

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 5月30日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～2011

課題番号：21570247

研究課題名(和文)：メラノプシンを含む神経節細胞の非視覚系および視覚系への寄与の解明

研究課題名(英文)：(A study of the intrinsically photosensitive retinal ganglion cells: a functional role on non-image and image forming pathways)

研究代表者：辻村 誠一 (TSUJIMURA SEIICHI)

鹿児島大学・大学院理工学研究科・准教授

研究者番号：10381154

研究成果の概要(和文)：

先行研究で用いた多原色光源刺激装置を改良し、メラノプシン神経節細胞の非撮像系経路および撮像系経路への寄与について調べた。非撮像系経路については、定常光および非定常光に対する瞳孔反応に関するメラノプシン神経節細胞の機能的役割についてその寄与を明らかにした。成果は論文にまとめ、学術雑誌に掲載された。撮像系経路については、成果を論文にまとめ、2012年6月に専門誌に掲載される予定である。

研究成果の概要(英文)：

We have investigated a functional role of the intrinsically photosensitive retinal ganglion cells (ipRGCs) to the non-image forming and image-forming pathways. It was found that the ipRGCs contribute to the steady-state pupillary control mechanism. The manuscript for a study of the contribution on the image-forming pathway is in press.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011年度	500,000	150,000	650,000
年度			
総計	3,900,000	1,170,000	5,070,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：人類学・応用人類学

キーワード：メラノプシン神経節細胞

1. 研究開始当初の背景

従来、人間の光受容器は赤緑青の3種類の錐体と桿体だけであると考えられていたが、最近、新たな光受容器の存在が明らかとなった(例えば、Lucas et al., *Science*, 2003; Dacey et al., *Nature*, 2005)。その光受容器とは、視物質メラノプシンを含む特別な神経節細胞である。この神経節細胞は単体で光刺激に神経応答を示し、かつ、錐体や桿体から

も入力を受けている。その出力は、生体リズムを調節していると考えられている視交叉上核や瞳孔反射をつかさどっている視蓋前核などに投射している。さらに驚くことには、その出力は、視覚情報を伝達している外側膝状体から視覚野への経路にも投射していることが報告されている(Dacey et al., *Nature*, 2005)。すなわち、この神経節細胞は色覚などの撮像系経路にも影響を与えている可能

性がある。このことは、従来、視覚の研究は3錐体と杆体のみを対象としてきたので驚くべきことである(図1参照)。先行研究では、メラノプシンを含む神経節細胞の機能を調べるために、単波長光や、異なる色の照明光を刺激光として用い、瞳孔反応やサーカディアンリズムへの影響を検証していた。しかしながら、このような単波長光や照明光を用いた刺激によって、メラノプシンを含む神経節細胞の非撮像系・撮像系経路への寄与を評価することは難しい。なぜなら、このような光刺激はメラノプシンを含む神経節細胞を興奮させると同時に他の光受容体も興奮させるからである。メラノプシンを含む神経節細胞の寄与を調べるためには、メラノプシン神経節細胞を錐体や杆体など他の光受容体とは分離して刺激することが必要である。本研究では、多原色光源装置を用いて、メラノプシン神経節細胞を他の光受容体とは独立に刺激し、非撮像系・撮像系経路への寄与を検証した。

2. 研究の目的

本プロジェクトでは、光刺激による生体への非撮像系経路、撮像系経路への影響を調べることを目的としている。

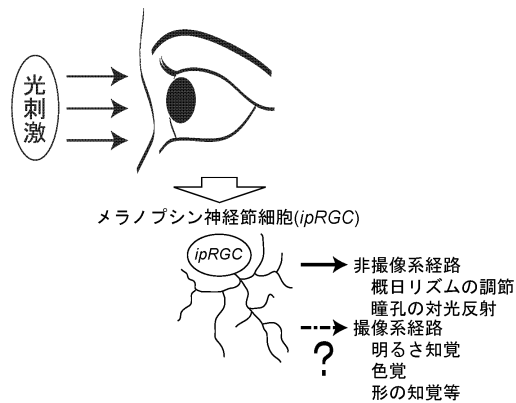


図1 ipRGC と信号伝達経路

特に、光刺激によるメラノプシンを含む神経節細胞の刺激量の変化に着目している。従来の測色系では、メラノプシンを含む神経節細胞の刺激量は定義されていない。光刺激は、一般に生体への影響を調べる際には輝度や色などの測光量で表す。しかしながら、これらの測光量は網膜における光受容細胞の錐体、杆体細胞への刺激量のみで定義されており、最近発見されたメラノプシンを含む神経節細胞を考慮していない。すなわち、これらの測光量はメラノプシン神経節細胞の刺激量を反映していないことを意味する。例えば、同じ輝度および色度の刺激でもメラノプシンを含む神経節細胞を強く刺激する場合と弱く刺激する場合があることを示している。

