

## 平成 27 年度 委託研究開発成果報告書【公開版】

## 1. 研究開発課題名と研究開発代表者名

事業名		革新的技術による脳機能ネットワークの全容解明プロジェクト
研究開発課題名		多角的神経回路・構造解析法によるマーモセットの脳機能解析
機関名		大学共同利用機関法人自然科学研究機構
研究開発 担当者	所属 役職	生理学研究所 教授
	氏名	南部 篤

## 2. 研究開発成果の内容

## ①マーモセットの導入

動物実験センター内、および研究部門内に設置されたマーモセット飼養保管装置で、引き続きマーモセットを飼育し、健康管理を行った。馴化・行動観察を行い、実験に適したマーモセットを選別し供給できた。

## ②マーモセット覚醒下実験方法の確立

高次脳機能を調べたり脳をマッピングする際に、覚醒下で神経活動を記録する方法が必須であるが、マーモセットでは確立されていない。一方、マカクサルでは確立された方法があることから、これらの方法を基に、マーモセットの神経活動を覚醒下で記録するための方法の改良を行った。具体的には、手術法の改良（ガス麻酔の導入・改良、手術用顕微鏡の導入、チェンバー・固定器具の小型化、骨接着レジンの利用）、マーモセットチェアーの改良（ステレオ装置+チェアー一体型か、独立型かの検討）、術後トラブルへの対応（特に脳浮腫への対応）などを行った。術後トラブルへの対応など不十分な点もあるが、ほぼマーモセット覚醒下実験方法は確立した。

## ③電気刺激などによる機能マッピング

マーモセット脳には脳溝などのランドマークが乏しく、領野の同定には機能マッピングが必須である。マーモセット覚醒下実験方法を応用し、電気刺激、神経活動記録などによる大脳皮質運動野を中心として機能マッピングを行った。覚醒下において頭部を無痛的に固定し、チェンバーを通してエルジロイ電極を大脳皮質内に刺入した。神経活動を記録し体の様々な部位を他動的に動かすことにより、体性感覚入力を同定した。また、電気刺激装置を用い記録電極から電気刺激を加え、誘発される運動を観察した。感覚応答の強度、皮質内微小刺激の閾値などにより、一次体性感覚野（3b 野、3a 野）、一次運動野（MI）、運動前野（PM）、補足運動野（SMA）などを、下肢、上肢、口腔・顔面領域などの体部位も含めて同定することができた。このように大脳皮質の運動野、感覚野を中心に機能マッピングを行った。

## ④大脳皮質間、大脳皮質・脳深部の神経結合の解析

大脳皮質間、大脳皮質・脳深部の神経結合を調べるために、マーモセット覚醒下実験方法を応用し大

脳皮質領野のうち、一次運動野、運動前野、補足運動野などを同定し、標識物質を注入した。MI, 3a野を中心にFluoro-emerald, Fluoro-rubyなどの神経標識物質の注入を行った。3a野の皮質間結合は、MIとは異なり体部位を越えているものが多いこと、3a野への視床の起始核はMIと共通していること、MIから線条体への投射は主に被殻に終わることなどが明らかになった。このように大脳皮質間、大脳皮質-脳深部の神経結合の解析が進んだ。

#### ⑤電気生理学的解析

マーモセット覚醒下実験方法を応用し、行動課題遂行中の大脳皮質運動野の神経活動の記録を行う計画であった。レバー引きタスクをマーモセットに訓練し行えるまでにはなったが、試行回数が少なく、運動関連活動の記録までには至っていない。

#### ⑥マーモセットに適したウイルスベクター開発

これまでげっ歯類用にウイルスベクターが開発されてきた。これまでの検討から、ベクターとしてはアデノ随伴ウイルス (AAV)、血清型は組み換えにより開発されたDJ、また遺伝子プロモータとしてはCAGが、マーモセットには適していると考えられた。実際、マーモセット覚醒下実験方法を応用しウイルスベクターをマーモセットのSMAに接種し、組織学的に検索することにより、線条体、視床などが標識されたことから、本ベクターがマーモセットに有用であることがわかった。また、プロモータ特異的に発現させることを目的に、AAV-SP-CreとAAV-FLEX-ChR2-EYFPをマウス線条体に注入したところ、直接路ニューロン特異的にChR2が発現していることがわかった。これらのことから、マーモセット実験に供することができるウイルスベクターを開発することができた。

#### ⑦プロジェクトの総合的推進

プロジェクト全体の連携を密としつつ円滑に運営していくため、運営会議や技術検討会の開催等、参画各機関の連携・調整にあたりとともに、革新的技術による脳機能ネットワークの全容解明プロジェクトに参画する各機関と積極的に連携・情報共有にあたった。また、PS、PO、PLとの連携を密にし、助言を仰ぎながらプロジェクト全体の進捗状況を確認しつつ計画の合理化を検討し、必要に応じて調査或いは外部有識者を招聘して意見を聞くなど、プロジェクトの推進に努めた。具体的には、大学共同利用機関法人自然科学研究機構に所属する研究グループ（伊佐G、吉田G、松崎G、郷G）と飼育法に関する情報交換、技術開発個別課題の公立大学法人福島県立医科大学の小林G、学校法人玉川学園玉川大学の磯村Gと実験研究の手法に関する定期的研究会、国立研究開発法人理化学研究所の山森Gとの共同研究検討などを行った。また大学共同利用機関法人自然科学研究機構の松崎Gとマーモセット講習会を、基礎生物学研究所、生理学研究所で、平成27年11月11日-12日に開催した。参加者は7名で、講習会を通じて活発な情報交換・意見交換を行い、交流を深めることができた。このようにプロジェクトの総合的推進に貢献した。