

自由行動下マウス脳の長期活動を捉える新たな解析手法を開発

脳内の神経活動を解析する新しい手法により、自然に活動する動物脳内の神経活動を 99 日間以上追跡することが可能になりました。この技術は、撮影のセッションをまたぐデータを高精度に解析できます。記憶の仕組みや神経疾患の進行解明に役立つ重要な研究ツールとして期待されます。

自由に行動し、自然な睡眠を取るマウスの脳内神経活動を可視化するための手法として、超小型顕微鏡によるカルシウムイメージングが広く用いられています。しかし、この手法は、複数のイメージングセッションをまたぐ神経細胞集団の分析において、セッション毎に変化する撮影視野や脳組織の微細な変形を扱うことができず、集団内の同一の細胞を正確に対応付けることが困難でした。

本研究ではこの課題を解決するために、新たな解析手法「CaliAli (Calcium Imaging inter-session Alignment)」を開発しました。CaliAli では、各解析で撮影されたさまざまな情報を段階的に利用して画像の位置のずれを補正し、すべての解析データを柔軟に重ね合わせて連結動画を構築します。連結された動画に対して、最適化したアルゴリズムで神経信号を一括抽出し、ノイズや重複検出を自動的に排除する機能も備えています。この手法により、一般的な超小型顕微鏡を用いて同一の神経細胞集団を、最大 99 日間にわたり継続的に追跡・記録することに世界で初めて成功しました。CaliAli は、記憶形成・保持のメカニズムや、神経疾患の進行といった長期的な神経活動の変化を解明するための強力なツールとして期待されます。

研究代表者

筑波大学 医学医療系／国際統合睡眠医科学研究機構 (WPI-IIIS)

坂口 昌徳 准教授

研究の背景

脳の神経細胞は、記憶や学習など重要な脳機能を司っています。これらの細胞が長期間にわたりどのように活動を維持・変化させるのかを調べることは、記憶形成や脳疾患のメカニズムを理解する上で非常に重要です。

そのための手法の一つとして、小型顕微鏡（ミニスコープ）^{注1)}を用いた1光子カルシウムイメージング法^{注2)}があり、これにより動物が自由に動き回る状態での脳活動の観察が可能となりました。しかし、イメージングセッションをまたいだ観察では、動物の動きや脳組織の微妙な変化で撮影視野がずれるため、同一の神経細胞を正確に追跡することは困難でした。

この課題に対処するため、本研究では、イメージングデータ内で利用できるさまざまな情報を統合的に利用することで、複数日の観察データを一括で解析する新たな手法「CaliAli (Calcium Imaging inter-session Alignment)」を開発しました。この手法では、各解析で撮影されたさまざまな情報を段階的に利用して画像の位置のずれを補正し、すべての解析データを柔軟に重ね合わせて連結動画を構築します。連結された動画に対して、最適化したアルゴリズムで神経信号を一括抽出し、ノイズや重複検出を自動的に排除する機能も備えています。本研究では、自由行動下のマウスを対象に、その性能を検証しました。

研究内容と成果

まず、自由行動下のマウスに対して、CaliAli を用いて海馬を構成する領域の一つである CA1 領域における神経活動データを解析し、従来法と比較して、弱いカルシウムシグナルの検出感度が向上し、場所細胞と呼ばれる海馬ニューロンの空間情報表現（空間コード）の精度が高まることを確認しました。また、光遺伝学的標識（オプトジェネティック・タギング）^{注3)}の実験により、別の海馬の領域である歯状回^{注4)}の特定の神経細胞集団をあらかじめ光応答性タンパク質でタグ付けし、その状態で CaliAli を用いて複数日にわたる歯状回ニューロンの活動を追跡したところ、タグ付けした同じニューロンを、週単位の離れたイメージングセッション間でも正確に同定することができました。この結果は、CaliAli によって長期にわたるニューロンのトラッキング精度が飛躍的に向上することを意味しています。同じ歯状回ニューロン集団の活動を 99 日間連続して測定することにも成功し、集団としての活動パターンがその期間にわたり安定していることも明らかになりました（参考図 A）。このような長期間にわたる同一ニューロン集団の追跡記録は極めて異例であり、本手法の有効性が示されました（参考図 B）。

