

鮒網膜の色識別に関する視細胞と上位 Neurone との連絡機構について

東京女子医科大学菊地生理学教室 (主任 菊地鎌二教授)

渡 辺 宏 助・登 坂 恒 夫・富 田 庸 介
ワタ ナベ コウ スケ ト サカ ツネ ヲ コロ タ ツネ ラ

(受付 昭和 34 年 11 月 9 日)

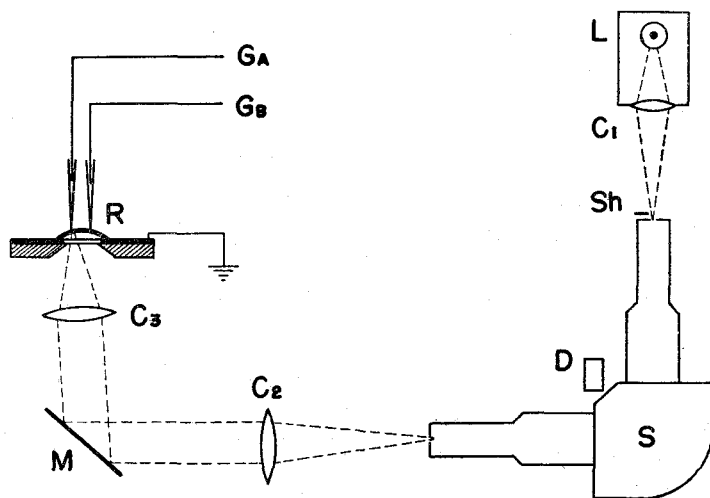
1. 緒 言

1953年 Svaetichin¹¹⁾ により魚類網膜の錐体活動電位 (cone action potential) に関する研究が発表されて以来、多くの研究者^{7) 8)} によりその発生部位、本態に関し詳細な研究がなされてきたが、富田¹⁵⁾ は彼のペンシル型電極¹⁴⁾ を鮒の網膜内に刺入しその発生部位は錐体細胞ではなくそれよりもさらに中枢位に存在することを結論し、該活動電位を単に網膜内活動電位 (EIRG) と呼んだ。その後著者ら^{18) 19)} はスペクトル反応曲線及び刺激光の面積効果などを検しこの EIRG の発生部

位が視細胞ではなく視細胞が converge している第2次 neurone にあることを推定した。

今回の実験は鮒の網膜を用い、電極刺入部位及び刺入部位以外の場所にスペクトル照射を行い、両者より得られたスペクトル反応曲線の型を比較して該活動電位の発生部位及び視細胞と第2次 neurone との連絡機構について論じる。

なお Svaetichin の命名した “cone action potential” なる語は上述の意味から不適當であるから、本論文においては以後 S-potential と称することにする。(第35回日本生理学会総会におい



第1図 スペクトル照射装置の概略図

L ; タングステンランプ, C₁, C₂及びC₃; レンズ, S ; スペクトロスコープ, D ; 特殊回転装置, M ; 平面反射鏡, R ; 剝離網膜, GA, GB ; 電極及び前置増巾器への連絡を示す。

Kosuke WATANABE, Tsuneo TOSAKA and Tsuneo YOKOTA (Kikuchi Department of Physiology, Tokyo Women's Medical College) : On the neural relations between receptors and higher neurones in regard to colour discrimination in the Cyprinid fish retina.

て Svaetichin's potential の意として、東北大本川教授が提案した。)

2. 実験方法

実験動物は全て鮒 (*Cyprinus auratus*) を用いその眼球を摘出後すばやく網膜を剝離し視細胞層を上にして銀板の中央に置く。銀板の中央は直径約 8 mm の穴があり、そこに薄いガラス板が装着してあり下方からのスペクトル照射が可能になっている。銀板はそのまま不関電極として使用した。

