

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 6 月 21 日現在

機関番号：82502

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17H02219

研究課題名(和文) 化学遺伝学とマルチモーダル計測による霊長類の柔軟な記憶想起ネットワークの解明

研究課題名(英文) Multi-scale causal understanding of network operation for object memory in primates

研究代表者

平林 敏行(Hirabayashi, Toshiyuki)

国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・放射線医学総合研究所 脳機能イメージング研究部・主幹研究員(定常)

研究者番号：60376423

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,200,000円

研究成果の概要(和文)：非空間的視覚記憶課題を遂行中のマカザルでイメージングによる全脳機能マッピングを行い、前頭前皮質(PFC)を含む認知記憶ネットワークを同定し、PFCの活動部位に抑制性DREADDを発現させた。我々が開発した新規DREADDアゴニストDCZの投与により、まず課題成績の低下を明らかにした。またDCZ投与下で課題中のイメージングを行う事で、DREADDを発現させたPFC活動部位における局所抑制に加え、側頭皮質の活動部位における遠隔抑制を見出した。さらにPFC活動部位の抑制下で側頭皮質の活動部位から課題中のニューロン活動を電気生理記録し、ネットワーク作動変容の実体をマルチスケールに明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

認知記憶の障害は、多くの神経・精神疾患における主要な症状の一つである。本研究は、化学遺伝学と認知課題を、機能イメージング、電気生理等のマルチモーダルな神経活動計測と組み合わせる事により、ヒトに近い脳構造と機能を有する霊長類モデルにおいて、認知記憶を支える前頭葉-側頭葉ネットワークの作動及び機能について、因果的かつマルチスケールな理解をもたらした。これにより、ヒトにおいてそれに対応する症状及びその責任神経回路についての理解が深まり、ひいては新たな治療もしくは介入法等の開発に繋がりと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Using macaques, we conducted the functional neuroimaging during a visual object memory task, and found significant task-related activity in the prefrontal and temporal cortices (PFC and TC). We then injected AAVs into the PFC activation site to express an inhibitory DREADD. The task performance decreased as a result of administration of DCZ, a DREADD agonist we recently developed. The functional neuroimaging during the task with DCZ administration revealed activity decrease in both the DREADD-expressing PFC and the remote TC sites. Finally, we conducted unit recordings in the TC activation site during the task under the silencing of the PFC activation site, and found the corresponding changes in the neuronal activities in the TC site. The combination of DREADD with both the functional neuroimaging and electrophysiology provided a multi-scale causal understanding of the operation and function of a brain-wide network underlying the visual object memory in primates.

研究分野：認知神経生理学

キーワード：霊長類 化学遺伝学 脳機能イメージング 認知記憶 電気生理

1. 研究開始当初の背景

非空間的視覚記憶については、これまでにマカクザルを用いた破壊実験によって、側頭皮質 (Temporal cortex, TC) 及び前頭前皮質 (Prefrontal cortex, PFC) の関与が因果的に示されてきた。これらの領域は、実際には前頭葉と側頭葉にまたがる一つの広域ネットワークを形成する事で非空間的視覚記憶を支えると考えられるが、ネットワークの一部に対する局所的な抑制によってネットワーク全体の作動及び機能がどのように変容するかについてはこれまで調べられておらず、従ってネットワークとしての因果的理解が進んでいなかった。局所的な神経活動の変容がもたらす影響は、一般に局所にとどまらず、解剖学的・機能的結合を介して特定のネットワーク内に広がる (Diaschisis) と考えられ、かつその広がりには、必ずしも解剖学的結合のみから予測できるものではない。その理解は健常・疾患の両状態における脳機能の理解に非常に重要であり、その為には単に神経活動操作下にて行動評価や操作領域における局所的な神経活動計測を行うだけではなく、可逆的な神経活動抑制を行いながら、同時に課題遂行中の全脳機能イメージングを行う事が有効であると考えられる。

