

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 6 月 3 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K14850

研究課題名(和文) 網膜ON・OFF回路の視覚情報処理における生理学的解析

研究課題名(英文) Contributions of retinal ON and OFF pathways to visual information processing in mice

研究代表者

杉田 祐子 (Sugita, Yuko)

大阪大学・蛋白質研究所・助教

研究者番号：30712301

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)：ON経路とOFF経路の視運動学的応答(OKR)に基づく視覚処理の時間的特性を理解するために、網膜ON型双極細胞が欠損されたモデルマウスを用いてISI実験を行った。野生型マウスと網膜ON型双極細胞欠損マウスでは、ISIが長くなるにつれOKRは減少し、最終的に視覚運動の方向が逆転した。特に、網膜ON型双極細胞欠損マウスの場合、野生型マウスよりも短いISIでOKRの進行性の減少および方向逆転が見られた。これらの結果は、ON型双極細胞欠損マウスの時間的特性が野生型マウスと比較して速いことを示し、時間分解能におけるON、OFF経路には異なる役割が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

網膜はON・OFF経路の並列情報処理を行うことが動物種を超えた大きな特徴であるが、網膜情報処理の柱となるONとOFF経路の情報処理のメカニズムや並列情報処理の生理学的意義といった重要な問題はまだまだ解明されていない。本研究は、申請者の所属研究室が実績を有する遺伝子改変マウス作製技術や申請者が確立したマウス精密OKRの測定解析技術と組み合わせることによって、今まで未解明であった視覚におけるON・OFF経路の機能的意義を明らかにできる重要な研究になると考えている。

研究成果の概要(英文)：To understand the temporal characteristic of the visual processing underlying optokinetic responses (OKRs) between ON pathway and OFF pathway, we examined transient ocular response elicited by two-frame animations presented with the inter-stimulus interval (ISI). We studied the temporal characteristic of ON pathway by using the mutant mice with dysfunctional ON-bipolar cells that have a functional obstruction of transmission to ON direction selective ganglion cells. In wild-type and mutant mice, OKR decreased with increasing ISI, and finally the direction of visual movement was reversed. In particular, in the case of retinal ON-type bipolar cell-deficient mice, progressive reduction of OKR and direction reversal were observed at shorter ISI than in wild-type mice. These results suggest that the temporal characteristic of ON pathway is slower than those of OFF pathway and indicate different roles of the ON and OFF pathways in the temporal course of OKRs in mice.

研究分野：神経生理学

キーワード：神経科学 視覚 網膜 眼球運動 マウス

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

網膜は光情報を電気信号に変換し、脳の視覚中枢に伝達する組織と考えられていたが、近年、「明暗コントラスト」「動き」「色識別」といった重要な視覚情報の処理が既に網膜レベルで行われていることが明らかになってきた。しかし、網膜神経回路の情報処理メカニズムや個体レベルの視覚機能との関連は未解明な点が多い。動物による視覚刺激によって誘発される眼球運動は網膜での視覚情報処理機能の良い指標であり、眼球の視運動性応答 (Optokinetic response: OKR) の測定によって、網膜の回路機能が個体の視覚に果たす役割を解析することができる。従来は主にサルを用いて研究されてきたが、近年は、回路の特定の分子や細胞を操作した遺伝子改変マウスの OKR 測定による網膜神経回路研究が行われている。

2. 研究の目的

網膜は視細胞で外界からの光情報を受容し電気信号に変換する。二次ニューロンである双極細胞は機能的に ON 型と OFF 型に分かれ、視細胞からの情報は双極細胞以降で ON・OFF 経路に分かれる並列情報処理が行われる。ON・OFF 経路による視覚の情報処理パターンは興味深いことにショウジョウバエからヒトまで保存されていることが知られている。外界からの光情報を網膜で並列情報処理し、ON 経路と OFF 経路に分離して脳に情報を伝えることにどのような機能と利点があるのだろうか？これは動物界全体の視覚のメカニズムというものを理解する上で極めて重要で興味深い問題である。このように網膜は ON・OFF 経路の並列情報処理を行うことが大きな特徴であるが、網膜情報処理の柱となる ON 経路と OFF 経路の情報処理のメカニズムや並列情報処理の意義といった重要な問題は解決されていない。

