

令和 4 年度 防衛装備庁
安全保障技術研究推進制度

研究成果報告書

超広域リアルタイムイメージングと光操 作による脳高次機能の解析

令和 5 年 5 月

国立研究開発法人 理化学研究所

本報告書は、防衛装備庁の安全保障技術研究推進制度による委託業務として、国立研究開発法人理化学研究所が実施した令和4年度「超広域リアルタイムイメージングと光操作による脳高次機能の解析」の成果を取りまとめたものです。

1. 委託業務の目的

1. 1 研究課題の最終目標

本研究では、運動の意図の形成および運動制御の脳内メカニズムの解析に用いることができる、リアルタイムに計測した広範囲のニューロン活動の時空間パターンをもとに、その活動を操作する光刺激を加えることが可能な以下の性能を有する光学システムの開発を目指す。

- ・ 440nm の励起光を用いて 480nm および 540nm の蛍光を測定する蛍光カルシウムセンサー yellow cameleon2.60 (YC2.60)を用いた蛍光カルシウムイメージングにより、マウス的大脑および小脳のニューロン活動を 100Hz、10 $\mu\text{m}/\text{pixel}$ および 60Hz、2 $\mu\text{m}/\text{pixel}$ の時空間解像度で計測可能
- ・ マウス大脑および小脳から得られた蛍光シグナルをもとに、脳の各領野に含まれる様々な周波数帯 (<0.1Hz~50Hz) のシグナル強度をオンラインで解析可能
- ・ オンラインで解析した脳の各領野のシグナル強度をもとに、590 nm の刺激光を用いて脳の任意の領野を任意の周波数 (<0.1Hz~50Hz) で光刺激可能

1. 2 最終目標を実現するために克服又は解明すべき要素課題

(1) 光刺激用光学系の作製

ニューロンは600Hz以下で活動していることが知られており、その活動を操作するためには、1kHz以上の周波数で時空間パターンを更新できる光刺激装置を作製する必要がある。市販のDMD (Digital Micro mirror Device)を用いた光刺激装置では、1kHz以上の周波数で動作可能であるが、意図した空間パターン以外への光刺激の漏れがあることが知られており、この問題を解決する必要がある。

(2) 光刺激制御用ソフトウェアの作成

個体毎、施行毎に異なり、かつ領域毎に様々なリズムで変化するニューロン集団の活動パターンを人為的に変化させてマウスの行動を変えるために、計測されたニューロン活動をリアルタイムで解析し、マウスの行動に即したタイミングで適した領野に適したパターンで光刺激を与えることが可能なソフトウェアを作成する必要がある。

(3) 運動中のマウスの脳活動の計測と光刺激によるニューロン活動の操作

(2)で作成したシステムを用いて、自発的にレバー押し運動を行っているマウスの脳活動を計測し、様々な脳の領域のニューロン活動を光刺激により変化させ、行動の変化を観察し、システムが想定した通りに動作することを確認する必要がある。

1. 3 要素課題に対する実施項目及び体制

これらの要素課題に取り組むため、国立研究開発法人理化学研究所では、以下に示す(1)~(4)を実施する。

(1) 光刺激用光学系の作製 (担当：理化学研究所) (要素課題(1)に対応)

1kHz以上の周波数で動作可能なDMDを用いてパターン照明システムを構築する。このとき、意図した空間パターン以外への光刺激の漏れがないように、パターン照明光の空間フィルタリングを行う。また、ニューロン活動の計測時に誤って光刺激することがないように、ニューロン活動の計測のためには、440nmの励起光により480nmおよび540nmの蛍光シグナルを発する蛍光カルシウムセンサー(yellow cameleon 2.60 (YC2.60))を特定の種類のニューロンに発現させたトランスジ

エニックマウスを用い、ニューロン活動を活性化する光感受性イオンチャネルおよび抑制する光感受性イオンポンプには、波長が440nmから大きく離れた590nmの光に感受性を持つ光遺伝学ツールであるChRmine、C1V1およびeNpHR3.0を用いる。このように大きく異なる励起波長を用いることによって、ニューロン活動を計測すると同時に光刺激を可能とする光学システムを構築する。光遺伝学ツールは、マウスの静脈に注入することでニューロンに目的タンパク質を発現可能なアデノ随伴ウイルスを用いて、蛍光カルシウムセンサーを発現するニューロンそれぞれに導入する。

(2) 光刺激制御用ソフトウェアの作成 (担当: 理化学研究所) (要素課題(2)に対応)

国立研究開発法人理化学研究所において作成したオフラインでの解析のための大規模イメージングデータ解析用プログラムをもとに、以下に示すリアルタイムで光刺激の条件設定に必要な情報を抽出可能なアルゴリズムを作成し、顕微鏡制御ソフトウェアに実装する。

・大脳皮質及び小脳皮質の機能ユニットの同定

本実験に使用するマウスの大脳及び小脳からあらかじめ短時間計測したイメージングデータをもとに、二波長の蛍光画像のアライメントを行い、独立成分分析を用いて同期発火するニューロン群からなる機能ユニットを同定する。

・脳活動が示す振動の位相の同定

上記の機能ユニットのニューロン活動の時間変動から、それぞれのユニットが示す振動の位相を求め、リアルタイムに測定しているデータの数秒先の位相を予測する。

・マウスがレバーを押すタイミングの検出及び刺激パターンの決定

マウスの行動は、ロータリーエンコーダーによるレバー角度の計測、及び頭蓋骨と報酬の水を出す金属製の吸い口の間電位差によるリッキングの検出によりリアルタイムに測定する。これらの行動のモニタリングに加え、リアルタイムに計測している脳活動をもとに、レバーを押すタイミングの予測を行い、運動の様々なタイミングで光刺激を与える脳部位、持続時間、刺激周波数を決定する。

(3) 運動中のマウスの脳活動の計測と光刺激によるニューロン活動の操作 (担当: 理化学研究所) (要素課題(3)に対応)

