

# 精神疾患におけるシナプス病理の因果関係を マルチスケールに解明する

林（高木） 朗子

精神疾患の原因解明が困難をきわめているのは周知のとおりであるが、その大きな理由としては、患者サンプルを用いたナノスケールのゲノム解析と、これとは全く対極のマクロスケールである fMRI などの脳画像研究が二極化した状態で進行していること、さらに倫理的な制約から脳組織を生検などで直接検証することが通常は不可能であるためである。したがって、病態生理や治療標的の中核となりうるマイクロメートルスケール、すなわちシナプス・細胞レベルの病態を解明する手法がきわめて限られていた。一方で、精神疾患モデル動物や死後脳を用いた研究により、精神病態の責任となりうる候補因子、例えば、統合失調症におけるシナプス病理などが示唆されてきた。しかしながら、これら知見はまだ観察レベルの記述的記載の側面が強く、これらのナノ・マイクロレベルの階層が、より上位のマクロレベルの階層へ、いかなる相互作用を惹起しながら最終的に認知や行動の変容を引き起こすのか不明である。スケールが大きく異なる複数の相互作用が本質的に重要な役割を果たすことを「マルチスケール現象」と物理学では定義するが、高次脳機能はまさに本質的にマルチスケール現象であり、ナノスケールからマクロスケールまでの各階層が、原因であり結果でもある複合相関システムとして高次脳機能を実証しなければ、真の理解に到達することはできないと考えた。そこで、脳機能やその変容としての精神疾患に関して、階層を跨いだ因果関係の解明をめざしたマルチスケール精神疾患研究の有用性について概観する。

## 索引用語

マルチスケール, 因果関係, シナプス, 2光子励起顕微鏡, グルタミン酸シナプスアンケーシング

## はじめに

神経細胞は、直接融合しているのではなく、シナプス間隙と呼ばれる数 10 nm の隙間を隔てて、神経伝達物質により“化学的に”接続している。神経伝達物質が興奮性シナ

プス後電位 (excitatory postsynaptic potential : EPSP) を介して膜電位を上昇させる場合は興奮性シナプス、抑制性シナプス後電位 (inhibitory postsynaptic potential : IPSP) を介して膜電位を低下させるものが抑制性シナプスである。前者の代表的な伝達物質がグルタミン酸であり、AMPA 受容体などの非 NMDA 型グルタミン酸受容体が通

著者所属：理化学研究所脳神経科学研究センター多階層精神疾患研究チーム

編 注：本特集は第 119 回日本精神神経学会学術総会シンポジウムをもとに尾崎紀夫（名古屋大学大学院医学系研究科精神疾患病態解明学）を代表として企画された。

doi : 10.57369/pnj.24-117

常の神経伝達に関与することに対して、NMDA 受容体は通常の神経伝達だけではなく、超線形なシナプス伝達や、神経伝達の効率を変化させる（シナプス可塑性）役割を担う。シナプスの可塑性により神経細胞の機能的つながりが強化もしくは減弱されるため、膨大な神経回路ネットワークにどのように活動が伝播するかが刻々とアップデートされ、これこそが学習や記憶の基本素子と考えられている。

多くの精神疾患の病態生理に何らかのシナプス病変が関与していると考えられており、そのエビデンスは、人類遺伝学、死後脳研究、ヒト脳機能イメージング、ヒト iPS 細胞など多岐にわたる<sup>2~4,14)</sup>。これらの精神疾患の病態生理にシナプスの機能の変調があるとして、一体、どのようなシナプス変調が疾患の病因・病態生理となり、最終的に精神疾患という行動変容を惹起するのであるか？ シナプス入力を神経回路レベルで考えると、どの細胞がどの細胞に出力するかにより、フィードバック結合になったりフィードフォワード結合になったりする。両者のバランスにより、ある細胞群の同期発火が起こりやすくなり、もしくはシナプス競合が起こりやすくなったりと、神経回路のダイナミクスが変化する。また、シナプスによる神経伝達はデジタル信号が忠実に信号を伝達するわけではないことも重要である。大きな神経細胞になると、単一の細胞あたり約1万個以上のシナプス入力を受け、EPSP と IPSP が神経細胞体まで伝わり、最終的に発火するか否かが決まる。この演算過程を神経統合と呼び、例えば、加算、減算、乗算、除算、論理演算などのさまざまな演算が行われる<sup>9)</sup>。AMPA 受容体を介する興奮性入力が加算だとすれば、減算が GABA、NMDA 受容体は興奮性シナプス入力を単純な加算から、乗算のような複雑な超線形演算に変換することが知られている。このように、シナプス機能といっても非常に多岐にわたり、そのなかのいかなる機能が真に精神疾患の原因になるのかは、壮大な問いである。そして、創薬などの治療法開発には、原因・メカニズム・結果という因果関係の解明が行われるべきである。

