

古川 貴久

大阪大学蛋白質研究所  
教授

網膜神経回路のシナプス形成と生理機能発現の解析

## § 1. 研究実施体制

### (1)「古川」グループ

- ① 研究代表者:古川 貴久(大阪大学蛋白質研究所、教授)
- ② 研究項目
  - 1) 網膜におけるシナプス形成の分子基盤解明
  - 2) 網膜組織培養系を用いた新規なシナプス形成因子のスクリーニング
  - 3) 網膜神経回路の解析

### (2)「立花」グループ

- ① 主たる共同研究者:立花 政夫(東京大学大学院人文社会系研究科、教授)
- ② 研究項目
  - ・網膜神経回路の電気生理学的解析
  - 1) 動きを検出する神経回路網の解析
  - 2) 網膜神経節細胞における周辺効果の解析

## § 2. 研究実施の概要

脊椎動物の網膜は、胎生期の脳の一部が膨出して形成される組織で、発生学的に中枢神経系の組織である。光情報を視細胞で受容し、視神経を通じて脳に伝える一方向性のシンプルなシステムであることや、神経細胞の種類と機能の関連が明確であることから、中枢神経系発生研究の良いモデル系として知られている。私たちは網膜に注目し、分子生物学、組織学、生体工学、神経生理学的解析法を用いて、視細胞を中心に網膜の成り立ちと機能メカニズムといった面から研究を推進している。

近年、様々な神経精神疾患の原因として、神経結合(シナプス)の異常が重要な役割を果たしていると考えられている。網膜や脳における回路形成のメカニズム解明は神経科学ならびに医学領域の重要な問題の一つである。古川グループは CREST プロジェクトにおいて、網膜神経細胞をモデルとして中枢神経系シナプス形成に関与する新規遺伝子の探索を行っている。具体的には、蛋白質の構造ならびに実験的手法により遺伝子を選別し、候補となった遺伝子についてその発現や機能解析を生体レベルで進めている。また、網膜は発生段階を経るにしたがって整然とした多層構造と正確な神経回路網が構築される。この層構造のなかで、網膜神経細胞のシナプス結合は外網状層と内網状層とよばれる二つの層でのみ形成され、遺伝的プログラムでシナプスの場所が一定に決まっている。なぜ網膜全体にわたって一定の場所でシナプスが正確に形成されるのか、その分子メカニズムや生理的意義についてはほとんど明らかにされていなかった。私たちは視細胞のシナプスが正確な位置で形成されるためには、細胞骨格と膜小胞輸送システムが必須の役割を果たすことを明らかにした。さらに、シナプスの位置が異常になると視力が低下することを見出した。これらの結果から、神経回路ではシナプス結合パターンだけでなく、正確なシナプス結合の配置も正常な神経機能の発揮に重要であることが明らかとなった。さらに、網膜だけでなく、海馬や小脳、嗅球を含む脳の発生においても一定の場所でシナプスが形成されることが知られており、脳においてもシナプスの形成場所が機能と関連している可能性が示唆された。

立花グループは、網膜における「動きの検出」や「受容野外への光刺激による周辺効果の生成」などに関与する神経回路を明らかにするために、野生型および変異マウス・ラットの網膜やキンギョの網膜に平面型マルチ電極法や細胞に電極を刺して、神経節細胞における光応答の発生機構を電気生理学的に解析している。その結果、1)ラット網膜の ON 型方向選択性神経節細胞は、網膜内に軸索をのぼしナトリウムスパイクを発生するアマクリン細胞から抑制性シナプス入力を受け取っていることが示唆された。また、2)眼球運動下で揺動する非静止的な画像情報を網膜神経節細胞群がどのように符号化しているのかを明らかにするために、キンギョ網膜に眼球運動を模した動的な光刺激パターンを提示し、複数の神経節細胞からのスパイク発火をマルチ電極で記録したところ、動きの予測を行う神経節細胞サブタイプを見いだした。これらの結果から、高次視覚皮質で行われると考えられていた複雑な視覚情報処理が、既に網膜でかなりの程度行われていることが明らかとなった。

### § 3. 成果発表等

#### (3-1) 原著論文発表

##### 論文詳細情報

1. Watanabe S, Sanuki R, Ueno S, Koyasu T, Hasegawa T, Furukawa T. (2013) Tropisms of AAV for subretinal delivery to the neonatal mouse retina and its application for in vivo rescue of developmental photoreceptor disorders. *PLoS One* 8: e54146. (DOI: 10.1371/journal.pone.0054146)
2. Tanaka M, Tachibana M. (2013) Independent control of reciprocal and lateral inhibition at the axon terminal of retinal bipolar cells. *J Physiol* 591: 3833-3851. (DOI: 10.1113/jphysiol.2013.253179)
3. Sugita Y, Miura K, Araki F, Furukawa T, Kawano K. (2013) Contributions of retinal direction-selective ganglion cells to optokinetic responses in mice. *Eur J Neurosci* 38: 2823-2831. (DOI: 10.1111/ejn.12284.)
4. Eberhart A, Feodorava Y, Song C, Wanner G, Kiseleva E, Hake S, Furukawa T, Kimura H, Schotta G, Leonhardt H, Joffe B, Solovei I. (2013) Epigenetics of eu- and heterochromatin in inverted and conventional nuclei. *Chromosome Res* 20: 535-554. (DOI: 10.1007/s10577-013-9375-7.)
5. Kanda A, Noda K, Yuki K, Ozawa Y, Furukawa T, Ichihara A, Ishida S. (2013) Atp6ap2/ (Pro)renin receptor interacts with Par3 as a cell polarity determinant required for laminar formation during retinal development in mice. *J Neurosci* 33: 19341-19351. (DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1362-13.2013.)
6. Yamazaki D, Funato Y, Miura J, Sato S, Toyosawa S, Furutani K, Kurachi Y, Omori Y, Furukawa T, Tsuda T, Kuwabata S, Mizukami S, Kikuchi K, Miki H. (2013) Basolateral Mg<sup>2+</sup> Extrusion via CNNM4 Mediates Transcellular Mg<sup>2+</sup> Transport across Epithelia: A Mouse Model. *PLoS Gene* 9: e1003983. (DOI: 10.1371/journal.pgen.1003983.)
7. Iida A, Iwagawa T, Kuribayashi H, Satoh S, Mochizuki Y, Baba Y, Nakauchi H, Furukawa T, Koseki H, Murakami A, Watanabe S. (2014) Histone demethylase Jmjd3 is required for the development of subsets of retinal bipolar cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 111: 3751-3756. (DOI: 10.1073/pnas.1311480111.)
8. Alves CH, Pellissier LP, Vos RM, Garcia Garrido M, Sothilingam V, Seide C, Beck SC, Klooster J, Furukawa T, Flannery JG, Verhaagen J, Seeliger MW, Wijnholds J. (2014) Targeted ablation of Crb2 in Photoreceptor Cells induces Retinitis Pigmentosa. *Hum Mol Genet* (in press).