

令和 3 年 5 月 17 日現在

機関番号：63905

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K00404

研究課題名(和文) 情動可塑性の機能とメカニズムを明らかにするシナプス統合モデリング

研究課題名(英文) Integrated modeling of synaptic plasticity for associative emotional learning

研究代表者

浦久保 秀俊 (Urakubo, Hidetoshi)

生理学研究所・脳機能・計測支援センター 電子顕微鏡室・特任助教

研究者番号：40512140

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：線条体シナプスにおいて生じる、刺激(Gluシグナル)と報酬予測(ドーパミン[DA]シグナル)のタイミングに依存するシナプス可塑性(情動可塑性)のシグナル伝達モデルの開発を行った。特に、ドーパミンD2受容体に関係する可塑性モデル(D2モデル)の開発に成功した。モデルの解析より、可塑性が生じるためにD2RとRGSという2種類の分子の発現がバランスしている必要があり、バランスの崩れは精神疾患と対応することが明らかとなった。また、電子顕微鏡画像から得られたスパイン3D形状に基づいて、Ca²⁺シグナルの反応拡散シミュレーションを行う環境を構築した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

D2モデルにおいて、DA dipシグナルが正しく検出されてAC1活性が生じるパラメータの検討から、ドーパミンD2受容体とRGS二種類の分子の発現量のバランスの崩れと、統合失調症およびDYT1ジスキネジアの二つの精神疾患を対応づけることができた。特にDYT1ジスキネジアの疾患メカニズムの理解と治療法の開発への発展が期待される。

また、電子顕微鏡画像からスパイン形状を抽出してシグナル伝達の時空間シミュレーションを行う技術は、細胞内シグナル伝達研究の分野において広範な応用が期待される。

研究成果の概要(英文)：Conjunctive signals of Dopamine (DA) and Glutamate (Glu) induce synaptic plasticity in the striatum. We here developed computational models of signaling dynamics for the synaptic plasticity, in particular, the signaling dynamics dependent on DA D2 receptors (D2R). Model analyses revealed that the expression levels of two types of molecules (D2R and “regulator of G-proteins (RGS)”) need to be balanced for the synaptic plasticity, and their imbalanced states correspond to those in psychiatric disorders. We also conducted reaction-diffusion simulation of Ca²⁺ dynamics within morphologically realistic spines that were obtained from electron microscopic images.

研究分野：計算論的神経科学

キーワード：中型有棘細胞 ドーパミン シナプス可塑性 シグナル伝達モデル シミュレーション

1. 研究開始当初の背景

生物が環境の変化に適応しつつ生存するために、刺激と報酬の条件づけは基本的な戦略となる。研究代表者らのグループは、条件づけのシナプス基盤として、刺激 (Glu シナプス入力線条体ニューロン [SPN] 発火) と報酬予測 (ドーパミン; DA) のタイミングに依存するシナプス可塑性～情動可塑性～を発見した (柳下ら 2014; Science 345, pp. 1616-1620)。ドーパミン D1 受容体を発現する SPN (D1 SPN) において、刺激の後 1-2 秒以内の時間窓で DA が与えられる場合にのみ、情動可塑性 (LTP) が生じる。この時間窓は、条件づけの基本的な性質 (延滞条件づけ) をそのまま説明する。

研究代表者は、柳下らと共同しつつ D1 SPN において情動可塑性を導くシグナル伝達モデルの開発を行った。(D1 モデル)。その結果、情動可塑性の時間窓は、刺激 (Ca2+) と報酬予測 (DA) の時間順序がシナプス分子 Adenylate Cyclase 1 (AC1) において検出されることが重要であることを明らかにした。

2. 研究の目的

(項目 1) 開発した情動可塑性モデル (D1 モデル) をさらに発展させる。

(項目 2) 情動可塑性を時空間シグナル伝達の観点から明らかにする。

以上 2 項目により、情動可塑性のメカニズムを統合的に理解する計算モデルを開発する。

3. 研究の方法

(項目 1) Simbiology/Matlab を用いてシグナル伝達シミュレーションを行う。

(項目 2) Tensorflow/Python を用いて自動セグメンテーションを行う。また、プラットフォームシミュレータ STEP/ Python を用いてシグナル伝達の時空間シミュレーションを行う。