## 1. マルチスケールな研究をすることで 見えてくる因果関係

スケールが大きく異なる複数の相互作用が本質的に重要な役割を果たすことを「マルチスケール現象」と物理学では定義する。これだけではわかりにくいかもしれないので、タイヤを例に挙げる。理想的なタイヤを作製するとし、

そのようなタイヤが有すべき特性として、燃費性、直進安定性、ドライ性能、ウェット性能、静粛性、乗心地など多くの特性が挙げられる。カーボン、シリカの立体構造はナノ・材料工学によるが、そこで最適とされた材料がタイヤとして本当に良好に機能するのは、タイヤをマイクロで見たとき、マクロで見たとき、自動車に装着した際の機能、そしてその自動車に乗ったときのヒトの生体情報計測というように、マルチスケールな計測・シミュレーションで見なければわからない。言い換えれば、下位階層で得られた結果は、上位階層へ、そして上位階層から得られた結果は下位階層へと互いにフィードバックすることにより、より理想的なタイヤが作られる。マルチスケールな解析を行うことで、見えなかったものが可視化され、因果関係が明らかになってくるわけである。高次脳機能は正にマルチスケール現象であり、ナノスケールからマクロスケールまでの各階層が原因であり結果でもある複合相関システムとして高次脳機能をとらえなければ、真の理解には到達しないというのがわれわれの研究理念である。このような研究理念は、文部科学省・科学研究費助成事業新学術領域研究「マルチスケール精神病態の構成的理解（2018～2022）」というチームグラントの機会を与えられ<sup>7)</sup>、計画研究、公募研究を含め、約50もの研究室が結集して行われたため、ご興味をもたれたとしたらわれわれの活動をご覧くださいければ幸いです<sup>8)</sup>。すべての活動を述べるのは誌面の都合上限界があるため、以降では、著者の研究室で行われているマルチスケールシナプス研究について述べる。

まず、研究対象である、fMRI や PET などのヒト脳画像は非常に強力な手法であり、多くの貴重な知見を得てきたものの、最先端の7テスラのMRIを使用したとしても、せいぜいmm単位の空間解像度が限界であり、 $\mu\text{m}$ 単位のシナプス活動を捉えることは不可能である。iPS細胞などのヒト由来生体試料を用いても、現在の最先端技術をもって、完全に成熟した神経細胞へ分化誘導できないこと<sup>1)</sup>、さらに *in vitro* 2D培養および脳オルガノイドであることより、成体の *in vivo* での解析は不可能である。そのため、モデル動物はマルチスケール研究の格好の標的となる。ゲノム研究により次々と疾患に関連する効果量の大きな loss-of-function (LoF) 遺伝子多型が見出され、これらの遺伝子多型を導入したモデルマウス（構成的妥当性）が作出されている。これらのモデルマウスの一部は、作業記憶やプレパルス抑制の障害、活動量の低下など、ヒト精神疾患の症状と矛盾しない行動表現型の一部が再現できるように

なってきた（表面的妥当性）。したがって、動物モデルの限界を理解したうえで、モデルマウスの脳内で、どのような分子、シナプス、細胞、回路レベルの変動が生じ、最終的に行動変容に至るのかを解析すれば、ヒト病態生理の理解へ外挿でき、完全ではないにせよヒトの精神疾患の原因理解につながるかもしれないという思想である。

