

総 説

網膜における興奮性アミノ酸の持つ二面性

玉 井 信

東北大学医学部眼科学教室

要 約

生体のアミノ酸代謝のうえで中心的役割を果たしているグルタミン酸、アスパラギン酸などは中枢神経系における興奮性神経伝達物質としての役割とともに、虚血や低血糖などの病的状態で神経細胞を死に至らせる作用があり、興奮毒“excitotoxin”として知られるようになった。本総説では、その代表であるグルタミン酸に注目し、次の諸点について、我々の実験結果と最近の文献で明らかにされた点を述べた。① 網膜における神経伝達にグルタミン酸が働いている。② グルタミン酸を大量投与した場合、網膜変性に陥る。③ グルタミン酸は虚血で網膜神経細胞やその軸索に貯留し、さらに、遺伝盲動物の視細胞の変性に伴い濃度が上昇する。④ ある種のヒト脊髄小

脳変性症ではグルタミン酸代謝の異常が示唆され、その患者の一部に網膜変性を生ずる。今後、網膜の虚血性疾患の治療について現在までの対症療法のみでなく、その病態の根本にアプローチするような方法、例えばグルタミン酸受容体の阻害剤の開発、生理活性物質による細胞内 Ca^{++} 上昇阻止などの応用がなされるものと思われる。(日眼会誌 98: 411—418, 1994)

キーワード：興奮性アミノ酸，グルタミン酸，虚血，グルタミン酸脱水素酵素，グルタミン酸受容体拮抗物質

A Review

Dual Nature of Excitatory Amino Acids in the Vertebrate Retina

Makoto Tamai

Department of Ophthalmology, Tohoku University School of Medicine

Abstract

Glutamic acid plays an important role as a main excitatory amino acid and also as one of the central metabolites in the central nervous system (CNS). This amino acid also acts as a toxic substance in the vertebrate CNS, including the retina, especially in ischemic conditions. This paper reviews recent advances in retinal research on glutamate metabolism and its relationship with pathogenesis of retinal diseases. Excessive administration of glutamate induces overstimulation of N-methyl-D-aspartate (NMDA) and non-NMDA receptors, and influx of Na^+ , Cl^- , and water to postsynaptic elements, causing lysis and swelling. In hypoxic or ischemic conditions, accumulation of glutamate was observed in most parts of the retina. Morphological and functional changes induced by ischemia could be

prevented by preadministration of an antagonist of NMDA receptors. These results suggest that the same pathological mechanism as in the CNS exists in the retina. They also suggest that a new pharmacological approach for treating retinal abnormalities caused by ischemia could be introduced in the ophthalmology clinic in the near future. Abnormality of glutamate dehydrogenase, an important enzyme in the glutamate metabolism, has been reported in patients with spinocerebellar degenerations. Retinal dystrophy was also reported in some of them. Partial deficiency of heat-labile activity of this enzyme has been reported to be profoundly related with those patients with retinal abnormalities. This suggests that not only glutamate itself, but also abnormalities in its metabolic path

別刷請求先：980 宮城県仙台市青葉区星陵町1-1 東北大学医学部眼科学教室 玉井 信
(平成5年10月25日受付，平成5年11月25日改訂受理)

Reprint requests to: Makoto Tamai, M.D. Department of Ophthalmology, Tohoku University School of Medicine, 1-1 Seiryomachi Aoba-ku, Sendai-shi, Miyagi-ken 980, Japan

(Received October 25, 1993 and accepted in revised form November 25, 1993)

way might be deeply correlated with the pathogenesis of retinal degenerations. (J Jpn Ophthalmol Soc 98 : 411-418, 1994)

Key words: Excitatory amino acids, Glutamic acid, Glutamate dehydrogenase, Ischemia, Antagonists of glutamate receptors

I 緒言

近年、主として中枢神経系において、虚血や低血糖時における神経障害のメカニズムとして、単に循環不全による酸素供給の低下や低血糖が主たる原因ではなく、多くの神経系の情報伝達物質として大きな役割を果たしている興奮性アミノ酸、特にグルタミン酸やアスパラギン酸が神経毒として働き、神経細胞の浮腫および水解を来しニューロンを死に至らしめることが明らかにされ、“excitotoxin”と呼ばれて注目されるに至った¹⁾²⁾。グルタミン酸は我々動物組織において、蛋白合成や他のいくつかのアミノ酸生成、代謝の central metabolite である一方で、酸化的リン酸化やアンモニアの解毒機構にも深く関わっている大切な物質である³⁾⁴⁾。網膜においては視細胞をはじめ、双極細胞、一部の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きた^{5)~7)}。また、グルタミン酸を過剰に投与すると、網膜、特に内層のニューロンが変性することは早くから知られており⁸⁾、網膜においても虚血や低血糖と興奮性アミノ酸、特にグルタミン酸の関係が興味をひかれはじめている。本論文においては、網膜におけるグルタミン酸およびグルタミン酸代謝がその機能と病態に如何に深く関わっているかについて、その研究の現況を総括してみたい。

II 正常網膜におけるグルタミン酸の役割

グルタミン酸は全身的に見れば、図1に示す如く α -ケトグルタル酸を通して TCA cycle とつながり、酸化的リン酸化反応 (oxidative phosphorylation) と関係するとともにアンモニアの解毒に深い関係を持つ urea cycle

