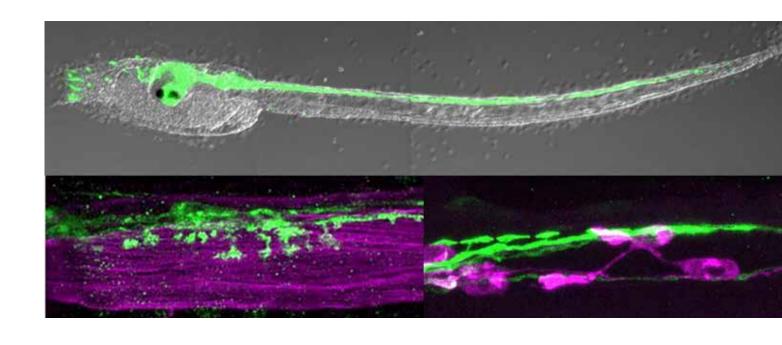
文部科学省科学研究費補助金令和3年度~令和7年度学術変革領域研究(A) 神経回路センサスに基づく適応機能の構築と遷移バイオメカニズム

適応回路センサス



NEWSLETTER

vol. 01



Contents



文部科学省科学研究費補助金 令和3年度~令和7年度学術変革領域研究(A)

神経回路センサスに基づく適応機能の 構築と遷移バイオメカニズム

適応回路センサスニュースレター

VO	1 01
VU	.U I

領域代表挨拶 ————————————————————————————————————	01
領域概要・体制 ————	03
計画研究班紹介 ——————	05
A01 適応回路の基本設計の 構築メカニズム	
A 0.1	

神経細胞の構築メカニズム

A01 行動選択を担う神経投射の 多様性構築メカニズム

細胞多様性に基づいた

B01

行動を最適化する オペラント学習回路ダイナミクス

B01

記憶状態の遷移を担う 神経回路ダイナミクス

RO1

環境に応答した行動変容を司る 遺伝子・細胞機能ダイナミクス

C01

適応回路を担う 網羅的細胞種センサス技術の開発

C02

センサスデータ駆動による 適応回路の理論構築

領域会議報告 ————————	13
ACC 勉強会実績報告 ——————	14
研究成果	15
記事紹介 ————————	16



Greeting

本研究領域の研究成果は、

適応回路の基礎的研究の進展に留まらず、

精神神経疾患の原因回路を狙った副作用の少ない治療法の開発や、

脳に学んだ省電力性と耐ノイズ性の高い人工知能や

ロボティクスの開発などに幅広く役立つことが期待されます。

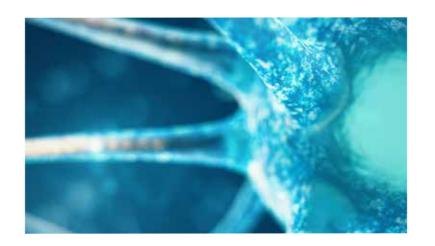
領域代表挨拶

このたび、2021度から2025年度までの5年間、科学研究費助成 事業 (科研費) の学術変革領域研究(A)として、「神経回路センサ スに基づく適応機能の構築と遷移バイオメカニズム」(適応回路 センサス)の研究領域を推進する運びとなりました。ヒトを含む 動物は、個体内外の状況の変化に随時適応し、生き抜くための行 動をとります。この行動適応は多数の神経細胞からなる複雑な神 経回路の構築と遷移(適応回路)により実現されます。本研究領 域では、適応脳機能を担う回路構築と回路遷移の仕組みの解明 に狙いを定め、先鋭的な神経回路活動の計測・操作技術と網羅 的な遺伝子発現の解析技術を大胆に組み合わせて、個別の構成 細胞がどのような固有の特性や挙動を示して適応脳機能に至る のかを包括的に追跡します (適応回路センサス)。この適応回路 センサスに基づき、適応回路の構築・遷移ダイナミクスを示す 責任回路を絞り込み、理論的に動作原理を考証することにより、 脳の本質である適応現象を新次元の視点で探る学問領域を創成 することを目指します。

神経科学の分野は、多数の神経細胞の活動を光学的に観測し操作を加える先端技術の導入により劇的な発展を迎えつつあります。しかしながら、多くは専ら単一の細胞型マーカーや特異的プロモーターを利用したものであり、同種の神経細胞群の平均的な性質を理解するに留まっています。適応回路の本質に迫るためには、神経細胞一つひとつの挙動を個別に追跡して観測できる革新的技術の登場が待ち望まれていました。近年、微小サンプル操作と次世代シーケンシングを融合し、個別の生体細胞の遺伝子発現を網羅的に解析するシングルセルRNAシーケンシング(scRNA-seq)などの革新的な単一細胞プロファイリングが大きなブレークスルーを巻き起こしています。もともと脳神経系は多

種多様な個性を持つ神経細胞が協調的に機能する組織であるため、いったん研究の狙いを定めて単一細胞プロファイリングを有効に活用すると、従来の技術的限界を突破して新次元の神経科学を創出できる潜在力を有しているといえるでしょう。本研究領域では、これら二つの学問潮流を融合させて、適応回路の仕組みを単一細胞レベルの解像度で解き明かす学際的研究を強力に推進します。そのために、最前線の神経科学はもちるん、ゲノム生物学、情報生物学、行動解析学、神経計算論など異分野の研究者が結集して連携体制を組み、若手・中堅研究者の挑戦的な発想を起爆剤として、既存の枠に収まらない次世代の神経科学を開拓し世界に発信します。

本研究領域の研究成果は、適応回路の基礎的研究の進展に留まらず、精神神経疾患の原因回路を狙った副作用の少ない治療法の開発や、脳に学んだ省電力性と耐ノイズ性の高い人工知能やロボティクスの開発などに幅広く役立つことが期待されます。



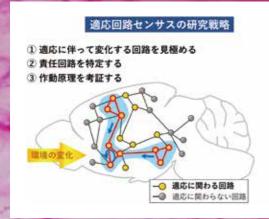


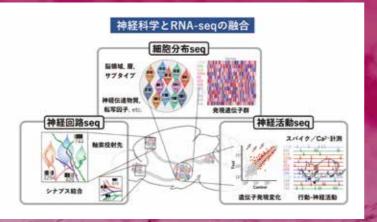
領域代表者 東京医科歯科大学 教授 礒村 宜和

領域概要・体制

Outline

本研究領域「適応回路センサス」では、適応脳機能を担う回路構築と回路遷移の仕組みを 解明するために、先鋭的な神経回路活動の計測・操作技術と網羅的な遺伝子発現の解析技術 を組み合わせることにより、構成細胞の固有特性に基づいて適応脳機能の責任回路を絞り込 みます (適応回路センサス)。この適応回路センサスに基づき、責任回路の因果性を実験的に 検証するとともに、理論的にも動作原理を考証することにより、さまざまな適応脳機能の仕組 みを新次元の解像度で解き明かします。





