

第3回 分子イメージング研究センターシンポジウム

脳科学における分子イメージングの将来像

基礎と臨床を繋ぐ橋渡し(トランスレーショナル)研究での分子イメージングの役割

創薬

Drug Development

医学

Medicine

脳科学

Neuroscience

TR

Translational Research

BMI

Brain Machine Interface

大林 茂 編



はじめに

21世紀は「脳の世紀」といわれ、「脳」の知識は格段に進歩しました。その中でも霊長類を用いた我が国の脳科学研究は常に世界を先導してきました。脳卒中やうつ病、アルツハイマー病や統合失調症や発達障害などの「心の病」も、ヒトたらしめる高次な脳機能の障害であることが明らかになりその根本治療が期待されています。現在基礎脳研究の成果を臨床応用に繋ぐ橋渡し（トランスレーショナル）研究が強く求められており、国民の関心や期待も高まっています。脳機能や疾患病態に重要な役割を果たす分子の挙動を生体内で可視化できる分子イメージング技術は疾患の早期発見・診断、治療モニタリングに極めて有用であることから、その技術は脳の臨床研究において欠かせないだけでなく活用範囲の広さに無類の可能性を有しています。また基礎研究の領域においても分子生物学の成果を、ヒトに応用可能な方法で評価できる分子イメージング技術は、計測装置の進歩と共にその重要性を増してきています。

第3回シンポジウムは平成21年1月22日（木）に開催されました。脳科学、中枢神経系疾患、腫瘍、移植における分子イメージングの応用例を示すと共に、外部遺伝子導入や霊長類遺伝子改変など新しい革新技术の進歩を示すことによって分子イメージング技術が基礎研究、特に霊長類を用いた研究にも重要な技術であることをご理解いただく目的で企画致しました。今回は「霊長類」と「脳科学」というこれまでのシンポジウムとは視点を変えたテーマ設定と悪天候にもかかわらず総勢167名（うち所外77名）ご参加いただき、高い評価（満足度87%）を得ました。

最後に、本シンポジウムにご協力下さった、あるいは参加されたすべての方々に心より謝意を表します。

平成21年3月

第3回分子イメージング研究センターシンポジウム実行委員会
実行委員長 大林 茂

臨床応用：病気の克服へ



浜ホト・塚田

創薬
前臨床研究

生理研・伊佐

医療・リハビリテーション
脊損からの機能回復

モデル評価
認知機能・発達・精神疾患

大林

革新技术とモデル
ベクター遺伝子導入

都神研・高田



霊長類

革新技术とモデル
マーマセツト
遺伝子操作

実中研・佐々木

認知の進化
サルからヒトへ

理研・入来

意欲
ヤル気
南本

基礎と臨床を繋ぐ研究



in vivo PET

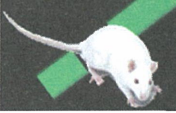
腫瘍・移植
辻

革新技术
次世代型PETカメラ

山谷

機能成熟
血液脳関門
分子プローブ開発

張



動物倫理
北大・鍵山

(敬称略)



目 次

□ はじめに	独立行政法人 放射線医学総合研究所 大林 茂	
□ 高次脳機能と疾患モデル		
□ 脳発達、認知機能と精神神経疾患モデル		
	独立行政法人 放射線医学総合研究所 大林 茂	…………… 1
□ 「やる気」の脳内メカニズム		
	独立行政法人 放射線医学総合研究所 南本 敬史	…………… 4
□ 霊長類の新たな活用		
□ [¹¹ C]オセルタミビル及びその代謝活性体 [¹¹ C]Ro 64-0802 の合成、体内動態と代謝		
	独立行政法人 放射線医学総合研究所 張 明栄	…………… 8
□ 腫瘍研究上の有用性		
	独立行政法人 放射線医学総合研究所 辻 厚至	……………11
□ 脳科学における次世代のPET装置開発		
	独立行政法人 放射線医学総合研究所 山谷 泰賀	……………13
□ 脳科学と分子イメージング		
□ 霊長類高次認知機能の進化を可視化する		
	独立行政法人 理化学研究所 入来 篤史	……………15
□ 脳・脊髄損傷後の機能回復過程の可視化		
	自然科学研究機構 生理学研究所 伊佐 正	……………18
□ PETを用いた分子イメージング法による前臨床研究		
	浜松ホトニクス株式会社 塚田 秀夫	……………24
□ 霊長類革新的モデル創出に向けて		
□ ウイルスベクターを用いた霊長類脳への遺伝子導入：遺伝子治療研究への応用		
	財団法人 東京都医学研究機構 東京都神経科学総合研究所 高田 昌彦	……………27
□ 新しい遺伝子操作技術による疾患モデルの可能性		
	財団法人 実験動物中央研究所 佐々木 えりか	……………31
□ 動物実験は社会的理解のうえに成り立つ		
	北海道大学大学院 鍵山 直子	……………37

「脳発達、認知機能と精神神経疾患モデル」

-霊長類は脳科学とトランスレーショナル研究に何をもたらすか-

独立行政法人放射線医学総合研究所 分子イメージング研究センター
分子神経イメージング研究グループ

大林 茂

ohbayash@nirs.go.jp

1. はじめに

21世紀は「脳の世紀」といわれます。脳科学により「脳は再生しない」という常識が覆り、「脳」の知識は格段に進歩しました。その研究領域も自然科学にとどまらず、工学、人文科学、社会科学へと融合・拡大しています。脳科学の成果は、教育、医療、リハビリテーション、経済、創薬など社会や産業への還元が期待されています。

高次脳機能の動作原理を明らかにすることが脳科学のミッションです。中枢神経系の疾患では原因自体明らかでないものが多い。しかし、精神疾患も高次脳機能の何らかの障害です。高次脳機能の動作原理と疾患病態の理解によって根本治療が実現されます。つまり、脳科学、病態理解、治療は三位一体なのです。病気を克服するには詳細な検討が必須です。ヒトだけを対象にしては限度があります。そこで同じ霊長類に属するサル類が実験動物として重要になります。動物実験の最終的な目的は、ヒトの疾患と相同なモデルを通して病態を深く理解し根本治療を目指すことにあります。

ヒトとして生まれてきても適切な環境の中で育たなければ人間の大人に成長しません。言葉もある年齢まではどの言葉も母国語のように話すことができるようになります。遺伝的に同じ一卵性双生児の場合も、性格は異なります。遺伝と環境の影響を両立し、脳シナプス接続の特有パターンとそこに書き込まれた情報をもとに形成されるネットワークにより個性をはぐくみます。つまりシナプスが人格を作るのです。精神疾患も遺伝-環境相互作用の結果であるというのが共通の見解です。このシナプス機構とネットワークをいきのまま丸ごとからだの外から観察できるのが分子イメージングです。分子イメージングは、脳科学、病態理解だけでなく、疾患の早期発見、診断、治療モニタリング・創薬に効果を発揮します。

2. 霊長類を用いた「分子イメージング」の重要性

疾患克服のための三位一体体制を実現するのに、なぜサル類が必要なのでしょう？まずは薬の開発から考えて見ます。平成19年度厚生労働省白書によりますと、新薬1品目が誕生するには、10年以上を要し、上市できる確率は1万分の1以下、開発費は500億円とされます。開発の課題として、まず種差の問題が挙げられます。げっ歯類で有効かつ安全でもヒトでは必ずしもそうではないことが多いのです。さらに、10年以上開発にかかるドラッグ・ラグ。そのため、クリティカルパスリサーチの活用と拡大が求められ、PETへの期待が高まっています。例えば、中枢神経系薬剤の場合、脳移行性とターゲット分子への選択性がさらに問題になります。候補化合物を直接標識してPET

計測すれば、一目瞭然に移行性と選択性を知ることができます。PET は医薬品開発の効率化、低コスト化に大いに貢献できます。

ラットの脳は特に前頭葉皮質で未分化です。ヒトを人たらしめる高次脳機能の最高中枢といわれている前頭葉は、霊長類の脳では分化が進みヒトの脳と解剖学的にはほぼ一致しております。脳の場合ごとに機能が違うのはサルもヒトも同じです。局在機能についてはいろんなことが明らかになりつつあります。うつ病患者さんや強迫性障害の患者さんに脳深部電気刺激が有効ではないかと注目を浴びています。

新世界サル的一种である、コモンマーモセットが実験動物として注目されています。マカクサルとげっ歯類それぞれの特徴を併せ持ちます。体重はラット並みにもかかわらず脳が格段に大きい。そういった特徴から高次脳機能の成熟メカニズムの検討や遺伝子改変動物の開発に向いております。例えば、血液脳関門の機能です。脳内への輸送は血液脳関門 (BBB と以下略す) が制御しています。中枢神経系薬物開発には脳内移行の問題が大きく立ちはだかっています。BBB の輸送系には栄養物資の供給、脳内代謝物の排出、血液からの進入制限などの機能がありますがそれぞれの機能を担当するトランスポーターの存在が知られるようになり、PET による評価が可能になってきました。そのような BBB の機能も発達とともに成熟していきます。脳移行性が年齢依存的であり、少なくとも PET により BBB の機能成熟度の程度が生きたままわかります。

「論理」はヒトの特徴の一つでもあります。ある問題を順序立てて解決する能力は論理思考の基盤だといえます。サルも訓練によりそのような能力を発揮するようになりヒトとも比べられますが、サルでは侵襲的方法も組み合わせさらに詳しく論理思考にかかわる分子メカニズムを探ることができます。例えば、PET で明らかになった論理に関係する脳領域より直接サンプリングしドーパミンなどの神経伝達物質の関与の可能性がわかってきました。

厚生労働省白書の薬事事犯によりますと今は第3期乱用期です。特に低年齢化してきています。覚せい剤、麻薬、アルコールなどの薬物依存の場合、進行しますと個性や人格を破壊し、反社会行動など深刻な問題となって現れます。依存性薬物は脳を不可逆に変えてしまい、構造変化を伴う結果です。依存の本態は、薬物を摂取したいという強迫的欲求、精神依存といわれています。静脈内自己投与実験では精神依存を動物で忠実に再現できます。そのモデルを用いて精神依存の責任部位を PET で同定し根本治療を開発すべく検討中です。

3. 「生きたまま」評価することの重要性

何故生きたまま評価することが重要なのでしょうか？臨床では生きたヒトを評価しなければならないからです。どんな病気も早期発見、早期治療が最も大切です。治療効果や病気の予後をも左右します。精神疾患も早期治療介入が重要です。病気は発症するまでに前段階が必ずあるはずで、ヒト、患者だけを対象にしただけではその発症前段階を十分研究することは困難です。ヒトで評価する前に安全性や有効性を試す必要があります。げっ歯類、さる、ヒトという流れは今後ゴールドスタンダードになっていく

と思われま。その点からも生きたまま動物実験をする必要性と必然性がでてきます。分子イメージングは生きたまま全身をみることができます。

我々は、サルに MPTP を長期投与し脳内ドーパミン神経の変化を経時的に PET で計測しました。その結果、C-11PE2I-PET (ドーパミントランスポーターを定量しドーパミン神経終末の密度の指標となります) が最も症候発症前のドーパミン神経脱落に敏感であることが判りました。初発症状の 80%は振戦といわれておりますが、症状出現したときには既にドーパミン神経終末は 70-80%脱落しています。サルモデルでも一致していました。いきのまま評価できるということは臨床に応用する上で重要です。PET で脳内ドーパミン神経の脱落状況をモニターすることで、ハイリスク群の発症時期の予想や発症前診断、治療に貢献できます。

マーモセットはパーキンソン病モデルとしてもマカクサルと明らかに違うことがわかってきました。3日間という短期間にモデルが完成できる(マカクモデルでは通常数ヶ月要す)だけでなく小型のため管理しやすいため新しい治療薬の薬効評価モデルとして有利です。パーキンソン病治療薬の L-DOPA の効果についてもマーモセットモデルでは著効します。MPTP を用いた PD モデルとしてはマーモセットモデルのほうが優れているかもしれません。

近年、ウイルスベクターを介した外部遺伝子導入技術が格段に進歩してきました。その結果、安全性も上がりかつ導入効率も大幅に改善しています。臨床試験として申請するときに霊長類で有効性を示しておくことは極めて有利です。国内では、サルモデルでの有効性をもとにパーキンソン病の遺伝子治療を厚生労働省に申請、認可され臨床試験が始まったところです。この技術は、近い将来霊長類を用いた D2 受容体発現の遺伝子制御による検証にも有用です。

基礎と臨床を繋ぐ架け橋研究には霊長類と分子イメージングがキーを握ることが今回のシンポジウムで十分ご理解いただけると確信しております。架け橋研究は、動物倫理を尊重したうえで社会的理解が大前提である事を鍵山先生が強調し締め括ってくれました。

4. おわりに

本シンポジウムでは所外からゲストとして文部科学大臣諮問への答申を作成する脳科学委員 3 名を含むそれぞれの研究領域の第一人者をお招きしました。このような豪華な顔ぶれが一同に会してお話が聞けるのはめったにないことです。超多忙な方たちが態々来てくださったのは、ひとえに放医研への期待と感じるべきです。放医研はげっ歯類、サル、ヒトまで分子イメージングで生きたまま評価できるシステムと世界有数の関連設備を誇ります。外部の方から「放医研は閉鎖的だ」と批判されてきました。根本的に古い体制を変えなければなりません。インフラ設備を所外に開放し、独自技術を普及させ、多様な需要に対応あるいは適応していかなければならない時期にきているのではないのでしょうか？

「やる気」の脳内メカニズム

独立行政法人 放射線医学総合研究所 分子イメージング研究センター
分子神経イメージング研究グループ

南本敬史

minamoto@nirs.go.jp

1. はじめに

「部下のやる気を引き出すためにどうすればよいか?」「生徒の学習意欲を向上させる方法は?」最近このように、“やる気”(=動機づけ、モチベーション)が仕事や学習の成果における重要なファクターとして認められ、重要視されてきている。ややもすれば精神論の中で語られがちなやる気ではあるが、これは疑いようのない脳の機能の一つである。従って、脳科学がこのやる気をコントロールする仕組み(脳内メカニズム)を明らかにすることで、悩める上司や先生だけでなく、やる気が上がらず本来の力が出ない多くの現代人に対して、科学的な解決策を提案できるのではないだろうか?本稿では、著者らによる最新の「やる気」研究を紹介する。

