知見が得られたので、今後覚醒行動下のラットにおいて実験を行い、reafference の操作に伴う筋活動の変化等を観察する予定である。また、サル上肢において同様の実験を行う準備を進めている。

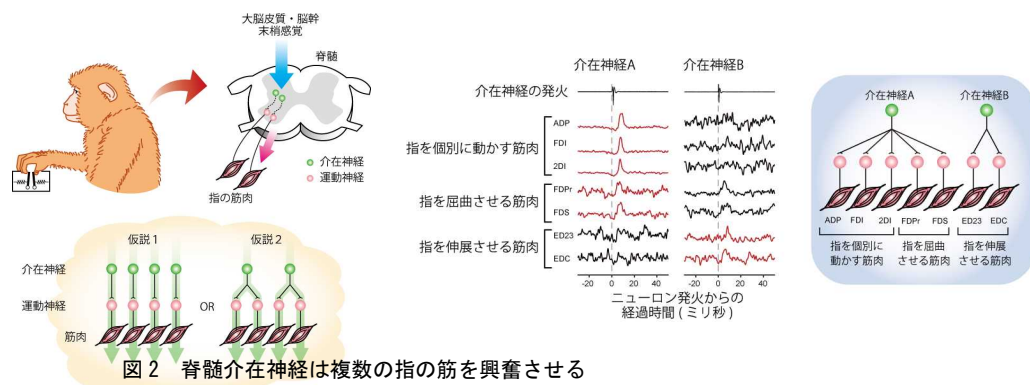
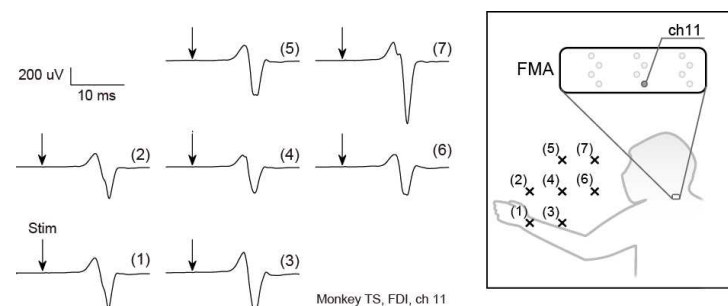
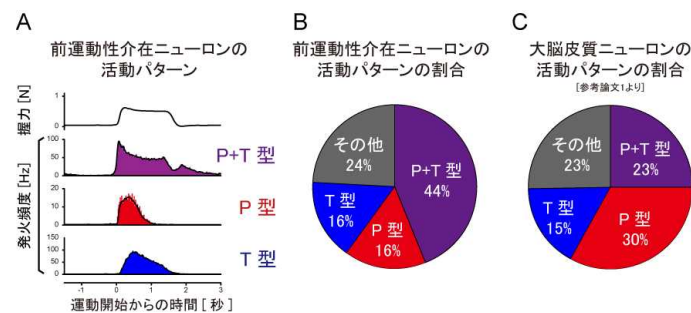


図 1 脊髄と把握運動（二つの仮説）



3. 今後の展開

研究期間の5年間で、脊髄ニューロンへの電気刺激は特に把握運動の再建に有効である事が実験的に証明された。また、脊髄埋め込み電極での把握運動の再建は技術的には確立したので、今後は実際に臨床応用に展開するための前臨床研究を開始する必要がある。特に、脊髄刺激は後角硬膜上への電極留置による痛み制御システムが既にヒトにおいて臨床応用されており、同システムを上記技術に用いる事ができないかにつき、すでに検討を始めている。また、筋シナジー形成は脊髄だけでなく脳幹や皮質など異なった領域も関わっている可能性が高く、これらへの電気刺激を併用することによって、より多様な運動が制御できるようになる。そのためには、この筋シナジーが神経系全体としてどのように生み出されているのかについてさらなる研究が必要である。上記研究成果は、この第一歩と位置づける事ができる。感覚神経情報の解読については、まず DRG や末しょう神経への多極電極留置による多チャンネル記録の技術確立を継続して行う必要がある。一方、光遺伝学により感覚神経のモダリティとそれが内包する運動駆動情報との関係性を確立すれば、多チャンネル記録を行った際解読すべき情報と求心神経の種類の関係性を用いることができ、情報解読の制御が飛躍的に進むと期待される。そして、最終的には感覚情報の解読と脊髄刺激による運動制御の組み合わせによる運動支援技術の確立に展開してゆきたい。

4. 評価

(1) 自己評価

(研究者)

採択直後に生理学研究所から国立精神・神経医療研究センターへの異動が決まり、霊長類実験セットの立ち上げなどで、研究期間前半の研究がやや停滞した。その結果、特に感覚情報の解読の部分で達成できなかった技術開発が残った事、研究成果の一部が論文化できていない点が反省点である。しかし現在継続している研究によって確立する見込みはついており、2編の論文が投稿後改訂状態にある。従って、研究目的はおおむね達成できたと評価できる。研究開始当初は脊髄介在ニューロンと把握運動制御の関係性は一般的に確立されていなかったが、最近では我々の論文を引用してそれらの関係性を言及する論文も出てきており、一定のレベルの学術的価値がある成果であったと評価できる。また、慢性電極による脊髄刺激技術は上記の通り、比較的速やかにヒトへの展開が可能な技術であるが、研究開発当初は把握運動再建に用いた試みは皆無であった。四肢麻痺患者の最も取り戻したい運動機能が「手指の運動」であるとする調査結果からも分かるように、手指運動再建は BMI 技術にとって重要な課題である。本研究の結果は、この重要なテーマに対する、基盤的知見を提供できたと評価される。まだ、実験中ではあるが、体性感覚のモダリティ特異的な操作技術が確立すれば、長年議論されてきた運動制御における末梢感覚入力の役割について決定的な証拠を提示できる可能性がある。この点で、初期の研究成果は評価できる。

さがけの脳情報領域では、異なった実験技術や知識を有する多くの若手研究者と交流する機会が与えられた。そして、領域会議での議論などで固まってきたチャレンジングな技術開発をいくつか共同研究という形で実現できた。このような萌芽的な技術の開発は生理学が背景にある私自身では発想できなかった内容である。このような領域内交流が大変円滑にでき

る領域であったので自己に対する評価とは言えないが、あえて評価すれば積極的にこのような共同研究を推進した事は評価できる。

(2) 研究総括評価(本研究課題について、研究期間中に実施された、年2回の領域会議での評価フィードバックを踏まえつつ、以下の通り、事後評価を行った)。

(研究総括)

研究進捗状況は良好であり、研究目標を達成した。脊髄損傷や脳卒中などによる運動障害は、上位中枢からの指令が遮断され、脊髄の神経回路に届かないために起こる。損傷後も何らかの手段で脊髄を駆動して運動を回復することは多くの患者が望むことであるが、そのためには、上位中枢からの駆動信号に相当する信号を確保することが必要である。本研究ではこの駆動信号を、感覚帰還信号に求め、実現に向けて歩を進めた。従来、上位中枢が運動の指令・継続に決定的役割を果たすと考えられてきたが、近年、本研究を含めて脊髄神経回路が重要な役割を果たすこと、運動により末梢の感覚受容器が刺激されるが、その感覚帰還信号には詳細な運動情報が含まれることが明らかにされてきた。実験的に感覚帰還信号を解釈し、その情報を型として用いて脊髄の神経回路を刺激する方法を開発すれば、運動そのものを制御できる。このために、サルを用いた研究により、脊髄刺激によって上肢運動を制御する技術、一次求心神経の活動記録から運動情報を解釈する技術を開発した。すなわち、第一に把握運動や到達運動で、脊髄介在ニューロンが複数の手固有筋に対して興奮性に働く事を世界で初めて見出した。この事は、脊髄が単なる中継点ではなく、筋の協調運動のセンターの1つであり、大脳皮質からの運動司令、感覚帰還信号を統合して、最終的な筋活動を作り出している可能性を示す。さらに、同じ把握運動でも初期姿勢により運動軌跡が異なることを反映し、異なった脊髄神経活動が得られることを、中枢支配を排除した標本で示した。これらの機能構造は手の把握運動に際して人工的な脊髄刺激を与える BMI システムが有効に働く事とともに、そのパラメータ設定に求心入力を考慮する必要性が高いことを意味する。第二に、多極アレー電極をサル頸髄に埋め込み約1年間にわたって比較的安定的に脊髄刺激を行い、慢性埋め込み電極による脊髄刺激方法を開発した。これは脊髄損傷や脳卒中の患者に実際にこの方法を適用するために必須の動物実験である。第三にウィルスベクターを用いて一次求心神経に光遺伝子を導入し、光刺激によって神経活動を制御する基盤技術を確認し将来への医療応用の展開のための基礎を固めた。

なお、本研究成果が評価され、新学術領域:脳内身体表現の変容機構の理解と制御に計画班代表、革新的技術による脳機能ネットワークの全容解明プロジェクト、および 臨床研究グループ:脳血管障害とパーキンソン病における脳神経回路障害とその機能回復に関わるトランスレータブル脳・行動指標の開発 機関分担研究者として採択された。

5. 主な研究成果リスト

(1) 論文(原著論文)発表

1. Puentes S., Seki K. et al. Internal capsule stroke in the common marmoset: *Neuroscience* online 2014.10.15
2. Takei T, Seki K. Spinal premotor interneurons mediate dynamic and static

motor commands for precision grip in monkeys. *Journal of Neuroscience*. 2013 33: 8850-8860.

3. Takei T, Seki K: Synaptic and functional linkages between spinal premotor interneurons and hand-muscle activity during precision grip. *Frontiers in Computational Neuroscience*. 2013 7:40.

4. Umeda T, Seki K, Sato M., Nishimura Y., Kawato M., and Isa T. Population coding of forelimb joint kinematics by peripheral afferents in monkeys., *PLoS One* 2012 7(10): e47749.

