

## 非膝状体性視覚系におけるペプチド性神経回路

新潟大学大学院医歯学総合研究科感覚統合医学講座神経生物・解剖学分野

(主任：車田正男教授)

目黒 玲子・星野 嘉恵子・松岡 勝人  
白 万柱・車田 正男

Peptidergic Pathways in the Extrageniculate System

Reiko MEGURO, Kaeko HOSHINO, Masato MATSUOKA,  
Wan-Zhu BAI and Masao NORITA

*Division of Neurobiology and Anatomy,  
Department of Sensory and Integrative Medicine  
Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences  
(Director: Prof. Masao NORITA)*

We investigated some peptidergic pathways in the extrageniculate visual system, by employing immunohistochemical and neural tracing methods.

Tectogeniculate pathway was revealed to include some peptidergic projections. There were Substance P (SP)-, vasoactive intestinal polypeptide- and/or cholecystokinin-immunoreactive projections in this pathway. These peptidergic projections occurred in the superficial layers of the superior colliculus (SC) and ended in the lateral part of the dorsal lateral geniculate nucleus.

In the superficial layers of the SC, immunoreactivity for SP receptor was found in the projection neurons while not was seen in the intrinsic neurons. This means outputs from the SC, which primarily could be driven by retinal inputs, are under control of SP. Though the source of SP has not been clarified yet, SP neurons in the SC seem to be one source.

In the pretectum, a special region where SP receptors were densely distributed was found. This region had few retinal inputs. SP receptor immunoreactive neurons in this region were revealed to have commissural projections, such as to the contralateral

---

Reprint requests to: Reiko MEGURO,  
Div. of Neurobiology and Anatomy  
Dept. of Sensory and Integrative Medicine  
Niigata Univ. Grad. School of Medical  
and Dental Sciences  
1-757 Asahimachi, Niigata, 951-8510 Japan

別刷請求先：〒951-8510 新潟市旭町通1番町  
新潟大学大学院医歯学総合研究科感覚統合医学講座  
神経生物・解剖学分野（旧 第二解剖学教室）

目黒 玲子

pretectum and SC. On the other hand, this region received specific projections from the caudal part of the ipsilateral SC. There may exist a SP-ergic tectopretectal pathway making effective contacts with commissural pretectal neurons.

Key words: extrageniculate visual system, peptide, Substance P receptor  
非膝状体性視覚系, ペプチド, P 物質受容体

## はじめに

膝状体性視覚系は、網膜からの情報が直接外側膝状体に入り大脳皮質へ送られる系であるのに対して、非膝状体性視覚系とは、網膜からの情報が上丘や視蓋前域に入り、そこから視床を経て大脳皮質へ送られる系のことである。

この研究を始めた当初、非膝状体性視覚系の視床以下の回路の神経活性物質や神経調節物質などについてほとんど明らかにされていなかった。そこでこの神経回路の特性を明らかにするために、免疫組織化学およびトレーサーを用いて化学的側面から研究を始めた。

## 実験動物および方法

動物は雄雌 adult Long-Evans rat を使用した。

逆行性・順行性の両方向性トレーサーである WGA-HRP, あるいは逆行性の蛍光トレーサーである FastBlue を、脳定位固定装置で固定保持されたラット脳の目的の場所へマイクロシリンジにて微量注入した。2日から5日の生存期間ののち灌流固定し、脳を取り出し、凍結ミクロトームにて40μm厚の前額断切片を製作した。それら切片を WGA-HRP の可視化反応、免疫組織化学に供した。

免疫組織化学について、抗ペプチド抗体、すなわちサブスタンス (SP), vasoactive intestinal polypeptide (VIP), cholecystokinin (CCK) それぞれに対する抗体と、抗 NK1 受容体抗体 (岡崎生理研の重本先生から頂いたもの)<sup>1)</sup> とを一次抗体として使用した。二次抗体は、ビオチン化抗体、あるいは蛍光標識抗体を使用した。ビオチン化抗体に対しては、さらにアビジンビオチン複合体を反応させ、その複体内 HRP を diaminobenzidine (DAB) で可視化した。これら反応は、前記トレーサー実験脳および無処置脳の前額断切片に対して施された。

