

平成 27 年度 委託研究開発成果報告書【公開版】

1. 研究開発課題名と研究開発代表者名

事業名		脳科学研究戦略推進プログラム
研究開発課題名		情動の制御機構を解明するための神経情報基盤の構築（情動系神経情報基盤構築のための計算論的手法および実験動物の開発）
機関名		国立大学法人京都大学
研究開発	所属 役職	大学院情報学研究科 システム科学専攻 教授
担当者	氏名	石井 信

2. 研究開発成果の内容

①情動系に関わる細胞、回路基盤のためのインフォーマティクス法の開発

(1) 国立大学法人名古屋大学森研究室より提供された介在細胞 (AIY) の Ca^{2+} イメージングデータの解析を行った。自然に変化する温度入力を OU 過程に基づき設計し、それに対する、線虫温度走性系における AFD-AIY 間、および個体間の AIY 活性の相関を計算した。その結果、自然に変化する温度入力に対して、AIY 活性は高い再現性を示し、応答関数に基づき推定した AFD 活性とも高い相関が見られた。しかしながら、オクトパミンを与えた個体では再現性を示さず、推定 AFD 活性とも低い相関を持つ。この結果は、飢餓状態の個体に対する反応と類似しており、オクトパミンが AFD-AIY 回路におけるゲーティング機能によって飢餓状態を表現していることを示唆している。また、自由運動下で線虫の感じる温度空間を再構成することによって、線虫の行動と AFD 活性を結びつけた。これらにより、温度走性系において、AFD から AIY、行動までの多階層モデル化に成功した。

(2) これまで開発した三次元回路構造再構成法に新規の確率的最適化アルゴリズムを組み込むなどにより、分岐構造検知の精度を向上させた。効率とメモリ消費量の面では、分割統治法に基づく効率的な並列演算プログラムの開発により、大幅な改善が見られた。また、シナプス構造だけを含む画像の情報も利用したシナプス構造検出の新規アルゴリズムを開発した。さらに、広域ネットワークを介したサーバ・クライアント型データ通信システムを備えたデータベースフレームワーク (VVD: Versatile Volume Data system) の開発も行い、公開に必要な機能整備は完了した。アノテーションデータを表示可能にするインターフェースについては VVD ビュアーの一機能として実装した。また、ハワードヒューズ医科学研究所ジャネリアキャンパスに研究員を派遣し、先方機関に所属する大網博士と共同でデータ転送アルゴリズムの最適化と追加したユーザーインターフェースの改善を行った。INCF J-node に公開ポータルサイトを依頼した。以上により、モノアミン関連神経回路データベースの公開に向けた準備は完了した。

(3) HeLa 細胞に、Adenylate cyclase 1 (AC1) などを過剰発現させる一方、不要な分子をノックダウンすることにより、行動報酬の因果的順序検知を行うシグナル伝達を再構成し、行動報酬に対応する Ca^{2+} -DA 刺激を与える実験を進めた。この実験により、行動報酬の順序関係は Ca^{2+} 刺激（行

動)に遅れて活性化する AC1 活性が重要であることが確認された。さらに、点変異を用いた解析により、AC1 の遅延活性は AC1 の Ca²⁺直接結合部位が重要であることが明らかとなった。以上の知見を元に可塑性モデルの洗練化を行い、予測能力のある構造可塑性モデルとして完成させた。さらに、これまでにシナプス周囲に限って行っていたモデル化を、中型有棘細胞全体にわたる時空間モデルへと拡張し、コンピューテーショングループ学校法人沖縄科学技術大学院大学学園(吉本ら)が作成している受容体依存の中型有棘細胞・回路モデルと統合した。以上により、側坐核における分子、細胞、回路にわたる、モノアミンが駆動する多階層モデルを完成させた。

- (4) 扁桃体回路モデルを内側前頭前皮質の下辺縁皮質や扁桃体の外側核・中心核・核間細胞群を含むより現実的なものへと拡張し、それにより、恐怖条件付け学習・消去学習の確率的性質を再現することができた。さらにこの拡張モデルにより、近年報告された、光遺伝学による下辺縁皮質の活性・抑制により引き起こされる実験結果を統一的に説明することに成功した。また、神経細胞の活動時系列から方向付き相互作用を推定する方法として、活動時系列をベクトル自己回帰モデルとして記述しグレンジャー因果に基づき推定する手法を開発した。国立研究開発法人理化学研究所岡本グループより提供されたゼブラフィッシュの複数領野を同時観測したカルシウムイメージングデータに基づき、能動的忌避行動学習中の脳の異なる領野間の方向付き相互作用の推定を行った。
- (5) 課題 F 発達障害研究チーム国立大学法人名古屋大学(尾崎)と連携し、自閉スペクトラム症(ASD)および統合失調症(SZ)に関する DNA コピー数変動データから、ゲノム上稀イベントとこれら精神神経疾患の相関の有意性評価を検定多重性補正の下で行う手法を開発した。ASD および SZ と複数の遺伝子オントロジー項の間で、統計的有意性を主張できる相関を見出した。
- (6) イオン性高分子を多層化して表面修飾したシリカモノリスカラムを新たに開発し、親水性相互作用液体クロマトグラフィー(HILIC)-MS 解析に適用したところ、従来の逆相クロマトグラフィー-MS 解析と同等の分離効率と、3-10 倍の高感度化を実現した。また、安定同位体タグ(TMT-10plex)の新規固相標識ステップを含む前処理ワークフローを開発し、同定効率 5 倍、感度 9 倍の性能向上を実現した。得られた結果はリン酸化プロテオミクスデータベース KANPHOS に供した。

②情動情報が割り付けられる細胞同定のための遺伝子改変マウスの開発

情動学習刺激により活動した脳内の一部の特定の神経細胞群に選択的な任意の遺伝子操作を行うことができるように、c-fos tTA トランスジェニックマウスに Cre-loxP システムおよび AAV-FLEX ベクターによる遺伝子導入を組み合わせた汎用性の高い新規の遺伝子改変マウスのシステムの開発と適用を行った。課題 G において、リン酸化プロテオミクスおよびインタラクトーム解析により情動の制御・記憶機構に関与すると考えられる候補分子が同定されつつあるが、これらはあくまで候補分子であり、最終的にはこれらの分子が実際の情動系において果たす役割を明らかにする必要がある。そこで、実際に候補分子の一つの MEK (MAPK/ERK kinase) のドミナントネガティブ体・恒常活性型体の発現を誘導し、情動記憶の発現に対する行動の解析を行った。さらに、テタヌス毒素を用いた神経伝達抑制により、学習時に活動した神経細胞集団の活動が記憶の想起に必要であることを示した。また、いったん記憶情報が割り当てられた神経細胞の組み合わせが、再学習時にも使われると共

に、代替え補償が生じない仕組みが存在することを明らかにし、原著論文として公表した(Matsuo, *Cell Reports* 2015)。

また、情動系におけるグルタミン酸シグナル伝達機構を明らかにするために、活動神経細胞に選択的な AMPA 型グルタミン酸受容体のインタラクトーム解析を行った。手法の確立を行い、候補分子の同定を行った。一部の候補分子に関しては、その機能解析を行った。さらに、導入遺伝子の発現時期の制御をより厳密に行えるようにするために、tetO プロモーターの制御下で CreERT2 を発現する新たなトランスジェニックマウスの作製を行い、2 系統のファウンダーマウスを得ることができた。