

令和 5 年 6 月 5 日現在

機関番号：82401

研究種目：新学術領域研究（研究領域提案型）

研究期間：2018～2022

課題番号：18H05433

研究課題名（和文）操作・モデリングから迫る精神病態シナプスパソロジーの多階層理解

研究課題名（英文）Multiscale understanding of synaptic pathology of psychiatric disorders

研究代表者

高木 朗子（林朗子）（Hayashi-Takagi, Akiko）

国立研究開発法人理化学研究所・脳神経科学研究センター・チームリーダー

研究者番号：60415271

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 136,000,000円

研究成果の概要（和文）：SETD1A hKOマウスやDISC1 cKOマウスらの統合失調モデルマウスの樹状突起スパイン体積を検証したところ、モデルマウスでは、異常に大きいスパイン（XLスパイン）が有意に多く、XLスパインを刺激した場合、超線形の神経演算が生じた。さらに、XLスパインの行動への関与を検証するために、シナプス光遺伝学を用いて巨大スパインの生成を予防したところ、SETD1A hKOマウスで観察された作業記憶障害は正常化した。またげっ歯類モデルで得られた所見が患者と関連があるか否かを調べるために、統合失調症由来死後脳を検証した結果、巨大スパインは統合失調症患者で有意に多いという結果が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

一つの神経細胞には約1万個のシナプスが存在し、多くのシナプスが同時期に協調的に入力することが神経細胞の発火に重要とされている。しかし今回、少なくともある一群の統合失調症患者では、ごく少数の巨大スパインを介した非常に強いシナプス入力だけで、神経細胞の発火が決定付けられている可能性が示された。これらの結果より、少なくとも一部の統合失調症患者には、非常に強いシナプスにより神経演算の歪みが生じ、それらが病態生理の一部を担うという全く新しい仮説が提唱できた。これらの知見は統合失調症の治療戦略の少なくとも一部は再考を要することを示唆する。

研究成果の概要（英文）：In light of human genetics, there is little doubt regarding the involvement of synaptopathy in psychiatric disorders. However, trans-scale causality; from the synapse to behaviour is lacking. To address this question, we examined the multiscale effects of synaptic inputs of SETD1A and DISC1, which are validated animal models of schizophrenia. Both models exhibited an overrepresentation of extra-large (XL) synapses, which evoked supralinear synaptic integration, resulting in increased neuronal firing. The probability of XL spines correlated negatively with working memory, and the optical prevention of XL spine generation restored working memory impairment. Furthermore, XL synapses were significantly more abundant in the postmortem brains of schizophrenia patients than in those of matched controls. Our results suggest that certain domains of psychiatric symptoms are caused by hyper-connection via heavily-weighted synapses.

研究分野：基礎精神医学

キーワード：樹状突起スパイン 統合失調症 XLスパイン 超線形神経演算

1. 研究開始当初の背景

神経細胞はシナプスを介した入力を多くの神経細胞より受けた結果、発火するか否かの演算を行い、発火した場合、多くの投射先神経細胞にシナプス入力を与える。大脳皮質においては、グルタミン酸作動性シナプスの約8割はスパインという小突起上に形成される。スパインは学習に応じてその形態・サイズが劇的に変化し、それに伴いシナプス伝達効率が変化するため、スパインは脳の基本素子と考えられている。興味深いことに多くの精神疾患やそのモデル動物でスパイン形態・密度異常が報告され、また精神疾患関連遺伝子の多くがシナプス関連遺伝子であるため、これら疾患の病因・病態生理と示唆されてきた。しかし、倫理的・技術的困難さより、ヒト脳におけるシナプス解像度の病態研究は、ほとんど進行しておらず、遺伝子多型という分子階層が如何にしてシナプス階層の障害を惹起するのか、またシナプス障害は行動という上位階層を制御する責任病態生理なのか、それとも付随する現象に過ぎないのかは全く未解明である。そこで本研究では、電気生理や計算論、シナプス光遺伝学を駆使して、異常行動発症前後でのスパイン動態や神経発火を定量する。

