

8K スーパーハイビジョンカメラによって生きたマウスの脳活動を大規模に計測することに成功

1. 発表者：

松崎 政紀（東京大学大学院医学系研究科機能生物学専攻 細胞分子生理学分野 教授）

吉田恵梨子（東京大学大学院医学系研究科機能生物学専攻 細胞分子生理学分野
博士課程1年）

寺田晋一郎（東京大学大学院医学系研究科機能生物学専攻 細胞分子生理学分野 特任研究員）

2. 発表のポイント：

◆8K スーパーハイビジョンカメラを脳神経活動の計測に世界で初めて応用しました。

◆大きさ $0.5\ \mu\text{m}$ 程度の軸索終末と呼ばれるシナプス構造における神経活動を、既存手法より25倍広い視野かつ2倍高速に撮影することに成功しました。

◆今後広くライフサイエンス分野における広範囲かつ高解像度でのイメージングというニーズを満たすと期待されます。

3. 発表概要：

東京大学大学院医学系研究科機能生物学専攻生理学講座細胞分子生理学分野の松崎政紀教授、吉田恵梨子大学院生、寺田晋一郎研究員、自然科学研究機構生理学研究所の小林憲太准教授、埼玉大学の中井淳一教授、大倉正道准教授らの共同研究チームは、従来のハイビジョンの16倍に当たる3300万画素を持つ8Kスーパーハイビジョンカメラを世界で初めて脳神経活動の計測に用いることで、運動中のマウス大脳皮質から、軸索終末とよばれる神経細胞の一部における活動を大規模に計測する事に成功しました。

脳の複雑な情報処理機構を明らかにするため、近年日・米・欧において脳機能の統合的理解を目指すプロジェクトがそれぞれ進行中ですが、詳細な脳活動の計測手法の開発はプロジェクト遂行において重要な位置づけにされています。本研究成果は、脳内における微細構造からの脳活動計測の新たな方向性を示したものであり、今後、脳全体の活動の計測に向けたさらなる発展に繋がります。神経細胞の活動や細胞内の分子動態といった生命現象の高精細かつ高速な記録により、様々な疾患の理解とその治療法開発に貢献することが期待されます。

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』（平成27年度より文部科学省から移管）の一環として行われ、研究の成果は *Scientific Reports* 誌に掲載されました。

4. 発表内容：

ヒトの脳は、数千億個の神経細胞が複雑なネットワークを形成し、情報をやり取りすることで複雑な情報処理を行っていると考えられています。そのような脳の仕組みを理解するには、脳の構造についての知見だけでなく、実際に個々の神経細胞がどのような活動をし、他の神経細胞とどのような情報をやり取りしているのかを明らかにすることが重要です。

近年、生きた脳の中にある神経細胞内のカルシウムイオン濃度を光として測定する「カルシウムイメージング法（注1）」の発展により、生きたマウスの脳神経細胞の活動を数百から数千個単位で計測することが可能となっています。また、この技術を用いることで、神経細胞が

他の神経細胞へと情報を伝達するシナプス部位の前部にあたる軸索終末とよばれる構造における活動の計測も可能となってきており、脳の中で神経細胞がどのような情報を他の細胞へと送っているかを明らかとすることも可能となってきています。しかし、軸索終末は、通常カルシウムイメージングで計測の対象となる、神経細胞の細胞体の直径約 10 μm (1 μm は 1mm の 1,000 分の 1) に対してさらに小さく、直径は約 0.5 μm しかありません。カルシウムイメージング法で一般に用いられている 2 光子顕微鏡 (注 2) は、視野 1 点 1 点を 1 本のレーザービームで順番に走査する仕組みであるため、約 0.5 μm と非常に小さい軸索終末の活動を広い範囲で高速に測定することは困難でした (図 1)。1 本の軸索に存在する軸索終末はその大きさの 2000 倍の 1 mm よりも広い範囲にわたり分布するものがあるものも知られており、そのような広範囲でのイメージング手法の開発が待ち望まれていました。

