

神経伝達物質およびその拮抗薬がヒナ ERG・c 波 および明上昇に及ぼす影響

浅水 奈美子 (岩手医科大学眼科学教室)

要 約

網膜の神経伝達物質として知られる GABA, glycine, およびこれらの拮抗薬である picrotoxin, strychnine を硝子体内へ注入したときの ERG・c 波および網膜常存電位の明上昇の変化について検討した。c 波は、米山⁶⁾の報告した2つの波形に基づき、立ち上がりの速い c 波を c_F 波、立ち上がりの遅い c 波を c_S 波と呼称した。その結果、GABA, glycine はその濃度によって c 波を増大、または減少させた。GABA は c_F 波に強く影響を示す傾向にあった。また、picrotoxin は、波形を大きく変化させ、 c_S 波の極性も逆転させた。strychnine 投与では振幅の減弱のみであったが c_S 波に減弱が目立った。明上昇の振幅は、GABA, glycine で増大を、picrotoxin, strychnine で減少を見た。picrotoxin は off 応答を増強させたが strychnine は増強した off 応答を抑制した。これらの結果から、伝達物質が、ERG・c 波、および明上昇の波形形成に係っている可能性が示唆された。(日眼会誌 93:1098-1107, 1989)

キーワード: c 波, 明上昇, 神経伝達物質, GABA, glycine

Effects of Neurotransmitters and Blockers on Electroretinogram c-Wave and Light Peak of the Chick

Namiko Asamizu

Department of Ophthalmology, School of Medicine, Iwate Medical University

Abstract

Effects of neurotransmitters (GABA, glycine) and their antagonists (picrotoxin, strychnine) on retinal potentials were investigated in the chick. Electroretinogram (ERG) c-wave and light peak of the standing potential of the retina were recorded from the eyes of anesthetized chicks by a standard method of direct current recording after intravitreal injection of various concentrations of GABA, glycine, picrotoxin and/or strychnine. The amplitude of the c-wave was measured at 2 and 5 sec after onset of the light stimulus, using as indices the fast-rise c-wave (c_F -wave) and the slow-rise c-wave (c_S -wave), respectively. GABA (10^{-6} M) and glycine (10^{-5} M) enhanced the amplitude of the c-wave but maintained normal waveform. Picrotoxin (3mM) reversed the polarity of the c_S -wave from positive to negative, whereas the c_F -wave maintained normal polarity. An injection of strychnine (10mM) alone depressed the c-wave amplitude but did not change the waveform. The amplitude of the light peak of the retinal standing potential increased by administration of GABA or glycine, whereas it decreased with picrotoxin or strychnine. Post d-trough and post d-peak were enlarged by picrotoxin, while they were suppressed by strychnine. The results suggest that GABA and glycine are possibly related to

別刷請求先: 020 盛岡市内丸19-1 岩手医科大学眼科学教室 浅水奈美子
(平成元年5月29日受付, 平成元年7月17日改訂受理)

Reprint requests to: Namiko Asamizu, M.D. Dept. of Ophthalmol., School of Med., Iwate Med. Univ.
19-1 Uchimaru, Morioka 020, Japan

(Received May 29, 1980 and accepted in revised form July 17, 1989)

generation of the c-wave and the light peak. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 93: 1098—1107, 1989)

Key words: c-wave, Light peak, Neurotransmitter, GABA, Glycine

I 緒 言

Electroretinogram (ERG) の c 波は、主として、rhodopsin の光化学反応に続く視細胞外液のカリウムイオン濃度の減少によって、網膜色素上皮細胞の apical 膜が過分極することにより発生する¹⁾²⁾と考えられている。このことから c 波についての検討には、網膜色素上皮に関係する事項が多い反面、網膜内のシナプス伝達と c 波の関係についての研究は少なく、特に、シナプス伝達機構に関わる神経伝達物質と c 波との関連性については今までほとんど調べられていない。

Sato ら³⁾は、ヒナ in vivo ERG において、GABA と picrotoxin が c 波の波形と振幅に少なからず影響を与えることを見だし、また、著者ら⁴⁾も、GABA 拮抗薬である picrotoxin の存在下で、glycine の拮抗物質である strychnine が c 波の波形と振幅に変化を及ぼすことを観察し、これらの結果から、c 波は複数の成分からなる波であり、それぞれの成分に異なった神経伝達物質が関わっている可能性が考えられた。

今回、神経伝達物質として、GABA, glycine, およびこれらの拮抗薬としての picrotoxin, strychnine を硝子体内へ注入したとき、c 波および c 波と同様に網膜色素上皮の機能を反映するとされている網膜常存電位の明上昇（以下明上昇）がいかに変化するかについて検討したので報告する。

II 方 法

実験動物には孵化後 2～6 日の白色レグホン種の雄性ヒナ 28羽を用いた。ヒナが孵化した当日に、明および暗のそれぞれ 15 分間の繰り返し光刺激を 3 時間与え、その後、ヒナを 14 時間の明と 10 時間の暗の光環境下で 1～5 日間飼育してから実験に供した。この刺激および順応は、100V, 20W のタングステン電球の光を赤色のプラスチックフィルターを通し、角膜面での照度が約 60lux になるようにした。

ウレタンを筋肉内に 0.5g/kg および腹腔内に 1.0g/kg 投与して麻酔した後、クラール 0.3mg 筋肉内投与で不動化し、気管内挿管の上、1 分間 25 回の人工換気を行ない、体温は heating pad により直腸温で 38℃に

保った。

ヒナの上下眼瞼を 0.5% キシロカイン液約 0.1ml の皮下注射による局所麻酔の後に切除し、自作した亜鉛—硫酸亜鉛不分極電極を角膜上および上眼窩縁部の強膜上に設置し、針状の銀—塩化銀接地電極を後頭部の正中部皮下に置いた。