2. 研究の目的

さまざまな精神疾患の病態生理に、大脳皮質の興奮性シナプスが関与すると考えられている一方で、ヒトにおけるシナプトパッチの病理的意義は手付かずであり、シナプス階層が行動という上位階層を制御する責任病態生理なのか、それとも付随する現象に過ぎないのかは未解明である。そこで本研究では、最先端 *in vivo* イメージング・レコーディング・光操作を結集し、異常行動前後や病態進行の過程でのシナプス動態や神経発火を定量的に記述し、各階層において病態生理の候補となりうる要素を光操作し、その摂動の結果を観察する。領域内共同研究により、これらのウェットデータから特徴的な要素を抽出し、この要素を *in silico* 操作することで膨大な仮想実験を試行し、ウェットの実験系だけでは困難な仮説検証を行う。モデル動物の回路機能不全に寄与する要因が神経の演算機能なのか、受容体特性にあるのか、あるいは回路ダイナミクスかなどのシステムレベルの知見を蓄積する。さらにはモデリングで得られた主要ファクターを分子操作するための光プローブを作成し、主要ファクターを分子操作し、シナプス・細胞データや課題遂行パフォーマンスなどの行動階層の表現型が実際にどのように変化するかを再検証し、階層を跨いだ因果関係を探索する。このように *in vitro/in vivo* 光操作（分子操作、シナプス操作、回路操作）とモデリング（*in silico* 病態モデリング）を相互にフィードバックすることにより統合失調症モデルマウスの病態生理をシナプスレベルからシステムレベルまでマルチスケールに理解すること、これらの所見の種間横断性について検証を行い、真に病態生理を担うだろう要素を抽出することに挑戦する。

3. 研究の方法

(1) 縦断的 *in vitro/in vivo* イメージング・レコーディング： *in vivo* 2光子励起イメージング（シナプス形態、GCaMP6f イメージング）および *in vivo* ホールセルパッチクランプ法を併用し、シナプス形態、シナプス入力および神経発火を統合失調症モデルマウスの異常行動発症の前後で定量的に計測する。イメージングに使用した個体は、精神疾患関連行動解析を併用し、シナプスパソロジーの分子・細胞実体と行動とに如何なる相関があるかを検証する。

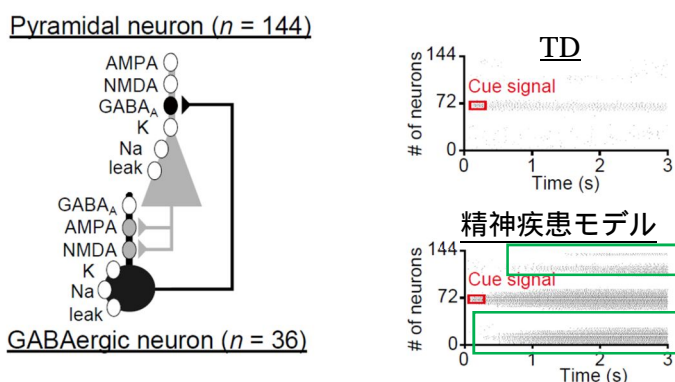
(2) 光操作による神経回路応答の計測：これまでの研究によって DISC1 KD マウスが示す明らかなシナプトパッチは、過度に刈り込まれた疎なスパイン分布の中に巨大スパイ

ンが散在する異常な体積分布である。スパイン密度減少と巨大スパインのどちらが病態生理に寄与するかを検証するために、巨大スパインを特異的に光収縮させ(光シナプス操作) その前後でのカルシウムイメージングとホールセルパッチクランプ法を用いて発火頻度の計測し、さらに課題遂行パフォーマンスを比較することで、シナプス操作が神経発火や個体レベルの行動にいかなる変化が惹起されるかをマルチスケールに定量する。

(3) 理論化: このような定量的データは、分担者: 田中(持続発火のメカニズム)、A02 豊泉(異常体積分布が生じるメカニズム)で理論化を試みる一方、ここで導き出された予測が実際の実験データとして再現されるか in vitro/in vivo 検証する。このような介入操作という構成的アプローチを用いることで、疾患の本質的な病態生理の責任階層を明らかにする。