そこで研究チームは、スピニングディスク共焦点顕微鏡 (注 3) とよばれる 1,000 本以上に分割されたレーザービームで画面全体を走査する顕微鏡を用い、そこにさらに高精細かつ高速な動画取得を可能とする 8K スーパーハイビジョンカメラを組み合わせた顕微鏡 (8K スピニングディスク共焦点顕微鏡) の開発を行いました。8K スーパーハイビジョンカメラは、従来のハイビジョンの 16 倍にあたる 3,300 万画素の高解像度を有するカメラで、その密度は人間の網膜に迫ると言われており、放送用途のみならず内視鏡手術など医療分野への応用も期待されています (図 2)。研究チームらはマウスの脳の視床 (注 4) とよばれる部位に蛍光タンパク質を導入することで、その視床に位置する神経細胞が大腦皮質の運動野に投射している軸索終末のイメージングを実施しました。その結果、スピニングディスク型共焦点顕微鏡と 8K スーパーハイビジョンカメラを組み合わせたシステムにより、従来の 2 光子顕微鏡の 25 倍広い視野でありながら 2 倍高速に撮影することに成功しました (図 3)。また、実際に測定された活動について解析することで、1 mm 以上離れた場所における軸索終末の同期的な活動を計測することにも成功しました (図 4)。

今回開発した方法は、神経細胞活動の計測をさらに越えて、神経細胞のつなぎ目で有るシナプス活動の計測を脳全体で行うことの第一歩となるものです。8K スーパーハイビジョンカメラを用いた顕微鏡技術は脳計測にその使用が限定されたものではなく、ライフサイエンス研究においても細胞動態や細胞内の分子動態といった生命現象の高精細かつ高速な記録が可能となり、様々な疾患の理解とその治療法開発に貢献することが期待されます。

5. 発表雑誌：

雑誌名：「*Scientific Reports*」2018 年 5 月 29 日(火)午前 10 時オンライン発表

論文タイトル：In vivo wide-field calcium imaging of mouse thalamocortical synapses with an 8K ultra-high-definition camera

著者： Eriko Yoshida#, Shin-Ichiro Terada#, Yasuyo H. Tanaka, Kenta Kobayashi,

Masamichi Ohkura, Junichi Nakai & Masanori Matsuzaki*

(#は同等貢献、*は責任著者)

DOI 番号：10.1038/s41598-018-26566-3

アブストラクト URL：<https://www.nature.com/articles/s41598-018-26566-3>

6. 問い合わせ先：

【研究に関すること】

国立大学法人東京大学 大学院医学系研究科
機能生物学専攻 生理学講座 細胞分子生理学分野
教授 松崎 政紀（まつざき まさのり）
TEL: 03-5841-3471 FAX: 03-5841-3471
E-mail: mzakim@m.u-tokyo.ac.jp

【報道に関すること】

国立大学法人東京大学 大学院医学系研究科 総務係
TEL : 03-5841-3303 FAX : 03-5841-8585

【AMED 事業について】

日本医療研究開発機構 戦略推進部脳と心の研究課
TEL : 03-6870-2222
E-mail: brain-pm@amed.go.jp

7. 用語解説：

（注1）カルシウムイメージング法

カルシウムイオンと結合したときに蛍光を発するタンパク質を細胞に遺伝子導入することで、細胞内のカルシウム濃度を光に変換する。その光の強度を顕微鏡で計測することで、細胞内のカルシウム濃度を定量する方法。神経細胞が活動すると、同時に細胞内のカルシウム濃度が上昇するため、この方法により個々の神経細胞の活動を測定することができる。

（注2）2光子顕微鏡

フェムト秒レーザーと呼ばれる特殊なレーザーを用いることで、生体深部にある蛍光分子を観察する事ができる顕微鏡。

（注3）スピニングディスク共焦点顕微鏡

生体の内部構造を高精細かつ高速に映像化するためのイメージング装置。多数のピンホールが並ぶ回転ディスクを通じ1000本近くのレーザーで同時に試料を走査することで高速なイメージングを可能としている。

