

令和 5 年 6 月 6 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K21416

研究課題名(和文)脳深部への光伝達の新たな経路の解析

研究課題名(英文)Exploration of a new pathway of light transmission to the deep brain

研究代表者

永田 崇(Nagata, Takashi)

東京大学・物性研究所・助教

研究者番号：90589962

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,800,000円

研究成果の概要(和文)：哺乳類を含む多くの脊椎動物の脳深部には光受容タンパク質オプシンが発現しており、光センサーの機能を持つ細胞による『脳内光受容』が行われていることが示唆される。しかし特に哺乳類などでは、頭上からの光は毛・皮膚・頭蓋骨・脳組織によって反射、吸収、散乱を受けるため、脳深部まで光が届くのかについて疑問視されている。本研究では、光が眼球を通る経路で脳深部に到達する可能性を検討した。脳深部の光強度やスペクトルを測定できる実験系を新たに構築し、マウスの眼球から光を入射させたときの脳深部の光強度を測定した。その結果、皮膚や頭蓋を経由するよりも、眼を経由した方が効率よく脳深部に伝達されることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年の研究により、マウスなどにおいて脳深部に発現するオプシンが光依存的に体温の調節や体の活動レベルの制御に関わっていることが明らかになりつつある。本研究により脳深部への効率的な光経路の候補が明らかになったことで、光が動物の生理機能に与える影響を理解するために、脳内での光受容の研究が更に重要になると考えられる。またヒトの脳も光に反応して様々な生理的变化を引き起こすことが既に知られており、将来的にヒトにおいても同じ光経路が明らかになれば、医学的な観点からも大きな波及効果につながる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Many vertebrates, including mammals, express the photosensitive protein opsins in the deep brain regions, suggesting that "brain photoreception" by cells with light-sensing functions takes place. However, it has been questioned whether light can reach the deep brain, especially in mammals, because light from the surface of the head is reflected, absorbed, and scattered by hair, skin, skull, and brain tissue. In this research project, the possibility was examined that light is transmitted to the deep brain by a pathway through the eyes. An experimental system that can measure light intensity and spectrum in deep brain regions was newly constructed and light intensity was measured at a deep brain region when light was incident from the eyes of mice. The results showed that light was more efficiently transmitted to the deep brain via the eyes than through the skin and cranium.

研究分野：光生物学

キーワード：光受容 脳深部

1. 研究開始当初の背景

(1) 光受容タンパク質オプシンは光センサー分子として機能する。近年、哺乳類を含む多くの脊椎動物において、脳のさまざまな領域でオプシンが発現することがわかってきた。このことから、頭蓋を通過してきた微弱光を脳内のオプシン発現細胞が検出する「脳内光受容」は、一般的な現象として考えられるようになった(Pérez et al., Trends Endocrinol Metab 2018)。一方で、哺乳類のマウスやマーモセットの脳の腹側の領域(視床下部視索前野)では複数のオプシンが発現する「光受容部位」があるが(図1; Blackshaw & Snyder, J Neurosci 1999; Yamashita et al., J Biol Chem 2014)、著者らも指摘しているように、哺乳類でこのような脳深部へ光が届くのかについては強く疑問が持たれている。哺乳類(特にマーモセット)では脳のサイズが大きく、光は脳組織による散乱・血液による吸収を強く受ける。さらに脳は色素を含む毛、皮膚、厚い頭蓋骨で覆われているので、オプシン発現細胞を刺激するようなレベルで光が脳深部へ到達することは難しいとも考えられている(図1)。

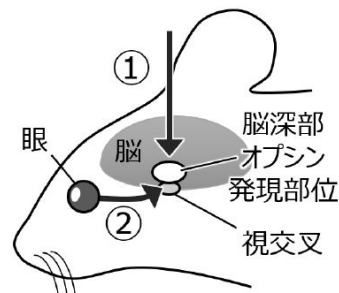


図1 脳深部オプシン発現(光受容)部位への光の到達経路の可能性。
頭蓋を通る光の経路: 毛・皮膚・頭蓋骨・脳組織によって光は強い吸収・散乱を受ける。眼から視神経を通り視交叉に到る経路。

