理化学研究所

PRESS RELEASE

2023 年 5 月 12 日
理化学研究所

マーモセットの前頭前野結合マップを作成・公開

ー霊長類特有の神経回路構造にヒントー

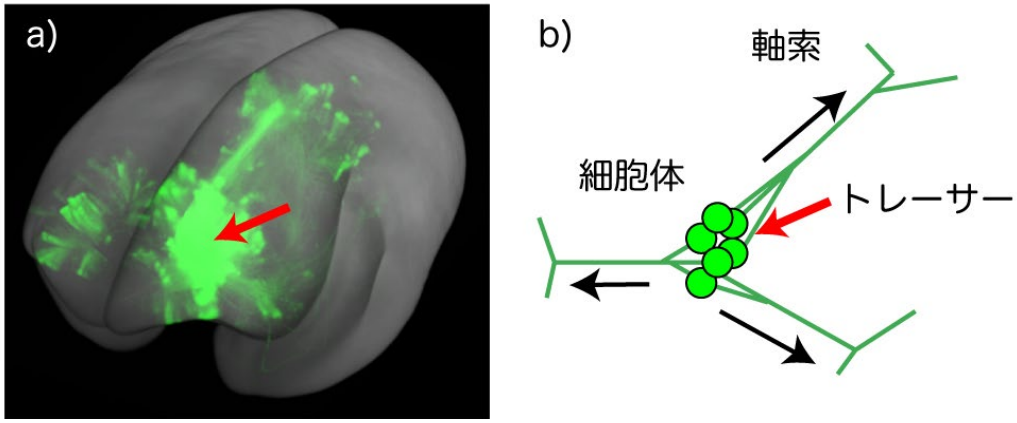
理化学研究所（理研）脳神経科学研究センター高次脳機能分子解析チーム（研究当時）の渡我部昭哉研究員（現触知覚生理学研究チーム研究員）、山森哲雄チームリーダー（研究当時、現触知覚生理学研究チーム客員主管研究員）、脳画像解析開発ユニットのヘンリック・スキッベユニットリーダーらの国際共同研究グループは、「コモンマーモセット[1]」（マーモセット）において、精神・神経疾患と関わりが深い大脳皮質前頭前野[2]が、脳の他の領域とどのようにつながっているかを詳細にマッピングし、神経結合データベースとして公開しました。

本研究成果は、霊長類特有の神経回路構造にヒントを与えるもので、ヒト脳の理解に貢献すると期待できます。本研究成果は、2014 年に開始した「革新脳プロジェクト」における代表的な研究成果です。

マーモセットは、ニホンザルなどに比べるとはるかに小型でありながら霊長類特有の脳構造を持ち、神経科学のモデル動物として注目されています。

今回、国際共同研究グループは最新鋭の神経トレーサー[3]技術、イメージング技術を用いたマッピングにより、マーモセットの大脳皮質前頭前野と他の皮質領野との神経結合を高精細に 3 次元（3D）で再現することに成功しました。解析の結果、この結合がマウスには見られない特徴的な「柱（カラム）型の結合」と「弱い拡散型の結合」の 2 種類から成り立つことを示しました。今回得られたデータを使えば、さまざまな定量的な解析が可能になり、マーモセットのみならずヒトを含めた霊長類の脳研究が加速すると考えられます。

本研究は、科学雑誌『*Neuron*』オンライン版（5 月 16 日付：日本時間 5 月 17 日）に掲載されます。



マーモセット脳の前頭前野から伸びる神経軸索の 3D 画像（a）と順行性神経トレーサー（b）

背景

現在、日本の精神疾患の患者数は 419 万人[注 1)] と非常に多く、社会的問題になっています。精神疾患は脳の働きの異常によって起こると考えられ、その治療法開発には脳の構造と機能を知ることが重要です。このような背景から、さまざまな方法で脳の全体像を明らかにしようという脳研究プロジェクト[4]が世界中で始まっています。日本では、「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（革新脳）」が 2014 年に発足しました。革新脳プロジェクトの特徴は、小型霊長類マーモセットを研究の主軸としてヒトを含む霊長類脳の理解を深めようという点です。