4. 研究成果

(項目 1) 情動可塑性モデルの発展

研究代表者は、すでに D1 SPN 情動可塑性におけるタイミング検知メカニズムを説明するシグナル伝達モデルの開発に成功している (Fig. 1 左)。本研究では、さらに D2 SPN における情動可塑性のモデル化に成功した (Fig. 1 右)。D2 モデルでは、定常状態の Tonic DA シグナルが D2R を活性化し、生じた Gi シグナルが AC1 を持続的に抑圧する一方、一過的な DA シグナルの減衰 (DA dip) が生じると、AC1 は Gi 抑圧から解放されて活性が生じた。一方、Glu シグナルは Ca2+ を介して AC1 を一過的に活性化した。これら DA dip と Glu シグナルは協調して AC1 を活性化するため、DA dip と Glu の入力タイミングに依存するシナプス可塑性が観測された (Fig. 2)。このタイミング依存シナプス可塑性は共同研究者のスライス実験において観測と一致した。DA dip と Glu

シグナルのタイミング窓は 2-3 s 程度と短いですが、それはシグナル伝達が生じる樹状突起～スパインの比表面積が大きく、Ca2+ シグナルの増減が素早いことであることも分かった。D1/D2 モデルをまとめて論文投稿を行い、PLoS Computational Biology 誌に受理・掲載された (Urakubo et al. 2020, PLoS Comput Biol 16(7): e1008078)。

さらに、D2 モデルにおいて DA dip シグナルを AC1 が検出して可塑性が生じる条件を検討すると (Fig. 3)、(1) D2R と RGS という二種

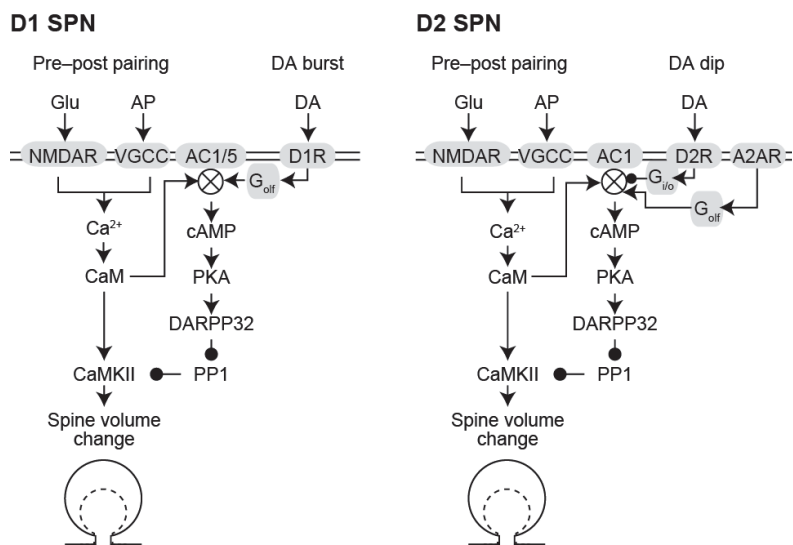


Figure 1: 情動可塑性のシグナル伝達モデルの概念図。(左) D1 SPN。(右) D2 SPN。

類の分子の発現量がバランスしている必要があること (Fig. 3B)、(2) RGS の発現量が一定レベル以上ある必要があること (Fig. 3C, 赤領域) が明らかとなった。さらに、条件(1, 2)を満たすパラメータを解析的に導出した。文献検索より、条件(1)は正常なマウスの発達においては達成されるものの、統合失調症においては D2R 優勢となってしまうこと、逆に DYT1 遺伝性ジストニアにおいては RGS 優勢となってしまうことが分かった (Fig. 3C, 青丸と赤丸)。行動学習においては、DA の一過的な減少 (DA dip) は Regret シグナルとして検出されて弁別学習が進む (Iino et al. 2020, Nature 579, pp. 555-560)。すなわち、弁別学習が行われることが正常な発達には不可欠であり、遺伝的な要因などで D2R-RGS9 バランスが崩れて DA dip の検出が不可能になること、統合失調症やジストニアなどの精神疾患が引き起こされることが明らかとなった。

以上の結果をまとめて論文投稿をおこなったところ、査読者より (1) 入力となる DA dip シグナルについて、より生理的な条件でモデル化すること、(2) モデルでは D2R (RGS9) → Gi → AC 経路についてのみ数値解析を行っているが、A2AR → Golf 経路の効果 (Fig. 3 右) を考慮せよとの指摘を頂いた。現在、モデルの改訂を行っている (Urakubo et al., PLoS Comput Biol, In revision)。

