



慶應義塾大学



令和 2 年 8 月 2 8 日
科学技術振興機構 (JST)
慶 應 義 塾 大 学
愛 知 医 科 大 学

途切れた神経回路を再びつなぐ人工シナプスコネクターを開発 ～シナプス異常による精神・神経疾患の治療に新しい道～

ポイント

- さまざまな精神・神経疾患は、神経細胞間のつなぎ目である「シナプス」の異常に起因すると考えられているが、シナプスの構造を直接的に制御する治療方法はなかった。
- シナプスを接続させる人工シナプスコネクターを開発し、小脳失調、アルツハイマー病、脊髄損傷のモデルマウスに投与することによって、シナプスの再形成と病態の改善に成功した。
- 人工シナプスコネクターの設計方法の応用によって、多様な神経回路の接続が可能となり、神経科学の基礎研究や精神・神経疾患の治療への応用が期待される。

JST 戦略的創造研究推進事業において、慶應義塾大学 医学部 生理学教室の柚崎通介 教授、鈴木 邦道 助教を中心とする研究グループは、神経細胞間のつなぎ目であるシナプス^{注1)}を形成し、途切れた神経回路を迅速に再接続させる人工シナプスコネクターの開発に世界で初めて成功しました。

神経細胞と神経細胞のつなぎ目であるシナプスは、シナプスオーガナイザー^{注2)}の働きによって発達期から生涯にわたって形成、維持、再構築されます。自閉スペクトラム症、統合失調症、アルツハイマー病など多くの精神・神経疾患の発症は、シナプスの数や機能に異常があることが一因と考えられており、シナプス異常を是正する方法の開発が望まれていました。

柚崎教授の研究グループは、先行研究で、シナプスオーガナイザーの一種で、主に小脳でシナプス前部と後部をつなぐ作用を持つシナプスコネクター^{注2)}セレベリン (Cbln1)^{注3)}を発見しました。今回、別のシナプスオーガナイザー分子である神経ペントラキシン (NP1)^{注4)}の結晶構造を解明し、その構造と組み合わせることによって、新しい人工シナプスコネクターCPTXを開発しました。CPTXは幅広い神経回路でシナプスを接続できる強力な特性を持ち、CPTXをシナプスの減少や異常を伴う小脳失調^{注5)}、アルツハイマー病、脊髄損傷のモデルマウスに投与すると、数日以内にシナプスが再形成され、協調運動^{注6)}の改善、学習・記憶機能の回復、まひした後ろ足の運動機能の回復など、それぞれの病態について著しい改善を導くことができました。

CPTXの設計原理を応用することによって、さまざまな神経回路におけるシナプス接続を導く新しい人工シナプスコネクターを開発することも可能であり、シナプスの形成・維持メカニズムの解明や、精神・神経疾患の新たな治療戦略の創出・応用につながることを期待されます。

本研究はドイツ神経変性疾患センターのアレキサンドル・ディティアテフ 教授、イギリスMRC分子生物学研究所のラドゥ・アリセスク 教授、愛知医科大学の武内 恒成 教授、笹倉 寛之 助教らの研究グループとの国際共同研究の成果です。

本研究成果は、2020年8月28日(米国東部時間)に米国科学誌「Science」のオンライン版で公開されました。

本成果は、以下の事業・研究領域・研究課題によって得られました。

戦略的創造研究推進事業 チーム型研究 (CREST)
研究課題:「光操作によるシナプス可塑性と記憶形成の因果関係の解明」
研究代表者: 柚崎 通介 (慶應義塾大学 医学部 生理学教室 教授)
研究期間: 平成30年10月～令和6年3月

戦略的創造研究推進事業 総括実施型研究 (ERATO)
研究プロジェクト:「浜地ニューロ分子技術プロジェクト」
研究総括: 浜地 格 (京都大学 大学院工学研究科 教授)
研究期間: 平成30年10月～令和6年3月

