



グルタミン酸輸送体 GLAST はグリアによるシナプスの覆いと 機能的なシナプス回路の発達・維持に必須

研究成果のポイント

- ・ 脳の発達に不可欠なシナプス回路の改築に、グルタミン酸輸送体 GLAST が有効であることを解明。
- ・ GLAST は、グルタミン酸除去による近隣シナプス間の機能的絶縁とシナプス被覆による構造的絶縁の両面を促進。
- ・ この生理機能を介して、近隣のシナプスやニューロンへの異所的伝達（クロストーク）を抑えることにより、機能的なシナプス回路の発達と維持に関与。

研究成果の概要

グルタミン酸は脳における主要な興奮性神経伝達物質として、発達期におけるシナプス^{*1}回路改築や、成体期における神経情報伝達と可塑性発現の基盤になります。この生理機能がグルタミン酸受容体^{*2}の活性化を介して起きていることは知られていましたが、グルタミン酸伝達の時空間的調節を制御するグルタミン酸輸送体^{*3}の機能的役割はこれまで不明でした。

この度、医学研究院解剖発生学教室の宮崎助教が中心となって、小脳のバーグマンガリア^{*4}に豊富なグルタミン酸輸送体 GLAST に着目し、その遺伝子欠損マウスの表現型^{*5}解析を行いました。その結果、GLAST が、プルキンエ細胞^{*4}における登上線維と平行線維^{*6}の支配テリトリーの分離化、優勢な登上線維による単一支配の確立、グリア突起による樹状突起とシナプスの被覆化に必須であることを突き止めました。同様の表現型は、成熟した野生型マウス小脳へのグルタミン酸輸送体阻害剤の投与により再現されたことから、機能的なシナプス回路の維持に不可欠であることもわかりました。

本研究成果は、2017年6月27日(火)出版の米国科学アカデミー紀要「Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America」でオンライン公開されました。

なお、本研究は、科学研究費補助金(基盤研究(S) 24220007, 基盤研究(C) 26460250, 26460251)により行われました。

論文発表の概要

研究論文名: Glutamate transporter GLAST controls synaptic wrapping by Bergmann glia and ensures proper wiring of Purkinje cells (グルタミン酸輸送体 GLAST はバーグマンガリアによるプルキンエ細胞のシナプス被覆と適正なシナプス回路の発達・維持に必須である)

著者: 宮崎太輔¹, 山崎美和子¹, 橋本浩一^{2, 3}, 幸田和久^{4, 5}, 柚崎通介⁴, 島本啓子⁶, 田中光一⁷,

狩野方伸², 渡辺雅彦¹

所属：¹北海道大学大学院医学研究院, ²東京大学大学院医学系研究科, ³広島大学大学院医歯薬保健学研究院, ⁴慶應義塾大学医学部, ⁵聖マリアンナ医科大学医学部, ⁶サントリー生命科学財団, ⁷東京医科歯科大学難治疾患研究所

公表雑誌：Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (米国科学アカデミー紀要)

公表日：米国東部時間 2017年6月27日(火)(オンライン公開)

研究成果の概要

(背景)

グルタミン酸は脳における主要な興奮性神経伝達物質であり、その強い興奮作用を介して、脳における感覚や運動などの神経情報の伝達や、記憶や学習などの脳の可塑性発現の基盤になります。グルタミン酸神経伝達は、発達期には外界刺激による機能的なシナプス回路への改築や成熟の原動力となり、年少期に受けた経験・訓練・練習・教育などの生活履歴を反映した脳機能の個性化の基盤にもなります。

これまで、医学研究院の渡辺教授の研究グループはシナプス回路発達の分子機構を追求し、このようなグルタミン酸の生理作用が、シナプス後部に発現するグルタミン酸受容体の活性化やシナプス前部との接着機能を介して起きていることを明らかにしてきました。

