

2022年8月25日

報道関係者各位

慶應義塾大学医学部

## 標本を『膨らませる』ことで見えた脳内のナノの世界

### —シナプスの個性を決める分子群が集まる 微細な構造を捉えることに成功—

慶應義塾大学医学部生理学教室の柚崎通介教授、同大学大学院医学研究科博士課程4年の野澤和弥らのグループは、高分解能の顕微鏡技術である Expansion Microscopy (ExM、注1) を改良して、脳内のシナプスの個性(注2)を決める働きを持つ分子群のナノレベル(1ミリの100万分の1が1ナノメートル: nm)の構造を明らかにしました。

脳の働きの元となる神経回路網は、神経細胞どうしがシナプスによって互いにつながって作られます。シナプスをつなぐさまざまな分子は、シナプスの中でも約100~1000 nmの狭い領域に密集しているため、従来の光学顕微鏡の分解能(約200 nm)ではその詳細な分布は観察できません(注3)。そこで、今回、標本そのものを約1000倍の体積に膨張させる技術 ExM をさらに改良し、シナプス観察に最適化することによって、マウス神経回路網において興奮性シナプス(注4)をつなぐ分子群の構造や相互関係をナノレベルで初めて明らかにすることに成功しました。とりわけ、ニューレキシンに結合するシナプス分子群(ニューレキシリガンド、注5)が、シナプス内でそれぞれ数十 nm の「ナノドメイン」(注6)を単位として集積することを発見しました。さらに、シナプス前部に存在するニューレキシンの種類(注7)によって、シナプス後部のシナプス分子やグルタミン酸受容体のナノドメインの配置が決定されることがわかりました。

今回の研究成果から、脳の働きを支えるシナプスの個性は、それぞれに特化したシナプス分子がナノレベルで相互作用することによって作られることがわかりました。これらの分子群は多くの精神疾患や神経発達症との関連が報告されていることから、本研究の成果はこれらの疾患の病態や正常な神経回路の発達機構の理解につながることで期待されます。

