

ラット眼ブルッフ膜の加齢変化

戸倉 敬雄, 伊東 滋雄, 西川 睦彦, 山根 淳志, 三木 弘彦

関西医科大学眼科学教室

要 約

目 的 : ラットは Bruch(ブルッフ)膜の加齢変化の実験動物になるかを検討した。

方 法 : Sprague-Dawley 系雄ラットを用いて, 生後 1, 6, 12, 27 か月の月齢別に超微形態学的に観察した。

結 果 : 加齢に伴いブルッフ膜の両側の基底膜は肥厚した。6 か月齢以後には脈絡膜毛細血管内皮細胞基底膜の重複化と断裂が一部にみられ, 同部位には脈絡膜毛細血管内皮細胞の胞体から網膜色素上皮細胞側に向かう偽足がみられた。12 か月齢では網膜色素上皮細胞の基底膜の胞体内に空胞や, 脈絡膜毛細血管内皮細胞基底膜が重複化と断裂した部位の外側膠原線維層に細線維や細胞突

起の一部がみられた。27 か月齢ではブルッフ膜の両側の基底膜の肥厚は著明となり, 一部では basal laminar deposit の出現や弾性線維の消失, 膠原線維の増加などの強い変化がみられた。

結 論 : 月齢に伴いブルッフ膜の加齢変化が強くなったことから, 本ラットはブルッフ膜の加齢変化の実験動物に用いることができると思われた。(日眼会誌 103 : 77-84, 1999)

キーワード : 加齢変化, ブルッフ膜, 脈絡膜毛細血管, 網膜色素上皮細胞, 加齢黄斑変性

Age-related Changes in Bruch's Membrane in Rats

Takao Tokura, Shigeo Ito, Mutsuhiko Nishikawa, Atsushi Yamane and Hirohiko Miki

Department of Ophthalmology, Kansai Medical University

Abstract

Purpose : We investigated rats were worth the experimental animal on the aging changes in Bruch's membrane.

Methods : We did an ultramicro-morphological study on the aging changes in Bruch's membrane, in male Sprague-Dawley rats at 1, 6, 12 and 27 months after their birth.

Results : With the aging, the basement membranes on both sides of Bruch's membrane have become thick. At 6 months of age, the basement membranes of the endothelial cells of the choriocapillaris were found to be multilayered and cracked and pseudopodia of the endothelium were also observed toward the retinal pigment epithelium. At 12 months of age, we found vacuoles in the basal portion of the retinal pigment epithelium, as well as fibrillae and a part of the process of a cell in the outer collagenous zone

correspond with the portion of the multilayered and cracked basement membranes of the endothelial cells of the choriocapillaris. At the age of 27 months, the basement membranes were thicker and a basal laminar deposit was seen. Prominent changes such as disappearance of the elastic fibers and increase of the collagenous fibers and fibrillae were also seen in some portions.

Conclusions : Thus, the aging changes in Bruch's membrane of rats were remarkably reinforced in accordance with the age, it were appeared these rats were worth the experimental animal. (J Jpn Ophthalmol Soc 103 : 77-84, 1999)

Key words : Aging change, Bruch's membrane, Choriocapillary, Retinal pigment epithelium, Age-related macular degeneration

I 緒 言

加齢黄斑変性は高齢者の視力障害の主要な原因疾患で

あり, 我が国で近年急増している¹⁾. 本疾患は臨床的に萎縮型と滲出型がある²⁾. このうち, 滲出型は脈絡膜から網膜下に新生血管が発生し, 黄斑部に出血や滲出などを生

別刷請求先 : 570-0074 守口市文園町 10-15 関西医科大学眼科学教室 戸倉 敬雄

(平成 10 年 3 月 4 日受付, 平成 10 年 8 月 25 日改訂受理)

Reprint requests to: Takao Tokura, M.D. Department of Ophthalmology, Kansai Medical University, 10-15 Fumizono-cho, Moriguchi 570-0074, Japan

(Received March 4, 1998 and accepted in revised form August 25, 1998)



図1 1か月齢.

酢酸ウラニールとクエン酸鉛による二重染色の標本で、タンニン酸は加えていないBruch(ブルッフ)膜の線維成分は染色されておらず不明瞭であり、5層構造が明らかでない。バーは1 μ m

じ、やがて癥痕巣となり中心視力の喪失を来す。本疾患の主病変は黄斑部のBruch(ブルッフ)膜および網膜色素上皮細胞の加齢変化により発生することがわかってきている^{1)3)~9)}。加齢変化は、一般に高齢になるほど強くなる^{4)~8)}。今後、社会の高齢化に伴って、本疾患はますます増加することが予想されており、本疾患の病態を知り、新しい治療法や予防法の解明が望まれている。ブルッフ膜や網膜色

