

特集 1 精神科ブレインバンクと脳科学研究

4. 統合失調症死後脳から見える神経細胞の構造変化

水谷 隆太¹⁾, Maree J Webster²⁾

抄録：筆者らは、放射光ナノ CT 法・マイクロ CT 法を用いて、ヒト脳組織の三次元解析を進めている。放射光は荷電粒子を加速して得られる光であり、強い X 線源として用いられる。そのような高輝度の X 線を用いて CT スキャンを行うことで、通常の 1 万倍の分解能が達成できる。これを統合失調症死後脳に適用したところ、神経突起の三次元構造の変化や、構造と幻聴スコアの相関が見いだされた。これは、統合失調症が神経細胞の変化を伴う精神障害であることを示している。このような精神障害の病態生理学の解明には、ヒト脳組織の研究が必須であり、ブレインバンクの重要性は今後さらに高まると思われる。そこで後半では、統合失調症や双極性障害で米国有数のブレインバンクとして知られる Stanley 研究所について、その成り立ちや運用を紹介する。また、米国でのブレインバンク事情を概観し、国家的リソースとしてのブレインバンクの連携などについて解説する。

日本生物学的精神医学会誌 34 (2) : 63-67, 2023

Key words : schizophrenia, neuron, 3D, brain bank, Stanley

1. 脳組織の三次元解析

多くの教科書には、神経細胞のイラストが掲載されている。それは、あたかも三次元的にみてきたかのようなものである。また、研究者の間でも、さまざまな技術の発展により、脳組織が三次元的に解析されている、と思われている。しかし、これは誤解である。その証拠に、三次元的な神経細胞のイラストは、経験のある者がみれば、あまりにグロテスクで、何の疾患かと思わせるものがほとんどである。皮肉なことに、神経細胞の三次元的なイラストが、神経細胞が三次元的に理解されていないことを示している。

その理由としては、従来の顕微鏡法では観察対象を一方向から見る事が挙げられる。顕微鏡像は、観察面内とその垂直方向で分解能が大きく異なり、見る方向に依存して、結果が人為的に変わる。また、検体を薄切して可視化する場合は、薄切で組織がゆがむため、画像を補正して他の画像と合わせたりする。したがって、得られる三次元像は人工的に加工されたものとなり、実体とは違ってしまふ。

それに対して CT スキャンは、対象をあらゆる方向から撮像し、断層像を重ねることで、実体に忠実な三次元像を再構成する。この画像再現性という特徴は、定位的手術やトモセラピーの技術的基盤となっている。それら一般的な CT スキャンはミリメートル単位の空間分解能であるが、それを 1 千倍～1 万倍に高めたのが、マイクロ CT 法・ナノ CT 法である。分解能が 1 万倍に高まると、画素の面積は 1 億分の 1 になり、X 線の明るさも 1 億倍にしなければならない。このため、特にナノ CT 法では、放射光とよばれる特別な光源が用いられる。

放射光は荷電粒子を光速に近い速さで飛ばし、その軌道を曲げたときに発生する光である。赤外線から X 線まで、幅広いスペクトルの光子が放射されるが、特に X 線領域でほかでは得られない輝度が達成できることから、高輝度 X 線源としてさまざまな分野で活用されている。放射光を用いた測定は専用の施設で行われるが、ナノ CT 法が実施できるのは、性能面の制約から、比較的新しい施設に限られる。筆者らは日本の大型放射光施設 SPring-8 (図

Structural alterations of neurons revealed from postmortem brain tissues of schizophrenia cases

1) 東海大学工学部生物工学科 (〒 259-1292 神奈川県平塚市北金目 4-1-1) Ryuta Mizutani : Department of Bioengineering, Tokai University, 4-1-1 Kitakaname, Hiratsuka, Kanagawa 259-1292, Japan

2) Maree J Webster : Laboratory of Brain Research, Stanley Medical Research Institute, 9800 Medical Center Drive, Rockville, MD 20850, USA