（注4）視床

視覚や聴覚などの感覚情報や、小脳からの運動情報などを大脳皮質へと中継する脳の深部領域。大脳皮質全体に広く軸索を投射することが特徴。

8. 添付資料：

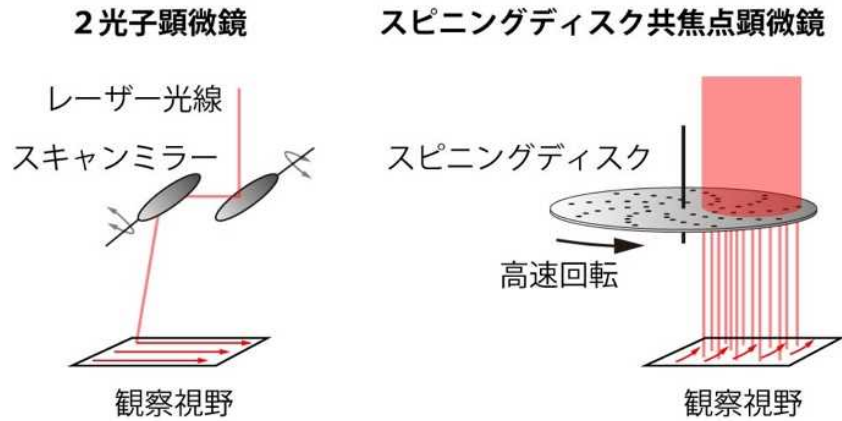


図1. 2光子励起顕微鏡とスピニングディスク共焦点顕微鏡

2光子顕微鏡では、1本のレーザー光線の照射位置を2つのミラーによって調整することで、画面全体を1点1点走査することで画像化する。一方、スピニングディスク共焦点顕微鏡では、広げたレーザー光を無数のピンホールを持つ高速回転する円盤（スピニングディスク）に照射することで1000本近くにレーザー光線を分割し、回転によってそれらが高速に走査することで画像化する。