本研究の成果は、2022年8月24日午前11時(米国東部時間)に米国科学雑誌 *Neuron* にオンライン速報版で公開されました。

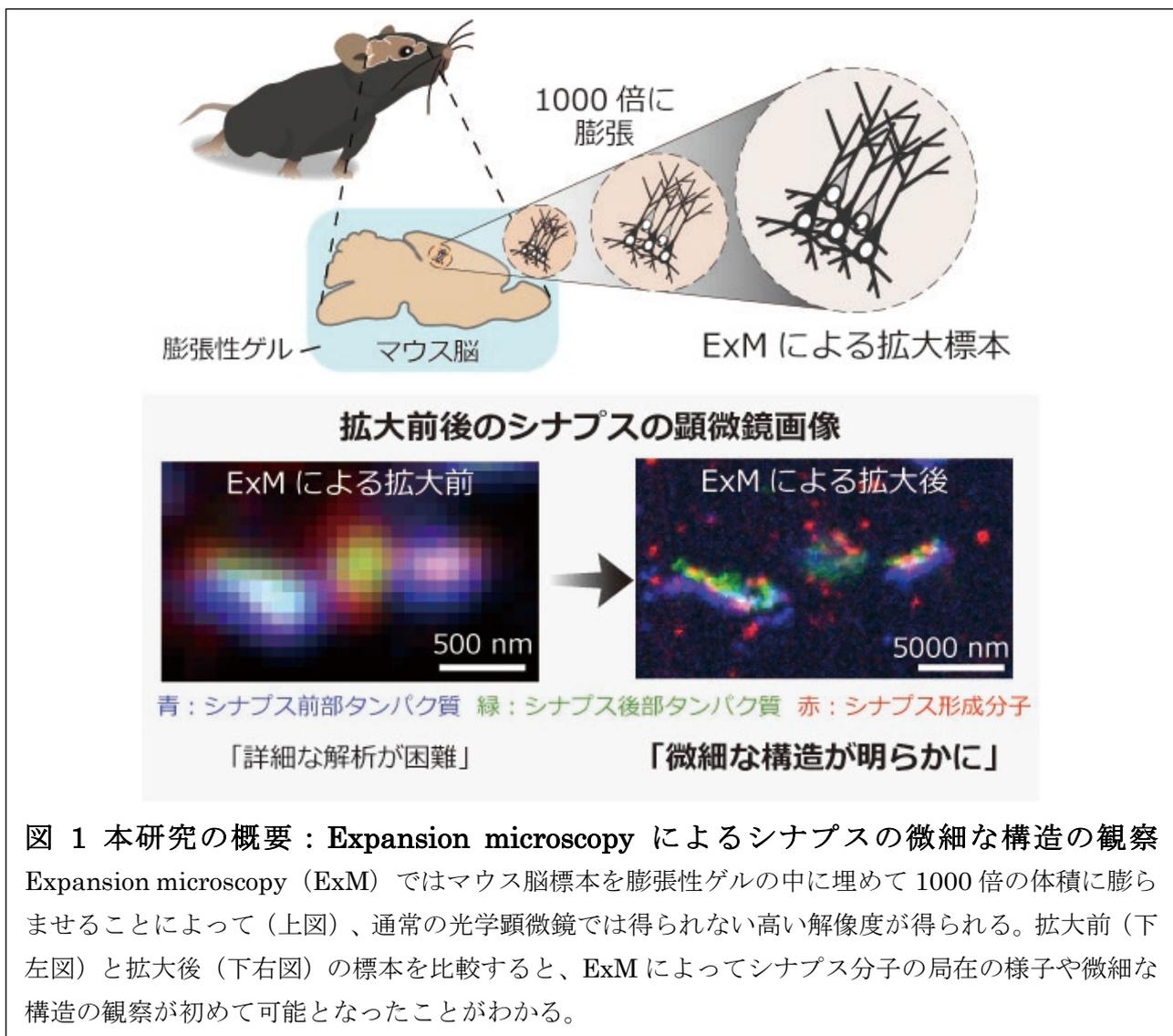
### 1. 研究の背景と概要

私たちの脳は、約860億個の神経細胞が互いにつながった神経回路網によって、感覚情報処理、運動、記憶や感情のコントロールなど、さまざまな機能を発揮しています。神経細胞同士のつなぎ目は「シナプス」と呼ばれ、私たちの脳内では約1000兆個ものシナプスが存在し、情報伝達を担っているといわれています。

個々のシナプスにはそれぞれ特有の形や機能が備わっており、シナプスごとの個性が神経回路網の担う情報処理において重要な役割を果たしていると考えられています。また、うつ病や統合失調症などの精神疾患や自閉スペクトラム症などの神経発達症、アルツハイマー病を始めとする認知症などの神経疾患では、共通してシナプスに病変が見られることから、適切な個性を持ったシナプスを正しく形成し維持することは脳機能を発揮する上で極めて重要だと考えられます。

本研究グループはこれまで、シナプスの形成や制御に関わる分子群を発見し、その機能について研究を行ってきました(松田ら、*Science* 2010、*Neuron* 2016、掛川ら、*Neuron* 2015)。さらに近年では、これまでのシナプスに関する知見を活かして、疾患モデルマウスのシナプスを再接続させることのできる人工シナプスコネクターを開発し、精神・神経疾患の新たな治療戦略の可能性を見出すことにも成功しました(鈴木ら、*Science* 2020)。

