

文部科学省特定領域研究「統合脳」支援班報告書

特定領域研究「統合脳」5領域が発足するにあたり、「統合脳」領域（第1班）の総括班では文部科学省担当官と協議の結果、支援班を設置することとなりました。これは従来の特定領域研究の総括班が行なっていた領域研究に対する支援活動を、予算を切り離して別組織で効率的に実施するという、文部科学省のルール変更に対応するものです。

脳科学の先端的研究においては、革新的な技術・手法の開発や導入が研究推進の重要なモーメントとなり、また、遺伝子操作を加えたモデル動物の作製等、バイオリソースの確保と供給も不可欠です。これらの観点から、支援班では重点支援項目を選定し、項目ごとに領域内プロジェクトチームを設置しました。

設置にあたっては、まず「統合脳」5領域の計画班員から選ばれた委員で構成された研究リソース委員会とデータベース委員会が領域内のニーズを検討して重点支援事項を決め、次に領域内にプロジェクトを募集し、さらに委員会決定を受けて、「統合脳」総括班会議が検討し、その議により決定致しました。

上記の経緯により設定された11のプロジェクトチームの研究技術開発ないしは研究支援活動の内容と経過、及びその成果を別紙にてご報告いたします。

いずれのチームにおいても、活動は当初の趣旨に従って順調に進行しており、その成果は「統合脳」領域の研究活動の推進に寄与することが期待されます。念のために申し添えますが、研究支援は単に特定の個人の研究を進展させる性格の追加的配分ではなく、あくまでも領域全体の研究を見据え、多数の研究者が関与する研究にとって、脳機能の統合的理解推進の観点から、日本発世界的技術として有効な研究支援という目的に添って、総括班予算から直接支援する方法で実施されております。

平成18年5月30日

文部科学省特定領域研究「統合脳」5領域

支援班班長 塚田 稔
領域代表 丹治 順

支援班の研究目的・必要性・経過報告

1. 研究目的

脳機能を理解するためには、多次元的な研究が不可欠である。まず、脳の構成要素の微細構築を分子レベルに至るまで知り、神経細胞やシナプスにおけるシグナル伝達のメカニズムの詳細を知ると同時に、複雑な構造の発生・発達を知る必要がある。この上に、神経回路としての作用と脳全体のシステムにおける認知、学習、記憶、推論の高次機能を解明する必要がある。脳の疾患における病態の解明は正常な脳機能の維持機構を知るためにも必要であり、他方、精神機能の理解にむけて、心理学・言語学はもとより、哲学・文学・社会科学などの境界領域との協力による研究の拡がりを計ることも重要である。脳機能の理解においてさらに大切なことは、構造的にも時間的にも多次元において生成する反応と活動のメカニズム、及び機能的意味を統一的に理解することである。そのため、第一に、脳の分子、脳細胞、神経回路、脳のシステムというレベルの異なった研究に携わることのできる研究者が相互理解を進め、分野を超えた新たな視点に基づき、統合的な機能理解を目指す体制を確立することが肝要である。第二に、次元の異なった研究分野の連携による学際的共同研究を進めることが必要である。第三に、統合的脳理解を目指し、学際的アプローチを駆使した次世代の脳研究を主体的に遂行する研究者を育成することが重要である。

上記の必要性を満たし、日本の脳研究を飛躍的に進展させるため、「統合脳」領域を設定するが、領域の研究遂行を支援し推進を図るために、この支援班を設置し成果の達成を図る。

統合的及び学際的共同研究を推進するため、研究リソースとして次の点を重点的に支援する。

- ①遺伝子、分子から脳の高次機能、病態に至る統合的な研究基盤を支援する。
- ②計算論的神経科学と実験的神経科学の融合、また研究推進のための情報リソースとして、統合脳データベースを構築する。

2. 研究リソースの必要性

I. モデル動物の確保・試験的使用と供給の必要性

遺伝子的欠損、分子レベルの欠損、神経回路レベルの欠損、システムとしての情報表現の欠損、これらが密接に関係し、病態脳が生まれている。これを統合的に理解することが、この統合脳の重要な目的である。そのためには相互の技術的手法を組み合わせて、学際的、統合的に研究を遂行する必要がある。

