

宮下 保司

東京大学大学院医学系研究科・教授

サル大脳認知記憶神経回路の電気生理学的研究

§1. 研究実施体制

(1) 宮下グループ

① 研究代表者: 宮下 保司 (東京大学 大学院医学系研究科、教授)

② 研究項目

- ・サル大脳側頭葉において記憶・想起を生み出す局所神経回路の解析
 - i. 対記憶ニューロン回路・対想起ニューロン回路の Granger Causality 解析
 - ii. 対記憶ニューロン回路・対想起ニューロン回路の大脳層構造解析
 - iii. 細胞の機能マーカーに基づく局所神経回路とその可塑性の解析
- ・サル大脳における領野間相互作用を担う神経回路の解析
 - i. 側頭葉 TE 野と 36 野間の対記憶ニューロン回路・対想起ニューロン回路解析
 - ii. 側頭葉領野と前頭葉・頭頂葉領野間の機能結合検索
 - iii. 前頭葉・頭頂葉領野と側頭葉間の情報処理の多点電極同時記録による解析

§ 2. 研究実施内容

本研究は、霊長類の高次脳機能のなかでも思考過程の基礎となる認知記憶システムの解明をめざしている。このシステムの構成要素である記憶ニューロン群(対連合記憶ニューロンや対連合想起ニューロン)を生み出す大脳側頭葉・前頭葉皮質の微小神経回路のはたらきを調べ、これらがどのように協調的に組織化されて記憶や想起という現象が可能となるかを明らかにする。多点電極で同時記録される神経信号間の因果的依存関係を近年開発されたノンパラメトリック型 Granger Causality 法等の信号解析法によって解きほぐしてゆく生理学的方法を中心にした集学的アプローチを実践することをねらいとしている。

本年度は、全体研究計画書に記載した研究計画(「研究の内容」)にしたがって、研究全体の基礎固めを行った。研究全体のマネジメントに関わる部分としては、高額備品の購入、研究員の雇用を進めた。ことに、高額備品の購入を計画より前倒しで進めることができ(当初予定していた共焦点レーザー顕微鏡、AKTA クロマトグラフィシステムに加えて、大型冷却遠心機も平成 23 年度中に納入を完了した)、研究員 1 名も研究発足時に雇用できたので、研究の基礎固めという点では大きな進捗があったと評価している。

