

白内障手術時における硝子体中へのグルタミン酸と γ -アミノ酪酸放出

毛塚 潤, 若林 美宏, 八木橋朋之, 岩崎 琢也, 臼井 正彦

東京医科大学眼科学教室

要 約

目的：白内障手術時、短時間とはいえ一時的に網膜虚血や光刺激による網膜障害を惹き起こし、グルタミン酸の過剰放出を誘発する可能性があると考え、硝子体中アミノ酸分析を行った。

対象と方法：網膜硝子体手術が必要であった黄斑部疾患 32 眼の硝子体を検体としてアミノ酸分析を行った。糖尿病網膜症、網膜静脈閉塞症、網膜剝離などの虚血性疾患は除外した。白内障硝子体同時手術群 18 眼、硝子体手術単独群 14 眼について硝子体中アミノ酸濃度を比較検討した。

結果：白内障硝子体同時手術群が硝子体手術単独群に比べ、グルタミン酸濃度が約 3 倍、 γ -アミノ酪酸

(GABA)濃度が約 6 倍、アラニン濃度は約 2 倍の上昇があった。

結論：人眼においても、急性の短時間圧負荷または光刺激によりグルタミン酸が過剰放出される。同時に GABA 濃度が上昇することを考えると、網膜はグルタミン酸が過剰放出された場合、GABA を介してグルタミン酸濃度を下げ、神経毒としての働きを生理的に抑えている可能性がある。(日眼会誌 107 : 583-589, 2003)

キーワード：グルタミン酸、 γ -アミノ酪酸(GABA)、白内障手術、硝子体

Glutamate and γ -aminobutylic Acid Release into the Vitreous During Cataract Surgery

Jun Kezuka, Yoshihiro Wakabayashi, Tomoyuki Yagihashi
Takuya Iwasaki and Masahiko Usui

Department of Ophthalmology, Tokyo Medical University

Abstract

Objective : In cataract surgery, transient retinal ischemia and photostimulation-induced retinal damage occurs, even though only for a short duration. We suspected the possibility of excessive release of glutamate under these conditions, and therefore analyzed the amino acid contents in the vitreous body.

Materials and Methods : The vitreous bodies of 32 eyes with disease of the macular area necessitating retinovitreal surgery were used as samples for amino acid analysis. Ischemic diseases such as diabetic retinopathy, venous occlusion, and retinal detachment were excluded. The vitreous amino acid contents were compared between 18 eyes that underwent combined cataract and vitreal surgery and 14 eyes that had vitreal surgery alone.

Results : An approximately 3-fold increase of

glutamate, 6-fold increase of γ -aminobutylic acid (GABA), and 2-fold increase of alanine were observed in combined cataract and vitreal surgery compared to vitreal surgery alone.

Conclusion : Even in human eyes, acute pressure overload or photostimulation for a short duration cause excessive release of glutamate. A simultaneous increase of GABA suggests the possibility that when glutamate is over-released, the retina physiologically reduced the concentration of glutamate via GABA, in an attempt to suppress the neurotoxin action.

Nippon Ganka Gakkai Zasshi(J Jpn Ophthalmol Soc 107 : 583-589, 2003)

Key words : Glutamate, γ -aminobutylic acid(GABA), Cataract surgery, Vitreous body

別刷請求先：160-0023 東京都新宿区西新宿 6-7-1 東京医科大学眼科学教室 毛塚 潤
(平成 14 年 3 月 25 日受付, 平成 15 年 2 月 19 日改訂受理)

Reprint requests to : Jun Kezuka, M.D. Department of Ophthalmology, Tokyo Medical University, 6-7-1 Nishishinjyuku, Shinjyuku-ku, Tokyo 160-0023, Japan

(Received March 25, 2002 and accepted in revised form February 19, 2003)

I 緒 言

近年、脳神経領域において、虚血時にグルタミン酸濃度が過剰に増加することでグルタミン酸が神経毒として働き、神経細胞を壊死に至らしめることが明らかにされた¹⁾²⁾。同様に網膜においてもグルタミン酸が視細胞や双極細胞、アマクリン細胞などの神経伝達物質であることが次第に明らかにされているが^{3)~5)}、その一方でグルタミン酸を過剰投与すると、網膜内層のニューロンが変性すると考えられており⁶⁾⁷⁾、眼内においても過剰なグルタミン酸が網膜に対する神経毒として作用する危険性が指摘されている。また、家兎およびネコを用いた高眼圧負荷実験の報告によれば、急性の高眼圧負荷とその後の圧負荷解除による網膜循環再灌流により、硝子体中のグルタミン酸濃度が上昇することも証明されている⁸⁾⁹⁾。さらに、光刺激により硝子体中グルタミン酸量が上昇したとの報告¹⁰⁾もある。