素上皮細胞の加齢変化の研究には人眼に近いサル眼を用いるのがよいが、飼育期間の問題や動物愛護の問題があり、また高価でもあり扱いにくい。そこで、小動物であるラット眼を用いて加齢変化に関する研究ができればその有用性は大きい。ラット眼には黄斑部はないが、ブルッフ膜や網膜色素上皮細胞の加齢変化をみることは期待できる。今回我々はラット眼を用いて、ブルッフ膜の加齢変化を超微形態学的に観察したところ、ラット眼はブルッフ膜の加齢変化の実験モデル動物として用いられることがわかったので報告する。

II 実験方法

1. 実験動物

生後1, 6, 12, 27か月齢のSprague-Dawley(SD)系雄ラットを1, 12か月齢は各3匹6眼, 6, 27か月齢は各4匹8眼用いた。なお, 6, 12, 27か月齢のラットは2~9か月齢のラットを購入し, 動物飼育センターでラット用標準固形飼料で飼育したのを使用した。

2. 試料作製方法および観察方法

ラットの腹腔内にペントバルビタールナトリウム(ネンブタール[®])を注射して全身麻酔を行い, 2%パラホルムアルデヒド・カコジル酸緩衝液を大動脈から注入して灌流固定後, 両眼を眼球摘出した。眼球はさらに2.5%グルタルアルデヒドと2%パラホルムアルデヒド混合リン酸緩衝液に浸漬しながら, 眼球を赤道部で前後に二分し, 後半部を視神経乳頭部を頂点とする小片に細切して, 前固定を行った。これらをリン酸緩衝液で洗浄して1%四酸化オスミウムリン酸緩衝液で約1時間の後固定を行った。その後, エタノール系列で脱水, プロピレンオキサイドに置換し, スーパー樹脂に包埋した。作製した試料はミク



図2 1か月齢.

ブルッフ膜は内外の基底膜, 内外の膠原線維層, 弾性線維層から構成されている。ブルッフ膜の5層構造は正常の構造を示し, 網膜色素上皮細胞の基底陥入もよく保たれ, 脈絡膜毛細血管内皮細胞の有窓構造も明瞭にみられる。ブルッフ膜は正常構造を示している。バーは1 μ m



図 3 6 か月齢.

ブルッフ膜の 5 層構造にはほとんどの所で異常はみられない。しかし、一部で脈絡膜毛細血管内皮細胞の基底膜に重複化と断裂がみられ(矢印),そこに内皮細胞の胞体の偽足状の細胞突起がみられる(矢じり)所がある。1 か月齢と同様に網膜色素上皮細胞の基底陥入は良く保たれている。バーは 1 μm

ロトームで 0.1 μm の超薄切片を作製した。電子染色として酢酸ウラニールとクエン酸鉛での二重染色では線維成分が十分に染色されない(図 1)ので、Kajikawa ら¹⁰⁾の方法を用いて酢酸ウラニール・タンニン酸とクエン酸鉛で二重染色し、透過型電子顕微鏡で観察した。

III 結 果

ラットの眼底には黄斑部がなく、網膜血管は視神経乳頭から放射状に走行している。本報では視神経乳頭近傍のブルッフ膜について観察した。

1. 1 か月 齢

ブルッフ膜の内外の基底膜,内外の膠原線維層,1 層の弾性線維層の 5 層は正常と変わらない構造を示していた。網膜色素上皮細胞の基底部にはよく発達した基底陥入がみられた。脈絡膜毛細血管の内皮細胞には多数の有窓構造がみられた(図 2)。

2. 6 か月 齢

1 か月齢と同様に,ブルッフ膜の構造や網膜色素上皮細胞の基底陥入にはほとんど異常はみられなかった。しかし,1 眼に脈絡膜毛細血管内皮細胞の基底膜に重複化と断裂がみられ,そこに内皮細胞の胞体の偽足状の細胞突起がみられた(図 3)。

3. 12 か月 齢

網膜色素上皮細胞の基底部の胞体内には空胞がみられ,基底陥入は開大していた。脈絡膜毛細血管内皮細胞の基底膜は厚くなっていたが,ブルッフ膜の内外の膠原線維層と弾性線維層には変化がみられないが多かった(図 4 A)。1 眼に脈絡膜毛細血管内皮細胞の基底膜に重複化と断裂が広汎にみられ,そこでは内皮細胞の胞体の偽足状の細胞突起が網膜色素上皮細胞側に向かって伸び

