



網膜細胞の分化と維持機構

佐藤 卓至*, 徳永 史生**

- a. 精子と卵子 b. 人体 c. 脳 d. 眼球
e. 大脳の神経細胞配列の一部 f. 網膜の構造

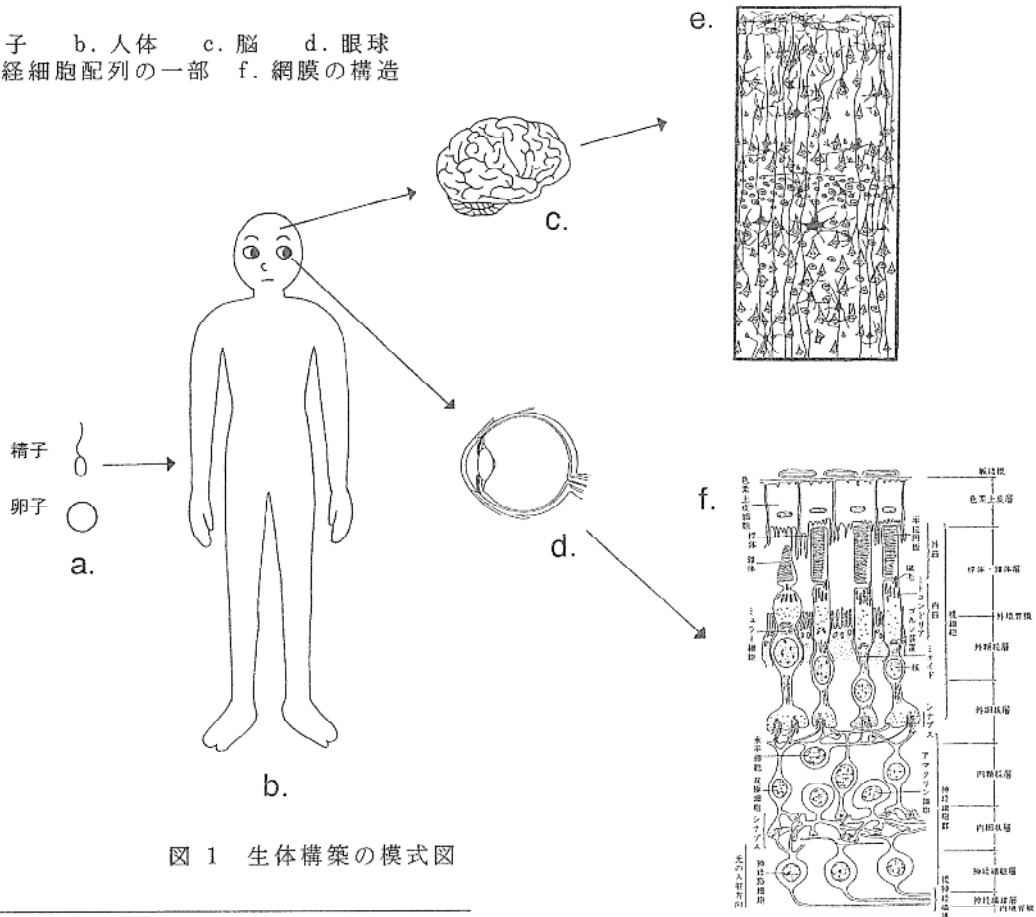


図 1 生体構築の模式図



*Takunori SATOH
1969年 3月17日生
1996年大阪大学大学院理学研究科生物科学専攻・修士課程修了
現在、大阪大学大学院理学研究科・宇宙地球科学専攻(生物科学専攻)、徳永研究室、日本学術振興協会特別研究員、理学博士、分子神経生物学
TEL 06-6850-5501
FAX 06-6850-5542
E-Mail tsatoh@ess.sci.osaka-u.ac.jp



**Fumio TOKUHNAGA
1944年 8月25日生
1972年大阪大学大学院理学研究科生物化学専攻・博士課程修了
現在、大阪大学大学院理学研究科宇宙地球科学専攻、教授、理学博士、生物物理学
TEL 06-6850-3499
FAX 06-6850-5542
E-Mail tokunaga@ess.sci.osaka-u.ac.jp

1. 初めに

自然界では、沢山の単純な素現象が組み合わせられて複雑な現象となっている。それらの現象を研究するとき、多くの対象の中から研究しようとする現象を端的に示す対象を選ぶことが、その研究の成否を左右する。これまでの優れた研究でも、その対象を選択したから成功したのであって、よく似ているが他の対象を選んでいたら成功には至らなかったろうといわれるものも少なくない。

多細胞生物は、1つの卵子に1つの精子が受精することによって1つの細胞が形成され、それが分裂を繰り返し、形態・性質の異なる細胞に分化し、そ

これらの細胞が特定の役割を果たすことによって維持されている(図1). たとえば脳(図1c)は小脳, 大脳などに分けられ, さらに大脳は機能的に多くの領野に分けられ, それらの領野は, 局在しているものの視覚的には明確に区分けすることが困難である. さらに細胞の状態を見ると, 層状構造があり, 特徴的形態を持つものもある(図1e)が, 細胞分化と維持機構を解析研究するための明確な特徴を抽出することが, それほど易しくない.