＜研究の背景と経緯＞

私たちは日常の中で、新しいことを記憶・学習したり、思う通りに体を動かしたりすることを何気なくしています。これは一見すると簡単なことのように思われますが、とても複雑な仕組みの上に成り立っています。特に重要な役割を担っているのが、脳や脊髄などの中枢神経系です。中枢神経系では膨大な数の神経細胞が集まって相互に結び付き、複雑かつ巨大な、しかしランダムにではなくルールに基づいてネットワークを構成しています。そのネットワークで神経細胞間を接続する特殊なつなぎ目は「シナプス」と呼ばれています。シナプスでは、シナプス前部から後部に向かって情報が伝達されます。情報を出力する神経細胞はシナプス前部から神経伝達物質を放出し、後部にある受け手の神経細胞がそれを受容することで情報が伝わります。このような情報伝達の間を構築するのがシナプスオーガナイザーと総称される分子です。シナプスオーガナイザーはシナプス前部と後部にある分子を橋渡ししてシナプス構造を形作るシナプスコネクターとして機能したり、情報伝達に関わる分子をシナプスに集めたりします。

シナプスは発達期に多く作られますが、情報伝達があまり行われないうシナプスは除去され、逆に入力が多い神経回路ではシナプスの数や機能の増強が行われており、生涯にわたって形成、維持、再構築が行われています。こうしたシナプスの恒常性や動的変化こそが、私たちが物事を記憶したり、忘れたり、繰り返しの練習で上手に運動ができるようになったりすることの本質であると考えられています（図1）。

近年、自閉症などの発達障害やアルツハイマー病などの精神・神経疾患において、シナプスの数や機能の異常、シナプスオーガナイザーの遺伝子変異が多数報告されており、「シナプス病」という疾患概念として捉えられつつあります。いくつかの精神・神経疾患はシナプス数の減少に起因することが強く示唆されており、シナプスを形成・維持する分子メカニズムの解明やその過程を制御する方法の開発は、有効な治療薬を生み出すためにも非常に重要な課題となっています。しかし、精神・神経疾患で失われるシナプスは多様であり、それらを自在に再接続させる有効な方法はこれまでありませんでした。

柚崎教授の研究グループは、これまでにセレベリン（Cbln1）と呼ばれるシナプスオーガナイザーを発見し、研究を行ってきました（Matsudaら、Science 2010）。Cbln1は、シナプスの前部と後部に存在する分子をつなげることでシナプス形成・維持を強力に推進するシナプスコネクターであり、主に小脳の神経回路で機能します。研究グループは、もしCbln1のようなシナプスコネクターを、脳内の他の神経回路で働かせることができれば、シナプスの減少や異常を原因とする精神・神経疾患の病態を改善できるのではないかと考えました。そこで、たんぱく質の構造情報に基づいてCbln1の構造を改変し、別のシナプスオーガナイザー分子と組み合わせることによって、狙った分子間をつないで望んだシナプスを接続させる新規のたんぱく質「人工シナプスコネクター」の開発に着手しました。

＜研究の内容＞

シナプスオーガナイザー分子であるCbln1は、シナプス前部に存在するニューレキシン（Nrx）^{注7）}とシナプス後部に存在するデルタ型グルタミン酸受容体（GluD）^注

⁸⁾との結合を仲立ちしてシナプスを形成します(図2左)。Nrxは多くのシナプス前部に存在する一方で、GluDは小脳などの一部の興奮性シナプス後部にのみ存在します。つまり、Cbln1はNrxとGluDを橋渡しする構造情報を持っており、一部の脳領域では、NrxとGluDをつないでシナプスを作る天然のシナプスコネクターとして機能しています。

研究グループは、GluDに代わる存在として、AMPA型グルタミン酸受容体(GluA)^{注9)}とその相互作用分子である神経ペントラキシン(NP1)に着目しました。GluAは、シナプス後部において神経伝達物質を受け取って情報を伝える受容体であり、ほぼ全ての興奮性シナプス後部に存在していますが、Nrxとつながってはいません。他方で、NP1はシナプスオーガナイザー分子として、GluAと結合してシナプス後部に集めることで、情報伝達を促進させる性質を持っています(図2右)。もしCbln1が一部の興奮性シナプスに存在するGluDではなく、ほぼ全ての興奮性シナプスに存在するGluAと結合し、それを集める性質を持てば、幅広い応用範囲のシナプスコネクターとして機能する可能性があります。そこで研究グループは、NP1がGluAに結合する領域の結晶構造を明らかにし、これらの構造情報に基づいて、Cbln1とNP1の結合領域をつなぎ合わせ、機能的な立体構造を保つように設計した新しい分子、CPTX(Cbln1+neuronal pentraxin 1)を作製しました(図3)。CPTXは、NrxとGluAの橋渡しをしてシナプスを形成する人工シナプスコネクターとして機能すると予想し、検証を行いました(図4)。