## 上丘から外側膝状体へのペプチド性投射

上丘浅層の帯状層および浅灰白層 (上丘第一層および

第二層) に SP, VIP, CCK 免疫陽性細胞および線維が認められた<sup>2)</sup>。上丘浅層の視索層 (第三層) には認められなかった。一方外側膝状体背側核の外側部、ここは同側上丘からの投射線維が終止する領域であるが、そこに SP, VIP, CCK 免疫陽性線維がみられた。そこで、カイニン酸の限局注入により上丘浅層ニューロンを壊死にいたらしめ、外側膝状体背側核のペプチド線維が消失するか否かを調べた。結果、カイニン酸注入側において、外側膝状体背側核の SP, VIP, CCK 免疫陽性線維の消失が見られた<sup>2)</sup>。以上から、上丘から外側膝状体への投射が SP, VIP, CCK 性であることが示唆された。さらに、外側膝状体のペプチド免疫陽性線維を電顕的に観察し、免疫陽性神経終末が、外側膝状体の神経要素とシナプス (非対称性) を形成することを確認した<sup>3)</sup>。

上丘の帯状層および浅灰白層から外側膝状体背側核への投射は、網膜の W 系神経節細胞の入力を受け<sup>4)</sup>、W 細胞様受容野を持つ小型ニューロンが多く分布する外側膝状体背側核外側部<sup>5)</sup> に終わっている。そこからは一次視覚野へ投射している。一方上丘の視索層は、網膜の Y 系神経節細胞の入力を受け、視床後外側核へ投射し、後外側核からは一次・二次視覚野へ行く。これらは、明らかに異なる視覚情報を皮質へ運ぶ別のチャネルであると考えられる。この一方のチャネルの上丘浅層から外側膝状体背側核への投射の特徴が、ペプチド性であるということを明らかにした。そして、少なくとも、SP, VIP, CCK という3種のペプチドがみられることがわかった。この3種の間の共存関係はまだ明らかになってはいないが、予備の実験において、SP と VIP とは共存していなかった。このことから、上丘浅層から外側膝状体背側核への投射系にもさらに複数のチャネルがある可能性が考えられた。

## 視覚系中継核の SP 受容体免疫活性

SP が属する Tachykinin というペプチド群の受容体、Tachykinin 受容体の構造が近年明らかにされた。これまでのところ NK1, NK2, NK3 の3つのサブグループが確認されているが、NK1 受容体が SP の選

的受容体である。ラット視覚系中継核が SP 免疫活性を示したことから、SP 受容体の分布について NK1 受容体に対する抗体を用いて調べた。

上丘浅層および視蓋前域に SP 受容体免疫活性が認められた。一方、外側膝状体背側核には認められなかった。このことから、外側膝状体における神経終末にみられた SP は、後シナプス要素に対し無効であると考えられた。上丘から外側膝状体への SP 性投射ニューロンは、軸索側枝によって、他の場所で有効な SP 情報伝達をおこなっている可能性が高い。