5. Jonas B Zimmermann., Seki K, Andrew Jackson.: Reanimating the arm and hand with intraspinal microstimulation. *J. Neural Eng.* 2011 8(5). 054001

6. Seki K and Fetz, EE.: Gating of Sensory Input at Spinal and Cortical Levels during Preparation and Execution of Voluntary Movement. *Journal of Neuroscience*, 2012, 32(3): 890-902

7. Takei T, Seki K: Spinal interneurons facilitate coactivation of hand muscles during a precision grip task in monkeys. *Journal of Neuroscience* 2010;30(50): 17041-50

(2)特許出願

研究期間累積件数:0 件

(3)その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

1. (国際学会発表) H. Yaguchi, D. Kowalski, T. Takei, K. Seki: Posture dependency of the twitch responses induced by intraspinal microstimulation to the primate spinal cord. Neuroscience2014, Washington D.C., USA: 20141115-20141119
2. (国際学会発表) Seki K: Subcortical control of voluntary movement. 18th Thai Neuroscience Society Conference 2014 and 2nd CU-NIPS Symposium "Frontier in Neuroscience Research" . Bangkok, Thailand: 20141221-20141223
3. (著書) 関和彦:「脊髄反射とその下降路制御」Clinical Neuroscience. Vol.31(8), 中外医学社, 903-906, 2013
4. (国際学会発表) Oya T, Takei T, Seki K: Synaptic distribution patterns of rubromotoneuronal cells onto forelimb muscles for a whole-limb movement in the macaque monkey. 23rd Annual meeting of the Neural control of Movement. Puerto Rico, USA: 20130416 - 20130420
5. (国際学会発表) Seki K., Takei T.: A neural basis for hand muscle synergy in primate spinal cord. 22nd Annual meeting of the Neural control of Movement, Venice, Italy, April 24-25, 2012
6. (学会発表) 関和彦: 随意運動の制御における脊髄神経回路の役割を再考する. 第48回日本リハビリテーション医学会学術集会, 幕張, 11.3, 2011

7. (学会発表) Seki K.: Drexel University, Spinal Control of Primate Grasping Philadelphia, PA, USA, 11. 2011.
8. (国際学会発表) Takei T., Seki K.: Neural basis for hand muscle synergy in primate spinal cord. 5th SfN Satellite Symposium on Motor Systems, Bethesda, MD, USA, P29, 11. 11, 2011.
9. (国際学会発表) Takei T., Seki K.: Neural basis for hand muscle synergy in primate spinal cord. The 41st annual meeting of the Society for the Neuroscience Washington D.C., USA, RR22/185.03, 11. 13, 2011.
10. (学会発表) 関 和彦, 武井 智彦, 矢口 博彬, 大屋 知徹: 多極アレイ電極を用いたサル頸髄神経活動の記録と電気刺激方法の確立 Application of multi-electrode arrays for recording and stimulating in the cervical spinal cord of a sedated monkey. 第 34 回日本神経科学大会, 横浜, 9. 17, 2011
11. (学会発表) 関 和彦, 武井 智彦: 把握運動の筋シナジー形成における脊髄介在ニューロンの役割 Spinal interneurons contribute to generation of muscle synergies in primate grasping. 第 34 回日本神経科学大会, 横浜, 9. 17, 2011.
12. (学会発表) 関和彦: 随意運動の制御における脊髄の役割: 反射や歩行を越えて. 第 176 回つくばブレインサイエンス・セミナー, つくば, 10. 12, 2010
13. (国際学会発表) Seki K, E.E.Fetz: Modulation of sensory responses at spinal and cortical levels during preparation and execution of voluntary movement. The 40th annual meeting of the Society for the Neuroscience, San Diego, USA, 494. 22/HHH12, 11. 15, 2010.
14. (学会発表) 関和彦: 随意運動の制御における脊髄ニューロン系の役割とその臨床的意義. 第 87 回日本生理学会大会, 盛岡, 5. 19, 2010.

研 究 報 告 書

「記憶獲得維持の分子システムの解明～記憶の消去は可能か？」

研究タイプ: 大挑戦型(※大挑戦型課題として延長有／増額有)

研究期間: 平成 21 年 10 月～平成 27 年 3 月

研 究 者: 竹本 研

1. 研究のねらい

動物が学習記憶するメカニズム、例えば 2 つの記憶が混じり合うことなく獲得・維持されるメカニズムはどのような分子システムだろうか？ BMI に代表されるリアルタイムフィードバック技術は、脳機能を解析するうえで重要な研究手法である。PET や fMRI においても解像度が数 mm であるが、様々な制御技術を併用し多彩な脳機能の解析が可能である。しかしながら従来の脳機能解析技術は相関に頼る解析が行われ、得られたデータの因果関係を立証することは困難であった。さらに脳情報の解読では、情報伝達の最小単位であるシナプスレベルで行うのが重要であるが、従来の技術では極めて困難であった。本研究ではこれを可能にする新技術を開発する。学習記憶に重要な AMPA 受容体は、シナプスに提示されることで機能を発揮する膜蛋白質である。本研究ではシナプス提示された GluA1 AMPA 受容体を光で acute に機能破壊する革新技術を開発し、「記憶の消去」を指標にした行動学的解析によって、「記憶獲得・維持のメカニズム」をシナプスレベルにおいて世界で初めて解読することを目指す。

2. 研究成果

(1)概要

本研究では2光子顕微鏡イメージングと同時に、AMPA 受容体 GluA1 を光で機能破壊する新技術の開発を行うことを目指した。CALI (Chromophore assisted-light inactivation)法は光照射依存的に活性酸素(一重項酸素)を放出する光増感剤を用いるタンパク質機能破壊法である。一重項酸素が標的タンパク質を酸化・立体構造破壊し、光照射でタンパク質の機能破壊が可能になるという技術である。放出した一重項酸素の拡散半径は数 nm であるため、目的分子の特異的な機能破壊が期待できる。申請者は、エオシンを用いた高効率に CALI を行い基盤技術の開発に成功している。本研究では、光増感物質にエオシンを採用することで、本技術の開発を進めた。

さきがけ研究期間前半では、二光子イメージングを行うために外来性に発現する GFP(SEP)-GluA1 の光操作を行うプランを進めた。そのために当初は CALI が可能な抗 GFP 抗体を見出し研究を進めたが、内在性 GluA1 は機能破壊できないことから、記憶消去効率が低くなる可能性が示唆され、外来性 GFP(SEP)-GluA1 も内在性 GluA1 も両方機能破壊できる抗体(抗 GluA1 抗体)を開発することが必要と考えた。そこで CALI 法でこれらの GluA を機能破壊するために、マウス GluA1 の細胞外ドメインを認識するモノクローナル抗体を開発した。これらモノクロ抗体を光増感剤エオシンでラベル化し、その中から CALI が可能なモノクロ抗体をスクリーニングにより見出した。私が開発した新技術は、同じシナプス局在を示す NMDA 受容体を機能破壊せず GluR1 ホモマーだけを壊す高い特異性を有し、なおかつ機能中和活性は持たない。また海馬 CA1 にラベル化抗体を注入し in vivo CALI を行い、恐怖記

憶の消去に成功した。

(2) 詳細

1. GluA1 細胞外ドメインを認識するモノクロー抗体の開発

GluA1 の細胞外ドメインをエピトープに対するモノクロー抗体を、バキュロディスプレイ法を用いて取得した(東大・浜窪教授との共同研究)。抗体価が上昇したクローンの培養上清について、まず一次スクリーニングとして、ウエスタンブロットにて海馬の内在性マウス GluA1 を認識する抗体を選択したところ、陽性クローンとして 9 クローンがヒットした。CALI で重要なことは、native(非変性)の GluA1 を生きた細胞のまま認識することである。そのために、二次スクリーニングとして、CHO 細胞に発現した GluA1 を生きたまま染色出来る抗体があるかを調べたところ、5 個の抗体が陽性であった。

2. CALI が可能なモノクロー抗体のスクリーニング

上記で得たモノクロー抗体を硫酸沈殿にて粗精製し、光増感剤エオシン(Takemoto et al. ACS.Chem.Biol. 2011)でラベル化した。CHO 細胞に GluA1 を発現しラベル化抗体を反応させ、CALI が可能な抗体をスクリーニングしたところ、一つの抗体で顕著な CALI 効果を得た。本抗体について in vivo 等での機能解析のために、ProteinA カラムで大量精製を行った。

3. 取得した抗体の in vitro における基本特性の解析

抗体の中には、標的タンパクと結合しただけでその活性を抑制する「機能中和抗体」の存在が知られている。本抗体についてその可能性を検討したが、抗体添加のみで GluA1 の活性には影響しないことがわかったため、機能中和抗体ではないことがわかった。また、海馬初代培養ニューロンにおいてシナプス性 AMPA 電流を光照射依存的に機能破壊できることがわかった。その分子特異性は、シナプス性 NMDA 電流を機能破壊しないことで確認した。さらに、CHO 細胞に GluA1-GluA3 を各種組み合わせで発現させ CALI を行ったところ、GluA1 ホモマー特異的に機能破壊できることがわかった。これは海馬初代培養ニューロンにおいても、NASPM 存在下で CALI を行った場合、その効果が観察出来ないことから、シナプスでも GluA1 ホモマー特異的に機能破壊することが分かった。GluA1 ホモマーは LTP の最初期にシナプス移行するタイプのサブユニットで、GluA2 を含む他の受容体とは異なりカルシウム透過性をもつ AMPA 受容体として知られる。また in vivo においても、様々な生理機能を持つことが分かっている。

4. in vivo CALI による恐怖記憶の消去

これまでに開発した技術を、in vivo に適用し、一度得た記憶を消去できるかを検討した。文脈的恐怖条件付け学習は、海馬の CA3-CA1 シナプスの AMPA 受容体依存的に起こる学習である。実際に GluA1 ホモマーも学習後 0.5-2hr でシナプス移行することを見出した。なお、学習成績の定量化は、明箱から暗箱に入るまでの時間の長さで行う事が出来る。マウス海馬 CA1 領域にラベル化抗体を脳定位手術で注入し、先端が CA1 直上にくるように光照射カヌーを挿入し、セメントで頭蓋骨に固定した。手術後マウスを静置し恐怖学習後、各時間に光照射

を行い、翌日に記憶が消去されたかを行動学的に解析した。学習後 0.5-2hr で光照射すると、効果的に記憶が消去できることを見出した。また、学習後 24hr では記憶は消去できなかった。これはホモマーのシナプス移行が 24hr では起こっていないことと一致する。よって in vivo においても、GluA1 ホモマー特異的に機能破壊できると示唆された。

