



A new cornea-positive component to the ERG of the aspartate-treated frog retina?

中村, 充利

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

1992-11-11

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

乙1681

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D2001681>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



| | | |
|------------|---|------------|
| 氏名・(本籍) | なか むら みつ とし 中 村 充 利 | (長崎県) |
| 博士の専攻分野の名称 | 博 士 (医学) | |
| 学位記番号 | 博ろ第1328号 | |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条第2項該当 | |
| 学位授与の日付 | 平成4年11月11日 | |
| 学位論文題目 | A NEW CORNEA-POSITIVE COMPONENT TO THE ERG OF THE ASPARTATE-TREATED FROG RETINA? (アスパラギン酸処理したカエル網膜から得られる ERG の 新しい角膜側陽性成分) | |
| 審 査 委 員 | 主査 教授 片 岡 徹 教授 山 本 節 | 教授 岡 田 安 弘 |

論 文 内 容 の 要 旨

緒 言:

アスパラギン酸処理したカエルの網膜より得られる網膜電図 (Electroretinogram-ERG) は硝子体側陰性の電気応答である P III 応答のみから成り、この応答は視細胞から発生する成分 (fast P III) とミュラー細胞から発生する成分 (slow P III) の2成分に分けられることが知られている。本研究によりそれらの成分に加えて微弱光で刺激すると今までに報告のない P III 応答に先行するこれと反対の極性をもつ硝子体側陽性の電気応答 (陽性波) が得られることが明らかになり、この陽性波が P III 応答と異った性質を示したので電気生理学的に考察を加え報告する。

方 法:

暗順応したカエル剥離網膜を作製し、これを両側に conway 液を満たしたアクリル製チャンパー間に装着しキセノンランプより干渉フィルター、ND フィルターを通した光で刺激した時に発生する transretinal 電位変化を直流増幅し反応加算機を用いて記録した。

結 果:

1. 光応答の一般的性質

剥離網膜を ERG の閾値付近のごく微弱な光で刺激すると P III 応答に先行する硝子体側陽性の電気応答が認められた。この陽性波は P III 応答の強さ-応答曲線の傾きが小である微弱光領域で刺激した時のみに認められた。刺激光を強くしていくと両応答とも振幅が大きくなっていくが P III 応答の強さ-

応答曲線の傾きが大きくなり P III 応答が増大してくると陽性波は徐々に小さくなり P III 応答が fastP III と slowP III の 2 成分に分かれて記録できるような強い刺激光では認められなくなった。刺激光の波長を変化させると 500nm で振幅が最大となり、ロドプシンの吸収極大波長と一致したためこの応答は杆体系に起因することが示唆された。

2. 1 価イオンの濃度変化による影響

細胞外液中の Na 濃度を変化させると陽性波は P III 応答に比較し影響を強く受けていた。K 濃度を減少させると P III 応答は振幅が減少したのに対し陽性波は逆に増大した。

3. 2 価イオン、3 価イオンの影響

細胞外液中の Ca 濃度を 1.0mM から 2.0mM に変化させると陽性波の振幅は約 80% 減少し、また細胞外液中の Ca 濃度を 0.01mM に減少させると陽性波は徐々に増大した。ミュラー細胞の K イオンコンダクタンスを減少させ b 波を減弱させる Ba イオンを添加すると P III 応答は減少したが陽性波は影響を受けなかった。

無機 Ca 拮抗剤のうち La イオンを 50 μ M 浸漬液に加えると陽性波は不可逆的に抑制されたが、P III 応答に影響は認められなかった。2 価金属イオンの無機 Ca 拮抗剤のうち Co、Cd、Ni イオンでも同様に陽性波は抑制されたがその効果は可逆的だった。

4. 神経伝達物質の影響

無機 Ca 拮抗剤の影響が視細胞から 2 次ニューロンへの伝達の遮断による効果である可能性もあるためこの部分の神経伝達物質として考えられるアスパラギン酸、グルタミン酸、 γ -アミノ酪酸 (GABA) をそれぞれ 20mM 浸漬液に添加したが陽性波の応答の大きさは影響を受けなかった。

考 察:

アスパラギン酸処理したカエルの網膜より得られる ERG は硝子体側陰性の電気応答である P III 応答のみから成り、この応答は視細胞から発生する成分 (fastP III) とミュラー細胞から発生する成分 (slowP III) の 2 成分に分けられることが知られている。本研究においてそれらの成分に加えてカエル剥離網膜を微弱光で刺激すると今までに報告のない P III 応答に先行するこれと反対の極性である硝子体側陽性の電気応答 (陽性波) が得られることを見いだした。硝子体側陰性の P III 応答もこの陽性波とともに光刺激を強くしていくと応答が大きくなるが硝子体側陰性の P III 応答が陽性波よりも著しく増大するために陽性波は徐々に減少して強い光刺激では陽性波は認められなくなる。また刺激光の波長を変化させると 500nm で振幅が最大となり応答は杆体系に起因することが示唆された。細胞外液中の Na 濃度を変化させると fastP III、slowP III 応答と比較して陽性波の応答の大きさは影響を著しく強く受けており、また La イオンにより陽性波は不可逆的に抑制されたが、P III 応答に影響は認められないなど陽性波の発生機構は P III 応答と異なっていると推測された。また無機 Ca 拮抗剤のうち La、Co、Cd、Ni イオンで陽性波は抑制され、細胞外液中の Ca 濃度に振幅の大きさが強く依存しているなど陽性波の発生機構と Ca イオンの関係が示唆された。