2. やる気の測定と決定要素

やる気や動機づけというテーマは長い間、心理学の大きなテーマの一つであった。Hull¹⁾や Spence²⁾はやる気は欲求など内部要因である**動因**と、報酬の量や種類などの外部要因である**誘因**の2要因をもとに決定されていると考えた。例えば、「食事をとる」という行為のやる気を例に考えると、我々は空腹時に食べたいことから分かるように、やる気にとって内部要因は重要である。しかし、満腹のときに目の前にごちそうが並ぶと、ついつい食べてしまうように、やる気調節において外部要因も関与することがお分かりであろう。この誘因・動因からやる気が制御されるメカニズムを調べるためには、様々な誘因と動因の状態におけるやる気を適切に測定し、これら3者の関係を明らかにすることが必須である。そのために著者らは、サルを用いたような行動実験を行った³⁾。

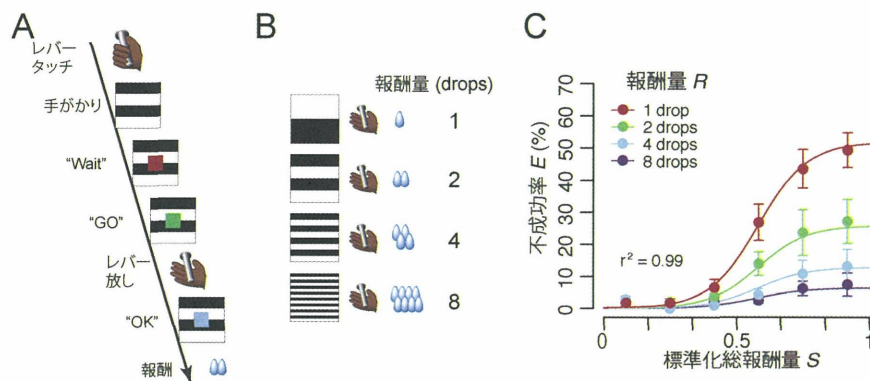


図1. やる気行動課題と結果 A. 行動課題のイベント。矢印は時間の流れを示す。B. 手がかり刺激と報酬量の関係。C. 課題の不成功率と満足度の関係(3頭の平均とSEM)。各報酬量をカラーで表示。曲線は式1の最適フィット。参考文献³⁾より引用。

喉が渴いたサルは、報酬である水を得るために、試行毎にコンピュータ画面の小さな赤い四角の色が緑に変わることを検出して、握っていたレバーを放すという単純な行動を要求される。この試行に成功すれば報酬を得られるが、その報酬の量（誘因）はあらかじめ試行の開始時に視覚手がかりで教示される。サルにこの行動課題を、喉が渴いた状態から、十分に水を得て満足するまで行わせたところ、課題を開始してしばらくはほとんどミスなしに試行をこなすが、満足して課題をやめようかという頃には、特に報酬が少ない試行において、レバーを早く放してしまったり、放すのが遅かったりというミスが多く観察された。つまり、サルはこの課題をミスなしにこなす能力があるにもかかわらず、状況によってミスをするところから、このミスの割合（不成功率）をやる気の指標とした。さらに、動因の指標としてサルの満足度をその時点までに獲得した総報酬量を用いて定義すると、やる気の指標である不成功率 E を、次のような定数 a を伴う報酬量 R と満足度 S の単純な関数で明快に説明できることが分かった（式1）。

$$E = \frac{1}{a \times R \times f(S)} \quad (1)$$

さらに、やる気が高いほど成功率は上がり、不成功率が下がるという関係があるので、やる気 M を不成功率の逆数で再定義してみると次のような式になる（式2）。

$$M = a \times R \times f(S) \quad (2)$$

これから、古くから心理学で言われてきたように、行動のやる気（動機づけ）が、誘因（報酬量）と動因（動物の満足度の関数）の2要因によって制御されており、しかもその制御が誘因と動因を入力に持つ線形システム（掛け算を基にした制御）であることが分かった。また、この式2における定数 a は、誘因と動因を基に実際のやる気を決める定数であり、「やる気定数」と呼ぶことにし、後ほど取り上げる。

3. やる気の脳内メカニズム(1)-誘因と動因の掛け算処理

このやる気の制御が脳内で行われているのは疑う余地はない。そのメカニズムを探る最初のステップとして、誘因と動因の掛け算が行われている脳部位を同定することが重要である。そこで著者らは行動課題を行っているサルを用いて PET 機能イメージングを行った。これは脳の局所の神経活動が活発になるとその部位の血流が増加するという原理を利用し、放射性同位体 ^{15}O で標識した水を静注し、2分ごとの局所脳血流量をサル PET 装置により繰り返し測定し、脳の活動を評価するという手法である。約90分の課題遂行の前半/後半の脳活動を比較したところ、前半で前頭眼窩野と線条体腹側部に脳血流の有意な上昇が見られた（図2）。この結果は、サルの喉が渴き動因が高く、やる気も高い時に、これら2つの脳部位の脳活動が高いということを示唆する。

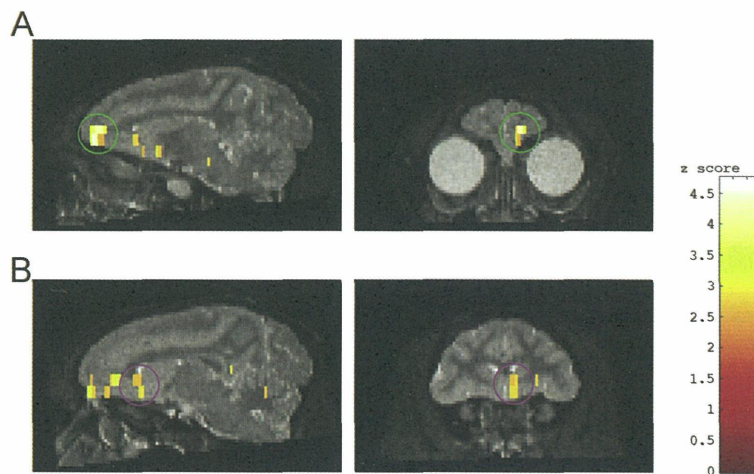


図2. 高い動因に伴う2領域での局所脳血流量の増加 A. 前頭眼窩野（緑丸で囲った脳部位）。B. 線条体腹側部（紫丸で囲った脳部位）。左：矢状断、右：前額断

さらに、これら2つの脳部位において、報酬を予期させる視覚刺激に応答する神経活動がこれまでに報告されている^{4),5)}。これと著者らのPET機能イメージングの結果を合わせて考えると、これら前頭眼窩野と線条体腹側部の2つの脳部位で誘因と動因の掛け算処理がされ、やる気を制御している可能性が高いと推測される。著者らは行動課題を行っているサル、これら2つの脳部位における神経活動を調べることを計画しており、近い将来、誘因と動因の掛け算処理、つまり、やる気を制御する詳しいメカニズムが明らかになると期待される。

4. やる気の脳内メカニズム(2)–やる気定数

やる気の調節においては、誘因と動因の掛け算処理だけでなく、その処理結果から実際のやる気の程度に変換・決定する仕組み、つまり式2における「やる気定数 a 」に相当する仕組みが存在するはずである。もし、このやる気定数 a がとても小さいと、いくら誘因と動因が大きく、かつ掛け算処理が正確に行われようとも、結果としてやる気の程度が低くなると推測される。著者らはこれまでに10頭近くのサルをテストしてきたが、このやる気定数の最小値と最大値に数十倍の違いが見られた。ここで誘因と動因の処理がサルごとにある程度等しいと仮定すると、個々のサルのやる気の違いがやる気定数の違いとして、脳内メカニズムに組み込まれているのではないかと著者らは推測する。そして、その有力な候補として着目しているのがドーパミン受容体の分布と密度である。ドーパミンは神経伝達物質の一つで、中脳のドーパミン神経で産生され、その投射先である線条体や前頭前野などで放出される。またドーパミン神経は報酬を予期させる感覚刺激に応答し、その活動は報酬の量に依存することが知られている^{6),7)}。その受け手であるドーパミン受容体にはいくつかのサブタイプがあり、それぞれドーパミンが結合し

たときの作用が異なる。一方、分子イメージング手法により、ドーパミン受容体のサブタイプごとの分布と密度を調べることが可能である。例えばこの手法を用い、島皮質のドーパミン D2 受容体と新規性を追求する気質に関係があることが報告されている⁸⁾。このように、局所のドーパミン受容体の密度とやる気定数との関係を定量的に調べること、やる気調節のメカニズム解明の突破口を開くことが期待される。

4. おわりに

報酬と欲求に基づくサル報酬獲得行動のやる気制御について、現段階で明らかとなった脳内メカニズムとその全容解明に向けた将来展望を駆け足で紹介した。本研究では、サルの水という報酬を巡る欲求とやる気という単純化された系でのやる気制御をモデル化しているが、他の報酬・欲求（たとえば食欲や性欲）でも、おそらく同様のメカニズムが働いているのではないかと推測される。また、ヒトの欲求や報酬には金銭や名誉など社会性を基盤とするものもあり、ヒトのやる気の脳内メカニズム解明においては、さらにモデルを拡張していく必要があるだろう。しかし、著者らがとるアプローチと今後の研究によって、確実に「やる気の脳内メカニズム」の全容解明に近づけると確信する。

このやる気の脳内メカニズムが解明されることにより、やる気を上げるための科学的方法が開発され、人々のやる気に満ちた社会生活に貢献できるのではないかと期待される。さらには、うつ病など、やる気の機能障害であると考えられる精神疾患の病態メカニズムの理解も可能となり、豊かで健康な精神生活に貢献できると期待される。分子イメージングはやる気の脳内メカニズム解明においても、その成果を応用する段階においても中心的役割を担うと考えられる。

参考文献

- 1) Hull, C. L. A behavior system : an introduction to behavior theory concerning the individual organism. (Yale University Press; Geoffrey Cumberlege Oxford University Press, New Haven, London; (1952).
- 2) Spence, K. W. Behavior theory and conditioning. (Yale University Press, New Haven; (1956).
- 3) Minamimoto, T., La Camera, G., et al: J Neurophysiol 101: 437-447 (2009).
- 4) Tremblay, L. & Schultz, W.: Nature 398: 704-708 (1999).
- 5) Shidara, M., Aigner, T. G., et al: J Neurosci 18: 2613-2625 (1998).
- 6) Schultz, W.: J Neurophysiol 80: 1-27 (1998).
- 7) Tobler, P. N., Fiorillo, C. D., et al: Science 307: 1642-1645 (2005).
- 8) Suhara, T., Yasuno, F., et al: Neuroimage 13: 891-895 (2001).

[¹¹C]オセルタミビル及びその代謝活性体[¹¹C]Ro 64-0802 の 合成、体内動態と代謝

放射線医学総合研究所 分子イメージング研究センター 分子認識研究グループ

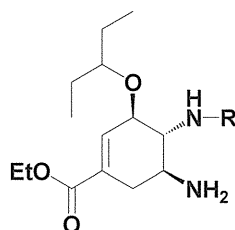
張 明榮、羽鳥晶子、荒井拓也、昆野富士子、河村和紀、由井讓二、

柳本和彦、山崎友照、武井誠、鈴木寿、鈴木和年

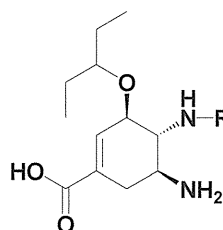
zhang@nirs.go.jp

目的

タミフル®(オセルタミビル, 1) は、ウイルスの増殖を抑えるインフルエンザ治療薬として広く用いられている。一方、服用した若者や子供に異常行動や突然死が報告されたことから社会問題となっている。このため、タミフル®の服用と異常行動との因果関係を解明するため、国内外の研究機関が研究に取り組んでいるが、未だ結論は得られていない。今回、我々は分子イメージング研究の一環として保有している標識薬剤の開発技術を利用し、タミフル®の服用と異常行動との因果関係を解明するため、[¹¹C]1 及びその代謝活性体[¹¹C]Ro 64-0802 ([¹¹C]2) の標識合成を行い、これらの体内動態と代謝研究を行った。



Osetamivir (1): R = -COCH₃
[¹¹C]1: R = -¹¹COCH₃



Ro 64-0802 (2): R = -COCH₃
[¹¹C]2: R = -¹¹COCH₃

方法と結果

1. 化学合成と標識合成

市販の1から標識前駆体を合成することができた。また、自動合成装置によって製造された放射性標識中間体[¹¹C]塩化アセチルを標識前駆体と反応させたのち、保護基を外すことによって[¹¹C]1を合成することができた。また、[¹¹C]1をアルカリで処理することによって、[¹¹C]2を合成することができた。二つのトレーサの得量が20 mCi以上であり、放射化学純度が95%以上であった。

