

## 【助成 39-44】

### 神経サーキット特異的光操作による精神疾患への新たなアプローチ

代表研究者 福島県立医科大学 医学部 システム神経科学講座 助教 中園智晶

#### 〔研究の概要〕

光刺激を用いて神経細胞の活動を操作する光遺伝学(オプトジェネティクス)は、時間分解能の高さという工学的利点と、特定の細胞のみを制御する遺伝学的利点を併せ持ち、脳内の神経ネットワークレベルの活動を制御する技術である。この技術を用いて精神疾患の新しい治療の可能性を探る試みが国外では既に始まっており、統合失調症に対しても有効なアプローチだと考えられる。本研究では、オプトジェネティクスを用いることによって、特定の神経回路のみを狙って操作することにより精神疾患の行動異常(社会行動の低下など)が再現できるかどうか試み、神経ネットワーク活動異常と精神疾患との間に存在している因果関係を明らかにすることを目指した。

#### 〔研究経過および成果〕

本研究ではまず「統合失調症・陰性症状に関連するとされる神経サーキットを光刺激することで、陰性症状において見られる行動異常が誘発されるか」について予備実験を実施し(実験 1)、その結果を受けて「陰性症状を引き起こすとされる薬物・フェンサイクリジンは前頭皮質神経細胞タイプごとにどのような影響を及ぼすか」について検討を行った(実験 2)。

〔実験 1〕 陰性症状を引き起こすとされる薬物・フェンサイクリジンの投与は、まず腹側海馬の錐体細胞の異常活動を引き起こし、その活動がさらに前頭皮質神経細胞の異常活動を誘発するが、この神経サーキット活動の異常が陰性症状の原因の一つではないかと考えられている(Jodo et al., 2005)。

この仮説に基づき、まずはラット前頭皮質の錐体細胞にチャンネルロドプシン 2(ChR2)をウイルスベクターの両側への注入によって発現させ、脳内に刺入した光ファイバーによって青色光で継続的に刺激した。こ

の手続きにおいてはフェンサイクリジン慢性投与による統合失調症モデルラット作成の手順を参考に、5 msec の光刺激を 10Hz のリズムで、自由行動下のラットに対して光ファイバーを通して一時間/日のように呈示した。刺激は 15 日間にわたって実施した。

行動への影響の指標として、オープンフィールドにおいて新奇個体へのアプローチの頻度を指標とする社会性テストを刺激の前後で実施し、比較した。社会性テストは新奇個体をケージに拘束した条件と実験個体・新奇個体とともに自由行動下で接触させた 2 条件で検討した。

予備実験として 2 個体を使用し、一頭(実験個体)には ChR2 および GFP を発現するウイルスベクターを、もう一頭(コントロール個体)には ChR2 は発現せず GFP のみを発現するウイルスベクターを注入した。この手続は二重盲検法にて実施した。

結果として実験個体では自由行動下での社会性テストの値(新奇個体にアプローチした時間)は刺激前の 265.37%と増加し、拘束条件での値は 95.54%とほぼ

変化がなかった。一方でコントロール個体では自由行動下の値は 70.91%と減少を示し、拘束条件では 158.42%と増加した。

社会性テストは個体差が大きく、今回の 1 ペアのみで結論を導くことはできない。しかしながら前頭皮質の錐体細胞をターゲットとして刺激した場合は統合失調症の陽性症状ないし多動症のような傾向を示す可能性が示唆された。これは前頭皮質の神経細胞の中でも腹側海馬との特定のサーキットを形成しているものが陰性症状の発症に寄与している可能性を示唆する。

[実験 2] 実験 1 から、前頭皮質の錐体細胞を無作為に刺激するだけでは陰性症状に似た行動異常を引き起こすフェンサイクリジンの作用を再現できないことが示唆された。当初の仮説のように腹側海馬-前頭皮質サーキットを特異的に刺激することが重要であると考えられるが、まずフェンサイクリジンが前頭皮質内のサーキットにどのような影響を及ぼしているのか再検討する必要があると考えられた。フェンサイクリジンが前頭皮質神経細胞に及ぼす影響を検討した先行研究では単一細胞記録法を用いていたためネットワークとしてのダイナミクスを検討できなかった。そのため今回は、同時に大量の神経細胞の活動を記録できる多細胞同時記録法を用い検討した。発火パターンによって神経細胞のタイプを識別できると考えられるが (Trainito et al., 2019)、今回はより正確な識別を目指して錐体細胞のみを対象として ChR2 を発現させ、光応答を示した細胞を錐体細胞とみなすオプトタグ法 (Kvitsiani et al., 2013) を用いた。

本実験はラット 8 頭を用いて実施中である。解析に十分なデータを記録した後に、先行研究 (Trainito et

al., 2019) に従い、発火パターンの Trough-to-peak 期間および再分極時間をパラメータとしてガウス混合モデルによるクラスタリングを行う。その結果とオプトタグ法による識別のデータを組み合わせることで、より正確に細胞タイプを同定しながらフェンサイクリジンの影響を検討しうると考えられる。予備データを図 1 に示す。この神経細胞は光応答を示すことから錐体細胞と考えられるが (図 1B)、フェンサイクリジンの投与に対して発火率の上昇を示さなかった (図 1C)。この結果は前頭皮質の錐体細胞への影響が一律でないことを示唆し、このような感受性の多様さが実験 1 で見られたような仮説と異なる結果の原因とも考えられる。今後は錐体細胞だけでなく抑制性神経細胞のタイプも考察しながらフェンサイクリジンの影響を明らかにし、実験 1 の刺激実験にて再度仮説を検証してゆく。

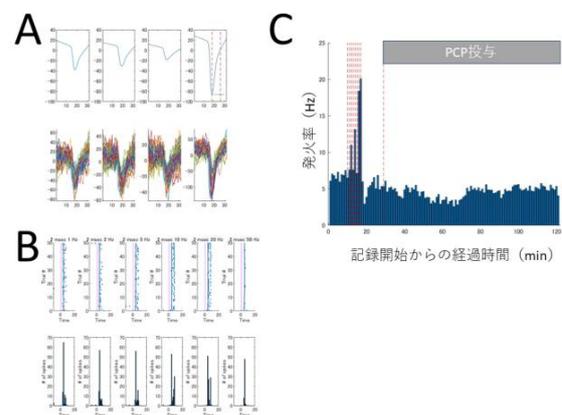


図 1. 光応答を示した前頭皮質錐体細胞の発火パターン。A: 多点電極から記録された神経細胞の波形。B: 光刺激に対する応答のラスタプロットとヒストグラム。C: 麻酔下においてフェンサイクリジンを投与した際の発火率の変化。