【水谷 隆太 E-mail : mizutanilaboratory@gmail.com】

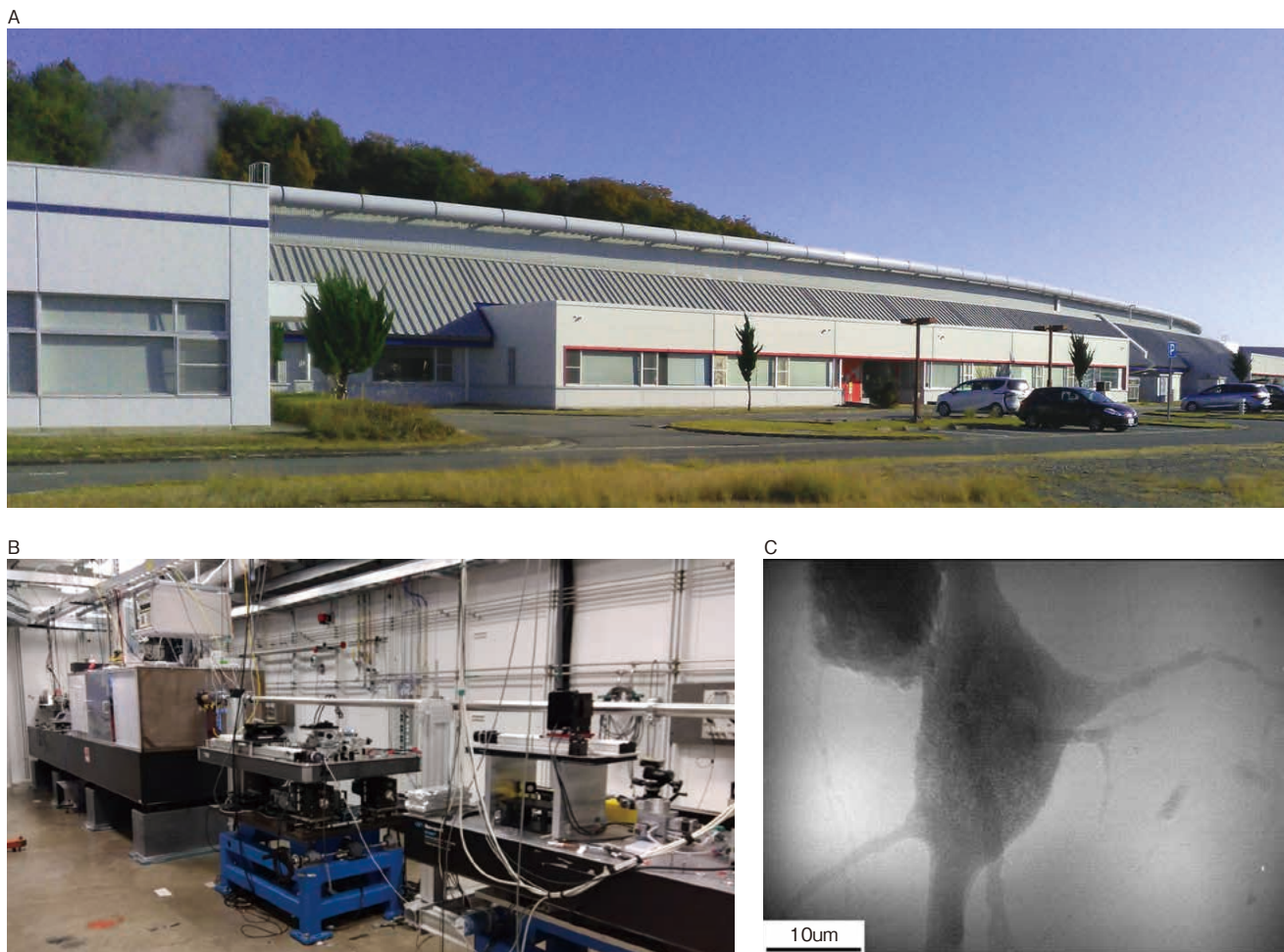


図1 日米の放射光施設における死後脳検体の可視化

(A) 大型放射光施設 SPring-8。写真左上が三原栗山で、その山を一周する巨大な建物「蓄積リング棟」で測定を行う。(B) アルゴン国立研究所 Advanced Photon Source の 32-ID-C ハッチの内部。X 線遮蔽のために「実験ハッチ」という部屋の中に検体をセットし、ハッチ外から操作する。(C) Stanley 研究所から提供された脳組織の神経細胞の X 線像。Advanced Photon Source で測定。