網膜電位の c 波および明上昇は、暗順応 30 分の後、後述する試験薬の注入前に 1 回（対照）、次いで試験薬を硝子体中に注入した後に、同じく後述する光刺激で網膜を照射することによって誘起した。得られた網膜電位を高入力インピーダンス前置増幅器（利得 10、周波数帯域 DC-30KHz⁵⁾）で増幅し、ペン書き描記器（日本光電、RJG-4124）で、c 波は 10mm/10sec、明上昇は 10mm/2min の紙送り速度で記録した。また ERG の a, b 波をストレージオシロスコープ（Tektronix, 5103 N）で観察した。

c 波および明上昇の刺激光は、白熱タングステン電球（2.5V, 0.5A ハイトップ豆球）をヒナの頭上で点灯し、眼球を覆ったピンポン半球を通過させた光が角膜上で 1,000lux となるようにした。c 波は、刺激持続時間 10 秒、刺激間隔 5 分の状態で、明上昇は 15 分の明および 15 分の暗の状態で記録した。

試験薬として、GABA (10^{-8} , 10^{-6} , 10^{-3} M), picrotoxin (3mM), glycine (10^{-7} , 10^{-5} , 10^{-3} M), あるいは strychnine (10mM) を含むリンゲル溶液を、注入針付きマイクロシリッジにて角膜輪部後方の強膜を通して、硝子体の中心部に注入した。これらの薬液の注入量は 20 μ l で、硝子体容積（約 200 μ l）の約 10 分の 1 に相当する。注入した薬液がヒナの硝子体中で均等に拡散したとすると、網膜レベルでの濃度は、注入した濃度の約 1/10 になると考えられる。またリンゲル液 20 μ l を同様の方法で注入したヒナをコントロールとした。すべてのヒナは左眼のみを実験に供した。

記録された c 波波形について、光刺激開始後 2 秒と 5 秒の時点での振幅を計測した（図 1A）。これは、米山⁶⁾の in vitro の実験で、ヒナの ERG・c 波には、立ち上がりが速く頂点潜時が 2 秒以下の成分と、立ち上がりが遅く頂点潜時が 5 秒の成分の 2 つがあるとの報告に基づいたものである。立ち上がりの速い c 波を c_F 波、立ち上がりの遅い c 波を c_S 波と呼称することと

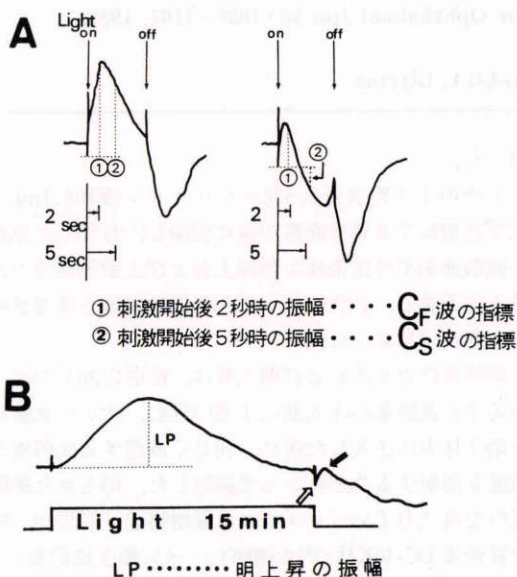


図1 ERG波形と本実験におけるc波(A)および明上昇(B)の振幅の測定方法。

↑: post d-trough, ↓: post d-peak

し、2秒時の振幅を c_F 波の指標に、5秒時の振幅を c_S 波の指標とした。明上昇は、light peak時の振幅(図1B)を検討の対象とした。また、明上昇のoff応答の陰性の振れをpost d-trough(図1Bの↑)、それに続く陽性の振れをpost d-peak(図1Bの↓)と仮称することとした。

各濃度についてc波は5眼で、明上昇は2～3眼で記録し、それぞれの平均振幅で検討した。

III 結果

1. 各薬剤投与時のc波の変化

1) コントロール

コントロールとして、20 μ lのリンゲル液を硝子体に注入した場合、図に示していないが、その後の120分の経過中、c波の波形、振幅ともに変化は見られなかった。したがって注入操作および薬剤注入による容積増大に伴う眼圧上昇は実験結果に影響がなく、以後の実験遂行が可能であった。

2) GABA

各濃度のGABAを硝子体中に投与した後のERGの波形の変化を図2に、各濃度毎に各時点での5眼の平均振幅を注入前値に対する百分率($\pm$ SD)で図3に示した。 c_F 波および c_S 波の振幅の変化は、GABAの濃度によって異なったが、同じ濃度では、両波とも同様の傾向をもって増大あるいは減少した。すなわち、 c_F 波および c_S 波ともに 10^{-8} MのGABA(図3の●)では注入後60分から120分で振幅がやや増大(c_F 波108%, c_S 波135%)し、 10^{-6} M(図3の○)では30分から60分の間、振幅が増大(c_F 波125%, c_S 波137%)した後に減少し、 10^{-3} M(図3の□)では、60分に振幅は著明に減少(c_F 波63%, c_S 波50%)し、その後120分で回復する経過を示した。この変化は c_F 波よりは c_S 波に顕著に見られた。

