

# 「ものを見る」回路の形成

野田昌晴

総合研究大学院大学教授分子生体機構論専攻／岡崎国立共同研究機構基礎生物学研究所教授

脳・神経系では、ニューロン同士がつながることにより、精緻な神経回路網が形成されている。私たちは神経回路形成の基本原則の1つ、トポグラフィックな投射の分子メカニズムに迫る研究を行っている。

## 神経回路網が形成されるしくみを明らかに

基礎生物学研究所・感覚情報処理研究部門では、個体の発生過程で脊椎動物の中樞神経系が形成されるしくみや、成熟した個体の脳が機能するしくみについて研究している。

脳は生命を維持する重要なはたらきをもつが、同時に、感覚器でとらえた情報を処理して体の各器官に指令を出すはたらきも担っている。さらに、感情、記憶、思考、言語といった知的活動をも担う。脳・神経系は、構成単位である神経細胞（ニューロン）が軸索という突起を介してほかのニューロンと連絡し、ネットワーク（神経回路）を形成することによって成り立つ。脳をマクロな視点で見ると、領野、

神経核といった数多くの領域に区分され、それぞれが独自の機能を発揮している。おのおのの領域内ではニューロンによって、領域と領域の間では軸索によって、情報が連絡されている。つまり、神経回路網は脳・神経系の機能発現の基盤であり、神経回路網が形成されるしくみを明らかにすることは、脳や神経系の成り立ちを考える上で、たいへん重要な課題である。

## 「ものを見る」プロセスとは

脳・神経系には、実にさまざまな神経回路が存在している。なかでも私たちは、眼球内の網膜から発する軸索（視神経）が脳の視中枢に神経結合を形成する（投射する）系を用いて、神経回路網形成のメ

カニズムを探っている。眼の網膜は、発生期に脳の一部が外側に飛び出すことによって形成される。つまり網膜は、外界の視覚情報を受け取るために体の表面近くに飛び出した脳の一部と考えることができる。

網膜から視中枢への投射は、視覚情報の受容に必要不可欠である。この投射系について、ヒトの視覚系を用いて簡単に説明しよう（図1）。水晶体を通して眼球内に入ってきた光の情報は、映画館のスクリーンに像が映写されるのと同じように、網膜上に二次元の像として投影される。光の情報は、まず視細胞によって受容され、その後で網膜内の神経節細胞に伝達される。神経節細胞は自らの軸索である視神経を脳に伸ばしており、ほとん

