

# 墨汁の前房内注入と隅角光凝固によるラット緑内障モデルの作製

上田 潤<sup>1)</sup>, 沢口 昭一<sup>1)</sup>, 羽入 貴子<sup>1)</sup>, 八百枝 潔<sup>1)</sup>,  
福地 健郎<sup>1)</sup>, 阿部 春樹<sup>1)</sup>, 小澤 英浩<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>新潟大学医学部眼科学教室, <sup>2)</sup>新潟大学歯学部第1口腔解剖学教室

## 要 約

簡便で再現性が高い緑内障の実験モデルを齧歯類で作製することを試みた。ラットの前方内に墨汁を30ゲージ針で注入し、1週後に炭素粒子が隅角に捕捉され、角膜輪部に沿って黒色のバンドを形成した所をアルゴンレーザーで正面から光凝固し、線維柱帯を選択的に熱凝固した。1週毎に空気眼圧計で眼圧を測定し、平均眼圧が25 mmHgを超えるまで光凝固を追加した。以上の処置は7匹のラットの片眼だけに行い、他眼は対照とした。全7眼に慢性的な眼圧上昇が得られた。8週後に眼球を摘出して光学顕微鏡で検索した。隅角では炭素粒子が線維柱

帯間隙のマクロファージに貪食され、熱凝固による周辺虹彩前癒着が形成されていた。視神経乳頭には神経線維の著明な減少と海綿様変性があり、緑内障性視神経障害の所見を呈していた。この齧歯類でのモデルが今後の緑内障研究に貢献することを期待する。(日眼会誌 102: 239—246, 1998)

キーワード: ラット, 緑内障, 実験モデル, 光凝固, 視神経障害

## Experimental Glaucoma Model in the Rat with Laser Trabecular Photocoagulation after Intracameral Injection of India Ink

Jun Ueda<sup>1)</sup>, Shoichi Sawaguchi<sup>1)</sup>, Takako Hanyu<sup>1)</sup>, Kiyoshi Yaeoda<sup>1)</sup>, Takeo Fukuchi<sup>1)</sup>,  
Haruki Abe<sup>1)</sup> and Hidehiro Ozawa<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Ophthalmology, Niigata University School of Medicine

<sup>2)</sup>First Department of Oral Anatomy, Niigata University School of Dentistry

## Abstract

We tried to create an experimental glaucoma which is simple and highly reproducible in rodents. India ink was injected into the anterior chamber with a 30-gauge needle. The carbon particles were trapped in the chamber angle and formed a black band along the corneal limbus one week later. This area was then photocoagulated anteroposteriorly with an argon laser. Photocoagulation was repeated until the intraocular pressure was elevated to 25 mmHg or more by pneumotometry performed at a one-week interval. The above procedure was applied to one eye of 7 rats with the fellow eye serving as control. Chronic elevation of intraocular pressure was obtained in all the 7 treated eyes. The eyes

were then enucleated and examined by light microscopy. Carbon particles were phagocytosed by macrophages in the intertrabecular spaces. Peripheral anterior synechias were also present. The optic nerve head showed remarkable decrease in nerve fibers and cavernous degeneration suggestive of glaucomatous optic nerve damage. This experimental model promises to be of value in further studies of glaucomatous optic nerve damage. (J Jpn Ophthalmol Soc 102: 239—246, 1998)

Key words: Rats, Glaucoma, Experimental model, Photocoagulation, Optic nerve damage

## I 緒 言

これまでの緑内障性視神経障害の実験モデルには、ヒトの乳頭篩状板との形態学的相同性から主にサル眼が用

いられてきた<sup>1)</sup>。乳頭篩状板を構成する細胞外基質の緑内障性変化についてはこれまで数多くの報告<sup>2)~5)</sup>があり、近年分子生物学的アプローチによる、より詳細な細胞レベルでの病態解明が期待されている。すなわち、視神経乳頭

別刷請求先: 951-8122 新潟県新潟市旭町通1-757 新潟大学医学部眼科学教室 上田 潤  
(平成9年8月4日受付, 平成9年11月26日改訂受理)

Reprint requests to: Jun Ueda, M.D. Department of Ophthalmology, Niigata University School of Medicine, 1-757 Asahimachi-dori, Niigata-shi, Niigata-ken 951-8122, Japan

(Received August 4, 1997 and accepted in revised form November 26, 1997)

における眼圧上昇に伴う各種細胞外基質の産生に関わるメッセンジャー RNA (mRNA) の発現<sup>6)</sup>や、サイトカイン、増殖因子を介したリモデリングの調節機構<sup>7)</sup>の解明は、今後の緑内障研究の大きなテーマである。一方、近年神経細胞のアポトーシスに関する研究はめざましく、眼科領域においても神経節細胞の細胞死の機序に大きな関心が寄せられ<sup>8)9)</sup>、神経節細胞をアポトーシスから守る“neuro-protection”といった概念が提唱されつつある<sup>10)</sup>。これらの先進的な研究を緑内障研究にフィードバックするためにも、今後嚙菌類を用いた緑内障モデルの必要性は一層高まるものと考えられる。Johansson<sup>11)</sup>は *in vivo* および *in vitro* でラットの視神経に高眼圧を負荷し、サルの実験と同様に視神経乳頭で逆行性軸索流のうっ滞が起こることを報告した。また、Morrison ら<sup>12)</sup>は嚙菌類の乳頭篩状板を構成する細胞外基質について免疫組織化学的に検討して霊長類の組成とほぼ同一であったことを示し、Johnson ら<sup>13)</sup>はラットの緑内障モデルにおいてもヒト緑内障眼やサルの緑内障モデルと同様の視神経乳頭の細胞外基質の変化がみられたことを報告した。乳頭篩状板の形態の相違については Morrison ら<sup>12)</sup>も言及しており、ラットの実験モデルをそのままヒト緑内障眼と置き換えるには問題があると思われる。しかし、眼圧の負荷により軸索流の障害が起こり、やがて神経節細胞が細胞死に至ること、また、その過程で乳頭篩状板にリモデリングが起こることにおいて両者は類似しており、細胞生物学的な研究において嚙菌類はサルに代わる安価で扱いやすい実験動物として極めて有用であると考えられる。

