

氏 名 (本籍)                    わた            なべ            ただ            お  
渡            邊            忠            雄

学 位 の 種 類                    医            学            博            士

学 位 記 番 号                    医            第            1 0 5 1            号

学 位 授 与 年 月 日                昭 和 5 3 年 2 月 2 2 日

学 位 授 与 の 要 件                学 位 規 則 第 5 条 第 2 項 該 当

最 終 学 歴                        昭 和 4 5 年 3 月  
東北大学医学部医学科卒業

学 位 論 文 題 目                    毛様体上皮の電解質輸送の特性  
1. CHARACTERISTICS OF ION  
TRANSPORT ACROSS THE ISOLA-  
TED CIRIARY EPITHERIUM OF THE  
TOAD AS STUDIED BY ELECTRI-  
CAL MEASUREMENTS.  
(ガマ毛様体上皮の電解質輸送の特性，電  
氣的測定による研究)  
2. 毛様体上皮の電解質輸送の特性，フラ  
ックスならびに電氣的測定による研究)

(主 査)

論 文 審 査 委 員 教 授 水 野 勝 義 教 授 鈴 木 泰 三

教 授 田 崎 京 二

# 論文内容要旨

## I 目 的

眼圧は房水産生と流出の平衡状態で維持されている。眼房を満たし、水晶体や角膜を栄養している房水の産生は毛様体でおこなわれ、電解質特に $\text{Na}^+$ 、 $\text{Cl}^-$ の能動的な分泌がその基本機構になっていることはすでに知られているが、これらの機序および病態生理学的変化はまだ十分明らかでない。角膜や網膜では温血動物ならびに両生類において輸送機構が比較的良く検討されており、輸送機序およびその特性は基本的に共通であることが知られている。しかし、毛様体において、温血動物では輸送機構に種差のあることが知られているが、両生類ではまったく報告がない。そこで本研究は毛様体におけるイオン輸送の細胞機序を明らかにする目的で、ガマ毛様体を用いて電気生理学的検索、ならびにイオンフラックス測定をおこない、イオン置換および阻害剤の効果を検討した。

## II 実験材料および方法

ガマ毛様体を虹彩を含め摘出し、アクリル樹脂製の灌流装置に装着した。ついで上皮（房水側）と実質（血管）側をRinger液で満たし、電位測定用および通流用として3%寒天-KClブリッジとカロメル電極を用い、上皮内外の電位差、短絡電流および膜抵抗又は電気的コンダクタンスを各種条件下で測定した。

両方向フラックス測定はUssing型の装置を用い、十分な電位差と短絡電流が安定してから短絡回路条件に切り換え、上皮内外の電気化学的ポテンシャル勾配のない条件下でおこなった。トレーサーとして $^{22}\text{Na}$ 又は $^{24}\text{Na}$ および $^{36}\text{Cl}$ を一側に加え、以後、対照実験として2時間、次に両側に阻害剤を加え、更に2時間一定時間毎にメヂウム採取をおこなった。線量計測は $\gamma$ 線シンチレーションスペクトロメーターおよび液体シンチレーションカウンターを用いた。 $\text{Na}^+$ 、 $\text{Cl}^-$ の一方方向性フラックスは対側への標識イオンの出現率から算出した。又、メヂウム採取時に短時間開放回路条件にして電位差、短絡電流および電気的コンダクタンスを測定し、フラックス測定結果と比較検討した。

## III 結 果

電位差、短絡電流および膜抵抗は実験開始後、約1時間より5~6時間にわたり安定した値を維持し、それぞれの平均値は3.7 mV（上皮側負電位）、 $5.13 \mu\text{A}/\text{cm}^2$ および $88.5 \Omega \cdot \text{cm}^2$ であった。