可逆的な神経活動抑制の方法としては、これまで広く用いられてきた薬理学的手法に比べ、細胞種あるいは解剖学的な特異性を伴う抑制が可能である遺伝学的手法がより有効である。特に化学遺伝学的手法を用いる事で、特定かつ任意の規模の神経細胞集団を、高い再現性をもって繰り返しかつ低侵襲に操作できる事から、特定の機能を担う神経細胞集団の規模が齧歯類に比べて格段に大きいと考えられる霊長類モデルにおいて、機能イメージングとの組み合わせによってマクロレベルでの回路作動変容を明らかにし (Hirabayashi et al., *in revision*)、さらに同一個体でその一部における電気生理と組み合わせる事で、マクロレベルでの回路作動変容と、そのニューロン実体の両方を明らかにする事ができると考えられる。化学遺伝学的手法の一つである DREADD (Designer Receptor Exclusively Activated by Designer Drug) は近年、脳移行性、特異性、及び代謝安定性が飛躍的に向上したアゴニスト (Deschloroclozapine, DCZ) が我々のグループによって開発された (Nagai et al., *Nature Neurosci.* 2020; Oyama et al., *Science Adv.*, *in press*; Hirabayashi et al., *in revision*)。本研究ではこうした背景に基づき、霊長類モデルにおいて認知記憶を支える前頭葉 - 側頭葉ネットワークの作動及び機能を、マルチスケールかつ因果的に解明する事を目指した。

2. 研究の目的

本研究では、非空間的視覚記憶課題を遂行中の化学遺伝学的回路操作と機能イメージング、及び電気生理を組み合わせた因果的マルチモーダルアプローチにより、霊長類における非空間的視覚記憶を司る前頭葉 - 側頭葉ネットワークの機能を、マルチスケールかつ因果的に理解する。

3. 研究の方法

画面上に呈示された図形を数秒間記憶する非空間的視覚記憶課題を遂行中の 2 頭のマカクザルを用いて 150-H2O PET (fPET) による全脳の機能マッピングを行い、記憶負荷のみが異なる 2 つの条件間で有意に異なる脳活動を示す記憶関連活動部位を同定した。記憶関連活動を示す部位として TC と共に得られた PFC の活動部位に対して、ウィルスベクター法により両側性に抑制性 DREADD を遺伝子導入した。遺伝子導入した DREADD の発現は、11C で標識した DCZ をプローブとして用いた PET (DCZ-PET) (Nagai et al., *Nature Neurosci.* 2020; Oyama et al., *Science Adv.*, *in press*; Hirabayashi et al., *in revision*) により *in vivo* にて確認した後、全ての実験を終了後に組織学的に再確認した。これらのマカクザルを用いて、DCZ 投与下にて非空間的視覚記憶課題を行い、Vehicle 投与条件における成績と比較した。対照として、記憶負荷が低い条件や DREADD 非発現個体を用いた課題成績変化の評価を行った。また DCZ 投与によって PFC の活動部位を抑制した状態で上記の記憶課題遂行中の fPET を行い (Chemogenetic fPET)、Vehicle 投与条件における活動と比較する事で、DREADD 発現部位を含む全脳における記憶関連活動の変容を解析した。

また、Chemogenetic fPET によって捉えられたマクロレベルでの回路作動変容のニューロン実体を明らかにする為、Chemogenetic fPET に用いた 2 頭の TC に電極を刺入し、fPET によって捉えられた記憶関連活動部位、及びその周辺におけるニューロン活動を記録し、fPET における活動部位で記録されるニューロンの課題関連活動の特徴を調べた。刺入した電極の先端位置と

fPET の活動部位との相対的な位置関係は、電極刺入時の脳の Computed Tomography 画像と fPET 画像、及び MRI による脳構造画像の重ね合わせによって確認した。さらに、課題遂行中に特定のニューロン活動を記録しながら DCZ を投与する事で、PFC 活動部位の抑制前後における TC ニューロン活動の変容を調べた。対照として、Vehicle 投与条件についても同様の記録を行った。

4. 研究成果

非空間的視覚記憶課題を遂行中の 2 頭のマカクザルを用いて fPET による全脳の機能マッピングを行い、記憶関連活動を示す脳領域として、2 頭に共通して TC 及び PFC が得られた。そのうちの PFC の活動部位にウィルスベクター法により抑制性 DREADD を遺伝子導入し、DCZ-PET により DREADD の発現を *in vivo* にて確認した。PFC の活動部位における DREADD 発現の確認後、DCZ 投与により PFC の活動部位を抑制した状態で上記の記憶課題を行った所、2 頭共に記憶負荷依存的な成績低下を有意に示した。このような DCZ 投与による有意な課題成績の低下は、記憶負荷が低い対照条件や DREADD を発現していない対照個体では見られなかった。これらの結果から、fPET で同定された PFC の活動部位は、単に記憶関連活動を示すだけではなく、その活動が非空間的視覚記憶に必要である事が因果的に示された。さらに、同様の DCZ 投与下にて上記の記憶課題遂行中の fPET を行い、vehicle 投与条件との間で記憶関連活動を比較した所、DREADD 発現部位である PFC における局所抑制と、そこから離れた TC における遠隔抑制が共に有意に見られる事がマクロレベルで明らかになった。この事から、fPET によって同定された PFC と TC における記憶関連活動部位は一つのネットワークを形成し、TC の記憶関連活動には PFC の活動が必要である事が因果的に示された。

