

令和 6 年 6 月 19 日現在

機関番号：14602

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K06265

研究課題名(和文)非視覚の光受容がもたらす新しい生理機能の探索

研究課題名(英文)The exploration of new physiological function of the non-visual photoreception.

研究代表者

山下 絵美(川野絵美)(Kawano-Yamashita, Emi)

奈良女子大学・自然科学系・准教授

研究者番号：80804583

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：私たちは近年、円口類ヤツメウナギ脳で新しい光受容器官を発見した。この光受容器官は向網膜系ニューロンと呼ばれる特徴的な細胞群で構成される。本研究では、この脳内光受容器官がどのような生理機能に関わるのかを理解するために、これらの細胞群がもつ様々な特徴を調べた。光受容細胞の光入力部の形態や光情報を出力する細胞の組織学的特徴を調べ、脊椎動物が有する光受容細胞の共通する特徴を見出した。また、硬骨魚類の向網膜系ニューロンの組織学的解析から、ヤツメウナギのものと共通する特徴を発見した。さらに、ヤツメウナギの行動解析から、非視覚の光受容が遊泳行動の制御に関わる可能性を見いだした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

非視覚の光受容はあらゆる動物がもつ共通の機能であるが、それらが局在する領域や生理機能などは動物種によって多様化している。本研究では、ヤツメウナギで発見した新規の脳内光受容器官がどのような機能を担うのか、その機能は脊椎動物で共有するのかを理解するために解析を行った。近年、光環境がもたらす動物への影響が取り上げられる中、非視覚の光受容に大きな注目が集まっている。ヤツメウナギという最も原始的な脊椎動物に着目することで、動物と光の根源的な関係の理解につながると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Recently, we found a novel deep brain photoreceptor in the lamprey. This photoreceptor is composed of the centrifugal nerve extending the long axons directly to the retina, called the centrifugal retinal neurons. In this study, we investigated the various features of these photoreceptor cells, in order to understand the physiological role of the deep brain photoreceptor. Our findings indicate that the histological characteristics of these photoreceptor cells are similar to those of vertebrate photoreceptors. We also found that the histological features of centrifugal retinal neurons in teleost are comparable to those in lampreys. Moreover, our behavioral analysis of lampreys suggests that non-visual photoreception may play a role in regulating swimming behavior.

研究分野：光生物学

キーワード：ロドプシン 光受容 非視覚

1. 研究開始当初の背景

多くの脊椎動物は、眼で捉えた光を物の形や色を認識する「視覚」で利用するのに加え、松果体や脳などの器官で直接捉えた光を生体リズム等の様々な「視覚以外(非視覚)」の生理機能の調節に利用している。私たちは近年、最も下等な脊椎動物である円口類ヤツメウナギの脳内に存在する新規の光受容タンパク質「bPPL」を同定した(Kawano-Yamashita et al., 2020, Sci. Rep.)。これまでの研究から、光受容タンパク質(オプシン)の分子系統的な分類は、機能に基づく分類と一致することが示唆されているので、bPPLは新しい生理機能に関わる可能性が考えられた。そこで、私たちはまず、bPPLを培養細胞系で強制発現させて、その分子特性を調べた。その結果、bPPLは青色光感受性のオプシンであり、Gi型のGタンパク質を介する細胞内シグナル伝達系を駆動することが明らかとなった。次に、bPPLのヤツメウナギ脳内における発現部位を調べたところ、興味深いことに、bPPLは、ヤツメウナギ中脳の“シェーバーのM5核”と呼ばれる領域に発現していることを見出した。そこで、bPPLの脳内における局在をさらに詳細に検討するために、神経トレーサー法と免疫組織化学法による組織学的解析を実施したところ、bPPLが、脳から網膜に向けて直接神経投射する遠心性ニューロン(向網膜系ニューロン)に局在することを発見した。加えて、P-opsin(鳥類以下の脊椎動物に広く存在するVA/VALオプシンのホモログ)と呼ばれる緑色光感受性オプシンもまた、シェーバーのM5核に発現することを見出した。ヤツメウナギP-opsinは、これまで分子の存在のみが知られ、その発現部位や機能は全く不明であったので、シェーバーのM5核はP-opsinの機能解明にも重要な領域と考えられた。私たちのこれまでの研究結果から、bPPLとP-opsinにより脳深部で受容された青～緑色光情報が、網膜に伝達される可能性が考えられた。向網膜系ニューロンについては、その生理機能は未だ明らかになっていないが、多くの脊椎動物でその存在が確認されており、鳥類では視覚機能の修飾に関わることが示唆されている。すなわち、本研究は、私たちのこれまでの研究結果に基づき、「脳深部の光受容は、網膜機能の調節に関わるのか?」という新しい非視覚研究の問題の解明を目指すものである。

