

胎生裂の閉鎖機序に関する形態学的研究 (I) (図6, 表2)

鈴木 敬・白井正一郎・馬嶋 昭生 (名古屋市立大学医学部眼科学教室)

Morphological Study on the Mechanism of Closure
of the Embryonic Fissure

Takashi Suzuki, Shoichiro Shirai and Akio Majima

Dept. of ophthalmol., Nagoya City Univ. Medical School

要 約

胎生裂の閉鎖機序に関しては、従来から眼杯内板と外板の発育速度には差があり、内板は外板より成長が速いために胎生裂縁では内板は軽度外反しており、胎生裂の閉鎖はその中央部から始まるとされている。しかし、今回マウス胎芽を用い、胎生裂を垂直に横断するように切片を作製し、組織学的に検討した結果、内板は外反しておらず、外板が内反していた。また、胎生裂縁の接着した部分から外板が切り離され、切り離された外板が他側の外板と癒合し、内板、外板のそれぞれの層が連続性を有する所見が得られた。内板が外反しているとされていた原因は、標本の固定状態の不良と切片を作製する方向の不正確さが考えられた。胎生裂の閉鎖開始部位については、大多数が乳頭付近から閉鎖が始まり、中には中央部から始まるもの、または両者が混在するものが認められた。閉鎖の開始部位は画一的でなく、個体差があるものと思われた。(日眼 92:238—242, 1988)

キーワード：胎生裂閉鎖，眼杯内板，眼杯外板，マウス胎芽

Abstract

The mechanism of closure of the embryonic fissure was studied histologically in mouse embryos. According to the previous description of the closure of the embryonic fissure, the inner layer of the optic cup was slightly everted at the lip of the optic cup, because the inner layer grew more rapidly than the outer layer. It has also been reported that the closure of the embryonic fissure begins at the central portion. In the present experiment, we cut the specimens at right angles to the embryonic fissure. Histological examination showed that the inner layer was not everted, but that the outer layer was inverted at the lip of the optic cup. Inadequate fixation and the wrong plane sectioning of specimens may make the inner layer appear everted. When both lips adhered, the outer layer separated from the inner layer at the closing part and fused with the other side, then each layer became contiguous. In most mice, the closure of the embryonic fissure began near the primitive papilla, and in some of them at the central portion of the embryonic fissure and/or the primitive papilla. The initial part of the closure might not be always the same as it appears to show a certain amount of variation. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 92: 238—242, 1988)

Key words: closure of embryonic fissure, inner layer of optic cup, outer layer of optic cup, mouse embryo

別刷請求先：467 名古屋市瑞穂区瑞穂町川澄1 名古屋市立大学医学部眼科学教室 鈴木 敬
(昭和62年8月27日受付)

Reprint requests to: Takashi Suzuki, M.D. Dept. of Ophthalmol., Nagoya City Univ. Medical School
1 Kawasumi, Mizuho-cho, Mizuho-ku, Nagoya 467, Japan

(Accepted August 27, 1987)

I 緒 言

胎生裂の閉鎖機序に関しては古くから、Mann¹⁾、Barber²⁾、Duke-Elder ら³⁾が成書に記載しており、眼杯内板と外板の発育速度には差があり、内板は外板より成長が速いために胎生裂縁では眼杯内板は軽度外反しており、この外反した状態で胎生裂縁が接近し、接着・癒合することによって閉鎖が進行し、内板は内板と、外板は外板と連続性を有すると考えられている。また、閉鎖は胎生裂の中央部から始まると言われている。この胎生裂の閉鎖には、内板と外板の分化速度と発育速度の同調 synchronization が重要であり、この synchronization に不均衡が生ずると胎生裂閉鎖不全が起こり、コロボームが成立することになる²⁾。しかし、胎生裂縁で接着した眼杯内板と外板がどのように癒合し、お互いに連続性を有するようになるのかなどの閉鎖機序については、十分解明されているとは言えない。