これまでサル眼では、過剰の隅角光凝固を行って慢性的な眼圧上昇を得るのが一般的であったが、ラット眼では隅角鏡をのせられないことと、隅角が極めて狭いために線維柱帯を狙って照射することが困難なため、ラットでは再現性が低く簡便性に欠く隅角光凝固以外の実験緑内障モデルを用いざるを得なかった。今回我々は、慢性的な眼圧上昇を維持するのに最も有用な、レーザー隅角光凝固による実験緑内障モデルをラットに応用し、小動物においても線維柱帯を選択的に熱凝固する方法を考案した。実験モデルの作製方法について、眼圧の経過、隅角と視神経乳頭の組織学的所見を含めて報告する。

## II 実験材料および方法

### 1. 実験材料

実験には、8か月齢のウイスター系ラット10匹10眼を用いた。3匹は墨汁の前房内注入のみを行い、そのうち1匹は1週後に組織学的検索のため屠殺した。7匹は墨汁注入後にレーザー光凝固を追加して、以下のごとく実験緑内障モデルを作製した。また、他眼の10眼は対照眼として、処置は行わなかった。実験は可能な限り無痛的に行い、実験動物の扱いは「動物の保護及び管理に関する法律」および「実験動物の飼育及び保管等に関する基準」

に準じた。

### 2. 緑内障モデルの作製

ラットの麻酔には、ジエチルエーテルの吸入麻酔で導入した後、ベントバルビタールナトリウム(ネプタール<sup>®</sup>) 0.3 ml/kg と塩酸ケタミン(ケタラール<sup>®</sup>50) 0.6 ml/kg の腹腔内注射を行った。まず、ニューマトノメーター (PTG) を用いて、各眼3回ずつ眼圧を測定し、処置前のベースラインの眼圧とした。次に、片眼の前房内に角膜輪部から30ゲージ針を用いて、市販の墨汁を約50 µl 注入した。この際、房水が漏れにくいよう角膜に対して斜めに刺し、ベベルを下向きにして虹彩や水晶体を傷つけないよう留意した。注入直後は前房内全体が黒染するが、3~7日で墨汁の炭素粒子が房水の循環によって隅角に集積し、線維柱帯に捕捉されて、角膜輪部に沿った幅約0.2 mmの黒色のバンド(矢じり)が形成された(図1)。1週後、眼圧測定後に7匹の処置眼に対してアルゴンレーザー光凝固を施行した。照射条件は、スポットサイズが500 µm、時間が0.2 sec、パワーが250 mW、照射数が60~100 expで、黒色のバンドの角膜寄りの部位を1周、隅角鏡を用いずに正面から直接光凝固した。その後、1週毎に両眼の眼圧を3回ずつ測定し、平均眼圧が25 mmHgを超える眼圧上昇が得られるまで同じ条件で光凝固を施行した。その後は、眼圧が25 mmHg以上ならば無処置で、20 mmHg前後ならば10発程度、15 mmHg以下ならば全周に、眼圧の程度に応じて光凝固を追加して高眼圧を維持した。眼底検査にはトプコン立体眼底カメラを用い、乳頭陥凹の変化を立体的に観察した。

### 3. 組織学的検索

眼圧上昇から8週後、組織学的検索のためラットを灌流固定し眼球を摘出した。固定には2.5%グルタルアルデヒド+2%パラフォルムアルデヒド+0.1 M リン酸緩衝液を用い、摘出した眼球は細切後さらに3時間浸漬固定し、緩衝液で洗浄した。光学顕微鏡の試料はエタノール系列で脱水し、パラフィンに包埋して4 µmの切片を作製し、隅角組織はヘマトキシリン・エオジン染色を、視神経乳頭はアザン染色を、球後の視神経はトルイジンブルー染色を行って観察した。隅角組織の一部は透過型電子顕微鏡(JEM-100 CX II, 日本電子)による観察のため、細切後に1%四酸化オスミウムで後固定し、エタノール系列で脱水した。Poly/bed 812に包埋し、超薄切片を作製して、酢酸ウラニルとクエン酸鉛で二重染色した後、透過型電子顕微鏡で観察した。

## III 結果

光凝固開始後4週目までの眼圧経過を図2に示す。墨汁注入群の眼圧は1週後には正常化し、その後も対照群と有意差はなかった。一方、墨汁注入+光凝固群では、光凝固を追加するごとに平均眼圧は上昇し、3回の光凝固でほぼ全例に平均眼圧25 mmHgを超える高眼圧が得ら

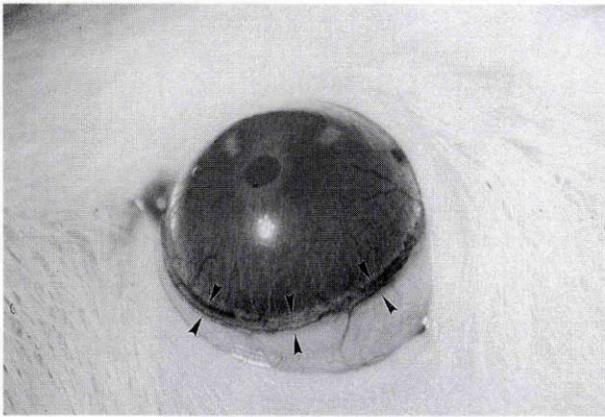


図 1 墨汁注入 1 週後の前眼部写真.

