

2024年度  
上原賞受賞講演録

2025年3月11日(火)

公益財団法人 上原記念生命科学財団



2024年度

# 上原賞受賞講演録



# 目 次

上原賞受賞講演録 (五十音順、敬称略)

光遺伝学的視覚再生の基盤ツールとなるロドプシンの開発研究

神取 秀樹 博士 (理学)..... 2

新しいシナプス接着機構の解明と神経機能操作法の開発

柚崎 通介 博士 (医学)..... 12

# 光遺伝学的視覚再生の基盤ツールとなるロドプシンの開発研究



## 神取 秀樹

名古屋工業大学大学院工学研究科 特別教授  
名古屋工業大学オプトバイオテクノロジー  
研究センター センター長

栄えある上原賞の受賞にあたり、たいへん光栄に存じます。ご推薦いただきました日本化学会の丸岡啓二会長、選考委員の先生方、財団の関係者の皆さまに心より御礼申し上げます。

ロドプシンの研究は物理学・化学・生物学の境界領域に位置付けられますが、優れた医学の先生方が受賞されてきました上原賞を、ロドプシンで私が受賞することになるとは、驚きとともに感慨深いものがあります。日本は伝統的にロドプシンの基礎研究が強く、世界をリードしてきましたし、若い研究者も育っています。

私の受賞講演では、ロドプシン研究者の代表として、このタンパク質分子が持つメカニズムの面白さと医療応用における大切さをご紹介できればと考えております。

## 1. はじめに

ロドプシンは7回膜貫通の光応答性タンパク質 (図 1 a) であり、我々の目の中で視覚の光センサーとして働いている。1971年には光駆動プロトンポンプとして働くバクテリオロドプシンが古細菌から発見され、現在ではヒトからバクテリア、ウイルスに至るまでロドプシン遺伝子が見つかっている [1, 2]。動物ロドプシンは視物質としてGタンパク質を活性化する一方、微生物ロドプシンはポンプ・チャネル・センサー・酵素など多彩な機能を持つ。ロドプシンは構造機能相関の研究が進んだ膜タンパク質としてよく知られているが、最近では光遺伝学の主要ツールとして応用研究への期待も高い。動物ロドプシンと微生物ロドプシンにアミノ酸の相同性はなく、別々の進化をたどってきたと考えられているが、いずれもレチナール分子を内部に結合しており、その光反応により機能がスタートする。結合するレチナールは、動物ロドプシンが途中で曲がった11-cis型、微生物ロドプシンが真っ直ぐ伸びたall-trans型であり、光を吸収するとそれぞれall-trans型、13-cis型へと変化する (異性化反応) (図 1 b)。動物ロドプシンと微生物ロドプシンの光反応の特徴として、前者が反応後、レチナールが解離するのに対して、後者は熱反応で元に戻ることが挙げられる。前者の場合、視細胞中では新しい11-cis型レチナールが供給されるが、実験においてはすべてを暗室で操作しなければならない。ロドプシンがどのようにして光により活性化されるのか明らかにするためには、レチナールの光反応により誘起されたタンパク質の構造変化を正しく理解する必要がある (図 1 c)。そのためにはロドプシンの構造と構造変化を幅広い時空間で正確に捉えることが求められる。我々はこれまでロドプシンの作動メカニズムを研究する中で、新しいロドプシン機能の発見や創成にも関わってきた。興味深いことにそれらは光遺伝学のツールとして生命科学に貢献するだけでなく、失明された患者さんに光を届けるための新しい薬として用いられようとしている。ここでは、我々の研究を中心に、基礎研究としても実用研究としても期待の高いロドプシンについて紹介する。

## 2. 分光学的手法を用いたロドプシンのメカニズム研究

私は何か根源的なことを研究したいと考えて、1979年、京大理学部に入學し、物理学教室で固体のレーザー分光を学ぶ中、生物系の生物物理学教室に京大唯一のピコ秒レーザーがあり、視覚の研究を行っているということを知った。そこで大学院から吉澤透先生の研究室に進学し、視覚の初期過程の研究を行うことにした。そして、レチナールの11-cis型を固定したアナログ試料の系統的なピコ秒レーザー実験から、目の中で起こる最初の光化学反応はレチナール分子の

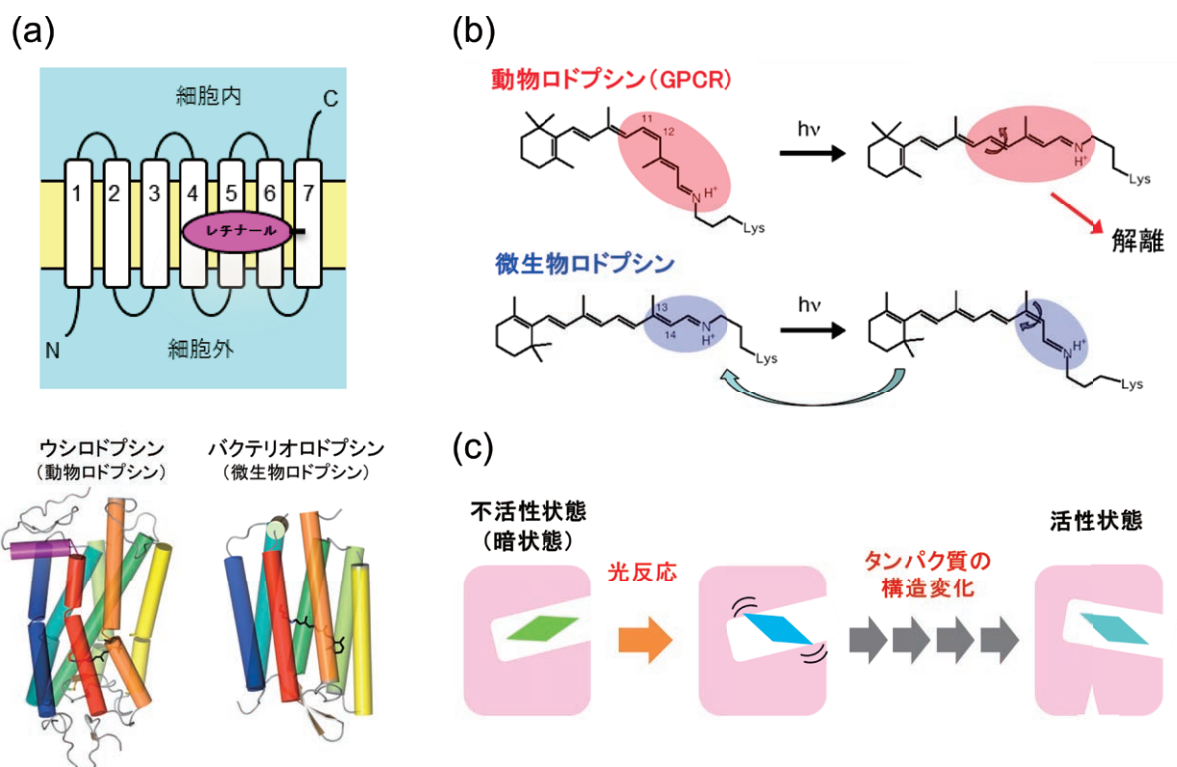


図 1. 動物ロドプシンと微生物ロドプシン

(a) 基本構造。αヘリックスが7回、膜を貫通した構造を持ち、第7ヘリックスにレチナールが結合している。(b) 光を吸収すると、動物ロドプシンでは11-cis型レチナールのC11=C12の二重結合が、微生物ロドプシンではall-trans型レチナールのC13=C14の二重結合が異性化する。(c) レチナールの異性化反応がタンパク質の段階的な構造変化をもたらすことで機能が発現する。

11-cis型からall-trans型への異性化反応であることを実験的に明らかにして学位を取得した(図2a) [3]。超高速異性化反応により我々の視覚の高い光感度をもたらされているわけだが、私は巧妙な反応制御を行うタンパク質という反応場の信号を直接得たいと考え、1993年、京大で助手となった折りに赤外分光法を用いた解析を開始した。赤外信号は環境にきわめて鋭敏であるが、タンパク質の溶媒である水分子の吸収が大きいことから、我々が研究を開始した当時、タンパク質研究にほとんど使われていなかった。我々は超高速分光のときと同様、試料と測定系を最適化することにより、機能を保ったまま試料中の水の含量を軽減させることで高精度の差スペクトルを測定することに成功した(図2b)。水の吸収のため不可能とされた赤外の測定を実現した結果、タンパク質に結合した1個の水分子まで観測することが可能になったのである [4]。

2001年、名工大で研究室を持つ頃には内部結合水をモニターするすべての振動数領域での計測を実現し、バクテリオロドプシンには水素結合が異常に強い水分子が存在することを見出した。さらに変異体を用いた解析によりそれらが活性中心に結合した水であることがわかった。タンパク質に結合した水分子が機能的に重要であることは多くの研究者が想像していたが、それを実験的に調べる手法が見出されたことにより、様々なロドプシン試料が世界中から集まるようになり、その結果として、以下に示す新規ロドプシンの発見につながるような国際共同研究が実現したのである。ロドプシンの網羅的な赤外分光解析により、プロトンポンプ活性をもつロドプシンには、必ず強い水素結合を形成した水分子が見出され(図2c)、水分子を介した水素結合ネットワークがポンプ機能を決定していることが明らかになった [4]。

私たちは名工大において、動物ロドプシンである色覚視物質の構造研究も開始した。明暗を感じる桿体の視物質ロドプシンはウシやイカから大量の試料が調製できるためX線結晶構造が得られメカニズムの理解も深まっているが、錐体に存在する色覚視物質の構造解析は試料調製が困難であることからX線結晶構造やNMRといった通常の構造解析手法が適用できず、構造研究は皆無であった。さらに微生物ロドプシンと違って光反応がサイクルを示さず退色してしまう

