

網膜内無 K^+ 液注入によって誘発される Slow PIII 様電位 (図 2)

柳 田 隆 (金沢大学医学部眼科学教室)

要 約

カエル遊離網膜の視細胞層に無 K^+ 液を注入することにより $[K^+]_o$ を減少させた。無 K^+ 液注入によって誘発された電位は視細胞側陽性であり、その depth profile は spot 光刺激による slow PIII の depth profile に類似した。この成績は slow PIII が視細胞層の $[K^+]_o$ 減少に起因する Müller 細胞の過分極によって生ずるといふ説を支持する。(日眼会誌 93: 809—811, 1989)

キーワード: slow PIII, Müller 細胞, 無 K^+ 液

Simulation of the Electroretinographic Slow P III Component by Injection of K^+ -free Ringer's Solution in the Frog Retina

Takashi Yanagida

Department of Ophthalmology, Kanazawa University School of Medicine

Abstract

A decrease in extracellular potassium concentration ($[K^+]_o$) was caused by injecting a small amount of K^+ -free Ringer's solution into the photoreceptor layer of the isolated frog retina. The response induced by K^+ -free Ringer's solution was receptor side-positive, and the depth profile of the response resembled that of the response (slow P III) induced by spot illumination. This result supports the notion that the slow P III is generated by Müller cells as they hyperpolarize in response to a light-induced decrease in $[K^+]_o$ in the photoreceptor layer. (*Acta Soc Ophthalmol Jpn* 93: 809—811, 1989)

Key words: Slow P III, Müller cell, K^+ -free Ringer's solution

I 緒 言

光刺激による視細胞の過分極は細胞外 K^+ 濃度 ($[K^+]_o$) の減少をもたらす¹⁾。視細胞層でのこの $[K^+]_o$ 減少は網膜色素上皮を過分極させ、網膜電図 (ERG) の c 波を惹起する²⁾。Müller 細胞もまたこの $[K^+]_o$ 減少によって過分極し、slow PIII を発生するといわれ

る²⁾³⁾。本報では、 $[K^+]_o$ の減少と slow PIII 発生との関係を検討するため、カエル遊離網膜の視細胞層に無 K^+ 液を注入することによって $[K^+]_o$ 減少を引き起こし、これによって誘発された電位と slow PIII (光誘発応答) の depth profile を比較した。

別刷請求先: 920 金沢市宝町13-1 金沢大学医学部眼科学教室 柳田 隆

(昭和63年11月2日受付, 平成元年6月5日改訂受理)

Reprint requests to: Takashi Yanagida, M.D. Dept. of Ophthalmol., School of Med., Kanazawa Univ.
13-1 Takara-machi, Kanazawa 920, Japan

(Received November 2, 1988 and accepted in revised form June 5, 1989)

II 実験方法

カエル (*bullfrog, Rana catesbeiana*) 眼を暗順応後に摘出し、網膜を剥離し、その視細胞側を上にしてろ紙片上にのせた。無 K⁺液注入法および誘発電位記録法は前報⁴⁾⁻⁶⁾に準じた。無 K⁺液注入用電極の先端を視細胞層内に固定し、一方、無 K⁺液注入による誘発電位および光応答を記録するための電極を視細胞側より刺入し、これを 50 μ m 進める毎に無 K⁺液注入と光刺激を 1 分間隔で繰り返した。網膜標本下の液を標準 Ringer 液 (2.5mM K⁺を含む) としたとき、無 K⁺液注入によって誘発される電位は極めて小さかったので、これを 20mMK⁺を含むものとし、さらに 20mMK⁺-Ringer 液がろ紙、さらに網膜標本に浸透したのち、標本を適度に乾燥させることにより "shunt" を少なくし、depth profile の測定に十分な振幅の電位変化を得た。注入された無 K⁺液の量は直径約 50 μ m の小球に相当したから、これによる [K⁺]_o 減少は限局した範囲に生ずるはずである。ゆえに光刺激による [K⁺]_o 減少も小範囲に限局させるため、slow PIII 記録のための刺激には spot 光 (一辺が 0.2mm の正方形) を用いた。視細胞から次のニューロンへのシナプス伝達をおさえるといわれる Na-aspartate (10mM) を Ringer 液に添加した。したがって本報における光応答には後シナプスニューロンに由来する成分は含まれない。

