

桿体と錐体の機能と細胞構築を特徴づける分子基盤

Molecular bases of the differences in the physiology and cell biology between rods and cones

河村 悟 (KAWAMURA SATORU)

大阪大学・大学院生命機能研究科・教授



研究の概要

私達の視覚は2つの要素から成り立っている、すなわち、網膜中で光を検出する細胞である視細胞には、暗所で働く桿体と明所で働く錐体とがある。桿体と錐体とでは光に対する応答特性に違いがあり、その違いによって暗所と明所とではものの見え方が違う。また、桿体と錐体とでは細胞の形態や発生、また、エネルギー代謝に違いがある。本研究では、桿体と錐体とでの応答特性の違い、および細胞の構築や機能維持メカニズムの違いを分子レベルで明らかにする。

研究分野：動物生理・行動

科研費の分科・細目：基礎生物学、動物生理・行動

キーワード：視細胞、光感度、時間分解能、シグナルトランスダクション、cGMP

1. 研究開始当初の背景

視細胞は光を受容して電気的な光応答を発生する。視細胞には2種類有り、両者には光応答特性に違いがある。すなわち、桿体は光感度が高く錐体では低い。また、桿体の光応答は光の ON/OFF に追従できず応答は緩慢で時間分解能は低い。一方、錐体は良く追従し時間分解能が高い。このような特性の違いから、桿体の働く暗所では素早く動く物体は見えにくく、錐体の働く明所では素早く動く物体を目で追うことが出来る。

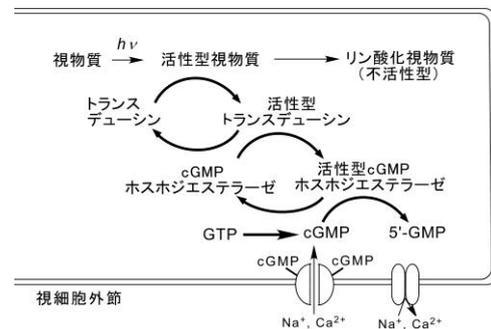
視細胞での光-電位情報変換機構の研究は桿体については既に分子レベルでの、かつ、情報変換の定量的な理解も進んでいた。一方、錐体については光-電位情報変換機構を構成する分子は桿体のものと相同であることは分かっていたが、どのようにして錐体に特徴的な光応答特性が発揮されるのかについてはほとんど分かっていなかった。

2. 研究の目的

錐体に特徴的な応答特性、すなわち、低い光感度と高い時間分解能がどの様にもたらされるのかを桿体との比較において理解し、また、その機能を支える細胞生物学的な基盤を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

桿体と錐体とで相同な光-電位情報変換機構(右上図)を有していることから、桿体



と錐体の光応答特性の違いはこの情報変換機構を構成するそれぞれの反応の反応効率が桿体と錐体とで異なることに理由があると考えられる。それを明らかにするには情報変換機構の各段階の反応の効率を桿体と錐体とで比べればよい。既に、研究を行うに充分量の精製桿体を得る技術は確立されていたが、精製錐体を得る技術は開発されていなかった。そこで、精製錐体を多量に得る方法を独自に確立した。本研究ではこうして得た精製コイ桿体と錐体とを試料としている。

4. これまでの成果

(1) 桿体と錐体とでの光感度の違いと時間分解能の違いをもたらす分子基盤

光シグナルが視細胞の光応答に変換される時、活性型トランスデューシン (Tr*) の生成時(図参照)、シグナルの増幅が行われ

る。その増幅の度合いは桿体では 100 倍以上と非常に大きく、それ故、桿体は高い光感度を有することが分かっている。錐体について変換機構の各段階でその増幅の度合いを調べた。その結果、光受容体である視物質による Tr^* の生成効率が桿体の場合の 1/5 であることがわかった。一方、 Tr^* が細胞内伝達物質である cGMP の分解酵素であるホスホジエステラーゼ (PDE) を活性化する効率は桿体と錐体とは違いがないことがわかった。よって、錐体では桿体に比べて cGMP 分解に至る「シグナルの増幅の効率」は 1/5 であることがわかった。

