

2019年度

**神戸大学先端融合研究環
極みプロジェクト
実績報告書**

神戸大学先端融合研究環

平成31年度（令和元年度）研究プロジェクト年次報告書

1. 研究プロジェクト概要

| | | |
|------------------------|----------|---|
| 研究プロジェクトの名称 | | ホログラフィック技術による生命現象の4次元計測・操作の実現とその臨床応用 |
| 研究プロジェクト・リーダー 部局・専攻・氏名 | | 先端融合研究環・的場修 |
| 当該年度 | 研究員数 | 2人（学術研究員，学振特別研究員（DC1, DC2は除く），外国人招へい研究員等） |
| | 外部資金獲得実績 | 科学研究費補助金 48,840千円，受託研究経費 29,600千円，奨学寄附金 500千円，その他（ 1,000千円） |
| | 特許出願件数 | 0 |

2. 構成員とその役割分担

| 氏名 | 部局・専攻 |
|------|-------------------|
| 的場修 | 先端融合研究環 |
| 和氣弘明 | 医学研究科 |
| 森田光洋 | 理学研究科・生物学専攻 |
| 大森敏明 | 工学研究科・電気電子工学専攻 |
| 滝口哲也 | 都市安全研究センター |
| 中村誠 | 医学研究科 |
| 青井貴之 | 医学・科学技術イノベーション研究科 |
| 高島遼一 | 都市安全研究センター |
| 杉尾翔太 | 医学研究科 |

| | |
|-----------------------|---------------------|
| 加藤 大輔 | 医学研究科 |
| 全 香玉 | システム情報学研究科・システム科学専攻 |
| Manoj Kumar | システム情報学研究科・システム科学専攻 |
| Sudheesh K. Rajput | システム情報学研究科・システム科学専攻 |

3. 研究成果の概要等について

ホログラフィック 3次元光刺激技術及び3次元蛍光観察一体化システム（的場，森田，全，Manoj Kumar, Sudheesh K. Rajput）

1. ホログラフィック 3次元光刺激技術の創成

3次元計測と刺激光の3次元分解能を上げるために，近赤外光を用いた2光子吸収現象を利用する。刺激光として波長800 nm（100fs，1KHz）のフェムト秒パルスレーザー光を用いた。レーザーパワーを100mW～150mWの間に調整したとき，一平面で20個以上の細胞を選択的に光刺激可能なことを確認した。実験サンプルにはopto-a1ARとRCaMPを遺伝子導入した培養CHO細胞を用いた。図1に蛍光量増加分布を示す。2光子刺激の実験結果から，複数の細胞を同時に刺激できることを確認した。

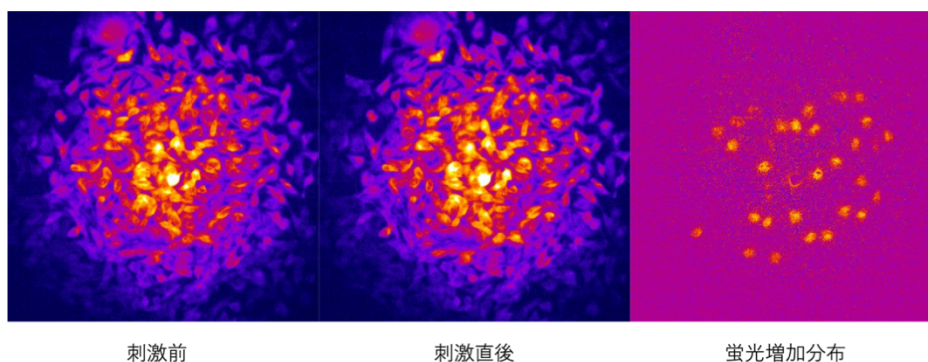


図1 CHO細胞の刺激前後での蛍光量の増加

2. ホログラフィック 3次元光刺激技術の創成

高速計測可能な3次元蛍光イメージングシステムを構築するために，蛍光デジタルホログラフィック顕微鏡と強度輸送方程式を用いた3次元蛍光イメージングシステムの2つのアプローチに取り組んだ。蛍光デジタルホログラフィック顕微鏡に関しては，位相計測機能を追加したマルチモーダルイメージングシステムにおいて長時間観察を可能にする共通光路型システムへの拡張を進め，時間的に安定した蛍光・位相の同時計測を実現した。また，1度の計測で定量位相計測を行なう手法を提案した。さらに，可変焦点レンズを用いてレンズやイメージセンサの機械的可動部を伴うことなく，3次元蛍光イメージングを実現する強度輸送方程式を用いた手法を提案し，GCaMPを発現させたマウス脳スライス神経細胞を用いた3次元蛍光イメージングに成功した。この系は，物体光のみを用いることができるため，光エネルギー利用効率が高く，生細胞の3次元イメージングに有効である。3次元再構成像において，光の伝搬方向に分布が伸びる問題について深層学習を用いた画質改善に着手した。