4. 研究成果

はじめに、SETD1A hKOマウスやDISC1 cKOマウスらの統合失調モデルマウスに着目し、これらのモデルマウスのスパイン体積分布を検証した。モデルマウスでは、異常に大きい樹状突起スパインが有意に多く、スパイン直径が0.8 μm を超えると、シナプスのカルシウム応答が急峻に増加するため、直径0.8 μm 以上のスパインを、XLスパインと命名した。XLスパインは、SETD1A hKOマウス、DISC1 cKOマウスのどちらにも有意に多いことが明らかになった。樹状突起は近傍のスパインが同期したシナプス入力を受けることが知られているため、XLスパインを含む場合、含まない場合などで複数シナプスの同時パターン刺激を行い、その結果として生じる樹状突起スパイクや活動電位の発生を探索した。その結果、XLスパインを刺激した場合、超線形の神経演算が生じ、その分子メカニズムは巨大スパイン上におけるNMDA受容体の自己再生的な電位増幅に由来することが分かった。このような超線形の神経演算が生じる結果、神経回路動態にどのような変化が生じるかを検証するために、脳神経回路に対する生物物理学的に妥当なLeaky integrate-and-fire (LIF) モデルを用いて統合失調症モデル回路のワーキングメモリ機能をシミュレーションした【図1】。ワーキングメモリの障害は、認知機能の中でも健常者との差が大きく、転帰とも関連が大きい。ワーキングメモリは単純に貯蔵された記憶という意味以上に、情報を必要な期間脳内に保持し、その間に、状況の変化に対応して保持している情報の操作、処理機能、実行・判断へ備える一連の過程のことを指し、患者の社会機能予後に直結する。ワーキングメモリ保持中にはグルタミン酸作動性錐体細胞が同期発火し、同期発火の程度と課題実行能力には相関があることが知られている。そこで、DISC1 cKOモデルマウスで見られたXLスパインの電気生理データをLIFモデルに代入した。野生型マウス【図1、TD】の前頭野皮質を模した神経細胞ネットワークモデルに、手掛かり音(Cue)を入力すると、Cue情報が保持されるが、ここに精神疾患モデルマウスの神経細胞から実験的に得たパラメータを代入すると、Cueに無関係な異所性の発火が頻発した【図1、右下】。ワーキングメモリ回路機能に上記のような障害が生じた場合、実際に知覚された外的感覚情報と異所性に生じた偽感覚情報が混同され、幻覚や妄想のような状態が

