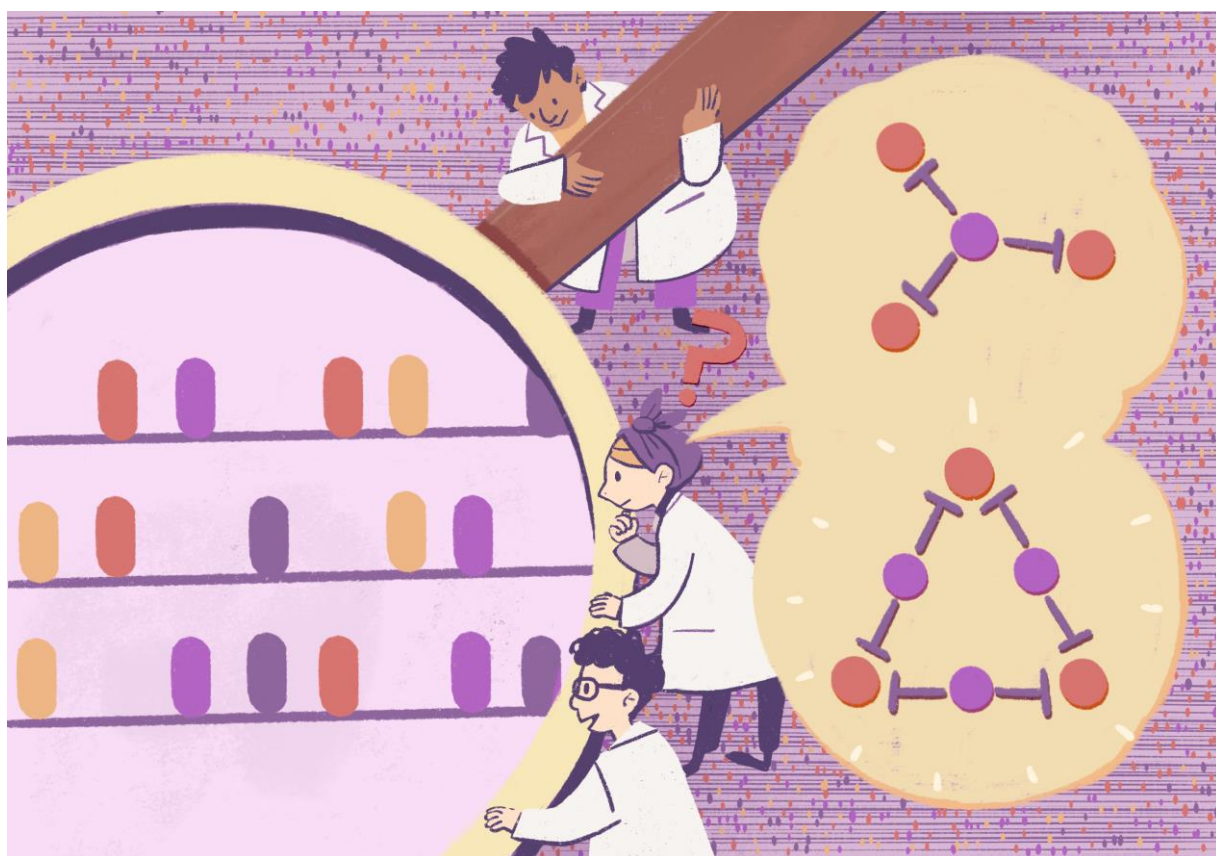


神経回路網の構造をつきとめる

—神経活動と回路構造をつなぐ新しい地図を作成—

概要

動物の脳の神経細胞は環境に適した回路網を構築し、動物が環境を認識し行動するための計算を行なっています。そのため、どのような回路網が構築されているかを知ることは、脳の機能を知るために不可欠です。にもかかわらず、生きた動物の神経活動から背後にある回路網の結合構造を明らかにする技術はこれまでありませんでした。今回、京都大学大学院情報学研究科の島崎秀昭准教授（北海道大学人間知・脳・AI研究教育センター客員准教授）、イラン基礎科学研究所の Safura Rashid Shomali 博士らの研究グループは神経活動と回路構造を対比させる地図を世界で初めて作成し、神経活動の特徴を手がかりに、隠れた回路構造を特定する手法を開発しました。この地図をもとに視覚野の神経細胞が示すスパース（疎）な活動を調べ、従来考えられていた抑制性細胞が主役の回路網ではなく、興奮性細胞による局所的な共通入力構造が背後にあることを示しました。これによりスパース符号化と呼ばれる脳の情報符号化方式の実態に新たな可能性を示しました。本成果は、2023年2月15日に英国の国際学術誌「Communications Biology」にオンライン掲載されました。



