哺乳類の網膜、神経節細胞から発見された光受容器細胞： イソアワモチ眼外光受容器細胞との比較考察

後 藤 司*・西 孝 子**

ネズミ類の網膜の神経節細胞から光に直接応答する神経細胞(光受容器細胞)が発見され、今話題になっている。これまで哺乳類では唯一、桿体・錐体細胞が光信号を受容して、神経節細胞はその信号を単に脳に伝達する中継の神経細胞に過ぎないと考えられていたからである。この発見によって、少なくとも、これまで知られていた瞳孔反射や生物時計について、いくつかの変更が迫られている。そこでこの神経節細胞における光応答性の神経細胞、即ち眼外光受容器細胞の紹介を兼ねて、その役割・意義についてイソアワモチの場合と比較しながら考察したい。

1. はじめに

長い間、眼外の光受容器細胞は無脊椎動物及び鳥類以下の「下等な」脊椎動物に限って備わったものであり、「高等な」哺乳類では眼(網膜)の桿体・錐体細胞のみが光受容器細胞として働いていると考えられていた。ところが、昨年(2002年)から今年にかけて、ネズミ類(ラットとマウス)の網膜の神経節細胞の中に、それ自体、光に応答する光応答性の神経節細胞が存在することが発見され、またその機能に関する新しい発見もなされて、この光受容器細胞に関して、世界中が注目するところとなっている^{3), 9), 12), 15), 19)}。もっとも、3～4年前から、光入力の細胞が必要となる概日リズム、メラトニン分泌抑制作用そして瞳孔反射などの生理学的現象を遺伝子操作による桿体・錐体欠損マウスと正常マウスとで比較した時、何も変わらなかったという結果の下に、哺乳類にも桿体・錐体以外の光受容器細胞が存在することが示唆されていた^{4), 10), 11)}。

先の神経節細胞で発見された光応答性の神経細胞は網膜の桿体・錐体細胞層から離れて、さらに2～3個の神経細胞層を仲介した位置に存在することから、下等脊椎動物の松果体と同様に、正に眼外の光受容器、即ち眼外光受容器細胞と呼ぶことができる。しかしながら、この細胞は桿体・錐体そして松果体の眼外光受容器と異なり、特徴的な繊毛構造を備えていない。従って、当細胞ははるか先に発見されたイソアワモチの中樞神経節に位置する光応答性の神経細胞、眼外光受容器細胞と相同であると考えられる¹⁴⁾。

ここではネズミ類の眼外光受容器細胞について概説し、我々のイソアワモチの成果も加えて、いくつかの考察を試みる。

2. 哺乳類網膜の神経節細胞層と眼外光受容器細胞

図1は哺乳類網膜とその中枢(脳)における光感覚(情報)

の伝達経路を示す。図に示す通り、桿体・錐体からの情報は神経節を経由して、①、②そして③と並列の三つの経路に分かれて脳に送り込まれる。従って、神経節細胞は視覚情報を脳に投射するための中継ニューロンとして働いていることがわかる。

驚くことに、この中継的役割の神経節細胞の中に光に直接応答する細胞が発見された。Berson³⁾とBersonとYau⁹⁾との両研究グループはマウスまたはラットの単離網膜標本に細胞内微小電極法を適用して、特定の神経節細胞から光刺激に対する脱分極性の膜電位変化及び活動電位の発生を記録することに成功した。実験は前もって、視床下部に注入された蛍光色素、ロダミンビーズを逆行輸送することで、記録部位が、視交叉上核(図1-③)に軸索をのばす特定の神経節細胞であることを確認している。また、これらの光応答性の神経節細胞(光受容器細胞)に限って、光受容色素(視物質)、メラノプシンが含まれていることを示した。BersonとYauのグループ⁹⁾はさらに、メラノプシン遺伝子の発現を標識することで、神経節細胞のうち、マウスでは1%(約6000個)ラットでは2.5%(約25000個)の細胞がメラノプシンを含有することを示した。もちろん、この場合、メラノプシン含有の神経節細胞は、その軸索を視交叉上核にのばしていたが、他に外側膝状体(図1-①)、そして上丘及び視蓋前域(図1-②)にも軸索をのばしていることが確認された。なお、メラノプシン遺伝子がヒトから見つかっている¹⁸⁾ので、ヒト神経節細胞の中にも光受容器細胞が存在するものと考えられる。一方、上述の脱分極性の光応答に関して、Bersonグループは分光感度曲線が484nmにピーク(桿体及び三種類の錐体とも異なる)を示し、閾値が 5×10^{11} photons/cm²・sec、桿体の約1万倍ほどであり、最大応答までの時間が20～30秒(桿体、錐体では数msecである)も必要であり、そして順応が極めて起こりにくいと述べている³⁾。これらの光応答の特性は外界の持続的な散乱(自然)光を受容するのに適していると考えられる。

