

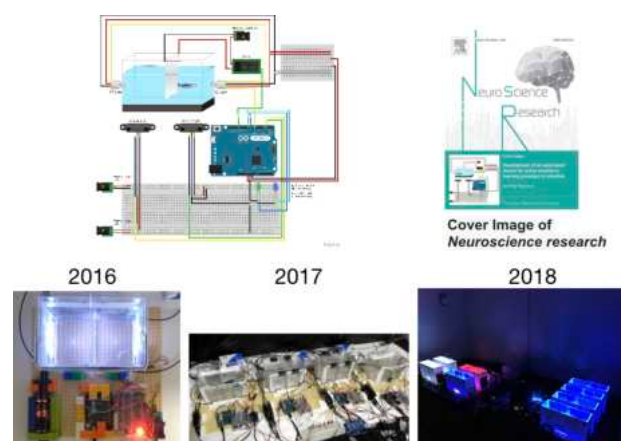
# 研究概要: ゼブラフィッシュを用いた人工知能と自動化による認知機能測定の高性能化

## 楊鵬 (Yang Peng) 千葉大学医学薬学府

高齢化社会が進む中、老化と生活習慣病によって認知症に罹るリスクは高まっている。その認知症を含む脳機能障害に関する疾病を克服するという観点から、認知能力の解析は医療・福祉の向上に最も貢献できる研究分野の一つである。老化は脳機能に影響を与える因子としてよく知られている、私はゼブラフィッシュモデルを利用し、加齢に関連した生理状態の測定・解析を自動化し、その状態の行動特徴を人工知能により発見する。それら加齢変化因子と新規行動特徴量計測による記憶テストを統合解析し、認知症「脳認知機能低下」を理解するため、これまで以下の研究を行ってきた。

### 1. 全自動加齢性認知症記憶テスト装置

ゼブラフィッシュモデルで老化による記憶低下を定量的に測定できる記憶テスト装置とプロトコルを作製した。このシステムは古典的条件付けを全自動で行うもので、条件刺激としてのLED光と無条件刺激としての電気刺激を組み合わせ条件づけした後、ゼブラフィッシュが色付きLEDの提示によって予期される電気ショックを能動的に回避するかどうかを認知能力の指標とする。動物の位置情報と光、電気刺激などはセンサーにより収集された情報をもとにマイクロコントローラーのArduinoのプログラムにより自動判断され、完全に人間の手の入らない状態でテストを実行できる。さらに、記憶テストプロトコルを改善し、7ヶ月（若齢）と15ヶ月（老齢）で有意な記憶力低下が測定できる手法を開発した（Yang, Peng, et al. "Successive and discrete spaced conditioning in active avoidance learning in young and aged zebrafish." *Neuroscience research* (2017)、企業と商品化開発中）。



### 2. 加齢変化因子測定による老化評価基準化

飼育水中溶存酸素測定機とビデオカメラ行動解析システムを用いたゼブラフィッシュの酸素代謝評価システムを構築して新たな加齢変化基準が確立できた（ポスター発表、第23回小型魚類研究会、2017；論文投稿中）。個体識別手法の効率化：成熟期から老齢期まで各種データを取って、個体ごとに追跡するには個体識別が重要であるが、着色やタグを使ったマーキングでは長期的に個体識別を行うことは難しい。そこで、人間の「指紋」のような外見情報を使ったゼブラフィッシュの個体特徴識別技術を導入する。個体ごとに①月齢②体長③体重④行動量⑤基礎酸素代謝量⑥血管ネットワークを加齢変化因子として測定する。血管ネットワークは血管GFPゼブラフィッシュのライブ観察で個体成長を通じて経時的に撮影する。その後コンピュータビジョン技術を利用してMATLABで脳血管ネットワーク構造解析研究を行っている。

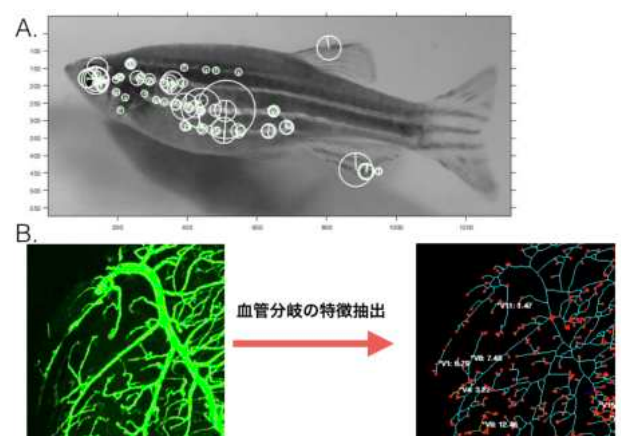


図1 (イメージング解析図はカラーでの印刷をお勧めします)  
(A). 個体識別の検討。Matlabでゼブラフィッシュの側面画像から特徴点抽出を行った。  
(B). Tg[kdrl:EGFP] 遺伝子組換えゼブラフィッシュの終脳(telencephalon) における血管ネットワークのイメージング解析