a波、b波の振幅はどの濃度においてもほとんど変化しなかった(図3a, b)。

3) picrotoxin

3mMのpicrotoxinを投与したときのERG波形の経時的変化の代表例を図4に、また c_F 波、 c_S 波、a波、

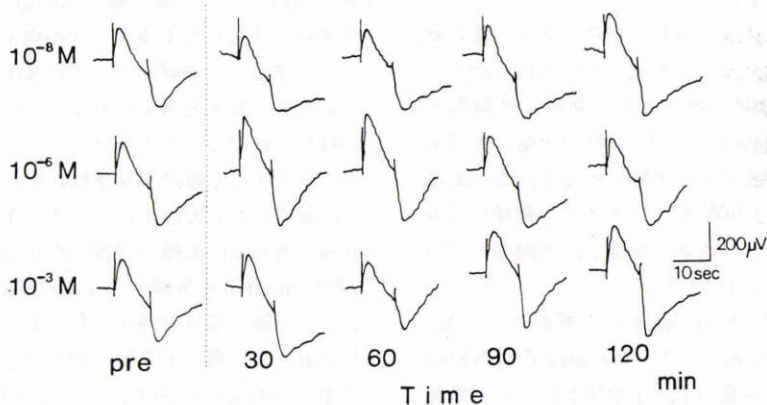


図2 GABA投与時のERG波形(代表例)。

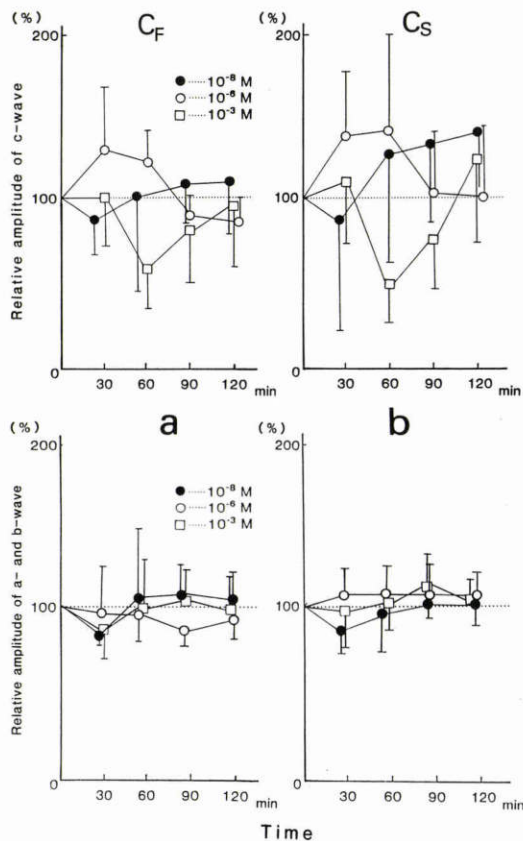


図3 GABA投与時のERG各波の経時的変化。5眼の平均振幅をGABA注入前値に対する百分率(±SD)で示した。 10^{-8} MのGABAでは、注入後60分から120分で振幅はやや増大し、 10^{-6} Mでは30分から60分の間、振幅が増大した後に減少し、 10^{-3} Mでは60分に振幅は著明に減少し、その後120分で回復する経過を得た。この変化は c_F 波よりは c_S 波に強く見られた。

b波の振幅の経時的変化について、5眼の平均値をグラフで図5に表わした。picrotoxinの投与により、c波波形の後半部分が陰性化した(図4)。その陰性成分がもっとも深くなるのは、光刺激開始後約5秒であり、 c_S 波成分が陰性化した波形となった。一方、頂点潜時2秒に当たる c_F 波成分は、b波に続く陽性成分として残存しており、振幅の減少は c_S 波に比べ軽度であった。また、off応答は非常に大きくなり、c波は全体として特異な形となった。a波およびb波の振幅はそれぞれ軽度に増大および軽度に減少していた。

4) glycine

各濃度の glycine を硝子体内に投与した後の ERG

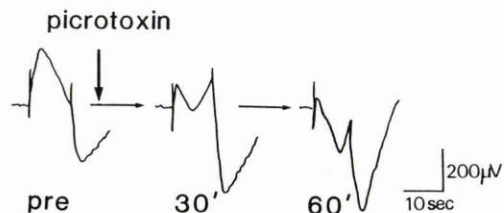


図4 3mM picrotoxin投与時のERG波形(代表例)。c波波形の後半部分が陰性化し特異な形となった。陰性成分がもっとも深くなるのは光刺激開始後約5秒であり、 c_S 波成分が陰性化した波形となった。頂点潜時2秒に当たる c_F 波成分はb波に続く陽性成分として残っていた。またoff応答が増強された。

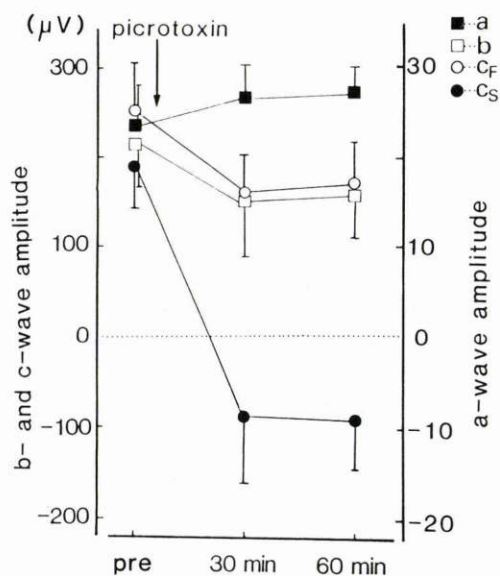


図5 3mM picrotoxin投与時のERG各波の経時的変化(5眼の平均値)。

の波形の変化を図6に、各濃度毎に各時点での5眼の平均振幅を注入前値に対する百分率で図7に示した。波形の形状はいずれの濃度でも picrotoxin にみられたような変化はなかった。

glycine 10^{-7} M の硝子体内投与では(図7の●), c_F 波, c_S 波ともに振幅は減少(注入前値の52%まで)し、120分後でも回復は見られなかった。 10^{-5} および 10^{-3} Mでは、 c_F 波, c_S 波ともに60分までの振幅減少と、それに続く振幅の増大が認められた。特に 10^{-5} Mではその傾向が明瞭であった(図7の○, 最大 c_F 波163%, c_S 波184%), a波は 10^{-7} Mで30分から90分にかけて、b波は 10^{-5} Mで30分以降に、いずれも振幅の増大が見られた