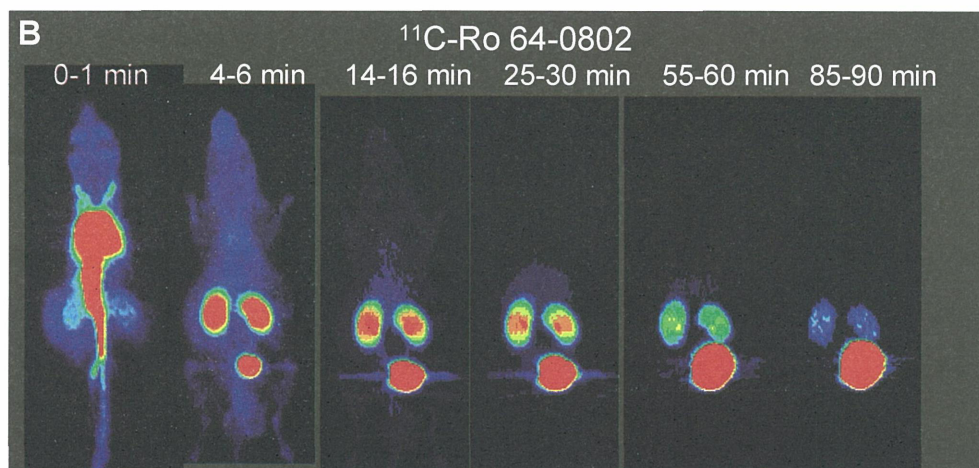
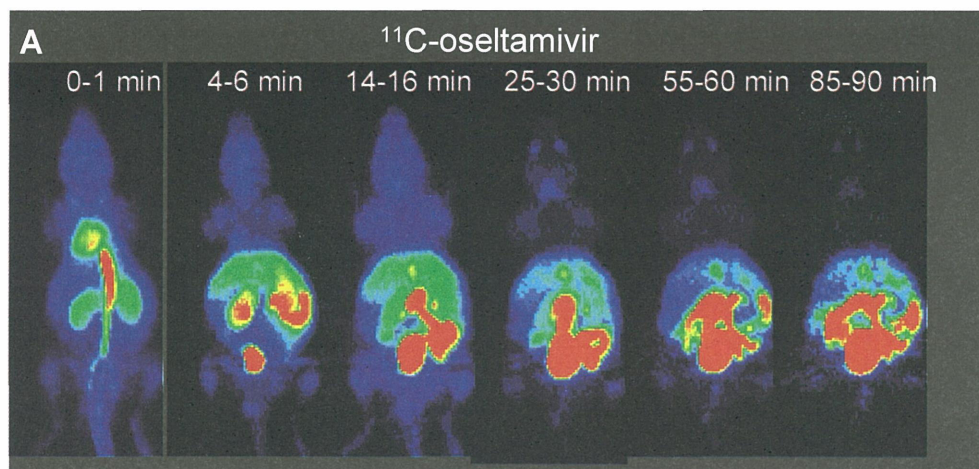
2. 体内分布

1) [¹¹C]1 及び [¹¹C]2 はマウス脳内への取り込みが低いながら、脳内での存在が認められた。

2) [^{11}C]1 及び [^{11}C]2 は血液における放射能濃度が時間とともに急激に減少していくが、脳内における取り込みの減少が比較的緩やかであった。脳/血液の放射能比は時間とともに増加していった。

3) [^{11}C]2 に比べ、[^{11}C]1 は各臓器への放射能の取り込みが高かった。一方、[^{11}C]2 は各臓器への取り込みが極めて低かった。従い、1 はその代謝活性体 2 の有効なプロドラッグであることを証明した。

4) PET 測定においては、[^{11}C]1 は [^{11}C]2 よりマウス脳内での放射能レベルが 2 倍高く、脳内からの排出が遅かった。



3. 代謝分析

In vivo 代謝では、[^{11}C]オセルタミビルは血液での代謝が早く、主な代謝物が [^{11}C]Ro 64-0802 であったに対し、脳内での代謝が遅かった。一方、[^{11}C]Ro 64-080 は血液及び脳内での代謝が非常に遅かった。

結語

[^{11}C]オセルタミビル及びその代謝活性体 [^{11}C]Ro 64-0802 は低いながらも、脳内での存

在が認められた。今回の結果はタミフル®の服用と異常行動との因果関係を解明するのに役に立てると期待される。

参考文献

1. Konno F., Arai T., Zhang M.-R., Hatori A., Yanamoto K., Odawara T., Yamasaki T., Kumata K., Suzuki K. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2008, 18, 1260-1263.
2. Hatori A., Arai T., Yanamoto K., Yamasaki T., Kawamura K., Yui J., Konno F., Nakao R., Fukumura T., Suzuki K., Kanno I., Zhang M.-R.. *Nucl. Med. Biol.*, 2009, 36, 47-55.
3. Arai T., Zhang M.-R., Ogawa M., Fukumura T., Kato K., Suzuki K. *Appl. Radia. Iso.* 2009, 67, 296-300.

脳科学における次世代の PET 装置開発

放射線医学総合研究所 分子イメージング研究センター
 先端生体計測研究グループ
 山谷泰賀、錦戸文彦、吉田英治、稲玉直子、澁谷憲悟、村山秀雄
 taiga@nirs.go.jp

1. はじめに

げっ歯類、霊長類を対象とした PET イメージングは脳科学を推進してきたが、いまだ PET 装置の「分解能」に対する要求は大きい。本稿では、「分解能」を「装置固有の分解能」と画像上の「実効的な分解能」に分けて捉え、脳科学における次世代の PET 装置の方向性を示したい。

2. 「装置固有の分解能」と「実効的な分解能」

点状線源を FBP 法で画像再構成して測定される「装置固有の分解能」¹⁾は、主に検出器の分解能、ポジトロンレンジ、角度揺動の要因で決定される。最近の論文データ²⁾によるとポジトロンレンジが半値幅に与える影響は意外に小さいことが分かっているが、角度揺動の影響は無視できず、直径 90cm のヒト用装置なら 2.2mm、直径 40cm の霊長類専用装置なら 1mm の誤差を与える³⁾。もし仮に検出器の分解能が極限的に高いとしても、上記を超える分解能は達成不可能である。

一方、装置利用上重要となる「実効的な分解能」を高めるためには、実は装置感度を高めなくてはいけないことに気づく。なぜなら、ボクセルの一辺が例えば 1/2 になったとすると、1画素あたりのカウント数は 1/8 になるため、定量性を維持するためには装置感度を 8 倍に高めなくてはならないからである。実際には、装置感度が十分でないため、ポストフィルター処理をして分解能をわざと落としているのが現実であろう。

3. DOI 検出器への期待

装置感度を高めるためには、検出器を近接化させることが有効であるが、シンチレータの厚みが斜めに入射する放射線に対する位置分解能を劣化させてしまうため、従来技術では装置感度と分解能の両立は困難であった。これを解決する方法として、分解能の視野中の一様性を高め、分解能と感度を両立できる 3 次元放射線位置 (DOI) 検出器が注目されている⁴⁾。我々のグループでは、薄いシンチレータを 4 層に積層した DOI 検出器を世界に先駆けて開発し⁵⁾、頭部用試作機 jPET[®]-D4 を 2006 年に完成させた⁶⁾。本装置はヒト頭部用であるが、DOI 検出器が可能にする視野中で一様な分解能性能のおかげで、視野周辺部であれば、市販の小動物専用 PET 装置を超える性能も期待できる⁷⁾。なお、近接化しても分解能を維持できる DOI 検出器は、自由な検出器配置を可能とするため、部位別装置や PET/MRI への応用が期待される。現在、この DOI 検出器を基にした乳がん診断専用の PET 装置開発が進められている⁸⁾。

4. 画像再構成法の役割

「実効的な分解能」に対して、画像再構成手法の与える影響も大きい。特に、同時計数線の空間的広がりを組み込んだ逐次近似型の画像再構成法が、画質向上に有効であるとして普及が進んでいる⁹⁾⁻¹³⁾。画像再構成は、核種分布から投影データを得る計測の逆変換であることを考えると、自然な発想である。その一方で、逐次近似法は物体依存のクセを持つことが知られており、たとえば、空气中に置かれた点状線源を画像化すると極端に高い分解能値が得られてしまうことがあるため、注意が必要である。逐次近似法における分解能測定法の標準化が急務である。

5. おわりに

PET 装置は、感度と分解能に課題が残され、各国で盛んに研究開発競争が行われてきた経緯があるが、全身用装置に関しては、装置固有の分解能は 1990 年代には理論限界に近づいてきた (<http://www.ricoh.co.jp/net-messena/ACADEMIA/JAMIT/MITVM/PET/TANAKA04/text10.html>)。しかし、上記で述べたように、研究の対象は、実効的な分解能の向上、すなわち分解能と感度の両立に着実にシフトしており、それに合わせてさまざまな革新的な要素技術開発がより盛んに行われている。また我々が昨年度提案した世界初となる OpenPET は、物理的に開放された視野領域を確保でき、脳研究の推進に加え、治療・診断融合やリアルタイム PET/CT 装置への応用など、PET の新しい可能性を切り拓くポテンシャルをもつ¹⁴⁾。

引用文献

- 1) NEMA Standards Publication NU 2-2001 など
- 2) C. S. Levin and E. J. Hoffman: Phys. Med. Biol., 44, 781-799 (1999).
- 3) K. Shibuya, E. Yoshida, F. Nishikido, et al.: Phys. Med. Biol., 52, 5249-5261 (2007).
- 4) K. Wienhard, M. Schmand, M. E. Casey, et al.: IEEE Trans. Nucl. Sci., 49, 104-110 (2002).
- 5) H. Murayama, H. Ishibashi, H. Uchida, et al.: IEEE Trans. Nucl. Sci., 45, 1152-1157 (1998).
- 6) T. Yamaya, E. Yoshida, T. Obi, et al.: IEEE Trans. Nucl. Sci., 55, 2482-2492 (2008).
- 7) T. Yamaya, E. Yoshida, C. Toramatsu, et al.: Annals of Nucl. Med., 23 (2009) *in press*
- 8) 大井淳一: 平成 19 年度次世代 PET 研究報告書, 99-104 (2008).
- 9) Z. Liang: IEEE Trans. Med. Imag., 13, 314-321 (1994).
- 10) J. Qi, R. M. Leahy, S. R. Cherry, et al.: Phys. Med. Biol., 43, 1001-1013 (1998).
- 11) M. Rafecas, B. Mosler, M. Dietz, et al.: IEEE Trans. Nucl. Sci., 51, 2597-2605 (2004).
- 12) T. Yamaya, N. Hagiwara, T. Obi, et al.: Phys. Med. Biol., 50, 5339-5355 (2005).
- 13) V. Y. Panin, F. Kehren, C. Michel et al.: IEEE Trans. Med. Imag., 25, 907-921 (2006).
- 14) T. Yamaya, T. Inaniwa, S. Minohara, et al.: Phys. Med. Biol., 53, 757-773 (2008).

霊長類高次認知機能の進化を可視化する

理化学研究所 脳科学総合研究センター
入来 篤史
iriki@brain.riken.jp

1. はじめに

脳とは、動物の進化の過程で生じた神経系の先端にできた膨大部である。動物の行動が次第に複雑になるにつれて、この膨大部はどんどんと大きくなり、この神経回路の塊が処理する情報も、徐々により複雑で高次なものとなっていった。そして、霊長類が現れ、さらにヒトの祖先が現れると、脳は急速に拡大し、恐らくは約10万年前頃を境にその機能が爆発的に花開いた。この機能のうちで最も高度に発達し、かつ人間の持つ他の知的機能の基盤となったのが、道具使用とそれに伴って発達したとも考えられる言語機能であろう。人間は道具を使って環境を操作し、言語を使ってものを考え、他人とコミュニケーションをとり、文明的な棲息環境や社会環境を形成して、その繋がりを通して人間社会を形づくるに至った。このように、脳が高度な認知機能を獲得するとともに膨大し、その膨大した脳がまたより高度な機能を発現する基盤となる。この生物学的過程を可視化することを試みた。

2. 拡大する脳部位

哺乳類の進化の過程で拡大した脳部位はどこであろうか。ネズミの脳では、そのほとんどが一次皮質で占められており、連合皮質はほとんど無い。それが、原始的な霊長類になると、おそらくは両眼視による視覚能力の劇的な発達によるものと思われる視覚野の拡大とともに、その視覚野の前方で体性感覚野との間に、大きな頭頂連合葉が出現する。さらに、ヒトへの進化の過程では、チンパンジーの脳とアファール原人の頭蓋の内部鋳型による推定脳と比較すると、顕著に大きくなったのはまず頭頂葉であるらしい。これに対応する様に、種々の人類の祖先は進化の過程で次々と様々な道具を発明して進化してゆく。しかし、道具使用そのものがこの拡大を引き起こす直接要因であったかについては定かではなかった。

3. 頭頂葉における神経回路網の変化

道具使用が頭頂葉の拡大膨張を引き起こしたという説を示唆する知見が得られている。サルの道具使用は、10日程度の訓練を要する過程であった。訓練前は頭頂間溝前壁部に弱くしか認められなかった視覚応答が、訓練後は顕著になり道具使用にともなう身体イメージをコードするようになる¹⁾。この時に対応して、前腕の表象部位の後方のこの部位に特異的に最初期遺伝子や神経栄養因子の発現が誘導され²⁾、また形態的に軸索の延長分岐と機能的シナプス形成が引き起こされたのである³⁾。そして、この投射繊維の

起源は、頭頂後頭境界領域からであった。つまり、道具使用に伴う機能実現に伴って、これらの頭頂葉領域の形態的拡大が起こった可能性が示唆される。サルでは、訓練による脳への負荷によってこの形態変化が引き起こされたが、ヒトの祖先では何らかの進化的偶然でこれがもっと容易に、あるいは自動的に起こるように変化したのかもしれない。

4. 膨大する脳部位の可視化

しかし、サルで見出された上記の様な組織学的変化は、直ちにヒトの祖先の脳の大規模な形態的拡大につながるものではないかもしれない。脳の肉眼解剖的な形態の拡大につながる様な事実としては、最近の核磁気共鳴構造脳画像を使った VBM (voxel based morphometry) 解析によって示唆的な知見が蓄積されつつある。即ち、ヒトにおいて様々な特殊な技能および精神活動を経験すると、主として頭頂葉と前頭葉の一部が拡大・肥大することが示され始めている。例えば、数学的思考、語彙の蓄積、音楽楽器演奏、ジャグリング、などである。これらの事実は、ヒト成体脳においても、様々な環境要因によって形態変化が引き起こされる可能性があることを示唆している。したがって、もし環境の中に、継続的に様々な知的および行動的な要求を産み出し続ける要因が埋め込まれたとき、ヒトの祖先の脳が種全体としてその方向に加速度的に変容しはじめたと考えるのは、さほど無理な想像では無いように思われる。

