

ドーパミンによる律動様小波の増大とこれに関与するドーパミン受容体の検討

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/4560

ドーパミンによる律動様小波の増大とこれに関与する ドーパミン受容体の検討

金沢大学大学院医学系研究科脳医科学専攻光情報伝達学
(旧講座名：眼科学)
(主任：河崎一夫教授)

田 川 茂 樹

脊椎動物の網膜内におけるドーパミン作動性神経細胞の機能を検討する目的で、ドーパミンが白色ウサギの網膜電図におよぼす影響を調べた。まずノミフェンシン（ドーパミンの神経終末への再吸収阻害剤）30, 100, 300, 500 μ Mおよび1mM（推定硝子体内濃度：以下同様）の硝子体内注入が白色ウサギの網膜電図におよぼす影響を調べた。網膜電図を薬剤の注入前および注入60分後に記録し比較した。100 μ Mおよび300 μ Mのノミフェンシンでは律動様小波の振幅が増大したが、1mMでは減弱した。また、すべての濃度において暗所視系b波の振幅は減弱した。それぞれ単独では、律動様小波も暗所視系b波も変化させ得ない濃度である1 μ Mのドーパミンと30 μ Mのノミフェンシンの硝子体内注入では、律動様小波の振幅は増大し暗所視系b波の振幅は減弱した。この結果は、内因性ドーパミンが網膜電図を変化させることを示唆する。ついでSCH 23390（選択的D₁受容体拮抗剤）またはスルピリド（選択的D₂受容体拮抗剤）のいずれか一方と、ドーパミンの同時硝子体内注入が白色ウサギの網膜電図におよぼす影響を調べた。50 μ Mのドーパミンのみを硝子体内注入した対照眼では、律動様小波の振幅は増大し、暗所視系b波の振幅は減弱した。50 μ Mのドーパミンと50 μ Mおよび100 μ Mのスルピリドの同時硝子体内注入では律動様小波の振幅は増大し暗所視系b波の振幅は減弱したが、50 μ Mのドーパミンと20 μ MのSCH 23390の同時硝子体内注入では、暗所視系b波の振幅は減弱したが律動様小波の振幅はほとんど変化しなかった。またSKF 38393（選択的D₁受容体作動剤）またはLY 161365（選択的D₂受容体作動剤）の硝子体内注入が白色ウサギの網膜電図におよぼす影響を調べた。50 μ M, 100 μ Mおよび500 μ MのSKF 38393では、律動様小波の振幅は増大し暗所視系b波の振幅は減弱した。50 μ Mおよび100 μ MのLY 161365では、暗所視系b波の振幅は減弱したが、律動様小波の振幅は100 μ Mでは若干増大したものの50 μ Mでは減弱した。これらの結果から、ドーパミンによる律動様小波の振幅の増大は主にD₁受容体を介して発現しており、暗所視系b波の振幅の減弱にはD₁およびD₂両受容体がともに関与していると推察された。

Key words dopamine, oscillatory potentials, amacrine cell, rabbit

約100年前のOliver, Schaeferらによる副腎髄質における血圧上昇物質の存在の発見以来、カテコールアミンの研究が始まり、その後の神経伝達物質の分野への開拓の出発点になった。電気生理学的手技、生化学的手技さらにはリガンド結合実験の発達によって神経伝達物質が確認され、末梢神経系のみならず中枢神経系においても次々と神経伝達物質が明らかにされてきたが、カテコールアミンには神経伝達物質と称されるノルアドレナリン、アドレナリン、ドーパミンの3つのアミンが確認された。その研究は1901年、高峰譲吉によるアドレナリン抽出の成功が端緒となり、1904年Elliottの神経伝達物質説、1921年Loewi, Cannonらの神経化学伝達説の確立、1946年von Eulerのノルアドレナリンの交感神経伝達物質の証明へと続いていった¹⁾²⁾。

ドーパミンはノルアドレナリンの前駆体であり、生体内でL-ドーパから合成され、運動機能系および精神機能系に強

く関与している。免疫組織化学法、オートラジオグラフィー追跡法、電子顕微鏡的観察、高速液体クロマトグラフィー分光法などの進歩によってドーパミンに関する研究はさらに進歩を続け、1988年Bunzowら³⁾によるドーパミン受容体をコードする遺伝子の同定が契機となり、アデニレートシクラーゼと共役するD₁受容体系統と共役しないD₂受容体系統に分類され、各々の受容体系統に属する亜群の分類も確立された。その結果、各々の受容体に選択性の高い薬物の開発が進み、さまざまな基礎研究および臨床医療の場において現在も応用されている。

脊椎動物の網膜においてもドーパミンは神経伝達物質の一つとして証明されており⁴⁾、主にアマクリン細胞および網状層間細胞に存在することが判明され、視細胞、網膜色素上皮細胞、水平細胞などに明所視類似の様々な変化をおよぼすことが報告されている^{5)~8)}。

外因性に眼内へドーパミンが投与された場合、網膜電図にお

平成13年10月11日受付、平成13年11月16日受理

Abbreviations : b_s, scotopic b; ERG, electroretinogram; OPs, oscillatory potentials

よばず代表的変化として、律動様小波の振幅の増大と暗所視系b波の振幅の減弱が報告されている⁹⁾。しかし著者の知る限り、ドーパミン作動性神経細胞のシナプス間隙に元来存在する内因性ドーパミン自身が網膜電図に同様の変化を起こしうるかどうかは未だ確認されておらず、またどのサブタイプのドーパミン受容体を介して網膜電図の変化が惹起されているのかも不明である。本報ではこれらの点を明らかにすることを目的として、まずドーパミン再吸収阻害剤の白色ウサギ硝子体内単独注入により、シナプス間隙で作用する内因性ドーパミン濃度を高めることで網膜電図におよぼす変化を記録し、外因性にドーパミンが注入された場合と比較検討した。次いで、選択的ドーパミン受容体拮抗剤とドーパミンの白色ウサギ硝子体内同時注入による網膜電図変化、また選択的ドーパミン受容体作動剤の白色ウサギ硝子体内単独注入による網膜電図変化から、前述したドーパミンのおよぼす網膜電図変化に関与する受容体を検討した。

対象および方法

I. ウサギの網膜電図記録法と薬液の硝子体内注入法

暗赤色照明下で白色ウサギ(体重2.5 kg)に1%塩酸リドカイン(キシロカイン®, 藤沢薬品, 大阪)による浸潤麻酔を施し、気管切開および気管内挿管を順次行い、次いで臭化バンクロニウム(ミオブロック®, 三共, 東京)の筋肉内注射(0.5 mg/kg/時間)により不動化し、ただちに人工呼吸(45回/分, 1回換気量40ml, Harvard Apparatus Respirator, New York, USA)を行った。キシロカイン®による浸潤麻酔下に眼周囲の睫毛と瞬膜を切除し、0.5%トロピカミドと0.5%塩酸フェニレフリンの混合液(ミドリン®-P, 参天製薬, 大阪)の点眼により極度に散瞳した。記録用電極としては、双極型網膜電図用電極AE型7518BFC(京都コンタクトレンズ, 京都)を用い、10ml注射器で陰圧吸引させることで角膜全面に吸着固定させた。

500 Wキセノンアーク灯Xenon Arc45(三双製作所, 東京)から得られる持続光を刺激装置SEN-3201(日本光電, 東京)および電磁式シャッターを用いて断続することによって持続時間100ミリ秒の白色矩形波光を得て、それを硝子線維束を介して背景光を与えずに角膜上方約1.5 cmの位置から照射し、刺激光とした。0 log単位の刺激光は角膜面において、5000 lux(照度計H-100, 三双製作所)に相当した。60分間の暗順応の後に、両眼同時に刺激光強度を-5 logから0 logまで1 logずつ強めながら1分間隔で6回照射し、各刺激光強度において導出された電位を時定数2秒の交流増幅器AB-622 M(日本光電)で増幅してa波およびb波を、時定数3ミリ秒で増幅して律動様小波を得た(対照網膜電図)。ハードウェアユニットであるMacLab/8s(AD Instruments, Sydney, Australia)および、マッキントッシュコンピュータで起動するアプリケーションソフトプログラムであるScope version 3.5/s(AD Instruments)を用いてすべての応答の記録、表示ならびに解析を行った(図1)。

本報ではa波、b波および律動様小波を単一刺激による波形で示した。b波振幅として基線またはa波最深部のいずれか低い方からb波頂部までの電位差を計測し、律動様小波の振幅の計測は当教室の前法¹⁰⁾に準じた。対照網膜電図記録後に、各々後述する実験毎の薬液を硝子体内に注入し60分間暗順応した後に、対照と同様の手順で網膜電図を記録した(試験網膜電図)。薬液注入に際しては、当教室の前法¹¹⁾に従って、0.1mlの前房水を吸引した後に角膜輪部から後方約3mmの強膜より

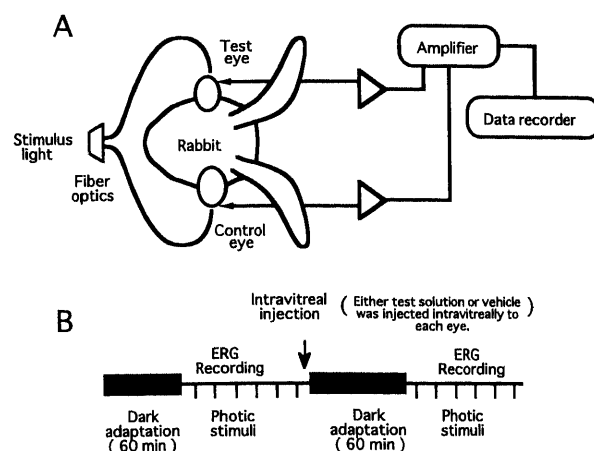


Fig. 1. Schematic illustration of experimental setup to record the ERGs. Generally anesthetized rabbits were immobilized and artificially ventilated. White light of 100 msec duration with various intensities (from -5 log intensity to zero log intensity) were given as light stimuli. Stimulus intensity of zero log unit was 5.0×10^3 lux at the cornea. The ERGs were lead off through a bipolar ERG electrode connected with cornea. The test eye was intravitreally injected with following agents: nomifensine (dopamine-uptake blocker; 30, 100, 300, 500 μ M and 1mM), nomifensine (30 μ M) + dopamine (1 μ M), SCH 23390 (D_1 receptor-blocker; 20 μ M) + dopamine (50 μ M), sulpiride (D_2 receptor-blocker; 50, 100 μ M) + dopamine (50 μ M), SKF 38393 (D_1 receptor-agonist; 50, 100, 500 μ M), LY 161365 (D_2 receptor-agonist; 50, 100 μ M). The control eye was injected with the vehicle (bicarbonate buffer) (A). The b-wave and oscillatory potentials (OPs) after dark adaptation for 60 min were compared between before and 60 min after an intravitreal injection (B).