今回マウスを用い、胎生裂の閉鎖機序について組織学的に検討したところ、従来の報告とかなり異なる結果を得たので報告する。

II 実験方法

実験動物は Jc1: ICR マウスを用い、雄と未経産の雌を一晚同一飼育箱に入れ、翌朝陸腔を認めたものを妊娠 0 日とした。胎生 11.5 日、12.0 日、12.5 日に母獸を屠殺し、直ちに開腹して胎芽を取り出し Witschi の標準⁴⁾に従い、ステージ 26 から 29 に分類した。胎芽を 2% グルタルアルデヒド、2% ホルマリン混合液 (pH 7.2 カコジル酸緩衝液) で固定し、実体顕微鏡下で眼部を切り出し 1% オスミウム酸で後固定した。エタノール系列で脱水し、エポキシ樹脂包埋した。厚さ 8 μ で胎生裂を垂直に横断するように連続切片を作成し、トルイジンブルーで染色、光学顕微鏡で観察した。各ステージにつき 10 胎芽 20 眼、計 80 眼について検討した。

III 結 果

各ステージにおける胎生裂の閉鎖状態を表 1 に示した。閉鎖した部分が胎生裂全体の 1/3 以内であるものを初期、1/3 から 2/3 までのものを中期、2/3 以上閉鎖したものを後期とした。ステージ 26 では、胎生裂閉鎖が開始していないものが約半数あるのに対し、ステージ 29 では大多数が胎生裂閉鎖後期であった。

胎生裂閉鎖初期群である 19 眼について、その閉鎖の

表 1 各ステージにおける胎生裂の閉鎖状態

	ステージ 26	ステージ 27	ステージ 28	ステージ 29	
胎生裂閉鎖前期	12	6	0	0	18 眼
“ 初期	7	9	3	0	19 眼
“ 中期	1	5	6	3	15 眼
“ 後期	0	0	11	17	28 眼
計	20	20	20	20	80 眼

表 2 胎生裂閉鎖初期群の閉鎖開始部位

	眼数
眼基部	17
中央部	3
前部	0
計	20



(1 眼は開始部位が 2 箇所存在)

開始部位を表 2 に示した。胎生裂を 3 等分し、前から前部、中央部、眼基部とし、眼基部は乳頭と眼茎を含めた部分として取り扱った。19 眼のうち 16 眼は眼基部の乳頭部付近から閉鎖が始まり、2 眼は中央部から始まった。また 1 眼は中央部と眼基部の 2 箇所閉鎖箇所が認められた。眼基部の閉鎖は閉鎖中期にはすべて完了していた。

1. 胎生裂閉鎖前期

胎生裂中央部についてみると、眼杯内板と外板との間に腔隙はなく、眼杯の胎生裂縁はむしろ軽度内反しており、外板もまた内反していた。耳側の眼杯縁は鼻側に比べ内反の程度が強く、同様に外板も耳側は鼻側より内反していた (図 1)。

眼基部でもやはり外板の内反の程度は耳側で強く、内反した外板は眼茎の内腔近くまで連続していた。また胎生裂付近には眼杯内板を構成する細胞の核の崩壊像が散在していた (図 2)。

2. 胎生裂閉鎖初期

眼基部の乳頭付近にある胎生裂の閉鎖開始部を図 3 に示す。眼杯の胎生裂縁が接着し、その接着した部分から外板が切り離され、内板と内板、外板と外板が癒合し、それぞれの層が連続性を有していた。

3. 胎生裂閉鎖中期

閉鎖中期の胎生裂中央部を図 4 に示す。閉鎖前から両側の胎生裂縁は軽度内反しており、閉鎖様式は図 3 に示した眼基部と同様に、胎生裂縁の接着した部分から外板が切り離され、それぞれの層が癒合し連続性を

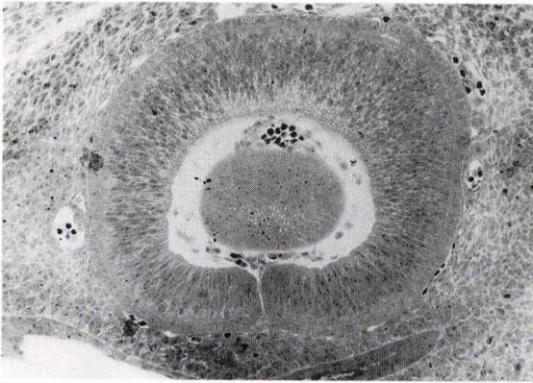


図1 閉鎖前期の胎生裂中央部：眼杯内板と外板は接着しており、両者の間に腔隙はほとんど観察されなかった。胎生裂縁では外板は内反している。(トルイジンブルー染色, ×100)