3. 研究の方法

メラノプシン神経節細胞が処理した光情報が体内時計を制御することから、この光受容体の機能を調べることは、生体機能を調節する体内時計の役割を理解する上での重要な鍵となっている。メラノプシン神経節細胞の機能の解明には、錐体細胞や杆体細胞には影響を与えず、メラノプシン神経節細胞のみを光刺激する実験系を組み立てることが必須である。この問題を解決するため、受容体独立刺激法と呼ばれる光刺激法を用い、錐体細胞・杆体細胞には同じ刺激を与える一方で、メラノプシン神経節細胞には異なる刺激を与える照明デバイスのプロトタイプを開発した(Tsujimura et al., 2010, 2011; Brown, Tsujimura et al., 2012)。

生体リズムに関与する光受容体(ipRGC)を他の光受容体とは独立に刺激するためには、従来から用いられている3原色光源装置では不可能であり、新規に4原色の光源装置の開発が必要である。したがって、本プロジェクトでは、まず初めに先行研究で開発した4原色光源刺激装置を高輝度化し、かつマイクロコンピュータでLEDの輝度を制御することにより、刺激の提示可能範囲を広げた(図2a)。

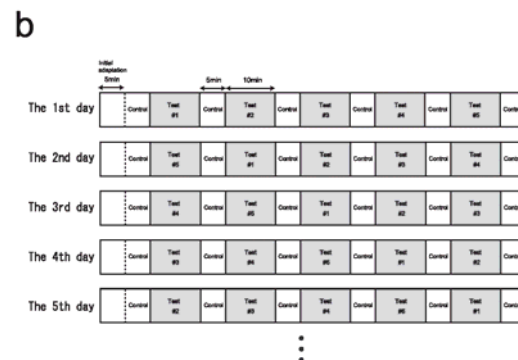
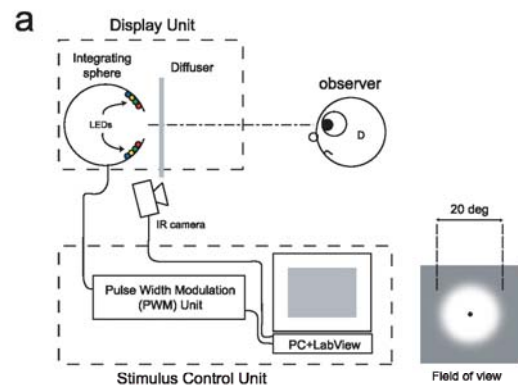


図2 刺激装置および実験手順

次に ipRGC の定常瞳孔系経路への影響を調べた。瞳孔の定常光に対する反応は、一般に非常に小さく、測定が困難である。したがっ

て、測定は5日に分け各刺激条件は慎重にカウンターバランスした (図 2b)

4. 研究成果

定常光に対する瞳孔反応における ipRGC 刺激量の影響を図 3 に示す。横軸は ipRGC の刺激量 (コントラスト) を表し、縦軸は瞳孔直径の変化量を示す。刺激の ipRGC 刺激量のみ変化させているので、テスト刺激の 3 刺激値 (X, Y, Z: 輝度や色) は変化していない。輝度および色が変化していないにもかかわらず、瞳孔直径が ipRGC への刺激量の増加にともなって変化していることがわかる。

このことは、ipRGC が錐体信号とは独立に非撮像系経路へ寄与していることを示している。

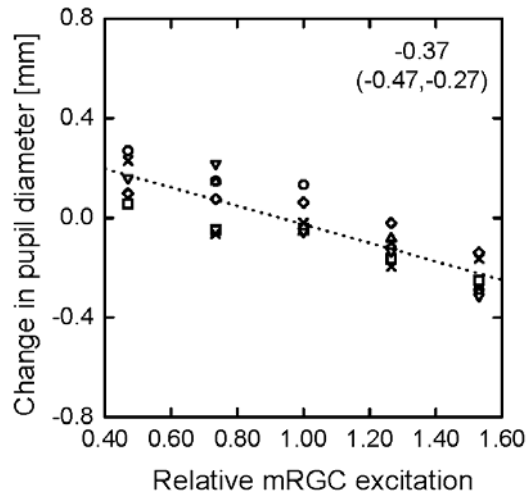


図 3 ipRGC 刺激量と瞳孔直径変化

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)