ホログラフィック光刺激を用いた高次脳機能操作（和氣，加藤，杉尾）

本研究において，今年度は以下の研究を遂行した。

1. ホログラフィック技術を用いた計測・操作一体型顕微鏡の開発とその応用

昨年度まで構築中であったホログラフィック2光子顕微鏡を本年度は完成させ，その最適化を行い，生体マウスにおいて細胞数約10個の刺激を可能とした。現状では10 Hz程度の時間分解能での刺激のみ可能であるが，次年度以降これを30 Hzまでもって行く予

定である。このシステムを応用し、神経細胞の機能的結合の評価を行うことに成功した。これまで本グループでは慢性疼痛のモデルマウスの生体イメージングを行うことによって、大脳皮質第一次感覚野2/3層の神経細胞活動の同期率が上昇することさらに人為的に科学遺伝学的手法を用いて、この神経細胞活動の同期率を向上させると痛み行動が引き起こせることを明らかにした。またこれはカルシウムチャネルの発現増加に伴うもので、これを薬理的に阻害することで痛み行動を抑制できることを明らかにした。さらにシステム情報学研究科の滝口先生と共同で、この痛みを予測できる neuronal network を構築し、この痛み行動を光遺伝学的手法を用いて起こせるかどうかを検証している。さらに先端融合研究環的場先生との共同で慢性疼痛モデルマウスにおいては神経細胞をホログラフィック刺激することによって得られる周囲の神経細胞活動が亢進していることがわかり、このことから周囲の神経細胞との機能的結合が増加していることを明らかにした (図2) (Okada *et al.*, Neuron, in revision)

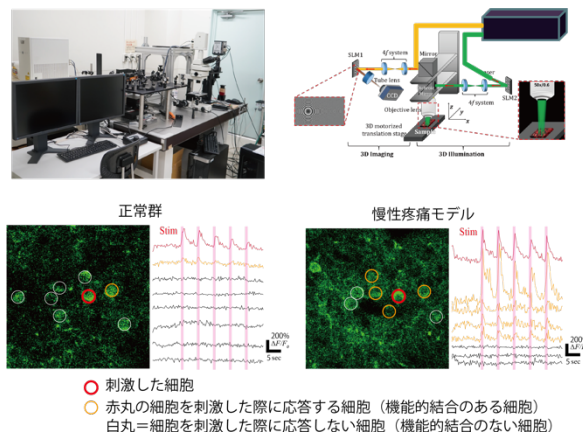


図2 ホログラフィック刺激を用いた神経回路の機能的結合の評価

2. 脳免疫細胞ミクログリアによる高次脳機能の制御

これまで私たちはミクログリアがシナプスに接触し、その活動を増加させることによって神経回路の同期性を向上させることを明らかにしている。本年度はこのミクログリアが全身炎症に伴って血管周囲に集積し、早期には血液脳関門の透過性を抑制すること、後期には血液脳関門の透過性に対して障害的に作用することを生体イメージングによって明らかにした (Haruwaka *et al.*, Nature Commun, 2019)。さらにこの作用を担う分子基盤を明らかにし、神経精神疾患の治療に新たな戦略を創出した。またこのミクログリアが高次脳機能にその動態を持って関与していることを運動学習に伴う動態の変化を数理的に検証することで明らかにした (Ikegami *et al.*, Neuron, in revision)。また母胎感染が自閉症の発症リスクを増加させることに着目し、この胎生期および新生児期、成熟期におけるミクログリアの動態が母胎感染を起こしたマウスから出産した児においては変化していることそれが行動と相関していることを明らかにした (Ozaki *et al.*, Sci Rep, in revision)。

ホログラフィック光刺激による細胞内シグナルの誘導 (森田)

ホログラム光刺激の有効性を評価するために、哺乳動物網膜由来のロドプシンと $\alpha 1$ または $\beta 2$ アドレナリン受容体の融合タンパク質である opto- $\alpha 1$ AR または opto- $\beta 2$ AR を発現する細胞を光刺激し、細胞内カルシウム上昇をRCaMP、細胞内cAMP上昇をPinkFlamindoでそれぞれ測定した。1光子ホログラム刺激を用いた場合、図3に示すように、顕著な局所的応答が検出された。これは、ホログラムにより局所的な細胞内シグナルを誘導す