## II. マルチスケールシナプス研究—— シナプス-樹状突起-神経細胞-回路-行動——

著者の研究室では、大脳皮質の興奮性シナプスを起点として、その上位階層である樹状突起、細胞、回路、行動に跨るマルチスケールシナプス研究を行っている。興奮性シナプスの大部分は、スパインと呼ばれる樹状突起の小突起上に形成され、スパインサイズとそこに形成されるグルタミン酸シナプスに流れる AMPA 受容体由来電流が非常に良く相関するという特徴を有する<sup>10)</sup>。言い換えれば、*in vivo* 2光子励起イメージング法と蛍光蛋白質を組み合わせ、生体脳のスパインの形態を観察するだけで、生きた動物のシナプス強度がどのように変化するかを縦断的に推測できるという、強力な実験デザインが成り立つ<sup>5)</sup>。例えば、われわれが統合失調症モデルマウスである *DISC1* ノックダウンモデルを解析した結果、生後 60 日頃より非常に大きなスパインが有意に増加し、前頭前野認知機能を反映するワーキングメモリの障害も同時期に観察された<sup>5)</sup>。しかし、ワーキングメモリ障害と、シナプスとの関係を解明するためには、シナプス→樹状突起→細胞→回路→行動という多階層のなかの 1 つの階層に摂動を加え、時系列データを多階層解析することではじめて因果関係への理解へ歩を進めることができる（図 1）。そこで、単一スパインへのシナプス入力を模すために、ケージドグルタミン酸の 2 光子励起アンケーシングを用いた、2 光子励起によるグルタミン酸アンケーシングにより、どのように AMPA 受容体由来電流が生じるかは詳細に検討されており、そのとき空間的な精密さは担保されている<sup>10)</sup>。そして、目的のシナプスにグルタミン酸アンケーシングを行い、スパインで惹起される EPSP、スパインやその近傍での  $Ca^{2+}$  イベント、そして細胞体にホールセルパッチクランプを行い膜電位も測定可能とする。すなわち、グルタミン酸によるミリ秒のシナプス入力を自由自在に操り、その際に、どのようなシナプス、樹状突起および細胞イベントが惹起されるかという時系列のデータがとれる。興味のある酵素やチャネルの阻害

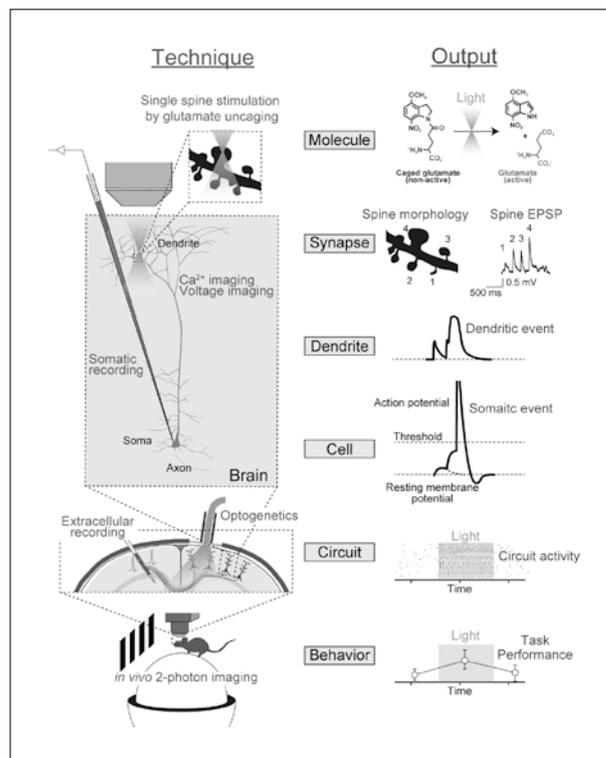


図 1 マルチスケールシナプス研究

グルタミン酸アンケーシング（分子層）を駆逐することで、目的とするシナプスを特異的に刺激できる。同時に樹状突起を  $Ca^{2+}$  イメージングしたり（樹状突起層）、細胞内記録を併用することで、どのシナプスに入力が入れば、どのようなシナプス電位（シナプス層）が惹起され、最終的に発火に至るか否か（細胞層）を検証できる。光遺伝学を用いて特定のシナプスや細胞群を光操作することも可能であり、その際に、神経回路（回路層）や行動（行動層）にどのような変化を誘発するか検証し、因果関係を明らかにする。