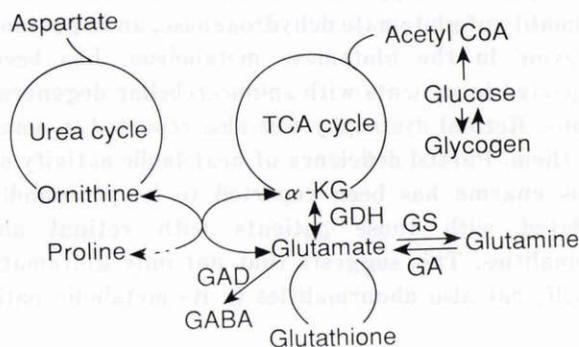


図1 グルタミン酸を中心に考えた代謝経路。

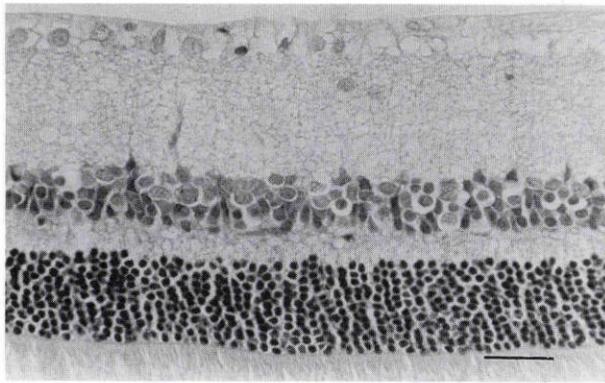
GDH: glutamate dehydrogenase, GS: glutamine synthetase, GA: glutaminase, GAD: glutamic acid decarboxylase, GABA: γ -amino butylic acid, α -KG: α -ketoglutarate

ともつながり、かつ神経伝達物質として重要な GABA 生成およびグルタミンの生成とも深くつながっている。また、蛋白質合成と分解、核酸や糖代謝ともつながっており、central metabolite として最も重要なアミノ酸の一つである³⁾⁴⁾。特に、グルタミン酸は網膜においてグルタミン、 γ -amino-butylic acid (GABA) とともにグルコースの主要な代謝産物であることが知られている^{9)~11)}。Urea cycle をもたない中枢神経系ではアンモニアの解毒にグルタミン酸が使われるという特徴があるものの⁴⁾、グルタミン酸は網膜の代謝の面で中心的役割を果たすことの他に、視細胞、双極細胞、一部アマクリン細胞、水平細胞の神経伝達物質の候補としての報告が蓄積され、同定されつつある^{5)~7)}。光刺激を受けた後には、その情報は視細胞から双極細胞、アマクリン細胞を経て神経節細胞に伝わるわけであるが、その情報伝達のためにグルタミン酸がシナプス前膜から放出され、後シナプス膜に存在するグルタミン酸受容体に働き、興奮を起こすわけである。中枢においてはグルタミン酸受容体は、① N-methyl-D-aspartate (NMDA)、② non NMDA として α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid (AMPA)/kainate、③ metabotropic との三種類が同定されているが¹²⁾、網膜においてもそれぞ

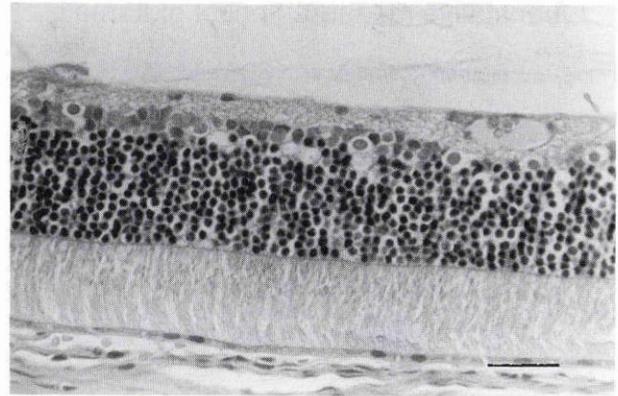


図2 正常ヒト網膜のグルタミン酸の局在。

耳鼻科領域の悪性腫瘍で摘出された85歳男性の網膜免疫染色。視細胞内節、外顆粒層、内顆粒層の一部、内網状層の一部、神経節細胞、神経線維層が陽性に染色されている。バーは50 μ m



a



b

図3 a: 対照 0.01 ml BSS を注入した生後 90 日 SD ラット網膜, b: 生後 5 日目幼若 SD ラットの皮下に 2.4 M. monosodium glutamate (MSG) を 0.01 ml 注入し, 生後 90 日で観察した網膜, 内層網膜が破壊され, ほぼ視細胞のみとなっている. バーは 10 μ m

れが存在することが確かめられ, 受容体レベルでの研究がなされつつある¹³⁾. 正常網膜においては, いったん神経伝達のために放出されたグルタミン酸は急速に同じシナプス前膜に存在するグルタミン酸の再吸収機能により再びシナプス小胞に組み込まれるか, 細胞外空間を埋め尽くしていると考えられるミューラー細胞の突起から再吸収され, glutamine synthetase の働きでグルタミンに変えられ¹⁴⁾, ニューロンに運ばれ, glutaminase により再びグルタミン酸に変えられて神経伝達物質として働いている¹⁵⁾. 網膜に存在するグルタミン酸は, その免疫組織化学的方法により図 2 のようにその存在が明らかにされた¹⁶⁾. この他に正常網膜において, グルタミン酸が視細胞外節の shedding と色素上皮細胞による貪食能に関与している可能性もあるが, 詳しいことは明らかにされていない¹⁷⁾.