まず、培養細胞などを使って結合性能に関する実験を行いました。細胞の表面にNrxやGluA、GluDを発現させCPTXを加えたところ、CPTXは設計の狙い通りにNrxとGluAに結合しました。次に、CPTXが神経細胞においてシナプス形成を誘導できるかを調べるため、培養神経細胞にCPTXを投与したところ、NrxとGluAを橋渡しし、興奮性シナプスを形成する様子が確認されました(図5)。最後に、CPTXが生きた動物の体内でシナプスコネクターとして作用するかどうかを確かめる実験を行いました。3つの中枢神経系、①小脳、②海馬、③脊髄のそれぞれに障害を持つ、小脳失調、アルツハイマー病、脊髄損傷のモデルマウスにCPTXを投与し、シナプスが再接続されるかどうか、そしてそれぞれの病態が回復するかを調べました(図6、図7)。

①小脳はバランスの取れた歩行やスムーズで連続した運動(例: コップに手を伸ばす、自転車に乗る)などの協調的な運動機能に重要で、脊髄小脳変性症などの神経疾患に関連する領域です。小脳のシナプス数が減少した遺伝子改変マウスでは小脳失調の症状が見られ、歩く時に両足を交互に出せなくなったり、歩幅が安定しなくなったりします。このマウスの小脳にCPTXを投与すると、数日でシナプス形成が回復し、バランスの取れた歩行ができるようになりました(図6左下)。

②海馬は記憶や学習に重要な脳領域で、アルツハイマー病などの認知症では海馬領域の萎縮やシナプスの減少が観察されます。アルツハイマー病モデルマウスの海馬にCPTXを投与したところ、数日でシナプス形成が回復し、迷路学習や記憶想起などの成績が健康なマウスと同程度まで回復しました(図6中下)。

③脊髄は運動出力に重要な神経の通り道であり、交通事故などにより脊髄を損傷すると、

まひなどの重篤な困難を生じます。腰椎を損傷したモデルマウスは損傷部周辺のシナプス接続が減少し、後ろ足をうまく動かせなくなりますが、CPTXの投与によりシナプス接続と運動機能の回復が数日以内に観察されました（図6右下、図7）。特筆すべきことに、脊髄損傷から1週間経過してからのCPTXの投与が回復に最も効果的であり、投与後少なくとも8週間にわたり継続的な運動機能の回復が観察されました。

以上の結果から、Cbln1とNP1の構造情報に基づいて設計した人工シナプスコネクターCPTXは、中枢神経系で失われた興奮性シナプスを再形成させ機能回復を導く、これまでにない革新的なツールとなり得ることが明らかになりました。

＜今後の展開＞

本研究はシナプスオーガナイザー分子の構造情報に基づき、結合領域を組み合わせることで機能の拡張を実現し、シナプスの脱落や異常による疾患の治療に応用できる、という新しい概念を証明しました。これは、従来の精神・神経疾患における薬剤治療とは全く異なる「神経回路の再接続」という新規のアプローチが可能であることを示しています。

また、CPTXとは異なる分子を組み合わせれば、ある特定の神経回路をつないで操作・改善する、次世代人工シナプスコネクターを開発できる可能性もあります。

今後引き続き、疾患モデル動物などを用いて人工シナプスコネクターの安全性や詳細な効果の確認などを進めることにより、将来のヒト精神・神経疾患の治療につなげていく予定です。

人工シナプスコネクターCPTXの設計は、これまでに積み上げられてきた神経科学の基礎研究により明らかにされたシナプスに関する知識の上に成り立っています。しかし、どのような分子がシナプスを形成し、どのように複雑な神経回路を整然と配線しているのかなど、不明な点は数多く残されています。CPTXを含めた人工シナプスコネクターは、神経科学研究の基礎分野にも新たな知見をもたらすことが大いに期待されます。

＜付記＞

本研究は、Human Frontier Science Program (RGP0065/2014)、JSPS科研費 (JP15H05772、JP16H06461、JP17K10949、JP17H05584、JP25893233、JP26860148、JP14J07587、JP18K19380、JP18H04563)、文部科学省科学研究費助成事業 新学術領域研究 学術研究支援基盤形成「先端バイオイメージング支援プラットフォーム、日本医療研究開発機構 脳科学研究戦略推進プログラム「AMPA受容体の量に基づく精神神経疾患の新規病型分類と治療法の開発」、創薬支援推進事業・創薬総合支援事業「コンドロイチン生合成阻害剤の探索ー化合物プロファイリング」、慶應義塾大学医学部研究奨励費、慶應医師会医学研究助成金、アステラス病態代謝研究会、第一三共生命科学研究振興財団、武田科学振興財団の支援を受けて行われました。