5. 道具使用学習によるサル頭頂葉皮質膨大の可視化

そこでサルの道具使用訓練の習得過程の進捗と対応して逐次核磁気共鳴構造脳画像を撮像し、VBM 解析を行った。すると、各々のサルの学習達成度と関連した大脳皮質灰白質の拡大を視覚化することが出来た⁴⁾。拡大したのは、道具使用に伴って上記^{1)~3)}の変化が引き起こされた、頭頂間溝部皮質に加え、上側頭溝部皮質、第二次体性感覚野に亘る、ヒトにおいて道具使用との関連が指摘されている大脳皮質部位に良く対応していた。さらに注目すべきことは、これまでのヒト VBM 研究における皮質拡大は、多数例の重畳によってのみ検出される程の微細な変化であったが、我々がサルで確認した変化は、個々の動物で十分に確認可能な程の大規模なものであり、今後の大脳皮質拡大をひきおこす生物学なあるいは脳内分子的メカニズムの同定に大きく貢献するものであると期待される。

6. おわりに

今回我々が可視化することに成功した、霊長類の高次認知機能の獲得に対応した大脳皮質の膨大は、人類に至る霊長類進化の過程で拡大した脳部位とほぼ対応するものである。しかし、実験者の訓練を通じた人為的な誘導によって引き起こされたものであり、進化のメカニズムと直ちに結びつくとはいえないかもしれない。だが、長い進化の過程で偶発的に獲得された、道具使用という高次認知機能を契機として、先に提案した「意図的ニッチ構築」の過程が動員されるに至ったとすれば、人類進化の時間スケールの中で、この様な生物学的メカニズムが蓄積されたということは、おおいに有り得るのではない

か。この研究を手掛かりとして、霊長類高次認知機能の進化のメカニズムが解明されることを期待する。

引用文献

- 1) Iriki A, Tanaka M, et al., Neuroreport, 7, 2325-30 (1996).
- 2) Ishibashi H, Hihara S, et al., Brain Res. Mol. Brain Res., 102, 110-112 (2002).
- 3) Hihara S, Notoya T, et al., Neuropsychologia, 44, 2636-2346 (2006).
- 4) Quallo M, Price CJ, et al., Soc. Neurosci. Abst., #296.12, (2008).
- 5) Iriki A & Sakura O, Philos. Trans R. Soc. Lond B Biol. Sci., 363, 2229-2241 (2008).

脳・脊髄損傷後の機能回復過程の可視化

- 1) 自然科学研究機構生理学研究所・発達生理学研究系・認知行動発達機構研究部門
- 2) 科学技術振興機構 (JST)・戦略的創造研究推進事業 (CREST)
- 3) 総合研究大学院大学・生命科学研究科

伊佐 正¹⁾²⁾³⁾

tisa@nips.ac.jp

1. はじめに

脊髄損傷・脳卒中などの中枢神経損傷後に、一時的に機能が低下した運動機能は回復することが経験的によく知られている。このような機能回復に対する訓練の効果を正しく評価し、より効果的な訓練の方法を開発するためには、機能回復がどのようなメカニズムで起きるのかを知る必要がある。近年、筆者らはマカクザルを用いて頸髄レベルで皮質脊髄路を選択的に損傷した後、指の巧緻運動が回復する動物モデルを作成し、陽電子断層撮影法(PET)を用いて機能回復の過程での脳活動の変化を可視化することを試みた。さらに薬物の局所注入による可逆的機能ブロック法を用いて、可視化された活動変化の機能的意義を検証する研究を組み合わせることで、脊髄損傷後の手指の器用さの回復を支えている神経メカニズムについて研究を行っており、本稿ではその成果について概説したい。

2. 大脳皮質-脊髄運動ニューロン間結合と機能回復モデル

皮質脊髄路 (corticospinal tract: CST、図 1A)は大脳皮質から脊髄へ下行し、随意運動の指令を脊髄に伝える神経経路である。我々ヒトを含めた霊長類では大脳皮質-脊髄運動ニューロン間の直接結合が見られる¹⁾ (図 1A)。近年、我々はマカクザルにおいて皮質脊髄路から運動ニューロンへの経路には直接経路に加えて C3-C4 髄節に存在する脊髄固有ニューロン系(PN)を介する間接経路も存在することを示した^{2),3)}。また、運動ニューロンと同じ髄節にある髄節内介在ニューロン(sIN)を介する経路も存在する。

マカクザルではヒトと同様に精密把持が観察される (図 1C、Preop)。マカクザルにおいて延髄より高位での CST 切断、すなわち CST から運動ニューロンないしは脊髄介在ニューロン系に対する入力を遮断したモデルでは、精密把持が回復しない⁴⁾。これらのことから、一般的に、CST が運動ニューロンに直接結合することが指の独立制御の基盤であると考えられてきた。しかし、延髄より高位での CST 切断では運動ニューロンとの直接結合ばかりでなく、PN や sIN などの脊髄の介在ニューロン系を介する経路までも遮断することになってしまう。CST の軸索は脊髄側索背側部を下行する (図 1A 青)。一方、PN の軸索はより腹側部を下行する (図 1A 橙) という軸索走行位置の違いから、選択的にいずれかの軸索を切断することが可能である。

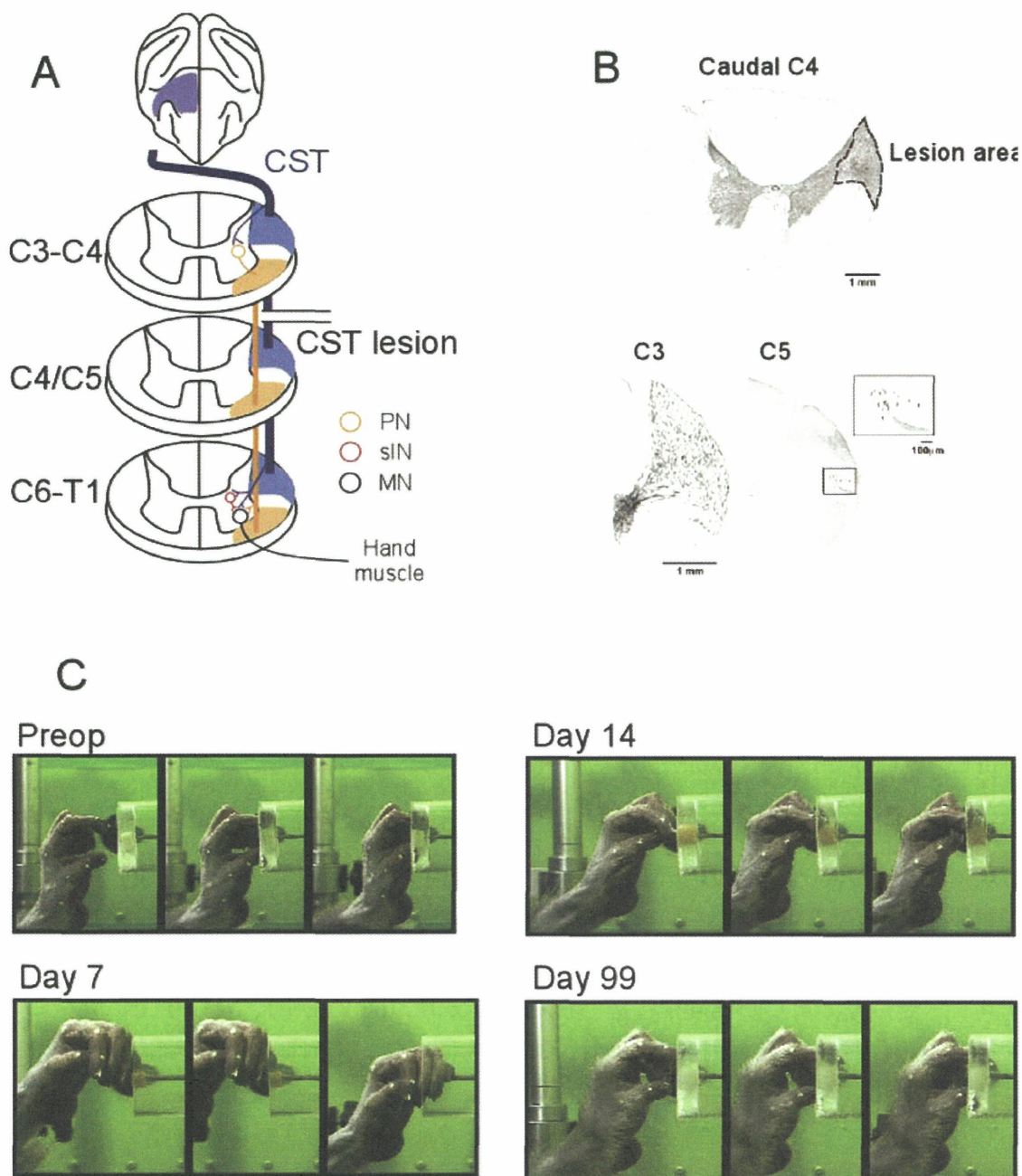


図1 マカサルを用いた皮質脊髄路損傷モデル

A: 本研究での脊髄損傷モデルにおける皮質脊髄路-運動ニューロン間結合の模式図。青の領域は CST の領域を示し、橙は脊髄固有ニューロンの軸索の分布を示している。PN: 脊髄固有ニューロン、sIN: 髄節内介在ニューロン、MN: 運動ニューロン、B: 脊髄損傷領域と皮質脊髄路の正常分布。文献 6 より転載。上の図の点線で囲まれている領域が損傷領域を示している。損傷の吻側の C3 では背側側索にラベルされた CST がみられるが（下左）、尾側の C5 では非常に少ない数の CST だけしか残っていない（下右）。C: 精密把持の損傷前と回復過程の連続写真。

そこで、我々はマカクザルにおいて手の運動ニューロンのある C6-Th1 の吻側である C4 と C5 の境界 (C4/C5) で CST を選択的に切断することによって、CST から運動ニューロンへの直接結合は遮断しつつ、PN を介した 2 シナプス性の経路を残存させ、手の巧緻性に与える影響を検討した^{5),6)} (図 1B)。

損傷前、サルは人差し指と親指のグループと他の指のグループを独立して制御して、物体を掴むことができる (図 1C、Preop)。サルは損傷を受けた一日後より、小さいサツマイモ片への到達・把持運動のリハビリテーションをほぼ毎日行った。損傷後、一旦把持能力を失い、一週間以内で回復し始めるが、まだ親指と人差し指は麻痺している (図 1C、Day 7)。2 週間もすると精密把持が回復してくるが、まだ指の独立制御はまだ回復していない (図 1C、Day14)。そして損傷後 1 - 3 ヶ月もすると、指の独立制御が回復する (図 1C、Day99)。この結果から、CST から運動ニューロンへの直接結合が遮断されても、並列して走行する間接経路によって手の巧緻運動が制御されることが明らかになった^{5),6)}。我々の作成した、マカクサルの皮質脊髄損傷モデルは 5 頭いずれにおいても、非常に似た回復過程を示した⁶⁾。

3. 皮質脊髄路損傷後の機能回復の脳内メカニズム

脳機能イメージングを用いた研究

我々は浜松ホトニクス中央研究所の塚田秀夫博士と理化学研究所の尾上浩隆博士との共同研究で PET を用いて、脊髄損傷後の機能回復の過程で、到達・精密把持運動中の上位中枢における脳血流の変化を解析した。健常サルでは運動を行っている反対側の PO-V6-LIP-VIP-PMd-M1 という、到達把持運動をしている上肢と反対側の視覚・到達運動変換に関わるいわゆる「背側経路」と同側の小脳核の活動増加が観察された (図 2 左上)⁷⁾。

そして、まだ回復過程にある損傷後 1 ヶ月 (図 2 左中)、及びすでに完全に回復した損傷後 2 ヶ月 (図 2 左下) においても同様に、反対側の視覚・到達運動変換に関わる背側経路と同側の小脳核が、依然、到達・精密把持運動に関わっていた。しかしながら、それぞれの時期の活動の高い一次運動野付近の活動を注意深く見ると、損傷後にその活動が高くなっていることが分かる。また、活動している領域も広がっている。

そこで、損傷前に比べて損傷後に活動が高まった領域を示したものが図 2 右である。損傷後 1 ヶ月では両側の一次運動野、二次体性感覚野、小脳での活動が増大していた (図 2 右上、回復初期>健常)。さらに、損傷前のレベルまで機能回復した 3 ヶ月後では、同側の一次運動野の活動はもとに戻り、反対側の一次運動野の活動増大を見せる領域が広がり、それに加えて、両側の腹側運動前野、二次体性感覚野の活動増大が観られた (図 2 右下、完全回復>健常)。

