

Title	ヒヨコ網膜におけるsubstance P, glucagon, pancreatic polypeptideの同一アマクリン細胞共存について : 免疫組織化学的検索
Author(s)	雲井, 弥生
Citation	大阪大学, 1988, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/36009
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"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【47】

氏名・(本籍)	雲 井 弥 生
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 8 1 2 4 号
学位授与の日付	昭 和 6 3 年 3 月 2 5 日
学位授与の要件	医学研究科外科系専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	ヒヨコ網膜における substance P, glucagon, pancreatic polypeptide の同一アマクリン細胞共存について —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 塩谷弥兵衛 教 授 遠山 正彌

論 文 内 容 の 要 旨

[目 的]

これまで、ヒヨコ網膜において、各種神経活性物質の局在を検討してきた結果、多くのペプチド及びアミンが主にアマクリン細胞に存在することが明らかとなった。中でも、substance P (SP), glucagon (GLC), pancreatic polypeptide (PP) 3者の陽性線維の走行および陽性細胞の形態は、網膜周辺部で類似している。そこで二重染色法を用いて、これらの物質が同一細胞内に共存するかどうかについて検討を行った。

[方 法]

実験には、50gのヒヨコを用い、Zamboni液で固定後、網膜の凍結切片及び伸展標本を作成した。同一標本上でSPとPP、あるいはSPとGLCを同時に証明するために、それぞれ異種の動物で作製した第一抗体及び第二抗体を用いて免疫染色を行った。即ち、SPとPPの証明には、第一抗体としてラットで作製した抗SPモノクローナル抗体と家兎で作製した抗PPポロクローナル抗体を、第二抗体としてFITC標識抗ラットIgGヤギ抗血清とTexas red標識抗家兎IgGロバ抗血清を同一切片上で反応した。この標本を蛍光顕微鏡下で異なる励起及び吸収フィルターを用いて観察すると、SP陽性構造は緑色の蛍光で、PP陽性構造は赤色の蛍光で同定することができる。SPとGLCの証明には上記の抗SP抗体と家兎で作製した抗GLC抗体を用い、同様の方法で検討した。第一抗体及び第二抗体間の交叉反応について慎重な検討を加え、存在しないことを確認した。

[成 績]

SP, PP, GLCの網膜内分布について

1. 3者とも、陽性細胞は、内顆粒層最内層に存在し、内網状層1, 3, 5層に突起を伸ばすアマクリン細胞であった。

2. 網膜中央部では、3者の陽性細胞は異なる様相を呈した。SPでは直径5~7 μm の小型細胞が(130/ mm^2)、PPでは直径7-10 μm の小型細胞が(150/ mm^2)、GLCでは直径7-10 μm の小型細胞と直径10-15 μm の多極形細胞が混在して(365/ mm^2)認められた。ペクテン周囲では、いずれの場合も、直径20 μm 以上の巨大細胞が存在した。

3. 網膜周辺部では、3者の陽性細胞の分布及び形態は類似した。いずれの場合も、直径7-10 μm の紡錘形細胞と、直径10-15 μm の多極に分岐する細胞が多数認められた(SP80/ mm^2 , PP98/ mm^2 , GLC220/ mm^2)

4. 3者とも、鋸状縁において円周状に走る密な陽性線維網が観察された。

SPとPP二重染色について

1. この方法により、SPとPP両者を含有する細胞とどちらか一方を含有する細胞の3種に染め分けることができた。

2. 全陽性細胞に対する共存細胞の割合及びその形態は、網膜の部位によって異なった。共存細胞は、最も周辺部では80%を占め、主に紡錘形細胞であり、周辺部では25%を占め、主に多極形細胞であった。一方、中央部では10%を占め、ほとんどが巨大細胞であり、一部小型細胞であった。

3. 両者とも鋸状縁において、密な陽性線維網を持ち、共存するものも認められた。

SPとGLC二重染色について

1. SP, PPの場合と同様、SPとGLC両者を含有する細胞とどちらか一方を含有する細胞の3種に分類することができた。

2. 全陽性細胞に対する共存細胞の割合及びその形態は、やはり、網膜の部位によって異なった。共存細胞は、周辺部では20-40%を占め、主に多極形細胞であった。一方、中央部では2%を占め、すべて巨大細胞であり、小型細胞は認められなかった。SP, GLC共存細胞は、SP, PP共存細胞に比して、やや中央部よりに多く分布していた。

3. 両者とも鋸状縁において、密な陽性線維網を持ち、共存するものも認められた。

[総括]

1. SP, PP, GLCは、ヒヨコ網膜において、アマクリン細胞に局在した。3者の陽性構造の分布及び陽性細胞の形態は、特に網膜周辺部において類似していた。

2. 二重染色の結果、SP, PP共存細胞並びにSP, GLC共存細胞の存在が証明された。いずれも特に網膜周辺部に多数存在した。

3. SP, PP, GLC3者を含有する細胞の存在も示唆され、網膜におけるアマクリン細胞の機能の多様性が推測された。

論文の審査結果の要旨

中枢神経系及び末梢神経系においては複数の活性物質が同一細胞内に共存することが多数報告されている。しかし、網膜においてはほとんど報告がない。本研究は、従来網膜の異なる細胞に存在すると考えられてきた substance P, pancreatic polypeptide 及び glucagon が同一アクリン細胞内に共存することを今回開発した免疫組織学的二重染色法を用いて証明したものである。このことは網膜におけるアクリン細胞の機能を解明する手がかりを提供したものである。