

令和 5 年 6 月 2 日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03347

研究課題名（和文）樹状突起演算および神経発火におけるスパインサイズの非線形効果の定量的解明

研究課題名（英文）Distorted neurocomputation by a small number of extra-large spines in 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） 13,600,000円

研究成果の概要（和文）：統合失調症の病態生理に興奮性シナプスが関与すると考えられているが、シナプス病態の定量的知見やその生理学的意義は非常に少ない。そこで、スパイン 樹状突起 神経細胞の限られた階層に焦点を絞り、定量的な知見を蓄積した。統合失調モデルマウスに着目し、これらのモデルマウスに異常に強いシナプス強度をもつ樹状突起スパイン（巨大スパイン）が有意に多いこと、この巨大スパインを介したシナプス入力が自己再生的な電位増幅を誘発し、超線形な神経演算を実行すること、その結果、神経発火がランダムに亢進することを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

従来の知見から、統合失調症の病態生理には何らかのシナプス機能の変調が関係する可能性が濃厚と考えられていましたが、その具体的なメカニズムは未解明であった。本研究では、統合失調症モデルマウスのグルタミン酸シナプス機能を、シナプスから行動まで多階層に検証することにより、非常に強いシナプス（巨大スパイン）の出現が病態生理を担うことを示した。これは新しい仮説であり、少なくとも一部の統合失調症群に関しては、新たな治療戦略を開発する必要があることを示唆した。

研究成果の概要（英文）：Human genetics strongly support the involvement of synaptopathy in psychiatric disorders. However, trans-scale causality linking synapse pathology to behavioral changes is lacking. To address this question, we examined the effects of synaptic inputs on dendrites, and cells of mice with knockdown 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. Our findings suggest that the synaptopathy of schizophrenia is shaped by distorted dendritic and somatic integration via extra-large spines.

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へ出力する。つまり、どの神経細胞が、いつ発火するかは、神経回路の駆動・制御するための重要な因子と言える。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。興味深いことに統合失調症やそのモデル動物でスパイン形態・密度異常が報告され、また統合失調症関連遺伝子の多くがシナプス関連遺伝子であるため、同疾患の病因・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病態の意義は、ほとんど進行しておらず、シナプス障害が責任病態因子なのか、それとも疾患に付随する2次的現象に過ぎないのかは全く未解明である。そこで手掛かりを得るために、複数の統合失調症モデルマウスの前頭野に相当する脳領域を比較検討した。われわれ自身の知見では、DISC1 ノックダウンマウス、Calcineurin ノックアウトマウス (Okazaki, Hayashi-Takagi et al, 2018, Neurosci Lett)、さらに NR1 ノックアウト (Ke et al, 2016, Cell Rep) を含めた統合失調症モデルで共通に見られた現象は、“巨大なスパイン”が有意に増加するという異常なスパイン体積分布であった。DISC1 KD マウスでは、前頭野認知機能を反映するワーキングメモリーの障害が観察されたため、前頭野の DISC1 KD 細胞の神経発火を *in vivo* セル・アタッチ法で計測したところ、KD 細胞は非常に高い発火頻度を持つことが見いだされた。さらに、巨大スパインが樹状突起の 10 μm 以内近傍に集積する度合いと、ワーキングメモリーは有意な負の相関が観察された。これらのことより、巨大スパインの出現が病態生理に寄与する可能性が考えられたが、ほとんど何も分かっていない中で、巨大スパインと行動との因果関係を検証するには余りにも大きなギャップがあると考えた。そこで、妥当な中間ゴールとして、巨大なスパインがあることは樹状突起にとって、そして神経細胞にとってどのような効果を持つのだろうかという細胞レベルの作動原理を明らかにしたいと考えた。