白内障は日常眼科診療で最も多く遭遇する疾患であり、視力が低下すれば白内障手術を施行し術後の予後は概ね良好である。しかしながら、白内障手術の手法が、短時間とはいえ一時的な高眼圧¹¹⁾¹²⁾による網膜循環障害、または手術顕微鏡による光刺激反応を惹き起こし、グルタミン酸の過剰放出を誘発する危険性があると考えられる。今回、白内障手術時における硝子体中へのアミノ酸、特にグルタミン酸放出との関連を明らかにする目的で、白内障硝子体同時手術中に採取した硝子体のアミノ酸濃度を定量し比較検討した。

II 対象と方法

1. 対 象

網膜硝子体手術が必要であった黄斑部疾患 32 例 32 眼を対象とした。対象とした疾患の内訳は、特発性黄斑円孔 14 例 14 眼、特発性黄斑上膜 7 例 7 眼、加齢黄斑変性 7 例 7 眼、その他の黄斑部疾患 4 例 4 眼である。なお、糖尿病網膜症、網膜静脈閉塞症、網膜剝離などの虚血性疾患は除外した。そのうち、白内障と硝子体同時手術例(白内障同時手術群)は 18 例 18 眼で、平均年齢は 66.1 ± 9.8(平均値 ± 標準偏差)歳、性別は男性 9 例、女性 9 例であった。硝子体手術のみを施行した症例(硝子体手術単独群)は 14 例 14 眼で、平均年齢は 58.2 ± 19.4 歳、性別は男性 9 例、女性 5 例であった(表 1)。なお、これら 2 群間で平均年齢が白内障同時手術群で高かったが、各疾患数、男女比と同様に統計学的に有意差はなかった。

白内障手術は全例超音波乳化吸引術で施行され、眼内灌流液には BSS plus[®](アルコン)を用い、灌流ボトルの高さは 60~65 cm に固定した。後囊破損などの合併症はなく、平均超音波乳化吸引時間は 59.2 ± 23.3(平均値

表 1 各手術群の詳細

	硝子体手術単独群 n=14	白内障同時手術群 n=18
性別 男性	9	9
女性	5	9
平均年齢(平均値 ± 標準偏差)	58 ± 19	66 ± 10
疾患 黄斑円孔	6	8
黄斑上膜	2	5
加齢黄斑変性	3	4
他の黄斑部疾患	3	1

±標準偏差)秒であった。硝子体手術は全例スリーポートシステムによる経毛様体扁平部硝子体切除術を行った。

2. 検体採取法

白内障同時手術の場合、白内障手術を先行して行い、終了後スリーポートを作製し、経毛様体扁平部硝子体切除術に際し、眼内灌流を開始する前に硝子体腔中央の硝子体を硝子体カッターで切除しながら、5.0 ml シリンジで硝子体約 1.0 ml を手動で吸引して採取した。白内障手術終了直後から硝子体採取までの時間は約 5 分であった。また、硝子体手術単独例では、スリーポート作製後、同様の方法で硝子体を採取した。硝子体採取時に血液が混入した症例は除外し、それぞれ検体は採取後、直ちに -80°C の冷凍庫に保存した。なお、検体採取は術前に患者の同意を得て行い、東京医科大学病院倫理委員会で承認(承認番号 110)を得た。

3. アミノ酸の定量分析

プレラベル誘導体化法¹⁰⁾¹³⁾¹⁴⁾を用いて硝子体中のアミノ酸を定量分析した。まず、検体を解凍した後、直ちに 27 G 針付き 5.0 ml シリンジで有形硝子体をホモジネートし液化硝子体とした後、検体 50 μl にメタノール 50 μl を加えよく攪拌させ、4,000 rpm で 10 分間遠沈し、除蛋白を行った。得られた試料の上清 20 μl に蒸留水 20 μl を加え、よく攪拌し分析用試料とした。アミノ酸は単体では、電気化学検出器および蛍光検出器では検出できないため、アミノ酸のアミノ基を 2-メルカプトエタノールの存在下で、o-フタルアルデヒド(OPA-2 ME, 誘導体化試薬)と反応させ検出した。4 mM 誘導体化試薬 10 μl に解析用検体 30 μl を加え、よく混合し 2.5 分反応させた後、高速液体クロマトグラフィ(HPLC, エイコム社, ECD-100)に注入した。反応は 10°C, 60 分とし、アスパラギン酸(Asp), グルタミン酸(Glu), グルタミン(Gln), グリシン(Gly), タウリン(Tau), アラニン(Ala), γ-アミノ酪酸(GABA)の各アミノ酸を定量分析した。統計処理は χ^2 検定, Mann-Whitney U 検定, Spearmann 順位相関を用い、危険率 5% 以下を有意と判定した。