(項目 2) シグナル伝達の時空間シミュレーション

情動可塑性が生じる場所であるスパインの形状データを得るため、電子顕微鏡 3D 画像から樹状突起スパインのセグメンテーションを行った。同時期に 3D convolutional neural network (CNN) に基づいた高性能自動セグメンテーション法が発表されたため (FFN; Januszewski et al. 2018, Nat Methods 15, 605-610)、同手法を用いた自動セグメンテーションを試みた。また、自動セグメンテーション後のプルーフリード (人手による補正) に関して、Harvard 大学のプルーフリードソフト Dojo に独自の改良を加え、プルーフリードのみならず教師セグメンテーションの作成も行えるようにした。以上、Dojo の拡張や FFN 等、各種自動セグメンテーション法を簡便に利用できるように、ソフトウェア UNI-EM としてまとめて公開した (Urakubo et al. 2019, Sci Rep 9: 19413)。

電子顕微鏡画像から得られたスパイン 3D 形状に基づいて、4 面体メッシュによるコンパートメント化を行い、プラットフォームシミュレータ STEPS を用いて Glu シグナル (Ca²⁺) の反応拡散シミュレーションを開始した。予備的ではあるが、海馬スパインより線条体スパインは長いので、Ca²⁺シグナルがスパイン中に完全に保持される結果を得ている。一方、DA シグナルは多数のスパインを持つ樹状突起全体に与えられる。したがって、DA シグナルと Glu シグナルの空間相互作用を明らかにするためには、より広い空間における時空間シミュレーションを行う必要がある。

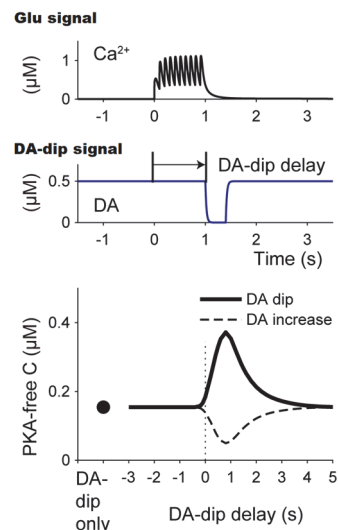


Figure 2: D2 モデルにおいて DA-dip (Ca²⁺) と Glu の相対タイミングに依存して生じる PKA 活性の時間窓。PKA 活性と情動可塑性は一対一に対応する。