ることが可能であることを示している。2光子ホログラム刺激を用いた場合も同様の応答を得ることが確認されているが、応答の経時変化が1光子を用いた場合とは異なり、利用に際しては修正が必要であることが示唆されつつある。

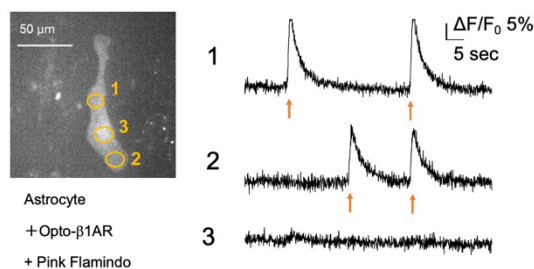


図3 ホログラム光刺激による局所的なcAMP産生の誘導MS

神経活動（大森）

昨年本研究プロジェクトで開発したスパースモデリングに基づくデータ解析技術(Otsuka and Omori, Neural Networks, 2019)を発展させ、光計測で計測される神経回路活動データに潜在する感覚情報を抽出するためのデータ駆動型アルゴリズムの開発を行った。スパースモデリングに基づいて、多数の神経細胞から感覚情報を担う神経細胞のみを抽出するとともに、各神経細胞の重要度を推定することで、精緻な感覚情報の推定を実現した。さらに、神経活動データから神経システムのダイナミクスを推定するのみならず、神経システムの状態制御を同時に実現するための理論的枠組みの構築を行い、その有効性を検証した。これらの研究の成果は、文部科学省 科学技術試験研究委託事業「数学アドバンストイノベーションプラットフォーム」やカリフォルニア大学サンディエゴ校神経回路・行動センター、京都大学数理解析研究所などでの依頼講演を受けるとともに、関連する学会から研究奨励賞を受賞した。また、関連するデータ駆動型情報処理技術に関して、東京大学・高次元データ駆動科学教育プログラムでの集中講義(全7回)を行った。

深層学習のスケジューリングのための非線形性分析（滝口，高島）

近年、様々な研究分野において深層学習が注目されており、本研究プロジェクトにおいても深層学習に基づいた神経細胞画像の新しい解析手法を研究している。実際に細胞画像データを適用する際に、深層学習に用いられるニューラルネットワークはその規模に伴い計算量も増加し、学習の安定化や高速化が重要な課題となる。学習の安定化や高速化を妨げる要因として損失関数の非線形性が考えられるため、本研究では、その非線形性を解析する手法として、Block Hessianを導入することによりニューラルネットワークのパラメータグループごとの非線形性の影響変化の可視化を実現した。

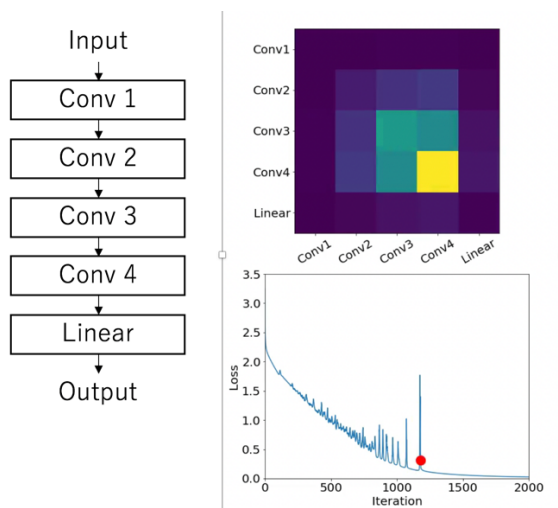


図4 損失関数の非線形性の影響変化の可視化

※原則として、ホームページに公表します。

4. 論文・著書

[論文]

論文名 : Security-enhanced optical voice encryption in various domains and comparative analysis

著者名 : Sudheesh K. Rajput and Osamu Matoba

掲載誌, 巻, ページ : Applied Optics, Vol. 58, No. 11, 3013-3022, 2019年

論文名 : Digital four-step phase shifting technique from a single fringe pattern using Riesz transform

著者名 : Yassine Tounsi, Manoj Kumar, Ahmed Siari, Fernando Mendoza Santoyo, Abdelkrim Nassim, Osamu Matoba (国際共著)

掲載誌, 巻, ページ : Optics Letters, Vol. 44, No. 14, pp. 3434-3437, 2019年

論文名 : Speckle denoising by variant nonlocal means methods

著者名 : Yassine Tounsi, Manoj Kumar, Abdelkrim Nassim, Fernando Mendoza-Santoyo, Osamu Matoba (国際共著)

