



Title	Transient and sustained depolarization of retinal ganglion cells by Ih
Author(s)	田端, 俊英
Citation	大阪大学, 1996, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/39827">https://hdl.handle.net/11094/39827</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	田 端 俊 英
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 2 3 5 4 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 8 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科生理系専攻
学 位 論 文 名	Transient and sustained depolarization of retinal ganglion cells by $I_h$ (過分極活性型電流による網膜神経節細胞の一過性および持続性脱分極)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 福田 淳
	(副査) 教 授 津本 忠治 教 授 倉智 嘉久

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 〔目的〕

網膜神経節細胞 (RGC) は脊椎動物網膜神経回路の最終段にあって、網膜内の視覚情報を統合するニューロンである。基本的に RGC の pre-spike 電位 (膜電位の直流成分) は光刺激の強度に依存するが、pre-spike 電位の時間的变化は必ずしも光刺激強度と連動しない。例えば、off 型 RGC の受容野中心部あるいは on 型 RGC の受容野周辺部に一定強度の光パルスを与えると、これらの RGC は刺激期間中に持続的過分極を示すだけでなく、刺激開始直後に一過性の深い過分極を示し、また刺激終了時に一過性脱分極を示す。結果として RGC の pre-spike 電位は過分極性光刺激の開始と終了を強調した信号になっており、このような high-pass filter (HPF) 信号修飾は視覚中枢における光刺激変化のタイミング検出精度を向上させると考えられている。

ところで従来の研究では RGC の pre-spike 電位変化は主としてシナプス前細胞の活動を反映しているとされ、HPF 信号修飾の起源もアマクリン細胞などの phasic な光応答に求められてきた。しかし光刺激の場合と同様の信号修飾は、RGC に過分極性定電流パルスを通電したときにも観察されるので、RGC 自体に電位感受性イオン電流などの自律的な HPF 機構が備わっているものと考えられる。この可能性を検討するため、本研究では単離した成熟キンギョ RGC にパッチクランプ電位固定法を適用し、HPF 機構の候補として過分極活性型イオン電流 ( $I_h$ ) を同定した。また電流固定法を用いて  $I_h$  が電流通電時にどのような信号修飾を行うかを検討した。さらに RGC の pre-spike 電位をモデル化し、 $I_h$  が光刺激によるシナプス性過分極に対して HPF 修飾を行う可能性をシミュレーションにより検討した。

#### 〔方法〕

成熟キンギョから RGC 細胞体を単離した。RGC 同定のために、単離前に視神経挫滅処理を施して RGC の核小体を顕在化させるか、もしくは蛍光色素を視神経に注入して RGC 細胞体を逆行性に標識しておいた。以下の実験では主として核小体顕在化 RGC を用いたが、数個の逆行性標識 RGC にも電位固定法を適用し、軸索障害のない RGC も  $I_h$  を有することを確認した。

単離後18時間以内に突起の出芽していない RGC 細胞体から whole-cell パッチクランプ法を用いて電位固定法・電流記録もしくは電流固定法・電位記録を行った。ピペット液および細胞外液の主成分はそれぞれ 145mM K<sup>+</sup> と 5 mM Na<sup>+</sup> および 145mM Na<sup>+</sup> と 5 mM K<sup>+</sup> であった。

電流固定法の結果にもとづき  $I_h$  のゲーティングを数学的に再構築した。さらに静止および過分極状態で活性化している RGC のイオン電流を線形 leak 電流と再構築  $I_h$  の和で近似し、RGC の pre-spike 電位を Hodgkin-Huxley 型微分方程式によりモデル化した。この方程式を数値的に解き、シナプス入力に対する pre-spike 電位の変化を予測した。

#### 〔成績〕

電位固定法により検査した全ての細胞（62個）から  $I_h$  が記録できた。 $I_h$  は  $-70\text{mV}$  より深いテスト電位で緩徐に活性化し、脱活性化（tail-current）も緩徐であった（時定数約100msec）。 $I_h$  の振幅は  $\text{Na}^+$  と  $\text{K}^+$  の細胞外濃度に依存し、 $I_h$  チャネルは両イオンを透過すると考えられた。tail-current 逆転電位から  $\text{Na}^+$  の  $\text{K}^+$  に対する相対的透過率は約0.5と推定され、 $I_h$  の生体内における逆転電位は約  $-20\text{mV}$  と考えられた。 $I_h$  は細胞外の  $3\text{ mM Cs}^+$  によって完全に遮断されたが、 $1\text{ mM Ba}^{2+}$  や  $30\text{ mM tetraethylammonium}^+$  に対して抵抗性を示した。RGC・ $I_h$  のイオン選択性および薬理学的特性は、心臓などの他の組織の  $I_h$  と共通しており、 $\text{K}^+$  選択性異常整流性電流とは異なっていた。

電流固定法では RGC に過分極性定電流パルスを通電すると HPF 修飾をともなう pre-spike 電位が記録された。この HPF 修飾は  $\text{Cs}^+$  の細胞外投与によって消失することから、 $I_h$  が HPF 機構を担っていると考えられた。

$I_h$  のゲーティングは  $I_h$  チャネルが開・閉2状態の単一ゲート機構を持つと仮定することにより再構築できた。RGC のシナプス性過分極の様式として、抑制性シナプス入力の増大、興奮性シナプス入力の減少、およびこれらの組み合わせが考えられる。シミュレーションはいずれの様式でも  $I_h$  によって HPF 修飾が行われる可能性を示した。

#### 〔総括〕

本研究により脊椎動物 RGC に  $I_h$  が存在することがはじめて証明された。 $I_h$  は電流刺激およびシナプス入力に起因する過分極によって活性化され、RGC の pre-spike 電位に HPF 修飾を加えることが分かった。生体内でも  $I_h$  は RGC の過分極性光刺激に対する自律的 HPF 機構を担っているものと考えられる。

### 論文審査の結果の要旨

本研究は脊椎動物網膜神経節細胞からはじめて過分極活性型電流を同定し、その生理学的特性を明らかにした。またこれらの分析結果に基づき、過分極活性型電流が神経節細胞の過分極応答において持続性および一過性の脱分極の発生に寄与する可能性を示した。

網膜神経節細胞は刺激応答特性によるサブタイプの分類が確立された実験系であり、そのイオン電流組成を解析することにより、各イオン電流の役割を細胞全体の機能と結びつけて検討することが期待されている。本研究はこのようなアプローチによる研究の嚆矢となるものであり、この点において学位授与に値する学問的価値を有するものと判定された。