ほとんどの細胞は, 外見的にはほとんど時間的変化がないように見える. しかしながら物質的には常に変化しており, その変化は主に酵素などの蛋白質の働きに依っている. 各蛋白質は種類によって各々異なった決った機能を果たしている. 各細胞によってそこで働いている蛋白質の種類が異なっている. 言い替えると細胞の種類の違いはそこで働いている蛋白質の種類あるいは組み合わせの違いとすることができる. 蛋白質はよく知られているように, そのアミノ酸配列はDNAにコードされており, ある細胞でその蛋白質が存在するか否かは, 大雑把にいうと(厳密にいうと複雑であるが)その細胞でその時期にその蛋白質の遺伝子が発現しているか否かということである. それ故, 細胞の分化とは, そこで発現する蛋白質の種類・量が決められていく過程であり, 維持とは特定の蛋白質が耐え間なく発現している状態であるといえよう. したがって細胞分化や維持の機構を解析するという事は, DNA中に書かれた特定の遺伝子の発現がどのように制御されているかということ解析することになる.

細胞分化と維持機構の解析研究の成否を決める対象をより適したものにするためには, 形態的に, 機能的に特徴のある組織, 細胞を選ぶ必要がある. われわれはそのような組織として脊椎動物の網膜を選んだ. 特にメダカの網膜を選んだ.

2. 脊椎動物の網膜(図1f)

脊椎動物の網膜は発生的には脳の先端が分化したものであり, 基本的には視細胞, 双極細胞, 水平細胞, アマクリン細胞, 神経節細胞という形態的, 機能的に異なる神経細胞とそれらの働きを助けるミュラーグリア細胞からなる. それぞれの神経細胞は形態機能の少し異なるサブタイプに分類される. 視細胞は光信号を電気的信号に変換する細胞であるが, これは外節の形態が棒状のかん体と円錐状をした錐

体に大別される. かん体は通常形態的機能的に1種類で, 明暗を識別するのに働いている. 錐体は形態的に数種類あり, 吸収波長域の異なる視物質を含んでおり, 色覚に働いている. 神経節細胞は視覚情報をコード化し, 視神経を通じて脳へ出力する役割を果たしている. 双極細胞, 水平細胞, アマクリン細胞は, 視細胞や神経節細胞とシナプス結合を形成し, 信号の収束や反転, 変化の抽出, フィードバックなどを行うことにより, 視覚情報の前処理に関与している. 各神経細胞が形態的にも機能的にも明瞭に区別できること, 情報の入力から出力までが組織の小領域内で完結した回路になっていることが特徴である.

