

【目的】 網膜の細胞種は、大きく 5 種類のニューロン（視細胞、双極細胞、神経節細胞、水平細胞、アマクリン細胞）と 1 種類のグリア細胞から成る。2 次ニューロンである双極細胞には、明るくなるとより活動する ON 型双極細胞と暗くなるとより活動する OFF 型双極細胞が存在し、3 次ニューロンである神経節細胞も ON 型と OFF 型に分かれる。視覚においては ON・OFF 経路による並列情報処理がショウジョウバエからヒトに至るまで行われることが特徴である。しかしながら、視細胞が受けた「明暗コントラスト」「輪郭」「動き」「色」といった情報が、どのように ON 経路と OFF 経路に振り分けられ、情報処理されるかはほとんど不明であり、特異的シナプスの形成と維持のメカニズムの理解は非常に重要であるが、その分子機構はいまだによく分かっていない。これまでに、筋ジストロフィーの原因分子の一つである膜蛋白質ジストログリカンと視細胞シナプスに局在する分泌蛋白質ピカチュリンが直接相互作用し、視細胞-双極細胞の特異的シナプス形成を制御することを明らかにした。また、視細胞シナプスに局在するシナプス形成因子である *Lrit1* と足場蛋白質 *Frmpd2* や双極細胞プレシナプスに局在するグルタミン酸レセプター *mGluR6* と相互作用することにより、*Lrit1*-*Frmpd2*-*mGluR6* 複合体を形成し、今まで不明であった錐体視細胞の ON 経路におけるシナプス形成を制御していることを報告している。しかし、これらのシナプス形成因子がどのようなメカニズムで機能しているのかその全体像は明らかとなっていない。一方で、これらの ON・OFF 回路形成には数種類の視細胞に対して、10 数種類の双極細胞が接続することが知られているが、これらの細胞の分化過程やシナプス制御因子の細胞種特異的な遺伝子発現機構は明らかとなっていない。網膜視細胞分化においてホメオボックス転写因子である *Otx2* と *Crx* が重要な役割を担っていることが明らかとなりつつあるが、いずれも視細胞や双極細胞、それらの前駆細胞に発現し相互にホモロジーが高く構造的に類似しているが、発現時期や細胞種による発現量の差があり、視細胞と双極細胞の分化や成熟にどのように機能しているか明らかではない。これらの ON・OFF 回路の形成におけるシナプスの形成因子とこれらの細胞の分化や発現制御を行う転写因子について *in vivo* モデルを使った研究を行った。

【方法】 ピカチュリン欠損マウスの網膜における、*Gpr179* の局在を解析することを試みた。1 ヶ月齢の野生型マウスとピカチュリン欠損マウスから、作製した凍結切片を用いて *Gpr179*/*Rgs11* の蛍光免疫染色を行いコンフォーカル顕微鏡による観察を行った。また、*Otx2* と *Crx* の遺伝子を置き換えたマウス (*Otx2* KI、*Crx* KI マウス) を作製し、その表現型を観察した。

【結果】 野生型マウスでは視細胞のシナプスに、*Gpr179* と *Rgs11* の局在が見られたが、ピカチュリン欠損マウスではこれらの局在が消失していることが観察された。このことから、*Gpr179* と *Rgs11* の局在はシナプスマトリクス蛋白質であるピカチュリンの存在に依存していることが明らかとなった。一方、*Otx2* 遺伝子座を *Crx* と置き換えた *Crx* KI マウスの網膜では、正常な視細胞前駆細胞が生産されず異常な前駆細胞は細胞死を起こした。*Crx* 遺伝子座を *Otx2* と置き換えた *Otx2* KI マウスでは正常な視細胞が形成されず異常な視細胞が形成された。*Otx2* と *Crx* は互いに機能を代替することができず、大きく機能が異なっていることが明らかとなった。

網膜 ON・OFF 回路形成を制御するシナプス形成因子

