# 網膜内ドーパミン作働性神経細胞機能に関する研究

金沢大学十全医学会雑誌　第104巻　第4号　428－453（1995）

# 網膜内ドーパミン作働性神経細胞機能に関する研究

金沢大学医学部眼科学講座（主任：河崎一夫教授）
加　藤　　要

脊椎動物網膜内におけるドーパミン作働性神経細胞の機能を検討する目的で，ドーパミンのカエルおよびウサギの網膜電図におよぼす影響を調べた．まずカエル摘出眼杯をドーパミン灌流液（1, 10, 100μM および 1mM）で灌流し，経時的に網膜電図を記録した．1, 10, 100μM および 1mM ドーパミン灌流により暗順応下のｂ波後半部および赤色背景光下の２峰に分かれたｂ波の後峰（おそらく暗所視系ｂ波，$b_s$ 波）が減弱した．律動様小波，ｄ波およびオフ小波は 10～100μM ドーパミンで増大したが，1mM ドーパミンでは灌流早期に一過性に増大した後に次第に減弱した．10μM ドーパミンによるｂ波の減弱と律動様小波の増大は弱刺激光で明らかであった．ドーパミンは網膜電図の暗所視系成分である $b_s$ 波を減弱させ，明所視系成分と考えられる律動様小波，ｄ波およびオフ小波を増大させる作用を有することが判明した．次にドーパミンおよびその $D_1$ 受容体および $D_2$ 受容体の拮抗剤であるハロペリドールの硝子体内注入がウサギ網膜電図におよぼす影響を調べた．薬液の硝子体内注入前および注入90分後に暗順応下に網膜電図を記録した．ドーパミン（50μM：硝子体内推定濃度）は弱刺激光による $b_s$ 波を減弱させ，その頂点潜時を短縮させたが，反復強刺激光による律動様小波を増大させた．ハロペリドール（20μM）は強刺激光照射によるｂ波を減弱させ，律動様小波も減弱させた．あらかじめハロペリドール（20μM）注入によって減弱させられていた律動様小波はハロペリドール注入90分後にドーパミン（50μM）を追加注入することによって回復した．以上の結果よりドーパミンは両生類および哺乳類の網膜において暗所視系機能を抑制し，ひいては杆体系から錐体系への抑制作用（杆体－錐体抑制作用）を解除することによって明所視系機能を促進する可能性が指摘された．この可能性を検討する目的で，暗順応の後に明順応することにより網膜電図の明所視系成分である 30Hz フリッカー網膜電図が漸増する現象（漸増現象）におよぼすドーパミンの影響をウサギで検討した．薬液の硝子体内注入前および注入後に45分間の暗順応をおいた後で 30Hz フリッカー網膜電図を暗順応下に各15分間記録した．角膜面 50 lux の刺激光による 30Hz フリッカー網膜電図振幅は刺激開始10秒後で対照他眼に比べドーパミン（50μM）注入眼ではすでに増大しており，漸増現象の程度（刺激開始10秒後の網膜電図振幅に対する刺激開始15分後の網膜電図振幅の比）は減弱した．なお角膜面 5 lux および 300 lux の刺激光では，薬液注入前において明らかな漸増現象がみられなかった．漸増現象は暗順応下で暗所視系から明所視系に対し作用していた抑制を明順応あるいはそれに準ずる頻回反復光刺激が解除することにより生ずると考えられるので，ドーパミンが暗所視系から明所視系への抑制の解除に関与すると推論された．スルピリド（選択的 $D_2$ 受容体拮抗剤）（50μM）はドーパミンと同様に光刺激開始直後の 30Hz フリッカー網膜電図の振幅を増大させ漸増現象の程度を抑制した．ハロペリドール（20 および 50μM）は漸増現象の程度を軽度に抑制した．SCH-23390（選択的 $D_1$ 受容体拮抗剤）（20μM）およびフルフェナジン（$D_1$ 受容体拮抗剤）（50μM）は光刺激開始直後の 30Hz フリッカー網膜電図の振幅を減少させ漸増現象の程度を増強した．哺乳類の 30Hz フリッカー網膜電図における漸増現象の発現にはドーパミン作働性神経細胞が関与し，さらに $D_2$ 受容体よりも $D_1$ 受容体を介する機構が主に関与することが判明した．以上より，網膜内の神経伝達物質の一つであるドーパミンが網膜全体の電気的活動である網膜電図を大きく変化させることが明らかとなり，ドーパミンは適切な濃度において明所視系賦活作用および暗所視系抑制作用を有すると推論される．

**Key words** dopamine, bullfrog, electroretinogram (ERG), flicker ERG, rabbit

Häggendal と Malmfors[1]によって哺乳類における網膜内ドーパミン作働性神経細胞の存在が示されて以来，網膜内のドーパミン作働性神経細胞に関して形態学的，生化学的および薬理学的研究結果が相次いで報告され[2)~4)]，ドーパミンが網膜レベルで神経伝達物質あるいは神経調節物質（neuro-modulator）として機能することが認められるようになった[5)]．

ドーパミンは脊椎動物の網膜においてモノアミン系神経伝達物質の中では最も高濃度に存在し，主としてアマクリン細胞および網状層間細胞に含有されており[6)]，これらの細胞から遊離されたドーパミンは網膜内の多くの細胞群に作用し，視細胞，網膜色素上皮細胞[7)~9)]，水平細胞[10)]などに対して明順応に類似した効果を発現すると報告されている．また早期より律動様小波がしばしば減弱する糖尿病においてドーパミン合成酵素であるチロジン水酸化酵素の活性が低下すること[11)]が明らかにされて

平成７年５月16日受付，平成７年７月５日受理

Abbreviations : DA, dopamine ; ERG, electroretinogram ; GABA, γ-aminobutyric acid ; HAL, haloperidol ; NMPTP, N-metyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydroxypiridine ; $b_s$ 波，暗所視系ｂ波 ; $b_p$ 波，明所視系ｂ波

いる．しかし網膜内のドーパミン作働性神経細胞が担う機能的役割についてはいまだに不明な点が多い．

筆者は脊椎動物の中で網膜内のドーパミン量が多いとされるカエル[12]の眼杯を用い，ドーパミン灌流によって生ずる網膜電図変化を調べ，網膜内のドーパミン作働性神経細胞の機能について検討した．さらに哺乳類網膜でのドーパミンの暗所視および明所視機能における役割を調べることを目的として，ドーパミンの硝子体内注入が全身麻酔下ウサギの網膜電図におよぼす影響を検討した．次に強力なドーパミン拮抗剤として知られるハロペリドール ($D_1$受容体および$D_2$受容体の拮抗剤) の硝子体内注入が全身麻酔下ウサギの網膜電図におよぼす影響を検討した．またハロペリドールのドーパミン作働系神経回路網に対する拮抗作用を検討する目的で，あらかじめハロペリドールを硝子体内注入した眼におけるドーパミンの硝子体内注入の網膜電図への影響を調べた．同様の目的で，ドーパミンとハロペリドールの同時硝子体内注入が網膜電図におよぼす影響も検討した．

一方，明所視系網膜電図振幅が暗順応状態では小さいが明順応開始後に経時的に増大する現象[13)~15)]やフリッカー網膜電図振幅がフリッカー刺激開始直後には小さいがフリッカー刺激開始後に経時的に増大する現象 (漸増現象) が知られており[16]，その臨床応用に関する報告[16]もある．本研究では全身麻酔下ウサギで明所視系応答とされる 30Hz フリッカー網膜電図における漸増現象におよぼすドーパミンの影響を調べた．

網膜内のドーパミン作働性神経細胞はアマクリン細胞の一種，また硬骨魚目など一部の動物では網状層間細胞の一種であると考えられている[17)~19)]．魚類網膜において水平細胞は一定層内でギャップ結合により相互に電気的に結合している[10]．外因性および内因性ドーパミンは$D_1$受容体を介して水平細胞間連結を減弱させることで水平細胞の光応答S電位の側方波及を抑制し (受容野を狭め[10])，ルシファ黄色素の水平細胞間拡散を阻止する[10]ことが知られている．一方，Dearry ら[7)~9)]はドーパミンが$D_2$受容体を介して非シナプス性に網膜色素上皮細胞内の色素顆粒の離散，杆体および錐体細胞の内節ミオイドの伸展および短縮を惹起し，明順応と同様の網膜運動性ムーブメント (retinomotor movement) を発現させると報告した．筆者は30Hz フリッカー網膜電図における漸増現象の発現に際してもそのようなドーパミン受容体を介した作用が関係するのではないかと考え，選択的$D_1$受容体拮抗剤である SCH-23390，$D_1$受容体拮抗剤であるフルフェナジン，$D_1$および$D_2$受容体拮抗剤であるハロペリドールおよび選択的$D_2$受容体拮抗剤であるスルピリドの硝子体内注入の漸増現象におよぼす影響をウサギで検討し，網膜電図明所視系応答に対する$D_1$受容体および$D_2$受容体を介する機構の関与について考察した．

## 対象および方法

### Ⅰ．実験Ⅰ：ドーパミン灌流によるカエル摘出眼杯の網膜電図の変化

カエル (Rana catesbeiana，9匹) を30分以上暗順応した後に暗赤色光下で眼球を摘出した．摘出眼球を赤道部で切半し，後極側の眼杯 (網膜，脈絡膜および強膜からなる) を使用した．浸漬液用容器 (Ussing type chamber) は二つの相対するプラスチック製容器 (内径；5.0×5.0×5.0cm) からなり，各容器の相対する面にカエルの強膜曲率半径に合致する半球状カップをとりつけ，その中央に径 10mm の孔をあけ，この孔を塞ぐようにカエル眼杯を両容器間に固定した (図1)．各容器に浸漬液を 20ml/分 で絶えず灌流し，100% 酸素ガスを 0.5ℓ/分 で通気した．浸漬液の容器内容積は自動吸引装置 (卓上C型吸引器；大祐医科工業，東京) により約 100ml に維持された．通気中の浸漬液の pH は8.1であった．対照液の組成 (mM 単位) は 94.0 NaCl, 2.0 KCl, 1.0 $MgCl_2$, 1.8 $CaCl_2$, 15.0 $NaHCO_3$, 10.0 グルコースである．塩酸ドーパミン (和光純薬工業，大阪) を対照液に溶解して 1μM, 10μM, 100μM, 1mM の4段階の濃度のドーパミン液を作成した．酸化防止の目的で 100μM 以下の濃度のドーパミン液には 0.1mM の，1mM のドーパミン液には 1mM の濃度にアスコルビン酸 (和光純薬工業) を添加した．安定化電源 WX-1000 (三双製作所，東京) によって駆動された 500W キセノンアーク灯 Xenon Arc 45 (三双製作所) から得られる連続光を電気刺激装置 EP-601J (日本光電，東京) および電磁式シャッターで断続して得られた白色矩形波光を刺激光とし，直径 4mm の硝子線維束を介して暗黒下または赤色光順応下で網膜全面を照射した．網膜電図のオン応答のみでなくオフ応答も観察する目的で刺激光の持続時間を2.0秒とした．一部の実験を除いて1分毎に光刺激を行った．

眼杯をはさむ各容器内に置かれた一対の銀・塩化銀電極 NS type (日本光電) より網膜電図を導出した．導出された電位を直流増幅器 RDU-5 (日本光電，高域減衰 400Hz で −3dB) および時定数 $2.0\times10^{-2}$ 秒の交流増幅器 AB-622M (日本光電，高域減衰 $3.0\times10^{3}$Hz で −3db) により増幅し，FM データレコーダー NFR-3515 (SONY，東京，dc～$2.5\times10^{3}$Hz) に保存した．本報で示す網膜電図波形は加算平均装置 ATAC-250 (日本光電) で加算平均化処理を行った後に X-Y プロッター WX-4401 (渡辺測器，東京) にて描画された波形である．本報の網膜電図波形の

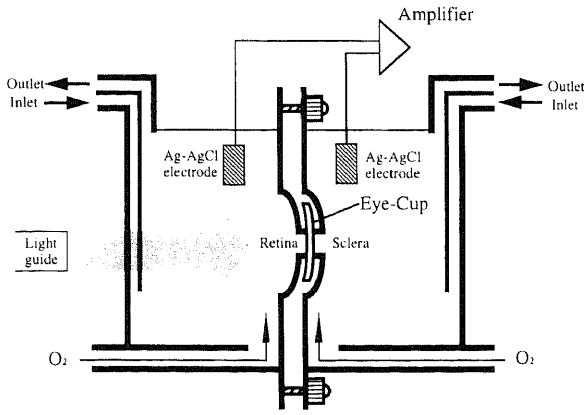


Fig. 1. Recording configuration for the in-vitro electroretinogram (ERG) in the excised eye-cup of the bullfrog. The posterior portion of the hemisected eyeball was mounted between two chambers of an Ussing-type. The control perfusate and test perfusates were continuously oxygenated with 100% $O_2$ and maintained at pH 8.1. The $ERG_s$ were lead off through a pair of Ag-AgCl electrodes in each chamber. White light stimuli of 2-sec duration with intensity varying from $10^{-4}$ to 10 lux were given every one minute. Prior to an application of a test perfusate, stable $ERG_s$ were confirmed for at least 20 minutes in the control perfusate. The $ERG_s$ were recorded every one minute for 20 minutes in the test perfusion.

上向きの振れは硝子体側陽性を意味する．実験Ⅰとして以下の3種の実験を行った．各実験は眼杯を容器間に装着し，ついで暗黒下あるいは一定背景光順応下に15分間おいた後に，1分毎の網膜電図波形が20分間にわたってほぼ一定であることを確認し，これを対照網膜電図波形としてドーパミン液の灌流を開始した．対照液よりドーパミン液に置換する際には，容器内のドーパミン濃度がすみやかに目的の濃度に達するように，灌流液をドーパミン液に変換すると同時により高濃度のドーパミン液の0.1ml あるいは 1ml を容器内に直接注入した．直接注入したドーパミン液の濃度は，均一に拡散すると仮定すると容器内のドーパミン濃度が目的の濃度となるように設定した．

1．実験1：ドーパミン灌流による暗順応下の網膜電図の変化

背景光を与えず，刺激光強度を網膜面で 1.0 lux とした．対照網膜電図を記録後に，ドーパミン灌流を開始し，灌流開始後20分間にわたって1分毎に網膜電図を記録し，再び対照液灌流に変更して20分間にわたって1分毎に網膜電図を記録した．

2．実験2：ドーパミン灌流による赤色背景光下の網膜電図の変化

網膜電図の明所視系b波と暗所視系b波を分離し観察する目的で，赤色背景光下（網膜面 $5.0\times10^{-1}$ lux）で実験1と同様の実験を行った．刺激光強度を網膜面で 1.0×10 lux とした．

3．実験3：ドーパミン 10$\mu$M 灌流による各刺激光強度毎の網膜電図の変化

背景光を与えず，刺激光の強度を −5 log（0 log 単位は網膜面 1.0×10 lux に相当する）より1 log ずつ上げて1分毎に網膜電図を記録した．投与するドーパミンの容器内濃度を 10$\mu$M とした．対照網膜電図を記録後に，ドーパミン灌流開始60分後に再び網膜電図を記録した．

**Ⅱ．実験Ⅱ：ドーパミンおよびその拮抗剤の硝子体内注入による全身麻酔下ウサギの網膜電図の変化**

暗赤色光下で白色ウサギ（体重 2〜3kg，20匹）に，1％塩酸リドカイン（藤沢薬品工業，大阪）による浸潤麻酔下に気管切開，気管内挿管および塩化ツボクラリン（吉富製薬，大阪）(0.5mg/kg/hr) 筋肉注射による不動化を施し，ただちに人工呼吸（1回送気量 40ml，60回/分，Harvard Apparatus Respirator, New York）を行った．1％塩化リドカインによる球後麻酔および浸潤麻酔下に眼瞼および瞬膜を切除し，0.5％トロピカミド（参天製薬，大阪）と0.5％塩酸フェニレフリン（参天製薬）の点眼により極大に散瞳した．

安定化電源 WX-1000（三双製作所）によって駆動された 500W キセノンアーク灯 Xenon Arc 45（三双製作所）から得られる連続光を電気刺激装置 EP-601J（日本光電）および電磁式シャッターで断続して得られた持続時間0.1秒の白色矩形波光を刺激光とし，直径 4mm の硝子線維束を介して背景光を与えずに角膜上方約 1.5cm の位置から中性フィルターを介して照射した（0 log 単位は角膜面 $5.0\times10^{3}$ lux に相当する）．角膜実質に穿通させた脳波用針電極 NF-223S（日本光電）を関電極とし，剃毛した前頭部正中線上に置いた銀・塩化銀皿電極 NT-614U（日本光電）を不関電極として得られる電位を交流増幅器 AB-622M（日本光電）にて増幅し，時定数2.0秒でa波およびb波を，ならびに時定数 $3.0\times10^{-3}$ 秒で律動様小波を得て FM データレコーダー NFR-3515（SONY）に保存し，加算平均装置 ATAC-250（日本光電）で加算平均化処理を行った後に X-Y プロッター WX-4401（渡辺測器）にて描画した．30分以上の暗順応後に刺激光の強度を −5 log より 1 log ずつ上げて1分毎に両眼の網膜電図を記録し（対照網膜電図），左右眼の間の網膜電図振幅の差が20％以内であることを確認した．なお律動様小波は 0 log 刺激光を 0.3Hz の頻度で21回照射して得られた応答を加算平均して記録された．ついで片眼（試験眼）に薬液（後述）を，対眼（対照眼）に対照液（後述）を硝子体内注入（後記）し，暗順応の後に対照網膜電図と同様に網膜電図を記録した（試験網膜電図）．薬液注入に際して，0.1ml の前房水を排除した後に米村らの方法[20]に従い角膜輪部より後方約 3mm の強膜に27ゲージ注射針を刺入してそのベベル面を水晶体側に向けて 0.1ml の薬液を緩徐に硝子体内に注入した．実験Ⅱとして以下の4種の実験を行った．

1．実験1：ドーパミン硝子体内注入による網膜電図の変化

試験眼にはドーパミン溶液（後記）の 0.1ml を，対照眼には対照液（後記）の 0.1ml を注入し，90分間の暗順応を与えた後に網膜電図を記録した．ドーパミン溶液はオペガード®-MA（千寿製薬，東京）1.0$\ell$ に，ドーパミン（前述），アスコルビン酸（前述）およびパージリン（ドーパミン分解酵素阻害剤，和光純薬工業）を各々 $9.0\times10^{2}\mu$mol，$1.8\times10^{3}\mu$mol あるいは $4.5\times10^{3}\mu$mol 溶解して得られた．対照液（ドーパミン賦形剤）として同濃度のアスコルビン酸とパージリンのみを溶解したオペガード®-MA を用いた．ウサギ硝子体容積は約 1.7ml であるから，ドーパミンが硝子体内に均一に拡散すると仮定すればドーパミン，アスコルビン酸およびパージリンの硝子体内濃度はすべて約 50$\mu$M，約 100$\mu$M あるいは約 250$\mu$M と推定される．

2．実験2：ハロペリドール硝子体内注入による網膜電図の変化

試験眼にハロペリドール溶液（後記）の 0.1ml を，対照眼にはハロペリドール対照液（後記）の 0.1ml を注入し，90分間の暗順応を与えた後に試験網膜電図を記録した．ハロペリドール溶液は0.5％乳酸液（和光純薬工業）1.0$\ell$ に，ハロペリドール（和光純薬工業）を $9.0\times10\mu$mol，$1.8\times10^{2}\mu$mol，$3.6\times10^{2}\mu$mol，$1.8\times10^{4}\mu$mol あるいは $2.7\times10^{4}\mu$mol 溶解して得られた．対照液（ハロペリドール賦形剤）として0.5％乳酸液を用いた．ハロペリドールが硝子体内に均一に拡散すると仮定すれば，その硝子体内濃度は約 5$\mu$M，約 10$\mu$M，約 20$\mu$M，約 1mM あるいは約 1.5mM と推定される．

3．実験3：ドーパミン追加硝子体内注入による網膜電図の変化

実験2と同様の方法でハロペリドール溶液を両眼に注入（硝子体内推定濃度：20$\mu$M あるいは 1mM）（以下，薬剤を硝子体内に注入した場合の硝子体内推定濃度をその括弧内に記す）し，90分間の暗順応の後に試験網膜電図を記録し，さらにそのうちの1眼に実験1で用いたドーパミン溶液 0.1ml を，他眼にその対照液 0.1ml を硝子体内に追加注入（ドーパミン注入眼の硝子体内推定濃度を 50$\mu$M あるいは 250$\mu$M とした）し，再び90分間の暗順応を与え試験網膜電図を記録した．

4．実験4：ドーパミンおよびハロペリドールの同時硝子体内注入による網膜電図の変化

試験眼には $1.8\times10^{3}\mu$M ドーパミン溶液（溶媒は実験1と同じ）の 0.05ml と $7.2\times10^{2}\mu$M ハロペリドール溶液（溶媒は実験2と同じ）の 0.05ml を同時に，対照眼にはそれぞれの溶媒（ドーパミン賦形剤およびハロペリドール賦形剤）のみ 0.05ml