表 2 硝子体中のアミノ酸濃度(μM)

	Asp	Glu	Gln	Gly	Tau	Ala	GABA
硝子体中のアミノ酸濃度 (n=32) (平均値 \pm 標準偏差)	30.69 \pm 66.22	15.61 \pm 12.47	6,772.00 \pm 3,903.52	803.11 \pm 510.71	316.83 \pm 151.10	1,966.98 \pm 1,197.75	7.45 \pm 9.36
疾患別アミノ酸濃度(平均値 \pm 標準偏差)							
黄斑円孔(n=14)	36.35 \pm 86.75	17.58 \pm 11.14	7,200.51 \pm 3,922.70	982.56 \pm 562.49	325.72 \pm 147.65	2,164.92 \pm 1,312.22	9.00 \pm 9.60
黄斑上膜(n=7)	10.53 \pm 18.67	8.21 \pm 5.78	5,695.93 \pm 351.91	390.53 \pm 232.94	230.83 \pm 148.05	1,098.44 \pm 654.08	4.00 \pm 2.56
加齢黄斑変性(n=7)	38.40 \pm 61.18	22.36 \pm 18.38	7,843.26 \pm 4,685.12	850.57 \pm 485.91	348.99 \pm 145.21	2,196.86 \pm 1,335.47	8.83 \pm 13.79
その他(n=4)	32.67 \pm 57.05	9.86 \pm 5.47	5,280.60 \pm 3,838.52	814.03 \pm 436.54	379.92 \pm 173.48	2,391.83 \pm 796.13	5.67 \pm 10.82

Asp: アスパラギン酸, Glu: グルタミン酸, Gln: グルタミン, Gly: グリシン, Tau: タウリン, Ala: アラニン, GABA: γ -アミノ酪酸

表 3 硝子体中アミノ酸濃度と年齢の相関係数

	Asp	Glu	Gln	Gly	Tau	Ala	GABA
相関係数 ρ	-0.04	0.26	0.32	0.26	0.16	0.23	0.13
p 値	0.81	0.16	0.08	0.16	0.37	0.20	0.46

III 結 果

1. 硝子体中アミノ酸濃度

対象にした全症例において、硝子体中アミノ酸濃度は、アスパラギン酸が 30.69 ± 66.22 (平均値 \pm 標準偏差) μM 、グルタミン酸が $15.61 \pm 12.47 \mu\text{M}$ 、グルタミンが $6,772.00 \pm 3,903.52 \mu\text{M}$ 、グリシンが $803.11 \pm 510.71 \mu\text{M}$ 、タウリンが $316.83 \pm 151.10 \mu\text{M}$ 、アラニンが $1,966.98 \pm 1,197.75 \mu\text{M}$ 、GABA が $7.45 \pm 9.36 \mu\text{M}$ であった。なお、測定変動幅が大きく、症例数が少ないなどの問題点があるが、各疾患別に硝子体中アミノ酸濃度を比較検討したところ、各濃度に疾患の違いによる差はなかった(表 2)。また、全症例において、硝子体中アミノ酸濃度と年齢との間に相関関係はなかった(表 3)。

2. 硝子体手術単独群と白内障同時手術群の硝子体中アミノ酸濃度

硝子体中アミノ酸濃度を、硝子体手術単独群と白内障同時手術群の 2 群で比較検討したところ、グルタミン酸濃度は白内障同時手術群が $22.15 \pm 12.62 \mu\text{M}$ 、硝子体手術単独群が $7.20 \pm 5.22 \mu\text{M}$ であり、白内障同時手術群で有意に高値であった(図 1, $p=0.0004$)。アラニン濃度は白内障同時手術群が $2,458.98 \pm 1,170.90 \mu\text{M}$ 、硝子体手術単独群が $1,334.42 \pm 928.45 \mu\text{M}$ であり、白内障同時手術群で有意に高値であった(図 2, $p=0.02$)。GABA 濃度は白内障同時手術群が $11.82 \pm 10.78 \mu\text{M}$ 、硝子体手術単独群が $1.84 \pm 3.03 \mu\text{M}$ であり、白内障同時手術群で有意に高値であった(図 3, $p=0.0005$)。しかし、アスパラギン酸濃度、グルタミン濃度、グリシン濃度、タウリン濃度に関しては 2 群間に差はなかった

