

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 4 月 20 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25430004

研究課題名(和文) 狂犬病ウイルスを用いた網膜神経節細胞と大脳視覚領域との多シナプス性構造基盤の解明

研究課題名(英文) Multisynaptic pathway from retinal ganglion cells to visual areas V4 and MT

## 研究代表者

澤村 裕正 (SAWAMURA, Hiromasa)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：70444081

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：逆行性神経トレーサーである狂犬病ウイルスを用いて網膜神経節細胞から大脳高次視覚野の腹側経路に位置するV4および背側経路に位置するMT/V5へ到達するための経路を検討した。マカクサル網膜フラットマウントに標識細胞が認められ、先行研究の結果と合わせ網膜とV4及びMT/V5とは、最も少ないシナプス数としてそれぞれ3次ニューロン結合、2次ニューロン結合で連絡をもっている可能性が考えられた。また病態生理からのアプローチとして色覚異常、立体視機能異常を含む高次視覚障害を呈した脳炎の臨床症例で網膜と高次視覚野との関連を検討し、網膜には影響がなかったことを報告した。

研究成果の概要(英文)：Employing retrograde transsynaptic transport of rabies virus, we analyzed the architecture of bottom-up pathways from retinal ganglion cells to ventral stream area V4 (visual area 4) and dorsal stream area MT /V5 (middle temporal area/visual area 5). Labeled cells were observed in retina. It was supposed that the connection from retinal ganglion cells to V4 or MT/V5 might have minimally trisynaptic or disynaptic manner, respectively. In addition, from the side of pathophysiology, we investigated the case of higher visual dysfunction of dyschromatopsia and lack of stereopsis due to the rare encephalitis and reported the relationship between retina and higher visual areas. The retina and macular were not damaged even if cortical visual areas were functionally damaged.

研究分野：神経眼科

キーワード：狂犬病ウイルス

### 1. 研究開始当初の背景

眼をインターフェースとして網膜から入った視覚情報は外側膝状体を経由し、大脳皮質後頭葉の一次視覚野 (V1) に到達し、V1 からさらに高次皮質視覚領域へと情報が送られ段階的・階層的な情報処理を受ける。その情報処理ネットワーク機構に関しては動物実験から様々な知見が得られており、物体の位置や動きの情報は頭頂葉へ (dorsal pathway: 背側経路)、物体の形や色の情報は側頭葉へ (ventral pathway: 腹側経路) 送られるという大きな枠組みが提唱されている (Ungerleider and Mishkin, 1982)。近年、形情報が背側経路でも処理され、奥行き情報が腹側経路でも処理されていることが明らかになり、背側経路は動作に対する視覚的誘導に、腹側経路は物体や風景の認知・分類に関連するという、従来の枠組みを発展させた説が提唱されている (Orban, 2008)。これらの枠組みで提唱されている腹側経路・背側経路は単シナプス性結合の解剖学的知見から既に網膜の神経節細胞の段階で分かれているとされており、神経節細胞の約 90% を

占める Midget, Parasol, Bistratified の各神経節細胞は外側膝状体の Parvocellular 層、Magnocellular 層、Koniocellular 層へ層々それぞれ投射し、その後腹側・背側腹側経路に投射するとされている (Nassi and Callaway, 2009)。しかしながら、網膜神経節細胞には上述した以外に少なくとも 10 以上の神経節細胞が知られており、少なくとも 7 種類が外側膝状体に投射していることが知られているものの、その機能や外側膝状体を越えた、より高次への投射先に関してはほとんど知見が得られていない (Field and Chichilnisky, 2007)。従来、皮質内・皮質下での解剖学的連絡を解析するためには蛍光色素を中心とした単シナプス性結合を持つ領域間の解析が主に行われ、それらの結果を基に視覚情報処理ネットワークの推定がなされてきた (Felleman and Van Essen, 1991)。しかしこの手法では領域 A と領域 B、領域 B と領域 C とが単シナプス結合している場合には領域 A と領域 C はシナプス介在性に結合している、という推定に基づいている。そのため領域 A と領域 C との結合に関しては確実性に欠け、存在しない経路を含む危険性を含むと同時に、領域 B に介在ニューロンがある場合もその検出は困難である。そのため情報処理ネットワークの構築を調べるには単シナプス性結合のみならず、多シナプス性結合も検討することが必須である。この 10 年間に狂犬病ウイルスを用いて越シナプス性にラベルされたニューロンを解析することにより、視覚情報処理ネットワークに関する多シナプス性情報伝達構造基盤の研究が行われ、多数の新しい知見が得られている。申請者もこれまでに背側経路に属する MT (Middle Temporal Area)、腹側経路に属する 4 次視覚野 (V4) へ前頭葉から

