

網膜軸索路形成のガイダンス因子としてのコンドロイチン硫酸プロテオグリカン

一條 裕之(筑波大学大学院人間総合科学研究科、感性認知脳科学専攻)

網膜から高次の中樞である視蓋への軸索路形成は神経回路網形成を探索するためのよいモデルとして古くから用いられている。神経軸索と成長円錐はその経路に配置されたガイダンス因子を手がかりに、適切な経路を伸長し、標的にたどり着き、回路を形成する。私たちは網膜神経節細胞の軸索路形成を理解するために、ガイダンス因子の探索を行ってきた。網膜神経節細胞の軸索は視交叉を通過し、反体側の間脳の表面を走行し、視蓋へと至る。このとき終脳と間脳の境界に接して、背側へ伸長するが、前方の終脳へ侵入することはない。ゼブラフィッシュにおいて、網膜軸索が前方へ侵入する表現型をしめす突然変異が数種類同定されており、網膜軸索が前方の終脳へ侵入することを妨げる機構が存在することを示唆する。

網膜軸索が終脳へ侵入することを妨げる機構を調べるために、共培養実験を確立した。終脳細胞は網膜神経節細胞の軸索伸長を抑制した。軸索伸長抑制活性は終脳細胞条件付け培地と終脳由来の膜表面性分子の分画に観察された。また膜分画の軸索伸長抑制活性は熱に安定であったが、chondroitinase ABC で破壊された。これらの結果は終脳細胞が分泌するコンドロイチン硫酸プロテオグリカン(CSPGs)、特にその糖鎖コンドロイチン硫酸(CSs)、が網膜軸索伸長を抑制することを示している。

生体内における CSs の役割を調べるために、chondroitinase ABC を軸索路形成期胚の側脳室に注入し、内在性の終脳 CSs を破壊し、網膜軸索路形成に及ぼす影響を検討した。網膜軸索は終脳間脳境界に接して走行して視索の前方境界を作るが、CSs の広範な破壊によって視索の境界が前方の終脳方向へシフトした。CSs は視索の前方境界の規定に関与するガイダンス因子の一つであると考えられる。

chondroitinase ABC 処理は培養実験において軸索伸長抑制活

性をほぼ完全に破壊し、生体内実験において軸索路形成に影響する。これらの結果は、CSPGs のコア蛋白というよりも、糖鎖 CSs が軸索ガイダンスに関わることを示唆する。一般に糖鎖は蛋白性因子と結合し、足場を与え、因子の機能を調節し、間接的に細胞機能へ影響すると考えられている。しかしながら、私たちの実験においては終脳膜分画に熱処理を加えた場合にも軸索伸長抑制活性が失われず、また無血清培地中でも終脳膜分画の網膜軸索伸長抑制活性が観察される。これらは糖鎖 CSs が軸索ガイダンス因子として直接に機能することを示唆している。加えて CSs は硫酸化によってユニット構造が区別され、これらのユニット構造の組み合わせによって多様な構造が生じることが知られている。網膜軸索路形成における CSs の構造多様性の関与についての検討とその試みについても報告したい。