一方、グルタミン酸受容体の活性化の時間的・空間的制御には、シナプス間隙に放出されたグルタミン酸の除去に関わるグルタミン酸輸送体が重要な役割を担っています。しかし、シナプス回路の発達や改築におけるグルタミン酸輸送体の生理機能についてはこれまで不明でした。そこで、小脳バーグマングリアに豊富なグルタミン酸輸送体 GLAST に着目し、このグリアが付随するプルキンエ細胞のシナプス回路の発達・成熟における GLAST の機能的役割について追求しました。

(研究手法)

生後2ヶ月令の野生型マウスと GLAST 欠損マウスの小脳を用いて、プルキンエ細胞樹状突起に入力する平行線維と登上線維の支配テリトリー、登上線維支配の多重性、バーグマングリアのシナプス被覆などの表現型について、光学顕微鏡と電子顕微鏡を用いて精査しました。また、成体期におけるグルタミン酸輸送体の機能的役割を明らかにする目的で、グリア型グルタミン酸輸送体の選択的阻害剤 PMB-TBOA を染み込ませた Elvax ポリマーを4週令の野生型マウス小脳に投与し、その1週間後に同様の表現型解析を行いました。

(研究成果)

野生型マウスでは、シナプスの接着部位を除いた樹状突起やシナプスの表面は、バーグマングリアの細胞突起が完全に被覆していました(図1左)。また、樹状突起の近位部を一本の登上線維が単一支配し、遠位部を莫大な数の平行線維が支配して、それぞれの支配テリトリーは分離していました(図2左)。一方、GLAST 欠損マウスではグリア突起による被覆が不全で、シナプス間隙がグリア突起により閉鎖されずに開放系となり、近隣のシナプス間隙と相互に連絡するようになっていました(図1右、矢頭)。さらに、樹状突起の近位部には、複数の登上線維が異所性支配を頻繁に行い、重篤な多重支配になっていました。また、本来は樹状突起の遠位部に限局すべき平行線維シナプスも樹状突起

の近位部にまで拡大し、登上線維の支配テリトリーと重複していました(図2右)。このような GLAST 欠損マウスの表現型は、生後早期の幼若な野生型マウスでも観察されることから、発達期に GLAST の分子機能が発現することで神経支配とグリア被覆の成熟が促進されることが分かります。

GLAST 欠損マウスと同様の表現型は、4週令の野生型マウス小脳にグルタミン酸輸送体選択的阻害剤 PMB-TBOA を投与することで再現されました。成熟型の神経支配とグリア被覆は生後第3週までに完成することを考慮すれば、一度成熟した神経支配とグリア被覆のその後の維持にも GLAST の分子機能が不可欠であることが導き出されます。

小脳には脳全体の半分以上のニューロンが集まり、シナプスが高密度に形成されています。高密度の回路網は、精緻な運動制御のためのコンピューター素子のように機能していると考えられています。このような回路素子が混線せずに正確な情報処理を行うためには、それぞれのシナプスで放出されるグルタミン酸を効率的に除去し、グルタミン酸漏出による近隣シナプス間のクロストーク^{*7}を防止することが不可欠です。今回の研究成果は、GLAST はグルタミン酸除去機能により近隣シナプス間の機能的絶縁を行うと同時に、グリア突起の被覆を促進することで構造的な絶縁にも関与しており、これによりシナプス間のクロストークを効果的に防止していることを示唆しています。

(今後への期待)

発達過程で進行するシナプス回路の改築には、優勢なシナプスが強化されて残り、劣勢なシナプスが除去される「シナプスの刈込み^{*8}」と、優勢な入力線維の支配領域が拡大し相対的に劣勢な入力線維のそれが縮小する「シナプス回路の可塑性^{*8}」の2つの改築がほぼ同時に進行します。どちらにもグルタミン酸による神経伝達が深く関わっており、今回の研究を通してグルタミン酸受容体とグルタミン酸輸送体が協同してシナプス回路改築を制御していることが解明されました。

