

戦略的創造研究推進事業 CREST
研究領域「光の特性を活用した生命機能の時空間
制御技術の開発と応用」
研究課題「記憶構造を解明する新しい光操作・画
像法の開発」

研究終了報告書

研究期間 2016年10月～2022年3月

研究代表者：河西 春郎
(東京大学大学院医学系研究科 教授)

§ 1 研究実施の概要

(1) 実施概要

学習・記憶は日々の経験から我々の心を形作っていく。この記憶はどの様に脳に蓄えられていくのだろうか。これまでの研究から、それは脳の神経回路の結合によって作られ、保持されている様子がわかって来ている。この結合を担うシナプスには可塑性があり、大脳においては、特に、スパインシナプスという増大・収縮運動をするシナプスの形態変化によって、速く、長くまた密に記憶が蓄えられると考えられて来た。我々は、最近、記憶によって増大したシナプスを蛍光標識するプローブを開発することに成功した。更に、工夫することにより、この標識されたスパインシナプスに光照射をすることで、増大したスパインシナプスを収縮させることに成功した。これにより、学習・記憶へのシナプスの関与を直接証明した上で、その記憶素子の記憶への関与を具体的に検証し得る段階に入った。

河西 G では光操作を用いる事により、側坐核における D2 受容体の機能と精神症状の関係の解明、ケタミンの抗うつ作用機構への前頭葉シナプス新生の役割の解明、及び、作業記憶を担い得る新奇なシナプス機構の発見を達成した。

山森 G では標識プローブの化学的誘導法の改良を進めた。

石井 G では、標識回路の画像的解析法の開発を行うだけでなく、河西 G で新規に見つかった D2 受容体機構の細胞シグナルや汎化弁別回路モデルの構築を行った。

樋口 G では、脳の神経回路およびその活動を非侵襲的に PET 計測できる基盤技術を確立し、広域2光子顕微鏡の光刺激・観察系の開発において成果につながった。

(2) 顕著な成果

<優れた基礎研究としての成果>

1. 新たな記憶構造の発見

概要:

スパイン増大を記憶構造として解析を進めてきた結果、この増大により、軸索終末が押され、その結果、開口放出が増強し、その効果は 20-30 分持続することを見出した。開口放出が増強するのは、開口放出のエンジン蛋白である SNARE の複合化が促進するためと考えられる。この様に、新しい記憶構造の候補を発見した (Ucar et al., *Nature* 600:686, 2021)。

2. D1/D2 受容体による汎化弁別学習の発見

概要:

光プローブが有効に使える行動実験として、条件学習行動を開発してきた結果、報酬学習では著しい汎化がドーパミン発火を検出して側坐核 D1 受容体依存的に起きるが、弁別学習はドーパミン発火停止を検出して D2 受容体依存的に起き、この基盤に D2 細胞のスパイン増大があることが光刺激を用いて推定された。精神症状を起こすアンフェタミンを投与すると弁別学習は障害され、抗精神薬である D2 阻害剤で顕著な回復が見られた。こうして、弁別学習と D2 受容体の関係が明らかになった (Iino et al., *Nature* 579:555-560, 2020)。

3. ケタミンの長期的抗うつ作用と前頭葉のスパイン新生

概要:

NMDA 受容体を阻害する麻酔薬ケタミンの一過性の投与は SSRI が効かないうつ症状に対して早期及び持続性の抗うつ作用を示す。この持続相において前頭葉スパインの新生が起きていることがわかっていた。そこで、このスパインを AS-PaRac1 で標識して、ケタミン作用後に新生スパインを光で除去すると、抗うつ作用が消失した (Moda-Sava et al., *Science* 364:eaat8078, 2019)。

<科学技術イノベーションに大きく寄与する成果>

1. 高精細三次元画像処理法(2光子 CT法)の開発

概要:

2光子イメージング画像のデノイズ・ボケ除去を行う深層学習器である Mu-net の開発に成功した (Lee et al., *Neural Network* 125:92-103, 2020)。また、三方向からの2光子イメージング画像を深層学習器上で統合し、三次元レジストレーション・ボケ除去を行う TRD-net の開発に成功した (Lee, et al., submitted)。こうした三次元画像処理技術は、2光子イメージングに限らず多様な顕微鏡計測に適用可能であり、ソフトウェアは論文採択後に公開する。

2. D2 弁別機能を入れた強化学習 AI(OVaRLAP)の開発

概要:

線条体では D1/D2 細胞が汎化/弁別学習と呼ばれる2つの学習スキームを行っている(河西 G が昨年度報告)¹⁾ ことを取り入れた強化学習モデルを構築した。衝突すると負の報酬を受ける壁で囲まれる迷路上でのナビゲーションタスクにおいて、効率よく壁を回避しつつ安全なゴールへ辿り着くことが確認された。一方、D2 学習が阻害されると報酬の得られない場所に向かうという特異な行動を繰り返す、精神疾患陽性症状を模倣した (Fujita et al., 2020)。

3. [¹⁸F]FE-TMP 開発と脳回路 PET イメージング法の開発

概要:

レポーター分子 ecDHFR に対する新規 PET リガンド [¹⁸F]FE-TMP を開発し、従来型の [¹¹C]TMP と比べて高コントラストで PET に ecDHFR を画像化できる事を実証した。また、活動依存性 RAM プロモーターで ecDHFR を発現させる事で、脳海馬領域における神経活動の変化を PET で捉える事に成功した (Shimojo et al., *EMBO J*, 2021 40(22):e107757)。

<代表的な論文>

1. Iino, Y., Sawada, T., Yamaguchi, Tajiri, M., K., Ishii, S., Kasai, H.* & Yagishita, S.* (2020) Dopamine D2 receptors in discrimination learning and spine enlargement. *Nature* 579: 555-560. DOI: 10.1038/s41586-020-2115-13.

