

視物質再生経路を考慮した桿体視細胞モデルに関する研究

山下 茜 指導教員：神山 齊己

1 はじめに

網膜の構成要素である桿体は、光感度が高く、応答時間が長いという特徴を持ち、暗所での光情報を電気信号に変換する役割を担っている。その中でも外界からの光を検知し、光電流に変換する外節部 (Forti[1], Torre[2], Hamer[3], Dell'Orco[4] 等) と次の細胞への応答である膜電位を形成する内節部 (Kamiyama[5], Liu[6], Publio[7] 等) に関する研究が盛んに行われており、これまでの知見で確認されている暗順応後の応答特性を十分に考慮した数理モデルが各々構築されてきた。さらに、先行研究 [8] において外節と内節の相互作用も考慮した桿体外節と内節の統合モデルが構築され、暗順応後の光応答の再現が可能となった。しかし、桿体外節で光を検知する際に必要となる視物質の供給過程である視物質再生反応が簡略化されているため、視物質再生途中における光応答の再現が出来ない。桿体における疾患の多くは視物質再生反応の異常によるものであるため、疾患状態における光応答の再現もまた難しい。そこで本研究では、視物質再生経路を考慮した桿体視細胞モデル構築をし、様々な条件下での光応答の再現を行う。さらに、視物質再生経路異常が桿体の視覚情報処理に及ぼす影響を解析した。

2 提案モデル

図1は、本研究で構築した数理モデルであり、視物質再生モデルと外節モデル、内節モデルから構成される。視物質再生モデルでは、外節と桿体に隣接する網膜色素上皮細胞での反応を考慮することで再現している。外節モデルでは、光を検知し、電流に変換するまでの過程で生じる複数の連鎖反応を考慮することで光電流の形成を再現している。内節モデルでは、外節モデルで形成された光電流と内節に存在するイオン電流を考慮することで膜電位の形成を再現している。これらのモデルを統合することによって、様々な条件下での光応答シミュレーションが可能となる。

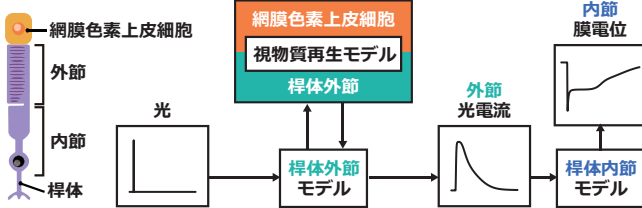


図1 モデル概要図

2.1 視物質再生モデル

本研究では、視物質再生経路異常により生じる疾患状態における光応答の再現を目標としていることから、視物質再生反応が再現可能な Navid ら [9] が提案したモデルを用いる。視物質再生反応は、複数の生化学反応から構成されており、以下に示すように微分方程式に変換することで記述している。

$$[A] + [B] \xrightleftharpoons[kb]{kf} [A \cdot B]$$

$$\frac{d[A]}{dt} = kb \times [A \cdot B] - kf[A][B] \quad (1)$$

ここで、 A と B 、 $A \cdot B$ は反応に関係する物質名、 kf と kb は反応速度定数を表している。また、生理実験結果に基づき反応速度定数を変更することで様々な条件下を再現している。

2.2 外節モデル

外節には、光を検知し、電流に変換する仕組み (光変換機構) が存在する。さらに光変換機構は光を検知し、光電流を変化さ

せる活性反応と変化した光電流を元に戻す抑制反応に分けられる。本研究では、先行研究同様、活性反応と抑制反応の両方を考慮している Dell'Orco ら [4] が提案したモデルを用いる。活性反応と抑制反応は、複数の生化学反応から構成されているため視物質再生反応と同様に微分方程式で表されている。また、光電流 (J) は次の式で表される。

$$J = -40 \left(\frac{2}{2.145} \times \frac{cGMP}{4} + \frac{0.145}{2.145} \times \frac{Ca_{free}^{2+} - 0.01}{0.59} \right) \quad (2)$$

ここで、 $cGMP$ は cGMP 濃度、 Ca_{free}^{2+} は細胞内 Ca^{2+} 濃度を表しており、どちらも外節に存在し光電流の形成に関与している cGMP 依存チャンネルの開閉に関与している物質である。