2. 研究の目的

私たちは近年、円口類ヤツメウナギ中脳のシェーバーのM5核において、新規の脳内光受容器官を発見した。シェーバーのM5核は、長い軸索を直接網膜に向けて伸ばす「向網膜系ニューロン」という大変特徴的な形態の細胞群で構成されていた。そこで本研究では、ヤツメウナギ中脳シェーバーのM5核に存在する新規脳深部光受容器官が、どのような光情報を、網膜のどの細胞に伝達し、どのような生理機能の調節に関わるのかを調べることで、「脳内で受容した光情報を眼で利用する」という新しい光受容機能の可能性について検討することを目的とした。さらに、この脳内光受容機能について、脊椎動物における共通性や多様性を考えるために、硬骨魚類の向網膜系ニューロンについての解析を行った。

3. 研究の方法

ヤツメウナギ中脳のシェーバーのM5核で発見した新規の脳内光受容細胞に着目し、組織学的・行動学的解析を行うことで、新規の脳内光受容が担う生理機能を明らかにすることを目指した。はじめに、新規脳内光受容細胞の光入力部の構造や細胞形態を調べるために、詳細な組織学的解析を行った。また、新規の脳内光受容細胞を中心とした神経回路を調べるために、神経トレーサー法や免疫組織化学法などによる組織学的解析を行った。また、硬骨魚類が有する向網膜系ニューロンを同定し、ヤツメウナギの向網膜系ニューロンと共通する特徴があるのかを、組織学的に検討した。さらに、ヤツメウナギの新規脳内光受容が、どのような生理機能の制御に関わるかを理解することを目指し、その第一段階として、ヤツメウナギの遊泳行動と光照射に関する行動解析を試みた。

4. 研究成果

(1) M5核光受容細胞の形態に関する組織学的解析

はじめに、ヤツメウナギ中脳のシェーバーのM5核で発見した新規脳内光受容細胞(以降、M5核細胞と呼ぶ)の光入力部の構造や細胞形態を調べるために、詳細な組織学的解析を行った。まず、P-opsinに対する特異的抗体を用いてM5核細胞の光受容部を可視化し、その形態を詳細に

観察した。さらに、様々な抗体を用いて、光受容部の構造を特徴付けるための組織学的解析を行った。その結果、M5 核細胞の光受容部において、脊椎動物が有する他の光受容細胞で見られる典型的な形態的特徴を見出した。つまり、M5 核細胞は、脳内光受容細胞の成り立ちや進化を考える上で非常に有用な形態的特徴をもつことが示された。

(2) M5 核光受容細胞の神経投射に関する組織学的解析

上述のように、M5 核細胞は網膜へと長い軸索をのばす向網膜系ニューロンの形態を示す。そこで、M5 核細胞が光情報を伝達する網膜細胞の特徴を調べるために、詳細な組織学的解析を行った。私たちのこれまでの実験で、M5 核細胞が神経投射する網膜層を特定していたので、その網膜層に存在する網膜細胞の特徴を調べた。ヤツメウナギの網膜細胞は、個体の成長段階が異なると、網膜内局在や担う生理機能が異なると考えられている。そこで、様々な成長段階のヤツメウナギを用いて、網膜内領域ごとの細胞の局在パターンを調べたところ、成長段階によって、各領域の細胞数が大きく異なることを見出した。

次に、M5 核細胞を中心とした神経回路の全容を明らかにすることを旨として、視神経束を通る全神経繊維（遠心性神経、求心性神経ともに）の可視化を行った。網膜から脳へ投射する求心性神経繊維の多くは、視覚中枢である中脳の視蓋（OT、図1 参照）で観察された。それに加えて、M5 核細胞の近傍に神経繊維の終末部の領域 TAOA の局在が観察された。先行研究において、網膜からの視覚情報が TAOA を介して M5 核細胞に伝わり、再度網膜へと神経投射するフィードバック回路を形成すると考えられており、本研究においても同様の神経繊維の走行が観察された。

