

令和 5 年 6 月 16 日現在

機関番号：12601

研究種目：新学術領域研究(研究領域提案型)

研究期間：2017～2021

課題番号：17H06312

研究課題名(和文)記憶・情動における多領域脳情報動態の光学的計測と制御

研究課題名(英文)Optical Measurement and Control of Multiareal Brain Information Dynamics in Memory and Emotional Behavior

研究代表者

尾藤 晴彦(Bito, Haruhiko)

東京大学・大学院医学系研究科(医学部)・教授

研究者番号：00291964

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 175,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究により、1) Arc エンハンサー・プロモーター技術を用いた記憶痕跡細胞集団の標識と操作技術が向上した。また2) Ca^{2+} 応答性を強化した最高性能 Ca^{2+} センサーXCaMPを創出しin vivo 多色計測技術を飛躍的に進展させた。3)CaMK-CREB-Arc経路のin vivo生理学・病理学における意義を解明した。これら成果は、すべて申請者が世界に先駆けて構築した実験系システムによってもたらされたものであり、脳情報動態学の創成に大きく貢献した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究を通じ、記憶転送や記憶痕跡創発に寄与する脳情報動態・情報処理解明に資する研究手法の開発がなされたことは特筆されることである。すべて申請者らが世界に先駆けて構築した実験系であり、今後、全く新たな脳情報動態学の創成の端緒となることが期待される。

研究成果の概要(英文)：This research has led to the following outcomes: 1) this improved the technology for labeling and manipulating memory trace cell populations using Arc enhancer-promoter technology. 2) This helped create of the highest performance Ca^{2+} sensor, XCaMP, with enhanced Ca^{2+} responsiveness and linearity, which has dramatically advanced in vivo multicolor Ca^{2+} sensing technology; 3) This has elucidation of the significance of the CaMK-CREB-Arc pathway in in vivo physiology and pathology. All of these achievements were made possible by the development of first-in-kind experimental systems established in this grant, and have contributed greatly to advancing the field of brain information dynamics.

研究分野：神経生化学

キーワード：脳情報動態 カルシウム 記憶 情動

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

無麻酔・自由行動下で大幅な記憶痕跡再編時における神経活動を海馬・扁桃体・大脳皮質でそれぞれライブ可視化し、光学的に操作することにより、記憶参照を実現する脳情報動態を規定する多領域連関と並列処理の基本構造を明らかにしていくための方法論を確立し、in vivo 生理学・病態生化学的知見を探索する。

2. 研究の目的

本計画では、関係の深い、以下の3点の研究項目に焦点を絞り、計画研究を遂行していく。

1) 活性化細胞集団と記憶痕跡を高効率にて標識する活性化回路標識操作法 E-SARE や Arc promoter などを活用して、海馬・扁桃体から大脳皮質に至る広域回路における脳情報動態の実体と病態における破綻を解明する。

2) 記憶制御における大脳皮質記憶痕跡の活動を制御する興奮性・抑制性細胞の活動バランスを、記憶課題遂行中にライブ Ca²⁺イメージング可能なカルシウムセンサーを開発し、高速可視化実験の条件検討を進める。

3) 記憶・情動における多領域間連関・並列処理を司る CaMK-CREB-Arc シグナル動態の意義を明らかにしていく。

3. 研究の方法

1) Arc promoter ならびに、神経活動応答性エレメント SARE の構造に立脚した強化型人工プロモータ E-SARE に基づき、領域特異的標識操作用のウィルスベクター、ならびに脳全体での記憶痕跡標識操作を実現する遺伝子改変マウスを作出し、多領域の活性化細胞集団の標識・操作法を完成させる。これを各種記憶動態計測、病態モデルに適用し、細胞メカニズム解明につなげる。

2) 覚醒下マウスにて、大脳皮質前頭前野の多細胞種の2光子顕微鏡イメージングやファイバーフォトメトリー計測を実現するために不可欠な多重 Ca²⁺イメージング蛍光プローブと解析手法を確立する。

3) CaMK-CREB-Arc シグナル動態を in vivo で可視化し、さらにその動態・変動を操作可能な光感受性プローブを開発し、in vivo 生理学・病態生化学における意義を探索する。