重要なことに、学習前に光照射をしても、その後の学習には影響しないことから、新たにシナプスに運ばれる GluA1 を機能破壊することで記憶は消去されている、すなわち新しくシナプスに運ばれる GluA1 ホモマーが記憶をコードすることを見出した。また、学習後一時間で光照射後、急性スライスを作製し、光照射で GluA1 ホモマーが機能破壊されていることも確認した。ここまでの実験ではすべて光照射の翌日に行動テストを行い定量しているが、光照射直後にはもっと記憶の消去が行われている可能性がある。そこで行動テストを光照射の直後と翌日で比較したところ、両方で差は認められなかった。すなわち時間が経っても一度消えた記憶は回復しないことから、GluA1 ホモマー機能破壊による記憶消去は不可逆的に起こることが示唆された。

5. GFP(SEP)-GluA1 を用いたシナプス活性の定量化イメージング

大挑戦型研究として研究期間延長と研究費増額を援助していただけたため、現在は開発した CALI 技術を用いて、究極的にはどのシナプスに記憶がコードされているかを特定する基礎技術として発展させることを進めている。これは個々のシナプスの状態を二光子顕微鏡でモニターしつつ、光操作を行い、どのような時空間的情報を持つシナプスが記憶をコードするのか(獲得維持に働くのか)を同定する、究極の脳情報解読手法である。そのために GluA1 のシナプス移行をより安定的にモニタを行う事を計画した。ここでは pH 依存性 GFP(SEP)を GluA1 に融合し、それをニューロンに発現する実験系を導入した。AAV ウイルスでは発現がやや少なくイメージを取得しにくかったが、エレクトロポレーションで遺伝子導入し、タモキシフェンで発現誘導することで二光子イメージングに十分な量を発現できた。その基礎実験として、臨界期のマウスバレル皮質のイメージングを行い、ある遺伝子変異(未発表データのため詳細は伏せる)を持つマウスでは、臨界期が大幅に延長し、adult マウスでも GluA1 がシナプス移行をし続けることを明らかにでき、実験系の立ち上げに成功した。現在はこの実験系をマウス海馬に導入することを目指している。すなわち海馬直上の大脳皮質を除去し、脳深部におけるシナプス機能の定量的イメージングを進めている。

3. 今後の展開

まず第一に、記憶の獲得維持におけるシナプス応答の時空間構造変化を SEP-GluR1 の in vivo イメージングで解明したい。さらに開発した光照射による GluA1 の機能破壊技術と二光子顕微鏡によるイメージングを同時に行う系を確立し、上記で観察されたさまざまな時空間情報が記憶獲得維持にどのような役割を持つのか、その因果関係に迫る研究を進めたい。シナプス新生は分散型とクラスター型が知られるが、学習記憶においてはその生理的意味が注目されている。これまでの技術限界を突破しうる本研究の成果を用いれば、学習記憶に重要な神経構造の同定に、世界で初めて成功すると期待している。また、本技術を元にして他のシナプス表面分子を光で機能破壊する技術の確立にも力を入れたい。

4. 評価

(1) 自己評価

(研究者)

本研究はおおむね研究の狙い通りに進んだと考えているが、全体の研究のスピード自体は当初の考えほどあがらなかった。というのも、どの程度の性能を持つ抗体が要求されるかも含めて、in vivo で CALI を行うのに参考となる研究は世の中にはなく、前人未踏の研究であり、手探りでコツコツ研究を進める必要があったためである。そのため「大挑戦型」にぴったりの研究であると自負している。その過程で、挑戦的な研究をいかにリスクを減らしつつ確実に進めていくか？どうマネジメントするか？について5年半で多くのことを学べたと考えている。本研究は、川人先生を初め多くの研究者からアドバイスをいただき、さらに総括裁量による研究期間延長を認めて頂けたため、大挑戦的研究であっても焦ることなくじっくり研究に打ち込むことができた。また領域会議等で時間をかけて議論していただける環境は、大挑戦型の私には特に重要な時間であり、こうした研究にも多くのサポートをいただき大変感謝している。本研究は現在投稿中であるが、できるだけ速く世の中に発表し、多くの研究者が使用する技術に育てていきたい。

(2) 研究総括評価(本研究課題について、研究期間中に実施された、年2回の領域会議での評価フィードバックを踏まえつつ、以下の通り、事後評価を行った)。

(研究総括)

研究の進捗状況は良好であり、研究目標はほぼ達成された。大挑戦型の研究として、非常に挑戦的な、いわばハイリスク・ハイインパクトな課題に挑んだが、研究に精進して成果をあげ、2年間の期間延長の間にさらに研究が加速され、in vivo での研究目標を達成したことは高く評価できる。脳活動の基礎は学習により獲得された記憶である。脳内での情報伝達・記憶の最小単位はシナプスレベルにある。本研究では、記憶に関する機構をシナプスレベルで解明し、これに操作を加え、記憶を変容させる新技術開発に系統的に挑戦し、in vivo での測定を可能とした点に大きな価値がある。2光子顕微鏡と組み合わせることで、この新技術は、記憶の分子機構の解明に寄与することが期待される。学習・記憶の過程で AMPA 受容体 GluR1 は極めて重要な役割を担う。この GluR1 を光で機能破壊するため、CALI 法を用いた。この方法は光照射依存的に活性酸素を放出する光増感剤を用いるタンパク質機能破壊法である。活性酸素の拡散半径は数 nm であるため、目的分子の特異的な機能破壊が期待できる。受容体と光増感剤は特異的抗体で結合される。この新技術は、同じ細胞内局在を示す NMDA 受容体を機能破壊せず、外来性・内因性の GluR1 だけを壊す高い特異性を持つ。これらの抗体の開発は培養株細胞、初代培養神経細胞、in vivo と段階を追って改良が続けられ、in vivo で実用となる抗体の開発に成功した。なお、特許を1件出願している。

In vivo でシナプス変容を行動課題で確認する手段として、文脈的恐怖条件付け学習を用いた。この学習は、海馬の CA3-CA1 シナプスの AMPA 受容体依存的に起こる。学習成績は明箱から暗箱に入るまでの時間の長さで定量化できる。学習後 0.5-2hr で光照射すると、効果的に記憶が消去できることを見出した。また、学習後 24hr では記憶は消去できなかった。これは GluA1 ホモマーのシナプス移行が学習後 0.5-2hr で起こり、24hr では起こっていないことと一致する。学習前の光照射は、その後の学習には影響しないことから、新たにシナプスに運ばれる GluA1 を機能

破壊することで記憶は消去されることがしめされた。また、学習後1時間で光照射後、急性スライスを作製し、光照射で GluA1 ホモマーが実際に機能破壊されたことも確認した。なお、光照射直後と翌日での行動テスト結果には差がみられず、GluA1 ホモマー機能破壊による記憶消去は不可逆的であることが示唆された。

さらに開発した CALI 技術を、記憶がコードされているシナプスを特定する基礎技術として発展させる方向に歩を進めている。個々のシナプスの状態を二光子顕微鏡でモニタしつつ、光操作を行い、シナプスの持つ時空間的情報と記憶コードの関係を探索する。GluA1 のシナプス移行をより安定的にモニタするため、pH 依存性 GFP(SEP)を GluA1 に融合し、それをニューロンに発現する実験系を導入した。臨界期のマウスバレル皮質のイメージングを行い、特定の遺伝子変異を持つマウスでは、臨界期が大幅に延長し、adult マウスでも GluA1 がシナプス移行をし続けることを明らかにできた。現在はこの実験系をマウス海馬に導入することを目指している。

5. 主な研究成果リスト

(1)論文(原著論文)発表

1. Takemoto K, Matsuda T, Sakai N, Fu D, Noda M, Uchiyama S, Kotera I, Arai Y, Horiuchi M, Fukui K, Ayabe T, Inagaki F, Suzuki H, Nagai T. "SuperNova, a monomeric photosensitizing fluorescent protein for chromophore-assisted light inactivation" **Sci.Rep.**, 2013 3, 2629
2. Takemoto K, Matsuda T, McDougall M, Klaubert D, Hasegawa A, Los G, Wood K, Miyawaki A, Nagai T "Chromophore-assisted light inactivation of HaloTag fusion proteins labeled with eosin in living cells." **ACS Chem. Biol.**, 2011, 6(5):401-406
3. Jitsuki S, Takemoto K, Kawasaki T, Tada T, Takahashi A, Becamel C, Sano A, Yuzaki M, Zukin RS, Ziff EB, Kessels HW, and Takahashi T. "Serotonin mediates cross-modal reorganization of cortical circuits." **Neuron**, 2011 69(4):780-92

(2)特許出願

研究期間累積件数:1 件

(3)その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

招待講演

1. Takemoto K, Nagai T, Takahashi T
Light induced inactivation of AMPA receptors toward an artificial memory erasure
(第 90 回日本生理学会 日本神経科学学会連携シンポジウム 2013)
2. Takemoto K, Nagai T, Takahashi T "Light induced loss of function technology for AMPA receptors toward an artificial memory erasure" (International symposium, 20th Annual Meeting of Bioimaging Society, Chitose, Japan 2011)

ポスター発表

1. Optical inactivation of AMPA receptors for artificial memory erasure
Kiwamu Takemoto, Hiroko Iwanari, Takeharu Nagai, Takao Hamakubo and Takuya Takahashi (Neuro 2014, Yokohama, 2014, Sep)

研 究 報 告 書

「人工神経接続によるブレインコンピュータインターフェイス」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 平成 21 年 10 月～平成 27 年 3 月

研 究 者: 西村 幸男

1. 研究のねらい

日常生活や臨床現場で利用可能な Brain Computer Interface (BCI)環境を作り上げることは大変重要なことである。近年の BCI 研究の現状を見る限りでは、ロボットアームやコンピューターなどの大掛かりな装置を患者さんに繋ぐことによって始めて BCI 環境が整う。本研究では、患者さん自身の損傷されずに残った神経と四肢を有効利用し、神経代替装置を介して神経同士をつなぐ“人工神経接続”による closed-loop 型の BCI を目指す。いわば“人工的な神経細胞”を介した、随意制御可能な自分の神経活動を用い、自分自身を“制御し”、“感じる”ことのできる BCI の実現を目指す。はじめに、人工神経接続に利用可能で安定した生体信号について検討し、次に、人工神経接続に有効な生体信号から電気刺激への信号変換方法について人工神経接続への適応現象からの理解を目指す。最後には先に得られた知見を基にして、体内に埋め込み可能な神経機能代替装置を用いて、無拘束・自由行動下の脊髄損傷モデルでの運動機能再建を試みる。