大脳皮質錐体細胞及び小脳皮質プルキンエ細胞に蛍光カルシウムセンサーを発現させたマウスの頭蓋骨をガラスに置き換える外科手術を施す。

術後十分に回復したマウスを顕微鏡の下に固定し、自発的にレバーを押すと報酬の水が得られるタスクを学習させる。20秒に1回以上自発的にレバーを押す状態まで学習が進んだマウスについて、レバー押し運動中の脳活動を計測する。ニューロン活動に基づき、様々な領域のニューロン活動を様々なタイミングで抑制もしくは活性化し、その時のマウスの行動の変化からニューロン活動と運動制御の因果関係を調べる。マウスの行動解析には、レバー角度とリッキングのタイミングの検出に加え、マウスの顔や身体を映したビデオムービーから深層学習を利用した動画トラッキングツール (DeepLabCut) を用いてトラッキングを行い、身体の運動を定量化する。

2. 研究開始時に設定した研究目標の達成度

- ・ 440nm の励起光により 480nm および 540nm の二波長の蛍光を 100Hz、10 $\mu\text{m}/\text{pixel}$ および 60Hz、2 $\mu\text{m}/\text{pixel}$ の時空間解像度で同時に計測可能な顕微鏡を作成した。
- ・ 事前に同一のマウスから同定した大脳皮質および小脳皮質の機能単位 (セグメント) を、測定中の同一個体のイメージング画像にアライメントを行う機能を実装した。さらに、機能セグメントの様々な周波数帯 (<0.1Hz~50Hz) を含む蛍光カルシウムセンサーシグナルをリアルタイムで計算・表示する機能を実装した。

- ・ オンラインで解析した脳の各領野のシグナル強度をもとに、590 nm の刺激光を用いて脳の任意の領野を任意の周波数 (<math><0.1\text{Hz}</math>~50Hz) で光刺激可能なソフトウェアを作成した。光感受性クロライドポンプである eNpHR3.0 を発現させたマウスを用いて、光刺激によりニューロン活動の操作が可能であることを示した。

以上により、研究開始時に設定した研究目標を概ね達成できた。

3. 委託業務における研究の方法及び成果

(1) 光刺激用光学系の作製 (担当: 理化学研究所)

超広視野マクロ顕微鏡の視野の任意の領域に590 nmの光刺激を与えることが可能な光学システムを作成した。1kHz以上の周波数で動作可能なDMDを用いて、440 nmの励起光により480 nmおよび540 nmの蛍光シグナルの測定と同時に590 nmの光刺激が可能な空間フィルタリングを備えたパターン照明システムを構築した (図1A)。

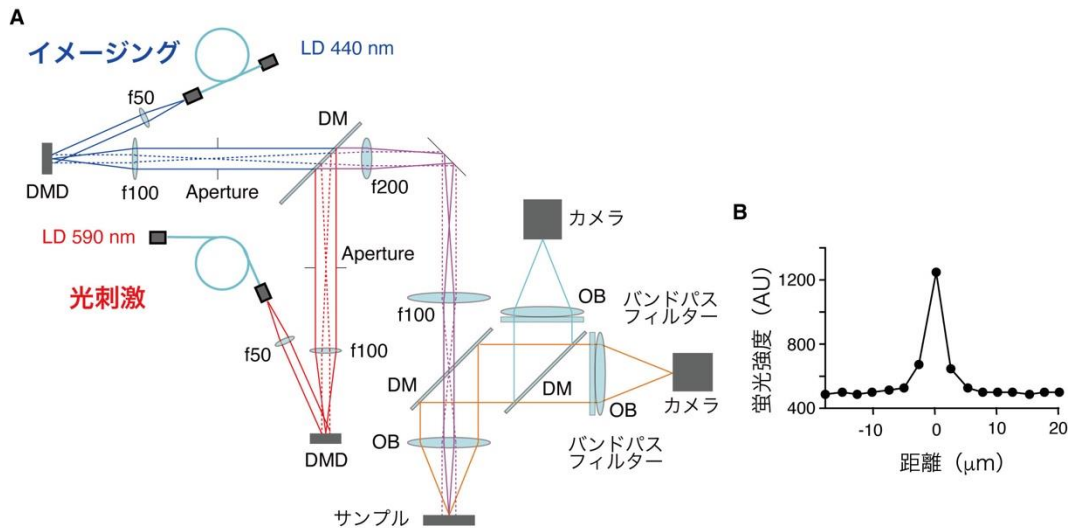


図1 光刺激用の光学系を組み込んだマクロ顕微鏡

A) DMD: デジタルマイクロミラーデバイス、DM: ダイクロイックミラー、LD: 半導体レーザー、OB: 対物レンズ。B) 2Kカメラを用いたイメージングシステムの空間解像度。直径2 μmのビーズの蛍光画像を取得した時の蛍光シグナル。

この顕微鏡のイメージングの空間解像度を図1Bに示す。直径2 μmの蛍光ビーズの画像をORCA Flash4.0を用いて取得したところ、蛍光シグナルはほぼ1ピクセル内で観察された。よって空間解像度はおよそ2 μm/ピクセルであることが示された。

この顕微鏡による光刺激の時間応答を図2に示す。666 Hz (1.5 ms/フレーム) で蛍光ビーズのイメージを取得する際に、1フレームのみ蛍光ビーズに光刺激を加えた (図2、時刻 $t = 6\text{ ms}$ の時に光刺激を与えたビーズ[赤い丸]の位置の蛍光強度の時間変化を下図に示してある)。刺激光を与えたフレームのみで蛍光強度が上昇していることから、作製したマクロ顕微鏡の光刺激用光学系は、基準値として設定した600 Hz以上の時間解像度(> 666 Hz)で刺激光をオン・オフできることが示された。

