

令和 2 年 6 月 17 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H02224

研究課題名(和文)新規霊長類神経回路操作技術の開発と応用による高次認知機能制御メカニズムの解明

研究課題名(英文)Development of a technique of manipulation of neural circuit in primates

研究代表者

肥後 剛康(Higo, Takayasu)

京都大学・医学研究科・講師

研究者番号：10396757

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)：ヒトを含む霊長類の高次認知機能は大脳皮質間の相互作用によって生み出されると考えられている。しかし、その検証技術が未開発なため、研究は国際的に停滞している。本研究では、シナプス情報伝達を遮断するタンパク質(テタヌス毒素)を回路選択的、可逆的に前頭前野の神経回路に発現させことに成功した。霊長類の大脳皮質におけるウイルスベクター2重感染による遺伝子発現制御の報告はまだ存在しないため、本研究の成果は霊長類の回路研究を国際的にリードする研究に発展することが期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の意義は、国際的に停滞していた霊長類の脳機能制御研究のブレイクスルーとなることが期待され、神経科学分野の研究を特に回路や細胞レベルで発展させる点である。また得られた知見は、心理学、教育学などの霊長類の認知機能を扱う幅広い学問領域の議論を活性化すると考えられる。一般社会へのインパクトとして、高齢化社会における認知機能の低下や学童期の学習や自閉症、注意欠陥が関心を集める中、前頭前野に関する本研究の知見は広く一般に受け入れられ、前頭前野研究の重要性の認知に貢献すると考えられる。

研究成果の概要(英文)：It has been suggested that the higher brain functions in primates including human are regulated by a highly developed cerebral cortex, in particular, functional interaction across multiple brain regions. However, the underlying circuit mechanisms of the higher functions remain elusive, because of the difficulties to generate a method of selectively manipulating the interaction between brain sites. In this research project, we mainly focus on a functional interaction between prefrontal cortex and inferior temporal cortex to regulate attention, and in order to identify circuits and neural activities, we developed a technique to manipulate a specific network by a gene expression induction of tetanus toxin.

研究分野：神経科学

キーワード：霊長類 高次脳機能

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ヒトを含む霊長類は、柔軟な「意思決定」や選択的「注意」といった高次脳機能を有することで、複雑な環境に対応するための適切な思考や行動を生み出している。これら高次脳機能の制御において、広範な大脳皮質の中でも特に前頭前野が重要な役割を果たすことが多くのヒト脳損傷患者の心理学的研究、ヒト機能的磁気共鳴画像法 (fMRI)、そしてサル脳の破壊実験によって示されている。その制御メカニズムとしては、前頭前野が投射を介して他領域(例えば、視覚情報を処理する後頭側頭皮質)の神経活動を制御するトップダウン制御が示唆されている(Corbetta and Shulman, Nature Rev. Neurosci. 2002, 他多数)。申請者もヒト fMRI と標的脳部位を不活性化する経頭蓋磁気刺激法(TMS)を組み合わせた fMRI/TMS 法によって、「注意」制御の中核部位として腹外側前頭前野 vIPFC を同定し、vIPFC が後頭側頭皮質内の3つのカテゴリ情報処理領域をカテゴリ選択的にトップダウン制御するメカニズムを提唱している (Higo et al., PNAS, 2011)。

しかし、神経回路を直接操作する技術が霊長類で未開発なため、この仮説の検証は国際的に停滞している。この開発の阻害要因として、霊長類では遺伝的背景が同一の個体(近交系)が存在せず、遺伝子組換え技術が未成熟なため、再現性良い遺伝子発現操作が困難な点が挙げられる。また、サル使用数の制限やヒトでは侵襲実験が不可など倫理的制約も一因である。霊長類研究のブレークスルーのためにも、これらの問題を克服した新規技術の開発が国際的に待たれている。

そこで、申請者は、侵襲実験が可能であり、ヒトと構造的、機能的相同性が高い大脳を有するマカク属サル (以下、マカクザル)を用いて、神経回路操作技術の開発を行う。

2. 研究の目的

ヒトを含む霊長類の高次認知機能は大脳皮質間の相互作用によって生み出されると考えられている。しかし、その検証技術が未開発なため、研究は国際的に停滞している。本研究では、現在申請者が開発に成功しているマカクザル遺伝子操作技術を応用することで、先ず、霊長類神経回路操作技術を完成させる。次に、この操作技術を課題訓練サルに適用し、高感度の電気生理学と行動学実験を駆使することで、大脳皮質間相互作用による高次認知機能の制御メカニズムを明らかにする。本研究で開発を目指す操作技術は、サル大脳皮質間経路の中で最長である vIPFC—下側頭葉皮質を標的としていることから、高次認知機能を制御するほとんど全ての神経回路をカバーすることになり、霊長類研究を革新的に前進させることが期待される。

