

令和 3 年 6 月 23 日現在

機関番号：82609

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K07070

研究課題名(和文) グリアからの小胞性グルタミン酸放出の生理的意義

研究課題名(英文) Physiological role of vesicular glutamate release from glial cells

研究代表者

宮下 知之 (MIYASHITA, Tomoyuki)

公益財団法人東京都医学総合研究所・脳・神経科学研究分野・主席研究員

研究者番号：70270668

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：研究代表者はショウジョウバエのグリア細胞に発現する新規小胞性グルタミン酸トランスporter、dvGluT2を同定し、dvGluT2が嫌悪的連想学習に必要であること、すなわちグリア細胞からのグルタミン酸の小胞体放出が連想学習に必要であることが示唆された。さらに、電気ショックの情報はキノコ体(MB)のNMDA受容体(NR)を介して入力している事が明らかになった。以上のことから、電気ショックは、グリアにおけるグルタミン酸の小胞性エクソサイトーシスを誘発し、放出されたグルタミン酸は、臭覚刺激によってシナプス後のMBニューロンが脱分極する際に、NRを介してCa²⁺の流入を誘導するというモデルを提案した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、グリア細胞は神経の可塑性に重要な役割を持つことが次々と明らかになってきている。しかし、本研究ではグリア細胞が、嫌悪の情報記憶中枢に伝えているという全く新しいグリア細胞の機能を明らかにしたと考えている。さらに、連合学習における、無条件刺激が条件刺激に対して同時または、遅れて与えられたときのみ連合学習が成立するメカニズムを明らかにできたと考えている

研究成果の概要(英文)：We identified a novel vesicular glutamate transporter (dvGluT2) expressed in *Drosophila* glial cells, suggesting that dvGluT2 is required for aversive associative learning, i.e., exocytosis of glutamate from glial cells is required for associative learning. Furthermore, it was found that the information of electric shock was input via NMDA receptors (NR) in the mushroom body (MB). In summary, we proposed a model in which electric shock induces vesicular exocytosis of glutamate in glia, and the released glutamate induces Ca²⁺ influx via NRs during the depolarization of postsynaptic MB neurons by odor stimulation.

研究分野：神経科学

キーワード：グリア細胞 小胞性グルタミン酸輸送体 NMDA受容体 Mg²⁺ ブロック 連合学習 ショウジョウバエ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

脳の主要な神経伝達物質の1つであるグルタミン酸 (Glu) は、他の神経伝達物質と同様、細胞内において小房型トランスポーター、vGluT により小胞に詰め込まれ、小胞が細胞膜に融合することでシナプス間隙に開口放出される。このことから vGluT は、グルタミン酸作動性神経細胞のマーカーとして考えられ、ほ乳類の脳内の神経細胞に広く発現をみることができる。一方近年、Glu は神経細胞からだけでなくグリア細胞からも神経伝達物質として放出されていると考えられるようになってきた。2004年、初代培養グリア細胞を用いた研究から vGluT が神経細胞だけでなくグリア細胞にも発現し、Glu 放出を担っていることが報告されたが (Montana et al., J. Neurosci., 2004)、vGluT がグリア細胞に存在する証拠はないとする報告も有り (Dongdong et al., J. Neurosci., 2013)、グリア細胞による Glu 放出に関しては、その分子的な実体も生理的な意義についても未だ不明のままであった。

2. 研究の目的

近年Gluは神経細胞からだけでなく、グリア細胞からも神経伝達物質として放出されることが示唆されている。しかしその実体は未だはっきりせず、開口放出なのか、別の方法で放出されているのかも明らかでない。我々は(学習記憶のモデル生物である)ショウジョウバエで、グリア細胞に発現が示唆される新規の小房型グルタミン酸トランスポーター(vGluT)を同定した。これはグリア細胞内でGluがシナプス小胞に詰め込まれ、開口放出されていることを示唆している。さらにこのvGluTが、グリアで匂いと電気ショックを用いた連合学習に重要な役割を持つことも見出した。本研究はグリアからのGlu開口放出が実際に起こっているのか? 起こっているのであれば連合学習の何時起こり、どのような役割を担うのかを明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) DvGluT2 の機能についての検証 DvGluT2 が小胞に Glu を詰め込む機能を持つかを検証する。