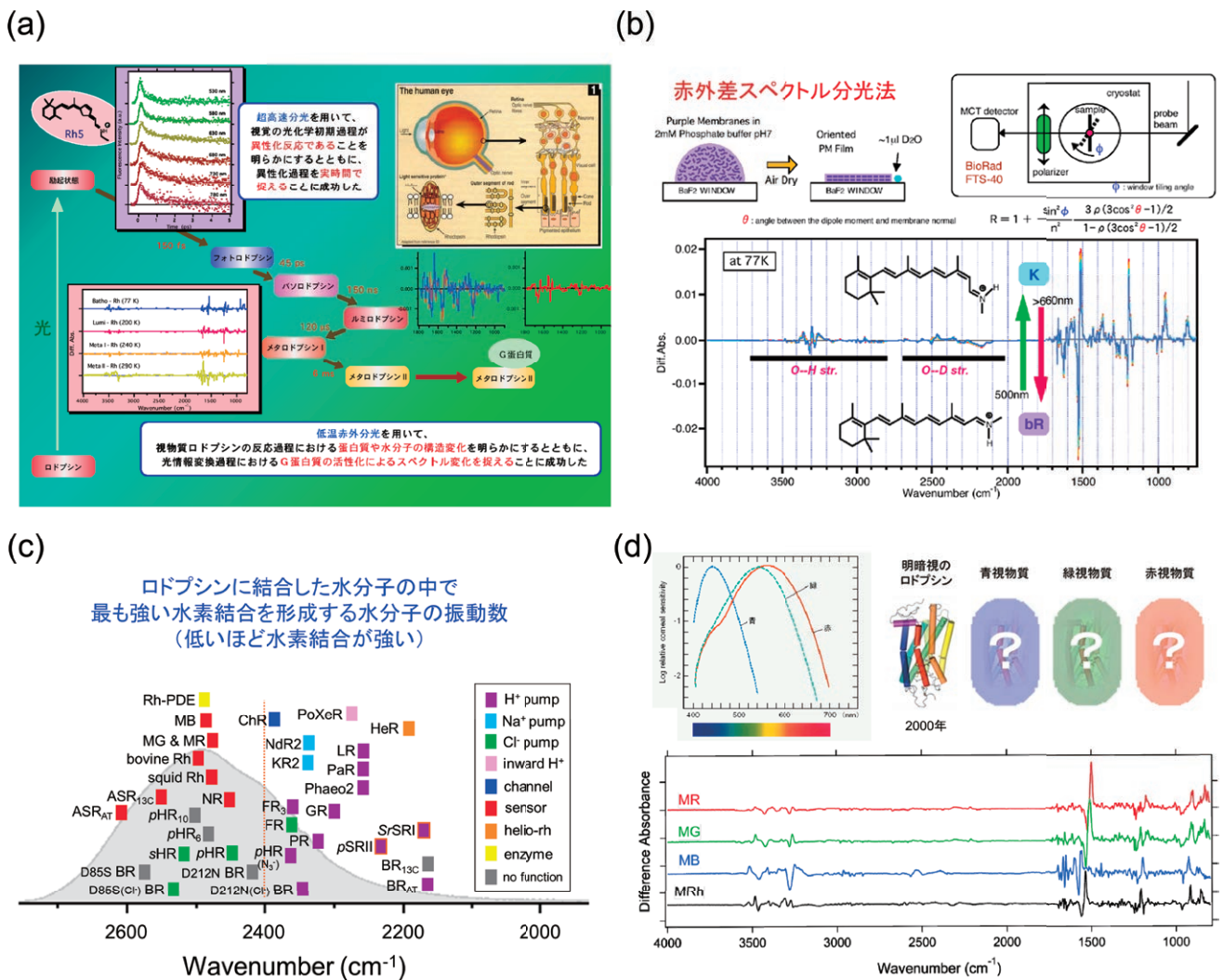


図2. 分光法を用いて明らかになったロドプシンの構造変化

(a) 桿体視物質ロドプシンの分光研究から明らかになったこと。(b) ロドプシンの水和フィルム試料に対する赤外差スペクトル分光法。(c) 赤外分光により明らかになったロドプシンの内部結合水の水素結合。(d) 霊長類色覚視物質の構造研究。

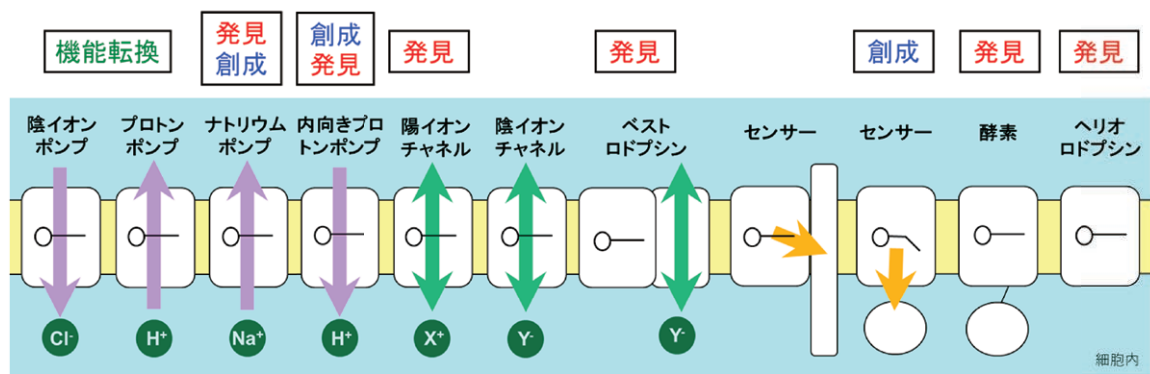
ため (図1b)、試料調製から測定までのすべての操作を暗室で行う必要がある。我々は赤外分光法を用いて初めて霊長類の色覚視物質の構造解析に成功したが (図2d)、色覚視物質の構造研究は現在も世界でオンリーワンの研究である [5]。

### 3. 新しいロドプシン機能の発見と創成

動物ロドプシンはいずれもGタンパク質共役型受容体 (GPCR) としてGタンパク質を活性化することで視細胞内の情報伝達を開始する。一方、プロトンポンプとして光をエネルギーに変換するタンパク質として見つかった微生物ロドプシンであるが、イオンを一方向に輸送する様々なポンプや、双方向に輸送するチャネル、センサー、酵素と様々な機能が明らかになっている。私たちがロドプシンのメカニズム解明を目指す中、様々な機能の発見や創成に関わることができたが、それらを図3aにまとめた。

私たちが最初に行ったロドプシンの機能開発として、1アミノ酸置換によるロドプシンの機能転換を挙げることができる。バクテリオロドプシンとクロライドポンプ・ハロロドプシンのアミノ酸の一致度は25%程度であり、それぞれの機能に最適化されていると信じられていたが、我々は1995年、アミノ酸を1つ変えるだけでバクテリオロドプシンをク

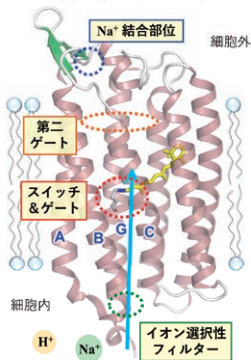




(b)

イオンポンプ発見の歴史

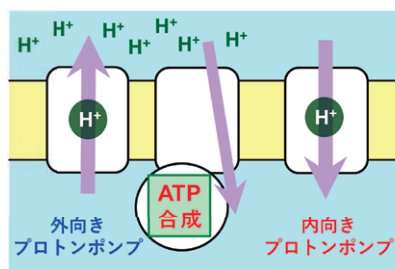
1971年 プロトンポンプ  
1977年 陰イオンポンプ  
2013年 ナトリウムポンプ



(c)

ATP合成と競合するため自然界に存在しないとされた内向きプロトンポンプ

2009年 1アミノ酸置換により創成  
2016年 自然界から発見



(d)

微生物&動物ロドプシンと相同性を持たないヘリオロドプシン

2018年 発見  
2019年 構造決定  
2022年 機能決定

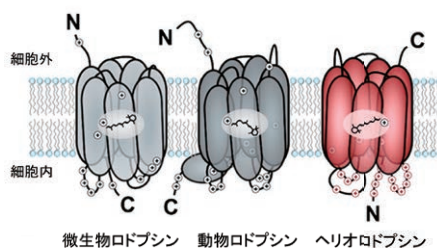


図3. ロドプシンの機能

(a) 様々なロドプシンの機能に我々の発見や創成を加えた。(b) 光駆動ナトリウムポンプは基質を結合せずに向一方への能動輸送を行うユニークなポンプである。(c) 内向きプロトンポンプの創成と発見。(c) ヘリオロドプシンの発見と構造、機能の決定。

ロライドポンプへと機能転換することに成功した [6]。2つのロドプシンを比較した機能開発研究という点では、動物ロドプシンと微生物ロドプシンのハイブリッドであるキメラロドプシンも挙げられる。微生物ロドプシンを鋳型として、動物ロドプシンの細胞質側ループを挿入したキメラロドプシンは、光反応によりGタンパク質を活性化できることがわかった [7, 8]。このことからタンパク質の構造変化に共通性があることが明らかになったが、動物ロドプシンと違ってレチナールが解離しないキメラロドプシンは、後に視覚再生に用いられることとなる。

機能発見の最初の例となったのは光駆動ナトリウムポンプである (図3b)。ナトリウムイオンとプロトンは生命活動に中心的に働く陽イオンであるが、光駆動ポンプはプロトンだけであり、ナトリウムポンプは存在しないというのがロドプシン分野の常識であった。光吸収を担うレチナール発色団が正電荷を持つためナトリウムイオンなどはレチナール近傍に結合できず、結合できなければ光のエネルギーを使って輸送できないと考えられてきたのである。そんな中、東大・木暮研と海洋性細菌のデータベース上に存在したロドプシンの配列の特異性に着目して機能を調べることで、光駆動ナトリウムポンプが自然界に存在することを2013年に明らかにした [9]。光駆動ナトリウムポンプはリチウムイオンもポンプできる一方、カリウムより大きなイオンのもとではプロトンポンプになるが、東大・瀧木研との共同研究により決定した構造を基盤として光駆動カリウムポンプを創成することに成功 [10]、翌年には光駆動セシウムポンプの創成にも成功した [11]。このタンパク質は福島原発などで環境中の放射性セシウムイオンを回収するための基盤技術として注目された。

光駆動ナトリウムポンプは発見の後に創成を実現した例であるが、逆の例となるのが内向きプロトンポンプである(図 3c)。プロトンの濃度勾配がATP産生に使われることは細菌からヒトまで共通であり、このため生物は呼吸鎖の膜タンパク質群に代表されるさまざまなプロトン汲出し装置を創り上げてきた。その方向はすべて外向きであり、内向きプロトンポンプはATP合成酵素と競合するため、生物にとって自殺行為である。そこで外向きプロトンポンプのメカニズムを深く理解するため、自然界に存在しない内向きプロトンポンプを創成したいと考える中、2009年、藍藻の光センサーロドプシンに対する1アミノ酸の置換により内向きにプロトンを輸送するタンパク質の創成に成功した [12]。このタンパク質により初めて細胞小器官をアルカリ化することが可能となり、慶応大の柚崎通介博士らによるPhotonSABERのツール開発へと繋がることになる。驚いたことにこの数年後、内向きプロトンポンプロドプシンが自然界に存在することがわかった [13-15]。これらのロドプシンは構造や光反応機構は外向きプロトンポンプとよく似ているものの、レチナル近傍の電荷を巧みに制御することで逆向きの輸送を実現している。