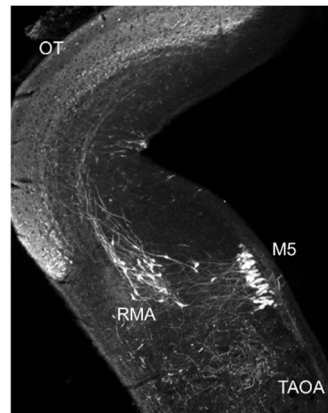


図1 ヤツメウナギ中脳のシェーバーのM5核の向網膜系ニューロン（M5）。神経トレーサー物質を視神経切断部に作用させて神経繊維や細胞体を可視化した。

これらの組織学的な結果は、新規の脳内光受容器官が担う生理機能を考える上で有用な知見であると考えられた。

(3) 魚類の向網膜系ニューロンに関する組織学的解析

ヤツメウナギで見られた向網膜系ニューロンの光受容が、脊椎動物において共通する機能であるのかを考えるために、硬骨魚類の向網膜系ニューロンの組織学的解析を行った。硬骨魚類では、向網膜系ニューロンの神経核が種によって多様化していることが知られており、終脳のみが存在する種や、終脳と間脳の両方に存在する種などがある。そこで、向網膜系ニューロンが比較的発達していることが予想されるミドリフグとモデル魚類のメダカを用いて、ヤツメウナギ M5 核に相当する細胞群の同定を試みた。視神経の切断部から神経トレーサー物質を作用させて向網膜系ニューロンを逆行性標識して可視化し、詳細な組織学的解析を行った。その結果、ミドリフグとメダカでは共に、向網膜系ニューロンで構成される神経核が終脳と間脳の両方に存在していた。そこで、これらの向網膜系ニューロンの形態を詳細に観察したところ、ヤツメウナギ M5 核細胞の細胞形態や神経繊維の局在パターンと類似する特徴を示す細胞群が存在していた。すなわち、硬骨魚類においてもヤツメウナギ M5 核細胞と相同な神経細胞が存在することが示唆された。

(4) 光制御を受けるヤツメウナギの遊泳行動の検討

ヤツメウナギ中脳の M5 核細胞における光受容がどのような生理機能の制御に関わるかを理解することを目指し、その第一段階として、ヤツメウナギの遊泳行動と光照射に関する行動解析を試みた。まず、暗条件と白色光照射下での遊泳行動の違いを比較したところ、光照射により遊泳行動が活発になった。この光反応は 1935 年に Young により報告された光活動性を示すものであると考えられた。さらに、光照射時間や波長などの様々な光条件を設定し、ヤツメウナギ遊泳行動への影響を観察した結果、非視覚の光受容が遊泳行動の誘発に関わる可能性を見いだした。一方で、この遊泳行動に制御に関わる光受容器官の位置については、脳深部に限らず、体表や尾など様々な部位が想定されるので、光入力部位の同定が今後の課題となった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Wada Seiji, Kawano-Yamashita Emi, Sugihara Tomohiro, Tamotsu Satoshi, Koyanagi Mitsumasa, Terakita Akihisa	4. 巻 19
2. 論文標題 Insights into the evolutionary origin of the pineal color discrimination mechanism from the river lamprey	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BMC Biology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12915-021-01121-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 寺田咲恵、川野絵美
2. 発表標題 硬骨魚類モドリフグにおける向網膜系ニューロンの探索
3. 学会等名 第23回 日本光生物学協会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 TERADA Sakie, KAWANO-YAMASHITA Emi
2. 発表標題 Histological investigation of the efferent neurons projecting to the retina in the green spotted pufferfish
3. 学会等名 日本比較生理生化学会 第45回大阪大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Emi Kawano-Yamashita, Chisa Nittagawa, Satoshi Tamotsu, Mitsumasa Koyanagi, Akihisa Terakita
2. 発表標題 Immunohistochemical investigation of the melanopsin-containing cells in the retina of the larval and adult lampreys
3. 学会等名 日本比較生理生化学会 第45回大阪大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Emi Kawano-Yamashita, Reika Oshita, Satoshi Tamotsu
2. 発表標題 Histochemical investigation of the retinal ganglion cells in the retina of the larval and adult lampreys
3. 学会等名 日本比較生理生化学会第44回高知大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山下(川野)絵美、保智己
2. 発表標題 ヤツメウナギの成長過程における網膜視細胞の発達の免疫組織化学的解析
3. 学会等名 日本動物学会第92回オンライン米子大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Emi Kawano-Yamashita, Ryo Kishimoto, Nanaho Yura, Satoshi Tamotsu
2. 発表標題 Immunohistochemical investigation of the development of deep brain photoreceptor in the larval and adult lamprey
3. 学会等名 日本比較生理生化学会第43回札幌オンライン大会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------