3. メダカの網膜

メダカは古くから日本で使われてきた実験動物で, 最近世界的にも利用が広がっている. メダカの網膜

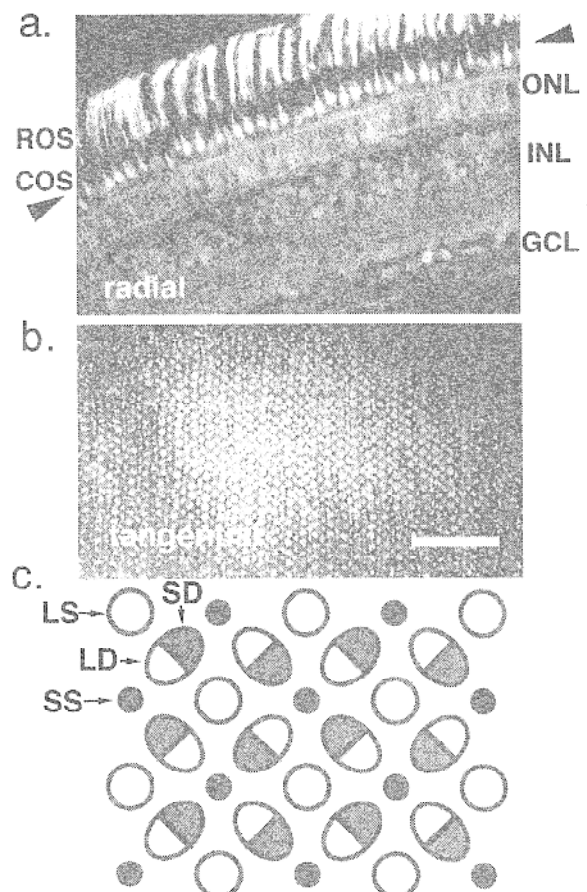


図2 メダカ網膜(Nishiwaki *et al.* (1998)改変)
a. 縦断面の顕微鏡写真 b. 横断面の顕微鏡写真
c. 錐体視細胞の配列模式図
ROA; かん体外節層, COS; 錐体外節層, ONL; 外顆粒層,
INL; 内顆粒層, GCL; 神経節細胞層, LS; 長単錐体,
SD; 複錐体副細胞, LD; 複錐体主細胞, SS; 短単錐体

も層状構造をなしており、成体では、かん体外節、錐体外節、錐体内節・核、かん体内節・核という順序に層をなしている(図2a)。メダカの錐体には、長単錐体、短単錐体、主細胞と副細胞からなる複錐体の4種類ある。これら4種類の錐体視細胞は形態的にはっきり区別されるだけでなく、同じ層内でモザイク状(矩形)に配列している(図2b, c)。

メダカは、かん体の視物質ロドプシンの他に、紫外感受性、青感受性、緑感受性、赤感受性視物質を持っている。それらは各4種類の錐体におのおの含まれている。紫外感受性視物質は短単錐体に、青感受性視物質は長単錐体に、緑感受性視物質は複錐体の副細胞に、赤感受性視物質は複錐体の主細胞に各々含まれている(図3)²⁾。カラー撮像管やカラーCCDカメラの場合は3色のカラーフィルターを通った像を撮影しているが、メダカ網膜では波長特性の異なるフォトダイオードをきれいに並べたような構造になっている。

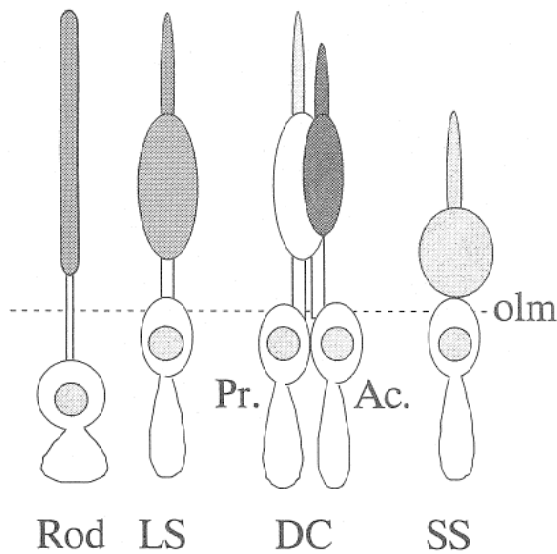


図3 メダカ視細胞の種類(Hisatomi *et al.* (1997)改変)
Rod; かん体, LS; 長単錐体, DC; 複錐体, Pr; 主細胞, Ac; 副細胞, SS; 短単錐体, olm; 外境界膜

最近世界的によく用いられている硬骨魚ゼブラフィッシュでも4種類の形態の異なる錐体がメダカとは少し異なるモザイク(列状)を作っている。このような錐体視細胞の規則的な配列は多くの魚類とは虫類に見られ、色覚に関与するだけでなく、運動の検出や時空間分解能の向上に役立つと推定されている。また、錐体視細胞の配列に対応して水平細胞・双極細胞・神経節細胞も規則的に配列しており、色覚情報

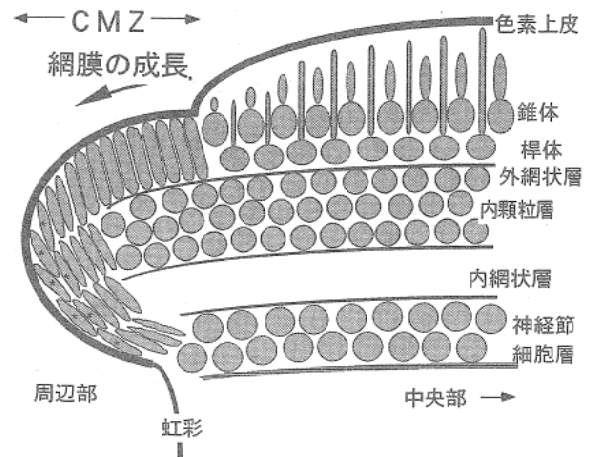


図4 メダカ網膜周辺部の細胞分化の模式図

処理を行う機能単位(モジュール)を形成していると考えられている。

魚類の場合は体の成長に伴って網膜も成長し、新たに作られた視細胞やその他の神経細胞が網膜周辺部に付加していくことが知られている(図4)。従って、成長過程の網膜では神経細胞の生成・分化・組織構築を連続的に観察することができる。また、新しく生じた神経節細胞からは視神経が脳へ伸長しシナプス結合が形成されるが、このとき脳は片側にしか成長しないので、脳と視神経の間のすべてのシナプス結合が常に解離・再結合を繰り返している。従って魚類の網膜は神経組織の再生の研究にも適していると考えられる。

