

令和 6 年 4 月 5 日現在

機関番号：21601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K06756

研究課題名(和文) 無意識の視覚の解剖発生学的な成立機序

研究課題名(英文) Developmental basis of extra-geniculate visual pathway

研究代表者

渡邊 裕二 (Watanabe, Yuji)

福島県立医科大学・医学部・講師

研究者番号：80301042

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：ヒトが持つ2つの視覚経路のうち、視野のどこに対象物があるかを素早く同定するための膝状体外系は、無意識の視覚として知られる。鳥類での膝状体外系は視蓋と円形核を経由する経路で、視覚認識全般を担う。本研究ではニワトリ胚の視蓋を接線方向に移動する細胞がSGCニューロンに神経分化し、成熟して広大な樹状突起と円形核への軸索を発達させることを証明した。またVSVウイルスによる経シナプス神経回路標識によりSGCニューロンが視蓋-円形核投射を形成して膝状体外系を構成することを示した。これらの結果から発生視蓋での接線方向移動がSGCニューロンを配置して膝状体外系を形成するために重要であることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で膝状体外系の視覚経路形成や進化に関する解剖発生学的な基盤を確立することにより、これを土台に特定の視覚経路での遺伝子操作や生理学的解析を組み合わせ、無意識の視覚のさらなる機能的解析が可能となる。

研究成果の概要(英文)：In humans, the extra-geniculate visual pathway from the retina transfers toward the associated visual cortex via superior colliculus and pulvinar to pursuit eye movement for tracking moving objects. In birds, this pathway carries both image recognition and visual movement, which is called tectofugal pathway via tectum and the nucleus rotundus. In this study, we demonstrated that the tangentially migrating cells in the developing chick optic tectum differentiate into SGC neurons in tectal layer 13, which have large dendritic fields and send an axon to the nucleus rotundus. Using recombinant vesicular stomatitis virus, we trans-synaptically labelled retino-tectal and tecto-rodental projections constituting chick tectofugal visual pathway, and showed that SGC neurons comprise tectofugal visual pathway. These results suggest that tangential migration in early optic tectum is the key developmental process for arranging SGC neurons to form tectofugal visual pathway eventually.

研究分野：神経発生学

キーワード：発生 脳 神経 視覚 細胞移動 神経分化 回路形成 視蓋

1. 研究開始当初の背景

ヒトは2つの視覚経路を持つ。1つは通常の映像認識を担う膝状体系(geniculate pathway)で、網膜から視床の外側膝状体を経て大脳の1次視覚野へ中継する(図1 灰矢印)。もう1つが視野のどこに対象物があるかを同定して、視線を対象物に向けるための膝状体外系(extra-geniculate pathway)で、網膜から上丘、視床枕を経て高次視覚野へ至る(図1 黒矢印)。1次視覚野を損傷して前者の膝状体系の視覚経路が働かなくなると通常の視覚は失われるが(皮質盲)、後者の膝状体外系の働きにより、見えている意識はないのに障害物を避けて歩くことができる。この無意識の視覚は「盲視」として知られており、膝状体外系の視覚経路の存在を示している。2つの視覚経路は脊椎動物において進化的に保存されているが、ヒトを含む霊長類で膝状体系が主要な視覚経路であるのに対して、魚類・両生類・爬虫類・鳥類では膝状体外系が優位であり、霊長類以外の哺乳類では両方の経路が発達している。このことから系統発生的には膝状体外系が視覚経路のプロトタイプであり、膝状体系は霊長類において網膜中心窩での高解像の視覚とともに発達してきたと考えられている。このように膝状体外系は進化的に保存され、外界からの視覚情報の迅速な認知や空間的注意のための特別な役割をもっており、その成立機序を明らかにすることは、視覚回路の発達や進化を明らかにするために非常に重要である。