以上のことから、CaliAli を用いることで、脳内の神経ネットワークの活動動態を長期間にわたり詳細に追跡できることが明らかになりました。

今後の展開

CaliAli により、記憶が数か月にわたって維持・再編成される様子や、学習に伴う神経回路の微細な変化、さらにはアルツハイマー病など神経疾患の進行に伴うネットワーク変容など、これまで観察が困難だった長期スパンの脳現象を解明できるようになると期待されます。今後は、本手法を記憶の長期追跡実験に適用し、長期間保たれる記憶痕跡（エングラム）のメカニズム解明や、新生ニューロンが関与する回路変化の追跡などを進める予定です。

また、本手法はマウス以外の動物や他の脳領域にも応用可能であり、広範な神経科学研究に役立つと考えられます。将来的には、記憶障害や神経変性疾患への介入法の開発や、AI 技術との融合により長期間の脳の状態を予測・評価する新しい医療ツールにつながる可能性があります。

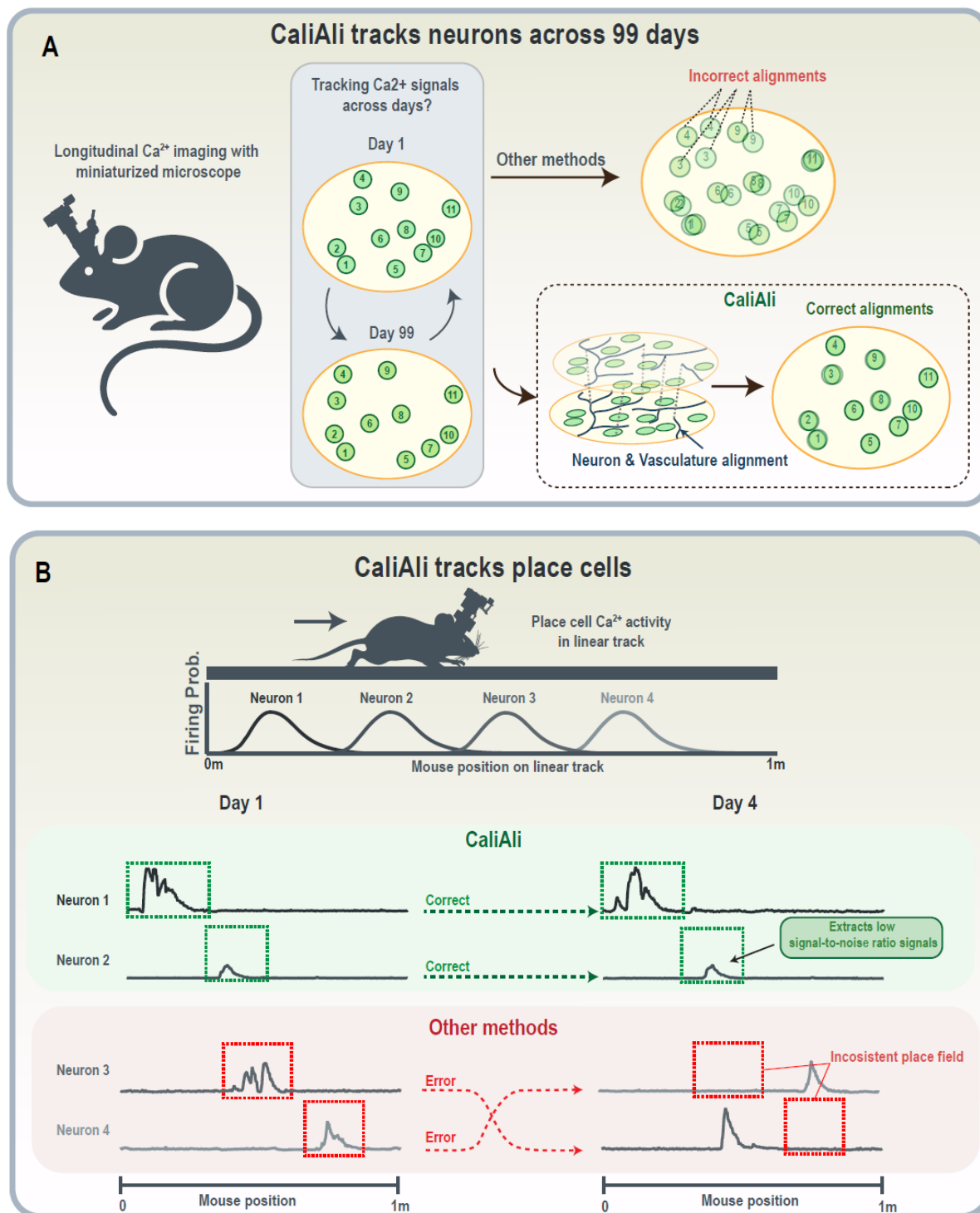


図 本研究で開発した CaliAli 手法の概要と成果

(A) 頭部に小型顕微鏡を装着したマウスから海馬の神経活動を複数日にわたって記録し、各解析の画像から血管（青）と神経細胞（緑）の形状を抽出して重ね合わせる。複数セッションのデータを連結して解析することで、同じ神経細胞（図中の同じ色の細胞）が日をまたいだ解析でも対応付けられる。

(B) 従来法では正しく対応付けることが難しかった微弱な信号も CaliAli によって検出可能となり、例えば海馬で記憶に関わる場所細胞の活動パターンを各セッションで安定して観測できるようになった。また、タグ付けした細胞（赤）も時を隔てた解析で同一に識別され、99 日間にわたる長期追跡を実現したことを示す。

用語解説

注1) 小型顕微鏡（ミニスコープ）

被験者の頭部に装着可能な超小型の顕微鏡装置。マウスなど小動物の脳に組み込んだレンズを通して蛍光信号を記録し、動物が自由に行動している状態で脳内の細胞活動を観察できる。

注2) 1光子カルシウムイメージング法

神経細胞が活動する際に生じるカルシウムイオンの濃度変化を指標として、その活動を可視化・記録する手法。マウスの脳内に蛍光カルシウム指示薬（カルシウムセンサー）を発現させ、頭部に取り付けた1光子検出型の小型蛍光顕微鏡で体内の蛍光変化を記録する。深度数百マイクロメートル程度までの脳活動を観察できる。

注3) 光遺伝学的標識（オプトジェネティック・タギング）

