

## 研究課題別評価書

### 1. 研究課題名

サル fMRI による視知覚機構の脳ネットワーク解析

### 2. 氏名

中原 潔

### 3. 研究のねらい

ヒトにおける脳機能イメージングによって、認知課題を遂行しない休止状態においてむしろ活動が高まる脳領域群が存在することが見いだされた。これらの脳領域は同期した脳活動を示すネットワークを形成していることがわかり、default-mode network (DMN)と呼ばれている。DMN は休止状態において活動が高まること、アルツハイマー病などでは DMN の活動が低下することから、DMN は意識の“基底状態”を生成するのではないかとの仮説がある。DMN の機能を探るため、マカクサルをモデルとして、以下の目標を立てた。すなわち fMRI を用いてマカクサルにおいて DMN を同定すること、および DMN を破壊あるいは阻害したとき、どのような認知的変化が生じるかを明らかにすることである。またこうした脳ネットワーク機能を解析するためには分子生物学的手法の導入が有用であると考え、その第一歩として霊長類脳への効率的な遺伝子導入法を開発することを目指した。

### 4. 研究成果

本研究課題の開始直後、現所属に異動したため、マカクサルにおいて fMRI を行う実験設備を新たに確立する必要があった。このためにサル用の RF コイル、MRI 用チェア、反应用スイッチなどを設計、製作した。これによって 3 テスラ MRI 装置(Siemens Trio)を使ってマカクサルにおいて fMRI に必要な良好な EPI 画像を取得することが可能となった。

DMN は同期した脳活動を示すネットワークを形成していることから、もしこれがマカクサル脳に存在するならば、独立成分分析によって同期した脳活動ネットワーク成分として捉えられるはずである。そこで麻酔下マカクサルにおいて、EPI 撮像(繰り返し時間2秒、約150スキャン)を行った。得られた時系列データに対して独立成分分析を行ったところ、独立成分として再現性よく得られたもののうち、ヒトにおける DMN と類似した脳領域群があることが認められた(図1)。すなわち内側頭頂葉、側頭・頭頂接合部、内側前頭前野、海馬等である。さらに別の解析として、DMN に属する典型的な脳領域である内側頭頂葉から脳活動の時間成分を抽出し、これと有意な正の相関を示す脳領域を全脳にわたって探索したところ、やはり独立成分分析によって得られた結果と同様の脳領域が得られた。以上の解析結果はこれらの脳領域がサルにおける DMN であるとし唆するものであり、サルにおいてもヒトと同様の意識基底状態が存在する可能性を示している。

また DMN の時間成分に対して負の相関を示す脳領域を探索したところ、前頭眼野および頭頂間溝が有意な領域として検出された。これらの領域は注意に関わる領域であることが知られている。意識の基底状態の生成が DMN の機能として想定されることを考えると、意識の基底状態を司る脳活動と注意を司る脳活動とは互いに拮抗している可能性がある。すなわち日常的な言葉で例えるならば、何かに注意を集中すると「我を忘れる」ことの神経的基盤であるのかも知れない。

我々はさらに小型の新世界ザルの一種であるコモンマーモセットにおいて同様の解析を行い、マーモセットにおいても DMN が存在する可能性を示した。より下等と考えられるマーモセットにおいても DMN が存在するならば、ヒトを含めた霊長類に普遍的な意識の基底状態が存在する可能性が高い。