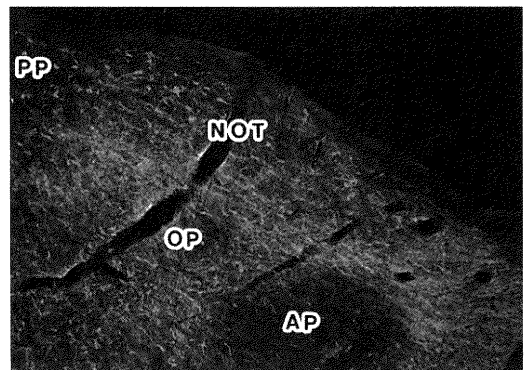
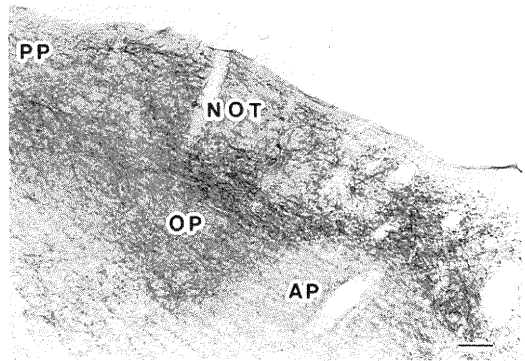
### 上丘浅層の SP 受容体免疫陽性ニューロン

上丘浅層の各層において SP 受容体免疫陽性ニューロンがみられた<sup>6)</sup>。上丘浅層には SP 性細胞体のほか SP 性神経線維もみられたことから、有効な SP 伝達が行なわれていると考えられた。帯状層および浅灰白層の投射ニューロンは外側膝状体背側核や二丘体傍核へ、視索層の投射ニューロンは視床後外側核へ投射するので、それら投射先へ逆行性トレーサーを注入し、SP 受容体免疫活性との二重標識をおこなった。その結果、浅灰白層の SP 受容体免疫陽性ニューロンは大部分が外側膝状体背側核あるいは二丘体傍核へ投射していることがわかった。また、視索層の SP 受容体免疫陽性ニューロンの大部分が視床後外側核へ投射していた<sup>7)</sup>。

上丘浅層の SP 受容体陽性ニューロンの大部分が投射ニューロンであることが明らかになった。SP 性線維の入力源は明らかになってはいないが、上丘浅層内の SP ニューロンはその候補であると考えられる。その場合、SP 性投射ニューロンの反回枝、あるいは SP 性内在型ニューロンの神経線維を受けることになる。SP 受容体陽性ニューロンは直接網膜からの入力を受けることを確認している<sup>7)</sup>、網膜入力を受けて投射する SP 受容体を持つニューロンに対し、SP は何らかの調節作用をしていることが考えられる。投射型ニューロンの反回枝由来ならばフィードバック的、内在型ニューロン由来であればフィードフォワード的調節をしているのであろう。

### 視蓋前域の SP 受容体免疫陽性ニューロンを巡る神経回路

視蓋前域は、上丘腕の直下にあつて、吻尾方向に延びる垂核が内外に並ぶ領域で、その多くの垂核が直接網膜からの入力を受ける。垂核の境界には網膜入力がない領域があるが、この領域に SP 受容体が密に分布してい



上図 視蓋前域の SP 受容体免疫染色像（明視野像）

下図 視蓋前域における上丘からの投射線維の終止パターン（暗視野像）

上・下図は同一ラット脳の隣接切片である。略字は視蓋前域の垂核を示し、NOT：視蓋前域視索核、PP：視蓋前域後核、OP：視蓋前域オリブ核、AP：視蓋前域前核である。これら垂核の境界領域に強く SP 受容体免疫活性がみられ、その領域に一致して上丘からの投射線維の終止がみられた。スケールバーは 0.1 mm を示す。

た（図・上）。特に視蓋前域視索核の周囲に強く免疫活性が認められた。視蓋前域の垂核境界領域に弱いながら SP 免疫活性を確認できたので、この領域の SP 性神経線維は有効な SP 伝達をおこなっていると考えられた。

どのような神経回路を形成しているニューロンが SP 受容体を持っているのかを明らかにするため、視蓋前域からの投射が明らかになっているいくつかの領域に逆行性トレーサーを注入し、SP 受容体免疫活性との二重標識を試みた。その結果、同側の上丘浅層、反対側の視蓋前域、反対側の上丘浅層へ投射するニューロンに SP 受容体陽性のものが確認された<sup>8)</sup>。外側膝状体や下位脳