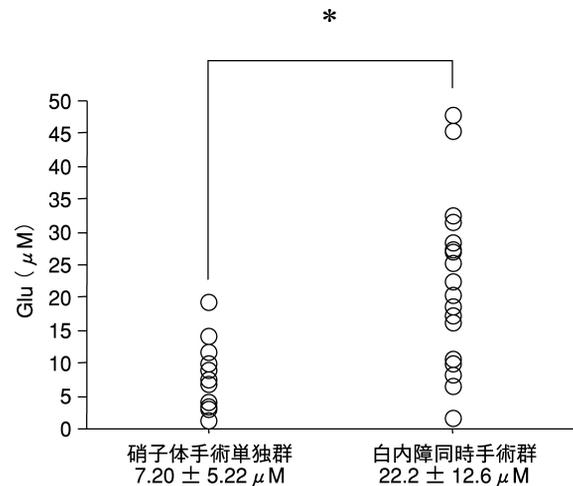


図 1 硝子体手術単独群と白内障同時手術群の硝子体中グルタミン酸(Glu)濃度。

白内障同時手術群の硝子体中グルタミン酸濃度は硝子体手術単独群に比較し、有意に高値であった(* : $p=0.0004$)。平均値 \pm 標準偏差

(図 4~7)。

IV 考 按

グルタミン酸は一般的な生体反応として、アミノ基転移反応やミトコンドリアで行われるグルタミン酸脱水素酵素反応により、 α -ケトグルタル酸に変換されトリカルボン酸サイクル(TCA サイクル)に利用される。網膜において、グルタミン酸は神経終末から放出された後シナプス後膜に結合し神経伝達物質として働く他、再度神経終末に取り込まれるか、グルタミン酸トランスポーターにより Müller 細胞に取り込まれる。そこでアデノシン三リン酸(ATP)依存性にグルタミン合成酵素によってグルタミンになり、安定する¹⁵⁾¹⁶⁾。グルタミンは神経細胞に送られ、再びグルタミン酸に変えられる¹⁷⁾。しかし、虚血状態ではこの過程が正常に働きにくいとされている¹⁸⁾。