炭素粒子が線維柱帯に捕捉され、角膜輪部に沿った幅約 0.2 mm の黒色のバンド(矢じり)が形成された。

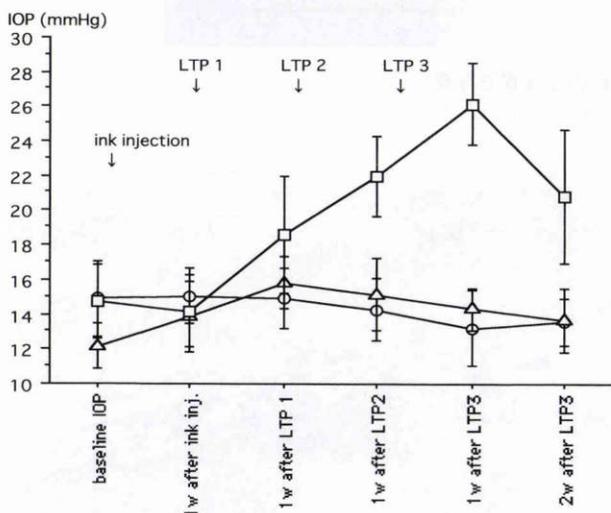


図 2 眼圧の経過.

墨汁注入群(△)の眼圧は 1 週後には正常化し、その後も対照群(○)と有意差はなかった. 墨汁注入+光凝固群(□)では、光凝固を追加するごとに平均眼圧は上昇し、3 回の光凝固でほぼ全例に平均眼圧 25 mmHg を超える高眼圧が得られた。

れた. その後、光凝固を追加せずに眼圧の経過をみると、30~60% に 20 mmHg 以下の眼圧に低下してくる例があり、眼圧の低下に応じて数回の光凝固を追加したところ、ほぼ全例に 20 mmHg を超える眼圧上昇が保たれた。

墨汁注入の 1 週後に摘出した眼球の、隅角組織の光学顕微鏡所見を図 3 に示す. 炭素粒子は線維柱帯の主に線維柱間隙に捕捉され、一部は房水静脈と思われる結膜下の血管に(矢印)、また、一部は uveoscleral outflow の経路と思われる脈絡膜内(矢じり)に観察された. 強拡大では、大きな粒子は線維柱間隙を埋め、細かい粒子は細胞内に貪食されていた(図 4)。

光凝固を行わず、墨汁注入後 9 週目に摘出した処置眼の隅角組織の所見を図 5 に示す. ほとんどの炭素粒子は眼外へ排出され、線維柱帯に捕捉された小さな粒子と、貪

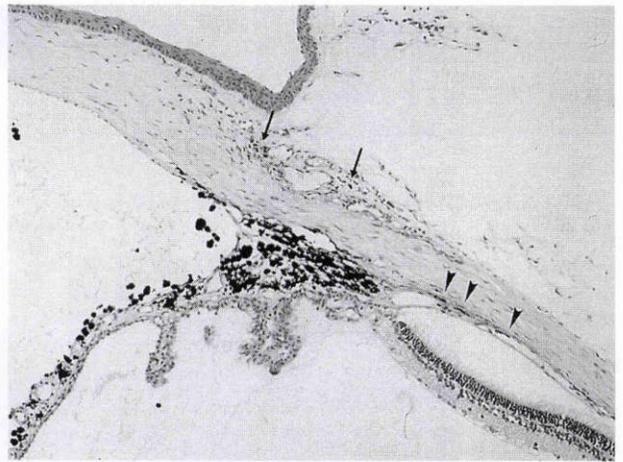


図 3 墨汁注入 1 週後の隅角(弱拡大, ヘマトキシリン・エオジン染色).

炭素粒子は線維柱帯に捕捉され、一部は房水静脈と思われる結膜下の血管に(矢じり)、また一部は uveoscleral outflow の経路と思われる脈絡膜内に(矢印)に観察された。

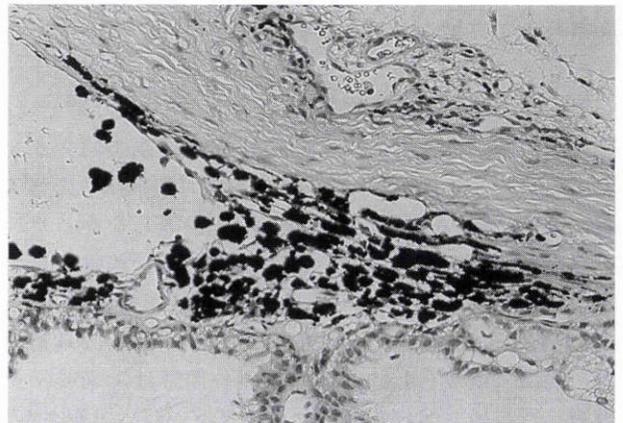


図 4 墨汁注入 1 週後の隅角(強拡大, ヘマトキシリン・エオジン染色).