27ゲージ注射針をその切り口が水晶体側に向くように硝子体内に刺入し、緩徐に0.1mlの薬液を注入した。本報では注入する薬剤の濃度を、白色ウサギの硝子体容積が約1.7mlであり且つ注入した薬剤が硝子体内に均一に拡散すると仮定した際の推定硝子体内濃度で表した。以下には各々の実験に用いた薬液とその手順を示す。

II. ドーパミンの神経終末への再吸収阻害剤の硝子体内注入が白色ウサギ網膜電図におよぼす変化(実験1)

1. ノミフェンシンの硝子体内注入による網膜電図の変化

対照網膜電図記録後に、試験眼にノミフェンシン(和光純薬工業, 大阪) 30, 100, 300, 500 μ Mあるいは1mMを、僚眼にはその溶媒であるオベガードMA®(千寿製薬, 東京)のみを硝子体内に注入し、60分間の暗順応を施した後に試験網膜電図を記録した。

2. ドーパミンとノミフェンシンの硝子体内注入による網膜電図の変化

ドーパミンとノミフェンシンの網膜電図におよぼす効果が相乗的であるか否かを調べる目的で、試験眼にはドーパミン1 μ Mを、僚眼にはその溶媒であるオベガードMA®のみを硝子体内に注入し、60分間の暗順応を施した後に対照網膜電図を記録した。次いで両眼にノミフェンシン30 μ Mを硝子体内に注入し、再び60分間の暗順応を施した後に試験網膜電図を記録した。

Ⅲ. ドーパミンとその選択的受容体拮抗剤の同時硝子体内注入が白色ウサギ網膜電図におよぼす変化(実験2)

1. ドーパミンとSCH 23390の同時硝子体内注入による網膜電図の変化

対照網膜電図記録後に、試験眼には50 μ M ドーパミン (和光純薬工業) と50 μ M L-アスコルビン酸 (和光純薬工業) および選択的D₁受容体拮抗剤SCH 23390 (和光純薬工業) 20 μ Mあるいは50 μ Mの3種類を、僚眼には50 μ M ドーパミンおよび50 μ M L-アスコルビン酸を同時に硝子体内に注入し、60分間の暗順応を施した後に試験網膜電図を記録した。

溶媒としてオベガードMA®を使用し、L-アスコルビン酸はドーパミンの酸化を予防する目的で添加された(以下同様)。

2. ドーパミンとスルピリドの同時硝子体内注入による網膜電図の変化

対照網膜電図記録後に、試験眼には50 μ M ドーパミンと50 μ M L-アスコルビン酸および選択的D₂受容体拮抗剤スルピリド (和光純薬工業) 50 μ Mあるいは100 μ Mの3種類を、僚眼には50 μ M ドーパミンおよび50 μ M L-アスコルビン酸を同時に硝子体内に注入し、60分間の暗順応を施した後に試験網膜電図を記録した。

Ⅳ. ドーパミンの選択的受容体作動剤の硝子体内注入が白色ウサギ網膜電図におよぼす変化(実験3)

1. SKF 38393の硝子体内注入による網膜電図の変化

対照網膜電図記録後に、試験眼には選択的D₁受容体作動剤SKF 38393 (フナコシ, 東京) 50 μ Mあるいは100 μ Mを、僚眼にはその溶媒であるオベガードMA®を硝子体内に注入し60分間の暗順応を施した後に試験網膜電図を記録した。

2. LY 161365の硝子体内注入による網膜電図の変化

対照網膜電図記録後に、試験眼には選択的D₂受容体作動剤LY 161365 (フナコシ) 50 μ Mあるいは100 μ Mを、僚眼にはその溶媒であるオベガードMA®を硝子体内に注入し60分間の暗順応を施した後に試験網膜電図を記録した。

成 績

I. ドーパミンの硝子体内注入が白色ウサギ網膜電図におよぼす変化

暗順応下での-5 log 刺激光 (角膜面0.05 luxに相当) によって惹起された網膜電図には緩徐な暗所視系b (scotopic b, b_s) 波のみが観察された。0 log 刺激光によって惹起された網膜電図のほとんどで律動様小波には、2ないしは3つの峰が観察されたので、その出現順にO₁, O₂, O₃と称した。まずドーパミンのみを硝子体内に注入した場合の網膜電図変化を述べる。50 μ M ドーパミンおよび50 μ M L-アスコルビン酸を同時に硝子体内に注入した実験2の対照群では、8眼すべてでb_s波の振幅は減弱し、律動様小波の振幅は、O₂の振幅が減弱した1眼を除いた残り7眼で、記録されたかぎりにおいてO₁, O₂, O₃の各振幅すべてが増大し、8眼すべてでO₁からO₃の振幅和が増大した。ただし8眼のうち注入前後ともにO₃が認められたのは6眼のみであった。薬剤注入前の振幅の値に対する薬剤注入後の振幅の値の比 (振幅比, 百分率で表示: 複数の場合には平均値±標準偏差で示す。) はb_s波で、42±7でO₁, O₂, O₃の各振幅およびO₁からO₃の振幅和はそれぞれ167±42, 170±67, 205±188, 195±80であった。これらの結果は、ドーパミンの

硝子体内注入によってb_s波の振幅が減弱し、律動様小波の振幅が増大するという当教室の前報⁹⁾に合致した。

Ⅱ. ドーパミンの神経終末への再吸収阻害剤の硝子体内注入が白色ウサギ網膜電図におよぼす変化(実験1)

1. ノミフェンシンの硝子体内注入による網膜電図の変化

試験眼 (30 μ M ノミフェンシン注入の2眼, 100 μ M注入の5眼, 300 μ M注入の2眼, 500 μ M注入の3眼, 1mM注入の3眼の計15眼) においてb_s波の振幅はすべてで減弱し、特に100 μ Mおよび1mMにおいては有意に ($p < 0.05$) 減弱した。律動様小波の振幅は、O₂の振幅比が88であった30 μ M注入の1眼と、O₃の振幅比が86であった500 μ M注入の1眼と、O₁からO₃のすべての成分で減弱した1mM注入の3眼以外では、いずれの濃度でも各成分の振幅は増大し、なかでも100 μ M注入のO₁, O₂, O₃の各振幅ならびに300 μ M注入のO₁からO₃の振幅和は有意に ($p < 0.05$) 増大した (図2, 図3)。b_s波は減弱し、その振幅比は30 μ M注入の2眼, 100 μ M注入の5眼, 300 μ M注入の2眼, 500 μ M注入の3眼, 1mM注入の3眼でそれぞれ75±15, 76±15, 72±5, 71±11, 40±5であった (図4)。律動様小波の振幅比は、O₁, O₂, O₃の各振幅およびO₁からO₃の振幅和でそれぞれ、30 μ M注入の2眼では108±11, 96±12, 138±18および115±8, 100 μ M注入の5眼では157±25, 161±37, 247±102および170±25, 300 μ M注入の2眼では106±2, 137±38, 203±52および132±11, 500 μ M注入の3眼では122±9, 136±25, 164±93および127±17, 1mM注入の3眼では66±18, 37±8, 30±10および50±17であった。

2. ドーパミンとノミフェンシンの硝子体内注入による網膜電図の変化

単独注入では律動様小波を変化させない濃度である1 μ M ドーパミンと、前述したように網膜電図をほとんど変化させない濃度である30 μ M ノミフェンシンとを硝子体内に注入した。結果は、十分量のドーパミンを硝子体内に注入した場合と同様にb_s波の振幅は減弱し、律動様小波の振幅は著しく増大した (図5)。振幅比はb_s波で40, O₁, O₂, O₃の各振幅およびO₁からO₃の振幅和でそれぞれ、136, 144, 180, 148であった。互いに網膜電図に影響をおよぼさない濃度同志を追加注入することで、十分量のドーパミンを注入した場合と同様の結果が得られた。すなわち外因性ドーパミンとノミフェンシンの硝子体内注入が、b_s波および律動様小波の振幅に対して相乗作用を有することが判明した。

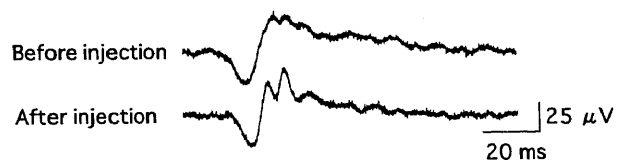


Fig. 2. Effects of an intravitreal injection of nomifensine (100 μ M) on the OPs. The upper trace shows the control waveform before injection. The lower trace, recorded 60 min after an intravitreal injection, shows an increase of the amplitudes of the OPs.