ある光強度でどれだけ PDE が活性化するかで測定した PDE の「光感受性」は、錐体の方が数十倍低い。したがって、上記の Tr^* 生成効率の 1/5 の違いでは PDE の光感受性の違い説明できない。その理由として考えられるのは、錐体では活性化された視物質や Tr^* の不活性化速度が早く、そのため、PDE の活性化量が少なくなり、単位光量あたりの活性型 PDE の生成量が少なくなって PDE の光感受性が低下するという可能性である。そこで Tr^* が不活性化しない条件で PDE の活性化量を測定したところ、 Tr^* が不活性化しない場合、桿体と錐体の何れでも PDE の活性化量が增大した。その増大の程度は錐体の方が大きかったことから、逆に、 Tr^* の不活性化の影響は錐体の方が大きいことが分かった。事実、 Tr^* の不活性化は錐体の方が 25 倍も早いことも明らかになった。これらの結果から、桿体に比べて錐体では PDE の光感受性は Tr^* の生成効率よりもさらに低くなると説明できる。活性型視物質の不活性化も考慮すると、PDE の光感受性の数十倍の違いも無理なく説明できることがわかった。

上記のシグナル増幅の効率 (錐体は桿体の 1/5) は、生化学的に変換機構を構成する各反応の効率を測定することにより得たが、光応答の立ち上がりを理論式で fitting することにより電気生理学的に推定できることが示されている。視細胞の光応答は通常吸引電極法により測定されているが、錐体では細胞膜の表面積が非常に大きく膜の電気容量が非常に大きい。そのため、吸引電極法で測定される電流変化は変換機構の最終反応である cGMP の分解によるイオンチャンネルの閉鎖よりも時間的に遅れてしまい、理論式での fitting には適さない。そこで、whole-cell patch-clamp 法を適用し、膜電位固定化で膜の電気容量の寄与を除外した条件で桿体と錐体とで光応答を測定し、理論式で fitting した。その結果、コイ錐体での cGMP 分解に至るシグナルの増幅の効率はコイ桿体の 1/4 であるとの結果を得た。生化学的な測定結果と電気生理学的な測定結果とで矛盾のない数値が得られたことから、コイ錐体でのシグナル増幅の度合いはコイ桿体の約 1/5 である

と結論した。

(2) 桿体と錐体の構築に関わる細胞生物学的違いの分子基盤

コイやゼブラフィッシュ錐体には ES1 と呼ばれる蛋白質が特異的に、かつ、大量に発現していることを見出した。そこでこの蛋白質の働きを検討した。ES1 は錐体の巨大ミトコンドリアに局在し、モルフォリノを使ってゼブラフィッシュで発現の阻害をしたところミトコンドリアサイズが縮小した。本来は発現していない桿体に異所的に発現させたところ、桿体のミトコンドリアサイズが増大し、ATP の含有量が增大したことから、ES1 はエネルギー消費の大きい錐体で、ミトコンドリアサイズを大きくし、エネルギー供給を増大させることに働いていると結論した。

5. 今後の計画

Tr^* の生成効率が錐体で低い理由の一つは桿体と錐体とで情報変換の行われる部位である外節の脂質組成が異なっているからであろうと考えている。錐体外節の精製方法は確立していなかったが、本研究で確立したので、今後、桿体と錐体の外節の脂質組成の違いを調べ、上記可能性を検討する。また、同時に桿体外節と錐体外節に含まれる膜内在性の蛋白質を比較し、錐体特異的、或いは桿体特異的に発現している蛋白質を同定し、それらの機能を明らかにする予定である。加えて、我々の見いだした、錐体特異的な視物質再生反応に関与すると考えている AL-OL 反応を担う蛋白質の同定を引き続き目指す。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

Tachibanaki, S., Yonetsu, SI, Fukaya, S., Koshitani, Y. and Kawamura, S. (2012) Low activation and fast inactivation of transducin in carp cones. *J. Biol. Chem.* 287(49): 41186-41194.

Kawamura, S. and Tachibanaki, S. (2012) Explaining the functional differences of rods vs cones. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Membrane Transport and Signaling*, 1(5):675-683.61)

Vogalis, F., Shiraki, T., Kojima, D., Wada, Y., Nishiwaki, Y., Jarvinen, J.L.P., Sugiyama, J., Kawakami, K., Masai, I., Kawamura, S., Fukada, Y. and Lamb, T.D. (2011) Ectopic expression of cone-specific G-protein-coupled receptor kinase GRK7 in zebrafish rods leads to lower photosensitivity and altered responses. *J. Physiol.* 589 (9): 2321-2348.

ホームページ等

<http://www.bio.sci.osaka-u.ac.jp/~kawamura/index2.htm>