前述の通りメラノプシンを含む、特定の神経節細胞が光に直接応答するという発見を受けて、ProvencioとKay¹⁵⁾及びRubyとO'Hara¹⁹⁾のグループはメラノプシンの役割について調べた。両グループは共に、連続暗条件において、メラノプシンノックアウトマウスの活動リズムの位相が、短い光刺激を与えた時、対照に比較して、40%¹⁹⁾から45%¹⁵⁾だけ減少して後退することを観察した。しかし、桿体・錐体欠損(メラノプシンは正常)マウスを用いた実験では外界の光信号に同調する概日時計の存在が確認された。この光信号の分光感度曲線は神経節における光受容器細胞

*Tsukasa GOTOW, 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科(〒890-8520 鹿児島市桜ヶ丘8-35-1)

**Takako NISHI, 専修大学自然科学研究所(〒214-8580 川崎市多摩区東三田2-1-1)

図1 哺乳類の視覚中枢経路とその役割 桿体・錐体からの光情報は神経節細胞を経由して並列に①外側膝状体、②上丘・視蓋前域、そして③視交叉上核に伝達されて、脳に投射される。経路①は image-forming visual function に、経路②と③は non-image-forming visual function に寄与するとされている。

のそれと同様に480nmのピーク値を示した¹⁵⁾。なお、これらの遺伝子操作を受けた両マウスグループは、共に連続暗条件下での概日リズムが正常マウスと変わらなかった。

これらの結果から、これまでの知見と合わせて、メラノプシン含有の眼外光受容器細胞はその軸索がのびる視交叉上核にある概日時計を正常に動かす光の同調因子(entrainment)であることが示唆された。しかし、暗下での光刺激に対する活動の位相後退の程度が40～45%ということは、光の同調因子としてメラノプシン(含有細胞)の他に、例えば別の光受容色素、クリプトクロームの関与が考えられる^{21), 22)}。

続いて、前出の Berson と Yau グループはメラノプシンが瞳孔(対光)反射に関与することを示した¹²⁾。彼らはメラノプシンノックアウトマウスそして桿体・錐体欠損マウスを用いて弱い光($0.12\mu\text{W}/\text{cm}^2$, 480nm)の場合、縮瞳の程度が両欠損マウスと正常マウスとで差が見られないが、強い光($110\mu\text{W}/\text{cm}^2$, 480nm)の場合、どちらの欠損マウスも正常マウスと比べて縮瞳の程度が不十分であることを示した。即ち、瞳孔反射が正常に作動する条件として、従来の桿体・錐体の他に、新たに、メラノプシン含有の細胞、眼外光受容器細胞が同時に必要になることを示唆した。

従来、哺乳類の視覚には、物体の形や色調を識別する機能、image-forming visual function と外界の明暗を識別したり、瞳孔反射や、概日時計などが関与する機能、non-image-forming visual function とに分けられて、両機能は共に光信号を桿体・錐体だけから入力していると考えられていた。従って上述の両研究グループの最近の発見は、少なくとも視覚の non-image-forming system に対して、メラノプシン含有の光受容器細胞からの新たな光入力的重要性を示したものである。

3. メラノプシンと光受容器細胞

メラノプシンはロドプシンと同族の視物質(光受容色素)として知られ、哺乳類から硬骨魚類まで各綱の脊椎動物の網膜・脳で見つかっている^{23), 17)}。

メラノプシン(melanopsin)は最初、アフリカツメガエルの皮膚に分布する光応答性の色素細胞(melanophores)から発見され、そのアミノ酸配列の系統樹から見ると、脊椎動物の桿体・錐体のロドプシンよりも無脊椎動物のロドプシンに近い光受容色素と考えられている¹⁷⁾。

そこで、先のメラノプシン含有の(眼外)光受容器細胞が系統発生的に色素細胞(pigment cells)に由来すると仮定すれば、この光受容器細胞に由来から、伝統的に視細胞の特徴と言われる微絨毛とか繊毛構造が見られないことを説明できる。即ち、細胞の光受容能とその形態的特徴とは直接関連しないと考えられる。従って、今回発見された哺乳類の光応答性の神経細胞の出現はこの考え(仮説)を支持するもので、この光応答性の細胞と後述のイソアワモチの光応答性の神経細胞とは系統発生的に相同であると考えられる。