4. 研究成果

上記の研究に基づき、以下のような成果を得た。

(1) Arc promoter は活性化細胞集団と記憶痕跡を高効率にて標識する。そこで、記録時に活性化細胞集団を Arc promoter 活動亢進を指標に選択的に標識可能な遺伝子改変マウスを作出した。恐怖条件付け記憶課題に基づき、大脳皮質前頭前野ならびに、海馬、扁桃体における記憶痕跡細胞の有無とその動的性状を比較したところ、前頭皮質と海馬における活動痕跡が時期特異的に標識でき、記憶固定の時間的動態に合致して、光遺伝学的な想起も誘発できることが確認できた (Kim et al. 査読改訂中)。一方、鬱モデル、ならびにアルコール依存再発のモデルにおいて、Arc promoter に基づく標識を実施したところ、鬱発症後の病態変容期の大脳皮質のシナプス形態 (Moda-Sava et al. Science 2019) や扁桃体中心核における epigenetic signaling (Pagano et al. Mol. Psych. 2023) における病態特異的破綻を明らかにすることができた。

- (2) 新規膜アンカー型カルシウムインディケーター-Lck-G-CaMP7 を開発し、Spontaneous Regenerative Calcium Transient (SRCaT)を発見し、幼若神経細胞における新たな興奮形態形成相関を担うメカニズムを解明した (Kamijo et al. J. Neurosci. 2018)。しかし、このセンサーを含め、G-CaMP をベースとしたセンサーは、いずれもカルシウム応答性が顕著な supralinearity を呈するため、linearity を改善した新たなインディケーター-G-CaMP9a を開発し、これを任意の脳部位・神経細胞種にて計測可能な遺伝子改変マウスを作出した。本マウスの大脳皮質 in vivo imaging により、抑制性神経細胞のアンサンプルを可視化し、その動態や相関について定量解析することが可能となった (Sakamoto et al. Cell Rep Met 2022; Sakamoto et al. STAR Prot 2022)。さらに、多細胞種の同時計測を目指し、Ca²⁺応答の線形性が担保された高性能カルシウムインディケーター-XCaMP を創出した。XCaMP-B (青) XCaMP-G (緑), XCaMP-Y (黄), XCaMP-R (赤) の4色のインディケーターを組み合わせるにより、興奮性・抑制性アンサンプルの同時 in vivo 計測 (大脳皮質第2/3層)、プレ・ポストの突起発火の同時 in vivo 計測 (大脳皮質第1層における樹状突起と軸索の同時イメージング)、young adult マウス脳における背側海馬 CA1 の in vivo 直接イメージングによる感覚入力時の海馬持続発火発生の記録、新規物体探索時の大脳皮質前頭前野における3細胞腫 (興奮性 + 抑制性2種) の同時記録などに成功した (Inoue et al. Cell 2019)。また、高速カルシウムセンサーの光学特性を最大限活用し、Kilohertz の時間分解能の2光子カルシウムイメージングに成功した (Zhang et al. Nat Met 2020)。
- (3) In vivo 脳における皮質可塑性発現時に、長期的な Arc 誘導ならびにその下流の逆シナプスタギングシグナリングを明らかにする目的で、視覚野における入力選択的長期可塑性を光遺伝学的に引き起こしたところ、視覚入力選択的なシナプス長期可塑性は、Arc-CaMK2beta シグナルによって制御されていることが明らかになった (El-Boustani et al. Science 2018)。このような長期可塑性を引き起こす CREB シグナルを光照射によって、オン・オフに制御可能な光感受性化合物を設計し、細胞レベルで実証した (Imoto et al. Org Lett 2020 ; Imoto et al. ACS Central Sci 2020)。知的障害を発症する CaMKIIalpha 遺伝子のドミナント希少変異をみつけ、その点変異により、CaMKII 活性が向上していることを明らかにした (Fujii et al. Fron Mol Neurosci 2022)。これらの成果により、CaMK-CREB-Arc シグナル動態の制御する in vivo 可塑性と生理的意義についての理解が飛躍的に深化した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 11件／うち国際共著 6件／うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Imoto Takuma, Minoshima Masafumi, Yokoyama Tatsushi, Emery Ben P., Bull Steven D., Bito Haruhiko, Kikuchi Kazuya	4. 巻 6
2. 論文標題 A Photodeactivatable Antagonist for Controlling CREB-Dependent Gene Expression	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 ACS Central Science	6. 最初と最後の頁 1813 ~ 1818
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acscentsci.0c00736	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Imoto T, Kawase A, Minoshima M, Yokoyama T, Bito H, Kikuchi K.	4. 巻 22
2. 論文標題 Photolytic Release of a Caged Inhibitor of an Endogenous Transcription Factor Enables Optochemical Control of CREB-Mediated Gene Expression.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Org Lett.	6. 最初と最後の頁 22-25
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.orglett.9b03568	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Zhang T, Hernandez O, Chrapkiewicz R, Shai A, Wagner MJ, Zhang Y, Wu CH, Li JZ, Inoue M, Gong Y, Ahanonu B, Zeng H, Bito H, Schnitzer MJ.	4. 巻 16
2. 論文標題 Kilohertz two-photon brain imaging in awake mice.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Methods	6. 最初と最後の頁 1119-1122
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41592-019-0597-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Inoue M, Takeuchi A, Manita S, Horigane SI, Sakamoto M, Kawakami R, Yamaguchi K, Otomo K, Yokoyama H, Kim R, Yokoyama T, Takemoto-Kimura S, Abe M, Okamura M, Kondo Y, Quirin S, Ramakrishnan C, Imamura T, Sakimura K, Nemoto T, Kano M, Fujii H, Deisseroth K, Kitamura K, Bito H.	4. 巻 177
