

令和 4 年 6 月 10 日現在

機関番号：82401

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K22584

研究課題名（和文）非ヒト霊長類広域皮質脳波計測とトップダウン回路操作による自己主体感の神経基盤解明

研究課題名（英文）Opt-ECoG system development for manipulating the cortical top-down circuit of self-agency

研究代表者

小松 三佐子（Komatsu, Misako）

国立研究開発法人理化学研究所・脳神経科学研究センター・研究員

研究者番号：00525545

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,800,000円

研究成果の概要（和文）：小型霊長類マーモセットを対象として、広域皮質脳波計測と光遺伝学的操作の技術を組み合わせ、音声コミュニケーション時の自己主体感に関わる神経基盤の解明を目指した。Opt-ECoGシステムの開発では、マーモセットの前頭葉広域に光感受性タンパクを導入し、導入部位である前頭葉だけでなく投射部位である側頭葉においても光刺激に対する神経活動の変化を確認した。また、自由行動下での神経活動計測手法を開発し鳴きかわし行動中の神経活動の無線計測に成功した。他の個体のコールを聞いて返事をするかどうかの決定には前頭葉、聴覚皮質、後頭頂葉といったヒトの言語機能を担う領野と類似の脳部位が関わることを示唆する結果を得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究課題では、霊長類の前頭葉トップダウン回路を操作する手法の開発を行った。前頭葉トップダウン回路の機能異常は統合失調症などの神経疾患における社会行動の困難を引き起こしている可能性が示唆されており、そのような回路の操作手法の開発に成功したことは、高次認知機能における前頭葉トップダウン回路の役割を明らかにするという基礎科学的な意義のみでなく、神経疾患の理解・制御にもつなげる重要な進捗である。また、マーモセットの音声コミュニケーション時の広域神経活動計測が可能になったことで、今後、霊長類音声コミュニケーションの神経基盤の解明に繋がることが期待される。

研究成果の概要（英文）：We aimed to elucidate the neural basis related to self-agency during vocal communication by combining large-scale electrocorticography (ECoG) and optogenetic manipulation of the cortical top-down circuit. For this purpose, we developed an Opt-ECoG system. We virally induced a light-sensitive protein into the frontal areas of marmosets, and observed neural responses to photo-stimulation not only in the frontal lobe, which is the injection site, but also in the temporal lobe, which is the projection site. We also developed a wireless system that allow us to measure neural activity during marmoset vocal communication. The results suggested that marmosets decided as to whether or not to respond to the other's call during listening it, and that brain regions similar to the areas responsible for human language, such as the auditory, frontal, and posterior parietal areas, are involved.

研究分野：脳情報科学

キーワード：マーモセット 鳴きかわし 皮質脳波 神経回路操作 光遺伝学 オプトジェネティクス

1. 研究開始当初の背景

マーモセットは個体間で交互に発生する「鳴きかわし」を行う。この行動を実現するためには聴覚刺激として受容したコールが自分のものか他個体のものかを識別する必要がある。その際には前頭葉から聴覚皮質へのトップダウン信号が重要な役割を果たしていると考えられており (Eliades & Wang, 2008, Nature)、霊長類の自己主体感の神経基盤を解明するのに適した実験系となると考えられる。しかしながらそのメカニズムについて直接的な検証はまだ行われていない。その原因のひとつとして自己主体感に関わる神経活動を観察する手法が確立されていないことがあげられる。発声時の皮質内情報処理は数十～数百ミリ秒の単位で起こる動的な情報処理であること、聴覚皮質だけでなく前頭前野、運動前野を含む皮質の広域ネットワークの関係が示唆されており (Miller et al., 2010, Front Integr Neurosci; Roy et al., 2016, J Neurosci)、その神経基盤の解明のためには大脳新皮質の活動を高い時空間解像度で広域に観察する必要がある。