総括班体制

日本では網羅的解析技術は神経科学の分野にはまだ有効 に取り入れられていないのが実状です。そこで本研究領域で は、総括班に研究支援委員会 (構造解析、生理解析、行動解析、 遺伝子改変、数理・統計の5技術班)と遺伝子解析促進委員 会 (連携調整窓口、連携解析実施班) を設置し、変革領域研究 (A)のスケールメリットを最大限に活かして、各研究班の研究 活動の遂行と連携協力の形成を全面的に支援します。総括班

は直接の研究支援に加えて、学術交流、国際活動、若手育成、 社会貢献などを介したバランスの良い研究領域の発展に力を 注ぎます。「適応回路センサス」の研究戦略コンセプトを実現 し、幾多の貴重な研究知見を得るとともに、次世代を担う若 手研究者や独自に進化した革新的技術を世に送り出すことが 本研究領域の使命です。

総括班

礒村 宜和、堀江 健生、下郡 智美、藤山 文乃、佐々木 拓哉、 小林 和人、郷 康広、島崎 秀昭

研究支援委員会(委員長 小林)

- ●構造解析技術班 —— 藤山
- 生理解析技術班 —— 佐々木、船水、礒村
- 行動解析技術班 —— 佐藤(暢)
- ●遺伝子改変技術班 一 小林、松下
- 数理・統計技術班 島崎、尾崎、田中

遺伝子解析促進委員会(委員長 郷)

- ●連携調整窓口 郷、堀江
- ●連携解析実施班 郷、堀江、尾崎、二階堂
- ●若手研究支援委員会 —— 佐々木
- ●国際活動支援委員会 下郡
- ●研究集会委員会 ——— 堀江
- ●広報委員会 ——— 藤山
- ●評価委員会(外部) 渡辺 雅彦(北海道大学) - 狩野 方伸 (東京大学)
 - 佐藤 矩行 (OIST) (敬称略)
- ●海外アドバイザー Nenad Sestan (Yale University)
- 事務局 ------

研究班体制

「適応回路センサス」の推進のために、若手・中堅研究者 の最先端の実験解析技術と自由で柔軟な発想を活かした、幅 広く学際的な連携協力体制を構築しました。適応脳機能の 研究対象を、遺伝子発現やタイムスケールの違いから A01項 目「適応機能の回路構築センサス」とB01項目「適応機能の 回路遷移センサス」に二分し、両項目と緊密に連携するC01 項目「適応回路センサス技術開発と理論構築」を加えて、領 域内の効率的な役割分担と円滑な連携協力を狙います。A01

項目の計画研究は堀江班と下郡班と藤山班の3班が担当し、 B01項目の計画研究は礒村班と佐々木班と小林班の3班が担 当します。C01項目は郷班が網羅的解析技術の開発・高度化 を、島崎班が理論解析・構築を担当します。さらに、各項目 には前期・後期にわたり多数の公募班が参画し、多様な生物 種における多彩な適応脳機能に対して、学際的な研究手法を 有機的に組み合わせて、「適応回路センサス」領域の研究者 層を厚くする計画です。

領域代表者: 礒村宜和

■適応回路の基本設計の構築メカニズム

「適応機能の回路構築センサス」

研究代表者 堀江 健生 助教 (筑波大学生命環境系) 研究分担者 佐藤 ゆたか 准教授 (京都大学大学院理学研究科)

研究分担者 尾崎 遼 准教授 (筑波大学医学医療系)

A01

■細胞多様性に基づいた神経細胞の構築メカニズム

研究代表者 下郡 智美 チームリーダー (理化学研究所脳神経科学研究センター) 研究分担者 中嶋 藍 助教 (東京大学大学院薬学系)

■行動選択を担う神経投射の多様性構築メカニズム

研究代表者 藤山 文乃 教授 (北海道大学大学院医学研究院)

研究分担者 大野 伸彦 教授 (自治医科大学医学部)

「適応機能の回路遷移センサス」

■行動を最適化するオペラント学習回路ダイナミクス

研究代表者 礒村 宜和 教授 (東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科)

研究分担者 佐藤 暢哉 教授 (関西学院大学文学部)

研究分担者 苅部 冬紀 助教 (北海道大学医学研究院)

B01

■記憶状態の遷移を担う神経回路ダイナミクス

研究代表者 佐々木 拓哉 教授 (東北大学大学院薬学研究科) 研究分担者 船水 章大 講師 (東京大学定量生命科学研究所)

■環境に応答した行動変容を司る遺伝子・細胞機能ダイナミクス

研究代表者 小林 和人 教授 (福島県立医科大学医学部)

研究分担者 松下 夏樹 准教授 (愛知医科大学医学部)

研究分担者 瀬戸川 将 助教 (獨協医科大学医学部)

「適応回路センサス技術開発と理論構築」

C01/02

■C01 適応回路を担う網羅的細胞種センサス技術の開発

研究代表者 郷 康広 特任准教授 (自然科学研究機構生命創成探究センター) 研究分担者 二階堂 愛 チームリーダー (理化学研究所生命機能科学研究センター)

■C02 センサスデータ駆動による適応回路の理論構築

研究代表者 島崎 秀昭 特任准教授 (北海道大学人間知・脳・AI研究教育センター)

研究分担者 田中 琢真 准教授 (滋賀大学データサイエンス学部)

A01

適応機能の回路構築センサス

適応回路の基本設計の構築メカニズム

脊索動物の中で最も単純な神経系を持つホヤの幼生をモデルとして、適応回路の基本設計(回路発生・回路構築・回路機能)を明らかにします。



研究代表者 筑波大学生命環境系 堀江 健生 助教



研究分担者 京都大学大学院理学研究科 佐藤 ゆたか 准教授



研究分担者 筑波大学医学医療系 尾崎 遼 准教授

脳神経系には多様な神経細胞が存在しています。個々の神経細胞はそれぞれ特徴的な性質を備えており、脳の高次神経機能を担っています。そのため、各神経細胞の性質がどのような分子機構で決定されるのか、分化した神経細胞がどのように神経回路を構築するのか、神経回路において個々の神経細胞がどのような機能をしているのかを解明することは神経科学にとって根源的な研究課題です。しかしながら、哺乳類では脳を構成する細胞数の多さから、その全貌を解明することは困難であると考えられます。本計画研究では、この問題を解決するために尾索動物ホヤをモデルとして、ゲノム生物学、情報生物学、発生生物学、神経生理学など様々な手法を組み合わせて研究を行います。