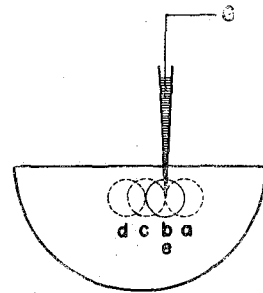
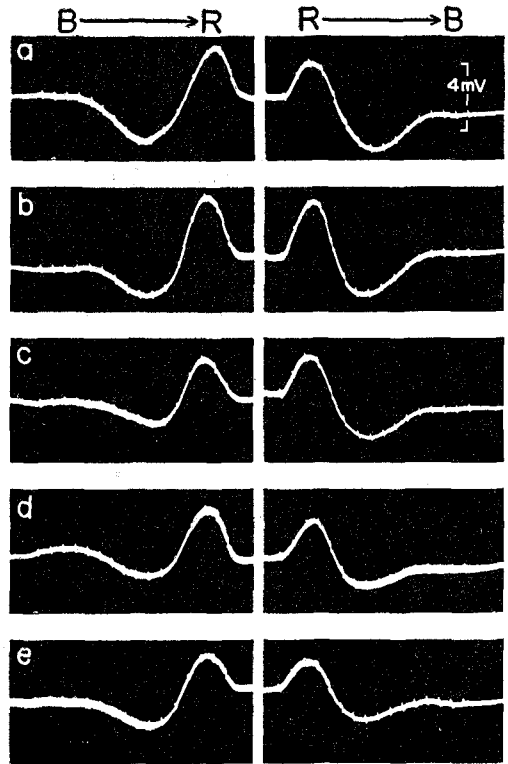
電極は 3 MKCl を満した超微小電極でその電気抵抗は 10 ~ 20 MΩ のものを使用した。電極は富田式ペンシル型電極用マニプレーターに固定し、特に 2 本の電極を使用する場合 (第 1, 5, 6 及び 7 図参照) はマニプレーターの内外両極用の差動装置を利用して、2 mm 間隔に固定した電極を網膜視細胞側より刺入し 2ヶ所より同時に S-potential を誘導するようにした。2 本の電極より誘導された電位は前置増巾器¹⁷⁾を経て 2 回路直流増巾器により増巾され、electronic switch で分けられた 2 現象ブラウン管オツシロスコープで観察記録した。

スペクトル照射装置は前報^{18) 19)} と同一のものを使用し、その装置は第 1 図のごとくである。すなわちタングステンランプ (L) より出された白色光は C₁ を通り、スペクトロスコープ (S) により単色光とされ、その単色光を C₂ により平行光線とし鏡 (M) を経て C₃ により集光される。照射光の Spot の大きさは網膜面で 1.5 mm 平方とし網膜の硝子体側より照射するようにした。プリズムの回転に伴ってブラウン管上に記録される pip と波長の関係¹⁸⁾ を再校正してから実験を行った。第 1 図中シャッター (Sh) は pip と同期して開閉するように装置され、スペクトル反応曲線の型及び中性点¹²⁾を確認するためにスペクトル照射を間歇的に行うときのみ使用し、連続照射を行う場合にはシャッターを開いたままにした。また網膜上の照射部位を変化せしめるために C₃ と M を同時に動かせるように装置した。

電極は 35 μ づつ視細胞側より刺入し白色光照射により最も大きな S-potential が誘導されるところに電極を固定してスペクトル照射を行った。

3. 実験成績

網膜内に微小電極を刺入し最も大きな S-potential を誘導しうところに電極を固定し、スペクトル照射部位を順次移動せしめた場合に得られたスペクトル反応曲線を第 2 図に示した。すなわち電極を下方のモデル図 b の位置に固定し 1.5 mm 平方 (図には便宜的に円形をもつて示してある) のスペクトル照射光を a より順次 1.5 mm づつ d