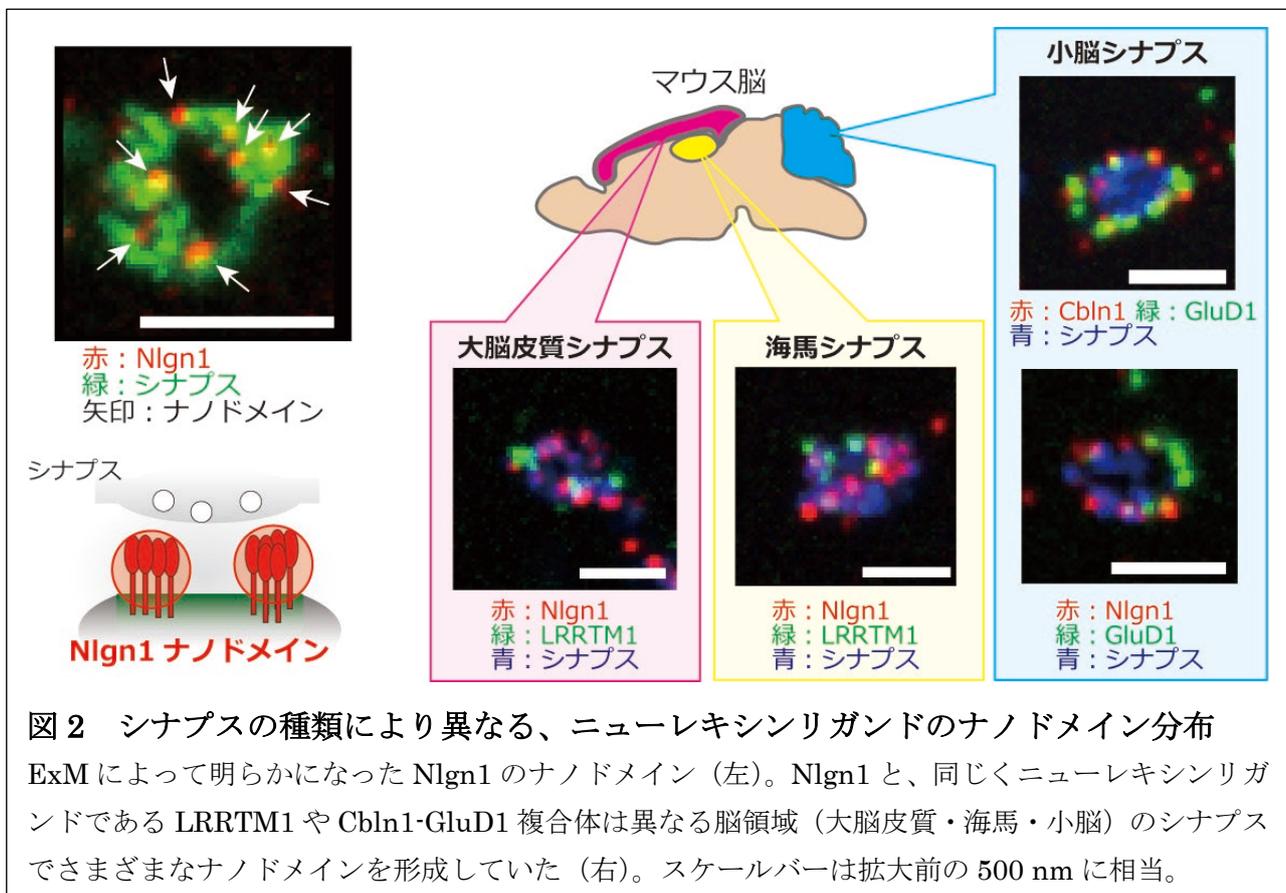
しかしながら、どのような分子がどうやって正常なシナプスを形成しているのかについては、未だ不明な点が数多く残されています。これは、これらの分子群がシナプスの約 100~1000 nm の狭い領域に密集しているため、従来の光学顕微鏡の分解能(約 200 nm)ではその詳細な分布が観察できないためです。そこで、本研究グループは今回の研究で、Expansion microscopy (ExM) という技術を改良してこれまでよりも高い分解能でシナプスの内部構造の観察を行うことで、シナプスの制御分子機構の理解を目指しました(図 1、注 1)。