剤などを併用すれば、いかなる分子がどの事象に関与するかを示せるし、head-fix 課題遂行下でイメージングすれば、行動成績と下層イベントの詳細な時系列データも計測できる<sup>16)</sup>。

さて、実際の実験に関して概説する。まず、モデルマウスとして、統合失調症の発症に対して効果量の大きいことが知られている *SETD1A* と *DISC1* 遺伝子の機能喪失型遺伝子多型に着目し、*SETD1A* ヘテロノックアウトマウス<sup>12)</sup> と *DISC1* コンディショナルノックダウンマウス<sup>13)</sup> を統合失調症モデルマウスとして準備した。これらのモデルマウスのスパインの大きさを定量したところ、どちらのモデルマウスも非常に大きなスパイン（巨大スパイン）が野生マウスよりも有意に多いことが見出された。典型的なスパインの直径は  $0.4 \mu m$  程度であるのに対して、巨大スパインの直径を  $0.8 \mu m$  以上と定義した。

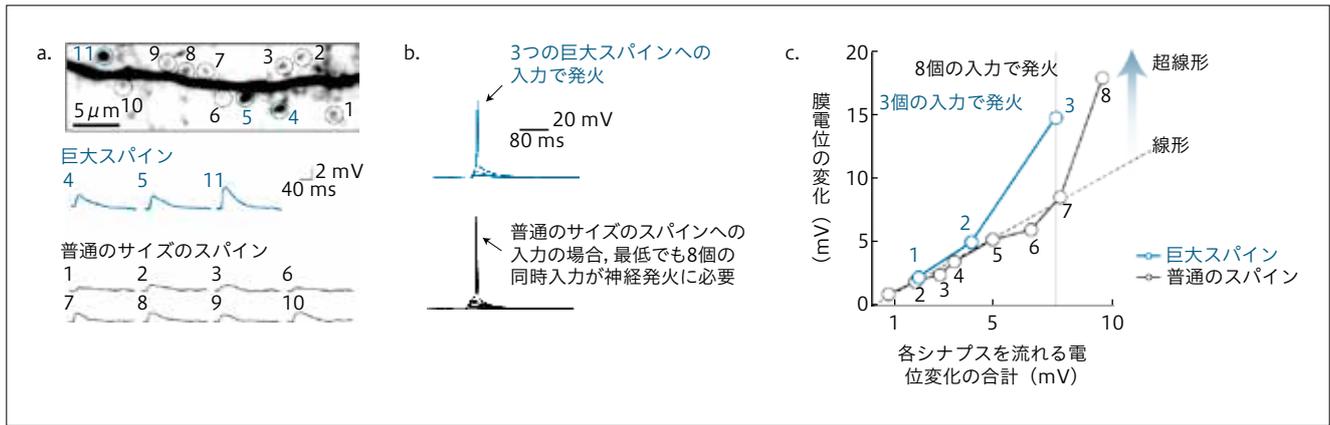


図2 シナプス入力と神経発火の関係

(a) 一つひとつのシナプス入力に伴う電位変化。巨大スパインへのシナプス入力は大きな電位変化を誘発する。(b) 巨大スパインの場合、3つのシナプス入力だけで発火するが、通常のサイズのスパインの場合、最低でも8個の同時入力が必要である。(c) 各シナプスを流れる電位変化が単純加算されれば、膜電位は点線の上にプロットされる。巨大スパインへの入力の場合、3個の入力で発火し、その際には超線形の演算が生じている。

