

平成 18 年度日本眼科学会学術奨励賞 受賞論文総説

虹彩の“動き”が瞳孔膜の消退を誘導する

森實 祐基

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科眼科学教室

要 約

眼球の形成期における水晶体の表面は、瞳孔膜と呼ばれる血管網で覆われている。瞳孔膜は水晶体上皮細胞を栄養した後、光路を保つためアポトーシスにより消退する。しかし、瞳孔膜のアポトーシスを誘導する因子については十分解明されていない。私はラット眼において、瞳孔膜の消退時期に一致して虹彩の運動能(縮瞳・散瞳能)が成熟することに着目し、“虹彩の動き”が瞳孔膜のアポトーシスを誘導しているのではないかと考えた。まず、生体顕微鏡を用いて虹彩運動(縮瞳・散瞳)に伴う瞳孔膜の血流変化を可視化した。その結果、縮瞳時に瞳孔

膜の血流が停止し、散瞳時に血流が再開することが明らかになった。次に、散瞳薬を点眼し虹彩運動を持続的に抑制すると、瞳孔膜血管内皮細胞のアポトーシスが対照群に比べて有意に抑制された。以上から、虹彩の動きが瞳孔膜に血流の変化(虚血・再灌流)を起こし、血管内皮細胞のアポトーシスを誘導すると結論した。(日眼会誌 111: 872—880, 2007)

キーワード: 瞳孔膜, 虹彩の動き, アポトーシス

A Review

Iris Movement Mediates Pupillary Membrane Regression

Yuki Morizane

Department of Ophthalmology, Okayama University Graduate School of Medicine,
Dentistry and Pharmaceutical Sciences

Abstract

In the course of mammalian lens development, a transient capillary meshwork called as the pupillary membrane (PM) forms. It is located in the pupil area to nourish the anterior surface of the lens, and then regresses to clear the optical path. Although the involvement of the apoptotic process has been reported in PM regression, the initiating factor remains unknown. We initially found that regression of the PM coincided with the development of iris motility, and that iris movement caused cessation and resumption of blood flow within the PM. Therefore, we investigated whether the development of the capacity of the iris to constrict and dilate can function as an essential signal that induces apoptosis in the PM. Continuous inhibition of iris movement with mydriatic agents suppressed apo-

ptosis of the PM and resulted in the persistence of PM in rats. The distribution of apoptotic cells in the regressing PM was diffuse and showed no apparent localization. These results indicated that iris movement induced regression of the PM by changing the blood flow within it. This study suggests the importance of the physiological interactions between tissues—in this case, the iris and the PM—as a signal to advance vascular regression during organ development.

Nippon Ganka Gakkai Zasshi (J Jpn Ophthalmol Soc 111: 872—880, 2007)

Key words: Pupillary membrane, Iris movement, Apoptosis

別刷請求先: 700-8558 岡山市鹿田町 2-5-1 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科眼科学教室 森實 祐基

(平成 19 年 4 月 11 日受付, 平成 19 年 7 月 23 日改訂受理) E-mail: zanetbb@ybb.ne.jp

Reprint requests to: Yuki Morizane, M. D., Ph. D. Department of Ophthalmology, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, 2-5-1 Shikatacho, Okayama 700-8558, Japan

(Received April 11, 2007 and accepted in revised form July 23, 2007)

I はじめに

眼球の形成期には水晶体や硝子体などの透明組織に瞳孔膜、水晶体血管膜、硝子体動脈と呼ばれる血管網が存在する¹⁾。これらはいずれも眼球形成の一時期にのみ存在し、未熟な水晶体、網膜、硝子体を栄養した後に消退する²⁾。

出生後に良好な視機能を獲得するためには、発達期中間透光体が透明であることが必要である。したがって、視機能発達のために透明でなくてはならない光路上にあえて不透明な“血管網”を張り、眼内に光が入射するまでにそれを完全に消すというプロセスは、その“血管網”が遺残してしまう可能性を考えると、危険性が高い選択であると言わざるを得ない。しかし一方で、視機能の発達を障害するような重度の血管網遺残例に遭遇することはきわめてまれであることも事実である。このことから、これらの血管網の消退は非常に効率的かつ安定したメカニズムによって誘導され、血管網の遺残というリスクは巧妙に回避されていることが想像される³⁾。

本稿ではこれらの血管網のうち、瞳孔膜の消退機構について私の研究をふまえて述べる。ヒトでは瞳孔膜は胎生 8 か月頃までに消退するため、その機構の検討はきわめて困難である。一方、ラットやウサギでは瞳孔膜は生後 2~4 週で消退するため、それらの瞳孔膜が消退機構の研究モデルとして使用されてきた^{3)~8)}。私の研究もラットを用いたものである。したがって、本稿は特に断りのない限りラットの瞳孔膜について述べたものである。

II 瞳孔膜の血管構成と血流動態

臨床現場で遭遇するヒトの瞳孔膜遺残は、色素を伴った膜状あるいは索状の構造物である。しかし、眼球形成期にみられる瞳孔膜は“膜”というよりもむしろ“血管網”である。瞳孔膜は大虹彩動脈輪の分枝であり、分枝血管が水晶体前表面に接着し 1 層の血管網を形成している。電子顕微鏡を用いた観察により、瞳孔膜は血管とわずかなコラーゲン線維で構成されることが明らかにされている⁹⁾¹⁰⁾。私の所属する研究グループは、これまでに生体ビデオ顕微鏡システム(空間解像度 0.5 μm , 図 1 A, B)を開発しており^{11)~16)}、今回同じシステムを用いて瞳孔膜を *in vivo* 可視化し、その血管構成と血流動態を検討した。その結果、瞳孔膜は細動脈(直径 21.6 ± 0.5 (平均値 $\pm$ 標準誤差, 以下同様) μm)、細静脈(直径 $23.3 \pm 2.2 \mu\text{m}$)、毛細血管(直径 $8.7 \pm 0.6 \mu\text{m}$)から構成されており、これらの血管は図 1 C に示すように放射形対称の構造をとることが明らかになった。また、瞳孔膜の血流動態として、大虹彩動脈輪の分枝細動脈(計 2 本)が、鼻側および耳側から瞳孔領中央に向かって流入し、瞳孔領中央で吻合することが明らかになった¹⁷⁾。これら