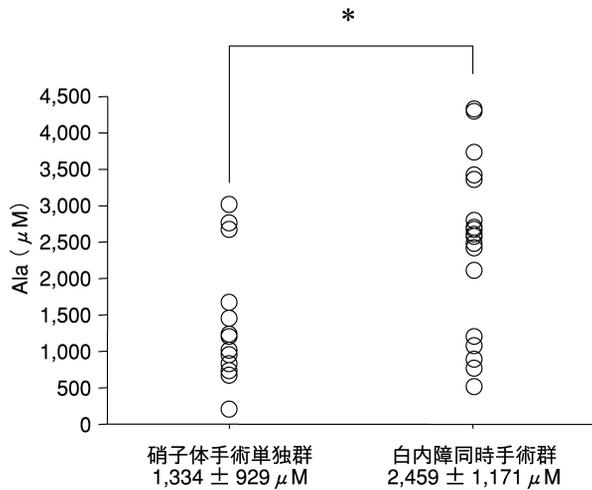


図 2 硝子体手術単独群と白内障同時手術群の硝子体中アラニン(Ala)濃度。

白内障同時手術群の硝子体中アラニン濃度は硝子体手術単独群に比較し、有意に高値であった(* : p=0.02)。

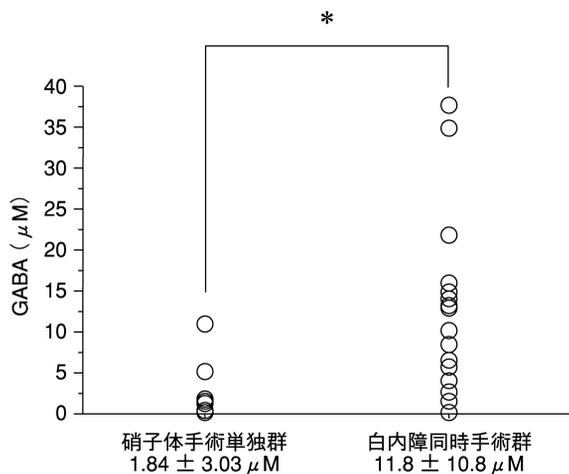


図 3 硝子体手術単独群と白内障同時手術群の硝子体中γ-アミノ酪酸(GABA)濃度。

白内障同時手術群の硝子体中γ-アミノ酪酸濃度は硝子体手術単独群に比較し、有意に高値であった(* : p=0.0005)。

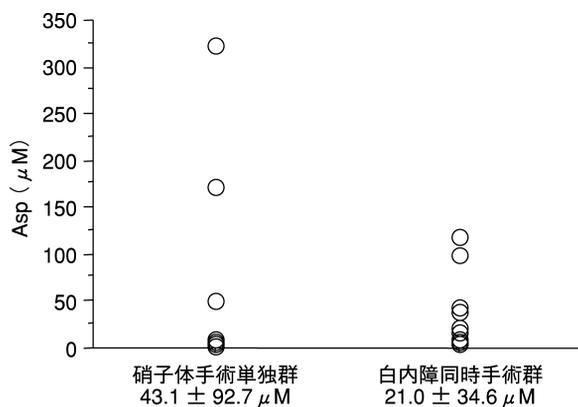


図 4 硝子体手術単独群と白内障同時手術群の硝子体中アスパラギン酸(Asp)濃度。

硝子体手術単独群と白内障同時手術群の硝子体中アスパラギン酸濃度に差はなかった(p=0.42)。

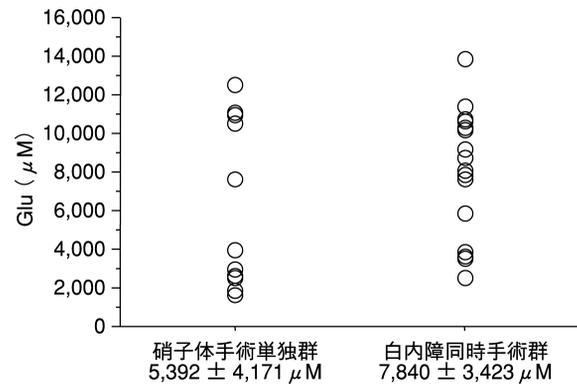


図 5 硝子体手術単独群と白内障同時手術群の硝子体中グルタミン(Glu)濃度。

硝子体手術単独群と白内障同時手術群の硝子体中グルタミン濃度に差はなかった(p=0.12)。

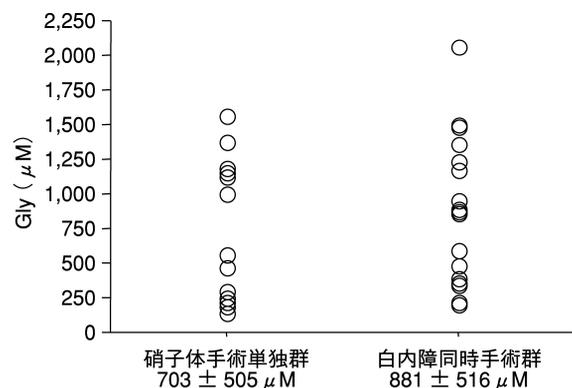


図 6 硝子体手術単独群と白内障同時手術群の硝子体中グリシン(Gly)濃度。

硝子体手術単独群と白内障同時手術群の硝子体中グリシン濃度に差はなかった(p=0.32)。

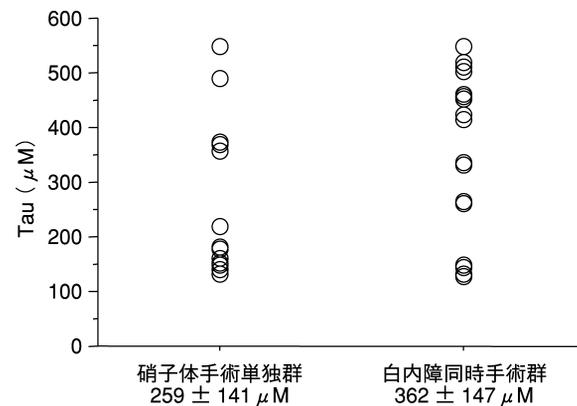


図 7 硝子体手術単独群と白内障同時手術群の硝子体中タウリン(Tau)濃度。

硝子体手術単独群と白内障同時手術群の硝子体中タウリン濃度に差はなかった(p=0.14)。

今回、白内障手術直後に硝子体中のグルタミン酸濃度が上昇した理由として、①術中の高眼圧負荷に起因する網膜虚血により、グルタミン酸が過剰放出した。②水晶体破碎時に生じた水晶体蛋白由来のアミノ酸分子が硝子体中に流出した。③白内障手術侵襲によって血液眼柵が破壊され、血中のアミノ酸が漏出した。④手術顕微鏡による光刺激が網膜から硝子体へのアミノ酸放出を誘発したことが考えられる。水晶体の蛋白質は、大きく分けてクリスタリンに代表される水溶性蛋白質とアルブミノイドに代表される水不溶性蛋白質および細胞膜を構成する膜蛋白質に大別される。いずれの蛋白質もそのアミノ酸組成にグルタミン酸を含んでいるが、同時にアスパラギン酸、グルタミン、グリシン、アラニンなども含んでいる¹⁹⁾。もし術中、硝子体中に水晶体を構成するアミノ酸分子や血中からのアミノ酸分子の漏出があれば、定量した硝子体中のアミノ酸濃度は7種類すべて上昇すると考えられるが、今回の分析では平均値で白内障同時手術群の硝子体中グルタミン酸濃度が約3倍、アラニン濃度が約2倍、GABA濃度が約6倍と、この3種だけが特異的に上昇した。