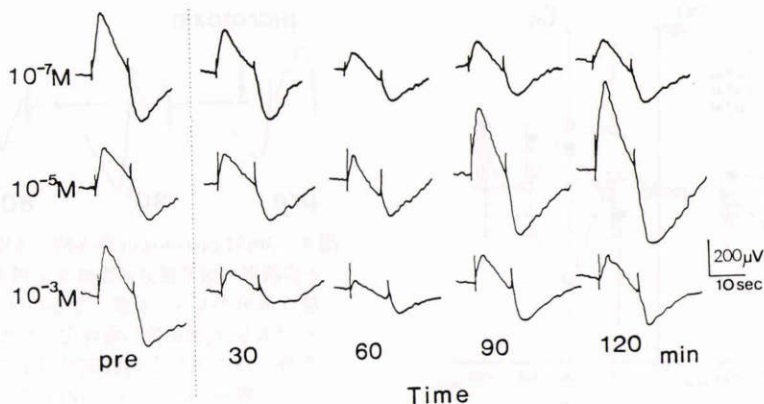


図6 glycine 投与時の ERG 波形 (代表例)

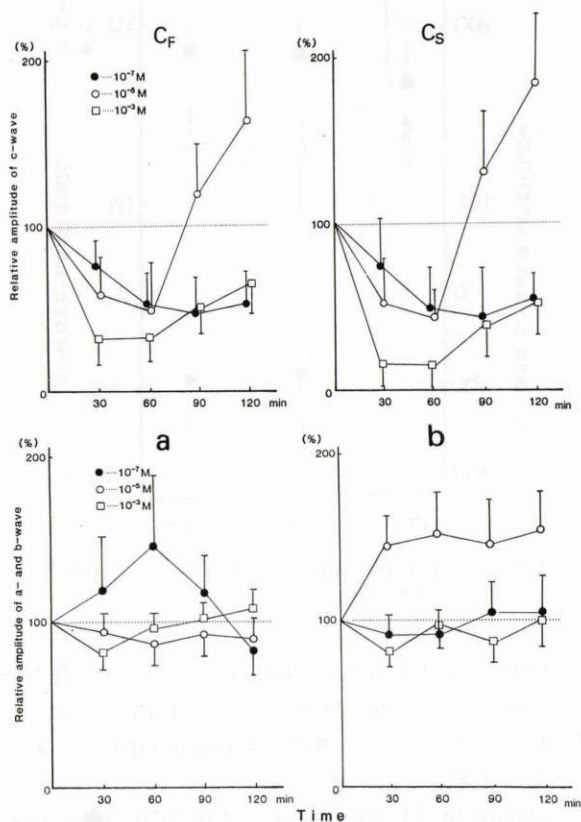


図7 glycine 投与時の ERG 各波の経時的変化. 5 眼の平均振幅を glycine 注入前値に対する百分率 (±SD) で示した. 10^{-7} M の glycine では, c_F , c_S 波ともに減少し, 回復は見られなかった. 10^{-5} および 10^{-3} M では, c_F , c_S 波ともに 60 分までの振幅減少とそれに続く振幅の増大が認められた.

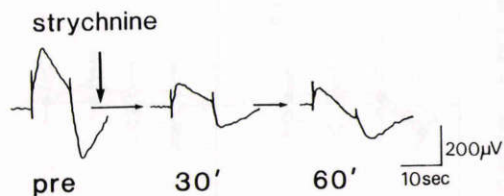


図8 10mM strychnine 投与時の ERG 波形 (代表例).

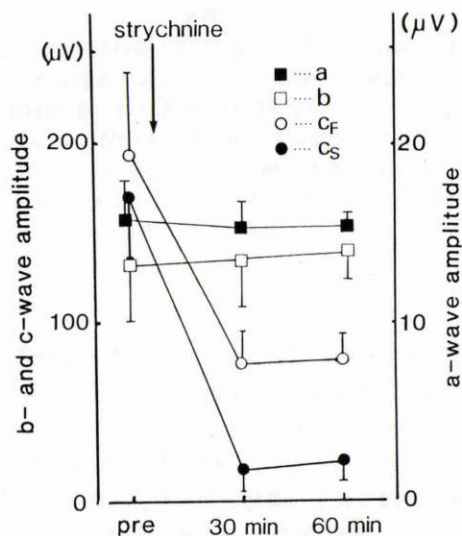


図9 10mM strychnine 投与時の ERG 各波の経時的変化 (5 眼の平均値). 振幅は c_F 波, c_S 波ともに減少.

(図 7a, b).

5) strychnine

10mM strychnine を投与したときの ERG 波形の経

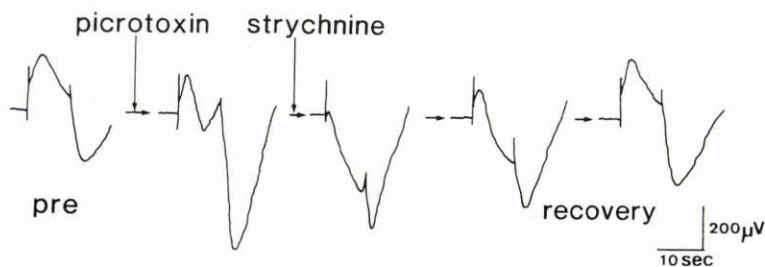


図10 3mM picrotoxin 効果存在下での10mM strychnine 投与時のERG変化(代表例).