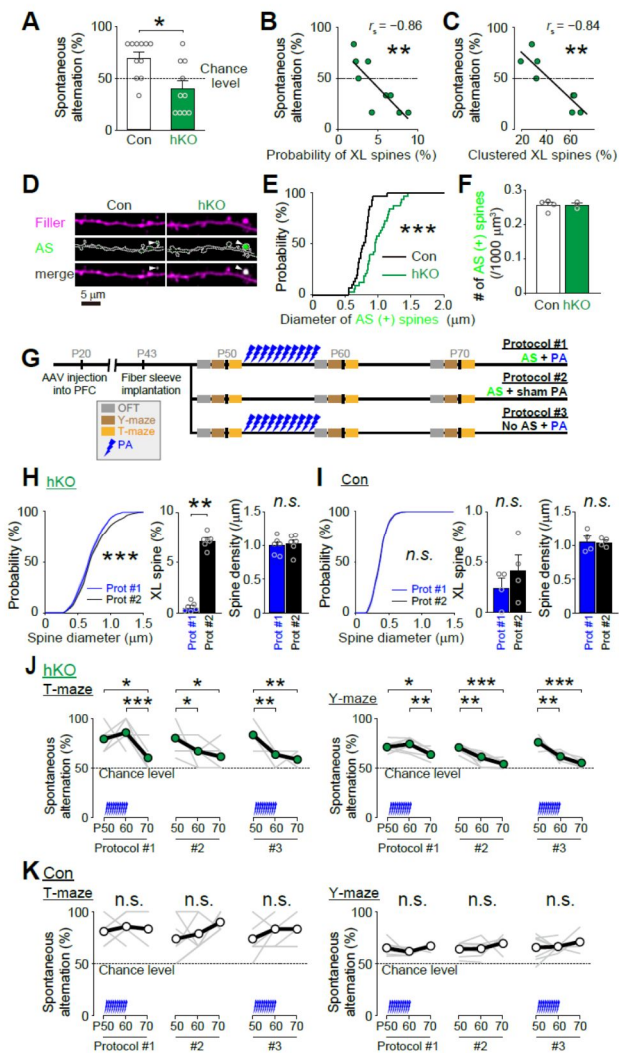


【図1】LIFモデル。(左)144個の興奮性細胞と36個の抑制性細胞より構成。(右)精神疾患モデルマウスであるDISC1 KOマウスのデータを代入したもの。緑: 異所性の同期発火。Obi-Nagata *et al*, in press より引用。

誘発されることが示唆された。さらに、XLスパインの行動への関与を検証するために、シナプス光遺伝学を用いて巨大スパインの生成を予防したところ、SETD1A hKOマウスで観察された作業記憶障害は正常化した【図2】。またげっ歯類モデルで得られた所見が患者と関連があるか否かを調べるために、統合失調症由来死後脳を検証した結果、巨大スパインは統合失調症患者で有意に多いという結果が得られた。このように巨大スパインという主要ファクターを操作し、シナプス・細胞データや課題遂行パフォーマンスなどの行動階層の表現型が実際に正常化したことにより、階層を跨いだ因果関係の解明に迫れたと考えている。

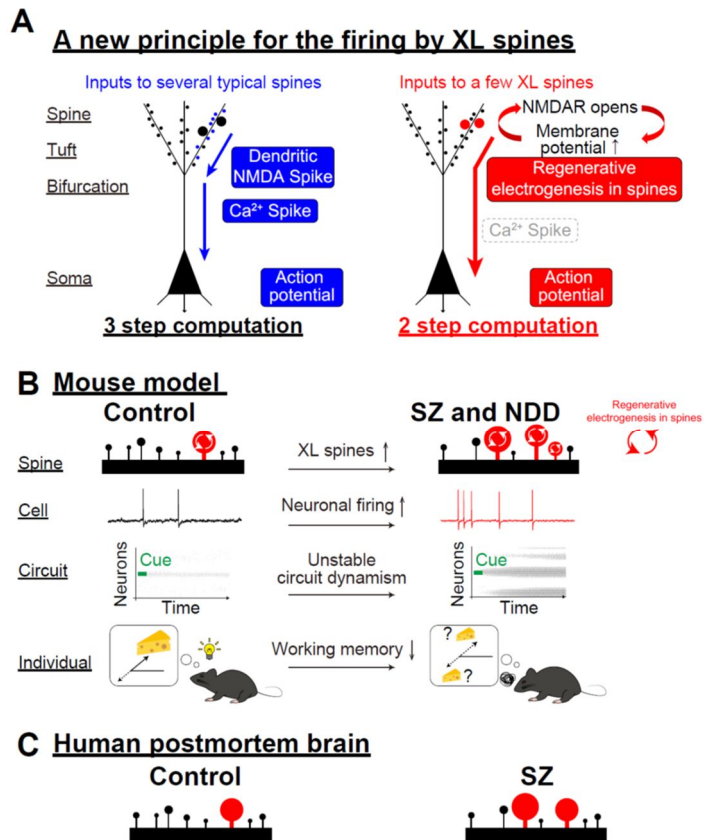
一つの神経細胞には約1万個のシナプスが存在し、多くのシナプスが同時期に協調的に入力することが神経細胞の発火に重要とされている。しかし今回、少なくともある一群の統合失調症患者では、ごく少数の巨大スパインを介した非常に強いシナプス入力だけで、神経細胞の発火が決定付けられている可能性が示された。これらの結果より、少なくとも一部の統合失調症患者には、非常に強いシナプスにより神経演算の歪みが生じ、それらが病態生理の一部を担うという全く新しい仮説が提唱できた【図3】。

