

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 医療分野国際科学技術共同研究開発推進事業
戦略的国際科学技術協力推進事業(SICP) 日本-英国 研究交流
(英語) International Collaborative Research Program
Strategic International Research Cooperative Program (SICP)

研究開発課題名： (日本語) 「シナプスオプトジェネティクスによる正常・精神疾患モデル動物の
大脳記憶回路の研究」

(英語) Investigation of cortical memory circuits in normal and disease model
mice using synaptic optogenetics.

研究開発担当者 (日本語) 東京大学大学院医学系研究科 教授 河西春郎

所属 役職 氏名： (英語) The University of Tokyo, Professor, Haruo Kasai

実施期間： 平成 28 年 4 月 1 日 ~ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語)

開発課題名： (英語)

研究開発分担者 (日本語)

所属 役職 氏名： (英語)

II. 成果の概要 (総括研究報告)

学習や記憶を担う大脳のシナプスを蛍光で標識し、この標識を目印に青色光を照射すると学習や記憶により増大あるいは新しく作られたシナプスを消失することのできる光遺伝学プローブを開発しました。大脳皮質の数百億もの神経細胞は神経細胞同士の接点であるシナプスを介して情報をやり取りしています。特に、グルタミン酸作動性シナプスの多くは樹状突起スパインという小突起構造上に形成されます。スパインは記憶・学習に応じて新生・増大し、それに伴いシナプスの伝達効率が増加するため、脳の記憶素子と考えられてきました。しかし、記憶を獲得する際に、実際に使われている多数のスパインの分布を同定し、操作できる技術が存在しなかったため、スパインが本当に記憶に関与しているか否かを検証する方法はありませんでした。そこで我々は、学習や記憶の獲得に伴いスパインが新生・増大することに注目しました。そして、学習や記憶の獲得に伴って新生・増大するスパインのみを標識し、かつ、青色光を照射す

ると標識されたスパインが消失、あるいは縮小するプローブを開発しました。この記憶プローブを導入したマウスに運動学習を促して運動記憶を獲得させるとスパインが新生・増大しました。その後、大脳皮質へ青色レーザーを照射し、新生・増大したスパインのみを消去すると、マウスの運動成績が学習前に比べて大幅に低下し、先に獲得された運動記憶が消えたことが示唆されました。この結果は、スパインの新生・増大が学習や記憶の獲得に必須であることを意味します。本研究は、平成27年9月17日に国際科学誌 Nature に掲載されました(Nature 525:333)。

また、この技術を英国のチームである Kevin Fox 研究室が使うことを支援してきました。この共同研究の過程で、シナプスの「揺らぎ」という新しい概念に関する我々の研究と彼らの研究が関係することがわかり、我々の論文にも共著者として参加してもらい、その説明法について話し合いました。また、彼らの研究において得られたデータを「揺らぎ」概念で理解することを試みています。それぞれの研究室では、二つの相補的な精神疾患モデル動物について研究を行っており、ちょうど相補的な結果が得られ、当初の計画にはなかった有益な研究方向が開拓されました。

We have developed a genetic fluorescent probe that can label newly enlarged or generated synapses mediating learning and memory in the mouse motor cortex, and then erase them when irradiated with blue light. This new genetic probe will be a powerful tool for deepening our understanding of brain function and learning in healthy individuals and in disease states and has the potential to contribute significantly to understanding the mechanisms of dementia and post-traumatic stress disorder.

In the cerebral cortex several ten billions of neurons are connected by synapses forming elaborate neuronal networks. Notably, most excitatory glutamatergic synapses are formed on spiny protrusions that project out from neurons called dendritic spines, and the bigger dendritic spines there are the stronger synaptic connectivity. Dendritic spines are dynamically modifiable through learning and memory resulting in changes in synaptic connectivity, and as a result are thought to be memory elements of the brain. However, this hypothesis has not been experimentally proven because there was no method to identify and alter large number of spines involved in memory formation.

Professor Haruo Kasai and his research group at the University of Tokyo Graduate School of Medicine's Center for Disease Biology and Integrative Medicine have now developed optical probes which selectively label enlarged or newly generated spines, and, in addition, shrink and eliminate the labeled spines by blue laser irradiation to the living brain. Since this probe is genetically encoded, it was incorporated into most neurons in the mouse motor cortex. In the experiment, mice were trained on a motor task to improve their performance, creating new dendritic spines and enlarging existing ones. Irradiating the motor cortex with blue laser light then eliminated learning-induced spine changes, resulting in reversal of the task performance and indicating that the spine changes are necessary for memory formation.

“This new technique allows us to visualize and control dendritic spines in action as the storage elements of memory for the first time,” says Professor Kasai. He continues, “We found that spines involved with memory formation were distributed densely in a relatively small fraction (10-20%) of all neurons in the cortex. This suggests that each

memory is recorded in a specific strongly connected circuit.” The “synaptic optogenetics” probe developed by the group will be a powerful tool for further clarifying brain function in normal and disease states.

This research was published in the 17 September 2015 edition of the British journal *Nature* (Nature 525:333). We are improving this technique to label not only synapses but also local memory circuits, including axons, soma and dendrite, in the rest of the fiscal years 2016.