次に、巨大スパインにシナプス入力があると、その巨大シナプスからどれくらいの電流が流れ、細胞の膜電位がどの程度上昇するかを、電気生理学的に検証した。その結果、巨大スパインからの電流（膜電位変化）は普通のサイズのスパインからの電流よりも大きく、また、少数の巨大スパインへのシナプス入力による膜電位は超線形に加算されることを発見した。超線形とは、ある入力に対する出力が入力の増加に比例する以上に多く増加する現象であり、つまり1+1が2ではなく、3や4になるような増幅である（図2）。このような膜電位の超線形な加算は、巨大スパイン内で起こるNMDA受容体依存性の自己再生的な電位増幅によりもたらされることが薬理的に明らかになった。自己再生的な電位増幅とは、神経細胞の場合、膜電位が一定の閾値を超えると、電位依存性のチャンネルが開き、陽イオンが神経細胞内に流入し、膜電位がさらに陽性方向へと変化する。一度このようなイベントが発生すると、その過程は自動的に全体が進行する。これはある種のドミノ倒しのような現象で、一度最初のドミノ（ここでは巨大スパイン上の電位依存性チャンネルの開放）が倒れ始めると、最後のドミノ（ここでは電位の回復）が倒れるまで連鎖的に進行する。この現象を自己再生的な電位増幅と呼ぶ。このような現象を防止する薬剤を実験的に探索したところ、NMDA受容体阻害剤であるAP-5が同定され、NEURONソフトウェアを用いて膜電位を時空間的に詳細にシミュレーションしたところ、膜電位の増幅は巨大スパイン内で生じること、そしてそれはNMDA受容体依存性であることがシミュレーションされた。このことは実験データとも非常に

よく符合する。つまりは巨大スパイン上に発現するNMDA受容体により神経細胞が発火しやすい状況になり、実際にマウスの前頭野における神経発火をセル・アタッチ記録で計測したところ、*SETD1A*ヘテロノックアウトマウスおよび*DISC1*コンディショナルノックダウンマウスの錐体細胞では神経発火が亢進していた。

### III. 光遺伝学による因果関係検証

マルチスケール解析のもう1つの肝となる手法は、光遺伝学である<sup>15)</sup>。光遺伝学が電気刺激法などの古典的手法と比較して優位な点は、分子細胞生物学の利点を最大限活用している点である。例えば、細胞特異的なプロモーター配列、ある特定の細胞内局在へ集積させるシグナル配列、mRNAの非コード領域Cis配列などの膨大な遺伝子工学的な修飾を光プローブに加えることができ、その結果、空間的にきわめて精密なレベルで光プローブの局在を制御できる。そして、ミリ秒での時間解像度で光刺激を正確に制御できる光学の利点を生かして、実験者がデザインした時空間解像度で細胞内現象を操作し、行動への摂動をより直接的に検証することが可能となった。われわれはシナプス解像度の光遺伝学を達成することに挑戦し、AS-PaRac1 (Activated Synapse targeting photo-Activatable Rac1) というシナプスオプトプローブを開発した<sup>6)</sup>。AS-PaRac1は増強（新生もしくは増大）スパインに特異的に集積し、さらに青色光照射で、これらの増強シナプスだけを減弱する性質があることが実験的に確認された。そこで、*SETD1A*

