



## Intracellular responses from UV-sensitive cells in the photosensory pineal organ

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-27 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 内田, 勝久 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/1394">http://hdl.handle.net/10271/1394</a>

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博論第 117号	学位授与年月日	平成 4年 3月 2日
氏名	内田勝久		
論文題目	Intracellular responses from UV-sensitive cells in the photosensory pineal organ (光受容性松果体における紫外光感受性細胞からの細胞内記録)		

医学博士 内田勝久  
論文題目

Intracellular responses from UV-sensitive cells in the photosensory pineal organ  
(光受容性松果体における紫外光感受性細胞からの細胞内記録)

論文の内容の要旨

下等脊椎動物の松果体は光受容器官であり網膜の視細胞に似た感覚細胞(松果体光受容細胞)をもっている。松果体光受容細胞で受容された光情報は、二次ニューロンである神経節細胞から活動電位のスパイク列として中枢へ送られる。スパイクの光に対する応答パターンには、全ての波長に対してスパイク応答が抑制される「明るさ応答型」と、短波長光で抑制、中から長波長光で興奮する「感色性応答型」の2種類がある。明るさ応答型の最大波長感度は中波長領域にあり、感色性応答型のそれは抑制性応答で近紫外領域に、興奮性応答については明るさ応答型と同様中波長領域にある。

神経節細胞のスパイク活動は、光受容細胞からの入力に依存するので、感色性応答を説明するためには、中波長領域に感度の高い光受容細胞と、近紫外領域に感度の高い光受容細胞の、少なくとも2種類の細胞の存在が必要となる。しかしながら、現在までに確認された光受容細胞は中波長領域に最大感度のあるものだけで、近紫外領域に感度の高い光受容細胞についての報告はまだない。今回我々は、細胞の膜電位変化を安定して測定することができる円口類の一種であるカワヤツメ(*Lampetra japonica*)の松果体を用いて、まだ同定されていない感色性応答型に関係が深いと考えられる紫外光受容細胞の存在について検討した。

【方法】 周辺の脳組織と共に摘出したカワヤツメ松果体を導出箱に入れ、微小ガラス電極による細胞内誘導によって、単一細胞の光に対する応答を記録した。光応答記録後、蛍光色素のルシファーイエローを電気泳動的に注入し、記録された細胞を形態学的に同定した。光刺激装置として、キセノンランプを使用し、中性フィルター、干渉フィルターにより刺激光の強さと波長を調節した。

【結果と考察】 紫外光に特異的に応答し感色性神経節細胞とは異なる、新しい型の細胞(紫外光感受性細胞)から記録することができた。紫外光感受性細胞は光刺激に対し、一般的な光受容細胞と同様、波長に関わらず過分極性の応答を示した。光強度と反応の大きさの関係は、Michaelis-Menten式より導きだされたNaka-Rushton式が成立した。さらにある程度刺激が強いと、膜電位が光刺激により最初過分極した後やや再分極し、しばらく一定の電位に留まった後、元の静止電位に戻った。また紫外光感受性細胞は、カワヤツメにおいて今までに知られている525 nmに最大感度を持つ光受容細胞(525-光受容細胞)と比べ応答の速度が非常に遅く、一回の光刺激に対し応答が完結するのに数秒から数十秒を必要とした。

スペクトル応答特性を7例の紫外光感受性細胞から求めた結果、380 nm付近に最大感度があり、525-光受容細胞のものとは明らかに異なっていた。359 nmと538 nmとの感度差を比べたところ、前者の方が約1,000倍感度が高かった。紫外光感受性細胞の最大波長感度は、感色性応答のものとはほぼ一致した。

紫外光感受性細胞のルシファーイエローによる染色の結果、525-光受容細胞に比べやや小型であった。松果体の光受容細胞の外節と同様に、紫外光感受性細胞もその先端部を松果体腔に突出させていた。また細胞は3つの部分からなり、それぞれ光受容細胞の外節、内節、シナプス終末部に対応していた。

以上のことから電気生理学的、形態学的に今回新たに記録された紫外光感受性細胞の特性を考えた場合、この細胞は近紫外領域に感度の高い光受容性細胞、つまり紫外光受容細胞であることが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

松果体の機能は環境の光条件と密接な関係があることが知られている。哺乳動物では網膜からの光情報が交感神経系を経由して松果体に達しメラトニンの産生を調節する一方、系統発生的に古い動物では、松果体が直接、光受容能をもっている。この場合、光情報は神経線維からスパイク列として記録できるが、この光応答に2種類ある。明るさ応答と感色性応答である。前者では全可視光に対してスパイクの抑制が見られるのに対し、後者では近紫外光から短波長光にかけて抑制、中波長から長波長光で促進を見る。この短波長光による抑制は光受容性松果体の主な特長の一つであるが、その本態は明らかではなかった。

本論文は感色性応答の機構を細胞内記録により分析し、近紫外光に感受性のピークをもつ新しい型の光受容細胞の存在を明らかにしたものである。

実験対象としては、細胞の膜電位変化を比較的長時間安定して観察測定することができる円口類カワヤツメ (*Lampetra japonica*) の松果体を使用した。実験方法としては、単一細胞からの膜電位変動を分析できる微小ガラス電極による細胞内記録法を用いた。また細胞内記録の後、蛍光色素のルシファーイエローを電気泳動的に注入することにより、その細胞を形態学的にも観察した。

実験の主な結果は次の通りである。

- (1) 紫外光に特異的に応答する細胞（紫外光感受性細胞）からの細胞内記録に成功した。またこの細胞は、松果体の前方周辺部で最もよく観察された。
- (2) 紫外光感受性細胞は波長の種類に関わらず全ての光刺激に対し、一般的な光受容細胞と同様、過分極性の応答を示した。光強度と反応の大きさの関係には、Michaelis-Menten 式を変形した Naka-Rushton 式が成立した。
- (3) この細胞は応答速度が今までに知られている松果体光受容細胞と比べ非常に遅く、0.2秒の光刺激に対する応答持続時間は数秒から数十秒であった。感色性応答は短時間の光刺激に対しても比較的長くその応答が持続するが、その機序にはこの細胞の応答速度が基本的に関与していると考えられる。
- (4) スペクトル応答特性を求めた結果、最大感度は380 nm 付近にあり、感色性応答の最大感度とほぼ一致した。359 nm と538 nm に対する感度を比べた場合、前者の方が約千倍高く、従来知られている光受容細胞とは別種のものであることが確かめられた。
- (5) ルシファーイエローによる細胞内染色の結果、細胞の長さは約80  $\mu\text{m}$ 、直径は約10  $\mu\text{m}$ であった。これは、今までに記録観察されている松果体光受容細胞に比べて小さい。光受容細胞はその先端を松果体腔内に突出させているのが特長であるが、この細胞も同様に先端部を腔内に突出させていた。また細胞は3つの部分からなり、それぞれ光受容細胞の外節、内節、シナプス終末部に対応していた。

以上、電気生理学および形態学的検討から、今回記録された細胞は紫外光受容細胞であることが判明し、比較生理学観点から興味深く、今後の松果体研究の重要な知見となるものである。

上記によって本論文は博士（医学）の授与に相応しいものと判断され、全委員の賛成によって審査を終了した。

論文審査担当者	主査	教授	渡	邊	郁	緒
	副査	教授	市	山	新	副査 教授 野 末 道 彦
	副査	教授	南	方	陽	副査 助教授 龍 浩 志