3. 研究の方法

本研究の目的は2つあり、(1)霊長類の大脳皮質神経回路操作技術を完成させること (2)この技術を用いて、霊長類の高次認知機能である「注意」と「意思決定」の制御メカニズムを解明することである。(1)に関して、申請者が開発したマカクザル遺伝子操作技術によって「実際に情報伝達を遮断することが可能か？」を電気生理学的に検証し、操作技術を完成させる。次に、本申請研究のメインテーマである(2)に取り組むため、「注意」と「意思決定」を評価するための遅延対照課題とウィスコンシンカード分類課題を訓練したサルに当該回路操作技術を導入し、電気生理学的解析と行動解析を駆使することで、これら高次認知機能を制御する回路と神経活動を明らかにする。

4. 研究成果

まず、申請者は、(1)霊長類の大脳皮質神経回路操作技術を完成させるため、比較的長期 (数ヶ月)の遺伝子発現を可能とするアデノ随伴ウイルスベクター (AAV)を用い、特定の神経回路における遺伝子発現誘導を1個体内で繰り返し on/off する試みをマカク属サルにおいて行った。結果、大脳皮質内で最長投射の1つである背外側前頭前野 (dIPFC)と下側頭葉皮質 TE 野間において、GFP をマーカーとした遺伝子発現誘導に成功した。更に、その応用として、誘導する遺伝子を GFP からシナプス情報伝達阻害分子であるテタヌトキシン (eTeNT)へ変更し、その誘導にも成功した。これら遺伝子発現は、ドキシサイクリン (Dox) 非投与下では誘導されないことから、同一個体内で情報伝達阻害分子の誘導を可逆的に制御可能なことが示された (Tet-On システム)。その後、eTeNT 誘導による可逆的かつ長期的

な神経遮断の電気生理学的検証へ研究は進んだが、TE野での AAV 注入のための手術によるダメージが予想外に大きく、安定的かつ長期的な電気生理記録が困難であることが判明した。そのため、長距離でありながら投射が強く、手術ダメージが少なく済む左右半球の運動前野 (F7)間の交連投射に標的を変更した。これまで、上述の AAV 注入による Tet-On システムの導入によって、F7 間での eTeNT の投射特異的、可逆的、長期的発現を免疫組織化学的に確認し、F7 間の情報伝達遮断を電気生理学的実験により確認した。

次に(2)当該技術を用いた、高次認知機能である「注意」と「意思決定」の神経回路メカニズム検証に研究は移った。まずは、3頭のマカクザルに「注意」を評価する遅延対照課題の訓練を施した。6ヶ月から1年をかけて訓練を終了した。課題は、申請者が2011年発表のPNAS論文において採用した3つのカテゴリ別視覚刺激(顔、身体、風景)を用いたヒト探索課題をサル用に若干簡略化したものである。各試行の始めに標的図形を提示し、マカクザルに記憶させた後、新たに提示する8種の図形(色も8種類)の中から標的図形と同色の同図形を能動的に探索させるものである。

今後は、訓練済みのマカクザルに当該回路操作技術を導入し、電気生理学的解析と行動解析を駆使することで、これら高次認知機能を制御する回路と神経活動を明らかにする予定である。

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 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 肥後剛康
2. 発表標題 霊長類の高次脳機能を制御する分子・回路メカニズムの解明
3. 学会等名 脳神経発達統御学セミナー 群馬大学
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takayasu Higo
2. 発表標題 Mechanisms of functional interactions between brain areas to regulate the higher brain functions
3. 学会等名 Neuroscience seminar オックスフォード大学 英国
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Takayasu Higo
2. 発表標題 Mechanisms of functional interactions between brain areas to regulate the higher brain functions
3. 学会等名 分子イメージングセミナー 原子力・代替エネルギー庁 仏国
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
---------------------------	-----------------------	----