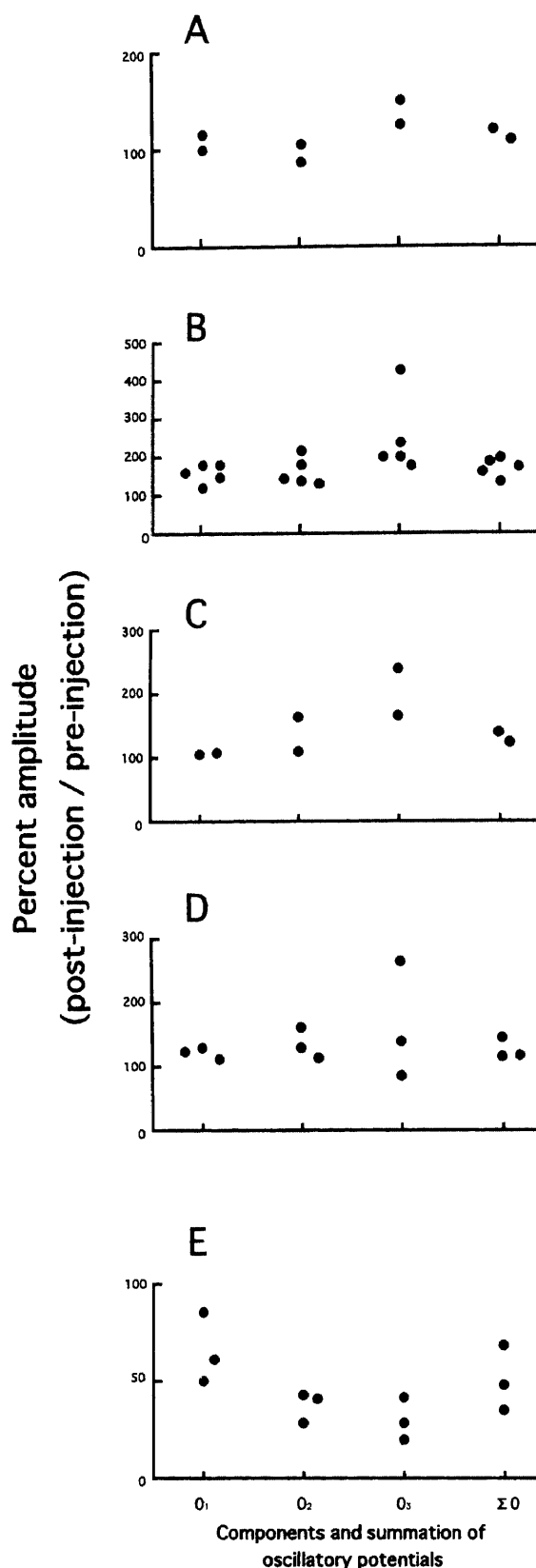


Fig. 3. Relative amplitude of the OPs after an intravitreal injection of nomifensine. The ordinate indicates the percent amplitude after injection over before injection, and the abscissa indicates the components and summation of the OPs. ΣO indicates the summed amplitudes of O_1 , O_2 and O_3 . Nomifensine increases the amplitude of the OPs at 0.1mM (B), 0.3mM (C) and 0.5mM (D), but attenuates the OPs at 1mM (E), and has almost no effect on the OPs at 0.03mM (A).

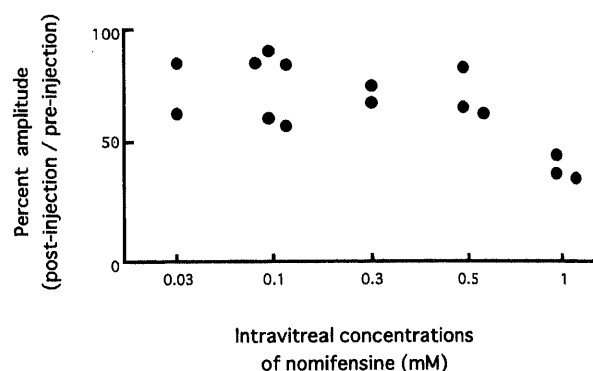


Fig. 4. Relative amplitude of the scotopic b-wave after an intravitreal injection of nomifensine. The ordinate indicates the percent amplitude after injection over before injection, and the abscissa indicates the intravitreal concentrations of nomifensine. The amplitude of the scotopic b-wave is decreased in all concentrations examined.

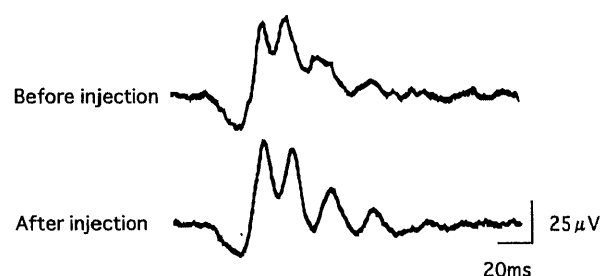


Fig. 5. Effects of an intravitreal injection of nomifensine ($30 \mu M$) after an intravitreal injection of dopamine ($1 \mu M$), each of which is insufficient to alter the amplitude of the OPs when applied alone, on the OPs. The upper trace shows the control waveform, recorded 60 min after an intravitreal injection of dopamine ($1 \mu M$). The lower trace, recorded 60 min after an intravitreal injection of nomifensine ($30 \mu M$), shows an increase of the amplitude of the OPs.

Ⅲ. ドーパミンとその選択的受容体拮抗剤の同時硝子体内注入が白色ウサギ網膜電図におよぼす変化 (実験 2)

1. ドーパミンと SCH 23390 の同時硝子体内注入による網膜電図の変化

試験眼 ($50 \mu M$ ドーパミンと $20 \mu M$ SCH 23390 の同時注入の 3 眼) において b_s 波の振幅は僚眼の 3 眼と同様に薬剤注入前後でいずれも減弱し, O_1 , O_2 , O_3 の振幅は, いずれも 3 眼すべてで増大しなかった (図 6, 図 7, 図 8). 振幅比は b_s 波で 51 ± 37 , O_1 , O_2 , O_3 の各振幅および O_1 から O_3 の振幅和でそれぞれ 97 ± 5 , 76 ± 21 , 60 ± 38 および 82 ± 10 であった. ただし O_3 の振幅比は薬剤注入前後ともに O_3 が認められた 2 眼から得られた.

2. ドーパミンとスルピリドの同時硝子体内注入による網膜電図の変化

試験眼 ($50 \mu M$ ドーパミンと $50 \mu M$ スルピリドの同時注入の 3 眼および $50 \mu M$ ドーパミンと $100 \mu M$ スルピリドの同時注入の 2 眼の計 5 眼) において b_s 波の振幅は僚眼の 5 眼と同様に薬剤注入前後でいずれも減弱し (図 8), $50 \mu M$ 注入のうち O_1 の振幅比が 86 であった 1 眼を除く 2 眼および $50 \mu M$ ドーパミンと $100 \mu M$ スルピリドの同時注入の 2 眼の合計 4 眼では, O_1 ,



Fig. 6. Effects of a simultaneous intravitreal injection of dopamine ($50 \mu\text{M}$) and SCH 23390 ($20 \mu\text{M}$). The upper trace shows the control waveform before injection. Dopamine enhances the amplitude of the OPs, as described in the text. However, the lower trace, recorded 60 min after a simultaneous intravitreal injection, shows no increase of the amplitude of the OPs.

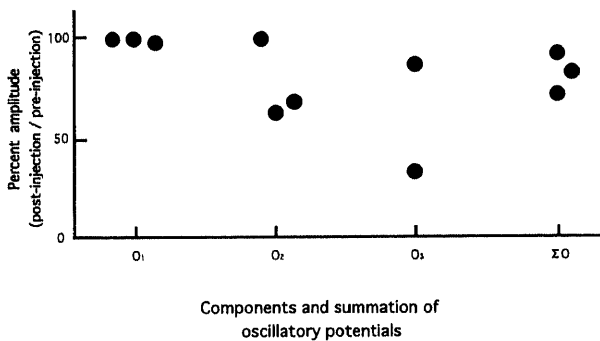


Fig. 7. Relative amplitude of the OPs after a simultaneous intravitreal injection of dopamine ($50 \mu\text{M}$) and SCH 23390 ($20 \mu\text{M}$). The ordinate indicates the percent amplitude after injection over before injection, and the abscissa indicates the components and summation of the OPs. ΣO indicates the summed amplitudes of O_1 , O_2 and O_3 . Dopamine-induced enhancement of the OPs is inhibited by SCH 23390.

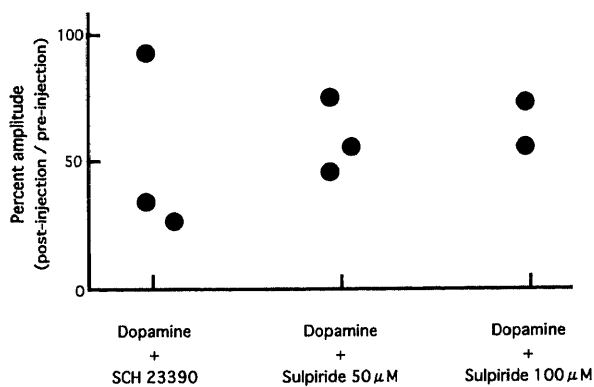


Fig. 8. Relative amplitude of the scotopic b-wave after a simultaneous intravitreal injection of dopamine ($50 \mu\text{M}$) and SCH 23390 ($20 \mu\text{M}$), dopamine ($50 \mu\text{M}$) and sulpiride ($50 \mu\text{M}$), and dopamine ($50 \mu\text{M}$) and sulpiride ($100 \mu\text{M}$). The ordinate indicates the percent amplitude after injection over before injection. The amplitude of the scotopic b-wave is decreased in all eyes examined.