神経スパイク活動から神経回路の構造をつきとめる（Illust. Robin Hoshino）

1. 背景

動物の脳の神経細胞は環境に適した回路網を構築し、動物が環境を認識し行動するために必要な計算を行っています。そのため、どのような回路網が構築されているかを知ることが、脳の機能を調べるために必要不可欠です。このような認識のもと、欧米諸国と日本は、2010年代にかけて、電子顕微鏡や遺伝学的な標識法を用いた網羅的な解析により、脳のすべての神経細胞の接続構造を明らかにするという大胆な国家プロジェクトを展開してきました。近年、その成果によりマウスやマーモセットといったモデル動物において詳細な脳の回路図が得られつつあります。しかしながら、これらの研究は主として脳の切片の画像から神経細胞間の結合を再構成する手法であり、生きている動物で機能している神経回路網の実態にまで迫ることはできません。そのため、脳の全ての結合の再構成を目指す大規模なプロジェクトが大きな成果をあげる今日にあっても、動物の認識・行動とともに駆動する責任回路を特定する事の重要性は失われていません。

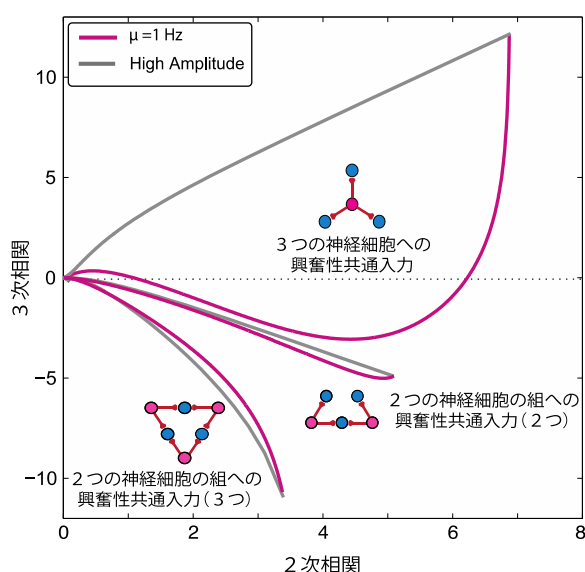
各国のプロジェクト、なかでも米国が標榜する BRAIN イニシアティブ¹では、静的な結合構造の解明だけでなく、生きている動物の脳における大規模な神経活動計測をもとに脳の機能的なネットワークを明らかにすることも目標にしてきました。過去10年間ににおけるこの方面での発展も目覚ましく、現在では Neuropixel と呼ばれる高密度電極を複数併用することで数千個の神経細胞の電気的な活動を、また2光子顕微鏡による大規模なカルシウムイメージング技術²を用いれば数万個の神経細胞の活動を、同時に記録できるようになっています。こうした同時記録の活動時系列から神経細胞間の結合を推定し、神経細胞のネットワーク構造を明らかにする努力も行われています。従来、そのような回路構造は2つの神経細胞間の相互相関解析を網羅的に行うことで推定されてきました。2つの神経細胞間に結合がある場合、1つの神経細胞が活動したすぐ後にもう1つの神経細胞が活動する可能性が高まります。相互相関解析はそのような相関を伴う活動が統計的に有意に見られた場合に、2つの神経細胞間に結合があると推定する手法です。しかし、この手法は観測された神経細胞同士の結合の有無を推定する手法であることに注意する必要があります。大規模記録が可能になったとはいえ、例外を除いて記録される神経細胞集団は脳全体のごく一部です。観測された神経細胞は観測外の神経細胞からの影響を受けており、なかでも観測された複数の神経細胞に観測外の1つの神経細胞から同時に入力を受ける共通入力結合があると、観測された神経細胞の集団は相関を伴う様々な活動を示します。そこで観測外の神経細胞からの共通入力の構造を、観測された神経細胞の相関を伴う集団活動から特定できないか、という新たな問いが生まれてきます。私たちはこのような問いから出発して、神経細胞の集団活動の統計的特徴を手がかりに、その活動を生成する背後の共通入力構造を複数の候補から特定する手法を開発しました。