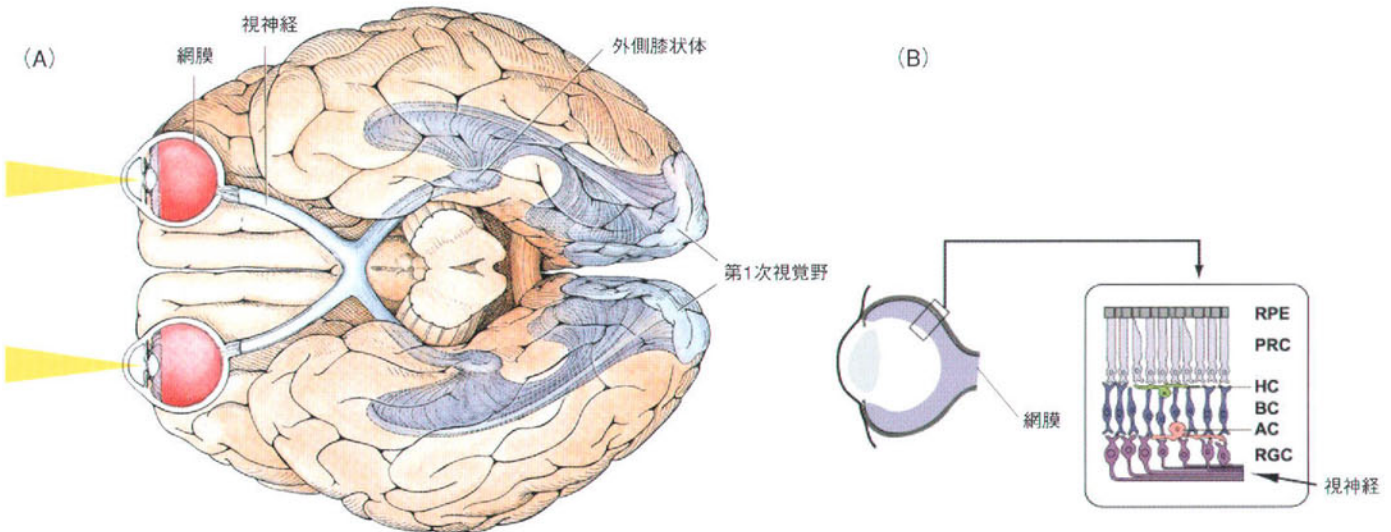


図1 「ものを見る」プロセス

(A) ヒト視覚路の概要

網膜に投影された視覚情報は、視神経を通して、脳の外側膝状体まで伝えられる。この視覚情報はさらに、外側膝状体の神経細胞の軸索によって大脳の視覚野に伝えられる。  
出典：別冊日経サイエンス107「脳と心」(1993)

(B) 視覚情報の伝達経路

網膜の光受容細胞（PRC）で受容した光の情報は、さまざまな細胞による処理を受けた後、網膜神経節細胞（RGC）に伝えられる。さらにこの情報は神経節細胞の軸索である視神経を経て脳へ伝えられる。  
(RPE:網膜色素上皮 HC:水平細胞 BC:双極細胞 AC:アマクリン細胞)

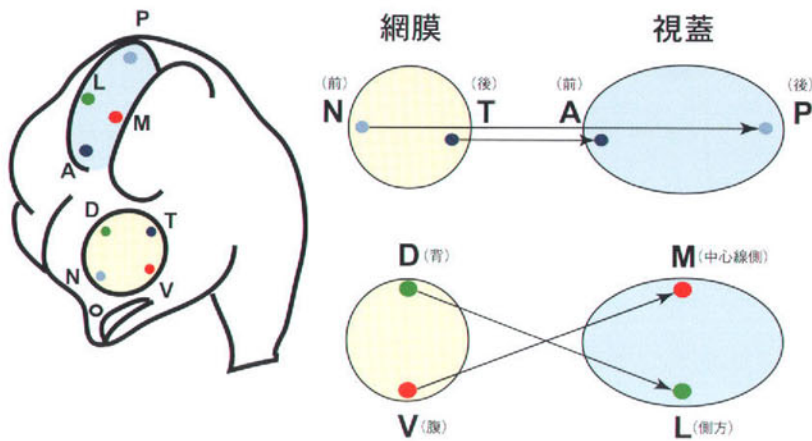


図2 ニワトリの網膜におけるトポグラフィックな投射  
目(網膜)は均質ではなく、4つの領域に分かれる。それぞれの領域から出た視神経は、左右反対側の脳視蓋野に二次元的相対位置関係を保ったまま投射する。

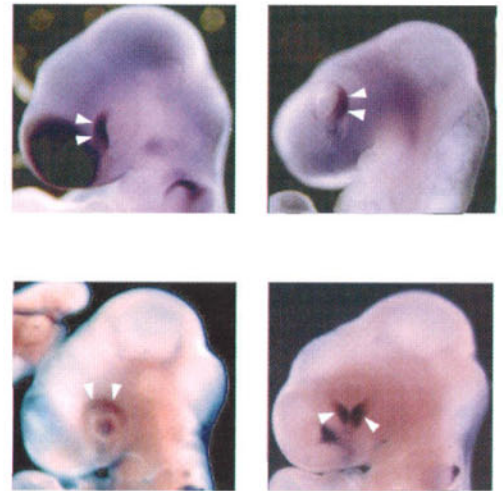


図3 網膜の4つの領域には、それぞれ特異的な遺伝子が発現する。その代表的な領域特異的遺伝子が発現するようすを白三角で示す (in situ hybridizationで得られたもの)。