図 3aには我々が発見に関わった例として、他にも新規陽イオンチャネルロドプシンGtCCR4 [16]、光で環状ヌクレオチド濃度を制御する酵素ロドプシン [17] やロドプシンとイオンチャネルが巨大膜複合体を形成したベストロドプシン [18] を示しているが、何と言っても興味深いのがヘリオロドプシンである。ここ数年で微生物ロドプシンの機能が驚くほどの拡がりを示したものの、これらはアミノ酸配列の相同性を持ち、系統樹を書くことができる。ところが既知の微生物ロドプシンとの配列相同性がきわめて低いロドプシン様タンパク質分子がイスラエルとの国際共同研究により見つかったのである [19]。我々は太陽を意味するヘリオロドプシンと名付けたが、ヘリオロドプシンは膜に対するトポロジーが逆転していた(図 3d)。激しい国際競争であったが、ヘリオロドプシンの構造 [20] についても機能 [21] についても、我々は最初に明らかにすることができた。その機能はプロトン輸送体であったが、既知の微生物ロドプシンとは異なり、ヘリオロドプシンのファミリーはイオンポンプやチャネルが少ないこともわかった。

#### 4. 光遺伝学の登場とその医療応用、そして現在の課題

特定の脳細胞だけを選択的に活動させることは脳科学者の夢であったが、それを実現したのが光遺伝学である。2002年に緑藻のクラミドモナスからチャネルロドプシンが発見されると、5年も経たないうちに、米国のDeisserothらや日本の八尾らによってチャネルロドプシンを特定の神経細胞に発現させることで、光による神経興奮を制御するという技術が開発された [22]。この手法は、Deisserothらにより光学 (Optics) と遺伝学 (Genetics) を組み合わせて光遺伝学 (Optogenetics) と呼ばれるようになった。光遺伝学においては、緑藻のチャネルロドプシン2 (ChR2) が光を吸収するとチャネルが開きナトリウムイオンが流入し、その結果、神経細胞が脱分極することで活動電位を発生する(図 4a)。一方、神経興奮を抑制するためには細胞を過分極させればよいのであるが、このためには正電荷を細胞外に輸送するか、負電荷を細胞内に輸送すればよい。最初に光駆動クロライドポンプが用いられて以来、様々な光遺伝学ツールが開発されている(図 4a)。光遺伝学のインパクトは大きく、現在では脳に限らず「生命活動の光による制御」を指す言葉となった。イオンを輸送する微生物ロドプシン以外も含め、活発なツール開発が行われている。

様々な光遺伝学研究の中で、医療応用として注目されるのが光遺伝学的視覚再生である(図 4b)。網膜色素変性という遺伝性の視覚障害(患者数は日本人で3万、国際的に100万以上)は、年齢とともに視野が狭くなり、失明に至る。この疾患の深刻なところは、現在、治療法がない点にある。我々の視覚では、視細胞から双極細胞、神経節細胞へと信号が伝わることで、脳でものが見えた、と認識される。網膜色素変性では、視細胞が壊れてしまうのであるが、逆に言うと、後続する細胞は残っているため、ここにチャネルロドプシン遺伝子をウイルスベクターなどにより発現させた上で光で活性化させよう、というのが光遺伝学的視覚再生における遺伝子治療の基本的な発想である。失明患者さんが机の上のカップを見ることができた、という2021年の論文における動画は実に感動的であり、光遺伝学が真にひとの役に立っていることを実感することができる [23]。

しかしながら研究が進む中、視覚再生は屋外の明るい環境下でしか実現できないという問題点が明らかになってきた。確かに先述の動画では、患者さんは特別なゴーグルを装着しており、そのゴーグルで光を増幅しなければ室内光のもとの視覚は働かない。なぜそのようなことが起こるのであろう? 我々の視覚では真夏の晴天から星空のもまで、8

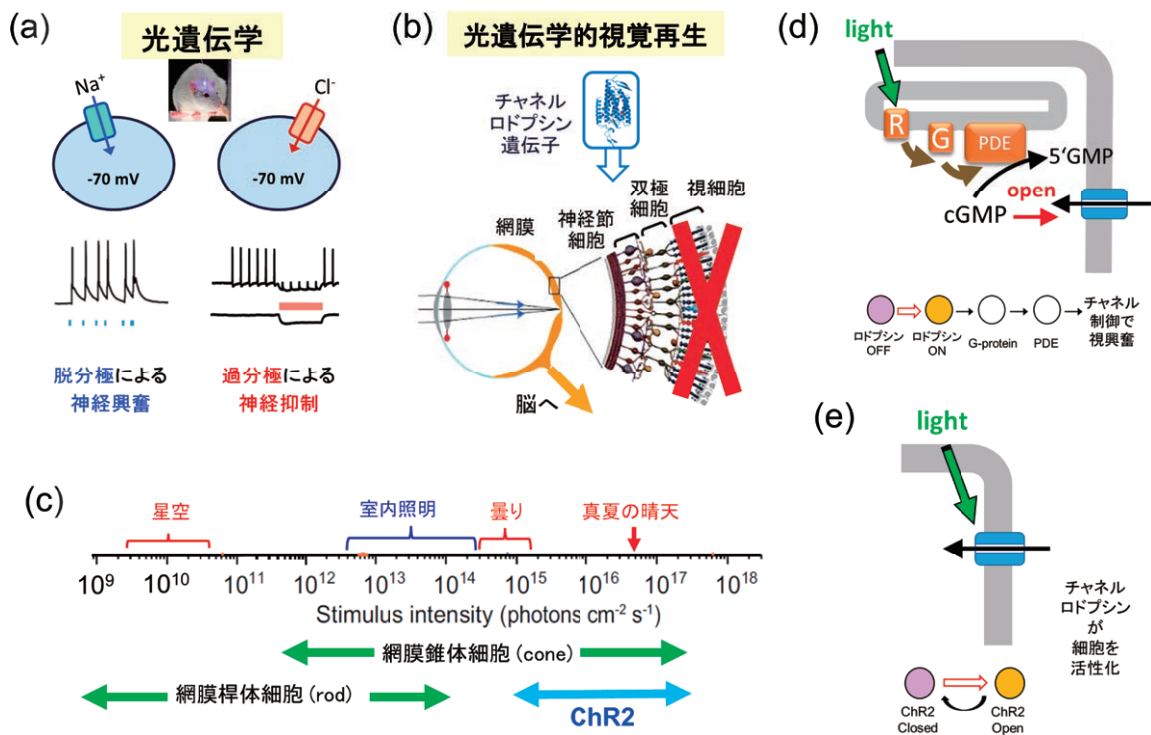


図 4. 光遺伝学的視覚再生と現状での問題点

(a) 光遺伝学は陽イオンチャネルロドプシンとクロライドポンプから始まった。(b) ヒトの目の構造。網膜色素変性患者は視細胞が失われるために失明するが、ロドプシンの遺伝子治療により視覚を取り戻すのが光遺伝学的視覚再生である。(c) 光感度。ヒトの目の感度は幅広いが、チャネルロドプシン (ChR2) による光遺伝学的視覚再生では室内照明のもとで働かない。(d) 視細胞における活性化のメカニズム。(e) 双極細胞や神経節細胞に導入したチャネルロドプシンによる活性化のメカニズム。

桁にも及ぶ幅広い強さの光を捉えることができる (図 4c)。その要因となるのが、(1) 2種類の視細胞、(2) 増幅過程の存在である。視細胞には錐体と桿体という2種類が存在し、錐体には赤・緑・青を吸収する色覚視物質が存在して明所で色の識別に関わる一方、桿体には暗所視を担うロドプシン (狭い意味でのロドプシンの定義) が存在して役割分担している。さらに錐体・桿体のいずれも視物質がGタンパク質の活性化を介した2段階の増幅過程によりチャネルを制御する結果、高い光感度が実現している (図 4d)。一方、光遺伝学的視覚再生におけるチャネルロドプシンの光応答には増幅過程が存在しない (図 4e)。その結果、例えばChR2の光感度は室内光のレベルには達しなかったのである (図 4c)。

## 5. 神取研究ツールが持つ可能性

図 4cを見ても明らかなのは、いかに感度の高いツールを光遺伝学的視覚再生に活用するかである。チャネルロドプシンの光感度を決定するのは光反応の効率とチャネルが開いている時間であり、効率がよく長く開くチャネルほど感度がよくなる。チャネルロドプシンの光感度は、EC50と呼ばれる最大電流の半分の値を示す光強度の値で評価される。私たちが電気生理学的手法を用いて新規チャネルロドプシンGtCCR4のEC50を測定したところ、きわめて低い値が得られ、GtCCR4の高い光感度が明らかになった (図 5左) [24]。その結果、2020年から3年間の予定で第一三共製薬株式会社、三菱UFJキャピタル、名古屋工業大学から成るベンチャー企業OiDE OptoEyeが設立され (OiDEはOpen innovation for the Development of Emerging technologiesの略)、2023年には当初の目的を達成し、現在は第一三共が自社のプロジェクトとして開発を続けている。

GtCCR4の光感度は標準ツールであるChR2の30倍、GtCCR2の50倍にもなるが (図 5左)、なぜチャネルロドプシンの中で最高レベルなのだろうか？我々は最近、GtCCR4とGtCCR2の構造機能相関に関する詳細な解析を行ったところ、