大きな炭素粒子は線維柱間隙に捕捉され、細かい粒子は細胞内に貪食されていた。

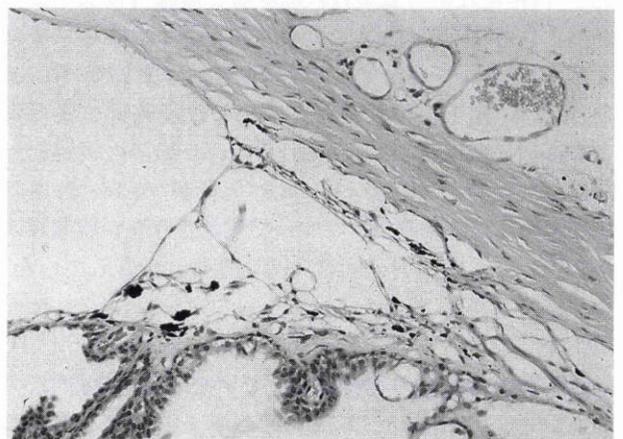


図 5 光凝固を行わず、墨汁注入 9 週後に摘出した処置眼の隅角(ヘマトキシリン・エオジン染色).

ほとんどの炭素粒子は眼外へ排出されていた。

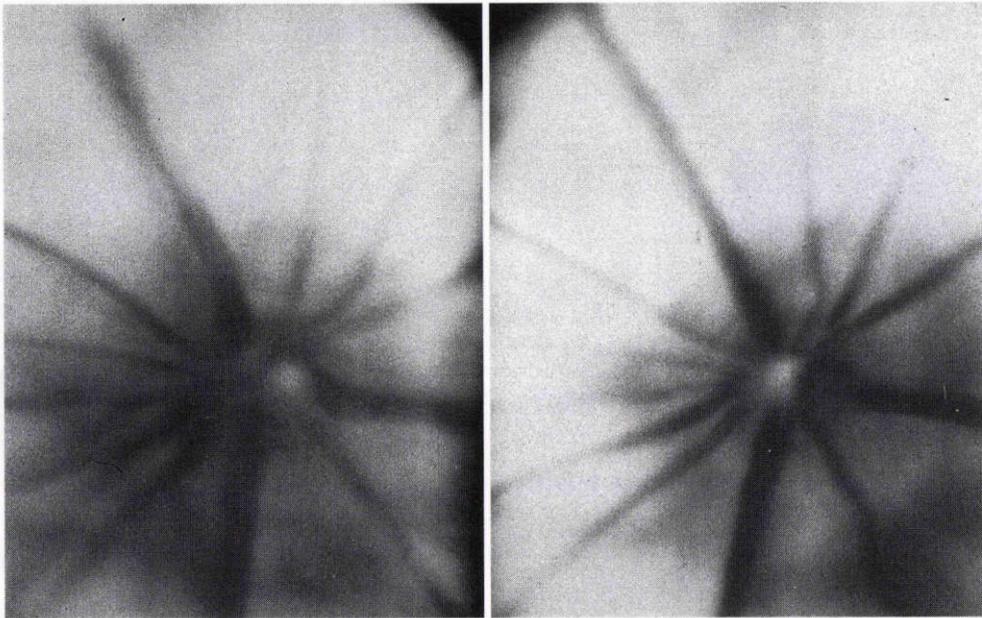


図6 実験緑内障の8週目の立体眼底写真。  
処置眼に明らかな乳頭陥凹の拡大がみられた。

食されたより細かい粒子が僅かに残存するのみであった。

墨汁注入に光凝固を追加し高眼圧が得られた群では、光凝固開始から8週目の眼底検査で、処置眼の明らかな乳頭陥凹拡大が認められた(図6)。8週目に摘出した処置眼の隅角組織の所見を図7に示す。光凝固しなかった群と異なり、1週目と同程度の量の炭素粒子が線維柱帯に捕捉されたまま残っていた。また、周辺虹彩前癒着(矢じり)が形成され、器質的な閉塞隅角となっていた。透過型電子顕微鏡所見(図8,9)では、線維柱帯間隙は炭素粒子を貪食した多数の突起を持つマクロファージに占拠され、減少ないし消失していた。

次に、対照眼(図10)および光凝固開始から8週目の処置眼(図11)の視神経乳頭の光学顕微鏡所見を示す。対照眼に比べ、処置眼では網膜神経線維層(矢印)が著明に減少し、視神経乳頭の表層神経線維層と前篩状板部の萎縮がみられた。アザン染色で青染される膠原線維を主成分とする laminar beam(矢じり)は後方へ彎曲していた。また、強拡大(図12)では、前篩状板部に神経線維の脱落による海綿様変性(矢じり)が認められた。球後の視神経の横断面では、対照眼(図13)に比べ処置眼(図14)で、血管(矢印)の他にトルイジンブルーで染色されない脱髓巢が多数認められ、主に中心部よりも周辺部に散在していた。

#### IV 考 按

これまでの急性の実験緑内障モデルでは、前房内にカニューレを行う方法<sup>14)</sup>が、ボトルの高さを変えることによって負荷する眼圧を正確に調節できるという点で優れている。一方、亜急性あるいは慢性の実験緑内障モデルでは、 $\alpha$ キモトリブシン<sup>15)</sup>、ghost cell<sup>2)</sup>、色素顆粒<sup>16)</sup>な