<参考図>

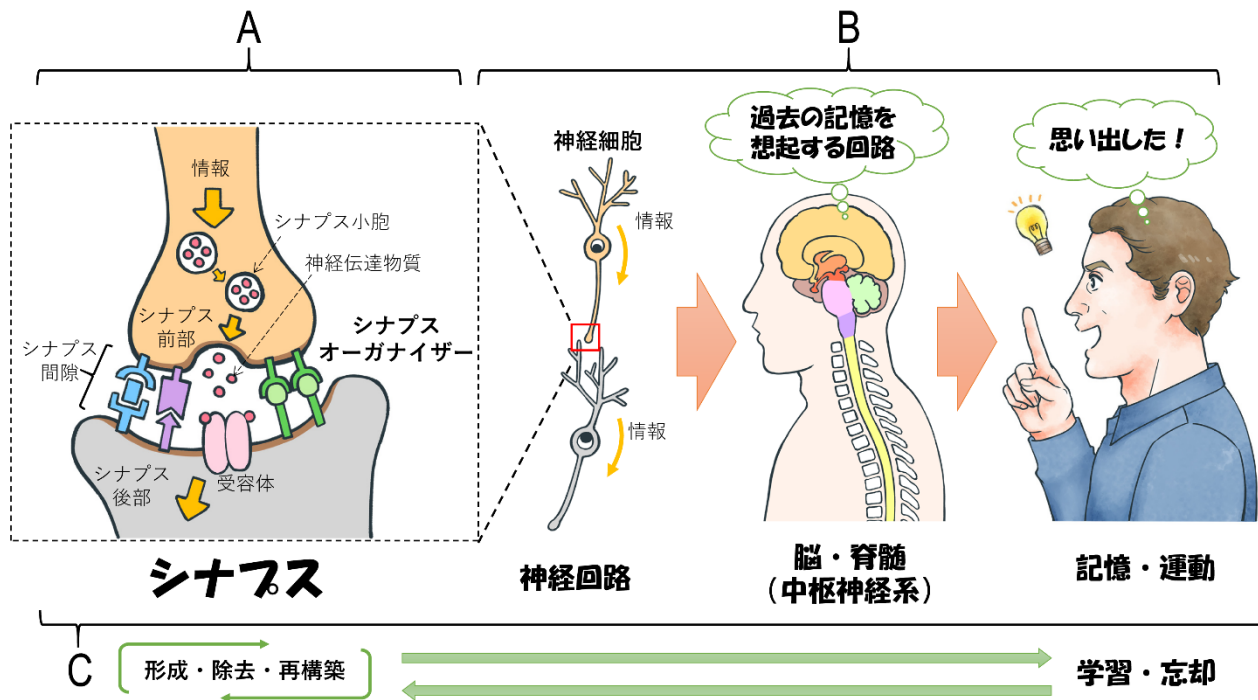


図1 私たちの脳における記憶や運動などの高次機能は「シナプス」が担う

- A : 神経細胞間の接着部位であるシナプスは、シナプスオーガナイザーによって形成されます。情報がシナプス前部に届くと神経伝達物質がシナプス間隙に放出され、シナプス後部にある受容体がそれを受け取ることで情報が伝達されます。
- B : 非常に多くの神経細胞がシナプスを介して結合することにより神経回路を形成し、神経回路がさらに集積して中枢神経系が構成されます。神経回路はそれぞれの領域において記憶や運動などの特有な働きを果たします。
- C : 入力の多いシナプスはその構造や機能が增強され、情報伝達が行われなくなったシナプスは除去されます。その結果として、私たちは物事を記憶したり忘れたりし、また繰り返しの練習によって運動が上達すると考えられます。