の細動脈は吻合後約 90 度向きを変え、細静脈として背側および腹側から虹彩実質中に流出する。なお、毛細血管は細動脈と細静脈を連絡する(図 1 D)。

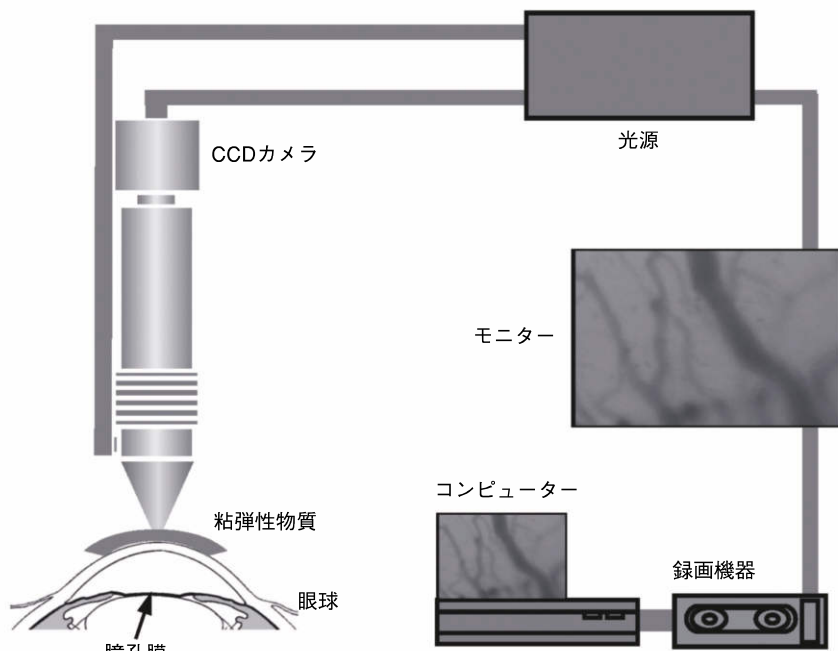
III 瞳孔膜消退の引き金はなにか？

瞳孔膜の消退の特徴として、①虹彩に分布する血管を残して瞳孔膜の血管網だけが消える、②瞳孔膜の消退に際して炎症や出血がみられない、③瞳孔膜の消退による水晶体への影響(混濁など)がみられない、などが挙げられる。1960 年代に電子顕微鏡を用いた研究が精力的に行われ、瞳孔膜の組織学的特徴が明らかになった。しかし、瞳孔膜消退のメカニズムについては永く不明であった。1994 年に Lang らは瞳孔膜消退の本態は血管内皮細胞のアポトーシスであることを明らかにし、瞳孔膜消退のメカニズムとして“マクロファージによる 2 段階説”を発表した⁴⁾。この仮説によれば、瞳孔膜の消退は瞳孔膜に遊走するマクロファージによって誘導される。第 1 段階として、遊走マクロファージが瞳孔膜の血管内皮細胞のアポトーシスを誘導する。アポトーシスに陥った血管内皮細胞は血管内腔に突出するため血管の閉塞が起こる。そして第 2 段階として、血管の閉塞が瞳孔膜の複数箇所では起こると瞳孔膜の血流は停止する。血流が停止すると血流中の血管内皮細胞増殖因子が瞳孔膜の血管内皮細胞に供給されなくなるため、最終的に瞳孔膜全体において血管内皮細胞のアポトーシスが同期的に起こる。

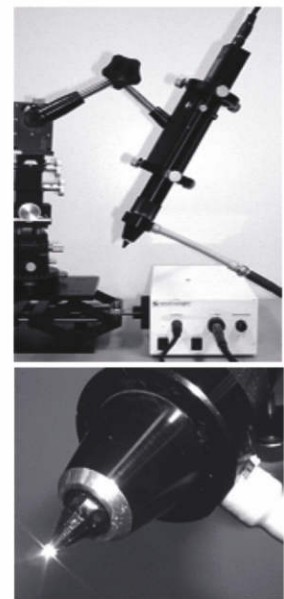
Lang らの仮説以外にも、今日まで瞳孔膜消退を誘導する因子について多くの検討がなされており、瞳孔膜を取り巻く環境、すなわち水晶体、房水そして血流由来のアポトーシス誘導因子(活性酸素種、骨形成蛋白質)の増加および血管新生促進因子(血管内皮細胞増殖因子、塩基性線維芽細胞増殖因子)の減少が瞳孔膜消退に重要な役割を担うことが報告されている^{3)~8)}。これらの報告によれば、瞳孔膜の消退には実にさまざまな因子が関与しその経路は複数存在することになる。しかし、これらの因子・経路を眼球形成後期に活性化させ、瞳孔膜消退を誘導する引き金は何であるかという点については不明であった。

私は瞳孔膜の消退メカニズムの検討を始めるにあたって、瞳孔膜消退の時間経過を検討した。まず、新生ラットの眼瞼を瞼裂線に沿って切開したうえで点眼薬を用いて虹彩の自律神経反応を抑制した。そして生体ビデオ顕微鏡を用いて生後日数ごとの瞳孔膜血管の分岐数を定量した¹⁷⁾。その結果、瞳孔膜の消退は生後 7 日目までは全くみられないが、8 日目から瞳孔膜の消退が始まることが判明した。その後瞳孔膜の消退は急速に進み、生後 14 日目には瞳孔膜はほぼ完全に消退することが分かった(図 2)。