ヒトの脳は、およそ 1,000 億個の神経細胞が相互に連結して回路を作る、複雑な計算機と見なせます。脳のどの場所のどの神経細胞同士が連結しているかは、脳の機能と直結しており、古くから盛んに研究されてきました。しかし、脳の複雑な構造を解明するのは容易ではなく、新しい技術が開発されるたびに発見があり、理解が深まってきました。

本研究では、精神・神経疾患と関わりが深いとされる大脳皮質前頭前野に着目し、マーモセットの前頭前野と他領域の結合を最新技術で探索し、今後の脳研究に資する公開データベースを作成することを試みました。

注 1）2020 年厚生労働省「精神疾患を有する総患者数の推移」
https://www.mhlw.go.jp/content/12200000/000940708.pdf

研究手法と成果

ヒトの脳を理解するにはモデル動物が欠かせません。マーモセットの脳の重さはアカゲザルの約 10 分の 1、ヒトの約 170 分の 1 と霊長類としては小型ですが、その大脳皮質は霊長類特有の構造を示します。一方神経科学研究によく用いられるマウス（マーモセットの約 30 分の 1）の大脳皮質前頭前野は、霊長類のものとかなり異なっています。このことから、霊長類脳を理解する上でマーモセットは適切なモデル動物と考えられます。

近年、イメージング技術の進歩やコンピュータの性能向上などに伴い、脳の神経回路の全体像、いわゆる「コネクトーム[5]」を明らかにしようという試みがさまざまなレベルで行われていますが、霊長類では他のモデル動物種（マウスなど）に比べると、顕微鏡レベルのコネクトーム研究は遅れています。

国際共同研究グループは、順行性神経トレーサー[3]をマーモセット大脳皮質前頭前野のさまざまな箇所に注入し、その位置に存在する神経細胞から伸びる神経線維の全体を蛍光標識しました（図 1）。

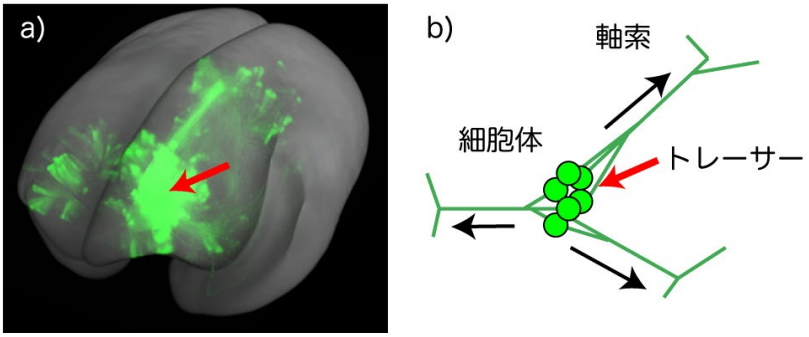


図 1 マーモセット大脳皮質前頭前野から伸びる神経軸索の 3D 画像と順行性神経トレーサー

a) トレーサーを注入した脳の全脳イメージングデータから大脳皮質のトレーサーシグナルを取り出し、3D 再構成したもの。赤矢印がトレーサー注入部位。

b) 順行性トレーサーは、神経細胞の細胞体から取り込まれ、軸索を通して神経終末まで運ばれ、神経細胞全体を蛍光で標識する。この図は、複数のニューロンから伸びる軸索が束になり、終末で分岐する様子。

次に、2 光子連続トモグラフィー（STPT）法[6]を用いた全脳イメージングを行い、前頭前野からの神経連絡マップを作成しました（図 2）。この方法では、神経細胞の軸索[7]1 本 1 本を判別できるほどの高い解像度で脳の連続切片を撮像し、イメージプロセシングパイプライン[8]を経て、解析可能なデータに変換します。その結果、脳の 3 次元（3D）構造を高精度に再現することが可能です。

図 2 は、前頭前野の 8aD 野と呼ばれる領域へ順行性神経トレーサーを注入した例です。一見して、特徴的な柱（カラム）状のシグナルの塊が林立していることが分かります。このような「カラム構造」の存在は半世紀前から報告されていましたが、今まで系統だって解析されたことはありませんでした。このカラム構造の定量的な解析は、高精度 3D マッピングによって初めて可能になった成果の一つです。