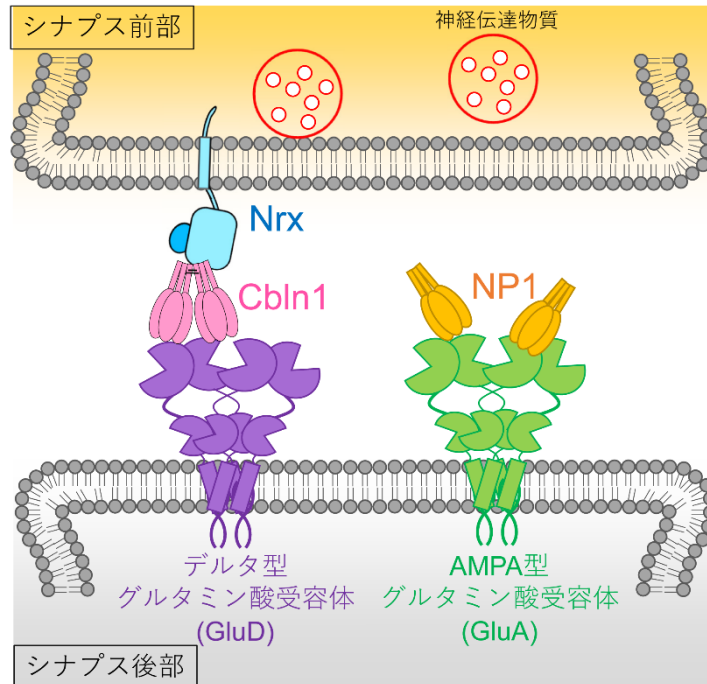


図2 シナプスオーガナイザーの構造と機能

C b l n 1はシナプスオーガナイザーの1つで、シナプス前部に存在するN r xとシナプス後部に存在するG l u Dの橋渡しをし、シナプスコネクターとして機能します。一方、N P 1はN r xとは結合せずシナプスコネクターとしては機能しませんが、G l u Aと結合してシナプス後部に集積させるシナプスオーガナイザーです。

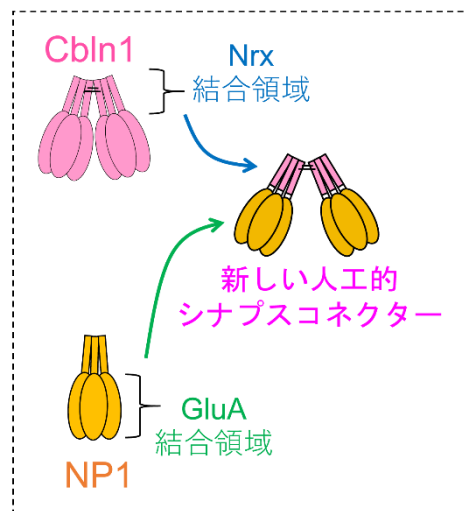


図3 人工シナプスコネクターCPTXの作製方法

天然のシナプスオーガナイザーであるC b l n 1とN P 1の構造は、棒状の領域と球状の領域に分けられ、C b l n 1の棒状領域はN r xと結合し、N P 1の球状領域はG l u Aと結合することができます。またC b l n 1はサクランボのような6量体構造をとることが分かっていました。この6量体構造を保持したままC b l n 1のN r x結合領域とN P 1のG l u A結合領域を組み合わせた分子を設計し、人工シナプスコネクターC P T Xを開発しました。

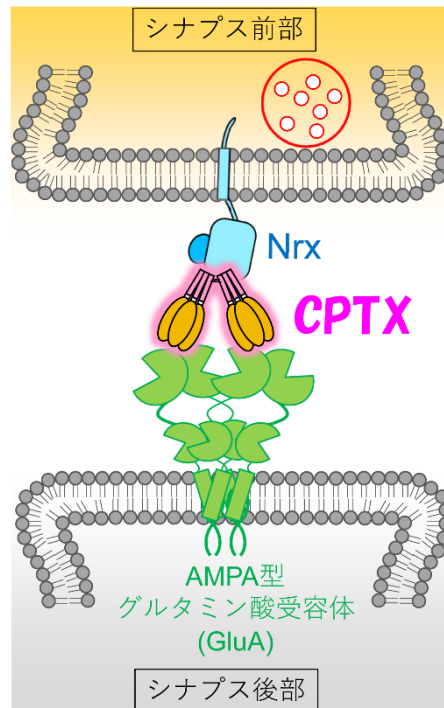


図4 CPTXが接続するシナプス

CPTXはシナプス前部のNrxと後部のGluAを橋渡しすることでシナプスを形成すると予想しました。GluAはほぼ全ての興奮性シナプスの後部に存在するので、CPTXは興奮性シナプスを形成し、疾患によって途切れた神経回路を再びつなぐことができるのではないかと考え検証しました。

