

令和 5 年 6 月 26 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K06898

研究課題名（和文）視覚野における細胞種特異的に発現する遺伝子情報の解析及び神経回路探索

研究課題名（英文）Investigating the Promoter Motifs Which are Capable of Distinguishing the Specific Cell Types in Macaque Visual Cortex.

研究代表者

斉藤 治美 (Saito, Harumi)

京都大学・高等研究院・特定助教

研究者番号：20311342

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：1. マカクザルの第1次視覚野（V1）において細胞種特異的な機能解析を行う為のツールを作成することを目的に、前頭前野と共にCAGE libraryを作製し、両者の遺伝子発現に相違が有ることが確認できた。しかし、コロナの影響や実験施設の改造工事の為に、なかなか実験が進まず、ウイルスベクターを作成するための候補遺伝子の特定までには至らなかった。

2. 錯覚で知られる充填知覚の情報処理機構を明らかにするために、V1の盲点領域の神経活動をマルチ電極を用いて解析した結果、高次の視覚野からのフィードバックによって盲点周辺の視覚情報がV1の盲点領域内に流入することが充填知覚に重要な働きを持つことが分かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々の充填知覚の実験結果から、V1よりも高次の視覚野からのフィードバックのいわゆる予測信号によって盲点周辺の視覚情報がV1の盲点領域内に流入することが充填知覚が起こることが分かった。また更に、フィードバックによって送られてくる輪郭と面の情報は、盲点領域内において異なる細胞種が受け取っていることが分かった。この結果は、充填現象を理解する為の重要な知見であると共に、霊長類の視覚認知において、大脳皮質内でフィードバックの機能的意義、および情報処理機構がどの様に行われているのか、その理解を深める為に役立つ。

研究成果の概要（英文）：To identify cell type-specific promoters in macaque V1, I have made Layer specific CAGE library and compared the results with the prefrontal cortex (PFC). I found the differences in gene expression between V1 and PFC, however, I could not perform further experiments to define the specific genes for the targeting because of COVID-19.

I have analyzed the information processing of perceptual filling-in in V1 blind spot region of macaque brain. Perceptual filling-in is responsible for the completion of missing information across the visual field such as blind spot (BS) and scotoma. Some features of response profiles in BS region in macaque V1 suggested the possible involvement of feedback from higher visual cortical area. For purpose of understanding the neural processes of top-down mechanisms involved in perceptual filling-in, we analyzed the dynamics of layer specific neural activities within and outside of V1 BS region by LFP and unit recordings using linear array electrode.

研究分野：Neuroscience

キーワード：visual cortex blind spot cell type specific feed back

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

霊長類の知覚は視覚が非常に発達しており、脳内神経回路網では階層的な情報処理の結果、外界の正確な情報をそのまま伝達してコピーするというよりも、むしろ情報が脳内で再編成されることによって複雑な物体画像の構築がなされていることが特徴である。この代表的な例が、錯覚で知られる充填知覚であり、第1次視覚野(V1)の盲点領域では、盲点内には抹消からの視覚情報の入力はないにもかかわらず、周辺の色や形状の情報で補充され、物体が認知される(Komatsu Nat. Rev. Neurosci. 2006)。このように、抹消からの情報に依存せず、発達した大脳皮質内での情報処理によって結果生じる知覚現象は心理学的にも長年注目されてきた。充填知覚の情報処理機構を理解するために、これまでに、V1の盲点領域内(BS)及びその周辺の神経活動の解析を行った報告がある。この報告によると、抹消からの情報を受け取っていないにもかかわらず、BSを覆う大きな視覚刺激を与えると、BS内に神経活動が誘起される(Matsumoto and Komatsu JNP 2005)。しかし、この神経活動のパターンは、通常の抹消からの情報を直接受けた場合とは、大きく異なり、深層にのみに神経活動が見られ、時系列的な情報伝達の遅延が確認された。これらの研究成果から、充填知覚は、抹消からの情報伝達に依存しない何らかの伝達経路をたどって、BS領域内に周辺の視覚情報が流入することが示唆された。このような充填知覚や複雑な物体の認知が実現するために、霊長類の大脳皮質視覚野でどのような情報処理が行われているのかをより深く、理解するためには、今後さらに、各々の細胞種がどのような役割を果たしているのか、回路レベルで解析していくことが重要である。

2. 研究の目的

本研究は申請時、1)マカクザルの大脳皮質視覚野内に発現するプロモーター遺伝子解析を行い、ウイルスベクターを作成することが主題であった。げっ歯類では、遺伝子導入技術を用い、細胞種レベルで神経活動や回路の探索を行なうことによって、脳内情報処理機構を知る為の新たな知見が年々得られているが、大脳皮質の構造が霊長類とは異なる為、げっ歯類で得られた研究成果により霊長類の高次の情報処理をすべて理解することは難しい。一方、ヒトに最も近縁で視覚認知機能が非常に発達しているマカクザルでは、様々な困難な要因から細胞種特異的な解析はあまり行われていない。そこで本研究では、マカクザルに遺伝子導入技術を用いて大脳皮質内の各々の細胞種特異的にターゲティングを行なえるシステムを構築するために、マカクザルの大脳皮質から細胞種特異的なプロモーター遺伝子の探索を行なった。また、本研究では、それに加え、2)充填知覚の情報処理機構を更に深く理解するために、BS内での神経活動の局所電流及び活動電位を層毎に同時解析し、V1・BS内での情報がどの様に入力されたのかを知る手掛かりを得ようと試みた。