Jayakrishnaら²⁰⁾によれば、虚血性眼疾患である増殖性糖尿病網膜症の硝子体中のアミノ酸を分析した結果、GABA、グルタミン酸濃度が上昇しており、さらに、虚血性眼疾患は内血液網膜柵の障害により血中のアミノ酸が漏出している可能性があるため、本研究では糖尿病網膜症、静脈閉塞症、および網膜剥離などは除外している。また、手術侵襲による血液房水柵の破綻の影響もあると考えられるが、先にも述べたように分析結果ではグルタミン酸、アラニン、GABA濃度のみが特異的に上昇し、他のアミノ酸濃度の上昇はなかった。これらの事実から、本研究では血液眼柵の破壊が主因となり硝子体中へ多量のグルタミン酸が放出されたとは考えにくい。近年、白内障手術創の小切開化により、術中の前房保持が安定し、より安全な手術を行えるようになった。一方、小切開創からの前房内容物の漏出が少ないため、前房内に注入する粘弾性物質の量や灌流圧が術中の眼圧に大きく反映されるようになり、手技によってはごく短時間とはいえ、一過性に眼圧が40~50 mmHgまで上昇することが示された¹¹⁾¹²⁾。したがって本研究の結果から、白内障同時手術群では、人眼においても白内障手術時の手技により一時的に網膜虚血が惹き起こされ、その後の網膜循環再灌流により網膜からグルタミン酸が放出された可能性も否定できない。さらに、循環障害に起因する一過性のMüller細胞機能低下によるトランスポーター機能低下も加わり、硝子体中のグルタミン酸濃度が上昇したことも考えられる。網膜と脳を比較すると好氣的代謝が主体の脳より、嫌氣的代謝が主体の網膜の方が²¹⁾虚血に伴うATP消失までの時間が長い。さらに、網膜では先にも述べたようにMüller細胞によるグルタミン酸濃度を調節する機能が発達して

いるため、神経細胞の虚血に耐え得る時間が長いと考えられている²²⁾。また、動物を用いた網膜虚血再灌流障害の実験では、収縮期血圧以上の高眼圧を60分間負荷したモデルを使用し、神経細胞死を出現させている³⁾⁸⁾¹⁶⁾²³⁾。したがって、超音波白内障手術時の高眼圧により網膜からグルタミン酸が過剰に放出される可能性は否定できないが、このように一時的で短時間の循環障害では、著しい神経細胞死は惹起されないと考えられる。一方、ラットモデルで、光刺激により網膜の神経伝達系路が障害され、グルタミン酸合成と取り込みの障害が起こり、網膜中のグルタミン酸量が減少し、結果的に硝子体へのグルタミン酸放出が起こり、硝子体中グルタミン酸量が上昇したとの報告¹⁰⁾がある。白内障手術を施行時、手術顕微鏡光が光刺激となり、硝子体中グルタミン酸量が増加した可能性もあり、今後の検討課題と考える。