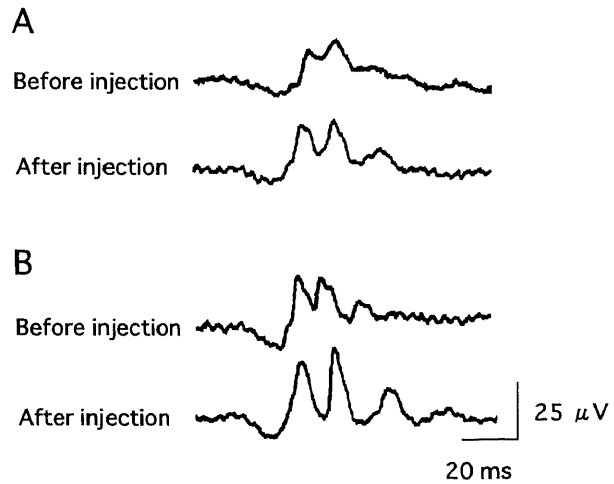


Fig. 9. Effects of a simultaneous intravitreal injection of dopamine ($50 \mu\text{M}$) and sulpiride ($50 \mu\text{M}$) (A), dopamine ($50 \mu\text{M}$) and sulpiride ($100 \mu\text{M}$) (B) on the OPs. The upper waveforms in each pair show the control waveform before injection. The lower waveforms in each pair, recorded 60 min after injection, show an increase of the amplitude of the OPs.

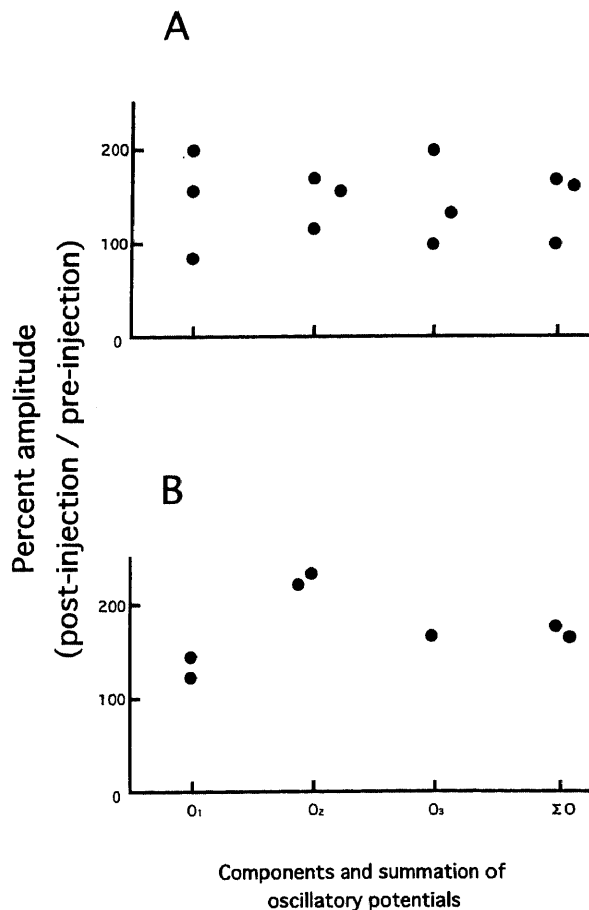


Fig. 10. Relative amplitude of the OPs after a simultaneous intravitreal injection of dopamine ($50 \mu\text{M}$) and sulpiride ($50 \mu\text{M}$) (A), dopamine ($50 \mu\text{M}$) and sulpiride ($100 \mu\text{M}$) (B). The ordinate indicates the percent amplitude after injection over before injection, and the abscissa indicates the components and summation of the OPs. ΣO indicates the summed amplitudes of O_1 , O_2 and O_3 . Enhancement of the OPs by dopamine is not inhibited by sulpiride.

O₂, O₃の振幅はいずれもドーパミンとアスコルビン酸のみを注入した僚眼の5眼と同様に増大し, O₁からO₃の振幅和は5眼すべてで増大した(図9, 図10). 振幅比はb_s波で50 μ M注入の3眼では 54 ± 15 , 100 μ M注入の2眼では 64 ± 31 , O₁, O₂, O₃の各振幅およびO₁からO₃の振幅和でそれぞれ, 50 μ M注入の3眼では 148 ± 58 , 148 ± 28 , 144 ± 51 および 144 ± 38 で, 100 μ M注入の2眼では 134 ± 16 , 227 ± 8 , 167 および 138 ± 54 であった. ただし100 μ M注入の2眼のうち1眼では薬剤注入前にO₃が認められなかったため, O₃の振幅比の標準偏差は算出できなかった.

IV. ドーパミンの選択的受容体作動剤の硝子体内注入が白色ウサギ網膜電図におよぼす変化(実験3)

1. SKF 38393の硝子体内注入による網膜電図の変化

試験眼(50 μ M SKF 38393注入の16眼, 100 μ M注入の8眼および500 μ M注入の4眼の計28眼)においてb_s波の振幅は薬剤注入前後でいずれも有意に($p < 0.05$)減弱した(図11). b_s波の振幅比は50 μ M注入の10眼では 67 ± 20 , 100 μ M注入の7眼では 67 ± 17 , 500 μ M注入の4眼では 59 ± 10 であった. ただし薬剤注入前後で, b_s波の記録ができたものは50 μ M注入では16眼のうち10眼, 100 μ M注入では8眼のうち7眼, 500 μ M注入では4眼すべてであった. 律動様小波の振幅は, 50 μ M注入の16眼すべてと100 μ M注入の8眼のうち, O₁の振幅比が95であった1眼とO₂の振幅比が92であった1眼を除いた6眼で, O₁, O₂, O₃のいずれも増大し, O₁からO₃の振幅和は50 μ M注入眼および100 μ M注入眼のすべてで有意に($p < 0.05$)増大した(図12, 図13). 一方で500 μ M注入の4眼ではO₁からO₃の振幅和は増大したものがあつたが有意差は得られず, O₁の振幅は4眼のうち3眼で(振幅比: 73, 74, 94, 以下同様), O₂の振幅は4眼のうち1眼で(67), O₃の振幅は2眼のうち1眼で(83)減弱していた. ただしO₃の振幅比は薬剤注入前後ともにO₃が認められた2眼から得られた. 律動様小波の振幅比はO₁, O₂, O₃の各振幅およびO₁からO₃の振幅和でそれぞれ, 50 μ M注入の16眼では 180 ± 60 , 246 ± 93 , 174 ± 57 および 226 ± 55 で, 100 μ M注入の8眼では 137 ± 28 , 208 ± 104 ,

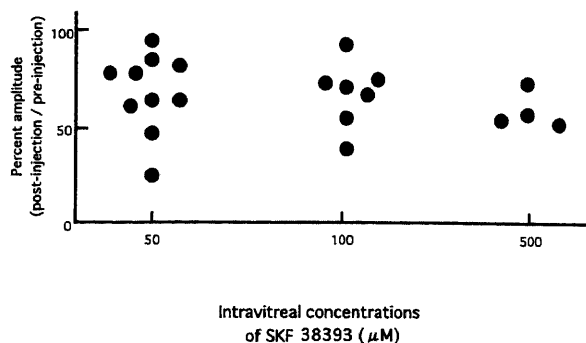


Fig. 11. Relative amplitude of the scotopic b-wave after an intravitreal injection of SKF 38393. The ordinate indicates the percent amplitude after injection over before injection, and the abscissa indicates the intravitreal concentrations of SKF 38393. The amplitude of the scotopic b-wave is decreased in all concentrations examined.

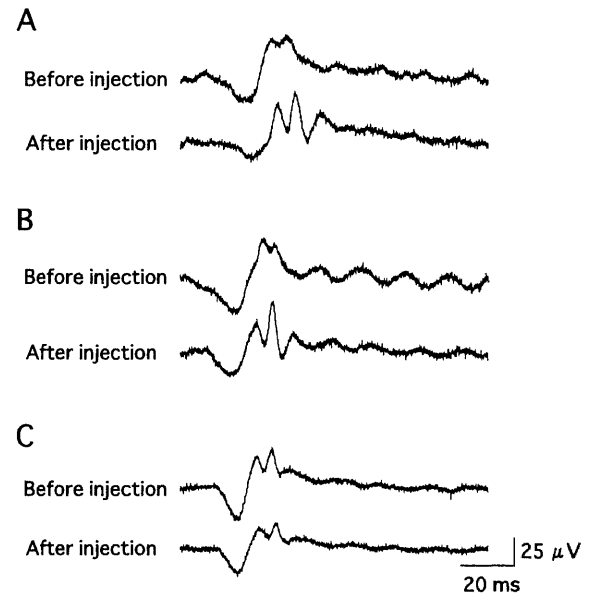


Fig. 12. Effects of an intravitreal injection of SKF 38393 (50 μ M) (A), (100 μ M) (B), and (500 μ M) (C) on the OPs. The upper waveforms in each pair show the control waveform before injection. The lower waveforms in each pair, recorded 60 min after an intravitreal injection of SKF 38393, show an increase of the amplitude of the OPs at 50 and 100 μ M, and almost no effect at 500 μ M.