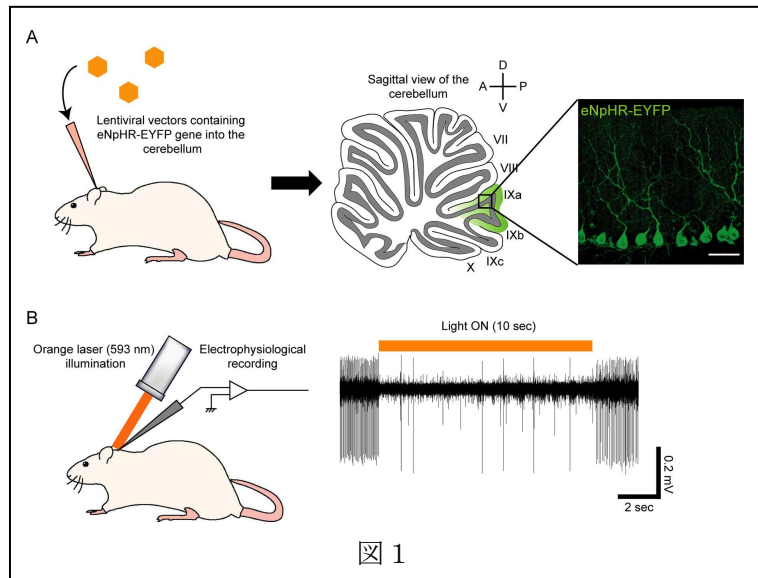


図 1

研究発足後、現時点(平成 3 月末日)ではまだ 6 カ月しか経過していない為、以下では主に

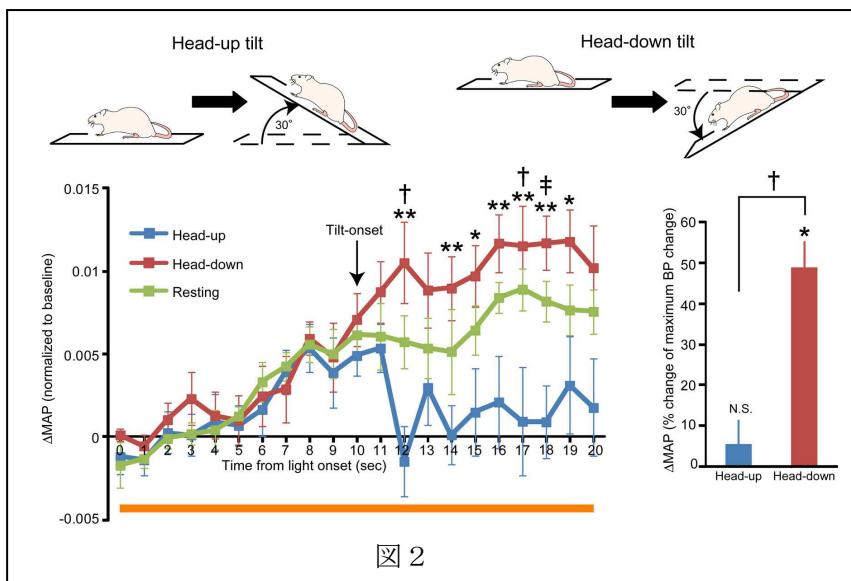


図 2

feasibility study に関係するものについて進捗状況を述べる。まず、細胞の機能マーカーに基づく局所神経回路解析に関して、optogenetics の feasibility テストとして、virus-vector を用いてチャンネルロドプシン/ハロロドプシンを発現し、レーザー照射による行動レベルの反応が得られるかどうか、をまず

ラットにおいてテストした。virus-vector としては、Lenti-virus を用い、特異的プロモーターとしては、L7 プロモーターを用い、ハロドプシン-GFP 遺伝子を発現させてテストを行った(図1)。その結果、小脳第 IX 葉にこの遺伝子を発現させてオレンジレーザーを照射すると、ラットの姿勢変化(重力方向に対する頭部角度変化)に対して血圧を定常的に保つ機能が低下することが明らかになった。更に、この機能低下は、頭部を下げる際には顕著であるが、逆に頭部を上げる際には殆ど起こらないので、単に小脳プルキンエ細胞発火低下による静的血圧変化では説明できず、小脳の動的血圧制御機能の障害であることが示された(図2)。また、これらの血圧制御機能の障害は、ハロドプシン-GFP 遺伝子を小脳第 VIII 葉に発現させた場合や小脳第 IX 葉に vehicle injection を行った場合には起こらないので、特異的な行動学的効果であることが確認された。以上のように、ラットを用いた一般的な optogenetics の feasibility テストは完了し、更に次の段階のテストに進むべきであるとの結論が得られた。

次に、側頭葉領野と前頭葉・頭頂葉領野間の機能結合検索 に関して、高磁場磁気共鳴画像装置を用いて、resting state functional connectivity (rs-FC) を指標にすることができかどうか、feasibility study を行った。まず最初に、rs-FC によって示される機能結合が、解剖学的結合とどのような関係にあるかを、全脳のネットワーク解析で調べた。2頭のマカクサルを被験者として麻酔条件下で得られた

rs-FCとtracer anatomyによってこれまで知られている解剖学的結合関係(CoCoMac database による)を比較した結果、rs-FC は直接的な解剖学的結合の数と共にその強度が増加し、また多シナプス性の間接結合の存在によっても影響されることが明らかになった(図3)。次に、rs-FC 以外の機能結合検索法として、皮質内微小電気刺激 (Intracortical microstimulation, ICMS) の効果を磁気共鳴画像上の BOLD 変化として計測する方法を検討した。マカクサル大脳皮質 SI の ICMS によって、多シナプス性に引き起こされる小脳内の BOLD 変化を検出して、ICMS パラメーターと BOLD 信号の強度・広がり関係を調べることを試みた。その結果、ICMS の効果は、多シナプス性に小脳内の BOLD 変化を引き起こすことが証明された。次

