



Title	ひよこ網膜における神経ペプタイド：免疫組織化学的検索
Author(s)	福田, 全克
Citation	大阪大学, 1981, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33099
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名・(本籍)	福	田	全	克
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	5407	号	
学位授与の日付	昭和	56年	8月	1日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当			
学位論文題目	ひよこ網膜における神経ペプタイド —免疫組織化学的検索—			
論文審査委員	(主査) 教 授	真鍋 禮三		
	(副査) 教 授	藤田 尚男	教 授	松本 圭史

論文内容の要旨

[目的]

最近種々の神経ペプタイドが中枢神経系に豊富に含まれ、これらペプタイドは伝達物質様物質として脳機能に重要な役割を有していることが明らかにされつつある。一方網膜においても bioassay, radioimmunoassay 等により、いくつかの神経ペプタイドが含まれていることが示唆されてきたが、その機能・役割等については殆んど知られていない。そこで本研究では、各種神経ペプタイドの網膜における機能を明らかにする目的で、各種神経ペプタイドの網膜内分布を免疫組織化学的に検討した。

[方法ならびに成績]

方法：実験材料として27匹のひよこ (40~60g) を用いた。左心室より、冷却生理食塩水を50mL、続いて Zamboni 液を150~200mL灌流後、網膜を取り出し、同固定液にて4℃下で10~15時間固定、その後、30%ショ糖・0.1M磷酸バッファーにて24~48時間浸漬した。クリオスタットで10μmの連続切片を作成した。ペプタイド含有構造の証明には Coons らの間接免疫蛍光法を用いた。半数の切片は、Somatostatin, Leu-Enkephalin, Met-Enkephalin, Neurotensin, Vasoactive intestinal polypeptide, Substance P, Glucagon, Luteinizing hormone releasing hormone, Oxytocin の抗血清 (radioimmunoassay で特異性が確認されている) と各々、37℃、湿箱内で1時間反応させ、引き続き磷酸バッファーにて洗浄後、蛍光標識二次抗血清と同条件で反応させた。これらの切片は磷酸バッファーで洗浄後、封入し、蛍光顕微鏡にて観察した。残りの半数は抗血清の特異性をさらにチェックするため、コントロール血清と反応させた。各種抗血清を合成ペプタイドにて吸収したものをコントロール血清として使用した。これらの切片はコントロール血清と反応後、上述と同様な処理の後、

封入し、観察した。さらに、観察後、全ての切片をクレジールバイオレットで染色し、光学顕微鏡にて正確な部位を同定した。

成績：免疫反応の特異性を各種抗血清によるものとコントロール血清によるものとで比較した。コントロール血清では、抗血清で認められた構造は、全く認められなかつたので、抗血清との反応で得られた構造は specific と考えられた。

以下、各種神経ペプタイドの網膜内分布を述べる。

- (1) Somatostatin (SRIF) ; SRIF陽性細胞は、網膜内顆粒層の内側に認められ、細胞径約 $6 \mu\text{m}$ 、卵形であった。陽性細胞からの線維は、内網状層に向かい、3層の線維帯 (Cajal分類による第1層、第3・4層の境界部、第4層内側から第5層外側部) を形成していた。他の領域には、SRIF陽性構造は認められなかつた。
- (2) Leu-Enkephalin (L-Enk), Met-Enkephalin (M-Enk) ; これら両者の陽性構造は共に、SRIF陽性構造と類似した分布を示した。陽性線維帯のうち、最内側は、SRIF陽性線維に比し、疎であった。L-Enk, M-Enk陽性細胞径は約 $6 \mu\text{m}$ で、卵形であった。
- (3) Neurotensin (NT) ; NT陽性細胞も内顆粒層内側に分布し、径約 $6 \mu\text{m}$ 、卵形であったが、陽性線維は、第3・4層の境界部で密であり、第1層・第5層では疎であった。さらに、神経節細胞層にも少数のNT陽性細胞が認められた。
- (4) Vasoactive intestinal polypeptide (VIP) ; VIP陽性細胞は、内顆粒層最内側に分布し、径約 $7 \mu\text{m}$ 、卵形であった。少數ながら、内網状層の第1層にもVIP陽性細胞が認められた。陽性線維は、第4層に多く認められ、細い線維帯を形成していた。
- (5) Substance P (SP) ; SP陽性細胞は、内顆粒層内側に位置し、径約 $6 \mu\text{m}$ 、卵形で、その線維終末は、内網状層の第1・3・5層に、3つの明瞭な線維帯を形成していた。
- (6) Glucagon (Glu) ; Glu陽性細胞は、内顆粒層最内側に位置し、径約 $6 \mu\text{m}$ 、卵形であった。Glu陽性線維は、第2層と第1層外側で、2つの明瞭な線維帯を形成していたが、後者でより密に認められた。さらに、第4層にもごく少数認められた。
- (7) Luteinizing hormone releasing hormone (LH-RH) ; LH-RH陽性細胞は、内顆粒層最内側に少數分布し、細胞径は約 $10 \mu\text{m}$ と大形であった。その線維は、第1層に密で、他に第3層にも若干認められた。
- (8) Oxytocin (Oxy) ; Oxy陽性構造は認められなかつた。

[総括]

- (1) 本研究において、ひよこ網膜には、SRIF, L-Enk, M-Enk, NT, VIP, SP, Glu, LH-RH様免疫活性を有する細胞が存在することが、明らかになつた。
- (2) これらの細胞は、主として内顆粒層内側に位置しており、その突起は、内網状層に向かい、そこで2～3の細い線維帯を形成していた。こうした形態学的特徴より、神経ペプタイド含有細胞は、網膜アマクリン細胞の一種と考えられた。
- (3) 従来よりの、ドーパミン、GABA、アセチルコリン作動性アマクリン細胞に加え、神経ペプタイ

ド含有アマクリン細胞は、双極細胞から神経節細胞への視覚伝達に、何らかの重要な役割を果たしていると思われた。

論文の審査結果の要旨

本研究は、中枢神経系で神経伝達物質あるいは調節物質として近年注目されている神経ペプタイドをあつかったもので、ひよこ網膜を免疫組織化学的に検索した結果、8種のペプタイド（somato-statin, Leu-enkephalin, Met-enkphalin, neuropeptides, VIP, substance P, glucagon, LH-RH）様免疫活性を有する細胞の網膜内分布およびそれらの細胞がアマクリン細胞に属することを明らかにしている。この事実は、視覚伝達機構の解明に多大に寄与するものと考えられる。