



Title	Postnatal development of NK1, NK2, and NK3 neurokinin receptors expression in the rat retina
Author(s)	Oyamada, Hiroko
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.11501/3169601
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名	小 山 田 浩 子 お や ま だ ひろ こ
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 5 0 9 0 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 1 2 年 2 月 2 9 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	Postnatal development of NK1, NK2, and NK3 neurokinin receptors Expression in the rat retina (ラット網膜におけるNK1、NK2、NK3ニューロキニン受容体発現の生後発達)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 遠 山 正 彌 (副査) 教 授 田 野 保 雄 教 授 不 二 門 尚

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

タキキニンはそのC末端に共通のアミノ酸配列を持つペプチドの総称である。哺乳類においては、サブスタンスP (SP)、ニューロキニンA、ニューロキニンBが、主要なニューロキニンと考えられ、それぞれはNK1受容体、NK2受容体、およびNK3受容体に高い親和性を持つ。これらの受容体は7つの膜貫通領域を持つ。G蛋白質共役型受容体ファミリーに属する。タキキニンは中枢神経系、末梢神経系に広く存在し、神経伝達、神経活動の調節、成長因子などの多様な働きがある。ラットの網膜では、タキキニンを発現する細胞が、生後発達とともに増加することから、タキキニンは網膜の層形成、神経網の形成、シナプス形成、視覚情報の重要な役割を有していると考えられている。

そこで本研究ではラット網膜におけるNK-1、2、3受容体の局在と個体発生について免疫組織化学的手法を用いて、網膜のタキキニン受容体発現の生後発達を検索し、網膜におけるタキキニンの役割について、明らかにすることを試みた。

【材料と方法】

生後各ステージ(0、2、5、7、10、15、17、20、25、30、90日)のウィスター系アルビノラットをペントバルビタール麻酔下(4 mg/100 g、腹腔投与)にて0.2%ピクリン酸、2%パラホルムアルデヒド含有0.1 Mリン酸緩衝液(pH 7.4)による灌流固定を行い、直ちに眼球を摘出、網膜を同じ固定液で24時間浸漬固定(4°C)した。次いで網膜を30%蔗糖含有0.1 Mリン酸緩衝液で洗浄後(48時間)凍結切片を作成し、免疫組織化学に供した。

NK-1、2、3様免疫活性の可視化にはPAP法を用いた。それぞれの抗血清の特異性は合成ペプチドを用いた吸収試験により確認した。

【成績】

NK-1受容体様免疫活性(NK-1LI)陽性細胞は大部分内顆粒層の近位部に、一部神経節細胞層に局在する。陽性細胞からの突起はいずれの細胞からも内網状層に伸び、そこで分岐する。従って、NK-1LI陽性細胞は大部分アマクリン細胞、一部異所性アマクリン細胞であることが明らかとなった。個体発生学的に検討すると生直後の網膜で既にNK-

1LI の発現は弱いながらも確認できる。その後、生後 5 日齢から NK-1LI 陽性細胞は増加し、生後10日齢でピークに達し、その後はプラトーとなり生後90日齢でも同等の発現が観察される。NK-2LI についてはどのような個体発生ステージでも観察できなかった。

NK-3LI 陽性細胞は 2 種に分類できる。第一の細胞体は主に内顆粒層の遠位および中間層に位置し上下に伸びる突起は外網状層と内網状層の遠位部に入る。その細胞は形態学的には双極細胞である。第二の陽性細胞は内顆粒層の中央部に細胞体が位置する。この細胞からは一本の突起が内網状層に向かいそこで分岐する。陽性細胞の細胞体と突起の位置から判断すると前者は双極細胞、後者はアマクリン細胞であると思われる。NK-3LI は生後10日齢になって初めて観察される。生後17日齢でピークとなり、その後、生後30日で成熟ラットと同様、プラトーとなり生後90日齢でも同等の発現が維持される。

【考察・総括】

SP はラット網膜において神経回路が完成する前の生後 5 日齢で既に発現している。タキキニン受容体のうち NK-1 のみが神経回路の完成するよりも早期(生後 0 日齢より)に発現している。この事実は SP の網膜成熟に及ぼす作用は NK-1 受容体を介して発現する可能性を示す。

NK-3 受容体はほぼ回路形成の完成する時期である生後10日齢網膜で始めて発現する。この事実は NK-3 受容体を介するタキキニンの作用は回路形成には関与せず、専ら網膜での視覚伝達に関与していることを示す。

NK-1 受容体を発現する細胞の細胞体は内顆粒層の近位部に、NK-3 受容体を発現する細胞の細胞体は内顆粒層の遠位部に位置し、各々異なる細胞種であることが明らかとなった。この事実は SP をはじめとするタキキニンが多様に視覚伝達に関与していることを示唆する。

論文審査の結果の要旨

本研究は網膜内の情報伝達系に果たすタキキニンの意義を明らかにするために、3種のタキキニン受容体抗体を用いた免疫組織化学的手法で、タキキニン受容体蛋白発現の生後発達を形態学的に検索したものである。その結果、NK-1 受容体蛋白は生直後から内顆粒層のアマクリン細胞に徐々に発現し始め、開眼前(生後15日)には発現強度は成熟レベルに達していた。NK-1 受容体の発現は網膜での神経回路網が形成される以前、開眼以前に完成しているので、NK-1 受容体を介するタキキニンの作用は網膜の層形成、神経回路網の形成、シナプス形成等に関与している可能性を示す。一方、NK-3 受容体蛋白発現は、開眼後に内顆粒層のアマクリン細胞と双極細胞に徐々に発現し始め、視覚機能が完成している生後30日で成熟レベルに達することが明らかになった。NK-3 受容体を介するタキキニンの作用は双極細胞による網膜の視覚情報の伝達、または、アマクリン細胞による内網状層での視覚情報の調節等に関与している可能性を示す。

本研究におけるタキキニン受容体蛋白の生後発達における発現時期の相違、発現する細胞が異なることから、網膜におけるタキキニン作動性システムは網膜内での明暗の情報伝達機構と神経回路網の形成を明らかにする上で、重要な知見を与えるもので、学位論文に値すると思われる。