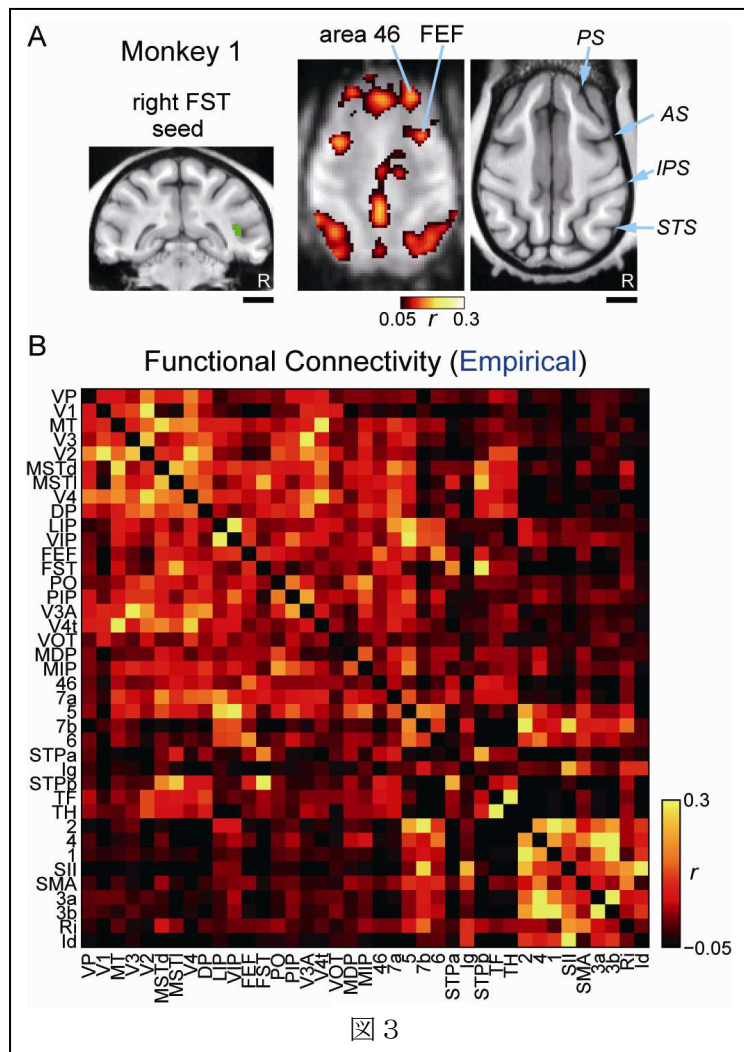


図 3

に、側頭葉領野を対象にする場合に、高磁場磁気共鳴画像においてことに問題となる画像歪み（脳底部および外耳道近傍における磁化率の変化に由来する）をどのようにして最小化できるかを検討した。撮像条件として多くのパラメータをテストしたが、その中で、TE 値が小さいほど磁化率変化の影響を受けにくく、また撮像スライス角度によって外耳道近傍における磁化率変化の影響を小さくすることが可能であることが明らかになった。TE 値を小さくすることによっておこる S/N の低下によって、機能結合を同定するのに必要な撮像時間が 3-4 倍になることも明らかになった。以上のような feasibility study の結果、rs-FC を指標とする側頭葉領野と前頭葉・頭頂葉領野間の機能結合検索が実用的に可能である、との結論が得られた。同時に、その機能結合計測データを解釈する場合に注意が必要であること、歪みの少ない撮像データを得る為に通常の fMRI に比して 3-4 倍の撮像時間が必要になることも明らかになった。これによって、この段階の feasibility テストは完了し、更に次の段階のテスト(rs-FC と電気信号レベルの機能結合の関係の研究)に進むべきであるとの結論が得られた。一方、当初計画されていた ECoG 法による機能結合研究は、feasibility study の結果、現段階では技術的困難の解決の見通しがつかない為、次の段階に進むべきではないとの結論が得られた。

以上のように、全体計画書に従って初年度の feasibility study を進めた結果、今後更に次の段階に進むべき研究課題が抽出されたので、平成 24 年度以降こうした研究課題について集中的に研究を進める予定である。

§3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

- 論文詳細情報

1. Tsubota T, Ohashi Y, Tamura K, Miyashita Y. Optogenetic inhibition of Purkinje cell activity reveals cerebellar control of blood pressure during postural alterations in anesthetized rats. *Neuroscience*, 2012. doi: 10.1016/j.neuroscience.2012.03.014, 2012.

(3-2) 知財出願

- ① 平成 23 年度特許出願件数(国内 0 件)
- ② CREST 研究期間累積件数(国内 0 件)