



Title	Localization of Two Calcium Binding Proteins, Calbindin (28kD) and Parvalbumin (12kD), in the Vertebrate Retina
Author(s)	濱野, 啓子
Citation	大阪大学, 1993, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/38666">https://hdl.handle.net/11094/38666</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">大阪大学の博士論文について</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 <sup>はま</sup>濱 <sup>の</sup>野 <sup>けい</sup>啓 <sup>こ</sup>子

博士の専攻分野の名称 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 第 1 0 8 7 7 号

学 位 授 与 年 月 日 平 成 5 年 7 月 1 日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第4条第2項該当

学 位 論 文 名 Localization of Two Calcium Binding Proteins, Calbindin(28kD) and Parvalbumin(12kD), in the Vertebrate Retina  
(二種のカルシウム結合蛋白, カルビンディン (28kD) 及び  
パルプアルブミン (12kD), の脊椎動物網膜における局在について)

(主査)  
論 文 審 査 委 員 教 授 田 野 保 雄

(副査)  
教 授 三 木 直 正 教 授 遠 山 正 彌

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 〔目 的〕

カルシウムイオンは、シナプス後膜内で、セカンドメッセンジャーとして重要な役割を果たしている。種々のカルシウム結合蛋白は、細胞内においてカルシウムイオンと結合することにより、カルシウムイオンの作用発現に深い関与を有していると考えている。カルシウム結合蛋白の一種であるカルビンディンおよびパルプアルブミンは、中枢および末梢神経系に広く分布し、特定の神経細胞に局在している。また、網膜においてもその存在が報告されているが、種によってその局在が異なっている。そこで本研究では、金魚より人までの種々の脊椎動物網膜における、カルビンディンおよびパルプアルブミンの局在を明らかにし、それらを比較、検討した。

### 〔方法ならびに成績〕

カエル、ヒヨコ、ラット、及びモルモットを麻酔下に生理食塩水および Zamboni 液にて灌流固定の後、眼球摘出し、Zamboni 固定液にて2-3日間固定した。金魚および犬は麻酔後直ちに眼球摘出し、人眼は悪性腫瘍の眼窩内転移のため摘出されたものを、それぞれ固定液に浸漬固定した。次に、クリオスタットにて厚さ10-15 $\mu$ mの凍結切片を作成し、免疫組織化学によりカルビンディンおよびパルプアルブミン様免疫活性を可視化した。なお、使用した抗体の抗原特異性は吸収試験によって確認した。

#### 1) カルビンディン様陽性構造は、

金魚網膜では認められなかった。

カエル網膜では、多数の光受容細胞、内果粒層最内層の少数の細胞、神経節細胞層の少数の細胞に認められたが、視神経線維層に陽性線維は認められなかった。

ヒヨコ網膜では、多数の光受容細胞、内果粒層外層にはほぼ一列に並んだ中型の細胞群（その細胞の両端からは一本ずつ突起が出ており、その一部は外網状層で光受容細胞足部に連絡しているのが認められ、中層にも類似の細胞が少数認められた）、内顆粒層内層の多数の中、小型細胞と少数の大型細胞（これらの突起は、内網状層第1, 2, 4層に陽性線維束として、第3, 5層に点在する陽性線維として認められた）、神経節細胞層の多数の細胞に認めら

れ、神経線維層では点在する陽性線維が認められた。

ラット網膜では、内果粒層最外層の多数の細胞（その突起は外網状層の内層で強陽性の線維叢を形成していた）、内果粒層内層の少数の細胞（その突起は内網状層には点在する陽性線維として認められた）、神経節細胞層の少数の細胞に認められたが、視神経線維層に陽性線維は認められなかった。

モルモットおよび犬網膜においても、ラット網膜とほぼ同様であった。

人網膜では、多数の錐体様光受容細胞、内果粒層最外層の少数の細胞、内果粒層中層の遠近両端から突起を出している少数の細胞、内果粒層内層の多数の細胞に認められた。内網状層では二本の陽性線維叢が、神経節細胞層では小型や大型の陽性細胞が、視神経線維層には陽性線維が認められた。

2) パルプアルブミン様陽性構造は、ヒヨコ、ラット、犬の網膜にのみ認められた。

ヒヨコ網膜では内果粒層最内層の少数の細胞と、内網状層第1, 3, 4層の線維とに弱く認められた。

ラット網膜では内果粒層の少数の細胞とその突起、神経節細胞層の少数の細胞に弱く認められた。

犬網膜では、内果粒層最外層の多数の細胞（その突起は外網状層で陽性神経線維叢を形成していた）、内果粒層内層の少数の細胞に認められた。また内網状層には点在する陽性線維が、神経節細胞層には少数の陽性細胞が認められた。

〔総括〕

カルビンディン様物質の局在には二つの系が存在すると考えられる。すなわち錐体優位の網膜（カエル、ヒヨコ）では、主要光伝達経路である錐体、双極細胞、神経節細胞及び修飾系である種々アマクリン細胞に局在した。一方、杆体優位の網膜（ラット、モルモット、犬）では、修飾系である水平細胞、アマクリン細胞、異所性アマクリン細胞に局在した。錐体、杆体ともに多数存在する人網膜では、錐体系主要伝達経路である錐体、双極細胞、神経節細胞に、また修飾系である水平細胞、アマクリン細胞に局在した。以上の事実は、カルビンディンは錐体を介する光伝導系においては主伝達路の光伝達に直接関与すること、また、杆体を介する光伝導系においては、主伝達路の光伝達の修飾に関与することを示す。一方パルプアルブミン様物質は、ヒヨコ、ラット、犬網膜にのみ認められ、修飾系であるアマクリン細胞、異所性アマクリン細胞に、犬網膜では水平細胞にも局在した。以上の事実は、パルプアルブミンは主伝達路を介する光伝達には直接関与せず、その修飾にあたるものと思われる。

## 論文審査の結果の要旨

中枢及び末梢神経系に広く分布している、可溶性カルシウム結合蛋白であるカルビンディン（28kD）及びパルプアルブミン（12kD）は、細胞内においてカルシウムイオンと結合することにより、カルシウムイオンの作用発現に深く関与していると考えられる。本研究では、各種脊椎動物網膜における両カルシウム結合蛋白の局在を、免疫組織化学により可視化し、これらを錐体優位の網膜（金魚、蛙、ヒヨコ）と杆体優位の網膜（ラット、モルモット、犬）、および中間型網膜（人）、すなわち網膜の三つの類型別に比較することにより、網膜内における神経伝達へのこれらの関与について検討した。

カルビンディン様物質は、

- 1) 錐体優位の網膜では、錐体から双極細胞をへて神経節細胞に至る、主要神経伝達経路に局在すると共に、その修飾系である種々のアマクリン細胞にも局在する
- 2) 杆体優位の網膜では、杆体や双極細胞には局在せず、水平細胞やアマクリン細胞すなわち主要伝達路を修飾する細胞群、および神経節細胞に局在する
- 3) 中間型網膜では、1) と2) との混合である局在を示す

パルプアルブミン様物質は、

錐体優位、杆体優位いずれの網膜においても、その主要神経伝達路には局在せず、修飾にあたる細胞群のみに局在

する

ことが明らかになった。以上、カルビンディンは主として主要光伝達経路に、パルプアルブミンはその修飾に関与する成分に発現することを明らかにした。これらの知見は、網膜内の神経伝達におけるカルシウムイオンの関与する系を解析する上で有用であり、学位に値すると思われる。