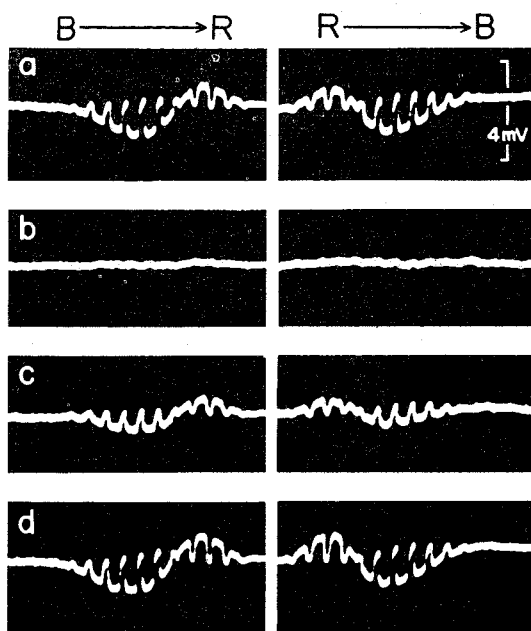


第 2 図 スペクトル照射光の照射部位を a より順次 d まで移動させたときに得られたスペクトル反応曲線を示す。記録 e は照射光を最後に電極刺入部位にもどしたときの control。照射光の大きさは 1.5 mm 平方。(本文参照)

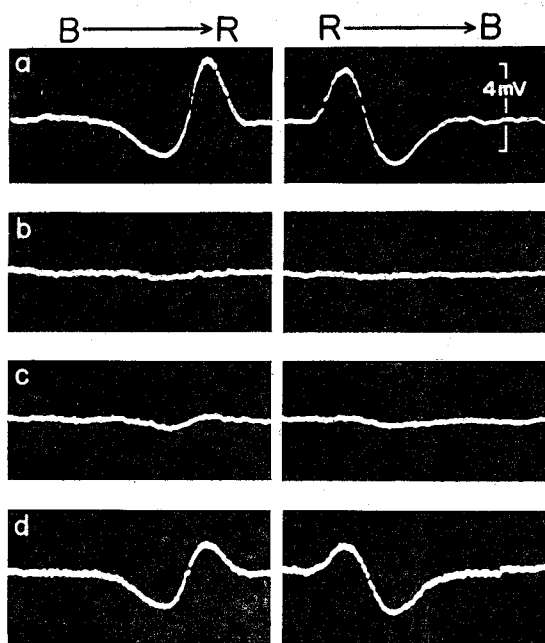
まで移動し、しかる後スポットを電極刺入部位 (b 又は e) にもどしたときに得られたスペクトル反応を示してある。図中 a b … e はそれぞれモデル図 a b … e に対応しているものであり、左列はスペクトル照射を青より赤に掃引した場合、右列は直ちにその逆方向に掃引したときに得られた反応曲線である (第 3 図以下第 7 図まで同様)。このスペクトル反応曲線はその peak 波長が 550 mμ (負方向), 680 mμ (正方向) (但しこの値は補正¹⁹⁾をしていない) にある 2 相性を示す RG 型 (後述)

に属するものである。この図で注意しなければならないことはスポットの位置を a から d まで動かした場合いづれも 2 相性でかつその peak を示す波長も全く変らぬこと、さらに (d) を照射した場合にはそのスポットの電極側の辺縁は電極刺入部位より 1.5 mm もはなれており電極刺入部位は全くスペクトル照射を受けていないにもかかわらず、やはり電極刺入部位を照射したときと同じ 2 相性の反応が得られていることである。この場合反応の大きさは直接照射した場合に比して当然減少しているが、このように電極刺入部位以外の場所にスペクトル照射をした場合にもその電極より

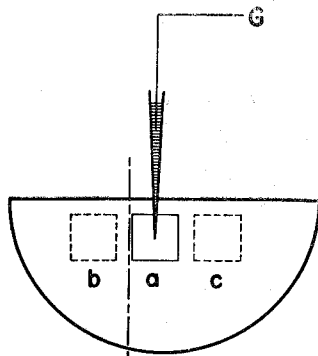
反応曲線が得られるということは S-potential が視細胞より誘導されるものではなくさらに中枢位にあることを示していると考えねばならない。ただしここで考慮に入れねばならないことは、電極刺入部位以外の部位を照射したときその照射の散乱光が電極刺入部位をわずかではあるが刺激しているのではないかということである。この散乱光の影響をしたべた成績を第 3 図及び第 4 図に示した。すなわちモデル図にみられるごとく a の部位に電極を刺入しスペクトル照射光を a, b, c の順に移動せしめたのであるが、このときモデル図中破線で示してある部位にはカミソリの刃で割を入



