

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	ショウジョウバエ視覚系におけるシナプス可塑性と形成の制御機構
Title(English)	The mechanism of synaptic plasticity and formation in the Drosophila visual system
著者(和文)	川村ひなた
Author(English)	Hinata Kawamura
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第11896号, 授与年月日:2021年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:鈴木 崇之,木村 宏,中戸川 仁,廣田 順二,増田 真二
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第11896号, Conferred date:2021/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	論文要旨
Type(English)	Summary

論文要旨

THESIS SUMMARY

系・コース： Department of, Graduate major in	生命理工学 生命理工学	系 コース	申請学位 (専攻分野)： Academic Degree Requested	博士 Doctor of	(理学)
学生氏名： Student's Name	川村ひなた		指導教員 (主)： Academic Supervisor(main)	鈴木 崇之	
			指導教員 (副)： Academic Supervisor(sub)		

要旨 (和文 2000 字程度)

Thesis Summary (approx.2000 Japanese Characters)

【背景】

神経細胞間のシナプスの形成と再編成は、脳の発達に伴い神経回路が作られる際や記憶学習の際に起こる重要なステップである。これまでに、Nrx, Nlg, Eph 等のシナプス形成分子が同定されてきたが、さらなる数のシナプス形成分子が必要であると考えられている。また、シナプスの可逆的な構造変化は「シナプスの可塑性」と呼ばれ、学習や記憶に不可欠な機構である。我々はこれまでに、ショウジョウバエの視神経系において、新たに開発された分子マーカーを利用して従来電子顕微鏡でしか観察できなかったシナプスを、コンフォーカル顕微鏡で点として認識し、定量することに成功した。我々の先行研究で、異なる光環境下における視神経細胞 R8 のシナプス数を定量的に解析したところ、72 時間暗状態(DD)および 72 時間通常状態(LD : 12 時間明暗サイクル)と比べ、24 時間明状態(LL)ではシナプス数の減少が見られ、72 時間 LL では減少が顕著に見られた。また、このシナプス数の変動は可逆的であった。さらなる解析により、シナプス数の変動は神経活動依存的であり、また、分岐型 Wnt 経路が制御していることが明らかとなった (Sugie et al., 2015)。Wnt ファミリーに属する Wingless(Wg)が主にこの分岐型 Wnt 経路に寄与しているが、Wg がシナプス可塑性に果たしている作用機序は全くわかっていなかった。

【結果】

我々は初めに、細胞特異的に Wg をノックアウトできるシステムを用いることによって、視神経細胞のシナプス可塑性を制御している Wg を分泌している細胞がグリア細胞であることを明らかにした。次に、神経活動依存的に Wg の局在がどのように変化するかを抗 Wg 抗体を用いて観察したところ、暗条件においてはグリア細胞付近に局在が見られ、明条件においては視神経細胞内部に強い局在が見られた。遺伝学的手法を用いることによって、この視神経細胞内部への Wg の局在は、神経活動依存的なエンドサイトーシスによるものであることが明らかとなった。さらには、シナプスの再編成を制御している分岐型 Wnt 経路が Wg の視神経細胞内への局在に対して負の制御を行っていることが遺伝学的手法によって明らかとなった。

この実験と並行して、新規シナプス形成分子の同定を行なった。我々の先行研究でシナプス可塑性制御分子として同定された遺伝子 CG34370 がその表現型からシナプス形成分子として働いているのではないかと考え、CG34370 変異体におけるシナプス数を観察したところ、コントロールと比べ約 40%減少していた。“シナプス(点)が足りない”という表現型から *tentarazu* (*ttz*)という遺伝子名をつけた。また、*ttz* に加え、*loaf* という遺伝子の変異体においてもシナプス数の減少が見られた。*ttz*, *loaf* とともに CUB ドメイン、LDLa ドメイン、膜貫通ドメインを有していたが、レスキュー実験によって CUB ドメインが正常なシナプス形成に必要であることが明らかとなった。また、*ttz* および *loaf* の下流のシグナルの探索を行なったところ、シナプス形成に重要な経路である、Lar-Liprin α -Syd1-Trio 経路が関係している可能性が見られた。