ホヤの幼生は脊索動物の中で最も単純な神経系を有しており、その中枢神経系はわずか177個の神経細胞から構成されています。そして、ホヤ幼生は177個の神経細胞から構築される神経回路を駆使して、

重力、光、機械刺激などの環境刺激を受容し、それぞれの環境刺激に適した行動を示します。本研究計画では、ホヤの幼生をモデルとして、シングルセルトランスクリプトーム (scRNA-seq) 解析を駆使し、適応回路を担う神経細胞種をセンサスすることにより、適応回路の基本設計 (回路発生・回路構築・回路機能)を解明することを目指します。遺伝子発現パターンに基づく神経細胞の分類や神経細胞の分化機構の解析に加え、ホヤ幼生はコネクトームが明らかにされた二番目の動物であることを生かし、分化した神経細胞が神経回路を構築していく機構や神経回路の機能解析を行います。さらに、各計画研究班と連携し、scRNA-seq解析の高等動物の神経回路解析への応用やC01郷班との連携によりシングルセルオミクス解析の新たな技術開発への協力を行います。

シングルセルトランス クリプトーム計測 によるデータ解析 「こよるデータ解析」 機能適伝子の 発現特異性 細胞種同定 フィードバック 神経国路の機能解析 神経回路の発生・分化・構築 メカニズムの解析

主要な関連論文

Horie T et al. (2018) Regulatory cocktail for dopaminergic neurons in a proto-vertebrate identified by whole embryo single cell transcriptomics. *Gene Dev* 32: 1297-1302.

Horie R et al. (2018) Shared evolutionary origin of vertebrate neural crest and cranial placodes. *Nature* 560: 228-232.

Horie T et al. (2011) Ependymal cells of chordate larvae are stem-like cells that form the adult nervous system. *Nature* 469: 525-528.

適応機能の回路構築センサス

細胞多様性に基づいた神経細胞の構築メカニズム

神経個性の多様性がどの様に発生段階で創出されるのか、遺伝子発現プロファイルに基づくサブタイプに着目し、内在的メカニズムと外部入力による影響とそのメカニズムを明らかにします。



A01

研究代表者 理化学研究所 脳神経科学研究センター 下郡 智美 チームリーダー



研究分担者 東京大学大学院薬学系 中嶋 藍 助教

神経細胞はその形態、神経伝達物質、遺伝子発現パターンなど多様性に富んでおり、この多様性が神経回路の接続様式および多様な脳機能を生み出すことに大きく影響していることは容易に想像できます。これら神経細胞の多様性が生まれるメカニズムは神経細胞が産生された場所や時期によって遺伝的に決定されている場合や、生後外界からの影響に適応して多様性を生み出している場合が考えられます。例えば大脳皮質の興奮性神経細胞は胎児期の脳室帯から産生され、radial migration によってそれぞれの層に配置されます。層ごとの多様性は神経細胞が生まれた時期や場所に依存していますが、同じ層内に存在する形態的に異なる細胞は外部からの入力に依存して形態変化を起こすことが知られています。しかし、このような

神経細胞の多様性を生むメカニズムと、多様な神経回路を形成するメカニズムの詳細は明らかになっていません。本研究では、マウス大脳皮質体性感覚野細胞と入力元である視床視床腹側基底核、及び嗅覚回路をモデルとして、scRNA-seqによる大規模解析に基づく細胞種の同定、TRAP-seqによる軸索特異的に産生される因子の同定(C01郷班との共同研究)、細胞種ごとのin vivoイメージングによる神経回路形成の可視化(B01礒村、小林班)、さらに脳領域間・種間比較(A01堀江班)を行なうことで細胞多様性に基づく神経回路構築メカニズムの解明に挑みます。さらにここで明らかにされた細胞多様性と局所回路多様性がアウトプットとして成体での行動・記憶時にどのような影響をもたらすのかを明らかにします。

経験依存的な遷移と適応

Cell type变化 空間分布変化 回路変化 神経活動変化 形態変化

横断研究



発達期の経験依存 的な回路編成に関 わるメカニズムの 普遍的な基本原理 の解明

主要な関連論文

Kita Y et al. (2021) Cellular-resolution gene expression profiling in the neonatal marmoset brain reveals dynamic species- and region-specific differences. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 118: e2020125118. doi: 10.1073/pnas.2020125118.

Kinoshita N et al. (2020) Diffusible GRAPHIC to visualize morphology of cells after specific cell-cell contact. *Sci Rep.* 10 (1): 14437. doi: 10.1038/s41598-020-71474-0. Kinoshita N et al. (2019) Genetically Encoded Fluorescent Indicator GRAPHIC Delineates Intercellular Connections. *iScience*. 15: 28-38. doi: 10.1016/j.isci.2019.04.013. Onodera J et al. (2021) Neuronal brain-derived neurotrophic factor manipulates microglial dynamics. *Glia*, 69: 890-904, https://doi.org/10.1002/glia.23934

Miyawaki T et al. (2020) Visualization and molecular characterization of whole-brain vascular networks with capillary resolution. *Nat. Commun*. 11: 1104, https://doi.org/10.1038/s41467-020-14786-z

Nakashima A et al. (2019) Structured spike series specify gene expression patterns for olfactory circuit formation, Science, https://doi.org/10.1126/science.aaw5030

適応機能の回路構築センサス

行動選択を担う神経投射の多様性構築メカニズム

A01

行動選択に伴い、構造的・遺伝的に規定された神経回路がドーパミンの影響によってどのように遷移していくのかを 遺伝子発現、形態、電気生理学的特性の面から明らかにします。



研究代表者 北海道大学大学院 医学研究院 藤山 文乃 教授

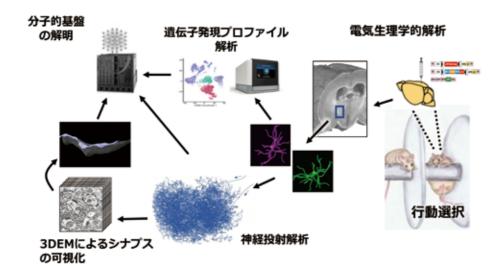


研究分担者 自治医科大学医学部 大野 伸彦 教授

報酬に関連して行動を選択するプロセスは個体の生存に必要な適応 戦略で、中脳黒質のドーパミン神経細胞が重要な役割を担っていること が知られています。このドーパミン神経細胞は、細胞体の大きさや樹状 突起の形状などの形態学的な特徴が均一ではなく、膜電位などの電気 生理学的性質にも多様性があります。また、1つの細胞が異なる複数の 遺伝子を発現しているのですが、明確なサブセットに分類するまでには 至っていません。適応行動の選択において、各々のドーパミン神経細胞 がどのような機能を担うのかを論じるためには、各々の細胞が主な投射 先である線条体のどの機能領域のどのタイプの神経細胞に入力するの かを知る必要があるのですが、現在のところ、遺伝子、形態、電気生理、 投射様式の全てに通底する神経細胞の網羅的なプロファイリングは不 完全なままなのです。

