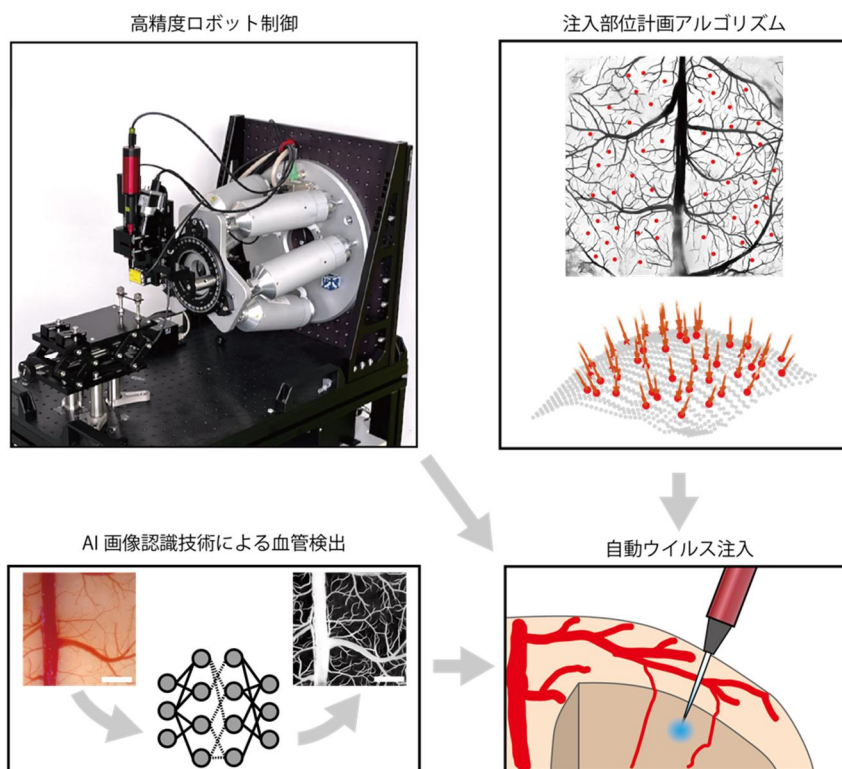


霊長類大脳新皮質へのウイルス注入手術の自動化に成功 ——50 μm の精密さで血管網の隙間を突く——

発表のポイント

- ◆大脳新皮質へのウイルス注入手術の自動化を誤差 50 μm 、出血確率 0.1%というこれまでにない精度で実現し、霊長類コモンマーモセットで 200 箇所以上の自動ウイルス注入に成功しました。
- ◆ウイルス注入という脳への侵襲的手術を、AI 技術とロボット技術を統合したシステムで計画から実行まで自律的に行った世界初の報告です。
- ◆本成果は、ヒトを含む霊長類における大脳新皮質の高次機能の解明に寄与すると共に、医療分野の自動化の発展にも繋がることが期待されます。

ARVis: 自動インジェクションシステム



概要

東京大学大学院医学系研究科の野村晋ノ介大学院生（筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構客員研究員）、寺田晋一郎助教、松崎政紀教授（理化学研究所脳神経科学研究センター脳機能動態学連携研究チーム チームリーダー、東京大学大学院理学系研究科教授 兼担）、同志社大学大学院脳科学研究科 正水芳人教授、東京大学大学院医学系研究科 大木研一教授らによる研究

グループは、従来用いられてきた脳へ直接ウイルスを多点注入する手法を自動化するシステム「ARViS (Automated Robotic Virus injection System)」を開発しました。