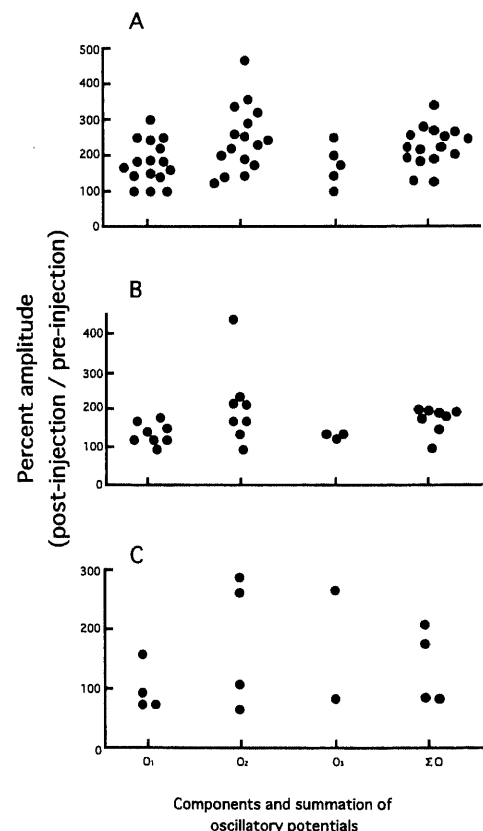


Fig. 13. Relative amplitude of the OPs after an intravitreal injection of SKF 38393 (50 μ M) (A), (100 μ M) (B), and (500 μ M) (C). The ordinate indicates the percent amplitude after injection over before injection, and the abscissa indicates the components and summation of the OPs. ΣO indicates the summed amplitudes of O₁, O₂ and O₃. The OPs are enhanced in most cases by SKF 38393 at 50, 100 μ M.

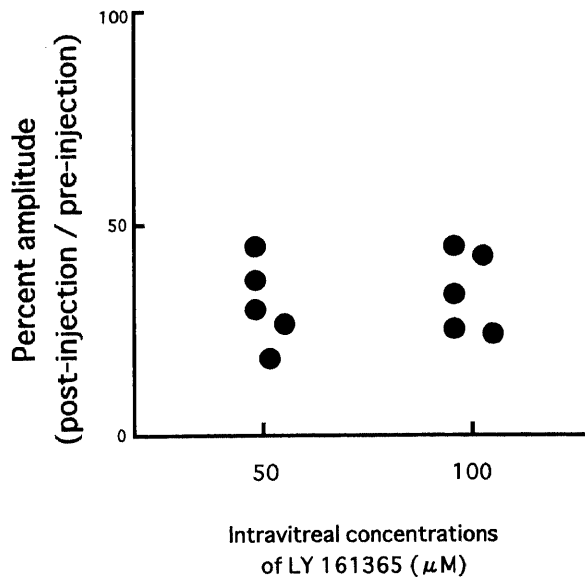


Fig. 14. Relative amplitude of the scotopic b-wave after an intravitreal injection of LY 161365. The ordinate indicates the percent amplitude after injection over before injection, and the abscissa indicates the intravitreal concentrations of LY 161365. The amplitude of the scotopic b-wave is decreased in all concentrations examined.

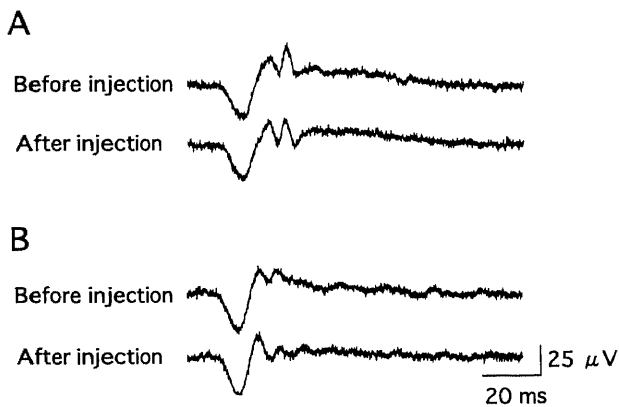


Fig. 15. Effects of an intravitreal injection of LY 161365 (50 μ M) (A), and (100 μ M) (B) on the OPs. The upper waveforms in each pair show the control waveform before injection. The lower waveforms in each pair, recorded 60 min after an intravitreal injection of LY 161365, do not change the OPs significantly at 50 μ M, and enhance the OPs at 100 μ M.

130 $\pm$ 6 および 172 $\pm$ 35, 500 μ M 注入の 4 眼では 100 $\pm$ 40, 181 $\pm$ 110, 175 $\pm$ 130 および 138 $\pm$ 63 であった。

2. LY 161365 の硝子体内注入による網膜電図の変化

試験眼 (50 μ M LY 161365 注入の 5 眼および 100 μ M 注入の 5 眼の計 10 眼) において b_s 波の振幅は薬剤注入前後でいずれも有意に ($p < 0.05$) 減弱した (図 14)。 b_s 波の振幅比は, 50 μ M 注入の 5 眼では 34 $\pm$ 14, 100 μ M 注入の 5 眼では 38 $\pm$ 13 であった。律動様小波の振幅は, 50 μ M 注入の 5 眼のうち O_1 の振幅比が 105 であった 1 眼と O_2 の振幅比が 143 および 122 であった 2 眼を除き, O_1 , O_2 , O_3 のいずれも減弱し, 100 μ M 注入の 5 眼の

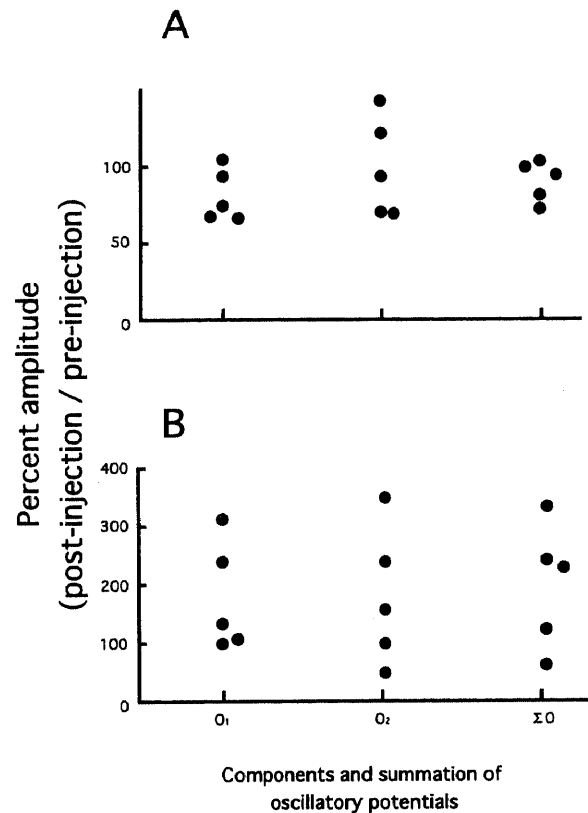


Fig. 16. Relative amplitude of the OPs after an intravitreal injection of LY 161365 (50 μ M) (A), (100 μ M) (B). The ordinate indicates the percent amplitude after injection over before injection, and the abscissa indicates the components and summation of OPs. ΣO indicates the summed amplitudes of O_1 and O_2 . LY 161365 is insufficient to alter the amplitude of the OPs at 50 μ M, but enhances the OPs at 100 μ M.

うち O_2 の振幅比が 50 あった 1 眼を除き, O_1 , O_2 , O_3 のいずれも増大した。 O_1 から O_3 の振幅和は, 50 μ M 注入眼では振幅比が 100 および 104 であった 2 眼をのぞいた 3 眼で減弱し, 100 μ M 注入眼では振幅比が 63 であった 1 眼を除いた 4 眼で増大した (図 15, 図 16)。ただし試験眼の 10 眼のすべてで, 薬剤注入前後のいずれにも O_3 が認められたものがなかったため O_3 の振幅比は算出できなかった。律動様小波の振幅比は, O_1 , O_2 の各振幅および O_1 から O_3 の振幅和でそれぞれ, 50 μ M 注入の 5 眼では 82 $\pm$ 17, 100 $\pm$ 32 および 91 $\pm$ 13, 100 μ M 注入の 5 眼では 180 $\pm$ 94, 179 $\pm$ 119 および 198 $\pm$ 106 であった。

考 察

ドーパミンは脊椎動物網膜内の神経伝達物質として作用しており⁴⁾, 外因性に投与した際に網膜の電気生理学的活動に様々な変化を惹起する。その一例として白尾ら⁹⁾ は外因性ドーパミンの硝子体内注入がウサギ網膜電図の律動様小波の振幅を増大させ, b_s 波の振幅を減弱させると報告し, その機序はドーパミンによる杆体系への抑制が b_s 波の振幅を減弱させ, かつ杆体系から錐体系への抑制が解除される結果, 錐体系が活性化されることで律動様小波の振幅が増大すると推論している。この仮説はドーパミンが暗所視系応答を抑制し, 明所視系応答を増大させる作用を有するとの前提に立脚する。この前提を支持する見

解として、ドーパミンが明順応時にみられるような水平細胞間の電気的結合の解離を惹起すること¹²⁾、ドーパミンが視細胞と網膜色素上皮の間で明順応時にみられるような網膜運動性移動 (retinomotor movement) を誘発すること^{5)~7)}、明所刺激によりドーパミンの合成酵素であるチロシン水酸化酵素の活性が高まること⁴⁾、充分な暗順応後、光刺激による明順応効果に伴い 30Hz フリッカー網膜電図の振幅が経時的に増大する現象 (漸増現象) にドーパミンが強く関与していること¹³⁾ などの報告例がある。

ドーパミンが有するこれら明所視系応答の増大作用のなかで、作用するドーパミン受容体が同定されている現象として、D₂受容体を介する網膜運動性移動^{5)~7)}がある。しかし網膜電図の変化に関してはいずれのサブタイプのドーパミン受容体を介して発現するのかわかりまだ明らかではない。また著者の知る限り、外因性にドーパミンを投与した報告例は多いが、内因性ドーパミンによる網膜の電気生理学的変化に関する報告例はない。

