

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 21 日現在

機関番号：12301

研究種目：新学術領域研究(研究領域提案型)

研究期間：2012～2016

課題番号：24116003

研究課題名(和文)精神疾患マイクロエンドフェノタイプとしての樹状突起スパインの解析

研究課題名(英文)The dendritic spine as the microendophenotype of psychiatric disorders

研究代表者

林 朗子(高木朗子)(Hayashi-Takagi, Akiko)

群馬大学・生体調節研究所・教授

研究者番号：60415271

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 66,100,000円

研究成果の概要(和文)：統合失調症モデルマウスであるDISC1ノックダウンマウスのin vivo 2光子励起スパインイメージングを行ったところ、マウスの思春期に相当する時期にスパインが過剰に除去されることを見出した。一方で、スパインと行動とのより直接的なエビデンスを得るため、スパイン形態を人為的に消去する新しい技術：Synaptic optogeneticsを開発し、確かにスパインが行動を強力に制御できることを世界ではじめて報告できた。

研究成果の概要(英文)：Drug discovery in psychiatry has been limited to chemical modifications of compounds originally discovered serendipitously. Therefore, more mechanism-oriented strategies of drug discovery for mental disorders are awaited, and the dendritic spine is one of the strong candidate of the pathophysiology of schizophrenia. Thus, we performed the longitudinal in vivo spine imaging of schizophrenia model mice and found out that the marked reduction in the spine density in the model mice. We also developed a novel synaptic optoprobe that specifically manipulates the spine and demonstrated the higher brain functions such as the learning and memory is dependent on the spine. Taken together, our results warranted the importance of the spine as the microendophenotype of schizophrenia.

研究分野：精神医学

キーワード：樹状突起スパイン 2光子イメージング 統合失調症 シナプス光遺伝学

1. 研究開始当初の背景

シナプスは脳回路の最小単位であり、その適切な形成および可塑性が正常な神経回路の基盤である。様々な精神疾患に、大脳皮質のグルタミン酸作動性シナプスの関与が強く示唆されるものの、生体脳でどのような病態がシナプスレベルで進行していくのか(マイクロエンドフェノタイプ)は未解明である。グルタミン酸作動性シナプスの約7割は、樹状突起上にマッシュルーム様構造(スパイン)を形成する。スパインの特徴の一つに、その形態と機能に著しい相関があること、即ち、形態をイメージングするだけで、そのシナプス機能を精度良く推測できるという方法論的な大きな利点がある。

2. 研究の目的

そこで2光子顕微鏡により、スパインをin vivoで繰り返しイメージングすること、Optogeneticsによってスパイン形態を人為的に操作すること、これら同一個体に行動解析を併用することにより、スパインという疾患病態(マイクロエンドフェノタイプ)を、in vivoで可視化及び人為的操作により行動との関連を検証することに挑戦する。本申請は、このSynaptic optogeneticsとも表現できる新技法によりスパインと精神疾患関連行動との因果律に迫ることを試みる。

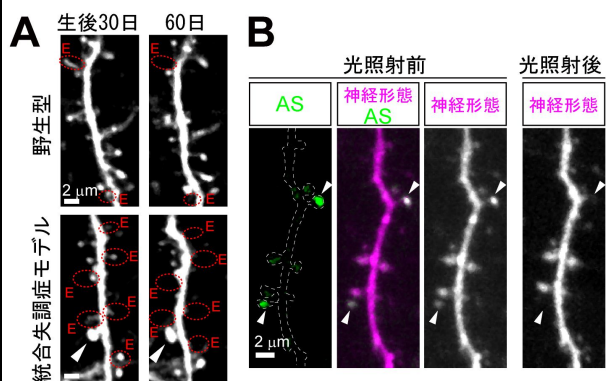
3. 研究の方法

【戦略1】表面的・構成的・予測的妥当性を満たす有力な疾患モデルの、異常行動発症前後のin vivo 2光子顕微鏡イメージングを縦断的に行い、疾患関連行動解析を併用する。これらを通じて、大脳皮質スパインと行動との関連や、新規治療薬の効果を測定出来る実験系を確立する。
【戦略2】光刺激特異的にスパイン形態変化を誘発するPaRac1を神経入力の入ったシナプス後肥厚部に特異的に発現するActivated Synapse targeting PhotoActivatable-Rac1 (AS-PaRac1)の開発に成功している。この新規光プローブを大脳皮質へ遺伝子導入した後、特定のタスクをマウスに付加すると、同タスクに必要な脳領域シナプスにAS-PaRac1が再局在することを確認している。そこで同脳領域を光刺激をすることでそのようなタスクに必要なスパイン群を特異的に改変するSynaptic optogeneticsの確立を試み、ある特定のスパイン群を書き換えることで如何なる行動が誘発されるか検証する。