短絡電流は外液 $\text{Na}^+$ 、 $\text{Cl}^-$ 、 $\text{K}^+$ 濃度に依存し、いずれを除外しても維持されなかった。正常灌流液中の $\text{NaCl}$ をTris-chlorideで等張的に両側を置換していった場合、短絡電流は $\text{Na}^+$ 濃度が0から20 mMの間で急激に増加し、30 mMから100 mMの間では飽和状態を示した。同様に $\text{NaCl}$ を $\text{Na}_2\text{SO}_4$ で置換した場合、 $\text{Cl}^-$ 濃度の増加につれて短絡電流は増加を示したが、

100 mM  $\text{Cl}^-$  附近でも完全には飽和に達しなかった。 $\text{NaCl}$  を  $\text{KCl}$  で置換した場合は2相性の変化がみられ、1.8 から 40 mM  $\text{MK}^+$  濃度で短絡電流は対照値より著明に増加したが、それ以上の  $\text{K}^+$  濃度では急激な減少を示し、 $\text{K}^+$ -Ringer 液では電位の逆転を示した。

短絡電流は酸化的代謝に依存し、無酸素条件下および dinitrophenol (1 mM) 作用下では著明に減少した。 $\text{Na-K}$  交換機構阻害剤である ouabain (1 mM) は毛様体上皮のいずれの側の投与でも短絡電流を減少させ、両側に作用させた場合 66% の減少を示した。これに反し、 $\text{Cl}^-$  輸送阻害剤として知られている thiocyanate (10 mM) および theophylline (10 mM) は上皮側投与において短絡電流をそれぞれ 40%、66% 減少させたが、実質側投与は無効であった。

$\text{Na}^+$  と  $\text{Cl}^-$  のフラックスは共に分泌方向 (実質  $\rightarrow$  上皮側) が吸収方向 (上皮  $\rightarrow$  実質側) より優勢であった。正味フラックス (両方向の差) は  $\text{Cl}^-$  が  $\text{Na}^+$  の約 2.5 倍であり、 $\text{Na}^+$  および  $\text{Cl}^-$  による正味電荷輸送量の約 80% が短絡電流として観察された。短絡電流と  $\text{Na}^+$  と  $\text{Cl}^-$  の分泌方向フラックスは高い相関を示したが、吸収方向フラックスは無相関であった。吸収方向フラックスによるイオンコンダクタンスは電気的コンダクタンスとほぼ 1 : 1 の関係にあり、吸収方向フラックスが受動的なフラックスであることを示唆したのに対し、分泌方向ではイオンコンダクタンスが有意に大きく、能動輸送の関与を示唆した。

10 mM theophylline は分泌方向の  $\text{Cl}^-$  輸送を強く抑制し、その程度は短絡電流の減少と良く一致した。1 mM ouabain は上皮の電気的コンダクタンスを増加させ、 $\text{Na}^+$  輸送を抑制した。

#### IV 結 論

ガマ毛様体上皮のイオン輸送機序は起電性  $\text{Cl}^-$  能動輸送が基本となっていることが明らかにされた。この輸送機序は thiocyanate, theophylline および ouabain 感受性であり、輸送速度は外液の  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{K}^+$  濃度に依存する。

電解質輸送の細胞機序としては、実質側膜に  $\text{Na}^+$  と  $\text{Cl}^-$  の共役した輸送機序、および  $\text{Na-K}$  交換輸送機序が、上皮側膜に起電性  $\text{Cl}^-$  輸送機序、および  $\text{Na-K}$  交換輸送機序が並列しており、実質側  $\text{NaCl}$  共輸送機序が経上皮  $\text{NaCl}$  能動輸送の律速段階となっているものと考えられる。

ガマ毛様体上皮は胆のう、小腸、近位尿細管などと同様、電気抵抗が低く、等張性水、電解質輸送をおこなう上皮であると考えられる。

## 審査結果の要旨

毛様体上皮からの房水産生機構を明らかにするためにはイオン輸送の細胞機序が明らかにされなければならない。ところが現在までに温血動物で輸送機構に動物種による差があることが知られている以外、あまり広く研究されていない。そこで筆者は反応系を単純化して冷血動物における毛様体の電気生理学的研究、とくにイオンフラックス測定およびイオン置換、阻害剤の影響を検討し、毛様体上皮の電解質輸送を解明しようとした。

