



東北大学



平成 22 年 9 月 24 日

東北大学脳科学グローバル COE
東北大学大学院生命科学研究科
東北大学大学院医学系研究科

緑色光で脳神経細胞を目覚めさせる技術の開発

(光による脳情報入力システムの実用化へ向けて)

東北大学大学院生命科学研究科の八尾寛教授らの研究グループは、緑藻類の光感受性イオンチャネル（チャネルロドプシン：ChR）^{*1}の構造-機能連関を解明し、緑色光に対して高い感受性を持ち光電効率の高い改変型チャネルロドプシン、チャネルロドプシン・グリーンレシーバー（ChRGR）を世界に先駆けて作り出しました。遺伝子工学的に、ChRGR をマウス大脳皮質運動野の神経細胞に組み込み、正弦波状に振動する緑色 LED 光を周波数が連続的に変調するように照射したところ、神経細胞が 3-10 Hz の光振動に同調して活動しました。さらに麻酔下の動物の大脳皮質運動野に同様の光振動を与えたところ、大脳皮質のネットワークが高い活動レベルに状態遷移することを見出しました。ChRGR と緑色 LED の時空間パターン光入力の組み合わせにより、従来の電気刺激に代わる脳を直接駆動する新しい技術になると期待されます（オプト・カレントクランプ法）。この研究成果は、医学を含む科学分野全般に高く評価されている米国のオンライン学術誌 Public Library of Science (PLoS) ONE に 9 月 23 日（米国東部時間）に掲載されました。

今回の発表のポイント

- ・脳の働きを調べる研究は数多く、ある行為を行っているときに、どの細胞が働いている、といった研究は多いが、外から働きかけて、脳の特定の細胞に対して、働かせる、といった研究（電極を入れて刺激する方法など）は多くはありませんでした。
- ・今回、緑色の光によって、脳の細胞に働きかける新しい方法を開発しました。これまで、青色の光で行う方法がありましたが、青色の光は、脳の組織に吸収されてしまうために、なかなか遠くまで届かないという、大きな欠点がありました。また、これまでも緑色の光を用いる方法もありましたが、光に対する応答が小さい、という欠点がありました。
- ・今回の新しい方法は、これまでの光刺激法に比べ、光に対する感度と精度を飛躍的に向上させることができました。今回の手法の開発により、特定の部位の特定の細胞を駆動するなど、脳の活動を研究する方法が大きく広がると共に、将来には治療などへの応用も考えられます。

【研究内容】

ChR を脳のニューロン（神経細胞）に発現させることにより、ニューロンを光で操作することができます。この技術は、オプトジェネティクスとよばれています。従来のオプトジェネティクスには、野生型の ChR2 がおもに用いられてきましたが、青色光にのみ応答するという限界がありました。青色光は、脳などの組織に強く吸収されるので、組織中の神経細胞に光が到達しにくいという欠点がありました。これに対して、ChR1 は、より組織を透過しやすい緑色光に対する感受性が高い、脱感作しにくい、応答速度が大きいなどの点において ChR2 に比べ優れていますが、光に対する応答（光電流応答）が小さいという欠点がありまし

た。

研究チームは、ChR1 と ChR2 の構造と機能を比較し、第6膜貫通ヘリックスに光電流サイズを制御している構造があること、および、第7膜貫通ヘリックスの一部に吸収波長特性を制御している構造があることを、今回の研究で解明しました。そこで、ChR1 の第6膜貫通ヘリックスを ChR2 の相同の構造で置き換えたキメラタンパク質を設計しました。その結果、ChR1 の優れた特性を残しながら光電流応答の増大したチャンネルロドプシンとして、ChRGR を創り出しました (図1)。ChRGR は、緑色光に反応して大きな光電流応答が得られる、脱感作が小さい、応答速度が大きいなどの点において、オプトジェネティクスに最適化されていました。そこで研究チームは、ChRGR 遺伝子を組込んだシンドビスウィルスベクター^{*2}を作成し、マウス大脳皮質運動野ニューロンに感染させました。ついで、緑色 LED を用いて、0.1-100 Hz の周波数を連続的に変化させながら振動する照射光パターン (RSSL^{*3}) を作成し、麻酔したマウスの脳表面に照射しました。連続ウェーブレット解析^{*4}により、運動野の局所フィールド電位(LFP)^{*5}の 3-10 Hz の周波数成分が増大したことが示されましたが、光入力に同期しない活動も認められました (図2)。照射実験後に、前初期遺伝子^{*6}産物のひとつ c-Fos 発現を免疫組織化学的に検証したところ、ChRGR を発現していないニューロンにおいても、c-Fos の高発現が認められました。すなわち、緑色 LED 光で駆動された少数のニューロンの活動が再帰性ネットワークの創発的な活動レベルを亢進させたことが示唆されます。

本研究成果により、光を用いて脳神経細胞を駆動する技術の精度が飛躍的に向上しました。また、この技術の応用範囲が拡大しました。今後の研究の発展により、目的とする脳神経細胞を、選択的に、その固有の発火パターンで駆動させることで、効率よく外部から信号を入力したり、副作用を少なく脳機能を補完したりする可能性が考えられます。