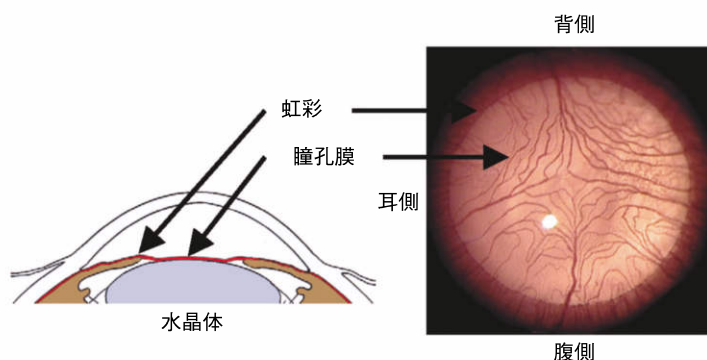
A



B



C



D

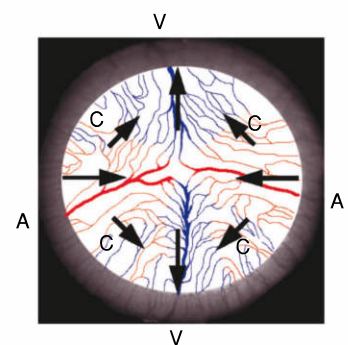


図 1 瞳孔膜の血管構成と血流動態。

A: 生体ビデオ顕微鏡システムの概略, B: (上) 生体ビデオ顕微鏡の全体写真, (下) 生体ビデオ顕微鏡の対物プローブの拡大写真, C: (ラット) 瞳孔膜の全体像(生後 10 日目), D: 瞳孔膜の血流動態のシェーマ。
A: 細動脈, V: 細静脈, C: 毛細血管, 黒矢印: 血流方向。(文献 17 より転載)

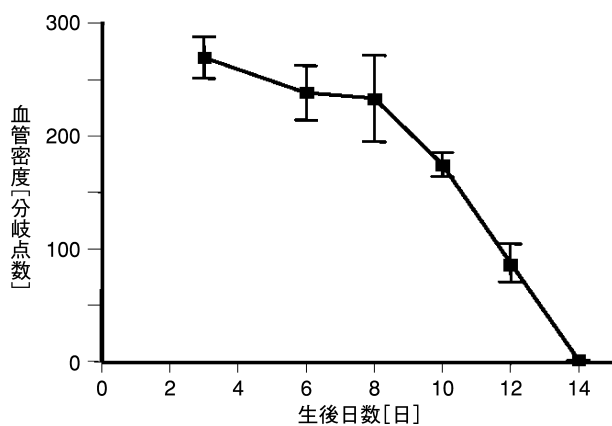


図 2 瞳孔膜消退の時間経過。

生後各日数における瞳孔膜の血管分岐点数。分岐点が少なくなるほど、消退が進んでいる。生後 8 日目から瞳孔膜の消退が顕著となり 14 日目には完全に消退する。(文献 17 より転載)

IV 虹彩の動きによる瞳孔膜血流の停止・再開

新生ラットの瞳孔膜の生体観察を続けると、生後 1 週目頃から虹彩の動き(縮瞳・散瞳)によって瞳孔膜の形態が大きく変化する様子が観察された。図 3 A~C は手術用顕微鏡を用いて撮影した瞳孔膜である。縮瞳時には瞳孔膜は虹彩によって瞳孔領中央に寄せ集められるように変形し、散瞳時には虹彩が角膜輪部方向に動くとき瞳孔膜は伸展することが分かった。そしてこのときの瞳孔膜の血流動態を前述の生体ビデオ顕微鏡を用いて観察すると、図 3 D~G に示すように縮瞳時には虹彩の辺縁部で瞳孔膜が強く屈曲し血流が停止すること、散瞳時には瞳孔膜が伸展し血流が再開することが分かった。なお、縮瞳による血流停止は瞳孔膜の全領域で同期的に起こって