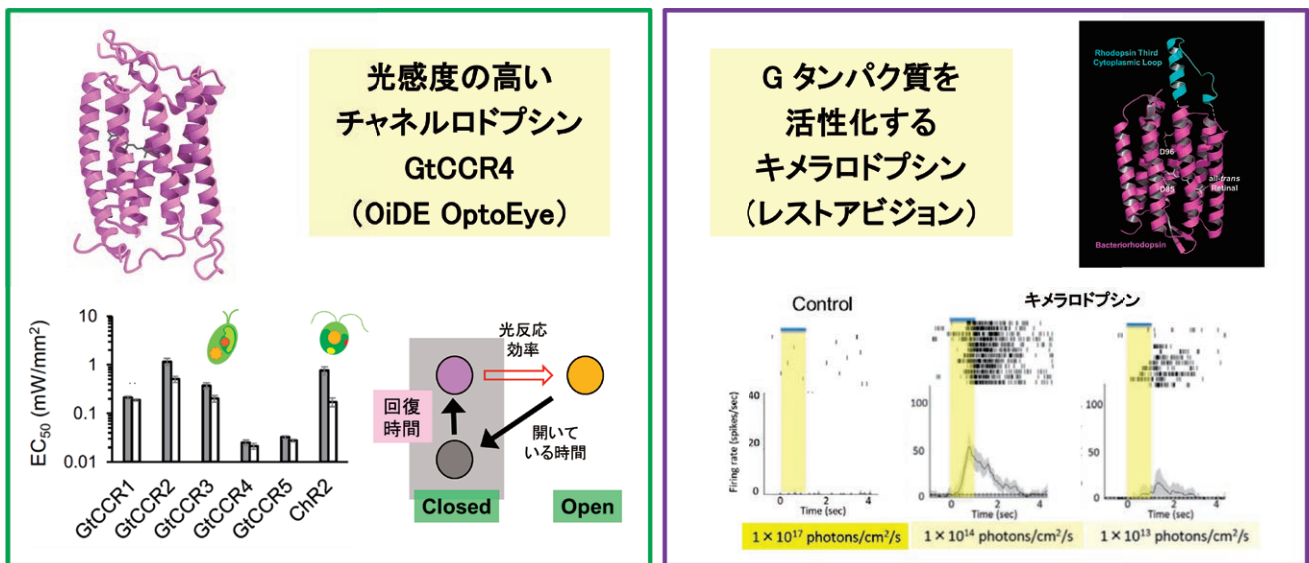


図5. 高い光感度を実現する光遺伝学的視覚再生のツール  
(左) クリプト藻から発見したGtCCR4。欧米の競合するツールと比較して、チャンネルロドプシンとしての性能が優れている。(右) 動物ロドプシンと微生物ロドプシンのハイブリッドとして作製したキメラロドプシン。これまでのアイデアとは全く異なる発想によるツール開発。

光感度を決定する2つの要因に加えて「回復時間」という新しい要因を明らかにすることができた [25]。実験においてGtCCR4とGtCCR2の光反応効率率は同じであった。チャンネルの開時間はGtCCR4が5倍ほど長かったが、それだけでは光感度の違いを説明できない。ロドプシンは様々な中間状態を経由する複雑な構造変化によりチャンネル機能が制御されるが、チャンネルが閉じた後、ロドプシンが完全に元の状態に戻るまでの時間（回復時間）はGtCCR4にはほとんどないことがわかった。回復時間がないと、すぐに次の光反応を始められるため感度が高くなるものと考えられる（図5左）。光遺伝学的視覚再生の医療応用は特に米国で先行しているが、チャンネルロドプシンとしての性能を考えた場合、GtCCR4には大きな期待がある。さらにOiDE OptoEyeの期間を通してGtCCR4変異体などのツール開発も進められたため、国際競争力の高いツールとなった。

チャンネルロドプシンのイオン電流により双極細胞や神経節細胞を活性化しようとするこれまでの手法とは全く異なる発想に立った光遺伝学的視覚再生のツールがキメラロドプシンである（図5右）。このタンパク質は、前述の通り、何かに役立てようと考えて始めた研究ではなく、動物と微生物ロドプシンの構造変化に共通性はあるのか、という視点から行ったものである。2つの論文を発表した直後の2015年、慶応大医眼科教室から視覚再生応用のためのツールの可能性を問われる中でキメラロドプシンを紹介したところ、事態は急展開した。慶応大のグループは2016年にベンチャー企業レストアビジョンを立ち上げ、慶応大4名と私による「視覚機能再生剤又は視覚機能低下予防剤」の特許を2017年に出願、2024年に登録、これまでに18億円を超える資金調達を実現して、早期治験に向けて進めている。

キメラロドプシンは動物ロドプシンのようにGタンパク質を活性化するため、高い光感度が期待される（図5右）。さらにキメラロドプシンは微生物ロドプシンを鋳型とするため、動物ロドプシンのようにレチナールが解離せず、光反応による繰り返し応答が可能である。実際、失明マウスの双極細胞にキメラロドプシンを発現することで室内光に相当する10<sup>13</sup> photon（図4c）での視覚再生を達成した [26]。キメラロドプシンはマウスの網膜で2年間も活性を維持し、網膜の変性に対する保護効果も見出されるなど、チャンネルロドプシンとは全く異なるメカニズムによる光遺伝学的視覚再生が期待されている。

## 6. おわりに

人間の受け取る情報の8割以上は視覚であり、それを失うことはきわめて深刻である。網膜色素変性による失明者に対する視覚再生のためのロドプシンを用いた遺伝子治療は、現在、激しい国際競争が繰り広げられている。ロドプシンの複雑な構造と、機能するための複雑な時空間ダイナミクスを考えると、私自身はこのタンパク質のメカニズムを正しく理解することが必須であると確信している。

多くのロドプシン研究者は動物ロドプシンか微生物ロドプシンのいずれかを専門とするが、私は分光学研究を基盤としたためか、いずれのロドプシンも研究対象としてきた。その結果、動物ロドプシンについても微生物ロドプシンについてもそれなりの理解を深めることができた。しかしながらロドプシンというタンパク質は遠くて深く、次々に新しい謎が生まれてくる。国内外の共同研究者とともに、その謎に少しでも迫ることができたらと願っている。

私は京大理・生物物理の吉澤透教授のもとでロドプシンと出会い、前田章夫教授のもとで赤外分光と出会うことができた。ここで紹介した成果は、文献中の原著論文に現れる多くの方々との共同研究の成果であり、心より感謝いたします。特に赤外分光に関しては古谷祐詞博士、片山耕大博士、機能の発見に関しては井上圭一博士（現東大）、GtCCR4の応用に関しては角田聡博士、細島頌子博士、キメラロドプシンに関しては慶応大医の栗原俊英博士、堅田侑作博士に感謝いたします。

## 文献

1. Ernst OP, Lodowski DT, Elstner M, Hegemann P, Brown LS, Kandori H. Microbial and animal rhodopsins: Structures, functions, and molecular mechanisms. *Chem Rev* 114, 126-163 (2014).
2. 神取秀樹：ロドプシンの作動メカニズム, *生化学*, 91, 472-481 (2019).
3. 神取秀樹：視覚の初期過程における光化学反応, *レーザー研究*, 31, 184-189 (2003).
4. Kandori H. Structure/function study of photoreceptive proteins by FTIR spectroscopy, *Bull Chem Soc Jpn* 93, 904-926 (2020).
5. Katayama K, Furutani Y, Imai H, Kandori H. An FTIR study of monkey green- and red-sensitive visual pigments. *Angew Chem Int Ed* 49, 891-894 (2010).
6. Sasaki J, Brown LS, Chon Y-S, Kandori H, Maeda A, Needleman R, Lanyi JK. Conversion of bacteriorhodopsin into a chloride ion pump. *Science* 269, 73-75 (1995).
7. Nakatsuma A, Yamashita T, Sasaki K, Kawanabe A, Inoue K, Furutani Y, Shichida Y, Kandori H. Chimeric microbial rhodopsins containing the third cytoplasmic loop of bovine rhodopsin, *Biophys J* 100, 1874-1882 (2011).
8. Sasaki K, Yamashita T, Yoshida K, Inoue K, Shichida Y, Kandori H. Chimeric proton-pumping rhodopsin containing the cytoplasmic loop of bovine rhodopsin, *PLoS One* 9, e91323 (2014).
9. Inoue K, Ono H, Abe-Yoshizumi R, Yoshizawa S, Ito H, Kogure K, Kandori H. A light-driven sodium ion pump in marine bacteria. *Nat Commun* 4:1678 (2013).
10. Kato HE, Inoue K, Abe-Yoshizumi R, Kato Y, Ono H, Konno M, Hososhima S, Ishizuka T, Hoque MR, Kunitomo H, Ito J, Yoshizawa S, Yamashita K, Takemoto M, Nishizawa T, Taniguchi R, Kogure K, Maturana AD, Iino Y, Yawo H, Ishitani R, Kandori H, Nureki O. Structural basis for Na<sup>+</sup> transport mechanism by a light-driven Na<sup>+</sup> pump. *Nature* 521, 48-53 (2015).
11. Konno M, Kato Y, Kato HE, Inoue K, Nureki O, Kandori H. Mutant of a light-driven sodium ion pump can transport cesium ions. *J Phys Chem Lett* 7, 51-55 (2016).
12. Kawanabe A, Furutani Y, Jung KH, Kandori H. Engineering an inward proton transport from a bacterial sensor rhodopsin. *J Am Chem Soc* 131, 16439-16444 (2009).
13. Inoue K, Ito S, Kato Y, Nomura Y, Shibata M, Uchihashi T, Tsunoda SP, Kandori H. A natural light-driven inward proton pump. *Nat Commun* 7:13415 (2016).
14. Bulzu PA, Andrei AŞ, Salcher MM, Mehrshad M, Inoue K, Kandori H, Beja O, Ghai R, Banciu HL. Casting light on Asgardarchaeota metabolism in a sunlit microoxic niche. *Nat Microbiol* 4, 1129-1137 (2019).
15. Inoue K, Tsunoda SP, Singh M, Tomida S, Hososhima S, Konno M, Nakamura R, Watanabe H, Bulzu PA, Banciu HL, Andrei AŞ, Uchihashi T, Ghai R, Bèjà O, Kandori H. Schizorhodopsins: A family of rhodopsins from Asgard archaea that function as light-driven inward H<sup>+</sup> pumps. *Sci Adv.* 6, eaaz2441 (2020).
16. Yamauchi Y, Konno M, Ito S, Tsunoda SP, Inoue K, Kandori H. Molecular properties of a DTD channelrhodopsin from *Guillardia theta*, *Biophys Physicobiol* 14, 57-66 (2017).
17. Yoshida K, Tsunoda SP, Brown LS, Kandori H. A unique choanoflagellate enzyme rhodopsin exhibits light-dependent cyclic nucleotide phosphodiesterase activity. *J Biol Chem* 292, 7531-7541 (2017).
18. Rozenberg A, Kaczmarczyk I, Matzov D, Vierock J, Nagata T, Sugiura M, Katayama K, Kawasaki Y, Konno M, Nagasaka Y, Aoyama M, Das I, Pahima E, Church J, Adam S, Borin VA, Chazan A, Augustin S, Wietek J, Dine J, Peleg Y, Kawanabe A, Fujiwara Y, Yizhar O, Sheves M, Schapiro I, Furutani Y, Kandori H, Inoue K, Hegemann P, Bèjà O, Shalev-Benami M. Rhodopsin-bestrophin fusion proteins from unicellular algae form gigantic pentameric ion channels. *Nat Struct Mol Biol.* 29, 592-603 (2022).
19. Pushkarev A, Inoue K, Larom S, Flores-Uribe J, Singh M, Konno M, Tomida S, Ito S, Nakamura R, Tsunoda SP,