ていた(図 4 B)。他の 1 眼では脈絡膜毛細血管内皮細胞の基底膜が重複化と断裂している部の外側膠原線維層に,細線維と細胞突起の一部がみられた(図 4 C)。

4. 27 か月 齢

網膜色素上皮細胞の基底膜と脈絡膜毛細血管内皮細胞の基底膜は 12 か月齢よりもさらに厚くなっており(図 5 A),同様の所見がほとんどの部でみられた。しかし,1 眼では弾性線維層が消失し,膠原線維や細線維が著明に増加して,ブルッフ膜の 5 層構造が壊れ,脈絡膜毛細血管内皮細胞の有窓構造は消失していた(図 5 B)。また,網膜色素上皮細胞の開大した基底陥入部に均一無構造の物質が貯溜していた。脈絡膜毛細血管内皮細胞の胞体の偽足状の細胞突起が網膜色素上皮細胞側に向かって伸びているのがみられた(図 5 C)。

IV 考 按

我々はラット眼を用いて,ブルッフ膜の加齢変化を組織細胞学的に検討した。SD 系ラットの平均寿命は約 25 か月であり,性成熟期は生後約 80 日目頃である¹¹⁾。本研究で用いた 1 か月齢のラットは人間に換算すると少年期であり,6 か月齢は成年期,12 か月齢は壮年期,27 か月齢は老年期に相当すると考えられる。

ブルッフ膜は網膜色素上皮細胞の基底膜,内側膠原線維層,弾性線維層,外側膠原線維層,脈絡膜毛細血管内皮細胞の基底膜の 5 層の線維成分で構成されている³⁾¹²⁾。電子顕微鏡用の薄切切片標本の電子染色に通常用いられる酢酸ウラニールとクエン酸鉛の二重染色では,図 1 のようにこれらの線維成分が十分に染色されず観察には適さないことがわかった。今回の研究では Kajikawa ら¹⁰⁾の方法によるタンニン酸染色を行ったところ,図 2~5 にみら