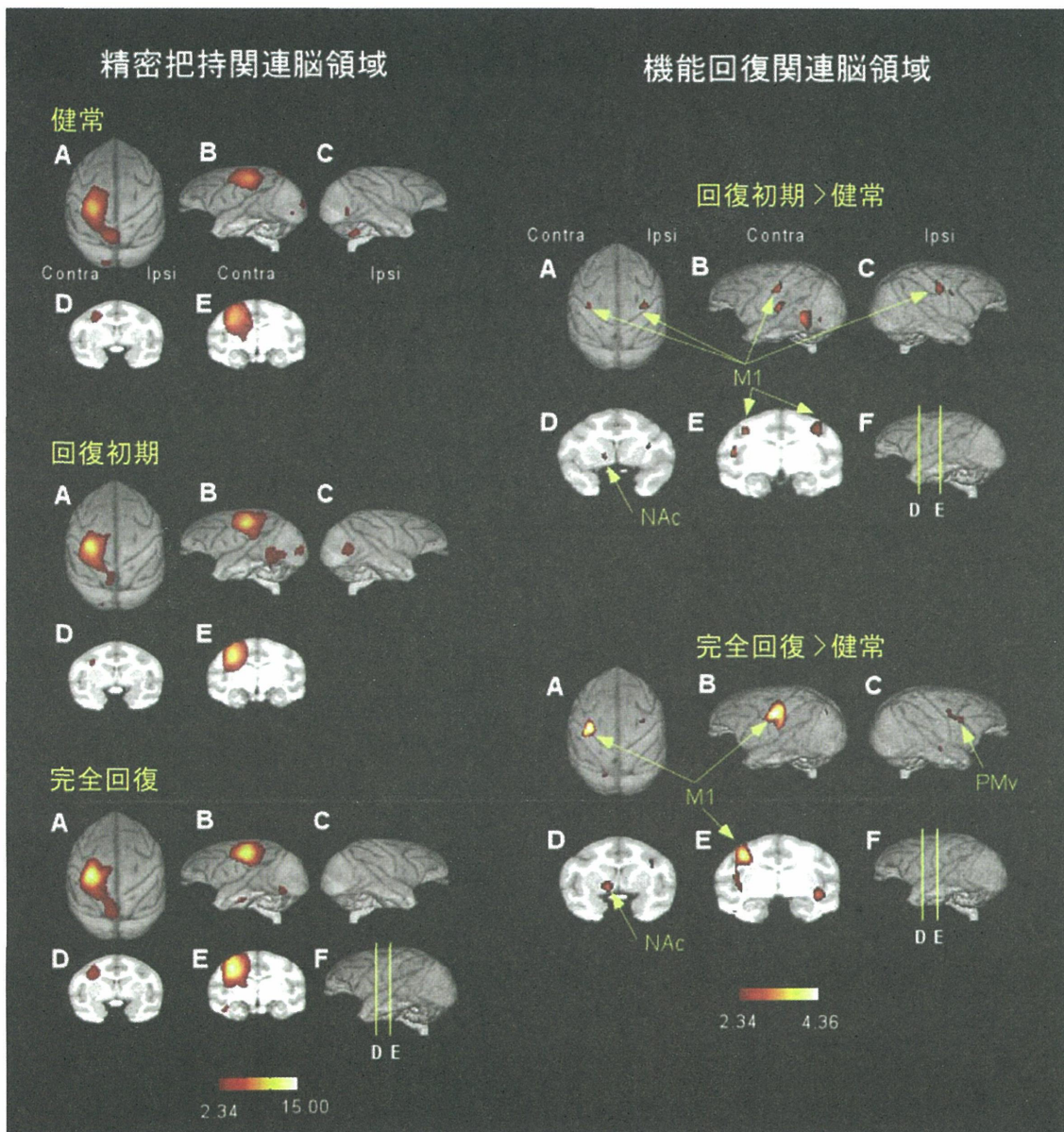


図2 皮質脊髄路損傷からの機能回復過程における脳活動の変化

(左)：精密把持時に活動する脳領域。手術前 (左上)、回復途中 (手術後約一ヶ月、左中)、完全回復後 (手術後約三ヶ月、左下)、(右)：脊髄損傷後に損傷前より活動増大が見られる脳領域。文献 6,7 に加筆。回復途中に損傷前より活動増大が見られる脳領域 (右上)。完全回復後に損傷前より活動増大が見られる脳領域 (右下)。A：脳を上から見た図、B：左横から見た図、C：右横から見た図、D と E：横断面、F：横から見た図、黄色の線は横断面の位置を示している。Contra: 損傷及び運動している手の反対側、Ipsi: 損傷及び運動している手の同側、M1: 一次運動野、PMv: 腹側運動前野、NAc: 側坐核

可逆的神経ブロックを用いた研究

次に我々は確かに脳機能イメージングで活動増大が観察された脳領域が手

の精密把持運動に関与しているか否かという因果関係について検討した^{6) 7)}。そのために、GABA のアゴニストであるムシモル(0.8-5 μ l, 5mg/ μ l)を課題遂行中に関連する脳領域に微量注入することによって、一時的にその注入箇所の機能を不活性化させ、それが手の精密把持運動に影響を及ぼすか、二頭のマカクサルで検討した。

損傷の反対側の一次運動野の関与 (Contra M1, 図 3B 右上) : 損傷前においては反対側一次運動野の手の領域の不活性化によって、これまでの先行研究⁸⁾と同様に重篤な手の麻痺が見られた。損傷後一ヶ月も同様重篤な手の麻痺が見られた。驚いたことに、運動機能が完全に回復した3ヵ月後では不活性化による手の麻痺は軽くなっていた。

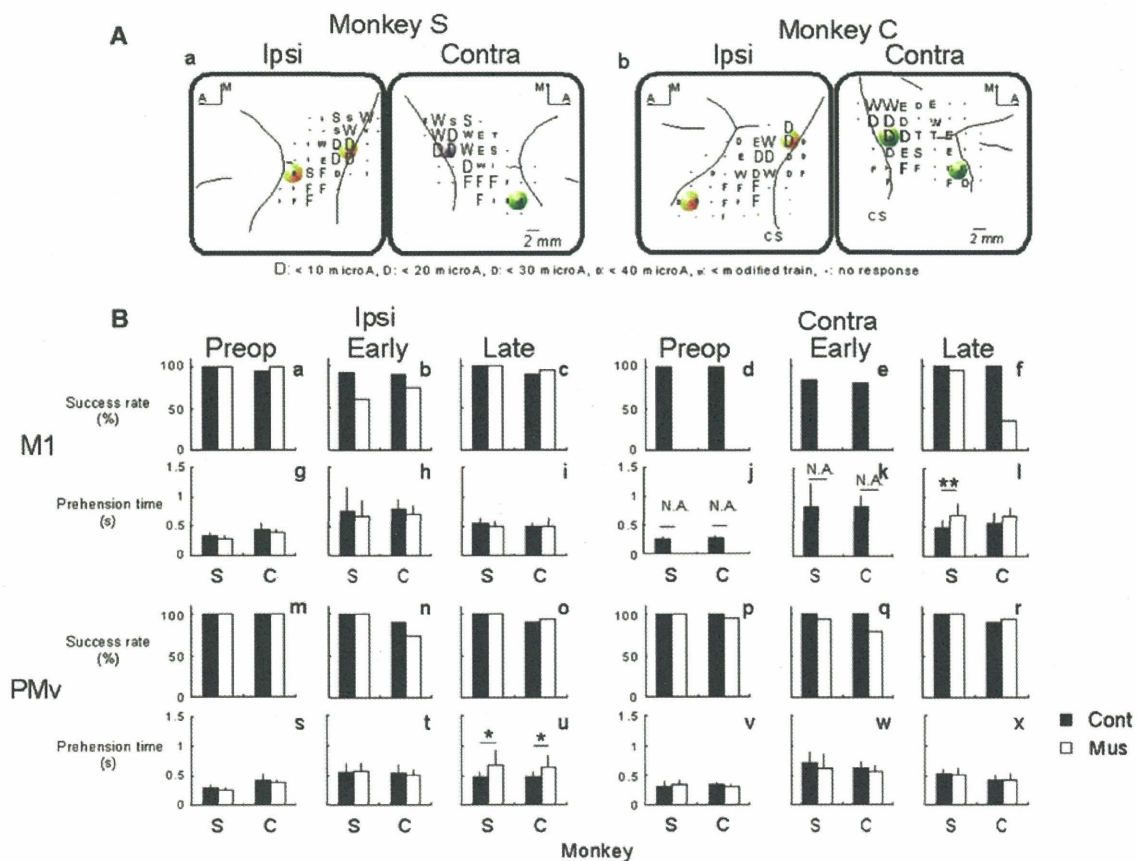


図3 脊髄損傷前後における可逆性神経ブロックによる手の巧緻運動への影響

A: 二頭のサルにおける脊髄損傷前の皮質内微小電気刺激にて同定された体部位局在とムシモル注入部位。丸で示してあるところがムシモルの注入部位。40 μ A以下の電気刺激により(F):顔、(D):指、(W):手首、(E):肘、(S):肩の運動が誘発された。CS:中心溝、Ipsi:脊髄損傷及び運動している手の同側の皮質、Contra:脊髄損傷及び運動している手の反対側の皮質、M1:一次運動野、PMv:腹側運動前野、B:M1 あるいはPMvの不活性化による手の巧緻運動への影響。Cont:ムシモル注入前、Mus:ムシモル注入後。縦軸は成功率と把持運動の速度を示す。文献6より転載。

同側の一次運動野の関与 (Ipsi M1, 図 3B 左上) : 損傷前では、同側一次運動野の手の領域の不活性化では、これまでの先行研究⁸⁾と同様に手の運動に影響は見られない。損傷後 1 ヶ月は軽い麻痺が生じた。しかしながら、3 ヶ月後では不活性化による手の麻痺はみられなかった。

反対側の腹側運動前野の関与 (Contra PMv, 図 3B 右下) : 損傷前においては反対側腹側運動前野の手の領域の不活性化によって、精密把持の成功率には影響が見られない。損傷後一ヶ月、三ヶ月で一頭のサルにおいて、精密把持の成功率に顕著な低下がみられたが。残りのもう一頭では損傷後の不活性化により、手の運動に影響はみられなかった。

同側の腹側運動前野の関与 (Ipsi PMv, 図 3B 左下) : 損傷前・損傷後 1 ヶ月においては反対側腹側運動前野の手の領域を 1 箇所、不活性化しても、精密把持の成功率には影響が見られなかった。損傷後 3 ヶ月では精密把持の自体に影響は見られなかったが、把持にかかる時間が長くなっていた。

このように、ムシモルによる脳領域の不活性化の実験により、脳機能イメージングで活動が高まった領域が、確かに手の巧緻性の回復に回復過程の時期に依存して貢献していることが明らかになった。

4. おわりに

ここで、紹介した我々の研究結果は、神経経路が切断されても、損傷反対側の一次運動野や運動前野の神経細胞群は切断後の運動の再獲得に機能的に活動していることを示している。一方で、このような動物モデルと実際の脊髄損傷患者との違いについて十分に検討しておくことも必要であろう。今後は二次障害を最小限にとどめる為の損傷部局所に対する治療法の開発とともに神経系の機能代償を促進する方法の開発が望まれる。

参考文献

- 1) Phillips CG, Porter R. Monogr Physiol Soc. 34: v-xii, 1-450 (1977).
- 2) Alstermark B, Isa T et al. J Neurophysiol. 82: 3580-3585 (1999).
- 3) Isa T, Ohki Y et al. J Neurophysiol. 95: 3674-3685 (2006).
- 4) Lawrence DG, Kuypers HG. Brain. 91:1-14 (1968).
- 5) Sasaki S, Isa T et al. J Neurophysiol. 92: 3142-3147 (2004).
- 6) Nishimura Y, Onoe H et al. Science. 318: 1150-1155 (2007).
- 7) Nishimura Y, Onoe H et al., Neurosci Res. 59: 243-250 (2007).
- 8) Fogassi L, Gallese V et al. Brain 124: 571-586 (2001).

PET を用いた分子イメージング法による前臨床研究

浜松ホトニクス株式会社中央研究所

塚田 秀夫

tsukada0412@nifty.com

1. はじめに

候補化合物からひとつの有効が高く副作用の少ない医薬品を上市するために、約 15 年の開発期間と数 100 億円の開発費が必要とされ、より有効な評価手法が求められている。PET (Positron Emission Tomography) による「分子イメージング法」の非侵襲性を生かすことで、薬物動態試験や薬効評価試験を非臨床研究段階や健常ボランティアを対象にした Phase-I、および実際の患者を対象にした Phase-II・III 段階で実施する事が、適切なバイオマーカーの設定により可能になる。

2. PET による薬物動態試験

免疫抑制剤である FK506 が神経保護作用を有する事を、独自に開発したサル脳虚血再灌流モデルで報告した¹⁾。FK506 の脳内動態・分布情報を得るため、FK506 の C-11 標識体の合成が試みられ、^[11C]FK506 を麻酔されたカニクイザルに静脈内投与して動物用 PET カメラで脳内動態を計測したところ、投与 7 分後には薬理効果に十分な脳内濃度を示した²⁾。さらに中大脳動脈を閉塞したカニクイザルに^[11C]FK506 を投与したところ、局所脳血流量が低下している梗塞部位にも、投与 30 分後には正常部位とほぼ変わらない量の FK506 が到達する事が判明した。

3. PET による生体内ターゲット分子と薬物との特異結合計測

うつ病にはセロトニン神経系の機能異常が関与しており、治療薬としてセロトニン再吸収部位の阻害薬が用いられる。サル脳の SERT 活性とフルボキサミンの占有率の老化による変化を^[11C](+)McN5652 を用いて検討した結果、老齢ザルでは若齢サルよりも脳内 SERT 活性の低下が認められ、老齢ザルでは若齢ザルに比べてフルボキサミンによる競合阻害が起き難い事を見出した³⁾。これは、臨床現場でしばしば見られる、加齢によるうつ病の発症率の増加と、若齢患者に比較して高年齢患者における薬物治療に対する反応性の低下を説明できると思われる。

4. PET による薬効・治療効果の評価

アルツハイマー病の認知記憶機能障害は、主に脳内アセチルコリン神経の機能低下により、その治療薬としてアセチルコリンエステラーゼ (AChE) 阻害薬が用いられる。覚醒サルを用いてドネペジルの脳内アセチルコリン神経系に与える影響を、^[11C]MP4A を用いた AChE 抑制効果・^[11C](+)3-PPB を用いたムスカリン性受容体結合を動物 PET で検討し、またマイクロダイアリシスによるアセチルコリンの直接計測と、老齢ザルにお

るワーキングメモリーの改善効果も含めた多角的な評価を行った。ドネペジルは、用量依存的に AChE 活性を抑制してシナプス間隙のアセチルコリン濃度を増加させ、ムスカリン性受容体の神経伝達を増加させて、老化により低下したワーキングメモリーの改善をもたらした⁵⁾。