- Philosof A, Sharon I, Yutin N, Koonin EV, Kandori H, Béjà O. A distinct abundant group of microbial rhodopsins discovered using functional metagenomics. *Nature* 558, 595-599 (2018).
20. Shihoya W, Inoue K, Singh M, Konno M, Hososhima S, Yamashita K, Ikeda K, Higuchi A, Izume T, Okazaki S, Hashimoto M, Mizutori R, Tomida S, Yamauchi Y, Abe-Yoshizumi R, Katayama K, Tsunoda SP, Shibata M, Furutani Y, Pushkarev A, Béjà O, Uchihashi T, Kandori H, Nureki O. Crystal structure of heliorhodopsin. *Nature* 574, 132-136 (2019).
  21. Hososhima S, Mizutori R, Abe-Yoshizumi R, Rozenberg A, Shigemura S, Pushkarev A, Konno M, Katayama K, Inoue K, Tsunoda SP, Béjà O, Kandori H. Proton-transporting heliorhodopsins from marine giant viruses. *Elife* 11, e78416 (2022).
  22. Optogenetics: Light-Sensing Proteins and Their Applications in Neuroscience and Beyond (Yawo, H.; Kandori, H.; Koizumi, A.; Kageyama, R. Eds), Springer Singapore (2021)
  23. Sahel JA, Boulanger-Scemama E, Pagot C, Arleo A, Galluppi F, Martel JN, Esposti SD, Delaux A, de Saint Aubert JB, de Montleau C, Gutman E, Audo I, Duebel J, Picaud S, Dalkara D, Blouin L, Taniel M, Roska B. Partial recovery of visual function in a blind patient after optogenetic therapy. *Nat Med* 27, 1223-1229 (2021).
  24. Hososhima S, Ueno S, Okado S, Inoue KI, Konno M, Yamauchi Y, Inoue K, Terasaki H, Kandori H, Tsunoda SP. A light-gated cation channel with high reactivity to weak light, *Sci Rep* 13, 7625 (2023).
  25. Tanaka T, Hososhima S, Yamashita Y, Sugimoto T, Nakamura T, Shigemura S, Iida W, Sano FK, Oda K, Uchihashi T, Katayama K, Furutani Y, Tsunoda SP, Shihoya W, Kandori H, Nureki O. The high-light-sensitivity mechanism and optogenetic properties of the bacteriorhodopsin-like channelrhodopsin GtCCR4, *Mol Cell* S1097-2765(24)00670-1 (2024).
  26. Katada Y, Yoshida K, Serizawa N, Lee D, Kobayashi K, Negishi K, Okano H, Kandori H, Tsubota K, Kurihara T. Highly sensitive visual restoration and protection via ectopic expression of chimeric rhodopsin in mice, *iScience* 26, 107716 (2023).

# 新しいシナプス接着機構の解明と神経機能操作法の開発



## 柚崎 通介

慶應義塾大学 医学部 生理学 教授

この度は2024年度上原賞をご授与いただき誠に有難うございました。錚々たる歴代の受賞者の末席に名を連ねることができ、大変光栄に存じます。推薦にご尽力いただきました御子柴克彦先生、日本神経科学学会、そしてご選考いただいた選考委員の先生方や財団関係者の皆様に、心より厚く御礼を申し上げます。

今回の受賞は、これまで私とともに研究を進めてきた教室関係者や共同研究者の皆様との成果を評価していただいたものと受け止めております。関係者の皆様に深く感謝申し上げますとともに、共に喜びを分かち合いたいと思います。

この受賞を励みとし、シナプス形成・維持機構の理解をさらに深めることで、精神・神経疾患の病態解明や新しい治療法の開発に貢献していきたいと考えております。受賞講演では、これまでの研究の成果と今後の展望についてお話しさせていただきます。

## 1. はじめにシナプスありき

私たちの脳は視覚や聴覚、運動など、それぞれ異なる機能を担うさまざまな神経回路が連携することで成り立っている。神経回路は、「シナプス」と呼ばれる結び目を介して神経細胞が繋がり、情報をやり取りすることで形成される。ヒトの脳には約1,000億個の神経細胞があり、それぞれの神経細胞に1,000~1万個のシナプスが存在するので、この膨大な数のシナプスの総数は1,000兆個に達するとされている。このような多様で複雑な神経回路をわずか約2万個の遺伝子だけで特異的にコードすることは不可能である。実際には、シナプスは発達期に遺伝情報に基づいて形成されるだけでなく、生後の環境や経験、学習によって、生涯にわたってその形態や機能が変化することが分っている。さらに、統合失調症・自閉症・アルツハイマー病といった多くの精神神経疾患や発達障害の患者さんでは、特定の脳領域間の結合が過剰または不足していることが明らかになっている（図1）。fMRIなどを用いて可視化される脳領域間の結合は、数万以上の神経細胞の活動の平均値として捉えられるが、その基盤となっているのは個々の神経細胞間をつなぐシナプスである。また、これらの精神神経疾患や発達障害では、シナプスに存在するタンパク質をコードする遺伝子に多くの変異が見つかっている。このような背景から、多くの精神神経疾患や発達障害は「シナプス病」として捉えるべきである、という考え方が提唱されている。そのため、シナプスがどのように形成・維持され、さらにその機能がどのように変化するかを解明することは、シナプス病の病態を理解し、新しい診断や治療方法を開発する上で非常に重要な課題となっている。

## 2. 機能的なシナプスの変化を光で探る

脊椎動物の脳では、シナプス前部にある神経細胞が興奮すると、グルタミン酸が放出される。グルタミン

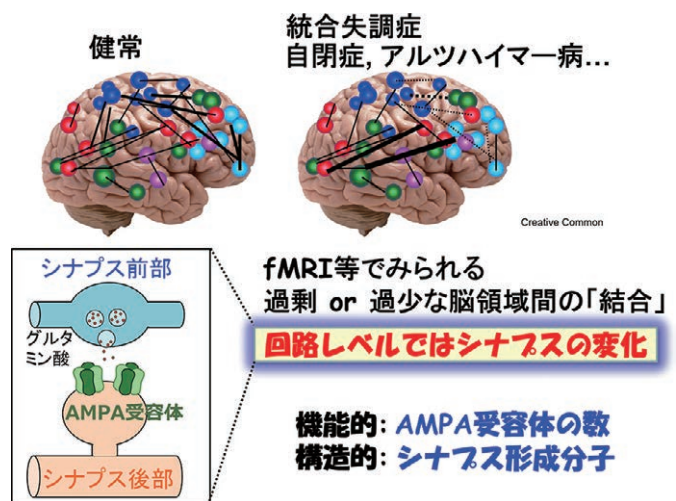


図1. 多くの精神神経疾患は「シナプス病」である



酸は、シナプス後部の神経細胞に局在するAMPA型グルタミン酸受容体（AMPA受容体）に結合し、数ミリ秒以内にシナプスを越えて興奮を伝達する。このような神経伝達の効率は一様ではなく、環境の変化や学習に伴って神経活動が変化すると、伝達効率が長期間にわたり増強されたり抑圧されたりする。この現象は、それぞれ長期増強（Long-term potentiation：LTP）および長期抑圧（Long-term depression：LTD）と呼ばれ、特定の神経回路におけるシナプスが記憶を貯蔵する仕組みとして、世界中の研究者によって50年以上にわたり研究されてきた（図2）。これまでの研究により、LTPやLTDの実体は、シナプス後部に存在するAMPA受容体の数（密度）が増減する現象であることが明らかになった。AMPA受容体は神経細胞の表面に存在するだけでなく、細胞内にもプールとして蓄えられている。LTP時には、このプールから細胞表面にAMPA受容体が輸送される（エキソサイトーシス）。一方、LTD時には細胞表面のAMPA受容体が細胞内プールに輸送される（エンドサイトーシス）。これにより、シナプス後部におけるAMPA受容体の数が精密に制御される仕組みとなっている。この輸送過程に関与する分子をコードする遺伝子を破壊すると、LTPやLTDが正常に起こらなくなるだけでなく、個体レベルで記憶や学習に障害が生じることが示されている。しかし、個体レベルでの記憶や学習が、どの神経回路のシナプスにおけるLTPやLTDとして貯蔵されるのかについては、未だ解明されていない点が多い。この原因の一つとして、記憶や学習に関与する神経回路が複数存在し、それぞれの回路でLTPやLTDが生じることが挙げられる。また、一つの神経回路におきた変化が、長期的には他の回路の変化として代償されるため、特定の神経回路のシナプスでのLTPやLTDと個体レベルでの記憶や学習との因果関係を明確にすることは難しい。

小脳は、神経細胞の種類が少なく、神経回路と個体レベルでの行動との関係が最も明確になっている脳部位である。小脳皮質から唯一の出力を送るプルキンエ細胞は、顆粒細胞からの平行線維と下オリブ核からの登上線維という2種類の興奮性入力を受ける。1970年代初頭にAlbusとMarrは、小脳皮質の構造を基にした学習理論を提唱した。プルキンエ細胞には顆粒細胞を介して末梢器官や大脳皮質からの感覚信号や運動信号が入力され、この直後に登上線維からの入力加わると、平行線維とプルキンエ細胞間のシナプスにLTPあるいはLTDが生じる、という理論である。この理論を初めて実験的に検証したのは、伊藤正男らによる研究である。彼らは、眼球運動学習を用いて実験を行った。たとえば動物が首を左右に振った際に眼球が逆方向に動く前庭動眼反射が、網膜からの視覚情報によって調整される現象、「前庭動眼反射の視性調節」である。その結果、眼球運動学習は、小脳片葉における平行線維—プルキンエ細胞シナプスのシナプス伝達が、網膜からの誤差信号（視覚のずれ）によって引き起こされるLTDによって制御されていることが明らかとなった。この成果は、小脳の学習メカニズムを説明する理論として広く認知されるようになり、提唱者の頭文字（Marr, Albus, Ito）を取って「MAIT理論」と呼ばれている [1]。

その後、小脳LTDに関与する分子を欠損させたマウスでは、小脳切片においてLTDが起きないだけでなく、眼球運動学習も障害されることが示され、MAIT理論の正しさが裏付けられた。しかし近年、LTDが障害されているにもかかわらず眼球運動学習が正常である遺伝子変異マウスや、逆にLTDが正常であるにもかかわらず眼球運動学習が障害されるマウスが報告されている。後者のマウスではLTPが障害されており、眼球運動学習においてLTDとLTPのどちらが主に関与しているのかについての議論が勃発した [2]。このような問題に終止符を打つためには新しいツールの開発が必要であろうと考えるに至った。特に、他の神経回路や分子機構による代償を防ぐためには、できるだけ急性に、かつ可逆的に、狙ったシナプスのLTPとLTDを制御できるツールが必要である。