この結果Science Advancesに受理され (In press) また日本神経科学会Neuro2022の特別公演、Society for NeuroscienceのSuperNova Lectureでも口頭発表した。Science Advancesに含めなかったデータ(ヒト死後脳と計算論を中心としたもの)は、同程度の雑誌へ投稿準



【図2】 Optical prevention of XL spine generation restored working memory deficits. (A) T-maze showing spontaneous alternations in *SETD1A* hKO mice. Circles indicate individual mice. (B and C) The probability of spontaneous alternations in the T-maze was correlated with the prevalence (B) and cluster density (C) of XL spines in *SETD1A* hKO mice. (D and F) Representative images of AS-PaRac1-containing spines (D, arrowheads), and comparisons of spine diameter (E) and number (F) of AS-PaRac1-containing spines between *SETD1A* hKO and control mice. (G) Experimental design. Mice were injected with AAV vectors in the bilateral PFC cortex at P20. After undergoing a sleeve implantation operation, mice were subjected to behavioural analysis and photoactivation (PA). (H and I) Comparisons of spine diameter, probability of XL spines, and spine density between *SETD1A* hKO (H) and littermate control mice (I) that received protocols #1 or #2. (J and K) Performance trajectory in the T-maze and Y-maze of *SETD1A* hKO (J) and littermate control mice (K) that received protocols #1, #2 or #3.

備中であり、これらの一連の仕事により、統合失調症の病態生理に関する全く新しい概念を提唱できたと考えている。



【図 3】 Distorted neurocomputation by heavily-weighted synapses in psychiatric disorders

A, Activation of XL spines boosted neuronal firing via intra-spine supralinear voltage amplification, which is a novel mechanism to control firing.

B, Overrepresentation of XL spines was correlated with the increase in firing, the generation of ectopic oscillation and working memory impairment.

C, Significant overrepresentation of large spines in the auditory cortex of SZ patients.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 9件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Hayashi-Takagi Akiko	4. 巻 175
2. 論文標題 Constructive understanding of multi-scale dynamism of psychiatric disorders	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Neuroscience Research	6. 最初と最後の頁 1~2
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neures.2022.01.004	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 Tsutsumi Shinichiro, Hayashi-Takagi Akiko	4. 巻 67
2. 論文標題 Optical interrogation of multi-scale neuronal plasticity underlying behavioral learning	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Current Opinion in Neurobiology	6. 最初と最後の頁 8~15
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.conb.2020.07.002	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 Tsutsumi Shinichiro, Hayashi-Takagi Akiko	4. 巻 67
2. 論文標題 Optical interrogation of multi-scale neuronal plasticity underlying behavioral learning	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Current Opinion in Neurobiology	6. 最初と最後の頁 8~15
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.conb.2020.07.002	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 Hyun Jo Soo, Inoue Takafumi, Hayashi-Takagi Akiko	4. 巻 10
2. 論文標題 Multi-Scale Understanding of NMDA Receptor Function in Schizophrenia	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biomolecules	6. 最初と最後の頁 1172~1172
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/biom10081172	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 Tsutsumi Shinichiro、Hayashi-Takagi Akiko	4. 巻 67
2. 論文標題 Optical interrogation of multi-scale neuronal plasticity underlying behavioral learning	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Current Opinion in Neurobiology	6. 最初と最後の頁 8~15
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.conb.2020.07.002	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 Hyun Jo Soo、Inoue Takafumi、Hayashi-Takagi Akiko	4. 巻 10
2. 論文標題 Multi-Scale Understanding of NMDA Receptor Function in Schizophrenia	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biomolecules	6. 最初と最後の頁 1172~1172
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/biom10081172	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 Kisho Obi-Nagata, Yusuke Tenma, Akiko Hayashi-Takagi	4. 巻 未定
2. 論文標題 Synaptic functions and their disruption in schizophrenia: From clinical evidence to synaptic optogenetics in an animal model	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Proceedings of the Japan Academy, Ser. B	6. 最初と最後の頁 未定
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Tainaka K, Murakami TC, Susaki EA, Shimizu C, Saito R, Takahashi K, Hayashi-Takagi A, Sekiya H, Arima Y, Nojima S, Ikemura M, Ushiku T, Shimizu Y, Murakami M, Tanaka KF, Iino M, Kasai H, Sasaoka T, Kobayashi K, Miyazono K, Morii E, Isa T, Fukayama M, Kakita A, Ueda HR	4. 巻 24
2. 論文標題 Chemical Landscape for Tissue Clearing Based on Hydrophilic Reagents	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 2196~2210.e9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2018.07.056	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 Okazaki Hitoshi, Hayashi-Takagi Akiko, Nagaoka Akira, Negishi Makiko, Ucar Hasan, Yagishita Sho, Ishii Kazuhiko, Toyozumi Taro, Fox Kevin, Kasai Haruo	4. 巻 671
2. 論文標題 Calcineurin knockout mice show a selective loss of small spines	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Neuroscience Letters	6. 最初と最後の頁 99 ~ 102
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neulet.2018.02.006	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 Hayashi-Takagi Akiko	4. 巻 24
2. 論文標題 To fire or not to fire: decisions mediated by localized processing and dendritic spikes	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Nature Reviews Neuroscience	6. 最初と最後の頁 194 ~ 194
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41583-023-00682-0	査読の有無 無
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 -