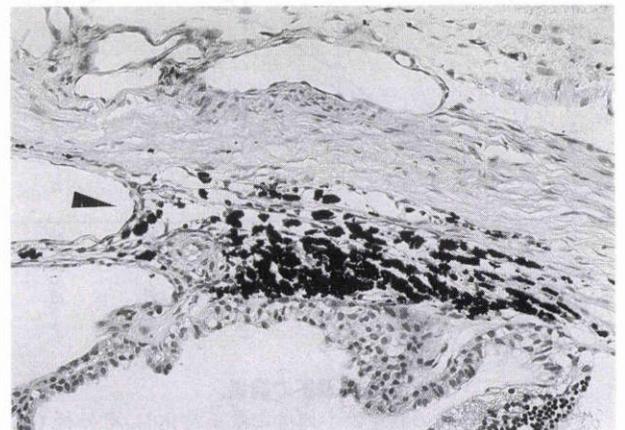


図7 実験緑内障の8週目の隅角(ヘマトキシリン・エオジン染色)。  
多量の炭素粒子が線維柱帯に残存し、周辺虹彩前癒着(矢じり)が形成されていた。

どの前房内注入、ステロイドの点眼<sup>17)</sup>、隅角光凝固<sup>18)~20)</sup>などいくつかの方法が報告されているが、眼内の炎症が少ない、眼圧上昇が一過性に終わらない、再現性が高い、目標とする眼圧が得られるよう照射の程度を調節できるなどの利点から、隅角光凝固による方法が好んで用いられてきた。また、緑内障研究の実験動物には、視神経乳頭の形態学的あるいは免疫組織化学的研究を行う上で、ヒト眼と視神経や乳頭篩状板の形態が類似していることが必要条件であったため、これまでサルを用いた研究が多く報告されてきた。しかし、サルは高価なため予備実験や多くの個体数が必要な実験には使いにくく、入手が困難である、体が大きく処置する際に扱いにくい、ヒトに感染性のあるウイルスが報告されている、など幾つかの問題点が挙げられる。

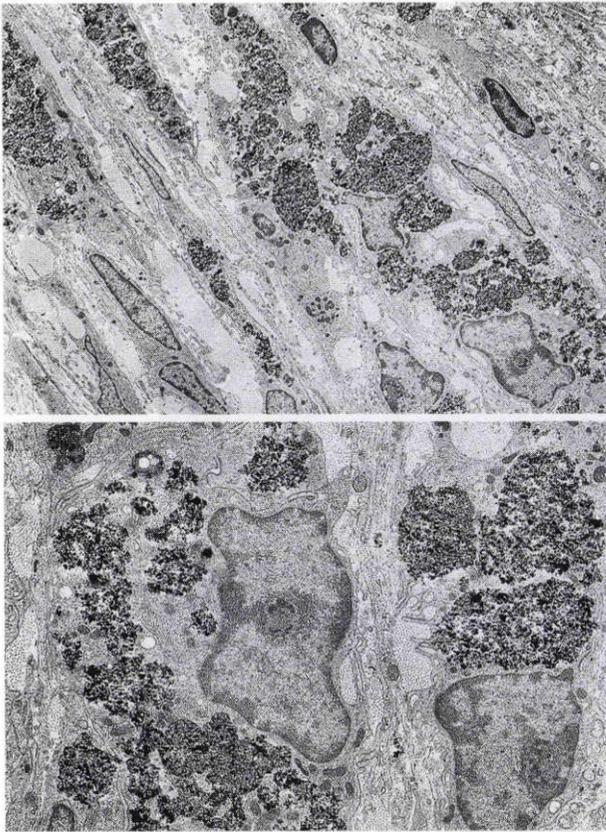


図 8,9 実験緑内障眼の 8 週目の隅角(透過型電子顕微鏡).  
線維柱間隙は、炭素粒子を貪食した多数の突起を持つマクロファージに占拠され、減少ないし消失していた。

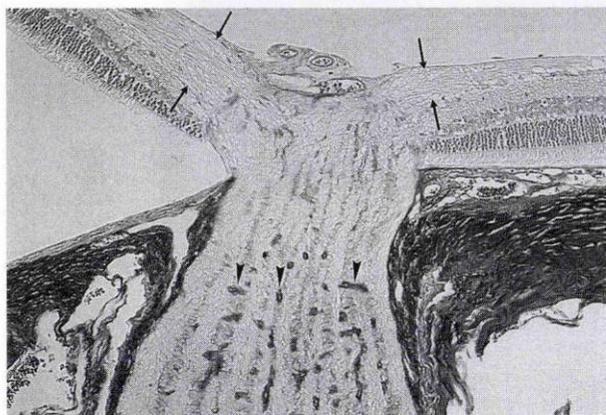


図 10 対照眼の視神経乳頭(アザン染色).  
膠原線維を主成分とする laminar beam(矢じり)は、アザン染色で青染される。

緑内障性視神経障害の病態解明に細胞生物学的なアプローチが必須となっている現在、サルに代わる実験動物として齧歯類を用いた実験モデルの必要性は大きくなりつつある。ところが、齧歯類などの小動物ではサルのような通常の隅角光凝固が行えないため、別の方法を考案せざるを得なかった。Moore ら<sup>21)</sup>、Morrison ら<sup>22)</sup>はラットの上強膜静脈にマイクロニードルを用いて高張食塩水を注入し、20 匹中 9 匹に 1 回の注入で、7 匹に 2 回の注入で眼