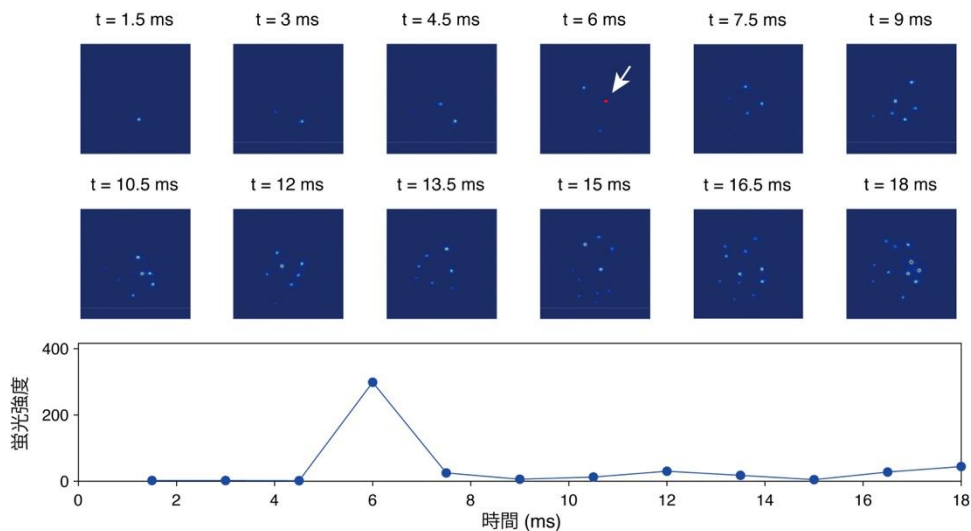


図2 光刺激光学系の時間応答

この光学系の空間解像度を図3に示す。DMDを5レーン (50 μm) 毎にオン・オフすることで50 μm 明、50 μm 暗の縞模様を作成し、2048 x 1300ピクセルのイメージを取得した。左図の赤枠で示した部分の蛍光強度を右図の青線で示している。赤線はサイン波によるフィッティングを示す。得られた画像の蛍光強度10-90%の半値は19.2 μm であった。よって、作製したマクロ顕微鏡の光刺激用光学系は、基準値として設定した20 μm 以下の空間解像度を持つことが示された。

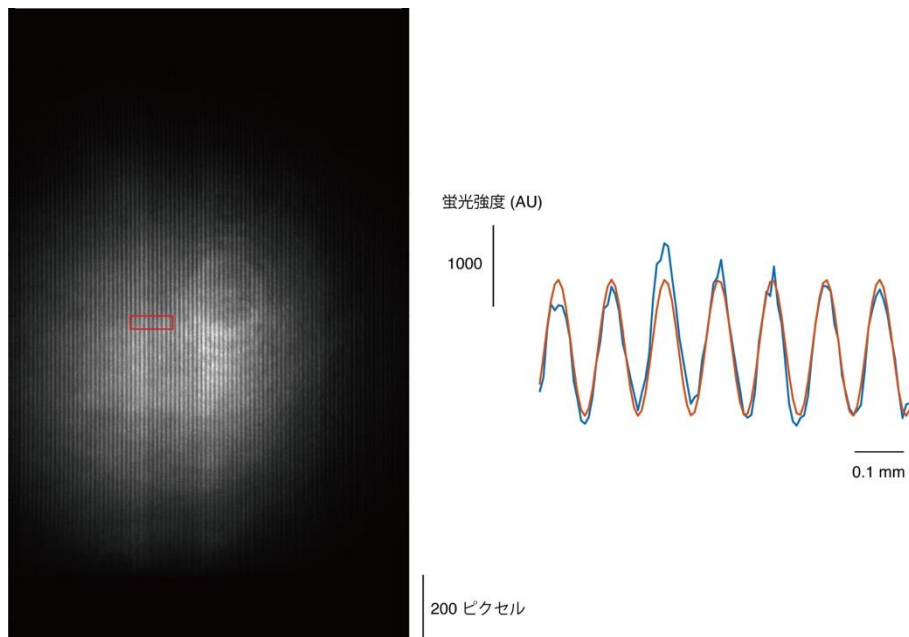


図3 光刺激光学系の空間解像度

この顕微鏡にYC2.60の二波長の蛍光シグナル (480 nmおよび520 nm) を100 Hzで計測可能なカメラ (ORCA Flash4.0) を二台組み込み、マウスの大脳および小脳のニューロン活動を100 Hzで計測可能なシステムを構築した (図4)。YC2.60を大脳および小脳に発現させると、両方で蛍光シグナル強度が異なる。このため、画像を取得する10 ms (100 Hz) のうち、均一照明を3.3 ms、DMDを用いて小脳のみを励起光を照射する構造化照明を6.6 ms与えることで、すべてのフレームにおいて大脳皮質と小脳皮質の蛍光シグナル強度を揃え、大脳と小脳の同時イメージングを可能とした。

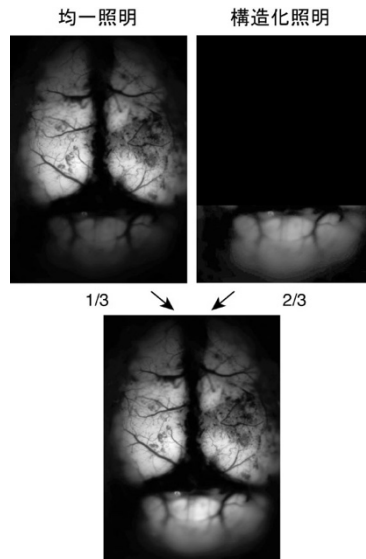


図4 DMDによる構造化照明を用いた大脳と小脳の同時イメージング

(2) 光刺激制御用ソフトウェアの作成 (担当: 理化学研究所)