本研究計画では、適応行動の選択の際に特異的な活動を示す神経細

胞に、順行性かつ経シナプス性に運ばれるウイルスを感染させ、この感染細胞の遺伝子プロファイリングを明らかにするとともに、この神経細胞の軸索が投射するポストシナプス側の神経細胞の詳細な遺伝子プロファイルを明らかにすることを目指します。私たちの先行研究では、1つのドーパミン神経細胞が投射する線条体神経細胞は計算上75,000個とも類推されます。この大量な遺伝子情報を解析するために、ハイスループット遺伝子解析技術と連携します。この技術に、投射軸索完全可視化、三次元電子顕微鏡解析を含む超解像度形態解析技術を有機的に連携させることで(神経回路seq)、「行動選択に伴い、構造的・遺伝的に規定された神経回路がドーパミンの影響によってどのように遷移していくのか」という学術的問いに迫ります。その過程で、他の計画班(郷班、小林班、礒村班、島崎班など)や公募班の皆さんとも積極的に連携協力して適応回路センサスを実現します。



主要な関連論文

Karube F et al. (2019) Motor cortex can directly drive the globus pallidus neurons in a projection neuron type-dependent manner in the rat. *eLife* 12, e49511. Nakano Y et al. (2018) Parvalbumin-producing striatal interneurons receive excitatory inputs onto proximal dendrites from the motor thalamus in male mice. *J Neurosci Res.* 96, 1186-1207.

Unzai T et al. (2017) Quantitative analyses of the projection of individual neurons from the midline thalamic nuclei to the striosome and matrix compartments of the rat striatum. *Cerebral Cortex*. 27, 1164-1181.

適応機能の回路遷移センサス

行動を最適化するオペラント学習回路ダイナミクス

オペラント学習を担う大脳皮質と大脳基底核の神経回路ダイナミクスを構成細胞の機能的活動と遺伝子発現と 投射先の固有特性に基づいて明らかにします。



B01

研究代表者 東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科 礒村 宜和 教授



研究分担者 関西学院大学文学部 佐藤 暢哉 教授

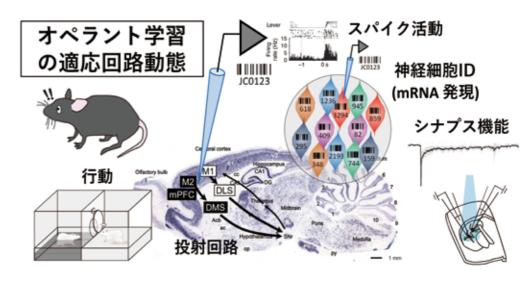


研究分担者 北海道大学医学研究院 苅部 冬紀 助教

ヒトを含む動物では、環境の変化に脳が適応して、生存に有利な 結果をもたらす自発的行動を試行錯誤で促進するオペラント学習が みられます。この学習には大脳皮質と大脳基底核が形成する神経回 路ループが関与すると考えられていますが、その詳しい神経回路メ カニズムは謎に包まれたままです。

本計画研究では、オペラント学習に伴う大脳皮質や大脳基底核の神経回路の遷移状態を生み出す仕組みを、個別の神経細胞やシナプス結合の特性を踏まえた視点から理解することを目指します。具体的には、ラットやマウスのオペラント学習を担う大脳皮質諸領域のPT型・IT型投射細胞や大脳基底核線条体の直接路・間接路投射細胞などに注目します。マルチユニット記録、ジャクスタセルラー(傍細胞)記録、2光子カルシウムイメージングなどで神経細胞の機能

的活動を計測し、それらの神経細胞をバーコード付きのプラスミド DNAや軸索伝搬ウイルストレーサーなどでラベルしたうえで、単一細胞RNA-seq解析を実施します。次に、各細胞の機能的活動、遺伝子発現変化、投射領域などの固有特性に基づいて、単一細胞レベルの分解能でオペラント学習に関与する責任回路を絞り込み、理論モデルからの検証と併せて、オペラント学習回路ダイナミクスの本質に迫ります。さらに、多彩なオペラント学習に幅を広げてそれぞれの担当脳回路の相違を探るとともに、オペラント学習回路を支えるシナプス結合の機能特性の変化にまで切り込みます。その過程で、他の計画班(堀江班、藤山班、下郡班、島崎班など)や公募班の皆さんとも積極的に連携協力して適応回路センサスを実現します。



主要な関連論文

Kawabata M et al. (2020) A spike analysis method for characterizing neurons based on phase locking and scaling to the interval between two behavioral events. *J Neurophysiol* 124: 1923-1941.

Soma S et al. (2019) Ipsilateral-dominant control of limb movements in rodent posterior parietal cortex. *J Neurosci* 39: 485-502.

Nonomura S et al. (2018) Monitoring and updating of action selection for goal-directed behavior through the striatal direct and indirect pathways. *Neuron* 99: 1302-1314

B01

適応機能の回路遷移センサス

記憶状態の遷移を担う神経回路ダイナミクス

適応回路を調べるために、神経細胞1つ1つについて、遺伝子発現・形態・生理特性を網羅的に調べる実験技法を確立します。 本技術によって、動物の適応行動に必要な記憶遷移メカニズムについて、分子から行動まで因果的に繋ぐ研究を目指します。



研究代表者 東北大学大学院 薬学研究科 佐々木 拓哉 教授



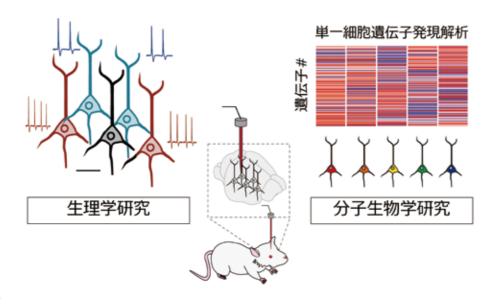
研究分担者 東京大学 定量生命科学研究所 船水 章大 講師

動物は外界環境の変化に対し、記憶に基づいて適応行動を採ります。 これまで、多くの神経生理学・新回路学研究により、様々な記憶状態や 意思決定などの脳機能を説明するための神経活動が解明されてきまし た。同時に、こうした知見から、脳の神経細胞は均一な集団ではなく、多 様な生理・形態的な特徴を有することがわかり、さらに近年のトランス クリプトーム解析などからは、こうした特徴が多様な遺伝子発現パター ンでによって担われている可能性が示唆されています。