どの視覚情報は視神経を通して脳内の外側膝状体に伝えられる。さらに、この情報は外側膝状体内の神経細胞がもつ軸索を通して大脳の視覚野に到達し、そこでさまざまな統合処理が行われる。こうしてものの形、色、動きの情報が認識されることになる。

このとき、網膜の神経細胞は、網膜上に投影された二次元の像の情報を「形を崩さずに」そのまま脳に伝えている。神経節細胞はシナプスを介して脳の神経細胞と結合しているが、「網膜面に沿った神経節細胞の二次元的な配置」と「情報を受け取る脳の神経細胞の二次元的配置」がまったく同じなのである。

このことを、私たちが行っているニワトリの網膜-視蓋投射系(大脳皮質をもたない鳥類や両生類の視中枢は視蓋である)の例を用いてもう少し詳しく説明しよう(図2)。網膜の前側(N:鼻側)、後側(T:耳側)、背側(D)、腹側(V)の4点についてみると、網膜の前側領域から発した視神経は、選択的に視蓋の後側にある神経細胞と神経結合を形成する。一方、網膜の後側領域から発した視神経は、やはり選択的に視蓋の前側(A)で神経結合を形成する。同様に、網膜の背側からは視蓋の中心線側(L)で、中心線側からは側方(M)の領域で神経結合を形成する。これらの4

点以外の神経節細胞も、同じようにして視蓋の神経細胞に投射される。結果として、網膜に写った像は、二次元的に保存されたまま視中枢に投影されることになる。これを「トポグラフィックな投射」とよんでいる。

トポグラフィックな投射は神経系のさまざまな領域でみられ、神経回路形成の基本の1つであると考えられる。なかでも、ニワトリにおける網膜-視蓋投射系は、トポグラフィックな投射の代表例としてさかんに研究されている。眼は体表面近くにあり、実験操作が容易だからである。

#### トポグラフィック投射の鍵は領域特異化

では、網膜から視蓋へのトポグラフィックな投射は、どのようにして形成されるのだろうか。私たちは10年ほど前からこのテーマに取り組んできた。そして、発生過程でみられる網膜内の領域特異化という現象が、視神経のトポグラフィックな投射の基盤になっていることを実証しつつある。

図2でみるように、前、後、背側、腹側の各点の網膜神経節細胞は、視蓋においてそれぞれに対応する神経細胞と特異的に結合する。私たちは、その理由を、それぞれの神経節細胞において発現して

いる分子が異なっているから、つまり「領域特異化」がおきているからだと考えた。そして、発生の早い段階で、網膜の前、後、背側、腹側の領域特異化が生じているはずだと推測した。

これまで網膜においては、前、後を結んだ線に沿った軸(前後軸)と、それに直交する背側と腹側を結んだ軸(背腹軸)の2つの軸に沿って領域特異化が生じると推定されてきた。そこで私たちは、ニワトリ胚網膜のそれぞれの軸に沿って領域特異的に発現する分子群を、網羅的に単離・同定する作業を行った。その結果、前後軸方向、背腹軸方向で合わせて約50種の分子が特定された(後述するBMP-4、Ventreoptin、Tbx5などの分子はその一部である)。これらの分子には、数多くの転写調節因子、膜分子、分泌因子、シグナル伝達因子、細胞骨格関連分子などが含まれていた。このように分子の解析を進めることにより、網膜における領域特異化の全容がしだいに明らかになってきた(図3)。すなわち、発生の早い時期から網膜の各領域では特定の分子が発現しており、先に領域特異的に発現した分子が次の分子の領域特異的な発現を促すという、遺伝子発現のバトンリレー(遺伝子カスケード)が存在することがわかってきたのである。以下に、この遺伝子カスケードにつ

