

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 14 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03548

研究課題名（和文）非侵襲技術による霊長類の神経回路操作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 noninvasive technique to functionally block neural projections in non-human primates and understanding of a regulatory mechanism of the higher brain functions

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） 13,400,000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、高度に発達した大脳皮質の神経回路によって制御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、霊長類の大脳皮質において最適化された神経回路操作技術を完成させ、高次認知機能の制御メカニズムを回路レベルから明らかにすることを目標として研究を行った。本研究の成果は、神経回路操作技術の基盤となる神経回路選択的遺伝子発現システムを完成させ、その有効性を評価する高次認知機能訓練済みサルを完成させたことである。今後はこれら成果を組み合わせた研究を推進することで、霊長類神経回路の実態解明が進むことが期待できる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒトを含む霊長類の高次脳機能は、大脳皮質によって制御される。特に霊長類で顕著に発達した前頭前野が中心的な働きをしており、その制御メカニズムとして、前頭前野が内外の様々な脳領域と相互作用するトップダウン制御が想定されているが、その実態は不明な点が多い。本研究の成果は、この実態解明のために必要な技術開発の先駆けとなる成果であり、神経科学分野の研究を特に回路レベルで発展させると考えられる。また得られた成果は、神経科学だけでなく、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し、遺伝子治療やドラッグデリバリー研究開発への貢献も期待され、一般社会への影響も大きいと考えられる。

研究成果の概要（英文）：Higher cognitive functions in primates, including humans, are thought to be controlled by highly developed neural circuits in the cerebral cortex. However, the research is stagnant internationally because the verification technology is underdeveloped. In this study, we aimed to complete the optimized neural circuit manipulation technology in the primate cerebral cortex and to clarify the control mechanism of higher cognitive functions from the circuit level. The result of this research is to complete a neural circuit-selective gene expression system, which is the basis of neural circuit manipulation technology, and to complete higher-order cognitive function-trained monkeys to evaluate its effectiveness. In the future, it is expected that by promoting research that combines these results, progress will be made in elucidating the actual state of primate neural circuits.

研究分野：神経科学

キーワード：霊長類

## 1. 研究開始当初の背景

ヒトを含む霊長類は、選択的「注意」、「作業記憶」、柔軟な「意思決定」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、機能的相関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、神経回路操作後術の開発を行う。

## 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、まず、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。申請者が独自に同定した選択的「注意」制御の責任部位である前頭前野腹外側部(vIPFC)にある前頭弁蓋部とその投射先9野、46野に着目し、これら神経回路をターゲットとした技術開発を目指した。本研究で開発を目指す操作技術は、霊長類で顕著に発達した脳領域をターゲットとしていることから、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、vIPFC と9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ストキシン(eTeNT)へ変更し、その誘導にも成功した。これら遺伝子発現は、免疫組織化学的に検証されたが、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)。  
次に(2)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行した。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。認知課題は、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。  
6ヶ月から1年をかけて正答率が最低8割を安定的に保持できるレベルまで訓練を継続した。次に、神経回路操作の影響をよりクリアに抽出できるよう、難化させた認知課題を開発し、当該サルに訓練を施した。想定通りの正答率低下が認められたため、今後は、当該訓練済みマカクザルに上述の回路選択的遺伝子発現システムを導入し、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0件

〔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
---------	---------