

発達期のフェレット外側膝状体における時間特異的および  
細胞種特異的な遺伝子発現

Cell type- and differentiation-specific gene expression in the ferret lateral geniculate nucleus  
during visual system development

指導教員 河崎洋志 特任准教授

東京大学大学院医学系研究科 平成 19 年 4 月進学

医学博士課程 脳神経医学専攻

岩井玲奈

眼球の網膜神経節細胞 (retinal ganglion cell、RGC) から視床の背側外側膝状体 (lateral geniculate nucleus、LGN) へと至る神経回路は、視覚情報処理基盤を理解するために重要であるのみならず、精緻な神経回路形成のモデル系としても広く用いられている。しかしながら従来の網膜LGN神経回路の形成メカニズムの研究では、以下の2点の解析が遅れていた。第一には、網膜自発発火などプレシナプス側に相当するRGCの機能的な重要性は広く検討されてきたが、ポストシナプス側にあたるLGN神経細胞の分化過程や回路形成における重要性についてはあまり解析が進んでいなかった。第二には、視覚系の発達があまり良くないマウスを用いた分子生物学的解析が多くなされてきたために、M (magnocellular) 細胞/P (parvocellular) 細胞などマウスでは解析が困難な細胞群の分化過程については分子生物学的解析が進んでいなかった。そこで本研究では、視覚神経系の発達した食肉哺乳動物フェレットを利用し、特にLGNに発現する分子に焦点を絞った解析を行い以下の結果を得た。

1) フェレットおよびサルLGNにおいてP細胞に選択的に発現する転写因子FoxP2の同定

視覚神経系の発達したサルやフェレットでは、LGN神経細胞は視覚情報の特性に応じて特徴的な応答を示すM/P/K (koniocellular) 細胞(フェレットでは、それぞれY/X/W細胞に対応)へ分化している(図1)。これらの細胞種は視覚情報処理に重要だと考えられていることから分化過程の解析が精力的に行われ、M細胞に選択的に発現する遺伝子

はいくつか単離されているが、P細胞に選択的に発現する遺伝子は見出されていなかった。

当研究室ではLGNに発現する遺伝子情報の蓄積がなされてきたが、私はその中で、転写因子FoxP2の発現パターンが非常に面白いことに気付いた(図2)。従来の電気生理学的解析により、フェレットLGNの中でX細胞はLGN内側2/3を占めるA層およびA1層に偏在することが知られていたが、FoxP2はまさにその内側2/3に選択的に分布していたのである。FoxP2陽性細胞の分子的特性および形態的特性を、免疫染色法および*in situ* hybridization法を用いて検討したところ、FoxP2陽性細胞は、Y細胞マーカー陰性であり細胞体サイズが小さいというX細胞の特徴を有していた。次に、サルLGNを用いて検討したところ、FoxP2陽性細胞の分布はP細胞層に選択的であった。これらの結果は、FoxP2陽性細胞が種を越えてP細胞(X細胞)に対応する可能性を強く示唆している。従来、LGNにおいてP細胞(X細胞)に選択的に発現する遺伝子は見出されておらず、この

FoxP2が初めてである。また、発達過程のフェレットLGNにおけるFoxP2発現を検討したところ、FoxP2はこれまでに知られているX細胞の形態的、生理的な分化時期よりも早期に発現が始まっていた(図3)。今後の検討課題として、FoxP2がLGNのX細胞の分化決定因子であるかは非常に興味深い。