2. 研究成果

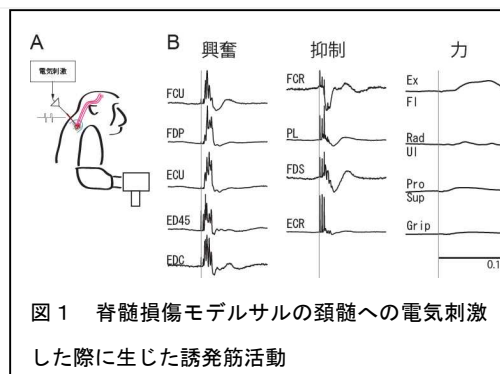
(1)概要

“人工神経接続”による運動機能再建を目的とし、随意制御可能な自分の神経活動を用い、自分自身を“制御”することのできる BCI の実現を目指し、随意制御可能な生体信号の抽出、生体情報から電気刺激への変換方法、それを用いて、脊髄損傷モデル動物とヒト脊髄損傷患者での随意歩行機能再建を行った。脊髄損傷モデルでは、脊髄と筋肉間の人工神経接続により麻痺している手の随意運動制御の再建に成功した。さらに、小型の人工神経接続装置を、無拘束・自由行動下のモデル動物に搭載し、大脳と脊髄との繋がりを強化したり、減弱させたり自在に制御することに成功した。さらに、動物実験で得られた成果をヒト脊髄損傷患者に応用し、非侵襲的な筋肉と脊髄との人工神経接続により、麻痺した下肢での随意歩行機能の再建にも成功した。

(2)詳細

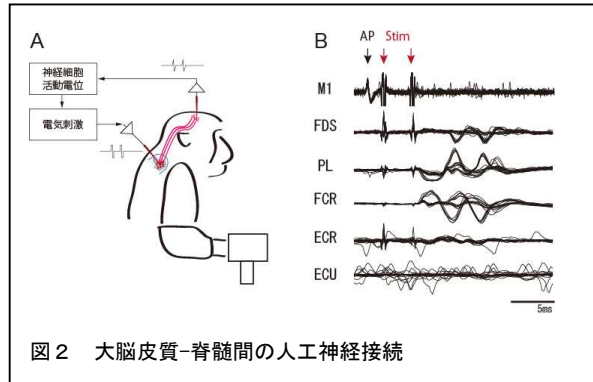
テーマA 生体情報から電気刺激への変換方法と人工神経接続に対する適応

脊髄損傷や脳梗塞による運動機能・体性感覚機能の消失は、大脳皮質と脊髄間を結ぶ下行路及び上行路が切断されているために起こる。しかしながら、損傷の上位に位置する大脳皮質と損傷の下位に位置している脊髄内神経回路、末梢神経、筋肉、骨格は、その機能を損傷後も失っていない。同様に脊髄内神経回路も脊髄損傷後、



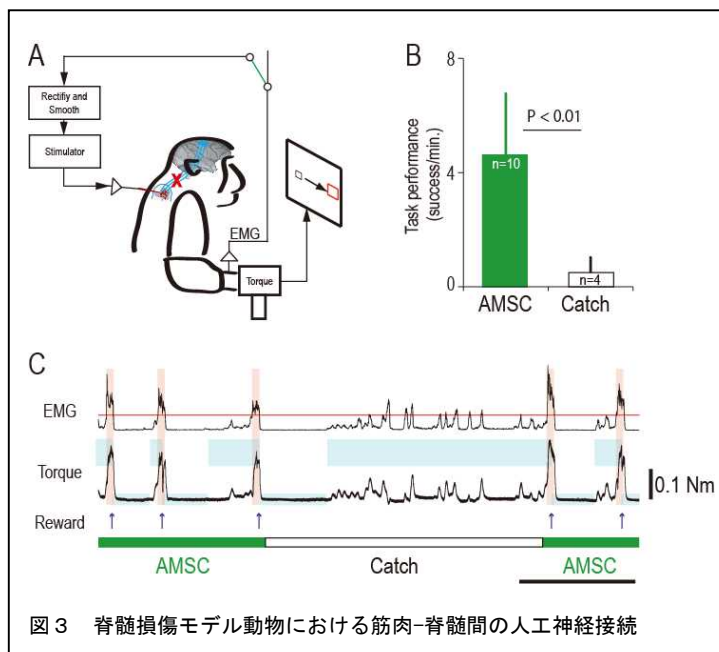
その機能を失っていないことを見いだした。図1は脊髄損傷モデル動物の頸髄膨大部に埋め込まれた一本の刺激電極より微小電気刺激をしたときに得られた誘発筋活動である。電気刺激により、複数の筋に対し非常に機能的で、似たような機能を持つ筋肉に対して同様な効果を与え、この図では伸筋群に対しては興奮効果、その拮抗筋である屈筋群に対しては抑制効果が見られる。このように、脊髄損傷後であっても、脊髄内神経回路はその機能を失っていない(Nishimura et al. 2013 論文16)。

この失った神経経路である皮質脊髄路を大脳皮質の単一神経細胞(M1 cell)と脊髄間を人工神経接続で代替し、損傷領域をバイパスできる。図2は人工皮質脊髄路をつけたサルのM1 cellと筋活動の例である。M1 cellの活動電位1発で、2発の脊髄電気刺激がなされ、それにより、複数の手の筋肉に誘発筋電図が起こっているのが見



られる(Nishimura et al. 2013 論文11)。神経活動依存的電気刺激により、脊髄損傷モデル動物はこの人工神経接続を自分の神経経路の様に、随意制御し、四肢の随意運動制御に利用する。一方で、必ずしも、入力信号が運動野の神経細胞である必要は特になく、脊髄の神経回路を随意制御することが目的であれば、随意制御可能な信号を入力信号として使えば良いことも明らかになった。長期間安定して大脳皮質から記録できる局所電位は筋活動と高い相

関が見られることを利用し、局所電位を用いて大脳皮質-脊髄間の人工神経接続を試したところ、脊髄損傷サルで麻痺筋において手の随意制御再建に成功した(論文16)。また、脳活動ではなく麻痺筋で生じている微弱な筋活動を用いて、筋-脊髄間人工神経接続による手の随意制御再建にも成功した(図3、論文16)。このように筋活動が人工神経接続に利用可能であるということは、非侵襲的に随意制御可能な信号を



抽出できることを意味する。筋活動は、頭皮から記録される脳波に比較し、大きな信号でアーチファクトに強い。また、頭皮脳波に比較して随意制御しやすいという点で有利である。

テーマB 無拘束・自由行動下での人工神経接続

人工神経接続の有効性を無拘束・自由行動下の動物モデルで小型の人工神経接続装置を

用いて検討した。自由行動下のサルにおいて、大脳皮質—脊髄間の人工神経接続によって、世界で初めて皮質脊髄路のシナプス結合を規則的に強化・減弱することに成功し、人工神経接続に3-22時間程度暴露す

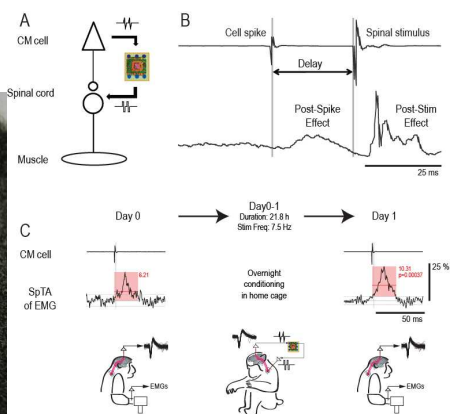
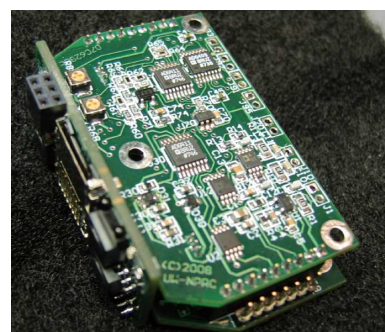


図4 無拘束・自由行動下のサルに大脳皮質—脊髄間の人工神経接続によるシナプス増強

ることにより、既存の大脳皮質—脊髄運動ニューロン間の神経経路のシナプス結合強度を自在に制御することに成功した(図4、論文11)。

テーマC ヒトへの人工神経接続の応用

人工神経接続のヒトへの応用を検討する目的で、非侵襲的な人工神経接続を健康なヒトを被験者にして検討した。胸髄レベルで脊髄損傷患者は上肢の運動機能は残存するが、上位中枢からの腰髄にある歩行中への下降入力切断されるために歩行機能が失われる。そこで、随意制御可能な上肢の筋活動を用いて、胸髄の損傷領域をバイパスすることを想定して、上肢筋肉—腰髄歩行中枢間の人工神経接続による随意歩行の再建を試みた。上肢の筋活動により、磁気刺激装置が制御され、非侵襲的に腰髄の歩行中枢を刺激した。人工神経接続によって、歩行運動の開始、停止、歩行リズムの変調が可能であった(図5、論文4)。

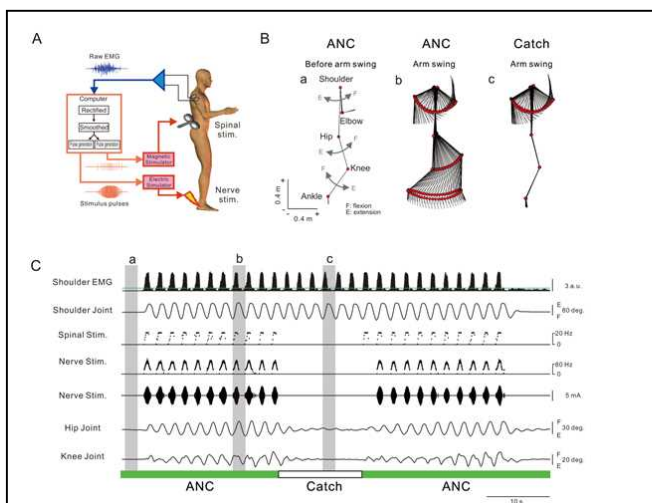


図5 上肢筋肉—腰髄歩行中枢間の人工神経接続による随意歩行の再建

以上のように、モデル動物では侵襲的な方法で、ヒトでは非侵襲的な方法で、人工神経接続に利用可能な生体信号を抽出し、それを用いて生体情報から電気刺激への変換し、様々な神経結合様式を用いて、人工神経接続による麻痺肢の随意運動制御の再建に成功した。

