

イソアワモチ眼外光受容器の光情報処理とその機能に関する研究*

西 孝子**

鹿児島大学医学部第二生理学教室

A study of light information processing and physiological role in the
extra-ocular photoreceptors of *Onchidium verruculatum*

Takako NISHI

Department of Physiology, School of Medicine,
Kagoshima University

要 旨

動物の体内に存在する、網膜以外の光応答性の細胞または組織すなわち眼外光受容器は、脊椎動物を含む多くの動物に備わった光受容器官である。しかし本来の眼と比較すると、眼外光受容器の研究は遅れていて、その機能に関してはほとんど知られていない。

イソアワモチの中樞神経節に位置する光受容性の神経細胞は眼外光受容器の代表的な例としてよく知られ、その細胞が大きいこと、各種の実験操作がやり易いという利点を持つ。本研究ではイソアワモチの眼外光受容器を用いて、光の細胞内情報伝達機構を解析し、次に眼外光受容器間の情報伝達機構を調べた。さらに眼外光受容器が関連すると思われる個体行動を調べた。

1) イソアワモチ眼外光受容器の細胞内情報伝達系について

イソアワモチの光受容性の神経細胞 A-P-1 は、この動物の眼外光受容器であり、膜コンダクタンスの減少を伴った脱分極性の光受容器電位 (光応答) を発生する。これは暗下で流れている K⁺電流 (暗 K⁺電流) が光によって抑制されることから生じる。本研究では、A-P-1 の光受容器電位の発生に関係する暗 K⁺電流が、どのような細胞内情報伝達系によって制御されているかについて調べ、その機構を明らかにした。

暗下で外液に膜透過性のジブチリルサイクリック GMP (Db-cGMP、c GMP の類似体) を加えると、A-P-1 の暗 K⁺電流は Db-cGMP の濃度に依存して増加し、膜は過分極した。この暗 K⁺電流の増加は c GMP を細胞内に直接注入しても見られた。このようにして増加した暗 K⁺電流は、光刺激によって元のレベルにまで減少した。しかしながら、c AMP または Db-cAMP を A-P-1 に投与しても、A-P-1 の膜電流や膜電位になら変化は見られなかった。

これらの結果は、A-P-1 の暗 K⁺電流は細胞内 c GMP レベルによって調節されていて、光は c G

広島大学総合科学部紀要Ⅳ理系編、第18巻、pp127-129 (1992)

* 広島大学審査学位論文

口頭発表日 1992年2月18日、学位取得日 1992年3月4日

**現在の所属：鹿児島大学医学部生理学教室

MP レベルを減少させる、すなわち c GMP を分解することを示唆した。そこで実際にラジオイムノアッセイ法を用い、A-P-1 の細胞内 c GMP 量を測定した。暗時の細胞内 c GMP レベル (22 ± 6 f mol/cell) は光照射後、光応答の電位または電流変化とはほぼ同じ時間経過に従って減少した。しかし cAMP レベル (8 ± 3 p mol/cell) は光照射の前後で変動しなかった。

これらの結果から、A-P-1 の光応答は、脊椎動物視細胞 (光受容器) の場合と同様に、細胞内 c GMP レベルの c GMP カスケードに従った減少に由来するのではないかと考えられた。視細胞の細胞内伝達系における c GMP カスケードとは、光を吸収した光受容色素によって誘発された GTP 結合蛋白質 (G 蛋白) がホスホジエステラーゼ (PDE) を活性化し、c GMP が分解される一連の反応系である。そこで、G 蛋白の光活性化を阻害することが知られている GDP- β -S 及び百日咳毒素を A-P-1 に投与したところ、光応答は抑制された。これは A-P-1 にも c GMP カスケードが存在することを支持するものである。

さらに、無脊椎動物視細胞 (光受容器) で光応答の二次メッセンジャー候補とされているイノシトール三リン酸 (IP₃) の効果も検討した。A-P-1 に IP₃ を投与すると光応答は増大したが、ホスファチジルイノシトール三リン酸 (PIP₂) から IP₃ への加水分解を阻害する neomycin を投与すると、光応答は逆に抑制された。

以上の結果より、イソアワモチ眼外光受容器 A-P-1 には G 蛋白を共通のステップとする上述の c GMP カスケードと、もう一つの IP₃ カスケードが共存し、c GMP レベルの減少は光応答 (光受容器電位) を発現させ、IP₃ はそれを修飾するように働いていると考えられる。

これまでの知見では、脊椎動物視細胞では膜コンダクタンスの減少を伴う光応答を行い、無脊椎動物視細胞では膜コンダクタンスの増大を伴う光応答を行うと大別されていた。しかしイソアワモチ眼外光受容器では、受容器電位の発生機構や細胞内情報伝達系で脊椎動物と無脊椎動物の両方の視細胞と共通点を持つことが明らかになった。従って光受容機構は脊椎、無脊椎動物で全く異なるものではなく、一部、共通の機構が存在すると思われる。