IA) と、米国アルゴン国立研究所 Advanced Photon Source (図 1B) を利用して、研究を行っている³⁻⁷⁾。

図 1C に、Advanced Photon Source で撮った神経細胞の X 線像を示す。脳組織検体は、前帯状回と上側頭回の組織をゴルジ染色して解析に用いた。それら検体の X 線像から断層像を得て、それをスタックして三次元像とした。実は、このような画像を見るだけで、統合失調症例と対照例が見分けられるが、それでは主観的・定性的な評価になってしまう。そこで、神経細胞の三次元像を専用のアルゴリズムでトレースし、デカルト座標に変換して、構造の定量的な評価を行った⁴⁻⁶⁾。神経突起のトレースは三次元的な曲線とみなせるが、微分幾何学では、三次元曲線は曲率 (curvature) と捩率 (torsion) で表される。また、太さや長さも容易に求められる。そのような構造パラメータを、各症例・各脳部位でそれぞれ数百本の神経突起や数千個の棘突起 (dendritic

spine) で求めた。

それら各種構造パラメータを統合失調症 8 例と対照 8 例で比較したところ⁶⁾、統合失調症では神経突起の曲がり方を示す曲率が有意に高く ($p = 0.00078$)、対照例の 60% 増になっていた。また、曲率の頻度分布から、計 16 例の疾患群と対照群を完全に判別できた。すなわち、統合失調症かどうかを脳組織像から判定可能であった。この結果は、統合失調症が病理診断可能な脳の器質的疾患であることを示唆している。また、神経突起の曲率は幻聴スコアと相関しており ($r = 0.80$, $p = 0.00018$)、今回の 16 例では、幻聴の程度が死後脳から推定できた。したがって、神経突起をまっすぐにできれば、幻聴を抑えられる可能性がある。これは統合失調症の新たな治療法に発展するかもしれない。読者のみなさまには、そのような点からのご検討をぜひお願いしたい。

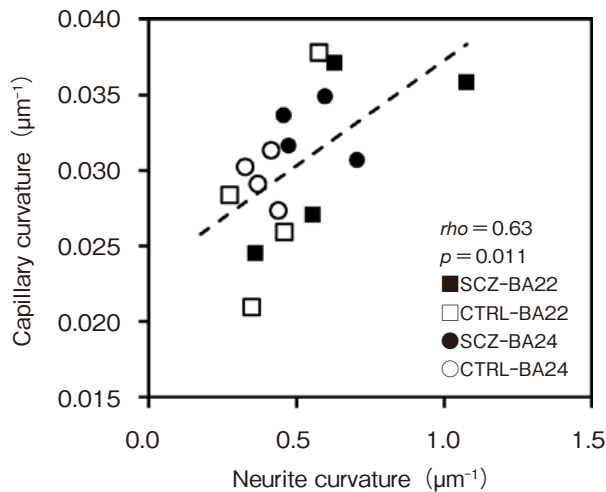


図2 脳の毛細血管の曲がり方(縦軸)は、神経突起の曲がり方(横軸)と相関している(文献7より改変)。

毛細血管の構造も同様に解析して、神経突起との関係を検討した⁷⁾。その結果、毛細血管の曲がり方と神経突起の曲がり方が相関しており(図2; $\rho = 0.63$, $p = 0.011$)、脳のエネルギー供給と情報処理は、構造のうえでも関連していることが示された。一方で、毛細血管の太さは神経突起にかかわらず一定であり⁷⁾、血球の大きさで規定されていると思われる。これら脳の毛細血管に関する解析結果は、血流を介した診断や治療の可能性を示しており、この点からも検討が必要であろう。

2. 精神科ブレインバンク

上述のようなヒト脳研究には、質が高く、よく検証された脳組織が不可欠である。例えば、図1で示した測定では、米国Stanley研究所(Stanley Medical Research Institute: SMRI; www.stanleyresearch.org)の検体を用いている。以下では、精神科ブレインバンクについて、米国での事例を解説する。

SMRIは、統合失調症や双極性障害の研究を支援する非営利団体であり、それら重篤な精神疾患の検体を研究者に提供する数少ない精神科ブレインバンクの一つである。脳科学の分野では、高度な技術が開発されてきており、それに対応して、死後脳組織へのアクセスを継続して確保することが求められる。そのようなブレインバンクの構築にあたっては、ドナーの特定、正確な診断のための十分な情報の取得、組織の品質評価など、それぞれの段階を慎重に検討する必要がある。SMRIは、近親者のインフォームドコンセントのもと、検視局から脳を収集しており⁸⁾、標準化された技術をもつ病理医により、検視

