

伊佐 正

京都大学大学院医学研究科  
教授

霊長類の大規模回路の光遺伝学的操作による高次脳機能の解明

## §1. 研究実施体制

### (1)「光遺伝学による脳回路機能操作技術開発」グループ

- ① 研究代表者:伊佐 正 (京都大学大学院医学研究科 教授)
- ② 研究項目
  - ・ラットを用いたウィルスベクター、オプシン等の条件検討
  - ・サルを用いたウィルスベクター、オプシン等の条件検討
  - ・ドーパミン、アセチルコリン投射系の操作と機能回復
  - ・LIP・DLPFC 経路などの操作による盲視のメカニズム解明

### (2)「脳光刺激計測用デバイス開発」グループ

- ① 主たる共同研究者:太田 淳 (奈良先端科学技術大学院大学物質創成科学研究科 教授)
- ② 研究項目
  - ・脳表広域光刺激デバイスの開発
  - ・脳内刺入型光刺激デバイス及びその高機能化
  - ・脳表・刺入ハイブリッド光刺激デバイスの開発

### (3)「ウィルスベクター開発」グループ

- ① 主たる共同研究者:小林 憲太 (自然科学研究機構生理学研究所 准教授)
- ② 研究項目
  - ・ウィルスベクターの改善と供給

## §2. 研究実施の概要

光を感知して電荷を通す膜タンパクを遺伝子工学を用いて特定の細胞に発現させ、光によって膜電位を操作する(脱分極=活性化、過分極=抑制)光遺伝学技術は、げっ歯類をはじめとする小型モデル動物では、神経科学のパラダイムを変えるような大きな成功を収めたが、サルなどの中大動物における成功は限定的で、まだ既知の知見を確認する域をあまり出していない。これは、(1)現在用いられているウィルスベクターによる遺伝子導入・発現効率が限定的であること、(2)広範囲の脳組織の神経活動を制御しないと行動の変容には至らないにも関わらず、現在用いている光学系では十分に広い範囲の脳組織を照射できていないことが主な原因ではないかと考えられる。このようなサルにおける光遺伝学技術の開発が将来ヒトにおける応用を考える上では避けて通れない課題である。そこで本研究課題では、マカクザルにおける特定神経回路の光遺伝学的操作技術を確立することを目指す。そのための第一段階として、皮質下の腹側被蓋野(VTA)から前頭葉皮質に向かうドーパミン作動性経路及び前脳基底部(BF)から前頭葉皮質に向かうコリン作動性経路にそれぞれ青色光、赤色光で主に活性化する Channelrhodopsin2(ChR2)及び Chrimson R を発現させ、それらを光照射によって操作する。伊佐らのこれまでの研究から、脊髄損傷後、側坐核が運動野を間接的に駆動することで手指の巧緻運動の回復が促進されることが想定されていたが、どのニューロン群がそれを仲介しているかが明らかでなかった。しかしこれまでの解剖学的知見から上記2経路が有力な候補であり、その検証に取り組む。本研究においては、日進月歩であるベクターや光感受性膜タンパクについて、目的に合致する最新のものを選択する必要があり、また、刺激方法も、1重感染後に軸索終末部で刺激するのが良いのか、2重感染で経路選択的な発現をさせ、細胞体の位置で刺激するのかなどを決定する必要がある。

平成 29 年度伊佐グループでは、霊長類での実験の予備実験として、ラットを用いて VTA から投射を受ける大脳皮質 M1 領域に小林グループによって作成された3種類の逆行性特異的ベクターを注入、VTA には順行性ベクターとしてアデノ随伴ウィルスベクター(AAV)の血清型とプロモータを最適化するため5種類の AAV ベクターを注入し、これらの組み合わせの中で最適の組み合わせを明らかにした。また、MRI と CT 画像を融合することでサルの VTA に高い精度で注入する方法を確立した。さらに、この方法を用いて VTA に順行性ベクターを注入し前頭皮質での特徴的な投射分布を明らかにし、ラットで明らかになった最適な組み合わせの AAV ベクターをサルの VTA および VTA から密接な投射を受ける前頭皮質領野に特異的に注入することに成功した。また、VTA に ChR2 搭載 AAV ベクターを注入したサルの前頭皮質に太田グループによって開発されたマイクロ LED チップをアレイ上に配置した光刺激用デバイスを埋植する予備実験を行い、マイクロダイアリシスにより前頭皮質の光刺激によるドーパミン放出を確認した。