掲載誌, 巻, ページ : Applied Optics, Vol. 58, No. 26, pp.7110-7120, 2019年

論文名 : Three-dimensional fluorescence imaging using the transport of intensity equation

著者名 : Sudheesh K. Rajput, Manoj Kumar, Xiangyu Quan, Mitsuhiro Morita, Tomoyuki Furuyashiki, Yasuhiro Awatsuji, Enrique Tajahuerce, Osamu Matoba (国際共著)

掲載誌, 巻, ページ : Journal of Biomedical Optics, Vol.25, No. 3, 032004, 2020年

論文名 : Common-path multimodal three-dimensional fluorescence and phase imaging system

著者名 : Manoj Kumar, Xiangyu Quan, Yasuhiro Awatsuji, Chaoyang Cheng, Mitsuyasu Hasebe, Yosuke Tamada, and Osamu Matoba

掲載誌, 巻, ページ : Journal of Biomedical Optics, Vol. 25, No. 3, 032010, 2020年

論文名 : Wavelets Teager-Kaiser Hilbert approach for AM-FM signal demodulation: application in the field of speckle metrology

著者名 : Desire Muhire, Yassine Tounsi, Manoj Kumar, Ahmed Siari, Fernando-Mendoza Santoyo, Osamu Matoba and Abdelkrim Nassim (国際共著)

掲載誌, 巻, ページ : Optical Engineering, Vol. 59(10), 102407, 2020年

論文名 : Astigmatism correction and quality optimization of computer-generated holograms for holographic waveguide displays

著者名 : Wen-Kai Lin, Osamu Matoba, Bor-Shyh Lin, and Wei-Chia Su (国際共著)

掲載誌, 巻, ページ : Optics Express, Vol. 28, No. 4, pp. 5519-5527, 2020年

論文名 : Microglia: Lifelong modulator of neural circuits

著者名 : Ikegami A, Haruwaka K, Wake H

掲載誌, 巻, ページ : *Neuropathology*, Vol. 39(3):173-180, 2019年

論文名 : Physiological Implications of Microglia-Synapse Interactions

著者名 : Wake H, Horiuchi H, Kato D, Moorhouse AJ, Nabekura J (国際共著)

掲載誌, 巻, ページ : *Methods Mol Biol.*, 2034:69-80, 2019年

論文名 : In Vivo Two-Photon Imaging of Microglia Synapse Contacts

著者名 : Kato D, Ikegami A, Horiuchi H, Moorhouse AJ, Nabekura J, Wake H (国際共著)

掲載誌, 巻, ページ : *Methods Mol Biol.*, 2034:281-286, 2019年

論文名 : Motor learning requires myelination to reduce asynchrony and spontaneity in neural activity

著者名 : Kato D, Wake H, Lee PR, Tachibana Y, Ono R, Sugio S, Tsuji Y, Tanaka HY, Tanaka RY, Masamizu Y, Hira R, Moorhouse AJ, Tamamaki N, Ikenaka K, Matsukawa N, Fields RD, Nabekura J, and Matsuzaki M

掲載誌, 巻, ページ : *Glia*, 68(1):193-210, 2020年 (国際共著)

論文名 : Activity-Dependent Myelination

著者名 : Kato D, Wake H

掲載誌, 巻, ページ : *Adv Exp Med Biol.*, 1190:43-51, 2019年

論文名 : Dual Microglia Effects on Blood Brain Barrier Permeability Induced by Systemic Inflammation

著者名 : Haruwaka K, Ikegami A, Tachibana Y, Ohno N, Konishi H, Hashimoto A, Matsumoto M, Kato D, Ono R, Kiyama H, Moorhouse AJ, Nabekura J and Wake H (国際共著)

掲載誌, 巻, ページ : *Nature Commun.*, 20;10(1):5816, 2019年

論文名 : YAP1 mediates survival of ALK-rearranged lung cancer cells treated with alectinib via pro-apoptotic protein regulation

著者名 : Tsuji T, Ozasa H, Aoki W, Aburaya S, Yamamoto Funazo T, Furugaki K, Yoshimura Y, Yamazoe M, Ajjimizu H, Yasuda Y, Nomizo T, Yoshida H, Sakamori Y, Wake H, Ueda M, Kim YH, Hirai T

掲載誌, 巻, ページ : *Nature Commun.*, 3;11(1):74, 2020年

論文名 : Transient microglial absence assists postmigratory cortical neurons in proper differentiation

著者名 : Hattori Y, Naito Y, Tsugawa Y, Nonaka S, Wake H, Nagasawa T, Kawaguchi A,

Miyata T

掲載誌, 巻, ページ : *Nature Commun.* 2020, in press

論文名 : Microglia are continuously activated in the circumventricular organs of mouse brain

著者名 : Takagi S., Furube E., Nakano Y., Morita M., Miyata S.