2. 論文標題 Rational Engineering of XCaMPs, a Multicolor GECI Suite for In Vivo Imaging of Complex Brain Circuit Dynamics.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cell	6. 最初と最後の頁 1346-1360
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cell.2019.04.007	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Moda-Sava RN, Murdock MH, Parekh PK, Fetcho RN, Huang BS, Huynh TN, Witztum J, Shaver DC, Rosenthal DL, Alway EJ, Lopez K, Meng Y, Nellissen L, Grosenick L, Milner TA, Deisseroth K, Bito H, Kasai H, Liston C.	4. 巻 364
2. 論文標題 Sustained rescue of prefrontal circuit dysfunction by antidepressant-induced spine formation.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Science	6. 最初と最後の頁 eaat8078
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/science.aat8078	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Attardo A, Lu J, Kawashima T, Okuno H, Fitzgerald JE, Bito H, Schnitzer MJ.	4. 巻 25
2. 論文標題 Long-term consolidation of ensemble neural plasticity patterns in hippocampal area CA1.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 640-650
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2018.09.064	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 El-Boustani S, Ip JPK, Breton-Provencher V, Knott GW, Okuno H, Bito H, Sur M.	4. 巻 360
2. 論文標題 Locally coordinated synaptic plasticity of visual cortex neurons in vivo.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Science	6. 最初と最後の頁 1349-1354
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/science.aao0862	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Kamijo S, Ishii Y, Horigane SI, Suzuki K, Ohkura M, Nakai J, Fujii H, Takemoto-Kimura S, Bito H.	4. 巻 38
2. 論文標題 A Critical Neurodevelopmental role for L-type voltage-gated calcium channels in neurite extension and radial migration.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 5551-5566
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1523/JNEUROSCI.2357-17.2018	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fujii H, Kidokoro H, Kondo Y, Kawaguchi M, Horigane SI, Natsume J, Takemoto-Kimura S, Bito H.	4. 巻 15
2. 論文標題 Forster resonance energy transfer-based kinase mutation phenotyping reveals an aberrant facilitation of Ca ²⁺ /calmodulin-dependent CaMKII activity in de novo mutations related to intellectual disability.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Front Mol Neurosci.	6. 最初と最後の頁 970031
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fnmol.2022.970031	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sakamoto M, Ota K, Kondo Y, Okamura M, Fujii H, Bito H.	4. 巻 3
2. 論文標題 In utero electroporation and cranial window implantation for in vivo wide-field two-photon calcium imaging using G-CaMP9a transgenic mice.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 STAR Protocols	6. 最初と最後の頁 101421
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.xpro.2022.101421	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sakamoto M, Inoue M, Takeuchi A, Kobari S, Yokoyama T, Horigane SI, Takemoto-Kimura S, Abe M, Sakimura K, Kano M, Kitamura K, Fujii H, Bito H.	4. 巻 2
2. 論文標題 A Flp-dependent G-CaMP9a transgenic mouse for neuronal imaging in vivo.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cell Reports Methods	6. 最初と最後の頁 100168
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.crmeth.2022.100168	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計17件 (うち招待講演 15件 / うち国際学会 12件)