お問い合わせ先

北海道大学大学院医学研究院 教授 渡辺 雅彦 (わたなべ まさひこ)

TEL : 011-706-5032 FAX : 011-706-5031 E-mail : watamasa@med.hokudai.ac.jp

ホームページ : <https://aande.hokkaido.university/>

[参考図]

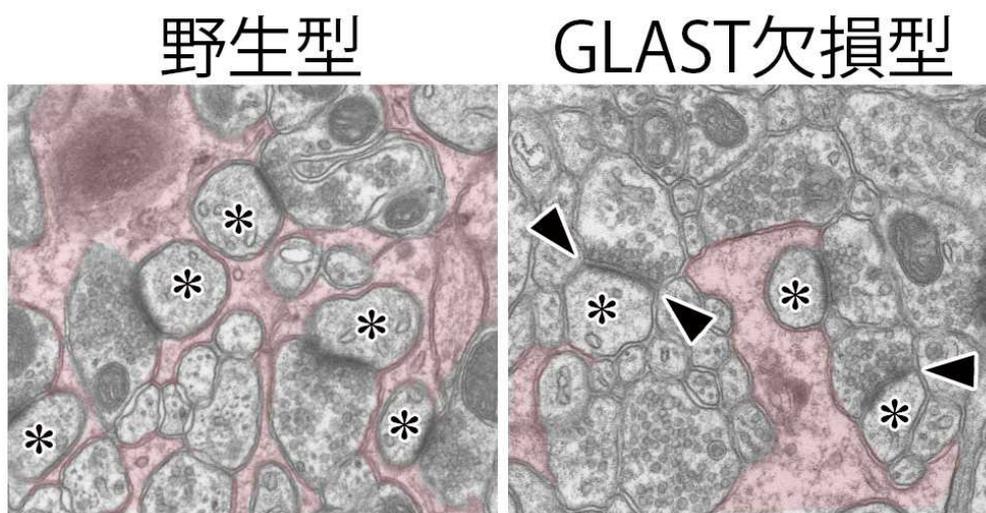


図1 野生型マウスと GLAST 欠損マウスにおけるバーグマングリア被覆の表現型。灰色の部分は平行線維シナプス，薄いピンクはバーグマングリア，*が付いた細胞はプルキンエ細胞のスパインを表す。野生型では，シナプスの接着部位を除いた樹状突起やシナプスの表面は，バーグマングリアの細胞突起が完全に被覆していることが分かる。また，GLAST 欠損型ではグリア突起による被覆が不全で，シナプス間隙がグリア突起により閉鎖されずに開放系となり，近隣のシナプスに放出されたグルタミン酸が漏出していることが読み取れる（矢頭部）。