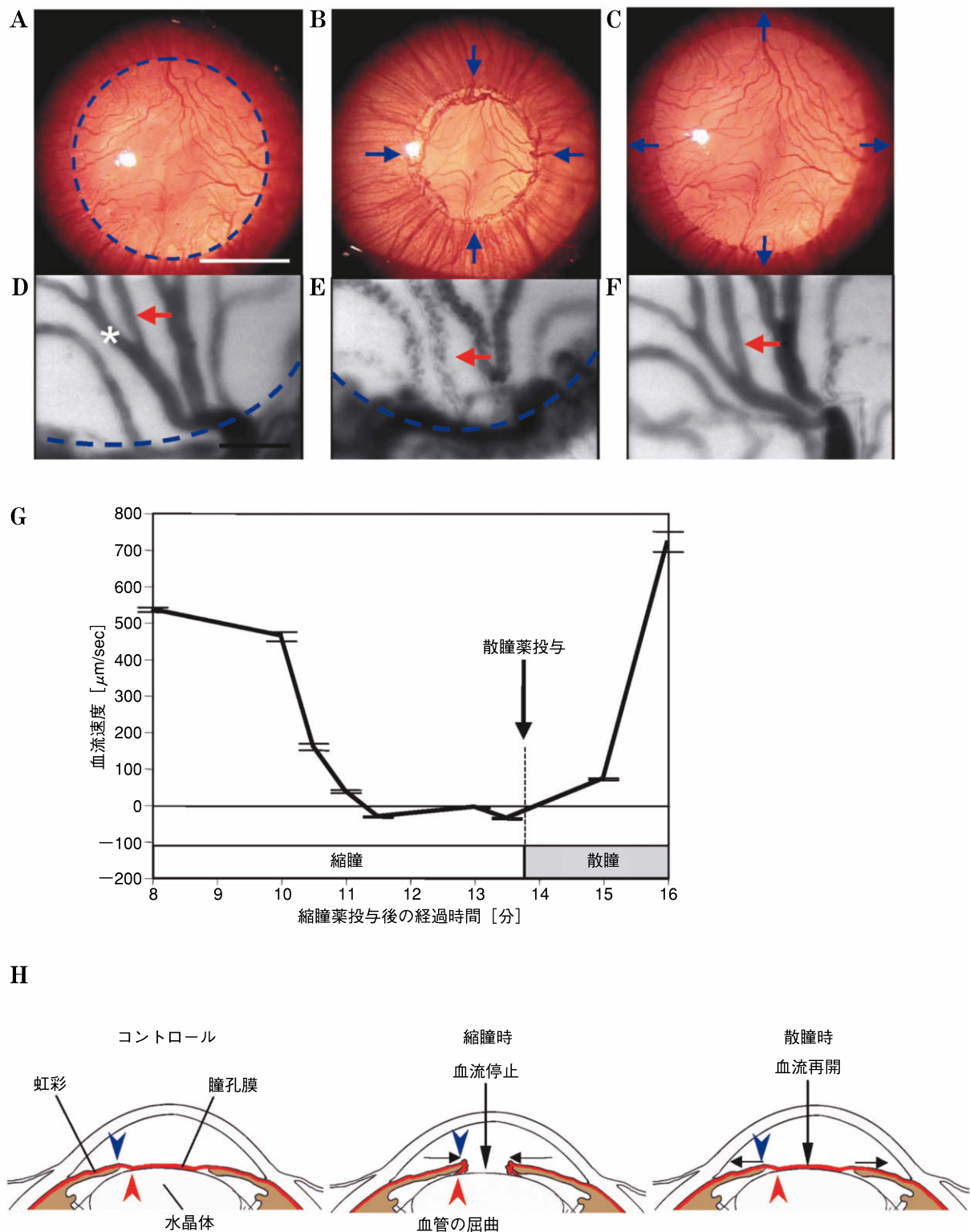


図 3 虹彩の動きが瞳孔膜に及ぼす影響(生後 12 日目)。

A~C: 虹彩による瞳孔膜の形態の変化。A: コントロール(自律神経抑制)時。B: 縮瞳時。C: 散瞳時。青点線: 虹彩の辺縁, 青矢印: 虹彩の運動方向。Scale Bar: 1 mm。D~F: 虹彩による瞳孔膜の血流動態の変化。D: コントロール時。E: 縮瞳時の血流停止。血流が停止しているため, 赤血球の一つ一つが観察できる。F: 散瞳時の血流再開。青点線: 虹彩の辺縁, 赤矢印: 同一の血管。*: G において血流速度を測定した血管。Scale Bar: 100 μm 。

G: 血流速度の変化。縮瞳により血流速度が約 500 $\mu\text{m}/\text{sec}$ から, 0 $\mu\text{m}/\text{sec}$ になり血流が停止し, 散瞳によって血流が再開していることが分かる。

H: 虹彩-瞳孔膜-水晶体の相互関係模式図。縮瞳時, 虹彩によって瞳孔膜血管は瞳孔領中央に寄せ集められる。その際, 瞳孔膜は水晶体表面に接着しているため, 瞳孔膜血管は強く屈曲し血流が停止する。一方, 散瞳時には虹彩によって瞳孔膜血管は伸展され血流が再開する。青矢頭: 虹彩の辺縁, 赤矢頭: 瞳孔膜と水晶体の接着の周辺部境界, 黒矢印: 虹彩の運動方向。(文献 17 より転載)

いた¹⁷⁾。

正常に機能している臓器で、このような血管の強い屈曲が起こり、血流が一時的に停止する現象は、これまでに報告がなくきわめて珍しい現象であるといえる。それではどのようなメカニズムで縮瞳による瞳孔膜の血流停止が起こるのであろうか。私はこのメカニズムとして、瞳孔膜が眼球形成の後期まで水晶体表面に接着していることが重要であると考えた。すなわち図3Hに示すように、瞳孔膜が水晶体表面に接着した状態で虹彩が動く(縮瞳する)と瞳孔膜の周辺側の辺縁は水晶体表面から剥がれる。しかし、その剥離が部分的であるために虹彩辺縁と未剥離の瞳孔膜に挟まれた領域の瞳孔膜は強く屈曲する。そして、屈曲部から末梢にある瞳孔膜の血流が停止する。

V 瞳孔膜の消退と虹彩の運動能発達は同期的に起こる

虹彩の動きが瞳孔膜の形態や血流動態に多大な影響を及ぼすことを受けて、次に虹彩の運動能(すなわち虹彩が縮瞳する能力と散瞳する能力)の発達の時間経過について検討した。新生ラットの眼瞼を瞼裂線に沿って切開し、生後日数ごとに以下のように3群に分けて自律神経刺激薬を点眼し、点眼後の瞳孔径を測定した(各群各生後日においてn=4)。グループ1(対照群):1%硫酸アトロピン, 1%塩酸フェノキシベンザミン, 1%塩酸プロプラノロール, グループ2(散瞳群):1%硫酸アトロピン, 1%エピネフリン, グループ3(縮瞳群):1%塩酸フェノキシベンザミン, 1%塩酸プロプラノロール, 1%アセチルコリン。その結果、生後7日目までは虹彩はいかなる自律神経刺激に対しても反応を示さなかった。しかし、生後8日目以降は散瞳薬, 縮瞳薬それぞれに対して反応を示すようになり、その反応は生後14日目まで生後日数とともに増大した^{17)~20)}(図4)。

私は瞳孔膜消退の時間経過(図2)と虹彩の運動能発達の時間経過(図4)を比較し、その同期性に着目した。これまでに血流の停止(虚血)や間欠的な停止(虚血再灌流)は血管内皮細胞のアポトーシスを誘導することが明らかにされている^{21)~24)}。私はこれら2つの現象の同期性とこれまでに観察された虹彩の動きが瞳孔膜の血流動態に及ぼす影響から、虹彩の動きによる血流動態の変化によって瞳孔膜血管のアポトーシスが誘導され、瞳孔膜の消退が起こるのではないかと仮説を立てた。

VI 虹彩の動きを抑制すると瞳孔膜が残存する

そこで、瞳孔膜の消退と虹彩の動きの因果関係を明らかにするために、虹彩の動きを人為的に抑制し、瞳孔膜の消退に影響を及ぼすかどうかについて検討した。新生ラットを2群に分け、生後7日目から12日目まで4時間ごとに生理食塩水を点眼する対照群をグループ1とし