3. 今後の展開

人工神経接続の安全性を十分に検討し、脊髄損傷患者や脳梗塞患者で臨床研究を重ね、運動麻痺患者に対する革新的な機能再建法・リハビリテーション法を確立する。

4. 評価

(1) 自己評価

(研究者)

米国でさががけ研究がスタートし、日本に帰国して、研究室の立ち上げた0からのスタートであったが、当初計画していた以上に成果が飛躍的に出た5年間であった。当初は脊髄損傷モデル動物で人工神経接続の有効性を検証することを最終目標としていたが、実際には3年目で達成した。この成果はロボットアームなどに頼らない、人工神経接続による麻痺した自分の手の随意運動機能を再建した世界で初めての成功した例となった。また、当初計画にはなかったヒトでの人工神経接続の有効性の実証、更にはヒトの脊髄損傷患者で非侵襲的な人工神経接続を用いて、随意歩行機能再建に成功したことは自分でもここまで達成できるとは思っていなかった。この人工神経接続は、これまで不治の病とされていた中枢神経障害の機能再建・機能回復に対する革新的な治療法になることを示すことが出来た。これも一重に JST・さががけによる支援のたまものである。今後も、人工神経接続のさらなる進展、臨床応用に向けて邁進するために JST、経産省或いは厚労省からのサポートを期待する。

(2) 研究総括評価(本研究課題について、研究期間中に実施された、年2回の領域会議での評価フィードバックを踏まえつつ、以下の通り、事後評価を行った)。

(研究総括)

研究進捗状況は質・量ともに良好で、当初の研究目標を達成し、さらに研究を進展させている。本研究では、患者さん自身の損傷されずに残った神経と四肢を有効利用し、神経代替装置を介して神経同士をつなぐ“人工神経接続”による閉ループ型の BMI 技術、すなわち“人工的な神経細胞”を介した、随意制御可能な自分の神経活動を用い、自分自身を“制御し”、“感じる”ことのできる BMI の実現を目指した。はじめに、人工神経接続に利用可能で安定した生体信号について検討し、次に、人工神経接続に有効な生体信号から電気刺激への信号変換方法について人工神経接続への適応現象から理解し、最後には先に得られた知見を基にして、体内に埋め込み可能な神経機能代替装置を用いて、無拘束・自由行動下の脊髄損傷モデルでの運動機能再建を試みた。

“人工神経接続”による運動機能再建を目的とし、随意制御可能な自分の神経活動を用い、自分自身を“制御”することのできる BCI の実現を目指し、随意制御可能な生体信号の抽出、生体情報から電気刺激への変換方法、それを用いて、脊髄損傷モデル動物とヒト脊髄損傷患者での随意歩行機能再建を行った。脊髄損傷モデルでは、脊髄と筋肉間の人工神経接続により麻痺している手の随意運動制御の再建に成功した。さらに、小型の人工神経接続装置を、無拘束・自由行動下のモデル動物に搭載し、大脳と脊髄との繋がりを強化したり、減弱させたり自在に制御することに成功した。さらに、動物実験で得られた成果をヒト脊髄損傷患者に応用し、健常な上肢の筋電図を用いた非侵襲的な筋—脊髄間の人工神経接続により、麻

痺した下肢での随意歩行機能の再建にも成功した。

Innovative Technologies 2013 特別賞(Human 部門)、平成 24 年度科学技術分野の文部科学大臣表彰若手科学者賞、第 13 回 日本生理学会奨励賞 (平成 23 年度)、平成 22 年度日本神経科学学会奨励賞を受賞した。

本研究成果が評価され、1)第一期脳プロ(H22-24)、2)第二期脳プロ(H25-29)3)新学術質感脳情報学(H25-26)(公募班)に採択された。また、スポーツ脳科学集会を開催した(H27、1 月)。

5. 主な研究成果リスト

•Sasada S, Kato K, Kadowaki S, Groiss SJ, Ugawa Y, Komiyama T, Nishimura Y. Volitional Walking via Upper Limb Muscle-Controlled Stimulation of the Lumbar Locomotor Center in Man. *J Neurosci*. 2014 Aug 13; 34(33):11131-42. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4674-13.

•Nishimura Y, Perlmuter SI, Ryan WE, Fetz EE. Spike-timing dependent plasticity in primate corticospinal connections induced during free behavior. *Neuron*. 2013 Dec 4; 80(5):1301-9. doi: 10.1016/j.neuron.2013.08.028. 16.

•Nishimura Y, Perlmuter SI, Fetz EE. Restoration of upper limb movement via artificial corticospinal and musculoskeletal connections in a monkey with spinal cord injury. *Front Neural Circuits*. 2013 Apr 11; 7:57. doi: 10.3389/fncir.2013.00057.

•Nishimura Y, Onoe H, Onoe K, Morichika Y, Tsukada H, Isa T. Neural substrates for the motivational regulation of motor recovery after spinal-cord injury. *PLoS One*. 2011; 6(9):e24854. doi: 10.1371/journal.pone.0024854.

(1)論文(原著論文)発表

1. Murata Y, Higo N, Hayashi T, Nishimura Y, Sugiyama Y, Oishi T, Tsukada H, Isa T, Onoe H. Temporal plasticity involved in recovery from manual dexterity deficit after motor cortex lesion in macaque monkeys. *J Neurosci*. 2015 Jan 7;35(1):84-95. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1737-14.2015.
2. Soichiro Morishita, Keita Sato, Hidenori Watanabe, Yukio Nishimura, Tadashi Isa, Ryu Kato, Tatsuhiro Nakamura and Hiroshi Yokoi. Brain-machine interface to control a prosthetic arm with monkey ECoGs during periodic movements. *Front. Neurosci.*, 12 December 2014 | doi: 10.3389/fnins.2014.00417
3. Umeda T, Isa T and Nishimura Y. Proprioceptive information coded by populational sensory afferents. *J Phys Fitness Sports Med*, 2014 3(5):477-482. DOI:10.7600/jpfs.3.477.
4. Sasada S, Kato K, Kadowaki S, Groiss SJ, Ugawa Y, Komiyama T, Nishimura Y. Volitional Walking via Upper Limb Muscle-Controlled Stimulation of the Lumbar Locomotor Center in Man. *J Neurosci*. 2014 Aug 13; 34(33):11131-42. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4674-13.
5. Watanabe H, Sakatani T, Suzuki T, Sato MA, Nishimura Y, Nambu A, Kawato M, Isa T. Reconstruction of intracortical whisker-evoked local field potential from electrocorticogram using a model trained for spontaneous activity in the rat barrel cortex. *Neurosci Res*. 2014

Jul 7; pii: S0168-0102(14)00121-7.

6. Umeda T, Watanabe H, Sato M, Kawato M, Isa T, Nishimura Y. Decoding of the spike timing of primary afferents during voluntary arm movements in monkeys. *Front. Neurosci.*, 2014 May 09; doi: 10.3389/fnins.2014.00097.
7. Chen C, Shin D, Watanabe H, Nakanishi Y, Kambara H, Yoshimura N, Nambu A, Isa T, Nishimura Y, Koike Y. Decoding grasp force profile from electrocorticography signals in non-human primate sensorimotor cortex. *Neurosci Res.* 2014 Apr 13; pii: S0168-0102(14)00047-9. doi: 10.1016/j.neures.2014.03.010
8. Isa T, Nishimura Y. Plasticity for recovery after partial spinal cord injury –hierarchical organization. *Neurosci Res.* 2014 Jan; 78:3–8.
9. 澤田真寛,加藤健治,尾上浩隆,伊佐 正,西村幸男“脊髓損傷からの回復期における側坐核の役割”*脊髓外科* Vol.28 No.1:77–79, 2014.
10. Chen C, Shin D, Watanabe H, Nakanishi Y, Kambara H, Yoshimura N, Nambu A, Isa T, Nishimura Y, Koike Y. Prediction of hand trajectory from electrocorticography signals in primary motor cortex. *PLoS One.* 2013 Dec 27; 8(12):e83534.
11. Nishimura Y, Perlmuter SI, Ryan WE, Fetz EE. Spike-timing dependent plasticity in primate corticospinal connections induced during free behavior. *Neuron.* 2013 Dec 4; 80(5):1301–9. doi: 10.1016/j.neuron.2013.08.028.
12. Isa T, Kinoshita M, Nishimura Y. Role of Direct vs. Indirect Pathways from the Motor Cortex to Spinal Motoneurons in the Control of Hand Dexterity. *Front Neurol.* 2013 Nov 19; 4:191.
13. Yamamoto T, Oishi T, Higo N, Murayama S, Sato A, Takashima I, Sugiyama Y, Nishimura Y, Murata Y, Yoshino-Saito K, Isa T, Kojima T. Differential expression of secreted phosphoprotein 1 in the motor cortex among primate species and during postnatal development and functional recovery. *PLoS One.* 2013 May 31; 8(5):e65701. doi:10.1371/journal.pone.0065701.
14. Sugiyama Y, Higo N, Yoshino-Saito K, Murata Y, Nishimura Y, Oishi T, Isa T. Effects of early versus late rehabilitative training on manual dexterity after corticospinal tract lesion in macaque monkeys. *J Neurophysiol.* 2013 Jun; 109(12):2853–65.
15. Yamamoto T, Oishi T, Higo N, Murayama S, Sato A, Takashima I, Sugiyama Y, Nishimura Y, Murata Y, Yoshino-Saito K, Isa T, Kojima T. Differential expression of secreted phosphoprotein 1 in the motor cortex among primate species and during postnatal development and functional recovery. *PLoS One.* 2013 May 31; 8(5):e65701. doi: 10.1371/journal.pone.0065701.
16. Nishimura Y, Perlmuter SI, Fetz EE. Restoration of upper limb movement via artificial corticospinal and musculoskeletal connections in a monkey with spinal cord injury. *Front Neural Circuits.* 2013 Apr 11; 7:57. doi: 10.3389/fncir.2013.00057.
17. Kojima T, Higo N, Sato A, Oishi T, Nishimura Y, Yamamoto T, Murata Y, Yoshino-Saito K, Onoe H, Isa T. Functional annotation of genes differentially expressed between primary motor and prefrontal association cortices of macaque brain. *Neurochem Res.* 2013 Jan; 38(1):133–40. doi: 10.1007/s11064-012-0900-4.