【考察】

今回我々は、グリア細胞から分泌された Wg が神経活動依存的なエンドサイトーシスによって、神経細胞へと取り込まれることを明らかにした。また、Wg シグナルはこのエンドサイトーシスを抑制していることが示唆された。これらの結果から、連続したエンドサイトーシスにより細胞外間隙における Wg 濃度の低下がおき、これによりエンドサイトーシスがさらに促進され、Wg シグナルが加速度的に低下することでシナプスの解体が起きるといふ全く新しいシナプス可塑性の制御機構が考えられる。

また、今回我々が発見した新規シナプス形成分子である *ttz* と *loaf* は CUB ドメインを介して Lar-Liprin α -Syd1-Trio 経路に関与していることが考えられる。

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note : Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).

論文要旨

THESIS SUMMARY

系・コース : Department of, Graduate major in	生命理工学 生命理工学	系 コース	申請学位 (専攻分野) : Academic Degree Requested	博士 Doctor of	(理学)
学生氏名 : Student's Name	川村ひなた		指導教員 (主) : Academic Supervisor(main)	鈴木崇之	
			指導教員 (副) : Academic Supervisor(sub)		

要旨 (英文 300 語程度)

Thesis Summary (approx.300 English Words)

Neural activity contributes to synaptic regulation in sensory systems, which allows organisms to adjust to changing environments. However, little is known about how synaptic molecular components are regulated to achieve activity-dependent plasticity at central synapses. Previous studies have shown that following prolonged exposure to natural ambient light, the presynaptic active zone (AZ), an area associated with presynaptic neurotransmitter release in *Drosophila* photoreceptors, undergoes reversible remodeling. Other studies suggest that the secretory protein Wingless (Wg; an ortholog of Wnt-1) can mediate communication between synaptic cells to achieve synaptic remodeling. However, the source of Wg and the mechanism of Wg signal modulation by neuronal activity remained unclear. Here, we found that Wg secreted from glial cells regulates synaptic remodeling in photoreceptors. In addition, antibody staining revealed that Wg changes its localization depending on light conditions. Although Wg is secreted from glial cells, Wg appeared inside photoreceptor axons when flies were kept under light conditions, suggesting that an increase in neuronal activity causes Wg internalization into photoreceptors by endocytosis. Indeed, by blocking endocytosis in photoreceptors, the localization of Wg in photoreceptors disappeared. Interestingly, Wg accumulation was higher in axons with disassembled AZ structure than in axons whose AZ structure was stabilized at the single-cell level, indicating that Wg endocytosis may trigger AZ disassembly. Furthermore, when we genetically activated Wg signaling, Wg accumulation in photoreceptors decreased. Conversely, when we suppressed Wg signaling there was an increase in Wg accumulation. Through RNAi screening of Ca²⁺-binding proteins in photoreceptors, we found that Calcineurin is a key molecule that triggers Wg endocytosis. Overall, we propose that Wg signaling is regulated by a negative feedback loop driven by Wg endocytosis. The increase in neuronal activity is transmitted via calcium signaling, which leads to a decrease in Wg signaling and thereby promotes presynaptic remodeling.

In addition to the study of synaptic plasticity, we also searched for novel synaptic formation molecules by visualizing AZ in R7. We identified two novel synaptic formation molecules, *ttz* and *loaf*. In the *ttz* mutant fly and *loaf* mutant fly, the number of synapses in photoreceptor R7 was reduced by 40% compared to control fly. Surprisingly, the number of synapses was reduced by 80% in the *ttz* and *loaf* double mutant fly. *ttz* and *loaf* are both single transmembrane proteins with CUB and LDLa domains, however, our results indicate that the CUB domain is particularly involved in synapse formation. We searched for the downstream of *ttz* and *loaf*, and found that the Lar-Liprina-Syd1-Trio pathway has an interaction with *ttz* and *loaf*. We concluded that the new synapse formation molecules *ttz* and *loaf* work cooperatively with other molecules such as Lar to regulate the synapse formation.

備考 : 論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note : Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意 : 論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).