We have been giving assistance to the usage of the synaptic optogenetic probes in the British partner, Professor Kevin Fox laboratory. During this collaboration, the notion of “intrinsic fluctuations,” which has been pursued in our laboratory, has also become a key issue in interpreting the data of the mutant studied in Fox’s laboratory, and we have collaborated in writing one paper aiming at better explanation of its unfamiliar characteristics. The two mutants were models of distinct spectrums of mental disorders, and we are going to prepare two manuscripts which deal with synaptic fluctuations in complementary types of model animals, which was not planned as our original collaborations.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 5 件、国際誌 3 件）

1. Hayashi-Takagi, A., Yagishita, S., Nakamura, M., Shirai, F., Wu, Y., Loshbaugh, A.L., Kuhlman, B., Hahn, K.M. and Kasai, H. (2015). Labelling and optical erasure of synaptic memory traces in the motor cortex. *Nature* (Article), 525:333-338.
2. Takahashi, N., Sawada, W., Noguchi, J., Watanabe, S., Ucar, H., Hayashi-Takagi, A., Yagishita, S., Ohno, M., Tokumaru, H. & Kasai, H. (2015). Two-photon fluorescence lifetime imaging of primed SNARE complexes in presynaptic terminals and beta cells. *Nature Communications* 6:8531.
3. Noguchi, J., Hayama, T., Watanabe, S., Ucar, H., Yagishita, S., Takahashi, N. & Kasai, H. (2016) State-dependent diffusion of actin-depolymerizing factor/cofilin underlies the enlargement and shrinkage of dendritic spines. *Scientific Reports* 6: 32897.
4. 柳下 祥、河西 春郎 (2015) 情動と行動学習の細胞分子機構、分子精神医学、15:30-37.
5. 飯野 祐介、柳下 祥、河西 春郎 (2015) ドーパミンの脳内報酬作用機構、臨床免疫、印刷中
6. 柳下祥、河西春郎 (2016) ドーパミンと可塑性、Annual Review 神経 2016: 7-13 (中外医学社) .
7. 河西春郎 (2016) 記憶に使われたシナプスを標識し消去する光遺伝学の確立、実験医学、34:587-590.
8. 河西春郎 (2016) 記憶の可視化と消去が可能に：記憶スパイン特異的プローブの新開発、細胞工学、35:234-235.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. H. Kasai & S. Yagishita (2014.10.17.) A critical time window for dopamine actions on the

- structural plasticity of dendritic spines. Japan Biochemical Society (Kyoto).
2. H.Kasai (2014.10.27) Functional connectomic analysis of cell assemblies via synaptic optogenetics. KIST symposium (Seoul).
 3. S.Yagishita, A.Hayashi-Takagi, G.C.R. Ellis-Davies, H.Urakubo, S.Ishii, and H. Kasai (2014.12.6) A critical time window for dopamine actions on the structural plasticity of dendritic spines, “Vision, Memory, Thought: How Cognition Emerges from Neural Network” (東京)
 4. 柳下祥 (2015.1.17) 報酬学習のシナプス可塑性基盤, 自然科学研究機構新分野創成センターシンポジウム (岡崎).
 5. H. Kasai (2015.1.24.) 神経可塑性のイメージング、大日本製薬シンポジウム (東京)
 6. H. Kasai (2015.2.12) Imaging and optogenetics of dendritic spines. BSI seminar series (Wako).
 7. H. Kasai (2015.3.26) Dendritic spine dynamics underlying animal behaviors, Keynote speaker, Academia Europea Symposium (Cardiff, UK).
 8. 河西春郎、林(高木) 朗子、柳下祥、根岸真紀子 (2015.4.12) 脳の記憶素子である樹状突起スパインの2光子顕微鏡によるイメージング, 第29回日本医学会総会 (京都).
 9. 柳下 祥,河西 春郎 (2015.7.30) ドーパミンの側坐核中型有棘細胞への作用機構, 第38回日本神経科学大会 (神戸)
 10. 河西春郎 (2015.11.18) 脳シナプスの生理と精神神経疾患、青森ドーパミン研究会 (青森)
 11. Haruo Kasai (2016.2.14) Synaptic optogenetics. “Neocortical organization 3” (Tokyo)
 12. Haruo Kasai (2016.3.3) Structural Plasticity of Dendritic Spines in NAc for Reinforcement Learning, Gordon Conference (Ventura, CA, USA).
 13. Haruo Kasai (2016.3.22) Plasticity and fluctuations of dendritic spines studied with synaptic optogenetics. iCeMS, MRC and AMED workshop (Cambridge, UK).
 14. Haruo Kasai, Sho Yagishita, Yusuke Iino, Yosuke Nakazato, Yoshitomo Maeda (2016.5.19) Rapid regulations of spine plasticity by dopamine in the D1 and D2 projection neurons in the nucleus accumbens. Cold Spring Harbor Asia Conference (Suzhou, China).
 15. Haruo Kasai (2016.7.20) Plasticity and fluctuations of dendritic spines in mice models of autism and schizophrenia. Symposium in JNS meeting 2016 (Yokohama).
 16. Haruo Kasai (2016.11.13) Dendritic spines shaping memory and behaviors, Special Lecture, Society for Neuroscience (San Diego, USA).
 17. Haruo Kasai (2016.12.8) Spine synapses shaping memory and behavior, Lecture, Nanyang Technical University (Singapore).

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 前田 義智、柳下祥、河西 春郎 (2015.2.7) ドーパミンによる報酬作用の脳内における仕組み, 第7回脳プロ公開シンポジウム (東京).

(4) 特許出願

なし