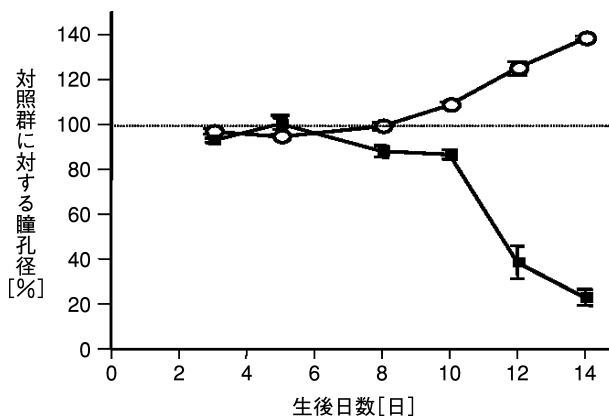


図4 虹彩の運動能発達の時間経過。

交感神経を刺激し副交感神経を抑制した場合の瞳孔径(○)および副交感神経を刺激し交感神経を抑制した場合の瞳孔径(■)。交感神経と副交感神経をともに抑制した場合(対照群)の瞳孔径を100として表示。自律神経刺激に対する虹彩の反応は生後8日目頃からみられる。(文献17より転載)

(n=4), 対照群と同様の方法で1%硫酸アトロピンを点眼して持続散瞳し、虹彩の動きを抑制する群をグループ2(虹彩運動抑制群)とした(n=5, 図5)。生後12日目に生体顕微鏡を用いて瞳孔膜の血管分岐数を定量した結果が図6A~Cである。虹彩の動きを抑制することによって瞳孔膜の消退が抑制されることが分かる(Student's *t*-test)。次に、瞳孔膜を長期間残存させることが可能かどうかを検討するために、虹彩運動の持続抑制を生後56日目(生殖が可能となる日齢)まで継続した。すると瞳孔膜は生後56日目まで残存し、部分的には生後100日目まで残存した(図6D~F)。残存した瞳孔膜血管には血流が保たれ、血管内皮細胞は正常な形態であった(図6G)。一方、対照群の生後12日目における血管内皮細胞はアポトーシスを来していた(図6H)。これらの結果はterminal deoxynucleotidyl dUTP nick-end labeling (TUNEL)を用いた瞳孔膜血管のアポトーシスの評価ともよく合致した。虹彩の動きを抑制するとアポトーシスを来した血管内皮細胞の割合($0.6 \pm 0.2\%$, n=5)は対照群($4.4 \pm 0.6\%$, n=5)に比べて有意に低かった($p < 0.01$, Mann-Whitney *U*-test, 図7A)。また、対照群において、アポトーシスを来した血管内皮細胞は瞳孔膜全域にびまん性に分布していた。

ここで、虹彩の動きが瞳孔膜の血管アポトーシスを誘導する機序として、二つの可能性が考えられる。一つの可能性は、虹彩の動きによって瞳孔膜血管の細胞間接着が機械的に障害され、血管アポトーシスが誘導されるという機序である。Benjaminらは、網膜血管において血管内皮細胞と周皮細胞の接着が障害されると、血管内皮細胞がアポトーシスを来し血管網が消退することを明らかにしている²⁵⁾。そして、もう一つの可能性は、虹彩の

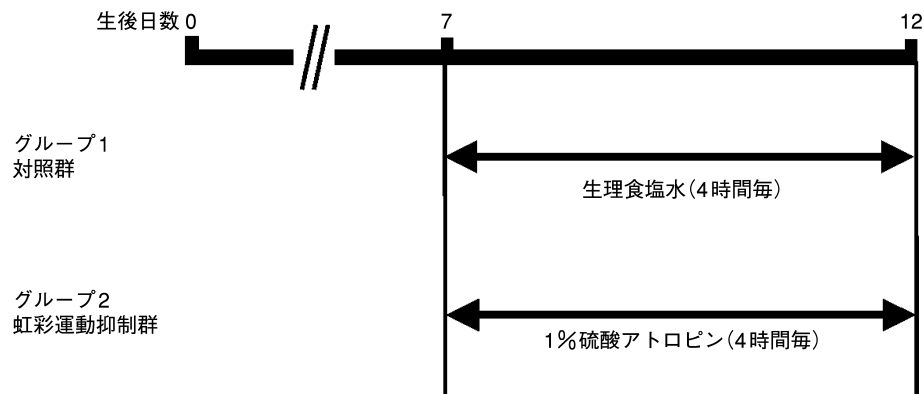


図 5 虹彩運動を持続抑制する点眼プロトコール。
(文献 17 より転載)