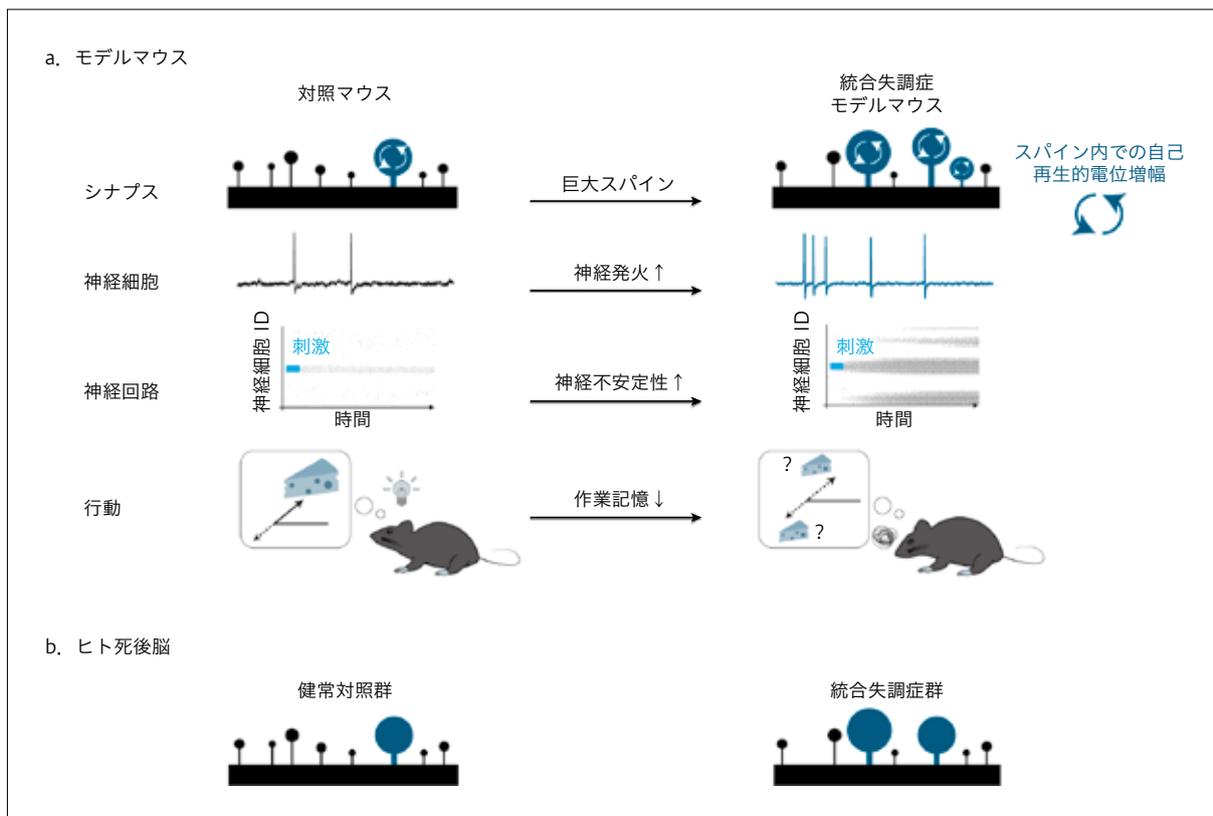


図3 巨大スパインが作業記憶障害を惹起するメカニズム  
 (a) 統合失調症マウスモデル (*SETD1A* および *DISC1* モデル) での知見. (b) ヒト死後脳での知見.

ヘテロノックアウトマウスの神経発達期に相当する時期に、巨大スパインの生成を AS-PaRac1 で阻害すると、同モデルマウスの作業記憶の低下を予防でき、正常マウスと遜色のない程度の作業記憶を保つことができた<sup>13)</sup>。さらに、ヒトの統合失調症患者由来の死後脳においても、巨大スパインが有意に多いことが確認された。前述のように、1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である。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、神経細胞の発火が亢進し、それが作業記憶障害と関連する可能性が示された(図3)。

このようなシナプス光遺伝学は、抗うつ薬の作用機序の理解にも使用されている。米国の Liston, C. らは、新規の抗うつ薬として注目されているケタミンの作用機序の解明に切り込んだ<sup>11)</sup>。ケタミンは単回投与の数時間以内に抗うつ作用を示し、この抗うつ効果は1週間程度持続する。これは従来の三環系抗うつ薬やセロトニン再取り込み阻害剤 (selective serotonin reuptake inhibitor : SSRI) などが、2~6週間かけてゆっくりと治療効果を発揮し、その間にも