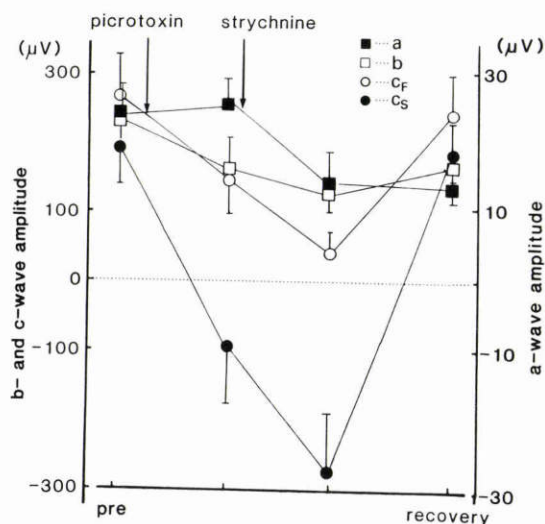


図11 3mM picrotoxin, 10mM strychnine 順次投与時のERG各波の経時的変化(5眼の平均値). picrotoxinの効果存在下でstrychnineを投与すると c_F 波成分は減弱し, c_S 波成分はその陰性成分を増加させた. またpicrotoxinで増強されたoff応答はstrychnineによって抑制された.

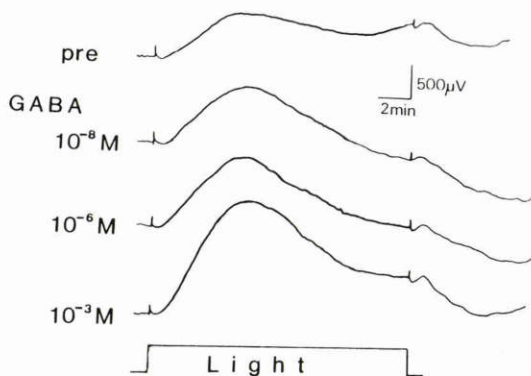


図12 GABA投与時の明上昇の変化(代表例). いずれの濃度でも増大の傾向を示したが特に $10^{-3}M$ で振幅が増大した.

時的変化の代表例を図8に, また各波の振幅の経時的変化の5眼の平均をグラフで図9に表わした. 10mM strychnineの投与により, c_F 波, c_S 波ともに振幅が減少し, その減少は c_F 波($-120\mu V$)に比べ c_S 波($-155\mu V$)に顕著であった. picrotoxin投与にみられたc波の陰性化や, 波形の著明な変化はなかった. またa波, b波の振幅はほとんど変化しなかった.

6) picrotoxin 効果存在下での strychnine の影響

3)で述べたように, 3mM picrotoxinの投与によって c_S 波は陰性化したが, c_F 波振幅は軽度の減少を示すのみで, b波に続く陽性成分として残存していた. この状態に10mM strychnineを追加投与したときのERG

波形の変化の代表例を図10に, またそのときの各波の経時的変化の5眼の平均値をグラフで図11に示した. picrotoxinの効果存在下でstrychnineを投与すると c_F 波成分は減弱し($160\mu V$ から $54\mu V$ へ), c_S 波成分はその陰性成分を増加($-92\mu V$ から $-260\mu V$ へ)させた. また, picrotoxin投与で増強されたoff応答はstrychnine投与によって著明に抑制された.

この変化は可逆性であり, strychnineを追加投与した約2時間後には, 減弱した c_F 波と, 陰性化した c_S 波のいずれも薬剤投与前の波形に近い状態まで回復した.

2. 明上昇の変化

1) GABA

GABA投与による明上昇の変化を実際を各濃度毎に図12に示した. 明上昇の振幅はいずれの濃度でも増大の傾向を示した. 振幅増大は $10^{-8}M$ では軽度であったが, $10^{-6}M$ ではコントロールの約1.2倍に増大し, $10^{-3}M$ では c_F 波, c_S 波ともに振幅が減弱したにも拘ら

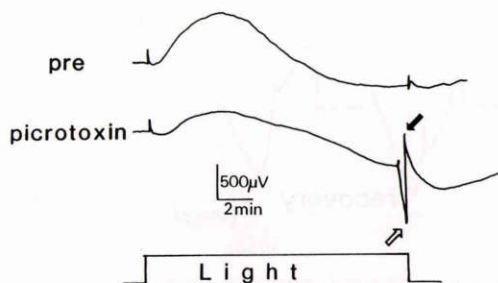


図13 3mM picrotoxin 投与時の明上昇の変化（代表例）。振幅は減少したが、off 応答は増強した。

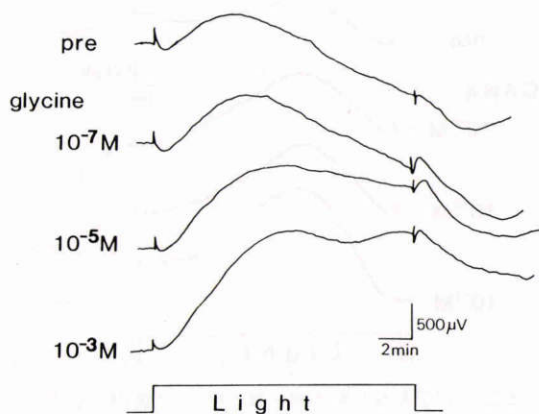


図14 glycine 投与時の明上昇の変化（代表例）。振幅の増大と頂点時の遅延が認められた。

ず、明上昇の振幅は増大してコントロールの約1.4倍となった。off 応答は GABA 投与によって変化はなかった。

2) picrotoxin

3mM の picrotoxin の投与で明上昇の振幅は減少した（図13）。しかし、post d-trough（図13の↑）、および post d-peak（図13の↓）が増強された。