霊長類の脳において、運動、認知、感覚処理といった高次機能に関する広範な神経活動を捉えることは、ヒトの脳機能を理解する上で極めて重要です。しかし、神経活動を計測するセンサー遺伝子を非ヒト霊長類大脳新皮質の広範囲に導入することは熟練した実験者の多大なる労力を必要とするため、これを効率化、自動化するための技術開発が求められていました。今回開発したシステムは、AIによる画像認識技術（注1）を用いて脳表面の血管を検出し、ロボット制御によって注射器を正確に挿入することを可能にしています。マウスでの実証実験では、出血率0.1%、誤差50 μm 以下という安全で高精度な介入を実現しました。この技術を霊長類コモンマーモセット（注2）に適用し、大脳新皮質7 × 14 mm^2 の広域にカルシウムセンサー（注3）を均一に発現させ、複数の脳領域をまたいだ神経ダイナミクスを計測することに成功しました。ARViSによって、非ヒト霊長類の大脳新皮質広域への遺伝子導入が効率的に行えることが証明され、今後の神経科学研究や医療用ロボット操作の自動化に大きく貢献することが期待されます。

発表内容

神経科学の分野では、脳活動を計測するために、遺伝子を導入してさまざまなセンサーを発現させることが一般的です。特に、非ヒト霊長類の脳において、運動、認知、感覚処理などの高次機能に関連する広範な神経活動を捉えることは、ヒトの脳機能に近い神経ダイナミクスを理解する上で重要です。しかし、従来の手法では、非ヒト霊長類の広範な脳領域に効率的に遺伝子を導入することは困難でした。本研究では、遺伝子導入方法として古典的に用いられてきたアデノ随伴ウイルス（注4）の局所注入手術に注目し、最新のAI技術とロボット技術を組み合わせることで、大規模かつ安全に大脳新皮質全体に遺伝子を導入する新しい方法を開発しました。

非ヒト霊長類の脳に広範囲にウイルスを注入するためには、2つの重要な課題があります。まず、脳表面の密集した血管を避けながら、注射箇所へ偏りがないようにする必要があります。本研究では、AIを活用した画像認識技術により脳表面の血管網を検出し、自動で注入部位を計画する技術を開発しました。次に、個体ごとに異なる脳表面を精密に3次元測定し、注射器を脳表面に対して垂直に正確に挿入する必要があります。これは、脳の血管が多くの場合垂直に走行しているため、垂直に挿入することで脳内部の出血リスクを低減し、挿入時の脳組織の変形を最小限に抑えることができるためです。これらの課題は、レーザー距離センサーによる精密測定と、ロボット制御を活用した精度の高い操作によって克服されました。さらに、脳表血管測定から注入部位の同定、ウイルスの多点連続注入までを全自動化することに成功しました。

開発したARViSの精度と効果を実証するため、まずマウスの大脳新皮質に対して多点ウイルス注入を行いました。7匹のマウスに対して合計679箇所へ注入を行なったところ、止血操作が必要な長時間の出血はわずか1箇所（約0.1%）に過ぎませんでした。また、注入時の注射器挿入精度も目標位置からのずれの中央値が約50 μm という高精度を達成しました。これらの結果から、ARViSが高精度かつ低リスクで多点注入を実現できることが明らかになりました。

次に、ARViSを用いて霊長類コモンマーモセットで実証実験を行いました。成体マーモセットの大脳新皮質（7 × 14 mm^2 ）に対して266箇所へウイルス注入を実施し（図1）、手術中に止血が必要な出血は一度も発生しませんでした。また、ウイルスで発現させたカルシウムセンサーにより、複数の脳領域をまたぐ活動の相関が確認されました（図2）。この実験により、ARViS