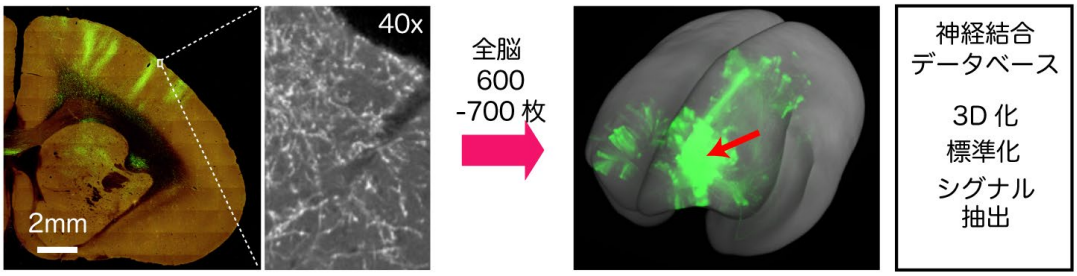


図 2　2 光子連続トモグラフィー（STPT）法による高解像度 3D イメージング

（左）1 回の撮影で約 1mm 四方の範囲を高解像度（約 1.3μm/ピクセル）で撮像できる。ミクロトームで表面を切削後、電動ステージで全切削表面を撮像し、この動作を 600～700 回繰り返すことで脳全体の画像イメージを取得できる。緑色のカラム構造の断面が見られる。

（右）取得した画像を統合すると、脳全体の 3D 画像が得られる。個別の脳を標準化し、さらに順行性神経トレーサーのシグナルを背景画像から抽出したものを解析に使う。これらのデータは、公開したデータベースに登録されている。緑色のカラム構造が見られる。赤矢印は神経トレーサーの注入部位。

図 3a に示すように、大脳皮質は立体的に湾曲していて、そのままでは解析し

にくいため、皮質部分を平面に展開したフラットマップを作成しました（図 3b）。この際、大脳皮質の層構造を保ったままで平面化すると、カラム構造がフラットマップに対して垂直になるため解析しやすくなります（図 3c）。

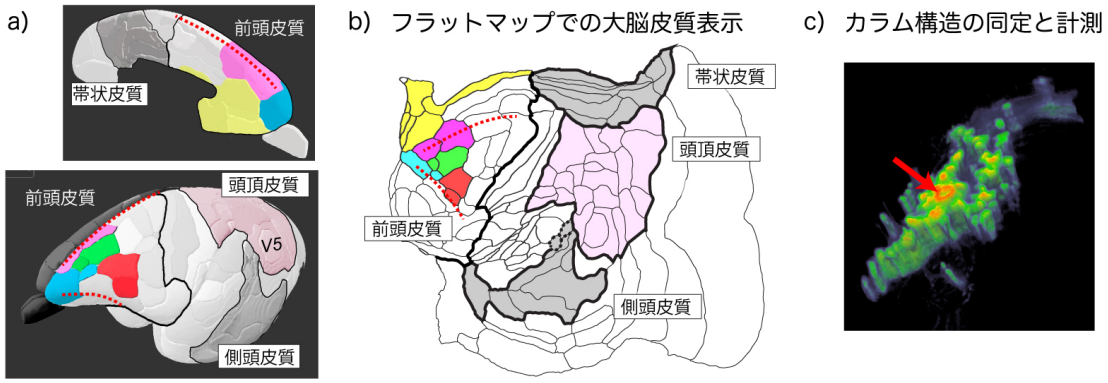


図 3 フラットマップによる大脳皮質の解析

a) 前頭皮質の一部である大脳皮質前頭前野領域（黄・青・緑・ピンクで塗った領域など）は、少し離れた帯状皮質、頭頂皮質、側頭皮質と連絡する。
b) a の大脳皮質領域をフラットマップに展開した図。
c) フラットマップを立体化したフラットマップスタックにより、図 2 の神経トレーサー注入部位周辺を表示したもの。フラット化によりカラム（柱）状のシグナルが垂直方向にそろい、解析がしやすくなる。赤矢印は神経トレーサー注入部位。