ずつを注入し，90分間の暗順応の後に試験網膜電図を記録した．ドーパミンおよびハロペリドールの硝子体内濃度はそれぞれ 50μM および 20μM と推定される．

**Ⅲ．実験Ⅲ：ドーパミンおよびその拮抗剤の硝子体内注入による全身麻酔下ウサギの 30Hz フリッカー網膜電図の変化**

実験Ⅱと同様の方法で白色ウサギ（体重 2～3kg，24匹）に，不動化および人工呼吸を施した．眼瞼と瞬膜の切除および散瞳を行った．

安定化電源 WX-1000（三双製作所）によって駆動された 500W キセノンアーク灯 Xenon Arc 45（三双製作所）から得られる連続光を電気刺激装置 EP-601J（日本光電）および電磁式シャッターで断続して得られた刺激頻度 30Hz，明暗比 1 対 1 の白色矩形波光をフリッカー刺激光とし，直径 4mm の硝子線維束を介して背景光を与えずに角膜上方約 1.5cm の位置から中性フィルターを介して照射した．刺激光強度として角膜面で 5.0×10 lux（後述する実験 1 においてのみ 5.0 lux，5.0×10 lux および $3.0\times10^2$ lux）を用いた．角膜実質に穿通させた脳波用針電極 NE-223S（日本光電）を関電極，剃毛した前頭部正中線上に置いた銀・塩化銀皿電極 NT-614U（日本光電）を不関電極として得られる電位を交流増幅器 AB-622M（日本光電，時定数2.0秒）にて増幅し，FM データレコーダー NFR-3515 (SONY) に記録した後に，加算平均装置 ATAC-250（日本光電）によって64回の応答を加算平均化した網膜電図波形を X-Y プロッター WX-4401（渡辺測器）にて描画した．フリッカー光の持続照射中に観察される応答振幅の漸増現象（後述）の経過を検討する目的で，フリッカー光刺激開始10秒後に得られた波形の振幅に対する，各時点における波形の振幅の比を経時的に計測した．実験Ⅱと同じ手法により片眼（試験眼）に薬液 0.1ml を，対眼（対照眼）に対照液 0.1ml を硝子体内に注入した．まず前明順応として上記の光強度の 30Hz フリッカー光を連続15分間照射し，45分間の暗順応の後に 30Hz フリッカー網膜電図を経時的に記録した（対照網膜電図）．ついで薬液を硝子体内に注入し再び45分間暗順応した後に 30Hz フリッカー網膜電図を経時的に記録した（試験網膜電図）．なお本実験で用いた24匹のウサギでは対照網膜電図振幅に20%以上の左右眼差はなかった．

1．実験 1：ドーパミン硝子体内注入（硝子体内推定濃度：50μM）による 30Hz フリッカー網膜電図の変化

試験眼にはドーパミン溶液（後記）の 0.1ml を，対照眼にはドーパミン溶液の対照液（後記）の 0.1ml を注入し，45分間暗順応した後に網膜電図を記録した．ドーパミン溶液はオペガード®-MA 1.0ℓ に，ドーパミンと，アスコルビン酸およびパージリンを各 $9.0\times10^2$μmol 溶解して得られた．対照液（ドーパミン賦形剤）として同濃度のアスコルビン酸とパージリンのみを溶解したオペガード®-MA を用いた．ウサギ硝子体容積は約 1.7ml であるから，ドーパミンが硝子体内に均一に拡散すると仮定すればドーパミン，アスコルビン酸およびパージリンの硝子体内濃度はすべて約 50μM と推定される．

2．実験 2：SCH-23390 硝子体内注入（硝子体内推定濃度：20μM）による 30Hz フリッカー網膜電図の変化

試験眼には SCH-23390 溶液（後記）の 0.1ml を，対照眼には SCH-23390 溶液の対照液（後記）の 0.1ml を注入し，45分間暗順応を与え網膜電図を記録した．SCH-23390 溶液はオペガード®-MA 1.0ℓ に，SCH-23390 (R (+)-SCH-23390 HCl，フナコシ，東京）を $3.6\times10^2$μmol 溶解して得られた．対照液 (SCH-23390 賦形剤）としてオペガード®-MA を用いた．SCH-23390 の硝子体内濃度は約 20μM と推定される．

3．実験 3：フルフェナジン硝子体内注入（硝子体内推定濃度：50μM）による 30Hz フリッカー網膜電図の変化

試験眼にはフルフェナジン溶液（後記）の 0.1ml を，対照眼にはフルフェナジン溶液の対照液（後記）の 0.1ml を注入し，45分間暗順応した後に網膜電図を記録した．フルフェナジン溶液はオペガード®-MA 1.0ℓ に，フルフェナジン（和光純薬工業）を $9.0\times10^2$μmol 溶解して得られた．対照液（フルフェナジン賦形剤）としてオペガード®-MA を用いた．フルフェナジンの硝子体内濃度は約 50μM と推定される．

4．実験 4：スルピリド硝子体内注入（硝子体内推定濃度：50μM）による 30Hz フリッカー網膜電図の変化

試験眼にスルピリド溶液（後記）の 0.1ml を，対照眼にはスルピリド対照液（後記）の 0.1ml を注入し，45分間暗順応した後に試験網膜電図を記録した．スルピリド溶液は0.5%乳酸液1.0ℓ に，スルピリド（和光純薬工業）を $9.0\times10^2$μmol 溶解して得られた．対照液（スルピリド賦形剤）として0.5%乳酸液を用いた．スルピリドの硝子体内濃度は約 50μM と推定される．

5．実験 5：ハロペリドール硝子体内注入（硝子体内推定濃度：20μM）による 30Hz フリッカー網膜電図の変化

試験眼にハロペリドール溶液（後記）の 0.1ml を，対照眼にはハロペリドール対照液（後記）の 0.1ml を注入し，45分間暗順応した後に試験網膜電図を記録した．ハロペリドール溶液は0.5%乳酸液1.0ℓ に，ハロペリドールを $3.6\times10^2$μmol 溶解して得られた．対照液（ハロペリドール賦形剤）として0.5%乳酸液を用いた．ハロペリドールの硝子体内濃度は約 20μM と推定される．

6．実験 6：ハロペリドール硝子体内注入（硝子体内推定濃度：50μM）による 30Hz フリッカー網膜電図の変化

試験眼にハロペリドール溶液（後記）の 0.1ml を，対照眼にはハロペリドール対照液（後記）の 0.1ml を注入し，45分間暗順応した後に試験網膜電図を記録した．ハロペリドール溶液は0.5%乳酸液1.0ℓ に，ハロペリドールを $9.0\times10^2$μmol 溶解して得られた．対照液（ハロペリドール賦形剤）として0.5%乳酸液を用いた．ハロペリドールの硝子体内濃度は約 50μM と推定される．

刺激光および背景光の強度の測定には照度計 H-100（三双製作所）を用いた．

## 成　　績

**Ⅰ．実験Ⅰ：ドーパミン灌流によるカエル摘出眼杯の網膜電図の変化**

1．実験 1：ドーパミン灌流による暗順応下の網膜電図の変化（図 2）

ドーパミン 1μM 灌流によりｂ波はやや減弱した．対照網膜電図のｄ波振幅の個体差が大きく，図２Ａのように対照波形の振幅が大きい標本ではドーパミン灌流によりｄ波に明らかな変化が認められなかった．対照波形のｄ波振幅が小さい標本ではドーパミン 1μM 灌流によってその振幅が増大した．対照液の再灌流によりｂ波振幅の回復傾向がみられたが，ｂ波後半部は減弱したままであった．律動様小波およびオフ小波はドーパミ

ン 1μM 灌流ではほとんど変化しなかった．

ドーパミン 10μM 灌流によりb波（とくにb波後半部）が減弱したが，b波上行部の勾配はほとんど変化しなかった．律動様小波はドーパミン 10μM 灌流開始2分後より増大し，11分でほぼ最大振幅を呈した．d波はやや増大し，オフ小波も増大した．対照液の再灌流によりb波振幅にやや回復傾向がみられたが，律動様小波およびオフ小波は増大したままであった．

ドーパミン 100μM 灌流によりb波後半部が減弱し，律動様小波およびオフ小波は増大した．b波，律動様小波，d波およびオフ小波は対照液の再灌流によってほとんど変化しなかった．

ドーパミン 1mM 灌流ではb波はドーパミン 100μM 灌流の場合と同様に変化したが，律動様小波およびオフ小波はドーパミン灌流早期に増大した後，灌流開始5分後より徐々に減弱し，その潜時が延長した．対照液の再灌流により律動様小波の振幅および潜時は回復傾向を示した．

2．実験2：ドーパミン灌流による赤色背景光下の網膜電図の変化（図3）

赤色背景光下で得られた対照網膜電図のb波は全例ではないが2峰に分かれた．この場合には以下ではb波の前峰を $b_1$ 波，後峰を $b_2$ 波と呼称する．

ドーパミン 1μM 灌流ではb波が2峰に分かれた場合には $b_1$ 波はほとんど変化しなかったが，$b_2$ 波は減弱した．d波は増大し，その潜時は短縮した．しかし対照網膜電図のd波振幅の

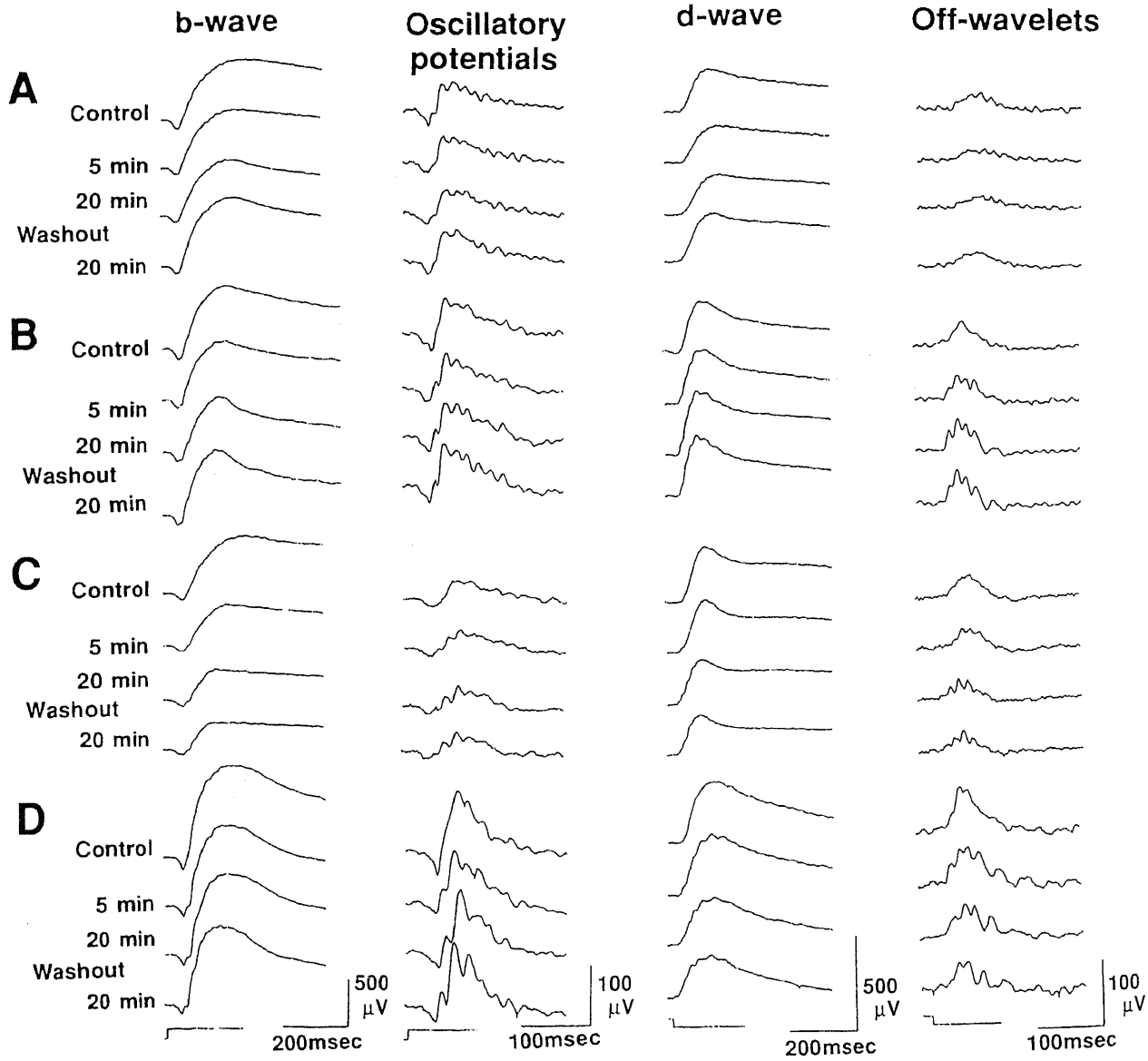


Fig. 2. Effects of perfusion with dopamine (DA) on the in-vitro ERG of the bullfrog under the dark. DA suppressed the latter portion of the b-wave at all DA concentrations tested [1 μM (A), 10 μM (B), 100 μM (C) and 1 mM (D)]. DA of 10 μM and 100 μM enhanced the oscillatory potentials, the d-wave and the off-wavelets. Stimulus intensity was 1.0 lux at the retina. The b-wave and the d-wave were recorded with an amplifier time constant of 2.0 sec. The oscillatory potentials and the off-wavelets were recorded with an amplifier time constant of $2.0\times10^{-2}$ sec. The rectangular upward and downward deflections indicate the onset and the cessation of stimulus light, respectively.

個体差が大きく，d波振幅の大きな標本ではドーパミンによるd波の変化は明らかではなかった．律動様小波およびオフ小波はほとんど変化しなかった．b波，d波，律動様小波およびオフ小波はいずれも対照液を再灌流してもほとんど回復しなかった．

ドーパミン 10μM 灌流により $b_2$ 波は明らかに減弱し，対照液の再灌流により回復傾向がみられた．$b_1$ 波の振幅と上行部の勾配にはほとんど変化がなかった．d波は増大し，潜時が短縮した．律動様小波およびオフ小波はともに増大した．律動様小波，d波およびオフ小波はいずれも対照液の再灌流によりほとんど回復しなかった．

ドーパミン 100μM 灌流により $b_2$ 波は減弱し，またb波が分峰しない場合にもb波後半部が減弱した．律動様小波，d波およびオフ小波は増大した．これらの変化は対照液の再灌流によってほとんど回復しなかった．

ドーパミン 1mM 灌流によりb波後半部は減弱した．ドーパミン液の灌流早期に一過性に律動様小波はわずかに，d波およびオフ小波は明らかに増大したが，ドーパミン灌流5分後よりその後徐々に減弱した．対照液の再灌流によりb波，律動様小波，d波およびオフ小波は回復傾向を示した．

3．実験3：ドーパミン 10μM 灌流による各刺激光強度毎の網膜電図の変化（図4）

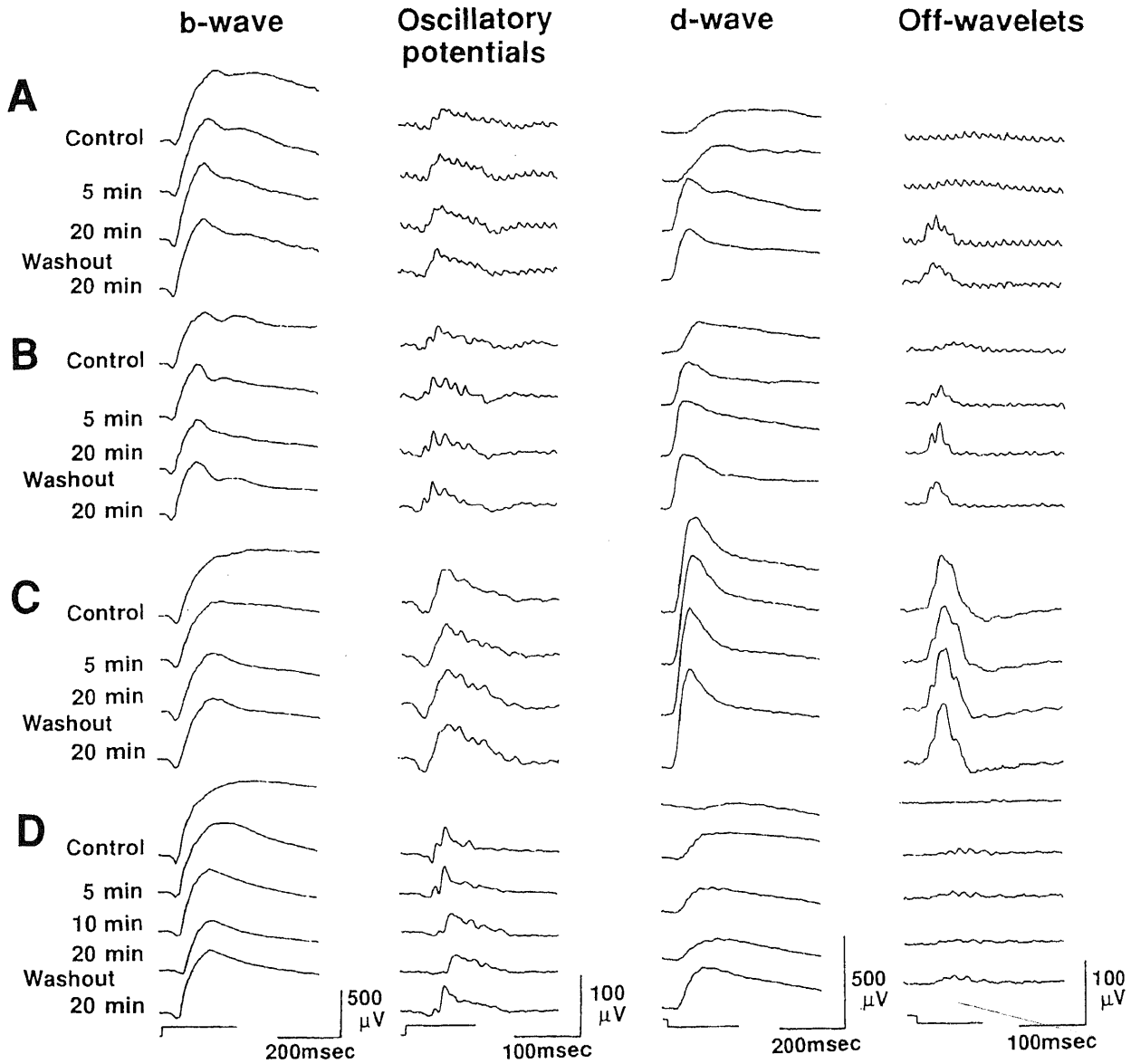


Fig. 3. Effects of perfusion with DA on the in-vitro ERG of the bullfrog under red background light. DA of 1 μM (A) and 10 μM (B) suppressed the second peak of the b-wave. DA of 100 μM (C) and 1 mM (D) suppressed the latter portion of the b-wave. DA enhanced the d-wave at all DA concentrations tested. DA of 10 μM (B) and 100 μM (C) enhanced the oscillatory potentials and the off-wavelets. Both responses were transiently enhanced and were gradually suppressed by 1 mM DA (D). Stimulus and background intensity were $1.0\times10$ lux and $5.0\times10^{-1}$ lux at the retina, respectively. The b-wave and the d-wave were recorded with an amplifier time constant of 2.0 sec. The oscillatory potentials and the off-wavelets were recorded with an amplifier time constant of $2.0\times10^{-2}$ sec. The other recording procedures were the same as in Fig. 2.

60分間のドーパミン灌流によりb波振幅は調べたすべての刺激光強度で低下し，その頂点潜時が短縮した．律動様小波は−2 log 以上の強度の光刺激において著明に増大した．

**Ⅱ．実験Ⅱ：ドーパミンおよびその拮抗剤の硝子体内注入による全身麻酔下ウサギの網膜電図の変化**

1．実験1：ドーパミン硝子体内注入による網膜電図の変化

ドーパミンの硝子体内注入（硝子体内推定濃度：50μM）は暗順応下で強刺激光（−1 log および 0 log 光）によるb波（図5）に比べて弱刺激光（−5 log および −4 log 光）によるb波をより顕著に減弱させ（図5A），律動様小波を増大させた（図5B）．ドーパミンの硝子体内注入（100μM）でも同様の結果を得た（図略）．図5に示した例を含めて同様の実験を行った3眼それぞれドーパミンの硝子体内注入（50μM）によるb波振幅（a波底からb波頂点まで）の変化率は −5 log の刺激光で−56.3%，−40.0%および−50.0%，−4 log の刺激光で−45.8%，−28.6および−33.3%，−3 log の刺激光で−26.1%，0%および−20.0%，−2 log の刺激光で−26.1%，0%および−20.0%，−1 log の刺激光で−34.6%，0%および−20.0%，0 log の刺激光で−23.1%，0%および−4.5%であった．b波頂点潜時の変化率は3眼でそれぞれ −5 log の刺激光で−13.5%，−14.2%および−11.4%，−4 log の刺激光で+2.1%，−13.3%および−6.5%，−3 log の刺激光で0%，−4.5%および0%，−2 log の刺激光で−5.3%，−4.8%および0%，−1 log の刺激光で−5.5%，−5.0%および−4.5%，0 log の刺激光で0%，0%および0%であり，強刺激光に比べて弱刺激光においてドーパミン投与によるb波頂点潜時の短縮はより著明であった．律動様小波振幅総和の変化率は3眼でそれぞれ+193.3%，+120.0%および+187.5%であった．律動様小波振幅総和の計算に際しては米村らの方法[21]に従って律動様小波の $O_1$ から $O_4$ までの振幅を合計して検討に供した．

2．実験2：ハロペリドール硝子体内注入による網膜電図の変化

ハロペリドールの硝子体内注入（5μM）により網膜電図はほとんど変化しなかった（図略）．ハロペリドールの硝子体内注入（10μM）でも明らかな網膜電図の変化は認められなかった（図

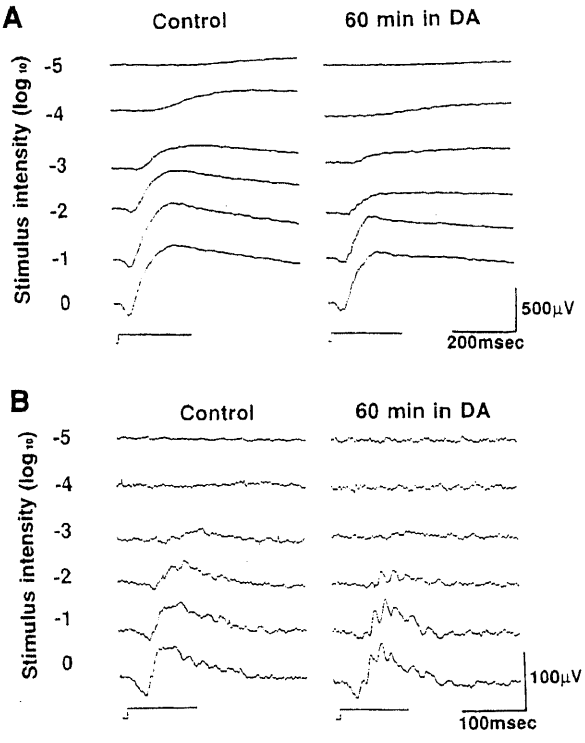


Fig. 4. Effects of perfusion with 10 μM DA for 60 min on the intensity series of the b-wave (A) and the oscillatory potentials (B) of the bullfrog in-vitro eye-cup under the dark. Ten μM DA diminished the b-wave at all stimulus intensities tested. Ten μM DA enhanced the oscillatory potentials elicited by stimulus light of −2 log unit or brighter. Stimulus intensity of zero log unit was $1.0\times10$ lux at the retina. Amplifier time constant was 2.0 sec for the b-wave and $2.0\times10^{-2}$ sec for the oscillatory potentials.. The other recording procedures were the same as in Fig. 2.