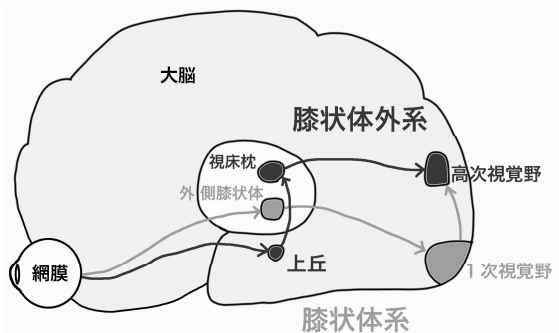


図1 2つの視覚経路 膝状体系と膝状体外系

2つの視覚経路の基本構造は、ヒトを含む哺乳類と鳥類の間で共通している(図2)。鳥類の膝状体外系は映像認識を含む主要な視覚経路としてよく発達しているため、神経回路の解析に適している。鳥類の膝状体外系は、網膜から視蓋、円形核を経由して外線条体に至る(図2 黒矢印)。この経路のうち、最初の網膜-視蓋投射(図2A)の形成については、トポグラフィックな視神経投射パターンの形成について詳細に調べられてきたのに対して、その先の視蓋-円形核投射(図2B)や円形核-外線条体投射(図2C)の形成については、未知な点が多い。特にそれぞれの経路を形成する投射ニューロンについては、その発生由来も明らかになっていない。

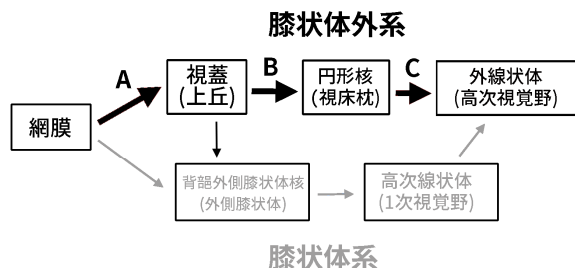


図2 鳥類の視覚経路 (カッコ内は哺乳類の相同領域)

申請者はこれまで、鳥類における発生期の視蓋の層形成について研究してきた。鳥類の視蓋は15層から成る発達した層構造を持ち、主に脳室層で生まれた細胞の放射状方向への移動と、その後の接線方向への細胞移動によって層が構築される。我々は視蓋の深層と浅層の両方で接線方向への細胞移動の動態を明らかにし、それらが視蓋全体への拡散を経て層形成に深く関与することを示してきた。深層を移動する細胞は視蓋全域に起源をもち、第14層(SAC層)を走る軸索束を足場として背側および腹側方向に接線移動した後、第13層(SGC層)に上方移行して多極性ニューロンに分化する(図3左 灰矢印)。このような大規模な接線方向

の細胞移動と神経分化

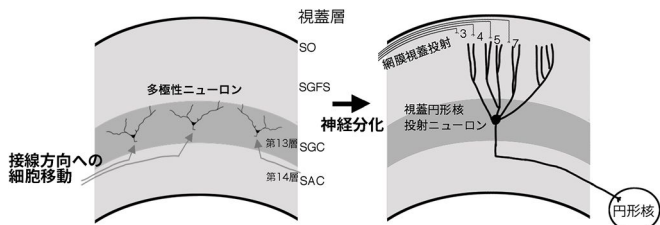


図3 視蓋での接線方向への細胞移動と神経分化

への神経細胞移動は、視蓋全体へ均等に神経細胞を分布させるためのしくみであると考えられるが、視覚神経回路形成の中での移動神経細胞の役割、ひいては細胞移動の生物学的意義については不明であった。申請者は接線方向移動後の多極性ニューロンの発生過程を追跡した結果、第13層での局在や樹状突起が広範囲に分枝する細胞形態が視蓋-円形核投射ニューロンに酷似することから、多極性ニューロン(図3左)が視蓋-円形核投射ニューロン(図3右)に分化することを見出した。このことから視蓋-円形核投射ニューロンは接線方向移動により視蓋全体に拡散し、網膜から直接シナプス結合して膝状体外系を形成する重要な役割を担っていると考えられる

