

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

## I. 基本情報

事業名：(日本語) 脳科学研究戦略推進プログラム

(英語) Strategic Research Program for Brain Sciences

研究開発課題名：(日本語) 化学遺伝学イメージング：神経路の可視化と操作による意思決定ネットワークの解明

(英語) Chemogenetic imaging: in vivo visualization of axonal DREADDs expression and control of network dynamics for decision-making

研究開発担当者 (日本語) 国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・放射線医学総合研究所  
脳機能イメージング研究部・チームリーダー 南本 敬史

所属 役職 氏名：(英語) National Institutes for Quantum and Radiological Science and Technology,  
National Institutes of Radiological Sciences, Department of Functional, Brain  
Imaging, Team Leader, Takafumi Minamimoto

実施期間：平成 28 年 11 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

## II. 成果の概要 (総括研究報告)

### 1. 意思決定システム関連機能の検証研究

DREADDs 発現神経細胞の投射部位に CNO を局所注入することでシナプス抑制を生じさせ、経路選択的な抑制が可能であることがマウスを対象とした研究により報告されている(Stachniak ら 2014)。私たちはサル尾状核吻内側部(rmCD)に抑制性 DREADD を発現させ、CNO の全身投与により報酬に基づく意思決定に障害が生じることを明らかにした(Nagai ら 2016)。この領域から腹側淡蒼球(VP)に DREADD を発現する軸索終末が存在していることを突き止めている(unpublished data)。私たちはこの系を用い、サルにおける、DREADD シナプス抑制の有効性を行動と神経情報表現を指標とした検証を行う。H28 年度は、報酬量の予測に基づく意思決定課題(Minamimoto ら 2009)を遂行中のアカゲザル(N=2)の rmCD と VP から、それぞれ 107 個と 105 個の単一ニューロン活動を記録した。そのうち、39 個と 63 個のニューロンが、報酬量の手がかり視覚刺激を提示した後に一過性に活動を変化させ報酬量の違いを表現することが分かった。手がかり刺激に対する活動変

化は VP のニューロン群が rmCD のニューロン群に対し有意に先行することが分かった。H29 年度はこの神経情報表現と行動を指標としたシナプス抑制の有効性を評価する予定である。

## 2. 非侵襲神経投射マッピング技術の開発

非侵襲神経投射マッピング技術の開発にむけ、DREADD により親和性の高い PET リガンドを開発することを目指す。H28 年度は、新規 PET トレーサー候補化合物として Clozapine 基本骨格に基づいた分子骨格 (scaffold) を 5 種類設計し、それぞれに 80 個の部分骨格分子を組み合わせることで 400 種類のライブラリーを作成した。その 400 個のライブラリーから 103 個について試験合成を実施した結果、当化合物ライブラリーの構築が可能であることを確認した。

## 3. DREADD 操作ネットワークイメージング法の開発

神経活動の局所的な操作が大域ネットワークの作動にどのような変容をもたらすかを明らかにするため、DREADD と脳機能イメージングを融合した手法を開発する。H28 年度は、麻酔下マカクザルにおける DREADD による局所脳活動操作の影響を、感覚刺激に対する局所脳活動の変容として fMRI により計測する実験系を確立した。片足への体性感覚刺激によって有意に賦活される対側の第一次体性感覚野 (SI) 領域として SI 足領域を機能的に導出し、この領域に抑制性 DREADD (hM4Di) をウイルスベクター法により導入した。このサルに CNO を静脈投与し、体性感覚刺激に対する賦活を fMRI により調べた結果、この SI 足領域の賦活が有意かつ特異的に減弱し、同側の SI 手領域や対側の SI 足領域等の対照領域の活動には変化がないことを確認した。

また、特定脳領域に興奮性 DREADD を発現させたマカクザルを対象とした脳機能イメージングを行い、CNO 投与による脳活動の変化を評価した。ウイルスベクター法により片側の扁桃体に興奮性 DREADD (hM3Dq) を発現させた後、CNO を静脈投与し、FDG-PET 法を用いて神経活動の指標となるグルコース代謝量を計測した。その結果、hM3Dq を発現させた片側脳半球の扁桃体におけるグルコース代謝量が、対照領域である対側の扁桃体と比較して有意に上昇することを確認した。このことから、興奮性 DREADD の作用による局所的な神経活動の亢進が、脳機能イメージングによって評価可能であると考えられる。

