

科学研究費助成事業（基盤研究（S））公表用資料
〔平成30年度研究進捗評価用〕

平成27年度採択分
平成30年3月8日現在

補体ファミリー分子によるシナプス形成・維持・除去と可塑性
制御機構の解明

Regulation of synapse formation, maintenance,
elimination and plasticity by C1q family proteins

課題番号：15H05772

柚崎 通介 (YUZAKI MICHISUKE)

慶應義塾大学・医学部・教授



研究の概要 脳の作動原理および精神・神経疾患の病態を理解するためには、神経回路の基盤をなすシナプスがどのように形成され、そしてどのように神経活動に応じて生涯にわたって改変されるのかを解明することが必須である。しかしその分子機構については依然として謎が多い。本研究では、申請者らが見いだした補体ファミリーに焦点を当て、小脳・海馬の代表的な神経回路におけるシナプス形成・維持・除去と可塑性制御機構の解明を目指す。

研究分野：総合生物、神経科学、神経生理学・神経科学一般

キーワード：ニューロン、シナプス、神経回路、補体、グルタミン酸受容体

1. 研究開始当初の背景

ヒトの脳を構成するシナプスは発達期に形成されるとともに、神経活動に応じて生涯にわたって改変され続ける。近年、この過程を司るさまざまなシナプス形成分子が同定された。またこれらの分子をコードする遺伝子変異によって自閉スペクトラム症や統合失調症などの発達障害や精神疾患の一部が引き起こされることが分かってきた。しかし、シナプス形成分子が、生体内のどの神経回路においてどのようにシナプス形成・維持・除去過程を制御するのか、あるいは既に存在するシナプスの性質をどのように機能的に修飾するのかについては未解明の点が多い。

自然免疫系において異物認識と除去を行う補体 C1q に似た「補体ファミリー分子」が、免疫系のみでなく、糖・脂質代謝を制御することが注目されている。私たちは同ファミリーに属する Cbln1 が、小脳においてシナプス形成・維持を行うことを世界に先駆けて発見し、補体ファミリー分子が新しいシナプス制御分子であることが分かってきた。

2. 研究の目的

中枢神経系には Cbln1 の他に Cbln2-4, C1q-like (C1ql)1-4 等の補体ファミリー分子が発現する。そこでこれらの分子がどのようにシナプス形態と機能を制御するのかを海馬・小脳の神経回路をモデルとして明らかにする。またこれらの分子群が神経活動・炎症・代謝経路によってどのように調節されるかを解明し、神経系・免疫系・代謝系を結ぶ新しい分子機構の理解を進める。

3. 研究の方法

小脳は協調運動や運動に関連する記憶・学習の場であり、2つの主要な入力線維（平行線維と登上線維）がプルキンエ細胞とシナプスを形成する。一方、海馬はエピソード記憶に必須の部位である。嗅内皮質に発する貫通線維は CA1 錐体細胞と海馬歯状回顆粒細胞とシナプスを形成し、歯状回顆粒細胞の軸索である苔状線維は CA3 錐体細胞とシナプスを形成する。これらの神経回路において、1) 補体ファミリー分子がどの部位に局在し、2) どのような受容体に結合して、3) どのような機能を発揮するのか、という問いを細胞生物学的に検討するとともに、遺伝子改変マウスを用いて、形態学・電気生理学・行動実験によって明らかにする。

4. これまでの成果

Cbln1 は平行線維-プルキンエ細胞シナプスを強力に誘導する。Cbln1 はシナプス前部と後部で、それぞれ Neurexin (Nrx) および δ 2 型グルタミン酸受容体 (GluD2) と結合する。私たちは Nrx-Cbln1-GluD2 三者複合体の結晶構造を解くことに初めて成功し、この強力なシナプス接着能は、これらの分子群がもつ回転対称性による avidity 効果による高い結合親和性に由来することを解明した (*Science* '16)。GluD2 はグリア細胞から分泌される D-セリンと結合することによってシナプス可塑性を引き起こす (*Nat Neurosci* '11)。面白いことに、GluD2 は D-セリンに結合するだけではシナプス可塑性を誘導できず、Cbln1 と同時に結合することが必須であることが明

らかになった。シナプス後部のグルタミン酸受容体の機能が、シナプス前部の分子によって調節されるという新しい概念として注目されている(*Trends Neurosci* '17; *Curr Opin Neurobiol* '17)。

プルキンエ細胞へのもう一つの興奮性入力である登上線維は、発達期に1本が強化され残りが刈り込まれる。しかし、この2つの過程がどのように連動するのかはよく分かっていなかった。私たちは登上線維が分泌する補体ファミリー分子 C1ql1 が、プルキンエ細胞に発現する Bai3 と結合することによって、この2つの過程を制御することを初めて明らかにした(*Neuron* '15)