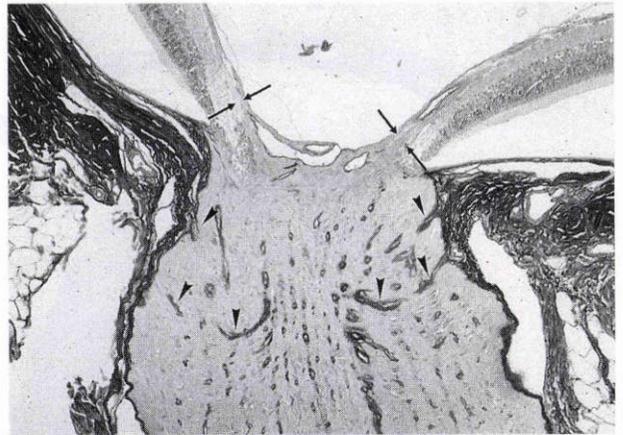


図 11 処置眼の視神経乳頭(弱拡大,アザン染色).  
神経線維層(矢印)は著明に減少し,laminar beam(矢じり)は後方へ彎曲している。

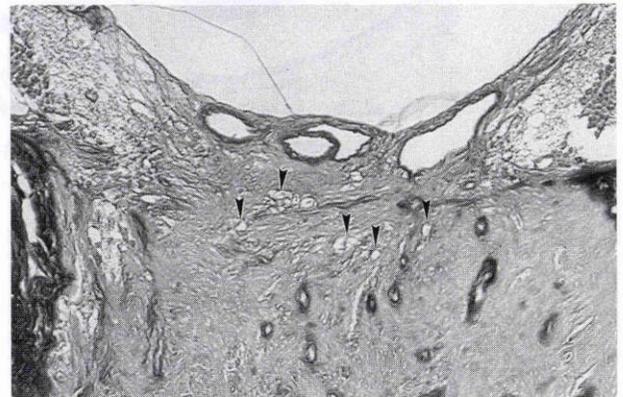


図 12 処置眼の視神経乳頭(強拡大,アザン染色).  
前篩状板部に、神経線維の脱落による海綿様変性(矢じり)がみられる。

圧上昇が得られたと報告した。Garcia ら<sup>10)</sup>はラットの結膜を切開し、房水静脈が赤道部付近で吻合して 4 本の太い静脈となるうちの 2 本を焼灼して、慢性的な高眼圧が得られたと報告した。しかし、ガラス細工によるマイクロニードルの作製は煩雑であり、上強膜静脈内注射や房水静脈の露出、選択的焼灼などの操作は、極めて精緻な技術を要する。また、隅角光凝固のように眼圧上昇の程度に応じて照射量を調節し、目的とする眼圧レベルを維持することは困難である。その他、マイクロスフィア、シアノアクリレートなどの異物を前房内に注入する方法も 1 回の処置で持続的な眼圧上昇を得るのは難しく、眼内に炎症が惹起されやすいという問題点がある。慢性的な眼圧上昇を維持するのに最も有用な隅角光凝固をラットに行い、簡便に再現性よく実験緑内障モデルを作製するには、何らかの工夫が必要となる。

今回我々は、炭素粒子を隅角に捕捉させ、炭素の熱吸収率が高いことを利用して、線維柱帯を選択的に熱凝固する方法を考案した。今回用いた凝固条件では、墨汁がなければ 1 回の照射で強角膜に凝固斑ができることはなく、

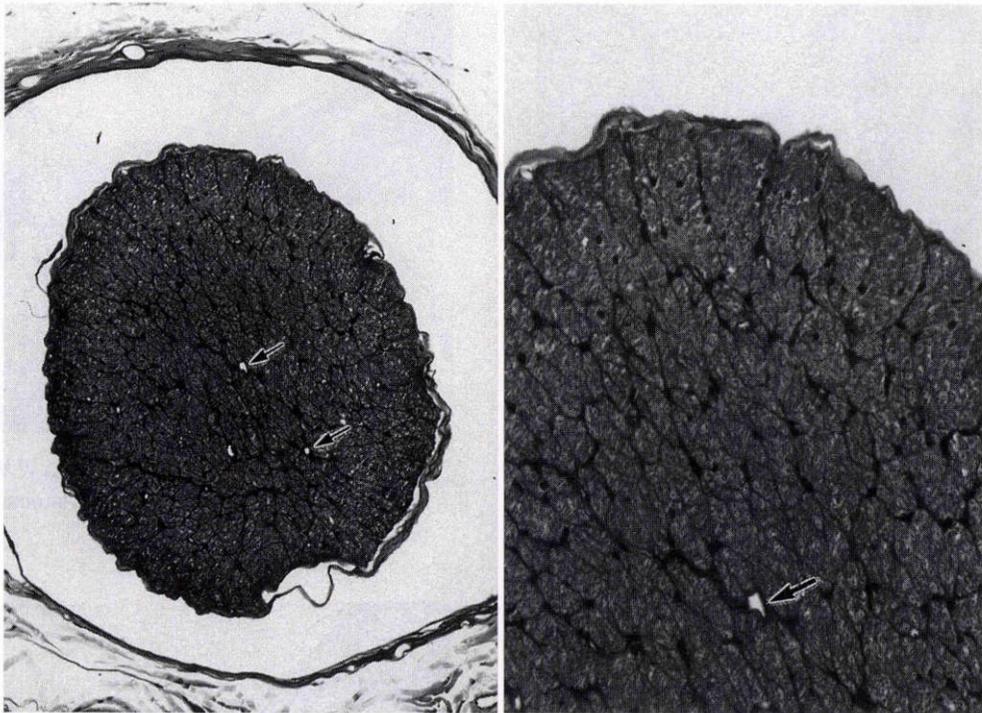


図 13 対照眼の球後の視神経の横断面(左：弱拡大, 右：強拡大, トルイジンプルー染色).  
血管腔(矢印)を除いて, 神経線維は髓鞘を含めて青染される.

