

AMCoR

Asahikawa Medical University Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

旭川医科大学フォーラム (2014.02) 14巻1号:50.

平成23.24年度「独創性のある生命科学研究」個別研究課題
6) 遺伝子ノックアウトマウスを用いた眼内平滑筋の収縮メカニズムの解明

研究代表者 赤尾 鉄平

6) 遺伝子ノックアウトマウスを用いた眼内平滑筋の収縮メカニズムの解明

研究代表者 赤尾 鉄平

[研究目的]

これまで我々は、地域の屠殺場から供与されるウシ眼球から摘出した組織を用いて眼内平滑筋の機能調節に関する研究を行ってきた。昨年度の本申請において、遺伝子改変が容易で各種変異体がすでに多数存在するマウス眼球の実験への導入を目的とした研究を開始し、その結果、マウス眼内平滑筋の実験に有望な遺伝子改変マウスを選別するスクリーニング法の確立、マウス眼内平滑筋張力測定、形態変化測定を確立するに至った。

今年度はその実験系を用い、遺伝子ノックアウトマウスを導入し、眼内平滑筋の収縮メカニズムの解明に向けた研究を行った。現在、我々はウシ毛様体筋における実験により、この筋収縮の発生源である Ca^{2+} 流入が単位コンダクタンスの異なる2種類の非選択性陽イオンチャンネル (NSCCS と NSCCL) を介することを示すとともに、それらの分子候補としての TRPC1, TRPC3, TRPC4, TRPC6 や Orail などの発現を確認している。TRPC 分子種の解明として、他の平滑筋内でよく発現している TRPC3,6 のノックアウトマウスを用いて眼内平滑筋の機能評価を行った。

[実験方法]

頸椎脱臼により屠殺した TRPC3 および6ノックアウトマウス、体重 23-30 g ♂の眼球の瞳孔径の変化を実体顕微鏡に取り付けた CMOS 赤外線ビデオカメラ (30 fps) を用いて観察した。暗闇で暗順応させたあと、白色 LED (輝度 1000 cd/m^2) を目に照射したときの対光反射の時間経過を記録した。瞳孔経野経時変化は自作解析ソフトを用いてオフラインで解析した。

[結果と考察]

縮瞳開始、縮瞳速度において TRPC3,6 はワイルドタイプと比較して大きな変化は見られなかった (図1)。しかしながら、光刺激を30秒当て続けた結果の最終的な瞳孔径は TRPC6 のノックアウトマウスの瞳孔径は $0.38 \pm 0.04 \text{ mm}$ ($n=20$) であった、これはワイルドタイプのマウスの $0.30 \pm 0.03 \text{ mm}$ ($n=15$) と比較して優位に拡大していた (図2)。この事からマ

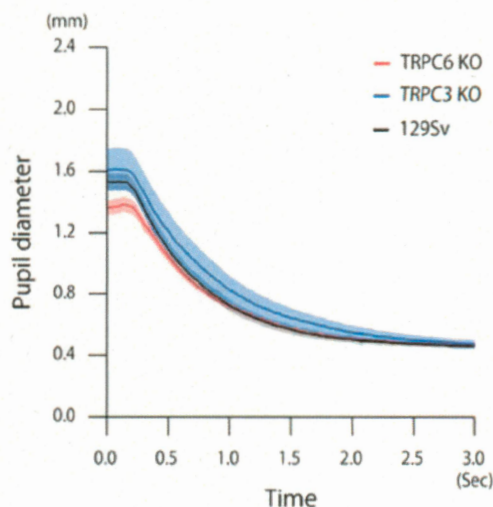


図1 マウス対光反射による縮瞳径の開始直後の経時変化

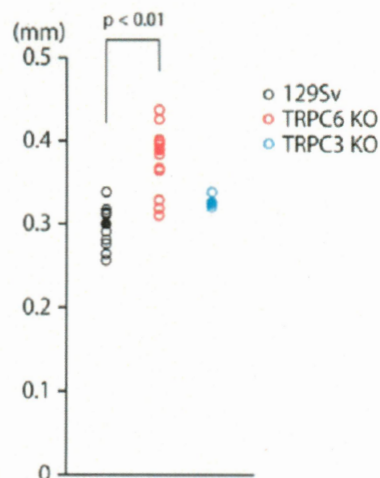


図2 マウス対光反射による30秒後の瞳孔径

ウス瞳孔括約筋の収縮持続相に必要な細胞外からの Ca^{2+} 流入に TRPC6 が関与している可能性があることが示唆される。