第 3 図



第 4 図

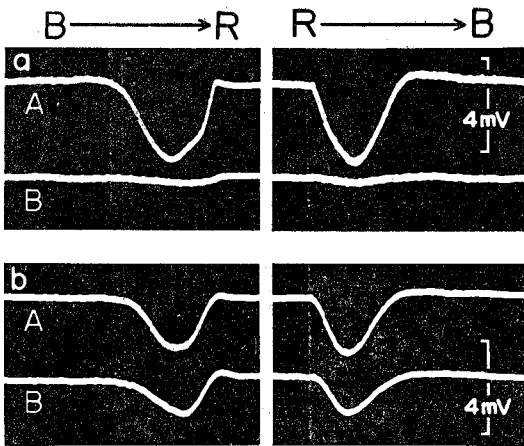


第 3 及び 4 図 スペクトル照射光をモデル図の a, b 及び c, さらに a の順序に移動したときのスペクトル反応曲線。照射光の大きさは 1.5 mm 平方。光点の間隔は 2 mm。モデル図 a, b 間の破線は神経連絡離断部位を示し、したがって記録 b は散乱光の効果を示す。第 3 図は連続スペクトル掃引、第 4 図は間歇照射によつて得られたもので共に R G 型 (本文参照)。

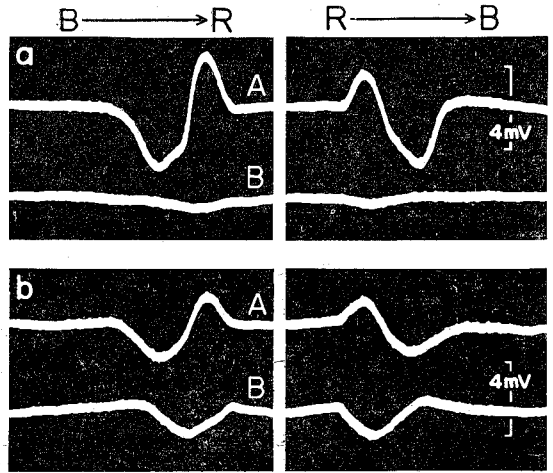
れてあり a, b間の網膜内の神経連絡を断つた状態で実験を行った。この際 bあるいは cの照射部位は aに対してそれぞれ2mm はなれた対称の位置にあり, bあるいは cを照射した場合 aの位置に及ぼす散乱光の影響は全く同一であるとみてよい。図中 aの記録はスポットをモデル図 aに与えた場合に得られたスペクトル反応曲線を示し, b cにおいてもそれぞれモデル図 b, cに対応している。dの記録はスポットを aから cに移動し最後に aにもどしたときのものである。前述のごと

く b及び cは電極刺入部位に対する散乱光の条件は同一であるにもかかわらず, bにおいては非常にわずかな反応しかみられず, cにおいては非常に大きな反応曲線が記録されている。この際 bにみられる非常に小さな反応は純然たる散乱光による反応と考えられ, その影響を完全には無視しえないが, b及び cの反応の大きさを比較すれば一応除外して考察しても差支えないと考えられる。