遺伝子技術を導入した改変モデル動物の開発と供給は、遺伝子、神経回路、脳の高次機能を統合的に研究するための重要な研究リソースを提供することになる。

具体的に次の4つのモデル動物に重点を置いて支援する。

- ① 分子脳科学や脳機能解析に適した、コンディショナルノックアウトマウス系を開発する（崎村プロジェクト）。これは「分子脳科学領域」（第4班）の技術を基盤とした「神経回路機能領域」（第3班）と「脳の高次機能学領域」（第2班）の学際的、統合的研究リソースとなる。
- ② 運動の学習や発現を制御する神経回路の統合的研究を可能とする、トランジェニックラットの開発（小林プロジェクト）。第2、3班を中心とした学際的研究リソースとなる。
- ③ 病態生理を統合的に理解するための脳疾患のモデル動物の開発プロジェクト（松井グループ）。これは、第2、3、4班及び「病態脳領域」（第5班）の学際的研究のリソースとなる。
- ④ 遺伝子改変モデル動物の行動テストを網羅的に遂行する為の基礎データベースを構築するため、行動テストバッテリーの標準化、効率化を支援する（宮川グループ）。

II. ヒト脳のブレインバンクに対する支援

- ⑤ 免疫組織化学を含む最先端の手法を導入した症例の臨床病理情報の適切な抽出は、脳研究の重要な基礎情報を提供することになる。したがって、統合脳においてはブレインバンクの構築と、それを充実する為の支援を行う（村山グループ）。

III. 新しい脳計測装置ソフト及びハードの開発支援

高次脳機能においては、神経回路網のダイナミックな情報表現（ダイナミック細胞集合体、振動、タイミング、時空間学習識別など）が重要な役割を演じるとの観点から、理論と実験の共同研究の成果が期待されている。

その脳のダイナミックな活動を計測する為の最先端の脳計測装置の開発や、その有効利用を支援し、実験と理論の融合による研究基盤を構築する必要がある。

- ⑥ マルチユニット記録装置のソフト、ハードの支援情報が神経回路網のダイナミックな情報表現で表現されているとの視点から、従来なされている細胞1個の記録による情報解析が求められている。マルチユニットの記録装置の開発とそのソフトウェアの開発と整備を支援する。（⑥-1 虫明グループ：ハードウェア、⑥-2 伊藤グループ：ソフトウェア）
- ⑦ マルチユニットと同様に、工学的神経活動計測は神経回路網とのダイナミックな活動を計測する手段として重要である。特に新たな標的神経回路網選択的な光学的神経回路活動計測用プローブシステムの開発は、神経回路網のダイナミックな情報処理を解明する重要な手段となる。この開発を支援するとともに、光計測の精度向上に向けた研究を支援する。（飯島グループ）
- ⑧ 高速多点 uncaging 刺激と2光子レーザー顕微鏡を組み合わせた

新しい神経回路計測装置の支援。

マルチ電極、光計測によるマルチユニット計測とともに入力系を特定できる多点で同時に刺激する *uncaging* 刺激の必要性が高まっている。この刺激系と2光子顕微鏡を用いた光計測記録装置を組で開発することが重要である。

(小島グループ)

IV. プロテオミックス手法の開発と普及

- ① 遺伝子モデル動物の巨大分子複合体の構造と機能を解明するプロテオミックスの手法が、遺伝子 - 分子 - 神経回路 - 病態 を結びつける統合的研究の緊急課題となっている。統合脳の基盤技術としてこの手法開発と普及を支援する。(山森グループ)

V. 脳研究のためのウイルスベクターの開発

- ①ウイルスベクターの開発による外来遺伝子導入技術は神経系の機能解析に不可欠なリソース技術としてこれを支援する。(岡戸グループ)