III グルタミン酸の網膜毒性

1957 年, Lucas ら⁸⁾は未熟なラットで, さらに Olney¹⁸⁾

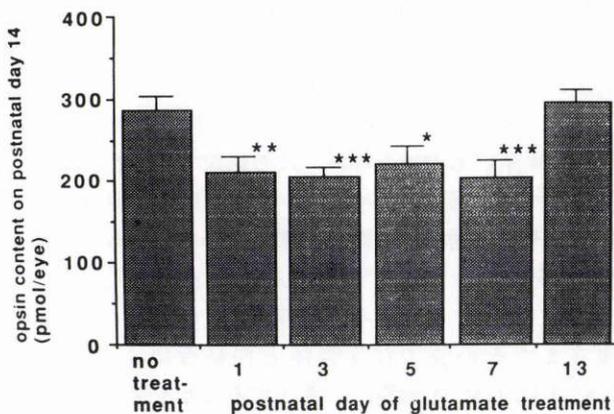


図4 横軸で示した日齢で図3の説明と同量の MSG を投与した時, 生後 90 日で測定されたオプシン量. 対照に比し, 生後 7 日目までの投与で有意に減少している (文献 22 から引用).

はマウスで, その成長期にグルタミン酸ナトリウムを全身投与すると網膜内層が選択的に破壊されることを明らかにした(図 3 a, b). その破壊の程度が余りにも明瞭で, 視細胞層が一見影響を受けないように見えたため, “biological fractionation” と称して視細胞単独の標本として生理学的, 生化学的実験に用いられるほどであった^{19)~21)}. しかし, 我々がオプシン生成量を定量してみると, グルタミン酸は視細胞の発達にも大きな影響を及ぼしており, 視物質の生成が図 4 のようにほぼ半量に低下していることが明らかにされた²²⁾. これは視細胞以降のニューロンの発達過程が障害されるために, 二次的にそのような効果が生じているのか, グルタミン酸の蛋白合成抑制作用によるものかは不明であるが, 発達段階によってグルタミン酸に対する感受性が異なるのみでなく, 網膜全体に対して大きな障害を与え得ることを示している²³⁾. どのようなメカニズムで幼若網膜のニューロンが障害されるかについての説明は推論の域をでないが, 中枢神経系のニューロンの *in vitro* における研究²⁴⁾ から, 多量のグルタミン酸は神経細胞の膜に存在するグルタミン酸受容体に作用し, 細胞外ナトリウムイオンの多量の細胞内流入を引き起こし, それに伴って流入する, 塩素イオンおよび水のためにニューロンが膨潤を起こし, 細胞死に至ると説明されている¹¹⁾²⁾. これらの現象は, Na^+ 流入に次いで Ca^{++} が流入することで増強される²⁵⁾. 例えば, カルシウムイオンをマグネシウムイオンに置き換えたり, 培養液からナトリウムイオンや塩素イオンを除去することによって障害が軽快すること²⁶⁾や, 逆にグルタミン酸の拮抗薬, 特に NMDA 受容体を阻止する薬剤によってニューロン死が軽減すること²⁷⁾から, 上記のようなメカニズムが考えられている. 最近, 中枢神経系の虚血によるニューロン死のメカニズムの解明は著しく, 上記のような事実の他に虚血時の細胞外グルタミン酸濃度上昇²⁸⁾, グルタミン酸放出増強のメカニズム²⁹⁾や, 細胞内セカンドメッセンジャーと細胞内 Ca^{++} の放出

Quantitative measurement of glutamate

Fluorophotometry with GDH and NAD

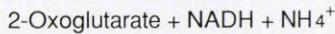
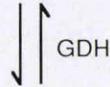
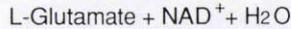


図5 虚血網膜のグルタミン酸測定法。

表1 明暗および虚血時における網膜の総グルタミン酸量†

	眼数 n	グルタミン酸量 (nmoles/mg protein)
第1群 対照	6	62.8±4.1
第2群 10分間虚血	4	54.5±2.6*
第3群 20分間虚血	5	66.0±11.6
第4群 30分間虚血	4	74.8±10.6**
第5群 5分間顕微鏡下- 25分間室内灯下‡	6	63.1±7.2
第6群 24時間暗順応	6	50.3±12.1***

*対照眼と比較して有意に低下している(p<0.01, t-test).

**対照眼と比較して有意に上昇している(p<0.05).

***対照眼と比較して有意に低下している(p<0.05).

†対照および10, 20, 30分間虚血眼は室内灯(1,000ルクス)で30分間明順応させた。

‡顕微鏡:>5,000ルクス;室内灯:1,000ルクス

の関係などが報告され³⁰⁾, 網膜内でも同様の現象が見られていると推測される。

IV 虚血網膜とグルタミン酸

先に述べたとおり, 正常網膜においては神経伝達物質としてシナプスから分泌されたグルタミン酸はその毒性を示すことなく, 急速にシナプス前膜に吸収されたり, ミューラー細胞に吸収され, 代謝されてしまう³¹⁾.ところが, ひとたび神経系が hypoxia や虚血に陥っていたり, 低血糖状態にある場合には再吸収機構が障害されるため, グルタミン酸がその受容体に働き続け, また, グルタミン酸は神経終末から分泌され続けるために受容体のチャネルが解放され続ける²⁹⁾. そのため, 各種のイオンの流入が続き, 細胞浮腫に陥ると考えられる. これらのメカニズムは中枢神経系における多くの研究から考えられたことであるが, 網膜においてもその虚血によって視細胞, 双極細胞, アマクリン細胞や内外網状層にグルタミン酸が増加することが明らかにされた³²⁾³³⁾. 我々も図5のような方法で, グルタミン酸濃度を測定することにより, その生成量を虚血網膜で測定したところ, 対照に比し, 表1に示す如く有意に増加していることが明らかになった. さらに, 免疫電子顕微鏡による金コロイド法によって各部位に存在するグルタミン酸を定量的に測定してみると, 色素上皮細胞, 外顆粒層, 外網状層, 内網状