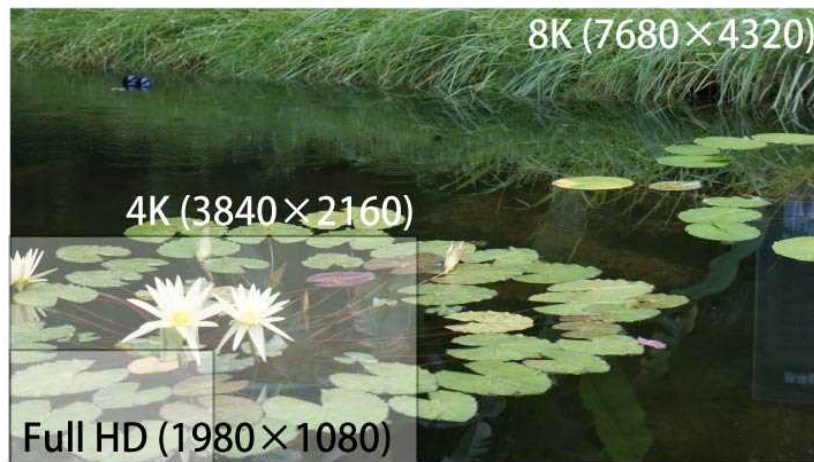


図2. 8K スーパーハイビジョンカメラ

8K スーパーハイビジョンカメラは FullHD の 16 倍、4K に対しても 4 倍の画素数を持ったカメラである。

8K スピニングディスク共焦点顕微鏡

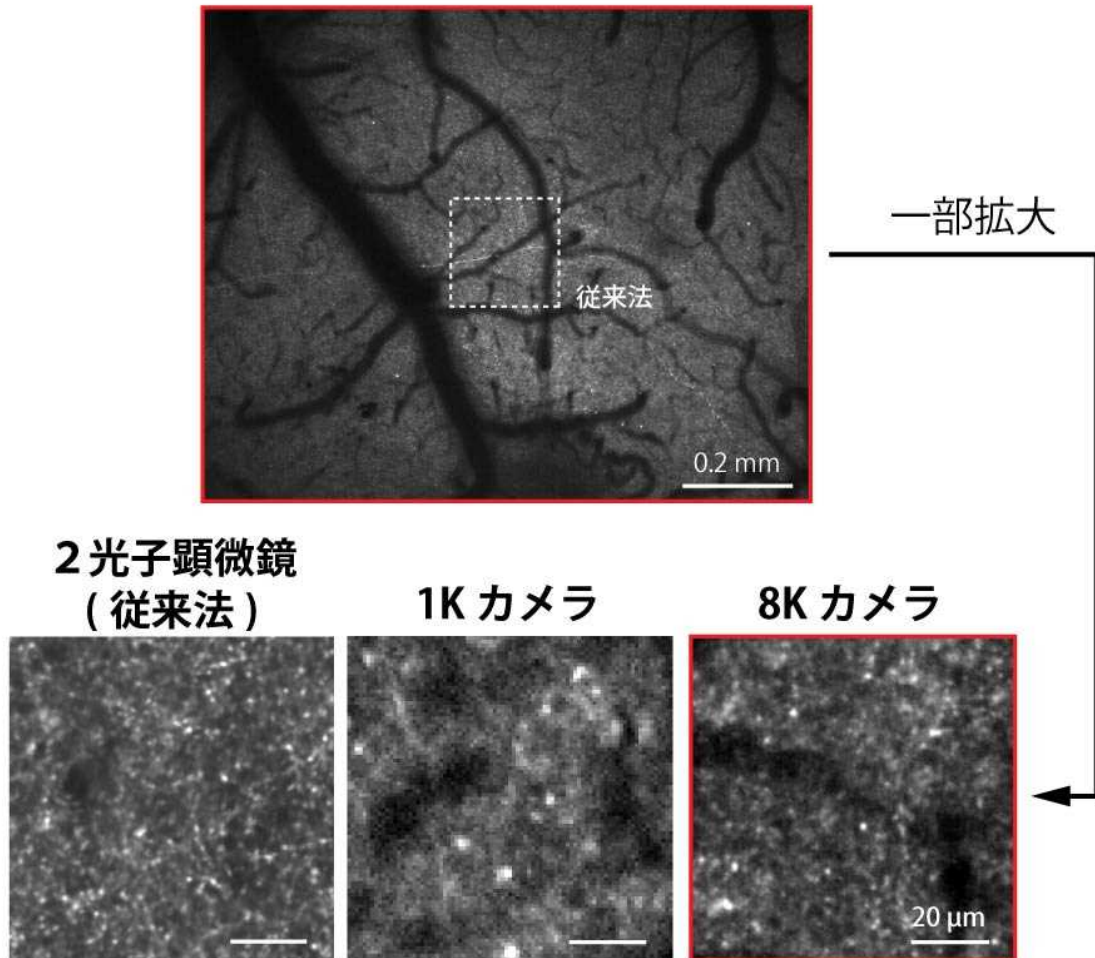


図3. 8K スピニングディスク共焦点顕微鏡による広範囲に投射する軸索終末のイメージング
8K スピニングディスク共焦点顕微鏡による視床軸索の蛍光イメージング例。脳深部に位置する視床より大脳皮質の表層部分に投射されている軸索の軸索終末が可視化されている。従来法における視野（一片 0.2 mm）を点線で示している。下図は一部を拡大して示しており、左より 2 光子顕微鏡、1K カメラ、8K カメラの例をそれぞれ示している。白い点として見えているのが個々の軸索終末。スピニングディスク共焦点顕微鏡を用いた場合でも、1K カメラ（1080 × 1080 ピクセルのカメラ）では解像度が荒く、細かい構造が捉えられていない。8K カメラを用いることで、2 光子顕微鏡に匹敵する解像度が得られた。