このような課題をさらに詳しく調べるために、本研究では、既存の神経生理計測に加えて、神経細胞1つ1つについて、遺伝子発現・形態・生理特性を網羅的に調べる実験技法を確立します(単一細胞における神経回路seqと神経活動seq)。本技術によって、動物の適応行動に必要な記憶遷移(獲得・固定化・安定化など)を担う各神経細胞の生理活動が、

どのような解剖学的構造に裏打ちされ、またどのような遺伝子発現プロファイルによって規定されるか、分子から行動まで因果的に繋ぐ研究を目指します。遺伝子操作技術、細胞形態の再構築、RNA-seq解析、標本データ解析など、複数の専門技術を扱うため、領域内の研究者とも積極的に連携をします。

近年のオミクス解析技術の発展から、脳神経細胞の遺伝子発現パターンに関するアトラスはほぼ完成しつつあります。また、大規模生理計測法(電気生理計測、イメージング技術など)が発達し、適応行動や記憶と関連する神経活動が多数明らかになっています。本研究は、そのような両者の知見を繋ぐ位置づけであり、適応機能を担う神経活動の基盤となる神経投射構造や遺伝子発現プロファイルの網羅的解明を目指します。



主要な関連論文

Shikano Y et al. (2021) Minute-encoding neurons in hippocampal-striatal circuits. *Curr Biol.* 31: 1438-1449.

Igata H et al. (2021) Prioritized experience replays on a hippocampal predictive map for learning. *Proc Natl Acad Sci USA.* 118: e2011266118.

Sasaki T et al. Dentate network activity is necessary for spatial working memory by supporting CA3 sharp-wave ripple generation and prospective firing of CA3 neurons. *Nat Neurosci.* 21: 258-269

適応機能の回路遷移センサス

環境に応答した行動変容を司る遺伝子・細胞機能ダイナミクス

刺激を弁別する学習の獲得過程で線条体亜領域に起こる神経活動の遷移に着目し、時間空間特異的に発現する遺伝子を探索し、その機能およびそれらを発現する細胞種の機能、そして神経回路の動態を明らかにします。



B01

研究代表者 福島県立医科大学医学部 ■ 小林 和人 教授



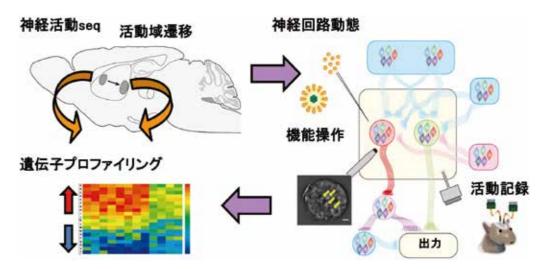
研究分担者 愛知医科大学医学部 松下 夏樹 准教授



研究分担者 獨協医科大学医学部 瀬戸川 将 助教

動物はさまざまな環境変化に応答して自らの行動を変容させます。この行動変容の過程で、脳内神経回路は機能的な再編を起こし、それに付随して各脳領域では遺伝子発現の変化が誘導されます。我々の研究班は、聴覚刺激を識別して行動を選択する学習課題を獲得する際に、学習初期には前方の背外側線条体 (aDLS) 領域が、その後期には後方の腹側線条体 (pVLS) 領域の活動が亢進し、学習の進行に伴って機能回路が遷移することを見出しました。本計画研究では、郷班と連携し、聴覚弁別学習の過程で時期・領域特異的に発現する遺伝子を神経活動に基づくRNA-seq解析(神経活動seq)によりプロファイル化し、特徴的な発現変動を示す遺伝子を同定することに取り組みます。下郡班・藤山班との連携により、それらの遺伝子の線条体内発現パターンや発現細胞種の構造的特性を解析するとともに、ウイルスベクターを用いたRNA干渉およびゲノム編集

によるノックダウン技術を利用して遺伝子機能の解析を進めます。 さらに、礒村班・佐々木班と連携し、単一細胞レベルで学習の進行 に伴う細胞特性(個性)の変化を解析し、遺伝子機能のノックダウ ンによる影響を検証します。また、aDLSからpVLSへの神経連絡に 着目し、学習の進行に重要な役割を果たす経路をウイルスベクター による機能操作技術を用いて細胞レベルで解析する。特に、神経活 動seq法により単離した遺伝子の発現制御領域を用いて、線条体細 胞のサブポピュレーションに選択的な機能操作を施し、神経回路動 態や学習行動への影響を調べていきます。このように、適応回路セ ンサスの理解に向けて、遺伝子機能から細胞機能、そして回路の動 態を明らかにし、環境に応答して神経ネットワークを遷移させ、行 動を獲得する神経基盤の解明に挑みます。



主要な関連論文

Fukabori R et al. (2020) Enhanced retrieval of taste associative memory by chemogenetic activation of locus coeruleus norepinephrine neurons. *J Neurosci* 40: 8367-8385.

Kato S et al. (2020) Pseudotyped lentiviral vectors for tract-targeting and application for the functional control of selective neural circuits (review). *J. Neuosci. Methods* 344: 108854.

Kato S et al. (2018) Action selection and flexible switching controlled by the intralaminar thalamic neurons. Cell Rep 22: 2370-2382.

C01

適応回路センサス技術開発と理論構築

適応回路を担う網羅的細胞種センサス技術の開発

適応回路の構築と遷移を担う細胞種センサス技術の開発と高度化を1細胞レベルの細胞空間・神経結合・神経機能オミクス情報を統合し、動的に変容する適応回路の分子実態を明らかにします。



研究代表者 自然科学研究機構 生命創成探究センター 郷 康広 特任准教授

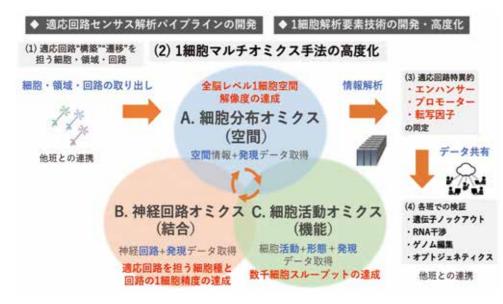


研究分担者 理化学研究所 生命機能科学研究センター 二階堂 愛 チームリーダー

脳はその構成素子であるニューロンやニューロン間のつながりが織りなすネットワーク(神経回路)とニューロン機能をささえるグリア細胞との複雑かつ精緻なシステムとして、知覚・感覚・運動・思考・記憶などさまざまな高次機能を司ります。また、発生・発達・学習などの外部環境や体内環境の変化に対応し、それら神経回路を構築・遷移させることで、環境変化にしなやかに適応できる機能も備えています。それら精緻な適応回路の構築と遷移メカニズムを分子・細胞レベルで理解するためには、その構成要素を高解像度かつ網羅的に同定し、外部環境や体内環境の変化、あるいは人為的な摂動を加えた際の分子・細胞の変動を定量的に計測することが不可欠です。そうすることによって、計測対象とするシステムの「軟らかく・可塑的で・ダイナミックな」部分と、「硬く・定常的で・ロバストな」