研究代表者はこれまでに小型の霊長類であるマーモセットの広域皮質脳波電極の開発に成功し、ヒト脳波で観察される聴覚ミスマッチ陰性電位 (MMN) がマーモセットの側頭溝周辺に生じることを世界で初めて報告している (Komatsu et al., 2015)。マーモセットはヒトと同様に複雑な皮質の階層構造を持つこと、脳溝が少ないことから皮質脳波計測を用いた霊長類の皮質内情報処理の研究対象として適している。当該研究では他の脳領域も MMN 生成に関わることを示唆する結果を得ており、広域皮質脳波電極が皮質広域の神経活動ダイナミクスをとらえるうえで強力なツールであると考えられた。また、Manita et al. (2015)は光遺伝学的操作により皮質内トップダウン信号を操作しマウスの触覚の意識を操作することに成功している。このトップダウン信号操作は申請者がマーモセットで開発した光遺伝学的神経回路操作技術 (Komatsu et al., 2017) (図 1) によりマーモセットに適用可能であり、広域皮質脳波計測と光遺伝学的操作を組み合わせることで、マーモセットの音声コミュニケーション時の前頭葉トップダウン信号の役割について直接的な検証が可能になると考えた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、霊長類の「自己主体感」に関わる神経基盤を解明することである。非ヒト霊長類であるマーモセットを対象として、大脳皮質全域の神経活動を観察しつつ、同時に前頭葉から聴覚皮質へ至るトップダウン信号を光遺伝学的に操作して増強あるいは減弱させ、その際の音声コミュニケーション行動の変容を観察することで、自己主体感の神経基盤解明を目指す。前頭葉トップダウン回路の機能異常は統合失調症などの神経疾患における社会行動の困難を引き起こしている可能性が示唆されており、自己主体感の神経基盤の解明は基礎科学的な意義のみでなく、これらの神経疾患の理解・制御にもつながる重要な問題である。

3. 研究の方法

本研究では、マーモセット広域皮質脳波計測と光遺伝学的操作の技術を組み合わせ、音声コミュニケーション時の自己主体感に関わる神経基盤の解明を目指す。解決すべき項目は「霊長類前頭トップダウン回路操作技術の開発」および「前頭葉トップダウン回路操作の影響の検証」の2つである。

「霊長類前頭葉トップダウン回路操作技術の開発」では、小型霊長類であるマーモセットの皮質全域の活動を観察しつつ、前頭葉に光感受性タンパクを順行性に発現させ、神経線維の投射先を光刺激することで前頭葉からのフィードバック投射を選択的に操作する技術を開発する。使用するマーモセット広域皮質脳波電極はすでに申請者が開発しており、大脳半球の前頭極から後頭極、側頭極までを連続的に覆い、大脳皮質全域の活動を同時に高い時空間解像度で観察することができる (Komatsu et al., 2015; 2019)。また、マーモセットの大脳皮質に光感受性タンパクを導入し神経活動を操作することにも成功している (Komatsu et al., 2017) (図 1)。

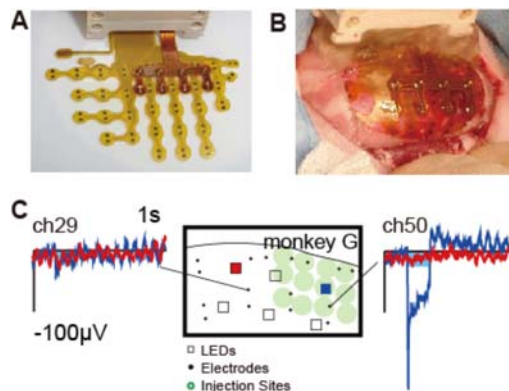


図 1. 申請者の開発した皮質脳波記録・光刺激デバイス (A)電極 (B)埋設例 (C)ウイルス注入部位の LED 点灯時は神経応答が観察されるが、それ以外の部位を光刺激しても応答はみられない (Komatsu et al.2017 より改変)

この際、前頭葉へのウイルス注入で側頭部へのフィードバック投射線維および対側への投射線維にも光感受性タンパクが発現することを確認済みである。したがって、はじめに解決すべき課題は、聴覚皮質にフィードバック投射を送る前頭前野の部位の特定およびウイルス注入量の検討である。2019年度は蛍光タンパク発現確認、組織学的皮質領野の同定を行いこの課題に取り組む。次年度である2020年度は行動実験と並行して抑制系の技術開発を行う。光感受性タンパクの置換とLED波長の変更により実現可能である。