図2 閉鎖前期の眼基部：耳側外板は内腔近くまで連続し、胎生裂付近には細胞の核の崩壊像(矢印)が散在している。(トルイジンブルー染色, ×100)

有していた。また閉鎖直後の外板は notch を形成していた。胎生裂前部では閉鎖前から外板の内反の程度はごく軽度で、胎生裂縁もほとんど内反していなかった。

4. 胎生裂閉鎖後期

胎生裂縁で癒合し連続する一層となった内板は、内腔に向かう fold 様(図5)になり、これは赤道部から後極部にかけて明瞭に認められたが、赤道部より前方では明らかでなかった。fold 付近の内板には核の崩壊像が散見された。

以上の経時的な観察から、胎生裂の閉鎖は、最初に接着した部位を中心に前後方向に進行する所見が得られた。

今回の実験で、切片の作製方向の差によって、胎生

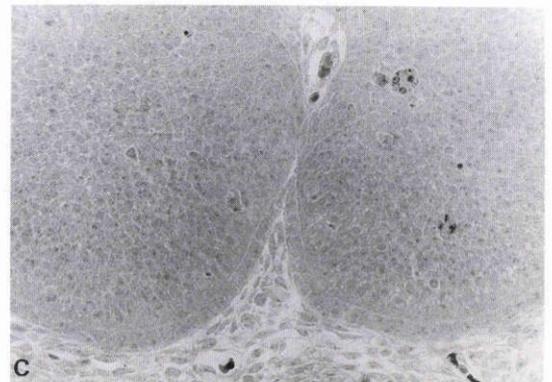
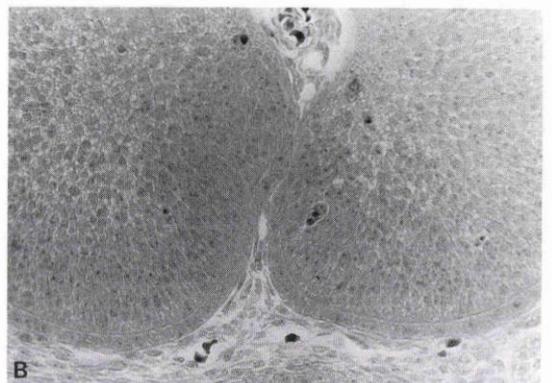
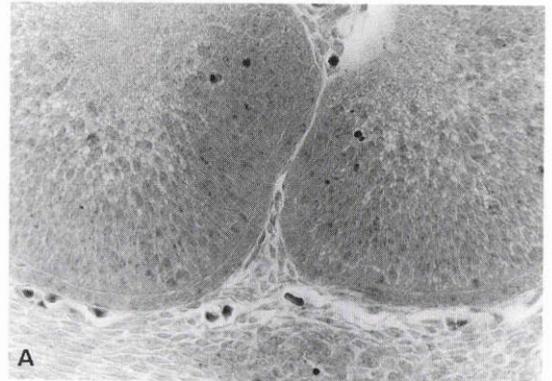


図3 閉鎖初期の眼基部：(トルイジンブルー染色, ×200)

- A：乳頭付近では外板は、内腔近くまで連続している。
- B：胎生裂縁は内腔近くで接着し、連続しているが、外板には連続性はない。
- C：外板は胎生裂縁の接着した部分から切り離され、内板と内板、外板と外板が癒合し、各々の層が連続性を有している。