部分を明らかにすることができます。

本計画研究では、それら適応回路を担う細胞タイプをセンサスするために、システムの構成要素である個々の脳神経系細胞に含まれる転写産物を中心としたオミクス情報を、高出力・高感度・完全長・多階層・空間の5次元細胞センサス技術開発・高度化により読み出し、それと並行して、領域内の連携研究として3次元モダリティー(細胞分布オミクス[空間]・神経回路オミクス[結合]・神経活動オミクス[機能])に適用します。本学術変革領域研究を通じて、生物が環境適応に応じて自らの行動や生理状態を変容させる過程で動的に変化する回路構築や回路遷移のダイナミクスを明らかにし、適応回路の実体を個々の構成要素のレベルで理解する(適応回路センサス)ことを目指します。



主要な関連論文

Nakai K et al. (2021) In vitro monitoring of HTR2A-positive neurons derived from human-induced pluripotent stem cells. *Sci Rep* 11: 15437.

Xu C et al. (2018) Human-specific features of spatial gene expression and regulation in eight brain regions. *Genome Res* 28: 1097-1110.

Sasagawa Y et al. (2018) Quartz-Seq2: a high-throughput single-cell RNA-sequencing method that effectively uses limited sequence reads. *Genome Biol* 19: 29. Hayashi T et al. (2018) Single-cell full-length total RNA sequencing uncovers dynamics of recursive splicing and enhancer RNAs. *Nat Commun* 9: 619.

適応回路センサス技術開発と理論構築

センサスデータ駆動による適応回路の理論構築

神経細胞集団活動の遷移を可視化する時系列解析技術と適応・学習の理論を一貫した数理モデルで構築して比較検討することで、データに基づく統一的な適応理論を構築し、適応を担う基盤回路とその原理を明らかにします。



C02

研究代表者 北海道大学 人間知・脳・AI研究教育センター 島崎 秀昭 特任准教授

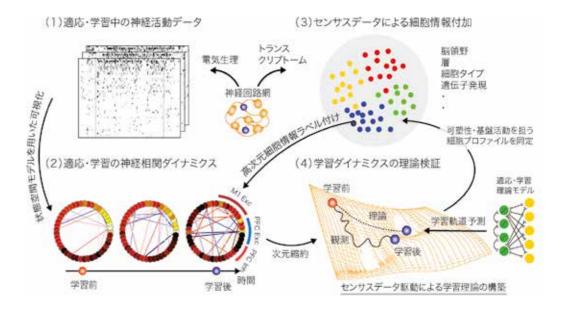


研究分担者 滋賀大学 データサイエンス学部 日中 琢真 准教授

生物は時事刻々と変化する環境に効率的かつ柔軟に適応します。 生物の環境への適応を実質的に担う神経細胞集団・回路は何でしょうか、そしてそのような回路が従う適応の原理は何でしょうか?この問いに応えるためには、詳細な細胞プロファイルを取り込んだデータ解析と、適応・学習の理論モデルに基づく予測を組み合わせて、適応の情報論的な機構を遺伝子・回路レベルで明らかにすることが必要です。

本計画研究では、これまでに構築してきた神経細胞集団活動の時 系列解析技術を多様な細胞情報を活用することができるように深 化・拡張し、実験班の協力のもと、この技術を、適応・学習中の動物 から記録され、細胞プロファイルが付加された大規模神経活動デー タに適用します。これにより適応・学習のダイナミクスを可視化し、変化を担う細胞種や情報符号化に関わる細胞腫を明らかにします。同時に、適応・学習の理論モデルを構築して原理に基づく学習則を導出し、理論予測と観測された学習ダイナミクスを比較することで適応原理の仮説を検証します。この直接的な比較検証を可能にするために、データ解析と理論構築を同一の数理的枠組みで行う研究プログラムを構築します。統一的な視点のもとで行うデータ解析・理論構築の双方向からのアプローチにより「先進的な神経回路活動の計測・操作技術と網羅的な遺伝子発現の解析技術に基づいて適応を担う基盤回路とその原理を解明する」という学術的な課題に挑みます。

12



主要な関連論文

Aguilera M et al. (2021) A unifying framework for mean-field theories of asymmetric kinetic Ising systems. *Nat Commun* 12(1): 1197.

Donner C et al. (2017) Approximate inference for time-varying interactions and macroscopic dynamics of neural populations. *PLoS Comput Biol* 13: e1005309. Shimazaki H et al. (2012) Approximate inference for time-varying interactions and macroscopic dynamics of neural populations. *PLoS Comput Biol* 8: e1002385.

「第1回領域会議」をオンライン(Zoom)で開催しました。

日 時 2022年3月23日(水)

13:00~13:10		代表挨拶
13:10~13:40		堀江 健生 (筑波大学生命環境系・助教)
13:40~14:10	A01 班	下郡 智美 (理化学研究所脳神経科学研究センター・チームリーダー) 中嶋 藍 (東京大学大学院薬学系研究科・助教)
14:10~14:40	-	藤山 文乃 (北海道大学大学院医学研究院・教授) 大野 伸彦 (自治医科大学医学部・教授)
休憩 (10分)		
14:50 ~ 15:20		礒村 宜和 (東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科·教授)
15:20 ~ 15:50	B01 班	佐々木 拓哉 (東北大学大学院薬学研究科・教授)
15:50 ~ 16:20		小林 和人 (福島県立医科大学医学部・教授)
休憩 (10分)		
16:30~17:00	- СО1 班	郷 康広 (自然科学研究機構生命創成探究センター・特任准教授) 二階堂 愛 (理化学研究所生命機能科学研究センター・チームリーダー)
17:00 ~ 17:30		島崎 秀昭(北海道大学人間知・脳・AI 研究教育センター・特任准教授)
17:30~17:40		代表挨拶

各研究班が30分ずつ研究紹介しました。

ご参加いただきました、評価委員の先生方、学術審議官の先生方にもお礼申し上げます。



2021年度適応回路センサス第1回領域会議の様子

適応回路センサスニュースレター第1号

ACC勉強会レポート

適応回路センサス領域では、2021年11月から約2週間に1回の ペースで勉強会を開催しています。8つの計画班が持ち回りで主 催し、それぞれの班のこれまでの研究や最近発表された学術論 文の紹介を行なっています(表1)。きっかけとなったのは、堀江 班の尾崎さんが企画されたBICCN勉強会でした (2021年10月31 日開催)。RNA seqを用いて哺乳類の脳を網羅的に解析した18本 の論文 (学術誌 Nature の2021年10月号) を1日で全部読もうとい う趣旨で開催されたこの勉強会には、日曜日にも関わらず領域 内外から400人以上の参加者が集い、長時間にわたって熱い議 論が交わされました。この勢いのまま、領域内でも勉強会を開 催しようという企画が持ち上がり、ACC勉強会が始まりました。