網膜の ON・OFF 経路のうち、ON 経路に関しては、比較的研究が進んでいる。ON 型双極細胞欠損マウスとしては、mGluR6 欠損マウスや TRPM1 欠損マウスが存在し、これらの解析から、ON 経路が少なくとも桿体視細胞からの情報を受ける薄明視に重要であることが分かっている。ただし、明所視における ON 経路の生理的意義はまだ未解明である。本研究は、網膜 ON・OFF 経路の生理機能の解明を目指す研究であり、視覚における新たな原理やメカニズムの発見につながると期待される。また今まで捉えられてこなかったようなヒトの視覚障害の理解や診断につながり、治療法の開発にも寄与する可能性が期待される。

また、申請者が確立してきた精密な OKR 測定を、ON 経路がない遺伝子改変マウスに応用することによって、視覚における並列情報処理の意義を明らかにできることに本研究の方法論的特色がある。従来の研究で解析されてきた定常状態の OKR と異なり、本研究で注目している初期の OKR 成分は入力情報に対するフィードバックが働く前の「開ループ状態」での反応であるため、視覚入力に対する純粋な眼球運動を調べることが可能である。初期成分に関しては、霊長類では詳細に検証されているものの、マウスではほとんど行われていない。このため本研究によって、新たな視覚研究の開拓にもつながると考えられる。これまでの霊長類に関する研究成果と、本研究のような遺伝子改変マウスを利用した実験データとの比較は、網膜-脳の視覚系の神経回路の動作原理の解明、ならびに分子レベルでの神経生理学的研究に大きく貢献でき、視覚工学への応用も期待できる。本研究では「網膜 ON・OFF 経路の視覚情報処理における生理的役割の解明」を目的に、申請者が確立してきた精密 OKR 測定によるマウス視機能解析を通じて、網膜 ON・OFF 経路の生理的役割を解明し、網膜における並列情報処理のメカニズムの理解につなげる。

3. 研究の方法

網膜 ON 経路と OFF 経路の視運動学的応答 (OKR) に基づく時間的特性を理解するために、網膜 ON 型双極細胞が欠損されたモデルマウスを用いて ISI 実験を行った。ISI 実験は、2つの連続する画像フレームからなる仮現運動刺激で、第1フレームと第2フレームの間 (ISI: inter-stimulus-interval) に平均輝度の画面を挿入すると刺激の移動と逆向きの運動が知覚される (図1)。この効果は視覚処理機構の時間応答特性によって説明できる。この仮現運動を用いた視覚刺激をマウスに応用した。ISI ある場合とない場合で呈示される正弦波縞パターン¹の1/4波長シフトによって誘導される OKR を記録した。ISI が長くなるにつれて、

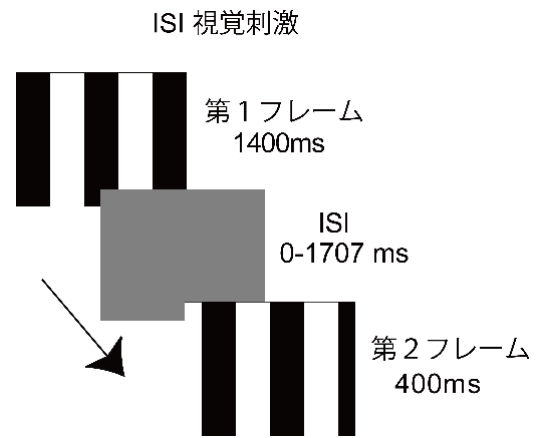


図1 ISI 視覚刺激

OKR は減少し、最終的に視覚運動の方向が逆転した。これはヒト、サルでも同じ現象が起こることが知られており、前年度の研究で、マウスでも同様の時間特性をもつことを明らかにした。これをもとに、ON 経路と OFF 経路の視運動性応答 (OKR) に基づく視覚処理の時間的特性を理解するために、網膜 ON 型双極細胞が欠損されたモデルマウスを用いて ISI 実験を行った。

視覚刺激は、固定したマウスの周囲に3面のモニター設置し、あらかじめコンピューター内にプログラミングした視覚刺激を呈示する。実験は暗所で行うため、計測には CCD カメラを使用する。誘発された眼球運動のデータは、もう一方のコンピューター内に組み込まれた市販の眼球運動計測ソフトを用いて記録される。それぞれのシステムを LabVIEW に介して同期させることで、さまざまな視覚刺激に対する眼球運動のデータをオフラインで詳細に解析することが可能となる。このシステムを用いて ON 型双極細胞欠損マウス (ON 欠損マウス)、野生型マウス (コントロールマウス) の精密 OKR を測定した。

4. 研究成果

野生型マウスと ON 型双極細胞欠損マウスでは、ISI が 0 ms の場合、OKR が視覚運動の方向と同じ方向に誘発されたが、ISI が長くなるにつれ OKR は減少し、最終的に視覚運動の方向が逆転した。特に、ON 型双極細胞欠損マウス場合、野生型マウスよりも短い ISI で OKR の進行性の減少および方向逆転が見られた (図2)。これらの結果から、時間分解能における ON、OFF 経路には異なる役割があることが明らかとなった。

