

「ヒト精神疾患の新たなバイオタイプに基づく疾患モデルマウス脳のデータ駆動型解析」

橋本 均（薬学研究科），長原 一（D3 センター），栗生 智香（連合小児発達学研究科）

1. 研究の背景

我々は、これまでに全脳イメージングとその画像解析法 FAST を独自に開発し[1, 2]、疾患モデル脳の構造・活動の網羅的でアンバイアスな個体間比較を可能にしてきた[3-5]。本研究は、このような画像解析法を用いて、疾患モデルマウスにおける脳構造変化の機序と病態機構の解明に向け、脳構造、神経活動、遺伝子発現解析によるデータ駆動型研究を実施することを目指した。

2. 研究の目的

本研究は、ヒトの精神疾患の病態モデルと考えられる疾患モデルマウスを用いて、脳構造変化の有無の解析とその機序の解明を目指し、全脳構造と神経活動の網羅的な画像データに基づくデータ駆動型研究を実施することを目的とする。そしてヒト脳画像研究を補完し、ヒトだけでは実施できない病態機構を分子レベルで解明する研究に寄与することを目指している。

3. 研究の方法

3.1 脳画像の領域分割の自動化

脳画像の領域分割をほぼ自動化し、解析スループットを向上させることを目的として、米国 Allen 研究所が公開するマウス脳共通座標フレームワーク version 3 (CCFv3) をもとにした自動領域分割を実施できるようにする。

3.2 蛍光標識細胞の定量化

蛍光で標識される細胞を精度高く識別するため、ディープラーニングを用いた画

像解析を実施する。さらにこの結果をもとに、蛍光標識細胞の脳領域毎の数や密度を計測するために、3.1 の領域分割の結果に重ね合わせができるようとする。

3.3 疾患モデルマウスを用いた解析

疾患モデルマウス脳の脳画像を用いて、3.1 および 3.2 の解析を行う。

4. 研究成果

これまでに、専用のソフトウェアを用いて、脳領域分割を手動で実施してきた。この方法は、多数のサンプルの解析には

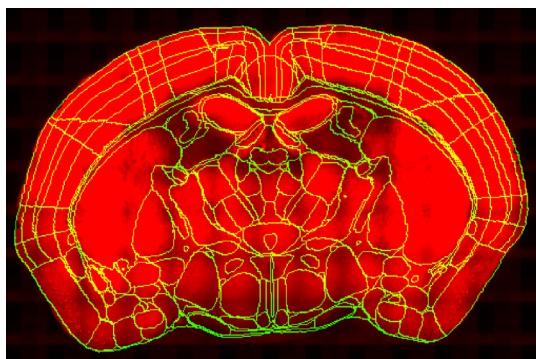


図 1 マウス脳の領域分割結果の例

向かないが、区分けの精度は非常に高い。そこで、手動による領域分割を実施済みの疾患モデルマウスの脳画像データをグラウンドツルースとし、同じ画像を用いて得た、深層学習で領域分割を行うソフトウェアの結果の精度を確認することにした。その結果、オープンソースソフトウェアである bi-channel image registration and deep-learning segmentation (BIRDS)[6]により、高いスループットで自動領域分割が実施できることが分かった（図 1）。一部の領域で、手動と

自動の結果に比較的大きな差が認められたが、前者が CCFv3 ではなく、version 2 である CCFv2 を用いているためであった。

また、蛍光標識細胞を精度高く自動識別するために、上述とは異なる学習済みの深層学習モデルを用いた方法を採用した。本研究では、全脳画像を扱うため大きな処理能力が必要であるが、この要件も満たしていた。