## 1. Application of chemogenetic-imaging for investigation of decision-related system

It has been reported by a study that pathway-selective suppression is inducible by synaptic inhibition caused by locally infused CNO at the synaptic terminal of hM4Di-DREADD-expressing neurons (Stachniak et al., 2014). We demonstrated that systemic administration of CNO disrupts reward-based decision making in monkeys expressing hM4Di in bilateral rostromedial caudate (rmCD) (Nagai et al. Nat Commun 2016). We also identified hM4Di expressing axon terminals in the ventral pallidum (VP). We will verify the effectiveness of synaptic silencing with these monkeys by asking whether behavior and neural representation are altered. In FY2016, we started neuronal recordings from rhesus monkeys (N = 2), while they performed the decision-making task based on expected reward-size (Minamimoto et al., 2009). We observed value-coding neurons in both rmCD (39/107) and VP (63/105) that transiently encoded the expected reward size, following the reward-size cue presentation. At the population level, VP neurons exhibited significant value coding earlier after cue presentation (140 ms) than rmCD neurons (230 ms,  $P < 0.01$ ). In FY2017, we are going to verify the effectiveness of synaptic silencing.

## 2. Development of technology for non-invasive neuronal projection mapping

For development of noninvasive neural projection mapping technology, we will explore a new PET ligand with high affinity for DREADDs. In FY2016, we designed a compound library, which contains 400 candidate compounds with five types of molecular scaffolds derived from clozapine (80 compounds for each scaffold). It is considered to be feasible to generate this compound library, because selected 103 compounds were successfully synthesized. We will make screening using some of these compounds in FY2017.

## 3. Visualizing large-scale network effect of DREADD-induced local neuronal manipulation

We attempt to elucidate the network effect of local neuronal manipulation by combining DREADD with functional neuroimaging in macaques. In FY2016, we developed an experimental protocol for concurrent DREADD-fMRI to examine the effect of DREADD manipulation on the sensory-evoked neuronal activity. First, the sole region in the primary somatosensory cortex (SI) was identified using fMRI under the tactile stimulation on the sole of an anaesthetized macaque. We then injected an adeno-associated virus (AAV) vector expressing inhibitory DREADD (hM4Di) into the identified SI sole region. Systemic administration of CNO during fMRI with tactile stimulation induced significant decrease in the sensory-evoked BOLD signal at the virus-injected SI sole region, while it did not affect the activity in the control regions—the hand region of the virus-injected hemisphere or the sole region of the opposite intact hemisphere.

In order to assess the physiological function of excitatory DREADD, we also conducted FDG-PET with a monkey that received an AAV vector expressing excitatory DREADD (hM3Dq) into the amygdala unilaterally. Systemic administration of CNO led to significant increase in the glucose metabolism at the putative hM3Dq expression site as compared with the corresponding contralateral region, indicating that the functional neuroimaging enables us to assess increased local neuronal activity driven by the excitatory DREADD.

### III. 成果の外部への発表

#### (1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0件、国際誌 1件）

1. Nagai Y, Kikuchi E, Lerchner W, Inoue Ki, Ji B, Eldridge MA, Kaneko H, Kimura Y, Oh-Nishi A, Hori Y, Kato Y, Hirabayashi T, Fujimoto A, Kumata K, Zhang MR, Aoki I, Suhara T, Higuchi M, Takada M, Richmond BJ, Minamimoto T. PET imaging-guided chemogenetic silencing reveals a critical role of primate rostromedial caudate in reward evaluation. Nat Commun. 2016, 7:13605.

#### (2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Cortical microcircuit and large-scale network for visual object memory in primates, 口頭, Toshiyuki Hirabayashi, Symposium in 94th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan “Multidisciplinary experimental approaches for elucidating neural mechanisms of consciousness”, 2017/3/29, Hamamatsu, 国内.

2. 化学遺伝学と機能イメージングの融合によるマカクザルにおける大域ネットワーク変容機序の解明, 口頭, 平林 敏行, 京都大学 霊長類研究所 共同利用研究会, 京都大学 霊長類研究所, 2017/3/18, 国内.
3. 化学遺伝学イメージングによるサル脳科学研究の展開, 口頭, 南本敬史, 平成 28 年度京都大学 霊長類研究所共同利用研究会, 2017/03/18, 国内.
4. Multimodal approaches for cortical microcircuit and large-scale network of visual memory functions in primates, 口頭, Toshiyuki Hirabayashi, NIPS International workshop 2016 "Toward elucidation of memory engram", NIPS, 2016/12/6, 国内.
5. PET imaging-guided chemogenetic manipulation of primate neural circuits, 口頭, Takafumi Minamimoto, NHP Chemogenetics workshop, 2016/12/01, 国外.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

(4) 特許出願