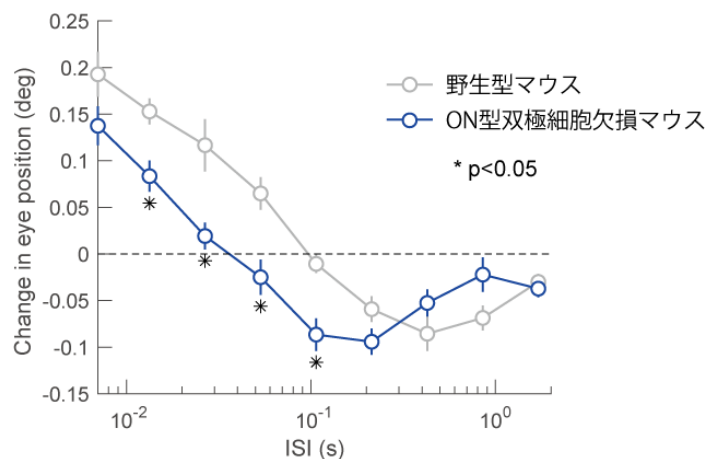


図2 ISI に対する眼球位置の変化

今回の研究結果から、ON・OFF 経路で時間特性が異なることが分かったが、OFF 経路機能を欠失したモデル動物は今まで存在しないことから、ON・OFF 網膜並列情報処理のうち、OFF 経路の視覚における生体機能は謎のままである。今後は、OFF 型双極細胞の完全欠損マウスを新たに作製し、OKR のよるマウス視覚機能の解析を通じて、OFF 経路の視覚における生体機能の解明に取り組んでいる。部位特異的組み換え系である Cre/loxP、Flp/FRT システムを用いた遺伝子組

換えマウスにタモキシフェン注入によって OFF 双極細胞特異的にジフテリア毒素 (DT-A) を誘導させる方法で、OFF 双極細胞欠損モデルマウスを作製する。モデルマウスが作製できたら、OFF 型双極細胞欠損マウス、ON 型双極細胞欠損マウス、野生型マウスの眼球運動を測定する。縞の空間周波数、時間周波数、コントラストのパラメータを変えていき、その特性を調べる。得られた結果から、必要であれば視覚刺激パラメータを変えた実験プランを考え、追加実験を行う。どのパラメータで ON 欠損、OFF 欠損の影響が出るのかを明らかにし、OKR における OFF 経路の特性を考察する。また、ON・OFF 経路間の並列情報処理と時空間特性の関係を明らかにする。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kenichiro Miura, Yuko Sugita, Takahisa Furukawa, Kenji Kawano	4. 巻 8
2. 論文標題 Two-frame apparent motion presented with an inter-stimulus interval reverses optokinetic responses in mice	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi:10.1038/s41598-018-36260-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Yuko Sugita, Kenichiro Miura, Takahisa Furukawa	4. 巻 -
2. 論文標題 Retinal ON and OFF Pathways Contribute to Initial Optokinetic Responses With Different Temporal Characteristics	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 European Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi:10.1111/ejn.14697.	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5件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 杉田祐子、三浦健一郎、古川貴久
2. 発表標題 視運動性反応開始時の眼の動きにおけるPikachurin欠損の影響
3. 学会等名 第41回日本神経科学学会
4. 発表年 2018年～2019年

1. 発表者名 Yuko Sugita, Kenichiro Miura, Takahisa Furukawa
2. 発表標題 Retinal ON pathways contribute to temporal characteristics underlying optokinetic responses in mice
3. 学会等名 第9回アジア・オセアニア生理学会連合大会（国際学会）
4. 発表年 2018年～2019年

1. 発表者名 杉田祐子、三浦健一郎、古川貴久
2. 発表標題 視細胞リボンシナプスは光刺激に対する順応を調整する働きを持つ
3. 学会等名 第42回日本神経科学学会
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 杉田祐子、三浦健一郎、古川貴久
2. 発表標題 視細胞リボンシナプスは光刺激に対する順応を調整する働きを持つ
3. 学会等名 第97回日本生理学会
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 杉田祐子、三浦健一郎、古川貴久
2. 発表標題 マウスOKRにおける網膜ON回路の機能的役割
3. 学会等名 第12回 Retinal Research Meeting
4. 発表年 2019年～2020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
---------	---------------------------	-----------------------	----