パーキンソン病の治療において、遺伝子治療や細胞治療により損なわれたドーパミン神経機能を修復する試みがなされている。MPTP を慢性投与されたサル脳のドーパミン神経活動を PET で計測すると、前シナプス神経のドーパミン生合成や小胞・シナプス膜のトランスポータ活性等が顕著に低下しており、一方後シナプス神経の受容体結合等には殆ど変化が認められず⁶⁾、これらの変化は実際の患者の病態変化と一致していた。脳の左側被殻に、AADC 遺伝子を組み込んだアデノ随伴ウイルスベクターを注入して、経時的に AADC 活性の発現を [β - ^{11}C]L-DOPA を用いて計測したところ、5年以上に渡って安定して酵素活性発現を維持でき⁵⁾。また MPTP 処理により傷害された運動機能も、遺伝子導入により著明な改善が認められた。

脳梗塞治療薬の開発において、げっ歯類の虚血性障害に対する神経細胞保護効果が認められた化合物が、臨床評価において作用が認められないという種差が存在する。カンクイザルを対象として脳神経保護作用を評価する実験系を開発して、15R-TIC-Me⁶⁾ や FK506¹⁾ が霊長類の再灌流障害を有意に抑制できることを見出した。虚血中および再灌流後 3 時間前後に惹起される大脳基底核ドーパミンの異常放出が、大脳基底核の DA-D₁ 受容体を介して cAMP セカンドメッセンジャーの異常興奮を引き起こして細胞機能を傷害し、さらに再灌流後 3 時間以降に惹起されるセロトニン神経伝達の異常低下が 5-HT_{1A} 受容体を介した cAMP セカンドメッセンジャーの異常興奮を引き起こし、神経細胞死につながる事を見出した⁷⁾。

脳梗塞や脊髄損傷発症後のリハビリテーションによる運動機能回復治療は、臨床現場で行なわれているが、その神経科学的機序は不明な点が多い。サル脊髄損傷モデルを開発し、損傷により損なわれた指で物を掴む能力が訓練により回復する過程で、脳内の運動野においてどのような神経機能変化が惹起されるかを、PET による継続的な計測により明らかにするに成功した⁸⁾。

5. おわりに

世界のメガファーマは、疾患関連生体物質に対するリード化合物を医薬品に仕上げていく非臨床・臨床のいくつかのステップにおいてこの PET 技術を活用している。弊社では、過去 10 年に渡って独自に開発した高分解能動物 PET スキャナーと各種疾患モデル動物を駆使した前臨床評価を国内外からの医薬品会社から受託した経験を有しており、この経験を基に日本版マイクロドーズコンセプトによる臨床開発にも貢献していこうと考えている。

6. 引用文献

- 1) H. Takamatsu, H. Tsukada, *et al.*: J. Nucl. Med., 42, 1833-1840 (2001).
- 2) Y. Murakami, H. Takamatsu, *et al.*: J. Nucl. Med., 45, 1946-1949 (2004).

- 3) T. Kakiuchi, H. Tsukada, *et al.*: *Synapse*, 40, 170-179 (2001).
- 4) H. Tsukada, S. Nishiyama, *et al.*: *Synapse*, 52, 1-10 (2004).
- 5) S. Muramatsu, H. Tsukada, *et al.*: *Exp. Opin. Biol. Ther.*, 5, 667-671 (2005).
- 6) Y. Cui, H. Takamatsu, *et al.*: *Stroke*, 37, 2830-2836 (2006).
- 7) H. Tsukada, D. Fukumoto, *et al.*: *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 24, 898-906 (2004).
- 8) Y. Nishimura, H. Onoe, *et al.*: *Science*, 318, 1150-1155 (2007).

ウイルスベクターを用いた霊長類脳への遺伝子導入：遺伝子治療への応用

財団法人 東京都医学研究機構 東京都神経科学総合研究所

高田 昌彦

takada-ms@igakuken.or.jp

1. はじめに

パーキンソン病は、黒質緻密部のドーパミン細胞が変性・脱落した結果、線条体でドーパミン含有量が低下することによって発症する。パーキンソン病患者の死後脳やMPTP投与により作製したパーキンソン病のモデルザルの脳を用いた研究において、黒質ドーパミン細胞のうち、カルシウム結合タンパクであるカルビンディンを共存するものがパーキンソン病の際に抵抗性を示すことが報告されている。^{1,4)} これらのカルビンディンを発現するドーパミン細胞は、黒質緻密部の背側部に局在している。^{1,2)} このことに着目し、我々は、黒質緻密部の腹側部に分布する、正常ではカルビンディンを発現していないドーパミン細胞にカルビンディンを強制発現させることによって、ドーパミン細胞死を抑制できるか否かを検討した。本研究では、組換え体アデノウイルスベクターを用いて黒質ドーパミン細胞にカルビンジン遺伝子を導入し、MPTPによる細胞死に対する抑制効果を解析した。

2. 方法と結果

実験にはマカクザル（ニホンザルおよびカニクイザル）を用いた。全身麻酔したサルを脳定位固定装置に固定した後、カルビンディンを発現するアデノウイルスベクターを片側の線条体（尾状核および被殻）に注入し、逆行性軸索輸送を介して黒質ドーパミン細胞の細胞体に導入した（図1）。約2週間後にホルマリンを用いて灌流固定を行い、取り出した脳から線条体と黒質の凍結切片を作製し、カルビンディンの免疫染色を行った。その結果、ベクターを注入していない対象側に比べて、正常ではカルビンディンを発現していない黒質緻密部の腹側部に多数のカルビンジン陽性細胞が確認された。このことは、組換え体アデノウイルスベクターを用いた遺伝子導入によって、ドーパミン細胞にカルビンディンを強制発現させることができたことを示している。

このようなサルに大伏在静脈を介してMPTPを全身投与した。パーキンソン病様の運動障害（寡動、筋固縮等）が発症するまでは、MPTP投与を週2～3回の頻度で行い、運動症状が亢進するにつれて、投与頻度を減少することにより症状を安定させた。MPTP投与開始から約2ヶ月間にわたって、多数の項目から成るテストバッテリーを用いて行動学的解析を行ったところ、ベクターを注入した処置側に対応する上下肢において、MPTPにより誘発される運動症状が軽減していることが明らかになった。また、餌取りテストを行ったところ、特に解析後期において処置側に対応する上肢のみを使用するようになった。行動学的解析終了後にサルを灌流固定し、線条体と黒質の組織学的解析を行ったところ、ドーパミン細胞にカルビンジンが強制発現している側の線条体において、ドーパミン合成に関与する

主要酵素であるチロシン水酸化酵素の免疫活性が対象側に比べて保持されていることが確認された。また、ドーパミン細胞変性のマーカーであるアルファシヌクレインの免疫染色を行った結果、処置側に比べて対象側の黒質では多数のアルファシヌクレイン陽性細胞が出現していた。これらのことは、ドーパミン細胞にカルビンディン遺伝子導入を行うことによって、MPTP で誘発されるドーパミン細胞死やパーキンソン病様の運動障害の発現が抑制されたことを示している。

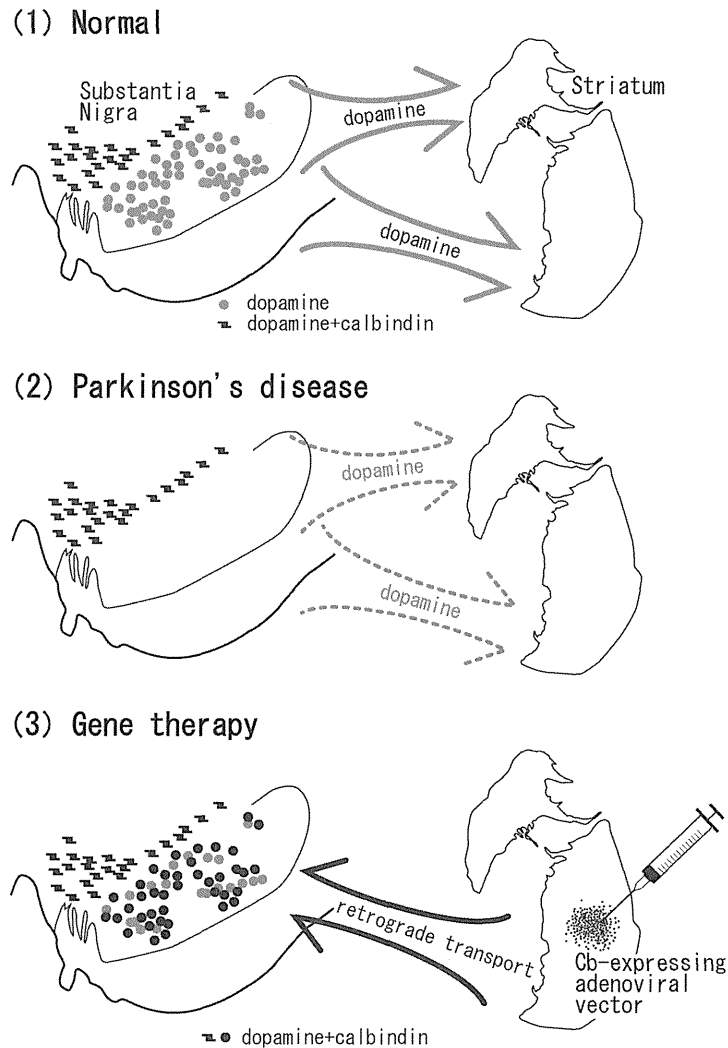


図 1 本研究で試みたパーキンソン病に対する遺伝子治療戦略。カルビンディンを発現する組換え体アデノウイルスベクターを線条体に注入し、逆行性軸索輸送を介して黒質緻密部のドーパミン細胞の細胞体に導入することにより、パーキンソン病の際に変性・脱落を来す、正常ではカルビンディンを発現していない黒質緻密部の腹側部に分布するドーパミン細胞にカルビンディンを強制発現させる。

3. 考察

本研究成果は、カルビンディン遺伝子導入により MPTP で誘発されるドーパミン細胞死が防御されることを示している。従来の研究から、細胞内カルシウムの過度の蓄積が細胞死

を誘発することや、カルシウムチャネルブロッカー等を用いて細胞内カルシウムの蓄積を抑圧することによって細胞死が回避できることが明らかになっている。⁵⁻⁷⁾ また、カルビンディンやパルブアルブミン、カルレチニン等のカルシウム結合タンパクが細胞内カルシウムを減少させることにより、カルシウム濃度を調節していると考えられてきた。^{8,9)} 黒質ドーパミン細胞の過剰興奮がパーキンソン病の病態生理に関与することから、ドーパミン細胞へのグルタミン酸作動性入力の上昇による細胞内カルシウム濃度の上昇がドーパミン細胞死を惹起するという仮説がある。¹⁰⁻¹²⁾ さらに最近、電位依存性 L タイプカルシウムチャネルである Cav1.3 が黒質ドーパミン細胞のリズム活動の維持のために機能亢進することが、パーキンソン病を引き起こすような様々なストレスに対してドーパミン細胞を脆弱にすることや、このような Cav1.3 の働きが加齢により増大し、その結果、細胞内カルシウム濃度や活動依存的なカルシウム流入の上昇を招いていることが報告されている。¹³⁾ 多数の研究により、細胞内カルシウム濃度が細胞死を引き起こす一連の現象（ミトコンドリアストレスや活性酸素産生等）に深く関与していることが示唆されていることから、¹⁴⁻¹⁶⁾ 細胞内カルシウムや活動依存的なカルシウム流入が黒質ドーパミン細胞死の主要因子であると考えられる。すなわち、本研究で明らかにしたように、カルビンディンのようなカルシウム結合タンパクをドーパミン細胞に強制発現させることにより、パーキンソン病の発症や進行を防御できる可能性があると思われる。

4. おわりに

近年、パーキンソン病に対する遺伝子治療の重要性が強調されてきた。事実、BDNF 等の神経栄養因子やチロシン水酸化酵素等のドーパミン合成に関与する主要酵素の黒質ドーパミン細胞への遺伝子導入の有効性が報告されている。¹⁷⁻²⁰⁾ 本研究成果は、ドーパミン細胞へのカルビンディン遺伝子導入がパーキンソン病の遺伝子治療に強力な手段になることを示唆している。

引用文献

- 1) T. Yamada, P.L. McGeer, et al.: Brain Res., 526, 303-307 (1990).
- 2) B. Lavoie and A. Parent: Neuroreport, 2, 601-604 (1991).
- 3) W.R. Gibb: Brain Res., 581, 283-291 (1992).
- 4) P. Damier, E.C. Hirsch, et al.: Brain, 122 (Pt 8), 1421-1436 (1999).
- 5) S. Orrenius and P. Nicotera: J. Neural. Transm. Suppl., 43, 1-11 (1994).
- 6) A.N. Murphy, D.E. Bredesen, et al.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 93, 9893-9898 (1996).
- 7) S. Orrenius, B. Zhivotovsky, et al.: Nat. Rev. Mol. Cell Biol., 4, 552-565 (2003).
- 8) A. McMahon, B.S. Wong, et al.: Mol. Brain Res., 54, 56-63 (1998).
- 9) B. Schwaller, M. Meyer, et al.: Cerebellum, 1, 241-258 (2002).
- 10) J.T. Coyle and P. Puttfarcken: Science, 262, 689-695 (1993).
- 11) B. Piallat, A. Benazzouz, et al.: J. Neural. Transm. Suppl., 55, 71-77 (1999).

- 12) M. Takada, M. Matsumura, et al.: Eur. J. Neurosci., 12, 1771-1780 (2000).
- 13) C.S. Chan, J.N. Guzman, et al.: Nature, 447, 1081-1086 (2007).
- 14) C. Krieger and M.R. Duchon: Eur. J. Pharmacol., 447, 177-188 (2002).
- 15) W. Dauer and S. Przedborski: Neuron, 39, 889-909 (2003).
- 16) A. Verkhratsky: Physiol. Rev., 85, 201-279 (2005).
- 17) D.M. Gash, Z. Zhang, et al.: Nature, 380, 252-255 (1996).
- 18) M.J. Doring, R.J. Samulski, et al.: Gene Ther., 5, 820-827 (1998).
- 19) S. Muramatsu, K. Fujimoto, et al.: Hum. Gene Ther., 13, 345-354 (2002).
- 20) L. Fjord-Larsen, J.L. Johansen, et al.: Exp. Neurol., 195, 49-60 (2005).