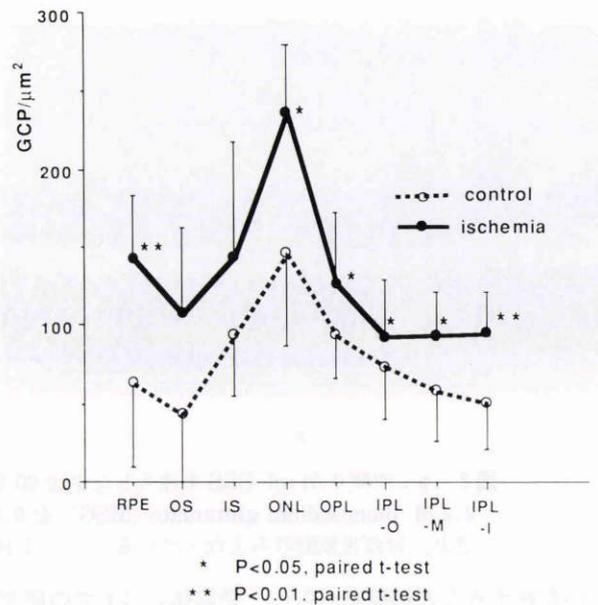


図6 金コロイドを用いた免疫電子顕微鏡法により測定したグルタミン酸の定量。

SDラット30分の虚血により有意に増加する(文献34から引用)。

層の各部分でグルタミン酸様物質が増加していることが明らかになった³⁴⁾(図6)。

過去において, 兎網膜の虚血では視細胞外節の破壊や色素上皮細胞の空胞化, さらに外節の貪食作用の増加や細胞分裂像の増加が報告されており³⁵⁾³⁶⁾, 視細胞および色素上皮細胞の虚血による障害がグルタミン酸の蓄積, その他の生理活性物質の分泌などと何らかの関わりを持っていることは容易に考えられる. さらに, 双極細胞, 内網状層におけるグルタミン酸の増加は虚血によって二次ニューロン以降にもグルタミン酸の蓄積が起これ, その障害がグルタミン酸の蓄積と深く関わっていることを示唆するものと思われる³⁷⁾. これらの事実は, グルタミン酸受容体の一つである NMDA 受容体の選択的拮抗剤として知られる dextromethorphan を投与しておくと, 虚血による網膜の機能的, 形態的变化が軽減するとの結果とよく一致しており, 興味深い³⁸⁾.

近年, 報告された NO と虚血による障害との関連はさらに興味深いものであるが, この総説では触れない³⁹⁾.

虚血による障害がグルタミン酸自身による毒性のみでなく, その代謝過程の異常と深く関わっている興味ある結果が最近我々の教室⁴⁰⁾で明らかにされた. 先に述べたように, グルタミン酸の示す神経毒性のメカニズムは, 現在までその強力な受容体との結合により多量の Na^+ , Cl^- , Ca^{++} が細胞内に流入することと深く関わっていると考えられ, また説明されてきた¹⁾²⁾. しかし, 次の項で述べるようなゆっくりとした網膜変性の機序を考える時, 過剰のグルタミン酸による興奮とそれに関わる上記のようなイオンの動きのみでなく, 別の発症メカニズ

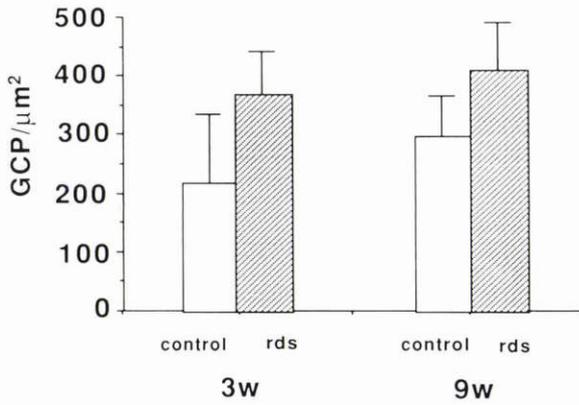


図7 金コロイドを用いた免疫電子顕微鏡法による視細胞グルタミン酸の定量。対照 (BACB/c マウス) に比し, 網膜変性マウス (rds/rds) では有意に増加している。

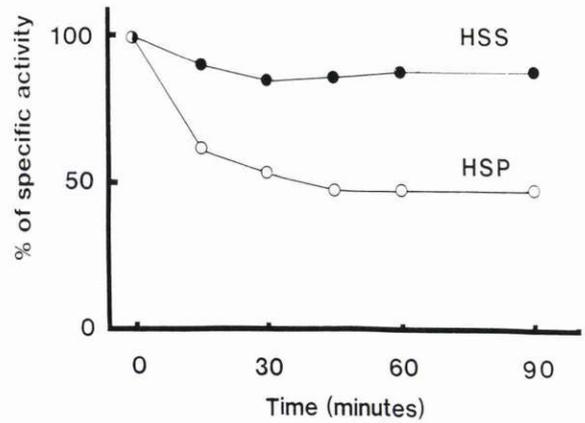


図8 網膜 GDH 活性と熱安定性 HSS に比し, HSP では 48°C30 分の加熱で GDH 活性は半分に低下する (文献 52 から引用)。High-speed supernatant (HSS) には GDH 可溶成分が, high-speed pellet (HSP) には GDH のその他の活性が含まれている。

ムを考える必要がある。我々⁴⁰⁾は、神経網膜には尿素サイクルが存在しない事実に着目し、虚血網膜におけるグルタミン酸代謝に関わる重要な酵素、特にグルタミンからグルタミン酸を生成する時に働くグルタミンナーゼ (PAG) および α -ケトグルタル酸とグルタミン酸の変換に働くグルタミン酸脱水素酵素 (GDH) の活性とアンモニアについて調べてみた。GDH 活性は虚血により変化しなかったにも関わらず、グルタミンナーゼ活性は著明に低下し、アンモニア含有量が増加していることが明らかになった。これらの結果を如何に説明するか、我々はまだ十分なデータがない。しかし、虚血またはそれに類する刺激によりグルタミン酸代謝系に異常が起きていることは明らかで、今後の研究が必要である。

