

研究代表者	京都大学・医学研究科・教授
	伊佐 正 (いさ ただし) 研究者番号:20212805
研究課題 情報	課題番号:22H04992 研究期間:2022年度~2026年度 キーワード:成熟脳、大規模可塑性、精神神経障害克服、機能回復、霊長類、

なぜこの研究を行おうと思ったのか (研究の背景・目的)

● 研究の全体像

ヒトの近縁種である霊長類を用い、成熟脳において特定回路の刺激と訓練と薬物を組み合わせて大規模な可塑性を誘導することにより、(1) 脊髄損傷後の巧緻運動の回復、(2) 意思決定の障害による依存症の発症機構の解明と治療法の開発、(3) 精神疾患モデルの病態解明と治療法の開発、を目指す。

これまで、ヒトの近縁種である霊長類を用いて中枢神経系の障害・疾患モデルを作製し、ウイルスベクターを用いた回路操作技術を開発し (Kinoshita et al. Nature 2012)、訓練による運動・認知機能の回復のメカニズムを研究 (Isa, Ann Rev Neurosci 2019) してきた

より積極的な治療戦略の開発へ
(訓練+脳刺激+薬物による成熟脳における大規模可塑性の誘導)

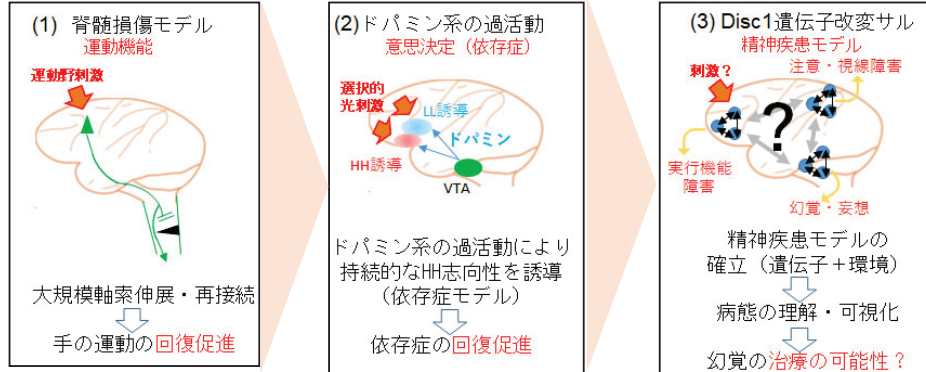


図1 本課題における3つの霊長類の精神神経障害のイメージ図

● 成熟脳での訓練+特定神経路の刺激+薬物による大規模可塑性誘導が精神神経障害治療を変える

最近、頸髄亜半切モデルの成熟マカクザルにおいて、切断後、重点的な訓練とともに両側の広範囲にわたる運動関連領域の電気刺激を週1回行うことで、多数の皮質脊髄路線維が錐体交叉において走行を変化させ、損傷部位を迂回して損傷尾側の運動ニューロンに接続するという大規模な可塑性を誘導し、運動機能の顕著な回復を引き起こすことに成功した。このような大規模可塑性を成熟脳に誘導させることが可能となれば、従来治療困難だった脳・脊髄の損傷や種々の精神神経疾患の治療を変えることができる。今回はこの脊髄損傷モデル (図1(1)) における可塑性の誘導メカニズムを詳細に明らかにするとともに、中脳腹側被蓋野(VTA)から前頭葉に至るドーパミン経路の過活動による「意思決定のゆがみ」の誘導とその治療 (図1(2))、そして精神疾患関連遺伝子Disc1のゲノム編集技術によりノックアウトしたサルにおいて、遺伝要因と環境負荷の組み合わせによる精神症状の誘導とその治療 (図1(3)) を目指す。それにより、これら、運動機能の障害、意思決定の障害 (依存症)、そして精神疾患といった一見多様な精神神経障害の成因ないしは治療が、成熟脳における大規模可塑性誘導というキーワードで解決可能であることを示したい。

この研究によって何をどこまで明らかにしようとしているのか

● 頸髄亜半切損傷モデルにおける大規模可塑性の誘導機構の解明

最近の研究で、マカクザルの頸髄亜半切モデルにおいて、損傷後、重点的な訓練とともに、週に一回、大脳皮質の運動関連領域 (一次運動野、運動前野、体性感覚野) に広汎に慢性的に装着させた数十チャンネルの皮質脳波電極を通じて、電気刺激を100回ずつ加えることで、粗な把持運動が1-2か月で回復することを見出した。そしてその際、図2のように損傷反対側の運動野由来の皮質脊髄路が錐体交叉でルートを変えて、反対側の頸髄を下行し、損傷より尾側で交叉して運動ニューロンに結合するようになることを見出した。本研究では、(1) このような可塑性が損傷後、いつのタイミングで起きるかを損傷とほぼ同時に運動野にトレーサーを打つことによって明らかにする (2) このような大規模可塑性誘導細胞が実際に機能回復に貢献しているのかを、ウイルスベクター2重感染法 (Kinoshita et al. Nature 2012) を用いた選択的遮断法によって検証する。 (3) このような大規模可塑性誘導細胞における遺伝子制御ネットワークの変化をsingle nucleus RNA sequencing法によって明らかにする。 (4) そして(3)で明らかになった遺伝子発現変化が本当に大規模可塑性に関与しているかを明らかにするため、そのハブとなる遺伝子を同定し、そのshRNAをAAVベクターで運動野に発現させることで大規模可塑性に誘導を阻止できるかを明らかにする。