図1. LGN神経細胞タイプ

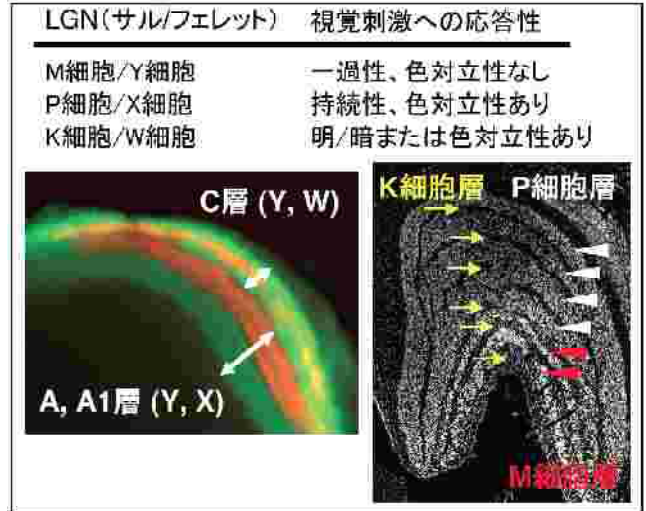


図2. P細胞/X細胞に選択的なFoxP2発現

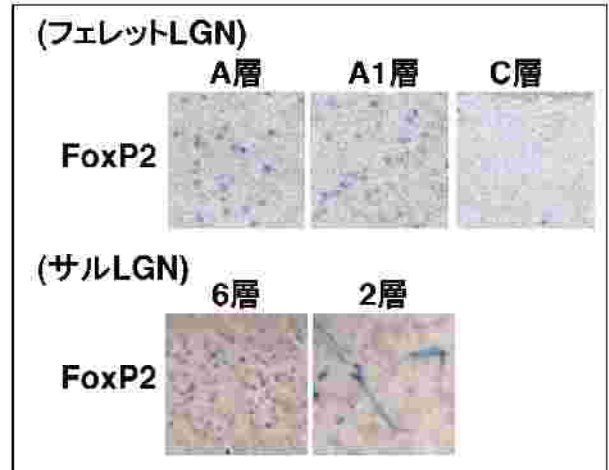
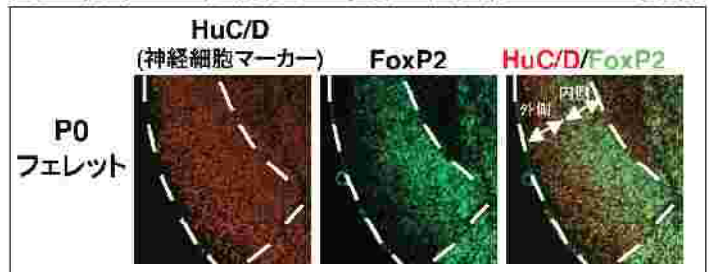


図3. 従来のX細胞分化時期より早期のFoxP2発現



## 2 )LGN分化マーカーを用いた眼特異的軸索投射形成とLGN分化過程の関連解析

左右の眼球からLGNに到達したRGC軸索は、発達過程の進行に伴い左右の軸索ごとに分離しLGN内の異なる領域に分布する(眼特異的軸索投射, 図4)。従来、眼特異的軸索投射の形成には、網膜自発発火 (retinal waves)によるRGC軸索の神経活動依存的な競合が重要と考えられてきたが、他の可能性も指摘されていた(図5)。即ち、網膜自発発火を抑制した際には、LGN細胞の分化過程が進行せず発達過程の未成熟状態で停止しているために、網膜LGN軸索投射も未成熟な状態で停止しているという可能性である。後者の可能性が指摘されていながら、これまで未検討である主な理由には、眼特異的軸索分離時期のLGN細胞の分化段階を示す分化マーカーが見出されていなかったことが大きい。そこで本研究では、まずLGNの分化マーカーの単離を行い、上記の可能性を検討した。

当研究室に蓄積されていた遺伝子発現情報を探索した結果、私はLGN神経細胞において *PCP4*, *TCF7L2*, *Lhx9*の発現量が眼特異的軸索分離の進行とともに変化することを見出した(図6)。そこで *PCP4*, *TCF7L2*, *Lhx9*の発現量を指標として、網膜自発発火抑制がLGN分化過程の進行を阻害するか検討した。ニコチン性アセチルコリン作動薬epibatidine、もしくはmonoamine oxidase A阻害剤clorgyline投与のいずれにおいてもRGC軸索の眼特異的軸索投射は阻害されたが、