視細胞外節の細胞膜には fastP III の発生に関与するナトリウムチャンネルの他にイオン交換機構と

してNa-Ca交換機構が存在し、暗時にはNa、Kイオンの濃度勾配を利用してCaイオンを濃度勾配に逆らって細胞内から外に運び出している。このNa-Ca交換機構は4個のNaイオンを各々1個のKイオンとCaイオンと交換しており、起動により細胞膜の内外に電流を発生させ、またNa-Ca交換は細胞外のNa、Kイオン濃度に依存しており、La、Co、Cdイオンにより阻害されることなどが報告されている。これらより硝子体側陽性の電気応答（陽性波）の発生機構としては光刺激により杆体外節中に放出されたCaイオンと視細胞外節周囲のKイオン濃度低下によりNa-Ca交換機構が暗時より活性化され細胞内へ向かう電流となり硝子体側陽性の電気応答（陽性波）となって現れていることが考えられる。この場合Na-Ca交換機構は細胞内のCaイオン濃度を低く保つように働いていることになるがNa-Ca交換機構の活性化によりCaイオンが細胞外へ放出され、また光刺激によりナトリウムチャンネルが閉鎖しCaイオン流入が減少して外節内のCaイオン濃度が暗時よりも低下するとNa-Ca交換機構の不活性化が起こり結果として陽性波の減弱を引き起こすと考えられる。

無機Ca拮抗剤の影響が視細胞から2次ニューロンへの伝達の遮断によるもので陽性波が残存するb波である可能性も考えられなくはないが、ミュラー細胞のKイオンコンダクタンスを減少させてb波を減弱させるBaイオンを添加するとPⅢ応答は減少するが陽性波は影響を受けないこと、細胞外液中のNa濃度を変化させると陽性波はb波に比較し影響を著しく強く受けること、この部位の神経伝達物質と考えられるアスパラギン酸、グルタミン酸、GABAをそれぞれ20mM浸漬液中に添加しても陽性波の応答の大きさは影響を受けなかったこと等を考慮するとその可能性は小さいといえる。

論文審査の結果の要旨

本研究は暗順応したカエル剥離網膜を作製してこれをチャンバー間に装着し、光刺激した時に発生するtransretinal電位変化を直流増幅し反応加算機を用いて記録した網膜電図（ERG）についての研究であるが、アスパラギン酸処理したカエルの網膜より得られるERGは従来硝子体側陰性の電気応答であるPⅢ応答のみから成り、この応答は視細胞から発生する成分（fastPⅢ）とミュラー細胞から発生する成分（slowPⅢ）の2成分に分けられることが知られている。本研究ではそれらの成分に加えてカエル剥離網膜を微弱光で刺激するとPⅢ応答に先行してこれと反対の極性である硝子体側陽性の新しい電気応答（陽性波）が得られることを明らかにしている。剥離網膜をERGの閾値付近のごく微弱な光で刺激した時にPⅢ応答に先行してこの硝子体側陽性の電気応答を認めている。硝子体側陰性のPⅢ応答もこの陽性波とともに光刺激を強くしていくと応答が大きくなっているが光刺激をさらに強くしていくと硝子体側陰性のPⅢ応答が陽性波よりも著しく増大するために陽性波は徐々に減少して強い光刺激では逆の極性であるPⅢ応答の中に埋もれてしまうため陽性波は記録されなくなっている。刺激光の波長を変化させると500nmで振幅が最大となり陽性波もPⅢ応答と同様にかん体系に起因していると推測している。この陽性波が視細胞以外の2次ニューロンやミュラー細胞から発生している可能性を否定するためにまずミュラー細胞のKイオンコンダクタンスを減弱させるBaイオンを添加しているが陽性波はこれによりなんら影響を受けていない。また視細胞から2次

ニューロンへのトランスマッターとして考えられるアスパラギン酸、グルタミン酸、GABA 等を大量に細胞外液に加えても陽性波は影響を受けなかったことなどより、陽性波が残存する b 波である可能性は小さいと考えられる。

陽性波は細胞外液中の Na 濃度、K 濃度、Ca 濃度の変化に振幅の大きさが P III 応答と比較してもより強く依存しており、また K 濃度を減少させると P III 応答は低下するのに対し陽性波は逆に増大している。さらに陽性波は無機 Ca 拮抗剤で抑制されるが P III 応答は影響を受けないなど P III 応答と異なった性質を陽性波は示し、陽性波の発生機構と Ca イオンの関係が示唆されている。

視細胞外節の細胞膜には fastP III の発生に参与するナトリウムチャンネルの他にイオン交換機構として Na-Ca 交換機構が存在してこれは 4 個の Na イオンを細胞内に取り入れる代わりに 1 個の Ca イオンと 1 個の K イオンを細胞外にくみ出しており起動することで細胞の内外に電位変化を引き起す。陽性波の発生機構としては、光刺激によりかん体外節中に放出された Ca イオンと視細胞外節周囲の K イオン濃度が低下することにより暗時よりこの Na-Ca 交換機構が活性化され細胞内へ向かう電流となりナトリウムチャンネルの閉鎖により起こる fastP III と反対の極性である硝子体側陽性の電気応答（陽性波）となって現れていると推論される

本研究は、アスパラギン酸処理したカエル網膜について、その角膜側陽性の電気応答を研究したものであるが、従来はほとんど行われていなかった新しい陽性応答を発見し、その発生機構について重要な知見を得たものとして価値ある集積であると認める。

よって、本研究者は、博士（医学）の学位を得る資格があると認める。