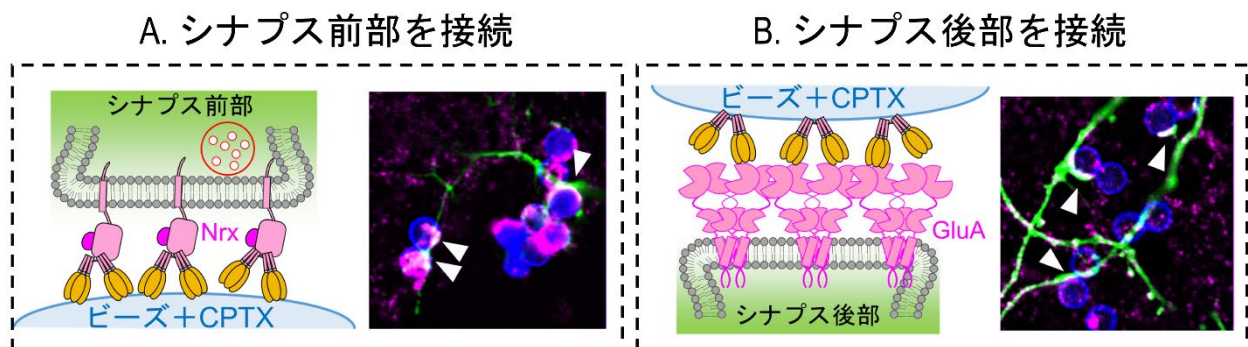


図5 CPTXは培養神経細胞においてシナプス構造を形成する

CPTXをビーズ（青色）にコーティングして培養神経細胞と混合したところ、Nrx（ピンク色）と結合してシナプス前部（緑色）をつなぎ留める様子（A、矢頭）、GluA（ピンク色）と結合することでシナプス後部（緑色）をつなぎ留める様子（B、矢頭）が観察されました。ビーズの直径は2マイクロメートル。