幹への投射ニューロンには SP 受容体活性はみられなかった。

続いて、視蓋前域の SP 受容体陽性領域へどこからの入力があるのかを明らかにするため、視蓋前域への入力が見られている各領域に順行性のトレーサーを注入し、検討した。同側の上丘尾側外側部にトレーサーを入れた例においてのみ、SP 受容体陽性領域に一致した入力パターンがみられた(図・下)。上丘浅層には投射型 SP 含有ニューロンがあることから、それら SP ニューロンがこの上丘尾側部から視蓋前域への投射に関与することが考えられた。

以上から、視蓋前域の非網膜入力領域に主に分布する SP 受容体を持つニューロンは、反対側の視蓋前域および上丘へ投射する交連性ニューロン、あるいは同側上丘へ投射するニューロンで、これらの投射系は、同側上丘浅層からの視覚情報を受けている。そしてその視覚情報には SP 性のものが含まれ、SP による調節を受けているであろうことがわかった。

#### おわりに

非膝状体性視覚系の上丘浅層を中心とした神経回路の解析をおこなった。ペプチドおよびペプチド受容体の検索により、複雑な神経回路が内包されていることが明らかとなった。ペプチドは、一般に、低濃度で受容体に作用し、持続的作用を引き起こすと考えられている。この一連の研究で精査した系は、ペプチド、あるいはペプチド受容性を有していたが、アミノ酸主体の速い伝達系とは性格を異にする、長期的・volume transmission 的な調節的機能を持つことが想像された。それらの具体的な視機能における意義について今後の検討が必要である。

車田正男教授ほか多くの共同研究者の方々、第二解剖学教室の技官の方々、そして今回発表の機会を与えていただいた新潟医学会に深く御礼申し上げます。

#### 参考文献

- 1) Shigemoto, R., Nakaya, Y., Nomura, S., Ogawa-Meguro, R., Ohishi, H., Kaneko, T., Nakanishi, S. and Mizuno, N.: Immunocytochemical localization of rat substance P receptor in the striatum. *Neurosci. Lett.*, **153**: 157~160, 1993.
- 2) Ogawa-Meguro, R., Itoh, K. and Mizuno, N.: Substance P-, vasoactive intestinal polypeptide-, and cholecystokinin-like immunoreactive fiber projections from the superior colliculus to the dorsal lateral geniculate nucleus in the rat. *Exp. Brain Res.*, **89**: 59~66, 1992.
- 3) 目黒玲子, 伊藤和夫, 小西 昭, 篠永安秀, 水野 昇: 上丘一外側膝状体投射線維のペプチド含有神経終末. 解剖学雑誌, **66**: 376, 1991.
- 4) Hofbauer, A. and Drager, U.C.: Depth segregation of retinal ganglion cells projecting to mouse superior colliculus. *J. Comp. Neurol.*, **234**: 465~474, 1985.
- 5) Brauer, K., Schober, W., Winkelmann, E. and Ganey, L.J.: Topographic differences in retinal axons in the dorsal lateral geniculate nucleus of the rat: a quantitative reexamination using anterograde transport of horseradish peroxidase. *Exp. Brain Res.*, **69**: 481~488, 1988.
- 6) Ogawa-Meguro, R., Shigemoto, R., Itoh, K., Konishi, A. and Mizuno, N.: Immunohistochemical localization of substance P receptor in the superior colliculus, A light and electron microscope study in the rat. *Neurosci. Lett.*, **166**: 135~138, 1994.
- 7) Ogawa-Meguro, R., Takada, M., Shigemoto, R. and Mizuno, N.: Substance P receptor immunoreactivity in the superficial layers of the superior colliculus in the rat. *Neurosci. Res. Suppl.*, **17**: 239, 1992.
- 8) Meguro, R. and Norita, M.: Acta Anat. Nippon: Tracing study about Substance P- receptive areas in the pretectum of the rat. **75**: 110, 2000.