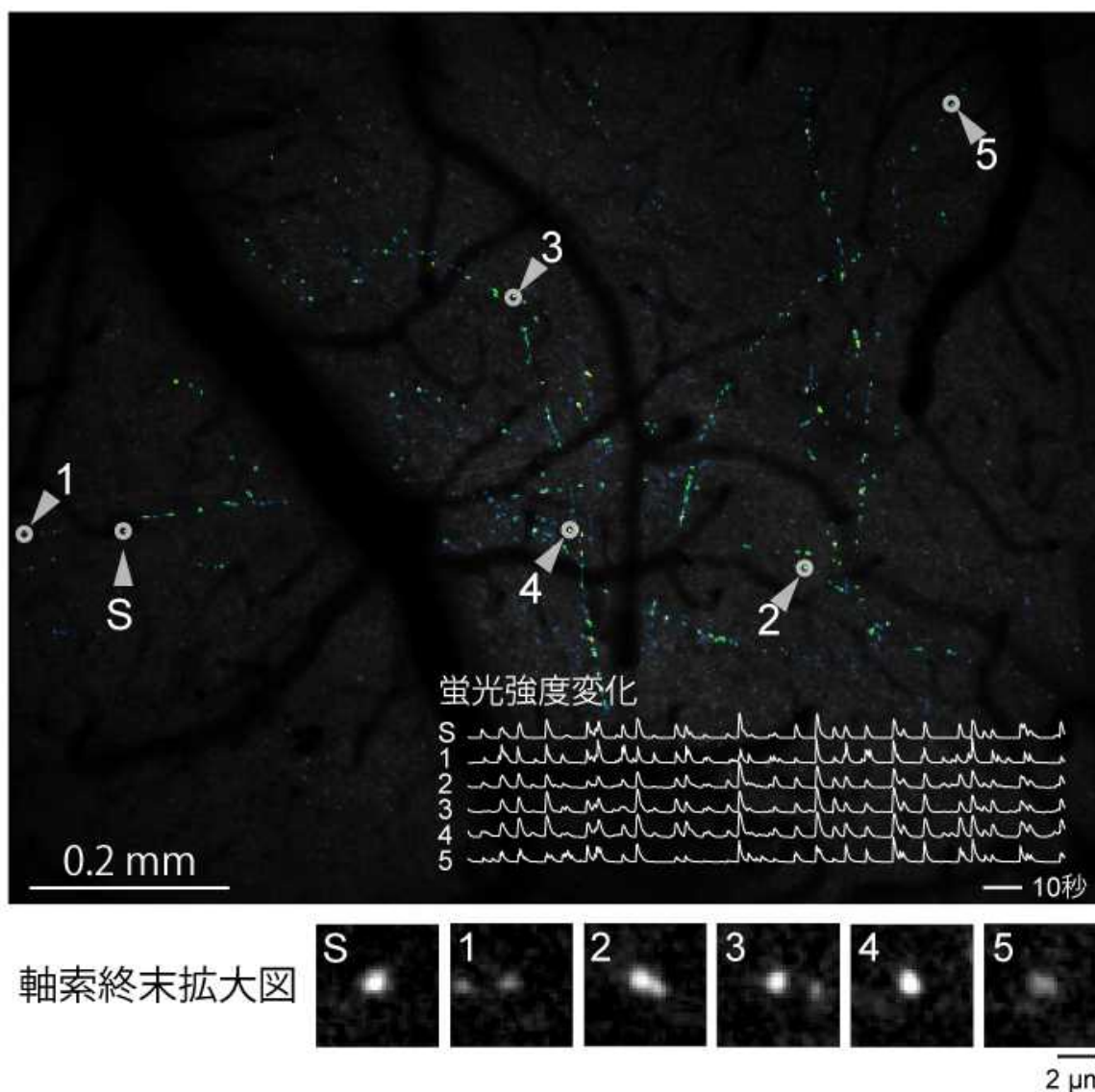


図4. 1 mm 以上離れた軸索終末の同期的な活動を捉えた例

8K スピニングディスク共焦点顕微鏡によって広範囲に広がった軸索の活動を捉えた例。蛍光強度の時間的な変動が類似しているピクセルを色づけて示している。この画像は「S」として示した点における蛍光強度の変化に基づき作製した。数字で示した各点に位置する軸索終末から取得された蛍光強度変化が右下に示されている。「1」と「5」のように1 mm 以上離れた点においても同期的な活動を捉えられた。これら軸索終末はおそらく同一細胞に由来していると考えられる。

動画 8K スピニングディスク共焦点顕微鏡による広範囲に投射する軸索終末のイメージング

8K スピニングディスク共焦点顕微鏡により取得された、運動中の視床軸索活動の例。視野全体に広がっている点滅する白い点が個々の軸索終末。軸索終末が活動したとき、細胞内のカルシウム濃度が上昇し強い蛍光を発する。拡大図(右 1-3)から分かるように、視野の端であっても個々の軸索終末の活動を捉えることができている。