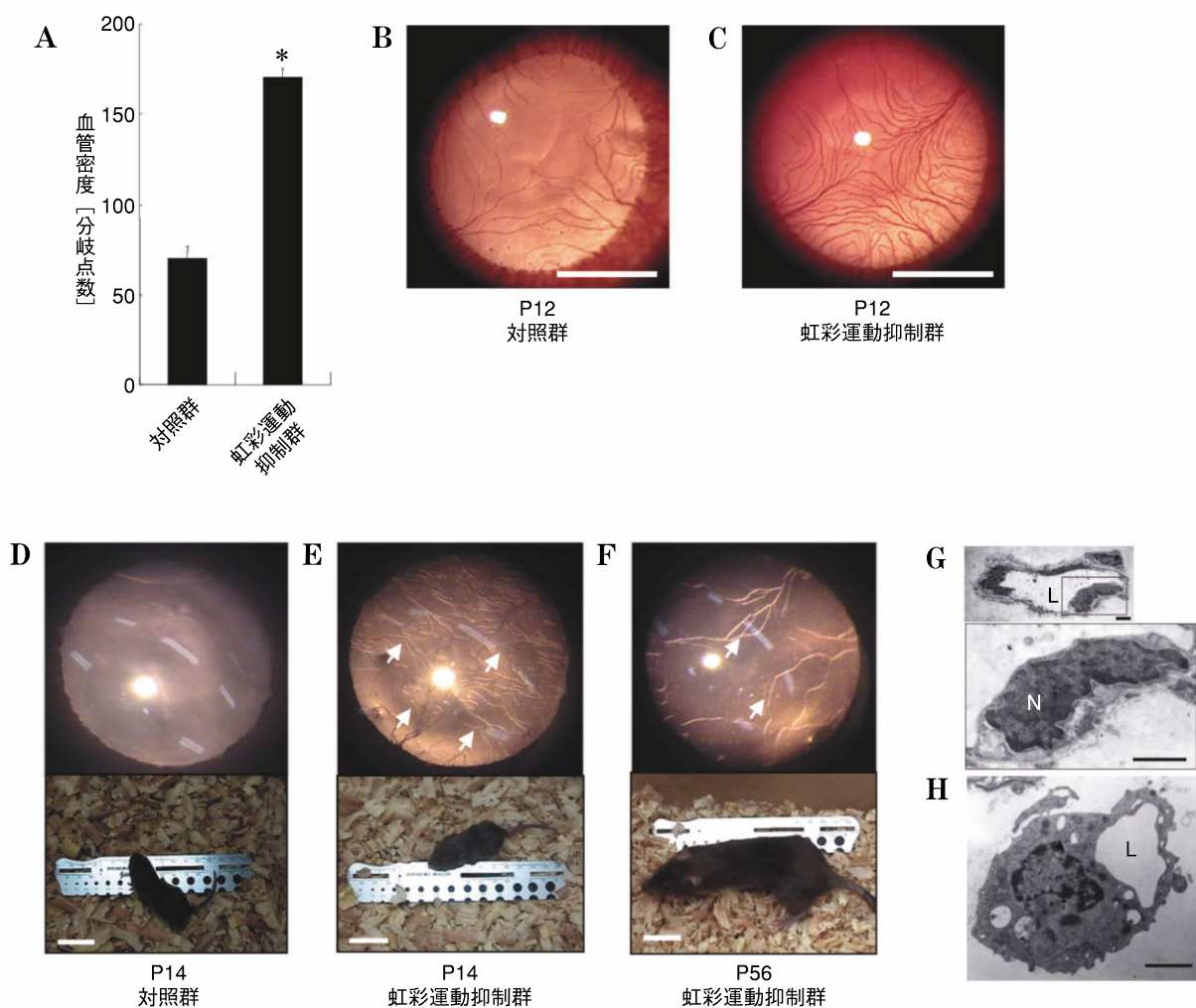


図 6 虹彩運動の抑制が瞳孔膜消退に及ぼす影響。

A: 生後 12 日目 (P 12) における血管密度 (* : $p < 0.0001$), B: 対照群の瞳孔膜, C: 虹彩運動抑制群の瞳孔膜。Scale Bar: 1 mm. B と比べて, 瞳孔膜血管の消退が遅延していることが分かる。
D: 対照群の生後 14 日目の瞳孔膜, E: 虹彩運動抑制群の生後 14 日目の瞳孔膜, F: 虹彩運動抑制群の生後 56 日目の瞳孔膜 (下段は各群のラットの代表写真)。白矢印 (E, F): 残存瞳孔膜。Scale Bar: 3 cm。
G: 虹彩運動抑制群の瞳孔膜の電子顕微鏡写真 (生後 56 日目)。血管内皮細胞の微細構造は正常である。
H: 対照群の瞳孔膜の電子顕微鏡写真 (生後 12 日目)。アポトーシスに特徴的な細胞形態 (細胞の縮小およびクロマチンの凝集) を示す。L: 血管腔, N: 血管内皮細胞の核。Scale Bar: 1 μm 。(文献 17 より転載)