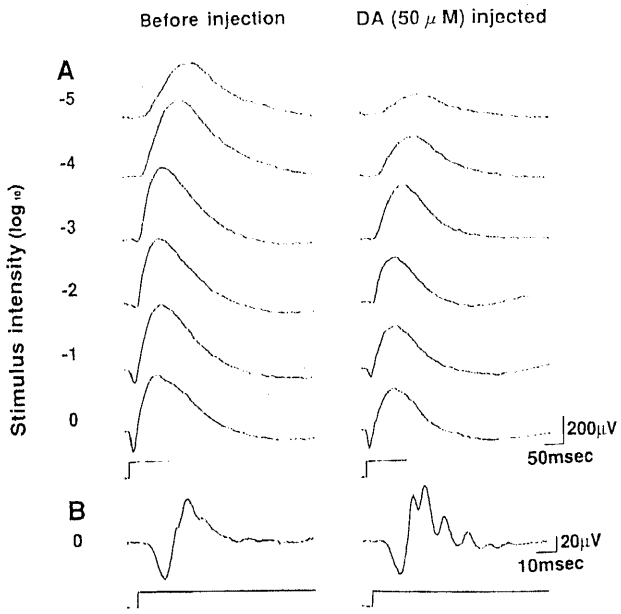


Fig. 5. Effects of an intravitreal injection of DA on the ERG of the rabbit under the dark. Unilateral eye was injected with 100 μl of the test solution which contained DA of $9.0\times10^{2}$ μM, ascorbic acid of $9.0\times10^{2}$ μM and pargyline, a monoamine oxidase inhibitor of $9.0\times10^{2}$ μM. These doses gave an intravitreal concentration of 50 μM for each agent, if diffused evenly in the vitreous cavity. The ERGs after dark adaptation for 90 min were compared before and 90 min after a single-shot intravitreal injection. The ERGs were lead off through a needle active electrode penetrated in the corneal stroma and an Ag-AgCl reference electrode placed on the forehead in this figure and in all figures showing the ERG hereafter. The left and right traces show the ERGs before and after injection of the test solution, respectively. While an intravitreal injection of DA suppressed the amplitude and shortened the peak latency of the b-wave elicited by a dim stimulus light in the dark-adapted eye (the scotopic b-wave) (A), it enhanced the oscillatory potentials elicited by repeated bright stimulus lights (zero log intensity) (B). The ERGs were unchanged in the fellow eye injected with 100 μl of the control solution which contained pargyline and ascorbic acid only. White light of 100-msec duration with various intensities were given as light stimuli. Stimulus intensity of zero log unit was $5.0\times10^{3}$ lux at the cornia. Amplifier time constant was 2.0 sec in A and 3 msec in B.

略).

ハロペリドールの硝子体内注入 (20μM) によりb波振幅は大きくは変化しなかった (図6A) が，律動様小波は強く減弱した (図6B). 図6に示した例を含めて同様の実験を行った3眼それぞれでハロペリドールの硝子体内注入 (20μM) によるb波振幅の変化率は −5 log の刺激光で0%，0%および0%，−4 log の刺激光で−9.1%，−8.3%および0%，−3 log の刺激光で−8.3%，−18.2%および−5.9%，−2 log の刺激光で−9.1%，−18.2%および0%，−1 log の刺激光で−8.3%，−21.4%および−11.1%，0 log の刺激光で−8.3%，-21.4%および−5.9%であった．ハロペリドールの硝子体内注入 (20μM) によるb波頂点潜時の変化率は3眼でそれぞれ −5 log の刺激光で0%，+2.8%および0%，−4 log の刺激光で0%，0%および0%，−3 log の刺激光で+4.2%，0%および0%，−2 log の刺激光で−4.5%，0%および0%，−1 log および0 log の刺激光で調べた3眼すべてで0%であり，ハロペリドールはb波頂点潜時には大きな影響をおよぼさなかった．ハロペリドールの硝子体内注入 (20μM) による律動様小波振幅総和の変化率は3眼でそれぞれ−68.8%，−33.3%および−56.3%と著明であった．

ハロペリドールの硝子体内注入 (1mM および 1.5mM) では，b波および律動様小波は著しく減弱し，網膜電図波形の平坦化を来した (図略).

3．実験3：ドーパミン追加硝子体内注入による網膜電図の変化

ハロペリドール投与による律動様小波の減弱がドーパミン作働系に対する作用によるのか否かを調べるために，ハロペリドールによって減弱した律動様小波がドーパミンの追加注入によって回復するか否かを検討した．ハロペリドールの硝子体内注入 (20μM) 後にドーパミン賦形剤を硝子体内注入した場合では，ドーパミン賦形剤の注入の前後で網膜電図は変化しなかった (図略)．ハロペリドールの硝子体内注入 (20μM) により律動様小波は減弱した (図7，中段) が，その後ドーパミン (50μM) を追加注入すると律動様小波は回復した (図7，下段)．ドーパミン (50μM) 追加注入により，b波に関しては弱刺激光によるb波頂点潜時が短縮しその振幅が減弱するというドーパミン単独硝子体内注入 (図5A) と同様の変化が観察された (図略).

ハロペリドール (20μM) の硝子体内注入によって律動様小波が減弱した他の3眼ではドーパミン (250μM) の追加注入によって律動様小波が回復した (図略)．ドーパミン (250μM) 追加注入によるb波振幅およびその頂点潜時の変化は，ドーパミン (50μM) 単独硝子体内注入の結果 (図5A) と同様であった (図略)．ハロペリドールの硝子体内注入 (1mM) 後にドーパミン賦形剤を追加硝子体内注入した場合では，ハロペリドールによりすでに著しいb波および律動様小波の減弱を来しており，ドーパミン賦形剤の注入の前後で網膜電図は変化しなかった (図略)．ハロペリドールの硝子体内注入 (1mM) 後にドーパミン (50μM) を追加注入した場合では，ハロペリドールにより減弱

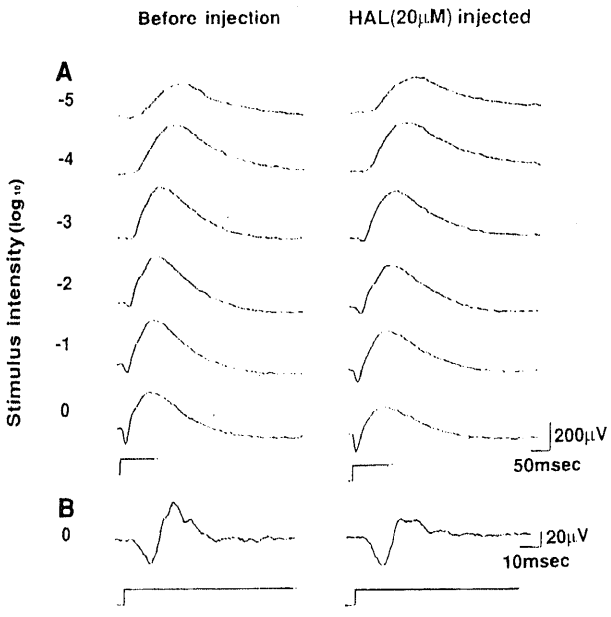


Fig. 6. Effects of an intravitreal injection of haloperidol (HAL) on the ERG of the rabbit under the dark. Because HAL is lactate-soluble but water-insoluble, 0.5% lactate was used as a vehicle. Unilateral eye was injected with 100 μl of the test solution which contained $3.6\times10^2$ μM HAL in the vehicle. This dose gave an intravitreal concentration of 20 μM for HAL, if diffused evenly in the vitreous cavity. The ERGs were compared before and 90 min after a single-shot intravitreal injection. The other recording procedures were the same as in Fig. 5. The left and right traces show the ERGs before and after injection of the test solution, respectively. An intravitreal injection of HAL (20 μM) suppressed the b-wave elicited by a bright stimulus light (zero log intensity) (A) and the oscillatory potentials elicited by repeated bright stimulus lights (zero log intensity) (B). The ERGs were unchanged in the fellow eye injected with 100 μl of the control solution which contained the vehicle only. Amplifier time constant was 2.0 sec in A and 3 msec in B.

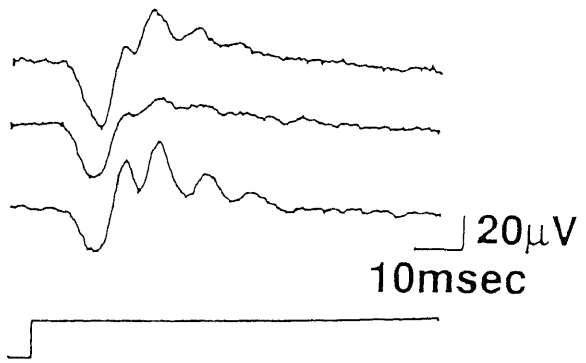


Fig. 7. Effects of an intravitreal injection of DA on the oscillatory potentials in HAL-pretreated eyes of the rabbit under the dark. The uppermost trace shows the initial control wavefrom before injection. The second trace, recorded 90 min after an intravitreal injection of HAL (20 μM), shows the suppression of the oscillatory potentials. The eyes were further injected with DA (50 μM), and the lowest ERG was recorded 90 min later. The other recording procedures were the same as in Fig. 5. The oscillatory potentials were markedly recovered by injecting DA following HAL to surpass the amplitude before HAL-injection. The sham-operated control eye injected with lactate only or lactate plus pargyline and ascorbic acid showed no remarkable changes in the ERGs (not illustrated). Amplifier time constant was 3 msec.

したb波および律動様小波はドーパミン注入後も減弱したままであった（図略）.

4．実験4：ドーパミンおよびハロペリドールの同時硝子体内注入による網膜電図の変化

ドーパミンとハロペリドールの同時硝子体内注入（硝子体内推定濃度はそれぞれ 50μM と 20μM）を施行した3眼では，b波が若干減弱し律動様小波が強く減弱するというハロペリドールの単独硝子体内注入（図6）と同様の網膜電図変化が観察された（図略）.

**Ⅲ．実験Ⅲ：ドーパミンおよびその拮抗剤の硝子体内注入による全身麻酔下ウサギの 30Hz フリッカー網膜電図の変化**

1．実験1：ドーパミン硝子体内注入（硝子体内推定濃度：50μM）による 30Hz フリッカー網膜電図の変化

刺激光強度が角膜面 5.0 lux では，注入前では漸増現象はほとんど認められず（4眼），ドーパミン溶液（2眼）または対照液注入後（2眼）でも注入前と比較して網膜電図振幅は変化せず，漸増現象も観察されなかった（図略）.

刺激光強度が角膜面 5.0×10 lux では，注入前に漸増現象が認められた（図8A左，図8B左）. 注入前（10眼）の漸増現象に関しては，刺激開始10秒後の振幅は 8.1±2.5μV（平均値±標準偏差），刺激開始15分後の振幅は 18.5±2.9μV であり，注入前（10眼）における漸増現象の程度（刺激開始10秒後の網膜電図振幅に対する刺激開始15分後の網膜電図振幅の比）は2.24±0.87であった（図9A）. 対照液注入後（5眼）ではフリッカー網膜電図の振幅は刺激開始10秒後では 8.7±2.4μV であり，刺激開始15分後では 16.7±6.6μV であった. すなわち対照液注入後も漸増現象は認められ，その漸増現象の程度は1.94±0.65であり（図9B），注入前の漸増現象の程度（2.24±0.87）との間に有意な差はなかった（Student t-検定使用，危険率5％）. ドーパミン注入後では，5眼でそれぞれ刺激開始10秒後の振幅は 12.6, 8.0, 12.5, 14.3 および 19.0μV（13.3±3.5μV）であり，調べた5眼すべての眼でドーパミン注入前における刺激開始10秒後の振幅 7.0, 4.0, 9.6, 9.0 および 9.0μV（7.8±2.1μV）に比べて増大していた. ドーパミン注入後の漸増現象の程度は 1.16±0.19（図9C）であり，注入前のそれ（2.24±0.87）（図9A）および対照液注入後のそれ（1.94±0.65）（図9B）に比較して有意に小さかった（Student t-検定使用，危険率5％）. ドーパミン注入眼5眼それぞれの刺激開始15分後の振幅は 15.4, 12.0, 12.5, 15.7 および 19.7μV（15.0±2.5μV）であり，5眼それぞれの注入前における刺激開始15分後の振幅 18.2, 16.0, 13.7, 15.7 および 22.3μV（17.2±2.9μV）を越えなかった. すなわちドーパミンは刺激開始直後の振幅を増大させたので，漸増現象の程度を減弱させたといえる.

刺激光強度が角膜面 $3.0\times10^2$ lux では，注入前（4眼），対照液注入後（2眼），ドーパミン注入後（2眼）のいずれにおいても漸増現象は観察されず，対照液注入後とドーパミン注入後との間でも刺激開始10秒後の振幅に差は認められなかった（図略）.

2．実験2：SCH-23390 硝子体内注入（硝子体内推定濃度：20μM）による 30Hz フリッカー網膜電図の変化

SCH-23390 の硝子体内注入（20μM）では，注入前に漸増現象が認められた（刺激光強度：角膜面 5.0×10 lux）（図10A左，図10B左）. 注入前（10眼）の漸増現象に関しては，刺激開始10秒後の振幅は 8.4±1.9μV，刺激開始15分後の振幅は 21.7±3.5μV であり，注入前（10眼）における漸増現象の程度は 2.68±0.46 であった（図11A）. 対照液注入後（5眼）ではフリッカー網膜電図の振幅は刺激開始10秒後では 7.8±2.9μV であり，刺激開始15分後では 18.9±3.4μV であった. すなわち対照液注入後においても漸増現象は認められ，その漸増現象の程度は 2.59±0.62 であり（図11B），注入前の漸増現象の程度（2.68±0.46）との間に有意な差はなかった（Student t-検定使用，危険率5％）. SCH-23390 注入後では，5眼でそれぞれ刺激開始10秒後の振幅は 10.5, 5.7, 3.8, 7.1 および 6.1μV（6.6±2.2μV）であり，5眼それぞれの注入前における刺激開始10秒後の振幅 11.2, 9.0, 7.9, 8.6 および 8.1μV（9.1±1.2μV）を越えなかった. SCH-23390 注入後の漸増現象の程度は 3.25±0.42（図11C）であり，注入前のそれ（2.68±0.46）（図11A）に比較して有意に大きかった（Student t-検定使用，危険率5％）. すなわち SCH-23390 は刺激開始直後の振幅を減弱させたので，漸増現象の程度を増大させたといえる.

3．実験3：フルフェナジン硝子体内注入（硝子体内推定濃度：50μM）による 30Hz フリッカー網膜電図の変化

フルフェナジンの硝子体内注入（50μM）では，注入前に漸増現象が認められた（刺激光強度：角膜面 5.0×10 lux）（図12A左，図12B左）. 注入前（6眼）の漸増現象に関しては，刺激開始10秒後の振幅は 6.4±1.2μV，刺激開始15分後の振幅は 21.3±3.5μV であり，注入前（6眼）における漸増現象の程度は 3.35±0.25 であった（図13A）. 対照液注入後（3眼）ではフリッカー網膜電図の振幅は刺激開始10秒後では 6.1±0.4μV であり，刺激開始15分後では 16.6±3.3μV であった. すなわち対照液注入後も漸増現象は認められ，その漸増現象の程度は 2.73±0.63 であり（図13B），注入前の漸増現象の程度（3.35±0.25）との間に有意な差はなかった（Student t-検定使用，危険率5％）. フルフェナジン注入後では，3眼でそれぞれ刺激開始10秒後の振幅は 4.3, 6.1 および 4.4μV（4.9±0.8μV）であり，3眼それぞれの注入前における刺激開始10秒後の振幅 7.2, 8.6 および 5.8μV（7.2±1.1μV）を越えなかった. フルフェナジン注入後の漸増現象の程度は 3.82±0.06（図13C）であり，注入前のそれ（3.35±0.25）（図13A）に比較して有意に大きかった（Student t-検定使用，危険率5％）. すなわちフルフェナジンは刺激開始直後の振幅を減弱させたので，漸増現象の程度を増大させたといえる.

4．実験4：スルピリド硝子体内注入（硝子体内推定濃度：50μM）による 30Hz フリッカー網膜電図の変化

スルピリドの硝子体内注入（50μM）では，注入前に漸増現象が認められた（刺激光強度：角膜面 5.0×10 lux）（図14A左，図14B左）. 注入前（10眼）の漸増現象に関しては，刺激開始10秒後の振幅は 16.0±3.8μV，刺激開始15分後の振幅は 26.8±4.7μV であり，注入前（10眼）における漸増現象の程度は 1.75±0.49 であった（図15A）. 対照液注入後（5眼）ではフリッカー網膜電図の振幅は刺激開始10秒後では 14.4±4.0μV であり，刺激開始15分後では 21.7±5.3μV であった. すなわち対照液注入後も漸増現象は認められ，その漸増現象の程度は 1.57±0.43 であり（図15B），注入前の漸増現象の程度（1.75±0.49）との間に有意な差はなかった（Student t-検定使用，危険率5％）. スルピリド注入後では，5眼でそれぞれ刺激開始10秒後の振幅は 25.1, 24.1, 16.3, 15.5 および 16.8μV（19.6±4.1μV）であり，調べた5眼すべての眼でスルピリド注

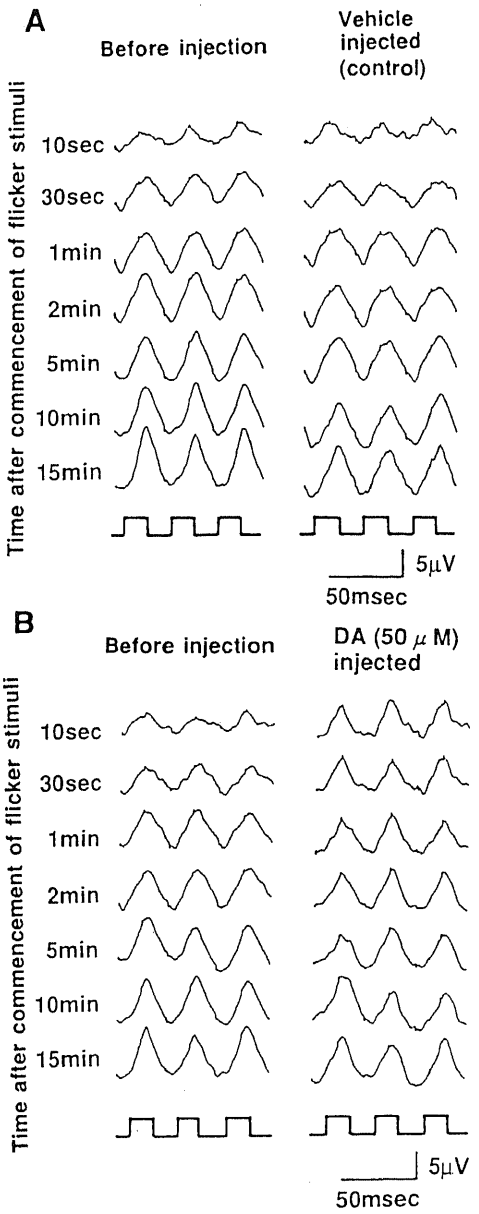


Fig. 8. Effects of an intravitreal injection of DA on the 30-Hz flicker ERG$_s$ of the rabbit. Unilateral eye (B) was injected with 100 $\mu$l of the test solution which contained $9.0\times10^2$ $\mu$M DA, $9.0\times10^2$ $\mu$M ascorbic acid and $9.0\times10^2$ $\mu$M pargyline. The fellow eye (control eye) (A) was injected with 100 $\mu$l of the control solution which contained pargyline and ascorbic acid only. These doses gave an intravitreal concentration of 50 $\mu$M for each agent, if diffused evenly in the vitreous cavity. The 30-Hz flicker ERG$_s$, elicited by flickering stimulus light of 50 lux at the cornea, were continuously recorded for 15 min after dark adaptation of 45 min. The series of the 30-Hz flicker ERG$_s$ were compared before and after a single-shot intravitreal injection of DA. As shown in A and in the left half of B, the amplitude of the control flicker ERG$_s$ gradually increased with the advance of light adaptation induced by repetitive flickering stimuli. As shown in the right half of B, after an intravitreal injection of DA (50 $\mu$M) the amplitude was already large soon after the onset of flickering stimuli, and little increment phenomenon was observed. Amplifier time constant was 2.0 sec. Stimulus intensity was $5.0\times10$ lux at the cornea. The rectangular upward and downward deflections indicate the onset and the cessation of flickering stimuli, respectively.