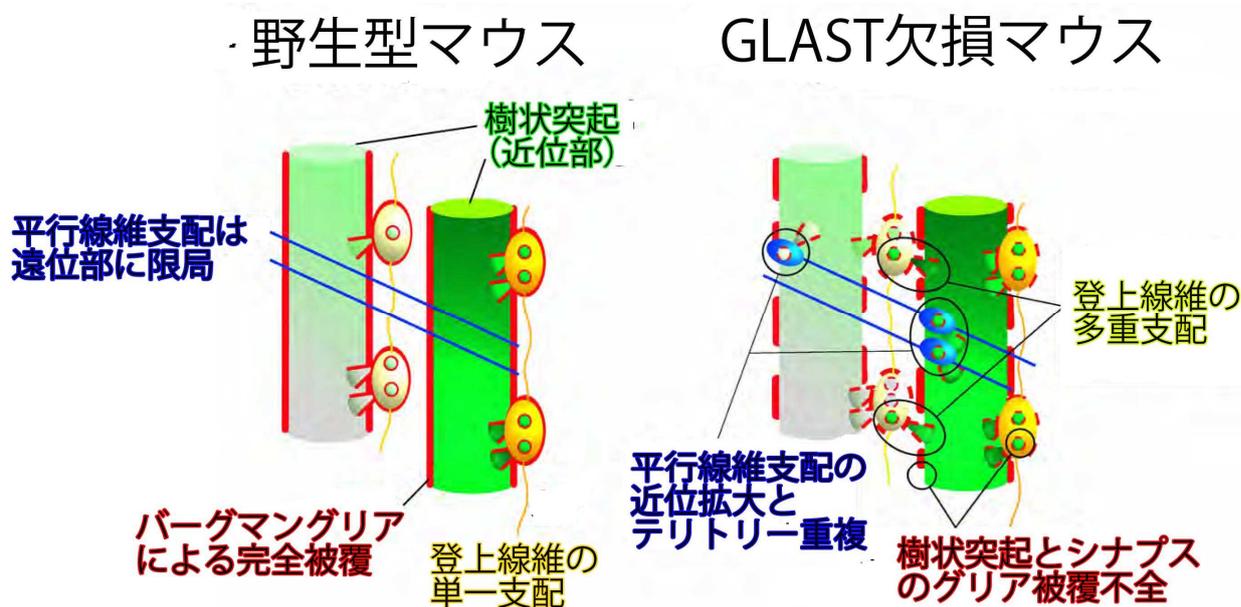


図2 野生型マウスと GLAST 欠損マウスにおけるプルキンエ細胞シナプスの表現型。黄色の上行線維は登上線維，青の横走線維は平行線維，緑色の円柱は樹状突起の近位部，赤い線はバーグマングリアの覆いを表す。野生型マウスでは，近位部を登上線維が単一支配し，遠位部を平行線維が支配していることが分かる。一方，GLAST 欠損マウスの近位部では，複数の登上線維が異所性支配を頻繁に行い，重篤な多重支配になっている。また，本来は樹状突起の遠位部に限局すべき平行線維シナプスも樹状突起の近位部にまで拡大し，登上線維の支配テリトリーと重複している。

[用語解説]

* 1. シナプス

動物の脳は、電気信号を発生して情報をやりとりするニューロンという特殊な細胞が集まって構成されている。ニューロンの軸索末端のこぶ状に膨らんだ部分を終末部とよび、次のニューロンの樹状突起やスパインと、シナプスとよばれる情報伝達のための接点を形成している。

ただし、シナプスは、次のニューロンと密着しているのではなく、その間には数万分の1mmのすき間がある。このすき間のことを、シナプス間隙^{かんげき}という。軸索を伝わってきた電気信号は、シナプス間隙を飛び越えることができないため、電気信号を一度グルタミン酸などの化学物質の放出に変えることで、次のニューロンに情報を伝達できる。

* 2. グルタミン酸受容体

グルタミン酸受容体とは、脳内のグルタミン酸を感知し、情報として利用できるように変換する仕組みを持った分子のことであり、シナプスにおける情報伝達やシナプスの回路発達（刈込みと回路可塑性、用語解説8）に関与する。

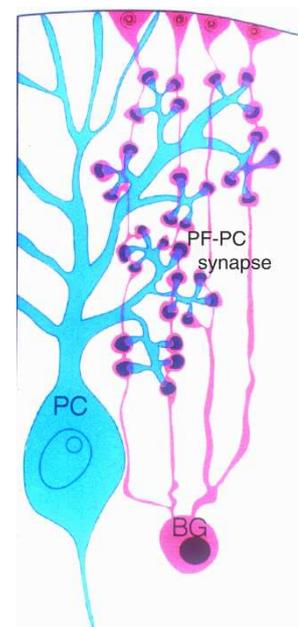
* 3. グルタミン酸輸送体（グルタミン酸トランスポーター）

グルタミン酸輸送体は、細胞膜を挟んで形成されている Na イオンの電気化学ポテンシャルを利用して、グルタミン酸を細胞外から細胞内へ輸送する。シナプス間隙に放出されたグルタミン酸は、主にシナプスを被覆するアストロサイト細胞膜上のグルタミン酸輸送体で除去され、一部はシナプス後部のニューロン細胞膜上の輸送体で除去される。GLAST はアストロサイトに発現する輸送体で、特に小脳のバグマングリアに豊富に発現する。

