

機関番号：13901

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21791678

研究課題名(和文)

網膜電図を利用したマウス網膜神経節細胞応答の記録法の開発

研究課題名(英文)

Development of detecting retinal ganglion cell response using electroretinogram

研究代表者

上野 真治 (UENO SHINJI)

名古屋大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：80528670

研究成果の概要(和文)：マウスを中心とした実験動物において、網膜電図を用いた網膜神経節細胞応答の記録法の開発を行った。マウス網膜電図の Scotopic threshold response (STR) は  $-7.2 \log \text{cd s m}^2$  から  $-4.2 \log \text{cd s m}^2$  の刺激で記録ができた。視神経断裂モデルで著しく STR の振幅が減弱したことより、STR は網膜神経節細胞の応答を示していると考えられた。次に最近ヒトで網膜神経節細胞の応答といわれている Photopic negative response (PhNR) をマウスで評価した。テトロドトキシンを使用したマウスでは有意な PhNR の有意な減弱は認めず PhNR はマウスでは網膜神経節細胞の電位を評価するのに有用でない可能性が示された。家兎を用いた実験では振幅の減弱がみられ網膜神経節細胞の応答と考えられた。PhNR は動物種によって構成成分に違いがあると考えられた。

研究成果の概要(英文)：We studied detecting retinal ganglion cell response using ERG in animal models. We detected scotopic threshold response (STR) from  $-7.2 \log \text{cd s m}^2$  to  $-4.2 \log \text{cd s m}^2$ . The amplitude of STR significantly decreased after optic nerve injury. These results indicated STR is originated from retinal ganglion cells. We also checked mouse photopic negative response (PhNR), which is supposed to be originated from retinal ganglion cells in primate. But our results did not show significant reduction of PhNR after tetrodotoxin injection in mouse eye. This result indicated PhNR of mouse is not useful to detect mouse retinal ganglion cell response. Rabbit ERG showed reduction of PhNR after TTX injection and these data showed PhNR of rabbit eye consisted of retinal ganglion cell function. The origin of PhNR may be different among animal species.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2010 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：眼科学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・眼科学

キーワード：ERG、retinal ganglion cell、PhNR

### 1. 研究開始当初の背景

緑内障は網膜神経節細胞の障害により視機能が障害される疾患であり失明の重要な原因のひとつである。緑内障及び視神経再生等の研究において、実験動物を用いた研究が盛んに行われているが、網膜神経節細胞の機能評価法は確立されておらず、電気生理学的な評価法の確立が急務となっている。

### 2. 研究の目的

申請者は網膜電図を用いた網膜神経節細胞機能の評価方法の開発を目的とした。

### 3. 研究の方法

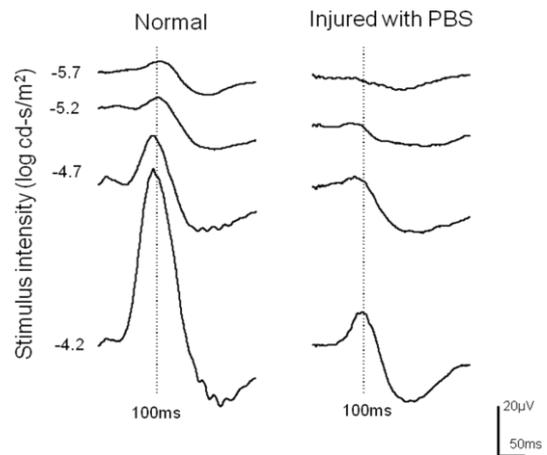
マウスERGを神経坐滅モデルやテトロドトキシンを用いたモデルを用い、現在網膜神経節細胞の応答と考えられているSTRやPHNRと呼ばれている成分について検討した。PhNRの実験に関しては、マウスの実験での実験で変化を認めることができなかったため、眼科の実験で比較的良好に使う家兎を用いた追加の実験もおこなった。

### 4. 研究成果

1) STR (Scotopic threshold response) はじめにSTRと呼ばれる、暗順応下に弱い光刺激により生ずる反応により、網膜神経節細胞の機能を解析できるか、またどのような条件が最も適しているかを検討した。まず記録に際し完全な暗順応の状態が非常に大切であり、完全な暗室を用いなければ質的な評価をすることはできなかった。刺激強度としては、我々の施設では、 $-7.2 \log \text{cd s m}^2$  から $-4.2 \log \text{cd s m}^2$  の刺激強度で記録できた。