3) glycine

10^{-7} 、 10^{-5} 、 10^{-3} M のいずれの濃度の glycine の投与でも明上昇の振幅は増大（約1.2倍～4倍）した（図14）。c波は 10^{-5} 、 10^{-3} M の投与で30～60分後に振幅が減少したが、明上昇の振幅は逆に増大した。また増大した明上昇の頂点時は遅延し、明上昇が極大に達した後の電位の下降速度が遅くなる傾向が認められた。off 応答には glycine は GABA と同様に影響を及ぼさなかった。

4) strychnine

10mM strychnine の投与で明上昇の振幅は低下し

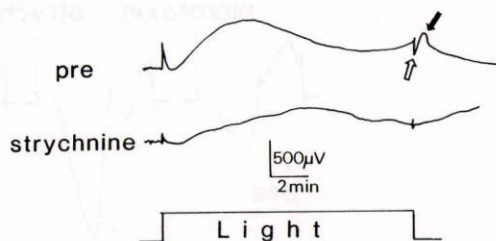


図15 10mM strychnine 投与時の明上昇の変化（代表例）。振幅の減少および off 応答の抑制が見られた。

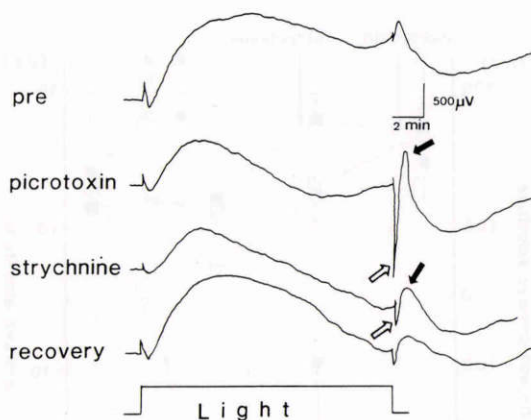


図16 3mM picrotoxin 効果存在下での10mM strychnine 投与時の明上昇の変化（代表例）。picrotoxin で増強された off 応答は strychnine によって抑制された。約2時間後には投与前の波形に近い状態にまで回復した。

（図15）、post d-trough および post d-peak も抑制された。

5) picrotoxin の効果存在下での strychnine の影響

3mM picrotoxin で減弱した明上昇の振幅は、10mM strychnine 投与でさらに減弱した（図16）。また、picrotoxin により増強された post d-trough（図16の↑）および post d-peak（図16の↓）も、strychnine によって抑制された。これらの変化は、c波と同様に可逆性であり、strychnine を追加投与した後約2時間で投与前の波形に近い状態にまで回復した。

IV 考 按

前述したように、網膜内における神経伝達物質と ERG の関係についてはこれまで、b波⁷⁾⁸⁾および律動様小波での研究⁸⁾⁹⁾が主で、c波との関係はほとんど注目されていなかった。ところが picrotoxin 投与によって

c波の波形が変化することを, Sato ら³⁾が報告し, シナプス伝達とc波との関係が示唆された。そこで今回, 2種の伝達物質およびその拮抗薬によるc波の変化を調査し, さらに, 明上昇の変化についても検討した。

1. c波波形の解析

c_F波および, c_S波についての分析は, 米山⁶⁾が報告した2つの形のc波に基づいたものであるが, 米山は, これら2つの波の性状を, 次のように考察した。すなわち, ヒナ灌流網膜で, 硝子体側の灌流液の浸透圧を高張にしたときに得られるc波は, 頂点時5~6秒のやや丸みを帯びた波(c_S波)で, そのときの網膜色素上皮細胞の色素顆粒の分布は暗順応時の状態に近いものであったことから, この形の波は暗所視性のc波であり, 一方, 硝子体側を低張にするとc波(c_F波)は頂点時約2秒の尖鋭な形となり, そのときの色素顆粒の分布は明順応時の状態に近いことから, その波は明所視性のc波の可能性があったとした。

この米山⁶⁾が示した2種類の波をもとに, 今回のpicrotoxin投与時のc波の変化を見ると, 頂点潜時から, b波に続いて残っている陽性成分がc_F波, 陰性化した部分がc_S波とみなすことができ, in vivoのヒナのc波もSato ら³⁾が述べているようにc_F波とc_S波に分離することができると考えられる。そこで, c波はこれらの二つの成分の合成波であるとの推論をさらに確認するため, その他の薬剤投与時のc波の反応についても検討を加えた。

2. GABA, glycine による c 波の変化

GABA と glycine は抑制性伝達物質として知られ, 哺乳類, 両生類, 鳥類, 魚類などの網膜に広く分布している¹⁰⁾。GABA, あるいは glycine の投与によるERGの変化については, いずれも律動様小波が減弱する⁸⁾⁹⁾との報告がある。今回のc波振幅は, 濃度によって増大あるいは減少し, 反応を抑制するのみならず, 増大させる変化も示した。

GABA の作用部位にはシナプス前受容器(presynaptic receptor)および, シナプス後受容器(postsynaptic receptor)があるが, 神経伝達物質の親和性は, シナプス前受容器が, シナプス後受容器に比べて高く, かつシナプス前受容器は, 伝達物質の再取り込みの機能を果たしていると考えられている。成熟ヒナ網膜にはGABAの取り込み機構があり, 取り込みは, 10^{-4} Mのときに最大となる¹¹⁾と報告されている。Sato ら³⁾は, 硝子体内に注入するGABAの濃度が 10^{-4} Mよりも低い場合には, GABAは主に, シナプス