図4. 眼特異的軸索投射

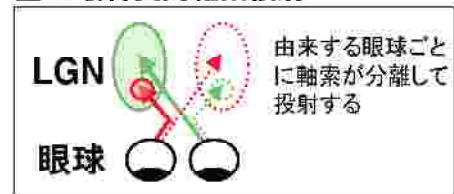


図5. 眼特異的軸索分離阻害時の未検討要因: LGN分化過程の阻害が原因か?

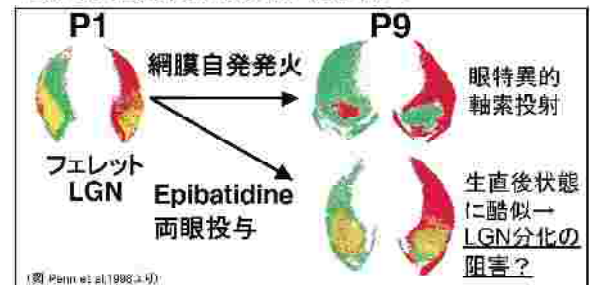


図6. 眼特異的軸索分離時期にフェレットLGN内で発現変化する分子

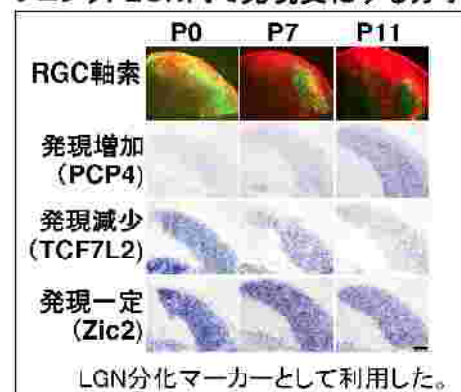
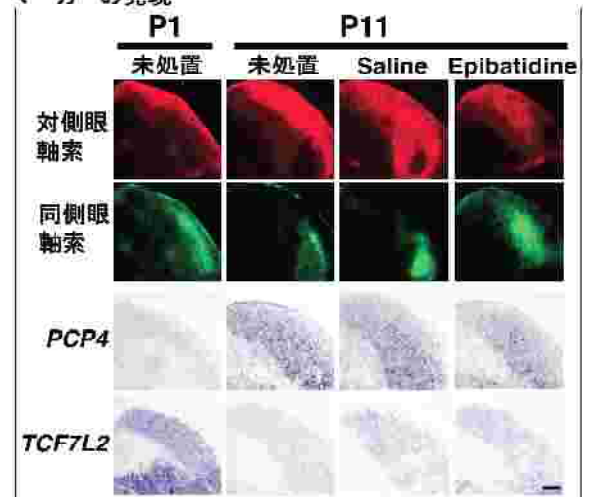


図7. 眼特異的軸索分離阻害時にも維持された分化マーカーの発現



*PCP4*, *TCF7L2*, *Lhx9*の発現量変化は影響を受けなかった (図7)。これらの結果から、*epibatidine*や*clorgyline*処理条件下でもLGN分化が完全に停止している可能性は低く、従って、*epibatidine*や*clorgyline*の眼特異的軸索投射の阻害効果は、LGN分化過程の停止による二次的結果である可能性は低いことが示唆された。

本研究では、サル、フェレットおよびマウスを組み合わせることにより、LGNにおける時間的、空間的に特異的に発現する遺伝子の単離を行った。さらにこれらの遺伝子をマーカーとして用いることにより、視覚神経系形成メカニズムに関する解析を行った。これらの結果はサル、フェレットおよびマウスのそれぞれの特性を組み合わせた研究の有用性を示唆している。