2. 研究手法・成果

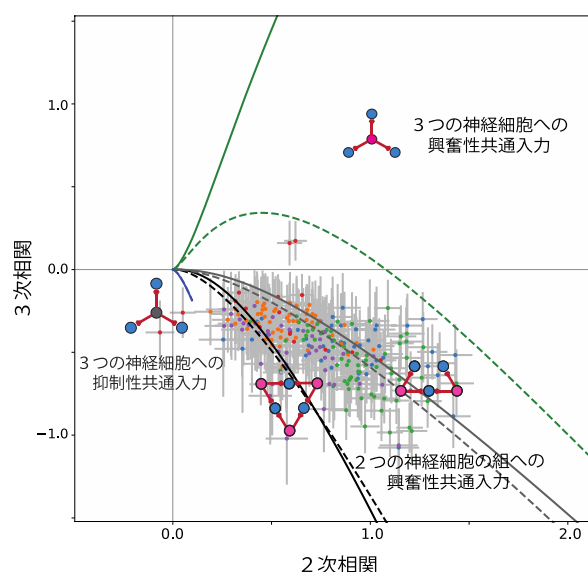
神経細胞の集団活動の統計的特徴を手がかりに、その活動を生成する回路構造を特定するためには、まず神経細胞の集団活動がどのようなメカニズムで生成されているのかを明らかにする必要があります。神経細胞はスパイクと呼ばれる電気信号を生成し、シナプスと呼ばれる結合を介して次の神経細胞に入力電位を与えます。次の神経細胞は多くの神経細胞からの入力を受け取り、入力電位の総和がある一定の値を超えるとスパイクを生成し、その活動はさらに次の神経細胞に伝わります。こうして繋がるシナプス結合の構造、すなわち回路構造、が最終的な神経細胞集団の活動を形作ります。しかし、神経細胞集団の活動の特徴を決めるもうひとつ重要な要因がこの流れの中にあります。それは神経細胞へのシナプス入力、神経細胞にどのように影響を与えて最終的にその細胞のスパイクの生成に至るのか、という神経細胞の非線形な入出力関係です。神経細胞集団の活動の統計構造は回路構造だけでなく、個々の神経細胞のスパイクの生成機構にも依存するのです。

この事実は逆にいえば、神経細胞の入出力関係を表す適当なモデルがあれば、集団活動の統計構造から回路構造を推定できる可能性があることを示しています。最近の研究で私たちは、生体内で見られる興奮性入力と抑制性入力拮抗³した状態にある神経細胞の入出力関係を表す理論式を構築しました[1]。記録している神経細胞の入出力関係を正確に知ることは非常に困難ですから、この理論的な関係式は非常に重要な役割を果たします。この関係式をもとに、今回私たちは3つの神経細胞に着目し、結合の方式（3つの神経細胞に1つの共通入力が投射する構造・2つの神経細胞のペア毎にそれぞれ独立の共通入力が投射する構造）、結合のタイプ（興奮性・抑制性）の組み合わせのもとで、3つの神経細胞がどのような集団活動を示すのかを表す理論式を求めました。3つの神経細胞の集団活動としては、2つの神経細胞間の同期的活動を記述する2次の相関構造に加えて、3つの神経細胞の集団的振る舞いを記述する3次の相関⁴にも注目し、どの結合構造に基づく活動が、神経細胞の集団的活動の相関構造を表す空間のどの部分を占めるかを調べました。これまで、このように詳細な回路構造・結合様式と神経細胞集団活動の統計構造を一気通貫して記述する枠組みはなく、今回両者を対比させる地図を初めて描くことができました（図中左のパネル）。この地図は神経科学者が計測した神経細胞活動の背後にある回路構造を決定するのに役立ちます。

神経細胞活動の相関構造と回路構造の関係を表す地図



マウス第一次視覚野神経細胞の活動相関と回路構造の推定



私たちはこの地図を用いて、サルおよびマウス的大脑皮質第一次視覚野の神経細胞の活動を調べました（マウスについて図中右のパネル）。サルの第一次視覚野ではこの研究に先立って、約 $300\text{ }\mu\text{m}$ 以内に位置する3つの神経細胞は正の2次相関とともに、3次相関が負の値を示すことが報告されています[2]。また、私たちも負の3次相関を海馬体の神経細胞の活動において見出していました[3]。神経細胞集団が示す負の3次相関は、神経細胞集団が同時に不活性化している期間が有意に長い、スパース（疎）な集団活動をしていることを表しています。これは大腦皮質や海馬体の局所回路網から生成される特徴だと考えられています。従来、このようなスパースな活動のメカニズムとしては、抑制性細胞を主体とする勝者総取りネットワーク⁵（Winner-take-all network）が想定されていました。このメカニズムでは、1つの抑制性細胞が多くの興奮性神経細胞に投射してそれらの活動をシャットダウンすることで、スパースな集団活動を実現します。私たちは3つの神経細胞が1つの抑制性細胞から共通入力を受ける場合に、確かに3つの神経細胞が負の3次相関を示すことを