新しい遺伝子操作技術による疾患モデルの可能性

財団法人 実験動物中央研究所
マーモセット研究部 応用発生生物研究室
佐々木 えりか
esasaki@cica.or.jp

1. はじめに

基礎医学研究は、ヒトの健康維持に欠かせない重要な研究であることは言うまでもないが、これらの基礎研究で得られた研究成果を実際に臨床へ応用するためには、実験動物を用いた生体での有効性・安全性の検証が重要となる。これらの有効性・安全性の検証の初期段階ではマウス・ラットなどのげっ歯類の動物が用いられることが多いが、げっ歯類とヒトでは形態学的、生理学的、高次脳機能などの違いにより、得られた結果をそのままヒトに外挿できない場合が多い。そのため、より高精度に有効性・安全性を検証するために、よりヒトに近い霊長類の実験動物を用いた前臨床研究が重要となる。霊長類の実験動物は種々あるが、近年コモンマーモセットという小型の霊長類に注目が集まっている。我々はコモンマーモセットの実験動物としての開発に取り組み、その中でコモンマーモセットを用いて実験を行う場合に必要な様々な研究ツールの開発、遺伝子改変によるヒト疾患モデル作出法を目指した発生工学の研究を行っている。

2. コモンマーモセット

コモンマーモセット(以下マーモセットと略)はヒトと同じ真猿類に属するアマゾン川流域原産のサルである。マーモセットは体長 20~30cm、体重 300~400g と小型であるため実験動物としての取り扱いが比較的容易である。またマーモセットの大きな特徴として高い繁殖能力が挙げられる。マーモセットは生後 1~1.5 歳で性成熟に達し、繁殖を開始すると多くの場合、一回に 2~3 匹の仔を出産する。他の多くの哺乳類とは異なり、出産から約 10 日後に排卵して哺乳中であっても次の妊娠が成立し、約 155 日の分娩間隔で 1 年間に 4~6 匹の仔を出産する。雌マーモセットの生涯産仔数は概算で 40~80 匹となる。マカク類(アカゲザル、カニクイザル、ニホンザルなど)の霊長類の生涯産仔数が 10~12 匹であることと比較すると、マーモセットは顕著に高い繁殖能力を持つと言える。この特徴は実験動物のコロニーの確立が容易であることを示し、複数の動物を用いた繰り返し実験における結果の再現性を得るため、また遺伝子改変動物を作製において得られた founder animal からコロニーを確立するために重要な実験動物としての資質である。

マーモセットはこのように実験動物としての資質は兼ね備えているが、実際に実験動物として実験を行うためには、ゲノム情報、各組織での発現遺伝子の情報、各種モノクローナル抗体、病理組織学的情報など様々な研究ツールが必要となっている。これまでマーモセットでの研究ツールはほとんど整備されていなかったため、研究者が独自にこれらのツ

ールを作製する必要があった。そこで我々は、マーモセットの各組織で発現する遺伝子の cDNA ライブラリー、各種モノクローナル抗体、脳の MRI アトラス、ES 細胞などを作製して研究ツールの整備を行っている。

また実験動物を用いてのヒト疾患モデル動物の作出も重要であるが、マーモセットの場合、これまでに薬物投与によるパーキンソン病モデル、物理的改変による脊髄損傷モデル、脳梗塞モデル、心筋梗塞モデルなどの作出が可能となっているが、遺伝子改変モデルの作出はなされていない。遺伝子改変モデルの作出が可能になれば、様々な遺伝子疾患に対応する疾患モデルの作出への道が拓かれることにより、より高精度に新規治療法の有効性・安全性の検証が可能になると期待される。



図1. 小型霊長類コモンマーモセット マーモセットは小型で実験動物としての扱いが容易な動物である。

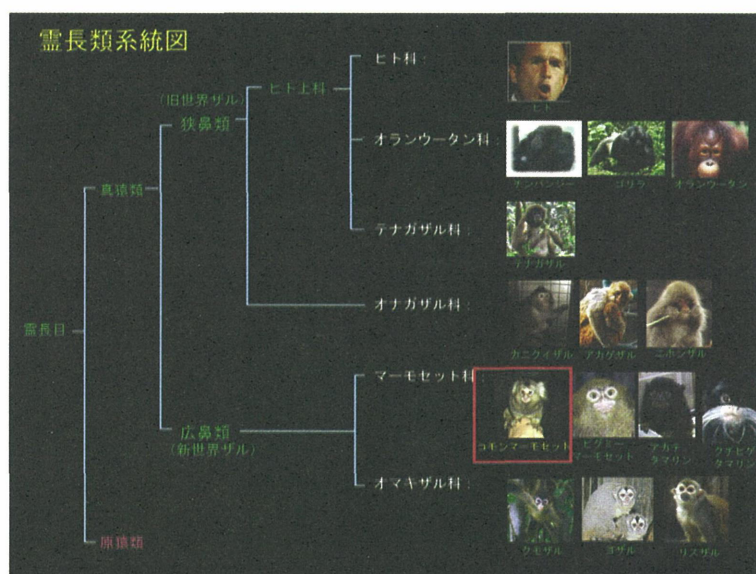


図2. 霊長類の系統図 マーモセットはヒトと同じ真猿類に属する、南アメリカ大陸原産の新世界ザルである。

3. マーモセットを用いた発生工学研究

遺伝子改変マーモセットを作出するためには、その基礎となる発生工学研究が重要である。マーモセットの発生工学研究は幾つかの報告があるものの、まだまだ基礎的検討が十分に なされているとは言い難いのが現状である。そこで我々は、受精卵採取、未受精卵をより多く得るための卵巣刺激法、未受精卵の体外成熟法および IVF 法、胚培養法、レシピエント動物の子宮内への胚移植法、胚への遺伝子導入法などの検討を行った。

a. 受精卵採取法

マーモセットから受精卵を採取する場合、倫理的、経済的な面に配慮して同一個体から低い侵襲度で繰り返し採卵可能にする必要がある。マーモセットの卵巣周期は約 28 日で、約 12 日間の卵胞期と約 16 日間の黄体期を繰り返す。また黄体期の後期に prostaglandin F_{2α} (PGF_{2α}) を投与することにより黄体退行を促すことが可能であり、PGF_{2α}投与から 11~13日後に排卵が認められる。雄雌のペアで飼育しているマーモセットの場合、PGF_{2α}投与から約18日後に採卵を行うことで、桑実胚~胚盤胞期の受精卵を得ることが可能である。我々はこの卵巣周期のメカニズムを応用することにより、PGF_{2α}によるマーモセット卵巣周期の人為調節による同一個体からの繰り返し採卵を可能にした。採卵方法については低侵襲な経皮子宮灌流による採卵を行うことにより、外科的採卵法でしばしば認められる卵巣と子宮の癒着の問題を回避している。

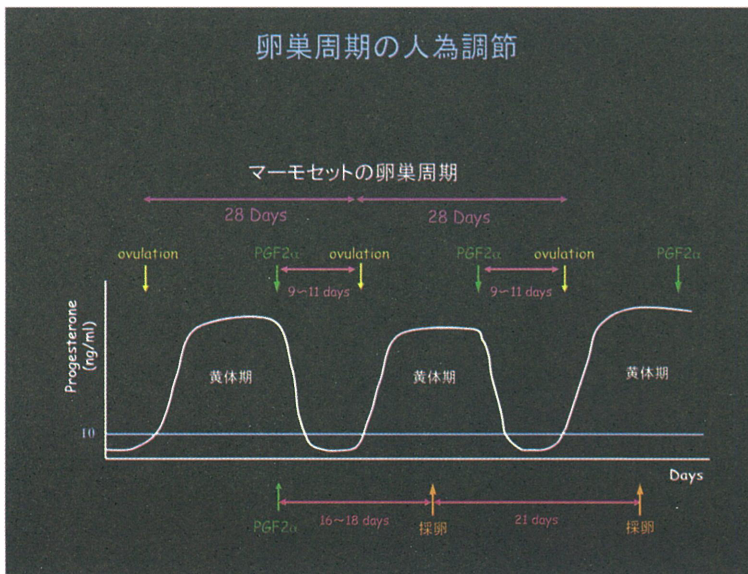


図3. 血中プロジェステロン濃度で示されたマーモセットの卵巣周期。マーモセットの卵巣周期を見ると、11~13日の卵胞期と17日~15日の黄体期から成る約28日である。PGF_{2a}により黄体退行が促されることから、人為的な卵巣周期の調節が可能である。

b. 卵巣刺激法

より多くのマーモセット受精卵を得る目的で、卵胞刺激ホルモン (FSH) およびヒト絨毛性性腺刺激ホルモン (hCG) を用いた卵巣刺激法の検討を行った。卵胞刺激ホルモンは以前に報告がある 5 日間の投与に加え、よりマーモセットの卵巣周期に近い 10 日間、11 日間の投与群とで得られた卵子数、体外成熟率、体外受精 (IVF) 率について比較検討を行った。その結果、FSH 投与 10 日および 11 日の群が 5 日の群比べ有為に採卵数、体外成熟

率が高いこと、IVF率は5日の群では0%であることから、FSH10日もしくは11日の投与が有効であることが明らかとなった。また最適hCGの投与時間について採卵の21時間前、24時間前および30時間前で検討を行った。その結果、21時間前投与群はその他の群に比べ有為に採卵個数が高いこと、体外成熟率およびIVF率は30時間前投与群が有為に高いことが示された。これらの結果から、IVF率および体外成熟率は低下するものの、より多くの未受精卵を得るという目的には21時間前の投与が最も適していると考えられる。

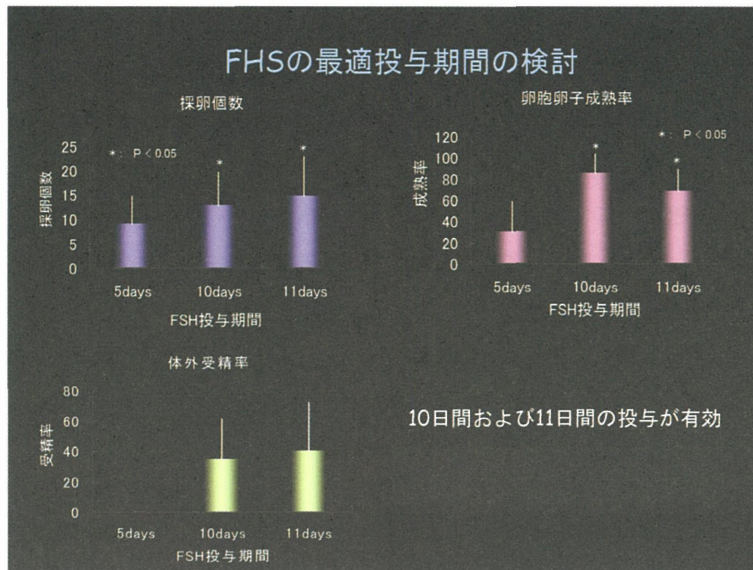


図4. 最適 FSH 投与期間の検討 FSH の投与期間 5 日、10 日、11 日群でそれぞれ採卵個数、体外成熟率、体外受精率をパラメータとして最適投与期間の検討を行った。

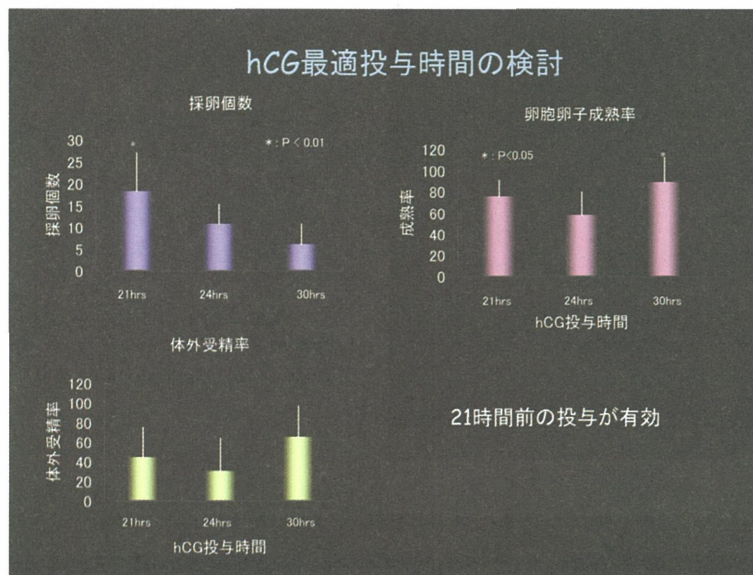


図5. 最適 hCG 投与時間の検討 hCG の投与時間を採卵の21時間前、24時間前、30時間前の3群でそれぞれ採卵個数、体外成熟率、体外受精率をパラメータとして最適投与期間の検討を行った。

c. IVF、胚培養、胚移植法

上記の卵巣刺激法の検討に基づいて決定した、11日間のFSH投与および採卵21時間前のhCG投与によって得られた卵胞卵子を用いた体外成熟、IVF、胚培養などに適した培地