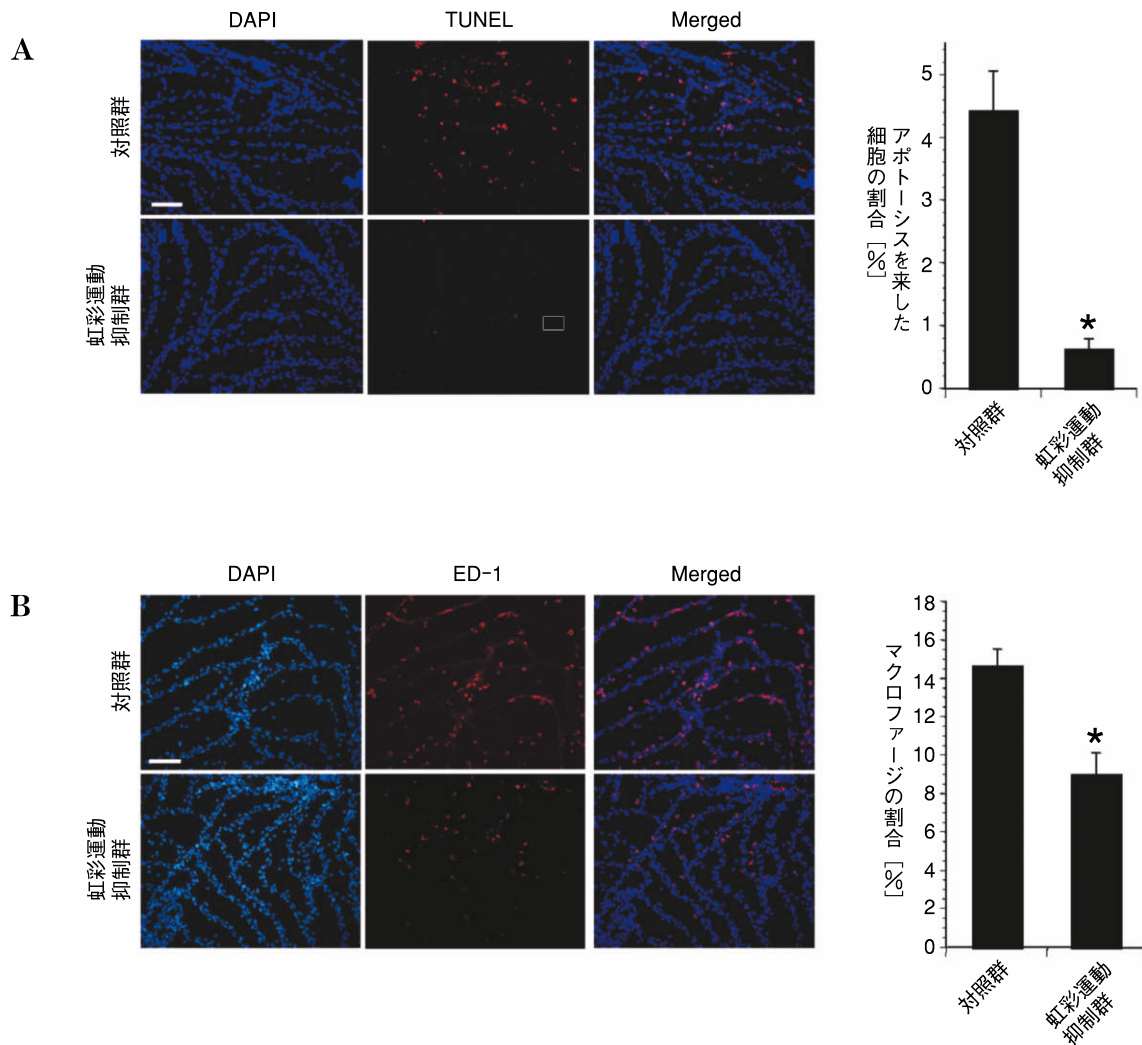


図 7 虹彩運動の抑制が瞳孔膜血管内皮細胞のアポトーシスおよびマクロファージの遊走に及ぼす影響(生後 12 日目)。

A : Terminal deoxynucleotidyl dUTP nick-end labeling (TUNEL) 染色 (* : $p < 0.01$), B : ED-1 染色 (* : $p < 0.05$). DAPI : 4,6 diamidino-2-phenyl-indole dihydrochloride. A・B ともに対照群で、赤色の陽性細胞の割合が大きい。Scale Bar : 100 μm . (文献 17 より転載)

動きによる瞳孔膜の血流動態の変化—血流の停止と再開—によって血管内皮細胞のアポトーシスが誘導され瞳孔膜が消退するという機序である。前述のように本研究では、虹彩の動きによって瞳孔膜血管が虹彩の辺縁部で屈曲・伸展すると、それに伴って瞳孔膜全体の血流が同期的に停止・再開することが *in vivo* の検討で明らかになった。このことは、虹彩の動きによる瞳孔膜血管への機械的影響は限局的(虹彩辺縁部のみ)であるが、血流への影響は瞳孔膜全体に及ぶことを示している。そしてこの結果は、アポトーシスを来した血管内皮細胞が虹彩辺縁部に限局して分布するのではなく、瞳孔膜全体にびまん性にみられた結果(図 7 A)と合致した。これまでに、血流の停止(虚血)と再開(再灌流)や血流量の低下は、活性酸素種や種々のアポトーシス・リガンドの産生、ずり応力の減少などを介して血管内皮細胞のアポトーシスを誘導することが明らかにされている^{21)~24)}。以上から、

虹彩の動きによって瞳孔膜の血流動態が変化し、瞳孔膜の消退が誘導されると考えた。

VII 虹彩の動きがマクロファージの遊走を誘導する

前述のように、マクロファージは瞳孔膜消退を誘導する重要な因子の 1 つと考えられている。私は虹彩の動きとマクロファージの遊走の関係を明らかにするために、グループ 1(対照群)とグループ 2(虹彩運動抑制群)の両群について生後 12 日目に ED-1 抗体を用いて遊走マクロファージを染色・定量した。その結果、虹彩の動きを抑制すると、瞳孔膜におけるマクロファージの遊走が有意に抑制された(対照群, $n=3: 14.6 \pm 0.9\%$, 虹彩運動抑制群, $n=4: 9.0 \pm 1.1\%$, $p < 0.05$, Mann-Whitney *U*-test, 図 7 B)。以上の結果から、虹彩の動きが瞳孔膜に血流動態の変化を起こし、それがマクロファージ

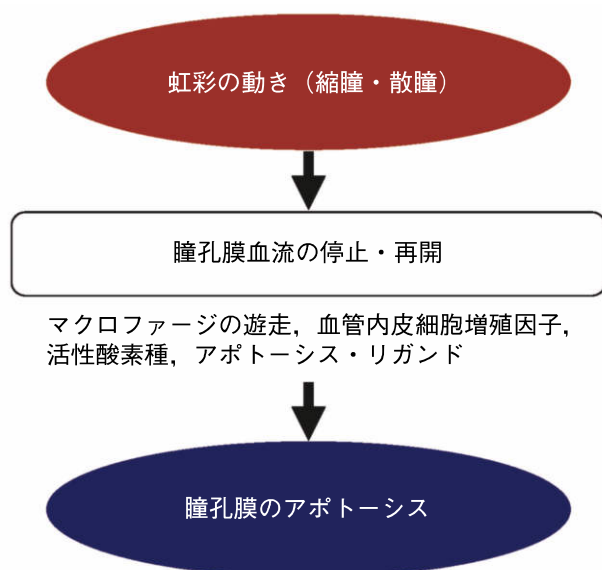


図 8 結果のまとめ.

ジの遊走を惹起することによって, 瞳孔膜血管内皮細胞のアポトーシスを誘導し, 瞳孔膜消退を引き起こすと結論した. 図 8 に本検討の結果をまとめる.

VIII おわりに

本検討により, 虹彩—瞳孔膜—水晶体の相互関係によって瞳孔膜の消退が誘導されることが明らかになった. この結果は, これまで遺伝子によって厳密にプログラムされた細胞死であると考えられてきた器官形成期のアポトーシスにおいて, 組織間の生理的な相互作用, およびそれに伴う血流動態の変化が重要な役割を果たしていることを示した 1 例であるといえる. また眼科学的には, これまで知られていなかった虹彩の新たな機能を示唆する結果であるといえる. 本検討はあくまでラットでの結果であり, そのままヒトに外挿することはできないが, 従来考えられてきた虹彩の機能—眼球に入る光量の調節, 光学収差の減少, 焦点深度の調節—に加えて²⁶⁾, 光が眼球内に入る以前にも“瞳孔膜を消す”という機能を虹彩が果たしていることが明らかになった.