いての研究結果を説明しよう。

ニワトリ網膜の発生過程において、前後軸、背腹軸が決定するのはステージ10～13（発生2日目）と考えられている。まず背腹軸方向の領域特異化についてみてみよう。背側においては「BMP-4→Tbx5→ephrin-B」という遺伝子カスケードが存在していた。一方、腹側においては「RALDH-3→Ventroptin→cVax→EphB」という遺伝子カスケードがあった。このとき、この2つの遺伝子カスケードは独立に存在しているわけではなかった。BMP-4とVentroptinは互いの発現を抑制し合うことにより、背腹軸に沿った発現領域のすみ分けを行っていた。同様に、Tbx5とcVaxも互いの発現を抑制し合っていた。

一方、前後軸方向の領域特異化のカス

ケードは、背腹軸のものと少し異なっていた。転写調節因子であるCBF-1を起点とした遺伝子カスケードが、前後軸方向の領域特異化を支配していたのである。前側においては、CBF-1はSOHo-1、GH6、ephrin-A2、ephrin-A5の発現を誘導していた。後側においては、CBF-1はCBF-2の前側における発現を抑制し、SOHo-1とGH6がEphA3の前側での発現を抑制することにより、CBF-2とEphA3の後側での発現が達成されていた。

今のところ、視蓋上で二次元的位置を正しく認識できるのは、遺伝子カスケードの最下流に位置するephrinと、その受容体であるEphのはたらきによると考えられている。しかし、これ以外の機構も存在することが明らかになっており（図4）、今後の詳細な解析が必要である。

## 二重に濃度勾配をもつ分子が意味するもの

これまで長い間、網膜の前後軸と背腹軸に沿った領域特異化は、それぞれに独立した現象だと考えられていた。ところが最近、私たちは前後軸と背腹軸の両方に対して二重に勾配をもつ分子があることに気づき、その意義を探ってみた。先述のVentroptinは発生5日目までは腹側特異的に発現するが、BMP-4が発現を止める6日目以降は、腹側だけでなく前側領域においても強く発現するようになっていたのである。またこの時、BMP-4にかわってBMP-2が、Ventroptinと対照的に背・後側領域に強く発現し始めることもわかった（図4）。その後、VentroptinとBMP-2は互いの発現を抑制し合うことにより、それぞれが発現する領域を規