4. イソアワモチの眼外光受容器細胞とその機能

軟体動物腹足類イソアワモチの中枢は哺乳類の脳に比べると、ごく単純で神経節として構成される。図2はイソアワモチの中枢とその神経支配を示す模式図である。感覚器(細胞)からの入力の多くは、一次のニューロンを介して直接神経節に送られ、ここで一つか数個の二次のニューロンまたは運動ニューロンを介して出力される。図に示す通り、この中枢神経節にはいくつかの光に直接応答する、光応答性の神経細胞、眼外光受容器細胞が存在する¹⁴⁾。このような眼外光受容器細胞は哺乳類の場合と同様に、視細胞に特

微的な構造、絨毛・微絨毛を欠き、ザリガニやアメフラシではイソアワモチより古くから知られていた^{1), 16)}。

イソアワモチの場合、当該細胞は光信号に対して、一次のニューロンであるが、解剖学的なその分布からも推察されるように、同時に外界の入力信号を出力系に伝達するべく、二次の中継ニューロン(運動ニューロン)としても働いていることがわかっている⁷⁾。従って、先に述べた哺乳類の眼外光受容器細胞は、相同器官として系統発生的に古いイソアワモチの眼外光受容器細胞が温存されたものと考えられる。

イソアワモチ眼外光受容器細胞は、ネズミ類と同様に脱分極性の光応答をするもの(A-P-1, Es-1など)以外に、過分極性の光応答をするもの(Ip-2, Ip-1など)が観察される^{8), 14)}。これら二つの論文で、我々は脱分極性のA-P-1やEs-1、そして過分極性のIp-2やIp-1の各光応答のイオン機構そして各細胞内光情報伝達機構について、電気生理学的及び薬理的に十分な証拠を示し、明らかにした。

先のネズミ類の眼外光受容器細胞には未だ過分極性の光応答をするものが発見されていないが、イソアワモチとの類似(相同)性から見て、その発見が十分に考えられる。また、ネズミ類の脱分極性の眼外光受容器細胞にしても、光応答のイオン機構及びその細胞内光情報伝達機構に関してはまだ何も得られていない。しかしながら、両機構共に、イソアワモチで明らかにされたものと同様な機構の存在が十分予測される(8, 14参照)。

一方、イソアワモチ眼外光受容器細胞はそれぞれ、ネズミ類のそれと同様に、univarianceの原理に従って反応し、

図2 イソアワモチの眼外光受容器細胞(一次の光応答性のニューロン)の分布とその神経支配

$1 \sim 10 \times 10^{11}$ photons/cm² · secの閾値を示し、20~30秒の最大応答時間を要し、そして明順応も起こりにくい¹⁴⁾。これらの応答特性はイソアワモチの場合も、昼と夜を区別する持続的な自然光を受容するのに適したものと言える。我々はこれらの知見を背景にして、当該細胞の役割について調べた^{5), 6)}。

イソアワモチ神経節における眼外光受容器細胞は光感覚に対して、一次のニューロンであるが、体表面の接触刺激に対する二次のニューロンとしても位置し、同時に接触刺激誘発の外套反転反射に関わる運動ニューロンでもあることを明らかにした(図2参照)。

そこで我々は当該細胞が、少なくとも外套反転反射系の夜と昼の活動レベルを調節することに関与することを示唆した重要な結果を得ることになった。

この方向の研究はその後、さらに発展し、短波長側と長波長側とに最大感度を示す、それぞれA-P-1とEs-1に、新たに両者の中間的波長に最大感度を示すIp-2またはIp-1が加わって、色弁別が可能な局所神経回路を構成し、この回路が昼間と夕方の光(波長)を区別して行動を制御する素子となっていることも示唆された¹³⁾。図3は上の外套反転反射そして、特定の行動が、神経節における眼外光受容器細胞において、調節または制御されるメカニズムを説明した模式図である。即ち、イソアワモチの眼外光受容器細胞は自らが光応答することによって、伝達すべく神経情報を(通信工学でいわれる)振幅変調(AM)または周波数変調(FM)する役割を演じていることが示唆される。

ところで、哺乳類の視覚機能にもどって、桿体・錐体からの光信号は神経節細胞において一部、自らも光応答する中継のニューロン、眼外光受容器細胞を介して、図1の③の他に、①そして②の視覚経路に送り込まれていることが明らかになっている。従って、イソアワモチの場合と同様に、眼外光受容器細胞はAMまたはFM方式を用いて、①の image-forming visual system そして②の non-image-forming visual system に寄与していることが十分予測される。

5. 終わりに

哺乳類の網膜における(眼外)光受容器細胞の発見はこれまで考えられてきた、全ての視覚機能のメカニズムに重大な影響を与えていると言ってもよいだろう。この光受容器細胞は従来、光情報を中枢に送るだけの、中継の役割を持った二次性のニューロン(介在ニューロン)に過ぎないと考えられていたのである。我々はこの哺乳類の細胞の原始的・基本的なモデルとして、相同器官であるイソアワモチの眼外光受容器細胞について紹介し、比較考察した。脊椎動物の網膜レベルの研究は退潮の傾向にあるが、この発見は、視覚情報処理の機構が依然として重要な研究対象であることを教えていると言える。これまで、視覚の枝葉扱いされてきた、眼外光受容器細胞がようやく、注目されてきたようで、長年、この研究に携わった者としては感慨深いものがある。