がマウスのみならず霊長類においても高精度かつ安全なウイルス注入を実現し、広域の脳神経ダイナミクスの計測が可能であることが示されました。

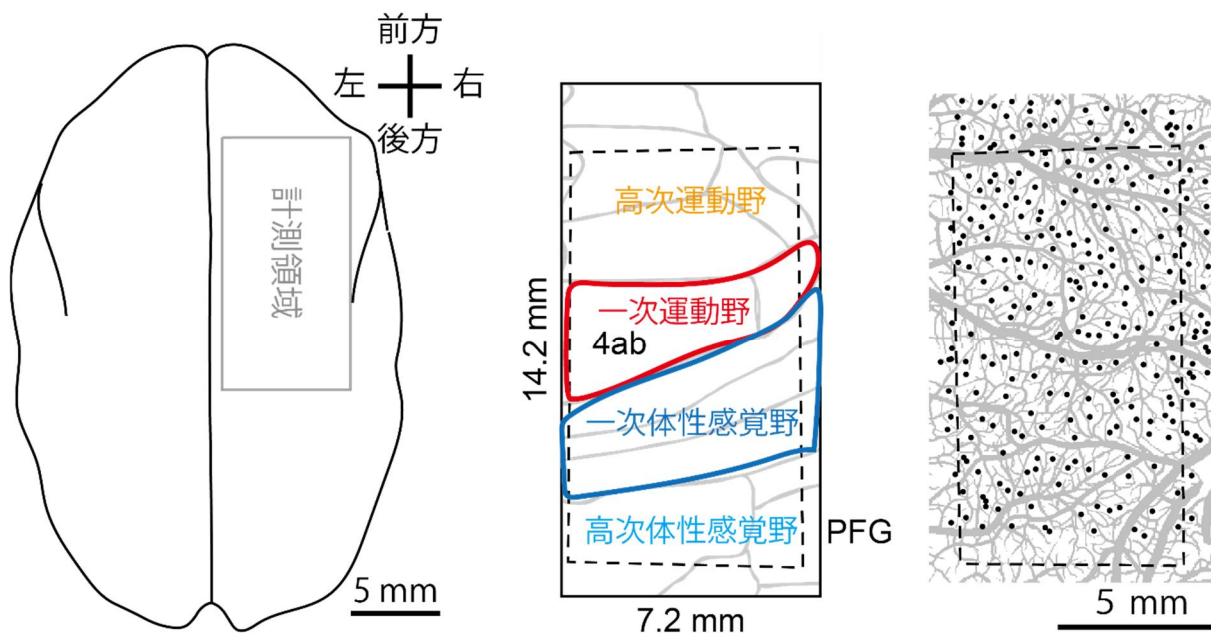


図1：マーモセットの計測領域

左図は脳新皮質におけるウイルス注入領域を表している。中央図は注入領域における運動野、体性感覚野の位置を表す。右図の灰色は検出された表面血管パターンを示し、黒丸は計画された注入部位を表す。

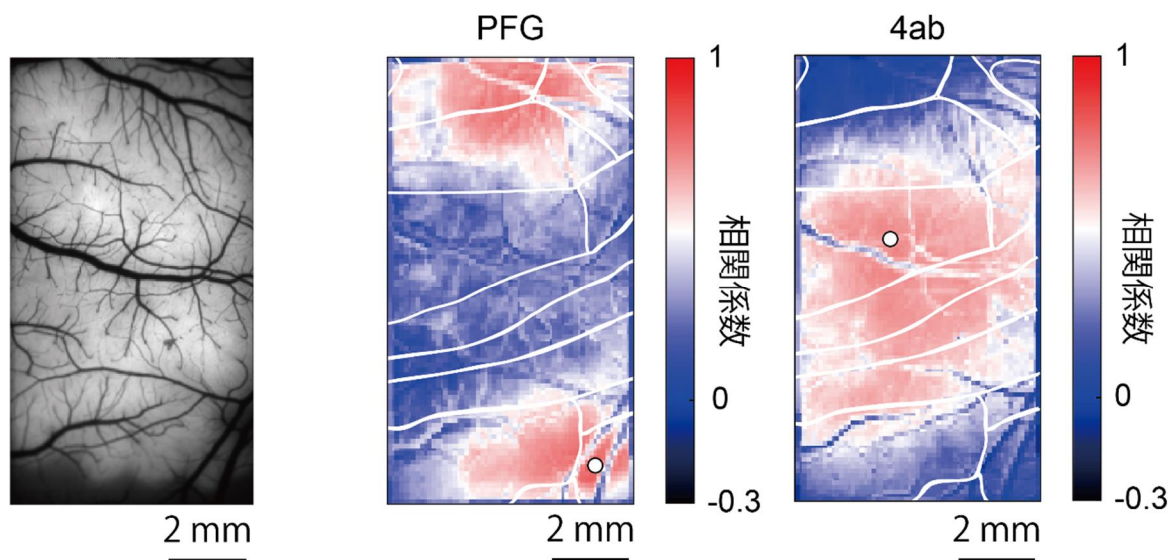


図2：マーモセット大脳新皮質の神経活動ダイナミクス

左図は計測されたカルシウムシグナルを示している。中央図は高次体性感覚野の一つPFG（白丸）と、他の領域との活動相関係数を示している。右図は一次運動野4ab（白丸）と他の領域との活動相関係数を示している。