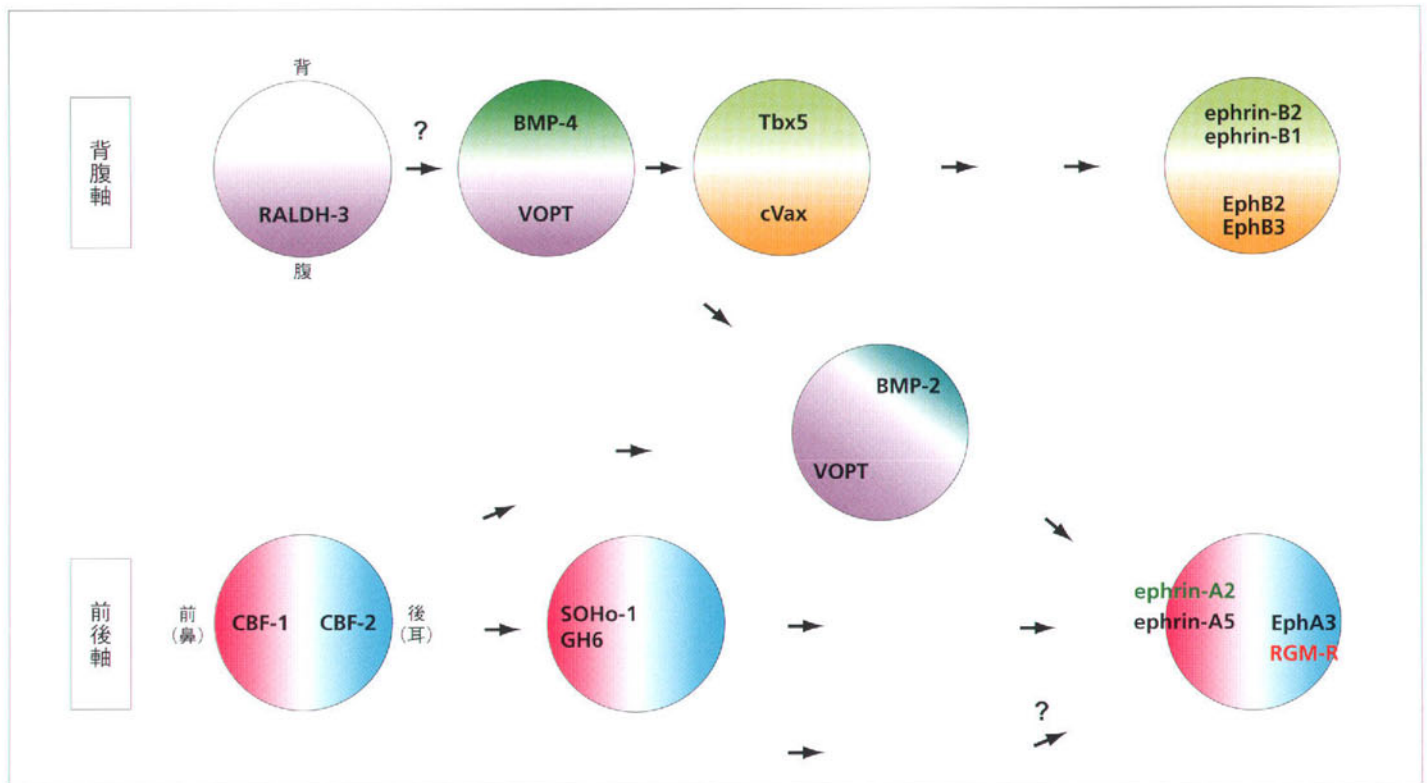


図4 網膜における領域特異化の遺伝子カスケード

背腹軸方向、特に網膜腹側の発生には、眼の発生の初期におけるレチノイン酸の濃度勾配「腹側(高)ー背側(低)」が重要である。私たちは、この領域のレチノイン酸の生合成を担う酵素であるRALDH-3をすでに同定している。それぞれの領域の特異化は、背側に分泌因子であるBMP-4が、腹側にその抑制因子であるVentroptinが相補的に発現することで誘導される。続いてこれらの分泌因子のはたらきによって、転写調節因子であるTbx5とcVaxがそれぞれ背側、腹側に発現し始め、領域特異化が完成する。視神経が伸びている時期には、さらに遺伝子カスケードの下流に位置し、直接的に標的領域の識別に関わる膜分子であるephrin-B、あるいはその受容体であるEphBが発現し始める。

これに対し、前後軸方向の領域特異化は、前脳前端部に発現するFGF-8による誘導を受けて、転写調節因子CBF-1が眼胞の前半領域で発現し始めることに端を発する。CBF-1はCBF-2の網膜前側における発現を抑制することにより、この分子の耳側特異的な発現を誘導する。さらにCBF-1は下流の転写調節因子SOHo-1とGH6の前側における発現を促す。次にSOHo-1とGH6がEphA3の発現を抑制することによりEphA3の後側特異的な発現が生じる。CBF-1はさらにephrin-A2とephrin-A5の網膜前側での発現を誘導する。

定していた。

このとき、網膜内のVentroptinの発現を変化させると、視蓋へのトポグラフィックな投射が、前後軸と背腹軸の両軸方向で影響を受けることがわかった。これらの結果から、VentroptinとBMP-2の二重勾配分布には重要な意味があると推測される。さらにVentroptinとBMP-2は、ephrin-A2の前後軸方向の発現を支配していることも判明した。Ventroptinはephrin-A2の発現を促進し、逆にBMP-2はephrin-A2の発現を抑制していたのである。