本研究は、東北大学脳科学グローバル COE、東北大学大学院生命科学研究科、医学系研究科、創生医学応用センター脳神経科学コアセンターとの共同で行われました。また、本研究は、以下の研究事業の成果の一部として得られました。

- 文部科学省脳科学研究戦略推進プログラム「光を用いた脳への情報入力を可能にするフォトバイオ・オプト・エレクトロ BMI システムの構築とその定量的評価」研究代表者：八尾寛 (東北大学生命科学研究科 教授)
- 文部科学省科学研究費補助金特定領域研究「緑藻類ロドプシンの光受容-チャンネル連関モダリティシフトの分子生理学的研究」研究代表者：八尾寛 (東北大学大学院生命科学研究科 教授)
- 科学技術振興機構(JST)戦略的創造研究推進事業(CREST)「脳神経回路の形成・動作原理の解明と制御技術の創出」研究領域：「中枢神経系局所回路の状態遷移としての動的情報変換の解明」研究代表者：虫明元 (東北大学大学院医学系研究科 教授)
- 科学技術振興機構(JST)戦略的創造研究推進事業(CREST)「プロセスインテグレーションによる機能発現ナノシステムの創製」研究領域：「光神経電子集積回路開発と機能解析・応用」研究代表者：宇理須恒雄 (自然科学研究機構分子科学研究所 教授)

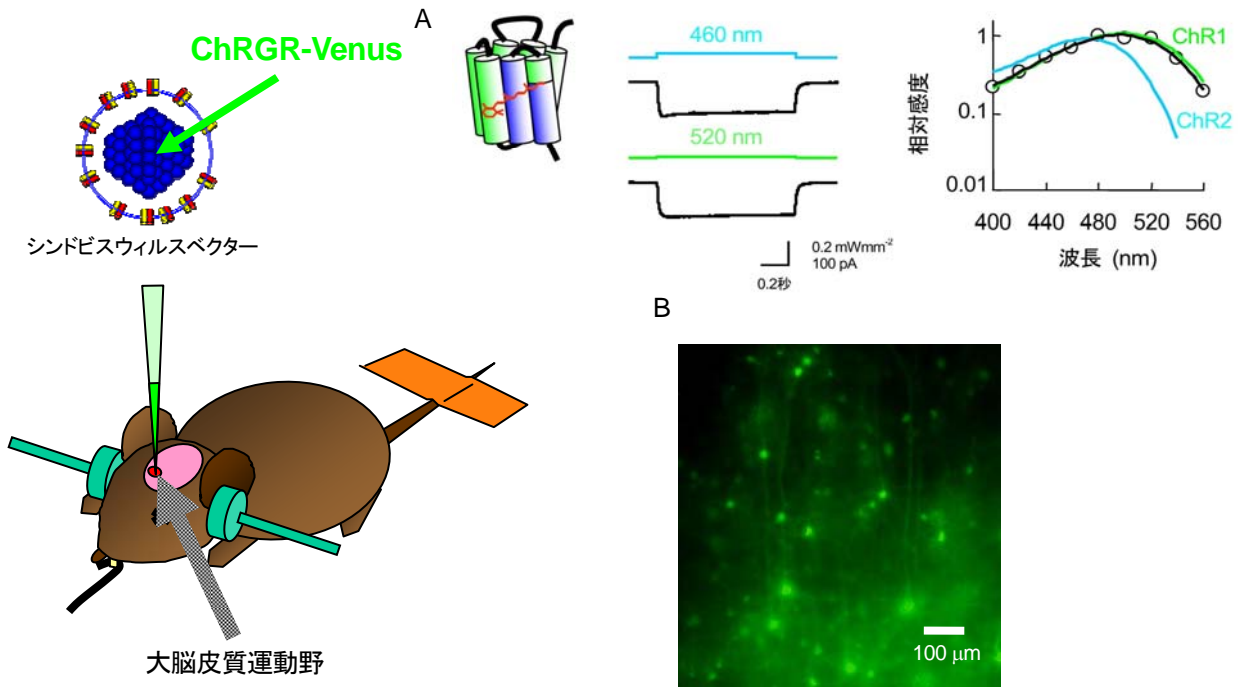


図 1 A. チャンネルロドプシン・グリーンレシーバー(ChRGR)のデザイン。第1から第5膜貫通ヘリックスが ChR1、第6膜貫通ヘリックスが ChR2、第7膜貫通ヘリックスの前半が ChR1、残り C-末までが ChR2 に由来する。青色光(460 nm)の光電流応答と緑色光(520 nm)の光電流応答がほぼ等しい。ChRGR の作用スペクトルは ChR1 とほぼ同じで、ChR2 に比べ赤方偏移している。B. ChRGR を発現した L5 錐体細胞が Venus の蛍光で確認できる。