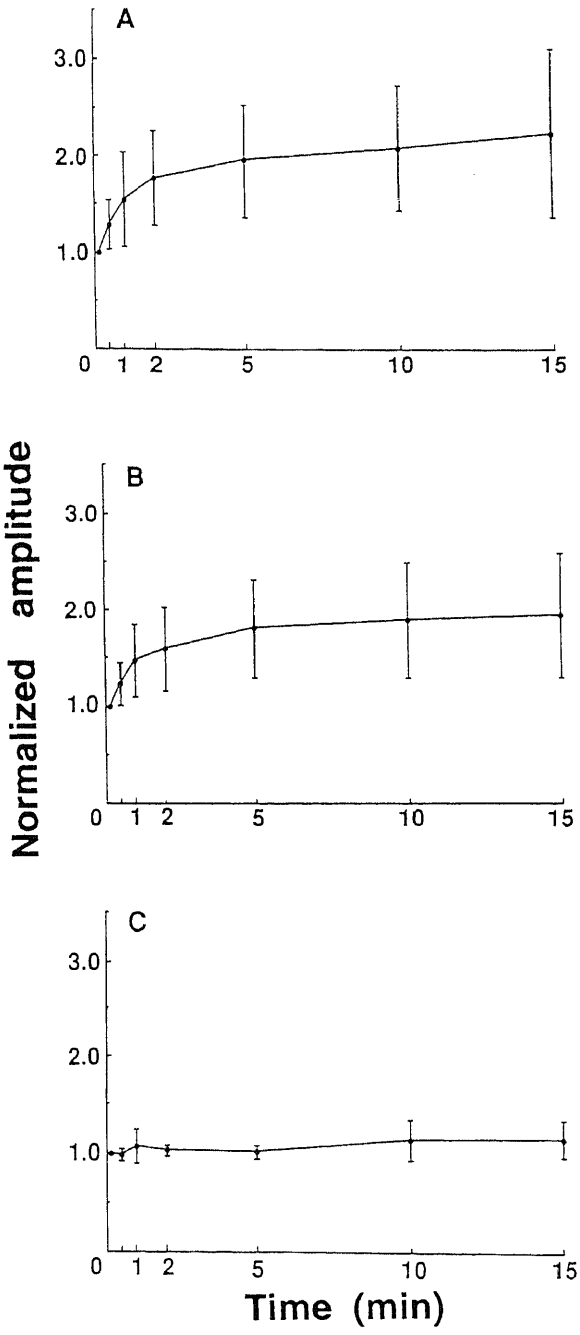


Fig. 9. Effects of an intravitreal injection of DA (50 $\mu$M) on the increment phenomenon of the 30-Hz flicker ERG$_s$ in the rabbits. The amplitudes of the 30-Hz flicker ERG$_s$ at 10 sec, 30 sec, 1 min, 2 min, 5 min, 10 min and 15 min after the onset of flicker stimulation were normalized against the initial amplitude at 10 sec in 10 rabbits. The mean and the standard deviation (vertical bar) of these normalized percent amplitudes were plotted against the time after the onset of flicker stimulation. The magnitude of the increment (the ratio of the ERG amplitude at 15 min to that at 10 sec) was significantly smaller in the eyes after an intravitreal injection of DA (C) ($1.16\pm0.19$) than in the eyes before injection (A) ($2.24\pm0.87$) ($p<0.05$) or after an intravitreal injection of the vehicle (the same procedure as in Fig. 8) (B) ($1.94\pm0.65$) ($p<0.05$).

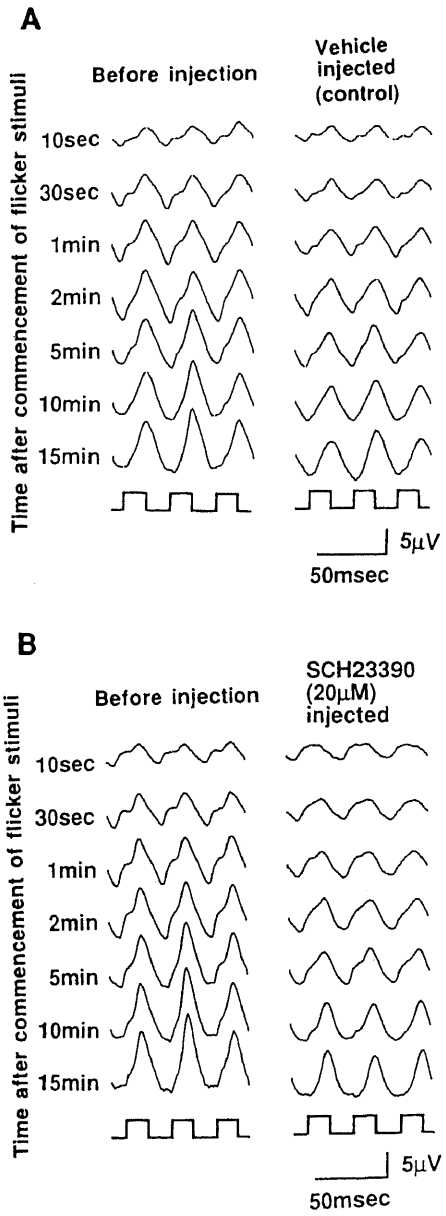


Fig. 10. Effects of an intravitreal injection of SCH-23390 on the 30-Hz flicker ERG$_s$ of the rabbit. Unilateral eye (B) was injected with 100 $\mu$l of the test solution which contained SCH-23390 of $3.6\times10^2$ $\mu$M resolved in Opeguard®-MA as a vehicle. This dose gave an intravitreal concentration of 20 $\mu$M for SCH-23390, if diffused evenly in the vitreous cavity. The fellow eye (control eye) (A) was injected with 100 $\mu$l of the control solution which contained the vehicle only. The 15-min series of the 30-Hz flicker ERG$_s$ were compared before and 45 min after a single-shot intravitreal injection of SCH-23390. The other recording procedures were the same as in Fig. 8. As shown in A and in the left half of B, the amplitude of the control flicker ERG$_s$ gradually increased with the advance of light adaptation induced by repetitive flickering stimuli. As shown in the right half of B, after an intravitreal injection of SCH-23390 (20 $\mu$M), the amplitude was smaller soon after the onset of flickering stimuli.

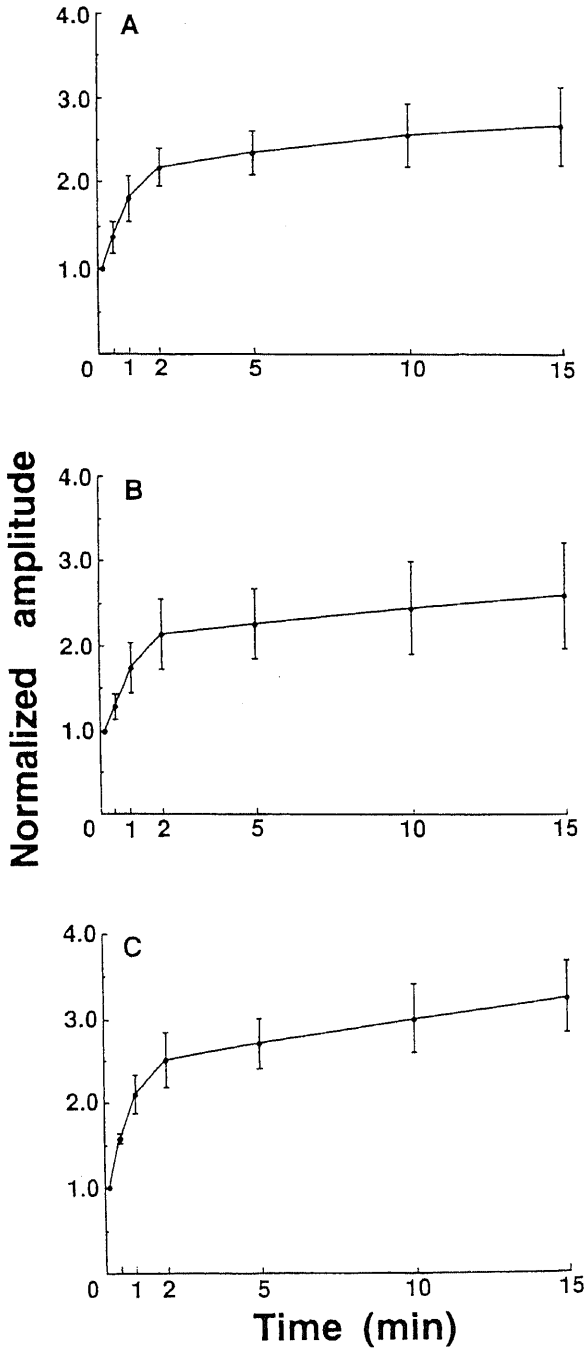


Fig. 11. Effects of an intravitreal injection of SCH-23390 (20 $\mu$M) on the increment phenomenon of the 30-Hz flicker ERG$_s$ in 10 rabbits. The other recording procedures were the same as in Fig. 9. The magnitude of the increment was significantly larger in the eyes after an intravitreal injection of SCH-23390 (C) ($3.25\pm0.42$) than in the eyes before injection (A) ($2.68\pm0.46$) ($p<0.05$) and was not significantly larger than in the eyes after an intravitreal injection of the vehicle (Opeguard®-MA) (B) ($2.59\pm0.62$) ($0.1<p<0.25$).

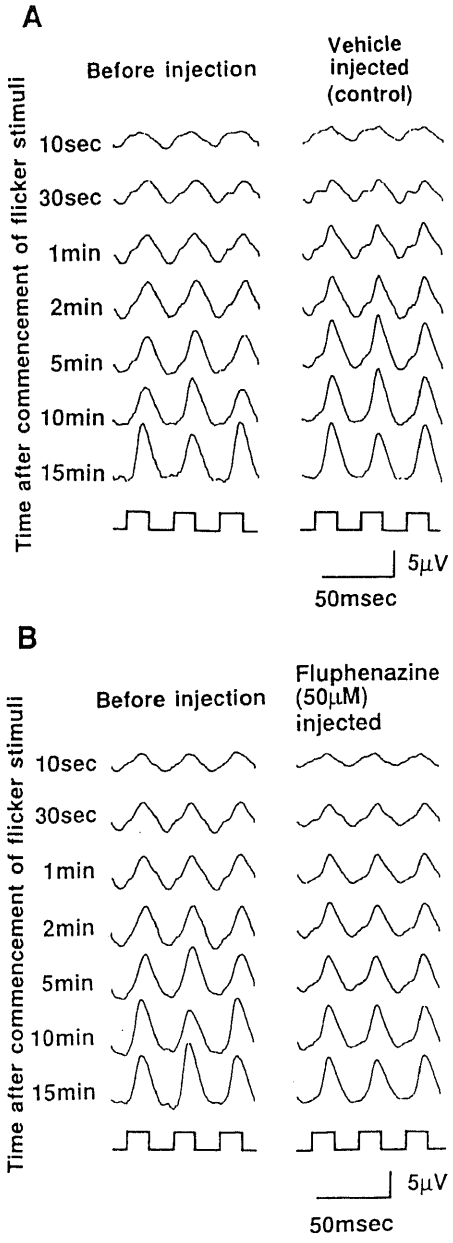


Fig. 12. Effects of an intravitreal injection of fluphenazine on the 30-Hz flicker ERG$_s$ of the rabbit. Unilateral eye (B) was injected with 100 $\mu$l of the test solution which contained fluphenazine of $9.0\times10^2$ $\mu$M resolved in Opeguard®-MA as a vehicle. This dose gave an intravitreal concentration of 50 $\mu$M for fluphenazine, if diffused evenly in the vitreous cavity. The fellow eye (control eye) (A) was injected with 100 $\mu$l of the control solution which contained the vehicle only. The 15-min series of the 30-Hz flicker ERG$_s$ were compared before and 45 min after a single-shot intravitreal injection of fluphenazine. The other recording procedures were the same as in Fig. 8. As shown in A and in the left half of B, the amplitude of the control flicker ERG$_s$ gradually increased with the advance of light adaptation induced by repetitive flickering stimuli. As shown in the right half of B, after an intravitreal injection of fluphenazine (50 $\mu$M), the amplitude was smaller soon after the onset of flickering stimuli, and larger increment phenomenon was observed.

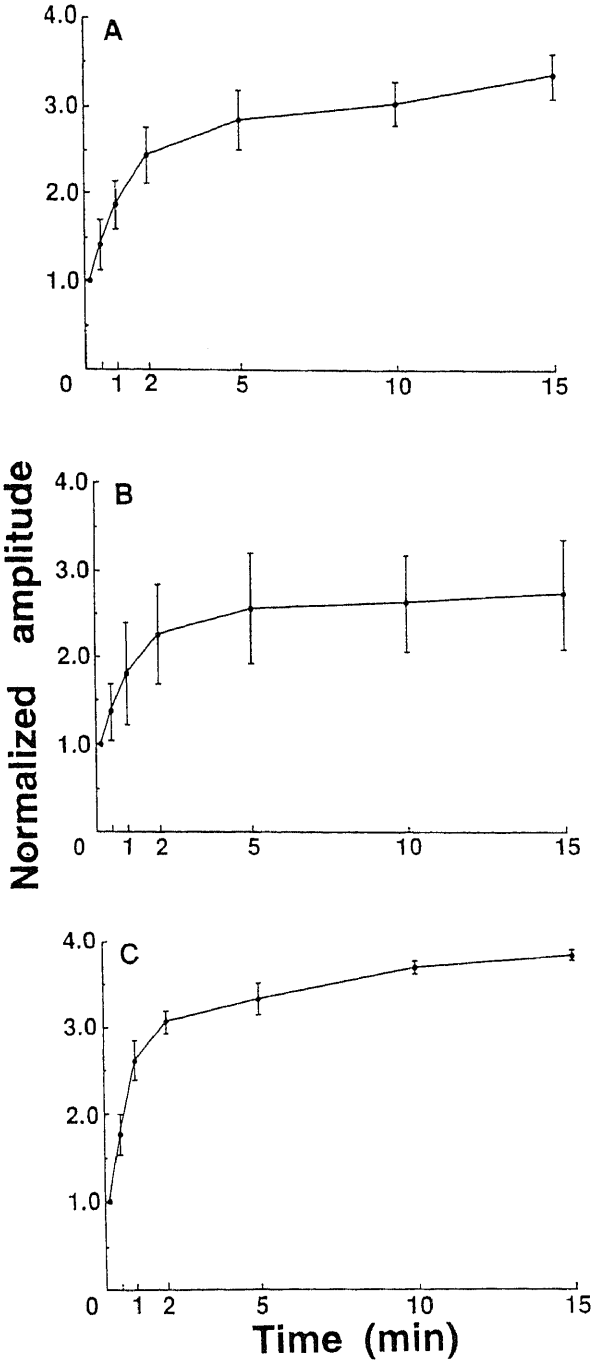


Fig. 13. Effects of an intravitreal injection of fluphenazine (50 $\mu$M) on the increment phenomenon of the 30-Hz flicker ERG$_s$ in 6 rabbits. The other recording procedures were the same as in for Fig. 9. The magnitude of the increment was significantly larger in the eyes after an intravitreal injection of fluphenazine (C) ($3.82\pm0.06$) than in the eyes before injection (A) ($3.35\pm0.25$) ($p<0.05$) and was not significantly larger than in the eyes after an intravitreal injection of the vehicle (Opeguard®-MA) (B) ($2.73\pm0.63$) ($0.05<p<0.1$).

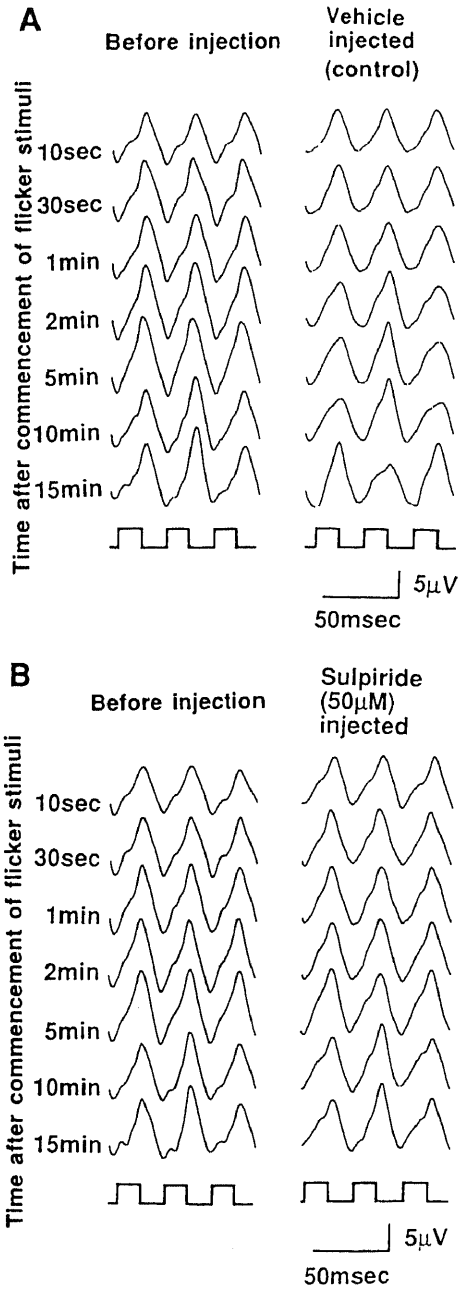


Fig. 14. Effects of an intravitreal injection of sulpiride on the 30-Hz flicker ERG, of the rabbit. Because sulpiride is lactate-soluble but water-insoluble, 0.5% lactate was used as a vehicle. Unilateral eye (B) was injected with 100 $\mu$l of the test solution which contained sulpiride of $9.0\times10^2$ $\mu$M in the vehicle. This dose gave an intravitreal concentration of 50 $\mu$M for sulpiride, if diffused evenly in the vitreous cavity. The follow eye (control eye) (A) was injected with 100 $\mu$l of the ocntrol solution which contained the vehicle only. The 15-min series of the 30-Hz flicker ERG, were compared before and 45 min after a single-shot intravitreal injection of sulpiride. The other recording procedures were the same as in Fig. 8. As shown in A and in the left half of B, the amplitude of the control flicker ERG, gradually increased with the advance of light adaptation induced by repetitive flickering stimuli. As shown in the right half of B, after an intravitreal injection of sulpiride (50 $\mu$M), the amplitude was already large soon after the onset of flicker stimulation, and little increment phenomenon was observed.

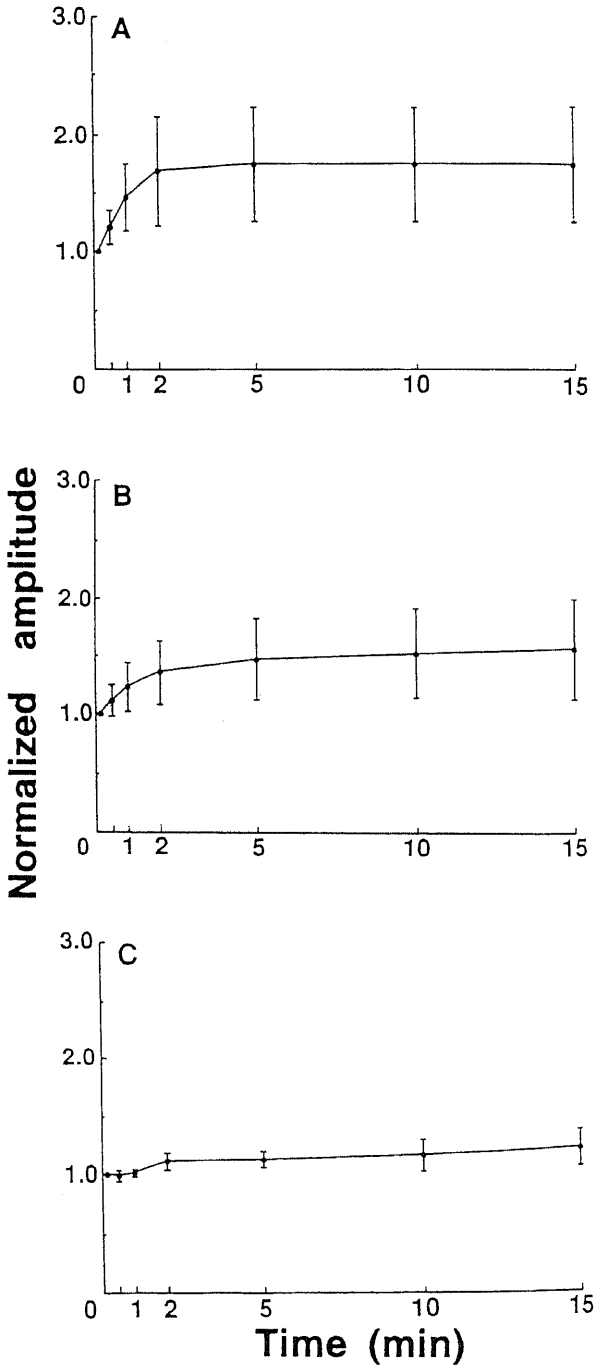


Fig. 15. Effects of an intravitreal injection of sulpiride (50 $\mu$M) on the increment phenomenon of the 30-Hz flicker ERG, in 10 rabbits. The other recording procedures were the same as in Fig. 9. The magnitude of the increment was significantly smaller in the eyes after an intravitreal injection of sulpiride (C) ($1.22\pm0.16$) than in the eyes before injection (A) ($1.75\pm0.49$) ($p<0.05$) and was not significantly smaller than in the eyes after an intravitreal injection of the vehicle (0.5% lactate) (B) ($1.57\pm0.43$) ($0.1<p<0.25$).