(2) 脳深部の主なオプシン発現部位の一つである視床下部視索前野は、左右の視神経(網膜神経節細胞の軸索の束)が交わる視交叉の直上に位置する。眼のレンズから入った光が網膜の盲点(視神経乳頭)から視神経を通る経路を考えると、頭蓋を通る経路と比較し、光を強く吸収する構造が少ないと考えられる。視神経軸索は網膜から出るとすぐにミエリン化され、光ファイバーに類似した構造(Kumer et al., Sci Rep 2016)を持つようになる。これらことから、眼球から視神経を通る経路では比較的小さな減衰で視交叉に光が到達する可能性が考えられる。

2. 研究の目的

本研究は、哺乳類の脳深部へ光が到達する新たな経路を解明することを目指す。これまで見過ごされていた、眼内から入った光が視神経を通る経路を提案し、この“眼 視神経光経路”が脳深部の光受容部位へ光を伝達することを示すことを目的とする(図2)。

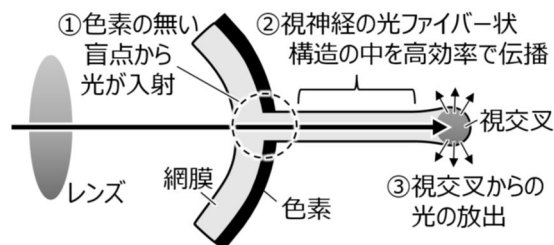


図2 眼 - 視神経経路による光の伝達の可能性。

3. 研究の方法

上述の仮説を検証するためには、「視神経がどれだけ効率良く光を通すか?」および、「盲点 視神経光経路を通った光が脳のどの部分にどの程度到達するのか?」について明らかにする必要がある。そこで、本研究においてはモデル動物としてマウスを用いて、眼内に光を入射させたときに、光が脳深部にどれだけ到達したかを実験的に定量する。また、光の通る経路ごとにスペクトルを計測し、光の透過特性にどのような違いが見られるかを検討する。

4. 研究成果

(1) 本研究では、マウスの視神経が脳深部へ光を伝達する可能性を検証するため、外から眼内に入射させた光が脳深部にどの程度到達するかについて定量的に計測する必要があった。しかしながら生体組織の深部において光の強度やスペクトルを計測する技術は一般的に確立されていない。そこでまずこの実験のため、光計測系の構築を行った。組織内部に到達する光の強度は微弱であると想定されるため、高感度な検出が必要となる。複数製品の比較検討を行った結果、

OceanView 社 QEPRO がこの目的に適していた。この分光光度計と、キセノン・重水素ランプ光源を組み合わせることで、マウスの脳組織を透過する光について、十分な S/N 比で透過スペクトルを測定できることを確認した (図 3)。

(2) マウスでは視床下部にオプシン発現細胞が多く存在しており、また視神経も視床下部の直下を通過していることから、マウスの視床下部への光の到達について調べることにした。そのためには、組織を大きく壊さないようにしながら光ファイバーを視床下部まで刺入する必要がある。検討の結果、視床下部への光ファイバーの刺入には、光遺伝学において光刺激に用いられる光ファイバーカニューレが適していた。これを分光光度計の入射光側に接続することで視床下部における光の強度およびスペクトルを測定できる実験系を構築できた。

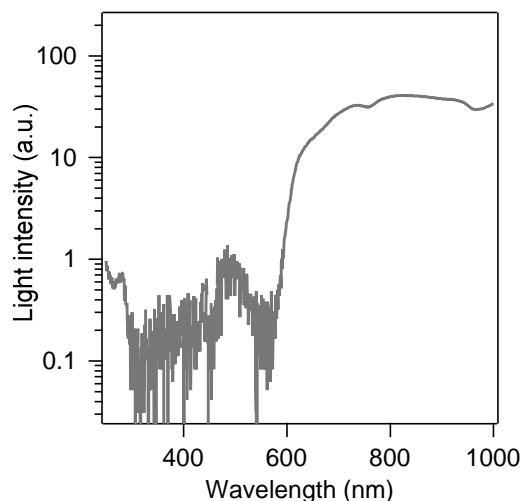


図 3 マウス脳の透過スペクトル。

(3) 次に実際にマウスの個体を用いた透過光計測を行った。安楽死をさせた直後、頭蓋骨を切除して脳を露出させ、分光光度計と接続したカニューレを脳の視床下部近傍まで刺入した。その後、眼に光を照射し、透過光を測定した。両方の条件で、600 nm 以上の長波長の光が視床下部に到達していることを検出できた。この透過スペクトルの形状は脳組織の透過スペクトル (図 3) とは異なっていたことから、実験器具などで反射された光 (迷光) が露出した脳の表面から入ったのではなく、眼球等を通して光が到達していることが強く示唆された。