今回分析したアミノ酸の中で、抑制性神経伝達物質であるGABA濃度も上昇した。GABA作動性神経細胞では、ビタミンB6の活性型であるピリドキサルリン酸を補酵素としてグルタミン酸脱炭酸酵素(GAD)によりグルタミン酸はGABAに変換される。ラット網膜の免疫組織化学的実験において、虚血負荷すると、グルタミン酸とGABAにおける活性の増加とともに、GAD活性は変化ないが、GABAトランスアミナーゼ活性が減少したとの報告²⁴⁾がある。また、Pengら²⁵⁾は新たなGABA合成経路として、星状膠細胞における α -ケトグルタル酸→グルタミン酸→グルタミン経路、およびGABA作動性ニューロンにおけるグルタミン→グルタミン酸→GABA経路を提唱している。さらに、Pengら²⁵⁾とWaagepetersenら²⁶⁾はグルタミン酸作動性ニューロンとの関連について述べており、興奮性ニューロンから放出されたグルタミン酸が星状膠細胞に取り込まれてグルタミンに代謝され、このグルタミンがGABA作動性ニューロンに運ばれてGABAが合成されるとしている。つまり、興奮性ニューロンの活動が起こると抑制性ニューロンの活動を刺激することになるという仮説を提唱している。一方、光刺激によって網膜中のGABAが増加したという報告²⁷⁾²⁸⁾もある。本実験ではGABAが白内障同時手術群において、硝子体手術単独群に比較し約6倍もの濃度上昇を示した。上記のように、人眼においてもグルタミン酸放出によるGABAの合成、または光刺激によるGABAの産生が関与していると考えられる。

本実験ではアラニン濃度も白内障同時手術群で上昇した。星状膠細胞からグルタミンの供給を受けているグルタミン酸作動性ニューロンでは、星状膠細胞からグルタミンと同時に乳酸が供給され、乳酸の酸化によって生じたピルビン酸に、グルタミンから放出されたアンモニアがグルタミン酸を経由して取り込まれアラニンになり、星状膠細胞に戻るという経路がマウスの小脳から見出された²⁶⁾。人眼でもグルタミン酸合成に関連してアラニン

も増加したと考えられる。

今回の研究結果から、人眼においても急性の短時間圧負荷または光刺激によりグルタミン酸が硝子体中に過剰に放出されたと考えられる。しかし、同時に生じる GABA の濃度上昇を併せて考えると、グルタミン酸が直ちに GABA に変換され、結果的に、放出されたグルタミン酸濃度を下げていることも考えられる。また、先も述べたように、正常な生理反応として放出されたグルタミン酸は、健常網膜の場合グルタミン酸トランスポーターにより Müller 細胞に取り込まれ処理されることを考慮すると、網膜は GABA を介しグルタミン酸の神経毒としての働きを生理的に抑えている可能性がある。近年、網膜の虚血—再灌流における網膜障害とグルタミン酸との関連のみならず、NO⁸⁾、フリーラジカル⁸⁾³⁰⁾の上昇、アポトーシスの発現²²⁾などとの関連についての報告も多く、さらにはこれに対する神経保護因子に関する様々な研究がなされている。グルタミン酸誘発神経細胞死に対する神経保護因子として数種の物質が見つまっているが³⁰⁾、眼内でグルタミン酸を GABA に変換させる活性物質が臨床応用されればこれも神経保護の一助になる可能性があると考えられる。

