

発達期硝子体線維に関する形態学的研究

慶応大学医学部眼科

植 村 恭 夫, 秋 谷 忍

研 究 目 的

硝子体網膜ぶどう膜炎の病態を有する未熟児網膜炎をはじめとし、小児の網膜疾患には隣接する硝子体が深く関与しそれぞれの疾患の病態を解明する上で、発達期硝子体の特性を把握することは重要な基本的研究課題である。硝子体には可溶性蛋白、グリコサミノグリカンとともに硝子体線維としてのコラーゲンが含まれている。著者らは、これまでに可溶性蛋白、グリコサミノグリカンの観点より発達期硝子体を検索して来たが、今回はコラーゲンに着目した。現今、コラーゲン研究の進歩発展により、コラーゲンには遺伝的に異なる数種類の分子種（型）が存在することが知られ成熟硝子体線維はⅡ型コラーゲンといわれている。発達期硝子体線維がどのような性状を有するか否か、主としてネガティブ染色による電子顕微鏡的観察で明らかにすることが本研究の目的である。

研 究 方 法

生後3日、成熟白色ウサギ（日本白色種）および成人の眼球より中心部硝子体を注射器により吸引採取した。採取した硝子体の保存の必要な時には、 -40°C に冷凍保存した。ネガティブ染色による観察は以下のごとく行った。カーボン補強したポリヴィニール・ホルマール支持膜を有するメッシュ上に硝子体の少量を滴下し濾紙にてその大部分を吸いとった後、1% (V/W) 燐タングステン酸 (pH 8.9) をメッシュ上に滴下し約1分間染色した。生後3日の白色ウサギ硝子体は観察直前に燐酸緩衝液にて3~5倍に稀釈して使用した。

以上の方法とは別に在胎8、10週のヒト眼球を2.5%グルタルアルデヒドおよび1%四酸化オスミウムにて固定、脱水後エポンに包埋、超薄切片を作成し、醋酸ウラン・クエン酸鉛の電子染色を行った。いずれの試料もHU-12AS電子顕微鏡にて観察・撮影を行った。

研 究 結 果

1. ネガティブ染色による電子顕微鏡的所見。1) 成人および成熟白色ウサギ硝子体。成人にては太さ10~15 nm、成熟白色ウサギにては太さ約10 nmの非常に長い線維が観察された。2) 生後3日白色ウサギ硝子体。採取後直ちに観察した硝子体では、太さ10~15 nmで成熟ウサギと同様に長い線維、太さ10~20 nmで比較的長い線維、太さ5 nm以下で非常に短い線維などが観察された。一部の線維には分岐様構造と思われる所見も認められた。燐酸緩衝液にて3~5倍に稀釈し -40°C に保存した硝子体では線維の輪郭は明瞭となり以下の種々の線維が観察された。

- a) 太さ3 nm以下の非常に細くしかも短い線維。
- b) 太さ3 nm以下の数本の線維からなる15~20 nmの線維。
- c) 太さ2~10 nmで分岐構造を有する線維 (Fig. 1)
- d) 太さ10 nmの線維が集合し最大の太さが30 nm、通常20 nmの線維。
- e) 横紋構造の明瞭な特殊な線維 (Fig. 2)。

以上の大略5種類の線維が観察されたがe以外の線維においては横紋ならびに周期性構造は認められなかった。

2. 在胎8、10週ヒト硝子体の超薄切片による電子顕微鏡的所見。水晶体後面および硝子体固有血管周囲の硝子体には太さ10~20 nmの短かい線維、比較的長い線維が認められ、これらの線維には高電子密度を示す部位が各所に存在していた。高電子密度を示す部位の周期性は認め難かった。赤道部付近の網膜内層に接した硝子体線維も殆んど同様の所見を示した。