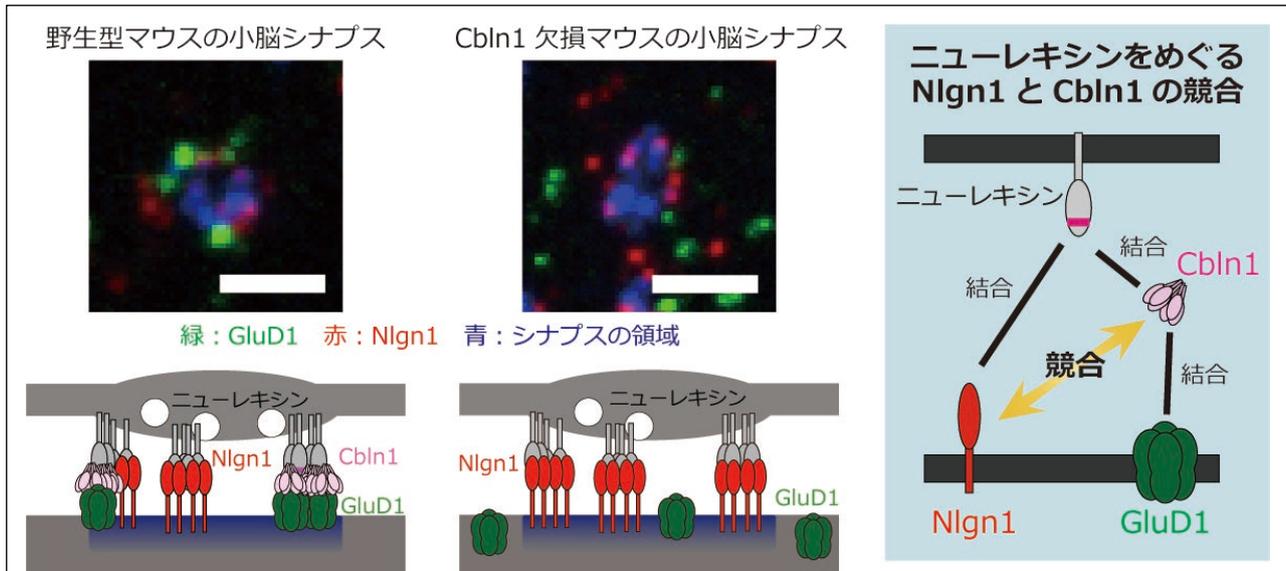
## 2. 研究の成果と意義・今後の展開

本研究グループは初めに、シナプスの機能を制御する代表的な分子、Neuroigin-1 (Nlgn1) がシナプスの中でどのように存在するか調べました。ExM を用いることで、Nlgn1 はシナプスに一様に存在するのではなく、シナプス後部の数十 nm の範囲にナノドメインとして集積していることがわかりました (図 2 左)。

Nlgn1 はシナプス前部に存在するニューレキシンという分子に結合することが知られています。また、ニューレキシンには Cbln1-GluD1 複合体や LRRTM1 といった他のさまざまな分子も結合することが知られています (=ニューレキシンリガンドと呼ぶ)。そこで、これらの分子を 3 種類の脳領域 (大脳皮質、海馬、小脳) におけるシナプスで観察したところ、ニューレキシンリガンドはシナプスの種類によって異なったナノドメインを形成していることを発見しました (図 2 右)。例えば、大脳皮質のシナプスでは Nlgn1 と LRRTM1 は独立してナノドメインを形成しているのに対し、海馬ではそれぞれが重なったナノドメインが観察されました。また、小脳シナプスではシナプスの周辺部にナノドメインが集中していました。