2. 研究の目的

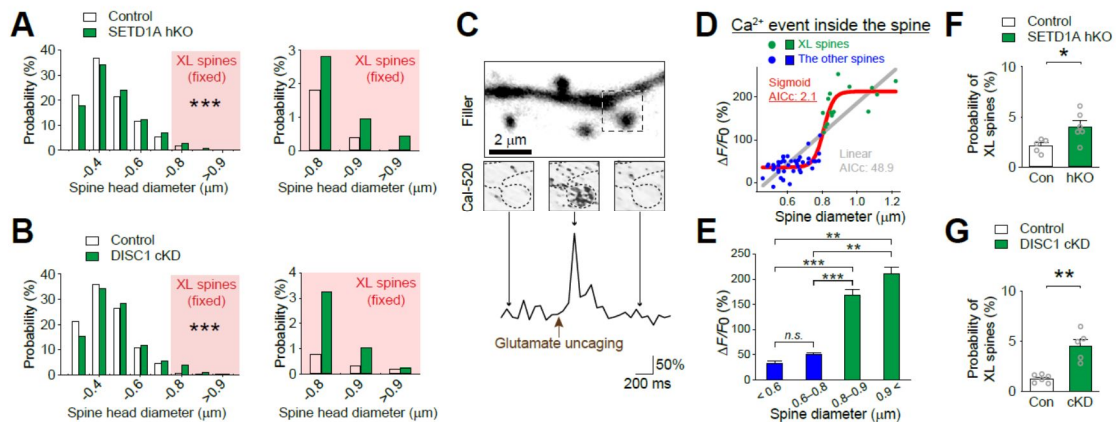
統合失調症の病態生理に大脳皮質の興奮性シナプスが関与すると考えられているが、シナプス病態の詳細、例えば、各シナプスの大きさ・強度 (樹状突起スパインサイズ)、スパイン密度、樹状突起上にどのようにスパインが分布するかなどの定量的知見はほとんど存在しない。さらに脳の作動原理という観点で見た場合、これらのシナプス異常があった場合、樹状突起の演算機能や神経発火にどのような影響が生じるか全く未解明である。申請者らは、複数の統合失調症モデルマウスの前頭野領域を比較検証し、複数のモデルマウスで共通に検出される知見として、前頭前野での“巨大なスパインの出現”というシナプス特性を見出した。スパインと行動との因果関係を示すことは大きなハードルがあるため、まず、スパイン→樹状突起→神経細胞の限られた階層に限り、定量的な知見を蓄積したいと考えた。そのために、グルタミン酸アンケーシングによるスパイン刺激を行いながら、樹状突起スパイクおよび神経発火を同時計測し、詳細な時系列データを解析することで、スパインサイズと樹状突起の演算機能および神経発火との関係に迫ることが目的である。

3. 研究の方法

統合失調症モデルマウス (DISC1 KD および SETD1A hKO) の大脳皮質錐体細胞で生じている現象を徹底的に定量することである。標本は、マウス前頭野領域 (PrL) から急性スライス標本を作製する in vitro 実験と、Two-photon targeting cell attached 法による in vivo 実験を、目的により使い分ける。in vitro の実験では、グルタミン酸アンケーシングを用いた単一スパイン刺激を、巨大スパインを含む様々な刺激パターンで行い、同時に樹状突起におけるカルシウムスパイクを Cal-520 の蛍光値から求め、同時に膜電位および神経発火はホールセルパッチクランプの電気記録を用いて同一細胞より検出する。明らかにしたいことは、どのようなシナプス入力 (巨大なスパインへの入力が1か所でもあれば良いのか、複数必要なのか? 樹状突起におけるスパインの分布は重要なのか?) どのような樹状突起イベントを介して (時間積分、空間積分の定量化) 神経発火を誘発するかを定量的に明らかにし、さらに様々な阻害剤を比較検討することによりその分子基盤を明らかにすることである。

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症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いこと (図 1A-B) 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 (図 1C-E)。XL スパインは、SETD1A hKO マウス、DISC1 cKO マウスのどちらも有意に多いことが見いだされた (図 1F-G)。