・大脳皮質及び小脳皮質の機能ユニットの同定

本実験に使用するマウスの大脳及び小脳からあらかじめ計測したイメージングデータをもとに、二波長の蛍光画像のアライメントを行い、独立成分分析を用いて同期発火するニューロン群からなる機能ユニットを同定した (図5)。

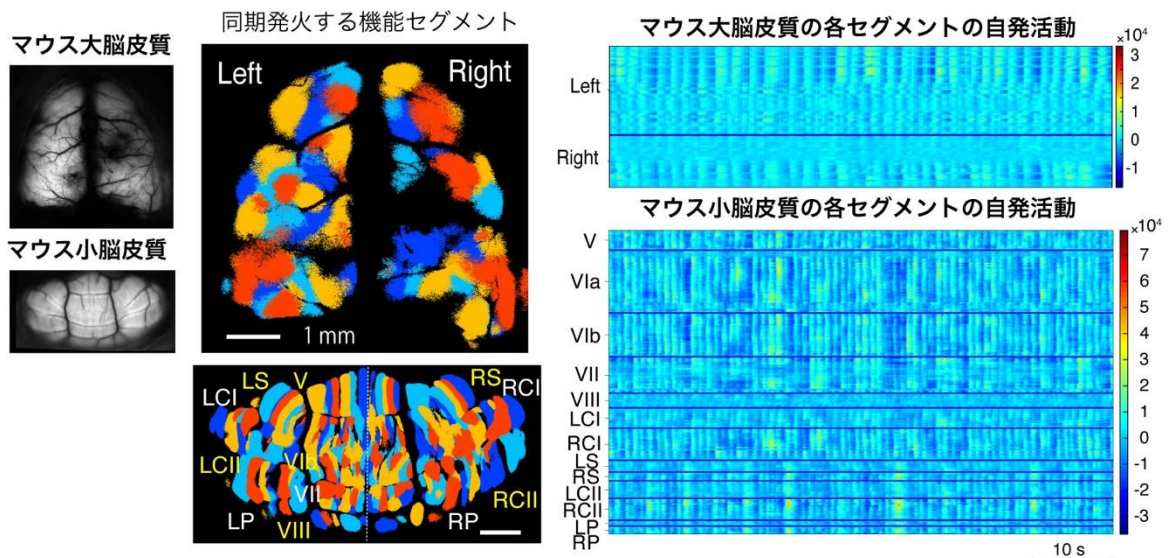


図5 独立成分分析により同定した大脳皮質および小脳皮質の機能セグメント

同定したセグメントの任意の組み合わせに対して光刺激を与える機能をイメージングソフトウェアへ追加した。この時に、同一個体であっても、ステージの位置や角度によって視野の位置が測定毎に異なり、以前取得した画像から求めたセグメントが実際の脳と合わなくなるという問題が生じる。そこで、位相限定相関法を用いて、セグメントの同定に用いた以前取得した画像とリアルタイムで取得している画像との縦、横、回転角、大きさの差をサブピクセルレベルで求め、セグメントの位置をイメージデータに合わせるアライメント機能を実現した (図6)。

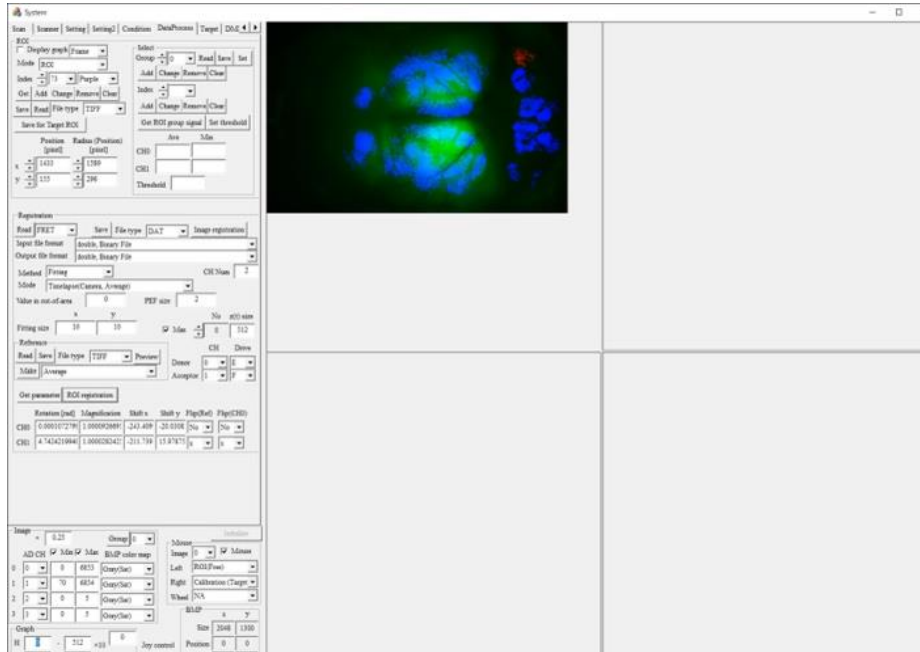


図6 独立成分分析により同定したセグメント（青）のイメージ画像（緑）へのアライメント

さらに、脳活動の変化に伴って光刺激を与えることができるように、各セグメントのFRETシグナルをリアルタイムで計算し、設定した閾値を越えると当該セグメントに局限して光刺激を加える機能のイメージングソフトウェアへの実装を行なった（図7）。