この手法を使って、カラム状シグナルの分布やその形状を調べ、大脳皮質の三つの領域、すなわち帯状皮質[9]、頭頂皮質[9]、側頭皮質[9]においては、それぞれ前頭前野（前頭皮質[9]の一部）内のトレーサー注入位置に応じた分布を示すことを見いだしました（図 4）。このようなカラム状シグナルの分布パターンは、マウスではマーモセットほど明確ではなく、霊長類特有の神経回路構造に寄与していると考えられます。

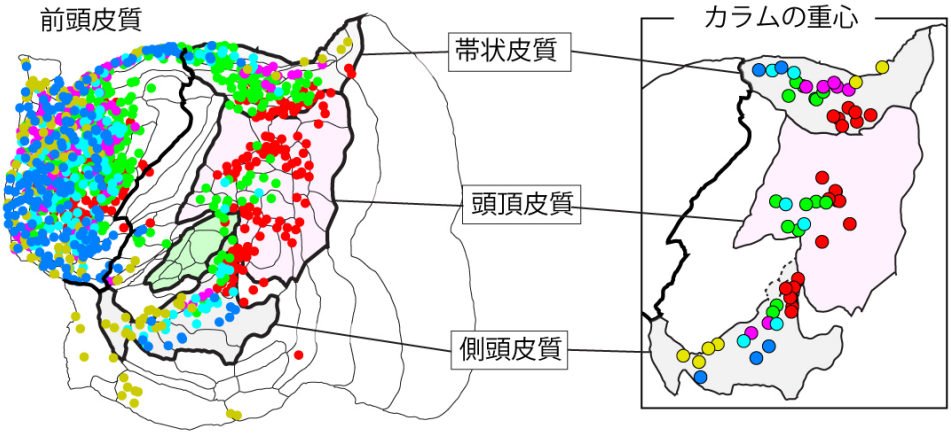


図 4 カラム状シグナルの分布

（左）大脳皮質前頭前野（前頭皮質の一部）のさまざまな副領域への注入から生じるカラム状シグナルの分布を示した。一つの注入からは複数のカラム状シグナルが生成する。
（右）注入ごとにカラム状シグナルの重心を示したもの。異なる色は、異なる領域からのシグナルを示す。このシグナルの分布は、大脳皮質前頭前野での位置関係が反映されている。

さらに、カラム状シグナル以外に、強度は弱いながらも広範囲に広がる拡散的シグナルが存在することから、前頭前野から他の大脳皮質領域への神経結合は「カラム型結合」と「拡散型結合」の 2 種類から構成されていることが明らかになりました。

今後の期待

今回の新しい神経連絡マップの特徴は、全てのデータがデジタル化され定量的な解析が可能なことです。これらのデータを基に、前頭前野と他の脳領域の神経連絡をかなりの高精度で予測できるようになりました。この情報はマーモセットを使った脳研究を加速するだけでなく、マーモセットよりずっと大きい脳を持つマカクザル類や、ヒトの研究にも役立つと期待できます。

近年、磁気共鳴画像（MRI）[10]を用いた基礎研究や臨床診断が進展していますが、MRI 画像をより正確に解釈するためには、全脳の神経連絡マップと MRI 画像の比較が重要です。現在、国際共同研究グループは全大脳皮質の神経連絡マップの構築を目指して、前頭前野以外の大脳皮質領域の調査を続けており、今後、より包括的な霊長類脳の理解が進むと期待されます。

論文情報

＜タイトル＞
Local and long-distance organization of prefrontal cortex circuits in the marmoset brain
＜著者名＞
Akiya Watakabe, Henrik Skibbe, Ken Nakae, Hiroshi Abe, Noritaka Ichinohe, Muhammad Febrian Rachmadi, Jian Wang, Masafumi Takaji, Hiroaki Mizukami, Alexander Woodward, Rui Gong, Junichi Hata, David C. Van Essen, Hideyuki Okano, Shin Ishii, Tetsuo Yamamori
＜雑誌＞
Neuron
＜DOI＞
10.1016/j.neuron.2023.04.028