本研究は、ウイルス注入という侵襲的手術を、AI 技術とロボット技術を統合したシステムで計画から実行まで自律的に行う世界初の報告です。この技術をマーマセットに適用することで、ヒトを含む霊長類の脳新皮質の高次機能解明に繋がることが期待されます。血管などを避けて3次元組織内の微小領域に対して針でアプローチする技術は、パーキンソン病の電気刺激治療やガン細胞の生検など多くの医療手技に必要な技術です。本研究で開発された技術をさらに発展させることで、この技術が医療分野のロボット操作における効率化と高精度化にも貢献することが期待されます。

本研究で開発した ARViS 構築のためのプログラムコードはすべて、https://github.com/nomurshin/ARViS_Automated_Robotic_Virus_injection_System/wiki に一般公開しており、自由にダウンロードすることが可能です。

発表者・研究者等情報

東京大学大学院医学系研究科

松崎 政紀 教授

兼：理化学研究所脳神経科学研究センター チームリーダー

兼：東京大学大学院理学系研究科教授

野村 晋ノ介 博士課程

兼：筑波大学国際統合睡眠医科学研究機構客員研究員

論文情報

雑誌名：「Nature Communications」

題名：ARViS: A bleed-free multi-site automated injection robot for accurate, fast, and dense delivery of virus to mouse and marmoset cerebral cortex

著者名：Shinnosuke Nomura, Shin-Ichiro Terada, Teppei Ebina, Masato Uemura, Yoshito Masamizu, Kenichi Ohki, and Masanori Matsuzaki*
(*は責任著者)

DOI: 10.1038/s41467-024-51986-3

URL: <https://www.nature.com/articles/41467-024-51986-3>

研究助成

本研究は、日本医療研究開発機構 (AMED) 「脳とこころの研究推進プログラム (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) (課題番号: JP19dm0207069; JP15dm0207001; JP18dm0207027; JP19dm0207085)」、「同 (脳科学研究戦略推進プログラム) (JP19dm0107150)」、「同 (脳神経科学統合プログラム) (JP23wm0625001)」、科研費「学術変革領域研究 (A) (課題番号: 22H05160; 23H04977)」などの支援により実施されました。

用語解説

(注1) 画像認識技術

畳み込みニューラルネットワークによる深層学習により、脳表面の画像データから血管領域とそれ以外を分類することを可能にしている。

(注2) コモンマーモセット

広鼻小目に属するサルで、南米に生息する事から新世界ザルとも呼ばれる。小型で繁殖力が高く、飼育が容易なため、近年、生物医学や神経科学における霊長類のモデル動物として研究に用いられている。マーモセットでは他の霊長類と比較して脳溝が少ないため顕微鏡によるイメージングに適している。

(注3) カルシウムセンサー

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。これ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。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、光強度を顕微鏡でイメージングすることで、神経細胞の活動を推定できる。本研究では単一細胞活動の解像度はないが脳広域の活動を計測する1光子イメージング法と、単一細胞活動を解像する2光子イメージング法の両方が使われている。

(注4) アデノ随伴ウイルス

霊長類やマウスなどに感染するウイルスの一種。病原性がなく、感染細胞のDNAに目的遺伝子を効率よく導入できるため、生体への遺伝子導入の際によく用いられる。

問合せ先

(研究内容については発表者にお問合せください)

東京大学大学院医学系研究科

教授 松崎 政紀 (まつざき まさのり)

Tel : 03-5841-3471 E-mail : physiol2@m.u-tokyo.ac.jp

東京大学大学院医学系研究科 総務チーム

Tel : 03-5841-3304 E-mail : ishomu@m.u-tokyo.ac.jp