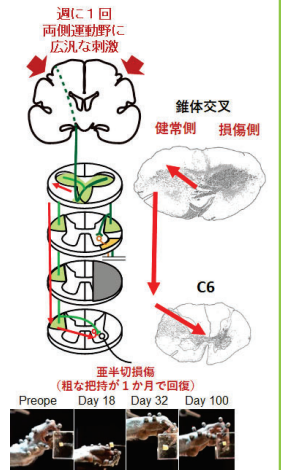


図2 頸髄亜半切マカクにおける皮質脊髄路の大規模可塑性誘導

● 中脳-皮質ドーパミン投射系の過活動に伴う意思決定の変化

画面の中央を注視しているサルの両側視野に異なる色のターゲットを点灯し、いずれかを眼球運動で選択させる (図3A)。色は報酬 (ジュース) が与えられる確率と量が異なる25種類から選ばれる (図3B)。すると、サルは確率は低くとも、一回に多量の報酬が与えられる色 (ハイリスク・ハイリターン(HH)) を選択する傾向がある (図3C黒線)。一方、前頭葉の様々な部位に抑制性伝達物質GABAのアゴニストのムシモルを注入した結果、腹外側前頭葉 (VLPFC) に注入した際に、HH志向性が消失したことで、強化学習の教師信号を送るとされる中脳ドーパミン投射の起源である腹側被蓋野 (VTA) にAAVベクターでChrimsonRを発現させ、VLPFCへのドーパミン入力系を上記意思決定課題遂行中に光刺激すると (図3D)、図3C赤線のように、意思決定がよりHH志向性が顕著になった。さらに刺激を繰り返すと、近傾向が高いレベルで固定された。一方で前頭葉のベルの部位を光刺激するとサルはよりローリスク・ローリターンを志向するように変化した。本研究ではこのような前頭葉へのドーパミン系の選択的刺激によって意思決定の歪み=依存症の治療につなげたい。

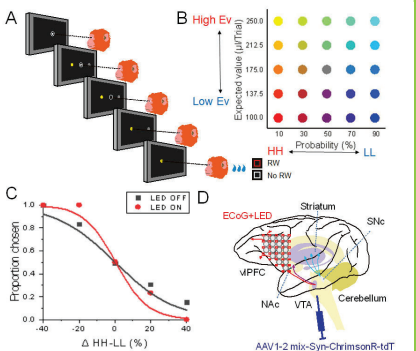


図3 A. 意思決定課題。B. 異なる報酬確率と量を示す色。C. 意思決定曲線。D. 光遺伝学実験。

● Disc1遺伝子のゲノム編集によるKOカニクイザルにおける精神症状の誘導と治療戦略の開発

Disc1は多くの精神疾患関連タンパクのinteractomeのハブとなることからその遺伝子改変により、多くの関連タンパクの機能に障害を生じ、霊長類での精神疾患の発症モデルを作れるのではないかと考えた。そこで本研究では滋賀医科大学と連携し、ゲノム編集によるDisc1遺伝子KOカニクイザルを作製し、その解析を行う。サルについては成長過程での社会的ストレスや薬物による発症の誘導を試みる。iPS細胞を作製し、そこから神経細胞を分化誘導し、脳オルガノイドを作製して遺伝子発現解析を行うとともに、社会行動や嗅覚機能、視線や睡眠時行動解析、さらに脳の構造MRIやfMRIによる安静時結合性の解析などを経時的に行う。こうして精神疾患の陽性症状や陰性症状が確認された個体について、実験室環境での幻覚の消去も試みる。

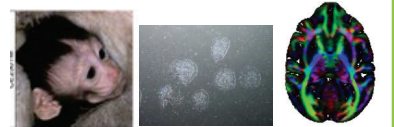


図4 (左) Disc1遺伝子をKOした幼弱個体。(中) それらから作製したiPS細胞。(右) 拡散テンソルMRI画像 (イメージ図)

より詳細な行動解析や電気生理学的な解析を行う。さらに、脳活動から幻覚のdecodingを試みるとともに、現在一部で行われているような深部脳刺激による幻覚の消去も試みる。