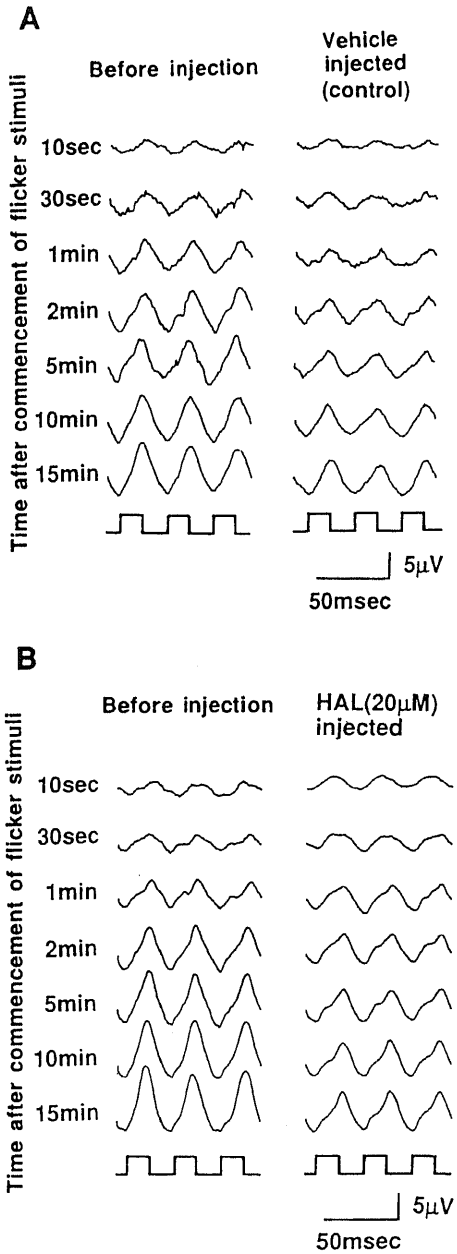


Fig. 16. Effects of an intravitreal injection of HAL (20 $\mu$M) on the 30-Hz flicker ERG$_s$ of the rabbit. 0.5% lactate was used as a vehicle. Unilateral eye (B) was injected with 100 $\mu$l of the test solution which contained HAL of $3.6\times10^2$ $\mu$M in the vehicle. This dose gave an intravitreal concentration of 20 $\mu$M for HAL, if diffused evenly in the vitreous cavity. The fellow eye (control eye) (A) was injected with 100 $\mu$l of the control solution which contained the vehicle only. The 15-min series of the 30-Hz flicker ERG$_s$ were compared before and 45 min after a single-shot intravitreal injection of HAL. The other recording procedures were the same as in Fig. 8. As shown in A and in the left half of B, the amplitude of the control flicker ERG$_s$ gradually increased with the advance of light adaptation induced by repetitive flickering stimuli. As shown in the right half of B, after an intravitreal injection of HAL (20 $\mu$M), the amplitude was not remarkably changed soon after the onset of flicker stimulation, and amplitude increment was smaller than in the control fellow eye (the right half of A).

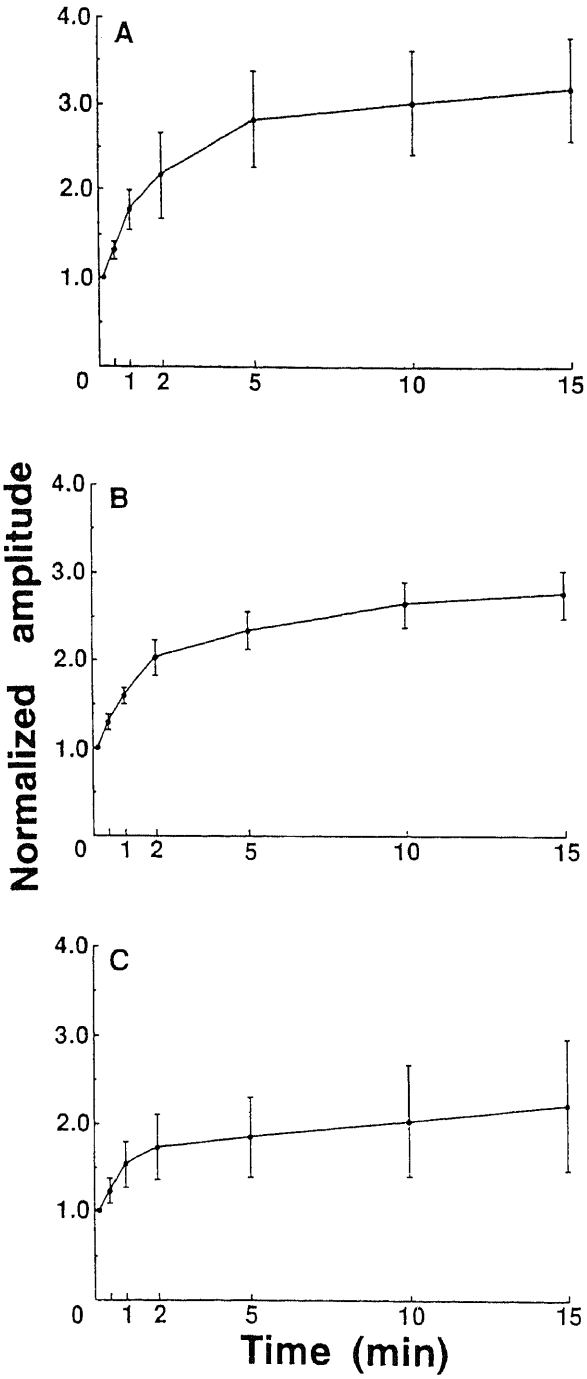


Fig. 17. Effects of an intravitreal injection of HAL (20 $\mu$M) on the increment phenomenon of the 30-Hz flicker ERG$_s$ in 6 rabbits. The other recording procedures were the same as in Fig. 9. The magnitude of the increment was not significantly smaller in the eyes after an intravitreal injection of HAL (C) ($2.21\pm0.74$) than in the eyes before injection (A) ($3.17\pm0.60$) ($0.1<p<0.25$) or after an intravitreal injection of the vehicle (0.5% lactate) (B) ($2.75\pm0.27$) ($0.25<p<0.5$).

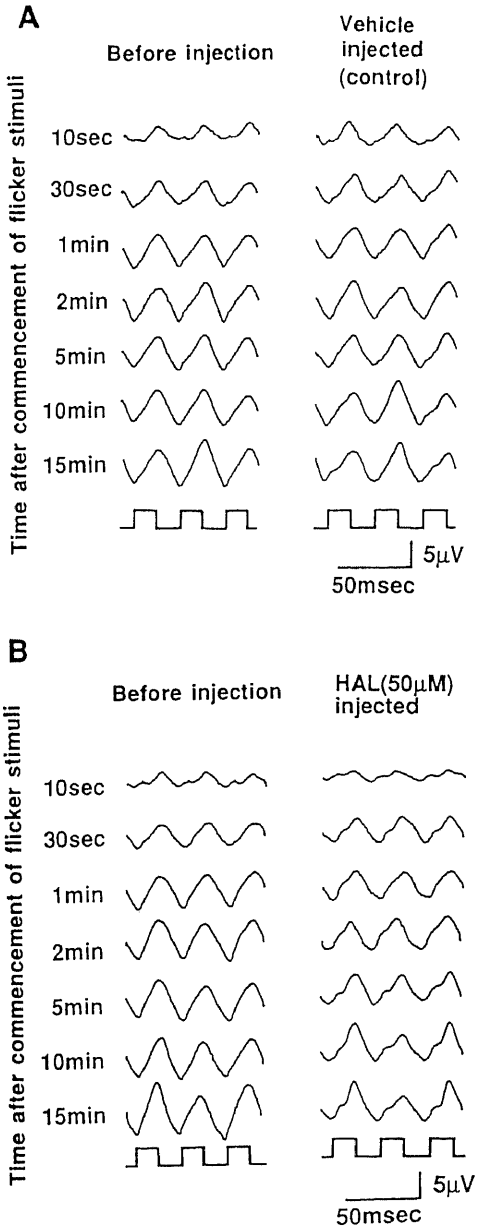


Fig. 18. Effects of an intravitreal injection of HAL (50 $\mu$M) on the 30-Hz flicker ERG$_s$ of the rabbit. 0.5% lactate was used as a vehicle. Unilateral eye (B) was injected with 100 $\mu$l of the test solution which contained HAL of $9.0\times10^2$ $\mu$M in the vehicle. This dose gave an intravitreal concentration of 50 $\mu$M for HAL, if diffused evenly in the vitreous cavity. The fellow eye (control eye) (A) was injected with 100 $\mu$l of the control solution which contained the vehicle only. The 15-min series of the 30-Hz flicker ERG$_s$ were compared before and 45 min after a single-shot intravitreal injection of HAL. The other recording procedures were the same as in Fig. 8. As shown in A and in the left half of B, the amplitude of the control flicker ERG$_s$ gradually increased with the advance of light adaptation induced by repetitive flickering stimuli. As shown in the right half of B, after an intravitreal injection of HAL (50 $\mu$M) the amplitude was smaller soon after the onset of flickering stimuli.

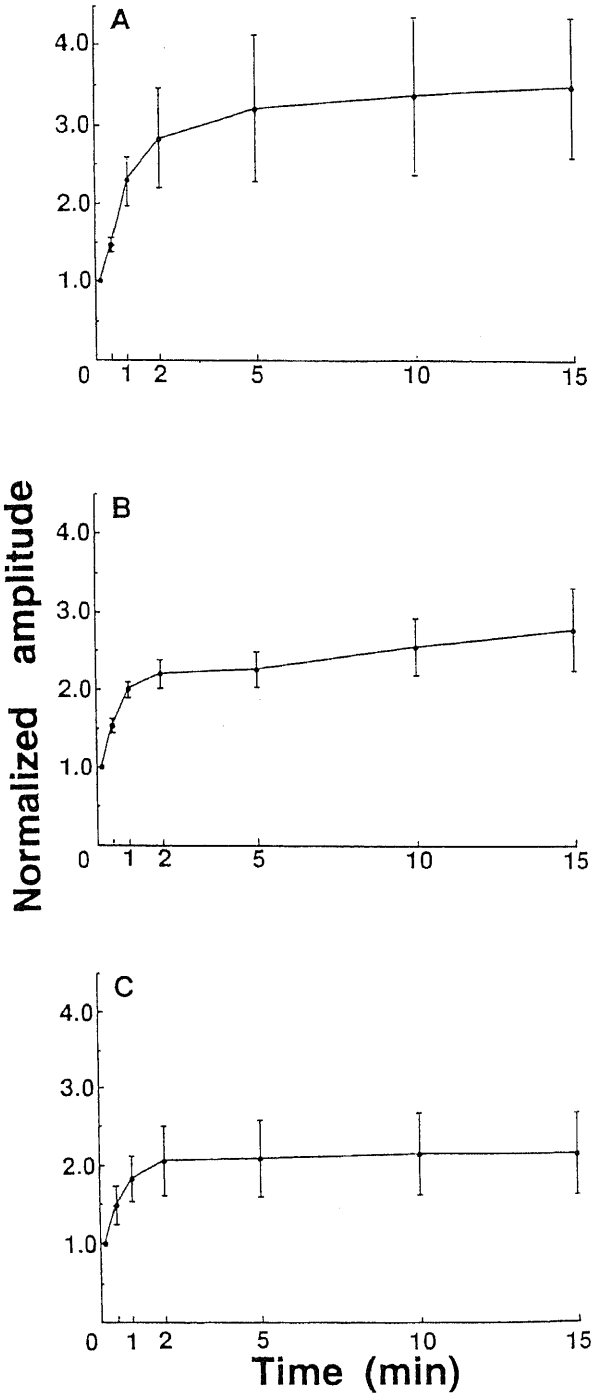


Fig. 19. Effects of an intravitreal injection of HAL (50 $\mu$M) on the increment phenomenon of the 30-Hz flicker ERG$_s$ in 6 rabbits. The other recording procedures were the same as in Fig. 9. The magnitude of the increment was not significantly smaller in the eyes after an intravitreal injection of HAL (C) ($2.15\pm0.52$) than in the eyes before injection (A) ($3.50\pm0.88$) ($0.05<p<0.1$) or after an intravitreal injection of the vehicle (0.5% lactate) (B) ($2.77\pm0.54$) ($0.25<p<0.5$).

入前における刺激開始10秒後の振幅 21.7, 17.9, 13.4, 13.4 および 12.6μV (15.8±3.5μV) に比べて増大していた．スルピリド注入後の漸増現象の程度は 1.22±0.16 (図15C) であり，注入前のそれ (1.75±0.49) (図15A) に比較して有意に小さかった (Student t-検定使用，危険率5%)．スルピリド注入眼における刺激開始15分後の振幅は5眼でそれぞれ 26.2, 28.4, 22.9, 16.2 および 23.9μV (23.5±4.1μV) であり，5眼それぞれの注入前における刺激開始15分後の振幅 29.6, 25.9, 29.5, 20.0 および 30.7μV (27.1±3.9μV) を5眼中4眼で越えなかった．すなわちスルピリドは刺激開始直後の振幅を増大させたので，漸増現象の程度を減弱させたといえる．

5．実験5：ハロペリドール硝子体内注入 (硝子体内推定濃度：20μM) による 30Hz フリッカー網膜電図の変化

ハロペリドールの硝子体内注入 (20μM) では，注入前に漸増現象が認められた (刺激光強度：角膜面 5.0×10 lux) (図16A左，図16B左)．注入前 (6眼) の漸増現象に関しては，刺激開始10秒後の振幅は 6.2±1.0μV，刺激開始15分後の振幅は 19.5±3.9μV であり，注入前 (6眼) における漸増現象の程度は 3.17±0.60 であった (図17A)．対照液注入後 (3眼) ではフリッカー網膜電図の振幅は刺激開始10秒後では 5.0±0.8μV であり，刺激開始15分後では 13.6±2.0μV であった．すなわち対照液注入後も漸増現象は認められ，その漸増現象の程度は 2.75±0.27 であり (図17B)，注入前の漸増現象の程度 (3.17±0.60) との間に有意な差はなかった (Student t-検定使用，危険率5%)．ハロペリドール (20μM) 注入後では，3眼でそれぞれ刺激開始10秒後の振幅は 5.3, 7.2 および 11.4μV (8.0±2.5μV) であり，3眼それぞれの注入前における刺激開始10秒後の振幅 5.7, 7.2 および 7.6μV (6.8±0.8μV) であった．ハロペリドール (20μM) 注入後の漸増現象の程度は 2.21±0.74 (図17C) であり，注入前のそれ (3.17±0.60) (図17A) および対照液注入後のそれ (2.75±0.27) (図17B) に比較して小さかったが，いずれの間にも有意な差はなかった (Student t-検定使用，危険率5%)．すなわち統計的には有意とは言えないがハロペリドール (20μM) は漸増現象の程度を減弱させる傾向を示したといえる．

6．実験6：ハロペリドール硝子体内注入 (硝子体内推定濃度：50μM) による 30Hz フリッカー網膜電図の変化

ハロペリドールの硝子体内注入 (50μM) では，注入前に漸増現象が認められた (刺激光強度：角膜面 5.0×10 lux) (図18A左，図18B左)．注入前 (6眼) の漸増現象に関しては，刺激開始10秒後の振幅は 6.4±0.6μV，刺激開始15分後の振幅は 22.2±4.5μV であり，注入前 (6眼) における漸増現象の程度は 3.50±0.88 であった (図19A)．対照液注入後 (3眼) ではフリッカー網膜電図の振幅は刺激開始10秒後では 7.0±0.6μV であり，刺激開始15分後では 19.1±2.5μV であった．すなわち対照液注入後も漸増現象は認められ，その漸増現象の程度は 2.77±0.54 であり (図19B)，注入前の漸増現象の程度 (3.50±0.88) との間に有意な差はなかった (Student t-検定使用，危険率5%)．ハロペリドール (50μM) 注入後では，3眼でそれぞれ刺激開始10秒後の振幅は 4.7, 8.6 および 6.7μV (6.7±1.6μV) であり，3眼それぞれの注入前における刺激開始10秒後の振幅 5.7, 6.1 および 6.1μV (6.0±0.2μV) であった．ハロペリドール (50μM) 注入後の漸増現象の程度は 2.15±0.52 (図19C) であり，注入前のそれ (3.50±0.88) (図19A) および対照液注入後のそれ (2.77±0.54) (図19B) に比較して小さかったが，いずれの間にも有意な差はなかった (Student t-検定使用，危険率5%)．すなわち統計的には有意とは言えないがハロペリドール (50μM) は漸増現象の程度を減弱させる傾向を示したといえる．

## 考　　察

網膜内のドーパミン作働性神経細胞の存在は，1963年に Häggendal と Malmfors[1] によりウサギにおいて初めて報告された．Ehinger ら[2] もキンギョやウサギにおいて網膜内におけるドーパミン作働性神経細胞の局在を報告した．またその後 Frederick ら[22] はヒトの網状層間細胞とアマクリン細胞の一部にもドーパミン作働性神経細胞が存在すると報告した．これらの知見により脊椎動物の冷血動物から哺乳類に至るまで網膜内ドーパミン作働性神経細胞の存在が証明され，ドーパミンはヒトの網膜においても神経伝達物質の一つであると現在考えられている．

本研究では網膜内ドーパミン作働性神経細胞の機能を検討するため，まずカエル摘出眼杯を用い，ドーパミン灌流による網膜電図変化を調べた (実験Ⅰ)．b波後半部［おそらく暗所視下で記録されるb波 (暗所視系b波，$b_s$波) がその主要構成成分と考えられる］は 10μM～1mM ドーパミンにより減弱した．10～100μM ドーパミンによりb波頂点潜時が短縮した．律動様小波，d波およびオフ小波は 1mM ドーパミンでは灌流初期に一過性に増大した後に次第に減弱したものの，10～100μM ドーパミンにより増大した．ドーパミンによる律動様小波およびオフ小波の増大は 10μM で最も顕著であった．またドーパミンによるb波の減弱と律動様小波の増大は特に弱刺激光で明らかであった．以上の結果から網膜電図成分に変化をきたす至適濃度と思われる 10μM のドーパミンは網膜電図の暗所視系成分と考えられるb波後半部 (おそらく $b_s$波) を減弱させ，主に明所視系成分と考えられる律動様小波，d波およびオフ小波を増大させる作用を有することが判明した．

次いで哺乳類網膜におけるドーパミンの上記の作用の有無を調べる目的で，ドーパミンの硝子体内注入が全身麻酔下ウサギの網膜電図におよぼす影響を検討した (実験Ⅱ)．ドーパミンの硝子体内注入 (50μM) により暗順応後において弱刺激光によるb波が著しく減弱し，その頂点潜時が短縮した．また強刺激光による律動様小波が増大し，カエル摘出眼杯でのドーパミン灌流実験 (実験Ⅰ) とほぼ同様の結果を得た．暗順応下での閃光刺激による網膜電図は暗所視系成分と明所視系成分を含むと考えられ，$b_s$波の頂点潜時が明所視下で記録されるb波 (明所視系b波，$b_p$波) のそれよりも長いことを勘案すれば，暗順応下での閃光刺激によるb波の前半部および後半部はそれぞれおもに $b_p$波および $b_s$波からなると考えられる．したがって暗順応後のカエル摘出眼杯および全身麻酔下ウサギの網膜電図におけるドーパミンによるb波頂点潜時の短縮は，b波後半部すなわち $b_s$波の減弱によると解釈される．この結果は，ウサギにおいてドーパミン作働剤のアポモルフィンによりb波後半部が選択的に減弱したという Jagadeesh ら[23] の報告に合致する．

以上，冷血動物と哺乳類動物の両者の網膜においてドーパミン投与により明順応負荷と同様の網膜電図変化が観察された．この結果は，網膜内において明順応によりドーパミンの合成酵素であるチロジン水酸化酵素の活性がたかまるという生化学的実験結果[24] に符合する．

ドーパミンおよびその作働剤の投与による網膜電図変化に関

してウサギ[25]，ツノザメ[26]，サンショウウオ[27]，ネコ[28]およびヒヨコ[29]におけるドーパミンによるb波減弱の報告がある．Shiells ら[26]はドーパミン投与により杆体系オン型双極細胞の光反応性が抑制されるのでb波が減弱すると述べた．本研究のカエル摘出眼杯および全身麻酔下ウサギの網膜電図におよぼすドーパミンの影響（実験Ⅰ，実験Ⅱ）およびアポモルフィンによるb波後半部減弱の報告[23]を併せ勘案すると，ドーパミン投与により $b_s$ 波の減弱で代表されるように暗所視系応答が抑制されると示唆される．