3. 研究経過報告

記号	グループ代表	所属	テーマ
㉑	崎村 建司	新潟大学脳研究所	C57BL/6 由来 ES 細胞を用いたコンディショナルノックアウトマウス作成支援事業
㉒	小林 和人	福島県立医科大学医学部 附属生体機能研究部門	行動制御を媒介する神経回路研究のためのトランスジェニックラットの開発
㉓	松井 稔	東京大学医科学研究所 神経ネットワーク分野	ムスカリン性アセチルコリン受容体ノックアウトマウスによる脳機能解析モデルの開発
㉔	宮川 剛	京都大学大学院 医学研究科	大規模データ解析による遺伝子改変マウスの行動テストバッテリーの標準化・効率化～マウスを用いた統合的脳研究の「ハブ」を目指して～
㉕	村山 繁雄	財団法人東京都高齢者研究・福祉振興財団 東京都老人総合研究所	ゲノム研究リソースとしての東京都高齢者ブレインバンクの構築
㉖-1	虫明 元	東北大学大学院医学研究科 生体システム生理分野	インプラント用高機能集積化マルチ電極の開発
㉖-2	伊藤 浩之	京都産業大学工学部 情報通信工学科	マルチニューロンデータ解析支援環境の整備
㉗	飯島 敏夫	東北大学大学院 生命科学研究所	標的神経回路選択的な光学的神経活動計測用分子プローブシステムと測定機器の開発
㉘	小島 比呂志	玉川大学工学部 知能情報システム学科	高速多点 un-caging 刺激システム開発及び神経回路機能解析への応用
㉙	山森 哲雄	基礎生物学研究所 脳生物学部門	脳科学におけるプロテオミクス手法の開発と普及
㉚	岡戸 晴生	財団法人東京都医学研究機構 東京都神経科学総合研究所	神経科学研究のためのウイルスベクターの開発

①：崎村 建司

本研究開発支援事業の目的は、我々が開発した「C57BL/6の純粋遺伝的背景におけるコンディショナルノックアウトマウス作成系」を用いて脳の部位・時期特異的に標的遺伝子を欠損させることを目的とする研究を支援し、我が国の世界に対する独自性を高めることである。我々は、脳機能の解析に適したC57BL/6マウスでの効率の良いコンディショナルノックアウトマウス系を開発し、均一な遺伝的背景を持ち質の高い遺伝子の個体レベルの解析を可能にした。この技術を我が国の分子脳科学に広く適用し、我が国の独自性を高めることを推進する。このために、統合脳5領域の班員がC57BL/6の純粋遺伝的背景におけるコンディショナルノックアウトマウス作成に取り組むプロジェクトを支援する。ノウハウや技術的支援、マウス作成を崎村、三品が行う。同時に、マウス作成費用（1件、150～200万）の支援を行う。プロジェクトは統合脳5領域の班員から定期的に（年2回程度）募集するが、応募が多数の場合は、統合的脳研究の推進への貢献という視点から評価委員会で検討する。なお採用に当たり、これまで経済的な理由で遺伝子組換えマウス作成し研究することができなかった公募研究者などを優先する。

②：小林 和人

大脳皮質と大脳基底核を連関するループ回路は、行動の学習、発現、組織化に重要な役割を果たす。大脳基底核の中心である線条体からの出力は、直接路と間接路と呼ばれる2種類の神経路を介して大脳基底核の出力部に連絡する。直接路と間接路は出力部の神経活動を拮抗的に調節し、運動を調節すると推定されているが、これらの2種類の経路が運動の学習や発現の過程で、様々な入力に依存して行動をどのように制御するのかについては、十分に理解されていない。ラットは行動生理学や電気生理学に関する多くの解析技法が確立されており、高次機能の研究に有益な実験系を提供する。本研究では、運動の学習や発現における2種類の線条体出力路の役割を解析するために、ドーパミン D1 および D2 受容体遺伝子の制御下に ヒトインターロイキン-2 受容体 α サブユニット (IL-2R α) 遺伝子を発現するトランスジェニックラットを作製し、イムノトキシン細胞標的法を利用することによって、2種類の線条体出力ニューロンを選択的に除去する実験系を開発する。これらのラット系統は、様々な行動課題および電気生理学的な解析に応用することが可能であり、運動の学習や発現を制御する神経回路について統合的な研究を発展させるために極めて重要なリソースとなる。

③：松井 稔

ムスカリン性アセチルコリン受容体ノックアウトマウスを、多種多様な脳疾患のモデル動物として開発し、病態生理を統一的に理解し、画期的な創薬の rational を確立するためのリソースとして多くの研究者に提供する。これらのマウスの論文による報告はなされており、提案代表者のプライオリティーは、すでに確保されている。従