特定の神経細胞集団に、光感受性のイオンチャネルなどのタンパク質を発現させておき（タグ付け）、光刺激によってその細胞だけを興奮させることで、記録中にその細胞の存在を確認・識別する技術。この方法でタグ付けされた細胞は、他の細胞と区別して追跡できる。

注4) 歯状回（しじょうかい）

記憶に重要な海馬の一部を構成する領域。新しい記憶の形成に重要な役割を果たすと考えられ、成体の脳でも新生ニューロンが供給される数少ない部位として知られる。

研究資金

本研究は、世界トップレベル研究拠点プログラム（WPI）、AMED ムーンショット型研究開発事業（JP21zf0127005、JP23wm0525003）、日本学術振興会科学研究費補助金（JP24H00894、JP23H02784、JP22H00469、JP16H06280、JP20H03552、JP21H05674、JP21F21080）、武田科学振興財団、上原記念生命科学財団、三菱財団、G-7 奨学基金の支援を受けて実施されました。

掲載論文

【題 名】 A comprehensive suite for extracting neuron signals across multiple sessions in one-photon calcium imaging.

（複数セッションにまたがる1光子カルシウムイメージングから神経信号を抽出する包括的手法）

【著者名】 Pablo Vergara*, Yuteng Wang, Sakthivel Srinivasan, Zhe Dong, Yu Feng, Iyo Koyanagi, Deependra Kumar, Yoan Chérasse, Toshie Naoi, Yuki Sugaya, Takeshi Sakurai, Masanobu Kano, Tristan Shuman, Denise Cai, Masashi Yanagisawa, Masanori Sakaguchi*

【掲載誌】 *Nature Communications*

【掲載日】 2024 年 4 月 11 日

【DOI】 10.1038/s41467-025-58817-z

問い合わせ先

【研究に関すること】

坂口 昌徳

筑波大学 医学医療系 准教授／国際統合睡眠医科学研究機構（WPI-IIIS）主任研究者

URL: <https://sakaguchi-lab.org>

【取材・報道に関すること】

筑波大学 国際統合睡眠医科学研究機構（WPI-IIIIS）広報担当

E-mail: wpi-iiis-alliance@ml.cc.tsukuba.ac.jp