透明な魚で探る脳のはたらき
――視覚が行動へとつながる仕組み――

准教授　久保 郁（くぼ ふみ）　新分野創造センター システム神経科学研究室

京都大学理学部（竹市雅俊研究室）卒業、京都大学生命科学研究科 博士課程修了。博士（生命科学）。理化学研究所 基礎科学特別研究員、カリフォルニア大学サンフランシスコ校ポスドク、マックスプランク研究所神経科学ポスドク、プロジェクトリーダーを経て、2017年12月より、国立遺伝学研究所（遺伝研）准教授。2016年日本神経科学会奨励賞受賞。

外界の変化を知る上で、視覚は動物にとって重要な情報源である。受け取った視覚情報に応じて、動物は適切な行動パターンをとるのだ。例えば魚は、目に映る景色が前後に流れるように変化すると、流れの中で自分の位置を一定に保とうと前後に泳ぐ。動物自身が特に意識していないときでも、脳は視覚情報を処理して、適切な行動を引き起こしている。視覚が行動を生むときの神経回路の仕組みを解明することは、動物の複雑な行動がどのような脳の働きで生み出されるのかを理解することへつながるだろう。新分野創造センターの久保郁准教授は、ゼブラフィッシュを実験動物として使用して、その解明に挑戦している。

視覚によって行動が決まるとは？

ゼブラフィッシュは、成魚が3〜5センチメートルくらいの小さい魚です。稚魚は透明で、神経細胞の活動を観察するのに適しています。「光遺伝学」や「カルシウムイメージング」といった、最先端の実験技術も適用でき、生きている魚の脳を、神経細胞1個ずつという細かなレベルで観察することも可能です。基本的な脳の構造は脊椎動物で共通しているので、脊椎動物の脳の働きを解明するには、ゼブラフィッシュはうってつけの動物モデルの1つといえるでしょう。

私はこの魚を用いて、視覚に関する研究を行っています。視覚の研究といってもさまざまに探究が可能ですが、私が興味をもっているのは、視覚情報にもとづいて、魚の行動パターンが決まるという点です。魚が特定の行動をとるときに、視覚情報がその引き金になることが多いのですが、このときに、どのように脳が働いているのかを解明できれば、動物の複雑な行動を解き明かす糸口となるでしょう。

視覚が行動を決めている、といっても漠然としてわかりにくいかもしれません。具体的な例で見てみましょう。魚が、流れのある水中に生息している場合、水流の中で自分の位置を一定に保とうとして、視覚を利用するのです。例えば、見ている景色が前に流れていったら、自分が後ろに移動してしまったと判断し、前に泳ぎ出します。反対に、景色が後ろに流れていったらUターンをして泳ぎ出します。実験室では、水槽の外の景色として縞模様の図柄をコンピューター画面に映し出したものを使いますが、この縞模様を画面上で動かすと、水流がなくても魚が上記のように

行動することが知られています。魚が視覚を情報源として利用し、自分の位置を判断して行動が生み出される典型的な例です。

私は、魚のこのような行動を解析して、脳の仕組みを解き明かそうと考えています。

実際の私の実験では、魚の「移動した・移動しない」を観察するのに加えて、魚の眼球運動を観察することで、魚の行動の指標としています。実は、景色が動いたと認知したときに、魚は泳ぎ出すだけでなく、眼球も動くということが知られているのです。これには「視運動性眼球反応」という名称がついており、ヒトでも見られる反応です。景色が流れたことによって生じる像のブレなどを補正する働きがあるのだろうと考えられています。

視運動性眼球反応を実験の指標にすることには、もう1つ理由があります。景色は前後方向（並進）に動くだけとは限りません。左右に回転する場合もあります。回転するときには、さほど魚は体を動かしません。眼球を主に動かすのです。そこで、眼球の反応を観察すれば、並進と回転の両方の解析ができるのです。

どの神経回路がどのように働いているのか

縞柄の画像を動かして外界の景色が並進したり回転したりするのを魚に見せ、神経細胞の活動を観察した結果、景色の動きを魚の脳がどのように識別しているかについて、おもしろい仮説をたてることができました。まずは、その研究についてお話ししましょう。