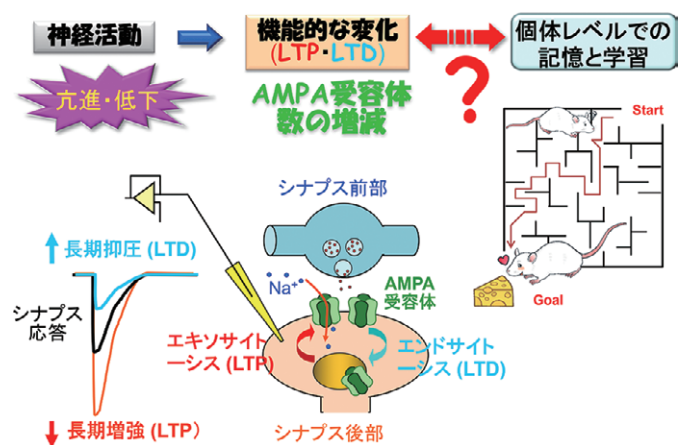


図2. 短中期の記憶とシナプスの機能的変化  
短中期の記憶は、興奮性シナプス達応答の長期的な上昇（LTP）や低下（LTD）として貯蔵される。しかし個体レベルの記憶・学習との因果関係はよく分っていない。

これまでの研究の過程で、LTD時にはAMPA受容体が初期エンドソームから後期エンドソームを経てライソソームに輸送され、この過程でエンドソーム内腔のpHが低下することを私たちは見出した。この結果に基づき、神取らによって発見された光感受性内向きプロトンポンプであるASR変異体を初期エンドソームに発現させ、光照射によってエンドソーム内腔を中性化しエンドサイトローシスを阻害できるツール「PhotonSABER」を開発した(図3)[3]。PhotonSABERを小脳で発現させたマウスを用い、眼球運動学習を観察した結果、小脳への光照射によってゲイン増加学習が完全に阻害された(図4)。この結果は、小脳片葉の平行線維—プルキンエ細胞シナプスにおけるLTDが眼球運動学習に必要であることを初めて直接的に証明したものである。また最近、LTP時にはライソソームがシナプス近傍で分泌されることが必要であることを発見した(図3)。これを基に、神取らによって発見された光感受性内向きプロトンポンプPoXeR変異体をライソソームに発現させ、光照射によってライソソーム分泌とLTPを阻害できるツール「LysopH-up」を開発することにも成功した。このツールを用いた研究により、ゲイン低下学習が小脳片葉の平行線維—プルキンエ細胞シナプスにおけるLTPによって担われることが明らかになった(図4)。これらの光遺伝学ツールは海馬や大脳など他の脳領域にも応用可能であり、シナプスにおける機能的変化(LTPやLTD)と個体レベルの高次脳機能との因果関係を解明する強力な手段となっている。また、精神・神経疾患の病態理解や治療法の開発にも大きく貢献することが期待されている。

### 3. 第三のシナプス形成分子：

#### 細胞外足場タンパク質の発見

シナプスは発達期に形成されるだけでなく、新しい環境や学習に伴う神経活動の変化に応じて、生涯を通じて改変される。このような構造的な可塑性を支える分子群はシナプス形成分子と呼ばれる。過去20年以上にわたり、数10種類のシナプス形成分子が同定されてきた。これらの分子は大きく分けて神経細胞同士を直接結合させる細胞接着分子(例：Neurexin、Neuroigin)と、神経細胞やグリア細胞から分泌され拡散する分泌性因子(例：Wnt、FGF)に分類される(図5)[4、5]。しかし、これらの分子をコードする遺伝子をノックアウトして

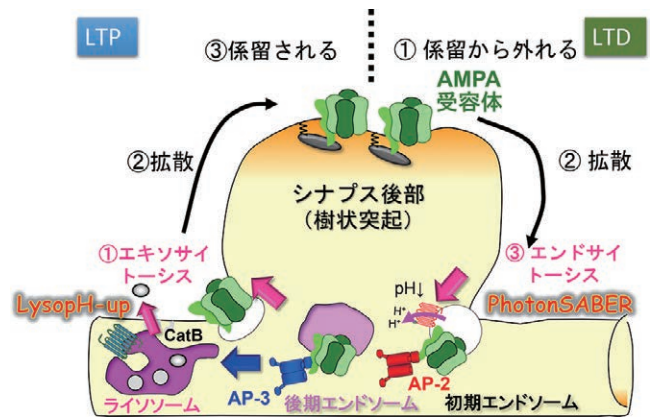


図3. 光でLTDとLTPを制御する

PhotonSABERとLysopH-upは、初期エンドソームおよびライソソームの内腔側のpHを光照射によって低下することによって、LTDとLTPを可逆的に急性に阻害する

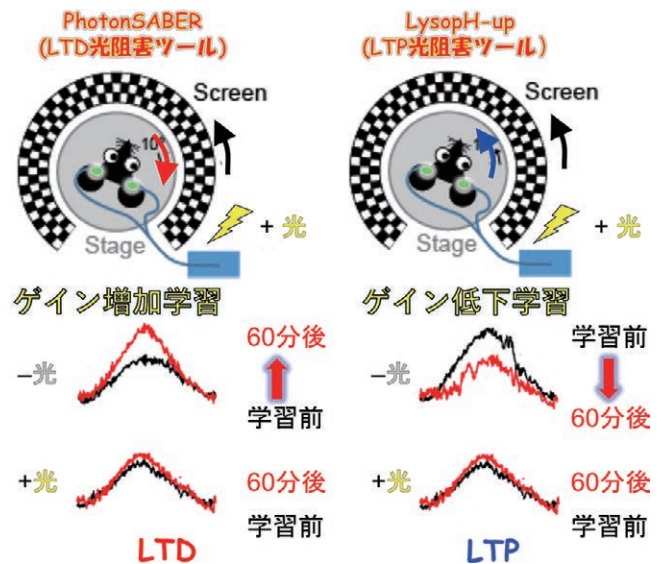


図4. 眼球運動学習はLTDとLTPが担う

PhotonSABERとLysopH-upを用いて、眼球運動学習のパラダイムに応じて、LTDとLTPが使われることが判明した。

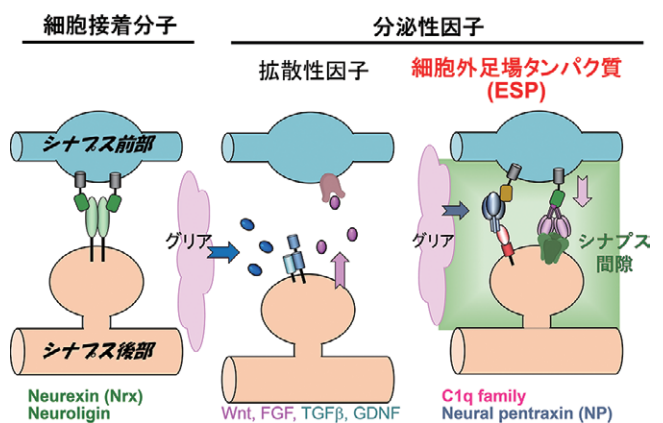


図5. 第三のシナプス形成分子：細胞外足場タンパク質

も、中枢神経系でのシナプスはほとんど失われなことが判明しており、*in vivo*でのシナプス形成の仕組みには未解明な点が多く残されていた。

私たちは、小脳で多く発現することが約20年前から知られていた分子「Cerebellin 1 (Cbln1)」[6]に着目し、Cbln1が強力なシナプス形成分子であることを発見した[7]。Cbln1は、従来の拡散性シナプス形成分子とは異なり、小脳顆粒細胞の軸索から分泌されるが、あまり拡散されずにシナプス間隙にとどまってシナプスの足場を提供する役割を持つ。一方、 $\delta$ 2型グルタミン酸受容体 (GluD2) も小脳プルキンエ細胞に高発現し、GluD2ノックアウトマウスでは平行線維—プルキンエ細胞シナプスが激減することが

約20年前から分っていたが[8]、GluD2がどのように機能するのかは謎であった。私たちは顆粒細胞が分泌するCbln1が、顆粒細胞に発現するNeurexinと、プルキンエ細胞に発現するGluD2とに同時に結合し、シナプスを越えて三者複合体を形成することによってシナプス形成・維持を制御することを初めて明らかにした(図6)[9-11]。Cbln1タンパク質を成熟マウスの小脳に一度注入するだけで、わずか2日後には多数の新しいシナプスが形成される[12, 13]。また、神経活動に応じてCbln1は顆粒細胞から分泌されるが[14]、活動が長期間にわたり亢進すると逆に遺伝子発現が抑制される[15]。この仕組み

は慢性てんかんのように神経活動が過剰な状態が続く場合に特に顕著であり、Cbln1の発現低下が社会性を制御する神経回路の一つである腹側被蓋野—側坐核シナプスのシナプス減少を引き起こし、自閉症様症状の発症につながる事が報告されている[16]。このように、Cbln1は神経活動に応じて、シナプス形成や維持を成熟後においても強力に制御するという点でこれまでのシナプス形成分子にはみられない特徴をもつ。

Cbln1は、自然免疫系において異物の認識や排除に関与する補体C1qと似た構造を持つ。同様の構造を持つ分子群はC1qファミリーと呼ばれ、ヒトでは少なくとも32種類の遺伝子がこれに属する(図7)。このうち31種類の分子はさまざまな細胞から分泌され、免疫、炎症、代謝など多様な機能を制御する。たとえば、脂肪細胞から分泌され糖代謝を調節するアディポネクチンもC1qファミリーに属する[17]。神経系では、Cbln1と進化的に近縁なCbln2やCbln4が、海馬、大脳皮質、脊髄などの神経回路におけるシナプス形成を特異的に制御することが明らかになっている。たとえば、Cbln4は大脳皮質でGABA受容体を介した抑制性シナプスの形成を制御するとともに[18, 19]、海馬では抑制性シナプスにおけるLTPを調節する[20]。一方、Cbln2は海馬台でシナプスの成熟を制御するだけでなく[21]、ヒトで大きく進化した前頭前野の樹状突起の棘形成にも関与していることが示されている[22]。

また、C1qファミリーのうちC1q-like (C1ql) サブファミリーに属するC1ql1、C1ql2、C1ql3も、小脳[23]、前頭前野[24]、嗅球[25]、海馬[26]など、さまざまな神経回路でのシナプス形成を制御することが分かった(図8)。興味深い点として、Cblnサブファミリーはシナプス後部で $\delta$ 型グルタミン酸受容体に結合するのに対し、C1qlサブファ