4. 研究成果

精神疾患のマイクロエンドフェノタイプとして樹状突起スパインに注目した。統合失調症モデルマウスである前頭野特

異的DISC1ノックダウンマウスのin vivo 2光子励起スパインイメージングを行ったところ、マウスの思春期に相当する時期にスパインが過剰に除去され、シナプス密度が大きく減少することを見出した(図A)。スパイン減少を予防する薬剤は、統合失調症の関連症状の一つである感覚運動情報制御機能の障害に対しても治療効果を有した。このことはスパインというマイクロエンドフェノタイプが如何に異常行動に相関するかを示唆する事に成功した(Hayashi-Takagi A et al, 2014, *Proc Natl Acad Sci USA*)。一方で、スパインと行動とのより直接的なエビデンスを得るため、スパイン形態を人為的に消去する新しい技術: Synaptic optogenetics (AS-PaRac1)を開発した。AS-PaRac1は長期増強が誘導されたシナプスだけを青色光で消去する性質があることが実験的に確認され(図B)。実際に学習後に青色光を照射すると既得学習を消去でき、確かにスパインが行動を強力に制御できるという世界ではじめての直接的エビデンスとして報告できた(Hayashi-Takagi et al., 2015, *Nature*)。この仕事はNature Methods、Cell誌などに特集を組まれ、2017年4月でのThomson Reutersの引用は48回であり、高被引用文献(該当フィールドの上位1%)としてランクされ、このような新技術を病態モデルに展開することで、病態生理を担うスパインパソロジーの描出が劇的に展開すると思われる。これらの一連の仕事より精神疾患のマイクロエンドフェノタイプとしてのスパインをin vivoで可視化し、さらに操作出来るようになり、当初の計画以上の完成度で目標達成できたと考えている。



5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)
〔雑誌論文〕計16件、査読あり 13件、
査読なし 3件)

平成28年度以降

(1) Hoshiba Y, Wada T, Hayashi-Takagi A (CA).

Synaptic ensemble underling for selection and consolidation of neuronal circuits during learning.

Frontiers in Neural Circuits (2017) (In press) 査読あり

- (2) Shirai F, Hayashi-Takagi A (CA).
Optogenetics: Applications in psychiatric research.
Psychiatry Clin Neurosci (2017) (In press) 査読あり
- (3) Hayashi-Takagi A (CA).
Synapse pathology and translational applications for schizophrenia.
Neuroscience Research 114 (2017) 3-8. 査読あり
- (4) Nagaoka A, Takehara H, Hayashi-Takagi A, Noguchi J, Ishii K, Shirai F, Yagishita S, Akagi T, Ichiki T, Kasai H.
Abnormal intrinsic dynamics of dendritic spines in a fragile X syndrome mouse model in vivo.
Scientific Reports 6:26651 (2016) 査読あり
- (5) Miyazaki J, Iida T, Tanaka S, Hayashi-Takagi A, Kasai H, Okabe S, Kobayashi T.
Fast 3D visualization of endogenous brain signals with high-sensitivity laser scanning photothermal microscopy.
Biomed Opt Express 7 (2016) 1702-1710. 査読あり

平成 27 年度

- (6) Takahashi N, Sawada W, Noguchi J, Watanabe S, Ucar H, Hayashi-Takagi A, Yagishita S, Ohno M, Tokumaru H, Kasai H.
Two-photon fluorescence lifetime imaging of primed SNARE complexes in presynaptic terminals and β cells.
Nature Commun 6 (2015) 333-8. 8531. doi: 10.1038/ncomms9531. 査読あり
- (7) Hayashi-Takagi A (CA), Yagishita S, Nakamura M, Shirai F, Wu YI, Loshbaugh AL, Kuhlman B, Hahn KM, Kasai H.
Labelling and optical erasure of synaptic memory traces in the motor cortex.
Nature 525 (2015) 333-8. 査読あり

平成 26 年度

- (8) Yagishita S, Hayashi-Takagi A, Ellis-Davies GC, Urakubo H, Ishii S,

Kasai H.