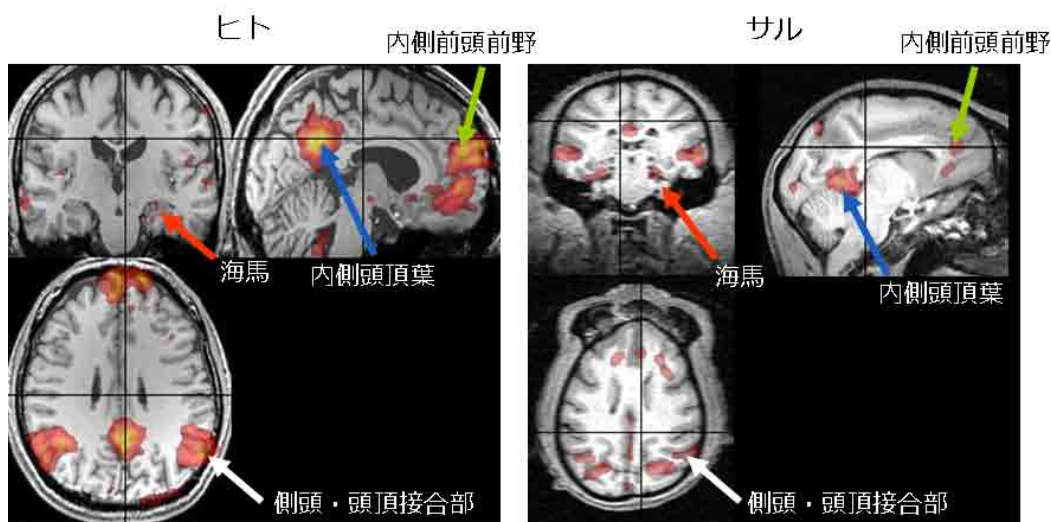


図1 Default-mode network (DMN)をサルにおいて同定した(右図)。ヒトにおける DMN(左図)との比較を示す。

DMN の機能をさらに解析するには、その活動を実験的に阻害し、それが認知機能に与える影響を調べるのが有用である。脳機能を実験的に阻害する手法として、従来は GABA 受容体のアゴニストなどによる薬理学的手法がよく用いられてきたが、この手法は神経回路特異性および時間的分解能の点で難があった。近年、チャネル・ロドプシンなどの機能分子を用いた遺伝学的手法が導入され、その高時間分解能および神経回路特異性によって、神経活動と認知機能の因果関係を解明する手法として期待されている。これを霊長類脳研究に適用するには、有効な遺伝子導入法が必要だが、現時点で有望かつ実用的なのはウイルスベクターによる遺伝子導入である。我々はアデノ随伴ウイルスベクター(AAV)によって、霊長類において高効率かつほぼ神経細胞特異的に遺伝子導入が得られることを明らかにした(図2)。

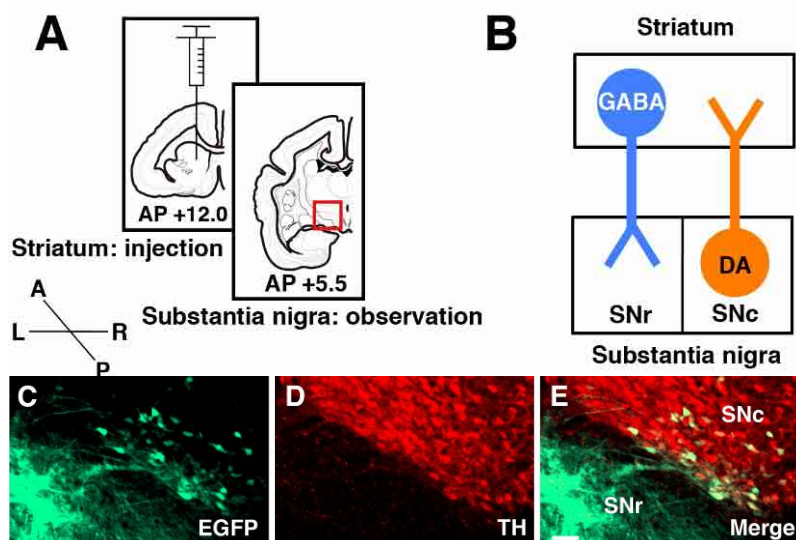


図2 A:EGFP 遺伝子を組み込んだ AAV をマーマセット線条体に注入し、黒質において共焦点顕微鏡により観察した。B: 線条体と黒質との神経回路連絡を簡略化して示す。C-D: EGFP の黒質網様部(SNr)、緻密部(SNc)における発現。C: EGFP 蛍光(緑)、D: ドーパミン作動性神経細胞のマーカであるチロシン水酸化酵素(TH)陽性細胞(赤)、E: それらの重ね合わせ(Merge)(黄)。SNr にみられる網状の EGFP 蛍光は、線条体から投射される GABA 作動性神経細胞の軸索終末である。一方 SNc にみられるドーパミン作動性神経細胞体の EGFP 蛍光は、