3. 研究の方法

● V1 盲点領域の各層からの多点同時記録実験

V1のBSとは、視神経が集まって、束になっている視神経乳頭と一致するところで、片目の条件下では、抹消からの視覚情報が全く伝えられない。そこで、150 μ 間隔で15点の電極が一行に並んだリニアアレイ電極(Plexon U-Probe)を用いて、片目、および両目の条件下で注視課題を行っているサル(V1)のBS内とその周辺領域の皮質のほぼ全層から同時にニューロン集団のシナプス後電位を表現する局所電場電位(LFP)と活動電位(MUA)の記録を行い、片目と両目の条件下で誘引される神経活動を比較検討し、充填時に起こる神経活動を抽出することを試みた。V1における層構造は、電流源密度(CSD)によって両目の条件下で抹消の情報を第4層で最初に入力を受けた層を基準として特定した。

● V1 領域における遺伝子ライブラリーの作製

V1 の各層に局在する興奮性ニューロンの細胞群をレーザーカッターによって分離・採取し、各々の組織の mRNA から cDNA を合成し、CAGE ライブラリーを作製し、このライブラリーと、同様に前頭葉のトータル mRNA から作製されたライブラリーとの遺伝子発現を統計的に比較検討した。

4 . 研究成果

● 充填知覚の解析結果

本研究での解析の結果、充填知覚時の神経活動は、抹消から情報が送られてくる神経活動とは大きく異なり、波の LFP が上層で顕著に上昇することを確認し、MUA の解析では深層特に第 5 層の反応が顕著に見られた。これらの結果は、盲点周辺の情報を受け取った V2 からの予測信号が、フィードバックによって V1 の BS 内に流入し、第 5 層に局在する神経細胞がその情報を受けていることを示唆している。また更に、本研究では、深層での波の減少が確認することが出来た。我々は、この現象は、視床からの抑制を受けている結果生じていると予測している。これらの研究成果は、充填知覚を知るうえで、また更に、フィードバックによって送られてくる輪郭と面の情報は、盲点領域内において異なる細胞種が受け取っていることが分かった。この結果は、充填現象を理解する為に重要な知見であると共に、霊長類の視覚認知において、大脳皮質内で高度な階層的な情報処理機構がどの様に行われているのか、理解を深める為にも役立つ。これらの研究成果は、総説 生体の科学 小松 齊藤 74(4) 1-6 2023 に報告される予定であり、加えて、現在、国際誌に論文を投稿中である。

● V1 層特異的な遺伝子ライブラリーの作製

V1 の CAGE library の作製を各層、または全層から採取した細胞から作成し、前頭葉から作製されたものと比較検討し、視覚野に特異的に発現するプロモーター領域の解析を行った。Cluster analysis の結果、V1 と前頭葉のプロモーター領域の遺伝子発現は異なることが明らかになり、実験の再現性も証明された。しかし、候補遺伝子を選定するにはあまりにも遺伝子の数が多すぎ、その後のベクターの作製に進むことが困難であった。

もう一つの課題は、これまでの実験から、プロモーター遺伝子よりもむしろエンハンサーの解析がターゲティングベクターの作製には重要であることが分かり、現在、エンハンサーのスクリーニングの方法やデータバンクを用いた解析方法を検討中である。

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 齊藤 治美、正岡 明浩、小松 英彦 |
| 2. 発表標題 マカクザルの一次視覚野・盲点領域における充填知覚時の神経活動の解析 |
| 3. 学会等名 第44回日本神経科学学会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 正岡 明浩、齊藤 治美、小松 英彦 |
| 2. 発表標題 マカクザル第一次視覚野におけるメタコントラストマスキングに対する神経活動の変調 |
| 3. 学会等名 第44回日本神経科学学会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 齋藤 治美、正岡 明浩、小松 英彦 |
| 2. 発表標題 マカクザルの一次視覚野・盲点領域における充填知覚時の神経活動の解析 |
| 3. 学会等名 第43回 日本神経科学大会 |
| 4. 発表年 2020年 |

〔図書〕 計1件

| | |
|---------------------------|-----------------|
| 1. 著者名 充填知覚の神経機構の理解の現状 | 4. 発行年 2023年 |
| 2. 出版社 医学書院 | 5. 総ページ数 6 |
| 3. 書名 生体の科学 | |

〔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 |
|-------|----------------------------------|-----------------------|----|
| 研究協力者 | 小松 英彦 (Komatsu Hidehiko) | | |
| 研究協力者 | 一戸 紀孝 (Ichinohe Noritaka) | | |

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 |
|---------|---------|
|---------|---------|