

科学研究費助成事業（基盤研究（S））公表用資料  
〔研究進捗評価用〕

平成 24 年度採択分  
平成 27 年 3 月 17 日現在

光遺伝学と磁気共鳴機能画像法の融合による大脳記憶機構の解明  
Elucidation of neural mechanisms of primate cognitive memory  
using an integrated approach of magnetic resonance imaging  
and optogenetic manipulation

課題番号：24220008

宮下 保司 (MIYASHITA YASUSHI)

東京大学・大学院医学系研究科・教授



研究の概要 大脳皮質の動作様式解明に向けた最近の進歩は、主にげっ歯類を中心とする局所神経回路の研究によるが、霊長類の大域的大脳ネットワークの動作原理の解明にはそうした方法の適用が困難であった。本研究では、磁気共鳴機能画像法による全脳の大域的解析の利点を生かしながら、光遺伝学的方法等と組み合わせることによって、記憶生成・想起を協同的に支える大域的大脳ネットワークの動作様式の因果的解析を行う。

研究分野：総合領域、脳神経科学、神経科学一般

キーワード：認知神経科学、磁気共鳴機能画像法 (fMRI)、霊長類、大脳、光遺伝学

#### 1. 研究開始当初の背景

霊長類の大脳記憶システムの動作様式解明に向けた最近の進歩は、主に電気生理学的アプローチによる局所神経回路に関する知見の蓄積によるところが大きい。しかし、これらの微視的レベルの知見を巨視的・大域システムへと拡張し、大脳ネットワークの時間軸に沿った動的な情報処理過程を解明する道程はまだ遠い。大域的大脳ネットワーク解析には磁気共鳴画像法が主な方法となってきたが、それだけではネットワーク動作の因果的側面まで踏み込んだ解析は困難であった。

#### 2. 研究の目的

上記の背景を踏まえて、本研究では、磁気共鳴画像法による全脳の大域的解析の利点を生かしながら、光遺伝学的方法と組み合わせることによって、記憶生成・想起を協同的に支える大域的大脳ネットワークの動作様式の解明を目的とする。

#### 3. 研究の方法

サルを被験者とする fMRI 法により高次元認知機能の解析を行う方法と、局所電気刺激法、GABA アゴニストによる抑制法、光遺伝学的方法を組み合わせることによって、時間的・空間的精度の高い刺激／抑制方法と巨視的脳機能マッピングの融合をサル大脳機能の研究においてに実現する。

#### 4. これまでの成果

本研究では、まずサル大脳への神経回路特異的な光遺伝学刺激法／抑制法の確立をめざした。すでに基盤技術開発に大きな成果が

あり、当初目標はほぼ達成された。即ち、まず慢性サル行動課題実験用の新しい optorode を開発した (Tamura et al., 2012)。これによりサイズの大きい霊長類大脳の深部における単一ニューロン活動記録、蛍光強度測定、ChR2-EYFP 発現ニューロンの光遺伝学的刺激等に成功している。また、サル大脳皮質における遺伝子の発現が、ラット大脳皮質における発現と異なること、ならびにこの差異が遺伝子導入に用いるプロモーターに依存することも明らかにした (Yaguchi et al., 2013)。これらの結果は今後の本研究推進の基礎となる重要な進捗であると評価している。

また、ChR2 を用いた光遺伝学の技術基盤開発として、カラム特異的遺伝子発現が可能であること、更に RNAi との併用が可能であることを実証した (Tsubota et al., 2015)。神経可塑性において重要な cofilin1 分子をターゲットとして、その機能を単一の大脳体性感覚野カラムにおいて阻害し、II/III 層錐体細胞における cofilin1 の機能が径カラム入力による経験依存的可塑性に必要なことを証明した。

サル大脳ネットワークダイナミクスの fMRI 計測でも、既に多くの成果が得られている。まず、マカクザルにヒトと同様の認知記憶課題（再認課題）を課し、磁気共鳴画像装置 (MRI) 内で課題遂行中の脳活動を記録して活動領域を同定し、更にそれらの領域間の機能結合を rs-FC 法により解析した。その結果、これらの活動領域は、大脳全体で 5 つの異なる module に分かれており、それぞれ

機能分担があることが明らかになった (Miyamoto et al., 2013)。また、サル大脳神経回路解析において、1つの図形を手がかりにして、事前に対として記憶している別の図形を連想する作業を遂行中のサルの側頭葉で、手がかり図形に回答しその情報を保持するニューロンから、別の図形を思い出す時に活動するニューロへと特異的に神経信号が伝達し、それがさらに他の対図形想起ニューロンへと伝播していくことによって、記憶想起信号が生成され、増幅されることを明らかにした (Hirabayashi et al. 2013a,b)。