18. 佐藤圭太, 森下壮一郎, 渡辺秀典, 西村幸男, 加藤龍, 伊佐正, 横井浩史. “硬膜下電位からのサル捕食運動中の状態判別とロボットアーム動作決定.” 日本ロボット学会誌, Vol. 31, Issue 1, 51–59, doi: 10.7210/jrsj.31.51, February 17, 2013.
19. Umeda T, Seki K, Sato MA, Nishimura Y, Kawato M, Isa T. Population coding of forelimb joint kinematics by peripheral afferents in monkeys. *PLoS One*. 2012; 7(10):e47749. doi: 10.1371/journal.pone.0047749.
20. Nishimura Y, Isa T. Cortical and subcortical compensatory mechanisms after spinal cord injury in monkeys. *Exp Neurol*. 2012 May; 235(1):152–61. doi: 10.1016/j.expneurol.2011.08.013.
21. Shin D, Watanabe H, Kambara H, Nambu A, Isa T, Nishimura Y, Koike Y. Prediction of muscle activities from electrocorticograms in primary motor cortex of primates. *PLoS One*. 2012; 7(10):e47992. doi: 10.1371/journal.pone.0047992.
22. Kinoshita M, Matsui R, Kato S, Hasegawa T, Kasahara H, Isa K, Watakabe A, Yamamori T, Nishimura Y, Alstermark B, Watanabe D, Kobayashi K, Isa T. Genetic dissection of the circuit for hand dexterity in primates. *Nature*. 2012 Jul 12; 487(7406):235–8.
23. Watanabe H, Sato MA, Suzuki T, Nambu A, Nishimura Y, Kawato M, Isa T. Reconstruction of movement-related intracortical activity from micro-electrocorticogram array signals in monkey primary motor cortex. *J Neural Eng*. 2012 Jun; 9(3):036006. doi: 10.1088/1741-2560/9/3/036006.
24. Nishimura Y, Isa T. Cortical and subcortical compensatory mechanisms after spinal cord injury in monkeys. *Exp Neurol*. 2012 May; 235(1):152–61. doi: 10.1016/j.expneurol.2011.08.013.
25. Nishimura Y, Onoe H, Onoe K, Morichika Y, Tsukada H, Isa T. Neural substrates for the motivational regulation of motor recovery after spinal-cord injury. *PLoS One*. 2011; 6(9):e24854. doi: 10.1371/journal.pone.0024854.
26. Alstermark B, Pettersson LG, Nishimura Y, Yoshino-Saito K, Tsuboi F, Takahashi M, Isa T. Motor command for precision grip in the macaque monkey can be mediated by spinal interneurons. *J Neurophysiol*. 2011 Jul; 106(1):122–6.
27. Yamamoto T, Higo N, Sato A, Nishimura Y, Oishi T, Murata Y, Yoshino-Saito K, Isa T, Kojima T. SPP1 expression in spinal motor neurons of the macaque monkey. *Neurosci Res*. 2011 Jan; 69(1):81–6. doi: 10.1016/j.neures.2010.09.010.

(2)特許出願

研究期間累積件数: 1 件

(3)その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

受賞

- ・日本神経科学学会奨励賞(2010 年 9 月)
- ・日本生理学会奨励賞(2011、3 月)
- ・文部科学大臣表彰・若手科学者賞(2012、4 月)
- ・経済産業省 Innovative Technologies 2013 特別賞 (2013、11 月)



日本語総説

1. 加藤健治,西村幸男”脳と脊髄との神経結合を人工的に強化する.” BRAIN and NERVE.66(12):1481-1486,2014.
2. 西村幸男.”再生・再建の工夫 人工神経接続による神経補綴.” JOHNS, 2014 October Vol.30 No.10;1483-1487
3. 澤田真寛,加藤健治,尾上浩隆,伊佐 正,西村幸男“脊髄損傷からの回復期における側坐核の役割”脊髄外科 Vol.28 No.1:77-79, 2014.
4. 西村幸男,伊佐 正.”大脳皮質と筋肉での振動性活動から脊髄損傷からの機能回復をみる”Clinical Neuroscience,Vol.32 No.7:773-776, 2014
5. 西村幸男 “脊髄神経回路への人工神経接続による随意運動機能の再建.” 医学のあゆみ, Vol.246, No.8: 582-587, August 24, 2013.
6. 西村幸男 “人工神経接続による運動機能再建.” 脳 21, Vol.16, No.1: 30-36, January 20, 2013.
7. 西村幸男 “神経活動依存的刺激による機能再建と神経可塑性の誘導.” 神経内科, 題 79 巻, 第 4 号:500-504, October 25, 2013.
8. 西村幸男,伊佐正.”脊髄損傷の回復機構.” 神経, Annual Review, 2011:1-9, January 25, 2011.

プレスリリース

新聞記事

2014 年 8 月 19 日 毎日新聞 腕の動き刺激に変換⇒足動く 生理研発表 下半身まひでも歩ける可能性

2014 年 8 月 15 日 読売新聞 腕振ると脚動く 脳の指令読み取り成功

2014 年 8 月 15 日 東海愛知 脊椎損傷者に光 人工神経回路で歩行機能再建へ 腕の筋肉の電気信号活用

2014 年 8 月 14 日 日本経済タ刊 腕の振りで脚動かす 歩行機能回復に道

2014 年 8 月 14 日 中日タ刊 腕振り信号 脚動かす 脊椎損傷でも歩行可能へ

2014 年 8 月 14 日 朝日タ刊 手の信号、足を動かす 脊椎損傷治療へ人工回路

2013 年 12 月 13 日 日経産業 脳信号解読研究が加速 医療やリハビリに活用

2013 年 12 月 13 日 科学新聞 脳と脊髄のつながり 神経接続装置で強化 「世界初」生理研など成功

2013 年 11 月 19 日 読売新聞 大脳と脊髄 神経結合の強化成功 生理学研サル実験 リハビリに応用期待

2013 年 11 月 8 日 朝日タ刊 脳と脊髄結ぶ神経を増幅 生理学研 身体機能回復に光

2013 年 11 月 8 日 毎日タ刊 大脳と脊髄 人工的に神経強化 まひ患者機能再建も 生理研サルで成功

2013 年 11 月 8 日 東海愛知 脳と関心のつながり強化に成功 生理研・西村准教授ら

2013 年 11 月 8 日 日刊工業新聞 脳指令で脊髄に電気信号 生理研 小型の神経接続装置を開発

2013 年 11 月 8 日 中日新聞 大脳と脊髄つなぐ 人工回路で神経を強化
2013 年 11 月 8 日 共同通信 電子回路でまひ手足回復も 愛知の研究所、米誌に発表

2013 年 8 月 29 日 読売東京版 駆ける 西村幸男氏 脳と神経を人工接続
2013 年 5 月 3 日 科学新聞 脊髄損傷部位をバイパス サルの手の機能回復に成功ー
生理研など人工神経接続技術開発ー
2013 年 4 月 12 日 読売新聞 電子回路で神経接続 脊髄損傷サル 手を動かせた 生
理学研究所
2013 年 4 月 12 日 日本経済新聞 脊髄損傷の治療 サルで実験成功 生理学研究所な
ど
2013 年 4 月 12 日 日刊工業新聞 脊髄神経を人工接続 自然科学研究機構 外部コン
ピュータ介し
2013 年 4 月 12 日 東海愛知 「人工神経」で運動機能回復へ 岡崎・生理研の西村准教
授ら研究
2013 年 4 月 11 日 毎日新聞 脊髄損傷でも手動く！ 生理学研、サルで技術開発
2013 年 4 月 11 日 朝日新聞 脊髄損傷部迂回し信号 岡崎の生理学研 サルで実験
不自由な手足の治療に応用も
2013 年 4 月 11 日 中日新聞 脳と損傷脊髄 接続成功 まひしたサル動いた 岡崎・生
理研が開発
2012 年 12 月 16 日 日本経済新聞 SUNDAY NIKKEI やる気脳の働き解明へ 我慢強さ
もつかさどる
2012 年 6 月 8 日 科学新聞 脳内部の神経活動をやさしく正確に推定 脳表面に電極シ
ートを貼るだけ 生理研
2012 年 4 月 20 日 科学新聞 平成 24 年度科学技術分野の文部科学大臣表彰 若手科
学者賞受賞者
2011 年 10 月 21 日 科学新聞 やる気だとリハビリ効果アップ 科学的に証明 大脳辺
縁系の活動度高まる 生理研など成果
2011 年 10 月 5 日 日経産業新聞 元気・やる気 気持ちが一役 リハビリでの運動機能
回復 神経回路新生、サルで実証
2011 年 10 月 4 日 中日新聞 「やる気」の向上 リハビリに効果 岡崎・生理研など実験
2011 年 9 月 30 日 日刊工業新聞 モチベーションがリハビリ効果に関与 脳科学的に証
明 生理学研など
2011 年 9 月 29 日 読売大阪版 やる気リハビリ効果アップ 自然科学研、サルで証明
2011 年 9 月 29 日 産経新聞 「やる気」リハビリ効果 脳科学的に解明 理研など
2009 年 2 月 6 日 科学新聞 脊髄損傷からの機能回復 指の筋肉活動が手助け

メディア

2014 年 8 月 27 日 CBC ラジオ 丹野みどりの よりどりっ！
2013 年 4 月 11 日 CBC テレビ 傷ついた脊髄を人工的につないで手を自在に動かす
「人工神経接続」技術を開発