2021年度は計8回の勉強会が開催されました。システム・解剖・ 発生・RNA seq・計算論といった広範な分野の専門家が集まって いるため、わからないところがあれば誰かが詳細に解説してくれ るという仕組みになっており、実験・解析の手法を実際の肌感覚 を含めて深く理解できる内容となっています。毎回熱い議論が巻 き起こり、時には論文の内容を超えた議論に発展することもあり ました。最前線を走っている研究者たちが議論を交わす姿は、学 生たちにとっても良い刺激になっているのではないでしょうか。

2022年度も同じペースのまま継続して開催される予定となっ ています。領域関係者であれば誰でも参加できますので、都合が 合う方は是非一度参加してみてください。

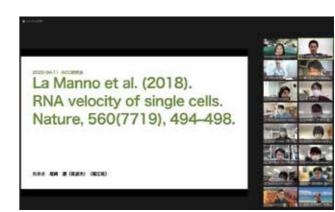
礒村班・川端政則

開催日	発表者 (敬称略)	論文タイトル
2021/11/15	堀江班 堀江	A single motor neuron determines the rhythm of early motor behavior in Ciona.
2021/11/29	礒村班 川端	A transcriptomic axis predicts state modulation of cortical interneurons.
2021/12/20	下郡班 下郡	Temporal controls over inter-areal cortical projection neuron fate diversity.
2022/1/17	島崎班島崎	How learning unfolds in the brain: toward an optimization view.
2022/1/31	藤山班平井	Vision-dependent specification of cell types and function in the developing cortex.
2022/2/14	佐々木班 船水	Dense functional and molecular readout of a circuit hub in sensory cortex.
2022/2/28	郷班 郷	Exploring tissue architecture using spatial transcriptomics.
2022/3/14	小林班 瀬戸川	A cortico-basal ganglia-thalamo-cortical channel underlying short-term memory.

表1:2021年度のACC勉強会



2021年度のACC勉強会の様子1



2021年度のACC勉強会の様子2

研究成果

計画研究班 A01

堀江 健生 助教らの研究が PNAS 誌に掲載されました。

Paul-Chacha P, Horie R, Kusakabe TG, Sasakura Y, Singh M, Horie T, Levine M., "Neuronal identities derived by misexpression of the POU IV sensory determinant in a protoverebrate"

Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 119, e2118817119. (2022)

堀江 健生 助教らの研究が Science Advances にオンライン掲載されました。

Akahoshi K, Usumi KM, Onuma K, Ookawa K, Murakami M, Horie T, Kusakabe TG, OKa K, Hotta K.,

"A single motor neuron determines the rhythm of early motor behavior in Ciona" **Science Advances 7**, eabl6053. (2021)

計画研究班 C02

島崎 秀昭 特任准教授らの研究が Communications Biology オンライン版に掲載されました。

Takuya Isomura, Hideaki Shimazaki, Karl J. Friston,

"Canonical neural networks perform active inference"

Communications Biology, 10.1038/s42003-021-02994-2

メディア掲載情報

適応回路センサスの活動について日経バイオテク (オンライン版) で紹介していただきました。適応回路センサスの領域活動全体の活動、領域代表: 礒村宜和先生、A01班: 堀江健生先生、B01班: 郷康広先生、佐々木拓哉先生、二階堂愛先生の研究内容について紹介されています。

日経バイオテクオンライン版

ここまできたシングルセル解析 [実践編]

https://bio.nikkeibp.co.jp/atcl/report/16/082400016/030900215/

ここまできたシングルセル解析 [技術編]

https://bio.nikkeibp.co.jp/atcl/report/16/082400016/030900214/

Neuronal Identities Derived by Misexpressionof the POU IV Sensory Determinant in a Proto-Vertebrate

staff

Prakriti Paul Chacha⁺, Ryoko Horie⁺, Takehiro G. Kusakabe, Yasunori Sasakura, Mona Singh, Takeo Horie^{*}, Michael Levine^{*}

(+:Equal contribution, *:Corresponding author)

Publication

Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (2022) 119:e2118817119

https://www.pnas.org/doi/10.1073/pnas.2118817119

Abstract

The protovertebrate *Ciona intestinalis* type A (sometimes called *Ciona robusta*) contains a series of sensory cell types distributed across the head-tail axis of swimming tadpoles. They arise from lateral regions of the neural plate that exhibit properties of vertebrate placodes and neural crest. The sensory determinant *POU IV/Brn3* is known to work in concert with regional determinants, such as *Foxg* and *Neurogenin*, to produce palp sensory cells (PSCs) and bipolar tail neurons (BTNs), in head and tail regions, respectively. A combination of single-cell RNA-sequencing (scRNA-seq) assays, computational analysis, and experimental manipulations suggests that misexpression of *POU IV* results in variable transformations of epidermal cells into hybrid sensory cell types, including those exhibiting properties of both PSCs and BTNs. Hybrid properties are due to coexpression of *Foxg* and *Neurogenin* that is triggered by an unexpected *POU IV* feedback loop. Hybrid cells were also found to express a synthetic gene battery that is not coexpressed in any known cell type. We discuss these results with respect to the opportunities and challenges of reprogramming cell types through the targeted misexpression of cellular determinants.

感覚神経細胞を作る運命決定因子の働きを解明

2022年1月18日 国立大学法人・筑波大学プレスリリース

https://www.tsukuba.ac.jp/journal/biology-environment/20220118050000.html

育権動物では、感覚神経細胞は、胚の背側の組織である神経板と表皮の境界領域から生じる神経堤細胞およびプラコード(上皮組織)から作られます。私たちは、これまで、脊椎動物に最も近縁な海産無脊椎動物であるホヤにおいて、神経堤細胞とプラコードから4種類の異なる感覚神経細胞が作り出され、これらの感覚神経細胞はお互いに運命変換が可能な似た性質を備えていること、これらの感覚神経細胞は全て転写因子POUIVを発現していることなどを報告してきました(Horie et al., Nature 2018)。一方、POUIVを導入することにより、感覚神経細胞の分化が異所的に誘導されることが知られていましたが、4種類の感覚神経細胞のうち、どれが分化するのかは不明でした。