以上の通り本研究において、疾患モデルマウスの脳画像の自動解析系を整備できた。

引用文献

- [1] Seiriki K, Kasai A, Hashimoto T, Schulze W, Niu M, Yamaguchi S, Nakazawa T, Inoue KI, Uezono S, Takada M, Naka Y, Igarashi H, Tanuma M, Waschek JA, Ago Y, Tanaka KF, Hayata-Takano A, Nagayasu K, Shintani N, Hashimoto R, Kunii Y, Hino M, Matsumoto J, Yabe H, Nagai T, Fujita K, Matsuda T, Takuma K, Baba A, Hashimoto H. High-speed and scalable whole-brain imaging in rodents and primates. *Neuron* 96:1085-1100.e6, 2017
- [2] Seiriki K, Kasai A, Nakazawa T, Niu M, Tanuma M, Igarashi H, Yamaura K, Hayata-Takano A, Ago Y, Hashimoto H. Whole-brain block-face serial microscopy tomography at subcellular resolution using FAST. *Nat Protoc* 14, 1509-1529, 2019
- [3] Niu M, Kasai A, Tanuma M, Seiriki K, Igarashi H, Kuwaki T, Nagayasu K, Miyaji K, Ueno H, Tanabe W, Seo K, Yokoyama R, Ohkubo J, Ago Y, Hayashida M, Inoue KI, Takada M, Yamaguchi S, Nakazawa T, Kaneko S, Okuno H, Yamanaka A, Hashimoto H. Claustrum mediates bidirectional and reversible control of stress-induced anxiety responses. *Sci Adv* 8:eabi6375, 2022
- [4] Endo F, Kasai A, Soto JS, Yu X, Qu Z, Hashimoto H, Gradinaru V, Kawaguchi R, Khakh BS. Molecular basis of astrocyte diversity and morphology across the CNS in health and disease. *Science* 378:eadc9020, 2022
- [5] Yokoyama R, Ago Y, Igarashi H, Higuchi M, Tanuma M, Shimazaki Y, Kawai T, Seiriki K, Hayashida M, Yamaguchi S, Tanaka H, Nakazawa T, Okamura Y, Hashimoto K, Kasai A, Hashimoto H. (R)-ketamine restores anterior insular cortex activity and cognitive deficits in social isolation-reared mice. *Mol Psychiatry* 29:1406-1416, 2024
- [6] Wang X, Zeng W, Yang X, Zhang Y, Fang C, Zeng S, Han Y, Fei P. Bi-channel image registration and deep-learning segmentation (BIRDS) for efficient, versatile 3D mapping of mouse brain. *Elife* 10:e63455, 2021

発表論文等

〔雑誌論文〕

- ① Ichimura T, Kakizuka T, Taniguchi Y, Ejima S, Sato Y, Itano K, Seiriki K, Hashimoto H, Sugawara K, Itoga H, Onami S, Nagai T. Volumetric trans-scale imaging of massive quantity of heterogeneous cell populations in centimeter-wide tissue and embryo. *Elife* 13:RP93633, 2025
- ② Ohnami S, Naito M, Kawase H, Higuchi M, Hasebe S, Takasu K, Kanemaru R, Azuma Y, Yokoyama R, Kochi T, Imado E, Tahara T, Kotake Y, Asano S, Oishi N, Takuma K, Hashimoto H, Ogawa K,

Nakamura A, Yamakawa H, Ago Y. Brain region-specific neural activation by low-dose opioid promotes social behavior. JCI Insight 9:e182060, 2024

- ③ Kitagawa K, Takemoto T, Seiriki K, Kasai A, Hashimoto H, Nakazawa T. Socially activated neurons in the anterior cingulate cortex are essential for social behavior in mice. Biochem Biophys Res Commun 726:150251, 2024
- ④ Kojima L, Seiriki K, Rokujo H, Nakazawa T, Kasai A, Hashimoto H. Optimization of AAV vectors for transactivator-regulated enhanced gene expression within targeted neuronal populations. iScience 27:109878, 2024
- ⑤ Yokoyama R, Ago Y, Igarashi H, Higuchi M, Tanuma M, Shimazaki Y, Kawai T, Seiriki K, Hayashida M, Yamaguchi S, Tanaka H, Nakazawa T, Okamura Y, Hashimoto K, Kasai A, Hashimoto H. (R)-ketamine restores anterior insular cortex activity and cognitive deficits in social isolation-reared mice. Mol Psychiatry 29:1406-1416, 2024

[学会発表]

- ① 橋本均, 第 47 回日本分子生物学会年会 シンポジウム 3D 空間オミクス/3D spatial single-cell omics 三次元空間一細胞オミクス計測へ向けて「全脳イメージングを用いた神経機能と脳構造の統合的解析」2024/11/27
- ② 橋本均, 第 32 回日本運動生理学会大会 シンポジウム 運動生理学を理解する為の研究手法“cutting edge”と“fusion” 「高速・高精細脳イメージング技術の開発と応用」2024/8/22
- ③ 橋本均, NEURO2024 (第 47 回日本神経科学大会, 第 67 回日本神経化学会大

会, 第 46 回日本生物学的精神医学会年会, 第 8 回アジアオセニア神経科学連合コングレス), 特別講演「トランススケールイメージングを用いた脳疾患の病態解析」2024/7/25

[外部資金]

- ① R6-R7, 科学研究費助成金 挑戦的萌芽, 「超高精細顕微鏡画像と AI を用いた疾患モデル脳の病態解析技術の開発」, 24K22022, (代表)橋本均
- ② R5-R7, 科学研究費助成金 基盤 A, 「ヒト精神疾患のバイオタイプにアプローチする疾患モデル脳の構造・機能解析と創薬」, 23H00395, (代表)橋本均
- ③ R4-R8, AMED 生命科学・創薬研究支援基盤事業 BINDS, 「創薬サイエンス研究支援基盤の統合による創薬イノベーションの加速」, 23ama121054, (代表)辻川和丈, (分担)橋本均