投射する多シナプス性トップダウン式情報伝達構造基盤を明らかにし (Ninomiya, Sawamura et al., 2012)、また外側膝状体、V1 から MT、V4 への多シナプス性の情報伝達構造基盤を明らかにしている (Ninomiya, Sawamura et al., 2011)。しかしながら、申請者らの知見を含め、他の報告もいずれも皮質内投射、外側膝状体あるいは上丘から皮質内視覚野への多シナプス性投射に関する知見であり、網膜神経節細胞から皮質内視覚野への多シナプス性投射に関しては未だ知見が得られていない。そこで網膜神経節細胞と皮質内視覚領域の解剖学的解明を目指して今回の研究を立案した。

### 2. 研究の目的

今回、マカクサルを実験動物とし、皮質の (高次) 視覚領域から網膜神経節細胞を多シナプス性に検討するという従来にはないアプローチを用いて網膜神経節細胞レベルでの背側経路・腹側経路の分離の程度及び網膜神経節細胞の皮質への投射先を調べ、Midget, Parasol, Bistratified の各細胞以外に存在する神経節細胞を含めた新しい解剖学的構造基盤の検討を行う。それにより視覚情報処理ネットワークの始まりである網膜神経節細胞から大脳皮質視覚領域への多シナプス性の背側経路・腹側経路を含む解剖学的構造基盤に関して新しい知見を得ようとするものである。

### 3. 研究の方法

大脳高次視覚野の V4 および MT/V5 内の、固視点右下方 5 度~20 度の受容野を持つ局所領域に狂犬病ウイルスが注入された眼球標本から網膜フラットマウントの作成を行い、網膜神経節細胞にラベルされた越シナプス性のニューロン連絡を神経解剖学的に解析した。1 部の標本ではコントロールの眼球と同様に、その元々の形状から丸まってしまうマカクサルの網膜を視神経乳頭部、黄斑部を中心に複数のパーツに分けた。左眼の標本で V4 を 2 眼、MT/V5 を 1 眼検討した。

### 4. 研究成果

フラットマウントでは黄斑中心窩の左上方に標識細胞が確認された (図 1、2)。それ以外の周辺部網膜には標識細胞は確認されなかつ



(図 1: MT/V5 へ狂犬病ウイルスが注入された網膜標本)



(図2：V4へ狂犬病ウイルスが注入された網膜標本の1例)

た。個体の還流・固定の時間からV4は3次ニューロン結合、MT/V5は2次ニューロン結合を持つ細胞が標識されると考えられ、先行研究の結果と合わせ網膜神経節細胞と高次視覚野であるV4およびMT/V5とは、最も少ないシナプス数としてそれぞれ3次ニューロン結合、2次ニューロン結合で連絡をもっている可能性が考えられた。今後先行研究で得られている外側膝状体、V1と比較することで定量的評価を行う。また、この網膜フラットマウントでは深さ方向の情報が得られないため、傍眼である右眼の標本を用いて、標識細胞が集積していると考えられる部位の薄切標本を用い、深さ方向の検討、および標識された細胞が網膜神経節細胞のどの種類に該当するのか等を検討する。以上の結果から、網膜神経節細胞から大脳高次視覚野に至る多シナプス性ニューロンネットワークに関して新しい知見を得ることで解剖学的神経基盤の一端の解明を目指す。