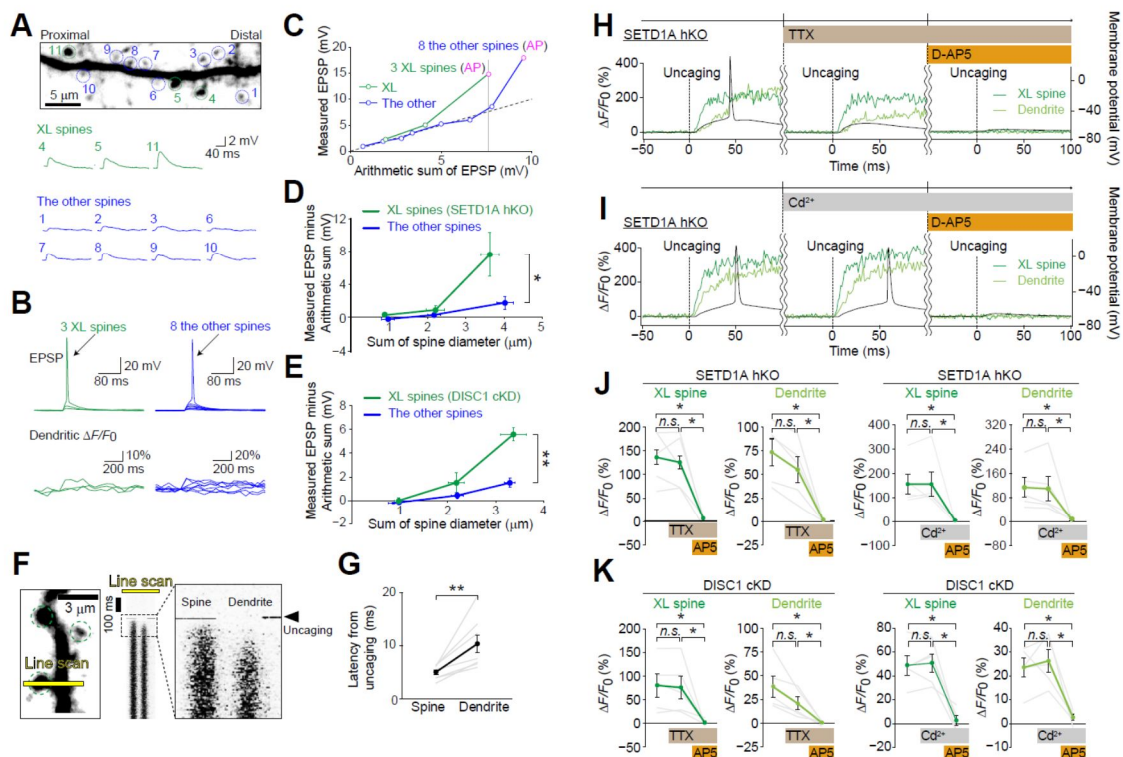


【図 1】統合失調症モデルマウスのスパイン体積分布。(A) SETD1A hKO。(B) DISC1 cKD。(C)単一スパインに対してグルタミン酸アンケーシングを行い、そのシナプス応答をカルシウムイメージングで定量した。(D、E)Cの実験の定量的まとめ。(F、G)XLスパインの比率。

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網羅的に探索した。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ることが明らかになった (図 2A-E)。その分子基盤を探索するために、各種阻害剤を使用して同様の実験を行ったところ、巨大スパイン上における NMDA 受容体が、自己再生的な電位増幅のメカニズムであることが分かった (図 2H-K)。このような超線形の神経演算が生じる結果、神経発火がランダムに亢進することを in vivo Two-photon targeting cell attached 法および NEURON シミュレーションにより見出した。

以降は、本助成で行った結果ではなく、他の研究費で行った実験結果であるが、本助成の結果と極めて関連が深いため以下に補足する。このような 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、DISC1 cKO 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。

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 (Science Advances, In press)。



【図2】 グルタミン酸アンケーシングによる樹状突起のシナプスパターン刺激実験。(A) シナプス刺激をしたスパイン。(B) パターン刺激の結果生じた膜電位変化および樹状突起イベント。(C) 各スパインを刺激した時の EPSP の合計 (理論値) と、実際の膜電位変化。(D、E) C のデータをプールしたもの。SETD1A hKO (D)、DISC1 cKO (E)。(F、G) スパイン刺激前後での Ca²⁺イメージング実験模式図。(H-K) 各種阻害剤を使用し、スパインパターン刺激を行ったプールデータ。

< 引用文献 >

Kisho Obi-Nagata, Norimitsu Suzuki, Ryuhei Miyake, Matthew L. MacDonald, Kenneth N. Fish, Katsuya Ozawa, Kenichiro Nagahama, Tsukasa Okimura, Shoji Tanaka, Masanobu Kano, Yugo Fukazawa, Robert A. Sweet, and Akiko Hayashi-Takagi. Distorted neurocomputation by a small number of extra-large spines in psychiatric disorders. *Science Advances*, in press, 10.1126/sciadv.ade5973

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 4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 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9件 (うち招待講演 8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 Multi-scale synaptic analysis for schizophrenia.
3. 学会等名 Society for Neurosciece (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hayashi-Takagi A
2. 発表標題 Hijacking of neurocomputation by a small number of heavily-weighted synapses in psychiatric disorders.
3. 学会等名 JP-UK Neuroscience Symposium (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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------