(4) 上述の実験と同様の条件で、眼に光を照射した場合と、眼の近傍の頭蓋に光を照射した場合を比較した。眼に照射した場合は頭蓋に比べ、大きな透過率が観察され、とくに近赤外の領域では数倍以上の透過率が認められた。同じカニューレの位置に対し、全脳を取り除いた後に同様の測定を行った。眼に光を照射した場合には、脳を除去すると数倍程度の透過光の増加が見られたのに対し、頭蓋に照射した場合には脳の除去により数十倍の透過光の増加が生じた。これらの結果は、それぞれの場合で光が通る経路が異なることを示唆している。眼の場合は脳の除去により変化が小さかったことから脳よりも眼球が光の透過のボトルネックとなっている可能性がある。これは網膜のほとんどの領域は色素上皮細胞に囲まれており、ごくわずかな面積の視神経乳頭の部分のみ光が透過すると考えられることと整合性がある (図 2)。一方、頭蓋を通る経路は脳組織により光が散乱されることが光透過のボトルネックとなっていると考えられた。

(5) 本研究により、マウスにおいて眼球に入射した光が脳深部の視床下部近傍に到達することを示す実験データが得られた。更に予備的な実験結果ではあるが、眼球を通る光経路では眼球内での光の減衰が大きく、脳に入ってから減衰は相対的に小さい可能性が示された。これは、脳組織の中を強い散乱を受けながら光が伝播していくという従来の考え方よりも、視神経乳頭から視神経に入った光が視神経内を低散乱で伝播していくという仮説 (図 2) に合う。今後の研究として、視神経の光透過特性を直接解析することで、この仮説の検証を進めることができると考えられる。

(6) 脳に発現するオプシンの一つとして Retinal G-protein Coupled Receptor (RGR) が知られている。RGR はオプシタンパク質が光受容能を持つための発色団である 11 シス型レチナールを生成する機能を持つ。今回、ヒトおよびニワトリ RGR が青色領域に吸収ピークを持つことを明らかにした (Morimoto, Nagata et al., 2023)。この成果により、ヒトを含む多くの動物において青色光が脳内に到達することによりオプシンによる脳内光受容が促進される可能性が明らかとなった。

引用文献

- Morimoto, N.; Nagata, T.; Inoue, K., *Biochemistry* 2023, 62 (9), 1429-1432.
Kumar, S.; Boone, K.; Tuszyński, J.; Barclay, P.; Simon, C., *Sci. Rep.* 2016, 6 (1), 36508.
Pérez, J. H.; Tolla, E.; Dunn, I. C.; Meddle, S. L.; Stevenson, T. J., *Trends in Endocrinology & Metabolism* 2019, 30 (1), 39-53.
Seth, B.; Solomon, H. S., *J. Neurosci.* 1999, 19 (10), 3681.
Yamashita, T. et al, *J. Biol. Chem.* 2014, 289 (7), 3991-4000.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Morimoto Naoya, Nagata Takashi, Inoue Keiichi	4. 巻 62
2. 論文標題 Reversible Photoreaction of a Retinal Photoisomerase, Retinal G-Protein-Coupled Receptor RGR	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biochemistry	6. 最初と最後の頁 1429 ~ 1432
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acs.biochem.3c00084	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Rozenberg Andrey, Kaczmarczyk Igor, Matzov Donna, Vierock Johannes, Nagata Takashi, et al.	4. 巻 29
2. 論文標題 Rhodopsin-bestrophin fusion proteins from unicellular algae form gigantic pentameric ion channels	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nature Structural & Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 592 ~ 603
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41594-022-00783-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Nagata Takashi, Inoue Keiichi	4. 巻 134
2. 論文標題 Rhodopsins at a glance	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Cell Science	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） 10.1242/jcs.258989	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------