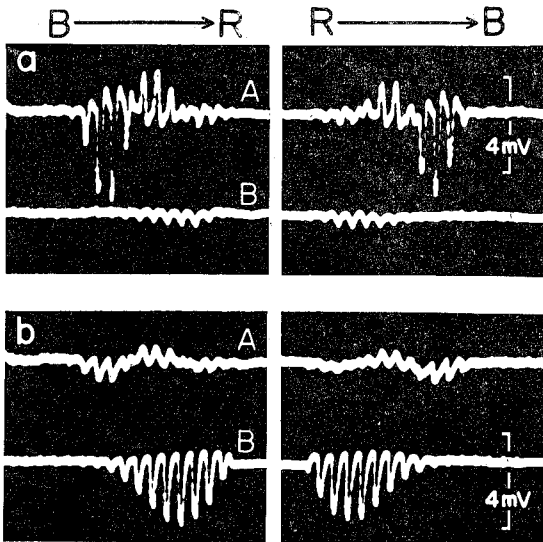
以上の結果から電極刺入部位以外の部位を照射



第 5 図

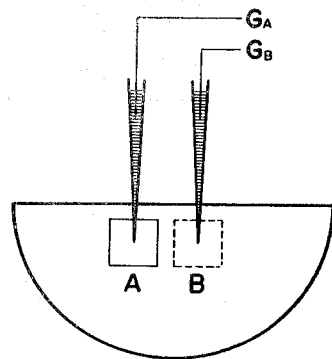


第 6 図



第 7 図

第5, 6及び7図 2本の電極刺入部位を交互に照射したときに各電極より得られたスペクトル反応曲線の同時記録。記録aはモデル図Aを照射したとき, またbはBを照射したときの反応を示す。各記録のA, Bは電極A, Bにそれぞれ対応する。電極間距離は2mm 照射光の大きさは1.5mm 平方。第5及び6図は連続スペクトル掃引, 第7図は間歇照射により得られたもので第5図はA, BともにL型, 第6図はそれぞれRG型及びL型, また第7図はそれぞれRYB型及びL型。(本文参照)



してもその電極の先端からは可成り大きなスペクトル反応が得られ、かつ散乱光の影響がほとんど除外しうるとすれば、電極先端の位置は多くの視細胞から連絡を受けている第2次 neurone あるいはそれより上位の neurone の部位にあることは明かで、視細胞にはありえない。さらに第2図において電極を固定したままで網膜上の照射部位を種々に移動してもその得られるスペクトル反応の型は全く変わらず、かつ最大の反応を示す波長も変化しないことが知られたが、この実験事実を確認するために次のごとき実験を行つた。すなわち第5、6及び7図にみられるごとく2mm離れた網膜上の点に電極 (G_A , G_B) を刺入しそのおのおのより最大の S-potential が誘導される位置に電極を固定し、電極刺入部位を中心に1.5mm平方のスペクトル照射を交互に行い、そのときに同時に誘導された反応曲線を比較した。図中上側(a)はモデル図Aの部位に照射光を与えた場合に得られたもので、図Aは電極 G_A より誘導されたもの、Bは電極 G_B より得られた反応を示している。下側(b)はaと逆にモデル図Bの部位を照射した場合に電極 G_A (A), G_B (B) より誘導されたスペクトル反応曲線を表示している。

第5図aにおいて電極 G_A より比較的大きな単相性負方向のL型の反応曲線が得られているが、全く照射されていない電極 G_B からも非常にわずかではあるがAと同じ単相性のL型が誘導されている。スペクトル照射のスポットの位置をBに移動せしめた場合(b)電極 G_A からは反応の大きさは減少しているがやはりa Aと同じ反応L型が得られ、 G_B からの記録は同様にそこの部位が照射されているために比較的大きな(後述)L型の反応が示されている。この場合電極より誘導されたスペクトル反応曲線は両者ともL型でしかもそのpeakを示す波長は $650m\mu$ (補正值は $600m\mu$)でa Aとb Aまたはa Bとb Bでは全く変るところがない。

第6図も同様の実験例である。この場合は電極 G_A より $560m\mu$ 附近に多少のhumpがみられるが、第2、3及び4図と同様負方向 $550m\mu$ 、正方向 $680m\mu$ にpeakを有する2相性RG型が誘導され、電極 G_B より記録されたものはL型に属するが第5図に示すL型とは多少その型を異にするものである。第6図より知られることは、モデル

図Aの位置に照射光を与えた場合、異つた2ヶ所A, Bから誘導されるスペクトル反応曲線は全く異つており、 G_A からはRG型、 G_B からはL型が誘導されていること、及び第2、3、4及び5図と同様、照射光の位置を移動させてもそれぞれの反応の型になんらの変化をもきたさないことである。この事実は第7図においてさらに明白に知ることができる。

第7図においては不連続間歇スペクトル照射(実験方法参照)を行つた例で、その各々の照射持続時間は第4図のそれより短く約250 msecであるが、on時のfalling timeよりはるかに長く、反応がsaturateするには充分の照射時間である。図にみられるごとくAの部位を照射した場合に電極 G_A から $490m\mu$ (負方向)、 $580m\mu$ (正方向)及び $670m\mu$ (負方向)にそれぞれpeakを有する比較的大きな3相性の反応が記録され、このとき電極 G_B からは同時に反応はわずかではあるが単相性負方向のL型が誘導されている。照射光の位置をBに移動させた場合、電極 G_A からは小さくはなつてはいるがaと同様に3相性の反応型が記録され、また電極 G_B より同じL型の大きな反応曲線が得られている。