自殺念慮などの重篤な精神症状が持続することが臨床現場での問題となっていることを考えると、ケタミンの即効性は特筆すべきである。しかし、ケタミンは解離性麻酔薬であり、その副作用として、幻覚や悪夢、解離症状などの精神病症状を引き起こし、1970年代後半から米国の若者の間でその乱用が大きな社会問題になった麻薬である。したがって、ケタミンを抗うつ薬として日常的に使用することは臨床的には問題が伴う。そもそもケタミンの抗うつ効果の奏効メカニズムも不明であり、この奏効メカニズムを解明しなければ、より有効性が高く、かつ副作用の小さい治療薬の開発にはつながらない。そこで、ケタミンの奏効機序の解明に向けた壮絶な競争が繰り広げられ、数ある候補の1つが、スパイン新生であった。うつ病モデルの前頭前野ではスパイン密度が低下しており、ケタミンの投与によってスパイン密度が回復することが知られているからである。しかしながら、スパイン新生が、本当にケタミンの抗うつ効果の本質であることを示すエビデンスはなかった。Liston らは、慢性ストレスモデルマウスにケタミンを投与し、*in vivo* 2光子励起イメージングでスパイン動態を観察し、同時に行動尺度も計測した。その結果、ケタミン

による抗うつ効果はスパイン新生よりも早いタイミングで誘導されることから、スパイン新生は、即効性の抗うつ効果には不要であることを示した。しかし、AS-PaRac1を用いて、ケタミンの前頭前野におけるスパイン形成を阻害したところ、意欲的逃避行動に対する抗うつ効果が消失した。一方、ケタミン処理とは無関係なスパインのランダムなサブセットを光学的に削除しても、行動には影響がなかった。すなわち、慢性ストレスモデルにより失われたシナプスをケタミンによりスパイン新生を促すことは、即効性の抗うつ効果には無関係であるが、抗うつ効果の持続には有効であることが示されたのである。このことをヒトの病態生理にあてはめてみると、うつ状態により失われたスパインを回復する薬理的・神経刺激的介入は、うつ病の持続的な寛解を促進するために有用であることが示唆されたのである。

## おわりに

多かれ少なかれ、精神神経疾患はシナプス原性の病態生理が関与することはもはや疑いもなく、シナプス伝達やシナプス可塑性の異常を大規模にイメージングし、さらには病態生理への責任回路を同定する方法は有効な戦略と思われる。多くの精神疾患モデルが作成されているなかで、病因と表現型の因果関係まで踏み込んだ研究は少ないのが現状であり、シナプス病理の多階層理解や、シナプス光遺伝学により同定された精神疾患神経回路は真の治療戦略になる可能性を秘める。実際にはヒト患者の病態責任回路であるシナプス・アンサンブルを特異的に光操作することを治療戦略として掲げることは現実的ではないだろうが、明らかに病態生理に直結する神経回路が同定されれば、その回路を標的にした transcranial magnetic stimulation (TMS) や deep brain stimulation (DBS) などへ展開できる可能性がある。