2013 年 4 月 12 日 NHK テレビ 傷ついた脊髄を人工的につないで手を自在に動かす
「人工神経接続」技術を開発

研究報告書

「ショウジョウバエ脳において聴覚情報処理を行う神経基盤の解明」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 平成 23 年 4 月～平成 26 年 9 月

研究者: 上川内 あづさ

1. 研究のねらい

ブレインマシンインタフェースを実用化するには、脳が今、どういう情報をどのように処理してどういった結論を出しているのかを、なるべく高い解像度で外部から知る必要がある。例えば音認識においては、脳のどの領域が、どのように反応した時に、脳が音をどのように知覚しているかを読み解かなければならない。これにより、脳活動を外部から観測することで、脳が音をどのように理解しているのかを検出できるような解読装置の設計も可能になる。このような研究を進めるための優れたモデル系として、本研究はショウジョウバエの聴覚系に着目した。

多くの動物で、「音」は外界環境を知るための重要な感覚刺激である。聴覚系は、音情報を処理するシステムであり、物理的には単なる空気振動である「音」から、種に固有の意味を抽出する情報処理装置として捉えられる。この情報処理の様式を、システムを構成する素子である神経細胞群やそれらが連なった神経回路の活動様式として読み取ることを可能にするための基盤を整備することを、本研究のねらいとした。

動物の脳の内部にある聴覚神経回路は、雑多な空気振動の中から、有用な振動成分だけを選別してパターン抽出などの情報処理を行い、特定の意味を抽出している。よって、「脳が音をどう知覚しているか」を解読するためにはまず、音受容器から脳の高次処理領域に至る聴覚神経回路の全貌を単一細胞レベルで同定し、それぞれの神経回路で行われる情報処理を解明して情報の符号化様式の全体像を理解する必要がある。

ショウジョウバエは、脳の神経細胞数が片半球数万個と少なく、特定の細胞の機能だけを操作する分子遺伝学的手法が整備されている。また、羽音を使って同種間でコミュニケーションを行う。オスは、求愛時に、「求愛歌」と呼ばれる、種に固有の音パターンを持つ羽音を奏でてメスにアピールするのである。これらの特徴から、ショウジョウバエは、音情報処理システムを構成する聴覚神経回路の精密な構造機能相関地図を作成する為の理想的なモデル生物である。

本研究者はこれまで、このような実験上の利点を持つショウジョウバエに着目して、低次聴覚神経が形成する全神経回路の研究を進めてきた。これを発展させて、本研究では、低次から高次に至る聴覚神経の同定解析を行うことで、聴覚情報の符号化と情報処理様式を解明し、ショウジョウバエを用いた脳情報解読制御技術の実用化に向けた基盤を整備した。

2. 研究成果

(1) 概要

キイロショウジョウバエのオスが示す、求愛歌音刺激に依存した特徴的な行動(聴覚行動)は、脳内で実行される音情報処理の結果を反映した出力を評価するための優れた指標と

して使われてきた。実際、キイロショウジョウバエが示す聴覚行動を評価することで、聴覚システムの内部構造を推定することができる。しかしその解析は煩雑であり、大規模解析を阻む主要因であった。そこでまず私は、画像解析の手法を利用して自動的に定量するソフトウェアの開発を行った(Yoon et al, 2013)。ハエの身体を楕円近似し、長軸先端部の円形物を頭部として認識するようなアルゴリズムを作成し、複数個体間における相互作用を2個体間の身体と頭部の間の距離として判別できるようにした。これにより、体系的に作成したショウジョウバエ変異体の示す聴覚行動を効率的に解析できるようになった。これを用いて、キイロショウジョウバエ、ならびにその近縁種であるオナジショウジョウバエの聴覚行動を定量的に解析した。その結果、それぞれの種は固有の時間パターンを持つパルス音に対して特徴的な応答を示すことがわかった。

次に、高次聴覚神経回路の構造を解明するための第一段階として、ショウジョウバエの触角基部にある「耳」に内在する機能未知の感覚神経細胞サブグループの応答性の解明に取り組んだ。これまでに発見されている5種類のサブグループのうち、「細胞群 D」と呼ばれる神経細胞集団が、どのような刺激に応答するのかを、カルシウムイメージング法を用いて解析した。その結果、これらの感覚神経細胞は、音刺激によって引き起こされる受容器の振動に強く応答し、特に 200Hz 程度の中域周波数の振動に選択性を持つことがわかった。この応答性は、これまでに私が解明してきた、他の4種類のサブグループの応答性とは異なる特徴的な性質であり、ショウジョウバエの脳はこれら5種類のサブグループの応答様式の組み合わせとして、触角受容器の動き方を計算できることが示された(Matsuo, Yamada et al, 2014)。これは、ショウジョウバエが外界の環境を知覚する初期段階として、音刺激を含めた空気の振動や流れを、脳内部の5次元空間上に表現できる、ということを意味する。本発見により、これら細胞群の応答を解析することでショウジョウバエが感じているそれらの刺激の種類を解読できるようになった。

(2) 詳細

研究テーマ A 「聴覚行動解析の自動化ツールの開発と応用」

キイロショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*) をはじめとしたショウジョウバエの多くの種類で、オスは「求愛歌」と呼ばれる羽音を使ってメスに求愛することが知られる。この求愛歌を構成する音は種に固有の周波数や時間パターンを持ち、特にパルス音の時間間隔が性的隔離の一端を担うと考えられている。これまでの研究から、同種の求愛歌を模したパルス音をオスの集団に聞かせると、互いに追いかけて隊列を形成することがわかっている。この隊列形成は、特定の音に反応した定型的な応答行動であり、それぞれのショウジョウバエ内部で実行された音の知覚および評価を反映した行動出力として捉えることができる。よって、入力と行動出力との相関関係、ならびにシステム内部に摂動を与えた場合の影響を詳細解析することで、システムの内部構造を推定できると予想される。

そこで本研究ではまず、キイロショウジョウバエが示す聴覚行動を自動で解析するツールの作成に取り組んだ。従来使われている方法は、動画を目視で観察し、隊列に参加しているショウジョウバエ個体の数を手動で数える、というものであった。これは動画一つを解析するのに4時間かかる、といった非常に煩雑な方法であり、大規模解析には不向きであった。本研究では、隊列を形成する個体の数を画像認識手法により自動解析するアルゴリズム「ChalN」

を作成した。このアルゴリズムは主に、(1)動画をフレームに分割し、各画像におけるショウジョウバエの位置と頭の向きを画像解析により決定、(2)各個体の頭部を中心とした「隊列範囲」を定義し、他個体の身体がその範囲に含まれるかを決定、(3)各フレームの隊列参加個体数を csv ファイルに出力、という3段階の過程から構成される。Chain を用いて聴覚行動を解析した結果、目視での解析とほぼ同じ結果が得られ、その有効性が確認された。

次に、パルス音刺激から聴覚行動出力までの情報処理の特性を調べるため、キイロショウジョウバエ、及びオナジショウジョウバエ (*Drosophila simulans*) を用いた聴覚行動解析を行った。これらは近縁種であり、それぞれ求愛歌に含まれるパルス音の平均パルス間隔が 35 ミリ秒、55 ミリ秒であることが知られている。これらを含む様々な時間パターンで作成した人工パルス音を刺激として用いてオスの隊列行動を計測し、Chain ソフトウェアで定量解析した。その結果、キイロショウジョウバエは種に固有の時間パターンを含む音に選択的に応答行動を示したのに対して、オナジショウジョウバエの選択性は低く、多様なパルス音に応答することがわかった。キイロショウジョウバエの聴覚系には、特定のパルス間隔の音刺激を選別するバンドパスフィルターが内蔵されていると考えられる。なお、Chain ソフトウェアは以下のサイトからダウンロード可能である (<http://jfly.iam.u-tokyo.ac.jp/chain/>)。

研究テーマ B 「新たな聴感覚細胞群の同定と特性解析」

ショウジョウバエは、触角にある感覚器で音を受け取ることが知られている。この触角感覚器はショウジョウバエの「耳」とも呼ばれ、音の他にも、重力や風の情報を受け取ることがわかっている。触角感覚器の内部には5種類の感覚神経細胞群が存在し、細胞群 A, B は音を、細胞群 C, E は重力と風の刺激に選択的に応答し、情報を脳に伝えることがわかっている (Kamikouchi et al, 2009; Yorozu et al, 2009)。しかし残る細胞群 D については、細胞数が少なく解析が困難、という理由により、その応答特性は不明なままであった。

そこで私は、ショウジョウバエにおいて高次聴覚神経回路の構造を解明するための第一段階として、ショウジョウバエの触角基部にある「耳」に内在する、この機能未知の細胞群 D の応答性の解明に取り組んだ。細胞群 D を選択的に標識するショウジョウバエシステムを利用して、カルシウム濃度に応じて蛍光強度が変化する GCaMP3 (Tian et al, 2009) を細胞群 D に発現させ、脳内部に投射する軸索部分から応答性を計測する、という実験系を独自に構築した。刺激については、触角感覚器を自在に動かすため、静電気を用いた触角駆動法 (Albert et al, 2007) を応用した。その結果、細胞群 D は音刺激を模した触角受容器の振動に対しては強く応答するが、重力や風の刺激を模した触角受容器の持続的な位置変化へはあまり応答しないことがわかった。次に振動応答性を詳細に解析したところ、ショウジョウバエの求愛歌や羽音の主成分である 100 Hz から 200 Hz あたりの振動に応答性のピークを持つことがわかった。同様に振動応答細胞である細胞群 A, B はそれぞれ、100 Hz 未満の振動、100 Hz 以上の振動に強く応答することがわかっている。また、持続的な位置変化に応答する細胞群 C, E はそれぞれ前方への変位、後方への変位の受容を担う。よって、細胞群 D は、他の4種類の細胞群の応答性とは異なる特徴的な応答性を持ち、ショウジョウバエの脳はこれら5種類の細胞群の応答様式の組み合わせとして、触角受容器の動き方を計算できることが示された (Matsuo, Yamada et al, 2014)。このことは、ショウジョウバエが外界の環境を知覚する初期段階として、音刺激を含めた空気の振動や流れを、脳内部の5次元空間上に表現できる、という