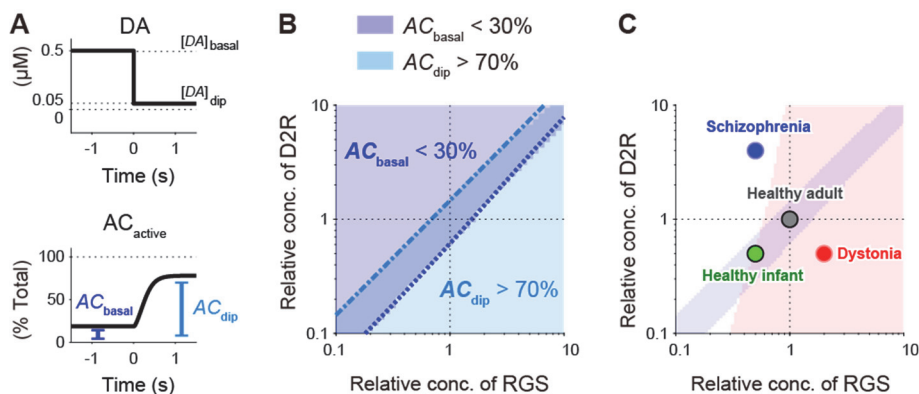


Figure 3: D2 モデルの AC1 において、DA dip が検出されて情動可塑性が生じる条件。(A) DA dip を模擬する DA 刺激と AC1 応答。(B) 十分な強度の AC1 応答が生じる条件。AC_{basal} が小さく (< 30%)、かつ AC_{dip} が大きい (> 70%) ためには、RGS と D2R の発現量がバランスしている必要がある。(C) 動物における RGS と D2R の発現量。灰点: 健康な大人、緑点: 健康な子供、青点: 統合失調症、赤点: DYT1 ジストニア。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Hidetoshi Urakubo, Sho Yagishita, Haruo Kasai, Shin Ishii	4. 巻 16
2. 論文標題 Signaling models for dopamine-dependent temporal contiguity in striatal synaptic plasticity	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLoS Computational Biology	6. 最初と最後の頁 e1008078
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pcbi.1008078	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 Laxmi Kumar Parajuli, Hidetoshi Urakubo, Ai Takahashi-Nakazato, Roberto Ogelman, Hirohide Iwasaki, Masato Koike, Hyung-Bae Kwon, Shin Ishii, Won Chan Oh, Yugo Fukazawa, Shigeo Okabe	4. 巻 27
2. 論文標題 Geometry and the Organizational Principle of Spine Synapses along a Dendrite	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 eNeuro	6. 最初と最後の頁 0248-20
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1523/ENEURO.0248-20.2020	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 Hidetoshi Urakubo, Yoshiyuki Kubota	4. 巻 55
2. 論文標題 電子顕微鏡画像から神経構造の3次元再構築を行うための情報技術	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 顕微鏡	6. 最初と最後の頁 120-124
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.11410/kenbikyo.55.3_120	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 Chiaki Kobayashi, Kazuki Okamoto, Yasuhiro Mochizuki, Hidetoshi, Urakubo, Kenta Funayama, Tomoe Ishikawa, Tetsuhiko Kashima, Ayako Ouchi, Agnieszka F. Szymanska, Shin Ishii, Yuji Ikegaya	4. 巻 146
2. 論文標題 GABAergic inhibition reduces the impact of synaptic excitation on somatic excitation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Neuroscience Research	6. 最初と最後の頁 22 ~ 35
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neures.2018.09.014	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 Hidetoshi Urakubo, Torsten Bullmann, Yoshiyuki Kubota, Shigeyuki Oba, Shin Ishii	4. 巻 9
2. 論文標題 UNI-EM: An Environment for Deep Neural Network-Based Automated Segmentation of Neuronal Electron Microscopic Images	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 19413
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-55431-0	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 Shin Ishii, Sehyung Lee, Hidetoshi Urakubo, Hideaki Kume, Haruo Kasai	4. 巻 69
2. 論文標題 Generative and discriminative model-based approaches to microscopic image restoration and segmentation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Microscopy	6. 最初と最後の頁 79 ~ 91
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jmicro/dfaa007	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 Sehyung Lee, Makiko Negishi, Hidetoshi Urakubo, Haruo, Kasai, Shin Ishii	4. 巻 125
2. 論文標題 Mu-net: Multi-scale U-net for two-photon microscopy image denoising and restoration	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neural Networks	6. 最初と最後の頁 92 ~ 103
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neunet.2020.01.026	査読の有無 無
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9件 (うち招待講演 5件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 Hidetoshi Urakubo
2. 発表標題 Simulation of spatiotemporal signaling dynamics for synaptic plasticity using technologies for EM connectomics
3. 学会等名 第126回 日本解剖学会総会・全国学術集会 第98回 日本生理学会大会 合同大会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hidetoshi Urakubo
2. 発表標題 Simulation of Ca ²⁺ dynamics within morphologically realistic neuronal spines
3. 学会等名 The 2nd CIBoG (Convolution of Informatics and Biomedical Sciences) Retreat
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 浦久保秀俊
2. 発表標題 シナプス可塑性のシグナル伝達からEMコネクトミクスへ：拡大するコンピューテーションの役割
3. 学会等名 自然科学研究機構・生理学研究所・部門公開セミナー（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 浦久保秀俊
2. 発表標題 二次元EM スタック画像からの自動3D 再構築
3. 学会等名 日本生理学会・企画シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hidetoshi Urakubo
2. 発表標題 Automated 3D reconstruction from a 2D stack of neuronal EM images
3. 学会等名 日本顕微鏡学会 第74回学術講演会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hidetoshi Urakubo
2. 発表標題 Improvement of a proof reading software in EM connectomics and its application to the simulation of extracellular DA signaling
3. 学会等名 第10回光操作研究会・第2回脳情報動態 合同国際シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hidetoshi Urakubo
2. 発表標題 Multi-label volume reconstruction of FIB/SEM images and its application to the simulation of extracellular DA signaling
3. 学会等名 神経科学大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hidetoshi Urakubo
2. 発表標題 Development of a unified environment for automated neuronal network reconstruction from EM images
3. 学会等名 Advances in neuroinformatics (AINI2018)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 窪田芳之、浦久保秀俊
2. 発表標題 Google Cloudを用いた神経組織SEM連続断面データの解析例の実際
3. 学会等名 日本顕微鏡学会「生体ボリュームイメージング研究会第3回研究会」(招待講演)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<https://github.com/urakubo/UNI-EM>
DNNを用いた神経EM画像セグメンテーションのための統合環境

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			
ドイツ	University Leipzig			