が行われている。すべての医療記録および精神科記録は、2人の経験ある精神科医によって検討され、最終的に診断を確定する前に、家族にも連絡して確認している。非罹患の対照例については、精神科医が家族に対して電話で構造化インタビューを行い、関連する精神医学的情報や病歴を聴取している。また、すべての症例で、神経病理医による標準的な検査も行われている。SMRIの症例は平均年齢45歳と比較的若いですが、いずれの脳検体も、心血管疾患、脳出血、外傷、アルツハイマー病やパーキンソン病に関連する病変、飲酒や無酸素・低酸素による脳組織への影響の有無が検討され、RNAの品質評価スクリーニングが行われている。それら病理所見がなく、良質のRNAをもつ脳検体だけが、最終的な研究コホートに採用される。

SMRIのブレインバンクの編成と運用は、以下のとおり、いくつかの点でユニークである。(1) まず、サンプルは常に特定のコホートから送られるため、全研究者が同じ疾患例と対照例のコレクションを研究することになる。(2) サンプルはブラインド化され、各研究者に送られる症例番号は固有のものである。症例番号に対応する性別・年齢などの情報を得るためには、研究者はSMRIにデータを返送する必要がある。これにより、SMRIは各症例について数千のデータポイントを収集し、ウェブサイト <http://sncid.stanleyresearch.org/> (SNCID) を通じて一般に公開している²⁾。(3) さまざまな研究者の希望にこたえるため、一方の半球を組織固定し、もう一方は凍結保存している。サンプルは、特定の脳部位から採取したブロック検体や、各部位を10~14 μm の厚さでスライドグラスにしたもの、または、RNA・タンパク質溶液として提供される。(4) 申請と配布の手続きは合理的かつ効率的であり、サンプルを無料で提供することにより、多くの研究者が利用できるようにしている。その結果、これまでに30カ国以上、数百の研究機関の利用実績がある。(5) 各症例について、血清、肝臓、脾臓、硬膜などの末梢検体も採取している。SMRIにデータを提出した後、研究者は自由にデータを分析し、どのように発表することも可能であるが、サンプルの由来については謝辞での記載をお願いしている。返送されたデータは、少なくとも1年間は公表を保留可能である。SMRIでは、年齢、性別、人種、死後時間、pH、脳半球、mRNA品質でマッチングされた疾患例・対照例のコホートが用意されている⁸⁾。各コホートには、通常、統合失調症例・双極性障害例・非罹患対照例が同数含まれている。異なる診断群を含め

ることで、投薬・自殺・精神症状の有無など、診断群に共通する変数の影響を、診断の影響から切り離すことができる。得られるデータの多くは発表され、www.stanleyresearch.orgには541報の論文が掲載されている。一方で、結果が有意でないために発表されない場合もあるが、それら未発表のデータもSNCIDでは検索することができる。

SMRIのほかにも、米国には精神科ブレインバンクがいくつか存在する。2013年以前は、各研究者のプロジェクトとして米国国立衛生研究所(NIH)から資金が提供され、精神科症例と非罹患患者対照例が収集されていた。しかし、それ以外の研究機関の研究者が利用できるサンプルは限られていた。そこで2013年に、NIHはヒト死後脳研究を推進するための国家的リソースとして、NeuroBioBank(NBB; <https://neurobiobank.nih.gov/>)を設立した¹⁾。NBBは、以前は死後脳を収集する研究者に資金を提供していたが、現在は脳検体を各プロジェクトのために保管するのではなく、NBBポータルに掲載することで研究者コミュニティ全体からアクセスできるようにしている。これまでに神経疾患・精神疾患・神経発達障害の検体などが集められており、NBBはそれらレポジトリで中心的な役割を担っている。また、NBBは医療記録や臨床データを研究者に提供し、各施設の品質指標や実施事例も入手できるようになっている。現在NBBに参加しているのは、University of Maryland Brain and Tissue Bank, University of Miami Brain Endowment Bank, Harvard Brain Tissue Resource Center, The Human Brain and Spinal Fluid Resource Center, Mt. Sinai Brain Bank, The Brain Tissue Donation Program at the University of Pittsburghの6研究機関である。さらに、NIHのHuman Brain Collection Core(HBCC)やMaryland Brain Collection(MBC)も、主な精神疾患の症例やその対照例の死後脳組織を提供している。