V グルタミン酸代謝と網膜変性

グルタミン酸が二種類の全く異なる網膜変性の発症と深く関わっている可能性を示す結果が最近報告された。

1990年、Ulshaferら^{41)~43)}は鶏の視細胞変性において、視細胞にグルタミン酸が蓄積していることを報告した。先に虚血網膜において、網膜色素上皮細胞と視細胞層にもグルタミン酸様免疫反応が増加していることを述べたが³²⁾³⁴⁾、遺伝盲鶏視細胞ではグルタミン酸を投与すると、ひとたび取り込んでも放出することが出来ないという⁴²⁾。その結果、視細胞内のグルタミン酸の蓄積が起こり、変性に至るとの可能性を示している。さらに、ほ乳類のマウスにおける網膜変性においても、視細胞の変性過程でグルタミン酸の蓄積が免疫電子顕微鏡の手法を用いて明らかにされており(図7)、グルタミン酸の蓄積は視細胞の変性と深く関わっている可能性がある⁴⁴⁾。in vitro で鳥類という特殊な条件ではあるが、視細胞のグルタミン酸に対する脆弱性の可能性は報告されている⁴⁵⁾。

脊髄小脳変性症において、グルタミン酸脱水素酵素の障害が Plaitakis と Nicklasら⁴⁶⁾⁴⁷⁾によって報告され

表2 脊髄小脳変性症患者：白血球のグルタミン酸脱水素酵素活性と ERG 律動様小波

正常	(n=20)	1,812±274 †
脊髄小脳変性症		
律動様小波正常群	(n=15)	1,785±238 ††
律動様小波異常群	(n=7)	1,345±168 ††

平均±SD (nmoles/mg protein/hr)
† p<0.001, †† p<0.001

表3 脊髄小脳変性症患者：白血球の熱安定性, 不安定性グルタミン酸脱水素酵素活性と ERG 律動様小波

	熱安定	熱不安定
正常(n=20)	1,408±247	397±172 †
脊髄小脳変性症		
律動様小波正常群(n=15)	1,418±243	367±189 ††
律動様小波異常群(n=7)	1,268±192	78±51 ††

平均±SD (nmoles/mg protein/hr)
† p<0.001, †† p<0.001

た。彼ら⁴⁸⁾は、さらに GDH 活性を詳細に検討し、熱安定性と熱不安定性の酵素活性を持つことを明らかにした。これと関係なく、ある種の遺伝性脊髄小脳失調症において黄斑変性や網膜変性が存在する症例報告がなされていた⁴⁹⁾⁵⁰⁾。Havener⁵¹⁾は、この事実に気づき“cerebellar macular abiotrophy”と呼んだ。我々⁵²⁾は、多数の脊髄小脳変性症から熱安定性および熱不安定性の GDH 活性を調べたところ、熱不安定性の活性は高速遠沈法によって沈澱してくる部分に含まれており、上清に含まれる活性は熱安定性であることを明らかにした (図8)。さらに、興味深いことは脊髄小脳変性症を示す患者のうち、視力は正常であるにも関わらず、網膜電図の律動様小波が障害される群(図9)では特異的に GDH 活性のうち、熱不

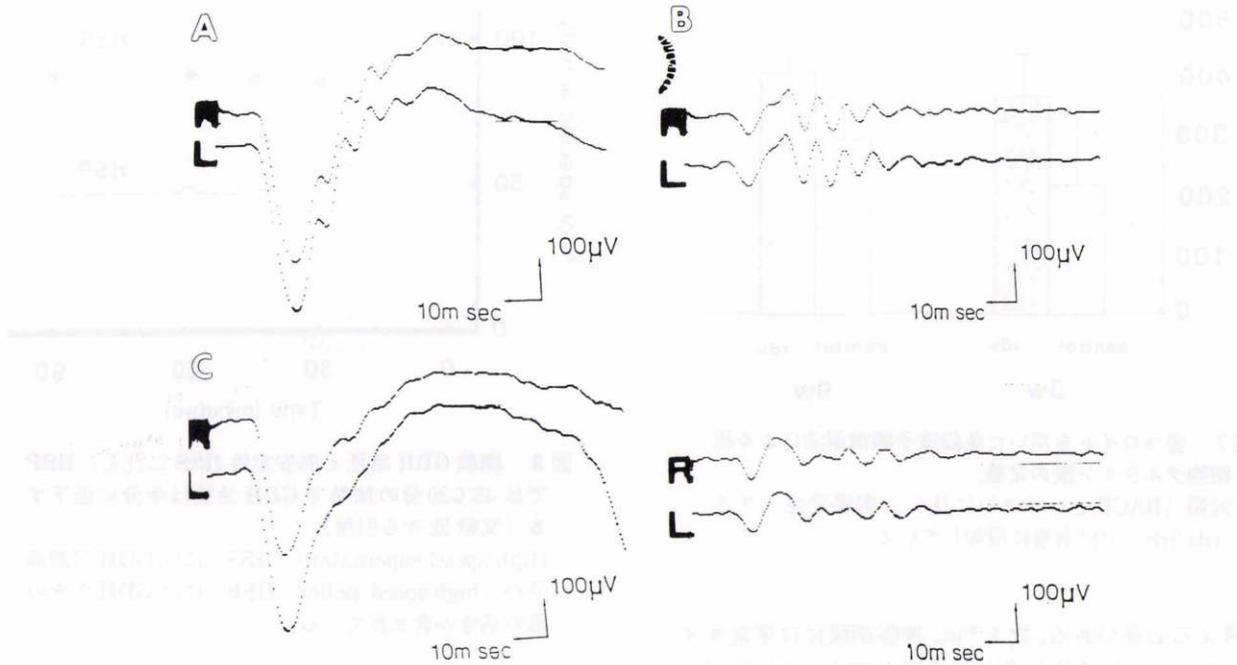


図9 脊髄小脳変性症は ERG 律動様小波の低下する例がみられる (文献 52 から引用).
上段: 正常者, 下段: 脊髄小脳変性症, 時定数 0.3 秒 (A, C), 0.003 秒 (B, D).