以上の実験事実より電極を網膜内に刺入して得られるスペクトル反応曲線の型は電極を刺入した部位により決定せられ、照射部位には全く無関係であることが知られた。

4. 考 察

1. スペクトル反応曲線の3型

今回の実験に使用したスペクトル照射光は、モノクロメーターのプリズムを廻転せしめて連続的に波長を変えたものであつて、時間軸と波長の関係は略直線関係(前報^{18,19})を参照)になるように装置されているが、各波長については等エネルギーとなつていないために、得られたスペクトル反応曲線は直ちにスペクトル感度曲線を示すものではない。すなわち長波長でエネルギーが大であり、短波長では小となつてはいる故、実験から得られたpeakの波長は等エネルギーに較正すると短波長の方にずれることとなる。しかし今回の実験においては、スペクトル反応曲線の型のみを問題にしているのであつて、等エネルギーでなくとも充分その目的を達しうると考える。

S-potential を示標として得られたスペクトル

反応曲線の反応型について、Svaetichin¹²⁾は単相性のL型、2相性のRG型及びYB型の3型に分類し、一方本川ら⁸⁾はN型(L型に相当するもの)とA型(2相性と3相性の型を含む)の2型に分類した。鮎では、今回の実験及び前報に示したごとく、単相性及び2相性の反応型はしばしば観察されたが、著者らの得た2相性の反応型はその極性から云えば長波長で陽性、短波長で陰性で一見 Svaetichin の YB 型に相当するものである。しかしながらその peak は 680 m μ (正方向)及び 490 m μ (負方向)——等エネルギーに換算した値——であつて、むしろRG型と称すべきものと考えられる。Svaetichin の最初の報告にあるような赤色部で陰性、緑色部で陽性のごとき2相性の反応型(Svaetichin のRG型)は著者らの実験では全くみられなかつたが、これは動物の種類異なるためかとも考えられる。さらに前報においてもその存在を指摘したが、第7図Aにみられるごとく3相性の反応型が存在することが明かで、その peak の波長はそれぞれ 670 m μ (負), 580 m μ (正)及び 490 m μ (負)であることから、これをRYB型と称することが妥当であると思われる。3相性の反応型は、鯉においても本川ら⁸⁾がその存在を認めて彼らのA型の中に分類してあるが、これらの事実から少くとも鯉及び鮎では3相性の反応型が明かに存在し、したがつて Svaetichin のごとく魚類網膜より得たスペクトル反応型をもつて色覚に関する Hering の説を単純に裏づけるのは尙早と云わねばならない。

2. S-potential の発生部位及び視細胞と第2次 neurone の連絡構造

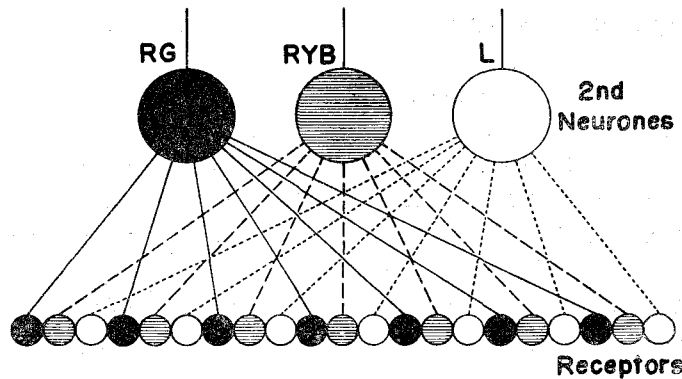
従来 S-potential の発生部位に関しては、その発見者である Svaetichin により視細胞がこれに擬せられて以来数多くの論議がなされてきたが、最近に至つて Svaetichin 自身もその誤りであることを認め、「S-potential の発生部位は視細胞ではなくそれよりもさらに中枢位に存在する」という富田の主張に意見の一致をみるに至つた。ただしその細部については、MacNichol & Svaetichin⁵⁾、及川ら¹⁰⁾及び御手洗⁶⁾の報告のごとく若干の相違点がある。