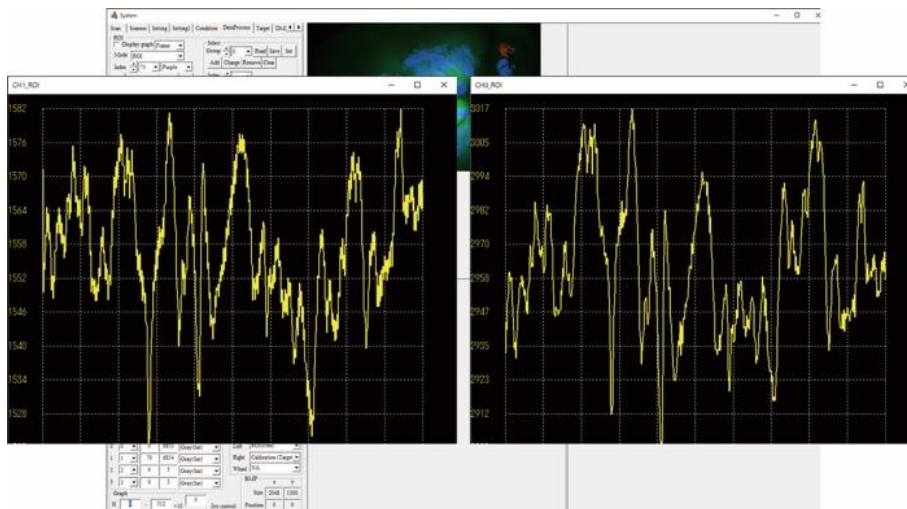


図7 セグメントシグナルのリアルタイム表示

以上により、脳活動に従って任意の機能ユニットに光刺激を与えることができる機能を顕微鏡制御ソフトウェアに実装した。

(3) 運動中のマウスの脳活動の計測と光刺激によるニューロン活動の操作（担当：理化学研究所）

大脳皮質錐体細胞及び小脳皮質プルキンエ細胞に蛍光カルシウムセンサーYC2.60を発現させたマウスの頭蓋骨をガラスに置き換える外科手術を施した（図8）。



図 8 マウス脳の観察窓の作成

術後十分に回復したマウスを顕微鏡の下に固定し、自発的にレバーを押すと報酬の水が得られるタスクを学習させ (図 9)、レバー押し運動および報酬の水を給水口から飲むリッキング

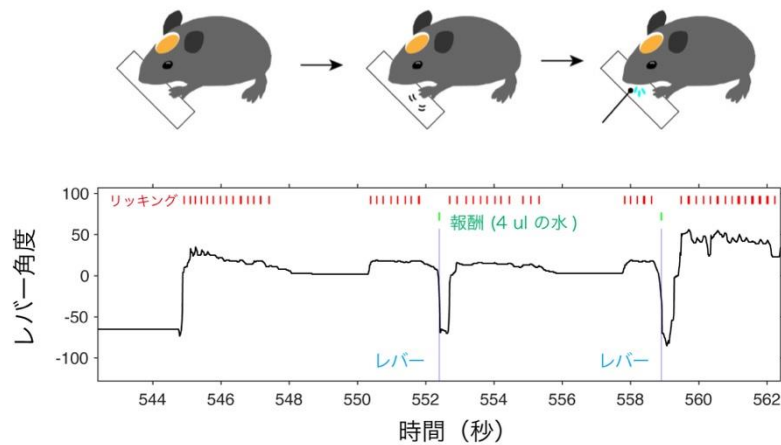


図 9 学習済みマウスの典型的なレバー押し運動

中の脳活動を計測した (図 10)。この結果、大脳および小脳の広範な領域で運動に伴う脳活動の変化が観察されることがわかった。

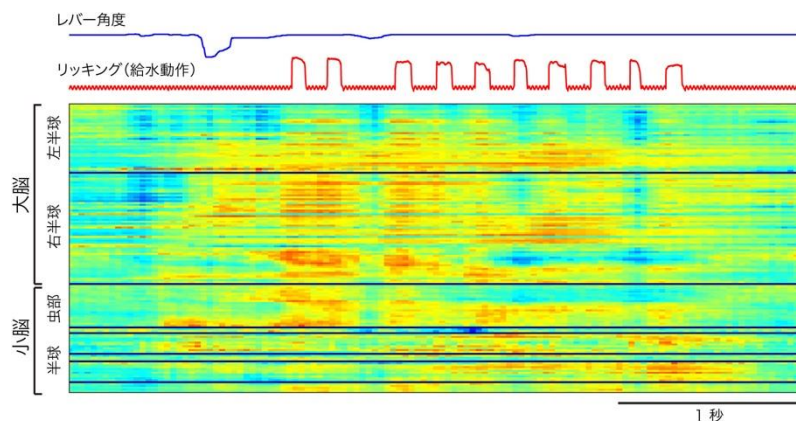


図 10 レバー押しおよびリッキング中の脳活動

・脳活動が示す振動の位相の同定

脳の活動には様々な周波数帯成分が含まれている。一方、脳の出力である運動にも様々な周波数成分が含まれているが、両者の関係は必ずしも明らかではなかった。本研究では、超広視

野マクロ顕微鏡と蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) 型の蛍光カルシウムセンサーYC2.60を組み合わせたマウス全脳 (大脳皮質および小脳皮質背側全域) のニューロン活動を光学的に計測する手法をもとに、独立成分分析により機能セグメント (同期した自発発火を起こすニューロンの集団、図5) を同定することで、従来用いられてきた脳波計測等では困難であった「大脳皮質および小脳皮質の機能単位 (セグメント) 毎に各周波数帯のパワーと位相を高精度に計測する手法」を確立した (図11)。