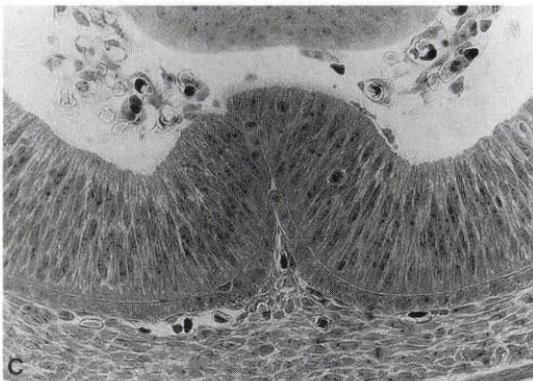
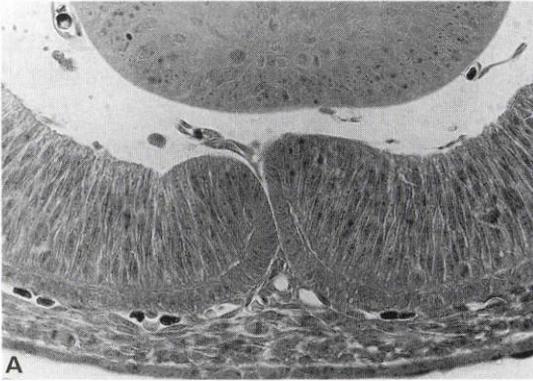


図4 閉鎖中期の中央部：(トルイジンブルー染色, ×200)

A：両側の胎生裂縁は軽度内反しており，耳側に比べ内反の程度が強い。

B：胎生裂縁が部分的に接着しているが，外板は連続していない。

C：外板は胎生裂縁の接着した部分から切り離され，内板と内板，外板と外板が癒合し，各々の層が連続性を有している。また外板は癒合部で notch を形成している。

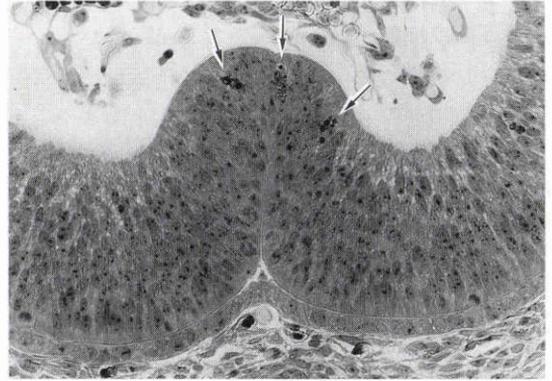


図5 閉鎖後期の後極部：内板は fold 様になり，fold 付近の内板には細胞の核の崩壊像 (矢印) が散見される。(トルイジンブルー染色, ×200)

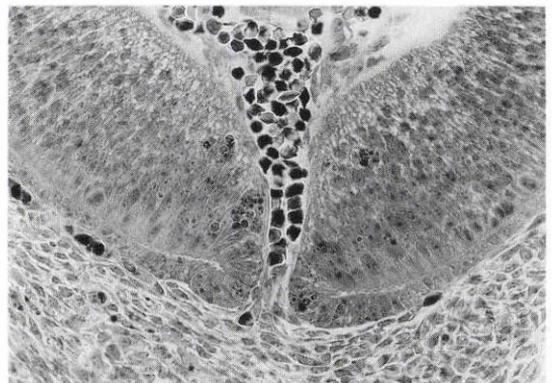


図6 標本を胎生裂に対し垂直でなく，前後方向に傾けて切ると，内板は外反しているように見える。(トルイジンブルー染色, ×200)

裂の見え方に変化があるかどうかを調べるために，標本を胎生裂に対し垂直でなく，前後方向に傾けて切って観察した。図6に示すように標本の切り方によっては，従来の報告にあるように内板はあたかも外反しているように見え得ることが確認された。

IV 考 按

従来から眼杯内板は，胎生裂縁で軽度外反していると言われているが，胎生裂を垂直に横断するように切片を作製した今回の研究では，内板が外反しているものは1眼もなく，全観察例において胎生裂縁自体が軽度内反し，外板も内反していた。過去の報告で内板が外反して見える原因として次の2点を考えた。

1. 標本の固定状態が不良で，内板と外板が分離して

いた。

2. 切片を作製する方向に差があり、胎生裂に対して垂直に切れていなかった。

マウスではステージ25～27の時期には、眼茎のごく一部を除いて内板と外板は接着していると言われている⁵⁾。我々の実験結果でも同様に、閉鎖前期からほとんどの部位で、内板と外板は接着していた。人眼においても標本の固定条件が良ければ、胎生裂閉鎖前には、眼胞腔はほとんど消失しているものと思われる。また図6で示したように切片作製の方法によっては、内板はあたかも外反しているように見え、これに内板と外板の人工的な分離が加われれば、一層内板が胎生裂縁で外反しているように観察される可能性が高いと思われる。