および胚移植法の検討を行った。種々の体外成熟培地、IVF 培地、胚培養培地を用いて検討を行った結果、体外成熟率 76.0%、IVF 率 37.3%、胚盤胞までの発生率 4.27%であることが示された。また、これらの受精卵を PGF2a で未受精卵のドナー動物と卵巣周期を同期化したレシピエント動物へ移植した結果、出産率は 1.2%であった。自然交配による受精卵を用いた場合の出産率は 18.4%であった事と比較すると、これらの技術の更なる効率化が必要であると考えられる。また、レシピエント動物への受精卵の移植部位について、卵管および子宮内で比較したところ、出産率はそれぞれ 2.1%および 5.4%であったため、より技術的に移植が容易な子宮内への胚移植が適当であると考えられる。

d. マーモセット胚の凍結保存

受精卵を凍結保存し必要な時に融解して使用する事ができれば発生工学研究を効率的に進める事が可能となる。我々はこれまでに、凍結-融解後生存率が著しく低下し、多くの細胞が分化してしまうため凍結保存が困難だったマーモセット ES 細胞を効率的に保存するガラス化保存液 PEPeS の開発に成功している。この PEPeS を用いてマーモセット受精卵のガラス化保存が可能かどうか検討を行った。その結果、加温後（ガラス化保存の場合、融解と言わず加温と呼ぶ）の受精卵の形態は全て正常であること、この胚をレシピエント動物に移植した際の出産率が 35.7%であることを確認した。この出産率はコントロールの新鮮胚移植の出産率（25.0%）と有為な差は認められなかったため、PEPeS によるマーモセット胚の受精卵のガラス化保存は有効であることが明らかとなった。

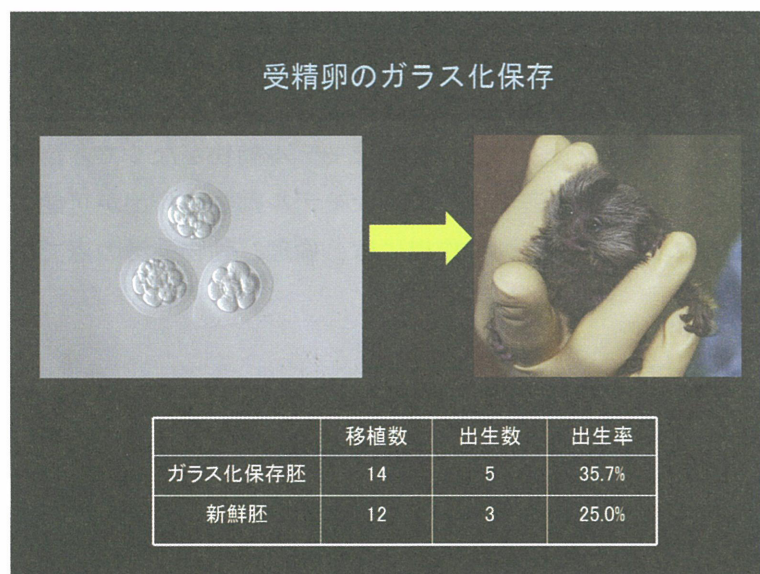


図6. マーモセット受精卵のガラス化保存後の個体発生能 PEPes によるマーモセット受精卵ガラス化保存後の形態的所見では 100%が正常であった（写真左）。これらの胚は個体発生能も維持していた（写真右および表）。

e. マーモセット胚への遺伝子導入法

哺乳類の受精卵への遺伝子導入法には幾つか方法がある。授精直後の前核期胚の前核へ DNA を顕微注入する方法、ウイルスベクターを胚に感染させる方法、遺伝子導入 ES 細胞を胚盤胞へ注入する方法などである。これらの方法のうち、ウイルスベクター法が、遺

伝子の導入効率が高いこと、全ての胚のステージに導入可能であること、高度な配送差技術が必要ないため汎用性が高いことなどから、第3世代シュードタイプ HIV レンチウイルスベクターによるマーモセット受精卵への遺伝子導入を試みた。その結果、97.7%という高い効率で導入遺伝子である GFP 遺伝子の発現が認められた。この方法により、自然交配受精卵でも IVF 卵でも効率に遺伝子導入を行うことが可能である。

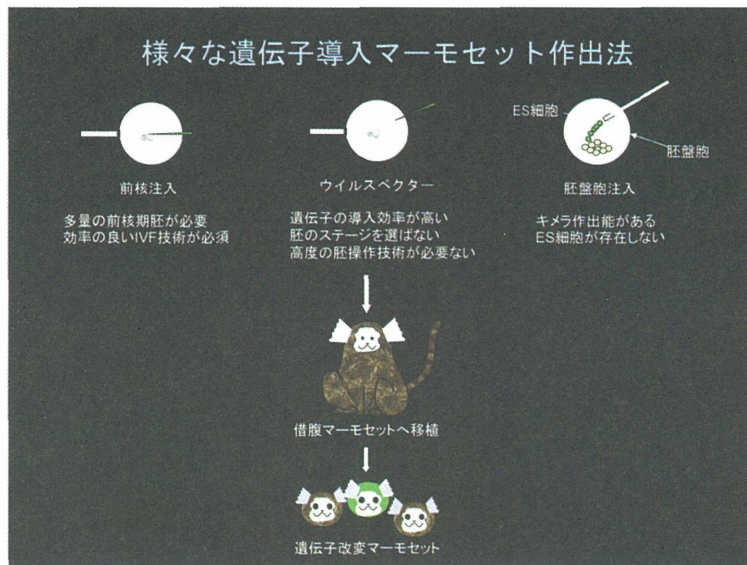


図7. 様々な遺伝子マーモセット作製法 遺伝子導入マーモセットを作製するためには、様々な方法が考えられるが、それぞれ長所・短所がある。

4. おわりに

効率などの面で改善の余地はあるものの遺伝子改変マーモセット作出に必要な基盤技術の全てのパーツは揃った。これらの技術を組み合わせることにより、ヒト疾患モデルマーモセットの作出への道が拓かれたと考えている。現在、有用なモデル動物がなくて、治療研究開発が難しいとされている疾病の研究を推進できるようなモデル動物の作出が可能になったことに期待する一方、霊長類の遺伝子改変動物作出には、倫理、動物愛護の点で慎重に行う必要があると考えている。

動物実験は社会的理解のうえに成り立つ

北海道大学大学院獣医学研究科

鍵山直子

kagiyama@vetmed.hokudai.ac.jp

1. はじめに

人や家庭動物(ペット)の健康増進は動物実験に負うところが大きく、動物実験は現時点で避けることができない。人に動物を利用する権利はないとする理念で病に苦しむ患者は救えない。それにもかかわらず、動物実験に対する批判が絶えないのはなぜか。基礎研究成果を臨床応用へと橋渡しする努力とともに、ヒトのモデルとなる実験動物の苦痛にも目を向ける必要がある。

2. わが国の法的枠組み

平成9年に神戸で発生した連続通り魔殺人事件で、加害者の少年が以前からネコなどを虐待していた事実が明らかになり、動物の扱いがヒトを含む生命体の扱いに影響するという判断がなされた。そして、昭和48年制定の「動物の保護及び管理に関する法律」が平成11年に「動物の愛護及び管理に関する法律」に改正された。人が飼育する実験動物、産業動物、展示動物、家庭動物がこの法の下に置かれているが、適切とされる飼育方法が異なるので、個別に「飼養保管基準」が定められている。

平成17年の改正で、科学上の利用に供される実験動物に3Rの原則が明文化された。飼養保管基準も改定され、実験動物の飼養保管のあり方がより明確になった。動物実験に関しては、科学技術を推進する省庁が3Rの原則を踏まえてそれぞれ動物実験基本指針を制定し、日本学術会議は詳細なガイドラインを策定した。これらは平成18年6月に一斉施行された^{1) 2)}。同ガイドラインは、“生命科学を推進するには、その必要性を最もよく理解している研究者が責任をもって動物実験等を自主的に規制することが望ましい”と述べている。

3. 研究者による動物実験倫理

“研究者による動物実験等の自主規制”には、動物実験は科学面のみならず倫理面も研究者が責任をもつべきとの意が込められている。日本の研究者が苦痛を感じる生命体(sentient being)としての研究材料をどう扱うのかに世界は注目している。だが科学と倫理は相容れないとする見解もあることを考えると、研究者の一人二役に危惧を感じないでもない。研究者と獣医師のポジティブなチームワークが社会的理解を得るための鍵を握るであろう。

このことに関し、米国には機関長による専任獣医師(attending veterinarian)の任命制度がある。専任獣医師は研究者への指導・助言を日常的に行うほか、動物の取扱いが

不適切であれば実験に介入し、中止を上申することもできる。そのかわり、当局の査察や外部検証 (AAALAC International) の際に矢面に立つのもこのような獣医師であり、権限に匹敵する重い責任を負っている。それに応えられる実力がなければ務まらない大役だが、日本では獣医師に対する教育が追いついていないように思う。

研究機関が動物実験を自主的に管理する点は米国も同じであるが、科学研究費の交付を申請する研究者の所属機関を NIH の担当部局 (OLAW) が厳しく指導する。機関長による自己点検・評価も徹底している。さらに、外部検証も NIH の上部行政機関によってオーソライズされている。実験動物の飼育管理は農務省が動物福祉法に基づいて年 1 回の抜き打ち査察を行うが (マウス、ラットを除く)、日常管理の実務に関しては科学者のグループが動物実験の視点からガイドラインを作成している。環境エンリッチメントに関しても然りである。

わが国は、“実験動物に望ましい飼育環境条件は、科学上の目的を勘案しながら管理者等が自主的に決めるべきものである” (日本学術会議ガイドライン) とし、「飼養保管基準」などに示された目標を達成する方法については法令によらず、各研究機関の創意工夫を尊重している。学会等が必要に応じて数値なども含む手引き書を自主的に編集すれば、社会的透明性はもっと高まるのではないか。なお、欧州諸国は基本的に実験動物と動物実験を区別せず、動物実験も含めて法規制をしている。英国では施設、実施者、実験計画に対する免許制を布くとともに、規制当局が査察を行う³⁾。

4. おわりに

動物実験は科学的であると同時に社会的にも適正でなければならない。このことについて 7 点アドバイスしたい。

- 1) 動物実験に係る法律をしっかりと勉強する。
- 2) 実験動物の飼養保管基準に従う。
- 3) 所管庁の動物実験基本指針と学術会議のガイドラインに従う。
- 4) 所属する研究機関の規程に従って実験計画の審査・承認を受ける。
- 5) 3R を法制度として捉えるのではなく、科学して実験計画に落とし込む。
- 6) 倫理面も含めて動物実験の適正化をリードするくらいの気概をもつ。
- 7) 科学者の世界に閉じこもらず、一般市民に向けてもっとアウトリーチする。

研究者には法令順守に加え、人に対するのと同じ道德観をもって実験動物に接し、動物実験に臨んでいただくことを願うものである。

引用文献

- 1) N. Kagiya, T. Ikeda and T. Nomura: In *in vivo* models of inflammation, Vol. 1. (Eds. Stevenson C. S., et al.) Birkhaeuser Verlag, Basel, p.187-191 (2006).
- 2) 鍵山直子. 腸内細菌学雑誌, 21, 1-8 (2007).
- 3) 鍵山直子. 日薬理誌, 131, 187-193 (2008).

独立行政法人放射線医学総合研究所
第3回 分子イメージング研究センターシンポジウム

脳科学における分子イメージングの将来像
基礎と臨床を繋ぐ橋渡し(トランスレーショナル)研究での分子イメージングの役割

主 催：独)放射線医学総合研究所
場 所：放射線医学総合研究所
重粒子治療推進棟大会議室
日 時：平成21年1月22日(木)
参加費：無 料

時 間	セッション及び演題	座長・演者
9:00- 9:05	開会の辞	米倉 義晴 (放医研 理事長)
9:05- 9:35	『高次脳機能と疾患モデル』 ・ 脳発達、認知機能と精神神経疾患モデル	座長：須原 哲也 (放医研) 大林 茂 (放医研)
9:35-10:05	・ 「やる気」の脳内メカニズム	南本 敬史 (放医研)
10:05-10:30	コーヒーブレイク	
10:30-10:55	『霊長類の新たな活用』 ・ 発達期の血液脳関門機能成熟	座長：入來 篤史 (理化学研究所) 張 明栄 (放医研)
10:55-11:20	・ 腫瘍研究上の有用性	辻 厚至 (放医研)
11:20-11:45	・ 脳科学における次世代のPET装置開発	山谷 泰賀 (放医研)
11:45-13:00	昼 食	
13:00-13:40	『脳科学と分子イメージング』 ・ 霊長類高次認知機能の進化を可視化する	座長：高田 昌彦 (東京都神経科学総合 研究所) 入來 篤史 (理化学研究所)
13:40-14:20	・ 脳・脊髄損傷後の機能回復過程の可視化	伊佐 正 (生理学研究所)
14:20-15:00	・ PETを用いた分子イメージング法による前臨床研究	塚田 秀夫 (浜松ホトニクス(株))
15:00-15:20	コーヒーブレイク	
15:20-16:00	『霊長類革新的モデル創出に向けて』 ・ ウイルスベクターを用いた霊長類脳への遺伝子導入：遺伝子 治療研究への応用	座長：伊佐 正 (生理学研究所) 高田 昌彦 (東京都神経科学総合 研究所)
16:00-16:40	・ 新しい遺伝子操作技術による疾患モデルの可能性	佐々木 えりか (実験動物中央研究所)
16:40-17:20	・ 動物実験は社会的理解のうえに成り立つ	鍵山 直子 (北海道大学大学院)
17:20-17:30	閉会の辞	辻井 博彦 (放医研 研究担当理事)
17:30-19:00	懇談会	

第3回分子イメージング研究センターシンポジウム
脳科学における分子イメージングの将来像
基礎と臨床を繋ぐ橋渡し(トランスレーショナル)研究での分子イメージングの役割
平成21年3月刊行

発行 独立行政法人 放射線医学総合研究所
郵便番号 263-8555
住所 千葉県千葉市稲毛区穴川4丁目9番1号
連絡先 独立行政法人 放射線医学総合研究所
企画部 人材育成・交流課
TEL : 043-206-3024 FAX : 043-206-4061
メールアドレス kokukou@nirs.go.jp
ホームページ <http://www.nirs.go.jp>
印刷 株式会社 さくら印刷

Printed in Japan

©2009 独立行政法人 放射線医学総合研究所
ISBN978-4-938987-58-9