って、今後さらに積極的に多くの研究者へリソースとして供せねばならない。新規の供給依頼については、既存の関連プロジェクトとの利害の衝突が最小限となり、また可能ならば、相互に利益が得られるような調整を行った上で、共同研究ベースで提供する。総供給数としては月あたり300匹程度が見込めるが、それでも足りない場合に各研究者が自らの資金でコロニーを樹立することも好ましい。その際も必要に応じ提案代表者が遺伝子型判定を実施する。M1/M2, M1/M3, M1/M4, M1/M5, M2/M3, M2/M4, M3/M5 等のダブルノックアウトマウスをも提供すべく準備を進めている。複数のサブタイプが共発現していることが多く、同時に多種類の受容体を欠失させて初めて明瞭な表現型が得られる場合があるからである。

㊦：宮川 剛

統合脳の班員らによって作製された各種の遺伝子改変マウスについて網羅的行動テストバッテリーを遂行することと、行動テストバッテリーの標準化・効率化に必要とされている基礎データを蓄積することが目的である。本研究開発計画では、統合脳の班員らによって作製された各種の遺伝子改変マウスについて網羅的行動テストバッテリーを遂行することと、行動テストバッテリーの標準化・効率化に必要とされている基礎データを蓄積することが目的である。この目的を達成する為に、網羅的行動テストバッテリーを各種遺伝子改変マウスや、そのバックグラウンドとしてよく用いられている近交系のマウス数系統について遂行し、得られた結果の大規模メタ分析を行う。1ケージ内のマウスの匹数、実験を行った時刻・週齢、怪我の有無、ケージや装置から逃げた経験など各種の情報も詳細に記録しておき、分析に用いる。申請者らのトップダウン的指導のもと、これらの実験手順・手続きは共同研究者も同じように行っており、同様にメタ分析で比較することが可能になっている。行動テストバッテリーにかける遺伝子改変マウスについては、統合脳の班員からのリクエストを受け付ける。研究室のキャパシティを超える様な場合は、本研究の提案代表者と共同研究者（饗場、三品）らによる委員会によって重要性・緊急性などの点について審査を行った上、本研究費の支援を受け解析される対象を選択する。

㊧：村山 繁雄

欧米において、脳研究の基礎であるブレインバンクを、死体解剖保存法18条、老人医療センター剖検承諾書、倫理委員会の承認を得た運用規定に基づき構築。連結可能匿名化のもと、共同研究ベースで、後方視的研究を行なう。個別の症例の臨床病理情報に精通した責任者が、個々の研究に対し、最適な試料の選別、研究法の改良を提言し、研究に積極的に関与する。全例に、免疫組織化学を含む最先端の手法でスクリーニングを行い、老化構造物の半定量化を行うことで、疾患だけでなく、その前段階例や、多数のコントロールを蓄積する。前方視的研究として、標準的認知検査に加え、髄液バイオマーカー、MRI Voxel based morphometry (VBM)、グルコース (FDG) 並びにドーパミン代謝PETを行うことで、臨床情報の正確化をめざすだけでなく、前方視

的に追求された症例が剖検に附され、ブレインバンクの資源となった時、診断の信頼性と均一性が確保でき、個々の研究に則し、最適の対象症例を選択するのに、重要な基礎情報を提供できる基盤を構築する。

④-1：虫明 元

各種センサを多元的/立体的に用いた脳神経科学の新たな領域を開拓するために本プロジェクトではチップボンディング技術にもとづく従来にない新しい“多機能集積化マルチ電極”の開発を目指している。この集積化マルチ電極では、皮質の微小領域内で電極先端の距離を水平方向と垂直方向で自在に設計して測定でき、3次元的な観察をすることが可能となる。この集積化マルチ電極には、プラットフォームとしての多機能化が可能である。赤外線LEDを用いた血流量センサを搭載して血流量による代謝測定と細胞活動測定が同時かつ立体的に可能となる。さらに各種化学センサの搭載や、神経細胞を電気刺激することも可能となる。またこの集積化マルチ電極を移植した動物と体外計測ユニットの間は無線で接続して、自由に活動する動物の脳内を各種センサを用いて多元的に観察することが可能となる。将来的にはこの集積化マルチ電極は脳信号の記録のみならず、臨床的にも応用が可能であり、各種神経疾患の患者の脳内へ移植して疾患の治療や患者のQOL改善の手段としても利用できる