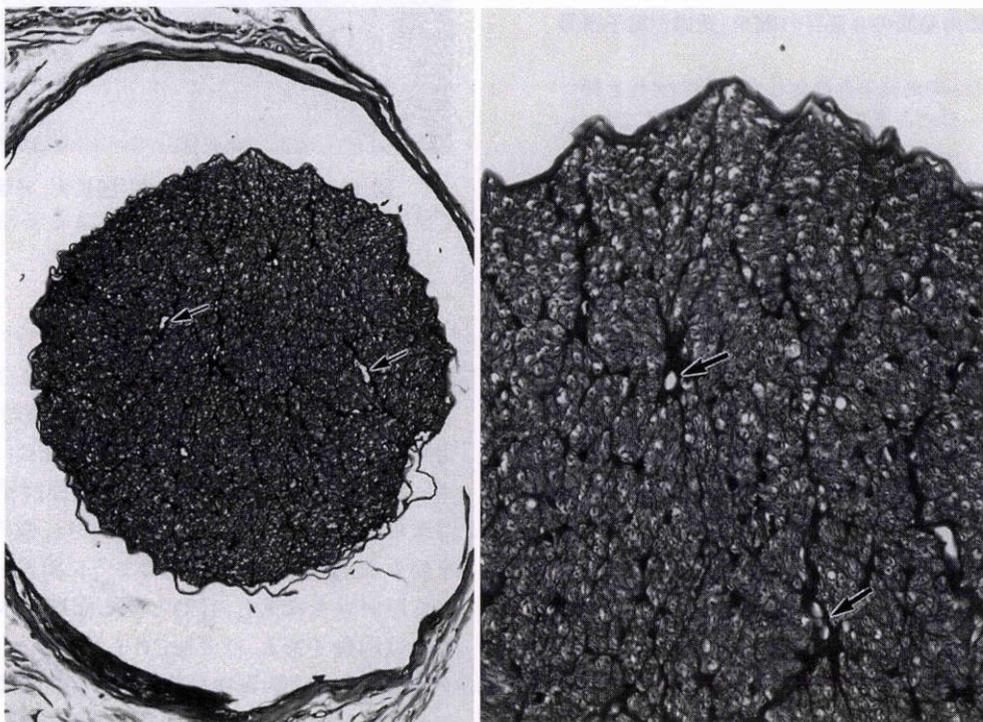


図 14 処置眼の球後の視神経の横断面(左：弱拡大, 右：強拡大, トルイジンプルー染色).  
血管腔(矢印)の他に, トルイジンプルーで青染されない脱髓巢が多数あり, 主に中心部よりも周辺部に散在している.

一方, カーボン紙に照射すると白煙が立つことから, 炭素粒子を捕捉した線維柱帯のみを選択的に熱凝固することが可能であると考えられた. この方法では墨汁注入時に強い侵襲を加えなければ, 眼内の炎症は隅角の熱傷のみ

で, いったん隅角に色素のバンドができてしまえば, 隅角鏡の必要なく反復して光凝固が可能である. ラットに限らず, マウス, ハムスターなどの齧歯類を初め, 出生直後の実験動物など隅角光凝固が困難な小動物全般にも応用

が可能な方法であると思われる。

今回の実験系において慢性的な眼圧上昇を生じる機序については、大きく2つ考えられる。1つは、図7の光学顕微鏡所見で見られる周辺虹彩前癒着あるいはendothelializationによって、器質的な閉塞隅角を生じるためであり、もう1つは図8,9の透過型電子顕微鏡所見で見られるように、炭素粒子を貪食したマクロファージ、熱凝固によるdebrisおよび細胞外基質の蓄積による線維柱間隙の狭小化によって房水流出抵抗が増大するためであると思われる。サル眼に過剰のレーザー照射を行って実験緑内障モデルを作製したPedersonら<sup>18)</sup>は、隅角鏡所見として丈の低い周辺部虹彩前癒着が全周に散見されたことを報告し、同じ緑内障モデルの組織学的所見についてRadiusら<sup>19)</sup>は、beam構造とシュレム管は比較的保たれるが、線維柱間隙が潰れていると報告した。今回の墨汁を用いた方法は、色素の多い隅角に過剰凝固を行ったのと同様の効果が得られたと考えられる。

今回のラット実験緑内障モデルでみられた視神経乳頭の組織学的変化は、Morrisonら<sup>20)</sup>の報告と同様に視神経線維が変性、脱落した所見で、ヒト緑内障眼の病理所見で見られる視神経乳頭の高脚様変性や神経線維層の萎縮と似た所見を呈していた。Morrisonら<sup>20)</sup>は透過型電子顕微鏡による観察で、軸索流が視神経乳頭の部位でうっ滞している所見を示したが、今回の光学顕微鏡による観察でも、本来ボトルネック状に細くなっているラットの乳頭篩状板部が球後の視神経とかわらない太さになっており、その部位の染色性も低下していることから、軸索の腫脹を示唆している所見と考えられた。また、laminar beamは図10のごとく後方へ彎曲し、ヒト緑内障眼の乳頭篩状板と類似した形態変化を示していた。Johnsonら<sup>13)</sup>の眼圧上昇に伴う視神経乳頭の細胞外基質の変化と併せ、ラットの乳頭篩状板にもヒト眼と同様にリモデリングが起こることが明らかとなった。ヒト眼の乳頭篩状板ではlaminar poreが縦列しており、緑内障ではその横方向のずれが中を通る軸索を絞扼する構造を持つが、ラットでは放射状の2~3層から成る約30本のlaminar beamを細い膠原線維が架橋している構造を持っている<sup>21)</sup>。したがって、神経線維が直接laminar beamによって絞扼されるのか、あるいは神経線維をとりまいて星状膠細胞の線維性の突起が何らかの形で関与している<sup>24)</sup>のか、ラット眼における軸索輸送の障害機序は明らかでない。今後、オートラジオグラフィを含めた微細構造学的な検討が必要であると思われる。