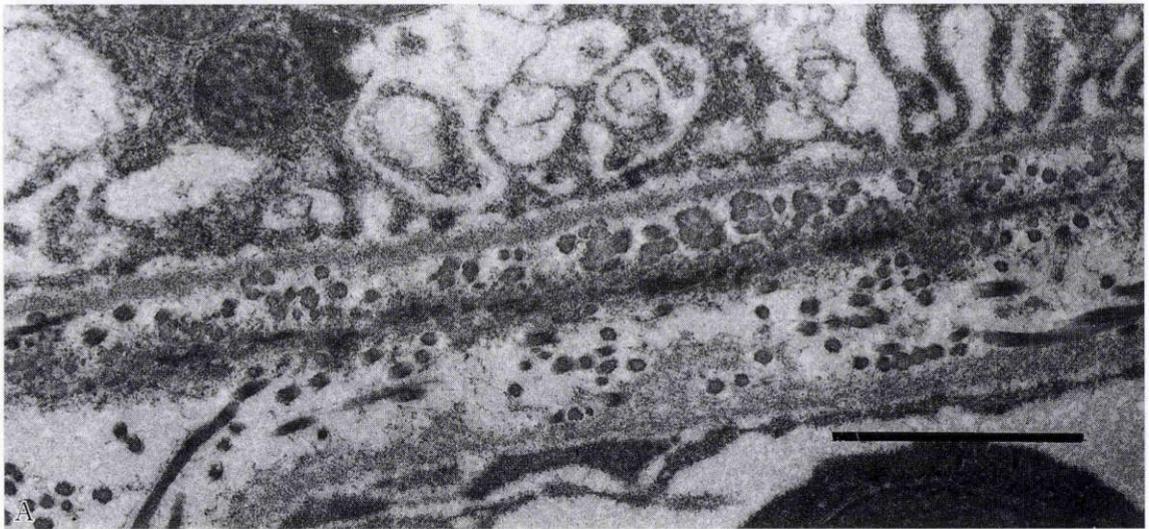


図4のA例

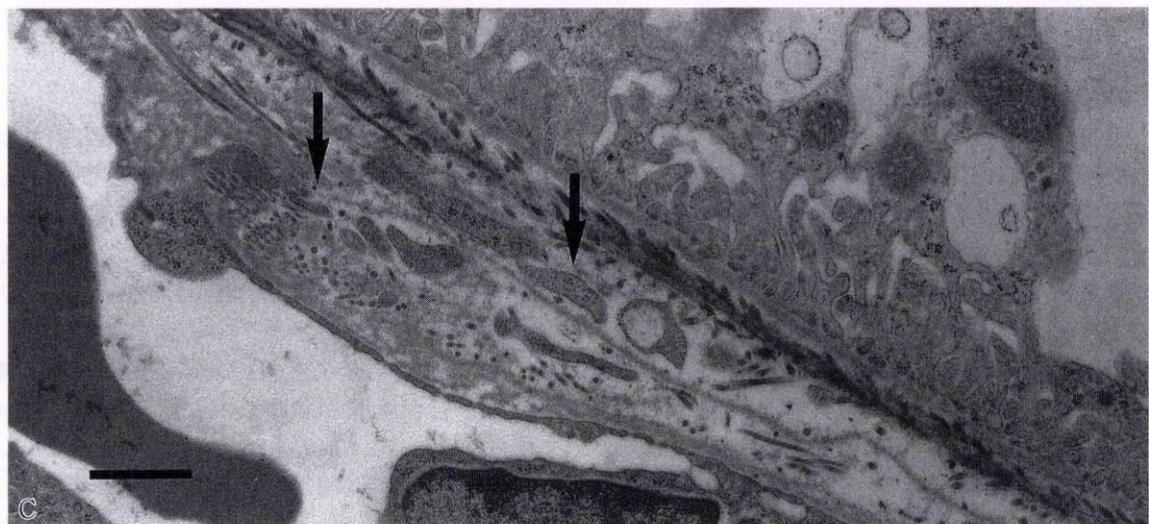
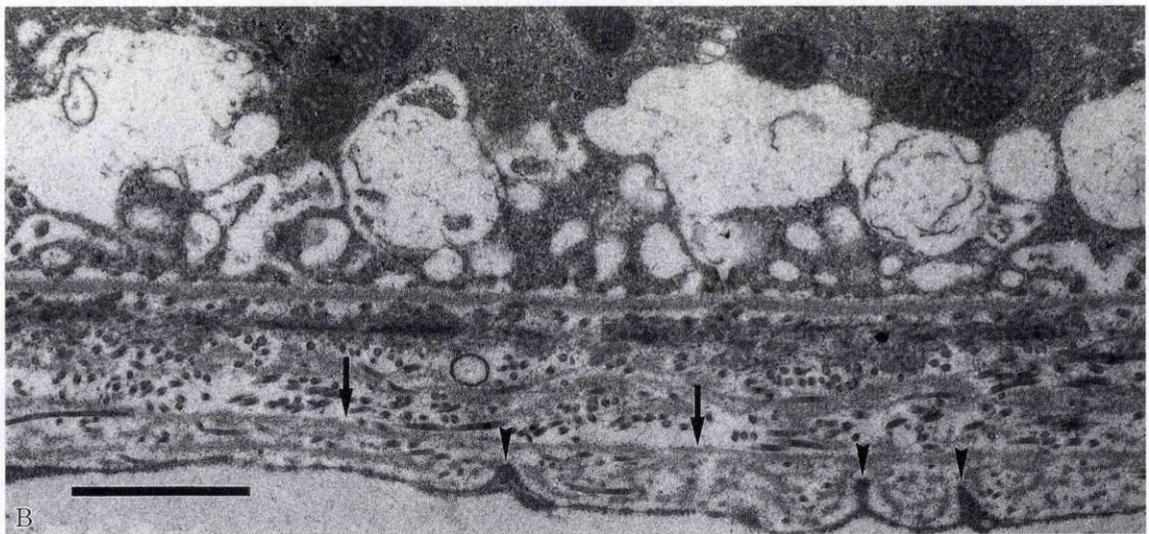


図4

れるようにブルッフ膜の 5 層構造の線維成分が明瞭に観察できた。網膜色素上皮細胞や脈絡膜毛細血管内皮細胞の細胞内小器官は少し濃く染色されたが、観察に特に問題となる点はなく、ブルッフ膜を観察するには良い方法と思われた。

網膜色素上皮細胞の加齢変化については、12 か月齢から基底部の胞体内に空胞形成がみられ、基底陥入は開大していた。空胞は基底陥入と連続しているものや離れて独立しているのがみられたが、基底部の胞体内に多数存在していた。視細胞の栄養は脈絡膜毛細血管からブルッフ膜と網膜色素上皮細胞を経由して供給されている。網膜色素上皮細胞の基底陥入の構造は、細胞膜の面積を広くし脈絡膜毛細血管からの栄養を吸収しやすくしている。この基底陥入が開大して空胞形成を示していることは、脈絡膜毛細血管からの物質の輸送に何らかの障害があり、このため基底陥入を開大して少しでも多くの栄養を吸収しようとしている形態学的変化なのか、または網膜色素上皮細胞自身の機能低下によるものと推察される。マウスの網膜色素上皮細胞の加齢変化でも基底陥入の開大と空胞形成が Mishima ら¹³⁾により観察されている。