安定性の成分が減少していることが明らかになった (表 2, 3). 先に渡辺ら⁴⁰⁾の研究において, 網膜虚血によっても GDH 活性は障害されないことが明らかになっており, Abe ら⁵²⁾の報告は虚血によらず先天的な GDH 活性の低下に起因する全身におけるグルタミン酸代謝の異常によりその蓄積が起り, 神経細胞, 特に小脳や網膜のある種のもが徐々に変性している可能性を示唆している. 特に, その脆弱性には律動様小波を発生させていると考えられるアマクリン細胞, その他の介在ニューロンが深く関わったメカニズムで網膜変性に至っている可能性を示唆している. 動物実験において, グルタミン酸投与は律動様小波のみを減弱させ, electroretinogram (ERG) b 波には影響しないとの結果も報告されており⁵³⁾, 熱不安定性の GDH の異常と網膜変性発症のメカニズムは興味をそそられる. なお, 小脳と網膜の神経細胞構築, 発達などの類似性は以前から指摘されており, 両者の構成要素に特異的な分子が同定されている⁵⁴⁾. 両者は何か共通の代謝系, またはその異常に対する脆弱性をもっているのかも知れない.

VI グルタミン酸の神経毒性を如何に防ぐか

中枢神経系における脳卒中など脳虚血性疾患において, その中心的な役割を果たすと考えられるグルタミン酸受容体に如何に薬物的にアプローチし, その障害を防ぐかの研究は近年盛んに行われている⁵⁵⁾. 眼科領域においても, 低温⁵⁶⁾や NMDA 受容体の拮抗物質である dextromethorphan が虚血網膜の障害を軽快させる試み³⁸⁾

は, 虚血による神経疾患に対して血管再疎通のみを心がけていた現在までの治療法から新しいメカニズムに対する治療の試みとして注目される. Dextromethorphan³⁸⁾のみでなく, MK 801⁵⁷⁾などによるグルタミン酸受容体の拮抗物質の使用⁵⁸⁾やマニトールの投与, さらに虚血によって多量に生成される NO が引き金となる free radicals に対するカタラーゼの投与も網膜に有効であるとの報告もある⁶⁰⁾. しかし, グルタミン酸自身は, 正常網膜においては蛋白質代謝でも神経伝達物質の面から見ても欠くことの出来ないアミノ酸であり, その代謝に影響を与えるようなアプローチを試みることは, 神経系全体の代謝に大きな危険を伴うことは避けられない⁶¹⁾. 特に NMDA 受容体はシナプスの形成や神経系の発達, およびシナプス可塑性に大きな役割を果たしていることが明らかになっており, 今後慎重に研究されなければならないと考えられる⁶²⁾. 近年, 各種の成長因子が Ca^{++} チャンネルを安定化させるとともに核酸に作用し, NMDA 受容体蛋白合成の mRNA 産生も抑制することが明らかにされ, 間接的に虚血による神経細胞障害を抑制することが明らかにされた. 我々もこの作用に注目し, 虚血眼の硝子体に insulin-like growth factor (IGF) -II, nerve growth factor (NGF), b-epidermal growth factor (EGF), adenosine triphosphate (ATP) を注入して PAG の活性, アンモニア量でその回復を調べたところ, 特に IGF-II で有意に虚血の影響が少ないことが明らかになった. これらの成長因子の利用も将来考慮されてよいであろう.

幸い, 網膜はその部位的特徴および硝子体手術の技術

で虚血網膜に対してカニューレを通したり⁶³⁾, また, 硝子体中に酸素を直接投与すること⁶⁴⁾も可能で, 網膜の虚血による障害を最小限に防ぐ工夫が今後多角的に検討されるに至るであろう。さらに, グルタミン酸があらゆるアミノ酸代謝に関与しているが故に, 分子生物学的な手法を用いた解明も含めて今後の研究上興味深い領域である。