なお、この研究の一部は、平成15年度専修大学研究助成「イソアワモチの光受容性神経細胞におけるG蛋白質の関与について」の援助を受けました。

眼外光受容器細胞：一次の光応答性のニューロン＋中継ニューロン

図3 眼外光受容器細胞の一次の光応答性のニューロンと同時に中継ニューロンとして機能するメカニズム 入力信号は眼外光受容器細胞の暗時の閾値(2)が光応答によって、(1)又は(3)のレベルに移動する振幅変調(AM)を介し、伝達されることを示す。あるいは、入力信号は、暗時の活動電位の発射が光応答によって、増減する周波数変調(FM)を介して、伝達されることを示す。

文 献

- 1) Arvanitaki, A. & Chalazonitis, N.: In: Nervous Inhibition(ed. by Florey, E.), pp194-231, Pergamon Press (1961)
- 2) Bellingham, J., Whitmore, D., Philp, A.R., Wells, D.J. & Foster, R.G.: Brain. Res. Mol. Brain Res. 107, 128-136 (2002)
- 3) Berson, D.M., Dunn, F.A. & Takao, M.: Science 295, 1070-1073 (2002)
- 4) Freedman, M.S., Lucas, R.J., Soni, B., Schantz, M., Munoz, M., David-Gray, Z. & Foster, R.: Science 284, 502-504 (1999)
- 5) Gotow, T., Tateda, H. & Kuwabara, M.: Zool. Mag. 232-233 (1972)
- 6) Gotow, T., Tateda, H. & Kuwabara, M.: J. Comp. Physiol. 83, 361-376 (1973)
- 7) Gotow, T.: J. Comp. Physiol. 99, 139-152 (1975)
- 8) Gotow, T., & Nishi, T.: J. Gen. Physiol. 120, 581-597 (2002)
- 9) Hattar, S., Liao, H.W., Takao, M., Berson, D.M. & Yau, K.-W.: Science 295, 1065-1070 (2002)
- 10) Lucas, R.J., Freedman, M.S., Munoz, M., Garcia-Fernandez, J.M. & Foster, R.G.: Science 284, 505-507 (1999)
- 11) Lucas, R.J., Douglas, R.H. & Foster, R.G.: Nature Neurosci. 6, 621-626 (2001)
- 12) Lucas, R.J., Hattar, S., Takao, M., Berson, D.M., Foster, R.G. & Yau, K.-W.: Science 299, 245-247 (2003)
- 13) Nishi, T., & Gotow, T.: J. exp. Biol. 168, 77-91 (1992)
- 14) 西 孝子, 後藤 司: 比較生理生化学, 20, 9-17 (2003)
- 15) Panda, S., Sato, T.K., Castrucci, A.M., Rollag, M.D., DeGrip, W.J., Hogenesch, J.B., Provencio, I. & Kay, S.A.: Science 298, 2213-2216 (2002)
- 16) Prosser, C.L.: J. cell comp. Physiol. 4, 363-378 (1934)
- 17) Provencio, I., Jiang, G., De Grip, W.J., Hayes, W.P. & Rollag, M.D.: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 95, 340-345 (1998)
- 18) Provencio, I., Rodriguez, I.R., Jiang, G., Hayes, W.P., Moreira, E.F. & Rollag, M.D.: J. Neurosci. 20, 600-605 (2000)
- 19) Ruby, N.F., Brennan, T.J., Xie, X., Cao, V., Franken, P., Heller, H.C. & O'Hara, B.F.: Science 298, 2211-2213 (2002)
- 20) Soni, B.G., Philp, A.R., Foster, R.G. & Knox, B.E.: Nature 394, 27-28 (1998)
- 21) van der Horst, G.T., Muijtjens, M., Kobayashi, K., Takano, R., Kanno, S., Takao, M., de Wit, J., Verkerk, A., Eker, A.P., van Leenen, D., Buijs, R., Bootsma, D., Hoeijmakers, J.H. & Yasui, A.: Nature 398, 627-630 (1999)
- 22) Vitaterna, M.H., Selby, C.P., Todo, T., Niwa, H., Thompson, C., Fruechte, E.M., Hitomi, K., Thresher, R.J., Ishikawa, T., Miyazaki, J., Takahashi, J.S. & Sancar, A.: Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 96, 12114-12119 (1999)