(2) 解剖学的な検証 光学顕微鏡、電子顕微鏡レベルでの検証、さらに synapt-GRASP と共に多面的に解析する。

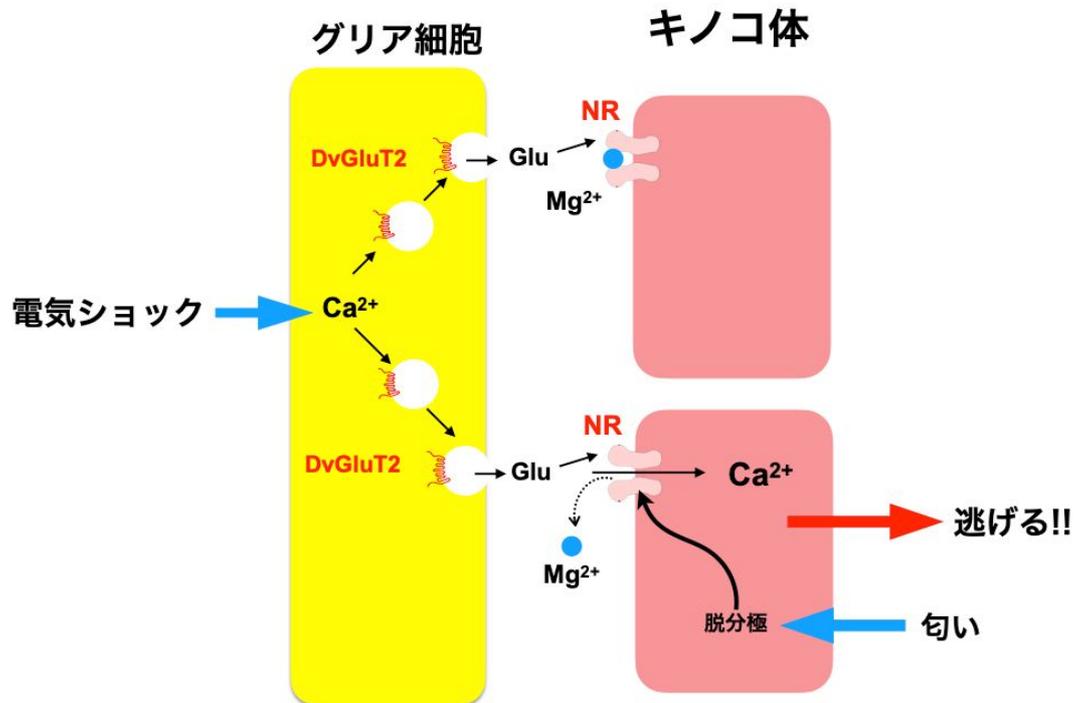
(3) 行動学的な検証 DvGluT2 や小胞分泌に必要な遺伝子群を knock down した時、匂い嫌悪学習に障害が出るかを検証する。

(4) グリア細胞からの Glu 開口放出の有無、そのメカニズムに関する検証 グリア細胞から Glu がいつ、どこで、どのように放出するのか、さらに周辺の神経細胞などに、どのようなシグナルを伝えるのかを検証する。

4. 研究成果

匂いと電気ショックを組み合わせたショウジョウバエ嫌悪性匂い条件付けにおいて、匂い情報とショック情報は記憶中枢キノコ体で連合される。匂い情報が触覚葉のコリン作動性プロジェクトクシオン神経により伝達される一方で、ショック情報を伝える経路がドーパミン作動性神経がグルタミン酸作動性神経が議論となっている。本研究において我々は嫌悪性匂い条件付けに必要なショック情報が ensheathing glia(ENG)によりキノコ体に伝達されることを報告する。我々は新規小胞性 Glu 輸送体(DVGLUT2)が ENG に発現することを見出した。条件付け中に ENG からの小胞開口放出を抑制すると嫌悪性匂い条件付けが障害され、ENG はショック呈示に応じて Glu をキノコ体に小胞開口放出する。ショックに応じて ENG から開口放出される Glu はキノ