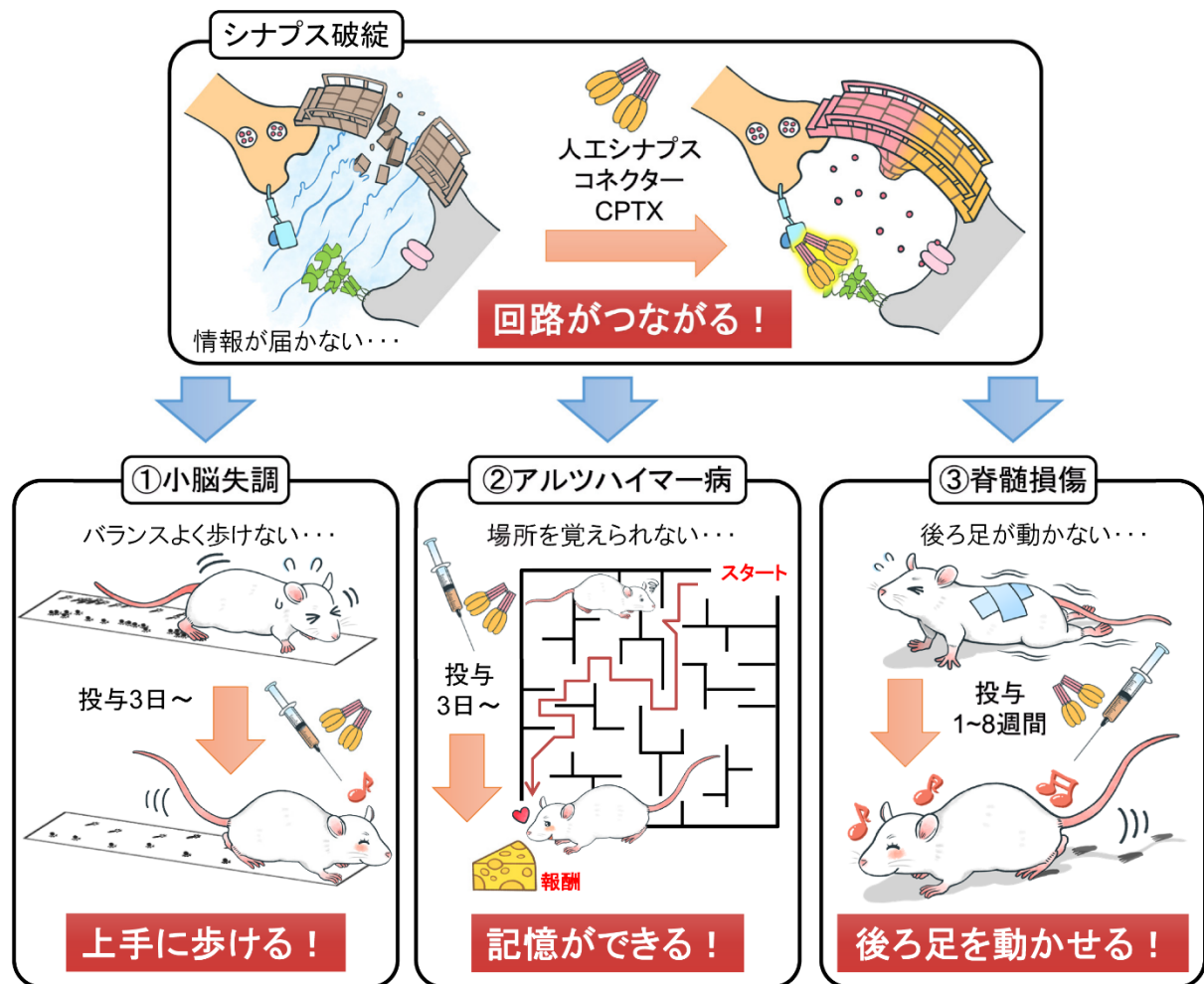


図6 CPTXの投与により神経回路が再接続し、運動・記憶障害が回復する

シナプスが途切れると情報が伝わらず、うまく運動したり記憶したりすることができません。途切れたシナプスをつなぐことができるCPTXを、シナプスに異常がある疾患モデルマウスに投与したところ、シナプスが再びつながれる様子が観察されました（上図）。さらに、①小脳失調マウスは、バランスの取れた安定した歩行ができるようになり、②アルツハイマー病モデルマウスは、スタート地点から報酬が得られる場所までの最短経路を正確に記憶することができるようになり、③脊髄を損傷したマウスは、まひしていた足を動かせるようになるなど、症状が改善しました。

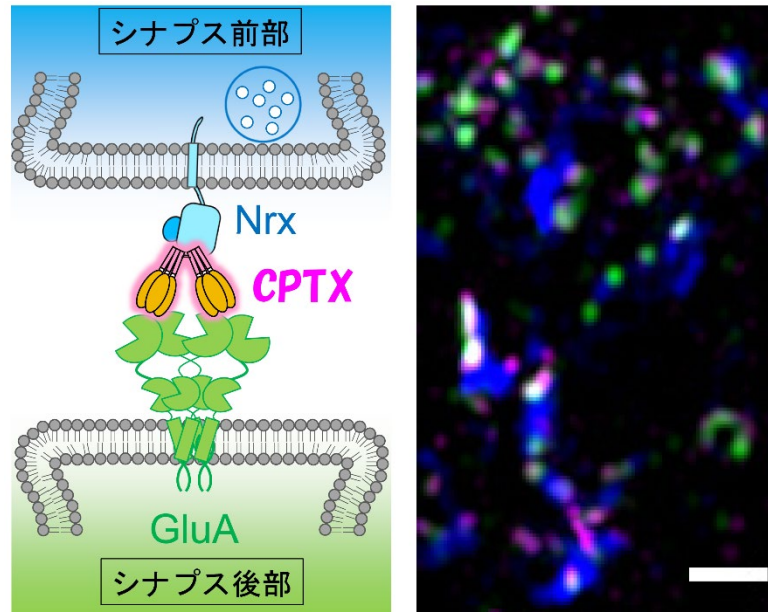


図7 CPTXが途切れたシナプスを接続する様子

CPTXを脊髄損傷したマウスの脊髄に投与して、シナプスの様子を超解像度顕微鏡にて観察しました。シナプス前部（青色）と後部（緑色）がCPTX（ピンク色）によって接続されている様子が観察されました。スケールバーの大きさは1マイクロメートル。

<用語解説>

注1) シナプス

神経細胞間の情報伝達に特化したつなぎ目。神経伝達物質が貯蔵・放出されるシナプスの前部から、それを受け取る受容体が存在する後部へ信号が伝えられる。興奮性シナプスでは、前部からグルタミン酸が放出され後部のグルタミン酸受容体を介して神経細胞を興奮させる性質がある。シナプス前部と後部は細胞膜で隔てられており、この情報伝達の場合を組織する役割を担う分子群がシナプスオーガナイザーと呼ばれる。