概要:

光プローブが有効に使える行動実験として、条件学習行動を開発してきた結果、報酬学習では著しい汎化がドーパミン発火を検出して側坐核 D1 受容体依存的に起きるが、弁別学習はドーパミン発火停止を検出して D2 受容体依存的に起き、この基盤に D2 細胞のスパイン増大があることが光刺激を用いて推定された。精神症状を起こすアンフェタミンを投与すると弁別学習は障害され、抗精神薬である D2 阻害剤で顕著な回復が見られた。こうして、弁別学習と D2 受容体の関係が明らかになった。

2. Ucar, H., Morimoto, Y., Watanabe, S., Noguchi, J., Iino, Y., Yagishita, S., Takahashi, N. & Kasai, H.* (2021). Mechanical actions of dendritic-spine enlargement on presynaptic exocytosis. *Nature* 600:686-689. DOI: 10.1038/s41586-021-04125-7.

概要:

スパイン増大を記憶構造として解析を進めてきた結果、この増大により、軸索終末が押され、その結果、開口放出が増強し、その効果は 20-30 分持続することを見出した。開口放出が増強するのは、開口放出のエンジン蛋白である SNARE の複合化が促進するためと考えられる。この様に、新しい記憶構造の候補を発見した。

3. Shimojo M, Ono M, Takuwa H, Mimura K, Nagai Y, Fujinaga M, Kikuchi T, Okada M, Seki C, Tokunaga M, Maeda J, Takado Y, Takahashi M, Minamihisamatsu T, Zhang MR, Tomita Y, Suzuki N, Maximov A, Suhara T, Minamimoto T, Sahara N, Higuchi M. (2021). Genetically targeted reporter imaging of deep neuronal circuit in the mammalian brain. *EMBO J*, 2021 40(22):e107757.

概要:

レポーター分子 ecDHFR に対する新規 PET リガンド [¹⁸F]FE-TMP を開発し、従来型の [¹¹C]TMP と

比べて高コントラストで PET に ecDHFR を画像化できる事を実証した。また、活動依存性 RAM プロモーターで ecDHFR を発現させる事で、脳海馬領域における神経活動の変化を PET で捉える事に成功した。

§2 研究実施体制

(1) 研究チームの体制について

① 「河西」グループ

研究代表者:河西 春郎(東京大学大学院医学系研究科 教授)

研究項目 記憶光プローブの開発と応用

- ・新規記憶光操作プローブの開発
- ・記憶回路標識標本観察法の開発
- ・記憶回路標識操作タスクの構築

② 「山森」グループ

主たる共同研究者:山森 哲雄(理化学研究所脳科学総合研究センター チームリーダー)

研究項目 記憶光プローブの発現法の開発

- ・記憶光プローブ遺伝子発現法の改良
- ・記憶光プローブ発現遺伝子改変動物の作成

③ 「石井」グループ

主たる共同研究者:石井 信(京都大学大学院情報学研究科 教授)

研究項目 2光子 CT (Computed Tomography) 法の開発

- ・2光子 CT 画像処理法の開発
- ・シミュレーションによる記憶・情動学習機構の解明

④ 「樋口」グループ

主たる共同研究者:樋口 真人(量子科学技術研究開発機構放射線医学総合研究所 部長)

研究項目 記憶光プローブを用いた非侵襲画像法の開発

- ・PET による記憶細胞や記憶シナプスの可視化法の確立
- ・光操作による PET イメージングの動態解析

(2) 国内外の研究者や産業界等との連携によるネットワーク形成の状況について

河西 G と石井 G では学術振興会の世界トップレベル研究拠点 WPI (東京大学 IRCN:ニューロインテリジェンス国際研究機構)に参画し、画像解析や回路解析の共同体制について、国際的なネットワーク形成を進めている。

山森 G は研究チーム外との連携・協働については、DDn プローブ公開時に具体的に検討したい。

石井 G では、2019 年 3 月に「システム神経科学スプリングスクール」として、世界的に著名な研究者(UCL Kenneth Harris 博士、本 CREST の山森哲雄博士、など)を招聘し、若手研究者および学生に対する国際的な教育プログラムを実施した。

樋口 G は、京都大学霊長研との共同研究として、脳内遺伝子発現レポーターイメージングや、化学遺伝学的な分子発現制御技術の、霊長類脳における応用性を検証している。覚醒動物撮像技術については、日本メジフィジックス社との連携で実用化や応用を進めている。レポーターを利用した PET による神経回路の可視化技術は、樋口が主催する「量子イメージング創薬アライアンス・脳とこころ」において、製薬企業との連携で精神神経疾患創薬に活用可能である。