今回の実験においても、S-potential のスペクトル反応型が電極の刺入部位によつてのみ決定され、照射部位には全く無関係であるということ、

及び照射部位と誘導部位の神経連絡を断つたときには反応が著しく減弱するという(第3及び4図)は、これを誘導している部位が視細胞より中枢側にあることを明瞭に示している。光刺激を使用するこの種の実験で常に問題となるのは網膜内における散乱光の影響であるが、第3及び4図にみられるように、散乱光による反応と視細胞からの神経連絡を介して生じたと思われる反応とは明かに区別しうすることは注目すべきである。

光が網膜上に投射されたときにまづ第一に反応がおこるところが視細胞であることは、視細胞外節に含まれる視物質に関する多くの研究²⁰⁾から既に明らかであると思われるが、その部位でおこつた反応がどのようにして次の neurone に伝えられ、またどのような機構によつて ganglion cell より spike 放電がおこるのであるかは全く不明である。勿論 ganglion cell においては、筋の端板にみられる endplate potential (e.p.p.)^{1) 13)}、または postsynaptic potential²⁾と同様な緩電位により spike 放電が誘起されることは、最近中⁹⁾が食用蛙の ganglion cell に微小電極を刺入して得られた結果からも明らかであるが、視細胞内におこつた photo-chemical あるいは chemo-electrical な反応がいかなる機構において spike の放電に結びつくかは今なお不明の点が多い。

前報あるいは今回の実験に示されるごとく S-potential は視細胞に由来するものではなく、いくつかの視細胞から何らかの構造で連絡している次の、あるいは、さらに高次の neurone から発生しているものと考えられる。さらに第2図以下第7図に示されるごとく電極を網膜内に刺入して得られるスペクトル反応曲線の型は照射部位を変えても全く変化しないことから視細胞と次の neurone (一応第2次 neurone と呼ぶ)との連絡についていくつかの仮説を考えることができる。すなわち視細胞(1ヶないし一つの group)に一応三種類の反応型L型、RG型及びRYB型を規定し、若しそれが第2次 neurone に random に連絡しているとすればスペクトル反応曲線の型は照射部位を変えれば当然変化しなければならない。この際第2次 neurone がある特定の型のみを撰択しうるものであれば実験事実を説明できるが、他の組織ないし細胞についてもそのような報告は全くなく、またある neurone が種々の信号の中



第8図 視細胞と第2次 neurone との連絡機構を示すモデル図
(本文参照)

から特定の、しかも波長によりその極性を変えるような信号だけを撰択するという機構は非常に考え憎い。これに反して第8図に示されるごとく、それぞれL型、RG型ないしRYB型の視細胞またはその group が各々の反応型に属する第2次 neurone とのみ撰択的に連絡を有していると仮定するのはそれ程困難ではないと考えられる。もしこのような撰択的連絡構造があれば照射部位を変えてもその型は変化しないという実験事実を容易に理解することができるし、また電極刺入部位以外の部位を照射した場合その反応が小さくなるのは、視細胞と第2次 neurone との連絡が疎になるか、あるいは視細胞でおきた反応が第2次 neurone に達する間の減衰が大であるためと考えれば容易に説明できる。

2相性の反応型がある理由として Svaetichin は、RG型またはYB型は twin cone に由来するものと考え、また最近の花岡、藤本³⁾の単一錐体のスペクトル感度曲線より得られた結果によれば、ある錐体細胞は2種類の視物質を有していることが推定されている。今回の実験ではRG型、またはRYB型の反応が単一の視細胞内でおこっているのかどうかは不明の所であるが、もしもある視細胞の group によりこのような複雑な波形が形成されるものであれば、第8図の各受容細胞を視細胞群と考えればよい。

5. 結 語

1. 超微小電極を鮪 (*Cyprinus auratus*) の網膜内に刺入して S-potential を誘導し、そのスペクトル反応曲線を示標として S-potential の発生部位および視細胞と上位 neurone との機能的連絡について研究した。

