

日米科学技術協力事業「脳研究」分野
グループ共同研究実施報告書（平成24年度～平成26年度）

[研究分野：③]

1. グループ共同研究代表者

所属機関・職名・氏名 名古屋大学環境医学研究所・教授・山中章弘

2. 研究課題名

機能的コネクトームによる本能行動制御に関わる神経機構の解明

3. 日本側グループ組織（代表者及び分担者の所属・職・氏名）

代表者 名古屋大学 環境医学研究所・教授・山中章弘

分担者 慶応義塾大学医学部 精神医学・准教授・田中謙二
名古屋大学 環境医学研究所・研究員・常松友美
総合研究大学院大学・大学院生・田淵紗和子
名古屋大学 環境医学研究所・研究員・犬束歩
名古屋大学 医学系研究科・大学院生・櫻本新

4. 米国側グループ組織（代表者及び分担者の所属・職・氏名）

代表者 Department of Biological Engineering, Massachusetts Institute of Technology,
Associate Professor Edward S. Boyden

分担者 Biosciences division, Stanford Research Institute International,
Director, Thomas S. Kilduff,

Department of Psychiatry and Pharmacology, Columbia University,
Assistant Professor, Nao Chuhma

5. 研究期間 平成24年4月1日～平成27年3月31日

6. 研究の概要、成果及び意義（1000字）

光遺伝学は、特定の波長の光を用いて細胞機能を操作する技術である。これまでに多くの神経細胞に適用されてきたが、長時間持続的に操作することは難しかった。本研究では、光遺伝学を用いた長時間の神経活動操作に適した新しい分子の開発と、それを発現する遺伝子改変マウスの開発を行い、本能行動を調節する神経回路に適用することで、それを調節する神経回路の同定とその動作原理の解明を目指すことを目的としている。米側グループである Boyden 博士は光遺伝学に応用可能な新しい分子の同定を行っており、ハロドプシンよりも強力に神経活動を抑制可能な ArchT を同定している。共同研究により ArchT を特定の神経細胞に発現する遺伝子改変マウスを作成した。ArchT の発現制御は日本側グループが独自に開発した KENGE-Tet システムを用いた (TetO ArchT mice)。SRI International の Kilduff 博士との共同研究により作成したオレキシン神経特異的に tTA を発現する Orexin-tTA マウスと交配させ、オレキシン神経特異的に ArchT を発現させた。組織化学的解析によって、オレキシン神経特異的に ArchT が発現していることを確認し、スライスパッチクランプを用いた電気生理学的解析によって ArchT 発現細胞では、緑色光照射によって、10 分以上持続的に活動電位の発生を抑制できることを確認した。次にインビボにおいてオレキシン神経を長時間抑制したときの睡眠覚醒状態変化について検討した。光ファイバーを視床下部両側に刺入し留置固定した。脳波筋電図測定から睡眠覚醒状態を判定した。夜間の活動期において1時間の光照射によってオレキシン神経活動抑制を行う

と、オレキシン神経において c-Fos の発現が著明に抑制されたことから長時間の持続的な抑制が達成されていることを確認した。この時、通常は覚醒が持続している時間帯であるが、頻繁に睡眠と覚醒が入れ替わる断片化が生じていることが確認出来た。この症状はオレキシン神経が脱落したナルコレプシーの症状によく似ており、神経活動の長時間抑制によってこれを再現できたと考えられた。同マウスを Chuma 博士にも送っており、機能的コネクトームを用いた共同研究を継続している。また、Kilduff 博士は平成 27 年度からの NIH 側の US-Japan Brain Research に採択され、共同研究が継続している。

7. その他（実施上の問題点、特記事項等）

平成 25 年度予算の国会での審議と承認の遅れによって、本事業の実施時期が 6 月以降となった。そのため、同年度 4 月-5 月に計画していたグループ共同研究を大幅に変更することになった。このような事態への対応策があるとより計画が立てやすくなる。

◎ 参考資料があれば、添付ください。

本プログラムの研究業績

- ◎ Tsunematsu T, Ueno T, Tabuchi S, Inutsuka A, Tanaka KF, Hasuwa H, Kilduff TS, Terao A, Yamanaka A (2014) Optogenetic manipulation of activity and temporally controlled cell-specific ablation reveal a role for MCH neurons in sleep/wake regulation. **J Neurosci** 34:6896-6909.
- ◎ Beppu K, Sasaki T, Tanaka KF, Yamanaka A, Fukazawa Y, Shigemoto R, Matsui K (2014) Optogenetic countering of glial acidosis suppresses glial glutamate release and ischemic brain damage. **Neuron** 81:314-320.
- ◎ Black SW, Morairty SR, Chen TM, Leung AK, Wisor JP, Yamanaka A, Kilduff TS (2014) GABAB agonism promotes sleep and reduces cataplexy in murine narcolepsy. **J Neurosci** 34:6485-6494.
- ◎ Tabuchi S, Tsunematsu T, Black SW, Tominaga M, Maruyama M, Takagi K, Minokoshi Y, Sakurai T, Kilduff TS, Yamanaka A (2014) Conditional ablation of orexin/hypocretin neurons: a new mouse model for the study of narcolepsy and orexin system function. **J Neurosci** 34:6495-6509.
- ◎ Tabuchi S, Tsunematsu T, Kilduff TS, Sugio S, Xu M, Tanaka KF, Takahashi S, Tominaga M, Yamanaka A (2013) Influence of inhibitory serotonergic inputs to orexin/hypocretin neurons on the diurnal rhythm of sleep and wakefulness. **Sleep** 36:1391-1404.
- ◎ Tsunematsu T, Tabuchi S, Tanaka KF, Boyden ES, Tominaga M, Yamanaka A (2013) Long-lasting silencing of orexin/hypocretin neurons using archaerhodopsin induces slow-wave sleep in mice. **Behav Brain Res** 255:64-74.
- ◎ Tanaka KF, Matsui K, Sasaki T, Sano H, Sugio S, Fan K, Hen R, Nakai J, Yanagawa Y, Hasuwa H, Okabe M, Deisseroth K, Ikenaka K, Yamanaka A (2012) Expanding the repertoire of optogenetically targeted cells with an enhanced gene expression system. **Cell Rep** 2:397-406.