実験動物にはガマを選び、虹彩毛様体を灌流装置に装着し、上皮内外の電位差、短絡電流および膜抵抗又は電氣的コンダクタンスを測定した。フラックス測定には Ussing 型装置を用い、トレーサ実験には  $^{22}\text{Na}$  又は  $^{24}\text{Na}$  および  $^{36}\text{Cl}$  を一側に加え、以後対照実験として 2 時間、次いで両側に阻害剤を加えて 2 時間一定間隔に資料を採取し、 $\gamma$  線シンチスペクトロメーターおよび液体シンチカウンターで計測した。

その結果、電位差、短絡電流および膜抵抗は約 1 時間から 5～6 時間にわたり安定し、それぞれ 3.7 mV, 5.1.3  $\mu\text{A}/\text{cm}^2$  および 88.5  $\Omega \cdot \text{cm}^2$  であった。短絡電流は外液  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{K}^+$  濃度に依存し、いずれを除去しても維持されない。Ringer 液中の  $\text{NaCl}$  を Tris-Chloride で両側を置換すると、短絡電流は  $\text{Na}^+$  濃度が 0 から 20 mM の間で急に増加し、30 mM から 100 mM の間で飽和状態となった。同様に  $\text{NaCl}$  を  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  で置換すると、 $\text{Cl}^-$  の濃度の増加につれて短絡電流は増加したが、100 mM  $\text{Cl}^-$  附近でも完全飽和に至らなかった。 $\text{NaCl}$  を  $\text{KCl}$  で置換すると、2 相性の変化がみられ、1.8 から 40 mM  $\text{K}^+$  濃度で短絡電流は対照より著明に増加し、それ以上  $\text{K}^+$  が増えると逆に急激に減少し、 $\text{K}^+$ -Ringer 液では電位が逆転した。阻害実験では、無酸素条件、および dinitrophenol 作用下で著明に短絡電流の減少がみられ、呼吸依存性であることを示した。ouabain は上皮の何れの側でも短絡電流を減少させた。これに反し、thiocyanate 及び theophylline は上皮側への投与で減少させたが、実質側では影響しなかった。

$\text{Na}^+$  と  $\text{Cl}^-$  のフラックスは共に分泌方向が吸収方向より優位で正味フラックスは  $\text{Cl}^-$  が  $\text{Na}^+$  の約 2.5 倍で、 $\text{Na}^+$  および  $\text{Cl}^-$  による電荷輸送量の約 80% が短絡電流であった。吸収方向フラックスによるイオンコンダクタンスは電氣的コンダクタンスとほぼ 1:1 の関係にあり、吸収方向フラックスが受動的フラックスであることを示唆しているが、分泌方向ではイオンコンダクタンスが大きく、能動輸送の関与を示唆していた。theophylline は分泌方向  $\text{Cl}^-$  輸送を強く抑制し、短絡電流の減少と一致し、ouabain は上皮電氣的コンダクタンスを増加させ、 $\text{Na}^+$  輸送を抑制した。

以上の成績から筆者はガマ毛様体上皮のイオン輸送機序は起電性  $\text{Cl}^-$  能動輸送が基本となっていることを明らかにし、thiocyanate, theophylline および ouabain に感受性で、又外液の  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  に依存性であることを明らかにした。電解質輸送の細胞機序では実質側  $\text{Na}^+$  と  $\text{Cl}^-$  の共役した輸送機序、および  $\text{Na}-\text{K}$  交換輸送機序が、上皮側膜に起電性  $\text{Cl}^-$  輸送機序、および  $\text{Na}-\text{K}$  交換輸送機序が並列しており、実質側  $\text{NaCl}$  共役輸送系が径上皮  $\text{NaCl}$  能動輸送の律速段階となっていることを推測した。

本論文は冷血動物毛様体上皮の電気生理学的機能を検索し、それが低抗性であり、等張性水、電解質荷輸送をおこなう上皮であることを明らかにし、房水産生機構を解明したことに意義と価値があり、学位を授与するに値すると認める。