今回我々が作製した齧歯類を用いた実験緑内障モデルは、簡便かつ再現性が高く、今後、細胞生物学的な緑内障の病態解明に貢献し、遺伝子導入を含めた新しい緑内障治療の研究の可能性を広げることが期待される。

本研究の要旨は、第8回日本緑内障学会において報告した。また、本論文は本誌と著作権を共有するJapanese Journal of

Ophthalmology に投稿中である。

## 文 献

- 1) Anderson DR, Francisco S: Ultrastructure of human and monkey lamina cribrosa and optic nerve head. Arch Ophthalmol 82: 800—814, 1969.
- 2) Quigley HA, Addicks EM: Chronic experimental glaucoma in primates. 1. Production of elevated intraocular pressure by anterior chamber injection of autologous ghost red blood cells. Invest Ophthalmol Vis Sci 19: 126—136, 1980.
- 3) Quigley HA, Addicks EM: Chronic experimental glaucoma in primates. 2. Effect of extended intraocular pressure elevation on optic nerve head and axonal transport. Invest Ophthalmol Vis Sci 19: 137—152, 1980.
- 4) Morrison JC, Dorman ME, Quigley HA: Optic nerve head extracellular matrix in primary optic atrophy and experimental glaucoma. Arch Ophthalmol 108: 1020—1024, 1990.
- 5) 福地健郎: 猿実験緑内障眼における視神経篩状板・細胞外マトリックスの免疫組織化学的分析. 日眼会誌 95: 303—310, 1991.
- 6) Hernandez MR, Wang N, Hanley NM, Neufeld AH: Localization of collagen types I and IV mRNAs in human optic nerve head by *in situ* hybridization. Invest Ophthalmol Vis Sci 32: 2169—2177, 1991.
- 7) Hernandez MR, Janethe DOP: The optic nerve head in glaucomatous optic neuropathy. Arch Ophthalmol 115: 389—395, 1997.
- 8) Garcia-Valenzuela E, Shareef S, Walsh J, Sharma SC: Programmed cell death of retinal ganglion cells during experimental glaucoma. Exp Eye Res 61: 33—44, 1995.
- 9) Quigley HA, Nickells RW, Kerrigan LA, Pease ME, Thibault DJ, Zack DJ: Retinal ganglion cell death in experimental glaucoma and after axotomy occurs by apoptosis. Invest Ophthalmol Vis Sci 36: 774—786, 1995.
- 10) Garcia I, Martinou I, Tsujimoto Y, Martinou JC: Prevention of programmed cell death of sympathetic neurons by the bcl-2 proto-oncogene. Science 258: 302—304, 1992.
- 11) Johansson JO: Inhibition of retrograde axoplasmic transport in rat optic nerve by increased IOP *in vitro*. Invest Ophthalmol Vis Sci 24: 1552—1558, 1983.
- 12) Morrison JC, Farrell S, Johnson E, Deppmeier L, Moore CG, Grossmann E: Structure and composition of the rodent lamina cribrosa. Exp Eye Res 60: 127—135, 1995.
- 13) Johnson EC, Morrison JC, Farrell S, Deppmeier L, Moore CG, McGinty MR: The effect of chronically elevated intraocular pressure on the rat optic nerve head extracellular matrix. Exp Eye Res 62:

- 663—674, 1996.
- 14) **Anderson DR, Hendrickson A**: Effect of intraocular pressure on rapid axoplasmic transport in monkey optic nerve. *Invest Ophthalmol* 13: 771—783, 1974.
  - 15) **Lessell S, Kuwabara T**: Experimental  $\alpha$ -chymotrypsin glaucoma. *Arch Ophthalmol* 81: 853—864, 1969.
  - 16) **Epstein DL, Freddo TF, Anderson PJ, Patterson MM, Bassett-Chu S**: Experimental obstruction to aqueous outflow by pigment particles in living monkeys. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 27: 387—395, 1986.
  - 17) **Zhan GL, Miranda OC, Bito LZ**: Steroid glaucoma: Corticosteroid-induced ocular hypertension in cats. *Exp Eye Res* 54: 211—218, 1992.
  - 18) **Pederson JE, Gaasterland DE**: Laser-induced primate glaucoma. I. Progression of cupping. *Arch Ophthalmol* 102: 1689—1692, 1984.
  - 19) **Radius RL, Pederson JE**: Laser-induced primate glaucoma. II. Histopathology. *Arch Ophthalmol* 102: 1693—1698, 1984.
  - 20) **Koss MC, March WF, Nordquist RE, Gherezghier T**: Acute intraocular pressure elevation produced by argon laser trabeculoplasty in the cynomolgus monkey. *Arch Ophthalmol* 102: 1699—1703, 1984.
  - 21) **Moore C, Milne S, Morrison J**: A rat model of pressure-induced optic nerve damage. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 34(Suppl): 1141, 1993.
  - 22) **Morrison JC, Moore CG, Deppmeier LMH, Gold BG, Meshul CK, Johnson EC**: A rat model of chronic pressure-induced optic nerve damage. *Exp Eye Res* 64: 85—96, 1997.
  - 23) **Ueda J, Sawaguchi S, Fukuchi T, Abe H**: Developmental changes of three dimensional collagenous structures in rat lamina cribrosa. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 38(Suppl): 27, 1997.
  - 24) **Elkington AR, Inman CBE, Steart PV, Weller RO**: The structure of the lamina cribrosa of the human eye: An immunocytochemical and electron microscopical study. *Eye* 4: 42—57, 1990.