補足説明

[1] コモンマーモセット
南米原産の小型のサル。成体でも体重 300～500g 程度で、生後 1 年半から 2 年で繁殖が可能になる。アカゲザル、カニクイザル、ニホンザルなどのマカクザル類に比べると繁殖力が高く、取り扱いも比較的容易である。遺伝子操作が可能なこと、社会性が高いこと、発達した視覚皮質、前頭前皮質を持つことなどから、神経科学に適したモデル動物として注目されている。

[2] 大脳皮質前頭前野
大脳皮質は、脳の外側に位置する灰白質の層であり、特に前頭葉は認知機能を担う主

要な部位の一つである。その前部に位置する前頭前野は、計画的、社会的な行動や感情の調節などに関わっている。前頭前野の障害は、注意欠陥・多動性障害（ADHD）や、双極性障害、統合失調症、うつ病、強迫性障害など多くの精神疾患の原因になると考えられている。霊長類の前頭前野は、面積が大きいだけでなく、マウスにはない顆粒層を持つ領域が含まれるなどよく発達している。

[3] 神経トレーサー、順行性神経トレーサー

神経細胞の細胞体は 10～100μm 程度の大きさしかないが、そこから数 mm に及ぶこともある軸索が伸びて、遠隔地に電気インパルスを伝える。この神経連絡経路を可視化する方法として、神経トレーサー技術が開発された。神経トレーサーには、主に順行性と逆行性の 2 種類がある。順行性トレーサーは、細胞体から取り込まれたアイソトープ（同位体）、蛍光物質などが、軸索を通って遠隔地に輸送されることで、神経連絡を可視化する。一方、逆行性トレーサーは、神経終末から取り込まれた蛍光物質などが細胞体まで逆方向に輸送されることで、神経連絡の起始点を可視化する。本研究では、アデノ随伴ウイルス（AAV）を改変し、高輝度に蛍光標識できるトレーサーを用いた。

[4] 脳研究プロジェクト

日本の「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（革新脳）; Brain/MINDS Project」以外に、アメリカの「BRAIN Initiative」、ヨーロッパの「Human Brain Project」、中国の「China Brain Project」など、さまざまな目標を掲げた大型の脳プロジェクトが、2013 年ごろから世界各国で発足した。

[5] コネクトーム

全ての神経細胞の全てのつながり、すなわち神経回路の全体像を意味する。線虫やショウジョウバエでは電子顕微鏡を使ったコネクトーム解析が可能になったが、哺乳類脳で同じレベルの解析をすることはまだ遠い目標である。しかし、核磁気共鳴画像（MRI）や、2 光子連続トモグラフィー（STPT）法などの全脳イメージング技術を使って、mm レベル、μm レベルの構成単位同士のつながりの包括的な調査は盛んに行われており、マクロコネクトーム、メゾコネクトームなどと呼ばれている。

[6] 2 光子連続トモグラフィー（STPT）法

2012 年に Ragan らによって報告された全脳イメージングを可能にする技術。2014 年のアレン脳科学研究所によるマウスメゾコネクトームプロジェクトでは、この方法が採用され、マウス全脳データベースが作られた。この方法では、電動ステージと 2 光子顕微鏡をコンピュータ制御して、部分画像をつなぎ合わせることで切削表面全体の画像を取得し、さらにミクロトームの動作を連動して連続切片撮像を行うことにより、脳全体の撮像を可能にした（図 2 参照）。STPT は Serial two-photon tomography imaging の略。

[7] 軸索

神経細胞は、おおまかに樹状突起、細胞体、軸索、神経終末から成り立つ。遺伝情報を収納する細胞核を収めるのが細胞体である。樹状突起は電気信号を受け取るアンテナであり、受け取った信号は細胞体で統合され、さらに次の神経細胞に伝達される。この際、信号（電気インパルス）を伝えるケーブルとして使われる長い突起が軸索である。一つの神経細胞からは一つの軸索が生じるが、この軸索は何本もの側枝を出し、