2) イソアワモチ眼外光受容系で生じる波長弁別機構について

A-P-1 と同じ神経節には、Es-1 と名付けられたもう一つの光に応答する神経細胞が存在する。この Es-1 は、以前に光に直接応答するのではなく、シナプス入力によって二次的に光に応答すると仮定された。しかし本研究において、Es-1 の光応答は、化学的あるいは機械的にシナプス活動を遮断しても観察されることから、Es-1 はそれ自体で光に応答する一次の眼外光受容器であることがわかった。

正常海水から Ca²⁺ を除くことによって、神経節細胞間のシナプス活動を遮断すると、Es-1 は膜コンダクタンスの減少を伴った単純な脱分極性の光受容器電位を発生して光に応答した。この脱分極性の光応答は -70mV の膜電位で逆転し、静止電位 (-45mV) に電位固定すると内向き電流に置き換えられた。従って、一次の光受容器としての Es-1 の光応答は A-P-1 の場合と同様に K⁺ コンダクタンスの減少 (暗 K⁺ 電流の抑制) によって生じると結論された。しかし、A-P-1 が 490nm (青緑色) に最大感度を持つものに対して、Es-1 は 580nm (黄色) に最大感度を持ち、分光感度の点で両者は異なった。

正常海水中における Es-1 は、シナプス遮断時に見られた単純な脱分極性の応答と異なり、波長によって変化する複雑な応答を示した。すなわち、Es-1 は 580nm (黄色) の光に対しては脱分極するが、490nm (青緑色) の光に対しては過分極するように、「色対立型」の応答に変わった。

次に A-P-1 と Es-1 の関係を知るために、両細胞の膜電位を同時に記録した。A-P-1 に対する長い

脱分極パルスは Es-1 に時間経過の遅い抑制性のシナプス電位を誘発させた。しかし短いパルスによって発生した A-P-1 の活動電位は、Es-1 に何らシナプス電位を発生させなかった。逆に Es-1 から A-P-1 へのシナプス伝達は観察されなかった。これらのことから、Es-1 (シナプス後細胞) はシナプス前細胞である A-P-1 と抑制性の化学シナプスによって結合し、そのシナプス伝達は前細胞の活動電位によるのではなく、むしろ連続的に変化するゆっくりとした電位変化によって生じることが示された。

従って先に述べた Es-1 における色対立型の光応答は、前細胞の活動電位を必要としないこのシナプス機構に由来することが考えられる。すなわち、Es-1 は短波長 (490nm) 域の光に対しては、主に A-P-1 の電位変化に由来する過分極応答となるが、長波長 (580nm) 域の光に対しては、主に Es-1 自体の脱分極応答を示すことになると考えられる。このことは、まさに眼外光受容系 A-P-1 と Es-1 が光の波長 (色) を弁別する系として働いていることを示した。

3) イソアワモチの行動における光環境の影響

イソアワモチの色弁別の機能が、この動物の行動とどのように関連するのかを見るために以下の実験を行った。

桜島の潮間帯における生息地での観察では、イソアワモチは昼行性の動物であるにも関わらず、短波長側の成分が多い直射日光を避け (晴天の日の正午前後)、長波長光の多い光環境下 (夕方や曇の日) で活発に行動していた。また実験室内で同じ強度に合わせた 490nm もしくは 580nm の単色光を照射すると、イソアワモチは 490nm の光を避けるような行動が見られ、2 種類の光を弁別していることが示された。

イソアワモチには本研究で調べた眼外光受容器の他に、柄眼や背眼、さらには皮膚光覚細胞など複数の光受容器を持っている。しかしそれらの光受容器には、波長弁別の前提となる同一器官内の異なる分光感度を持つ細胞の存在は知られていない。また以前の研究から Es-1 は光受容性の神経細胞であると共に外套や腹足の運動を支配する運動神経細胞でもあることが知られている。従ってイソアワモチが波長の違い、すなわち色に依存した上述のような行動をとるに際して、色弁別能を持った A-P-1 と Es-1 のような眼外光受容系を利用する可能性は非常に高いといえる。

これまでの知見では眼外光受容系では、単に外界の明暗の違いに応答し、局所的な反射を司ることのみ注目されており、波長の違いを見分ける能力すなわち色視は考慮されていなかった。一方、高度な形態視の能力のある網膜視細胞では視細胞レベルで波長弁別を行っていることが知られているが、これらの現象の発生機構は現在でも明らかにされていない。従って、イソアワモチのような構造が単純で未分化な眼外光受容系における波長弁別機構の知見は、高度に発達した網膜における色視の解明にも少なからず寄与することが期待される。