

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年6月7日現在

機関番号：13301

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22700333

研究課題名（和文） 高次視覚中枢における Wnt シグナルによる retinotopy 制御機構

研究課題名（英文） Regulation of retinotopy by Wnt signaling
in the higher order visual center

研究代表者

佐藤 純 (Sato Makoto)

金沢大学・フロンティアサイエンス機構・特任准教授

研究者番号：30345235

研究成果の概要（和文）：

網膜において受け取られた視覚情報は平面上の位置関係を保ったまま脳に伝えられる。このような retinotopy と呼ばれる対応関係は視覚系の様々な階層において見出される。しかし、脳の視覚中枢における retinotopy 形成機構はほとんど分かっていない。本研究ではショウジョウバエの脳視覚中枢における Wnt ファミリー分子の役割に着目し、高次視覚中枢において retinotopy を制御する分子機構の一端を明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

When visual information received in the retina is transmitted to the brain, the spatial order of retinal axons is preserved in the spatial order of their targets. Such retinotopic projections are observed throughout the visual system. However, molecular mechanisms that establish the retinotopy in the higher order visual center remain elusive. In this study, we focused on the roles of Wnt family proteins in the fly visual center and revealed key mechanisms that form the retinotopy in the higher order visual center.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2011年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：神経発生学

科研費の分科・細目：脳神経科学・神経科学一般

キーワード：脳・神経、神経科学、神経回路、視覚系、Wnt

1. 研究開始当初の背景

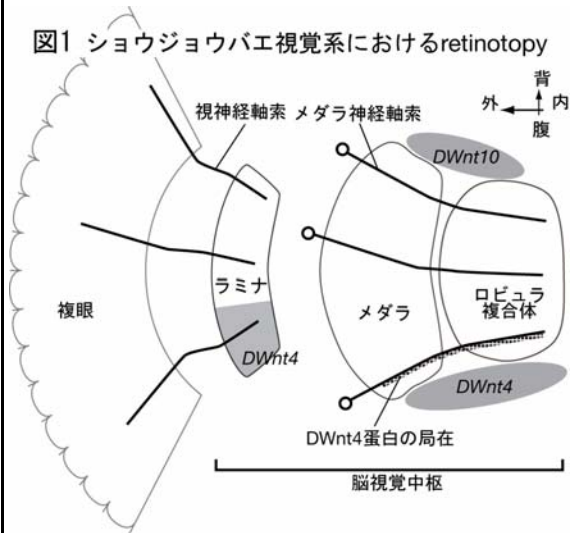
高等動物の網膜において受け取られた視覚情報は平面上の位置関係を保ったまま脳に伝えられる。このような retinotopy と呼ばれる対応関係は視覚系の様々な階層において見出される。視神経の retinotopy 形成については研究が進んでおり、ハエからほ乳類に至るまで Wnt ファミリー分子による軸索走行制御が重要な役割を果たすことが知られている。しかし、脳の高次視覚中枢における retinotopy 形成機構はハエでもほ乳類でもほとんど分かっていなかった。ハエなどのより単純なモデル系において高次視覚中枢における retinotopy 制御機構を明らかにすることは、ほ乳類などより高等な生物における同様な制御機構を理解する上で非常に重要であると考えられる。

2. 研究の目的

ハエおよびほ乳類において Wnt ファミリーの分泌蛋白質が視神経軸索投射において重要な役割を果たす。ハエの視神経軸索の投射先のラミナでは腹側特異的に DWnt4 が発現し、腹側視神経軸索がラミナの腹側へ投射するよう軸索走行を制御する。一方、ハエの視覚中枢において DWnt4 は腹側において発現し、近傍の神経軸索表面上に局在するがその役割は分かっていない(図 1)。また、DWnt4 とは逆に DWnt10 は視覚中枢において背側特異的に発現する(図 1)。DWnt10 はハエの Wnt ファミリー蛋白質の中でも機能未知であり、ほとんど解析が進められていない。DWnt4 と DWnt10 が発現していることから、視覚中枢においては視神経軸索走行の制御と似ているがより高度な分子機構が働いていると推測される。本研究ではショウジョウバエの脳視

覚中枢における Wnt ファミリー分子の役割に着目し、保存された分子機構を解明することを目的とした。

図1 ショウジョウバエ視覚系におけるretinotopy



3. 研究の方法

DWnt10 については相同組換の手法により変異体を作製する。また、抗 DWnt10 抗体を作製し、DWnt10 蛋白質の局在を調べ、DWnt4 および Dfz2 の局在と比較する。DWnt4 変異体のバックグラウンドにおいて DWnt10 をノックアウトし、DWnt4 DWnt10 の二重変異体を作製を試みる。