27 か月齢の一部では図 5 C のように網膜色素上皮細胞の基底陥入部に、均一無構造の物質がみられた。Green ら⁹⁾は人眼を観察し、網膜色素上皮細胞の基底膜の内方に位置し wide spaced collagen でほとんど構成されているものを basal laminar deposit とし、網膜色素上皮細胞の基底膜の外方、すなわち、内側膠原線維層に位置し小胞状の物質から構成されているものを basal linear deposit として区別している。本研究で観察した網膜色素上皮細胞基底部の物質は均一無構造で、wide spaced collagen はみられなかったが、網膜色素上皮細胞の基底膜の内方に存在しており、その存在場所から Green ら⁹⁾がいう basal laminar deposit に相当するものと考えられ、高齢のラットのみにみられたことから、加齢による産物と思われた。このような物質が加齢により増加してくると、脈絡膜毛細血管と網膜色素上皮細胞との物質輸送の妨げになると考えられている¹³⁾。その結果、網膜色素上皮細胞が低酸素および低栄養状態となって、脈絡膜から網膜下への新生血管の発生を誘発する環境になると思われた。Green ら⁹⁾は basal laminar deposit や basal linear depo-

sit は新生血管発生と関連があるとしている。

加齢に伴ってブルッフ膜の厚さは増すといわれている^{4)~7)14)~16)}。今回も同様の所見がみられ、特に線維層の変化と基底膜の肥厚が強くみられた。

線維層の加齢変化としては、1, 6 か月齢では特に変化はみられなかったが、12 か月齢の一部では脈絡膜毛細血管内皮細胞の基底膜が重複化と断裂している部に一致して、外側膠原線維層に細線維と細胞突起の一部がみられた。しかし、内側膠原線維層には特に変化はみられなかった。人眼では加齢につれて、まず、内側膠原線維層に小空胞、輪状模様の構造物、濃染性顆粒、約 100 nm 間隔の幅広の縞様構造物が出現し、さらに、加齢が進むとこれらの物質が増加し外側膠原線維層にも広がると報告⁴⁾⁷⁾されている。老化促進マウスでは内側膠原線維層には変化が乏しく、外側膠原線維層に 12 か月齢で小管状構造物と微細線維の集合がみられたとしている¹⁴⁾。今回の観察でも内側膠原線維層には異常はなく、外側膠原線維層にのみ変化が起こっており、しかも脈絡膜毛細血管内皮細胞の基底膜が重複化と断裂している部位に一致してみられたことは興味深い所見であった。

27 か月齢の一部では図 5 B のように弾性線維層が消失し、膠原線維や細線維が著明に増加しているのがみられた。ブルッフ膜内が膠原線維や細線維に置き換えられると、網膜色素上皮細胞と脈絡膜毛細血管との物質交換の機能が低下することが考えられる。他の臓器では、生理的な加齢では弾性線維は増加することが肺、皮膚、動脈などにおいて観察されている¹⁷⁾が、病的状態では弾性線維の分解と新生が起こっていることが報告¹⁷⁾されている。また、動脈血管壁では内弾性板の弾性線維が崩壊すると、その部位は膠原線維で置換される¹⁷⁾。本研究で我々がみた弾性線維が全く消失し、膠原線維と細線維で満たされたブルッフ膜の所見は、動脈血管壁の加齢変化と類似の所見と思われ、加齢黄斑変性を考えるうえで興味ある所見であった。

ブルッフ膜を構成する内外の基底膜は加齢に伴い肥厚していた。12 か月齢では脈絡膜毛細血管内皮細胞の基底膜は網膜色素上皮細胞の基底膜より厚さを増し、27 か月齢ではさらに肥厚していた。網膜色素上皮細胞の基底膜は均一に肥厚していたが、脈絡膜毛細血管内皮細胞の基底膜は均一に肥厚するだけではなく、一部には重複化と

図 4 A 12 か月齢.

脈絡膜毛細血管内皮細胞の基底膜の厚さは網膜色素上皮細胞の基底膜と比べ厚くなっている。ブルッフ膜の線維層には特に変化はみられない。網膜色素上皮細胞の基底部の胞体内に空胞がみられ、基底陥入は開大している。バーは 1 μm

B 12 か月齢.

脈絡膜毛細血管内皮細胞の基底膜の重複化と断裂が広汎にみられ(矢印)、そこでは内皮細胞の胞体の偽足状の細胞突起が網膜色素上皮細胞側に向かって伸びている(矢じり)。バーは 1 μm

C 12 か月齢.

