

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※甲 第 号
------	--------

氏 名 沖川 沙佑美

論 文 題 目

マウス初期視覚系における情報統合機構の
神経解剖学的解明

論文審査担当者

主 査	名古屋大学准教授	小坂田 文隆
委 員	名古屋大学教授	饗場 浩文
委 員	名古屋大学教授	大嶋 篤典
委 員	名古屋大学助教	森本 菜央

論文審査の結果の要旨

我々は、外界から受容する視覚・聴覚・体性感覚などの感覚情報や、学習・記憶・情動などの自己情報に基づき、環境の変化に柔軟に対応し、状況に応じた最適な行動を選択し実行する。感覚器から受け取る情報のうち、視覚が占める割合は80~90%と非常に大きい。視覚情報は網膜で受容され、脳に伝達されることで知覚・認知に至る。その際、膨大な量の視覚情報は並列階層的に処理され、光の電気信号への変換、画像情報の符号化、局所的な情報抽出、画像認識という段階を経て知覚される。網膜の視細胞で受容された視覚情報は、網膜内局所回路により様々な視覚属性に分けられ、視覚属性ごとに網膜神経節細胞 (RGC) の活動電位として圧縮される。分けられた視覚属性は、異なるタイプの RGC から外側膝状体背側核 (dLGN) を経由し、大脳皮質の一次視覚野 (V1) へと並列階層的に伝達される。マウスでは40種を超えるサブタイプの RGC が存在し、各サブタイプはその軸索を別の脳領域に投射する。視覚情報が、網膜の RGC で視覚属性ごとに分けられ情報伝達されることは解剖学的な解析により示されているが、分離された視覚情報がどのように統合されるのかは未だ不明点が多い。

また、我々の脳は不均一な神経細胞集団より構成され、個々のサブタイプの神経細胞は固有の機能を担う。これら多様な神経細胞が精密な神経回路を形成し情報処理を行うことで、知覚や認知、意識などの脳機能が生まれる。したがって、多彩な脳機能を理解するには、精緻な神経回路構造を細胞種レベルで解明することが重要である。

そこで著者は、ウイルストレーシング法およびゲノム編集技術を駆使することで、細胞-細胞間接続を可視化した神経回路解析、さらには、同一領域内における細胞集団の分離に成功した。本技術をマウス初期視覚系に適用することにより、初期視覚系の情報統合機構の一端を、以下の通り解剖学的に明らかにした。

1. 初期視覚系の主経路を構成する dLGN は、core 領域と shell 領域の2つに分離でき、各々異なる情報処理を担う。加えて dLGN は視覚応答だけではなく、運動依存的な活動を示すこと、選択的注意により神経活動を変化させることが明らかになっている。そこで dLGN に焦点を当て、core 領域および shell 領域における情報統合機構を解剖学的に明らかにすることを目的とした。筆者は、ウイルスの局所感染を可能にする iontophoresis injection 法および経シナプス感染能を制御可能な G 欠損型狂犬病ウイルスベクターを用いた神経回路トレーシング法を用いた。その結果、dLGN core 領域の興奮性神経細胞は、網膜 alpha-RGC、V1 第6層の興奮性神経細胞、上丘浅層 (sSC) の興奮性 stellate 細胞と抑制性 horizontal 細胞、上丘中間層 (iSC) の3種の神経細胞、膝状体間葉 (IGL) の2種の神経細胞から、外側膝状体腹側核 (vLGN) のうち vLGNe (external vLGN) 下層と vLGNi (internal vLGN) の4種の神経細胞から、視床網様核 (TRN) の抑制性神経細胞および被蓋前核 (PT) の神経細胞から入力を受けることが明らかになった。一方、dLGN shell 領域は、網膜の alpha-RGC と方

向選択性神経節細胞、V1 第 6 層、sSC、vLGNe 上層と下層、TRN、PT、二丘傍核 (PBG) からの入力を受けることが明らかになった。以上の結果より、dLGN core 領域および shell 領域が構成する神経回路構造の解剖学的な違いが明らかになった。本結果より、dLGN core 領域は shell 領域と比較し、視覚情報に加えてより多くのマルチモーダルな情報を統合・処理することが示唆された。dLGN が網膜と V1 との単純な中継地点として機能するという一般的な概念とは異なり、本研究では、dLGN core 神経細胞は、非イメージ形成や運動情報などを含むマルチモーダルな情報を統合するという解剖学的証拠を示した。本結果より、dLGN の異なる 2 領域は、細胞種および層特異的に異なる情報を統合・処理し、各々の収束情報を V1 の特定の集団に伝達し、視知覚や視覚誘導性行動において異なる役割を担うと考えられる。

2. 著者は、dLGN の core 領域および shell 領域は、V1 第 6 層の多種多様な細胞群より入力を受けることを明らかにした。しかし、異なる細胞形態を有する V1 第 6 層の細胞群の役割は未だ不明である。そこで、遺伝子発現パターンの異なる細胞種を *in vivo* で分離し、網羅的かつ効率的に細胞種特異的な解析を実施する手法の確立を目指した。V1 第 6 層に存在する神経細胞は、形態学的に少なくとも 3 種存在することが報告されているが、各サブタイプ特異的なマーカー遺伝子は同定されていない。そのため V1 第 6 層に多様な細胞が存在するにも関わらず、これら細胞集団を分離した機能解析は困難であった。著者は Allen Institute の single cell transcriptome および *in situ* hybridization のデータより、異なる 3 種類の V1 第 6 層神経細胞のマーカーとして *Ctgf*, *Sla*, *Rgs12* を同定した。次に、ゲノム編集技術である CRISPR/Cas9 を AAV と組み合わせ、各遺伝子の 3'UTR 部位に GFP を *in vivo* でノックインすることで各細胞サブタイプ可視化に成功した。本手法は、ノックインするタンパク質を変更し、イメージングや光遺伝学へ応用することで、細胞種レベルでの神経活動の解析や制御も可能になると期待できる。また、前章の成果と併せることで、dLGN core 領域あるいは shell 領域が、第 6 層の多様な細胞集団からどのような入力を受けるのかを詳細に解析でき、視覚初期段階の情報統合機構の更なる解明に繋がると期待する。

以上、本研究成果は、脳機能の理解や感覚情報処理機構の解明に資する極めて重要な基本的知見を提供するだけでなく、神経回路破綻による視覚関連疾患の新規治療への応用、幹細胞由来神経細胞の移植後の神経回路再構築への応用など、医薬品を用いた予防・治療法の開発および再生医療の実現に貢献すると期待する。

よって、本論文は博士（創薬科学）の論文として価値あるものと認める。さらに、2020 年 12 月 3 日に本論文とそれに関する口頭試問を行った結果、合格とした。