〔学会発表〕 計13件 (うち招待講演 12件 / うち国際学会 5件)

1. 発表者名 Hayashi-Takagi A
2. 発表標題 Extra-large spines distort neuronal computation in synaptic disorders.
3. 学会等名 Translational Neuroscience Program (TNP) Seminar, Pittsburg Univ (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hayashi-Takagi A
2. 発表標題 Extra-large spines distort neuronal computation in synaptic disorders.
3. 学会等名 Seminar, Medical University of South Carolina (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hayashi-Takagi A
2. 発表標題 Extra-large spines distort neuronal computation in synaptic disorders.
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会・CJK第1回国際会議（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 林 朗子
2. 発表標題 最先端イメージングで迫る精神疾患シナプス病態研究
3. 学会等名 Psychiatry Symposium(関西医科大学主催)（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 林 朗子
2. 発表標題 なぜ樹状突起スパインのサイズが重要なのか？
3. 学会等名 第43回日本生物学的精神医学会・第51回日本神経精神薬理学会 合同大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 林 朗子
2. 発表標題 最先端イメージングで迫る精神疾患シナプス病態研究
3. 学会等名 第117回日本精神神経学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 林 朗子
2. 発表標題 樹状突起演算と精神疾患
3. 学会等名 千里ライフサイエンスセミナー（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hayashi-Takagi A
2. 発表標題 Extra-large spines distort dendritic and neuronal computation in psychiatric disorders.
3. 学会等名 遺伝研研究会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hayashi-Takagi A
2. 発表標題 Extra-large spines distort dendritic and neuronal computation in psychiatric disorders.
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hayashi-Takagi A
2. 発表標題 Extra-large spines distort dendritic and neuronal computation in psychiatric disorders.
3. 学会等名 The 11th BRI Int'l Symposium（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hayashi-Takagi A
2. 発表標題 Extra-large spines distort dendritic and neuronal computation in psychiatric disorders.
3. 学会等名 第98回日本生理学会大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hayashi-Takagi A
2. 発表標題 Extra-large spines distort dendritic and neuronal computation in psychiatric disorders.
3. 学会等名 遺伝研研究会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hayashi-Takagi A
2. 発表標題 Multi-scale synaptic analysis for schizophrenia
3. 学会等名 Society for Neuroscience（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 林（高木） 朗子、加藤 忠史	4. 発行年 2023年
2. 出版社 講談社	5. 総ページ数 288
3. 書名 「心の病」の脳科学 なぜ生じるのか、どうすれば治るのか	

〔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
研究分担者	田中 昌司 (Tanaka Shoji) (30188304)	上智大学・理工学部・教授 (32621)	
研究分担者	干場 義生 (Hoshiba Yoshio) (40780200)	群馬大学・生体調節研究所・助教 (12301)	
研究分担者	藤原 和之 (Fujiwara kazuyuki) (20735154)	群馬大学・大学院医学系研究科・助教 (12301)	削除：2019年10月11日

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