次いでドーパミン拮抗剤の網膜電図におよぼす影響を全身麻酔下ウサギを用いて検討した（実験Ⅱ）．$D_1$ 受容体および $D_2$ 受容体の拮抗剤であるハロペリドールの硝子体内注入（20$\mu$M）によりb波頂点潜時は調べたすべての刺激光強度（$5.0\times10^{-2}$～$5.0\times10^{3}$ lux）においてほとんど変化しなかったが，強刺激光照射によるb波および律動様小波が減弱した．あらかじめハロペリドール（20$\mu$M）注入によって減弱させられていた律動様小波は，ハロペリドール注入90分後にドーパミン（50$\mu$M）を追加注入することによって回復した．b波に関してはハロペリドールによりドーパミンによる変化とは明らかに逆の変化は得られなかったが，ハロペリドール注入によって律動様小波はドーパミン注入とは逆に減弱し，この現象の発現機序として律動様小波に対するドーパミンの効果がハロペリドールによって拮抗されることが示唆された．

ドーパミン拮抗剤の投与による網膜電図変化については，諸報告間で互いに相反する結果[30)~34)]がみられ未だ定見は得られていない．b波に関して，本研究の実験結果（$b_p$ 波の減弱）に近似する報告として，カエルにおいて30$\mu$M ハロペリドール灌流による $b_p$ 波減弱の報告[30]，サンショウウオにおいて 10$\mu$M～1mM ハロペリドール灌流によるb波減弱の報告[31]およびマウスにおいてハロペリドール腹腔内注射（5mg/kg）による $b_s$ 波および $b_p$ 波の減弱の報告[32]がある．一方，$10^{-7}$～$10^{-5}$g/ml ハロペリドール灌流による $b_p$ 波増大の報告（ウサギ）[33]およびハロペリドール硝子体内注入（0.2$\mu$mol）による $b_s$ 波増大の報告（ネコ）[34]もある．本研究においてもドーパミン拮抗剤の影響を調べるにあたり，ハロペリドール投与によりドーパミン投与による $b_s$ 波減弱と逆の結果が得られるのではないかと予測されたが，$b_s$ 波あるいは $b_p$ 波の増大は観察されなかった（図6A）．実験に用いた動物の飼育環境，実験前の順応条件あるいは薬剤の投与方法等を含めた実験手技の相違がこれら諸報告の結果の相違として表れているかもしれない．

他のドーパミン拮抗剤[35)40)]によるb波の変化についても，諸報告間でその結果は一様ではない．レセルピン静脈内投与（2mg/kg）によりb波が減弱したという報告（ウサギ）[35]，レセルピン筋肉内注射（1.7mg/kg）ではb波が変化しなかったという報告（ネコ）[36]および30$\mu$M メチルエルゴメトリン灌流によるb波増大（カエル）[30]の報告がある．またb波におよぼす $D_1$ 受容体拮抗剤の影響に関しては，フルフェナジン[37]および SCH-23390[38]によるb波変化の報告がある．ネコ摘出眼杯において20～500$\mu$M フルフェナジン動脈灌流は $b_s$ 波を増大させ[37]，ウサギにおいて SCH-23390 筋肉内注射はb波を減弱させた[38]という．b波におよぼす $D_2$ 受容体拮抗剤の影響に関しては，ヒトにおいてメトクロプラミド静脈内注射による $b_s$ 波減弱の報告[39]がある．SCH-23390 によるb波の減弱[38]の報告は同じくウサギを用いた本研究結果（図5A）には一致しないが，SCH-23390 の投与量，b波記録時の刺激光強度および記録されたb波の実波形の記載に欠けており，その結果に対する詳細な検討は困難である．

b波におよぼすドーパミン作働性神経細胞に対する神経毒の影響に関しては，6-ハイドロキシドーパミン[40)~42)]および N-メチル-4-フェニル-1,2,3,6-テトラハイドロキシピリジン（N-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydroxypiridine, NMPTP）[43]によるb波変化の報告がある．カエル[40]において 6-ハイドロキシドーパミン硝子体内注入（100$\mu$g）はb波を減弱させたが，ウサギ[41]およびネコ[42]において同薬剤の硝子体内注入（それぞれ 300$\mu$g[41]，20$\mu$g[42]）はb波を増大させたという．Olivier ら[41]による 6-ハイドロキシドーパミンの報告ではその 300$\mu$g 硝子体内注入ではb波は増大するが，その 1200$\mu$g 硝子体内注入ではb波は顕著に減弱しており，同薬剤の高濃度の投与ではその毒性による作用が強調されて発現すると考えられる．またウサギ[43]において NMPTP 静脈内投与（2mg/kg）後のごく早期にb波が増大したという．またドーパミンに対し拮抗的に作用する抗精神病薬であるクロルプロマジンによるb波変化の報告[33)44)~47)]がある．ネコ（15mg/kg 経口投与）[44]，イヌ（5～30mg/kg 経口投与）[45]およびヒツジ（1～10mg 静脈内投与）[46]において高濃度のクロルプロマジンはb波を減弱させたという．一方，ウサギ[33)47)]において低濃度のクロルプロマジンの静脈内投与（3～8mg/kg）[47]および灌流（$10^{-7}$～$10^{-5}$g/ml）[33]はいずれもb波を増大させたという．以上，ドーパミン作働性神経細胞に対して拮抗的に作用する神経毒および抗精神病薬の低濃度投与によりb波が増大したことは，ドーパミンによる $b_s$ 波減弱（図5A）に矛盾しない．

これまで種々の神経伝達物質が網膜電図の律動様小波におよぼす影響が検討されてきたが，それらはほとんど律動様小波を減弱させるか律動様小波に影響しないとされてきた．しかし本研究においてドーパミンが律動様小波を増大させることが明らかになった．ドーパミンの律動様小波におよぼす影響には，すでに Wachtmeister ら[27]によりサンショウウオの眼杯を用いた検討がなされ，彼女ら[27]は本研究結果とは逆に律動様小波をドーパミンは 100$\mu$M で減弱させ，10mM でほぼ消失させると報告した．ドーパミンに対する感受性の種差の可能性のほかに，彼女ら[27]が用いたドーパミン濃度は高いので，より低濃度でドーパミンを作用させれば本研究と同じ結果が得られた可能性がある．本研究においてもカエル眼杯で律動様小波をドーパミンは 10$\mu$M では増大させたが，1mM では灌流初期に一過性に増大させた後に次第に減弱させたことがその傍証となろう．また健康人にレボドーパを経口投与し律動様小波後半部の増大を認めたという報告[48]，ネコにおいてレセルピン筋肉注射により減弱した律動様小波後半部がレボドーパ静脈内投与により回復したという報告[36]もあり，ドーパミンは至適濃度において律動様小波を増大させると考えられる．

ドーパミン拮抗剤による律動様小波の変化に関しては，サンショウウオ[31]におけるハロペリドール，ウサギ[38]における SCH-23390，ウサギ[35]およびネコ[36]におけるレセルピンの投与による律動様小波減弱の報告がある．本研究結果（図6B）に示すように，ドーパミン拮抗剤は律動様小波を減弱させると概ね考えられる．本研究結果においてハロペリドール投与によりあらかじめ減弱していた律動様小波がドーパミン追加投与により回復したこともこの考えの傍証となろう．

充分な暗順応後に明順応を与えると網膜電図の明所視成分の

振幅が経時的に増大する現象（明所視系応答の漸増現象）は人眼[13)~15)]においても知られている．明所視系網膜電図応答の一つと考えられている陽性オフ応答も暗順応状態におけるより明順応下においてむしろ大きい振幅を示す[49)~51)]と報告されている．これらの現象の発現機序として暗順応下すなわち杆体系の活動状態下では錐体系機能が抑制され[52)]，明順応による杆体系機能の抑制とあいまって杆体系から錐体系への抑制が緩和されることによって明所視系網膜電図応答の振幅が増大する可能性が推測されている[16)]．Hood[53)]はカエル網膜において明順応により暗順応後の反復光刺激によるフリッカー網膜電図の振幅が増大することを報告し，この現象は明順応による錐体系機能の変化あるいは錐体系に働いていた何らかの抑制の解除によって発現すると示唆した．また，暗所下での網膜電図錐体系応答および明所下での網膜電図錐体系応答はいずれも暗順応により影響を受け，暗順応によって前者では頂点潜時が延長し，後者では振幅が減弱したとの報告[54)]もあり，これらの所見も杆体系から錐体系への抑制の存在を示唆する．

本研究を通じて，ドーパミンが単一刺激光による網膜電図の暗所視成分を減弱させ明所視成分を増大させることより，暗から明への切換えに伴う杆体系から錐体系への変換がドーパミンによって促されるのではないかとの仮説を立て，明所視系応答とされる30Hzフリッカー網膜電図の漸増現象におけるドーパミン受容体の関与を検討した．すなわち，ドーパミン，SCH-23390（選択的$D_1$受容体拮抗剤），フルフェナジン（$D_1$受容体拮抗剤），スルピリド（選択的$D_2$受容体拮抗剤）およびハロペリドール（$D_1$および$D_2$受容体拮抗剤）の硝子体内注入が全身麻酔下ウサギの30Hzフリッカー網膜電図におよぼす影響を検討した（実験Ⅲ）．その結果，ドーパミンの硝子体内注入（50$\mu$M）により刺激開始直後の30Hzフリッカー網膜電図振幅が増大し（図8B），漸増現象の程度が減弱する（図9C）ことを見出した．漸増現象の程度がドーパミンによって減弱した理由として，外因性ドーパミンがドーパミン受容体を介して明順応と同様の効果を部分的に発現させ，さらにフリッカー刺激中に生ずる明順応による本来の内因性ドーパミンの放出が抑制されたか，あるいは放出されたとしてもその作用が外因性ドーパミンにより隠蔽された可能性が考えられる．

杆体系神経回路網から錐体系神経回路網への抑制作用（杆体系ー錐体系抑制作用）は高頻度フリッカー刺激を用いて測定した心理物理的手法によっても示されている[55)~57)]．Alexanderら[56)]は中心窩外の錐体系の高頻度フリッカー光に対する自覚的感度は杆体系により影響を受けること，杆体系による高頻度フリッカー光感度抑制効果は暗順応状態において最大であり，その効果は杆体系活動を飽和しうる強度の背景光を与えた場合にのみ減ずると報告した．Ardenら[57)]も杆体系の錐体系に対する干渉現象が心理物理現象において存在することを報告した（後述）．杉田ら[58)]は杆体系ー錐体系抑制作用だけでなく，錐体系が活性化すると錐体系から杆体系への抑制作用が働くことを心理物理学的に明らかにし，ヒトにおける明順応経過中にみられる錐体系の感度上昇は杆体系からの抑制作用が弱まることに起因すると推論した．

脊椎動物の網膜におけるドーパミン作働性神経細胞はアマクリン細胞および網状層間細胞の2種類に大別される[4)]．前者は内顆粒層の最内層に細胞体の大部分を位置する（神経節細胞層に位置する場合もある）無軸索の神経細胞であり，すべてのシナプス出力を内網状層に送っており，調べた限りの全脊椎動物に認められるという[59)]．一方，後者（網状層間細胞）はEhinger[60)]により魚類で初めて報告された神経細胞で，その細胞体は前者と同じく内顆粒層の最内層に位置するが外網状層にも伸びる軸索様突起を有するという特徴を有する[59)]．網状層間細胞は内網状層ではアマクリン細胞との間に出入力ともにシナプス結合を形成するが，外網状層においては水平細胞や双極細胞に対してシナプス結合を介し入力のみを与えており，内網状層から外網状層，水平細胞層へのフィードバック回路を形成するという[4)]．アマクリン細胞と異なり，ドーパミン作働性網状層間細胞は硬骨魚目および哺乳類のみにその存在が証明されている[59)]．ウサギ，イタチおよびハトの網膜ではドーパミン作働性網状層間細胞の存在は報告されていないが，イタチ[61)]およびウサギ[61)]においては外網状層にドーパミンの合成酵素であるチロジン水酸化酵素によって標識される突起が認められており，これらの動物の網膜においてもドーパミン作働性神経細胞が存在する可能性はあると考えられる．一方，ラット[62)]，ネコ[63)]およびヒト[22)]の網膜においてもドーパミン作働性網状層間細胞の存在が報告されているが，外網状層における形態学的所見によるとその数は硬骨魚目に比して疎らである[22)62)63)]．

網膜内のドーパミン作働性神経細胞の数は，網膜内の他の主要な神経伝達物質を含有する神経細胞の数に比して少ないとされる[4)]．ドーパミン作働性神経細胞の網膜内密度は50cells/mm$^2$を越えることは稀で，その細胞総数はネコとウサギにおいては1眼当り5,000以下であり，網膜におけるコリン作働性アマクリン細胞の密度と総数の約50分の1に過ぎない[61)]．Oysterら[61)]はチロジン水酸化酵素を標識することによってネコおよびウサギの網膜のドーパミン作働性神経細胞の密度を定量し，最大で20～25cells/mm$^2$，最小で5～10cells/mm$^2$であると報告した．その他ハトおよびウサギ網膜においてドーパミン作働性アマクリン細胞の数は全アマクリン細胞数のそれぞれ約0.5%[4)]，1%未満[64)]に過ぎないとの報告もある．

網膜におけるドーパミン作働性アマクリン細胞は上記のごとくその分布密度は疎らであるが，広い受容野を有する[64)65)]．またドーパミン作働性神経細胞と他の神経細胞との網膜内シナプス結合に関しては，ドーパミン作働性アマクリン細胞は他のアマクリン細胞のみならず，錐体双極細胞の一種である巨大二層性双極細胞（giant bistratified bipolar cell）からも入力を受ける[65)]と報告されている．通常の錐体双極細胞が1～7個の錐体より入力を受けるのに比し，この細胞は約20個の錐体から入力を受けており[66)]，この知見はドーパミン作働性アマクリン細胞が機能し始める閾値光量が低いことを示唆する．またドーパミン作働性アマクリン細胞およびドーパミン作働性網状層間細胞が出力を送る細胞としてAⅡアマクリン細胞[67)]，水平細胞[2)]および他のドーパミン作働性アマクリン細胞[2)]等が知られている．AⅡアマクリン細胞は杆体双極細胞から神経節細胞への伝達を中継する杆体系の主要な神経細胞であることがネコ[68)]で明らかにされ，またAⅡアマクリン細胞が陥入性（invaginating）錐体双極細胞との間にギャップ結合を有することが示されており[65)68)]，網膜内層においても杆体系神経細胞から錐体系神経細胞への伝達経路の存在が形態学的に実証されている．

ドーパミン作働性神経細胞の網膜内水平密度分布については，一般に杆体優位の動物では後極部網膜にドーパミン作働性神経細胞が多く存在する[69)]が，霊長類では中心窩の3mm周辺

側に密に存在し[70]，その分布は杆体系細胞とくにAⅡアマクリン細胞の分布に対応するのではないかと示唆されている[69]．錐体のみの中心窩にはドーパミン作働性神経細胞が欠如するという報告[70]をも勘案すると，ドーパミン作働性神経細胞は組織学的に杆体系に密接な関係を有する可能性が高い．

魚類網膜においてドーパミンが水平細胞の受容野の大きさを変化させることは，Negishi ら[71]により初めて報告された．その後 Piccolino ら[72]によって，カメ網膜においてもドーパミンが水平細胞間のギャップ結合を脱結合することにより個々の水平細胞の受容野を狭めることが報告された．このようなドーパミンの効果は，水平細胞膜に存在する $D_1$ 受容体を介して cAMP 経路が活性化することによって発現することが示された（カメ[72]，コイ[10]）．すなわちドーパミンは水平細胞間の電気的連結を減弱させ，水平細胞応答の領域を狭め，光応答S電位の側方波及を抑制する[10)71)72)]という．

ドーパミン受容体にはアデニル酸シクラーゼを介して細胞内へ信号を伝達する $D_1$ 受容体とアデニル酸シクラーゼを介さない $D_2$ 受容体があることが知られている[73)74)]．中枢神経系におけるドーパミン系の生理学作用は主に $D_2$ 受容体を介するとされており[75]，動物の行動に対する静穏剤やドーパミン作働剤の効果は $D_2$ 受容体を介することが示唆されている[76]．網膜においても $D_1$ 受容体および $D_2$ 受容体が存在する[73)74)77)]ことが報告されている．$D_1$ 受容体と $D_2$ 受容体の網膜における分布は不均等であることが知られている[7]が，Tran ら[78]は $^3$H-SCH-23390 と $^3$H-スピペロンを用いたオートラジオグラフィーによりラット網膜のドーパミン受容体の局在を調べ，$D_1$ 受容体は内網状層や内顆粒層を含む網膜内層に集中して存在し，視細胞層および外顆粒層には存在しないこと，$D_2$ 受容体は視細胞の内節，外節および外顆粒層に優位に局在するが，網膜内層にも低いレベルではあるが存在すると報告した．また $D_2$ 受容体はさらに $D_2$, $D_3$, $D_4$ の3種類の亜型に分類されるが，ラットの視細胞で標識された $D_2$ 受容体は $D_4$ 亜型に類似した構造を有し，視細胞で $D_4$ 亜型を介した作用が発現する可能性が示唆されている[78]．

網膜に明順応を与えると錐体細胞の内節ミオイドが収縮し，杆体細胞が伸展し，網膜色素上皮細胞内の色素顆粒がアピカル突起側に散乱すること，逆に暗順応を与えると錐体内節ミオイドが伸展し，杆体細胞が収縮し，網膜色素上皮細胞内の色素顆粒がベーサル側に移動することが知られており，この現象は網膜運動性ムーブメント（retinomotor movement）と呼ばれている[79]．この現象は周囲の光条件に応じた視細胞レベルでの杆体系と錐体系の切換えに関与すると考えられる．この現象の発現機序に関する研究は硬骨魚目において進んでおり，錐体内節ミオイドの収縮・伸展が $D_2$ 受容体を介して生ずることが明らかになった[7]．このことはドーパミンのカメおよび魚類における水平細胞の細胞間結合に対する効果が $D_1$ 受容体を介して発現する[10)72)]こととは対照的である．

硬骨魚目の網膜では外網状層と網膜色素上皮のアピカル突起の間の距離は 50$\mu$m とされている[80]が，ドーパミンは外網状層から錐体，杆体および網膜色素上皮細胞の $D_2$ 受容体までの細胞間隙を拡散により到達可能であると考えられている[80]．魚類[10]，カメ[72]およびツメガエル[80]の網膜においてはドーパミンは水平細胞のギャップ結合を修飾することが知られているが，カメ[72]およびツメガエル[80]においてはドーパミン作働性網状層間細胞の存在は認められておらず，ドーパミンは内網状層のアマクリン細胞から水平細胞までの間を拡散によって到達するのではないかと考えられている[80]．

ドーパミンによる水平細胞間の電気的連結の減弱作用は $D_1$ 受容体を介して発現することが明らかになったが，$D_2$ 受容体も何らかの形で $D_1$ 受容体を介する作用に干渉すると考えられている．カメ網膜において $D_2$ 受容体は水平細胞およびドーパミン作働性神経細胞の細胞膜に存在するという報告[72]もあり，ドーパミン作働性神経細胞の軸索終末に存在する $D_2$ 受容体の活性化は負帰環を介して内因性ドーパミンの放出を抑制する[81]か，あるいは $D_2$ 受容体の活性化により cAMP の合成が抑えられ水平細胞間の電気的連結はむしろ強まる可能性[81]も提示されている．

充分な暗順応後に明順応進行中におこる明所視系網膜電図応答の漸増現象（明所視系応答の漸増現象）は以前より知られている[13)~16)]．この現象の発生に係わる機序としては，明順応による1）杆体系ー錐体系抑制作用の解除[53)82)]，2）杆体または杆体系とは無関係に生ずる錐体自体の変化[83]，3）網膜色素上皮層の変化[15]等が仮説として挙げられている．1）の機序を考える根拠として，Granit[84]は明所視系応答の漸増現象がカエルのような錐体と杆体の混合網膜において著明であるがハトのような錐体優位網膜では現れないことを挙げている．一方，Mackay ら[83]は錐体細胞内の cGMP の変化により生ずる錐体細胞の再脱分極によってこの現象が起こると述べ，2）の機序を提唱した．彼ら[83]によると，錐体細胞の膜電位は暗順応下では脱分極しているが明順応開始直後は著しく過分極するため明所視系網膜電図の振幅は小さくなり，明順応が進行するに伴い膜電位が再び脱分極方向に傾くためその振幅が増大するという．彼ら[83]は明所視系網膜電図の振幅の刺激光強度曲線が明順応に伴い急峻になることに注目し，血液中の cGMP が高値を示す特異な錐体変性症の一種において同曲線が著しく急峻であることを報告し[85]，この膜電位の変化は錐体細胞内の cGMP の変化によると推論した．Granit[84]も1）の機序以外にも考えられる機序として錐体自体の明順応による変化を挙げている．さらに Hood[53)82)]はカエル遊離網膜および全身麻酔下のカエルでこの現象を検討し，Granit[84]による二つの仮説（上記1）および2））が双方ともこの現象に関与しうると述べた．一方，Armington[86]は眼球の常存電位の変化がこの現象に関与すると考え，3）の機序を提唱した．彼[86]によると，暗順応下では低下していた眼球の常存電位が明順応により増大するため，明所視系網膜電図の振幅はこの常存電位の増大化とともに変化するという．

明所視系応答の漸増現象が2）の機序によるとすればハトのような錐体優位網膜では明順応中の網膜電図明所視成分の振幅増大が起こらない[84]ことを説明できないので2）の機序は考えにくく，さらに網膜色素上皮を除去したコイ遊離網膜においても明順応経過中における網膜電図明所視成分振幅の経時的増大が生じた[84]ことから，3）の機序によるとも考えにくく，現在に至るまで1）の機序を否定するような実験結果は著者の知る限り報告されていない．

以上より明所視系応答の漸増現象の発現には杆体系ー錐体系抑制作用が関与すると考えられるが，この機序における杆体系ー錐体系抑制作用の性質は Arden ら[57]が報告した杆体系の錐体系に対する干渉現象のそれとは異なる可能性がある．彼ら[57]によれば杆体系の錐体系に対する干渉現象は瞬間的に生じ非常