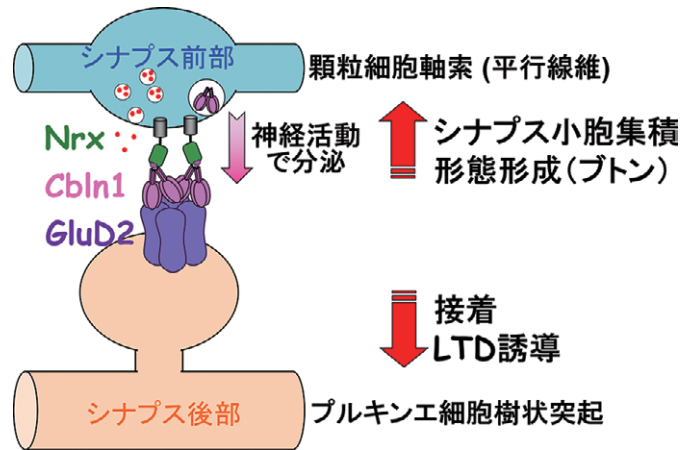


図6. Nrx-Cbln-GluD2三者複合体によるシナプス形成

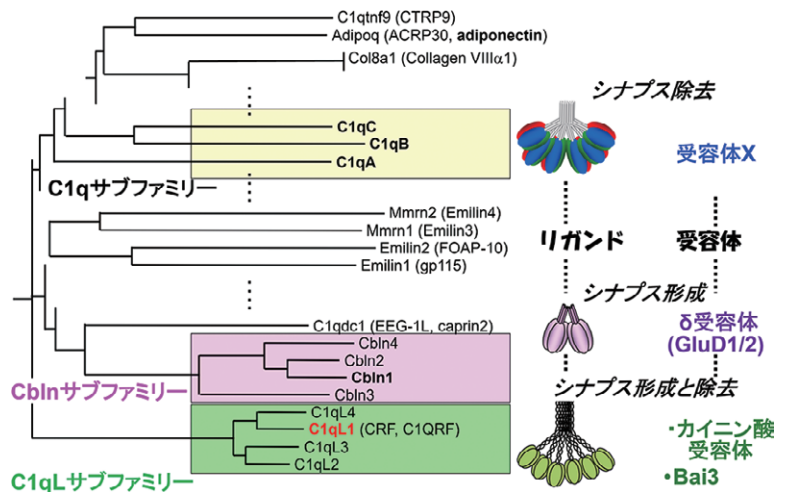


図7. シナプスを制御するC1qファミリー分子群

ミリーはカイニン酸型グルタミン酸受容体に結合する [26]。このことから、グルタミン酸受容体はシナプスでイオンチャンネルとして情報伝達に参与するだけでなく、シナプスそのものの形成にも重要な役割を果たすことが明らかになった。この発見は、イオンチャンネルと考えられてきた分子がチャンネル機能に依存しない「非イオンチャンネル機能」を有するという概念として発展している。さらに、C1ql2やC1ql3は海馬において、側頭葉てんかんの慢性化に関与することが分かった [26]。加えて、C1qlは正常な発達期に余分なシナプスを刈り込む役割を担うほか [27]、アルツハイマー病 [28] や統合失調症 [29] などの病態時にシナプス障害を引き起こす分子として注目されている。C1qファミリーのほかにも、Neuronal pentraxin (NP1、NP2、NPR) やLGIIといった分子が存在し、これらは分泌されて細胞外で足場として機能し、シナプス形成を制御する役割を持つ [5]。これらの知見を統合し、私たちはこれらの分子群を「細胞外足場タンパク質 (ESP: Extracellular Scaffold Protein)」と呼ぶ新しい概念を提唱した [5]。この概念は、シナプス形成や維持の仕組みをより包括的に理解するための新たな視点を提供するものである。

#### 4. 人工シナプスコネクターの開発とその応用

Cbln1は強力な興奮性シナプス形成能をもつが、その受容体であるGluD2は小脳以外の脳部位には余り発現しない。そこで私たちはもっと多くの神経回路においてCbln1のように強力に興奮性シナプスを形成することができる人工シナプスコネクターの開発を目指した。細胞外足場タンパク質である神経ペントラキシン (NP1) は、全ての興奮性シナプスに存在するAMPA受容体の細胞外ドメインに結合する。しかしNP1はCbln1とは違い、*in vivo*ではシナプス前部を繋ぎ止めることができない。そこで私たちはCbln1とNP1の結晶構造を解き、Cbln1のNrxに結合するドメインと、NP1のAMPA受容体に結合するドメイン (PTX) をつなぎ合わせた人工シナプスコネクターCPTXを開発した (図9) [30]。CPTXは期待通り、シナプス前部のNrxとシナプス後部のAMPA受容体に同時に結合することによって、多くの神経回路において興奮性シナプス形成を誘導することができた。さらにCPTXタンパク質を小脳失調・アルツハイマー病・脊髄損傷のモデルマウスの小脳・海馬・脊髄にそれぞれ注入すると、急速にシナプスが形成されるとともに、それぞれの病態が著しく改善されることを見出した。このようにシナプス形成分子から精神神経疾患の治療方法の創出に繋がるという新しい戦略の有用性が示された (図10)。

#### 5. おわりに

小脳は、その神経回路が比較的単純であり、個体レベルでの行動との関係が最も明確に理解できる脳部位である。また、我が国では、LTD研究で知られる伊藤正男先生、IP3受容体を発見された御子柴克彦先生、脊髄小脳変性症の研究で著明な辻省次先生など、小脳研究において国際的にも高い評価を受けてきた伝統がある。このような背景を活かして、

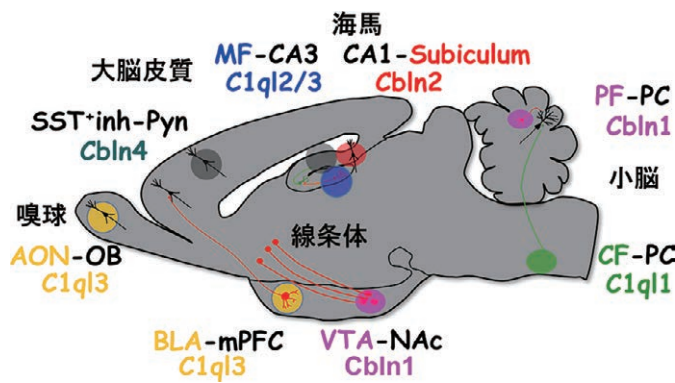


図8. シナプス形成分子CblnとC1qlが制御する神経回路

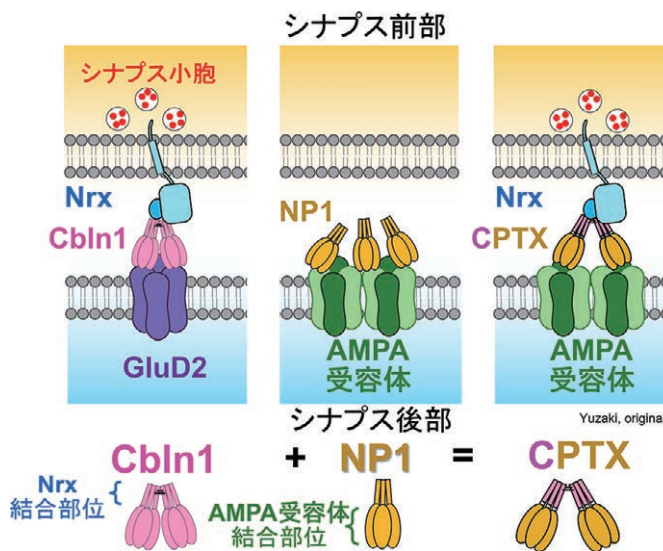


図9. 人工シナプスコネクターCPTXの開発

私たちはLTPやLTDといった機能的なシナプス可塑性や、シナプス形成に関連する形態的なシナプス可塑性のメカニズムを小脳をモデルとして研究してきた。当初、小脳で得られた知見の多くは小脳特有の現象と考えられていた。たとえば1993年にSeeburgや三品らによるホモジースクリーニングで同定されたGluD2は、グルタミン酸受容体に分類されながらもグルタミン酸に結合しない「孤児受容体」として謎に包まれていた。小脳シナプスにおけるLTDにはGluD2が必須である一方、他の脳部位ではGluD2はほとんど発現していない。しかし、GluD2を介したLTD制御機構を解明する過程で、AMPA受容体が神経活動によってエンドサイトーシスされる仕組みが明らかとなり、このメカニズムは小脳以外の神経回路にも適用できる一般的な知見へと広がった。さらに、これらの研究はLTDやLTPを制御する新しい光遺伝学ツールの開発にも繋がり、現在ではこれらのツールを用いて、小脳以外の神経回路におけるLTDやLTPと個体レベルでの記憶・学習との因果関係を解明する試みが進められている。

一方で、1984年に小脳で多く発現する分泌性分子として発見されたCbln1も、その機能が長らく謎に包まれていた。補体ファミリーに属するCbln1と、グルタミン酸受容体ファミリーに属するGluD2がシナプス形成分子として共同して働くという発見は、当初誰も予想していなかった。しかし、その後の研究により、GluD2のみならず、AMPA受容体やカイニン酸受容体といったグルタミン酸受容体の細胞外ドメインにも細胞外足場タンパク質が結合し、シナプス形成や機能を制御することが分ってきた。また、補体ファミリーに属する他の分子群も、海馬や大脳皮質などでシナプス形成や機能を制御していることが明らかとなり、これらの知見を活かして人工シナプスコネクターの開発が進められている。まだ多くの課題が残されているものの、引き続き小脳をモデルとしてシナプス可塑性のメカニズムを解明していくとともに、得られた知見を他の脳部位のみでなく、末梢神経系や自律神経系シナプス理解へと応用したい。また、これらの研究成果が新しいシナプス創薬の開発につながることを目指して、今後も研究を続けていく所存である。