* 4. バグマングリアとプルキンエ細胞

バグマングリアは小脳プルキンエ細胞に付随するアストロサイトで、プルキンエ細胞の細胞体・樹状突起・シナプスに強い構造親和性を有する（右図の赤い細胞）。ほとんどすべてのプルキンエ細胞シナプスのシナプス間隙はこのグリア突起により閉鎖されるため、強く反復して放出される場合を除いてグルタミン酸の漏出は起こりにくいと考えられる。

プルキンエ細胞は小脳の神経情報処理系における中心的なニューロンである（右図の青い細胞）。運動司令に関する神経情報と、運動を行った結果生じる感覚情報を受け取り、そのズレを最小化することで、目的に沿った器用で精緻な運動機能に関与する。



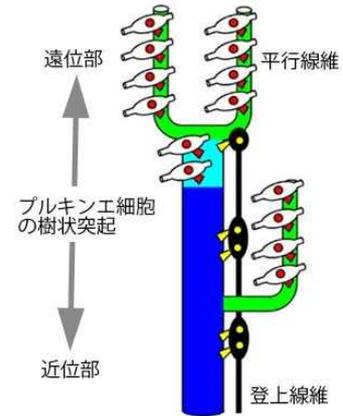
* 5. 表現型

ある生物のもつ遺伝子型が形質として表現されたもの。ある個体を示す形質はその個体の遺伝子によって決まるが、ある遺伝子を持っていてもそれが劣性であれば、表現型に現れないことがある。即ち、どのような遺伝子を持っているかと、その個体がどのような形質を示すかとは同じではないため、その個体が実際に見せている形質を表現型といい、遺伝子型と区別する。

* 6. 平行線維と登上線維

どちらもグルタミン酸を伝達物質とするプルキンエ細胞への興奮性入力である。平行線維（図の白い部分）は、脳幹や脊髄に由来する運動司令に関する神経情報と、運動を行った結果生じる感覚情報を受け取り、これをプルキンエ細胞の樹状突起遠位部に伝える。

登上線維（図の黒部分）は運動の目的と結果のズレを「誤差信号」として、プルキンエ細胞の樹状突起近位部に届ける。その強い神経活動性は、誤った運動の目的と結果の誤差を修正し、目的に沿った円滑で器用な運動の実現を導くと考えられている。



* 7. グルタミン酸漏出とクロストーク

グルタミン酸輸送体による細胞外グルタミン酸の取込み（除去）は、そのグルタミン酸を放出したシナプス外へのグルタミン酸漏出を抑制する。グルタミン酸の除去は、グルタミン酸伝達を早く終了させ、グルタミン酸による興奮毒性を抑えることに寄与する。グルタミン酸漏出を抑制することは、近隣のシナプスやニューロンへの異所的伝達（クロストーク。電話の混線のようなもの）を抑え、正しい情報の伝達と処理が可能になる。

* 8. シナプスの刈込みと回路可塑性

シナプスの数や密度は生後早期において爆発的な増加を遂げた後に、使われたシナプスは強化されて維持される一方、使われなかったシナプスや活動性の弱いシナプスは除去される。この過程をシナプスの刈込みとよび、幼少期（臨界期、敏感期）に効率的に起こる

一方、活動性の高い入力線維はその投射領域を拡大させ、近隣の相対的に活動性の低い入力線維の投射領域を縮小させる。この神経回路の可塑性は臨界期とよばれる生後早期に起こりやすく臨界期可塑性とよばれる。例えば、幼少期に母国語を習得しやすく、器楽演奏やスポーツ技能の目覚ましい上達や向上が可能となるのは、刈込みと可塑性によるシナプス改築によるものである。