本報では内因性ドーパミンが網膜電図にいかなる変化をおよぼし、またドーパミンがこれら網膜電図におよぼす影響は、複数種存在するドーパミン受容体のいずれが関与しているのかを検討した。

ドーパミン受容体はD₁受容体系統とD₂受容体系統の2種類に大別され、さらにD₁受容体系統にはD₁受容体とD₅受容体が、D₂受容体系統にはD₂受容体、D₃受容体とD₄受容体が属している¹⁴⁾¹⁵⁾。二つの受容体系統の作用は全く相反しており、D₁受容体系統はアデニレートシクラーゼを活性化させサイクリックAMPの産生に関与し、マウス等の成長に必要なビタミン複合体の1つであるイノシトールリン脂質の代謝を活性化させる。一方で、D₂受容体系統は逆にこれらの作用を抑制している¹⁶⁾¹⁷⁾。

本報では、大別されており尚且つウサギ網膜に存在することが確認されている^{16)~18)} D₁受容体とD₂受容体の2種類について検討した。

実験1-1の結果、ノミフェンシンの硝子体内注入によって網膜電図における律動様小波の振幅は増大し、b_s波の振幅は減弱した。ドーパミンの再吸収阻害剤であるノミフェンシンが、外因性ドーパミンと類似の効果を網膜電図におよぼすことが明らかとなった。著者はその機序として、以下の3つの可能性を推察する。第1にノミフェンシン自体がドーパミンの受容体に直接作用する可能性、第2にノミフェンシンがドーパミン作動性神経細胞を抑制する神経細胞に抑制的に作用した可能性、第3にノミフェンシンがドーパミン作動性神経細胞のシナプスにおいてドーパミンの再吸収を阻害することでシナプスに作用するドーパミンの濃度が高まった可能性である。

第1および第2の可能性を示唆する報告は著者の知る限りこれまでになく、微量のノミフェンシンと微量のドーパミンの相乗効果が認められた実験1-2の結果からもこの可能性は否定的である。したがって、ノミフェンシンによる網膜電図変化の解釈には第3の可能性が最も妥当と考える。また本実験結果は、内因性ドーパミンは網膜の電気的活動に対して外因性ドーパミンと同様な変化を生じさせうることを証明しており、外因性に投与せずともドーパミンのもつ明順応類似効果を生ずるに十分なものでありうることを裏付けている。

実験2において、網膜電図における律動様小波の振幅は、ドーパミンと選択的D₁受容体拮抗剤の同時硝子体内注入では変

化しなかったのに対し、ドーパミンと選択的D₂受容体拮抗剤の同時硝子体内注入では増大した。また実験3において、網膜電図における律動様小波の振幅は、選択的D₂受容体作動剤 (50 μ M) の硝子体内注入では変化しなかったのに対し、選択的D₁受容体作動剤の硝子体内注入では増大した。ただし、選択的D₂受容体作動剤の硝子体内注入濃度を高めると (100 μ M) 律動様小波の振幅は増大した。

実験2および実験3の結果から、ドーパミンによる律動様小波の振幅の増大はD₁受容体を介して発現すると推察される。倍量の濃度の選択的D₂受容体作動剤の硝子体内注入で律動様小波の振幅が増大したのは、薬剤が純粋にD₂受容体のみに作用しただけではなく一部はD₁受容体にも作用した結果の現象と考える。

一方b_s波の振幅は、D₁あるいはD₂受容体をそれぞれに遮断しドーパミンを同時に硝子体内注入した実験2においても、D₁あるいはD₂受容体をそれぞれ単独に刺激した実験3においても共に減弱した。これらの結果を解釈するに、50 μ M ドーパミンと20 μ M ハロペリドール (強力なD₁およびD₂受容体拮抗剤) の同時硝子体内注入により、b_s波の振幅がほとんど減弱しなかった既報⁹⁾ とあわせて勘案すれば、D₁およびD₂の両受容体が共にb_s波の発現に関与していると推察される。

以上、本研究の結果は既報所見⁹⁾¹³⁾ に一致し、さらに本研究においてこれらの変化が網膜の内因性のドーパミンの作用に起因することが明らかになり、また律動様小波の発現に関与するドーパミン受容体はD₁受容体であることが判明した。

Korol ら¹⁹⁾ は、グリシンをウサギ硝子体内注入した際アマクリン細胞に形態学的変調を来とし、網膜電図から律動様小波が消失したと報告し、目下のところ律動様小波の細胞起源にはアマクリン細胞が深く関与すると推論した。Dowling²⁰⁾ や Kaneko ら²¹⁾ も、微小電極による網膜内細胞外記録に基づいて、律動様小波の起源におけるアマクリン細胞の深い関与を主張した。しかし、いずれのサブタイプのアマクリン細胞が律動様小波の発現に関与しているかは未だ確立されていない。

一方、律動様小波の発現にドーパミンが関与していることは確実であり、その根拠として律動様小波はドーパミンで増大すること、律動様小波はドーパミン阻害剤であるレゼルピン投与によって減弱するが、ドーパミンの前駆体であるL-ドーパの追加投与によって復帰すること²²⁾²³⁾、律動様小波はドーパミン拮抗剤であるハロペリドールの投与で減弱すること⁷⁾ MPTP (1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine) の投与により網膜におけるドーパミンの含有量が減少し、チロシン水酸化酵素陽性アマクリン細胞の数が減少すること²⁴⁾ や、マウスにMPTPを腹腔内投与し網膜電図を記録したところ律動様小波の振幅が著しく減弱する²⁵⁾ ことなどが挙げられる。そこで律動様小波の細胞起源について論ずるには、ドーパミン作動性アマクリン細胞の詳細に関して検討する必要がある。

脊椎動物の網膜に共通して存在する神経細胞は、視細胞、水平細胞、双極細胞、アマクリン細胞、神経節細胞の5種類であるが、内網状層のアマクリン細胞から情報を受け取り、外網状層の水平細胞や双極細胞へその情報を伝える第6番目の神経細胞である網状層間細胞の存在も最近指摘されている²⁶⁾。

錐体は第二次ニューロンである双極細胞とシナプス結合を形成し、錐体双極細胞にはON型とOFF型の2種類が存在する²⁶⁾。ON型双極細胞は光刺激によって脱分極し、OFF型双極細胞は

光刺激によって過分極する²⁶⁾。暗時には視細胞は脱分極し神経伝達物質であるグルタミン酸を放出し、ON型双極細胞では代謝制御型受容体を介してグルタミン酸がリン酸ジエステラーゼを活性化させcGMPが加水分解されcGMP依存性チャンネルを開鎖し過分極を引き起こす²⁶⁾。光刺激によってグルタミン酸が減少するとON型双極細胞ではチャンネルが開いて陽イオンが流入し脱分極する。OFF型双極細胞ではAMPA (amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid)/KA (kainic acid) 型受容体を介してグルタミン酸によりチャンネルが開き暗時に脱分極し、光刺激でグルタミン酸が減少するとチャンネルが閉じて過分極する²⁶⁾。黄斑部では1つの錐体にON型、OFF型の双極細胞が1つずつ接合し、それぞれ1つのON型、OFF型の神経節細胞とシナプス結合を形成し、それ以後中枢に並列のまま両者の情報は混じることなく独立して伝えられ解像力を高めている。

一方杆体とシナプス結合する杆体双極細胞はすべてON型である。1つの杆体双極細胞に複数の杆体が接続しているので、杆体系では暗所においても感度が高いが解像力は低くなる。杆体双極細胞は神経節細胞に直接接続するのではなく、AIIアマクリン細胞を介して錐体双極細胞のON型、OFF型の経路に接合しており^{27)~29)}、錐体が作動しない暗所でも杆体からON、OFF信号が伝達されることになる。

杆体双極細胞からのシナプスを受けたAIIアマクリン細胞はOFF型神経節細胞とシナプス結合し、杆体系からの信号を伝達する²⁷⁾。一方で杆体双極細胞からON型神経節細胞への信号伝達はさらに複雑で、すなわちAIIアマクリン細胞を介しON型錐体双極細胞へはシナプス結合ではなくギャップ結合で接続し、最終的にON型錐体双極細胞とON型神経節細胞がシナプス結合し信号が伝達されている²⁷⁾。すなわち杆体系からの信号はAIIアマクリン細胞を介し間接的にON型錐体双極細胞へ伝達され、錐体系からのON型神経節細胞への信号伝達を抑制している。このようにAIIアマクリン細胞を介して杆体系からの信号は神経節細胞へ伝達され、AIIアマクリン細胞は別名杆体系アマクリン細胞とも称されている。

脊椎動物網膜におけるドーパミン作動性神経細胞には、アマクリン細胞の亜群であるA18アマクリン細胞と網状層間細胞の2種類が存在する⁴⁾⁸⁾。A18アマクリン細胞は内顆粒層に細胞体を有し、内網状層にシナプスの出力を送っており、網状層間細胞は内網状層のアマクリン細胞と外網状層の水平細胞と双極細胞にシナプス出力を送っている。

A18アマクリン細胞はAIIアマクリン細胞に対して抑制性のシナプス結合を有し³⁰⁾、A18アマクリン細胞からドーパミンが放出されるとAIIアマクリン細胞の活動が減弱される。従って杆体双極細胞からの信号伝達が抑制され、その結果錐体双極細胞への抑制が緩和されるので錐体系優位の状態、すなわち明所視類似の状態が惹起されると推論される。この現象こそが、本研究において指摘したドーパミンのもつ明所視類似効果であり、ドーパミンによる律動様小波の増大に反映される。