以上が米国における精神科の主要なブレインバンクであるが、SMRI同様に、慈善団体や患者支援団体から資金提供を受けて、特定の脳疾患を対象とするブレインバンクも存在する。NBBのウェブサイトには、PTSD、自閉症、神経変性疾患(認知症、アルツハイマー、パーキンソン、ALS、TBIなど)といった脳疾患ブレインバンクも掲載されている。研究者へのサンプル提供は、各団体のサイトから申し込むことで行われる。ほかにも、外部の研究者にサンプルを公開していないレポジトリや、共同プロジェクトに参加している場合もある。例えば、Lieber

Institute for Brain Development(LIBD)(<https://www.libd.org/brain-repository>)では、さまざまな種類の脳疾患と、非罹患対照群の死後脳サンプルが集められている。

脳疾患の病態を理解し、より効果的な治療法を開発するためには、このように高品質でよく検証された脳組織検体の収集が重要となる。また、それらへのアクセスを継続して確保することも不可欠である。

謝辞

本論文のナノCT法による研究は、2カ国8機関20名以上の方々との共同研究である。ご芳名は以下文献4~6を参照されたい。それら研究は、文部科学省科学研究費および高輝度光科学研究センターJASRI/SPRING-8の各種課題に基づいて実施している。This study used resources of the Advanced Photon Source, a U.S. Department of Energy(DOE) Office of Science User Facility operated for the DOE Office of Science by Argonne National Laboratory under Contract No. DE-AC02-06CH11357.

本論文に記載した筆者らの研究に関し、すべて倫理的配慮を行っている。本論文に関し、開示すべき利益相反はない。

文 献

- 1) Freund M, Taylor A, Ng C, et al (2018) The NIH NeuroBioBank: creating opportunities for human brain research. In: Handbook of Clinical Neurology - Brain Banking (eds Huitinga I and Webster MJ). Elsevier BV, 150: 42-48.
- 2) Kim S and Webster MJ (2010) The Stanley Neuropathology Consortium Integrative Database: A novel, web-based tool for exploring neuropathological markers in psychiatric disorders and the biological processes associated with abnormalities of those markers. *Neuropsychopharmacology*, 35: 473-482.
- 3) Mizutani R, Noguchi S, Saiga R, et al (2022) Schizophrenia-mimicking layers outperform conventional neural network layers. *Front Neurobot*, 16: 851471.
- 4) Mizutani R, Saiga R, Takeuchi A, et al (2019) Three-dimensional alteration of neurites in schizophrenia. *Transl Psychiatry*, 9: 85.
- 5) Mizutani R, Saiga R, Yamamoto Y, et al (2021) Structural diverseness of neurons between brain areas and between cases. *Transl Psychiatry*, 11: 49.
- 6) Mizutani R, Saiga R, Yamamoto Y, et al (2022)

- Structural aging of human neurons is the opposite of the changes in schizophrenia. doi : 10.48550/arXiv.2211.07024
- 7) Saiga R, Uesugi M, Takeuchi A, et al (2021) Brain capillary structures of schizophrenia cases and controls show a correlation with their neuron structures. *Sci Rep*, 11 : 11768.
- 8) Torrey EF, Webster M, Knable MB, et al (2000) The Stanley Foundation brain collection and Neuropathology Consortium. *Schizophr Res*, 44 : 151-155.

■ ABSTRACT

Structural alterations of neurons revealed from postmortem brain tissues of schizophrenia cases

Ryuta Mizutani¹⁾, Maree J Webster²⁾

1) *Department of Bioengineering, Tokai University*

2) *Laboratory of Brain Research, Stanley Medical Research Institute*

We are conducting 3D analysis of neurons in human brain tissue using synchrotron radiation computed tomography (CT) ; both nano-CT and micro-CT. Synchrotron radiation is generated by accelerating charged particles and used mainly as strong X-rays. Application of the high-brilliance X-rays to the CT methodology allowed us to achieve a 3D resolution of approximately 10,000 times finer than that of the medical CT. We applied the nano-CT to the analysis of postmortem brain tissue from schizophrenia and control cases and found that the curvature of neurites in schizophrenia is significantly correlated with the auditory hallucination score. These results indicate that schizophrenia is a psychiatric disorder with significant changes in neural structure . Studies of human brain tissue are essential to elucidate the pathophysiology of such disorders and thus the importance and necessity of brain banks will only increase more in the future. The latter half of this paper outlines the organization and operation of the Stanley Medical Research Institute Brain Bank, which is one of the main brain banks for schizophrenia and bipolar disorder in the U.S. We also summarize other current brain banks in the U.S. and their cooperation as a national resource.

(Japanese Journal of Biological Psychiatry 34 (2) : 63-67, 2023)