2. スペクトル反応曲線をL型(第5図A, B 第7図B), RG型(第2, 3, 4および6図A)およびRYB型(第7図A)の3型に分類したが、RG型は Svaetichin の命名したRG型とはその極性は反対であった。

3. 最も大きな S-potential の誘導される部位に電極を固定し、照射部位を順次移動させた場合、電極刺入部位よりかなり離れた位置に光照射を与えても比較的大きな反応が得られた(第2図d)。この反応はカミソリの刃で網膜内の神経連絡を断つた場合には著しく小さくなることから、散乱光の影響によるものではないことを明かにした。

4. スペクトル反応曲線の型は電極を刺入した部位により決まり、照射部位には無関係であった。

5. S-potential の発生部位は視細胞層ではなく第2次 neurone 附近に存在することを示した。

6. 以上の実験結果を基にして、色織別に関する鮪網膜内の機構についての一つのモデルを提示し、考察を加えた。

文 献

- 1) Fatt, P. & Katz, B. : An analysis of the end-plate potential recorded with intracellular electrode. *J. Physiol.*, **115** 320 (1951)
- 2) Grundfest, H. : Electrical inexcitability of synapses and some consequences in the central nervous system. *Physiol. Rev.*, **37** 337 (1957)
- 3) Hanaoka, T. & Fujimoto, K. : Absorption spectrum of a single cone in carp retina. *Jap. J. Physiol.*, **7** 276 (1957)
- 4) 待山昭二・田中一郎・登坂恒夫：簡易な超微小

- 電極用抵抗計について。生体の科学 9 241 (1957)
- 5) **MacNichol, E. J., Jr. & Svaetichin, G.** : Electric responses from the isolated retinas of fishes. *Am. J. Ophthalm.*, **46** 26 (1958)
 - 6) **Mitarai, G.** : The origin of the so-called cone action potential. *Proc. Japan Academy*, **34** 299 (1958)
 - 7) **Mitarai, G. & Yagasaki, Y.** : Resting and action potentials of single cone. *Ann. Rep. Research Inst. envir. Med., Nagoya Univ.* **54** (1955)
 - 8) **Motokawa, K., Oikawa, T. & Tasaki, K.** : Receptor potential of vertebrate retina. *J. Neurophysiol.*, **20** 186 (1957)
 - 9) 中 研一；私信による
 - 10) **Oikawa, T., Ogawa, T. & Motokawa, K.** : Origin of so-called cone action potential. *J. Neurophysiol.*, **22** 102 (1959)
 - 11) **Svaetichin, G.** : The cone action potential. *Acta Physiol. Scand.*, **29** Suppl. 106 565 (1953)
 - 12) **Svaetichin, G.** : Spectral response curves from single cone. *Acta Physiol. Scand.*, **39** Suppl. 134, 17 (1956)
 - 13) **Takeuchi, A. & Takeuchi, N.** : Active phase of frog's end-plate potential. *J. Neurophysiol.*, **22** 395 (1959)
 - 14) **Tomita, T.** : The nature of action potentials in the lateral eye of horseshoe crab as revealed by simultaneous intra- and extracellular recording. *Jap. J. Physiol.*, **6** 327 (1956)
 - 15) **Tomita, T.** : A Study on the origin of intraretinal action potential of the cyprinid fish by means of pencil-type microelectrode. *Jap. J. Physiol.*, **7** 80 (1957)
 - 16) 富田恒男；微小電極，微小電極法の手引き 13 金芳堂 京都 (1957)
 - 17) **Tomita, T. & Torihama, Y.** : The further study on the intraretinal action potentials and on the site of ERG generation. *Jap. J. Physiol.*, **6** 118 (1956)
 - 18) **Tomita, T., Tosaka, T., Watanabe, K. & Sato, Y.** : The fish EIRG in response to different types of illumination. *Jap. J. Physiol.*, **8** 41 (1958)
 - 19) 登坂恒夫；淡水魚の網膜内活動電位 (EIRG) に関する研究 東京女医大誌 **27** 506 (1957)
 - 20) **Wald, G.** : Mechanism of vision. In : *Nerve Impulse*, 11, The Josiah Macy, Jr. Foundation, New York (1953)