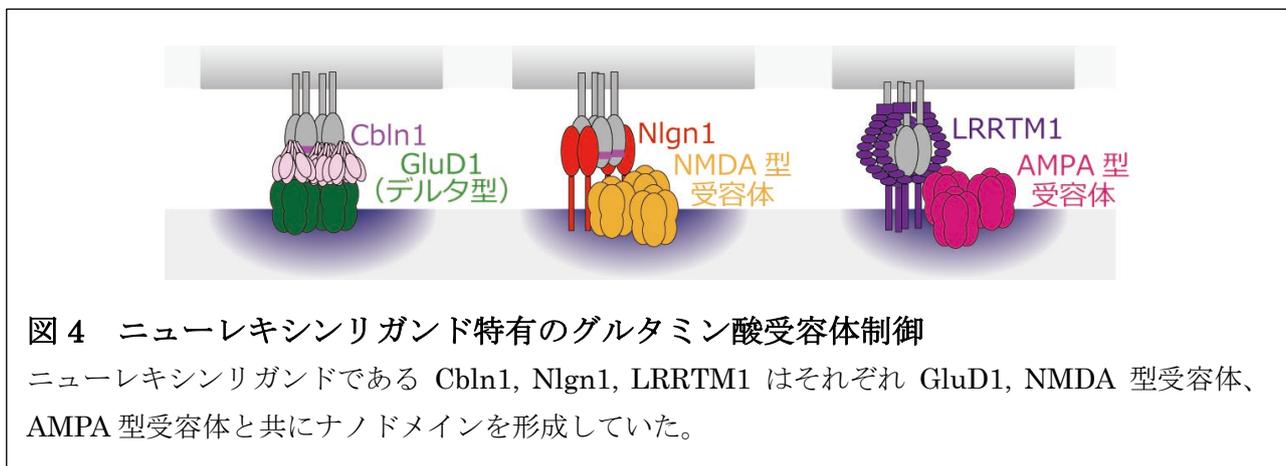
シナプスによって特徴的なナノドメインはどのようなニューレキシンリガンド同士の関係性によって決定されているのでしょうか。例えば、本研究グループは以前に、Nlgn1 と Cbln1 はニューレキシンを取り合う、つまり競合関係にある、という可能性を見出しました (松田ら、*Eur. J. Neurosci.* 2011)。そこで、Cbln1 を欠損させたマウスの小脳におけるシナプスを観察すると、Cbln1 の欠損に伴って複合体を形成する GluD1 が減少した一方で、Nlgn1 は競合に打ち勝ち、増加することがわかりました (図 3)。つまり、ニューレキシンを介した競合がシナプスにおけるリガンドのナノドメイン形成を制御することが示唆されます。



**図3 ニューレキシンを介したナノドメイン調節：Nlgn1 と Cbln1 の競合**

野生型マウスと Cbln1 欠損マウスの小脳シナプスの ExM 画像とその模式図 (左)。野生型に比べて Cbln1 欠損マウスでは GluD1 のナノドメイン (緑) が減少する一方で Nlgn1 のナノドメイン (赤) が増えた。したがって、Nlgn1 と Cbln1 はニューレキシンを取り合うことによってナノドメインを形成することが示唆された (右)。スケールバーは拡大前の 300 nm に相当。

最後に、異なるニューレキシンリガンドのナノドメインがシナプスの個性を形作るメカニズムを探るため、ニューレキシンリガンドが他にどのような分子と一緒にいるのかを調べました。すると、それぞれのニューレキシンリガンドは異なる種類のグルタミン酸受容体を好んで共にナノドメインを形成し、シナプス内のグルタミン酸受容体の量と位置を制御することがわかりました (図 4)。



**図4 ニューレキシンリガンド特有のグルタミン酸受容体制御**

ニューレキシンリガンドである Cbln1, Nlgn1, LRRTM1 はそれぞれ GluD1, NMDA 型受容体、AMPA 型受容体と共にナノドメインを形成していた。

グルタミン酸受容体は、シナプスの形成、シナプス伝達、シナプスの可塑性 (変化しやすさ) を担う最も重要な分子の一つです。ニューレキシンリガンドによるグルタミン酸受容体のナノドメイン制御はそれぞれのシナプスの個性を決定する分子基盤となっていると考えられます。ニューレキシンリガンドは精神疾患や発達障害との関連も報告されており、これらの分子の異常がシナプスの正常なナノ構造を壊し、疾患の原因となっている可能性も考えられます。本研究と同様のアプローチを使って、今後さらにシナプスのナノレベルの構造を明らかにすることで関連疾患の病態の理解や治療戦略の創出につながることを期待されます。