動物の眼が受容する視覚情報は、眼の網膜によって感知された後、脳に伝えられます。脳の入り口では、網膜から伸びてきた何千もの神経細胞が束になっています。この束は、脳へ入ると分岐し、脳の各所に伝えられることがわかっています。

私はまず、外界の景色が流れたときに起こる視反応性眼球反応に、この網膜からの連絡を受ける分岐先の存在が必須であることを実証しました。特に、前視蓋領域と呼ばれる部位が重要であることを突き止めたのです。

そこで次に、この前視蓋領域に存在する神経細胞の1つ1つについて、いつどのように活性化されているか、そのタイミングを詳細に解析しました。神経細胞の活性化は顕微鏡画像から判断するのですが、3000個もの神経細胞の画像データを解析した結果わかったのは、まず、ゼブラフィッシュは左目と右目が受け取る視覚情報を区別し、それを比較することにより、周囲や自分が回転しているのか、前後に進んでいるのかを識別しているということです。例えば、右目の景色の流れの方向と、左目の景色の流れの方向を比べ、それが同じだったら前後に進んでいる、左右で違ったら回転しているといった具合です。左目と右目が受け取る景色の流れの有無とその方向の情報のパターンが、神経細胞１つ１つによってデジタル情報として伝達され、最終的に総合されることが推測されました。この仮説を2014年に論文発表しました。

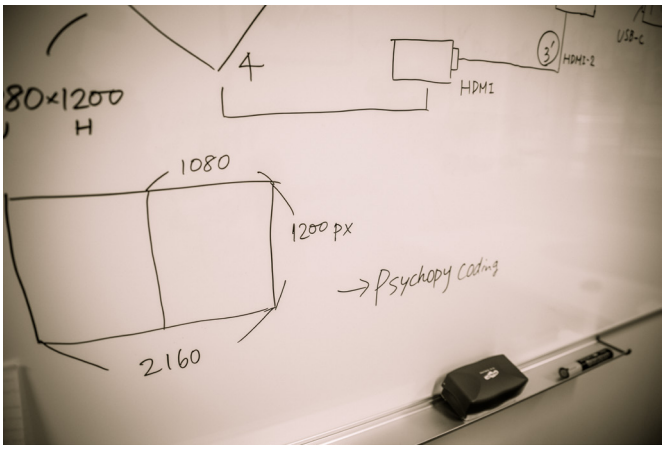
この仮説の実証に関しては、現在研究を進めているところです。

最先端の実験技術を駆使してきた

前述したような研究が可能になったのは、光遺伝学やカルシウムイメージングなどの最新技法の利用が可能になったからです。光遺伝学の技術を用いると、細いレーザー光を脳に当てることによって、光の当たった神経細胞だけを活性化したり抑制したりできます。これにより、神経細胞の働きを生きた動物で調べることが可能になりました。私の研究では、前視蓋領域の役割を調べるときに、この光遺伝学を利用しました。

もう1つ重要な技術は、カルシウムイメージングです。カルシウムイメージングも、生きた動物に対して用いることができる技術です。神経細胞が活性化されているときには、カルシウムイオンの濃度が高まることに着目し、カルシウムイオンの存在を蛍光の発光としてとらえて、今どの神経細胞が活性化されているかを知るのです。高解像度な顕微鏡を利用します。

カルシウムイメージングの実験はとても楽しいですよ。神経細胞がどう反応するか、細胞が光って直接教えてくれるので、実験をしながらもすぐに実感できるのです。魚がこういう視覚情報を見たときには、こういう神経細胞が活性化しているのかと結果がダイレクトに伝わってきます。



前述の研究では、前視蓋領域の3000個もの神経細胞の活動をカルシウムイメージングで解析しました。大量の画像データを人間が目視で読み取るのでは、時間がかかり不正確にもなるので、コンピュータの画像解析プログラムを利用しました。それにより、画像から定量性のあるデータを抽出でき、より詳細で網羅

的な解析が可能になりました。もちろん、画像解析ソフトを使いこなすにはプログラミングによるデータ解析の初歩的なノウハウが必要になります。私自身も全くの初心者でしたが、これからの神経科学研究者には、こうしたノウハウが必要だと思います。

