

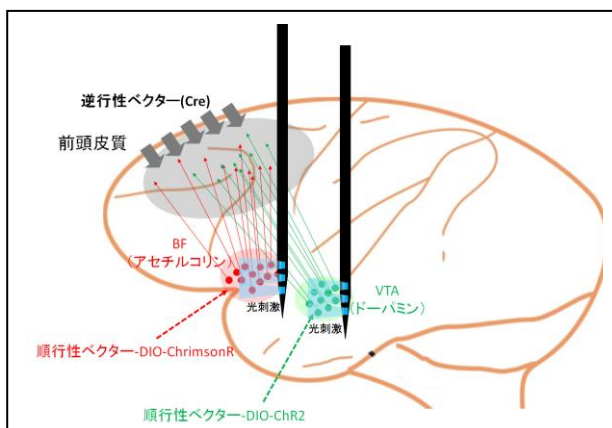
伊佐 正

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. 研究成果の概要

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、サルなどの中一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、このような皮質下から前頭葉の運動皮質への入力に脊髄損傷からの機能回復を促進するのではないかという仮説が得られているので、検証する。経路選択的操作には、投射先である前頭葉皮質に Cre を搭載した逆行性輸送されるウィルスベクターを注入、そして DIO に目的とするオプションを搭載した順行性のウィルスベクターを



細胞体の位置(VTA, BF)を注入し、2重感染した細胞において選択的にオプシンが発現するようにする。そして光照射は「皮質表面」ないしは「皮質下(VAT, BF)」のいずれかで行う(図)。

平成 30 年度、伊佐グループでは、前年度に引き続きラットを用いたウイルスベクター、オプシン等の条件検討を行い、逆行性ウイルスベクターとして AAV2retro、順行性ウイルスベクターとして AAV DJ が最も効率よい感染を引き起こすことが分かった。一方、太田グループでは、オプシンを導入したげっ歯類を用いて VTA の光刺激に対するドーパミンの放出をマイクロダイアリスで計測し、この技術を元に、サル用の VTA および前頭葉皮質を刺激するデバイスの開発を進めた。両者の技術を合わせて検討を重ね、小林グループが作製したウイルスベクターを用いてサルの VTA に ChR2 を発現させ、VTA あるいは前頭皮質を光刺激して、皮質脳波(ECoG)電極を用いて刺激に対する安静時脳活動の変化を計測し、同時にそれに対応してマイクロダイアリスによりドーパミンの放出の変化を確認することに成功した。

【代表的な原著論文】

Masaharu Kinoshita, Rikako Kato, Kaoru Isa, Kenta Kobayashi, Kazuto Kobayashi, Hiroataka Onoe and Tadashi Isa , “Dissecting the circuit for blindsight to reveal the critical role of pulvinar and superior colliculus”, Nat Commun, vol. 10, No. 1, 135, 2019

§ 2. 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 (京都大学医学研究科、教授)
- ② 研究項目
 - ・ラットを用いたウイルスベクター、オプシン等の条件検討
 - ・サルを用いたウイルスベクター、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)「ウイルスベクター開発」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
 - ・ウイルスベクターの改善と供給