A critical time window for dopamine actions on the structural plasticity of dendritic spines.
Science 345 (2014) 1616-20. 査読あり

- (9) Hayashi-Takagi A (CA), Vawter MP, Iwamoto K.
Peripheral biomarkers revisited: integrative profiling of peripheral samples for psychiatric research.
Biol Psychiatry 75 (2014) 920-928. 査読あり
- (10) Hayashi-Takagi A, Araki Y, Nakamura M, Vollrath B, Duron SG, Yan Z, Kasai H, Haganir RL, Campbell DA, Sawa A.
PAKs inhibitors ameliorate schizophrenia-associated dendritic spine deterioration in vitro and in vivo during late adolescence.
Proc Natl Acad Sci USA 111 (2014) 6461-7. 査読あり
- (11) Miyazaki J, Tsurui H, Hayashi-Takagi A, Kasai H, Kobayashi T.
Sub-diffraction resolution pump-probe microscopy with shot-noise limited sensitivity using laser diodes.
Opt Express 22 (2014) 9024-32. 査読あり
- (12) Wei J, Graziane NM, Wang H, Zhong P, Wang Q, Liu W, Hayashi-Takagi A, Korth C, Sawa A, Brandon NJ, Yan Z.
Regulation of N-methyl-D-aspartate receptors by disrupted-in-schizophrenia-1.
査読あり
Biol Psychiatry 75 (2014) 414-424.
- (13) 河西春郎、長岡陽、葉山達也、野口潤、柳下祥、石井和彦、林(高木)朗子、**樹状突起スパイン異常と精神疾患生体の科学**、65 巻、7-11、2014 年、査読なし
- 平成 25 年度
- (14) Hayama T, Noguchi J, Watanabe S, Takahashi N, Hayashi-Takagi A, Ellis-Davies GC, Matsuzaki M, Kasai H.
GABA promotes the competitive selection of dendritic spines by controlling local Ca^{2+} signaling.
Nature Neuroscience 16 (2013) 1409-1416. 査読あり
- (15) 林(高木)朗子、**グルタミン酸作動性シナプスと統合失調症**

神経化学、52 巻、5-12、2013 年、査読なし

平成 24 年度

- (16) 林(高木)朗子、**統合失調症の発症契機としての Glutamatergic dysregulation**
日本生物学的精神医学会誌、23 巻、91-96、2012 年、査読なし

[学会発表](計 10 件)

- (1) 林(高木)朗子、**大脳皮質シナプスと個体レベル行動との関連解析：新規光感受性シナプスプローブを用いた Synaptic optogenetics 法の開発**
千里ライフサイエンスセミナー、大阪、2016 (セミナー)
- (2) 林(高木)朗子、**光感受性シナプスプローブ AS-PaRac1 を用いた精神疾患モデルマウス解析**
第59回神経化学大会、福岡、2016 (シンポジウム)
- (3) Hayashi-Takagi A. **Visualization of altered dynamics of the dendritic spine in the rodent model of neuropsychiatric disorders**
第39回日本神経科学大会、横浜、2016 (シンポジウム)
- (4) Hayashi-Takagi A. **Mapping of Hebbian synaptic potentiation using the synaptic optoprobes**
Janelia Conference, Virginia, 2016 (Conference)
- (5) Hayashi-Takagi A. **Functional connectomics using synaptic optogenetics and an activity-dependent neuronal tracing**
Cold Spring Harbor - Asia Meetings, Suzhuo, 2016 (Conference)
- (6) Hayashi-Takagi A. **Visualization of learning-related memory trace and its erasure by "Synaptic optogenetics"**
45th Society for Neuroscience, Chicago, 2015 (Minisymposium)
- (7) Hayashi-Takagi A. **Visualization and optical erasure of synaptic memory traces in the cerebral cortex**
第38回日本神経科学大会、神戸、2015

(シンポジウム)

- (8) Hayashi-Takagi A. **Synapse protection as a novel therapeutic strategy for psychiatric diseases**
第92回日本生理学会、神戸、2015 (シンポジウム)
- (9) 林(高木)朗子、**シナプス保護を戦略とした精神神経創薬の可能性**
第10回日本統合失調症学会、東京、2015 (シンポジウム)
- (10) 林(高木)朗子、**大脳皮質シナプスと個体レベル行動との関連解析**
第88回日本薬理学会、名古屋、2015 (シンポジウム)

[図書](計 0 件)

[産業財産権] 該当なし

○出願状況(計 0 件)

○取得状況(計 0 件)

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

林 朗子(高木 朗子)(Hayashi-Takagi Akiko)、群馬大学・生体調節研究所・脳病態制御分野・教授
研究者番号：60415271

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

河西 春郎(Kasai Haruo)
東京大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号：60224375

(4) 研究協力者

中村 真弓(Nakamura Mayumi)
白井 福寿(Shirai Fukutoshi)