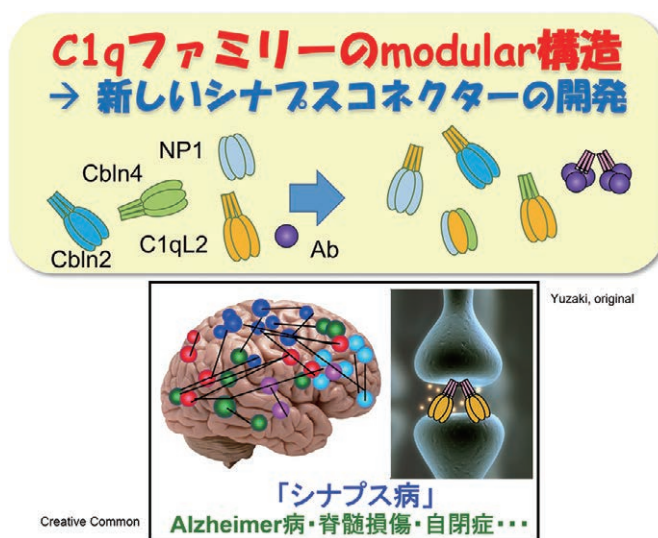


図10. 人工シナプスコネクターによるシナプス病の病態解明と治療戦略

## 文献

1. Ito M, Yamaguchi K, Nagao S, Yamazaki T. Long-term depression as a model of cerebellar plasticity. *Prog Brain Res.* 2014;210: 1–30.
2. Yuzaki M. Cerebellar LTD vs. motor learning-lessons learned from studying GluD2. *Neural Netw.* 2013 Nov;47: 36–41.
3. Kakegawa W, Katoh A, Narumi S, Miura E, Motohashi J, Takahashi A, Kohda K, Fukazawa Y, Yuzaki M, Matsuda S. Optogenetic Control of Synaptic AMPA Receptor Endocytosis Reveals Roles of LTD in Motor Learning. *Neuron.* 2018 Sep 5;99(5):985-998.e6.
4. Sudhof TC. The cell biology of synapse formation. *J Cell Biol.* 2021 Jul;220(7).
5. Yuzaki M. Two Classes of Secreted Synaptic Organizers in the Central Nervous System. *Annu Rev Physiol.* 2018 Feb 10;80:243–62.
6. Slemmon JR, Blacher R, Danho W, Hempstead JL, Morgan JI. Isolation and sequencing of two cerebellum-specific peptides. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 1984 Nov;81(21):6866–70.
7. Hirai H, Pang Z, Bao D, Miyazaki T, Li L, Miura E, Parris J, Rong Y, Watanabe M, Yuzaki M, Morgan JI. Cbln1 is essential for synaptic integrity and plasticity in the cerebellum. *Nat Neurosci.* 2005 Nov; 8 (11):1534–41.
8. Kashiwabuchi N, Ikeda K, Araki K, Hirano T, Shibuki K, Takayama C, Inoue Y, Kutsuwada T, Yagi T, Kang Y, Aizawa S, Mishina M. Impairment of Motor Coordination, Purkinje Cell Synapse Formation, and Cerebellar Long-Term Depression in GluR  $\delta$  2 Mutant Mice. *Cell.* 1995 Apr 21;81(2):245–52.
9. Matsuda K, Kondo T, Iijima T, Matsuda S, Watanabe M, Yuzaki M. Cbln1 binds to specific postsynaptic sites at parallel fiber-Purkinje cell synapses in the cerebellum. *Eur J Neurosci.* 2009 Feb;29(4):707–17.
10. Matsuda K, Miura E, Miyazaki T, Kakegawa W, Emi K, Narumi S, Fukazawa Y, Ito-Ishida A, Kondo T, Shigemoto R, Watanabe M, Yuzaki M. Cbln1 is a ligand for an orphan glutamate receptor delta2, a bidirectional synapse organizer. *Science.* 2010 Apr 16;328(5976):363–8.
11. Uemura T, Lee SJ, Yasumura M, Takeuchi T, Yoshida T, Ra M, Taguchi R, Sakimura K, Mishina M. Trans-Synaptic Interaction of GluR  $\delta$  2 and Neurexin through Cbln1 Mediates Synapse Formation in the Cerebellum. *Cell.* 2010 Jun 11;141(6):1068–79.
12. Ito-Ishida A, Miyazaki T, Miura E, Matsuda K, Watanabe M, Yuzaki M, Okabe S. Presynaptically released Cbln1 induces dynamic axonal structural changes by interacting with GluD2 during cerebellar synapse formation. *Neuron.* 2012 Nov 8;76(3):549–64.
13. Ito-Ishida A, Miura E, Emi K, Matsuda K, Iijima T, Kondo T, Kohda K, Watanabe M, Yuzaki M. Cbln1 Regulates Rapid Formation and Maintenance of Excitatory Synapses in Mature Cerebellar Purkinje Cells In Vitro and In Vivo. *J Neurosci.* 2008 Jun 4;28(23):5920–30.
14. Ibata K, Kono M, Narumi S, Motohashi J, Kakegawa W, Kohda K, Yuzaki M. Activity-Dependent Secretion of Synaptic Organizer Cbln1 from Lysosomes in Granule Cell Axons. *Neuron.* 2019 Jun 19;102(6):1184-1198.e10.
15. Iijima T, Emi K, Yuzaki M. Activity-dependent repression of Cbln1 expression: mechanism for developmental and homeostatic regulation of synapses in the cerebellum. *J Neurosci.* 2009 Apr 29;29(17):5425–34.
16. Krishnan V, Stoppel DC, Nong Y, Johnson MA, Nadler MJ, Ozkaynak E, Teng BL, Nagakura I, Mohammad F, Silva MA, Peterson S, Cruz TJ, Kasper EM, Arnaout R, Anderson MP. Autism gene Ube3a and seizures impair sociability by repressing VTA Cbln1. *Nature.* 2017 Mar;543(7646):507–12.
17. Yuzaki M. The C1q complement family of synaptic organizers: not just complementary. *Current Opinion in Neurobiology.* 2017 Aug 1;45: 9–15.
18. Fossati M, Assendorp N, Gemin O, Colasse S, Dingli F, Arras G, Loew D, Charrier C. Trans-Synaptic Signaling

- through the Glutamate Receptor Delta-1 Mediates Inhibitory Synapse Formation in Cortical Pyramidal Neurons. *Neuron*. 2019 Dec 18;104(6):1081-1094.e7.
19. Favuzzi E, Deogracias R, Marques-Smith A, Maeso P, Jezequel J, Exposito-Alonso D, Balia M, Kroon T, Hinojosa AJ, F. Maraver E, Rico B. Distinct molecular programs regulate synapse specificity in cortical inhibitory circuits. *Science*. 2019 Jan 25;363(6425):413-7.
  20. Piot L, Heroven C, Bossi S, Zamith J, Malinauskas T, Johnson C, Wennagel D, Stroebel D, Charrier C, Aricescu AR, Mony L, Paoletti P. GluD1 binds GABA and controls inhibitory plasticity. *Science*. 2023 Dec 22;382(6677):1389-94.
  21. Dai J, Patzke C, Liakath-Ali K, Seigneur E, Südhof TC. GluD1 is a signal transduction device disguised as an ionotropic receptor. *Nature*. 2021 Jul;595(7866):261-5.
  22. Shibata M, Pattabiraman K, Muchnik SK, Kaur N, Morozov YM, Cheng X, Waxman SG, Sestan N. Hominini-specific regulation of CBLN2 increases prefrontal spinogenesis. *Nature*. 2021 Oct;598(7881):489-94.
  23. Kakegawa W, Mitakidis N, Miura E, Abe M, Matsuda K, Takeo YH, Kohda K, Motohashi J, Takahashi A, Nagao S, Muramatsu S ichi, Watanabe M, Sakimura K, Aricescu AR, Yuzaki M. Anterograde Clq11 signaling is required in order to determine and maintain a single-winner climbing fiber in the mouse cerebellum. *Neuron*. 2015 Jan 21;85(2):316-29.
  24. Martinelli DC, Chew KS, Rohlmann A, Lum MY, Ressler S, Hattar S, Brunger AT, Missler M, Südhof TC. Expression of Clq13 in Discrete Neuronal Populations Controls Efferent Synapse Numbers and Diverse Behaviors. *Neuron*. 2016 Sep;91(5):1034-51.
  25. Wang CY, Liu Z, Ng YH, Südhof TC. A Synaptic Circuit Required for Acquisition but Not Recall of Social Transmission of Food Preference. *Neuron*. 2020 Jul;107(1):144-157 e4.
  26. Matsuda K, Budisantoso T, Mitakidis N, Sugaya Y, Miura E, Kakegawa W, Yamasaki M, Konno K, Uchigashima M, Abe M, Watanabe I, Kano M, Watanabe M, Sakimura K, Aricescu AR, Yuzaki M. Transsynaptic Modulation of Kainate Receptor Functions by Clq-like Proteins. *Neuron*. 2016 May 18;90(4):752-67.
  27. Stevens B, Allen NJ, Vazquez LE, Howell GR, Christopherson KS, Nouri N, Micheva KD, Mehalow AK, Huberman AD, Stafford B, Sher A, Litke AM, Lambris JD, Smith SJ, John SWM, Barres BA. The Classical Complement Cascade Mediates CNS Synapse Elimination. *Cell*. 2007 Dec 14;131(6):1164-78.
  28. Hong S, Beja-Glasser VF, Nfonoyim BM, Frouin A, Li S, Ramakrishnan S, Merry KM, Shi Q, Rosenthal A, Barres BA, Lemere CA, Selkoe DJ, Stevens B. Complement and microglia mediate early synapse loss in Alzheimer mouse models. *Science*. 2016 May 6;352(6286):712-6.
  29. Sekar A, Bialas AR, de Rivera H, Davis A, Hammond TR, Kamitaki N, Tooley K, Presumey J, Baum M, Van Doren V, Genovese G, Rose SA, Handsaker RE, Daly MJ, Carroll MC, Stevens B, McCarroll SA. Schizophrenia risk from complex variation of complement component 4. *Nature*. 2016 Feb;530(7589):177-83.
  30. Suzuki K, Elegheert J, Song I, Sasakura H, Senkov O, Matsuda K, Kakegawa W, Clayton AJ, Chang VT, Ferrer-Ferrer M, Miura E, Kaushik R, Ikeno M, Morioka Y, Takeuchi Y, Shimada T, Otsuka S, Stoyanov S, Watanabe M, Takeuchi K, Dityatev A, Aricescu AR, Yuzaki M. A synthetic synaptic organizer protein restores glutamatergic neuronal circuits. *Science*. 2020 Aug 28;369(6507):eabb4853.

Carbon Offset Print



— カーボンオフセット印刷 —  
この印刷物は、環境省等が運用する「J-クレジット制度」を活用しており、国内のCO<sub>2</sub>削減事業を支援しています。



公益財団法人 上原記念生命科学財団

〒171-0033

東京都豊島区高田3丁目26番3号

TEL : 03-3985-3500 FAX : 03-3982-5613

E-mail : mail85@ueharazaidan.or.jp