また、本研究と並行して病態生理からのアプローチとして網膜と視神経、及び高次視覚野との関連を臨床的に検討した。網膜と大脳皮質高次視覚領域との解剖学的関連をポジトロン断層法、網膜光干渉断層計を用いて評価を行い、稀な疾患である抗NMDA受容体脳炎の回復期に色覚障害、立体視喪失などの高次視覚障害が高次視覚中枢の機能低下によって生じた場合でも網膜・黄斑部の神経節細胞には影響が生じなかったこと、稀な全身合併症に附随した緑内障性視神経萎縮により生じた網膜神経節細胞の変化を報告した。

##### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計5件)

1) Sawamura H\*, Yamamoto T, Ohtomo R, Bannai T, Wakakura M, Tsuji S.

“Anti-NMDA receptor encephalitis associated with transient cerebral dyschromatopsia, prosopagnosia, and lack of stereopsis.”

J Neuroophthalmol.(2014);34:144-8.  
doi: 10.1097/WNO.000000000000117.

2) Sawamura H\*, Aihara M, Araie M.  
“Juvenile onset of ocular hypertension associated with de novo nail-patellar syndrome.”

J Glaucoma.(2014);23:e122-5.  
doi: 10.1097/IJG.0b013e3182953b08.

3) Aoyama Y, Ohtomo K and Sawamura H\*  
“Recurrent Optic Neuropathy Caused by a Mucocele of the Anterior Clinoid Process after a 5-Year Remission: A Case Report and Literature Review”

Neuro-Ophthalmology(2014) ;38:281-285  
doi: 10.3109/01658107.2014.938274

4) Tanaka R, Obata R, Sawamura H, Ohtomo K, Kaburaki T.

“Temporal changes in a giant macular hole formed secondary to toxoplasmic retinochoroiditis.”

Can J Ophthalmol. (2014) ;49:e115-8.  
doi: 10.1016/j.jcjo.2014.06.006.

5) 澤村裕正

「臨床と研究の接点：大脳生理における最近の知見」

神経眼科 (2013) ; 399-405

<http://www.shinkeiganka.com/>

[学会発表] (計7件)

1) 澤村裕正 (特別講演) :

「高次視覚野における多シナプス性ニューロンネットワーク」

第24回海馬と高次脳機能学会 (2015年、岐阜)

2) 澤村裕正

「末期緑内障に巨細胞性動脈炎から生じた後部虚血性視神経症を呈した一例」

第53回日本神経眼科学会総会 (2015年、大宮)

3) 白濱新多朗、蕪城俊克、澤村裕正、田中理恵、山上明子、清澤源弘、若倉雅登

「視神経炎の病型と臨床像の検討」

第119回日本眼科学会総会 (2015年、札幌)

4) H sawamura, C Gillebert, J T Todd, R Vandenberghe, G A Orban

“3D shape perception in strabismus subjects.”

European association for vision and eye research, 2014, Nice France

5) 澤村裕正、C Gillebert, J T Todd, R Vandenberghe, G A Orban

「小児斜視患者における視差以外の手掛かりを用いた飛び出し知覚」  
第 70 回 日本弱視斜視学会総会、(2014、京都)

6) 青山裕加、大友一義、澤村裕正  
「5年間の緩寛を経て再発した、前床状突起粘液嚢胞による視神経症の一例」  
第 52 回日本神経眼科学会総会 (2014 年、千葉)

7) 乾博子、澤村裕正、若倉雅登、保手濱充啓、花川一郎  
「内頸動脈海綿静脈洞部の動脈瘤に対しコイル塞栓術施行後に外転神経麻痺の悪化をきたした一例」  
第 52 回日本神経眼科学会総会 (2014 年、千葉)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

澤村 裕正 (SAWAMURA HIROMASA)  
東京大学医学部附属病院 眼科 助教  
研究者番号：70444081

### (3) 連携研究者

二宮 太平 (NINOMIYA TAIHEI )  
京都大学霊長類研究所 統合脳システム分野  
研究員  
研究者番号： 40586343