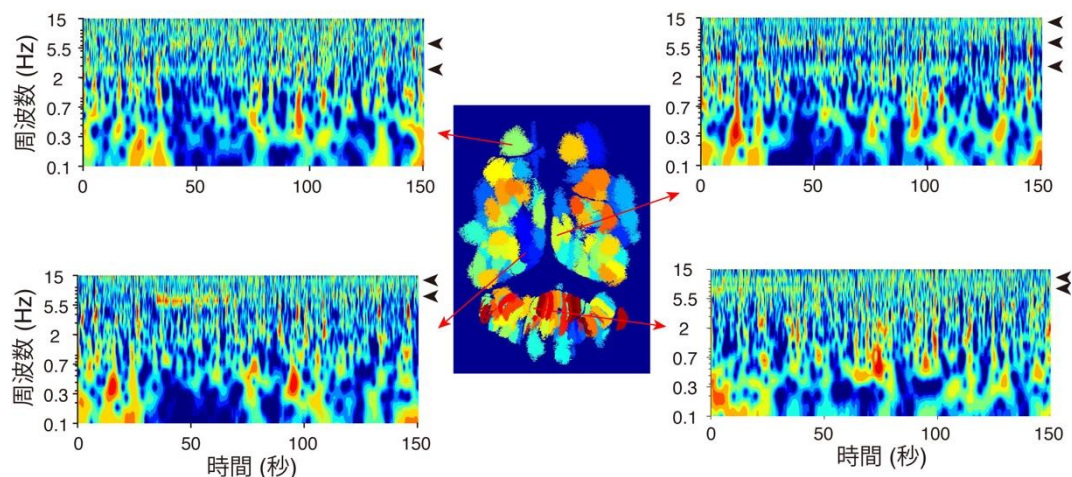


図 11 大脳および小脳の機能セグメントの時間周波数プロット

・マウスが自発的な運動を起こすタイミングの検出及び刺激パターンの決定

上記の手法を用いて、給水口を舐めて水を飲むリッキング動作中のマウスの脳活動を計測し、運動に伴って活動が変化する周波数帯及びそれらが観察される大脳皮質及び小脳皮質の領域の同定を試みた。その結果、リッキングのリズムを含む複数の周波数帯の脳活動において、同じ周期で連続して実行されるバースト状のリッキング動作の開始時に大脳皮質および小脳皮質の広範な領野でニューロンの活動が特定の位相に揃うことを見出した。さらに、ベイズ推定を用いることで、これらの領野の脳活動からリッキングが開始される時刻を解読可能であることを明らかにした。以上の結果により、自発的な運動の開始の決定に、大脳皮質および小脳皮質の広範な領野の複数の周波数帯の活動が関与していることが示唆され、脳活動の位相をもとに光刺激のタイミングおよび刺激部位を決定することにより運動の意図が形成される脳内メカニズムを解析可能であると考えられた。

・光刺激によるニューロン活動の操作

光遺伝学ツール (ChRmine、C1V1およびeNpHR3.0) を発現させたマウスの脳の任意の領域のニューロン活動を光刺激により制御するために、以下の組み換えアデノ随伴ウイルスを作製した (図12)。

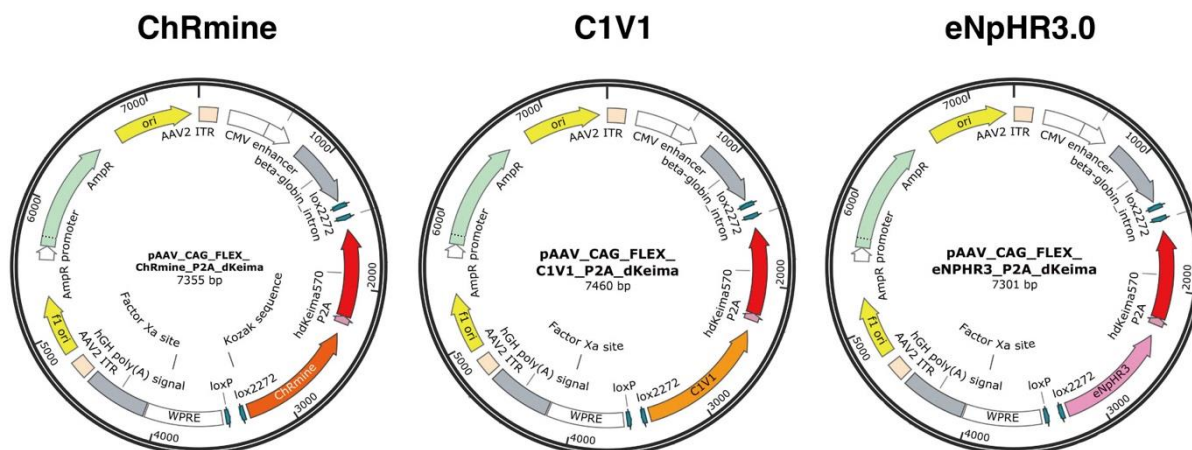


図12 光遺伝学ツールを組み込んだアデノ随伴ウイルスベクター

光刺激によってニューロンの発火を抑えることが可能な光感受性クロライドポンプである eNpHR3.0 を組み込んだ組み換えアデノ随伴ウイルスを大脳皮質に注入し、10日間後にマウスの大脳皮質に 590 nm の光刺激を図13の赤丸で囲った領域に1秒間与えた。図13で示すように、ニューロン活動を示す YC2.60 シグナルが、横棒で示す光刺激を照射している間低下するのが観察された。