私の経験でいうと、大規模データの画像解析についての一連の解析を一度でも体験すると、実験を注意深くデザインするようになります。どのようにデザインすれば最終的に求めるデータの定量が行えるか、そのためには何に気をつけて撮像すればよいのか、というように、実験を最初からしっかりと考えるようになるのです。

神経科学の分野では、顕微鏡を用いて大規模に神経活動を計測・定量する研究が、今後も重要になると思います。データ解析に親しんでおくことは、自分の強い武器になるのではないでしょうか。

海外でのポスドク時代に最先端技術を体験した

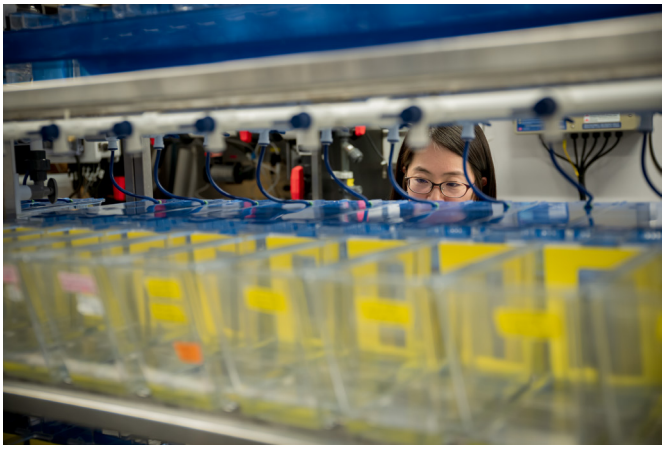
私自身は幸運にも、アメリカとドイツで過ごした約８年間のあいだに、最先端の実験技術や画像解析について、実践を通してトレーニングすることができました。

日本の大学・大学院では、もともと発生学を学んでいました。ニワトリの眼の発生について、分子生物学の分野から研究していたのですが、大学院を終え、ポスドクとして海外での研修を積みたいと考えていたときに、神経科学の分野に転向することにしました。当時は、神経科学の研究手法として、光遺伝学が世の中に登場した頃で、この技術を使えば、すごい研究や発見が可能になるのではないかと、多くの研究者が期待を寄せるようになった時期だったと思います。

いろいろ調べた結果、ゼブラフィッシュで光遺伝学を用いた先駆け的な研究論文を発表していたカリフォルニア大学サンフランシスコ校（UCSF）のHerwig Baier教授の研究室で研究したいと考えました。何回かの面接、フェローシップ（奨学金）への申請などがあり、実際に渡米までに１年ほどの期間を要しました。その間は、不安やフラストレーションもありました。けれども、最終的にBaier教授の研究室でポスドクとなることができてからは充実した毎日で、研究に没頭しました。新しい技術に挑戦でき、結果も出て、楽しくてしかたなかったことを覚えています。

アメリカで2010年から約2年間過ごした後、Baier教授がドイツのマックスプランク研究所に異動したため、私もついていきました。UCSFでもマックスプランク研究所でも、Baier教授は私に自由に研究させてくれていたので、研究のデザインや解析などは、もう１人の共同研究者（Aristides Arrenberg博士、現在、ドイツ・チュービンゲン大学ジュニアプロフェッサー）と議論を闘わせながら決めていきました。

ドイツに移ったのが2012年。最初の論文は2014年に発表できました。2015年には、Baier研究室でプロジェクト・リーダーという半独立ポジションにもつくことができ研究生活は充実していました。



しかし、そろそろ独立して自分の研究室を持ちたいという気持ちも芽生えてきており、2018年に日本に戻ってきました。そして、遺伝研の新分野創造センターのプログラムで採用していただき、自分のラボをたちあげることができました。とてもうれしく思っています。このプログラムは、スタートアップの補助金やサポートがとても充実しているので、一からラボを立ち上げる若手にとってはとてもありがたいのです。特に私のように、高度な顕微鏡が必要なカルシウムイメージングを利用する研究者にとっては。