律動様小波は温血動物において内網状層のレベルで記録されている²⁹⁾から、その発生母体の候補として、双極細胞、アマクリン細胞、神経節細胞、ミューラー細胞の4種類が考えられる。ミューラー細胞は、b波の発生母体と考えられている³¹⁾が、動物実験においても病眼においてもb波と律動様小波はしばしば異なる波長を示し、b波と律動様小波の発生母体は異なる

という多くの報告²⁹⁾³²⁾³³⁾があり、律動様小波のミューラー細胞起源説を支持する根拠はない。前記した杆体双極細胞からAIIアマクリン細胞を介しON型錐体双極細胞へ、そして最終的にON型神経節細胞へと信号が伝達される神経回路に関して再考したい。この回路にはドーパミン作動性アマクリン細胞であるA18アマクリン細胞も関与している。

かつて米村³⁴⁾は、摘出したウサギ網膜にグリシン (1mM) を作用させると律動様小波が消失することを証明し、組織化学的にはAIIアマクリン細胞はグリシンを取り込むことが知られている³⁵⁾。ここで1つの仮説を提案する。光刺激によってA18アマクリン細胞が脱分極し、伝達物質としてのドーパミンが放出される。ドーパミンはシナプス結合した先であるAIIアマクリン細胞に抑制的に作用しグリシンの放出を抑える。AIIアマクリン細胞は内網状層のb亜層でOFF型神経節細胞にシナプス出力を送っている²⁹⁾が、グリシンはこのシナプス結合における神経伝達物質として作用している³⁶⁾。そのためAIIアマクリン細胞の抑制はOFF型神経節細胞への信号伝達の抑制を惹起する。またAIIアマクリン細胞による錐体双極細胞への抑制が緩和され、ON型神経節細胞への抑制も解除される。結果杆体系からの信号伝達が弱められ、明所類似の状態になる。ドーパミン作動性アマクリン細胞からの出力を受け、律動様小波と関連深いグリシン作動性であるAIIアマクリン細胞こそが律動様小波の発生母体と考えられないだろうか。

かつてChangら³⁷⁾はナマズの持続反応型アマクリン細胞のあるものにおいて刺激光のONとOFFに応じて一連の振動性電位を認め、Toyodaら³⁸⁾、Murakamiら³⁹⁾はコイのアマクリン細胞に、Werblin⁴⁰⁾はサンショウウオのアマクリン細胞に振動性電位を観察している。この振動性電位の周期を温血動物の体温パターンで補正すると、温血動物の律動様小波の周期と同程度になることを米村³⁴⁾は証明している。これら一連の報告も律動様小波のAIIアマクリン細胞由来の仮説を支持すると考えられる。

また本報の結果から、ドーパミンによる律動様小波の増大にはドーパミンのD₂受容体よりもむしろD₁受容体が関与すると推察されることから、A18アマクリン細胞からAIIアマクリン細胞へのシナプス結合はD₁受容体系統 (D₁もしくはD₅受容体) を介していると強く推察される。主にD₁受容体が内網状層や内顆粒層に存在し、D₂受容体が視細胞の内節、外節と外顆粒層に存在する⁴¹⁾という網膜内での両受容体の分布状況から考えても、内網状層レベルでのA18アマクリン細胞とAIIアマクリン細胞のシナプス結合にはD₁受容体系統がより強く関与していると考えられる。

さて、網膜のドーパミン研究の成果は実際の眼科臨床の現場でどのように生かされているであろうか。心血管系および精神神経系の領域でのドーパミン関連物質の臨床応用には眼を見張るものがあり、D₁作動薬は急性循環不全改善剤や降圧剤として、D₁遮断薬は抗精神病薬としての応用が多く、D₂作動薬はパーキンソン症候群の改善に、D₂遮断薬は分裂病の治療に使われている⁴²⁾。眼科領域ではドーパミン関連物質に関する多種にわたる基礎実験結果はあるものの、残念ながらそのほとんどが実際に臨床の場で応用されていないのが現実である。しかし糖尿病網膜症、律動様小波およびドーパミンの3者に関する報告は多く⁹⁾¹⁰⁾¹²⁾¹³⁾³¹⁾、前網膜症期に網膜電図の律動様小波の選択的異常が発生することが判明している^{43)~45)}。

律動様小波がドーパミンと深い関係にありアマクリン細胞を起源とする と推察されることから、糖尿病初期にはアマクリン細胞における網膜内のドーパミン合成能低下や代謝障害が惹起されていると考えられる。実際ドーパミンの網膜内の含有量が糖尿病ラットでは減少し⁴⁰⁾、糖尿病ラットでは脳内のドーパミン活性が低下し⁴⁷⁾、糖尿病ラットの中樞神経におけるドーパミン系代謝異常が指摘され⁴⁸⁾、ストレプトゾトシン負荷により誘発された糖尿病ラットにおける、網膜内のドーパミンおよびその代謝産物の含量の減少が報告されている⁴⁹⁾。これらの所見および律動様小波をドーパミンは増大させ、その拮抗剤は減弱させるという結果を勘案すれば、前網膜症期の糖尿病における律動様小波の減弱の一因を網膜内のドーパミン系の異常に求める仮説が浮上する。

ならば糖尿病網膜症の初期における視機能改善にドーパミンが応用できないだろうか。本報所見から律動様小波の発現にD₁受容体が関与すると推察されるから、D₁受容体作動剤の投与が明所視類似効果を発揮し自覚症状の改善に貢献できるのではないだろうか。その他の網膜変性疾患や網膜虚血性疾患の暗黒感の訴えに対しても同様な効果は期待できないだろうか。また本報の結果を裏づける直接的な実験結果、例えば特殊蛍光抗体検査法によるアマクリン細胞の持つドーパミン受容体の証明、とくにD₁受容体系統の存在の証明等が報告され、律動様小波とアマクリン細胞そしてドーパミンのより密接な関係が証明されることが期待される。その結果、今後ドーパミンの眼科臨床応用の可能性にさらなる光明がさすことを期待したい。

結 論

白色ウサギにおいて、ドーパミンの神経終末への再吸収阻害剤であるノミフェンシンの硝子体内注入が網膜電図におよぼす影響を検討した。また、単独での硝子体内注入ではほとんど網膜電図に影響をおよぼさない濃度のドーパミンとノミフェンシンを硝子体内注入した場合の網膜電図におよぼす影響も検討した。さらには、SCH 23390 (ドーパミンの選択的D₁受容体拮抗剤) またはスルピリド (ドーパミンの選択的D₂受容体拮抗剤) とドーパミンの同時硝子体内注入が、またSKF 38393 (ドーパミンの選択的D₁受容体作動剤) またはLY 161365 (ドーパミンの選択的D₂受容体作動剤) の単独硝子体内注入が網膜電図におよぼす影響も検討し、以下の結論を得た。

1. 100 μ M ノミフェンシンの硝子体内注入によって律動様小波の振幅が有意に増大し、暗所視系b波 (b_s波) の振幅は有意に減弱した。内因性ドーパミンの濃度を高めることによって、ドーパミンの硝子体内注入と同様の効果が網膜電図に認められた。

2. 単独ではほとんど網膜電図に影響をおよぼさない30 μ M ノミフェンシンと1 μ M ドーパミンの硝子体内注入によって律動様小波の振幅が増大し、b_s波の振幅は減弱した。外因性ドーパミンとノミフェンシンが網膜電図に対して相乗的效果を有することが判明した。

3. 20 μ M SCH 23390と50 μ M ドーパミンの同時硝子体内注入によって律動様小波の振幅は変化せず、b_s波の振幅は減弱した。一方で、50 μ M スルピリドと50 μ M ドーパミンの同時硝子体内注入により律動様小波の振幅は増大し、b_s波の振幅は減弱した。外因性ドーパミンの硝子体内注入による律動様小波の振幅の増大はD₁受容体を介する可能性が高いと推測された。

4. 50 μ M SKF 38393の単独硝子体内注入によって、律動様小波の振幅が有意に増大し、b_s波の振幅は有意に減弱した。また、50 μ M LY 161365の単独硝子体内注入によって、律動様小波の振幅が減弱し、b_s波の振幅は有意に減弱した。ドーパミンによる律動様小波の振幅の増大はD₁受容体を介する可能性が高いと推測された。

5. 本研究において、網膜内の神経伝達物質の1つであるドーパミンが律動様小波の振幅を増大させ、b_s波の振幅を減弱させることが内因性・外因性のいずれにおいても判明した。

6. ドーパミンによる網膜電図変化のうち律動様小波の振幅の増大は、D₂受容体よりもD₁受容体を介して惹起され、b_s波の振幅の減弱にはD₁受容体とD₂受容体が共に関与していると推論された。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導と御高閲を賜りました金沢大学大学院医学系研究科脳医科学専攻光情報伝達学河崎一夫教授に深甚の謝意を捧げます。また本研究の遂行にあたり、御指導と御協力を賜りました白尾裕助教授、田村敏博博士、加藤 要博士、東出朋己博士、小林 顕博士に深謝致します。