更に、サル大脳ネットワークおよび行動結果に対して、特定の大脳領域の機能障害がどのように影響を与えるかを解明した (Osada et al. in press, 2015)。新近性課題 (Recency task) をサルに遂行させ、fMRI によって脳活動領域を同定し、特定の活動領域の機能障害を SVM 法により解析した結果、大脳ネットワークにおける各領域の betweenness centrality 値が、当該領域が傷害された場合に引き起こされる行動障害の程度と相関することを見出した。この結果は、サル大脳ネットワークへの擾乱ダイナミクスを fMRI 計測によって解明するとの本研究目的に、直接的回答を与える成果であると評価している。

#### 5. 今後の計画

上記 4. で述べた 2 つの認知課題 (再認識課題および新近性課題) のサル 2 頭づつへの訓練は完了している。遺伝子発現、光刺激・抑制技術についてもほぼ整備完了しているが、残る問題としては、サル大脳の場合、マウスやラットより 100 倍近い面積への光遺伝学的擾乱が必要とされることが挙げられる。このような広域への光遺伝学的擾乱はまだ試みられたことが無く、現在、特殊な並列光ファイバー型側面発光 optorode を開発中である。また、この並列光ファイバー群を同時照射する為に、高出力 6W レーザーを使用する計画を進めており、本研究の残り 2 年の間に結果を得ることができる見込みである。

#### 6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

宮下保司 平成 26 年 6 月 藤原賞 受賞

1. Takeda, M., Koyano, W.K., Hirabayashi, T., Adachi, Y. & Miyashita, Y.: Top-down regulation of laminar circuit via inter-area signal for successful object memory recall in monkey temporal cortex. *Neuron*, in press 2015.
2. Tsubota, T., Okubo, S., R., Ohashi, Y., Tamura, k., Ogata, K., Yaguchi, M., Matsuyama, M., Inokuchi, K. & Miyashita, Y. : Cofilin1 Controls Transcolumnar Plasticity in Dendritic Spines in adult barrel cortex. *PLoS Biol.* 13:2, e1002070. 2015
3. Hirabayashi, T., Tamura, K., Takeuchi, D., Takeda, M., Koyano, W., K. & Miyashita, Y.: Distinct Neuronal Interactions in

Anterior Inferotemporal Areas of Macaque Monkeys during Retrieval of Object Association Memory. *J. Neurosci.* 34, 9377-9388, 2014

4. Watanabe, T., Takezawa, M., Nakawake, Y., Kunimatsu, A., Yamasue, H., Nakamura, M., Miyashita, Y. & Masuda N. : Two distinct neural mechanisms underlying indirect reciprocity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 111, 3990-3995, 2014

5. Miyamoto, K., Adachi, Y., Osada, T., Watanabe, T., Kimura, H.M., Setsuie, R. & Miyashita, Y.: Dissociable memory traces within the macaque medial temporal lobe predict subsequent recognition performance. *J. Neurosci.* 34, 1988-1997, 2014

6. Hirabayashi, T. & Miyashita, Y.: Computational principles of microcircuits for visual object processing in the macaque temporal cortex. *Trends in Neurosci.* 37, 178-187, 2014

7. Miyamoto, K., Osada, T., Adachi, Y., Matsui, T., Kimura, H.M. & Miyashita, Y. : Functional differentiation of memory retrieval network in macaque posterior parietal cortex. *Neuron* 77, 787-799, 2013.

8. Hirabayashi, T., Takeuchi, D., Tamura, K. & Miyahsita, Y. : Microcircuits for hierarchical elaboration of object coding across primate temporal areas. *Science* 341, 191-195, 2013.

9. Yaguchi, M., Ohashi, Y., Tsubota, T., Sato, A., Koyano, W. K., Wang, N. & Miyashita, Y. : Characterization of the properties of seven promoters in the motor cortex of rats and monkeys after lentiviral vector-mediated gene transfer. *Hum. Gene Ther. Methods* 24, 333-344, 2013.

10. Watanabe, T. Hirose, S., Wada, H., Imai, Y., Machida, T., Shirouzu, I., Konishi, S., Miyashita, Y. & Masuda, N. : A pairwise maximum entropy model accurately describes resting-state human brain networks. *Nat. Commun.* 4, 1370, 2013.

11. Hirabayashi, T., Takeuchi, D. and Tamura, K. & Miyashita, Y. : Functional micro-circuit recruited during retrieval of object association memory in monkey perirhinal cortex. *Neuron* 77, 192-203, 2013.

12. Miyamoto, K., Hirabayashi, T. & Miyashita, Y. : To bet, or not to bet: that is the question of SEF spikes. *Neuron* 75, 358 - 360, 2012

13. Tamura, K., Ohashi, Y., Tsubota, T., Takeuchi, D., Hirabayashi, T., Yaguchi, M., Matsuyama, M., Sekine, T. & Miyashita, Y. : A glass-coated tungsten microelectrode enclosing optical fibers for optogenetic exploration in primate deep brain structures. *J. Neurosci. Methods* 211, 49-57, 2012.

HP: <http://www.physiol.m.u-tokyo.ac.jp/>