さらに、PFC の活動部位の抑制による非空間的視覚記憶ネットワークの作動変容のニューロン実体を捉えるべく、fPET によって得られた TC の記憶関連活動部位に電極を刺入し、上記課題中のニューロン活動を電気生理学的に記録し、PFC 活動部位の抑制前後において、同一の ITC ニューロンの活動を比較した。その結果、まず fPET により同定された TC の記憶関連活動部位のニューロン群は、その多くが上記課題において、刺激呈示期間とそれに続く遅延期間に有意な刺激選択性を伴う活動を示す事がわかった。このような課題関連活動を示すニューロンは、fPET の活動部位から数 mm 離れた場所に電極を刺入すると見られなくなった事から、fPET における TC の活動は、上記のような課題関連ニューロン群の活動を反映したものである事が示唆された。さらに、このような TC 活動部位のニューロン群が示す課題関連活動は、PFC 活動部位の抑制によって fPET で見られた遠隔抑制に対応する形で有意に変容する事が明らかになった。このようなニューロン活動の変容は、Vehicle 投与条件においては見られなかった。この事から、非空間的視覚記憶課題における TC ニューロンの活動は、PFC からのトップダウン入力の影響を受ける事が、因果的に示された。

本研究により、化学遺伝学と認知課題を脳機能イメージングや電気生理等のマルチモーダル神経活動計測と組み合わせる事で、霊長類において非空間的視覚記憶を支える前頭葉 側頭葉ネットワークの作動及び機能が、マルチスケールかつ因果的に捉えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Tamura K, Takeda M, Setsuie R, Tsubota T, Hirabayashi T, Miyamoto K, Miyashita Y	4. 巻 357
2. 論文標題 Conversion of object identity to object-general semantic value in the primate temporal cortex	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Science	6. 最初と最後の頁 687 ~ 692
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/science.aan4800	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Takeda M, Hirabayashi T, Adachi Y, Miyashita Y	4. 巻 9
2. 論文標題 Dynamic laminar rerouting of inter-areal mnemonic signal by cognitive operations in primate temporal cortex	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 4629
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-018-07007-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Nagai Y, Miyakawa N, ..., Hirabayashi T, ..., Roth BL, Minamimoto T	4. 巻 23
2. 論文標題 Deschloroclozapine, a potent and selective chemogenetic actuator enables rapid neuronal and behavioral modulations in mice and monkeys	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Neuroscience	6. 最初と最後の頁 1157 ~ 1167
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41593-020-0661-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Oyama K, Hori Y, Nagai Y, Miyakawa N, Mimura K, Hirabayashi T, Inoue KI, Suhara T, Takada M, Higuchi M, Minamimoto T	4. 巻 in press
2. 論文標題 Chemogenetic dissection of the primate prefronto-subcortical pathways for working memory and decision-making	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 6件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Toshiyuki Hirabayashi
2. 発表標題 Multi-scale analysis of network effect of local perturbation: chemogenetic functional imaging & electrophysiology in macaques
3. 学会等名 令和元年度 生理学研究所 記憶研究会 Neurobiology of Learning & Memory Meeting (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 平林 敏行
2. 発表標題 Chemogenetic functional imaging & electrophysiology: 局所干渉による大域ネットワーク作動変容のマルチスケール解析
3. 学会等名 第49回 日本神経精神薬理学会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 平林 敏行
2. 発表標題 Network effect and behavioral impact of local perturbation: chemogenetic functional imaging and electrophysiology in macaques
3. 学会等名 国際ワークショップ「遺伝子導入技術の利用による霊長類脳機能操作とイメージング」(招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 平林 敏行
2. 発表標題 Chemogenetic functional imaging & electrophysiology: 局所干渉による大域ネットワーク作動変容のマルチスケールな理解
3. 学会等名 平成30年度 京都大学霊長類研究所 共同利用研究会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 平林 敏行
2. 発表標題 マカクザルにおける化学遺伝学と機能イメージングの融合：局所的回路操作による大域ネットワーク作動と行動の変容
3. 学会等名 平成29年度 京都大学霊長類研究所 共同利用研究会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 平林 敏行
2. 発表標題 霊長類における遺伝学的干渉によるネットワーク作動変容のマルチスケール解析
3. 学会等名 生理研研究会 2020 意思決定研究の新展開 ~ 社会共感・主観価値の生成・葛藤に関わる神経メカニズム ~（招待講演）
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		
USA	NIH		