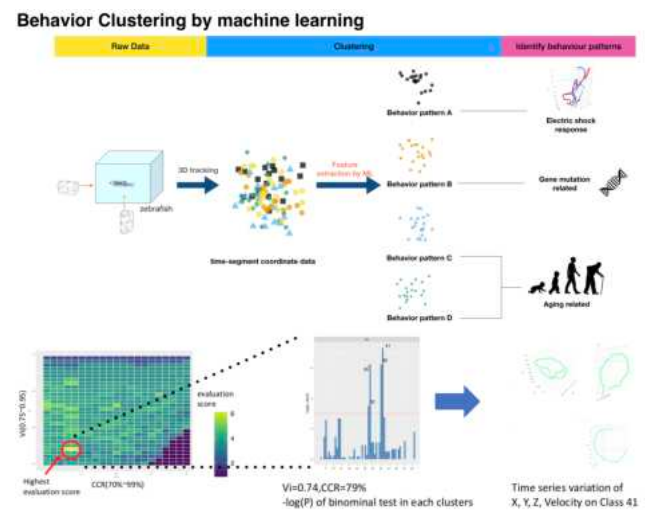
### 3. 認知症ゼブラフィッシュモデルの作製と加齢変化因子測定

認知症の危険因子には、生活習慣病や遺伝があり、加齢に加えてこれら危険因子を持つモデル動物の作製により、認知症研究は促進できる。そこで、申請者は、①肥満ゼブラフィッシュモデルと②糖尿病ゼブラフィッシュモデルの作製を行っている。申請者が既に開発した自動定量定時給餌システムを運用して過食飼育で肥満、糖尿病ゼブラフィッシュモデルの作製し、③CRISPRで遺伝子変異認知症モデルも作製している。



### 4. 人工知能を用いた脳機能変化に起因して生じる行動の新規特徴量の探索

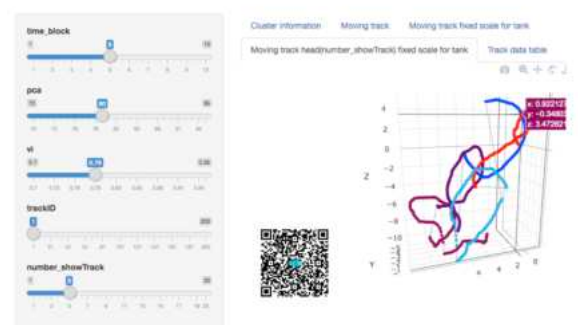
刺激に対する行動は単一ではない上、行動分類方法が不足しているため、刺激に応答する感覚と行動の相関関係の定量化は困難である。よって、刺激応答時の行動をより高次に解析する手法として、動物3D行動人工知能解析を検討する。老化や糖尿病では、ある種の感覚と行動応答が低下すると考えられるため、それらゼブラフィッシュモデルを用いて上記の人工知能的手法で加齢や生活習慣病状態による変化を受けない行動特徴（場所、速度、移動方向変化などの組合せ）を抽出する。この手法による予備的解析を行ったところ、電気ショック刺激に特徴的な行動が抽出できた(Cluster84)。



### 5. 新規行動特徴量計測による認知能力定量化と加齢変化因子量の認知症統合解析

ゼブラフィッシュモデルを用いた認知能力測定法を利用して、学習個体と未学習個体を比較し学習個体のみに現れる認知能力と特異的に相関する行動特徴を抽出する。抽出した二つのグループの特徴量について、①加齢や生活習慣病状態において、通常個体と比較し発見率に変化がない；②学習個体にのみ発見される（認知能力と特異的に相関すること）という2つの特徴を持つものを新規特徴量として同定する。新しく同定した新規特徴量を指標として、Arduino、R言語など自動解析技術を含めて、より精確な自動認知能力評価システムを構築する。さらに、2で作成したゼブラフィッシュモデルなどの認知能力を測定する。人工知能的手法を用いた特徴量の発見は、情報学の専門である金沢大学大学院医薬保健学総合研究科 高橋広夫准教授との共同研究により行う。さらに、定量化した認知能力情報と本計画で計測する加齢変化因子量の追跡データベースを利用して人工知能による認知症統合解析を行う。

#### Web application “ShinyR-3D-zebrafish”



従来の生物学研究手法だけでなく、自動化科学、コンピュータ科学、統計科学といった異なる多様な分野からの取り組みを認知症研究に導入することで研究はより発展する。現在の研究室でハイスループットな解析が可能である理想的なモデル動物ゼブラフィッシュを用いた生物学に、コンピュータ科学を導入することで、認知症研究のさらなる効率化、精密化、最適化をもたらすことができると考えた。