掲載誌, 巻, ページ : *J Neuroimmunol*, 331, p74-86, 2019年

論文名 : VEGF- and PDGF-dependent proliferation of oligodendrocyte progenitor cells in the medulla oblongata after LPC-induced focal demyelination

著者名 : Hiratsuka, D., Kurganov, E., Furube, E., Morita, M., Miyata, S.

掲載誌, 巻, ページ : *J Neuroimmunol*, 332, p176-186, 2019年

論文名 : Metabolic Plasticity of Astrocytes and Aging of the Brain

著者名 : Morita, M., Ikeshima-Kataoka, H., Kreft, M., Vardjan, N., Zorec, R., Noda, M. (国際共著)

掲載誌, 巻, ページ : *Int. J. Mol. Sci.* 20(4). pii: E941, 2019年

論文名 : Neural stem cell phenotype of tanycyte-like ependymal cells in the circumventricular organs and central canal of adult mouse brain

著者名 : Furube, E., Ishii, H., Nambu, Y., Kurganov, E., Nagaoka, S., Morita, M., and Miyata, S

掲載誌, 巻, ページ : *Sci. Rep.* 10, 2826, 2020年

論文名 : Online Estimation and Control of Neuronal Nonlinear Dynamics Based on Data-Driven Statistical Approach

著者名 : Shuhei Fukami and Toshiaki Omori

掲載誌, 巻, ページ : *Communications in Computer and Information Science*
Vol. 1143, pp. 600-608, 2019年 ※

論文名 : Sparse Estimation of Neuronal Network Structure with Observed Data

著者名 : Ren Masahiro and Toshiaki Omori

掲載誌, 巻, ページ : *Communications in Computer and Information Science*, Vol. 1143,
pp. 609-618, 2019年 ※

論文名 : Switching Probabilistic Slow Feature Analysis for Time Series Data

著者名 : Kazuki Tsujimoto and Toshiaki Omori

掲載誌, 巻, ページ : *International Journal of Machine Learning and Computing* 2020年 ※

論文名 : Layer-Wise Invertibility for Extreme Memory Cost Reduction of CNN Training

著者名 : Tristan Hascoet, Quentin Febvre, Weihao Zhuang, Yasuo Ariki, Tetsuya Takiguchi

掲載誌, 巻, ページ : IEEE ICCV Neural Architects Workshop, 4 pages, 2019年

論文名 : Knowledge Transferability Between the Speech Data of Persons with Dysarthria Speaking Different Languages for Dysarthric Speech Recognition

著者名 : Yuki Takashima, Ryoichi Takashima, Tetsuya Takiguchi, Yasuo Ariki

掲載誌, 巻, ページ : IEEE Access, Vol. 7, pp. 164320-164326, 2019年

[著書]

著 書 : 空間立体表示とユーザインタフェース (位相変調によるホログラフィック3Dディスプレイ) (分担執筆)

著者名 : 的場 修 (高木康博監修)

巻, ページ : 第3章第5節, PP. 134-142

発行所, 発行年 : S&T出版, 2019年

5. 関連活動及び特記事項

(1) 受賞 (賞名称, 受賞対象, 受賞者名, 授与機関名, 受賞年・月) (KUIDにあわせる)
賞名称: Laser Display and Lightning Conference 2019 Student Award, 受賞対象: Holographic display using binary phase modulation by image segmentation method, LDC-p-03, 受賞者名: K. Kurosawa, X. Quan, K. Nitta, O. Matoba, 授与機関名: Laser Display and Lightning Conference 2019 (LDC'19), 2019年

第18回情報科学技術フォーラム 奨励賞

(授与機関名: 情報処理学会, 対象研究テーマ: スパースモデリングに基づく神経回路構造のシステム同定)

受賞者名: 政廣蓮, 大森敏明

受賞年月: 令和元年9月

(2) 研究集会の開催 (研究プロジェクトの活動と関連の深いものに限る)

研究集会名: 第2回極みプロジェクトシンポジウム

主催団体がある場合は主催団体: 神戸大学先端融合研究環極みプロジェクト

開催日: 2019年9月2日

場所: 神戸大学百年記念館(神大会館)六甲ホール

研究集会名: 第3回極みプロジェクトシンポジウム

主催団体がある場合は主催団体: 神戸大学先端融合研究環極みプロジェクト

開催日: 2019年12月22日, 23日

場所: 赤穂パークホテル

(3) その他, 研究プロジェクトの活動と関連のある特記事項

なし