Duke-Elderら³⁾は、内板が外反している根拠として、胎生裂閉鎖前に外板の色素顆粒が、眼杯外層の胎生裂縁まで達していないことをあげている。すなわち、色素顆粒が存在しない部分までは内板であり、内板は外反しているものと解釈している。しかし、今回の実験結果から、マウスの胎生裂縁では外板が内反しており、胎生裂閉鎖直後には、図4のように外板はnotchを形成していた。従って、Duke-Elderらの言う外反した内板は、実際には外板に相当していると考えられる。眼杯の胎生裂縁は、他の部分に比べ未分化なので、色素顆粒の出現が遅れており、胎生裂の閉鎖後、時間の経過と共に分化・発育し、その部の外板にも色素が出現するものと思われる。Geeraets⁶⁾はハムスターを用いて、胎生裂の閉鎖状態を観察しているが、我々と同様に外板は内反しており、内板が外反している所見は認められなかったと報告している。

胎生裂の閉鎖開始部位は、人眼では胎生裂中央部から始まるとされている¹⁾⁻³⁾⁷⁾。しかし、今回のマウスを用いた実験では、大多数が乳頭付近から閉鎖が始まり、中には中央部から始まるもの、また2箇所から閉鎖が始まっているものも認められた。閉鎖の開始部位は画的でなく、同一種でも個体差があるものと思われた。

正常な個体発生の過程で、生理的な細胞死が存在することが知られている⁸⁾⁹⁾が、Silver¹⁰⁾は、細胞死が眼胞の陥入を統合することによって、眼杯や胎生裂を形作

るが、胎生裂の閉鎖には直接関与しないとしている。我々の実験結果でも、眼杯縁の接着部には細胞死は認められなかった。胎生裂閉鎖前には後極部から眼茎にかけて、胎生裂周囲に細胞死が多く認められ、閉鎖後にはfoldを形成した内板に細胞死が散見されるようになった。細胞死は内板のfoldを消失させ、正常な層構造を維持することにも関与していると思われる。

今回の実験結果から、胎生裂の閉鎖は、まず眼杯縁が接着し、接着した部分から外板が切り離されることによって、外板が他側の外板と癒合し、内板、外板それぞれの層が連続するような所見が得られた。また眼茎部と中央部の閉鎖様式は同様であるように思われた。しかし、眼杯縁の接着の機序や、内板は何故foldを形成する必要があるのかなどは依然として不明である。これらの点については、今後さらに検討を続ける。

文 献

- 1) **Mann I**: Developmental Abnormalities of the Eye. London, British Medical Association, 74—93, 1957.
- 2) **Barber AN**: Embryology of the Human Eye. St Louis, CV Mosby, 50—63, 1955.
- 3) **Duke-Elder S, Cook C**: Embryology, in Duke-Elder S (ed): System of Ophthalmology, Vol III, Part I. London, Henry Kimpton, 19—48, 1963.
- 4) **Witschi E**: Biological Data Book. Washington DC, Federation of American Societies for Experimental Biology, 84—86, 1964.
- 5) **Pei YF, Rhodin JAG**: The prenatal development of the mouse eye. Anat Rec 168: 105—126, 1970.
- 6) **Geeraets R**: An electron microscopic study of the closure of the optic fissure in the golden hamster. Am J Ana 145: 411—431, 1976.
- 7) 広瀬金之助: 日本眼科全書II 眼発生. 東京, 金原出版, 9—14, 1964.
- 8) **Glücksman A**: Cell deaths in normal vertebrate ontogeny. Biol Rev 26: 59—86, 1951.
- 9) **Saunders JW**: Death in embryonic system. Science 154: 604—612, 1966.
- 10) **Silver J, Hughes AFW**: The role of cell death during morphogenesis of the mammalian eye. J Morphol 140: 159—170, 1973.