に弱い光で誘発され，本研究で使用したような網膜全面刺激では生じないという．また網膜中層の疾患であるある種の先天性停止性夜盲や先天性網膜分離症ではその現象が消失するという[57]．これに対して本研究で観察された明順応経過中の明所視系成分の増大現象は10分間程度の緩徐な経過をとり，網膜全面刺激で生じた（図8）．

三宅ら[88]およびMiyakeら[89]はヒトにおける漸増現象について，正常者では明順応開始後約10分において開始後1分での時点の振幅に比して約168%の振幅増大が，杆体系神経細胞活動が残存していると考えられている先天性停止性夜盲不全型ではさらに著しい振幅増大（13例の平均で約295%）が認められることを報告した．三宅ら[88]が示した漸増現象の時間経過は緩やかであり，本研究で観察された30Hzフリッカー網膜電図の漸増現象のそれに近似している．また網膜内ドーパミン合成酵素の明順応経過中の変化も明順応経過中の網膜電図振幅の漸増現象の時間経過に近似するとの報告がある[90]．

ヒトにおいて明所視系応答の漸増現象はあらかじめ充分に暗順応を与えた眼を明順応する過程に生じ，前暗順応を与えない眼を明順応しても生じない[16]ことから，この現象を誘発するには明順応開始前の充分な暗順応が必要である[16]．錐体系暗順応がほぼ完了するKohlraushの屈曲点の時点と，充分に暗順応を施行して杆体系暗順応が完了した時点の二つの順応状態を前順応としてそれぞれ明順応進行中に網膜電図を記録すると，後者の時点から明順応を開始した場合で振幅増大率が大きく，杆体系機能の回復がこの現象をより増強する可能性が示された[91]．これら二つの時点における明順応開始直後の明所視系応答の振幅は後者では前者に比して小さく，したがって暗順応によってより抑制されているとも解釈でき[91]，杆体系の活動状態がこの現象に関与すると考えられる[91]．

堀口ら[87]はコイ遊離網膜においても明順応経過中における明所視系成分振幅の漸増現象が認められることを報告した．遊離網膜では明順応を一旦完了させ杆体視物質を褪色させると，再び暗順応を行っても杆体視物質は再生されない[52][53]が，錐体視物質は再生されることが知られている[92]．明順応およびそれに続く暗順応を与えて錐体視物質だけが再生された状態に設定したコイ遊離網膜において，再び明順応を行い明所視系網膜電図を経時的に記録した場合ではもはや漸増現象は生じなかったという[87]．三宅ら[88]はこれらの実験結果[16][87][91]より，明所視系応答の漸増現象には杆体系機能が関与すると述べている．

哺乳類網膜では錐体視細胞と杆体視細胞の間に多くのギャップ結合が存在することが報告されている[93]．哺乳類網膜の水平細胞においても杆体と錐体の両細胞からのシナプス形成が存在するとの報告もある[94]~[97]．カメ網膜においては杆体からの抑制が水平細胞を介して錐体にフィードバックすることも知られている[98]~[100]．このような形態学的知見から，杆体系－錐体系抑制作用の機序の一つとして内網状層からのフィードバックを介した緩徐な水平細胞からの順応制御[101][102]や，水平細胞からのγ-アミノ酪酸（γ-aminobutyric acid, GABA）による錐体への抑制[103]が関与している可能性が指摘されている．Wuら[103]によると，コイ網膜において暗順応下ではGABAが絶えず水平細胞より錐体細胞に放出されるため錐体は過分極し，その光に対する感度が抑制され，明順応が開始されるとGABAの放出は停止するがその直後ではGABAの影響が残っており錐体の応答は小さく，明順応が進むに伴いGABAの影響が消失し錐体の応答が増大するという．しかし水平細胞の活動はアスパラギン酸ソーダにより抑制されるので，アスパラギン酸によって分離された錐体視細胞電位では明順応進行に伴う振幅の増大は少なくなるという[103]．

視細胞機能は保存されるが水平細胞を含む網膜内層が強く障害される網膜中心動脈閉塞の片眼性の症例においても明所視系応答の漸増現象は認められる[91]が，その増大率は健眼のそれに比して小さいという報告[91]，コイにおいてアスパラギン酸ソーダ処理による視細胞電位（PⅢ）分離網膜でも明所視系応答の漸増現象は認められる[87]が，その増大率は非処理網膜のそれに比して小さいという報告[87]を勘案すれば，この現象の発現機序の少なくとも一部に水平細胞も含めて網膜内層の関与があると考えられる．

本研究において選択的$D_2$受容体拮抗剤（スルピリド）投与によってドーパミン投与と同様に刺激開始直後の30Hzフリッカー網膜電図振幅は増大し（図14B），漸増現象の程度は減弱し（図15C），また$D_1$受容体拮抗剤（SCH-23390，フルフェナジン）投与により刺激開始直後の30Hzフリッカー網膜電図振幅は減弱し（図10B），漸増現象の程度は増大する結果を得た（図11C）．これらの結果は，$D_1$受容体刺激が杆体系－錐体系抑制作用を解除させ，$D_2$受容体刺激が$D_1$受容体を介する作用を抑制する[81][104]と仮定することにより説明されうる．すなわち$D_1$受容体拮抗剤注入眼においては内因性ドーパミンが$D_1$受容体に対して作用しにくいために杆体系－錐体系抑制作用が解除されにくく，刺激開始直後の振幅が対照眼に比し小さくなり，また$D_2$受容体拮抗剤注入眼においては$D_2$受容体を介する機構が拮抗されているので相対的な$D_1$受容体を介する機構の亢進状態による杆体系－錐体系抑制作用の解除，そしてドーパミン注入眼においてはドーパミンの$D_1$受容体刺激作用による杆体系－錐体系抑制作用の解除により，刺激開始直後の振幅が増大したと説明することが可能である．

ドーパミン作働性神経細胞（アマクリン細胞あるいは網状層間細胞）は広い受容野を有するものの網膜中の神経細胞のごく少数を占めるに過ぎず[64][65][105]，全網膜領域に比較的均等に低密度で分布する[65][105]ことから，この細胞は網膜内の解像処理よりむしろ網膜全体の神経回路網の機能の制御にたずさわる可能性が高いと考えられる．またドーパミン作働性神経細胞の分布が杆体系細胞とくにAⅡアマクリン細胞の分布に近似し[69]，ドーパミン投与により生理学的に明順応に類似した水平細胞間結合の変化[71][72]，網膜運動性ムーブメントの変化[7][80]，単一光刺激に対する網膜電図波形の変化がみられること（実験Ⅰ，実験Ⅱ），さらに杆体系－錐体系抑制作用にドーパミンが関与すること（実験Ⅲ）等から，ドーパミン作働性神経細胞は網膜内において環境の光条件に応じて機能する神経回路網を杆体系から錐体系へと変換させる役割を担うものと考えられる．

ドーパミン作働性網状層間細胞が多数存在することが確認されている[59]コイ網膜では，ドーパミンは水平細胞間のギャップ結合を脱結合させ個々の水平細胞の受容野を狭めることにより，またドーパミン作働性網状層間細胞が存在しないかあるいは乏しい動物種の網膜では，内網状層レベルにおいてAⅡアマクリン細胞と錐体双極細胞との間のギャップ結合を脱結合させることにより，杆体系および錐体系に何らかの機能的変化をもたらすと考えられる．すなわち前者網膜においてはドーパミンは杆体からの入力を受ける水平細胞[4][106]の細胞間の電気的結合

を解離させる[4)10)]ことにより，杆体系応答の空間的加算を減弱させうる．したがって杆体系応答が減弱し，杆体からの入力により水平細胞から錐体へ作用していた抑制が解除され，明所視系応答が増大する（図２，３，４および５Ｂ）という可能性が考えられる．一方，後者網膜においてはドーパミン作働性アマクリン細胞はＡⅡアマクリン細胞に対して抑制性シナプスを形成しており[67)]，ドーパミンはＡⅡアマクリン細胞に作用することによって杆体双極細胞と神経節細胞との間の接続を妨げうる．これにより杆体系応答が減弱する．さらにＡⅡアマクリン細胞と錐体双極細胞との間のギャップ結合をはずすことにより，杆体系から錐体系へ作用していた抑制が減じて明所視系応答が増大するという可能性が考えられる．

本研究を通じて漸増現象の変化を介してとらえた杆体系－錐体系抑制作用がドーパミンが $D_1$ 受容体に作用することによって解除されるという実験事実（実験Ⅲ）および $D_1$ 受容体は網膜内では主に網膜内層に分布する[78)]という組織化学的研究結果も併せ考察すると，外因性ドーパミンはＡⅡアマクリン細胞膜あるいは水平細胞膜に存在すると考えられる $D_1$ 受容体に作用することによって杆体系を抑制し，その結果杆体系－錐体系抑制作用を減弱させるために明所視系網膜電図である 30Hz フリッカー網膜電図の振幅が明順応とともに漸増するという仮説が最も妥当と思われる．

以上を要約すれば，暗から明への変換によってドーパミンの合成[24)]・放出[107)]がたかまり，ドーパミン作働性神経細胞から放出されるドーパミンが上記の経路を介して杆体系を抑制することにより暗時に作用していた杆体系から錐体系への抑制が解除され，明所視系網膜電図が増大するという仮説が提唱される．

網膜内で機能する杆体系－錐体系抑制作用を間接的に表す漸増現象に対するドーパミン拮抗剤の効果は一元的には説明され難く，特定の網膜構成細胞における $D_1$ 受容体系・$D_2$ 受容体系のバランスのみならず網膜内ドーパミン作働性神経細胞の入力を受ける多数の細胞が関与していると考えられる．この漸増現象の程度がドーパミンおよび $D_2$ 受容体拮抗剤により減弱し（図９Ｃ，図15Ｃ），$D_1$ 受容体拮抗剤により増大した（図11Ｃ，図13Ｃ）という本研究結果より，ウサギの 30Hz フリッカー網膜電図における漸増現象の発現にドーパミン作働性神経細胞が関与し，ドーパミン受容体のうちでも $D_2$ 受容体を介する機構よりも $D_1$ 受容体を介する機構が主体であると推論される．

ドーパミン作働性神経細胞の失調をきたす代表的疾患にパーキンソン病がある．Jaffe ら[108)]はパーキンソン病患者の網膜電図を調べ，病期が進行すれば全般的に網膜電図が減弱する症例が多く，また網膜電図の減弱した患者にレボドーパを静脈内投与すると律動様小波を含めて網膜電図が回復する例があると報告した．実験的糖尿病ラットの網膜において高血糖自体がドーパミン代謝異常を惹起すること[109)]，律動様小波の細胞起源として内顆粒層付近の神経細胞とりわけアマクリン細胞が深く関与すると考えられていること[110)]およびドーパミンがアマクリン細胞の神経伝達物質の一つであること[6)]を勘案すると，極めて早期より律動様小波の異常をきたす糖尿病[111)]において，ドーパミンの代謝異常が律動様小波の異常として鋭敏に検出される可能性があると推論される．Cao ら[112)]はウサギにおいて高眼圧負荷による網膜血流量低下がドーパミンの網膜内代謝を可逆的に抑制したと報告しており，糖尿病においても網膜内ドーパミン合成低下による網膜内層の神経細胞の機能失調の影響のほかに，網膜内層の神経細胞の循環不全による間接的なドーパミンの網膜内代謝障害も加味されて律動様小波の異常が発現することが示唆される．

以上，本研究において網膜電図におよぼすドーパミンの影響を検討し，網膜内のドーパミン作働性神経細胞は少数であるにもかかわらず，ドーパミンが広範囲の網膜から誘起される集積電位としての網膜電図を大きく変化させ，網膜内ドーパミン作働性神経細胞は暗所視系抑制作用および明所視系賦活作用を有すると推論された（実験Ⅰ，実験Ⅱ）．また 30Hz フリッカー網膜電図の漸増現象をドーパミンおよびその拮抗剤の試みた限りのいずれもが変化させることが本研究（実験Ⅲ）より明らかになり，ドーパミンの $D_1$ 受容体刺激による杆体系－錐体系抑制作用の解除が漸増現象の発現に関与する可能性が高いことが判明した．本研究は，脊椎動物網膜内におけるドーパミン作働性神経細胞の機能の一端を明らかにし，明順応に伴う明所視系網膜電図の漸増現象の発現機序に新知見を加えたものと考えられる．

## 結　　論

カエル摘出眼杯においてドーパミン灌流が網膜電図におよぼす影響を検討した．全身麻酔下ウサギにおいてドーパミンおよびハロペリドールの硝子体内注入が網膜電図におよぼす影響についても検討した．さらに全身麻酔下ウサギにおいてドーパミンおよびその拮抗剤（SCH-23390，フルフェナジン，スルピリドおよびハロペリドール）の硝子体内注入が 30Hz フリッカー網膜電図におよぼす影響についても検討し，以下の結論を得た．

１．カエルにおいて 1, 10, 100$\mu$M および 1mM ドーパミン灌流により暗順応下のｂ波後半部および赤色背景光下の２峰に分かれたｂ波の後峰（おそらく $b_3$ 波）が減弱した．律動様小波，ｄ波およびオフ小波は 10～100$\mu$M ドーパミン灌流により増大したが，1mM ドーパミンでは灌流早期に一過性に増大した後に次第に減弱した．10$\mu$M ドーパミンによるｂ波の減弱と律動様小波の増大は弱刺激光で明らかであった．10～100$\mu$M ドーパミンは暗所視系応答と考えられるｂ波後峰を減弱させ，薄明視系ないし明所視系応答と考えられる律動様小波，ｄ波およびオフ小波を増大させる作用を有することが判明した．

２．ウサギにおいてドーパミン硝子体内注入（50$\mu$M）は弱刺激光による $b_3$ 波を減弱させ，その頂点潜時を短縮させたが，反復強刺激光による律動様小波を増大させた．

３．ウサギにおいてハロペリドール硝子体内注入（20$\mu$M）は $b_3$ 波および律動様小波をともに減弱させた．あらかじめハロペリドール（20$\mu$M）注入によって減弱させられていた律動様小波はドーパミン（50$\mu$M）を追加注入することによって回復した．ドーパミン（50$\mu$M）とハロペリドール（20$\mu$M）の同時硝子体内注入は，ｂ波を若干減弱させ律動様小波を強く減弱させるというハロペリドール単独注入と類似の変化を呈した．すなわちドーパミンは哺乳類網膜においても暗所視系応答を抑制し，明所視系応答を増大させた．以上の結果よりカエルおよびウサギ網膜においてドーパミンは暗時に作用していた杆体系－錐体系抑制作用を解除することによって明所視機能を促進する可能性が指摘された．

４．ウサギにおいてドーパミン硝子体内注入（50$\mu$M）は光刺激開始直後の 30Hz フリッカー網膜電図の振幅を増大させ，漸

増現象の程度を減弱させ，ドーパミンが暗所視系から明所視系への抑制の解除に関与すると推論された．

5．ウサギにおいてスルピリド（選択的 $D_2$ 受容体拮抗剤）硝子体内注入（50$\mu$M）はドーパミンと同様に光刺激開始直後の30Hz フリッカー網膜電図の振幅を増大させ，漸増現象の程度を減弱させた．ハロペリドール硝子体内注入（20$\mu$M および50$\mu$M）は漸増現象の程度を減弱させる傾向を示した．SCH-23390（選択的 $D_1$ 受容体拮抗剤）硝子体内注入（20$\mu$M）およびフルフェナジン（$D_1$ 受容体拮抗剤）硝子体内注入（50$\mu$M）はいずれも光刺激開始直後の 30Hz フリッカー網膜電図の振幅を減弱させ，漸増現象の程度を増大させた．

6．明順応に伴う明所視系網膜電図の漸増現象の発生機序として杆体系ー錐体系抑制作用の解除の関与が有力視され，$D_1$ 受容体刺激が杆体系ー錐体系抑制作用を解除させると仮定することによりドーパミンおよびその拮抗剤による漸増現象の変化を説明することが可能であるから，30Hz フリッカー網膜電図における漸増現象の発現にはドーパミン作働性神経細胞が関与し，さらに $D_2$ 受容体よりも $D_1$ 受容体を介する機構が漸増現象を惹起すると推論された．

7．本研究において網膜内の神経伝達物質の一つであるドーパミンが網膜電図を大きく変化させることが明らかとなり，ドーパミンは暗所視系抑制作用および明所視系賦活作用を有すると推論された．本研究は網膜内ドーパミン作働性神経細胞の機能の一端を明らかにし，明所視系網膜電図の漸増現象の発現機序に新知見を加えたものと考えられる．

## 謝　辞

稿を終えるに臨み，終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜りました恩師河崎一夫教授に深甚の謝意を捧げます．御助言と御教示を賜りました白尾　裕助教授および田村敏博博士に深謝いたします．本研究遂行に御協力下さいました佐々木次壽学士，河原崎正裕学士，東出朋巳学士，小林顕学士および田川茂樹学士に感謝いたします．また実験器具，固定装置等の作製に御協力下さいました本学工作係水野清澄技官に感謝いたします．

## 文　献

1) **Häggendal, J. & Malmfors, T.**: Evidence of dopamine-containing neurons in the retina of rabbit. Acta Physiol. Scand., **59**, 295-296 (1963).

2) **Ehinger, B. & Nordenfelt, L.**: Destruction of retinal dopamine-containing neurons in rabbit and goldfish. Exp. Eye Res., **24**, 179-187 (1977).

3) **Ehinger, B.**: Neurotransmitter systems in the retina. Retina, **2**, 305-321 (1982).

4) **Ehinger, B.**: Functional role of dopamine in the retina. *In* N. N. Osborne & G. J. Chader (eds.), Progress in Retinal Research, 1st ed., p213-232, Pergamon Press, Oxford, 1983.

5) **Dowling, J. E.**: Dopamine: a retinal neuro-modulator? Trends. Neurosci., **9**, 236-240 (1986).

6) **Dowling, J. E. & Ehinger, B.**: Synaptic organization of the amine-containing interplexiform cells of the goldfish and cebus monkey retinas. Science, **188**, 270-273 (1975).

7) **Dearry, A. & Burnside, B.**: Dopaminergic regulation of cone retinomotor movement in isolated teleost retinas. I. Induction of cone contraction is mediated by $D_2$ receptors. J. Neurochem., **46**, 1006-1021 (1986).

8) **Dearry, A. & Burnside, B.**: Dopaminergic regulation of cone retinomotor movement in isolated teleost retinas. II. Modulation by $\gamma$-aminobutylic acid and serotonine. J. Neurochem., **46**, 1022-1031 (1986).

9) **Dearry, A. & Burnside, B.**: Regulation of teleost retinomotor movements by cyclic AMP, calcium and dopamine. *In* P. J. O'Brien & D. C. Klein (eds.), Pineal and Retinal Relationship, 1st ed., p57-91, Academic Press, New York, 1986.

10) **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).

11) **Saller, C. F.**: Glucose suppresses basal firing and haloperidol-induced increases in the firing rate of central dopaminergic neurons. Science, **210**, 1269-1271 (1980).

12) **Da Prada, M.**: Dopamine content and synthesis in retina and n. accumbens septi.: Pharmacological and light-induced modifications. *In* E. Costa & G. L. Gessa (eds.), Advances in Biochemical Psychopharmacology, 1st ed., p311-319, Raven Press, New York, 1977.

13) **Kawabata, H.**: Course of the potential change in the human electroretinogram during light adaptation. J. Opt. Soc. Am., **50**, 456-461 (1960).

14) **Burian, H.**: Electric responses of the human visual system. Arch. Ophthalmol., **52**, 509-524 (1954).

15) **Armington, J. C. & Biersdorf, W. R.**: Long-term light adaptation of the human electroretinogram. J. Comp. Physiol. Psychol., **51**, 1-5 (1958).

16) **三宅養三，堀口正之，矢ケ崎克哉**：明順応下の人眼錐体系 ERG の増幅現象，(1)正常者と網膜色素変性症．日眼会誌，**90**, 1102-1109 (1986).

17) **Dowling, J. E. & Ehinger, B.**: The interplexiform cell system. I. Synapses of the dopaminergic neurons of the gold fish retina. Proc. R. Soc. Lond. B., **201**, 7-26 (1978).

18) **Ehinger, B.**: Biogenic monoamines as transmitters in the retina. *In* S. L. Bonting (ed.), Transmitters in the Visual Process, 1st ed., p145-163, Pergamon Press, New York, 1976.

19) **Ehinger, B., Falck, B. & Laties, A. M.**: Adrenergic neurons in the teleost retina. Z. Zellforsch., **97**, 285-297 (1969).

20) **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).

21) **米村大蔵，河崎一夫**：律動様小波とその臨床．眼科 Mook 14．眼と電気生理（三島済一，塚原勇，植村恭夫編），第1版，59-70 頁，金原出版社，東京，1980.

22) **Frederick, J. M., Rayborn, M. E., Laties, A. M., Lam, D. M. K. & Hollyfield, J. G.**: Dopaminergic neurons in the human retina. J. Comp. Neurol., **210**, 65-79 (1982).

23) **Jagadeesh, J. M. & Sanchez, R.**: Effects of apomorphine on the rabbit electroretinogram. Invest. Ophthalmol. &

Visual Sci., 21, 621-625 (1981).

24) **Iuvone, P. M., Galli, C. L., Garrison-Gund, C. K. & Neff, N. H.**: Light stimulates tyrosine hydroxylase activity and dopamine synthesis in retinal amacrine neurons. Science, **202**, 901-902 (1978).

25) **Starr, M. S.**: The effects of various amino acids, dopamine and some convulsants on the electroretinogram of the rabbit. Exp. Eye Res., **21**, 79-87 (1975).