ことを意味している。本研究の成果により、これらの細胞群の応答を解析することで、音の高さや重力や風の向きなど、ショウジョウバエが感じているこれら刺激の種類を解読できるようになった。

3. 今後の展開

本研究の成果により、ショウジョウバエがどのような周波数域の音を受容しているのかが、脳内部の神経活動を測定することにより解読可能になった。また、聴覚行動解析の結果から、ショウジョウバエの脳内では、特定のパルス間隔の音刺激を選別するバンドパスフィルターが内蔵されていることが推測された。そこで今後は、ショウジョウバエが受容した音のパラメータ、特にショウジョウバエにとって重要な意味を持つパルス間隔をどのように知覚して評価しているのか、その神経回路基盤の解明を進める。これまでに同定した高次聴覚神経細胞群が形成する神経回路が、その基盤を担うと予想される。よって、それら細胞群の応答特性や神経回路機能の解明を進めることで脳が音を評価する情報処理機構を理解し、外部からの応答性測定により解読できるようにする。

4. 評価

(1) 自己評価 (研究者)

本研究では、音の情報が、神経細胞群やそれらが構成する神経回路の活動様式としてどのように脳内表現されているのかを解明することを目指した。そのための第一段階として、研究テーマ A では、音の受容器から脳に至る神経経路を形成する一次神経細胞として機能する感覚細胞のうち、性質が不明であった細胞群 D の応答特性を解明した。その結果、細胞群 D はこれまでに解析されている他の細胞群 A, B, C, E と異なり、ショウジョウバエの求愛歌や羽音の主成分である 100 Hz から 200 Hz あたりの振動に応答性のピークを持つことを発見した。これにより、これまでに本研究者が発見している、他の4種類の細胞群の応答特性と合わせて、ショウジョウバエは、音刺激を含めた空気の振動や流れ、といった外界からの刺激を脳内部の5次元空間上に神経活動地図として表現できる、ということを示すことができた。またこの発見により、全聴感覚細胞の応答特性が明らかになった。これを足がかりとして、各細胞群の下流の神経回路の解析も順調に進んでおり、音情報処理の動作原理の理解につながる結果だと評価している。また、研究テーマ B では、音情報処理システムの内部構造を推定するために行動実験を利用する、という発想の元、聴覚行動を解析する自動化ツール作成を検討した。その結果、これまで膨大な時間がかかっていた手動解析と同精度の結果を自動算出できるソフトウェア ChaIN の作成に成功し、公開した。ショウジョウバエを用いた聴覚システムの神経行動学的研究は今後ますます発展する分野であり、多くの研究者がこのソフトウェアを利用することが期待できる。このソフトウェアを利用した体系的な聴覚行動解析の結果、ショウジョウバエの脳内では、特定のパルス間隔の音刺激を選別するバンドパスフィルターが内蔵されていることが推測できた。求愛歌の種特異的な認識に重要だと予想されるこのような特性を持つフィルターが、どのような神経回路として実装されているのかの解明は、音コミュニケーションの成立原理を理解するためには欠かせない。本研究により得られた成果は、今後の研究を進めるための重要な足がかりになると期待できる。

(2) 研究総括評価(本研究課題について、研究期間中に実施された、年2回の領域会議での評価フィードバックを踏まえつつ、以下の通り、事後評価を行った)。

(研究総括)

研究進捗状況は良好であり、研究目標は達成された。BMIを用いた身体システムを実用化するためには脳活動の解読装置の適切な設計が必須であるが、その理解のためには人や霊長類での複雑なシステムでの解析とともに、昆虫など、複雑な行動を比較的少数の神経細胞で行うスモールシステムの研究も有用な情報を与える。本研究では、スモールシステムの利点を生かした研究として、ショウジョウバエの脳情報解読を解明する目的で、聴覚情報処理システムを構成する神経回路の網羅的解析を進めた。ショウジョウバエは、同種間でのコミュニケーションに羽音を使うことが知られており、脳の神経細胞数が片半球で数万個と少なく、特定の細胞の機能だけを操作する分子遺伝学的手法が整備されており、音情報処理システムを構成する聴覚神経回路の精密な構造機能相関地図を作成する為の理想的なモデル生物である。分子遺伝学を駆使した神経解剖学的解析およびその機能を解明するカルシウムイメージングの結果、脳内部での聴覚神経細胞群の投射様式と応答特性の体系的な解明に成功した。特に、これまで機能不明であった細胞群 D が、これまでに解析されている他の細胞群 A, B, C, E と異なり、ショウジョウバエの求愛歌や羽音の主成分である 100 Hz から 200 Hz あたりの振動に応答性のピークを持つことを発見した。5 つの細胞群の全貌が明らかになったことにより、外界の空気の振動や流れが、ハエ脳内部の5群の細胞応答様式に対応して、5次元空間の神経活動地図上に表現されることを示した。さらに聴覚行動を画像解析により自動定量するアルゴリズムを開発し、大量のデータ処理を可能とし、これを用いて 2 種のショウジョウバエの機能解析を行い、特有の時間パターンを持つパルス音に対して種固有の特徴的な応答を示すことを見出した。さらに、高次聴覚神経回路の機能構造を解明するため、触角基部にある「耳」に内在する感覚神経細胞サブグループの応答性を、カルシウムイメージング法を用いて解析した。この結果からショウジョウバエの脳内では、特定のパルス間隔の音刺激を選別するバンドパスフィルターが内蔵されると考えられる。この機能は求愛歌の種特異的な認識に重要であり、その神経回路構成の解明は、音コミュニケーションの成立原理を理解するためには欠かせない。以上の結果は、形態学的マッピングに機能面の拡充を行い、音受容器から脳の高次処理領域に至る聴覚神経回路の全貌を単一細胞レベルで同定し、これらの構成する神経回路での情報符号化様式の全体像を理解することに歩を進めたものと考えられる。

本研究成果により、平成 24 年度日本神経科学学会奨励賞を受賞し、新学術領域「記憶ダイナミズム」の計画班員に採択されている。

5. 主な研究成果リスト

(1) 論文(原著論文)発表

1. Matsuo E, Yamada D, Ishikawa Y, Asai T, Ishimoto H, Kamikouchi A. Identification of novel vibration- and deflection-sensitive neuronal subgroups in Johnston's organ of the fruit fly. **Frontiers in Physiology**. 2014. 5:179. doi: 10.3389/fphys.2014.0017.
2. Yoon J, Matsuo E, Yamada D, Mizuno H, Morimoto T, Miyakawa H, Kinoshita S, Ishimoto H, Kamikouchi A. Selectivity and plasticity in a sound-evoked male-male interaction in *Drosophila*. **PLoS ONE**. 2013. 8(9): e74289, 2013

(2)特許出願

研究期間累積件数:0件

(3)その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

1. 総説

- 1) 上川内あづさ 「ショウジョウバエの音響交信を支える神経基盤 — 求愛歌を受容する聴覚系のしくみ —」. **生物科学**, 2013. 65, **95-101**.
- 2) Kamikouchi A. Auditory neuroscience in fruit flies. **Neuroscience Research**. 2013. 76:113-118.
- 3) Matsuo E, Kamikouchi A. Neuronal encoding of sound, gravity, and wind in the fruit fly. **J Comp Physiol A**. 2013. 199:253-262.
- 4) 松尾恵倫子, 上川内あづさ 「ショウジョウバエの「耳」を起点とする機械感覚情報処理システム」 **細胞工学** 2013. 32:454-460.
- 5) 上川内あづさ 「分子遺伝学で探るショウジョウバエの聴覚と重力感覚の神経回路」 **生化学** 2011. 83:399-402.
- 6) 上川内あづさ, 伊藤啓 「聴覚神経系のシステムニューロバイオロジー: 遺伝子発現誘導系を駆使した新たな研究戦略 Systems neurobiology for auditory systems: a new strategy using a gene-expression induction system」 **実験医学** 2011. 29:538-543.

2. 著書

- 1) 松尾恵倫子, 石元広志, 上川内あづさ 「音への応答行動を測る 求愛歌は効果あり? ショウジョウバエの聴覚テスト: オスの求愛行動を利用した実験」「重力への応答行動を測る ショウジョウバエは上に逃げる? ショウジョウバエを使った反重力走性の測定: 上方向に移動する割合を決定する」 In: **研究者が教える動物実験** (日本比較生理生化学会編) In press.
- 2) 上川内あづさ 「2章: 無脊椎動物の研究対象 - その1 - 線虫」「3章: 無脊椎動物の研究対象 - その2 - ショウジョウバエ」 In: **新・生命科学シリーズ 動物行動の分子生物学** (久保健雄 編) 裳華房, 2014.
- 3) Kamikouchi A., Fiala A. Monitoring neural activity with genetically-encoded Ca^{2+} indicators. In: **Methods in Neuroethological Research** (Eds: Ogawa H, Oka K.) Springer Japan, 2013.

3. 国際会議招待講演

- 1) Kamikouchi A. Anatomical and Functional Organization of the *Drosophila* Auditory System. International Symposium on Organization and Function of the Nervous System. Tokyo, Nov 27. 2012.
- 2) Kamikouchi A. The auditory system of fruit flies. 4th International Symposium on Photonic Bioimaging. Sapporo, Sep. 17. 2012
- 3) Kamikouchi A. Neuroanatomy of the *Drosophila* auditory system. Janelia Farm Workshop: The Neurobiology and Evolution of Insect Acoustic Communication, Janelia Farm, USA. May 14th-16th. 2012.
- 4) Kamikouchi A., Seki H, Mizuno H, Miyakawa H, Ito K, Morimoto T. The auditory map in the fly brain. Gender Equality Committee symposium: Trends in Neuroscience (S2-J-1-2) Neuroscience2011, Yokohama, Sep 14. 2011.
- 5) Kamikouchi A., Seki H, Mizuno H, Miyakawa H, Ito K, Morimoto T. The gravity- and sound-sensing systems in the fruit fly. Comparative mechanobiology from monad to human S32-3. 8th International Congress of Comparative Physiology and Biochemistry, Nagoya, Jun 3. 2011.

4. 受賞

2012年 平成24年度日本神経科学学会奨励賞