

論文内容の要旨

**Physiological contribution of P2X receptors in postreceptoral
signal processing in the mouse retina**

マウス網膜における P2X プリン受容体の生理的役割

日本医科大学大学院医学研究科 外科系眼科学分野

大学院生 高橋 唱

Neuroscience Research 2016 年掲載予定

[目的]

ATP は、栄養代謝因子として重要な役割を果たしていることが知られている。一方、ATP は細胞外神経伝達物質あるいは神経調節物質としても役割を有し、そのシグナルは P2 プリン受容体と呼ばれる細胞膜に存在する受容体により媒介される。P2 受容体は 7 つのサブタイプを持つ P2X 受容体 (イオンチャネル型) と 8 つのサブタイプを持つ P2Y 受容体 (代謝型) の 2 つの受容体に分類される。このうち P2X 受容体は、細胞のアポトーシス、細胞分化や増殖、胚発生に関与することが報告されている。神経系では、P2X 受容体は脳皮質や脊髄といった中枢神経系、蝸牛、味蕾といった組織で確認されており、神経伝達を媒介することが確認されている。

感覚組織の一つである網膜においても、免疫組織化学的検討により P2X₁₋₇ 受容体サブタイプ全ての発現が報告されているが、視覚情報処理における P2X 受容体の生理学的機能についての報告は少ない。現在、所属研究室における一連の研究から、P2X₁、P2X₂、P2X₃ および P2X₅ 受容体のアンタゴニストである PPADS により、光刺激に伴う網膜神経節細胞の発火頻度が変化することが報告され、網膜においても P2X 受容体が生理機能を有することは確認されているが、網膜内のいずれの部位に発現している P2X 受容体が光情報伝達に関与するのかわかりませんでした。本研究は網膜電図 (ERG) が網膜外層 (視細胞層 (IS/OS)、外顆粒層 (ONL)、外網状層 (OPL)) および内顆粒層 (INL) の機能評価に適していることに着目し、これらの部位に発現している P2X 受容体が、光情報伝達に関与しているかどうかを検討した。

[方法]

本研究では P2X 受容体の生理機能を、*In vivo* ERG と *Ex vivo* ERG における PPADS の ERG 波形に対する効果を用いて評価した。*In vivo* ERG は、成熟野生型マウスに PPADS を含む溶媒 (PBS) を片眼硝子体へ注入し、暗順応下にて Combined rod-cone ERG および Scotopic ERG、明順応下にて Photopic ERG を記録した。また、溶媒 (PBS) のみを別個体の片眼硝子体へ注入してコントロール群とし、各条件で得られた波形を比較検討して P2X 受容体の生理機能を評価した。Scotopic ERG では、 $-4.0 \sim 0.5 \log \text{cd s/m}^2$ 、Photopic ERG では、 $-0.5 \sim 1.5 \log \text{cd s/m}^2$ 、といった光刺激強度にて検討した。*Ex vivo* ERG は、成熟野生型マウスから網膜を摘出し、Ringer 液の灌流中に光刺激をすることにより Combined rod-cone ERG 様の ERG 波形を記録した。記録中に PPADS を含む Ringer 液を灌流し、波形の変化を指標として P2X 受容体の生理機能を評価した。

[結果]

In vivo ERG では、Combined rod-cone ERG 条件にて PPADS 5mM 投与後に視細胞の応答を反映する a 波の変化は認められなかった。しかし、PPADS 投与直後より双極細胞の応答を反映する b 波、並びにアマクリン細胞及び神経節細胞の応答を反映する OP 波では、

対照群と比べ PPADS 投与群で明らかな振幅の減少を認め、振幅の減少は 30 分間の観察中持続した。Scotopic ERG 条件では、光刺激強度に関わらず、PPADS 群において b 波の振幅の減少を認めた。Photopic ERG 条件では、光刺激強度 $1.0 \log \text{cd/m}^2$ 以上で a 波および b 波の両方において振幅の減少を認めた。

Ex vivo ERG にて、 $20 \mu\text{M}$ の PPADS の投与による影響を検討したところ、a-wave への影響はみられなかったが、明らかな b 波の振幅の減少が認められた。

[考察]

PPADS 投与によって得られた ERG 波形から、杆体を介する経路においては OPL および INL、錐体を介する経路では IS/OS、ONL、OPL および INL が抑制されたと考えられた。これまで、IS/OS に P2X₅ および P2X₇ 受容体が、OPL に P2X₇ 受容体が、INL には P2X₂、P2X₃、P2X₅ および P2X₇ 受容体の分布が確認されている。また低濃度 PPADS は P2X₁、P2X₂、P2X₃ および P2X₅ 受容体を選択的に阻害する。したがって、網膜における光情報伝達において P2X₃ および P2X₅ 受容体が強く関与していることが示唆された。