



Title	EFFECT OF Bcl-2 OVEREXPRESSION ON ESTABLISHMENT OF IPSILATERAL RETINOCOLLICULAR PROJECTION IN MICE
Author(s)	矢倉, 徹
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/45221">https://hdl.handle.net/11094/45221</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名 矢 倉 徹<sup>とある</sup>

博士の専攻分野の名称 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 第 18205 号

学 位 授 与 年 月 日 平成 15 年 11 月 28 日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第 4 条第 1 項該当

医学系研究科情報伝達医学専攻

学 位 論 文 名 EFFECT OF Bcl-2 OVEREXPRESSION ON ESTABLISHMENT OF IPSILATERAL  
RETINOCOLLICULAR PROJECTION IN MICE  
(マウス同側性視神経投射の形成過程における *bcl-2* 過剰発現の影響)

論 文 審 査 委 員 (主査)

教 授 福田 淳

(副査)

教 授 津本 忠治 教 授 不二門 尚

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 〔 目 的 〕

脊椎動物の中樞神経系の回路形成には、投射の一部がその後の成熟過程で消失することがしばしば観察されている。例えば、出生前後の齧歯類の網膜神経節細胞は同側の上丘や外側膝状体に広く軸索投射しているが、生後発達の過程で上丘吻内側部の一部や外側膝状体背側核の中心部の投射を残して、それ以外の異所性投射が消失する。この異所性同側投射の消失は、多数の網膜神経節細胞が自然的細胞死を起こす時期と一致することから、異所性に投射する同側軸索の起始細胞が選択的に細胞死を起こし消失するためであると考えられてきた。しかし、近年ではこの異所性同側投射の消失に軸索の退縮が重要であるという報告もされており、投射消失は細胞死によるものか軸索の退縮によるものか、まだ結論が得られていない。

そこで本研究では、視神経投射における異所性同側投射消失にとって、その起始細胞である網膜神経節細胞の死が不可欠であるか否かを明らかにしようとした。もし異所性同側投射の消失に網膜神経節細胞の細胞死が不可欠であるなら、細胞死を抑制すると異所性投射が残存するはずである。この推論に基づき、網膜神経節細胞の細胞死を抑制した *bcl-2* (抗アポトーシス遺伝子) 過剰発現マウスにおいて、異所性同側投射が残存しているか否かを検討した。

### 〔 方法ならびに成績 〕

*bcl-2* 過剰発現マウス (グラクソウェルカムより供与) では、ヒト *bcl-2* 遺伝子が neuron-specific enolase のプロモーター領域の下流に挿入されているため、胎生期 13 日目から神経細胞特異的に過剰発現する。その結果、生後発達期における網膜神経節細胞の自然的細胞死が抑制されている。実験に用いた *bcl-2* 過剰発現マウスは 11~59 週齢、野生型マウスは 16~25 週齢であり、全て成熟マウスであった。

*bcl-2* 過剰発現マウスにおいて同側上丘に投射をしている網膜神経節細胞の細胞死が抑制されていることを確認するため、片側上丘表面全体に蛍光色素 granular blue の結晶を埋入し、同側投射をする網膜神経節細胞を逆行性に標識した。同側投射細胞は、野生型マウスと同様に大部分が下部側頭側網膜に分布していた。しかしその数を測定した結果、同側網膜において逆行性標識された神経節細胞数は、野生型マウスの標識細胞数の約 2 倍 (野生型: 1558±132、

*bcl-2* 過剰発現型：3033±306）であった。このことから、*bcl-2* 過剰発現マウスでは同側投射細胞の細胞死が強度に抑制されていることが分かった。

そこで、*bcl-2* 過剰発現マウスにおいて異所性同側投射が残存するか否かを検証するため、その同側性視神経終末を順行性に標識した。片側の眼球硝子体内に5%WGA-HRPを3  $\mu$ l注入しTMB発色により軸索終末を可視化した。その結果、*bcl-2* 過剰発現マウスの視神経終末の同側上丘における分布域は野生型と同様に上丘吻内側部に集中し、吻内側部以外の異所性同側投射は消失していた。また、残存軸索終末は、パッチ状のクラスターを形成していた。同側の外側膝状体背側核における視神経終末部は、核の中心部に集中し、それ以外の投射は消失していた。以上の上丘及び外側膝状体背側核への同側性視神経投射の分布パターンは、成熟した野生型マウスのものと同じであった。

#### 〔 総 括 〕

これまで、生後発達過程で生じる視神経の異所性同側投射の消失は網膜神経節細胞の細胞死によって生じるという仮説が長らく信じられてきた。しかし、今回の実験では、同側投射する網膜神経節細胞の細胞死が強度に抑制されていたにも関わらず、上丘及び外側膝状体での異所性同側投射が消失することが明らかになり、この異所性投射の消失は網膜神経節細胞の細胞死と無関係であるという結論が導き出された。つまり、発達過程での異所性同側投射の消失は、従来からの定説であった網膜神経節細胞の細胞死によるものではなく、おそらく発達初期に広範囲に広がっていた同側投射軸索が上丘吻内側部や外側膝状体背側核の中心部まで退縮することによって達成されるものと思われる。

#### 論文審査の結果の要旨

哺乳動物の視神経投射の発達過程で、視覚中枢への同側投射は発達の初期に広範囲に広がり、その後、次第に限局してゆく。この発達過程での異所性同側投射の消失はその起始細胞である網膜神経節細胞の細胞死によるものであるという説が長らく信じられてきた。しかしながら、この仮説を実験的に検証した研究はなく、近年、この異所性同側投射の消失に軸索の退縮過程が関与していることを示唆する報告もでてきている。そこで、改めてこの細胞死仮説が正しいかどうかを実験的に検証する必要性が生じてきた。

本研究は、この発達神経生物学上の重要な課題について、神経細胞死を特異的に抑えることのできる遺伝子改変動物を用いて、網膜－視神経投射を形態学的手法を駆使して解析したものである。その結果、細胞死がなくとも、異所性同側投射の消失は起こるという事実をつかんだ。つまり、これまで長らく定説とされてきた細胞死仮説を決定的に覆す知見を得ることに成功した。従って、本研究は、中枢神経系の発達過程における神経投射のリモデリング機序の解明に大きく寄与するもので、学位の授与に値するものと考えられる。