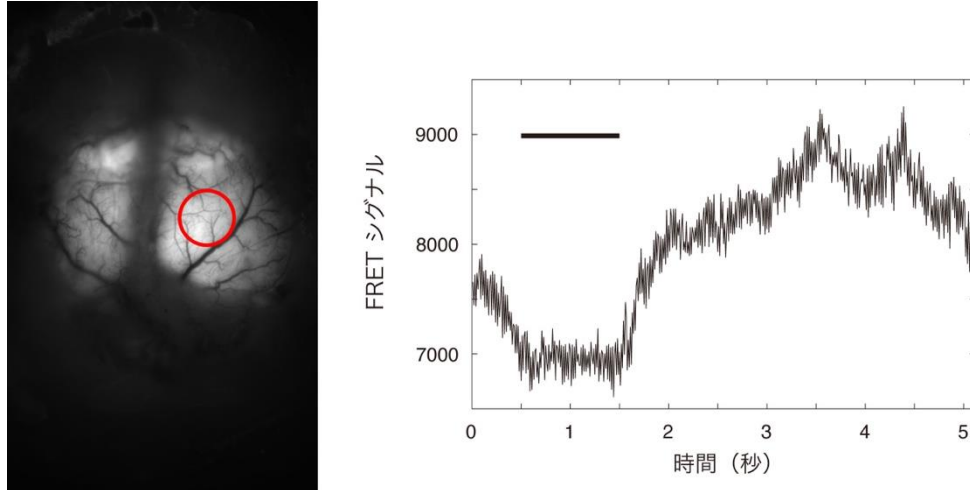


図13 eNpHR3.0を持つ組み換えアデノ随伴ウイルスを注入したマウスへの光刺激

以上の結果より、作成したマクロ顕微鏡によりニューロン活動の観察と同時に光刺激によりその活動を操作可能であることが示された。

(4) プロジェクトの総合的推進（担当：理化学研究所）

要素課題(1) 光刺激用光学系の作製

ニューロンは 600Hz 以下で活動していることが知られており、その活動を操作するためには、1kHz 以上の周波数で時空間パターンを更新できる光刺激装置を作製する必要がある。市販の DMD (Digital Micro mirror Device) を用いた光刺激装置では、1kHz 以上の周波数で動作可能であるが、意図した空間パターン以外への光刺激の漏れがあることが知られており、この問題を解決する必要がある。

1) 光刺激用光学系の作製（担当：理化学研究所）（要素課題(1)に対応）

1 kHz 以上の周波数で動作可能な DMD を用いてパターン照明システムを構築する。このとき、意図した空間パターン以外への光刺激の漏れがないように、パターン照明光の空間フィルタリングを行った（図 1A）。

また、ニューロン活動の計測時に誤って光刺激することがないように、ニューロン活動の計測のためには、440 nm の励起光により 480 nm および 540 nm の蛍光シグナルを発する蛍光カルシウムセンサー YC2.60 を特定の種類のニューロンに発現させたトランスジェニックマウスを用い、ニューロン活動を活性化する光感受性イオンチャネルおよび抑制する光感受性イオンポンプには、波長が 440 nm から大きく離れた 590 nm の光に感受性を持つ光遺伝学ツールである ChRmine、C1V1 および eNpHR3.0 を用いた（図 12）。このように大きく異なる励起波長を用いることによって、ニューロン活動を計測すると同時に光刺激を可能とする光学システムを構築した（図 1A）。

光遺伝学ツールは、アデノ随伴ウイルスを用いて、大脳皮質に直接注入して導入した（図 13）。

要素課題(2)光刺激制御用ソフトウェアの作成

個体毎、施行毎に異なり、かつ領域毎に様々なリズムで変化するニューロン集団の活動パターンを人為的に変化させてマウスの行動を変えるために、計測されたニューロン活動をリアルタイムで解析し、マウスの行動に即したタイミングで適した領域に適したパターンで光刺激を与えることが可能なソフトウェアを作成する必要がある。

2)光刺激制御用ソフトウェアの作成(担当:理化学研究所)(要素課題(2)に対応)

国立研究開発法人理化学研究所において作成したオフラインでの解析のための大規模イメージングデータ解析用プログラムをもとに、以下に示すリアルタイムで光刺激の条件設定に必要な情報を抽出可能なアルゴリズムを作成し、顕微鏡制御ソフトウェアに実装した(図6、7)。

・大脳皮質及び小脳皮質の機能ユニットの同定

本実験に使用するマウスの大脳及び小脳からあらかじめ短時間計測したイメージングデータをもとに、二波長の蛍光画像のアライメントを行い、独立成分分析を用いて同期発火するニューロン群からなる機能ユニットを同定した(図5)。

・脳活動が示す振動の位相の同定

上記の機能ユニットのニューロン活動の時間変動から、それぞれのユニットが示す振動の位相を求め、リアルタイムに測定しているデータの数秒先の位相を予測した。

・マウスがリッキングを開始するタイミングの検出及び刺激パターンの決定

マウスの行動は、ロータリーエンコーダーによるレバー角度の計測、及び頭蓋骨と報酬の水を出す金属製の吸い口の間電位差によるリッキングの検出によりリアルタイムに測定した(図9、10)。これらの行動のモニタリングに加え、リアルタイムに計測している脳活動をもとに、リッキングを開始するタイミングの予測を行い、運動の様々なタイミングで光刺激を与える脳部位、持続時間、刺激周波数を決定した。

要素課題(3)運動中のマウスの脳活動の計測と光刺激によるニューロン活動の操作

(2)で作成したシステムを用いて、自発的にレバー押し運動を行っているマウスの脳活動を計測し、様々な脳の領域のニューロン活動を光刺激により変化させ、行動の変化を観察し、システムが想定した通りに動作することを確認する必要がある。

3)運動中のマウスの脳活動の計測と光刺激によるニューロン活動の操作(担当:理化学研究所)(要素課題(3)に対応)

大脳皮質錐体細胞及び小脳皮質プルキンエ細胞に蛍光カルシウムセンサーを発現させたマウスの頭蓋骨をガラスに置き換える外科手術を施した(図8)。

術後十分に回復したマウスを顕微鏡の下に固定し、自発的にレバーを押すと報酬の水が得られるタスクを学習させた(図9)。

20秒に1回以上自発的にレバーを押す状態まで学習が進んだマウスについて、レバー押し運動中の脳活動を計測した(図10)。

ニューロン活動に基づき、様々な領域のニューロン活動を様々なタイミングで抑制もしくは活性化するための光刺激を与えることが可能なソフトウェアを実装した(図6、7)。

マウスの行動解析には、レバー角度とリッキングのタイミングの検出により行なった(図9、10)。

光刺激により、ニューロン活動の人為的操作が可能であることを示した(図13)。

4)業務計画書のプロジェクトの総合的推進に基づいて行った活動(研究の推進、研究発表、他研究者との連携等)について

研究の推進について

顕微鏡の設計およびソフトウェアの改変を行う研究者と顕微鏡を用いて脳活動計測およびデータ解析を行う研究者の間で密に連絡を取り合い、効率的に研究を推進できるよう努めた。