確認しましたが、サル・マウスの第一次視覚野において観測される強い負の3次相関を生成することはできないことを示しました。代わりに、興奮性の共通入力があるのではなく2つの神経細胞に入力し、複数の共通入力がある異なる神経細胞のペアに入力している回路網によって、観測されたものと同様の強い負の3次相関が生成されることを示しました。このような構造では、2つの神経細胞が高頻度に同時に活動しますが、3つの神経細胞がすべて同時に活動することはそれほど多くなく、結果として正の2次相関とともに強い負の3次相関が生成されます。この発見により、神経細胞集団のスパースな活動を生成するメカニズムとして、従来考えられていた抑制性細胞に基づくネットワーク構造を廃し、興奮性結合に基づくネットワーク構造を提案しました。このことは視覚野で行われているとされる、少数ニューロンのみで情報表現を行う符号化方式であるスパース符号化⁶が、一般によく見られる2つの神経細胞間の興奮性結合と神経細胞の非線形性によって担われている可能性を示唆しています。

[1] Shomali, S. R., Ahmadabadi, M. N., Shimazaki, H. & Rasuli, S. N. How does transient signaling input affect the spike timing of postsynaptic neuron near the threshold regime: an analytical study. *Journal of computational neuroscience* 44, 147–171 (2018).

[2] Ohiorhenuan, I. E. et al. Sparse coding and high-order correlations in fine-scale cortical 950 networks. *Nature* 466, 617–621 (2010).

[3] Shimazaki, H., Sadeghi, K., Ishikawa, T., Ikegaya, Y. & Toyoizumi, T. Simultaneous silence organizes structured higher-order interactions in neural populations. *Scientific Reports* 5, 946 9821 (2015).

3. 波及効果、今後の予定

脳の神経細胞の回路網や神経細胞の入出力関係の非線形性は外界に適応した結果として構築されていると考えられています。本研究は、神経回路網の回路構造と神経細胞の入出力関係の非線形性が神経細胞集団活動の統計構造に密接に関わることを明らかにし、その関係を理論式で導いています。この関係式に従えば、神経細胞集団活動の統計的特徴は外界に適応した結果として現れることが示唆されます。従って、今後は異なる動物種の異なる脳領域における集団活動の統計構造から背後の回路構造を明らかにし、回路に基づく情報符号化方式を明らかにしていくことはもとより、この技術を応用して神経回路網が適応していく機構を神経活動から解明していくことが求められます。また、今回見出されたスパースな活動を生成する機構は、省電力で駆動する深層ニューラルネットワークの結合構造や非線形素子としての要素ニューロンを構築する際の指針を与え、より生物に近い構造を持つ人工知能技術の開発に活かされていくことが期待されます。

4. 研究プロジェクトについて

日本学術振興会 科学研究費助成事業 学術変革領域研究(A) センサスデータ駆動による適応回路の理論構築 21H05246

日本学術振興会 科学研究費助成事業 基盤研究(C) 大規模・非線形な神経細胞集団活動を可視化する統計解析技術の開発 20K11709

自然科学研究機構 分野融合型共同研究事業 共同研究型 脳の自由エネルギー原理:実装と検証 01112005, 01112102

京都大学ーホンダ・リサーチ・インスティテュート・ジャパン協調的知能共同研究

<用語解説>

1 BRAIN イニシアティブ

脳の構造・機能の網羅的解明を目指し、アポロ計画・ヒトゲノム計画に匹敵する規模の国家戦略科学計画としてアメリカが策定した国家プロジェクト。2013 年にオバマ大統領（当時）が大統領令に署名して計画がスタートした。網羅的解析を行うための技術開発にも焦点を当てている点に特徴がある。同時期に欧州では計算機による全脳シミュレーションを目指すヒューマンブレインプロジェクトが発足し、日本では脳機能ネットワークの全容解明を目指す Brain/MINDS プロジェクトが始動している。