注2) シナプスオーガナイザー、シナプスコネクター

シナプスという構造や情報伝達のための装置を適切に構築する役割を担う分子を総称してシナプスオーガナイザーと呼ぶ。その中でも、シナプスの前部と後部に存在する分子の橋渡しをする分子をシナプスコネクターと呼ぶ。

注3) セレベリン (Cbln1)

小脳に多く存在するシナプスオーガナイザーであり、シナプス前部に存在するニューレキシンと後部に存在するGluD^{注8)}を橋渡しすることでシナプスを形成させるシナプスコネクターとして機能する。

注4) 神経ペントラキシン (NP1)

GluA^{注9)}に結合し、シナプス後部に集積させることで情報伝達を促進する機能を持

つシナプスオーガナイザーの1つ。

注5) 小脳失調

小脳の機能が障害されている状態。小脳は協調運動^{注6)}に重要な脳領域であり、小脳失調の症状として、歩行時のふらつき、素早く正確な運動ができないといった運動機能の障害が見られる。

注6) 協調運動

「バランスよく歩く」「コップに手を伸ばす」「自転車に乗る」など、複数の筋肉を的確なタイミングと適切な強さで活動させることが必要な運動。協調運動ができないマウスは歩行時に両足を交互に出せなくなったり、歩幅が安定しなくなったりする。

注7) ニューレキシン (Nrx)

シナプス前部に存在するシナプスオーガナイザーの1つ。シナプスの橋渡しに関与する他に、神経伝達物質の放出に必要な装置を集める性質を持つ。

注8) デルタ型グルタミン酸受容体 (GluD)

小脳の興奮性シナプス後部などの限られた場所に存在するシナプスオーガナイザーの1つ。シナプスの橋渡しに関与する。

注9) AMPA型グルタミン酸受容体 (GluA)

ほぼ全ての興奮性シナプスの後部に存在する主要なグルタミン酸受容体。シナプス前部から放出されたグルタミン酸を受け取り、受け手の神経細胞に情報を伝達する。

<論文タイトル>

“A synthetic synaptic organizer protein restores glutamatergic neuronal circuits”
(人工シナプスオーガナイザーたんぱく質がグルタミン酸作動性神経回路を回復させる)

著者: Kunimichi Suzuki†, Jonathan Elegheert†, Inseon Song†, Hiroyuki Sasakura†, Oleg Senkov, Keiko Matsuda, Wataru Kakegawa, Amber J. Clayton, Veronica T. Chang, Maura Ferrer-Ferrer, Eriko Miura, Rahul Kaushik, Masashi Ikeno, Yuki Morioka, Yuka Takeuchi, Tatsuya Shimada, Shintaro Otsuka, Stoyan Stoyanov, Masahiko Watanabe, Kosei Takeuchi, Alexander Dityatev*, A. Radu Aricescu*, Michisuke Yuzaki* (†筆頭著者、*責任著者)

<お問い合わせ先>

<研究に関すること>

柚崎 通介 (ユザキ ミチスケ)

慶應義塾大学 医学部 生理学教室 教授

〒160-8582 東京都新宿区信濃町35

Tel : 03-5363-3749 Fax:03-3359-0437

E-mail : myuzaki@keio. jp

< J S T の事業に関すること >

保田 睦子 (ヤスダ ムツコ)

科学技術振興機構 戦略研究推進部 ライフイノベーショングループ

〒102-0076 東京都千代田区五番町 7 K' s 五番町

Tel : 03-3512-3524 Fax : 03-3222-7348

E-mail : crest@jst. go. jp

加藤 豪 (カトウ ゴウ)

科学技術振興機構 研究プロジェクト推進部 グリーンイノベーショングループ

〒102-0076 東京都千代田区五番町 7 K' s 五番町

Tel : 03-3512-3528 Fax : 03-3222-2068

E-mail : eratowww@jst. go. jp

< 報道担当 >

科学技術振興機構 広報課

〒102-8666 東京都千代田区四番町 5 番地 3

Tel : 03-5214-8404 Fax : 03-5214-8432

E-mail : jstkoho@jst. go. jp

慶應義塾大学 信濃町キャンパス 総務課

〒160-8582 東京都新宿区信濃町 3 5

Tel : 03-5363-3611 Fax : 03-5363-3612

E-mail : med-koho@adst. keio. ac. jp

愛知医科大学 医学部 事務部 庶務課

〒480-1195 愛知県長久手市岩作雁又 1 番地 1

Tel : 0561-61-5396 Fax : 0561-62-6690

E-mail : syomu@aichi-med-u. ac. jp