研究発表について

本研究の成果のうち、光学システムについては第83回応用物理学会にて、大脳と小脳の同時イメージングについては第8,9回BMI研究会、東京都医学総合研究所セミナー、第10回理研シンポジウムおよび2022年度RAP特別セミナーにて研究発表を行った。本研究の成果の一部をClinical Neuroscience誌 (Vol. 40) にて発表した。

他研究者との連携について

本研究は、研究期間が1年5ヶ月と比較的短期間であったため期間内に他研究者と連携する機会はなかった。今後は本研究の成果をもとに他研究者との連携を含めてさらなる研究の発展を図りたい。

4. 委託業務全体の成果

4. 1 計画時に想定していなかった成果（副次的成果）や、目標を超える成果

給水口を舐めて水を飲むリッキング動作中のマウスの脳活動を計測し、運動に伴って活動が変化する周波数帯及びそれらが観察される大脳皮質及び小脳皮質の領域の同定を試みた。その結果、リッキングのリズムを含む複数の周波数帯の脳活動において、同じ周期で連続して実行されるバースト状のリッキング動作の開始時に大脳皮質および小脳皮質の広範な領野でニューロンの活動が特定の位相に揃うことを見出した。さらに、ベイズ推定を用いることで、これらの領野の脳活動からリッキングが開始される時刻を解読可能であることを明らかにした。以上の結果により、自発的な運動の開始の決定に、大脳皮質および小脳皮質の広範な領野の複数の周波数帯の活動が関与していることが示唆された。従来の研究では、例えば視覚入力などのボトムアップ信号はガンマ周波数帯によって伝えられ、感覚入力の予測などのトップダウン信号は低ベータ周波数帯もしくはアルファ周波数帯 (Michalareas, *et al.*, *Neuron* 89: 384-397, 2016; Chao, *et al.*, *Neuron* 100: 1252-1266, 2018; van Kerkoerle, *et al.*, *Proc Natl Acad Sci U S A* 111:14332-41, 2014) によって伝えられるというように、それぞれの周波数帯が個別の機能を担うと考えられてきた。本研究では、限られた数の電極から数が不明な脳内の信号源を推定する必要がある脳波計測や、測定可能なニューロンの数が限定される細胞外記録や二光子イメージングなどの従来では不可能であった「大脳皮質および小脳皮質の機能セグメント毎に各周波数帯のパワーと位相を高精度に計測する手法」である大規模カルシウムイメージングを駆使し、網羅的に計測および解析を行うことで、運動の開始の決定、つまり運動の意図の形成という脳に内在する機能が複数の周波数帯の活動によって担われているというこれまでにない新しい知見を得ることができた。本研究により脳の広範な領野にまたがる複数の周波数帯の活動をもとに脳の動作原理を解析するという新たな研究の手法・枠組みが作られたことに加え、本成果が「意識がいかにして物質（脳および身体）に影響を及ぼしうるのか」というこれまで人類が長年にわたって希求してきた最も深遠な脳の謎 (Pockett, Banks and Gallager, *Does Consciousness Cause Behavior?* 2006 MIT Press) に迫る糸口となることが期待される。

4. 2 研究課題の発展性（間接的成果を含む）

本研究により、リアルタイムに計測した広範囲のニューロン活動の時空間パターンをもとに、その活動を操作する光刺激を加えることが可能な新たな顕微鏡システムを作り上げることができた。この技術的なブレイクスルーにより、今後運動制御や運動の意図の形成に関与する脳内システムの解析のみならず、知覚、意思決定、学習・記憶、個性、意識・無意識などさまざまな脳の高次機能を実現しているネットワークメカニズムの解明が進むものと期待できる。また、得られた結果に基づき、運動障害のリハビリテーション法や治療法の開発、脳活動により外部機械を制御するブレイン・マシン・インターフェイスの開発への応用が考えられる。

4. 3 研究成果の発表・発信に関する活動

現在、作成した顕微鏡システムの方法を記述した論文および得られた成果をまとめた論文を作成中であり、これらを公表できる段階で学会発表、プレスリリースなどの外部への情報発信を行う予定である。

5. プロジェクトの総合的推進

5. 1 研究実施体制とマネジメント

各要素課題に関する研究の進捗を管理し、円滑な研究の推進を図った。本委託業務の実施により得られた成果について、国内の学会において発表し、本研究のさらなる進展に努めた。研究の推進および応用への展開のために、齧歯類の筋骨格モデルを用いて歩行運動の解析をおこなっている柳原大教授（東京大学）、およびマウスを用いて仮想空間内で歩行実験を行っている今吉格教授（京都大学）と議論を行い、歩行運動制御を実現している脳内メカニズムを解析する共同研究をスタートさせた。

5. 2 経費の効率的執行

令和4年度に購入した8Kカメラについては、（1）年度初めより事務手続きを始めたこと、および（2）随意契約とすることで入札に係る手続きを省くことにより、納品までの期間ができる限り短くなるように執行した。

6. まとめ、今後の予定

以上本研究により、異なるリズムを持つ複数の周波数帯のニューロン活動が同時並行的に情報処理を行なっている脳の機能を解析することに最適化した光学システムを完成することができた。今後本システムを活用することで、脳の動作原理の本質的な理解に加え、さまざまな脳機能障害に対する治療や機能回復に繋がる新たな技術開発への応用が期待できる。

7. 研究発表、知的財産権等の状況

（1）研究発表等の状況

種別	件数
学術論文	該当なし
学会発表	3件
展示・講演	3件
雑誌・図書	1件
プレス	1件
その他	該当なし

（2）知的財産権等の状況

該当なし

（3）その他特記事項

該当なし