複数箇所に到達する。それぞれの場所の終末（神経終末）でシナプスが作られ、次の神経細胞にシグナルが伝達される。

[8] イメージプロセシングパイプライン

2 光子連続トモグラフィー法では、1 切片あたり数百枚に分割された画像が、切片の数だけ生成される。この生データを利用可能な形に画像処理（イメージプロセシング）する作業工程をパイプラインと呼ぶ。具体的には、分割画像の貼り合わせ（ステッチング）、トレーサーシグナルの識別・分離、注入部位の同定、3 次元画像の標準脳への位置合わせなどが含まれる。

[9] 帯状皮質、頭頂皮質、側頭皮質、前頭皮質

大脳皮質は、視覚野、聴覚野、運動野など、特定の機能を受け持つ多くの皮質領野から成り立つ。そのうち、大脳皮質内の情報統合に特化した領域を連合野と総称する。連合野は、脳の部位に応じて、前頭皮質（前頭葉）の一部である前頭前野、帯状皮質（帯状回）、頭頂皮質（頭頂葉）、側頭皮質（側頭葉）と呼ばれている（図 3 参照）。

[10] 磁気共鳴画像（MRI）

高磁場中における水素原子などの核スピンの共鳴現象により、断面撮像を行う装置。生体の内部構造を破壊せずに撮像できるため、病院での画像診断に広く使われるほか、脳研究においても威力を発揮している。特に、拡散強調イメージング（DWI）や機能的 MRI（f-MRI）などの応用技術を使えば、脳の神経連絡を推測できる。MRI は Magnetic Resonance Imaging の略。

国際共同研究グループ

理化学研究所　脳神経科学研究センター

高次脳機能分子解析チーム（研究当時）

研究員	渡我部昭哉（ワタカベ・アキヤ）
（現　触知覚生理学研究チーム	研究員）
研究員	阿部　央　（アベ・ヒロシ）
（現　触知覚生理学研究チーム	研究員）
研究員	高司雅史　（タカジ・マサフミ）
（現　触知覚生理学研究チーム	研究員）
テクニカルスタッフ（研究当時）	張田由希　（Jian Wang）
チームリーダー（研究当時）	山森哲雄　（ヤマモリ・テツオ）
（現　触知覚生理学研究チーム	客員主管研究員）

脳画像解析開発ユニット

ユニットリーダー	ヘンリック・スキッベ（Henrik Skibbe）
基礎科学特別研究員	ムハンマド・フェブリアン・ラフマディ（Muhammad Febrian Rachmadi）

コネクトミクス開発ユニット

ユニットリーダー	アレクサンダー・ウッドワード（Alexander Woodward）
研究員	ルイ・ゴン（Rui Gong）

自然科学研究機構　生命創生探究センター

特任准教授	中江　健　（ナカエ・ケン）

国立精神・神経医療研究センター
　部長　一戸紀孝　（イチノヘ・ノリタカ）
自治医科大学　分子病態治療研究センター
　教授　水上浩明　（ミズカミ・ヒロアキ）
東京都立大学大学院　人間健康科学研究科
　准教授　畑　純一　（ハタ・ジュンイチ）
セントルイス・ワシントン大学（米国）　医学部
　教授　デイビッド・ヴァン・エッセン
　（David C. Van Essen）
慶應義塾大学　医学部
　教授　岡野栄之　（オカノ・ヒデユキ）
京都大学大学院　情報学研究科
　教授　石井　信　（イシイ・シン）

研究支援

本研究は、日本医療研究開発機構（AMED）「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（革新脳）」の「マーモセット脳の構造マップ（領域代表者：山森哲雄）」による助成を受けて行われました。

発表者・機関窓口

＜発表者＞　※研究内容については発表者にお問い合わせください。
理化学研究所　脳神経科学研究センター
　高次脳機能分子解析チーム（研究当時）
　　研究員　渡我部昭哉（ワタカベ・アキヤ）
　　（現　触知覚生理学研究チーム　研究員）
　　チームリーダー（研究当時）　山森哲雄　（ヤマモリ・テツオ）
　　（現　触知覚生理学研究チーム　客員主管研究員）
　脳画像解析開発ユニット
　　ユニットリーダー　ヘンリック・スキッベ（Henrik Skibbe）

＜機関窓口＞
理化学研究所　広報室　報道担当
Tel: 050-3495-0247
Email: ex-press [at] ml.riken.jp

※上記の[at]は@に置き換えてください。