本研究は文部省科学研究費(課題番号03404050)によって行われた。内容の一部は第13回日本眼薬理学会で発表した。

文 献

- 1) **Olney JW**: Neurotoxicity of excitatory amino acids. In: EG McGeer, 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) **Reif-Lehrer L**: Glutamate metabolism in the retina. *Curr Topics in Eye Res* 4: 1—95, 1984.
- 4) 高垣玄吉郎: 興奮性アミノ酸, 高垣玄吉郎, 他(編): 神経伝達物質—アミノ酸とアミン. 講談社サイエンスティフィック, 39—72, 1989.
- 5) **Sarantis M, Everett K, Attwell D**: A presynaptic action of glutamate at the cone output synapse. *Nature* 332: 451—453, 1988.
- 6) **Neal MJ**: Amino acid transmitter substances in the vertebrate retina. *Gen Pharmac* 7: 321—332, 1976.
- 7) **Bloomfield SA, Dowling JE**: Roles of aspartate and glutamate in synaptic transmission in rabbit retina. *J Neurophysiol* 53: 714—725, 1985.
- 8) **Lucas DR, Newhouse JP**: The toxic effect of sodium L-glutamate on the inner layer of the retina. *Arch Ophthalmol* 58: 193—201, 1957.
- 9) **Kennedy AJ, Voaden MJ, Marshall J**: Glutamate metabolism in the frog retina. *Nature* 252: 50—52, 1974.
- 10) **Morjaria B, Voaden MJ**: The formation of glutamate, aspartate and GABA in the rat retina; glucose and glutamine as precursors. *J Neurochem* 33: 541—551, 1979.
- 11) **Starr MS**: A comparative study of the utilization of glucose, acetate, glutamate and GABA as precursors of amino acids by retinae of the rat, frog, rabbit and pigeon. *Biochem Pharmacol* 24: 1193—1197, 1975.
- 12) **Fagg GE, Foster AC, Ganong AH**: Excitatory amino acid synaptic mechanisms and neurobiological function. *Trends Pharmacol Sci* 7: 357—363, 1986.
- 13) **Gilbertson TA, Scobey R, Wilson M**: Permeation of calcium ions through non-NMDA glutamate channels in retinal bipolar cells. *Science* 251: 1613—1615, 1991.
- 14) **Martinez-Hernandez A, Bell KP, Norenberg MD**: Glutamine Synthetase: Glial Localization in Brain. *Science* 195: 1356—1358, 1977.
- 15) **Hertz L**: Functional interactions between neurons and astrocytes. I. Turnover and metabolism of putative amino acid transmitters. *Prog Neurobiol* 13: 277—323, 1979.
- 16) **Davanger S, Ottersen OP, Storm-Mathisen J**: Glutamate, GABA, and Glycine in the Human Retina. *J Comp Neurol* 311: 483—494, 1991.
- 17) **Greenberger LM, Besharse JC**: Stimulation of photoreceptor disc shedding and pigment epithelial phagocytosis by glutamate, aspartate and other amino acids. *J Comp Neurol* 239: 361—372, 1985.
- 18) **Olney JW**: Glutamate-induced retinal degeneration in neonatal mice. Election microscopy of the acutely evolving lesion. *J Neuropathol Exp Neurol* 28: 455—474, 1969.
- 19) **Potts AM, Modrell RW, Kingsbury C**: Permanent fractionation of the electroretinogram by sodium glutamate. *Am J Ophthalmol* 50: 900—907, 1960.
- 20) **Cohen AI, McDaniel M, Orr H**: Absolute levels of some free amino acids in normal and biologically fractionated retina. *Invest Ophthalmol* 12: 686—693, 1973.
- 21) **Devries GW, Cohen AI, Hall IA, Ferrendelli JA**: Cyclic nucleotide levels in normal and biologically fractionated mouse retina: Effects of light and dark adaptation. *J Neurochem* 31: 1345—1351, 1978.
- 22) **Kanno C, Ishiguro SI, Shiono T, Kikuchi M, Tamai M**: Decrease of opsin content in the developing rat photoreceptor cells by systemic administration of L-glutamate. *Cell Structure Function* 16: 399—403, 1991.
- 23) **Abrams L, Paliti LE, Adler R**: Differential susceptibility of isolated mouse retinal neurons and photoreceptors to kainic acid toxicity. *In vitro* study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 30: 2300—2308, 1989.
- 24) **Kimelberg HK, Goderie SK, Higman S, Pang S, Waniewski RA**: Swelling-induced release of glutamate, aspartate, and taurine from astrocyte culture. *J Neurosci* 10: 1583—1591, 1990.
- 25) **Siesjo BK**: Historical overview. Calcium, ischemia, and death of brain cells. *Ann NY Acad Sci* 522: 638—661, 1988.
- 26) **Rothman SM**: The neurotoxicity of excitatory amino acids is produced by passive chloride influx. *J Neurosci* 5: 1483—1489, 1985.
- 27) **Rothman SM**: Synaptic release of excitatory amino acid neurotransmitter mediates anoxic neuronal death. *J Neurosci* 4: 1884—1891, 1984.
- 28) **Rothman SM, Olney JW**: Excitotoxicity and the NMDA receptor. *Trends Neurosci* 10: 299—302, 1987.
- 29) **Szatkowski M, Barbom B, Attwell D**: Non-vesicular release of glutamate from glial cells by reversed electrogenic glutamate uptake. *Nature* 348: 443—446, 1990.
- 30) **Swartz KJ, Merritt A, Bean BP, Lovinger DM**: Protein Kinase-C modulates glutamate receptor inhibition of Ca²⁺ channels and synaptic transmission. *Nature* 361: 165—168, 1993.
- 31) **Schousboe A**: Transport and metabolism of glutamate and GABA in neurons and glial cells.