稿を終えるにあたり, 研究をご指導いただいた岡山大学大学院医歯薬学総合研究科システム循環生理学教室梶谷文彦教授, 毛利 聡講師, 同細胞組織学教室佐々木順造教授, 小阪淳准教授, 同眼科学教室大月 洋教授, 川崎医科大学生化学教室刀柄重信准教授, 香川大学医学部眼科学教室白神史雄教授に深謝いたします.

文 献

- 1) Beebe DC : Adler's physiology of the eye. 10ed. Mosby, St. Louis, 2003.
- 2) Goldberg MF : Persistent fetal vasculature (PF-

- V) : an integrated interpretation of signs and symptoms associated with persistent hyperplastic primary vitreous (PHPV). LIV Edward Jackson Memorial Lecture. Am J Ophthalmol 124 : 587—626, 1997.
- 3) Meeson A, Palmer M, Calton M, Lang R : A relationship between apoptosis and flow during programmed capillary regression is revealed by vital analysis. Development 122 : 3929—3938, 1996.
- 4) Lang R, Lustig M, Francois F, Sellinger M, Plesken H : Apoptosis during macrophage-dependent ocular tissue remodelling. Development 120 : 3395—3403, 1994.
- 5) Lang RA, Bishop JM : Macrophages are required for cell death and tissue remodeling in the developing mouse eye. Cell 74 : 453—462, 1993.
- 6) Meeson AP, Argilla M, Ko K, Witte L, Lang RA : VEGF deprivation-induced apoptosis is a component of programmed capillary regression. Development 126 : 1407—1415, 1999.
- 7) Yanagawa T, Matsuo T, Matsuo N : Aqueous vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor decrease during regression of rabbit pupillary membrane. Jpn J Ophthalmol 42 : 157—161, 1998.
- 8) Kiyono M, Shibuya M : Bone morphogenetic protein 4 mediates apoptosis of capillary endothelial cells during rat pupillary membrane regression. Mol Cell Biol 23 : 4627—4636, 2003.
- 9) Matsuo N, Smelser GK : Electron microscopic studies on the pupillary membrane : the fine structure of the white strands of the disappearing stage of this membrane. Invest Ophthalmol 10 : 108—119, 1971.
- 10) Latker CH, Kuwabara T : Regression of the tunica vasculosa lentis in the postnatal rat. Invest Ophthalmol Vis Sci 21 : 689—699, 1981.
- 11) Kiyooka T, Hiramatsu O, Shigeto F, Nakamoto H, Tachibana H, Yada T, et al : Direct observation of epicardial coronary capillary hemodynamics during reactive hyperemia and during adenosine administration by intravital videomicroscopy. Am J Physiol Heart Circ Physiol 288 : H 1437—1443, 2005.
- 12) Kajiya F, Yada T, Kimura A, Hiramatsu O, Goto M, Ogasawara Y, et al : Endocardial coronary microcirculation of the beating heart. Adv Exp Med Biol 346 : 173—180, 1993.
- 13) Ogasawara Y, Takehara K, Yamamoto T, Hashimoto R, Nakamoto H, Kajiya F : Quantitative blood velocity mapping in glomerular capillaries by in vivo observation with an intravital videomicroscope. Methods Inf Med 39 : 175—178, 2000.
- 14) Hiramatsu O, Goto M, Yada T, Kimura A, Tachibana H, Ogasawara Y, et al : Diameters of subendocardial arterioles and venules during pro-

- longed diastole in canine left ventricles. *Circ Res* 75 : 393—397, 1994.
- 15) **Yada T, Hiramatsu O, Kimura A, Goto M, Ogasawara Y, Tsujioka K, et al** : In vivo observation of subendocardial microvessels of the beating porcine heart using a needle-probe video-microscope with a CCD camera. *Circ Res* 72 : 939—946, 1993.
 - 16) **Yamamoto T, Hayashi K, Tomura Y, Tanaka H, Kajiya F** : Direct in vivo visualization of renal microcirculation by intravital CCD videomicroscopy. *Exp Nephrol* 9 : 150—155, 2001.
 - 17) **Morizane Y, Mohri S, Kosaka J, Tone's, Kiyooka T, Miyasaka T, et al** : Iris movement mediates vascular apoptosis during rat pupillary membrane regression. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 290 : R 819—825, 2006.
 - 18) **Davies DC, Navaratnam V** : Development of adrenoceptive and cholinceptive responsiveness in the neonatal rat iris. *Exp Eye Res* 29 : 203—210, 1979.
 - 19) **Davies DC, Navaratnam V** : Differentiation of alpha-adrenergic responsiveness in the neonatal rat iris after decentralization or extirpation of the superior cervical ganglion. *Brain Res* 213 : 119—126, 1981.
 - 20) **Imaizumi M, Kuwabara T** : Development of the rat iris. *Invest Ophthalmol* 10 : 733—744, 1971.
 - 21) **Daemen MA, de Vries B, Buurman WA** : Apoptosis and inflammation in renal reperfusion injury. *Transplantation* 73 : 1693—1700, 2002.
 - 22) **Hou ST, MacManus JP** : Molecular mechanisms of cerebral ischemia-induced neuronal death. *Int Rev Cytol* 221 : 93—148, 2002.
 - 23) **Krijnen PA, Nijmeijer R, Meijer CJ, Visser CA, Hack CE, Niessen HW** : Apoptosis in myocardial ischaemia and infarction. *J Clin Pathol* 55 : 801—811, 2002.
 - 24) **Scarabelli T, Stephanou A, Rayment N, Pasini E, Comini L, Curello S, et al** : Apoptosis of endothelial cells precedes myocyte cell apoptosis in ischemia/reperfusion injury. *Circulation* 104 : 253—256, 2001.
 - 25) **Benjamin LE, Hemo I, Keshet E** : A plasticity window for blood vessel remodelling is defined by pericyte coverage of the preformed endothelial network and is regulated by PDGF-B and VEGF. *Development* 125 : 1591—1598, 1998.
 - 26) **Kardon R** : Adler's physiology of the eye. 10ed. Mosby, St. Louis, 2003.