また、遺伝研のある三島市は、町もきれいで保育園がしっかりと整備されており、子育てしやすいと感じています。私には保育園に通う子どもがいるのですが、ドイツでは多くの保育園は土日が完全に休みで、時間外の延長保育がありませんでした。夏休みや冬休みはそれぞれ３週間ほどあり、子どもとふれあう時間が確保できるのはよいのですが、研究で成果を出さなくてはいけないといったタイミングのときには、困ったのを覚えています。日本ではまた、いざというときに祖父母の育児のサポートも受けられるので、その点でも安心しています。

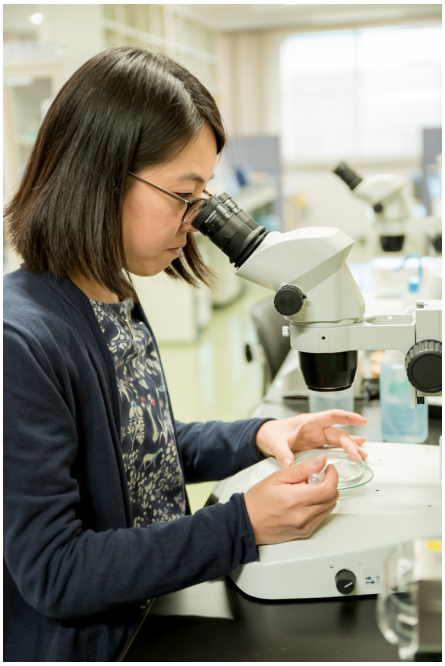
これからの研究

遺伝学研究所に着任してから、ゼブラフィッシュの飼育設備、カルシウムイメージングの実験設備などの実験環境を整えてきました。二光子顕微鏡も設置し、行動を撮影するカメラ、レーザー光を当てる装置、魚に縞模様を見せる装置などもセッティングでき、今は、いよいよ研究に本腰を入れる段階です。

現在、継続して取り組んでいる研究の１つは、2014年に論文発表した、視反応性眼球反応において景色の流れを識別する脳の仕組みに関する仮説の実証研究です。カルシウムイメージング法で神経細胞の活動を細かく観察したのですが、その際に、電子顕微鏡画像の撮影も行いました。電子顕微鏡画像の画像解析を行うと、各神経細胞の形や相互の接続関係がわかるようになり、神経細胞が形成する回路について、より詳細にわかるようになるからです。電子顕微鏡画像はデータ量が大きいので画像解析には時間がかかります。あと１〜２年要すると思いますが、結果が大変楽しみです。

また今後は、これまでの方法論を応用して、より複雑な行動の解析も進めたいと考えています。その１つは、魚の左利き、右

利きの研究です。例えば、大多数の魚は、何か興味深いものがあると左目を近づけてよく見ようとします。ヒトは右利きが多いですが、ゼブラフィッシュでは、どちらかというと左利きが多いようです。この左利き、右利きと脳の活動の関係を調べたいと思っています。



研究を志す人へのメッセージ

海外の大学や研究機関で、学生さんを指導することがありました。そのときに感じたのは、日本の学生さんには自分に自信がない人が多いのではないかということです。実は私もそうでした。でも、海外に行ってみると、学生さんたちは違っていました。例えば、新しい技術を取り入れようとしたときなど、「できます」と答えてくる。そして、自分でも積極的に開拓していこうとするのです。特に驚いたのは、ある学生さんが、最初は私が教えた通りに作業していたのですが、ある日、私が教えた以上のことを工夫してやってきたことです。

「自分はできないかもしれない」と思ってやらないよりは、「できるかできないかはともかく、やってみよう」という態度が、チャンスを広げるのだろうと思います。そしてそのときに、最後までやり遂げられるかどうかは、その事が本当に好きかどうかに関わってくるでしょう。おもしろければ、いくらでも努力を続けられるでしょうから。ですから、研究室には好奇心にあふれ、研究をおもしろいと思える学生さんに来てほしいと思っています。

ゼブラフィッシュを用いた研究において私がこれまでに開発してきた解析手法は、動物の行動の研究にさまざまに応用可能です。将来的に、学習や意思決定などのより複雑な行動の解明にもつなげられる可能性があると思います。どうぞ学生のみなさんは、新しいアイデアで研究を発展させてください。研究は楽しいですよ。

聞　き　手：サイエンスライター　藤川 良子
写 真 撮 影：リサーチ・アドミニストレーター室　来栖 光彦

2019年1月