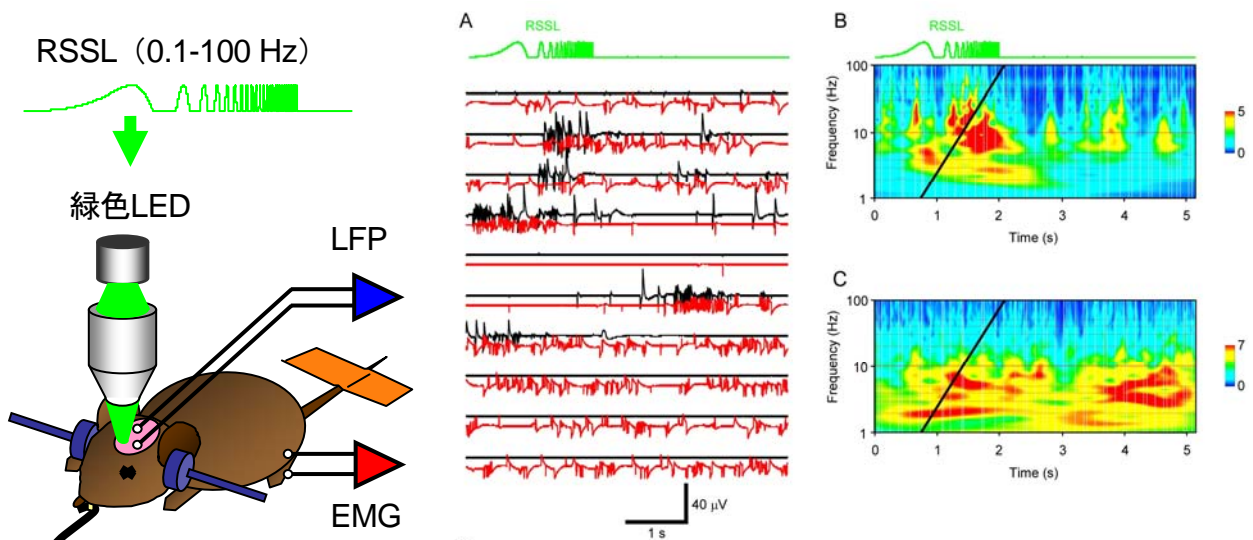


図 2 緑色 LED により作製した RSSL により誘発される LFP 応答 (黒) および EMG 応答 (赤)。A: ChRGR 導入皮質への RSSL 照射。B: RSSL により誘発される LFP 応答の連続ウェーブレット解析。C: RSSL により誘発される EMG 応答の連続ウェーブレット解析。

【用語説明】

※1 チャンネルロドプシン

チャンネルロドプシンは、単細胞緑藻類の一種クラミドモナスにおいて、走光性や光驚動性に関与している分子として最初に報告された。7回膜貫通ヘリックス構造を有する古細菌型ロドプシンファミリータンパク質に、ビタミン A 誘導体のレチナルが結合した構造を有している。類似の構造を持つ光受容タンパク質が自然界に広く存在している。

※2 シンドビスウィルスベクター

トガウイルス科アルファウイルス属の RNA ウイルスである、シンドビスウイルスを自立増殖欠損型に改変

したもの。ベクターとは、遺伝子を組込む際に用いられる入れ物の意。神経細胞に対する感染効率が高く、またタンパク質の発現効率が非常に高い。

※3 RSSL

Rectified sinusoidal sweep of light の略。周波数が連続的に変化する正弦波に従い強度が変動する光。ただし、負の強度を0とする。本研究では、0.1-100 Hz の周波数を連続的に変化させながら振動する照射光パターンを作成した。RSSLは、ニューロンの入力周波数応答特性を研究するのに有効である。

※4 連続ウェーブレット解析

信号に含まれる周波数成分を逐次的に検出する方法のひとつ。

※5 局所フィールド電位(LFP)

大脳皮質など層構造を有する神経回路では、ニューロンの活動の総和を電場の変動として計測ことができる。これを局所フィールド電位 (local field potential, LFP) という。

※6 前初期遺伝子

Immediate early gene (IEG)、即時型遺伝子、最初期遺伝子とも言う。頻回発火したニューロンにおいて、Ca²⁺流入依存的に Arc, c-Fos, Zif268 などの IEG 関連タンパク質の発現が増大するので、活動しているニューロンを検出する目的に用いられる。

【論文題目】

Opto-current-clamp Actuation of Cortical Neurons using a Strategically Designed Channelrhodopsin (PLoS ONE)

「戦略的にデザインされたチャネルロドプシンを用いた大脳皮質ニューロンのオプト・カレントクランプ駆動」

(お問い合わせ先)

東北大学大学院生命科学研究科脳機能解析分野

教授 八尾 寛 (やお ひろむ)

電話番号： 022-217-6208

Eメール： yawo-hiromu@m.tohoku.ac.jp

(報道担当)

東北大学脳科学グローバル COE

広報担当

長神 風二 (ながみ ふうじ)

電話番号： 022-717-7908

ファックス： 022-717-7923

Eメール： f.nagami@med.tohoku.ac.jp