Dfz2 を強制発現し、DWnt4 および DWnt10 の局在がどのように変化するか調べる。

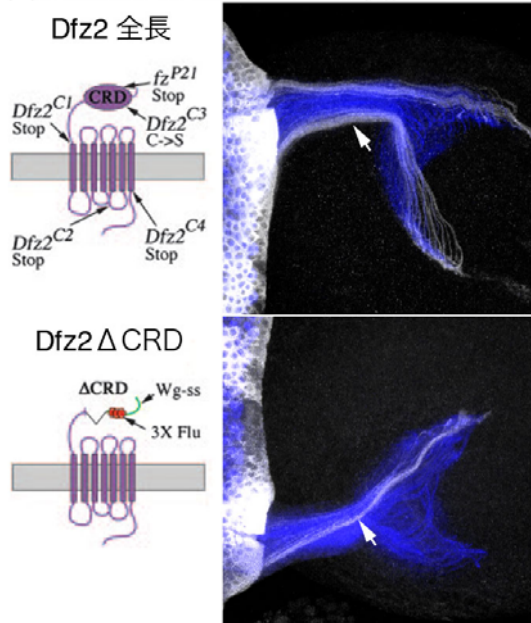
DWnt4 および DWnt10 変異体に特定の神経細胞において発現する Gal4 系統を組み込み、それぞれの変異体における軸索投射の異常を解析する。

DWnt4 および DWnt10 のシグナル伝達機構を調べるため、Dfz2 の変異体に Dfz2 の様々な変異型遺伝子を発現させ、どの程度の表現型がレスキューされるか解析する。

4. 研究成果

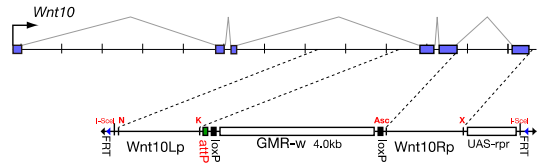
DWnt4 の受容体である Dfz2 は、細胞外ドメインに Wnt リガンドが結合すると細胞内に情報を伝達する。これまで、リガンドの1つである Wg のシグナルについては Dfz2 の細胞外ドメインは必要無く、細胞外ドメインを欠いた Dfz2 でも変異体の表現型がレスキューできると報告されていた。しかし、DWnt4 の働きに関しては細胞外ドメインを欠いた Dfz2 では変異体の表現型がレスキューされなかったことから、同じ Dfz2 を介するにも関わらず、Wg と DWnt4 ではシグナル伝達の分子機構が大きく異なることが示唆された(図 2)。

図2 Dfz2のCRDドメインの役割



DWnt10 については相同組換の手法により変異体を作製した(図 3)。抗 DWnt10 抗体を作製し、DWnt10 蛋白が DWnt10 を発現する領域近傍の軸索表面に局在していることを見出した。Dfz2 の細胞外ドメインを異所発現すると DWnt4 蛋白質の局在を誘導したが、DWnt10 に関してはそのような現象は見出されなかった。Dfz2 は DWnt10 の受容体ではないのかもしれない。

図3 DWnt10ノックアウト



5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4 件) 全て査読有

- ① Hasegawa, E., Kitada, Y., Kaido, M., Takayama, R., Awasaki, T., Tabata, T. and Sato, M. "Concentric zones, cell migration and neuronal circuits in the *Drosophila* visual center." **Development**, 138: 983-993, 2011, doi:10.1242/dev.058370
- ② Shimizu, K., Sato, M. and Tabata, T. "The Wnt5/Planar cell polarity pathway regulates axonal development of the *Drosophila* mushroom body neuron." **Journal of Neuroscience** 31, 4944-4954, 2011, DOI:10.1523/JNEUROSCI.0154-11.2011
- ③ Kawamori, H., Tai, M., Sato, M., Yasugi, T. and Tabata, T. "Fat/Hippo pathway regulates the progress of neural differentiation signaling in the *Drosophila* optic lobe." **Development Growth and Differentiation** 53, 653-667, 2011, DOI: 10.1111/j.1440-169X.2011.01279.x
- ④ Ogiso, Y., Tsuneizumi, K., Masuda, N., Sato, M. and Tabata, T. "Robustness of the Dpp morphogen activity gradient depends on negative feedback regulation by the inhibitory Smad, Dad." **Development Growth and Differentiation** 53,

668-678, 2011, DOI: 10.1111/j.1440-169X.2011.01274.x

〔学会発表〕（計4件）

① Suzuki, T., Kaido, M., Takayama, R. and Sato, M. “Molecular basis of the production of neuronal diversity in the *Drosophila* visual center” Annual *Drosophila* Research Conference, 2012年3月7-11日, Sheraton Chicago Hotel & Towers (USA)

② 鈴木 匠、海道 雅子、高山 理恵、佐藤 純「ショウジョウバエ視覚中枢において神経細胞の多様性を産み出す分子機構の解析」日本分子生物学会年会, 2011年12月13日, パシフィコ横浜

③ Hasegawa, E., Kaido, M., Takayama, R., Tabata, T. and Sato, M. “Brain-specific-homeobox is required for the specification of neuronal types in the optic lobe” Cold Spring Harbor Laboratory Meeting on Neurobiology of *Drosophila*, 2011年10月3-7日, コールドスプリングハーバー研究所 (USA)

④ Sato, M. “Concentric zones, cell migration and neuronal circuits in the *Drosophila* visual center” Gordon Research Conference, Visual System Development, 2010年5月24日, Il Ciocco Hotel and Resort (イタリア)

〔図書〕（計1件）

① 佐藤 純, クバプロ「ブレインサイエンス・レビュー2010」2010年, 159頁-184頁

〔その他〕

ホームページ等

<http://fsosato.w3.kanazawa-u.ac.jp/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐藤 純 (Sato Makoto)

金沢大学・フロンティアサイエンス機構・
特任准教授

研究者番号: 30345235

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 連携研究者

該当なし