



Title	Contribution of Bipolar Cells of Cone ON and OFF Pathways to Electroretinograms Elicited by Ultraviolet and Middle Wavelength Stimuli
Author(s)	河嶋, 瑠美
Citation	大阪大学, 2019, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/72207
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名)		河嶋 瑠美	
論文審査担当者	(職)	氏 名	
	主 査	大阪大学教授	西田 年二
	副 査	大阪大学教授	不二門 尚
	副 査	大阪大学教授	岡村 康司

論文審査の結果の要旨

マウスを含む多くの生物にとって紫外線は生存する上で大きな役割を持つ。眼球に光が入力すると視細胞で受容され電気シグナルに変換される。その反応を捉える方法が網膜電図(ERG)である。シグナル経路はON, OFF経路の2種類存在するが、マウスのOFF反応は小さく一般的な方法では観察が困難である。そこで紫外線LEDを用いたERGを開発しOFF反応を優位に捉える方法を示した。さらに緑色LEDを用いてマウスのもう1つの錐体視細胞のON, OFF反応を捉え、薬理的に2種類の錐体視細胞のシグナル経路の比較解析を行った。その結果緑色刺激ではOFF経路、紫外線刺激ではON経路優位であることが示された。本研究はマウスの異なる錐体視細胞の生体内でのシグナル経路を比較解析した初めての研究であり、この方法を用いることで今後新たなシグナル障害のメカニズムを発見できる可能性がある。以上より本研究は学位に値するものと認める。

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	河嶋瑠美
論文題名 Title	Contribution of Bipolar Cells of Cone ON and OFF Pathways to Electroretinograms Elicited by Ultraviolet and Middle Wavelength Stimuli (紫外線および緑色刺激網膜電図における錐体ON,OFF経路に対する双極細胞の役割)
<p>論文内容の要旨</p> <p>〔目的(Purpose)〕</p> <p>脊椎動物の網膜には暗順応下で働く杆体視細胞と、明順応下で働き色覚を司っている錐体視細胞が存在する。ヒトはS, M, Lオプシン含有錐体の3種類を持つが、マウスを含む多くの哺乳類はS, M オプシンの2種類しか持っていない。その中でSオプシン含有錐体視細胞は種を超えて広く保存されているが、ヒトのSオプシンは青色領域しか認識しない一方で、マウスを含む多くの動物のSオプシンは紫外線を認識する。視細胞で受容した光シグナルは電気シグナルに変換され二次ニューロンである双極細胞に伝達される。シグナル経路にはそれぞれON型, OFF型の2種類の双極細胞を経由するON経路とOFF経路が存在し、互いに作用し合うことでコントラストの向上や境界の明瞭化に貢献している。しかしマウス網膜におけるOFF経路は反応が小さいためヒトで一般に用いられているON, OFF経路分離方法ではOFF反応を捉えることができない。しかし最近、紫外から赤外領域の波長スペクトルを持つキセノン光源を用いたマウス網膜電図(ERG)において、フリッカERGという方法でON経路とOFF経路を分離することができたという報告がされた。しかしこの方法ではSオプシンとMオプシン含有錐体視細胞の反応を分離させて捉えることができない。またSオプシンおよびMオプシン含有錐体視細胞のON, OFF経路のin vivoでの比較解析はされていない。そこで我々はSオプシンとMオプシンのスペクトルを合わせた紫外線および緑色LEDを用いた網膜電図 (ERG)を使って薬理的に解析を行った。</p> <p>〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕</p> <p>方法：我々はマウスSオプシンおよびMオプシン含有錐体視細胞の吸収領域に最大スペクトルを持つ紫外線および緑色LEDを用いたERGを開発し実験を行った。マウスは全て8-10週齢のC57BL6Jマウスを用い、明順応下で錐体反応を観察した。まず錐体フラッシュERGおよび錐体フリッカERG (5-30 Hz)を施行し紫外線および緑色LED誘導性ERG反応を比較した。さらにON, OFF経路の解析を行うため、ON経路を抑制するL-AP4、OFF経路を抑制するPDA、さらにコントロールとして生食を用いてそれぞれ硝子体内投与1時間後に同様のERG反応を観察した。さらにフリッカERG反応においてフーリエ解析を行い、SオプシンおよびMオプシン含有錐体視細胞におけるON, OFF経路の比較検討を行った。</p> <p>結果：錐体フラッシュERG反応は紫外線、緑色LED誘導のいずれにおいても光量に対してシグモイド反応曲線を呈したが、紫外線の感受性が7.3倍高かった。また5-30 Hzの錐体フリッカERG反応においても両者は類似した反応を示した。次に、ON経路を抑制するL-AP4を硝子体内投与したところ、ON反応である錐体フラッシュERGのb波は消失したが、OFF経路を抑制するPDAを硝子体内投与しても振幅に差はなかった。一方、視細胞とOFF反応の混合成分であるa波はL-AP4投与後は差がなかったが、PDA投与後は振幅が小さくなった。また錐体フリッカERG反応のフーリエ解析において、紫外線LED誘導反応では低周波数領域(5-12.5 Hz)ではL-AP4投与後に振幅は有意に小さくなり、高周波数領域 (30 Hz)ではPDA投与後に振幅が有意に小さくなった。つまり低周波数領域はON経路、高周波数領域はOFF経路が優位であることを薬理的に示すことができた。一方、緑色LED誘導反応でも同様の傾向を示したが、低周波数領域 (5-15 Hz)においてPDA投与後の振幅が有意に小さくなっていた。また位相においても緑色LED誘導反応の方が紫外線LED誘導反応よりも位相差がやや遅れていた。以上よりマウス網膜において紫外線による反応が緑色による反応より感受性が高く、Sオプシン含有錐体はON経路優位、Mオプシン含有錐体はOFF経路優位であることが示された。</p> <p>〔総括(Conclusion)〕我々は紫外線および緑色LEDを用いたERGを開発しマウスにおけるS, Mオプシン含有錐体視細胞の反応を捉えることができた。さらにフリッカERGを用いてS, Mオプシン含有錐体視細胞のON, OFFシグナル経路が異なっている可能性を薬理的に示すことができた。</p>	