脈絡膜毛細血管内皮細胞の基底膜が重複化と断裂している部の外側膠原線維層に、細線維や細胞突起の一部(矢印)がみられる。バーは 1 μm

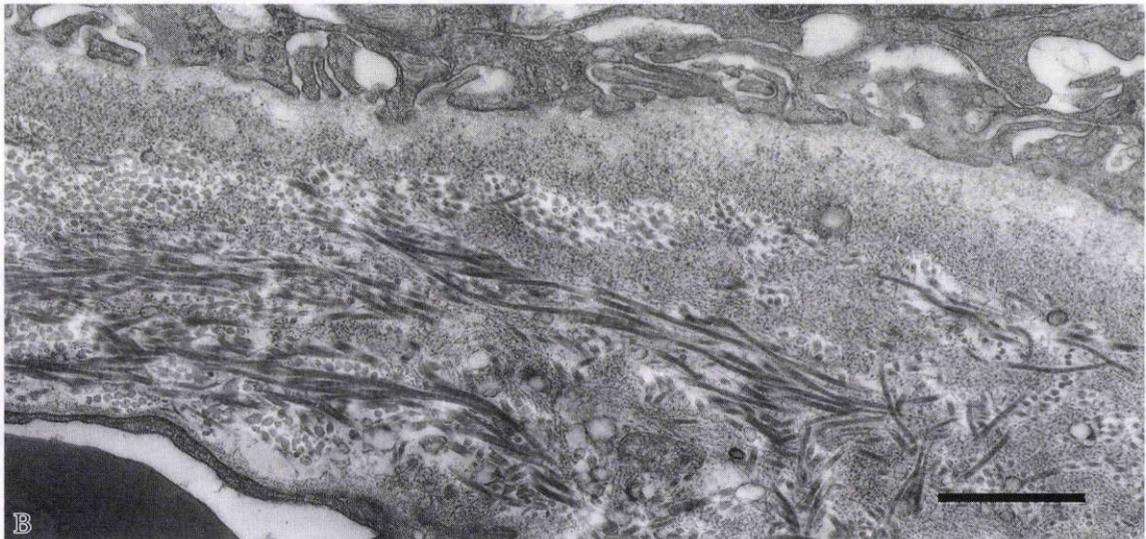
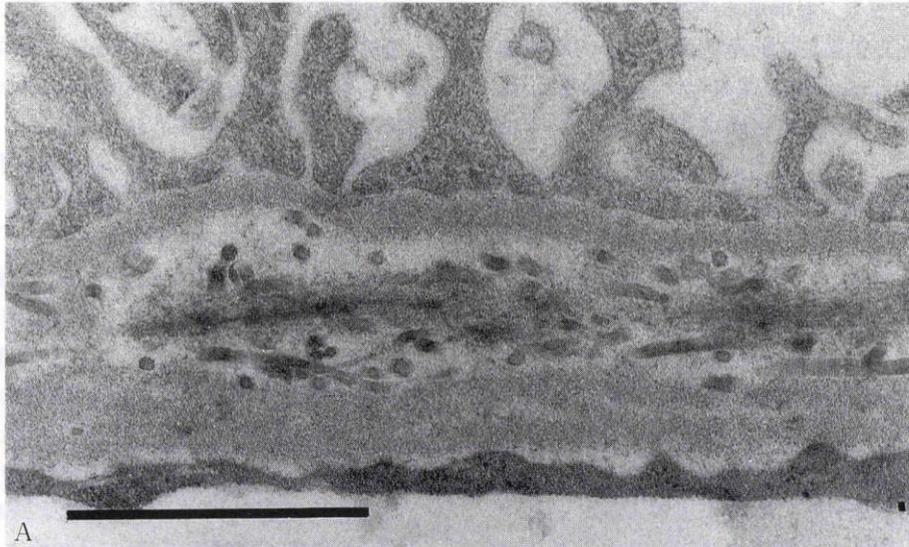


図 5 A 27 か月齢.

網膜色素上皮細胞の基底膜と脈絡膜毛細血管内皮細胞の基底膜はともにさらに肥厚している. パーは 1 μ m

B 27 か月齢.

ブルッフ膜の弾性線維層は消失し, 多数の膠原線維と細線維がブルッフ膜にみられる. 脈絡膜毛細血管内皮細胞の有窓構造が消失している. パーは 1 μ m

断裂がみられた. 老化促進マウスでも, 網膜色素上皮細胞の基底膜より脈絡膜毛細血管内皮細胞の基底膜の方が加齢とともに厚くなっていったと報告¹⁴⁾¹⁵⁾されている.

本研究で, 脈絡膜毛細血管内皮細胞の基底膜が重複化と断裂を示した所見は 6, 12, 27 か月齢でみられた. 基底膜の多層化は一般的に間質の水腫, 漿液性炎症, 上皮細胞の再生, 糖尿病の腎組織にしばしばみられる所見¹⁷⁾, その発生機序は基底膜構成細胞の崩壊と同時に基底膜が元の位置から離れ再生細胞による新しい基底膜が形成され, これが繰り返されることで基底膜が多層になると考えられている¹⁷⁾. そして, 離脱した基底膜は線維芽細胞によって貪食されて処理されるが, その速度は基底膜により異なり, 除去される速度が遅い基底膜ほど多層化を起しやすくとされている¹⁷⁾. 毛細血管, 末梢神経, 尿管管

の基底膜は除去されにくく, 多層化を起しやすいとわられている¹⁷⁾. 脈絡膜毛細血管内皮細胞の基底膜は処理されにくいため, 重複化を示したものと推察される. このような基底膜の肥厚や多層化に伴う機能的障害については不明確なことが多い¹⁷⁾が, ブルッフ膜を介する網膜色素上皮細胞と脈絡膜毛細血管との物質輸送の機能を低下させる一因になると考えられる.