2.3 内節モデル

内節には複数のイオン電流が存在し、先行研究で用いた Kamiyama ら [5] のモデルでは、3つの電圧依存性イオン電流 (I_h , I_{Kv} , I_{Ca})、2つの Ca^{2+} 依存イオン電流 ($I_{K(Ca)}$, $I_{Cl(Ca)}$)、膜を透過して流れてくる漏れ電流 (I_L) を考慮していた。本研究では、5つのイオン電流と漏れ電流に加え、新たに膜電位形成に関与していることが確認された電圧依存性電流 (I_{Kx}) を考慮したモデルを用いている。また全てのイオン電流は、Hodgkin-Huxley 方程式に基づき次の式で表される。

$$I_{ion} = \overline{g_{ion}} \cdot m^M \cdot h \cdot (V - E_{ion}) \quad (3)$$

ここで、 $\overline{g_{ion}}$ はコンダクタンス、 m は活性化変数、 M はゲート指数、 h は不活性化変数、 E_{ion} は反転電位、 V は膜電位を表す。各パラメータは、新たに追加した I_{Kx} は Publio ら [7] のモデルを元に、その他の電流は Kamiyama らのモデルを元に決定している。さらに、外節光電流と内節イオン電流、漏れ電流、膜電位の関係は、図2で示す電気等価回路で表される。

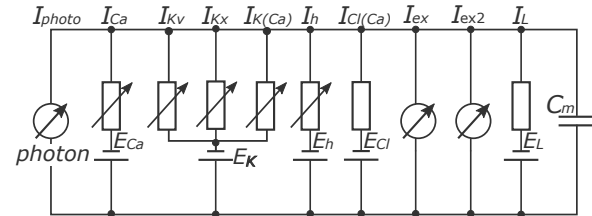


図2 電気等価回路

そのため膜電位 (V) は、キルヒホッフの法則から次の微分方程式から算出される。

$$Cm \frac{dV}{dt} = -I_{ALL} \quad (4)$$

ここで Cm は細胞膜のキャパシタンス、 I_{ALL} は外節光電流、内節イオン電流、漏れ電流の合計を表す。

3 結果・考察

3.1 正常時光応答シミュレーション

正常時光応答シミュレーションは、桿体の基本的特性 (光感度が高く、応答時間が長いという特徴) を確認するための手法である。

図3, 4は、1[s]の時点で時間幅20[ms]のフラッシュ光を加えた際の光電流、膜電位変化を示している。また、光刺激は基本的特性が確認されている Baylor ら [10] の生理実験と同様、1.4-1430[Rh*/s]の範囲とした。ここで Rh*/s は単位時間あたりに視物質が使用された量を示す。

この結果から、光刺激が強くなればなるほど光電流、膜電位ともに変化が大きくなる事が確認できた。これより、刺激強度によって応答の幅を変化させることで桿体では光刺激の違いを伝達していることが分かる。255 [Rh*/s] 以上の大きさの刺激では、膜電位変化において刺激入力直後に鋭いピーク (黒丸印) を示すことが確認された。この鋭いピークにより、光電流では飽和してしまう大きさの光刺激にしても情報の伝達を可能にしていると考えられる。従って、基本的特性の1つである光感度の高さが再現できたと言える。また、もう1つの基本特性である光刺激が強くなればなるほど光電流、膜電位の応答時間 (定常状態から変化し、定常状態に戻るまでの時間) が長くなる事が確認できた。

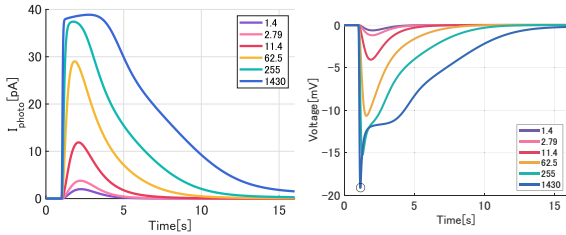


図3 外節光電流変化

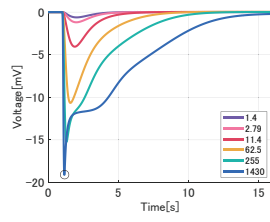


図4 内節膜電位変化

3.2 視物質再生時光応答シミュレーション

図5は、視物質がすべて光検知のために使用された状態から再生されるまでの過程をプロットした結果 (再生曲線) を示している。縦軸は、正規化した視物質の量であり1の時、完全に視物質が再生されたことを表している。青線は、本研究で構築したモデルを用いたシミュレーション結果、赤丸は、Lambら [11] の生理実験結果を示しており、生理実験を元に反応速度パラメータをフィッティングさせることでシミュレーションでは再生曲線を算出している。

図6の青線は、図5で算出された再生曲線をモデルの入力とし膜電位変化を算出した結果を示し、赤丸は図5と同様の生理実験から得られた電位変化を示している。

この結果から、生理実験を元に推定した再生曲線から算出された膜電位変化についても、生理実験結果と類似する結果が得られたことが確認できる。従って、視物質再生経路導入により、視物質再生時の光応答の再現が可能になったと言える。

