



Title	摘出イヌ網膜色素上皮における電解質の輸送
Author(s)	坪井, 俊児
Citation	大阪大学, 1984, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/34801">https://hdl.handle.net/11094/34801</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"&gt;https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> >大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">&lt;/a&gt;</a> 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）	坪	井	俊	児
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	6	5	2
		3		号
学位授与の日付	昭和 59 年 5 月 7 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	摘出イヌ網膜色素上皮における電解質の輸送			
論文審査委員	(主査) 教授 眞鍋 禮三			
	(副査) 教授 中馬 一郎 教授 吉矢 生人			

## 論文内容の要旨

### （目 的）

網膜色素上皮は、感覚網膜と脈絡膜を隔てる上皮組織で、外側血液網膜柵とよばれ、感覚網膜の機能を維持するうえで重要であると考えられている。その 1 つに電解質の輸送があり、その結果生じる電位は electrooulogram として臨床的にも重要である。摘出カエル網膜色素上皮の電解質輸送については 2 ～ 3 の検討がなされているが不十分な点が多い。そこで、摘出イヌ網膜色素上皮の実験系を確立し、それを介する電解質の輸送現象を調べた。

### （方 法）

8 ～ 12 kg 雑種イヌより得た眼球を前後に 2 分割し、後部を扇型に 4 分割した。硝子体、感覚網膜及び強膜を除去し、網膜色素上皮—脈絡膜複合組織を得た。得られた組織をナイロン網にひろげ、Ussing 型 chamber に装着した。chamber 内より Agar-KCl bridge でカロメル電極に接続し、自動電位固定装置を用いて、短絡電流及び開放時の経上皮電位の測定を行った。経上皮抵抗は、一定のパルス電圧を与えたときの電流から求めた。培養液は HEPES-bicarbonate を用い、95% O<sub>2</sub> + 5% CO<sub>2</sub> で bubble することにより pH = 7.4 を維持し酸素の補給を行った。chamber および電極は温水循環により 37℃ に保った。

この系を用いて以下の実験を行った。

1. (Na<sup>+</sup> イオンの輸送) 自動電位固定装置による短絡条件下で、網膜色素上皮—脈絡膜の硝子体側または脈絡膜側培養液中に 5  $\mu$  Ci の <sup>22</sup>Na<sup>+</sup> を注入し、反対側に現れる放射能を経時的に測定した。採取したサンプルは 50  $\mu$  l で、採取すると同時に同量の放射性同位元素を含まない培養液を補給した。数回の sample の平均をとり unidirectional flux をもとめた。硝子体側 → 脈絡膜側、脈絡膜側 → 硝子体側の uni-

directional fluxの比較によりnet fluxを算定した。

2. ( $\text{Cl}^-$ イオンの輸送) 1.と同様に $\text{Cl}^-$ イオンの輸送について,  $^{36}\text{Cl}^-$ を用いて検討した。

3. ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ イオンの輸送にたいするouabainの作用) 安定した電気特性下で数検体の測定の後,  $10^{-5}\text{M}$  ouabainを硝子体側培養液中に注入し, その後更に数検体の採取を続け, 薬剤投与前後のunidirectional fluxの平均値を比較することにより, その変化を調べた。

4.  $\text{Cl}^-$ イオンの輸送にたいする $10^{-4}\text{M}$  furosemideの作用を, 同様にして検討した。

#### (成績)

イヌ網膜色素上皮—脈絡膜の経上皮電位, 短絡電流, 経上皮抵抗の平均値は,  $5\text{ mV}$  (硝子体側が正),  $1.2\ \mu\text{Eq}/\text{cm}^2 \cdot \text{hr}$ ,  $110\ \text{ohm} \cdot \text{cm}^2$ であった。これらの値は数時間にわたって比較的安定していた。 $\text{Na}^+$ イオンの硝子体側→脈絡膜側, 脈絡膜側→硝子体制のunidirectional fluxを比較すると後者が有意に大きく, 脈絡膜側→硝子体側への輸送をおこなっていることが判明した ( $n=9$ )。輸送量は $0.52\ \mu\text{Eq}/\text{cm}^2 \cdot \text{hr}$ で短絡電流の40%に相当した。 $\text{Cl}^-$ イオンは逆に硝子体側→脈絡膜側へ輸送され, その量は短絡電流の35%であった ( $n=14$ )。

$10^{-5}\text{M}$  ouabain,  $10^{-4}\text{M}$  furosemideは硝子体側 (apical cell membrane) に作用させると, 短絡電流及び電位をそれぞれ70%, 30%程度低下させた。 $10^{-5}\text{M}$  ouabainによって, 網膜色素上皮における $\text{Na}^+$ の輸送が阻害された (各方向につき  $n=8$ )。網膜色素上皮における $\text{Cl}^-$ の輸送も,  $10^{-5}\text{M}$  ouabain,  $10^{-4}\text{M}$  furosemideにより阻害された (各薬剤の実験とも各方向につき  $n=5$ )。

#### (総括)

摘出イヌ網膜色素上皮—脈絡膜の電気特性を調べ, それを介する電解質の輸送をUssingの方法により検討した。 $\text{Na}^+$ イオンは脈絡膜側→硝子体側に輸送され,  $\text{Cl}^-$ イオンは硝子体側→脈絡膜側に輸送されていた。これらのイオンのnet fluxの合計は, 短絡電流の75%を占めた。 $\text{Na}^+$ イオンの輸送は硝子体側にいたouabainで阻害されることから, apical cell membraneに局在する $\text{Na}^+ - \text{K}^+$  ATPaseの作用と考えられた。 $\text{Cl}^-$ イオンの輸送も $\text{Na}^+ - \text{K}^+$  ATPaseの活性に依存している可能性が示唆された。

### 論文の審査結果の要旨

本論文はイヌ網膜色素上皮における $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ の能動輸送機構を明らかにしたものである。その結果, 網膜色素上皮を介して $\text{Na}^+$ は脈絡膜側→硝子体側へ輸送され,  $\text{Cl}^-$ は硝子体側→脈絡膜側へ輸送されること, またこれらのイオンの能動輸送により短絡電流の大部分が説明できることが明らかになった。さらに阻害剤にたいする反応性の検討から,  $\text{Na}^+$ 輸送は細膜色素上皮のapical cell membraneに局在する $\text{Na}^+ - \text{K}^+$  ATPaseの作用と関連することが示され,  $\text{Cl}^-$ 輸送は $\text{Na}^+ - \text{Cl}^-$  co-transportによるsecondary active transportであることが示唆された。

本論文は, 温血動物の網膜色素上皮における電解質輸送を始めて明らかにしたもので, 網膜色素上皮機能の解明に貢献するところ大であり, 博士論文に値する。