1. T. M. Brown*, S. Tsujimura*, A. E. Allen, J. Wynne, R. Bedford, G. Vickery, A. Vugler, R. J. Lucas, "Melanopsin-based brightness discrimination in mice and humans," *Current Biology*, in press, published online on 24th May 2012, doi:10.1016/j.cub.2012.04.039, (2012). (*equal contribution) 査読有
2. S. Tsujimura and Y. Tokuda, "Delayed response of human melanopsin retinal ganglion cells on the pupillary light reflex," *Ophthalmic and Physiological Optics*, doi:10.1111/j.1475-1313.2011.00846.x, 469-79, 2011, (2011). 査読有
3. Y. Fukuda, S. Tsujimura, S. Higuchi, A. Yasukouchi and T. Morita, "The ERG responses to light stimuli of melanopsin-expressing retinal

ganglion cells that are independent of rods and cones," *Neurosci Letter* 479, 282-286, DOI:10.1016/j.neulet.2010.05.080, (2010). 査読有

4. S. Tsujimura, K. Ukai, D. Ohama, A. Nuruki & K. Yunokuchi,

"Contribution of human melanopsin retinal ganglion cells to steady-state pupil responses," *Proc. R. Soc. Lond. B*, 277(1693), 2485-2492, doi:10.1098/rspb.2010.0330 (Epub 2010). 査読有

[学会発表] (計 11 件)

1. T. M. Brown, A. E. Allen, S. Tsujimura, R. J. Lucas, "Rod and Cone pathways converging on the central targets of melanopsin ganglion cells.," *Society for neuroscience*, Washington, DC, USA, Nov12-16, 12. Nov. 2012.

2. Y. Fukuda, S. Tsujimura, S. Higuchi, A. Yasukouchi, T. Morita, "Diurnal variation in responses of melanopsin-expressing retinal ganglion cells to light in the human retina," *WorldSleep2011*, Kyoto, Japan, 19. Oct. 2011

3. S. Tsujimura, "Temporal properties of human melanopsin-containing retinal ganglion cells on the pupillary light reflex," *The 29th Pupil Colloquium*, Tuebingen, Germany, 27. Sept. 2011

4. S. Tsujimura, "Delayed response of human melanopsin retinal ganglion cells on the pupillary light reflex," *Prof. Bernard Gilmartin Festschrift*, Birmingham, UK, 14. Sept. 2011

5. J. L. Barbur, W. Bi, S. Tsujimura, G. T. Plant, "The contribution of the rod/melanopsin driven ganglion cells to the dynamic pupil light reflex response," *The 29th Pupil Colloquium*, Tuebingen, Germany, 27. Sept. 2011

6. Y. Fukuda, S. Tsujimura, S. Higuchi, A. Yasukouchi, T. Morita, "ERG responses of melanopsin-expressing retinal ganglion cells in the human retina," *European Biological Rhythms Society*, Oxford, UK, 26. Aug. 2011

7. Y. Fukuda, S. Tsujimura, S. Higuchi, A. Yasukouchi, T. Morita, "Circadian Rhythm of Melanopsin-expressing Retinal Ganglion

Cells in the Human Retina” Society for Light Treatment and Biological Rhythms (SLTBR) The 23rd Annual meeting, Montreal, Canada, 11. July. 2011

8. S Tsujimura, “Contribution of human melanopsin ganglion cells to the nonimage forming pathway”, International Association of Physiological Anthropology (ICPA), 023, Fremantle, Australia, 11. Sept. 2010

9. Y Fukuda, S Tsujimura, S Higuchi, A Yasukouchi, T Morita, “The response of melanopsin-expressing retinal ganglion cells to light stimuli with frequency changes”, International Association of Physiological Anthropology (ICPA), 020, Fremantle, Australia, 11. Sept. 2010

10. Y. Fukuda, S. Tsujimura, S. Higuchi, A. Yasukouchi, T. Morita “THE ERG RESPONSES TO LIGHT STIMULUS LEVELS OF MELANOPSIN-EXPRESSING RETINAL GANGLION CELLS WITH THE RECEPTOR-SILENT SUBSTITUTION TECHNIQUE” 2010 Society for Light Treatment and Biological Rhythms, Vienna, Austria, 01. July. 2010

11. S. Tsujimura, K. Ukai, A. Nuruki, K. Yunokuchi “Contribution of melanopsin-expressing retinal ganglion cells to pupillary control pathway studied with a receptor-silent substitution technique.” 20th Symposium of the International Colour Vision Society Braga, Portugal, 26. July. 2009

[その他]

ホームページ等

http://www.ibe.kagoshima-u.ac.jp/~t_lab/index.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

辻村 誠一 (TSUJIMURA SEIICHI)

鹿児島大学・大学院理工学研究科・准教授

研究者番号：10381154

(2) 研究分担者

塗木 淳夫 (NURUKI ATSUO)

鹿児島大学・大学院理工学研究科・助教

研究者番号：50336319

湯ノ口 万友 (YUNOKUCHI KAZUTOMO)

鹿児島大学・大学院理工学研究科・教授

研究者番号：10094187

森田 健 (MORITA TAKESHI)

福岡女子大学・人間環境学部・教授

研究者番号：20326474