

氏 名	田 川 義 晃
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	論 医 博 第 1695 号
学位授与の日付	平 成 11 年 7 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	Immunohistological Studies of Metabotropic Glutamate Receptor Subtype 6-Deficient Mice Show No Abnormality of Retinal Cell Organization and Ganglion Cell Maturation (代謝型グルタミン酸受容体サブタイプ 6 欠損マウスを用いた網膜神経回路形成の形態学的解析)

論文調査委員 (主 査) 教 授 金 子 武 嗣 教 授 本 田 孔 士 教 授 中 西 重 忠

論 文 内 容 の 要 旨

明暗の識別は網膜における基本的な情報処理であり、ON 反応と OFF 反応が分離して処理されることによって成立する。網膜において、視覚情報は ON 型双極細胞と OFF 型双極細胞によって分離して処理され、それぞれ ON 型神経節細胞、OFF 型神経節細胞に伝えられる。代謝型グルタミン酸受容体サブタイプ 6 は ON 型双極細胞に特異的に発現し、ON 反応に必須のグルタミン酸受容体である。我々が作製した代謝型グルタミン酸受容体サブタイプ 6 欠損マウス (mGluR 6 欠損マウス) は、OFF 反応は正常なまま ON 反応のみが消失する。従って、mGluR 6 欠損マウスは視覚系における ON 反応の役割を明らかにする格好のモデルマウスである。

成熟した網膜神経回路において、ON 型及び OFF 型神経節細胞はそれぞれ固有の層でシナプスを形成する。すなわち、ON 型神経節細胞は ON 型双極細胞と内網状層 b 垂層においてシナプスを形成し、OFF 型神経節細胞は OFF 型双極細胞と、内網状層 a 垂層においてシナプスを形成する。一方、未成熟な時期の神経節細胞は内網状層全体に樹状突起を伸ばしており、生後成熟するにつれて b 垂層又は a 垂層に局限し、ON/OFF 経路が分離した神経回路が形成される。網膜神経回路形成過程において、グループ 3 の mGluR に特異的なアゴニストである L-AP 4 によって神経節細胞樹状突起の ON/OFF 経路の分離が阻害されるという報告があり、双極細胞から放出されるグルタミン酸による神経活動が網膜神経回路形成に必要であると想定されている。

本研究は、mGluR 6 を介した ON 反応が網膜神経回路形成に必要であることを明らかにするため、mGluR 6 欠損マウスを以下の形態学的方法によって解析したものである。

1) 我々が以前作製したトランスジェニックマウス (LacZ マウス) は、mGluR 6 プロモーター下に LacZ を発現させたマウスであり、ON 型双極細胞特異的に LacZ を発現している。双極細胞軸索の ON/OFF 経路の分離を解析するため、LacZ マウスと mGluR 6 欠損マウスをかけあわせ、新たなマウスを作製した (mGluR 6 欠損 /LacZ マウス)。X-gal 染色及び LacZ に対する免疫染色の結果、mGluR 6 欠損 /LacZ マウスの ON 型双極細胞は内網状層 b 垂層に正しく軸索を伸ばしていることが明らかになった。

2) 特異的な免疫染色の結果、コリン性及びドーパミン性アマクリン細胞の分布、2つのカルシウム結合蛋白質 (カルビンジン、カルレティニン) 陽性細胞の分布に異常がないことが明らかになった。

3) mGluR 6 欠損により他のサブタイプの mGluR の発現が変化していないかをサブタイプ特異的な抗体による免疫染色によって解析した結果、mGluR 1, 2, 4, 5, 8 には変化がなく、mGluR 7 の分布に変化を認めた。

4) ルシファーイエローの細胞内色素注入とドーパミン性アマクリン細胞の免疫染色を組み合わせアルファ型、デルタ型神経節細胞樹状突起の ON/OFF 経路の分離を正確に解析した結果、mGluR 6 欠損 /LacZ マウスの成熟した神経節細胞

胞樹状突起の ON/OFF 経路の分離に変化がないことが明らかになった。

5) 未成熟な神経節細胞樹状突起の解析の結果、一部のアルファ型、デルタ型神経節細胞が複数の層に樹状突起を伸ばしていること、その頻度が野性マウス、mGluR 6 欠損マウスの間で差がないことが明らかになった。

従って、mGluR 6 欠損マウスは ON 反応を著しく阻害されているにも関わらず、網膜神経回路形成に異常がないことが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

本研究は、視覚情報伝達において明るさと暗さの情報をあらかわす ON 反応と OFF 反応において、ON 反応が阻害された変異マウスを用い、網膜神経回路形成における ON 反応の役割を明らかにしようとしたものである。

まず、ON 反応が阻害された代謝型グルタミン酸受容体サブタイプ 6 (mGluR 6) 欠損マウスと、ON 型双極細胞のみに LacZ を発現するトランスジェニックマウスをかけあわせたマウスを用い、X-gal 染色、免疫染色によって、mGluR 6 欠損マウスの ON 型双極細胞の分布、軸索投射に変化がないことを明らかにした。次に、免疫染色により数種のアマクリン細胞の分布に変化がないこと、さらに、細胞内色素注入法と免疫染色を組み合わせ、成熟したアルファ型及びデルタ型神経節細胞の樹状突起の層形成に変化がないこと、一部の未成熟神経節細胞が複数の層に枝を伸ばしているが、成熟度において mGluR 6 欠損マウスと正常マウスで差が見られないことを明らかにした。

以上の結果は、網膜神経回路形成のメカニズムにおける神経活動の役割を明らかにするうえで重要な情報を与えるものである。

したがって、本研究は博士（医学）の学位論文として価値のあるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 11 年 6 月 4 日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認のための試問を受け、合格と認められた。