コ体の NMDA 受容体に結合する。しかし NMDA 受容体の Mg^{2+} ブロックのため、ショック呈示のみではキノコ体の Ca^{2+} 応答は起こらない。ショック呈示に対するキノコ体の Ca^{2+} 応答は匂い呈示と同期したときに観られ、匂い呈示と同時に ENG を人為的に活性化すると嫌悪性匂い記憶が形成された。以上の結果は ENG からの Glu 開口放出によりキノコ体へショック情報が出力されるが、キノコ体への入力は NMDA 受容体の Mg^{2+} ブロックによりゲーティングされ、匂い情報と同期した嫌悪情報のみがキノコ体に伝えられることを示唆している。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Akiba M, Sugimoto K, Aoki R, Murakami R, Miyashita T, Hashimoto R, Hiranuma A, Yamauchi J, Ueno T, Morimoto T.	4. 巻 51-3
2. 論文標題 Dopamine modulates the optomotor response to unreliable visual stimuli in <i>Drosophila melanogaster</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 European Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 822-839
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/ejn.14648	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Miyashita T, Kikuchi E, Horiuchi J, Saitoe M	4. 巻 25
2. 論文標題 Long-Term Memory Engram Cells Are Established by c-Fos/CREB Transcriptional Cycling.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 2716-2728
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.celrep.2018.11.022	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Tomoyuki Miyashita, Kyohei Mikami, Kentaro Endo, Takaaki Miyaji, Sawako Moriyama, Kotaro Konno, Yoshinori Moriyama, Masahiko Watanabe, Minoru Saitoe
2. 発表標題 Vesicular exocytosis of glutamate from ensheathing glia transmits aversive information required for associative conditioning in <i>Drosophila</i>
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tomoyuki Miyashita, Kyohei Mikami, Kentaro Endo, Takaaki Miyaji, Sawako Moriyama, Kotaro Konno, Yoshinori Moriyama, Masahiko Watanabe, Minoru Saitoe
2. 発表標題 Vesicular exocytosis of glutamate from ensheathing glia transmits aversive information required for associative conditioning in <i>Drosophila</i>
3. 学会等名 第42回日本神経科学大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 宮下知之
2. 発表標題 ショウジョウバエを用いた行動学 ~匂い嫌悪学習を中心に~
3. 学会等名 第31回日本行動神経内分泌研究会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 宮下知之
2. 発表標題 神経膠細胞の新しい機能
3. 学会等名 第12回分子高次機能研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 宮下知之
2. 発表標題 連合学習に必要な感覚情報のグリア細胞による伝達機構
3. 学会等名 第9回都医学研シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Tomoyuki Miyashita, Kanako Murakami, Takaaki Miyaji, Kyoko Ofusa, Emi Kikuchi, Junjiro Horiuchi, Yoshinori Moriyama, Minoru Saitoe
2. 発表標題 Vesicular glutamate release from ensheathing glial transmits electric shock information to the mushroom bodies during olfactory conditioning in <i>Drosophila</i>
3. 学会等名 第41回日本神経科学大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 宮下知之
2. 発表標題 グリアからのグルタミン酸開口放出の役割
3. 学会等名 分子高次機能研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tomoyuki Miyashita ,Minoru Saitoe
2. 発表標題 Glial vesicular release of glutamate transmits aversive information required for aversive associative conditioning in Drosophila.
3. 学会等名 新学術領域班会議
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>東京都医学総合研究所 学習・記憶プロジェクト http://www.igakuken.or.jp/memory/ 反復学習が記憶を蓄える神経細胞集団を形成するメカニズムを解明 http://www.igakuken.or.jp/topics/2018/1204.html 反復学習が記憶を蓄える神経細胞集団を形成するメカニズムを解明 http://www.igakuken.or.jp/public/news/033/cont2.html</p>
--

6. 研究組織		
氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------