2. 研究の目的

本研究では、発生過程で進行する膝状体外系視覚経路の形成過程を明らかにして、その解剖発生学的な成立機序を解明することを目的とする。特に視蓋-円形核投射の形成については、その発生由来から細胞移動、神経分化を経て投射ニューロンとして分化するまでの過程を追跡して解析する。

3. 研究の方法

発生中のニワトリE4.5日胚の視蓋の細胞をエレクトロポレーションによりGFPと核移行型mCherryで安定的に蛍光標識した後、半日おきに固定して視蓋中間層を接線方向に移動する細胞の位置、形態変化、神経分化と分化運命について調べた。次に展開培養片を共焦点タイムラプス撮影することにより、神経細胞移動と神経分化の動態について長時間にわたってライブイメージングを行った。最後に接線方向移動細胞から神経分化するSGC細胞をmCherryで赤色蛍光標識した後、網膜から緑色蛍光標識ウィルスベクター(VSV-Venus)を感染させて、膝状体外系視覚経路を経シナプス順行性標識して、二重標識により多極性ニューロンの視蓋-円形核投射ニューロンへの分化を検証した。

4. 研究成果

視蓋の中間層での接線方向への細胞移動の動態を固定切片、flat-mount培養およびスライス培養下で観察したところ、次に挙げる各段階を経て神経細胞へと分化する様子が見られた。

1. 先導突起と後続突起を持つ双極性細胞が軸索に沿っての接線方向移動する
2. 先導突起が斜め上方あるいは上方を向いて、細胞体がより上層へと移動する
3. 先導突起と後続突起が入れ替わり、細胞の移動方向が逆向きになる
4. 短時間で細胞移動は停止して動かなくなる
5. 細胞から将来の樹状突起となる複数の突起が伸長し、多極性細胞へ分化する
6. 最終的に視蓋第5層に広範囲に分布する特徴的な樹状突起をもつSGCニューロン(細胞体は視蓋第13層)へと成熟する。SGCニューロンは、神経細胞マーカーであるNeuNと転写因子Brn3aの発現を基準として同定することができた。

二重標識により多極性ニューロンの視蓋-円形核投射ニューロンへの分化を検証したところ、接線方向移動の後に神経分化した多極性ニューロン(赤色蛍光)のうち、膝状体外系視覚経路を構成する視蓋-円形核投射ニューロンに成熟するもの(赤色緑色二重蛍光)が多数存在した。このことから視蓋-円形核投射ニューロンは接線方向移動により視蓋全体に拡散し、網膜から直接シナプス結合して膝状体外系を形成する重要な役割を担っていることが明らかとなった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 Watanabe Yuji, Sakuma Chie, Yaginuma Hiroyuki	4. 巻 252
2. 論文標題 Tangentially migrating cells differentiate into stratum griseum central neurons to form tectofugal visual pathway in the developing chick optic tectum	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Developmental Dynamics	6. 最初と最後の頁 1096 ~ 1112
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/dvdy.572	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4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Yuji Watanabe, Chie Sakuma, Hiroyuki Yaginuma
2. 発表標題 Canonical Wnt signaling is required for layer formation of the developing avian optic tectum
3. 学会等名 第128回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 渡邊 裕二、佐久間 千恵、八木沼 洋行
2. 発表標題 The roles for Wnt signaling in the layer formation of developing avian optic tectum
3. 学会等名 第127回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 渡邊 裕二、佐久間 千恵、八木沼 洋行
2. 発表標題 ニワトリ視蓋層形成でのReelinシグナルの役割
3. 学会等名 第129回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 渡邊 裕二、佐久間 千恵、八木沼 洋行
2. 発表標題 視蓋の接線方向移動細胞による膝状体外系視覚経路の形成
3. 学会等名 日仏生物学会第195回例会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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