「前頭葉トップダウン回路操作の影響の検証」では、マーモセットの「自己主体感」に変化が生じていることを検証する。はじめに、電気生理学的に、聴覚刺激誘発電位の皮質内トップダウン関連成分への影響を検証する。次に、自己主体感への影響を行動により検討する。マーモセットは他個体が一定間隔で行うフィーコールと呼ばれる鳴き声を聞いた際に逆位相でフィーコールを返す「鳴きかわし」を行う。この行動を実現するためには聴覚刺激として受容したコールが自分のものか他個体のものかを識別する必要がある。その際には前頭葉から聴覚皮質へのトップダウン信号が重要な役割を果たしていると考えられている (Eliades & Wang, 2018, Nature)。本研究では、前頭葉から聴覚皮質へ至るトップダウン信号を光遺伝学的に操作して増強あるいは減弱させ、その際の鳴きかわし行動の変容を観察することで、前頭葉トップダウン信号が自己主体感に及ぼす影響を直接的に検証する。

4. 研究成果

「霊長類前頭葉トップダウン回路操作技術の開発」

小型霊長類であるマーモセットの皮質全域の活動を観察しつつ、前頭葉に光感受性タンパクを順行性に発現させ、神経線維の投射先を光刺激することで前頭葉からのフィードバック投射を選択的に操作する Opt-ECoG 技術を開発した。

賦活系の光感受性タンパクとしてすでにマーモセットで使用した実績のある ChR2、抑制系として ArchT を用いることとした。まず、前頭葉と側頭葉を光刺激可能な LED 電極を新規にデザインし、ChR2 を光刺激するための青色 LED 電極に加え、ArchT を光刺激するための黄色 LED 電極を作成した。次に、マーモセットの前頭前野に光感受性タンパクを導入し、導入部位である前頭前野だけでなく投射部位である側頭葉においても光刺激に対する神経活動の変化が生じることを賦活系および抑制系でそれぞれ確認した。

「前頭葉トップダウン回路操作の影響の検証」

当初の計画では、最終年度までに音声コミュニケーション行動の変容を観察する計画であったが、身体的拘束を伴う実験環境下ではマーモセットのコミュニケーション行動の発現が著しく低下するという問題が生じ、計画を変更して自由行動下での神経活動計測手法を開発した。大脳皮質広域 ECoG 電極を留置したマーモセットから鳴きかわし行動中の神経活動の無線計測に成功し、マーモセットは他の個体のコールを聞いている間にコールを返すかどうかの意思決定を行っている可能性を示唆する結果を得た。また、それらの処理を担う脳部位は前頭葉、聴覚皮質、後頭頂葉といったヒトの言語機能を担う領野と類似の脳部位が関わることを示唆された。これらの成果を国際会議で報告した。

霊長類の「自己主体感」に関わる神経基盤の解明には至らなかったものの、(1) 霊長類前頭葉トップダウン回路操作技術、(2) 自由行動下霊長類からの神経活動の計測という、世界的にもまだ数例しか報告がない挑戦的な技術開発に成功した。既に報告されている無線計測技術は局所からの神経活動の計測に留まっているのに対し、今回開発した無線計測システムは大脳皮質外側部のほぼ全域をカバーするなど、大きな技術的アドバンテージを有する。すでに鳴きかわし行動時の意思決定にかかわる皮質領野の同定など有望な成果が得られつつあり、今後当該システムを用いた研究発展させることで、霊長類音声コミュニケーション中の自己主体感に関わる神経基盤の解明に繋がることが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Misako Komatsu
2. 発表標題 Whole-cortical Electroencephalography in the Common Marmoset.
3. 学会等名 the 9th Annual Meeting for Japan Society for Marmoset Research (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小松 三佐子
2. 発表標題 マーモセット広域皮質脳波計測技術の最前線
3. 学会等名 第5回ヒト脳イメージング研究会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yixuan Li, Qiyuan Feng, Xiao Yang, Xinyi Gao, Misako Komatsu, Joji Tsunada
2. 発表標題 Distributed cortical representation of decisions for vocal production in marmoset monkeys
3. 学会等名 Advances and Perspectives in Auditory Neuroscience (国際学会)
4. 発表年 2021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
研究分担者	菅野 江里子 (Sugano Eriko) (70375210)	岩手大学・理工学部・准教授 (11201)	

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			
中国	Chinese Institute for Brain Research			