### 3. 特記事項

本研究は国立研究開発法人科学技術振興機構（JST）戦略的創造研究推進事業 チーム型研究（CREST）「LTP/LTD と記憶・学習との因果関係の解明」（JPMJCR1854）、JSPS 科研費（JP20H05628・JP19J20907）の支援によって行われました。

### 4. 論文

英文タイトル：*In vivo* nanoscopic landscape of neurexin ligands underlying anterograde synapse specification

タイトル和訳：シナプスの性質を順行性に決定するニューレキシシリガンド分子の生体内でのナノスケール構造

著者名：野澤和弥、曾我部拓、林亜由美、本橋淳子、三浦会里子、荒井格、柚崎通介

掲載紙：*Neuron*（オンライン速報版）

DOI：10.1016/j.neuron.2022.07.027

#### 【用語解説】

（注 1）Expansion Microscopy（ExM）：生体サンプルを吸水し膨張する性質のあるゲルに埋めこみ、拡大することによって高い分解能の顕微鏡画像を得る方法。本研究ではその中でも、ゲッチング大学の Silvio O. Rizzoli らの研究グループが開発した X10 ExM と呼ばれる方法の処理条件を改良し、脳組織内のシナプス観察に最適化することで、高い解像度でシナプスを観察することに成功した。

（注 2）シナプスの個性：シナプスの伝達効率やその変化しやすさ（可塑性）は個々のシナプスによって異なる。シナプスの多様な個性の存在は、神経回路による情報処理に重要な役割を果たしている。

（注 3）光学顕微鏡の分解能：光は波としての性質を持つために、理論上、波長の半分程度より細かい対象物を解像することができず、可視光での分解能の限界は 200 nm 程度である。近年、光学的限界を超える超解像度顕微鏡技術も開発されているが、ExM のようにシナプスにおける多くの分子を同時に観察することは容易ではない。

（注 4）興奮性シナプス：シナプス前部の神経細胞の興奮をシナプス後部の興奮として伝達するシナプスを興奮性シナプスと呼ぶ。興奮性シナプスはシナプス前部から分泌されるグルタミン酸をシナプス後部のグルタミン酸受容体が受け取ることによって成立する。

（注 5）ニューレキシシリガンド：ニューレキシンを受容体として結合する分子（リガンド）。本研究グループをはじめ、世界中の研究グループから Cbln1、Nlgn1、LRRTM1 など多数の分子がニューレキシシリガンドとして報告されており、その多様性からシナプスの個性を決定すると考えられている。

（注 6）ナノドメイン：分子が数十～数百 nm の領域に集積している様子をさす。ナノクラスターとも呼ぶ。

（注 7）ニューレキシンの種類：ニューレキシンはニューレキシン 1、ニューレキシン 2、ニューレキシン 3 という 3 つの遺伝子にコードされており、そこから 1000 種類以上もの多様なタンパク質が生成されることが報告されている。

※ご取材の際には、事前に以下までご一報くださいますようお願い申し上げます。

※本リリースは文部科学記者会、科学記者会、厚生労働記者会、厚生日比谷クラブ、各社科学部等に送信しております。

---

【本発表資料のお問い合わせ先】

慶應義塾大学医学部 生理学教室 柚崎研究室

教授 柚崎 通介 (ゆざき みちすけ)

TEL : 03-5363-3749 FAX : 03-3359-0437 E-mail : myuzaki@keio.jp

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

【本リリースの配信元】

慶應義塾大学信濃町キャンパス総務課：山崎・飯塚・奈良

〒160-8582 東京都新宿区信濃町 35

TEL : 03-5363-3611 FAX : 03-5363-3612 E-mail : med-koho@adst.keio.ac.jp

<https://www.med.keio.ac.jp>