考 察

成人および成熟白色ウサギ硝子体のネガティブ染色によって観察された硝子体線維の所見はSnowden & Swann (1980) の報告とほぼ一致し硝

子体線維はⅡ型コラーゲンと考えられた。彼らは種々の成熟動物（ヒト，ウシ，ヒツジ，イヌ，アナウサギ）の硝子体線維を燐タングステン酸でネガティブ染色を，醋酸ウランにてポジティブ染色を行い，軟骨コラーゲンとの類似性がら硝子体線維がⅡ型コラーゲンであることを同定し，ヒトでは太さ $12.8 \pm 1 \text{ nm}$ ，アナウサギ（Lapine）では $7 \pm 1 \text{ nm}$ と述べている。今回の研究において太さに関しては全く同様の結果を示した。彼らはまた，ヒツジのポジティブ染色で線維に微細線維構造の存在することを報告しているが今回の観察において燐タングステン酸によるネガティブ染色にても硝子体線維は少くとも2本以上の微細線維からなっていることが示された。Ⅱ型コラーゲンの線維構造を考える上で興味ある所見である。

生後3日の幼若ウサギ硝子体においては結果の項で述べたごとく種々の線維が存在していた。太さ $10 \sim 15 \text{ nm}$ の長い線維は成熟ウサギで認められた線維と同様でありⅡ型コラーゲンと考えられた。問題は他の線維をいかに理解するかであるが重要なのは太さ 5 nm 以下の非常に短い線維であろう。硝子体線維の発達の上でこの線維が基本となり成熟コラーゲン会合体を形成してゆく事が推測される。種々の太さの線維はその発達過程を示しているのかも知れない。皮膚などから抽出したコラーゲンを適当な環境条件におくと条件に依存してコラーゲン分子間の配置が異なる種々の会合体が形成され抽出コラーゲン溶液中ではコラーゲンは分子の状態で存在している。もし前述の細い短い線維がコラーゲン分子に近い未熟な線維であるとすれば再生コラーゲン実験に類似した現象が推測される。今回の研究で観察された横紋構造を示す特殊な線維は以上の推測の妥当性を物語るものであるかも知れない。Olsen (1965) は成熟ウシ硝子体で全く生化的操作を加えない試料の中に今回著者らが観察した特殊な線維と一部全く同一の線維を報告し dimeric SLS 型線維と呼んでいる。しかしその出現頻度は稀であるとしている。その後 Snowden & Swann (1980) はウシ硝子体の再生コラーゲン実験で全く同一の線維を報告しているが抽出コラーゲンでの結果である。生体から採取したそのまゝの試料からこの様な線維が易く見

出された事は極めて興味ある結果と言わねばならない。このような点を今後，さらに詳細に分析してゆけば発達期硝子体線維の特異性が判明し各種疾患の病態を考える上で有益な情報を提供するものと思われる。

超薄切片から得られたヒト胎児の硝子体線維の所見は第1次硝子体線維であるという点に価値がある。ヒト第1次硝子体線維に関する電子顕微鏡的所見に関してはこれまでに報告がなく今回の研究がはじめてである。超薄切片作成上の制約により線維構造そのものについての情報は少ないが線維の各所に高電子密度を有する部位が観察された。Smith & Scrafini-Fracassini は成熟ウシ硝子体線維に電子密度の高い付着物質が 55 nm の周期で存在することを見出しこの物質はヒアルロン酸であると報告している。Fine & Yanoff (1979) も成人硝子体線維の超薄切片の観察で線維に付着する毛ば立った物質を硝子体の粘液性物質と考えている。今回の所見では一見，高電子密度を示す部位に周期性がある様に見られたが計測すると不規則に付着しており周期性は認められなかった。従って今回の所見は発達期硝子体線維の特色であるか否か不明であるが，著者らは先に在胎7，9週のヒト硝子体線維がアルシアンブルーに強染し組織化学的にヒアルロン酸であることを証明し，さらに第1次硝子体と発達初期の第2次硝子体とは組織化学的に区別し難いことを報告したが，今回の結果は電子顕微鏡的にも上記の所見を支持したものと言える。