III 結果

図 1 は、無 K⁺液注入電極の先端を視細胞層 (視細胞側表面より約 50 μ m の深さ) に固定し、記録電極を視細胞側より網膜内層に向かって 50 μ m 進める毎に無 K⁺液注入 (注入時間, 100msec) と光刺激 (0.7lux, 30msec の spot 光) を 1 分間隔で繰り返して得られた無 K⁺液誘発電位 (左欄) と光応答 (右欄) を示す。不関電極は硝子体側に置かれているため、通常の角膜誘導による ERG とは極性が逆になっている。記録電極を網膜外層から内層へ進めたときの応答と、逆に内層から外層へ抜きながら記録した応答がほぼ近似したものを信頼しうる成績として採用した。用いた網膜標本の厚さは約 250 μ m であり、波形左の数字は記録電極の深さ (視細胞側表面を 0 μ m とする) を表わす。右欄最下段の波形は、0 μ m と 80 μ m の深さにおいて一対の電極で記録した視細胞電位 (LRP) を表わす。

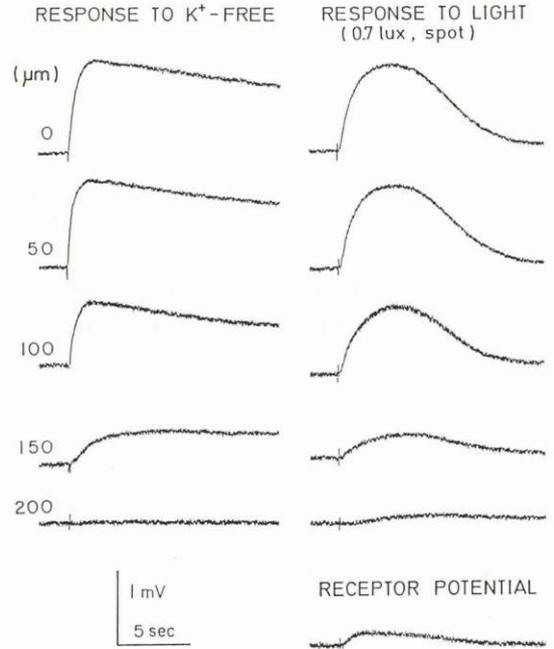


図 1 無 K⁺液注入による誘発電位 (左欄) と光応答 (右欄) の depth recording. 不関電極を硝子体側に置き、記録電極を視細胞側表面 (0 μ m の深さ) から 50 μ m 毎に進めた。波形左の数字は記録電極の視細胞側表面からの深さ (μ m) を示す。注入圧 1.5kg/cm²。注入時間 100msec。光刺激強度 0.7lux。光刺激時間 30msec。右欄最下段の波形は、視細胞側表面 (0 μ m) と 80 μ m の深さにおいて一対の電極で記録した視細胞電位 (LRP) を示す。

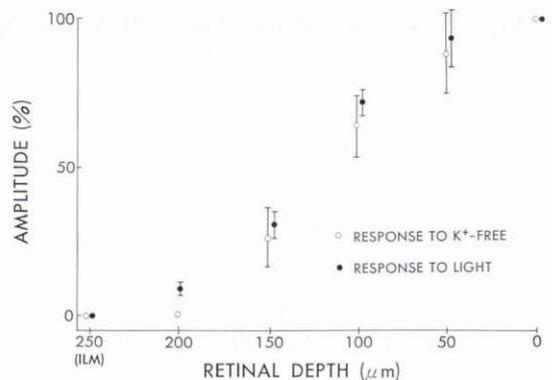


図 2 無 K⁺液注入による誘発電位 (○) と光応答 (●) の depth profile. 5 例の depth recording より、各深さでの振幅を視細胞側表面 (0 μ m の深さ) での振幅に対する百分率で表わし、それらの平均値および標準偏差を網膜の深さに対してプロットした。