Cbln1 は小脳外においてもさまざまな脳部位に発現する。私たちは嗅内野に発現する Cbln1 が貫通線維を経て海馬に分泌され、認知機能に関与することを明らかにした(*J Neurosci* '16)。またこれらのシナプス後部には GluD2 のファミリー分子である GluD1 が発現することを明らかにした(*J Neurosci* '14)。近年、Cbln1 がマウスの社会的行動を制御することも報告され(Krishnan *et al*, *Nature* 2017)。前脳における Cbln1 シグナリングの重要性が脚光を浴びている。

海馬 CA3 錐体細胞の樹状突起では、苔状線維とシナプスを作る部位(透明層)にのみカイニン酸型グルタミン酸受容体(KAR)が局在し、KAR の遅いチャネル閉口速度によって苔状線維応答を統合化する。しかし、どのようにして KAR が透明層に局在化できるのかは長年謎であった。私たちは苔状線維が分泌する C1ql2 と C1ql3 が、シナプス後部の KAR の局在を決定することを初めて明らかにした(*Neuron* '16)。

以上のように補体ファミリー分子群によるシナプス制御機構について新しい概念を打ち立てつつある(*Ann Rev Physiol* '18)。

5. 今後の計画

シナプス形成分子としての補体ファミリー分子の重要な特徴の一つは、神経活動や炎症による発現や分泌の調節である。この点について Cbln1 や C1q をモデルとしてより解明を進めたい。もう一つの特徴は、*in vivo* における強力なシナプス形成活性である。今回得られた構造生物学的な知見を活かして、新たなシナプス修飾分子の設計と病態モデルへの応用に繋げていきたい。一方、補体ファミリー分子やシナプス形成分子が脂肪細胞や膵島などにも発現していることが最近分かってきた。当初の研究計画を進展する一方で、代謝系と神経系を結ぶ分子機構についてもさらに研究を進めたい。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

1. Yuzaki M. Two classes of secreted synaptic organizers in the central nervous

system. *Annu. Rev. Physiol.* 2018, in press.

2. Wakayama S, Kiyonaka S, Arai I, Kakegawa W, Matsuda S, Ibata K, Nemoto YL, Kusumi A, Yuzaki M, Hamachi I. Chemical labeling for visualizing native AMPA receptors in live neurons. *Nature Commun*, 8:14850, 2017.

3. Yuzaki M. The C1q complement family of synaptic organizers: not just complementary. *Curr Opin Neurobiol*. 45:9-15, 2017.

4. Otsuka S, Konno K, Abe M, Motohashi J, Kohda K, Sakimura K, Watanabe M, Yuzaki M. Roles of Cbln1 in non-motor functions of mice. *J Neurosci*, 36:11801-11816, 2016.

5. Yuzaki M, Aricescu AR. A GluD Coming-Of-Age Story. *Trends Neurosci*. 40:138-150, 2017.

6. Kiyonaka S, (6名), Yuzaki M, Hamachi I. Allosteric activation of membrane-bound glutamate receptors using coordination chemistry within living cells. *Nature Chemistry*, 8:958-967, 2016.

7. Elegheert J, Kakegawa W, Clay JE, Shanks N, Behiels E, Matsuda K, Kohda K, ... (8名), Yuzaki M*, Aricescu AR*. Structural basis for integration of GluD receptors within synaptic organizer complexes. *Science*, 353:295-299, 2016. (*co-corresponding author)

8. Matsuda K, Budisantoso T, Mitakidis N, Sugaya Y, Miura E, Kakegawa W, ... (9名) Yuzaki M. Trans-synaptic modulation of kainate receptor functions by C1q-like proteins. *Neuron*, 90:752-767, 2016.

9. Takeo YH, Kakegawa W, Miura E, Yuzaki M. ROR α regulates multiple aspects of dendrite development in cerebellar Purkinje cells in vivo. *J Neurosci*, 35:12518-12534, 2015.

10. Kakegawa W, Mitakidis N, Miura E, Abe M, Matsuda K, Takeo YH, Kohda K, (7名), Yuzaki M. Anterograde C1ql1 signaling is required in order to determine and maintain a single-winner climbing fiber in the mouse cerebellum. *Neuron*, 85:316-329, 2015.

11. Konno K, Matsuda K, (5名), Yuzaki M, Watanabe M. Enriched expression of GluD1 in higher brain regions and its involvement in parallel fiber-interneuron synapse formation in the cerebellum. *J Neurosci*, 34:7412-7424, 2014.

HP: <http://www.yuzaki-lab.org>