前受容器に取り込まれ, GABAの濃度がそれより高い場合にはシナプス前受容器が飽和状態となり, シナプス後受容器に直接働くと考えた。これを後述する, GABAがc波発生に関与しているという考えのもとに今回の結果に当てはめてみると, 10^{-8} および 10^{-6} Mの場合は, 投与したGABAがシナプス前受容器に蓄積され, 光刺激時に放出量が増大することによってc波の振幅が増大し, また, 10^{-3} Mでの振幅の減少は, GABAが, シナプス後受容器, つまり視細胞側受容器へ直接作用し, その結果受容器が脱感作されることによって起こったものと考えても矛盾しない。

glycineでもGABAで推察されたと同様の現象が起きうと思われるが, ヒナ網膜でのglycineの取り込み機構は未だ不明であり, したがってシナプスに最も高い親和性を示すglycineのモル濃度も分かっていない。しかし, もし, glycineの取り込み機構がヒナ網膜にも存在し, シナプスに対する親和性を示すモル濃度がGABAより低く, 10^{-7} Mより低濃度の時に取り込みが最大になるのであれば 10^{-7} M以上の濃度ではシナプス前受容器が飽和状態になると考えられる。この仮定に基づけば, glycine投与後60分までのc波振幅の減少は, シナプス後受容器へのglycineの直接作用による脱感作のためと推測され, また, その後の振幅増加は, 脱感作からの回復後, シナプス前受容器に取り込まれていたglycineが後受容器に作用したために起こったと考えることも可能である。

3. picrotoxin, strychnine による c 波の変化

picrotoxin投与ではc_S波は極性が逆になる変化を示したが, c_F波は振幅の減弱のみであった。今回はglycineの拮抗薬であるstrychnineも投与して変化を見たが, strychnine投与の場合には振幅の減弱のみで, 波形はほとんど変化しなかった。しかし, picrotoxinを投与して, c_S波を逆転させ, その後にstrychnineを投与すると, c_S波よりも, c_F波を強く抑制する結果を得た。picrotoxinあるいはstrychnine投与によるc_F波, c_S波の変化の様式から, c_F波, c_S波はそれぞれ異なる伝達物質, すなわち, c_F波にはglycineとGABA系, c_S波にはGABA系の伝達物質が少なくとも関与しており, その機構を, それぞれの拮抗薬がブロックすることにより波形変化が起こったものと思われた。

4. GABA, glycine, picrotoxin, strychnine による明上昇の変化

明上昇の振幅は, GABA, glycineで増大を, これらの拮抗薬であるpicrotoxin, strychnineで減少を見

た、抑制系の伝達物質である GABA や glycine が、明上昇に関しては反応を増強させる方向に働いた。今回の GABA と picrotoxin の結果は Sato ら³⁾が報告した GABA あるいは picrotoxin を作用させた時の明上昇の変化と一致している。picrotoxin 投与後 post d-trough および post d-peak が増強されることは Sato ら³⁾も示しているが、この反応は strychnine 投与で明らかに抑制されることが今回明らかとなった。このことから、c 波や明上昇出現後の off 応答の発生の機構にも GABA や glycine が関わっている可能性が示唆された。

明上昇は光誘発応答であるため、正常な明上昇の発現には網膜色素上皮のほかに光受容細胞(視細胞)、あるいは視細胞と網膜色素上皮との接合状態なども正常でなければならない¹²⁾。網膜色素上皮に GABA や glycine の受容器は見つかっておらず、今回の変化は、色素上皮に直接作用して起こったものではなく、神経網膜内の光刺激による response signal の伝達に伝達物質が関わることによって起こったものと考えられる。picrotoxin や strychnine による明上昇の振幅の減少は、網膜内のシナプス伝達が picrotoxin や strychnine によって抑制され、光誘発応答の網膜色素上皮までの伝達が減弱したものと推察される。これは、眞舘¹³⁾が、sodium aspartate 処理による明上昇の減弱を、sodium aspartate による網膜内シナプス伝達の阻止によるものとした考え方と同一である。

5. GABA と glycine の網膜内での動き

GABA と glycine は内網状層と外網状層で放出される^{14)~18)}。GABA は H₁ type の水平細胞を過分極させるが、この H₁ 細胞は GABAergic synapse を介して錐体を過分極させる。また glycine は H₂ または C type の水平細胞を過分極させる^{18)~20)}。ヒナ網膜の内方から外方に向かう液流の原動力として浸透圧勾配²¹⁾が知られているが、光刺激によって内網状層で放出された GABA あるいは glycine はこの浸透圧勾配によって視細胞側に移動し、GABA や glycine に対する受容器を持つ水平細胞や視細胞に過分極を起こす可能性がある。この内網状層あるいは、外網状層で放出された伝達物質がそれぞれの受容器に過分極を起こすまでの時間経過には差が出ることも考えられ、c_F波、c_S波の頂点潜時の差はこの時間経過の違いもその一因として考えることができる。つまり、主に外網状層で放出された glycine と GABA が視細胞に働くと、視細胞が過分極を起こして c_F波を発生させ、内網状層で放出さ

れた GABA(一部 glycine)がその後外方に向かって移動して、外網状層で放出された GABA や glycine より遅れて視細胞に働き、視細胞が過分極を起こして c_S波を形成するとの推論である。この GABA, glycine によって過分極が起こるときに流れる電流は c₁電流であり¹⁹⁾²²⁾²³⁾、この電流は視細胞のシナプス部では外向き電流であるので電流の方向は硝子体側が+となっており c 波の極性と一致し、その電流が c 波を増大させていると推察できる。シナプス以外の部分は電流流入部となるので、膜の過分極とそれに伴う膜の抵抗の増大、K イオン流出量の減少とともに、視細胞内への K イオンの流入が起こることになり、今まで c 波の起源とされていた細胞外液の K イオン濃度の減少は二次的変化としてここに起こってくることになる。

今のところ GABA および glycine の受容器の存在が報告されているのは錐体のみであり¹⁹⁾²⁴⁾、c 波の発生に必須とされていた桿体には GABA や glycine の受容器は認められていない。しかし、暗順応後の光刺激に対する反応は、桿体優位反応であることから、桿体、錐体と、c_F波、c_S波との関係は以下のように考えることができる。すなわち、光刺激時の桿体優位反応で起こる電位変化によって内網状層において放出された GABA や glycine 等の伝達物質が、水平細胞を介して、あるいは直接的に錐体に働き、その際に網膜内で流れる電流の総和が頂点潜時の長い c_S波を発生させ、また、外網状層で放出された glycine や水平細胞からの GABA は、錐体までの経路が短いため、頂点潜時の短い c_F波を発生させるとの推論である。