- Int Rev Neurobiol 22 : 1—45, 1981.
- 32) **Johnson NF** : Effects of acute ischemia on the structure of the rabbit retina. *Tr Ophthalmol Sci UK* 94 : 394—405, 1974.
 - 33) **Louzada-Junior P, Dias JJ, Dantos WF, Lachat JJ, Bradford HF, Coutinho-Netto J** : Glutamate release in experimental ischaemia of the retina : An approach using microdialysis. *J Neurochem* 59 : 358—363, 1992.
 - 34) **Inosaka T, Ishiguro SI, Nishikawa S, Ishikawa A, Tamai M** : Accumulation of glutamate-like immunoreactivity in the rat ischemic retinas. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 33(Suppl) : 916, 1992.
 - 35) **Lessel S, Craft JL, Albert DM** : Kainic acid induces mitoses in mature retinal neurons in rats. *Exp Eye Res* 301 : 731—738, 1980.
 - 36) **Stefansson E, Wilson CA, Schoen T, Kuwabara T** : Experimental ischemia induced cell mitosis in the adult rat retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 29 : 1050—1055, 1988.
 - 37) **Rothman SM, Olney JW** : Glutamate and the pathophysiology of hypoxic-ischemic brain damage. *Ann Neurol* 19 : 105—111, 1986.
 - 38) **Yoon YH, Marmor MF** : Dextrometorphans protects retina against ischemic injury *in vivo*. *Arch Ophthalmol* 107 : 409—411, 1989.
 - 39) **Snyder SH, Brecht DS** : Biological roles of nitric oxide. *Scientific Am* 266(5) : 28—35, 1992.
 - 40) 渡辺広己, 石黒誠一, 玉井 信 : 虚血網膜におけるグルタミンナーゼ活性の変化について. 北日本眼科学会抄録集, 57, 1993.
 - 41) **Ulshafer RJ, Allen C, Dawson WW, Wolf ED** : Hereditary retinal degeneration in the Rhode Island Red chicken ; ERG and histology. *Exp Eye Res* 39 : 125—135, 1984.
 - 42) **Ulshafer RJ, Meyer EM** : Studies on putative neurotransmitters in an animal model of hereditary blindness. In : Holleyfield, et al (Eds) : *Degenerative Retinal Disorders. Clinical and laboratory investigations.* Alan R Liss Inc 407—422, 1987.
 - 43) **Ulshafer RJ, Sherry DM, Dawson R Jr, Wallace DR** : Excitatory amino acid involvement in retinal degeneration. *Brain Res* 531 : 350—354, 1990.
 - 44) 野呂洋子, 石黒誠一, 玉井 信 : rds/rds マウス網膜におけるグルタミン酸およびグリシンの免疫組織化学. 日眼会誌 97(増刊号) : 115, 1993.
 - 45) **Casper DS, Trelstad RL, Reif-Lehrer L** : Age-dependent effects of glutamate on photoreceptor cells of the isolated chick embryo retina. *J Neuro-pathol Exp Neurol* 41 : 522—535, 1982.
 - 46) **Plaitakis A, Nicklas WJ** : Glutamate dehydrogenase deficiency in three patients with spinocerebellar ataxia. *Ann Neurol* 6 : 148, 1979.
 - 47) **Plaitakis A, Berl S, Yahr MD** : Abnormal glutamate metabolism in adult onset degenerative neurological disorder. *Science* 216 : 193—196, 1982.
 - 48) **Plaitakis A, Berl S, Yahr MD** : Neurological disorders associated with deficiency of glutamate dehydrogenase. *Ann Neurol* 15 : 144—153, 1984.
 - 49) **Carpenter S, Schumacher GA** : Familial infantile cerebellar atrophy associated with retinal degeneration. *Arch Neurol* 14 : 82—94, 1966.
 - 50) **Ryan SJ Jr, Knox DL, Green WR, Konigsmark BW** : Olivopontocerebellar degeneration : Clinicopathologic correlation of the associated retinopathy. *Arch Ophthalmol* 93 : 169—172, 1975.
 - 51) **Havener WH** : Cerebellar macular abiotrophy. *Arch Ophthalmol* 45 : 40—43, 1951.
 - 52) **Abe T, Ishiguro SI, Saito H, Kiyosawa M, Tamai M** : Partial deficient glutamate dehydrogenase activity and attenuated oscillatory potentials in patients with spinocerebellar degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 33 : 447—452, 1992.
 - 53) **Wachtmeister L, Dowling JE** : The oscillatory potentials of the mudpuppy retina. *Invest Ophthalmol* 17 : 1176—1188, 1978.
 - 54) **Oberdick J, Smeyne RJ, Mann JR, Jackson S, Morgan JI** : A promoter that drives transgene expression in cerebellar Purkinje and retinal bipolar neurons. *Science* 248 : 223—226, 1990.
 - 55) **Zivin JA, Choi DW** : Stroke Therapy. *Sci Am* 265 : 36—43, 1991.
 - 56) **Faberowski N, Stefansson E, Davidson RC** : Local hypothermia protects the retina from ischemia. A quantitative study in the rat. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 30 : 2309—2313, 1989.
 - 57) **Foster AC, Gill R, Woodruff GN** : Neuroprotective effects of MK801 *in vivo* : Selectivity and evidence for delayed degeneration mediated by NMDA receptor activation. *J Neurosci* 8 : 4745—4754, 1988.
 - 58) **Meldrum B** : Possible therapeutic applications of antagonists of excitatory amino acid neurotransmitters. *Clin Sci* 68 : 113—122, 1985.
 - 59) **Watkins JC, Olverman HJ** : Agonists and antagonists for excitatory amino acid receptors. *Trends Neurosci* 10 : 265—272, 1987.
 - 60) **Gupta LY, Marmor MF** : Mannitol, dextrometorphans, and catalase minimize ischemic damage to retinal pigment epithelium and retina. *Arch Ophthalmol* 111 : 384—388, 1993.
 - 61) **Hochachka PW** : Defense strategies against hypoxia and hypothermia. *Science* 231 : 234—241, 1986.
 - 62) **Choi DW** : Cerebral hypoxia ; some new approaches and unanswered questions. *J Neurosci* 10 : 2493—2501, 1990.
 - 63) **Ben-Nun J, Alder VA, Cringle SJ, Constable IJ** : A new method for oxygen supply to acute ischemic retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 29 : 298—304, 1988.
 - 64) **Blair NP, Baker DS, Rhode JP, Solomon M** : Vitreoperfusion : A new approach to ocular ischemia. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 29(Suppl) : 247, 1988.