本研究では、POUNを導入した個体において異所的に形成された感覚神経細胞の性質について、単一細胞トランスクリプトーム解析、発生生物学的な解析、情報生物学的な解析などのさまざまな手法を組み合わせて解析し、POUNが感覚神経細胞の分化に必須な運命決定因子であることを明らかにしました。また、POUNを導入した個体では、4種類の感覚神経細胞のうちの2種類の性質を併せ持ち、かつ独自の遺伝子発現プロファイルを示す細胞が分化していることを明らかにしました。さらに、本研究のような、単一細胞トランスクリプトーム解析と情報生物学的な解析を組み合わせた研究手法が、リプログラミング(運命決定因子を導入して目的の細胞を作り出す)における細胞の分化状態の評価に対して有効であることも示されました。

研究内容と背景

感覚神経細胞は、光、音、匂い、接触刺激など、外界からの環境刺激を受け取るために重要な神経細胞です。脊椎動物では、感覚神経細胞は、神経板と表皮との境界領域(神経板境界領域)から生じる神経堤細胞およびプラコードと呼ばれる組織から作られており、神経堤細胞からは末梢神経系に分布する感覚神経細胞が、プラコードからは感覚器や頭部の感覚神経細胞が作られます。私たちは、脊椎動物に最も近縁な海産無脊椎動物であるホヤにおいて、神経堤細胞とプラコードから4種類の異なる感覚神経細胞が作り出され、これらは互いに運命変換が可能な似た性質を備えていること、4種類全てが転写因子POUIVを発現

していることなどを報告してきました (図1)。一方、POU IV を導入することにより、感覚神経細胞の分化が異所的に誘導されることが知られていましたが、4種類の感覚神経細胞のうちのどれが分化するのかは不明でした。

そこで今回、POUIVを導入したホヤを用い、4種類の感覚神経細胞のうちどの感覚神経細胞の分化が誘導されるのかについて、詳細な解析を行いました。



図1: ホヤ幼生における神経板境界領域から派生する各感覚神経細胞の分布 前方から、4種類の感覚神経細胞PSCs、aATENs、pATENs、BTNsが存在する。 PSCs、aATENsは頭部プラコードの起源的な性質を、BTNsは神経堤細胞の起源的な性質を有している。これらの感覚神経細胞はお互いに運命変換が可能な良く似た性質を備えている。

研究内容と成果

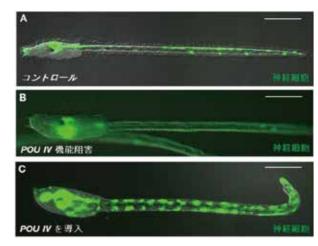


図2: POUIVの機能を阻害したホヤ幼生とPOUIVを導入したホヤ幼生の顕 微鏡写真

Aは野生型、BはPOUIVの機能を阻害したホヤ、CはPOUIVを導入したホヤ。神経細胞を緑色の蛍光で光らせている。POUIVの機能を阻害すると感覚神経細胞が完全に失われ、POUIVを導入すると感覚神経細胞が異所的に分化する。スケールバーは 100μ m。

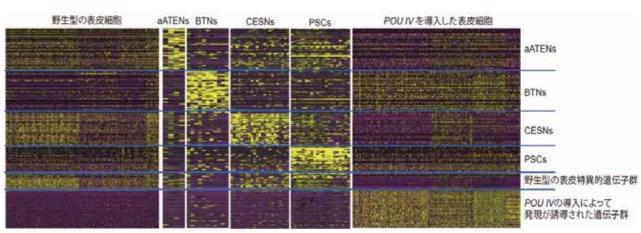


図3: ホヤ幼生野生型の表皮細胞、各感覚神経細胞 (aATEN, BTN, CESN, PSC) とPOUIV遺伝子を導入した表皮細胞の遺伝子発現のヒートマップ

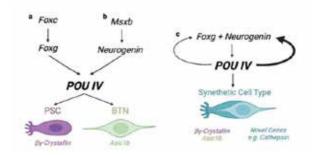


図4: PSCおよびBTN と、POU IV の導入によって生み出されたPSCとBTNの両方の性質を備えた細胞の遺伝子ネットワークの模式図

PSCではFoxcとFoxgを介して、BTNではMsxbとNeurogeninを介してPOU IVの発現が誘導される (左図)。POU IVの発現を誘導した細胞では、フィード バックループによってFoxgとNeurogeninの発現が誘導され、PSCとBTNの 両方の性質を備えた細胞が分化する (右図)。

まず、ホヤにおいて全ての感覚神経細胞に共通して発現する 転写因子POUIVの機能を調べました。その結果、POUIVの機能 を阻害した個体では、全ての感覚神経細胞の分化が阻害された ことから、POU IV は感覚神経細胞を作るために必要不可欠な運 命決定因子であることが分かりました(図2B)。次に、POUIVを 表皮全体に導入した個体について、感覚神経細胞の分化を調べ たところ、表皮全体にわたって感覚神経細胞が分化しているこ とが確認されました(図2C)。続いて、POUIVを表皮全体に導 入した個体の単一細胞トランスクリプトーム解析を行い、POU //を導入した細胞と各感覚神経細胞の遺伝子発現プロファイル を比較したところ、POU/Vを導入した細胞は、BTN、PSCと呼ば れる2つの感覚神経細胞のハイブリッドのような性質とともに、 特徴的な遺伝子発現を持つ独自の性質を持つ細胞に分化してい ることが明らかとなりました(図3)。さらに詳細な解析を行っ たところ、POU IVからBTNの運命決定因子であるNeurogenin、 および、PSCの運命決定因子であるFoxgへのフィードバックルー プが働いていることが分かりました(図4)。

つまり、*POU IV*の導入でBTNとPSCを作り出す遺伝子プログラムが働くことによって、BTNとPSCの両方の性質を備えた細胞が作り出されていると考えられます。加えて、本研究のような、

単一細胞トランスクリプトーム解析と情報生物学的な解析を組み合わせた研究手法が、リプログラミング(運命決定因子を導入して目的の細胞を作り出す)における細胞の分化状態の評価に対して有効であることも示されました。

今後の展開

堀江班では、POUIV以外にも、感覚神経細胞やその他の神経 細胞の分化に重要な役割を果たしている遺伝子を多数同定して おり、今後、さまざまな神経細胞が作られる仕組みを明らかにし ていく予定です。そして、これらの研究成果をもとに様々な神経 回路を人為的に作り出す手法を確立することを目指しています。

令和3年度~令和7年度 学術変革領域研究 (A) 神経回路センサスに基づく適応機能の構築と遷移バイオメカニズム 適応回路センサスニュースレター第1号



発行日:令和4年5月10日

編集人:藤山 文乃 発行人: 礒村 宜和

「適応回路センサス」領域事務局 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科細胞生理学分野 〒113-8519 東京都文京区湯島1-5-45 M&Dタワー17F

E-mail: acc-jimu.phy2@tmd.ac.jp https://ac-census.org/