2 カルシウムイメージング技術

神経細胞内においてカルシウムイオンの濃度は非常に低く抑えられており、その濃度の上昇は神経活動と密接に関わることが知られている。カルシウムイメージング技術はレーザーを用いた顕微鏡と遺伝子改変を用いたカルシウムセンサーにより、多数の神経細胞の活動を同時に計測することのできる技術である。

3 興奮性入力と抑制性入力の拮抗

神経細胞は保持する神経伝達物質の効果によって大きく二分される。自身がスパイクを生成することで、結合する相手の活動度を上げる神経細胞を興奮性細胞、結合する相手の活動度を下げる神経細胞を抑制性細胞という。大脳皮質の一つの神経細胞は多数の興奮性神経細胞からの入力（興奮性入力）と抑制性細胞からの入力（抑制性入力）を同時に受けており、その作用は拮抗していることが知られている。

4 3 次の相関

3つの神経細胞の同時活動の特徴づけるとき、一部を見て特徴づけられる量と3つの神経細胞の活動を同時に見ないと特徴づけられない量がある。例えば個々の神経細胞のスパイク生成の頻度は集団活動の特徴づける上で重要な指標だが、これらは個々の神経細胞の活動を1つ1つ調べればわかる量である。また2つの神経細胞が同時に活動するか否かを記述する2次相関は2つの神経細胞のペアを取り出して調べることができる。一方で、個々の要素や2つの神経細胞間の関係だけではわからない、3つの神経細胞の集団としての振る舞いを特徴づける量として3次の相関がある。

5 勝者総取りネットワーク

神経系に幅広く見出され、理論的にも重要なネットワーク。一般的な構造では、多数の興奮性細胞が少数の抑制性細胞に投射し、抑制性細胞は興奮性神経細胞すべてに投射する。このような構造のもとでは、1つの興奮性神経細胞が活動すると、その後他の興奮性細胞が抑制性細胞を介して不活性化され、常時たかだか1つの興奮性神経細胞しかネットワーク内で活動しなくなる。スパース（疎）な活動を生成する機構として普遍的な役割を担うと考えられている。

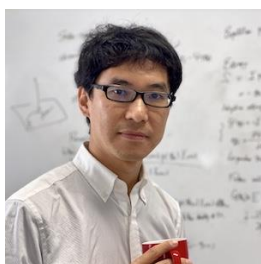
6 スパース符号化

神経細胞集団による感覚情報処理の方法のひとつで、少数の神経細胞の活動のみで外界を表現しようとする仕組み。個々の神経細胞は外界の特定の組み合わせの刺激にのみ反応する。エネルギー効率のよい情報符号化方式として提案され、この原理のもとで視覚野の神経細胞の特徴が良く説明できることが知られている。

<研究者のコメント>



Rashid Shomali この研究では、神経細胞の入出力関係の非線形性を考慮することで、3つの神経細胞のスパイク活動の相関から局所回路構造を特定できることを示しました。さらに一歩進んで、ニューロンモデルに依存しない、隠れた局所回路を同定するためのガイドマップも提案しました。本研究は実験だけでは明らかにできない隠された回路構造を理論が明らかにするもので、理論と実験が結びついた好例と言えます。私たちは、実験研究者がこのガイドマップを使って、データの背後にある隠れた局所回路を特定することを期待しています。



島崎 私がまだポスドク研究員であった2013年に、イランの研究所で神経科学理論の2週間の集中講義をする機会がありました。その時に会ったのが当時大学院生だった筆頭著者のShomali博士です。本研究は、彼女が学位論文で開発した新しい皮質神経細胞モデルをもとに神経回路網の構造と活動を一通貫する理論の構築を目指して行われました。論文に付随する付録の図は実に18個にも及ぶ大作です。粘り強く論理を追求する彼女の類稀なる忍耐力のおかげで、この研究を完成させることができました。

<論文タイトルと著者>

タイトル：Uncovering Hidden Network Architecture from Spiking Activities Using an Exact Statistical Input-Output Relation of Neurons

(神経細胞の厳密な統計的入出力関係を用いてスパイク活動から隠れたネットワーク構造を発見する)

著者：Safura Rashid Shomali, Seyyed Nader Rasuli, Majid Nili Ahmadabadi, Hideaki Shimazaki

掲載誌：Communications Biology

DOI：10.1038/s42003-023-04511-z