脊椎動物の網膜の発生過程では、網膜幹細胞から均一な神経前駆細胞の集団が生じ、細胞同士の相互作用によって運命決定され、特定の形質を持った神経細胞に分化すると考えられている。視細胞の規則的な配列の構築原理を理解するには、分化運命を制御する細胞間のコミュニケーションを明らかにしなければならない。近年、神経節細胞の分化の仕組みについてごく部分的に解明されてきたが、網膜全体の分化の仕組みを理解するまでには至っていない。

網膜の規則的な構造が形成されるためには、特定の種類の神経細胞が特定の場所に形成されることが必要である。また、細胞同士の接着性を制御することによって、特定の順番で細胞が配列すると考えられている。

メダカの網膜に見られるような規則的な錐体視細胞の配列から、細胞運命を決定する相互作用の様式や、細胞接着の様式はある程度予測される。同じ種

類の錐体視細胞が隣り合わないようになっていることが注目される。このような規則的構造の形成に関わる分子を同定することがこれからの課題である。

4. 発生過程での視細胞の配列と視物質の発現

錐体視細胞の規則的な配列は、どのような順序で形成されるのであろうか。錐体視細胞の種類を識別することができる分子的な目印は、いまのところ錐体視物質しか知られていない。そこで、錐体視物質遺伝子の発現を指標にして、網膜の形成過程における細胞の配列形成と錐体視細胞の分化が観察された。その結果、錐体視細胞はほぼ同時に形成され、規則的な配列が形成されたあと、しばらくたってから錐体視物質が発現することが明らかにされた¹⁾。一方、網膜の成長に伴って新しく作られた錐体視細胞では、錐体視物質の発現が始まる頃にはまだ規則的な配列が形成されていない。我々はこの網膜の成長に伴って起こる錐体視細胞の分化過程に注目して研究を行っている。今後の課題は、視物質よりも早い時期に、特定の種類の錐体視細胞だけに発現する遺伝子を検索することである。

5. 視物質の遺伝子発現調節

先に述べたように、細胞分化や維持の機構を理解することとは、特定の細胞に特定の遺伝子の発現する仕組みを明らかにすることに他ならない。多種類の神経細胞からなる脳の機能発現を理解するためには、組織中のすべての細胞に発現する遺伝子ではなく、ごく限られた細胞にのみ発現し、特殊な機能を与える遺伝子の発現調節機構を理解することが重要である。網膜における錐体視物質の発現はまさにこの目的にかなった現象である。

ほ乳類では、かん体の視物質ロドプシンについて、

その発現調節の仕組みの一部が明らかにされつつある。2種類のDNA結合タンパク質、Nr1とCRXは、それぞれロドプシン遺伝子上流配列に結合し、遺伝子発現を活性化することが分かったが、これらはいずれもかん体だけに発現する遺伝子ではない。したがって、特定の種類の視細胞でのみ視物質を発現させる仕組みは明らかになっていない。

ほ乳類では、他の脊椎動物ほど視細胞の分化が明瞭ではなく、かん体と錐体に共通に発現する遺伝子が多く見られるのに対して、メダカでは各種の視細胞は形態的にも明瞭に分化しており、かん体と錐体で発現する遺伝子の多くが異なっている。我々は現在、メダカの錐体視物質を用いて、細胞種特異的な遺伝子発現調節機構の解明に取り組んでいる。

終わりに

ヒトなどのほ乳類では、網膜中で視細胞が魚類ほどきれいに配列しているようには見えない。細胞の配列制御が魚類ほど明確に制御されていないように見える。このことからほ乳類の方が劣っているのではないと思われる向きもあろうが、そうではなく、魚類の制御機構が基本であって、ほ乳類では、その基本機構に一見乱れと見えるような機構が入って情報エントロピーを増やし、きめ細かな制御が行われていると考えられる。従ってメダカを用いた研究は、ほ乳類などの高等脊椎動物の細胞分化・維持機構の研究の基本的な大事な基礎研究と言えよう。

参考文献

- 1) Y. Nishiwaki, T. Oishi, F. Tokunaga and T. Morita (1997) *Zool. Sci.*, 14, 795-801.
- 2) O. Hisatomi, T. Satoh and F. Tokunaga (1997) *Vision Res.*, 37, 3089-3096/3.

