

京都大学教育研究振興財団助成事業
成 果 報 告 書

平成28年11月10日

公益財団法人京都大学教育研究振興財団

会 長 辻 井 昭 雄 様

所属部局・研究科 医学研究科 臨床創成医学分野

職 名・学 年 博士課程4年

氏 名 藤 川 理 沙 子

助 成 の 種 類	平成28年度 ・ 研究者交流支援 ・ 在外研究短期助成		
研 究 課 題 名	精神疾患のメカニズムを明らかにするため、オプトジェネティクスを習得する		
受 入 機 関	Program in Neurosciences and Mental Health, The Hospital for Sick Children, Toronto, Canada		
渡 航 期 間	平成28年4月22日 ～ 平成28年10月13日		
成 果 の 概 要	タイトルは「成果の概要／報告者名」として、A4版2000字程度・和文で作成し、添付して下さい。「成果の概要」以外に添付する資料 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> 有()		
会 計 報 告	交付を受けた助成金額	1,015,000円	
	使用した助成金額	1,015,000円	
	返納すべき助成金額	0円	
	助成金の使途内訳	航空賃、保険、その他交通費	300,000円
		宿泊料の一部、日当、予防注射料	715,000円
当財団の助成について	(今回の助成に対する感想、今後の助成に望むこと等お書き下さい。助成事業の参考にさせていただきます。) 海外で生活を立ち上げるには予想以上にお金が掛かりましたが、貴財団の助成により短期在外研究を行うことができました。研究領域に制限が無く、在外研究や国際会議等、多岐にわたるご支援をくださり、非常に素晴らしい財団だと感謝致しております。本当にありがとうございました。		

成果の概要 / 藤川理沙子

この度平成 28 年度貴財団の助成を受け、「精神疾患のメカニズムを明らかにするため、オプトジェネティクスを習得する」ことを目的とし、カナダ The Hospital for Sick Children の Frankland 研究室で 6 カ月間の短期在外研究を行いましたので、報告させていただきます。

脳での機能が明らかでない蛋白 EPRAP に着目した検討を行っている。これまでに、EPRAP がミクログリアとアストロサイトに発現し、脳で炎症促進に働くことを報告した (Fujikawa et al., *Am J Pathol.*, 2016)。さらに博士課程 1~3 回生次に医学研究科の行動解析室でマウスの網羅的行動解析を実施し、EPRAP 欠損マウスが精神疾患様の行動異常を示すことを明らかにした。しかし、行動解析のみでは精神疾患に関係する分子メカニズムを解明できないことが問題であった。そこで、行動実験に組み合わせて精神疾患のメカニズムを更に追及できる技術と知識を習得したいと考え、オプトジェネティクス技術を習得することを目標として在外研究を行った。オプトジェネティクスは、特定のニューロンに遺伝子工学的手法を用いて光活性化イオンチャネルを強制発現させた後、光照射により神経活動を制御できる技術で、ネイチャーメソッドにより「メソッド・オブ・ザ・イヤー2010」に選出されている。

Frankland 研究室は、神経新生の促進が記憶の忘却を促すことを明らかにするなど、神経新生や記憶の研究で世界の脳研究をリードしている (Akers et al., *Science*, 2014)。世界各国から優秀な研究者が集まる大きな研究室であり、オプトジェネティクス等の最新の神経研究技術を確認している。当研究室でブレインマップ作成プロジェクトに参加し、オプトジェネティクス技術を習得した。

1-2 ヶ月目：ウイルスベクター導入の技術習得・神経新生研究の見学

技術の確認として、オプトジェネティクスを用いて記憶との関連が多数報告されている海馬歯状回の神経をターゲットとした。歯状回の神経にウイルスベクターを導入し、脳切片の蛍光顕微鏡観察により GFP の発現を確認することで、オプトジェネティクス手術の練習をした。同時に、ラボメンバーの実験を見学し、神経新生研究を学んだ。小型顕微鏡を用いたイメージング実験など、オプトジェネティクス以外の最先端研究も見学することができた。

3-6 ヶ月目：オプトジェネティクスの技術習得

Frankland 研究室で既に確立されている Fear Conditioning test 時の光照射 (Restivo et al., *Neurosci.*, 2015) を用いて、オプトジェネティクスと行動実験の連動、コンピュータシステムを理解した。まず、光刺激をするためにマウス脳に埋め込む「オプトロード」を作成した。やすりで切断面を磨き、光の検査をする、2 日がかりの作業だった。行動実験では、薬剤投与により活性化した神経特異的に活性化イオンチャネルを発現する遺伝子改変マウスを用いた。ウイルスインジェクションの要領で、マウスの歯状回にオプトロード埋め込み手術をした。手術の数日後、Fear Conditioning Test でマウスに複数回の電気ショックを与えた直後にタモキシフェンを投与し、電気ショック時に活性化した神経細胞特異的に活性化イオンチャネルを誘

導した。数日後、電気ショックを与えた箱とは異なる環境にマウスを置き、オプトジェネティクスによる歯状回の光刺激を行った。マウスは無刺激時には歩き回っていたが、光刺激時には恐怖を感じた時に見られる「すくみ反応」を示し、歯状回の神経が恐怖記憶を保持していることが明らかとなった。複数回この実験を実施し、オプトジェネティクス技術を習得することができた。

技術や知識のみならず、ラボメンバーとのディスカッションや日常会話からも多くを学び、非常に楽しい在外研究となった。Dr. Frankland は世界中を飛び回り、非常に忙しい先生であったが、少しでも時間があると実験室を歩き回り、「実験はどう？」と声掛けをしてくださった。常に研究のことを考えて生徒のやる気を引き出す、PI としての生き方を学んだ。ラボミーティングも和やかな雰囲気だったが、発表中にも質問が飛び交い、濃密なディスカッションをしていた。研究室の学生は 20 代前半の若い学生が多かったが、皆しっかりとした目標を持ち、自由な発想で明るく楽しく研究をしていた。多民族国家のカナダは全てを受け入れる包容力があり、ブルージェイズの観戦をしたり、ホームパーティーに参加したり、実験後も皆と一緒に楽しい時間を過ごした。せっかくカナダに来たのだから、後悔の無いよう思い切りやる！と心に決めていた為、積極的に全てのことに取り組み、有意義な留学生生活を過ごすことができた。

最後に、このような機会を与えてくださいました貴財団に、心からお礼を申し上げます。本短期在外研究を通じて、技術を得ただけでなく、多くの人との出会いや文化に触れることで、研究者としての自分自身を見つめ直し、これからの日本の研究について考える良い機会となりました。本当にありがとうございました。