脈絡膜毛細血管内皮細胞の加齢変化としては, 胞体の一部が網膜色素上皮細胞側に向かって偽足状の細胞突起を伸ばしているのが 6, 12, 27 か月齢の一部でみられた. 6, 12 か月齢では基底膜が重複化と断裂している所のみ偽足状の細胞突起を認め, Orzalesi ら¹⁸⁾の所見と一致していた. 27 か月齢では, ブルッフ膜の構造が乱れている所に偽足状の細胞突起がみられた. このような偽足状

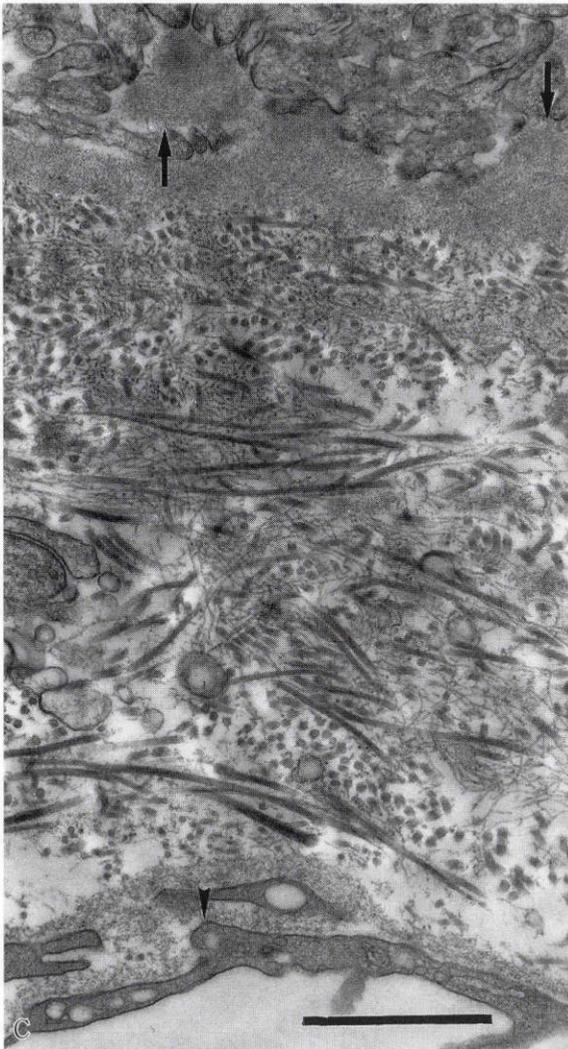


図 5C 27 か月齢.

網膜色素上皮細胞の開大した基底陥入部に、均一無構造の物質(矢印)が貯溜している。ブルッフ膜内に多数の膠原線維や細線維がみられる。脈絡膜毛細血管内皮細胞の胞体の偽足状の細胞突起が網膜色素上皮細胞側に向かって伸びている(矢じり)。バーは 1 μm

の細胞突起は人眼では若齢者から高齢者まで認めたという報告¹⁹⁾、網膜色素上皮細胞に光傷害を加えると偽足状の細胞突起が内皮細胞の基底膜を消化するように伸びたとの報告¹⁸⁾²⁰⁾、家兎の網膜下に硝子体を注入すると偽足状の細胞突起が伸びたとの報告²¹⁾などがある。このような偽足状の細胞突起が何を意味するかは未だ不明であるが、新生血管発生の準備状態とも考えられている¹⁹⁾²⁰⁾。本研究では脈絡膜毛細血管内皮細胞の基底膜やブルッフ膜の線維層の変化がある所に出現することがわかった。

今回の実験研究結果をまとめると次のようになる。6 か月齢で脈絡膜毛細血管内皮細胞の基底膜の一部に重複化と断裂がみられ、同部に脈絡膜毛細血管内皮細胞から偽足状の細胞突起がみられた。12 か月齢で網膜色素上皮細胞の基底膜の胞体内に空胞が出現し、内外の基底膜の均一の肥厚や、脈絡膜毛細血管内皮細胞の基底膜の一部