文 献

- 1) 宇治幸隆. 網膜のドーパミン研究. 日眼会誌 100: 99-100, 1996
- 2) 伊藤 宏. 薬理学. アドレナリン作動性薬物 (三須良実, 伊藤 宏編), 第6版, 217-232頁, 栄光堂, 東京, 1990
- 3) Bunzow JR, Van Tol HHM, Grandy DK, Albert P, Salon J. Cloning and expression of rat D₂ dopamine receptor cDNA. Nature 336: 783-787, 1988
- 4) Ehinger B. Functional role of dopamine in the retina. Prog Retin Eye Res 2: 213-232, 1983
- 5) Dearry A, Burnside B. Dopaminergic regulation of cone retinomotor movement in isolated teleost retinas: I. Induction of cone contraction is mediated by D₂ receptors. J Neurochem 46: 1006-1021, 1986
- 6) Dearry A, Burnside B. Dopaminergic regulation of cone retinomotor movement in isolated teleost retinas: II. Modulation by γ -aminobutylic acid and serotonin. J Neurochem 46: 1022-1031, 1986
- 7) Dearry A, Burnside B. Regulation of teleost retinomotor movements by cyclic AMP, calcium and dopamine. In PJ O'Brien, DC Klein (eds), Pineal and Retinal Relationship, 1st ed, p57-91, Academic Press, New York, 1986
- 8) Negishi K, Teranishi T, Kato S. The dopamine system of the teleost fish retina. Prog Retin Eye Res 9: 1-48, 1990
- 9) 白尾 裕, 加藤 要, 田村敏博, 佐々木次壽, 河原崎正裕, 東出朋己, 小林 顕. ドーパミンおよびハロペリドール硝子体内注入のウサギin vivo ERGに及ぼす影響. 眼紀 45: 23-28, 1994
- 10) 米村大蔵, 河崎一夫. 臨床網膜電図学. 第1版, 医学書院, 東京, 104-123頁, 1985
- 11) 米村大蔵, 河崎一夫, 望月清文, 鳥崎真人. 網膜に及ぼす硫酸ゲンタマイシンの影響. 家兎 in vivo ERGによる検討. 日眼会誌 89: 1039-1045, 1985
- 12) Teranishi T, Negishi K, Kato S. Dopamine modulates S-potential amplitude and dye-coupling between external horizontal cells in carp retina. Nature 301: 243-246, 1983

- 13) 加藤 要, 白尾 裕, 佐々木次壽, 河原崎正裕, 田村敏博, 河崎一夫. ドーパミンの30HzフリッカーERGの漸増現象に及ぼす影響. 眼紀 42: 2232-2237, 1991
- 14) Kebabian JW, Greengard P. Dopamine-sensitive adenylate cyclase: Possible role in synaptic transmission. *Science* 174: 1346-1349, 1971
- 15) Onali P, Olanas MC, Gessa GL. Characterization of dopamine receptors mediating inhibition of adenylate cyclase activity in rat striatum. *Mol Pharmacol* 28: 138-145, 1985
- 16) Veruki ML. Dopaminergic neurons in the rat retina express dopamine D_{2/3} receptors. *Eur J Neurosci* 9: 1096-1100, 1997
- 17) Veruki ML, Wässle H. Immunohistochemical localization of dopamine D₁ receptors in rat retina. *Eur J Neurosci* 8: 2286-2297, 1996
- 18) Kebabian JW, Calne DB. Multiple receptors for dopamine. *Nature* 277: 93-96, 1979
- 19) Korol S, Leuenberger PM, Englert U, Babel J. In vivo effects of glycine on retinal ultrastructure and averaged electroretinogram. *Brain Res* 97: 235-251, 1975
- 20) Dowling JE. The electroretinogram and glial responses. *In The Retina*, 1st ed, p164-186, Harvard University Press, Cambridge, 1987
- 21) Kaneko A, Hashimoto H. Electrophysiological study of single neurons in the inner nuclear layer of the carp retina. *Vision Res* 9: 37-55, 1968
- 22) Orlando-Gutierrez C, Spiguel RD. Oscillatory potentials of the cat retina: Effects of adrenergic drugs. *Life Sci* 13: 991-999, 1973
- 23) Hempel FG. Modification of the rabbit electroretinogram by reserpine. *Ophthalmic Res* 4: 65-75, 1972/73
- 24) Tatton WG, Kwan MM, Verrier MC, Seniuki NA, Elizabeth Theriault. MPTP produces reversible disappearance of tyrosine hydroxylase-containing retinal amacrine cells. *Brain Res* 527: 21-31, 1990
- 25) 高網陽子. ドーパミン神経毒MPTPのマウス網膜に及ぼす影響. 日眼会誌 96: 767-775, 1992
- 26) 齋藤建彦. 網膜における二次ニューロンの情報処理の概説. 視覚の分子メカニズム (津田基之, 前田章夫編), 631-641頁, 共立出版社, 東京, 1989
- 27) Stephen LM, Stephen CM. Differential properties of two gap junctional pathways made by AII amacrine cells. *Nature* 377: 734-737, 1995
- 28) Kolb H. Amacrine cells of the mammalian retina: Neurocircuitry and functional roles. *Eye* 11: 904-923, 1997
- 29) Wachtmeister L. Oscillatory potentials in the retina: What do they reveal. *Prog Retin Eye Res* 17: 485-521, 1998
- 30) Witkovsky P, Dearry A. Functional roles of dopamine in the vertebrate retina. *Prog Retin Eye Res* 11: 247-292, 1992
- 31) 白尾 裕. ERG構成成分の細胞起源と解釈. 眼科 34: 625-635, 1992
- 32) Heynen H, van Norren D. Origin of the electroretinogram in the intact macaque eye II. *Vision Res* 25: 709-715, 1985
- 33) Karwoski C, Kawasaki K. Oscillatory potentials. In Jhon RH, Geoffrey BA(eds), *Principles and Practice of Clinical Electrophysiology of Vision*, 1st ed, p125-128, Mosby Year Book Inc, St Louis, 1991
- 34) 米村大蔵. 人眼網膜電図の研究. 日眼会誌 81: 1632-1665, 1977
- 35) Morgan IG. What do amacrine cells do. *Prog Retin Eye Res* 11: 193-214, 1992
- 36) Stephen LM, Stephen CM. Labeling and distribution of AII amacrine cells in the rabbit retina. *J Comp Neurol* 304: 491-501, 1991
- 37) Chang RY, Naka K. The amacrine cell. *Vision Res* 16: 1119-1129, 1976
- 38) Toyoda J, Hashimoto H, Ohtsu K. Bipolar-amacrine transmission in the carp retina. *Vision Res* 13: 295-308, 1973
- 39) Murakami M, Shimoda Y. Identification of amacrine and ganglion cells in the carp retina. *J Physiol* 264: 801-818, 1977
- 40) Werblin FS. Regenerative amacrine cell depolarization and formation of on-off ganglion cell response. *J Physiol* 264: 767-785, 1977
- 41) Tran VT, Dickman M. Differential localization of dopamine D₁ and D₂ receptors in rat retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 33: 1620-1626, 1992
- 42) 渡辺昌祐, 江原 嵩. 抗精神病薬の選び方と用い方. 21-43頁, 新興医学出版社, 東京, 1994.
- 43) 米村大蔵, 河崎一夫. 糖尿病患者の網膜電図. 糖尿病性網膜症 (後藤由夫, 福田雅俊編), 第1版, 238-252頁, 科学評論社, 東京, 1979
- 44) Yoshida A, Kojima M, Ogasawara H, Ishiko S. Oscillatory potentials and permeability of the blood-retinal barrier in noninsulin-dependent diabetic patients without retinopathy. *Ophthalmology* 98: 1266-1271, 1991
- 45) Shirao Y, Kawasaki K. Electrical responses from diabetic retina. *Prog Retin Eye Res* 1: 59-76, 1998
- 46) Nishimura C, Kuriyama K. Alterations in the retinal dopaminergic neuronal system in rats with streptozotocin-induced diabetes. *J Neurochem* 45: 448-455, 1985
- 47) Trulsson ME, Himmel CD. Decreased brain dopamine synthesis rate and increased [³H] spiroperidol binding in streptozotocin-diabetic rats. *J Neurochem* 40: 1456-1459, 1983
- 48) Figlewicz DP, Brot MD, McCall AL, Szot P. Diabetes causes differential changes in CNS noradrenergic and dopaminergic neurons in the rat: a molecular study. *Brain Res* 736: 54-60, 1996
- 49) 河崎一夫. 視覚における情報処理機構, 律動様小波が関与する網膜内情報処理とその異常—糖尿病網膜症を中心に—. 日眼会誌 102: 813-836, 1998

Dopamine-induced Enhancement of Electroretinographic Oscillatory Potentials and Involvement of the D₁-receptor. Shigeki Tagawa, Department of Ophthalmology, Graduate School of Medical Science, Kanazawa University, Kanazawa 920-8640 — J. Jusen Med Soc., **110**, 315 — 326 (2001)

Key words dopamine, oscillatory potentials, amacrine cell, rabbit.

Abstract

The effects of dopamine and related chemicals on electroretinogram (ERG) were examined in anesthetized albino rabbit eyes in-vivo. Firstly, the effects of an intravitreal injection of nomifensine (a dopamine-uptake blocker) on the ERG were investigated. Nomifensine increased the amplitude of the oscillatory potentials (OPs) at 100 μ M (intravitreal concentration), but then attenuated the OPs at 1 mM. One μ M dopamine and 30 μ M nomifensine together, each of which is insufficient to alter the OPs when applied alone, enhanced the OPs. These results suggest that intrinsic dopamine release in the retina is sufficient to alter the ERG. The inhibitory actions of SCH 23390 (a D₁-blocker) and sulpiride (a D₂-blocker) on the dopamine-induced enhancement of the OPs were examined. Dopamine-induced enhancement of the OPs was suppressed by a simultaneous intravitreal injection of SCH 23390 (20 μ M), but not by sulpiride (50 μ M and 100 μ M). The effects of an intravitreal injection of SKF 38393 (D₁-agonist) and LY 161365 (D₂-agonist) on the ERGs were examined to elucidate which receptor, D₁ or D₂, was involved in the enhancement of the OPs. SKF 38393 enhanced the amplitude of the OPs at 50, 100 and 500 μ M, but LY 161365 (50 μ M) attenuated the amplitude of the OPs. Thus the D₁-receptor can be seen to be mainly responsible for the dopamine-induced enhancement of the OPs.