文 献

- 1) **Olney JW** : Neurotoxicity of excitatory amino acids. In: McGeer EG, et al (Eds) : Kainic Acid as a Tool in Neurobiology. Raven, New York, 95—171, 1978.
- 2) **Choi DW, Rothman SM** : The role of glutamate neurotoxicity in hypoxic-ischemic neuronal death. *Ann Rev Neuroscience* 13 : 171—182, 1990.
- 3) **Sarantis M, Everett K, Attwell D** : A presynaptic action of glutamate at the cone output synapse. *Nature* 332 : 451—453, 1988.
- 4) **Neal MJ** : Amino acid transmitter substances in the vertebrate retina. *Gen Pharmacol* 7 : 321—332, 1976.
- 5) **Bloomfield SA, Dowling JE** : Roles of aspartate and glutamate in synaptic transmission in rabbit retina. *J Neurophysiol* 53 : 714—725, 1985.
- 6) **Lucas DR, Newhouse JP** : The toxic effect of sodium L-glutamate on the inner layer of the retina. *Arch Ophthalmol* 58 : 193—201, 1957.
- 7) **Olney JW** : Glutamate-induced retinal degeneration in neonatal mice. Electron microscopy of the acutely evolving lesion. *J Neuropathol Exp Neurol* 28 : 455—474, 1969.
- 8) **柏井 聡** : 第 99 回日本眼科学会総会 「宿題報告」 活性酸素、フリーラジカルと網膜疾患 虚血網膜における一酸化窒素の役割について。日眼会誌 99 : 1361—1376, 1995.
- 9) **Louzada-Junior P, Dias JJ, Santos WF, Lachat JJ, Bradford HF, Coutinho-Netto J** : Glutamate release in experimental ischemia of the retina : An approach using microdialysis. *J Neurochem* 59 : 358—363, 1992.
- 10) **Wasowicz M, Morice C, Ferrari P, Callebert J, and Versaux-Botteri C** : Long-term effects of light damage on the retina of albino and pigmented rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 43 : 813—820, 2002.
- 11) **宮澤大輔, 栗山晶治, 陶山洋志, 近藤武久** : 小切開白内障手術中の眼圧。神戸市立病院紀要 36 : 37—39, 1997.
- 12) **木戸啓文, 原田隆文, 橋本貴夫** : 白内障超音波乳化吸引術の各種手技における前房内圧の時間経過。眼科手術 12 : 495—499, 1999.
- 13) **Hashimoto A, Oka T, Nishikawa T** : Extracellular concentration of endogenous free D-serine in the rat brain as revealed by *in vivo* microdialysis. *Neurosci* 66 : 635—643, 1995.
- 14) **Yonezawa Y, Kuroki T, Kawahara T, Tashiro N, Uchimura H** : Involvement of γ -aminobutyric acid neurotransmission in phencyclidine-induced dopamine release in the medial prefrontal cortex. *Eur J Pharmacol* 341 : 45—56, 1998.
- 15) **Martinez-Hernandez A, Bell KP, Norenberg MD** : Glutamin synthetase : Glial localization in brain. *Science* 195 : 1356—1358, 1977.
- 16) **Rauen T, Kuhlbrodt K** : Molecular characterization of the high-affinity glutamate transporter in Müller glial cells. *J Brain Res* 37 : 223, 1996.
- 17) **Hertz L** : Functional interactions between neurons and astrocytes. I. Turnover and metabolism of putative amino acid transmitters. *Prog Neurobiol* 13 : 277—323, 1979.
- 18) **玉井 信** : 網膜における興奮性アミノ酸の持つ二面性。日眼会誌 98 : 411—418, 1994.
- 19) **岩田修三** : 水晶体—その生化学的機構—。メディカル薬出版, 東京, 65—111, 1986.
- 20) **Jayakrishna A, Kakarla VC, Dinesh KC, Carl TD, Ernest GG, Steven JR, et al** : Elevated γ -aminobutyric acid, glutamate, and vascular endothelial growth factor levels in the vitreous of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Arch Ophthalmol* 115 : 1161—1166, 1997.
- 21) **Whitehart DR** : 6. Carbohydrates. *Biochemistry of the Eye*. Butterworth-Heinemann, Boston, 53—86, 1994.
- 22) **Szabo ME, Droy-Lefaix MT, Dory M, Carre C, Braquet P** : Ischemia and reperfusion-induced histologic changes in the rat retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 32 : 1471—1477, 1991.
- 23) **黒川 徹, 吉村長久** : 虚血網膜の分子機構—神経保護の立場もふくめて—。神眼 16 : 385—392, 1999.
- 24) **Kobayashi N, Ishiguro S, Tomita H, Nishikawa S, and Tamai M** : Changes of GABA metabolic enzymes in acute retinal ischemia. *Exp Eye Res* 69 : 91—96, 1999.
- 25) **Peng L, hertz L, Huang R, Sonnewald U, Petersen SB, Westergaard N, et al** : Utilization of

- glutamine and of TCA cycle constituents as precursors for transmitter glutamate and GABA. *Dev Neurosci* 15 : 367–377, 1993.
- 26) **Waagepetersen HS, Sonnewald U, Larsson OM, Schousboe A** : A possible role of alanine for ammonia transfer between astrocytes and glutamatergic neurons. *J Neurochem* 75 : 471–479, 2000.
- 27) **Starr MS** : Effect of light stimulation on the synthesis and release of GABA in rat and frog retinal. *Brain Res* 100 : 343–353, 1975.
- 28) **Nishimura C, Ida S, Kuriyama K** : Alteration of GABA system in frog retina following short light and dark adaptations a quantitative comparison with retinal taurine. *Brain Res* 219 : 433–438, 1981.
- 29) **Lipton SA, Choi YB, Pan ZH, Lei SZ, Chen HSV, Sucher NJ**, et al : A redox-based mechanism for the neuroprotective and neurodestructive effects of nitric oxide and related nitroso compounds. *Nature* 364 : 626–632, 1993.
- 30) **正化圭介, 三嶋 弘** : グルタミン酸誘発神経細胞死とその保護機構. *神眼* 16 : 393–401, 1999.
-