1. 発表者名 Bito H
2. 発表標題 Plasticity and memory mechanisms in vivo
3. 学会等名 Stockholm Trio & University of Tokyo Strategic Partnership Workshop (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Bito H
2. 発表標題 Lessons learned from elucidating calcium-dependent neural circuit control mechanisms
3. 学会等名 Japanese Pharmacology Society Annual Meeting (招待講演)
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 Bito H
2. 発表標題 Multiplex Imaging of Neural Activity and Signaling Dynamics.
3. 学会等名 8th International Neural Microcircuit Conference (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Bito H, Ishii Y, Fujii H, Okuno H.
2. 発表標題 Arc-dependent regulation of long-term synaptic plasticity.
3. 学会等名 2019 Meeting of the Australasian Neuroscience Society (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Bito H
2. 発表標題 Multiplex Imaging of Neural Activity and Signaling Dynamics.
3. 学会等名 13th Biennial Conference of the Chinese Neuroscience Society (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Bito H, Ishii Y, Fujii H, Hayashi T, Okamura M, Kondo Y, Abe M, Sakimura K, Okuno H.
2. 発表標題 Arc-dependent regulation of long-term synaptic plasticity.
3. 学会等名 10th IBRO World Congress satellite meeting "Synaptic Function and Neural Circuitry". (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Bito H
2. 発表標題 Towards multiplex imaging of neural activity and signaling dynamics
3. 学会等名 The 42nd Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society; The 62nd Annual Meeting of the Japanese Society for Neurochemistry (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Haruhiko Bito, Yuichiro Ishii, Hiroyuki Okuno
2. 発表標題 Inverse synaptic tagging: an inactive synapse-targeted mechanism to capture activity-induced Arc
3. 学会等名 9th FAOPS Congress (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Bito H
2. 発表標題 Arc-dependent long-term memory control
3. 学会等名 13th International Conference of Neurons and Brain Diseases (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Bito H
2. 発表標題 Ca ²⁺ -dependent signaling in regulation of cognitive behavior
3. 学会等名 41st Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Inoue M, Yokoyama T, Fujii H, Sakamoto M, Bito H.
2. 発表標題 Probing Ca ²⁺ and Ca ²⁺ -dependent gene expression in vivo to decipher information processing underlying cognitive behavior.
3. 学会等名 Janelia Conference Fluorescent Proteins and Biological Sensors VI (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hajime Fujii, Masatoshi Inoue, Haruhiko Bito.
2. 発表標題 Multiplex imaging of neuronal Ca ²⁺ -mediated signal transduction.
3. 学会等名 Janelia Conference Fluorescent Proteins and Biological Sensors VI (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Ryang Kim, Yayoi Kondo, Takashi Kawashima, Michiko Okamura, Masatoshi Inoue, Yuichiro Ishii, Kasumi Inokuchi, Kazuki Sakai, Mio Nonaka, Masayuki Sakamoto, Hiroyuki Okuno, Haruhiko Bito.
2. 発表標題 Specification of a remote memory cell ensemble during cortical tagging.
3. 学会等名 Annual Meeting of the Society for Neuroscience 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Bito H
2. 発表標題 Multiplex imaging of neural activity and signaling dynamics.
3. 学会等名 Cold Spring Harbor Asia Meeting Announcement: Advances in Optical Imaging of Living Cells & Organisms: Focus on the Brain (招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Bito H
2. 発表標題 Arc-haeology of long-term memory.
3. 学会等名 Friedrich Miescher Institute for Biomedical Research. Basel, Switzerland (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Bito H
2. 発表標題 Genetically encoded calcium indicators.
3. 学会等名 EMBO Practical Course "Two-photon imaging of brain dynamics: Illuminating neuronal and glial function" University of Zurich, Switzerland. (招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Bito H
2. 発表標題 CREB-Arc signaling in long-term memory formation.
3. 学会等名 Department of Neuroscience Seminar, Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden. (招待講演)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------