網膜の神経伝達物質としては GABA, glycine 以外にもその存在が知られているものがあり、GABA, glycine のみが c 波や明上昇に関わっているとは思われず、また光刺激によってどの程度の割合の水平細胞が GABA を放出するののかも明らかではない。したがって他の伝達物質による反応との比較、あるいは微小電極による網膜内の電位解析などによって、伝達物質と ERG, あるいは明上昇の関係をより明らかにしていく必要があると思われる。

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜った田澤 豊教授に深謝致します。また、この研究の機会をお与え下さった本学歯学部口腔生理学講座 鈴木 隆教授ならびに御指導頂いた佐藤 匡助教授に感謝致します。

本論文の要旨は、第92回日本眼科学会総会にて発表した。

文 献

- 1) Steinberg RH, Schmidt R, Brown KT:

- Intracellular responses to light from cat pigment epithelium: Origin of the electroretinogram c-wave. *Nature* 227: 728—730, 1970.
- 2) **Oakley B II, Green DG**: Correlation of light-induced changes in retinal extracellular potassium concentration with c-wave of the electroretinogram. *J Neurophysiol* 39: 1117—1133, 1976.
 - 3) **Sato T, Yoneyama T, Kim HK, et al**: Gamma-aminobutyric acid and picrotoxin-induced changes in c-wave and light peak of retinal potentials in the chick. *Doc Ophthalmol* 65: 333—342, 1987.
 - 4) 浅水奈美子, 田澤 豊, 佐藤 匡他: Picrotoxin存在下で雛のERG・c波と明極大におよぼすstrychnineの効果, 昭和62年度日本臨床視覚電気生理学会, 名古屋, 1987.
 - 5) 佐藤 匡, 松本範雄, 染井宏祐他: 摘出雛網膜の実験法と標本作成手技, 岩手医誌 37: 407—416, 1985.
 - 6) 米山高仁: 脈絡膜・硝子体間の灌流液の浸透圧勾配の変化が雛の摘出網膜ERG c波におよぼす影響, 日眼会誌 90: 356—363, 1986.
 - 7) **Bonaventure N, Wioland N, Mandel P**: Antagonists of the putative inhibitory transmitter effects of taurine and GABA in the retina. *Brain Res* 80: 281—289, 1974.
 - 8) 柴田二郎: 家兎摘出眼ERGに対するアミノ酸の影響, 日眼会誌 81: 431—451, 1977.
 - 9) 川口博治, 米村大蔵, 河崎一夫他: 神経化学伝達物質による律動様小波の選択的減弱と拮抗物質による回復, 日眼会誌 84: 135—141, 1980.
 - 10) **Ehinger B**: Neurotransmitter system in the retina. *Retina* 2: 305—321, 1982.
 - 11) **Tunncliffe G, Ngo TT**: Kinetics of glutamate inhibition of GABA transport by mature and embryonic chick retina. *Gen Pharmac* 6: 333—336, 1975.
 - 12) **Arden GB, Barrada A**: Analysis of the electrooculograms of a series of normal subjects. *Brit J Ophthalmol* 46: 468—482, 1962.
 - 13) 眞舘幸子: サル light riseにおよぼす sodium aspartate および monoiodoacetic acid の影響, 日眼会誌 84: 607—616, 1980.
 - 14) **Neal MJ**: Amino acid transmitter substances in the vertebrate retina. *Gen Pharmac* 7: 321—332, 1976.
 - 15) **Bauer B**: Photic release of radioactivity from rabbit retina preloaded with [^3H] GABA. *Acta Ophthalmol* 56: 270—283, 1978.
 - 16) **Ehinger B, Lindberg-Bauer B**: Light-evoked release of glycine from cat and rabbit retina. *Brain Res* 113: 535—549, 1976.
 - 17) **Cohen E, Sterling P**: Accumulation of (^3H) glycine by cone bipolar neurons in the cat retina. *J Comparat Neurol* 250: 1—7, 1986.
 - 18) **Witkovsky P, Stone S**: GABA and glycine modify the balance of rod and cone inputs to horizontal cells in the *Xenopus* retina. *Exp Biol* 47: 13—22, 1987.
 - 19) **Wu SM, Dowling JE**: Effects of GABA and glycine in the distal cells of the cyprinid retina. *Brain Res* 199: 401—414, 1980.
 - 20) **Stone S, Witkovsky P**: The actions of γ -aminobutyric acid, glycine and their antagonists upon horizontal cells of the *Xenopus* retina. *J Physiol* 353: 249—264, 1984.
 - 21) **Sato T, Yoneyama T, Matsumoto N, et al**: Osmotic pressure of the interstitial fluid obtained from neonatal chick eyes and its variation under light and dark adaptation. *Doc Ophthalmol* 61: 79—89, 1985.
 - 22) **Miller RF, Frumkes TE, Slaughter M, et al**: Physiological and pharmacological basis of GABA and glycine action on neurons of mudpuppy retina. I. Receptors, horizontal cells, bipolars, and G-cells. *J Neurophysiol* 45: 743—763, 1981.
 - 23) **Kaneko A, Tachibana M**: Ionic mechanisms of GABA-induced currents in solitary turtle cones. *J Physiol Soc Jpn* 47: 487, 1985.
 - 24) **Borde Ho, Müller WE and Wollert U**: Specific [^3H] strychnine binding associated with glycine receptors in bovine retina. *Brain Res* 205: 131—135, 1981.
-