線条体に投射した軸索終末からの逆行性感染によるものである (Scale: 50  $\mu$  m)。

AAV は神経細胞体や樹状突起から順向性に感染するだけでなく、軸索終末より逆行性に感染した(図2)。例えばマーモセット線条体に EGFP 遺伝子を組み込んだ AAV を注入すると、注入局所の GABA 作動性神経細胞に感染し EGFP を発現するだけでなく、この領域に投射する黒質緻密部のドーパミン作動性神経細胞の軸索終末より逆行性に感染し、黒質緻密部にある細胞体に EGFP 蛍光が認められた。このような逆行性の感染を利用することによって、霊長類脳の特定期域に投射する神経細胞にチャンネル・ロドプシン等の機能分子を発現させ、神経回路レベルの解析を行うための手法となることが期待される。

## 5. 自己評価

マカクサルにおいて fMRI を行う実験系を新たに確立しなければならなかったのはやや時間をとられることとなったが、結果的には系を立ち上げることに成功した。この系を用いて、当初の目的どおり麻酔下マカクサルおよびマーモセットにおいて DMN の存在を示す証拠を得た。しかし覚醒下のサル fMRI によって課題遂行時と休止時の脳活動を比較するという、本来の定義に基づいた DMN の同定には至らず、従って DMN の活動を阻害したとき認知機能に与える影響を調べることは、研究期間内には達成できなかった。これらの結果は現在論文投稿準備中であるが、さらに本研究を今後も継続して発展させていく必要性を強く認識している。

また AAV による霊長類脳への遺伝子導入法を開発することに成功した。この方法による遺伝子導入は高効率かつほぼ神経細胞特異的である。この研究は開始当初の目標にはなかったものだが、短期間で有用な結果を得ることができ、in press の論文一報および準備中の論文一報となっている。

全体として見た場合、個人的にも、また認知神経科学全体の趨勢としても、研究の方向性を模索するような状況下にある。これは喜ばしくない状況であるかも知れないが、反面、次世代の認知神経科学へと飛躍を遂げるためには不可避なステップであるものと確信している。

## 6. 研究総括の見解

3テスラ MRI 装置を用い、独自の装置を作製し、マカクサルの脳解析の実験系を確立したことは評価できる。得られた時系列データに対して独立成分分析および相関解析を行い、DMN (default-mode network) と考えられる脳ネットワークが存在することを明らかにし、さらに小型霊長類マーモセットにおいても DMN が存在することを示したことで、今後、さらに、新たな局面が開かれることを期待する。

## 8. 主な論文等

### 【A. さきがけ個人研究者主導で得られた成果で主なもの】

#### ①論文

1. Masamizu Y., Okada T., Ishibashi H., Takeda S., Yuasa S. & **Nakahara K.** Efficient gene transfer into neurons in monkey brain by adeno-associated virus 8. *Neuroreport* in press (2010).

2. **Nakahara K.**, Adachi Y., Osada T. & Miyashita Y. Exploring the neural basis of cognition: multi-modal links between human fMRI and macaque neurophysiology *Trends in Cognitive Sciences* 11, 84-92 (2007).

### 【B. 本研究課題に関連した成果で主なもの】

#### ①論文

1. Matsui T., Koyano K. W., Koyama M., **Nakahara K.**, Takeda M., Ohashi Y., Naya Y. & Miyashita Y. MRI-based localization of electrophysiological recording sites within the cerebral cortex at single-voxel accuracy. *Nature Methods* 4, 161-168 (2007).

②著書

1. Kimura H. M., **Nakahara K.** & Miyashita Y. (2008) Visual Associative Memory. In: Squire L. R. (ed.) *Encyclopedia of Neuroscience*, volume **10**, pp. 233–242. Oxford: Academic Press.