④-2：伊藤 浩之

マルチニューロンレコーディングの導入には、脳生理学の知識以外に、工学、数理学、統計学などの広範な知識・技術が不可欠である。しかし、個々の研究者がすべての情報を収集、理解し、実験環境を実現することには限界がある。そこで、実際にマルチニューロンレコーディングを行っている実験研究者とニューロンネットワークのダイナミクスを解析している理論研究者から構成されるワークグループを組織し、マルチニューロンデータの解析法および、ソフトウェアに関する支援環境の整備を行い、我が国でのマルチニューロンレコーディング研究を促進する事を目的とする。具体的な活動項目は以下の内容である。

1. マルチニューロンデータ解析ソフトウェアの現状調査と問題点の検討
2. マルチニューロンデータ解析ワークショップの開催
3. マルチニューロンデータ解析支援webサイトの立ち上げ
4. マルチニューロンデータ解析支援ソフトウェア開発の検討

⑤：飯島 敏夫

高次脳機能の理解を目指した研究では多数のニューロン、複数の神経回路の相互作用を解明することが極めて重要である。そのため、近年、大脳皮質における情報表現並びに処理の解明などを目的として、脳の広域から神経活動を同時計測する取り組みが盛んになっている。申請者はこれまで脳・神経の活動動態（膜電位変化）を直接、リアルタイムに観測し解析する手段として膜電位感受性色素を用いた超高速オプテ

イカルイメージング法を開発し、当該分野の研究を推進してきた（神経研究の進歩1994、Science 1996, J. Neuroscience Methods1999, J. Neurophysiol. 2000,2003など）。この方法は脳皮質や脳スライス標本などにおける広がりをもった神経活動の動態をリアルタイムに計測することを可能とし、従来の微小電極法による単一ニューロン活動記録に比べ、脳皮質に於ける分散的情報処理ダイナミクス解析能力などを飛躍的に向上させた。しかしながら、現在の方法では膜電位感受性色素が観測部位のニューロン全てを「非選択的」に染色してしまうため、計測されるシグナルは複雑な神経回路の多種多様なニューロン活動の「総和」を表現してしまっている。すなわち従来の方法では神経回路の各構成要素の活動は分離不能であり、観測されるシグナルの機能的意味の解釈も容易ではない。本研究はこの問題を解決し、さらに広範な研究活用が期待できる次世代の脳・神経活動計測システムを実現するため、①標的神経回路選択的な光学的神経活動計測用分子プローブの開発・実用化と、②その測定機器の開発・実用化を目指すものである。さらに①の研究開発と平行して、③神経回路の標的ニューロンに種々の機能分子を発現させるためのベクター系の開発・実用化研究が行われる。

④：小島 比呂志

この研究の特色は、un-caging用のレーザービームを非常にシャープにフォーカスし任意の多点を高速でun-cagingすることである。従って、従来までの電気刺激では困難であった神経細胞とその単シナプスレベルでの種々の時空間パターンで微小領域多点高速刺激を可能にすることができる。それによる電気信号や光信号（細胞内カルシウム変化や電位感受性色素による電位変化にともなう）を計測することで、極めて正確かつ定量的に神経細胞及び回路網の特性を調べることができる。特に樹状突起での信号の統合機構や入出力特性、シナプス可塑性における反回性抑制性介在ニューロンの役割、また、シナプス可塑性の樹状突起上での空間分布などの問題を解決できることが期待される。さらに任意の多点を複雑な時空間パターンで刺激する方法は、in vivoでの神経細胞や神経回路網に対する入力パターンを再現することを最終の目的としている。今回国内外の多くの異なった分野の研究者が共同研究に参加したことからも明らかのように神経科学研究にブレークスルーをもたらす今後の広い研究の先駆けになると確信する。