要 約

発達期硝子体線維の特性を把握する目的で主としてネガティブ染色により生後3日白色ウサギの硝子体線維を電子顕微鏡的に観察し成熟白色ウサギ，成人のそれと比較した。硝子体線維はいずれもⅡ型コラーゲンと考えられ生後3日の白色ウサギ硝子損にはコラーゲンの生成過程において会合初期の線維と推定される線維が多量に見出された。これらの幼若コラーゲンは環境因子の変化により他の形のコラーゲンを形成することが考えられ発達期硝子体の関与する各種疾患の病態を考える上で重要な所見である。

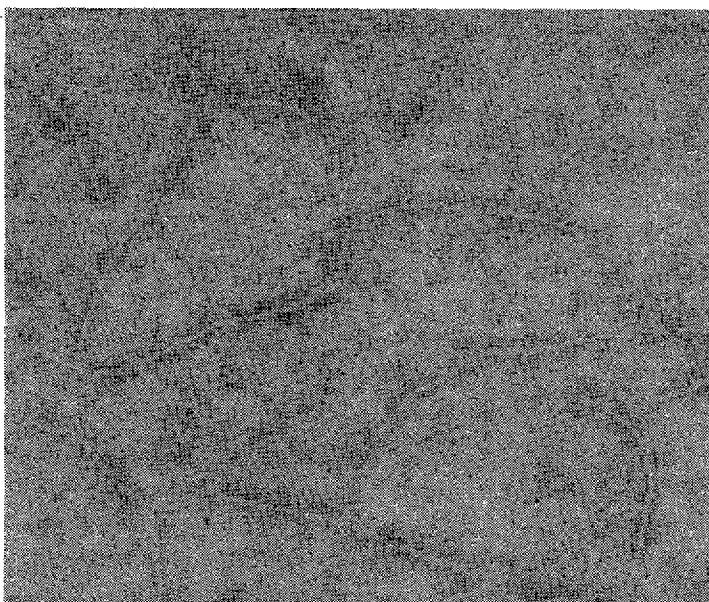


Fig. 1

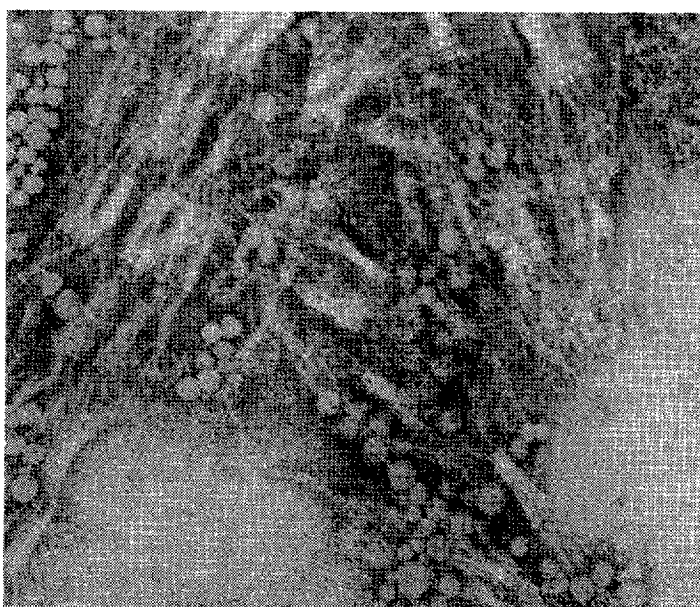
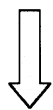


Fig. 2



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



要 約

発達期硝子体線維の特性を把握する目的で主としてネガティブ染色により生後3日白色ウサギの硝子体線維を電子顕微鏡的に観察し成熟白色ウサギ,成人のそれと比較した。硝子体線維はいずれもⅠ型コラーゲンと考えられ生後3日の白色ウサギ硝子損にはコラーゲンの生成過程において会合初期の線維と推定される線維が多量に見出された。これらの幼若コラーゲンは環境因子の変化により他の形のコラーゲンを形成することが考えられ発達期硝子体の関与する各種疾患の病態を考える上で重要な所見である。