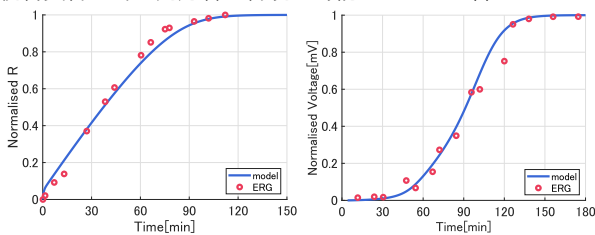


図5 再生曲線

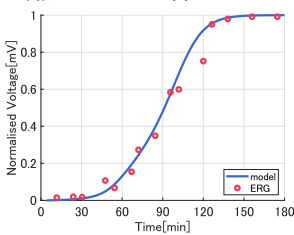


図6 膜電位変化

3.3 疾患シミュレーション

視物質再生経路異常により生じる疾患の1つとして夜盲症がある。夜盲症は、暗所での視力低下が生じる疾患である。原因は、ビタミンAの欠乏により生じる視物質再生速度の低下である。図7の青丸で示される正常時と赤丸で示される夜盲症時の生理実験結果を比較することで視物質再生速度の低下が確認できる。夜盲症の診断には、生体外から網膜の電位変化を記録する網膜電図 (ERG) が使用される。ERGの分析から視物質再生途中における電位変化が正常時より小さく、視物質が完全に再生した際には正常時と同様の電位変化を示すことが確認されると夜盲症と診断される。

シミュレーションでは、夜盲症の原因である視物質再生速度の低下を視物質再生モデルの反応速度パラメータを変更し視物

質の再生速度を遅くすることで再現している。また、図7(a), 8(a)の赤丸で示されるLambら [11]の生理実験を元に夜盲症での反応速度パラメータを推定し、再生曲線を算出している。

図7(a), 8(a)の青線は正常時、赤線は夜盲症時の再生曲線を示している。図7(b)は視物質再生途中 ($t=1.5$) で、図8(b)図は視物質再生後 ($t=9$) でフラッシュ光を与えた際の夜盲症時における膜電位変化を示している。また、図7(c)は視物質再生途中 ($t=1.5$) で、図8(c)図は視物質再生後 ($t=9$) でフラッシュ光を与えた際の正常時における膜電位変化を示している。この結果から視物質再生途中では夜盲症時のが正常時より応答が小さいが、視物質再生後は正常時と同様の応答を示しておりERGで確認されている特徴が膜電位変化でも確認されたと言える。従って、夜盲症で見られる視物質再生途中のERG応答の低下は、細胞レベルでの電位応答 (膜電位) 低下に起因することが示唆される。

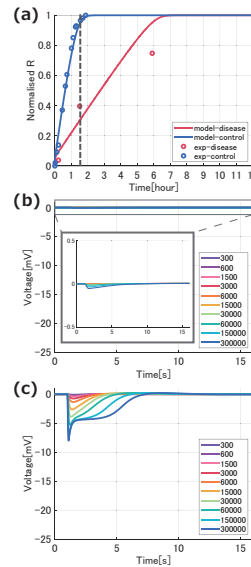


図7 視物質再生途中

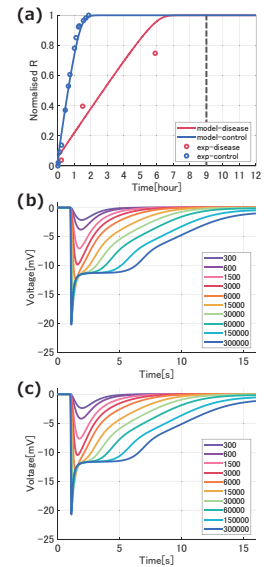


図8 視物質再生後

4 まとめ

本研究では、視物質再生経路を考慮した桿体視細胞モデルを構築した。構築した数理モデルによって、従来のモデルと同様桿体の基本的特性の再現が可能となるだけでなく、視物質再生途中での光応答、夜盲症における光応答の再現が可能となった。さらに、夜盲症で見られる視物質再生途中のERG応答低下が細胞レベルの電位応答低下に起因することが示唆された。

参考文献

- [1] Forti S, et al.(1989). J Physiol, 419, 265–295.
- [2] Torre V, et al.(1990). Cold Spring Harb Symp Quant Biol, 55, 563–573.
- [3] Hamer RD, et al.(2005). Vis Neurosci, 22(4), 417–436.
- [4] Dell'Orco, D et al.(2009). Mol Biosyst, 5(10), 1232–1246.
- [5] Kamiyama Y, et al.(2009). Vision Res, 49(9), 970–978.
- [6] Liu X, et al. (2005). Ph.D Thesis, Case Western Reserve University.
- [7] Publio R, et al.(2006). Neurocomputing, 69(10-12), 1020–1024.
- [8] 山下 茜 (2019). 平成 30 年度卒業論文.
- [9] Navid A, et al. (2006). Vision Res, 46(27), 4449–4463.
- [10] Baylor DA, et al. (1984), J Physiol, 354, 203–223.
- [11] Lamb TD, et al. (2006), IOVS, 47(12), 5138–5152.