よび第2段の波形)には, slow PIIIのほかにもLRPも加味されていると考えられるが, この刺激条件下におけるLRP(右欄最下段)は, 0 μ mの深さにおける応答(transretinalに記録した光応答)に比べてはるかに小さいから, 右欄の光応答に含まれる視細胞由来の応答は無視しうるほどであり従ってそのdepth profileは大略slow PIIIのそれに近似すると考えてよい。

5例のdepth profileから, 無K⁺液注入による誘発電位(○)と光応答(●)の振幅を0 μ mの深さ(視細胞側表面)での応答(transretinal potential)の振幅に対する百分率で表わし, それらの平均値および標準偏差を網膜の深さに対してプロットしたものを図2に示す。いずれの応答の振幅も50 μ mの深さまではほぼ一定であったが, さらに網膜内層へ進むにつれて両応答ではほぼ同程度に減少し, 200–250 μ mの深さで消失した。すなわち, 視細胞層での無K⁺液注入により, 極性およびdepth profileにおいてslow PIIIに類似する電位を誘発することができた。

IV 考 按

Faber²⁾は, ウサギ網膜におけるslow PIIIのdepth profileを分析し, この電位がMüller細胞に由来する可能性を初めて指摘した。Witkovsky³⁾らはFaber²⁾の結論を支持し, さらにslow PIIIの発生には[K⁺]_oの変化が関与することを示唆した。その後, Oakleyら¹⁾が光刺激によって視細胞層で実際に[K⁺]_oが減少することを見だし, Matsuuraら⁷⁾がこの[K⁺]_o減少が光刺激による視細胞の過分極の直接の結果として生ずることを示すイオン機構モデルを提唱した。Fujimotoら⁸⁾は, カエル網膜で杆体電位を上記のモデル回路への入力として用いることにより, slow PIII類似の電位を再現することに成功した。以上の報告は, slow PIIIが視細胞の過分極の結果としての[K⁺]_o減少に対してMüller細胞が過分極することによって生ずることを示唆する。網膜内への高K⁺液あるいは無K⁺液注入によって誘発される電位が主としてMüller細胞由来であるという筆者らの前報^{4)–6)}の結論と本報の成績は, slow PIIIのMüller細胞起源説を異なった角度から支持するものといえる。しかし図1にみられるように, 無K⁺液注入による誘発電位と光応答は振幅において

は類似するものの, 両者の時間経過に差異が認められ, 一般に前者は後者に比して起始部が急峻で, 基線への復帰が遅い傾向がみられた。この原因は目下明らかではないが, 可能な説明のひとつとして以下のことが考えられる。すなわち, 光刺激に伴う[K⁺]_oの減少は特に杆体網膜では緩徐であるが, このイオン変化は能動輸送機構によってある時定数をもつ時間経過で補償される⁷⁾。一方, 無K⁺液を注入した際は[K⁺]_oの減少は急激に生じるが, このイオン変化を補償する膜の機構は作動せず, [K⁺]_oの変化は主として拡散によるのみ回復すると考えられる。

河崎一夫教授の御校閲に深謝致します

References

- 1) **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.
- 2) **Faber DS**: Analysis of the slow transretinal potentials in response to light. Ph.D. Thesis, State University of New York at Buffalo, 1969.
- 3) **Witkovsky P, Dudek FE, Ripps H**: Slow P III component of the carp electroretinogram. *J Gen Physiol* 65: 119–134, 1975.
- 4) **Fujimoto M, Tomita T**: Field potentials induced by injection of potassium ion into the frog retina: a test of current interpretations of the electroretinographic (ERG) b-wave. *Brain Res* 204: 51–64, 1981.
- 5) **Yanagida T, Tomita T**: Local potassium concentration changes in the retina and the electroretinographic (ERG) b-wave. *Brain Res* 237: 479–483, 1982.
- 6) **Yanagida T, Tomita T**: Asymmetrical potassium permeability of the Müller cell: Field potential induced by intraretinal injection of K⁺-free Ringer's in the frog retina. *Jpn J Ophthalmol* 28: 215–221, 1984.
- 7) **Matsuura T, Miller WH, Tomita T**: Cone-specific c-wave in the turtle retina. *Vision Res* 18: 767–775, 1978.
- 8) **Fujimoto M, Tomita T**: Reconstruction of the slow PIII from the rod potential. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 18: 1090–1093, 1979.