私たちは、発生6日目以降において、Ventroptin、BMP-2以外にも二重勾配をもつ分子群があることを突き止めた。その意味と役割はまだ不明であるが、二重勾配をもつ分子の存在は、二次元的投射

が前後・背腹軸方向について独立に決定されるのではなく、両軸方向に協調して行われる可能性を示唆している。

#### 最後のフロンティアを求めて

約10年の研究を経て、私たちは当初予想し得なかったような神経発生機構の精妙さに触れつつある。今後は、引き続いて遺伝子の発現を改変した動物を解析することで、同定した遺伝子群の機能と相互関係を明らかにしていきたいと考えている。

今回紹介した研究のほかにも、遺伝子変換マウスを使った哺乳類の視神経投射機構の研究、軸索の形態と運動の制御機構の研究、視神経の再生機構の研究、記憶学習の研究、薬物応答機構の研究、塩分摂取行動制御の脳内機構の研究なども行っている。脳は生命科学における最後のフロンティアといわれるほど謎が多く、チャレンジするテーマに事欠かない。若い人の積極的な参入を期待している。

\*さらに詳しい研究内容に興味のある方はホームページ<http://niwww3.nibb.ac.jp>をご覧ください



野田昌晴 (のだ・まさる)

京都大学大学院医学系研究科修了。神経伝達物質受容体やイオンチャネルといった神経伝達に重要な分子の構造と機能相関を約10年にわたって研究した。その後、もっとなまの生命現象を扱いたいと考え、神経発生学の分野に入る。個体レベルの現象を、分子と細胞の言葉で語ることを目指している。

## 行動・神経科学研究における動物種の選択

### 山森哲雄

総合研究大学院大学教授分子生物機構専攻/岡崎国立共同研究機構基礎生物研究所教授

生物は多様であり、進化の中で生き残ってきた各々の種の特徴が際立っている。そのため生物学研究においては、解析の目的に合った動物種を選択することがきわめて重要になる。脳研究も例外でなく、現在の行動・神経科学領域では、多様な動物種が用いられている。たとえば分子・細胞レベルでの詳細な機構解明のためには、ザリガニ、ヤリイカ、ヒル、ウミウシが用いられる。また、分子遺伝学的研究のためには線虫、ショウジョウバエ、マウスが、神経発生研究のためにはニワトリやゼブラフィッシュがよく用いられる。さらに生得的行動の代表である音源定位や超音波探索の研究には、それぞれフクロウやコウモリが、歌声の学習の研究にはキンカチョウが使われる。

一方、ヒトの高次認知機能やその障害としての疾患を研究するには、霊長類を対象とした研究が不可欠となる。基礎生物学研究所(基生研)種分化第一研究部門研究室では、遺伝子発現を指標に、げっ歯類(マウスやラット)の運動学習下における脳内情報処理過程の研究と、霊長類大脳皮質領野の形成機構の研究を行っている。前者は、遺伝



子操作が可能で、脳が比較的小さいために脳を全体として細胞レベルで詳細に解析することが可能であることが利点である。しかし、高次認知機能に重要な役割を果たすと考えられる大脳皮質、特に生後発達に伴う領野形成機構を解明するためには、後者の研究が不可欠であると考えている。

写真は、当研究室の木津川尚史らによって開発された「マウスのwheel running system」を示している。実験前の一定時間、飲水を制限した後、この装置の中にマウスを置く。マウスは、回転しているホイールの中で、静止して動かないように設計してある給水口から水を得ることができる。しかし水を得るためには、ホイールとともに回転する多数のペグ(マウスの足場になっている金属棒)上を、そのならびに合わせながら走らなければならない。ペグの配列はいく通りにも組みかえることが可能で、その配列を変更すると、マウスは新たな走行パターンを速やかに学習することがわかった。現在、この装置を用いて、運動パターンの変化にともなう脳内情報処理過程を解析している。