26) **Shiells, R. A. & Falk, G.**: Dopamine hyperpolarizes and reduces the light responses of rod on-centre bipolar cells in the retina of the dogfish, Scyliorhinus Canicula. Neurosci. Lett., **55**, 331-336 (1985).

27) **Wachtmeister, L. & Dowling, J. E.**: The oscillatory potentials of the mudpuppy retina. Invest. Ophthalmol. & Visual Sci., **17**, 1176-1188 (1978).

28) **Dawis, S. M. & Niemeyer, G.**: Dopamine influences the light peak in the perfused mammalian eye. Invest. Ophthalmol. & Visual Sci., **27**, 330-335 (1986).

29) **Sato, T., Yoneyama, T., Kim, H. K. & Suzuki, T. A.**: Effect of dopamine and haloperidol on the c-wave and light peak of light-induced retinal responses in chich eye. Doc. Ophthalmol., **65**, 87-95 (1987).

30) **Kupenova, P. & Belcheva, S.**: Effects of haloperidol, methylergometrine and phentolamine on the frog ERG. Experientia, **37**, 852-854 (1981).

31) **Wachtmeister, L.**: Further studies of the chemical sensitivity of oscillatory potentials of electroretinogram (ERG). Ⅱ. Glutamate-, aspartate- and dopamine-antagonists. Acta Ophthalmol., **59**, 247-258 (1981).

32) **池田博之，李 志英，安達恵美子，佐藤晴彦，秋元英里**：マウスの ERG におけるハロペリドールの影響．千葉医学雑誌，**67**, 111-116 (1991).

33) **Nakagawa, T., Kurasaki, S., Masuda, T., Ukai, K., Kubo, S. & Kadono, H.**: Effects of some psychotropic drugs on the b-wave of the electroretinogram in isolated rabbit retina. Jpn. J. Pharmacol., **46**, 97-100 (1988).

34) **Naarendorp, F. & Sieving, P. A.**: The scotopic threshold response of the cat ERG is suppressed selectively by GABA and glycine. Vision Res., **31**, 1-15 (1991).

35) **Hempel, F. G.**: Modification of the rabbit electroretinogram by reserpine. Ophthalmic Res., **4**, 65-75 (1972/73).

36) **Orlando-Gutierrez, C. & Spiguel, R. D.**: Oscillatory potentials of the cat retina: Effects of adrenergic drugs. Life Sci., **13**, 991-999 (1973).

37) **Schneider, T. & Zrenner, E.**: The effect of fluphenazine on rod-mediated retinal responses. Doc. Ophthalmol., **65**, 287-296 (1987).

38) **Marmor, M. F., Hook, P., Schechter, G., Pfefferbaum, A., Berger, P. A. & Maurice, R.**: Oscillatory potentials as a marker for dopaminergic disease. Doc. Ophthalmol., **69**, 255-261 (1988).

39) **Jaffe, M. J., Levinson, P. D., Zimmlichman, R., Coen, J. C., Karson, C. N. & Monasterio, F. M.**: The effect of metoclopramide on the ganzfeld electroretinogram. Vision Res., **27**, 1693-1700 (1987).

40) **Citron, M. C., Erinoff, L., Rickman, D. W. & Brecha, N. C.**: Modification of electroretinograms in dopamine-depleted retina. Brain Res., **345**, 186-191 (1985).

41) **Olivier, P., Jolicoeur, F. B., Lafond, G., Drumheller, A. L. & Brunette, J. R.**: Dose related effects of 6-OHDA on rabbit retinal dopamine concentrations and ERG b-wave amplitudes. Brain Res. Bull., **16**, 751-753 (1986).

42) **Skrandies, W. & Wässle, H.**: Dopamine and seroton-ine in cat retina: Electroretinography and histology. Exp. Brain Res., **71**, 231-240 (1988).

43) **Wong, C., Ishibashi, T., Tucker, G. & Hamasaki, D.**: Responses of the pigmented rabbit retina to NMPTP, a chemical inducer of parkinsonism. Exp. Eye Res., **40**, 509-519 (1985).

44) **Bornschein, H., Hoyer, J., Heilig, P., Lützow, A. V., Heiss, W. D., Thaler, A., Wundsch, L. & Hommer, K.**: Tierexperimentelle Untersuchungen mit einer das visuelle System schädigenden Substanz (NP 207). Albrecht Von Graefes Arch. Klin. Exp. Ophthalmol., **190**, 13-25 (1974).

45) **Legros, J., Rosner, I. & Berger, C.**: Ocular effects of chlorpromazine and oxypertine on beagle dogs. Br. J. Ophthalmol., **55**, 407-415 (1971).

46) **Calissendorff, B.**: Melanotropic drugs and retinal functions. Ⅱ. Effects of phenothiazine and rifampicin on the sheep ERG. Acta Ophthalmol., **54**, 118-128 (1976).

47) **Jagadeesh, J. M., Lee, H. C. & Salazar-Bookaman, M.**: Influence of chlorpromazine on the rabbit electroretinogram. Invest. Ophthalmol. & Visual Sci., **19**, 1449-1456 (1980).

48) **Gottlob, I., Weghaupt, H. & Vass, C.**: Effect of levodopa on the human luminance electroretinogram. Invest. Ophthalmol. & Visual Sci., **31**, 1252-1258 (1990).

49) **Howarth, C. I.**: On-off interaction in the human electroretinogram. J. Opt. Soc. Am., **51**, 345-352 (1961).

50) **永田 誠**：Photopic ERG の研究．日眼会誌，**66**, 1614-1673 (1962).

51) **Kawasaki, K., Tsuchida, Y. & Jakobson, J. H.**: Positive and negative deflections in the off-response of the electroretinogram in man. Am. J. Ophthalmol., **72**, 367-375 (1971).

52) **Fatechand, R.**: Attenuation of the frog's cone system during rapid dark-adaptation. Vison Res., **19**, 279-286 (1978).

53) **Hood, D. C.**: Suppression of the frog's cone system in the dark. Vision Res., **12**, 889-907 (1972).

54) **飯島裕幸，山口 哲**：ERG 錐体系反応に対する暗順応の影響．日眼会誌，**94**, 987-992 (1990).

55) **Goldberg, S. H., Frumkes, T. E. & Nygaad, R. W.**: Inhibitory influence of unstimulated rods in the human retina: Evidence provided by the examining cone flicker. Science, **221**, 180-182 (1983).

56) **Alexander, K. R. & Fishman, G. A.**: Rod-cone interaction in flicker perimetry. Br. J. Ophthalmol., **68**, 303-309 (1984).

57) **Arden, G. B. & Hogg, C. R.**: Rod-cone interactions and analysis of retinal disease. Br. J. Ophthalmol., **69**, 404-415 (1985).

58) **杉田陽一, 田崎京二**: ヒト網膜における錐体系と杆体系の相互作用. 動物生理, **5**, 161-167 (1988).

59) **Nguyen-Legros, J. & Savy, C.**: Dopamine innervation of the vertebrate retina: Morphological studies. *In* I. Bodis-Wollner & M. Piccolino (eds.), Dopaminergic Mechanisms in Vision, 1st ed., p1-17, Alan R. Liss, Inc., New York, 1988.

60) **Ehinger, B.**: Biogenic monoamines as transmitters in the retina. *In* S. L. Bonting (ed.), Transmitters in the Visual Process, 1st ed., p145-163, Pergamon Press, Oxford, 1976.

61) **Oyster, C. W., Takahashi, E. S. & Brecha, N. C.**: Morphology of retinal dopaminergic neurons. *In* I. Bodis-Wollner & M. Piccolino (eds.), Dopaminergic Mechanisms in Vision, 1st ed., p19-30, Alan R. Liss, Inc., New York, 1988.

62) **Negishi, K., Kato, S., Teranishi, T., Kiyama, H., Katayama, Y. & Tohyama, M.**: So-called interplexiform cells immunoreactive to tyrosine hydroxylase or somatostatin in rat retina. Brain Res., **346**, 136-140 (1985).

63) **Oyster, C. W., Takahashi, E. S., Cilluffo, M. & Brecha, N. C.**: Morphology and distribution of tyrosine hydroxylase-like immunoreactive neurons in the cat retina. Proc. Natl. Acad. Sci., **82**, 6335-6339 (1985).

64) **Brecha, N. C., Oyster, C. W. & Takahashi, E. S.**: Identification and characterization of tyrosine hydroxylase immunoreactive amacrine cells. Invest. Ophthalmol. & Visual Sci., **25**, 66-70 (1984).

65) **Famiglietti, E. V. & Kolb, H.**: A bistratified amacrine cell and synaptic circuitry in the inner plexiform layer of the retina. Brain Res., **84**, 293-300 (1975).

66) **Hokoc, J. N. & Mariani, A. P.**: Tyrosine hydroxylase immunoreactivity in the rhesus monkey retina reveales synapses from bipolar cells to dopaminergic amacrine cells. J. Neurosci., **7**, 2785-2793 (1987).

67) **Pourcho, R. G.**: Dopaminergic amacrine cells in the cat retina. Brain Res., **252**, 101-109 (1982).

68) **Kolb, H. & Famiglietti, E. V.**: Rod and cone pathways in the inner plexiform layer of cat retina. Science, **186**, 47-49 (1974).

69) **Kolb, H. & Wang, H. H.**: The distribution of photoreceptors, dopaminergic amacrine cells and ganglion cells in the retina of North American Opossum (Didelphis virginiana). Vision Res., **25**, 1207-1221 (1985).

70) **Mariani, A. P., Kolb, H. & Nelson, R.**: Dopamine-containing amacrine cells of rhesus monkey retina parallel rods in spatial distribution. Brain Res., **332**, 1-7 (1984).

71) **Negishi, K. & Drujan, B. D.**: Effects of catecholamines and related compounds on horizontal cells in the fish retina. J. Neurosci. Res., **4**, 311-334 (1969).

72) **Piccolino, M., Demontis, G., Witkovsky, P., Strettoi, E., Cappagli, G. C., Porceddu, M. L., De Montis, M. G., Pepitoni, S., Biggio, G., Meller, E. & Bohmaker, K.**: Involvement of D1 and D2 dopamine receptors in the control of horizontal cell electrical coupling in the turtle retina. Europ. J. Neurosci., **1**, 247-257 (1989).

73) **Kebabian, J. W. & Greengard, P.**: Dopamine-sensitive adenylate cyclase: Possible role in synaptic transmission. Science, **147**, 1346-1349 (1971).

74) **Onali, P., Olianas, M. C. & Gessa, G. L.**: Characterization of dopamine receptors mediating inhibition of adenylate cyclase activity in rat striatum. Mol. Pharmacol., **28**, 1138-1145 (1985).

75) **竹内博明**: ドパミン受容体刺激薬. 綜合臨牀, **39**, 2448-2452 (1990).

76) **Cross, A. J. & Owen, F.**: Dopaminergic receptor. *In* R. A. Webster & C. C. Jordan (eds.), Neurotransmitters, Drugs and Disease, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1989. 松木則夫 (訳): ドパミン受容体. 神経伝達物質・薬物作用と疾患, 第1版, 133-148頁, 廣川書店, 東京, 1991.

77) **Kebabian, J. W. & Calne, D. B.**: Multiple receptors for dopamine. Nature, **277**, 93-96 (1979).

78) **Tran, V. T. & Dickman, M.**: Differential localization of dopamine $D_1$ and $D_2$ receptors in rat retina. Invest. Ophthalmol. & Visual Sci., **33**, 1620-1626 (1992).

79) **Dearry, A. & Burnside, B.**: Effects of extracellular $Ca^+$, $K^+$, and $Na^+$ on cone and retinal pigment epithelium retinomotor movements in isolated teleost retinas. J. Gen. Physiol., **83**, 589-611 (1984).

80) **Dearry, A. & Burnside, B.**: Dopamine induces light-adaptive retinomotor movements in teleost photoreceptors and retinal pigment epithelium. *In* I. Bodis-Wollner & M. Piccolino (eds.), Dopaminergic Mechanisms in Vision, 1st ed., p109-135, Alan R. Liss, Inc., New York, 1988.

81) **Piccolino, M. & Demontis, G.**: Dopaminergic system and modulation of electrical transmission between horizontal cells in the turtle retina. *In* I. Bodis-Wollner & M. Piccolino (eds.), Dopaminergic Mechanisms in Vision, 1st ed., p137-162, Alan R. Liss, Inc., New York, 1988.

82) **Hood, D. C.**: Adaptational changes in the cone system of the isolated frog retina. Vision Res., **12**, 875-888 (1972).

83) **Mackay, C. J. & Gouras, P.**: Light adaptation arguments in the amplitude of the human cone ERG. Invest. Ophthalmol. & Visual Sci., **26** (Suppl.), 323 (1985).

84) **Granit, R.**: Processes of adaptation in the vertebrate retina in the light of recent photochemical and electrophysiological research. Doc. Ophthalmol., **1**, 7-77 (1938).

85) **Gouras, P., Eggers, H. M. & Mackay, C. J.**: Cone dystrophy, nyctalopia and supernormal rod responses. A new retinal degenaration. Arch. Ophthalmol., **101**, 713-724 (1983).

86) **Armington, J. C.**: The Electroretinogram, 1st ed., p317-320, Academic Press, Inc., New York, San Francisco, London, 1974.

87) **堀口正之, 三宅養三, 高林 彰**: 明順応下における錐体系ERG の増幅現象の発生機序に関する研究. 日眼会誌, **92**, 392-402 (1988).

88) **三宅養三, 堀口正之, 太田一郎**: 先天停止性夜盲不全型－

杆体・錐体干渉現象の特異性一. あたらしい眼科, 6, 955-962 (1989).

89) **Miyake, Y., Yagasaki, K., Horiguchi, M., Kawase, Y. & Kanda, T.**: Congenital stationary night blindness with negative electroretinogram. A new classificaition. Arch. Ophthalmol., **104**, 1013-1020 (1986).

90) **Kirsch, M. & Wagner, H. J.**: Release pattern of endogeneous dopamine in teleost retinae during light adaptation and pharmacological stimulus. Vision Res., **29**, 147-154 (1989).

91) 太田一郎, 城山敬康, 堀口正之, 三宅養三: 人眼錐体系フリッカー ERG の順応変化. 日眼会誌, 92, 549-556 (1988).

92) **Goldstein, E. B.**: Cone pigment regeneration in the isolated frog retina. Vision Res., **10**, 1065-1068 (1970).

93) **Nelson, E., Kolb, H., Famiglietti, E. V. Jr. & Gouras, P.**: Neural responses in the rod and cone systems of the cat retina: Intracellular records and procion stains. Invest. Ophthalmol. & Visual Sci., **15**, 946-953 (1976).

94) **Steinberg, R. H.**: Rod and cone contributions to S-potentials from the cat retina. Vision Res., **9**, 1319-1329 (1969).

95) **Steinberg, R. H.**: Rod-cone interactions to S-potentials from the cat retina. Vision Res., **9**, 1331-1344 (1969).

96) **Niemeyer, G. & Gouras, P.**: Rod and cone signals in S-potentials of the isolated perfused cat eye. Vision Res., **13**, 1603-1612 (1973).

97) **Nelson, R.**: Cat cones have rod input: A comparison of the response properties of cones and horizontal cell bodies in the retina of the cat. J. Comp. Neurol., **172**, 109-135 (1977).

98) **Baylor, D. A. & Hodgkin, A. L.**: Detection and resolution of visual stimuli by turtle photoreceptors. J. Physiol. (Lond.), **234**, 163-198 (1973).

99) **Baylor, D. A., Fuortes, M. G. F. & O'Bryan, P. M.**: Receptive fields of cones in the retina of the turtle. J. Physiol. (Lond.), **214**, 265-294 (1971).

100) **Fuortes, M. G. F., Schwartz, E. A. & Simon, E. J.**: Colour-dependence of cone responses in the turtle retina. J. Physiol. (Lond.), **234**, 199-216 (1973).

101) **Mangel, S. C. & Dowling, J. E.**: Responsiveness and receptive field size of carp horizontal cells are reduced by prolonged darkness and dopamine. Science, **229**, 1107-1110 (1985).

102) **Knapp, A. G. & Dowling, J. E.**: Dopamine enhances excitatory amino acid-gated conductances in cultured retinal horizontal cells. Nature, **325**, 437-439 (1987).

103) **Wu, M. W. & Dowling, J. E.**: Effect of GABA and glycine on the distal of the cyprinid retina. Brain Res., **199**, 401-414 (1980).

104) 奥田正英, 富樫俊二: ドーパミン受容体. 蛋白質・核酸・酵素, 35, 707-717 (1990).

105) **Voigt, T. & Wässle, H.**: Dopaminergic innervation of AII amacrine cells in mammalian retina. J. Neurosci., **7**, 4115-4128 (1987).

106) **Witkovsky, P. & Dearry, A.**: Functional roles of dopamine in the vertebrate retina. *In* N. N. Osborne & G. J. Chader (eds.), Progress in Retinal Research, 1st ed., p247-292, Pergamon Press, Oxford, 1991.

107) **Kramer, S. G.**: Dopamine: A retinal neurotransmitter. I. Retinal uptake, storage and light-stimulated release of $^{3}$H-dopamine in vivo. Invest. Ophthalmol. & Visual Sci., **10**, 438-452 (1971).

108) **Jaffe, M. J., Bruno, G. & Campbell, G.**: Ganzfeld electroretinographic findings in Parkinsonism: untreated patients and the effect of levodopa intravenous infusion. J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry, **50**, 847-852 (1987).

109) **Northington, F. K., Hamill, R. W. & Banerjee, S. P.**: Dopamine-stimulated adenylate cyclase and tyrosine hydroxylase in diabetic rat retina. Brain Res., **337**, 151-154 (1985).

110) 白尾 裕: ERG 構成成分の細胞起源と解釈. 眼科, 34, 625-635 (1992).

111) **Yonemura, D., Aoki, T. & Tsuzuki, K.**: Electroretinogram in diabetic retinopathy. Arch. Ophthalmol., **68**, 19-24 (1962).

112) **Cao, W., Drumheller, A., Zaharia, M., Lafond, G., Brunette, J. R. & Jolicoeur, F. B.**: Effects of experimentally induced ischemia on dopamine metabolism in rabbit retina. Invest. Ophthalmol. & Visual Sci., **34**, 3140-3146 (1993).

**Electrophysiological Study of Retinal Dopaminergic System** Kaname Katoh, Department of Ophthalmology, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920－J. Juzen Med Soc., **104,** 428－453 (1995)

**Key words** dopamine, bullfrog, electroretinogram (ERG), flicker ERG, rabbit

**Abstract**

The effects of dopamine (DA) on the electroretinograms ($ERG_s$) were studied in the bullfrog eyes in-vitro and albino rabbit eyes in-vivo. The posterior half of the hemisected bullfrog eye ball was mounted between two chambers of an Ussing-type, and continuously perfused in both sides of the tissue with a control perfusate or a DA-containing test perfusate (1, 10, 100μM and 1mM). DA of 10 and 100μM enhanced the oscillatory potentials, the d-wave and the off-wavelets. These responses were transiently enhanced, and were gradually suppressed by 1mM DA. DA of 10μM diminished the b-wave and enhanced the oscillatory potentials especially at low stimulus intensities. The effects of DA and haloperidol (HAL), a potent $D_1 - D_2$ blocker, on the $ERG_s$ were also investigated in albino rabbits. An intravitreal injection of DA (approximate intravitreal concentration: 50μM; likewise hereafter) suppressed the scotopic b-wave and enhanced the oscillatory potentials elicited by repeated bright stimuli, but did not significantly affect the b-wave elicited by a bright stimulus. An additional intravitreal injection of DA (50μM) in the eyes already injected with HAL (20μM) resuscitated the oscillatory potentials beyond the pre-HAL status. These results suggested that DA suppresses the scotopic system and potentiates the photopic system. The amplitude of the 30-Hz flicker $ERG_s$, one of the photopic ERG components, increases with advance of light adaption, probably due to the dissociation of rod-cone suppression which operates in the dark-adapted state. To examine the involvement of DA in rod-cone interaction, the effects of an intravitreal injection of DA (50μM), SCH-23390 ($D_1$-blocker, 20μM), fluphenazine ($D_1$-blocker, 50μM), sulpiride ($D_2$-blocker, 50μM) and HAL (20 and 50μM) on the above-mentioned increment phenomenon of the 30-Hz flicker $ERG_s$ were examined. The 30-Hz flicker $ERG_s$ were compared before and after an intravitreal injection of each of the above-mentioned agents in albino rabbits. The 30-Hz flicker $ERG_s$ were continuously recorded with a stimulous intensity of $5.0 \times 10$ lux at the cornea for 15 min after a 45-min-dark adaption. The magnitudes of the increment ( the ratio of the amplitude at 15 min to that at 10 sec after the onset of flicker stimulation) in the DA-, SCH-23390-, fluphenazine-, sulpiride-, and HAL (20 and 50μM)-injected eyes were 1.16±0.19 (mean ±S.D.), 3.25±0.42, 3.82±0.06, 1.22±0.16, 2.21±0.74 and 2.15±0.52, respectively; and those in eyes before injection and control fellow eyes were 2.68±0.91 and 2.30±0.75, respectively. The magnitude of the increment of the flicker $ERG_s$ was suppressed by DA and sulpiride, enhanced by fluphenazine and SCH-23390, and not significantly affected by HAL. Considering that DA is synthesized and released at the time of switching from darkness to light in the retina, the results of the present study indicate that the mechanism mediated via $D_1$-receptor is mainly involved in the increment phenomenon of the 30-Hz flicker $ERG_s$, eventually facilitating the photopic function by disengaging the rod-cone inhibition in the retina.