



図3 ChR2の機能的な問題点

ChR2を発現する遺伝子ラットの波長感受性(A)と光感受性(B)。青色波長域にのみ反応し、200 lux以下の刺激強度では視覚誘発電位は記録されない。

器への方が一の感染に備え、網膜細胞に特異的なプロモーター*によって遺伝子の発現を制御するなどの工夫が必要である。一方、異種タンパク質発現による免疫応答では、投与後2年間の観察期間を通して、炎症反応やChR2タンパク質に対する抗体価の上昇や発癌や大きな体調の変化は認められない。それを裏付けるように、一旦回復した視機能は減弱することなく生涯維持されており、ChR2タンパク質の恒常的発現によって重篤な副作用が引き起こされる可能性は低いと思われる⁸⁾。

III. 今後の課題と展望

ChR2の発見以来、同様の機能を持つ古細菌型ロドプシンが見出されている。緑藻類ボルボックスから見出されたチャンネルロドプシンは、青色ではなく緑色付近に感受性ピークを持つ光活性化陽イオンチャンネルタンパク質である。また、高度好塩菌(増殖に高い塩化ナトリウム濃度を要求する古細菌)から見出されたハロロドプシンは、光受容クロライドチャンネルとして機能する⁹⁾。また、自然界に存在するチャンネルロドプシンだけでなく、これらのチャンネルロドプシンのアミノ酸配列を人為的に変え、新しい機能あるいは機能強化されたチャンネルロドプシンを作るといった試みもなされている¹⁰⁾。このような波長感受性あるいはイオンチャンネル特性の異なるチャンネルロドプシンを同時に網膜細胞に導入することによって、より高度な視機能を作り出せる可能性があ

る。例えば、青色型ChR2と緑型ChR1を同時に導入し、感受できる波長幅を広げるといったものや、青色型ChR2と黄色感受性クロライドチャンネルとして機能するハロロドプシンを同時に導入し、青色光で興奮を誘導し、黄色光で抑制するというものである。しかし、このような波長感受性の異なるChRが創出されたとしても、現時点では特定の神経節細胞だけに、青色型あるいは緑色型ChRなどを選択的に導入する技術は無く、色弁別は難しいと考えられる。また、緑内障のように、神経節細胞や視神経が障害される失明に対しては利用できない。

ChR2の特徴的な性質から、ChR2を導入するのみでどのような神経細胞にも光を受容する能力を与えることができる。このことから、網膜細胞への遺伝子導入にとどまらず、将来、視覚野に、これらの遺伝子を導入し、視覚野で直接、映像を見る、新しいタイプの人工視覚へと発展する可能性がある。

おわりに

本稿では、視細胞の消失後も網膜に残存する神経節細胞を、原始的な光感受性物質を用いて有効利用し視覚を再生できる可能性を示した。現在、チャンネルロドプシン-2を利用して光受容能を神経細胞に与えるという技術は、脳科学研究分野を中心に急速に発展し、光遺伝学(Optogenetics: オプトジェネティクス)という新しい分野として認知されるに至っている。治療目的だけでなく研究ツールとして、

革新的な技術であり、今後、眼科学研究分野でも広く利用され、新しい発見が生まれることを期待したい。

【用語解説】

- * **エピソーム**：染色体に組み込まれず、独立して存在する遺伝子。導入遺伝子がゲノムに組み込まれる場合、挿入部位によっては重要な機能を持つ遺伝子を不活化してしまう可能性がある。
- * **プロモーター**：目的遺伝子の転写（DNA から RNA の合成）を制御する遺伝子上流領域にある配列。例：Thy-1 抗原は網膜内では、網膜神経節細胞にのみ発現するタンパク質である。この Thy-1 抗原の転写を制御するプロモーター（Thy-1 プロモーター）の下流に ChR2 遺伝子を挿入すると、ウイルスベクターが神経節細胞以外の他の網膜細胞に感染したとしても、ChR2 タンパク質は神経節細胞のみで作られ、他の網膜細胞では作られない。

【文 献】

- 1) Nagel G, Szellas T, Huhn W, et al: Channelrhodopsin-2, a directly light-gated cation-selective membrane channel. *Proc Natl Acad Sci USA* 100: 13940-13945, 2003.
- 2) Zemelman BV, Lee GA, Ng M, et al: Selective photostimulation of genetically chARGed neurons. *Neuron* 33: 15-22, 2002.
- 3) Lagali PS, Balya D, Awatramani GB, et al: Light-activated channels targeted to ON bipolar cells restore visual function in retinal degeneration. *Nat Neurosci* 11: 667-675, 2008.
- 4) Bainbridge JW, Smith AJ, Barker SS, et al: Effect of gene therapy on visual function in Leber's congenital amaurosis. *N Engl J Med* 358: 2231-2239, 2008.
- 5) Tomita H, Sugano E, Yawo H, et al: Restoration of visual response in aged dystrophic RCS rats using AAV-mediated channelopsin-2 gene transfer. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 48: 3821-3826, 2007.
- 6) Tomita H, Sugano E, Fukazawa Y, et al: Visual properties of transgenic rats harboring the channelrhodopsin-2 gene regulated by the thy-1.2 promoter. *PLoS One* 4: e7679, 2009.
- 7) Tomita H, Sugano E, Isago H, et al: Channelrhodopsin-2 gene transduced into retinal ganglion cells restores functional vision in genetically blind rats. *Exp Eye Res* 90: 429-436, 2010.
- 8) Sugano E, Isago H, Wang Z, et al: Immune responses to adeno-associated virus type 2 encoding channelrhodopsin-2 in a genetically blind rat model for gene therapy. *Gene Ther* 18: 266-274, 2011.
- 9) Zhang F, Wang LP, Brauner M, et al: Multimodal fast optical interrogation of neural circuitry. *Nature* 446: 633-639, 2007.
- 10) Wang H, Sugiyama Y, Hikima T, et al: Molecular determinants differentiating photocurrent properties of two channelrhodopsins from *Chlamydomonas*. *J Biol Chem* 284: 5685-5696, 2009.

