

(33)

氏名(生年月日)	シマ 島 谷 祐 一
本 籍	
学位の種類	博士(医学)
学位授与の番号	乙第1658号
学位授与の日付	平成8年9月20日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当(博士の学位論文提出者)
学位論文題目	Light removes inactivation of the A-type potassium channels in scallop hyperpolarizing photoreceptors (ホタテガイ過分極性光受容細胞において、光はA-タイプKチャンネルの不活性化を取り除く)
論文審査委員	(主査) 教授 橋本 葉子 (副査) 教授 宮崎 俊一, 小林 槇雄

論 文 内 容 の 要 旨

[目的]

脊椎動物網膜の光受容細胞は過分極性光応答を発生するが、その機序は光によってcGMP依存性陽イオンチャンネルが閉じるというものである。一方、無脊椎動物の光受容細胞は一般に脱分極性光応答を発生するが、中には過分極性光応答を示す光受容細胞も存在する。しかし、この光受容細胞に関する研究はほとんどなく、本研究の目的はその過分極性光応答の発生機序の解明にある。

[対象および方法]

本研究はホタテガイ外套眼の過分極性光受容細胞に対してホールセルクランプ法を用い、光依存性および電位依存性の膜電流を記録解析した。

[結果]

1. 光依存性電流

光受容細胞を静止膜電位(-40mV)に電位固定した場合、光刺激で数100pAの外向きK⁺電流が生じた。K⁺電流には明らかな電位依存性が認められ、光によって生じる膜のK⁺コンダクタンス増加は-20mVより過分極側の固定電位で減少し-90mV以下では消失した。またAタイプK⁺チャンネルの特異的阻害剤である4-AP(4-aminopyridine) 2mMは光依存性電流を完全に抑制した。

2. 電位依存性K⁺チャンネル

暗順応条件下で少なくとも2種の電位依存性K⁺

チャンネルが存在することを示した。一つはAタイプK⁺チャンネルであり、-80mVより過分極電位から-30mV以上への脱分極ステップで一過性に活性化され、顕著な不活性化($\tau=200\text{msec}$)を示した。A電流は2mM 4-APによって特異的に抑制された。もう一つは持続性K⁺チャンネルで、より脱分極側の電位ステップで活性化され、その不活性化は緩徐で($\tau=1\sim 2\text{sec}$)不完全であり、全電流の約30%に限られた。

3. 電位依存性K⁺チャンネルに対する光の影響

本研究における最も重要な発見は、電位依存性K⁺電流が、光によって顕著な修飾を受けるということである。暗順応下で脱分極ステップにより発生したA電流の減少過程は、強い背景光照射下では全く消失し、大きな持続性外向き電流となった。

[考察]

光照射下の電位依存性K⁺電流の変化がAタイプK⁺チャンネルの不活性化消失によるものか、それとも不活性化過程を見かけ上相殺する新しいK⁺電流が加わったためであるかを慎重に検討した。その結果、①強い背景光照射下では、AタイプK⁺チャンネルの不活性化の電位依存性、不活性化の進行過程および不活性化からの回復過程のすべてが全く観察されなかった。②一過性K⁺電流の減少量は照射光強度に依存するが減少の時定数は光の影響を受けなかった。③光依存性K⁺コンダクタンス変化の電位依存曲線は、光照

射下における A タイプ K⁺チャンネルの活性化曲線に一致した。④光の修飾効果は低濃度の4-AP 存在下で完全に消失した。これらの結果は、光が A タイプ K⁺チャンネルの不活性化を取り除くという考えを強く支持するものであった。

〔結論〕

本研究によって光が活性化される K⁺チャンネルが、暗順応条件下の脱分極電位ステップで活性化され

る A タイプ K⁺チャンネルと同一のものであり、過分極性受容器電位は光が A タイプ K⁺チャンネルの不活性化を取り除くことによって発生するという機序が明らかになった。この K⁺チャンネルの性質は、きわめて特異なものであり、電位依存性 (voltage gated)、リガンド依存性 (ligand gated) といった従来のイオンチャンネルの分類には当てはまらない新発見である。

論文審査の要旨

脊椎動物網膜の光受容細胞は、光によって cGMP 依存性陽イオンチャンネルが閉じることによって過分極性光応答を発生する。無脊椎動物の光受容細胞の中にも、過分極性光応答を発生する細胞が存在することは知られているが、その発生機序は脊椎動物とは異なるものと考えられている。その発生機序を解明するために、ホタテガイ外套眼を用い、ホールセルクランプ法を用い、光依存性および電位依存性の膜電流を解析した。その結果、電位依存性 K⁺電流が、光によって顕著な修飾を受けることを発見した。すなわち、光で活性化された K⁺チャンネルは、暗順応条件下の脱分極電位ステップで活性化される A タイプ K⁺チャンネルと同一のものであり、過分極性光応答は、光が A タイプ K⁺チャンネルの不活性化を取り除くことによって発生することを明らかにした。この K⁺チャンネルの性質は極めて特異なもので、一般に知られている電位依存性 (voltage gated)、リガンド依存性 (ligand gated) のようなイオンチャンネルの分類には該当しない新しい概念に属するものであることを発見した価値ある論文である。

主論文公表誌

Light removes inactivation of the A-type potassium channels in scallop hyperpolarizing photoreceptors (ホタテガイ過分極性光受容細胞において、光は A-タイプ K⁺チャンネルの不活性化を取り除く)

Journal Neuroscience Vol 15 No 10, 6489-6497頁 (1995年10月発行) 島谷祐一, 片桐康雄

副論文公表誌

- 1) Cell type and fine structure of the retina of *Onchidium* stalk-eye (イソアワモチ柄眼網膜細胞の同定とその微細構造). J Electron Microsc 44(4) : 219-230 (1995) 片桐展子, 片桐康雄, 島谷祐一, 橋本葉子
- 2) Macintosh で行う生理学実験システムの集中制御と専用ソフトウェアの開発. 第11回医療情報学

連合大会論文集 : 123-126 (1991) 島谷祐一, 片桐康雄, 橋本葉子

- 3) High-voltage electron microscopic study on the axon of the dermal photoreceptor cell in the dorsal mantle of *Onchidium verruculatum* (超高压電子顕微鏡を用いたイソアワモチ外套皮膚光覚光受容細胞の研究). J Electron Microsc 39(5) : 363-371 (1990) 片桐展子, 浜清, 片桐康雄, 島谷祐一, 橋本葉子, 相川英三
- 4) サンプル&ホールド回路を用いた唾液分泌速度の測定装置. 東女医大誌 57(7) : 713-718 (1987) 島谷祐一, 片桐康雄, 阿部広幸
- 5) Characteristics of the transient components in human parotid salivation (唾液分泌における一過性分泌成分の解析). J Nihon Univ Sch Dent 29(1) : 17-26 (1987) 島谷祐一, 阿部広幸, 片桐康雄