に重複化と断裂がみられ、同部の外側膠原線維層の一部に細線維や細胞突起の一部がみられた。また、重複化と断裂がみられた基底膜には脈絡膜毛細血管内皮細胞から偽足状の細胞突起がみられた。27 か月齢で内外の基底膜の肥厚がさらに著明となり、一部では basal laminar deposit がみられたり、弾性線維の消失や膠原線維の増加などの強い変化がみられた。このように、ラット眼ブルッフ膜の組織所見は月齢に伴い加齢変化が強くなった。しかし、ラットの個体および部位により所見の差もみられることから、ブルッフ膜の加齢変化は均一的な変化と、局所的な強い変化とが混在して出現することがわかった。今回の実験結果から、SD 系ラット眼はブルッフ膜の加齢変化の実験モデル動物として用いることができると思われた。

稿を終えるに当たり、ご校閲を賜りました関西医科大学眼科学教室宇山昌延教授に深謝いたします。また、27 か月齢のラット眼を提供して下さった京都大学第二解剖学教室小川和重氏(現、岩手大学農学部獣医学科)に感謝いたします。

文 献

- 1) 宇山昌延：脈絡膜新生血管，基礎と臨床。日眼会誌 95：1145—1180，1991。
- 2) 大熊 紘：老人性ドローゼと老人性円板状黄斑変性症。戸張幾生(編)：眼科 MOOK No. 29 老人と眼。金原出版，東京，158—168，1986。
- 3) Hogan MJ：Bruch's membrane and disease of the macula. Role of elastic tissue and collagen. Trans Ophthalmol Soc UK 87：113—161，1967。
- 4) Hogan MJ, Alvarado J：Studies on the human macula. IV. Aging changes in Bruch's membrane. Arch Ophthalmol 77：410—420，1967。
- 5) Hogan MJ：Role of the retinal pigment epithelium in macular disease. Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol 76：64—80，1972。
- 6) Sarks SH：Ageing and degeneration in the macular region：A clinico-pathological study. Br J Ophthalmol 60：324—341，1976。
- 7) 水野計彦，星野元宏：網膜脈絡膜の Aging に関する病理組織学的研究—第 3 報—電子顕微鏡による黄斑部色素上皮の観察。日眼会誌 88：641—652，1984。
- 8) Feeney-Burns L, Ellersieck MR：Age-related changes in the ultrastructure of Bruch's membrane. Am J Ophthalmol 100：686—697，1985。
- 9) Green WR, Enger C：Age-related macular degeneration histopathologic studies. Ophthalmology 100：1519—1535，1993。
- 10) Kajikawa K, Yamaguchi T, Katsuda S, Miwa A：An improved electron stain for elastic fibers using tannic acid. J Electron Microsc 24：287—289，1975。
- 11) 堀内茂友，奥水 馨，安達二郎，及川 弘，後藤信男，谷村 孝，他：田嶋嘉雄(編)：実験動物の生物学的特性データ。ソフトサイエンス社，東京，27，220，1989。

- 12) **Nakaizumi Y**: The ultrastructure of Bruch's membrane. I. Human, monkey, rabbit, guinea pig, and rat eyes. *Arch Ophthalmol* 72: 380—387, 1964.
- 13) **Mishima H, Kondo K**: Ultrastructure of age changes in the basal infoldings of aged mouse retinal pigment epithelium. *Exp Eye Res* 33: 75—84, 1981.
- 14) 緒方奈保子, 大熊 紘, 金井清和, 南後健一, 高田百合子, 宇山昌延: 老化促進モデルマウスの網膜色素上皮細胞とブルッフ膜の加齢性変化. *日眼会誌* 96: 180—189, 1992.
- 15) 高田百合子, 緒方奈保子, 大熊 紘, 宇山昌延: 老化促進モデルマウスにおけるブルッフ膜の加齢性変化. *日眼会誌* 97: 595—601, 1993.
- 16) **Ramrattan RS, van der Schaft TL, Mooy CM, de Bruijn WC, Mulder PGH, de Jong PTVM**: Morphometric analysis of Bruch's membrane, the choriocapillaris, and the choroid in aging. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 35: 2857—2864, 1994.
- 17) 梶川欽一郎: 結合組織. 金原出版, 東京, 296, 298, 378, 507, 1984.
- 18) **Orzalesi N, de Felice GP, Carta S**: Budding of choriocapillary endothelial cells in the normal pigmented rat. *Exp Eye Res* 46: 105—109, 1988.
- 19) **Yamamoto T, Yamashita H**: Pseudopodia of capillary endothelium in ocular tissues. *Jpn J Ophthalmol* 34: 181—187, 1990.
- 20) **Heriot WJ, Henkind P, Bellhorn RW, Burns MS**: Choroidal neovascularization can digest Bruch's membrane. A prior break is not essential. *Ophthalmology* 91: 1603—1608, 1984.
- 21) **Zhu ZR, Goodnight R, Ishibashi T, Sorgente N, Ogden TE, Ryan SJ**: Breakdown of Bruch's membrane after subretinal injection of vitreous. *Ophthalmology* 95: 925—929, 1988.