### 利益相反

著者の林（高木）朗子は、中谷医工計測技術振興財団より報酬を受理している。

### 謝辞

なお、本研究はAMEDの課題番号JP22dk0307113の支援を受けて実施した。

## 文献

- 1) Bhaduri, A., Andrews, M. G., Mancina Leon, W., et al. : Cell stress in cortical organoids impairs molecular subtype specification. *Nature*, 578 (7793); 142-148, 2020
- 2) Bipolar Disorder and Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomics Consortium : Genomic Dissection of Bipolar Disorder and Schizophrenia, Including 28 Subphenotypes. *Cell*, 173 (7); 1705-1715, e16, 2018
- 3) Brennand, K. J., Simone, A., Jou, J., et al. : Modelling schizophrenia using human induced pluripotent stem cells. *Nature*, 473 (7346); 221-225, 2011
- 4) Glantz, L. A., Lewis, D. A. : Decreased dendritic spine density on prefrontal cortical pyramidal neurons in schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*, 57 (1); 65-73, 2000
- 5) Hayashi-Takagi, A., Araki, Y., Nakamura, M., et al. : PAKs inhibitors ameliorate schizophrenia-associated dendritic spine deterioration in vitro and in vivo during late adolescence. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 111 (17); 6461-6466, 2014
- 6) Hayashi-Takagi, A., Yagishita, S., Nakamura, M., et al. : Labeling and optical erasure of synaptic memory traces in the motor cortex. *Nature*, 525 (7569); 333-338, 2015
- 7) Hayashi-Takagi, A. : Constructive understanding of multi-scale dynamism of psychiatric disorders. *Neurosci Res*, 175; 1-2, 2022
- 8) 科学研究費助成事業新学術領域研究（研究領域提案型）2018～2022年度マルチスケール精神病態の構成的理解 (<http://multi-scale-brain.umin.ne.jp/>)（参照 2024-09-12）
- 9) Major, G., Larkum, M. E., Schiller, J. : Active properties of neocortical pyramidal neuron dendrites. *Annu Rev Neurosci*, 36; 1-24, 2013
- 10) Matsuzaki, M., Ellis-Davies, G. C., Nemoto, T., et al. : Dendritic spine geometry is critical for AMPA receptor expression in hippocampal CA1 pyramidal neurons. *Nat Neurosci*, 4 (11); 1086-1092, 2001
- 11) Moda-Sava, R. N., Murdock, M. H., Parekh, P. K., et al. : Sustained rescue of prefrontal circuit dysfunction by antidepressant-induced spine formation. *Science*, 364 (6436); eaat8078, 2019
- 12) Nagahama, K., Sakoori, K., Watanabe, T., et al. : Setd1a insufficiency in mice attenuates excitatory synaptic function and recapitulates schizophrenia-related behavioral abnormalities. *Cell Rep*, 32 (11); 108126, 2020
- 13) Obi-Nagata, K., Suzuki, N., Miyake, R., et al. : Distorted neuro-computation by a small number of extra-large spines in psychiatric disorders. *Sci Adv*, 9 (23); eade5973, 2023
- 14) Onwordi, E. C., Half, E. F., Whitehurst, T., et al. : Synaptic density marker SV2A is reduced in schizophrenia patients and unaffected by antipsychotics in rats. *Nat Commun*, 11 (1); 246, 2020
- 15) Shirai, F., Hayashi-Takagi, A. : Optogenetics : applications in psychiatric research. *Psychiatry Clin Neurosci*, 71 (6); 363-372, 2017
- 16) Tsutsumi, S., Hayashi-Takagi, A. : Optical interrogation of multi-scale neuronal plasticity underlying behavioral learning. *Curr Opin Neurobiol*, 67; 8-15, 2021

# The Aim of the Next Generation of Basic Psychiatric Research : Multiscale Elucidation of Causal Relationships in Synaptic Pathology

Akiko HAYASHI-TAKAGI

Lab for Multi-scale Biological Psychiatry RIKEN Center for Brain Science

It is well known that the elucidation of the pathomechanism of psychiatric disorders has been difficult, largely because of the polarization between nanoscale genome analysis using patient peripheral samples and macroscale brain imaging studies such as fMRI, which is the complete opposite of nanoscale genome analysis. In addition, it is usually impossible to directly examine brain tissue by biopsy or other means due to ethical constraints. Therefore, methods to elucidate pathophysiology at the micrometer scale, i. e., at the synaptic and cellular level, which can be at the core of pathophysiology and therapeutic targets, have been extremely limited. On the other hand, studies using animal models of psychiatric disorders and postmortem brains have suggested candidate factors that may be responsible for psychopathology, such as synaptic pathology in schizophrenia. However, these findings are still largely descriptive at the observational level, and it is unclear how these nano- and micro-level hierarchies interact at the higher macro-level hierarchies to ultimately cause cognitive and behavioral changes. In physics, a “multiscale phenomenon” is defined as a phenomenon in which multiple interactions at very different scales play an inherently important role, and higher brain functions are inherently multiscale phenomena. We believe that a true understanding of higher brain function cannot be achieved without showing it to be a complex correlated system in which each level from the nanoscale to the macroscale is both cause and effect. We will present the utility of our synaptic research as an example of multiscale research aimed at elucidating causal relationships across hierarchical levels of brain function and psychiatric disorders.

## Author's abstract

**Keywords** multiscale, causality, synapse, two-photon excitation microscopy, glutamate uncaging