①：山森 哲雄

ヒトやマウスをはじめ様々の種でのゲノムシーケンスが得られるに従って、遺伝子産物解析の重要性が増し、こうした遺伝子産物の生体内に於ける機能を個々のタンパク質の巨大な相互作用としてみるプロテオミクスの技術が急速に進歩して来た。その技術的背景には、ごく微量でタンパク質やペプチドの質量を解析できる質量分析法の急速な進歩と、全ゲノムシーケンスによる遺伝子産物の塩基配列による質量予想が結びついたことが大きい。神経科学は、神経相互のネットワークの複雑な相互作

用を明らかにすることを目指して、特にシナプスの構造と機能制御の解明をその中心的命題として来た。近年、シナプスや伝達物質の放出に関与する分子が巨大な複合体として機能することが明らかになってきたが、こうした巨大な分子複合体の構造と機能を解明するのに、プロテオミックスの手法は極めて有用と考えられ、緊急の課題となっている。この重要性は、統合脳の平成16年度第3回総括班会議でも、神経回路、分子脳、病態脳から積極的に支援することが確認された。それを受けて、本研究開発では、統合脳班員が積極的にこの手法を導入し、更に脳神経科学に則した手法を開発することを目指す。

①：岡戸 晴生

神経系への外来遺伝子導入は神経科学における新たな知見の獲得に貢献してきた。アデノウイルスベクターは分散培養ニューロンやin vivo 脳のグリア細胞には効率よく遺伝子を導入しているが、一方、スライスや中枢神経ニューロンへの導入は効率や発現強度の点で不十分であり、また長期の遺伝子発現が必要な行動実験、遺伝子治療には適さない。そこで新たな有用なベクターの開発が望まれる。レンチウイルスベクターは神経細胞への感染効率がよく、ゲノムに挿入されるため長期の発現が望めるが、最近非増殖型レンチウイルスベクターがP2レベルで使用可能となった。そこで、これまで作製したアデノウイルスベクターを維持管理、再度の増殖、精製、タイターチェックをするとともに、アデノウイルスからレンチウイルスベクターに変更し、アデノウイルスの欠点を克服することを試みる。

4. データベース委員会

データベース委員会では、「統合脳」5領域のホームページを管理し、各研究領域の活動について適切な情報提供を行なうとともに、班員相互の情報交換と共同研究を促進するため、(1) 研究成果のデータベース化、(2) 研究者情報に関するデータベースの構築、を主な活動内容としている。

(1) については既に平成17年度の研究成果についてのテキスト情報とともに発表された論文の PubMed 番号を収集した。今後理化学研究所神経情報基盤センターに設立された Neuroinformatics Japan Center (NIJC) と連携して NIJC が開発した XooNIPS によって公開する準備を進めていく。今後、研究者本人の承諾が得られる場合については、公開可能な図や写真、さらにはできれば数値データもデータベース化し、広く成果を活用できるような共同研究体制の構築も模索したい。

(2) については各研究者の所属、研究テーマ、業績、さらには公開可能な実験技術や研究リソースについて情報を収集し、公開する。そして多くの情報について検索可能なシステムを構築することで、国内のどのような分野にどのような研究者がいて、どのような技術やリソースについて共同研究が可能であるかが容易に調べられるようにする。それによって異なる discipline を有する研究者同士の共同研究を促進させ

たい。このデータベースシステムは現在準備の最終段階であり、近々公開して情報収集を開始する予定である。このシステムは現在 Xoops ベースで構築されており、将来的には NIJC の管理のもとで公開、運営していく体制に移行させる。

上記 2 件は、統合脳の班の方針として構築するトップダウン型データベースと位置付けている。

それに対して、それぞれの研究者に日々の研究のために必要な情報をくみ上げてデータベース化していく「ボトムアップ型データベース」の構築の可能性を模索している。このようなボトムアップ型データベースを作るために、神経科学者が参加するソーシャルネットワーキングサイトを試験的に立ち上げてみた。現在試験的運用を一旦停止し、試験的運用の際に問題になった点を整理して再開にむけて準備を進めている。またボトムアップ型データベースとして、様々なマウス系統の行動バッテリーのデータベース公開を、京都大学の宮川剛氏に依頼し、NIJC の XooNIPS ベースで行なわせる準備を進めている。

これらトップダウン型、ボトムアップ型データベースを組みあわせることで、班員を中心とする神経科学者コミュニティの研究活動にとって真に役に立つ情報基盤を充実させたいと考えている。

以上