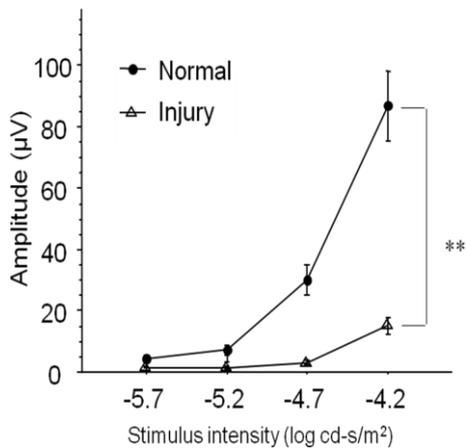
振幅は $-5.2 \log \text{cd s m}^2$  の刺激で  $21.6 \pm 8.6$  (mean±SD)  $\mu\text{V}$  であった。

神経坐滅モデルを用いたSTRの評価についてその波形を以下の図に示す。



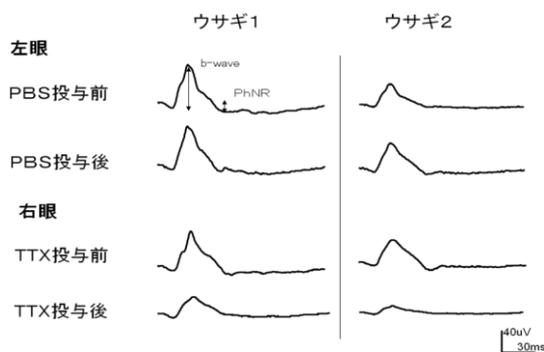
図中の点線が pSTR と呼ばれる反応であるがこれを視神経坐滅モデルとコントロールと比較すると有意にコントロールで大きかった。

この結果より pSTR は視神経坐滅モデルにおける網膜神経節細胞機能の評価に有用であることが分かるとともに、マウスの網膜神経節細胞機能の評価として利用できる可能性が示唆された。また下の表からもわかるように刺激の強さは $-4.7 \log \text{cd s m}^2$  や $-4.2 \log \text{cd s m}^2$  の刺激強度が有用であることがわかった。



2) PhNR (Photopic negative response)  
PhNR と呼ばれる錐体ERGの成分の中に網膜神経節細胞の成分が含まれるかどうかを検討した。視神経切断モデルにおいてPhNRの振幅は対象群と比較して有意な差は認められなかった。以上よりヒト臨床で用いられているPhNRは、マウス網膜神経節細胞の評価法としては機能しないことが判明した。

3) テトロドトキシン (TTX) を用いた家兎PhNRの評価  
家兎の片眼にPBSを投与し、対眼にTTXを投与して網膜神経節細胞の電位をブロックして変化を検討することによりどのような成分が網膜神経節細胞による電位かを検討した。



PBS 注入では投与前後で ERG の変化はほとんどなかったが、TTX 注入では注入後に PhNR の減少はあるが、それ以上に b-wave の減少が著しかった。サルなどの霊長類において PhNR が比較的RGC 特異的な電位といわれているが、今回の結果はウサギの場合、TTX 投与により PhNR だけでなく b-wave にも影響を及ぼすことがわかった。ウサギにおいては PhNR は網膜神経節細胞の評価には用いることが可能であることが示された。ただ今後他の緑内障モデル等を使ってさらなる解析が必要である。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4 件)

①Omori Y, Chaya T, Katoh K, Kajimura N, Sato S, Muraoka K, Ueno S, Koyasu T, Kondo M, Furukawa T. Negative regulation of ciliary length by ciliary male germ cell-associated kinase (Mak) is required for retinal photoreceptor survival. Proc Natl Acad Sci U S A. 2010 Dec 28;107(52):22671-6. Epub 2010 Dec 8. 査読あり

②Yasuda C, Ueno S, Kondo M, Kondo N, Piao CH, Terasaki H. Analyses of ERG in a patient with intraocular lymphoma. Clin Ophthalmol. 2010 Apr 26;4:301-6 査読あり

③Miki A, Miki K, Ueno S, Wersinger DM, Berlinicke C, Shaw GC, Usui S, Wang Y, Zack DJ, Campochiaro PA. Prolonged blockade of VEGF receptors does not damage retinal photoreceptors or ganglion cells. J Cell Physiol. 2010 Jul;224(1):262-72. 査読あり

④Muranishi Y, Sato S, Inoue T, Ueno S, Koyasu T, Kondo M, Furukawa T. Gene expression analysis of embryonic photoreceptor precursor cells using BAC-Crx-EGFP transgenic mouse. Biochem Biophys Res Commun. 2010 Feb 12;392(3):317-22. Epub 2010 Jan 6 査読あり

〔学会発表〕（計 2 件）

① Focal cone ERG changes during retinal degeneration in rhodopsin Pro347Leu transgenic rabbits. ISCEV 2010, Australia, Nov. 8, 2010

② Focal Cone ERGs of Rhodopsin Pro347Leu Transgenic Rabbits. ARVO 2010, USA, May 06, 2010

6. 研究組織

(1) 研究代表者

上野 真治 (UENO SHINJI)  
名古屋大学・医学部附属病院・助教  
研究者番号：80528670

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし