

第95回 日本眼科学会総会 宿題報告

眼先天異常と遺伝子

眼先天異常の成立機序

白 井 正一郎

名古屋市立大学医学部眼科学教室

共同研究者

湯口 修次, 長坂 誠, 佐野 雅洋, 森 宏明
池田 晃三, 朱雀五十四, 尾関 年則, 宇野 真

要 約

眼先天異常の成立機序を解明する目的で、マウスで実験奇形学的研究を行った。妊娠7日のJcl:ICRマウス腹腔内に ochratoxin A を投与し、胎生9, 10, 11, 12, 13, 14, 16, 18日, 生後2あるいは4週のいずれかの時期に、胎芽, 胎仔あるいは出生仔を外形的に観察した。その後、眼部連続切片を作製して、眼形成異常の成立過程を組織学的に検索した。また、ochratoxin A を妊娠8, 9, 10 あるいは11日に投与し、胎生16日に胎仔を同様に観察して、眼形成異常の成立臨界期の検討を行った。さらに、C57BL/6NJcl マウスについても妊娠7日に ochratoxin A を投与し、胎生16, 18日, 生後2週あるいは4週に外形および組織学的に観察した。胎生期および生後のマウスに、無眼球, 小眼球, 無水晶体眼, 前房隅角形成異常, 水晶体胞分離不全, 硝子体形成異常, 胎生裂閉鎖不全, 網膜ロゼット形成, 異所性視神経線維など, 多彩な眼形成異常が観察された。Ochratoxin A による眼原基形成障害に基づく無眼球・小眼球・無水晶体眼は、胎生9日以後に投与されても発生せず、その臨界期は胎生8日以前と判定された。また、前房隅角形成異常・水晶体胞分離不全・硝子体形成異常は、胎生7, 8あるいは9日の投与で好発した。これらの成立臨界期は、眼胞周囲への神経堤細胞の遊走と関連して決定されると考察した。ヒトの Axenfeld-Rieger 症候群や Peters 奇形に相当するさまざまな前房隅角形成異常が観察され、これらの異常が前眼部を形成する神経堤細胞の遊走不全に基づいて発生する過程を示した。Ochratoxin A により成立したマウスの硝子体形成異常では、硝子体中に過剰な間葉組織があり、胎生期には眼杯前縁部の間葉組織と連続しており、胎生14, 16, 18日には硝子体血管の網膜内への侵入像がみられ、C57BL/6NJcl マウスでは胎生18日と生後に硝子体中の間葉組織内に多数のメラニン細胞が検出された。このような硝子体形成異常は、ヒトの第一次硝子体過形成遺残に相当し、器官形成期に神経堤細胞が硝子体中へ過剰に侵入することにより成立することを解明した。優性小眼症 (Eye lens obsolescence, *Elo*) マウスで生後に発生する硝子体形成異常は、変性・崩壊した水晶体に対する反応性の線維血管性増殖により引き起こされることを明らかにした。13トリソミー症候群の胎生22週胎児にみられた第一次硝子体過形成遺残で、硝子体血管の網膜内侵入像やメラニン細胞が硝子体中に認められた。硝子体形成異常を、原発性と続発性に分類することを提唱した。原発性はヒトの第一次硝子体過形成遺残で、硝子体原基, すなわち第一次硝子体の形成異常に基づき発生する。続発性は、器官形成期以後の反応性線維血管性増殖により引き起こされ、*Elo* マウスのよ

別刷請求先: 467 名古屋市瑞穂区瑞穂町字川澄1 名古屋市立大学医学部眼科学教室 白井正一郎
(平成3年8月20日受付, 受理)

Reprint requests to: Shoichiro Shirai, M.D. 1 Kawasumi, Mizuho-cho, Mizuho-ku, Nagoya 467, Japan.
Department of Ophthalmology, Nagoya City University Medical School

(Received and accepted August 20, 1991)

うな水晶体起因性,あるいは家族性滲出性硝子体網膜症における網膜硝子体病変などがこれに該当する。(日眼会誌 95:1206-1237, 1991)

キーワード: 眼先天異常, 実験奇形学, 臨界期, 組織相互作用, 神経堤細胞

Developmental Mechanisms of Congenital Eye Abnormalities

Shoichiro Shirai

Department of Ophthalmology, Nagoya City University Medical School

Abstract

Experimental teratology in mice was studied to clarify the developmental mechanisms of congenital eye abnormalities. Pregnant Jcl:ICR mice were treated intraperitoneally with ochratoxin A on day 7 of pregnancy. The offspring were grossly observed on day 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16 or 18 of gestation, or at the second or fourth week after birth. Then, the eyes were histologically examined in serial sections. Mother mice were injected with ochratoxin A on day 8, 9, 10 or 11 of pregnancy, and the eyes of fetuses were examined on day 16 of gestation to determine the critical periods for the congenital eye abnormalities. Pregnant C57BL/6NJcl mice were also given an intraperitoneal injection of ochratoxin A on day 7 of pregnancy, and the eyes of offspring were observed grossly and histologically on day 16 or 18 of gestation, or at the second or fourth week after birth. Fetal and postnatal eyes showed various kinds and degrees of developmental abnormalities histologically. They included anophthalmia, microphthalmia, aphakia, mesenchymal dysgenesis of the anterior segment, faulty separation of the lens vesicle, developmental abnormalities of the vitreous, faulty closure of the embryonic fissure, retinal rosette formation and aberrant optic nerve fiber. Since anophthalmia, microphthalmia and aphakia caused by the developmental disturbances of the optic and lens vesicles were not established in the fetuses whose mothers were treated with ochratoxin A after day 9 of pregnancy, the critical periods for these abnormalities were considered to be on day 8 of gestation or earlier. Mesenchymal dysgenesis of the anterior segment, faulty separation of the lens vesicle and developmental abnormalities of the vitreous were frequently observed in the fetuses whose mothers were injected with ochratoxin A on day 7, 8 or 9 of pregnancy. It was considered that there was a correlation between the critical periods for these three abnormalities and the stage of the neural crest cell migration around the optic vesicle. Mesenchymal dysgenesis of the anterior segment observed in mice corresponded to the Axenfeld-Rieger syndrome or Peters' anomaly encountered clinically. Processes of production of these abnormalities based on the faulty migration of the neural crest cells which form the ocular anterior segment were demonstrated. With developmental abnormalities of the vitreous induced by ochratoxin A, excessive mesenchymal tissues were present in the vitreous cavity, and continued to the mesenchymal tissues of the anterior rim of the optic cup during gestational period. We found hyaloid vessels had invaded the retina in the fetuses of day 14, 16 and 18 of gestation. In C57BL/6NJcl mice, a large number of melanocytes were also detected in the excessive mesenchymal tissues of the vitreous on day 18 of gestation and after birth. These developmental abnormalities of the vitreous in mice appeared to correspond to persistent hyperplastic primary vitreous (PHPV) in human, and were considered to be caused by the excessive migration of the neural crest cells into the vitreous cavity during organogenesis. In hereditary microphthalmia observed in the *Elo* (eye lens obsolescence) mouse, the developmental abnormalities of the vitreous occurring after birth were caused by the reactive fibrovascular proliferation against degenerated and disorganized lens material. In a human fetus of 13 trisomy syndrome with PHPV observed at the 22nd week of gestation, invasions of hyaloid vessels into the retina and melanocytes were recognized in the vitreous. The

author proposes that developmental abnormalities of the vitreous may be classified into two groups; primary and secondary. The pathogenesis of the former corresponding to clinical PHPV consists in maldevelopment of the vitreous primordium, the so-called primary vitreous. The latter are caused by reactive fibrovascular proliferation after organogenesis, such as the lens induced reaction in *Elo* mice or vitreoretinal changes in familial exudative vitreoretinopathy. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 95: 1206-1237, 1991)

Key words: Congenital eye abnormalities, Experimental teratology, Critical period, Tissue interactions, Neural crest cell

I 緒 言

先天異常の成因は、染色体異常を含む遺伝的要因が主体をなすもの25%、環境要因が主体をなすもの10%、特定の要因が不明なもの65%、とされている¹⁾。眼は先天異常の多い器官で、古くからさまざまな研究が行われてきた^{2)~4)}。近年、眼発生について分子レベルや細胞レベルで研究されるようになり⁵⁾、眼先天異常に関しても、染色体分析や遺伝子分析による遺伝的要因の解明に対するアプローチが盛んになってきた^{6)~9)}。しかし、このようなレベルの研究と臨床にみられる眼形成異常の間には大きな隔たりが存在し、器官形成期での障害により成立する異常の種類、その成立機序および成立臨界期などについても不明な点が多く残されている¹⁰⁾。

眼を構成する各細胞や組織は、それぞれで分化・発育するのではなく、発生早期から組織相互作用、すなわち各組織が相互に作用をおよぼしながら、時間的、空間的に調和のとれた過程で分化・発育することにより形成されて行くものである。眼発生早期、特に器官形成期には組織相互作用が顕著であり、細胞や分子レベルに異常が起これば組織相互作用に歪が生じ、その後の分化・発育が連鎖反動的に障害されて、一連の形成異常が成立することになる^{10)~13)}。従って、眼形成異常の成立機序を解明するためには、組織相互作用を理解することが重要となる。

実験奇形学的研究では、環境要因の中から催奇形因子を解明する目的とともに、遺伝あるいは催奇形性のある環境因子により成立した先天異常のモデル動物を用い、その異常の発生機序や発生過程を研究することも重要な分野である^{1)~16)}。従来から、X線^{17)~19)}をはじめ、さまざまな外因による眼に関する実験奇形学的研究も数多く報告されている^{4)~10)}。我々も、cyclophosphamide²⁰⁾、X線^{21)~22)}、X線と超音波^{23)~24)}、

ochratoxin A^{25)~29)}、diphenylhydantoin³⁰⁾、エタノール³¹⁾などの催奇形因子を用いてマウスのさまざまな眼形成異常の成立機序を解明し、さらに、遺伝動物モデルとして、遺伝性小眼症(Eye lens obsolescence, *Elo*)マウス³²⁾(*Elo*マウス)や*Cts*マウス^{33)~34)}における眼形成異常の成立過程を形態学的に研究してきた。最近、Cookら^{35)~39)}は、いろいろな外因を用いてマウスで我々と同様の研究を行い、特に前眼部の形成異常について詳細に報告している。

本研究では、眼先天異常の成立機序を解明する目的で、ochratoxin Aによる実験奇形学的研究を行い、組織相互作用に注目して眼形成異常の成立過程を形態学的に検索するとともに、その成立臨界期についても検討した。従来は、実験動物としてアルビノのJcl:ICRマウスを用いてきたが、今回は神経堤細胞由来のメラニン細胞と眼形成異常との関連性を解明する目的で、有色のC57BL/6NJclマウスでも実験を行った。また、眼は発生の過程で三次元的に増大して行くので、走査電子顕微鏡でも観察した。これらのマウスでの観察結果を基にして、13トリソミーなどヒトのさまざまな眼先天異常と比較・検討して、その成立機序について論及する。

II 実験方法

1. 実験奇形学的研究

実験動物は、生後4週齢のマウスを購入して、恒温(25℃)・恒湿(50%)の室内で新鮮な水と飼料(CA-1、日本クレア株式会社)により飼育し、生後90日以後のものを用いた。未經産で発情期の雌を選び、健康な雄と一晚同一飼育箱に入れ、翌朝腔栓を認めたものを妊娠0日とした。このようにして得られた妊娠母獣を用いて、以下の実験を行った。催奇形物質として、propylen glycolと蒸留水の等量混合液に溶解したochratoxin A (Makor Chemicals Ltd., Israel)を使

用した。

1) 実験1: Jcl: ICR マウスを用い、妊娠7日に母獣の腹腔内に ochratoxin A 3mg/kg を注射した。主として眼形成異常の成立過程を観察する目的で、妊娠9日、10日、11日、12日、13日、14日、16日、18日のいずれかの日に母獣を屠殺し、開腹して胎芽あるいは胎仔を取り出した。直ちに実体顕微鏡あるいは手術顕微鏡下で外形観察を行い、Bouin 液あるいは2%グルタールアルデヒド・5%ホルムアルデヒド混合液 (pH 7.2, 0.15M 燐酸緩衝液) で固定した。眼部を切り出しアルコール系列で脱水後、パラプラストに包埋して、前額断で厚さ約7 μ mの連続切片を作成し、ヘマトキシリン・エオジン重染色 (HE 染色) を行い、光学顕微鏡で観察した。胎生13日胎芽あるいは16日胎仔の一部については、走査電子顕微鏡でも観察した。走査電子顕微鏡の資料は、頭部全体を2%グルタールアルデヒド・5%ホルムアルデヒド混合液 (pH 7.2, 0.15M 燐酸緩衝液) で約12時間固定後、緩衝液中で眼部を通るいろいろな角度で安全剃刀を用いて切断し、さらに同液で12時間固定した。その後、エタノール系列で脱水し、炭酸ガス臨界面乾燥を行い、真空中で金を蒸着して、日立 S-450あるいはS-4000で観察した。また、一部の母獣は自然分娩させ、生後2週あるいは4週に生存していた出生仔の眼球を摘出し、Bouin 液で固定してパラプラストに包埋し、連続切片を作製して、光学顕微鏡で観察した。

2) 実験2: Jcl: ICR マウスを用い、主として眼形成異常の成立臨界期を検討する目的で、妊娠8、9、10あるいは11日に母獣の腹腔内に ochratoxin A 5 mg/kg を注射した。妊娠16日に母獣を屠殺して胎仔を取り出し、実験1と同様の方法で外形観察と光学顕微鏡による観察を行った。

3) 実験3: 有色の C57BL/6NJcl マウスを用い、妊娠7日の母獣の腹腔内に ochratoxin A 3mg/kg を注

射し、妊娠16日あるいは18日に母獣を屠殺し、胎仔について実験1と同様の方法で外形および光学顕微鏡による観察を行った。また、妊娠7日の母獣の腹腔内に ochratoxin A 2mg/kg を注射し、自然分娩させて生後2週あるいは4週に生存していた出生仔の眼球を摘出して、組織学的に観察した。

4) *Elo* マウスにみられる硝子体形成異常: その成立機序を知る目的で、既報³²⁾で作製した標本、および包埋されたブロックから新たに作製した眼部連続切片標本を、光学顕微鏡で検索した。胎生期には胎生12日から18日のいずれかの時期、出生仔については生後0、1、2、3、4、5、10、20、25、30、60、90、120、150、340日のいずれかの時期に観察した。

2. ヒトの眼先天異常

1) 13トリソミー症候群の眼異常: 出生前診断で13トリソミーと判定された胎生22週と30週の死産児の眼球を摘出して、2%グルタールアルデヒド・5%ホルムアルデヒド混合液 (pH 7.2, 0.15M 燐酸緩衝液) で固定し、パラプラストに包埋して連続切片を作製し、HE 染色を行って光学顕微鏡で検索した。なお、胎生30週の症例は、前報⁴⁰⁾と同一症例であることを付記する。

2) 視神経乳頭部形成異常症例: 初診時、視神経乳頭欠損がみられ、成長とともに乳頭部に大きな陥凹を生じた2症例について報告する。

III 結 果

1. Ochratoxin A による実験奇形学的研究結果

1) Jcl: ICR マウスの眼形成異常成立臨界期

実験1の ochratoxin A を胎生7日に投与し胎生16日に観察した結果と、実験2の ochratoxin A を胎生8日から11日のいずれかの日に投与し胎生16日に観察した結果とを統合して検討した。

i) 外形観察結果

胎仔死亡率は、19.6~29.6(平均24.9%)の間にあっ

表1 Ochratoxin A の投与日別 Jcl: ICR マウス胎生16日の外形観察結果

投 与 量	3 mg/kg	5 mg/kg	5 mg/kg	5 mg/kg	5 mg/kg
投 与 時 期	胎生7日	胎生8日	胎生9日	胎生10日	胎生11日
実 験 母 獣 数	10	10	10	10	10
着床総数(平均)	121(12.1)	124(12.4)	148(14.8)	125(12.5)	144(14.4)
死亡胎仔数 (%)*	32(26.4)	34(27.4)	29(19.6)	37(29.6)	33(22.9)
生存胎仔数 (%)*	89(73.6)	90(72.6)	119(80.4)	88(70.4)	111(77.1)
異常胎仔数 (%)**	73(82.0)	26(28.9)	57(47.9)	46(52.3)	19(17.1)

*着床総数に対する割合

**生存胎仔数に対する割合

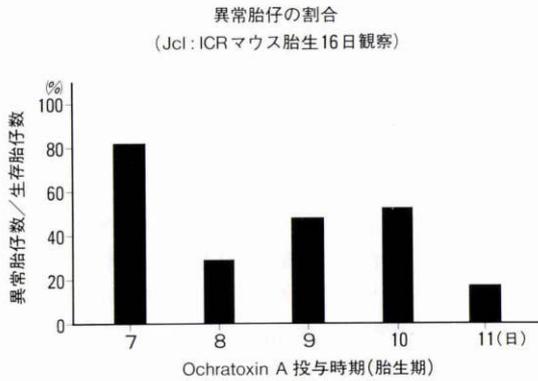


図1 Ochratoxin A の投与日別に異常胎仔の割合をみると、胎生7日と胎生10日投与にピークをもつ二峰性がみられる。

た(表1)。生存胎仔の中で外表奇形をもつ異常胎仔の占める割合は、胎生7日投与と胎生10日投与にピークをもつ二峰性を示し(図1)、さまざまな外表奇形が観察された(表2)。外形観察のみで無眼球と小眼球を区別することは不可能なため、眼部の隆起が正常よりも小さいと判定されたものと、全く眼球の存在が不明で無眼球と考えられるものまでを含めてすべて小眼球とした。小眼球、外脳症、正中顔面裂は、胎生9日以後の投与では観察されず、低位耳介は胎生10日以後の投与ではみられなかった。指・趾異常は、胎生8日から10日までの投与で成立した。眼瞼開存と口唇・口蓋裂は、全投与期間を通じて観察され、前者には胎生7日

投与と胎生10日投与にピークをもつ二峰性がみられた。

ii) 組織学的眼形成異常

多彩な組織学的眼形成異常が観察された(表3)。無眼球は、連続切片による観察で神経外胚葉由来の眼組織が全く認められないものとし、小眼球には眼原基の痕跡のみから正常よりも単に眼球が小さいものまですべてを含めた(図3, 図4)。連続切片上、水晶体組織が全く認められなければ無水晶体眼(図5)とした。前房隅角形成異常とは、角膜、虹彩、前房、隅角部などに形態学的異常のみられるもの(図6)とし、水晶体胞分離不全とは、水晶体と表面外胚葉(角膜上皮)とが分離せず水晶体茎で連続しているもの(図7)および両者が分離していても水晶体茎組織が遺残しているものとした。硝子体中に間葉組織が過剰に存在していれば硝子体形成異常としたが、間葉組織の量は、大量(図8)から正常よりもわずかに多い程度(図9)までさまざまであった。胎生裂縁が癒合せず眼杯内板が外反し、その部に外板が欠損していれば胎生裂閉鎖不全(図10)とした。異所性視神経線維は異常な部位に視神経線維が存在しているもの(図10)、網膜ロゼット形成は中央に外境界膜をもつロゼットが網膜内にみられるもの(図11)とした。

無眼球・小眼球・無水晶体眼は、いずれも胎生9日以後の投与では観察されず(図12)、無水晶体眼は全例小眼球を伴っていた。前房隅角形成異常は胎生10日投与まで、水晶体胞分離不全は胎生9日投与まで成立し、

表2 Ochratoxin A により成立したJcl: ICR マウス胎生16日の投与日別の主な外表奇形

投与量	3 mg/kg	5 mg/kg	5 mg/kg	5 mg/kg	5 mg/kg
投与時期	胎生7日	胎生8日	胎生9日	胎生10日	胎生11日
小眼球	35(39.3)	16(17.8)	0	0	0
外脳症	56(62.9)	15(16.7)	0	0	0
脳ヘルニア	6(6.7)	0	0	0	0
正中顔面裂	31(34.8)	8(8.9)	0	0	0
脊椎裂	0	1(1.1)	0	0	0
低位耳介	53(59.6)	4(4.4)	3(2.5)	0	0
鎖肛	0	2(2.2)	1(0.8)	0	0
指・趾異常	0	2(2.2)	18(15.1)	28(31.8)	0
腹壁ヘルニア	13(14.6)	1(1.1)	0	3(3.4)	0
尾の異常	2(2.2)	4(4.4)	1(0.8)	1(1.1)	0
小顎症	1(1.1)	4(4.4)	4(3.4)	3(3.4)	0
眼瞼開存	43(48.3)	9(10.0)	49(41.2)	44(50.0)	18(16.2)
口唇・口蓋裂	1(1.1)	2(2.2)	11(9.2)	25(28.4)	3(2.7)

() 内は生存胎仔数に対する百分率

表 3 Ochratoxin A により成立した Jcl: ICR マウス胎生16日の
投与日別の組織学的眼形成異常

投 与 量	3 mg/kg	5 mg/kg	5 mg/kg	5 mg/kg	5 mg/kg
投 与 時 期	胎生 7 日	胎生 8 日	胎生 9 日	胎生10日	胎生11日
観察胎仔数	56	40	55	57	49
無眼球	13(24)	9(14)	0(0)	0(0)	0(0)
小眼球	18(27)	9(11)	0(0)	0(0)	0(0)
無水晶体眼	13(20)	4(4)	0(0)	0(0)	0(0)
前房隅角形成異常	8(12)	6(7)	4(7)	1(1)	0(0)
水晶体胞分離不全	7(9)	5(5)	1(1)	0(0)	0(0)
硝子体形成異常	20(34)	17(30)	3(5)	1(2)	4(5)
胎生裂閉鎖不全	16(22)	9(10)	1(1)	1(1)	1(1)
異所性視神経線維	4(5)	8(8)	0(0)	1(1)	0(0)
網膜ロゼット形成	0(0)	6(9)	35(50)	29(38)	43(74)

() 内は眼数

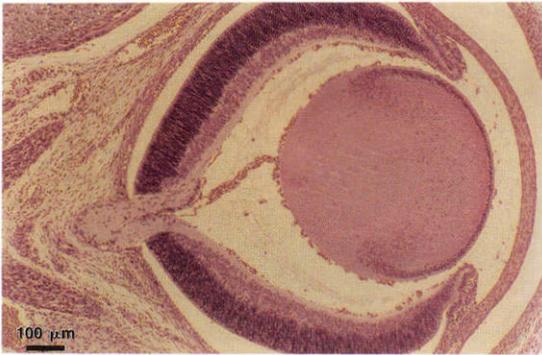


図 2 Jcl: ICR マウス胎生16日の正常眼所見. HE 染色, ×50.

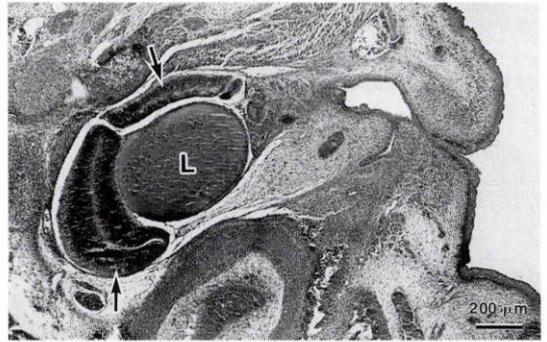


図 4 Ochratoxin A 胎生 7 日投与で成立した Jcl: ICR マウス胎生16日の小眼球. 眼窩後方に比較的よく分化・発育した水晶体 (L) と眼杯組織 (矢印) が存在する. HE 染色, ×32.



図 3 Ochratoxin A 胎生 8 日投与で成立した Jcl: ICR マウス胎生16日の外脳症. 右眼は無眼球, 左眼は小眼球で, 眼窩後方に眼杯組織 (矢印) が存在する. HE 染色, ×20.

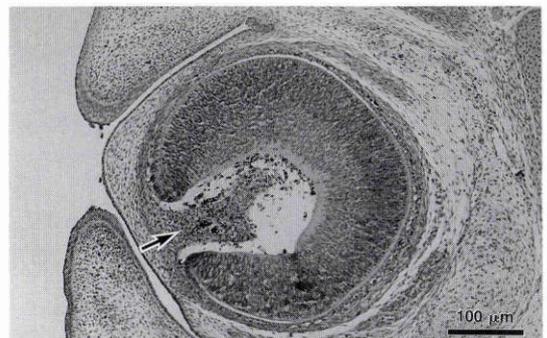


図 5 Ochratoxin A 胎生 7 日投与で成立した Jcl: ICR マウス胎生16日の無水晶体眼. 小眼球で, 水晶体組織は認められない. 眼杯軸が下転し, 眼杯前縁部の間葉組織 (矢印) が硝子体中に侵入している. HE 染色, ×100.



図6 Ochratoxin A 胎生8日投与で成立したJcl: ICR マウス胎生16日の前房隅角形成異常。前房・隅角部が形成されておらず、角膜中央部では内皮が欠損している(矢印)。HE染色, ×100.



図9 Ochratoxin A 胎生11日投与で成立したJcl: ICR マウス胎生16日の硝子体形成異常。硝子体中に、間葉細胞塊(矢印)が認められる。HE染色, ×50.

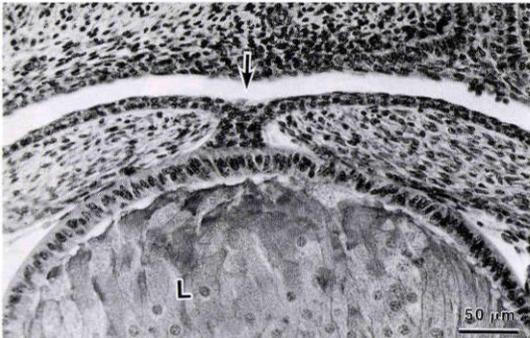


図7 Ochratoxin A 胎生8日投与で成立したJcl: ICR マウス胎生16日の水晶体胞分離不全。水晶体茎(矢印)が遺残し、角膜と水晶体(L)の上皮が連続している。HE染色, ×160.

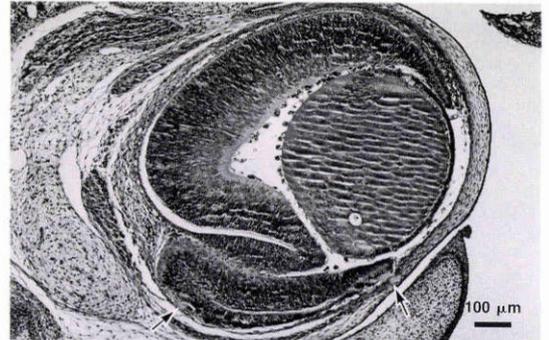


図10 Ochratoxin A 胎生7日投与で成立したJcl: ICR マウス胎生16日の胎生裂閉鎖不全。下方の眼杯内板が外反し、その部に外板が認められない。内板の褶曲形成と異所性視神経線維(矢印)もみられる。HE染色, ×50.

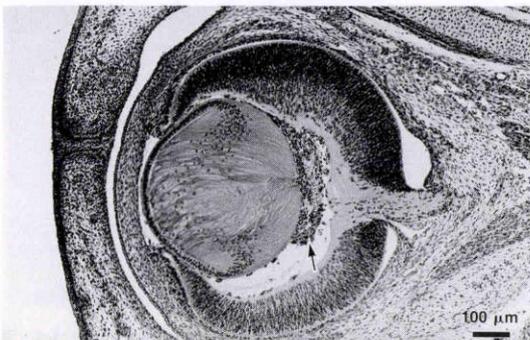


図8 Ochratoxin A 胎生8日投与で成立したJcl: ICR マウス胎生16日の硝子体形成異常。小眼球で、硝子体中に過剰な間葉組織(矢印)が存在し、前房隅角形成異常も合併している。HE染色, ×50.



図11 Ochratoxin A 胎生11日投与で成立したJcl: ICR マウス胎生16日の網膜ロゼット形成。網膜の内層に、中央に境界膜をもつ一層ロゼット(矢印)がみられる。HE染色, ×200.

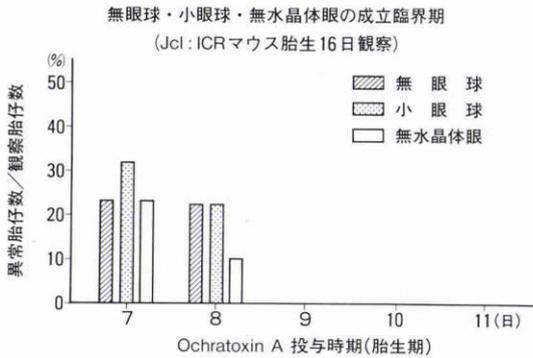


図12 原基の形成障害に基づく無眼球・小眼球・無水晶体眼は、胎生9日以後の投与では成立しない。

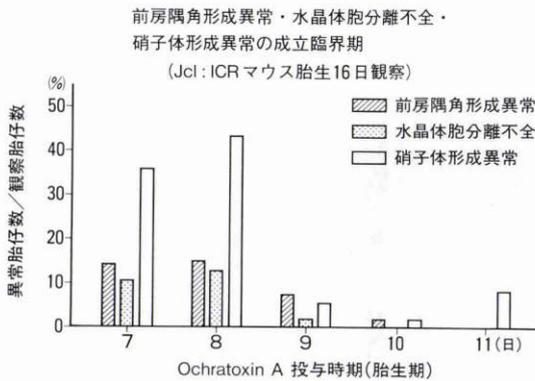


図13 前房隅角形成異常・水晶体胞分離不全・硝子体形成異常は、胎生9日以前の投与で好発している。

硝子体形成異常は全投与期間を通じて観察された(図13)。胎生10日投与での前房隅角形成異常は程度が軽く、硝子体形成異常も胎生10日以後の投与では、間葉細胞が正常よりもわずかに増加している程度の変化(図9)であった。

胎生裂閉鎖不全は、胎生7日および8日投与で好発し、胎生9日以後の投与では頻度が減少し、程度も軽くなった。異所性視神経線維も、胎生7日と8日投与で好発していた。網膜ロゼット形成は、胎生7日投与ではみられず、それ以後の投与で頻発した。

2) C57BL/6NJcl マウスの実験結果

有色の C57BL/6NJcl マウス胎生16日の観察では、胎仔死亡率が48.0%、異常胎仔の割合は68.0%であった(表4)。Jcl: ICR マウス胎生7日投与の結果と比較して、C57BL/6NJcl マウスでの胎仔死亡率は有意に増加($\chi^2=14.53, p<0.01$)していたが、異常胎仔の割合は有意に低かった($\chi^2=4.97, p<0.05$)。外表奇

表4 胎生7日に ochratoxin A の投与を受けた C57BL/6NJcl マウス胎生16日の外形観察結果

投与量	3 mg/kg
投与時期	胎生7日
実験母獣数	20
着床総数(平均)	198 (9.9)
死亡胎仔数(%)*	95 (48.0)
生存胎仔数(%)*	103 (52.0)
異常胎仔数(%)**	70 (68.0)

*着床総数に対する割合
**生存胎仔数に対する割合

表5 Ochratoxin A 胎生7日投与により成立した C57BL/6NJcl マウス胎生16日の主な外表奇形

投与量	3 mg/kg
投与時期	胎生7日
小眼球	22 (21.4)
虹彩欠損	37 (35.9)
外脳症	20 (19.4)
脳ヘルニア	5 (4.9)
正中顔面裂	7 (6.8)
脊椎裂	5 (4.9)
鎖肛	3 (2.9)
腹壁ヘルニア	31 (30.1)
尾の異常	24 (23.3)
小顎症	6 (5.8)
眼瞼開存	39 (37.9)
口唇・口蓋裂	10 (9.7)

() 内は生存胎仔数に対する百分率

形(表5)については、小眼球、外脳症、正中顔面裂の頻度は、Jcl: ICR マウスに比して有意に少なかった(それぞれ $\chi^2=3.98, p<0.05, \chi^2=11.87, p<0.01, \chi^2=15.77, p<0.01$) が、口唇・口蓋裂は有意に増加($\chi^2=5.854, p<0.05$)し、眼瞼開存には両マウスの間で有意差はなかった。C57BL/6NJcl マウスは有色のため、外形観察で虹彩欠損(図14, 図15)が確認でき、35.9%と高率にみられた。

両マウスの間で、組織学的眼形成異常の種類、頻度、程度などに差異はなかった。

3) 眼形成異常の成立過程

各実験結果を一括して検討し、今回の検索でえられた新知見のうち、その代表的な組織学的所見を示す。

i) 前眼部形成異常

a) 前房隅角部の正常走査顕微鏡所見：正常 Jcl: ICR マウス胎生16日の眼部を切断し、水晶体を取り除

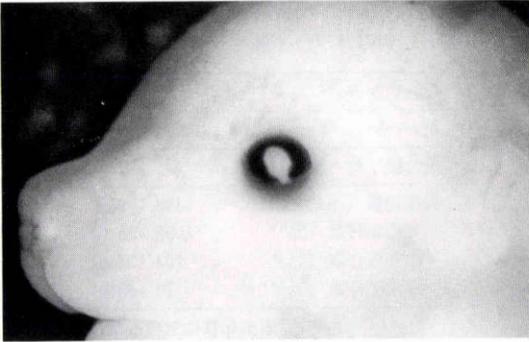


図14 Ochratoxin A 胎生7日投与で成立したC57BL/6NJcl マウス胎生16日の定型的虹彩欠損。眼瞼が開存しており、胎生裂部に一致した下方の虹彩欠損が明瞭に観察される。

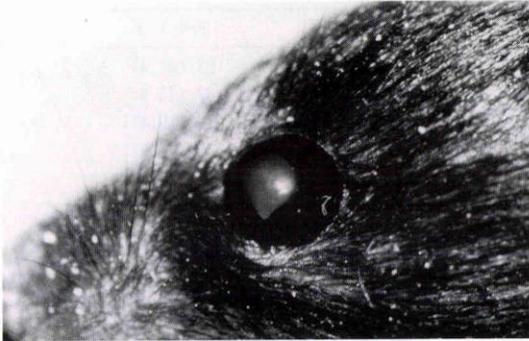


図15 Ochratoxin A 胎生7日投与で成立したC57BL/6NJcl マウス生後2週の定型的虹彩欠損。下方の虹彩が欠損し、瞳孔は西洋梨状をしている。

表6 Ochratoxin A 胎生7日投与により成立したC57BL/6NJcl マウス胎生16日の組織学的眼形成異常

投与量	3 mg/kg
投与時期	胎生7日
観察胎仔数	46
無眼球	3 (5)
小眼球	13 (14)
無水晶体眼	8 (13)
前房隅角形成異常	8 (13)
水晶体胞分離不全	14 (18)
硝子体形成異常	19 (25)
胎生裂閉鎖不全	13 (23)
異所性視神経線維	7 (7)

() 内は眼数

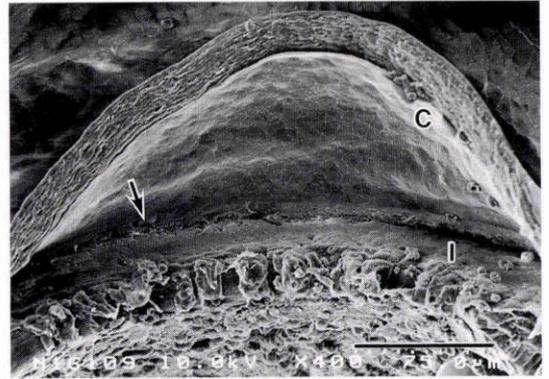


図16 Jcl: ICR マウス胎生16日の前眼部正常走査電子顕微鏡所見。眼球を切断し、水晶体を除去してある。角膜 (C)、隅角部 (矢印)、虹彩 (I) が立体的に観察される。×240。

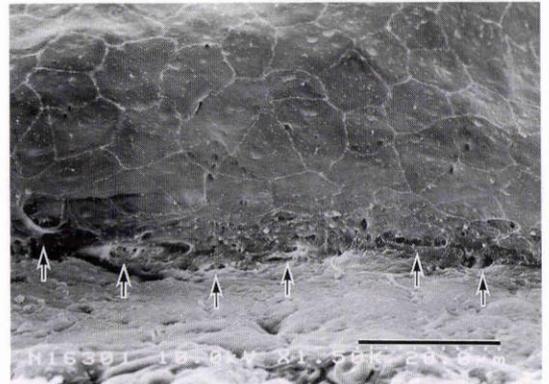


図17 図16の隅角部の拡大像。角膜内皮細胞は六角形で密に配列し、隅角底付近まで広がっているが、隅角底の細胞には無数の細胞間隙 (矢印) があり、両者は容易に識別される。×900。

き走査電子顕微鏡で前房隅角部を観察した。角膜内皮細胞はほぼ六角形で、細胞間隙はみられず密に配列しており、隅角底付近まで広がっていた。隅角底の細胞は角膜内皮細胞とは明らかに異なり、無数の細胞間隙があり、未分化な線維柱帯を思わせる網目状の三次元構造を形成しているのが観察され、その表面を覆い隠すような膜状構造物は全く存在していなかった (図16~図18)。

b) 形成異常所見: 胎生16日あるいは18日の観察で、角膜内皮に癒着する虹彩索状物 (図19) が多数みられ、出生仔にもそれに相当する異常所見がえられた (図20)。走査電子顕微鏡でも胎生16日に同様の像 (図

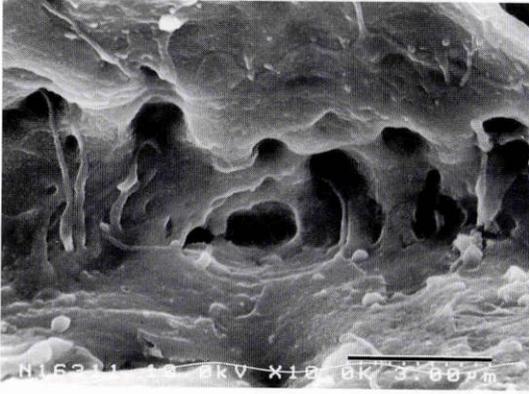


図18 図16の隅角底の高倍像。隅角底の細胞間隙を拡大すると、未分化な線維柱帯を思わせる網目状の三次元構造が観察される。×6,000。

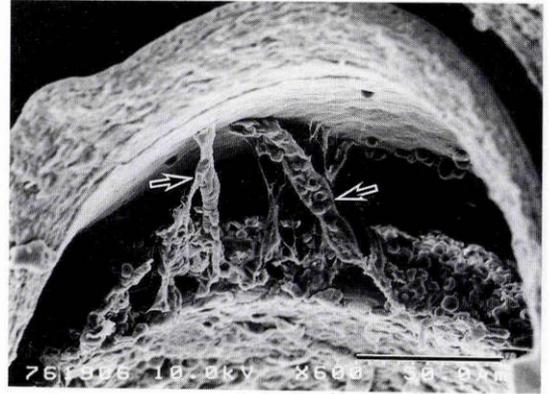


図21 Ochratoxin A 胎生 7 日投与で成立した Jcl:ICR マウス胎生16日の走査電子顕微鏡所見。血管性索状物(矢印)が虹彩表面から角膜内皮に伸びている。×360。

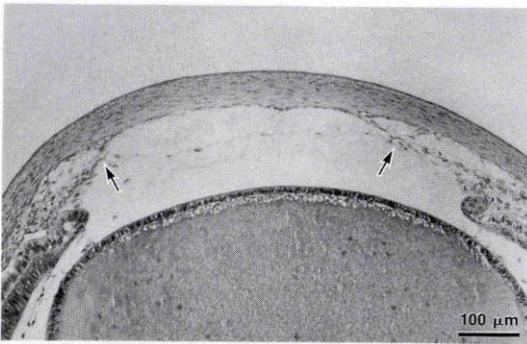


図19 Ochratoxin A 胎生 7 日投与で成立した Jcl:ICR マウス胎生18日の前房隅角形成異常。虹彩索状物(矢印)が角膜内皮に接着している。HE 染色、×80。

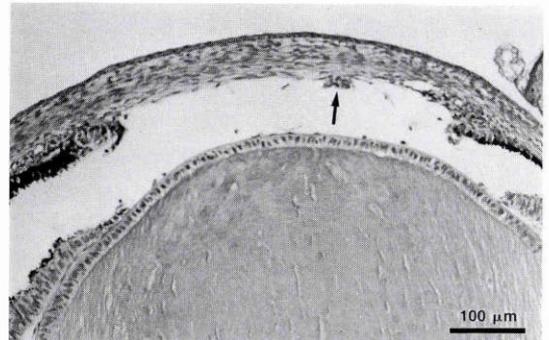


図22 Ochratoxin A 胎生 7 日投与で成立した C57BL/6N Jcl マウス胎生18日の前房隅角形成異常。虹彩が角膜裏面に接着し、角膜内皮・実質細胞と虹彩実質細胞との識別が不能となっている。角膜内皮に間葉細胞塊(矢印)が付着している。HE 染色、×100。



図20 Ochratoxin A 胎生 7 日投与で成立した C57BL/6N Jcl マウス生後 2 週の前房隅角形成異常。虹彩索状物(矢印)が角膜裏面に付着し、ヒトの Axenfeld-Rieger 症候群に相当する所見を呈している。HE 染色、×100。

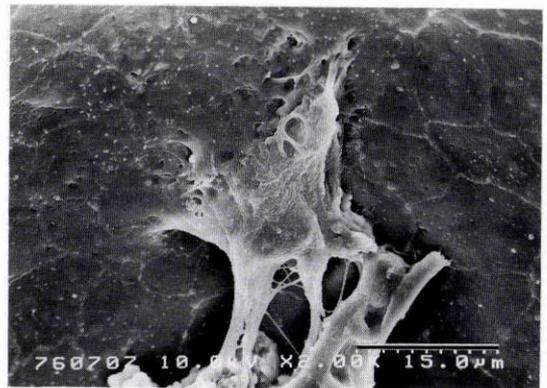


図23 Ochratoxin A 胎生 7 日投与で成立した Jcl:ICR マウス胎生16日の前房隅角形成異常。間葉細胞が、角膜内皮に糸状偽足で付着している。×1,200。

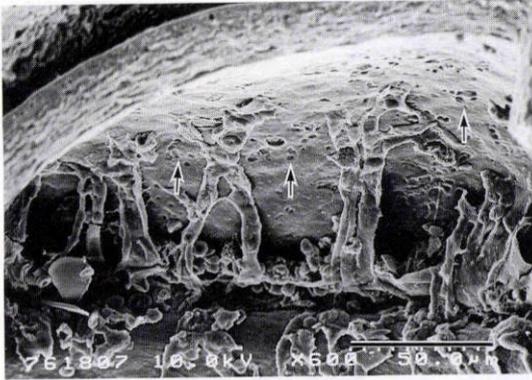


図24 Ochratoxin A 胎生7日投与で成立したJcl: ICR マウス胎生16日の前房隅角形成異常. 角膜内皮に無数の異常な細胞間隙(矢印)が存在し, 虹彩索状物も多数みられる. $\times 360$.

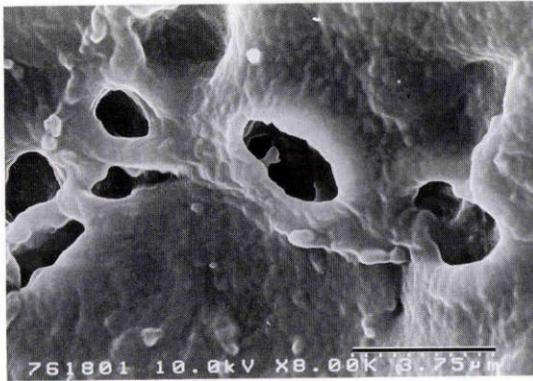


図25 図24の拡大像. 角膜内皮の細胞間隙を拡大すると, 隅角線維柱帯に類似した網目状の三次元構築がみられる. $\times 4,800$.

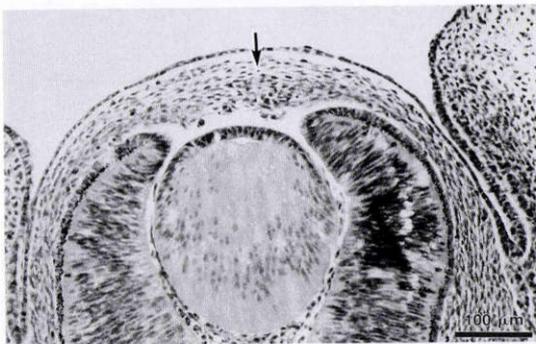


図26 Ochratoxin A 胎生7日投与で成立したJcl: ICR マウス胎生13日の前房隅角形成異常. 角膜内皮や実質を形成する間葉細胞(矢印)が過剰で, 内皮と実質の区別が不能となっている. HE 染色, $\times 100$.

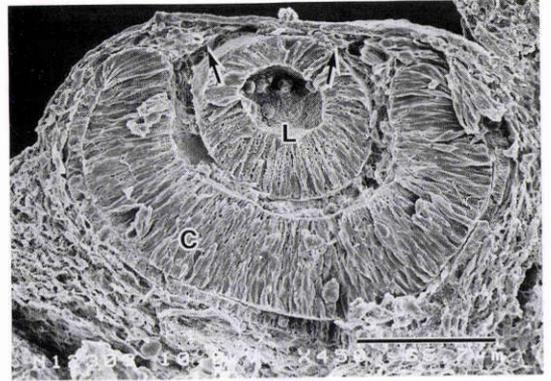


図27 Jcl: ICR マウス胎生11日の水晶体胞分離直前の正常所見. 角膜上皮と水晶体胞(L)の間に眼杯前縁部から間葉細胞(矢印)が侵入してきている.(C)は眼杯, $\times 270$.

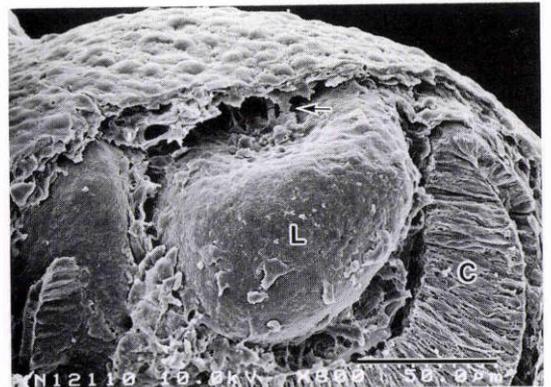


図28 Jcl: ICR マウス胎生12日の水晶体胞分離直後の正常所見. 水晶体胞(L)の前極部が陥凹し, そこに遺残した水晶体基組織(矢印)がみられる.(C)は眼杯, $\times 480$.

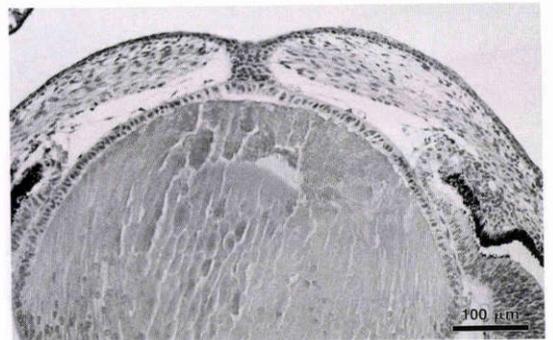


図29 Ochratoxin A 胎生7日投与で成立したC57BL/6N mouse胎生18日の水晶体胞分離不全. 角膜と水晶体の上皮が連続しており, その部の角膜内皮や実質が欠損し, 前房隅角形成異常もみられる. ヒトの Peters 奇形に相当する. HE 染色, $\times 100$.

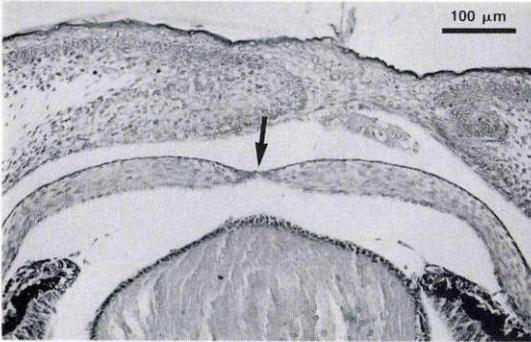


図30 Ochratoxin A 胎生 7 日投与で成立した C57 BL/6NJcl マウス胎生18日の水晶体胞分離不全。水晶体胞の分離遅延により、角膜中央部(矢印)に内皮と実質の欠損が生じているが、前房隅角の形成は比較的良好である。ヒトの Peters 奇形に相当する。HE 染色, ×100.



図31 Ochratoxin A 胎生 7 日投与で成立した Jcl: ICR マウス生後 4 週の水晶体胞分離不全。角膜中央部に、混濁がみられる。



図32 図31の摘出眼球。角膜中央部が混濁し、そこに水晶体が癒着している。

21) を三次元的にとらえることができ、索状物は血管組織と間葉細胞で形成されていた。また、胎生16日や胎生18日に角膜内皮への細胞塊の付着像(図22)がみられ、走査電子顕微鏡所見では付着部の角膜内皮細胞は不整で細胞間隙があり、そこに間葉細胞が糸状偽足をだして付着していた(図23)。胎生16日の走査電子顕微鏡による観察で、角膜内皮に異常な細胞間隙(図24)が多数みられ、その間隙は胎生16日の正常隅角線維柱帯部の構造に類似した網目状の三次元構築(図25)を示していた。胎生13日には、角膜内皮・実質を形成する間葉細胞が過剰に存在し、内皮と実質の区別が不能となっている所見(図26)が観察された。

ii) 水晶体胞分離不全

a) 水晶体胞分離過程の正常走査電子顕微鏡所見：正常 Jcl: ICR マウス胎生11日の水晶体胞分離直前では、角膜上皮と水晶体胞の間に眼杯前縁部から間葉細胞の侵入像(図27)が観察された。胎生12日の水晶体胞分離直後には、水晶体胞の前極部が陥凹し、その中央部には遺残した水晶体茎組織がみられた(図28)。

b) 水晶体胞分離不全：胎生期および生後に、さまざまな水晶体胞分離不全が観察された(図29~図32)。

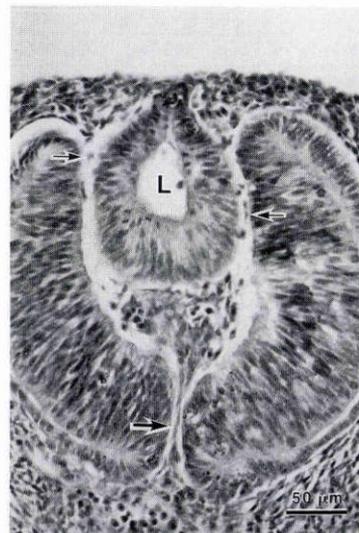


図33 胎生 7 日に ochratoxin A の投与を受けた Jcl: ICR マウス胎生11日胎芽。水晶体胞分離以前の所見で、表面外胚葉と水晶体胞(L)の間や硝子体中に過剰の間葉組織が存在する。硝子体中の間葉組織が眼杯口(小矢印)、あるいは胎生裂(大矢印)を介して眼杯周囲の間葉組織と連続している。HE 染色, ×160.

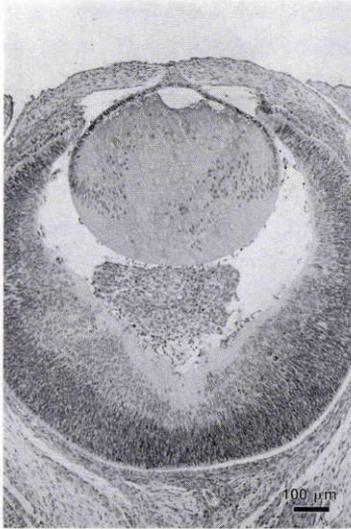


図34 Ochratoxin A 胎生7日投与で成立した Jcl: ICR マウス胎生16日の前房隅角形成異常・水晶体胞分離不全・硝子体形成異常合併例, HE 染色, ×50.

表7 Ochratoxin A 胎生7日投与により成立した Jcl: ICR マウス胎生14, 16あるいは18日の水晶体胞分離不全 一胎生裂閉鎖不全・硝子体形成異常との合併一

形成異常	観 察 日			計
	胎生14日	胎生16日	胎生18日	
水晶体胞分離不全	12匹16眼	7匹9眼	21匹21眼	40匹46眼
硝子体形成異常	11匹14眼	7匹8眼	19匹19眼	37匹41眼*
胎生裂閉鎖不全	6匹8眼	6匹7眼	14匹14眼	26匹29眼*

*両者を合併 (24匹27眼)

胎生7日に ochratoxin A の投与を受けた胎生11日の胎芽で, 水晶体胞分離以前に表面外胚葉と水晶体胞の間に過剰に間葉細胞がすでに侵入し, 硝子体中の間葉組織と連続的に移行している所見がえられた。また胎生裂を介して, 眼杯周囲と硝子体中の間葉組織とが連続していた(図33)。水晶体胞分離不全は, ほとんどが前房隅角形成異常を伴っており, 硝子体形成異常(図34)や胎生裂閉鎖不全を多数合併していた。胎生7日に ochratoxin A を投与された Jcl: ICR マウス胎生14日, 16日あるいは18日胎仔の中で, 水晶体胞分離不全が40匹46眼検出されたが, それを対象として, 水晶体胞分離不全・硝子体形成異常・胎生裂閉鎖不全の合併について検討した(表7)。水晶体胞分離不全40匹46眼のうち, 37匹41眼が硝子体形成異常, 26匹29眼が胎生

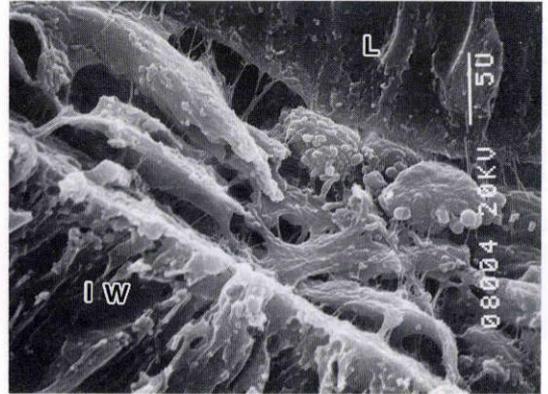


図35 Jcl: ICR マウス胎生11日の正常硝子体所見, 硝子体中の間葉細胞が水晶体 (L) や眼杯内板 (IW) と接着している, ×1,800.

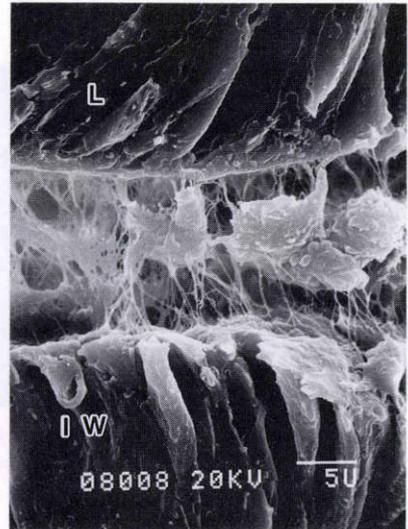


図36 Jcl: ICR マウス胎生11日の正常硝子体所見, 発生が進行して硝子体腔が増大し, 硝子体中の間葉細胞は糸状偽足で水晶体 (L) や内板 (IW) と接着している, ×900.

裂閉鎖不全を合併し, 24匹27眼は両者を合併していた。

iii) 硝子体形成異常

a) 硝子体初期発生の正常走査電子顕微鏡所見: Jcl: ICR マウス胎生11日には, 硝子体中の間葉細胞が水晶体細胞や眼杯内板の細胞と接着している(図35)が, 発生が進行して硝子体腔が増大するにつれて, 硝子体中の間葉細胞は糸状偽足で水晶体や内板と接着するようになる(図36)。胎生13日になり水晶体嚢や眼杯

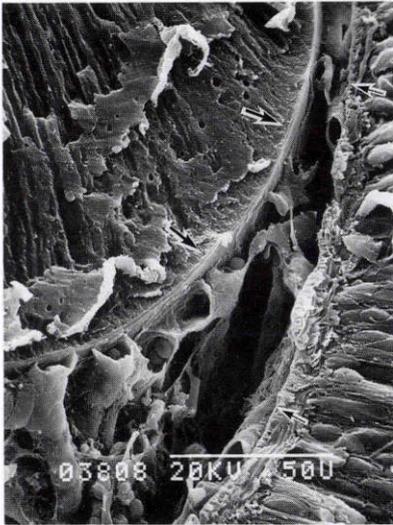


図37 Jcl: ICR マウス胎生13日の正常硝子体所見。水晶体嚢(大矢印)や内板の内境界膜(小矢印)が形成されており、硝子体中の間葉細胞は血管系を除いて水晶体や内板から分離している。×420。

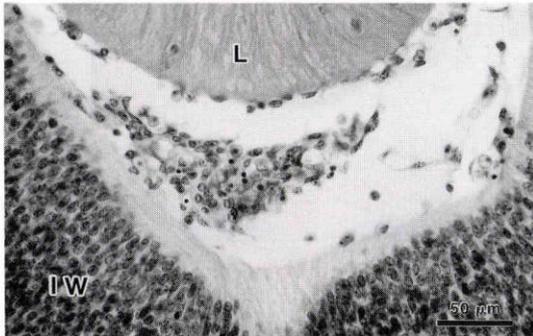


図38 Jcl: ICR マウス胎生13日の正常硝子体所見。硝子体中の間葉細胞は水晶体(L)や内板(IW)から分離し、硝子体腔の中央部に存在するようになる。HE 染色, ×200。

内板に内境界膜が形成されると、硝子体中の血管系以外の間葉細胞と、水晶体や内板との接着像は観察されなくなり(図37)、間葉細胞は水晶体や内板から分離して硝子体腔の中央部に存在するようになる(図38)。

b) 硝子体血管の網膜内侵入像：胎生16日の硝子体形成異常の中で、硝子体中の過剰な間葉組織塊から網膜組織内にかけて連続する異常血管像が観察された(図39～図41)。胎生期をさかのぼって観察すると、胎生13日の硝子体形成異常の中には、硝子体中の間葉細胞

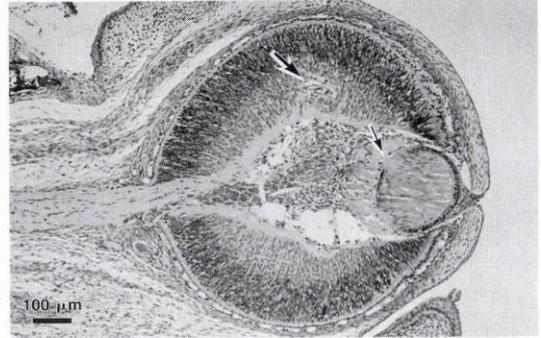


図39 Ochratoxin A 胎生7日投与で成立したJcl: ICR マウス胎生16日の前房隅角形成異常・水晶体胞分離不全・硝子体形成異常合併例。水晶体後嚢が裂開(小矢印)し、水晶体線維細胞が硝子体中に脱出している。内板内への血管侵入像(大矢印)がみられる。HE 染色, ×50。

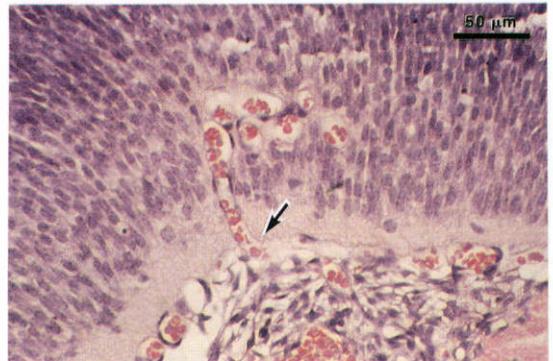


図40 図39の血管侵入部の拡大像。硝子体血管が、内境界膜の欠損部(矢印)から内板内に侵入している。HE 染色, ×200。

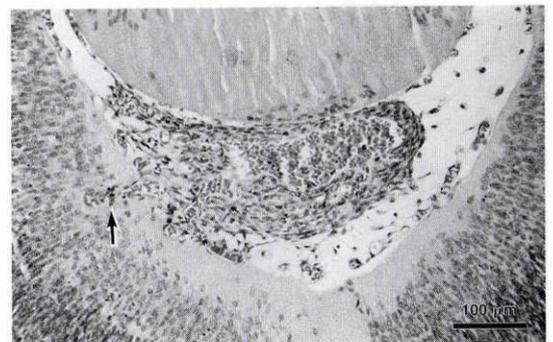


図41 Ochratoxin A 胎生7日投与で成立したJcl: ICR マウス胎生16日の硝子体形成異常。硝子体血管が内板内に侵入(矢印)している。HE 染色, ×100。

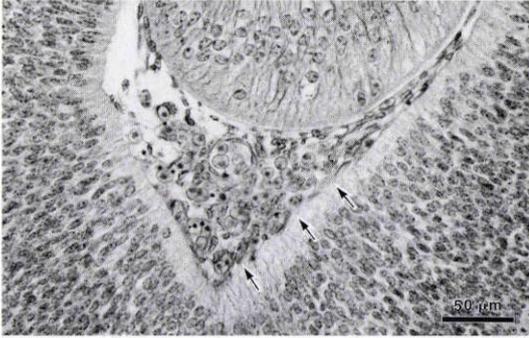


図42 Ochratoxin A 胎生7日投与で成立したJcl:ICR マウス胎生13日の硝子体形成異常。硝子体中の間葉細胞が、内境界膜の欠損部(矢印)で内板に接着している。HE染色, ×200。

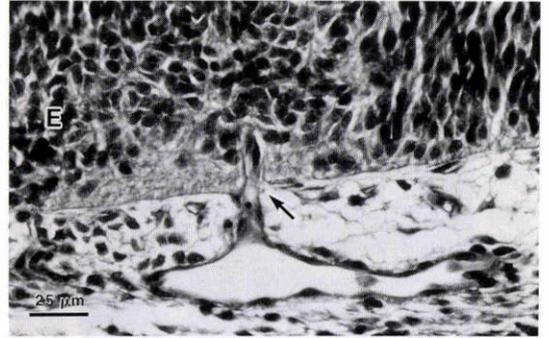


図45 図44の拡大像。神経上皮細胞層(E)の基底膜の欠損部(矢印)から、血管内皮細胞が侵入している。HE染色, ×320。

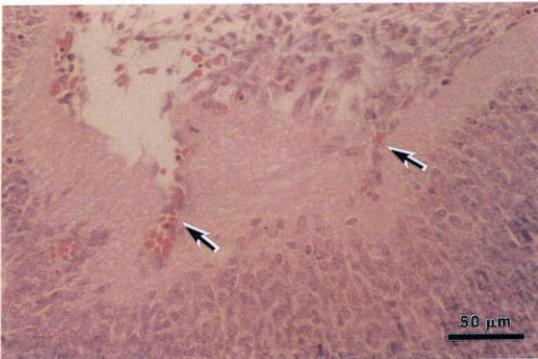


図43 Ochratoxin A 胎生7日投与で成立したJcl:ICR マウス胎生14日の硝子体形成異常。硝子体血管(矢印)が内板内に侵入している。HE染色, ×200。

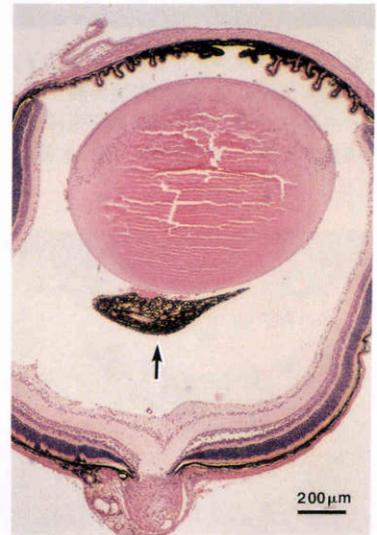


図46 Ochratoxin A 胎生7日投与で成立したC57BL/6NJcl マウス生後2週の硝子体形成異常。硝子体中の間葉組織塊(矢印)が黒色を呈している。HE染色, ×32。



図44 Jcl:ICR マウス胎生10日の正常所見。頭部神経管の神経上皮細胞層(E)と眼杯(C)とが連続しており、神経上皮細胞の基底膜側に血管内皮細胞(矢印)がみられる。(*)は脳室腔。HE染色, ×80。

胞が内境界膜の不明な部位で内板と分離せずに着している所見(図42)があり、胎生14日には硝子体血管の網膜内への侵入像(図43)が検出された。

正常マウス胎芽における脳の血管新生をみると、胎生10日に頭部神経管周囲の血管から発芽した血管内皮細胞が、神経上皮細胞基底膜側から神経上皮細胞層内へ侵入している像を確認できた(図44, 図45)。

c) 硝子体中のメラニン細胞：ochratoxin A で成立したC57BL/6NJcl マウスの硝子体形成異常について

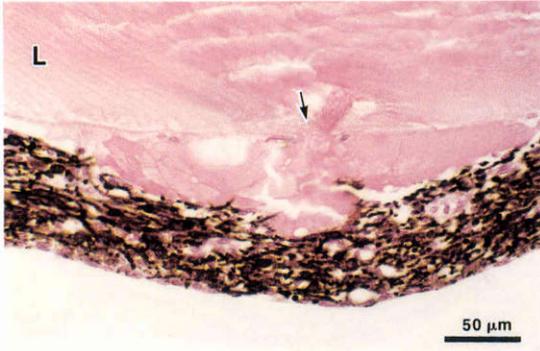


図47 Ochratoxin A 胎生 7 日投与で成立した C57 BL/6NJcl マウス生後 2 週の硝子体形成異常. 間葉組織の中に, 黒色色素を保有したメラニン細胞類似の細胞が無数に認められる. 水晶体(L)の後囊が裂開(矢印)し, そこから水晶体線維細胞が硝子体中へ脱出している. HE 染色, ×200.



図49 図48の拡大像. 間葉組織の中に黒色色素を保有する細胞(矢印)が認められ, メラニン細胞と同定できる. HE 染色, ×400.



図48 Ochratoxin A 胎生 7 日投与で成立した C57 BL/6NJcl マウス胎生18日の硝子体形成異常. 硝子体中に間葉組織塊(矢印)がみられる. HE 染色, ×50.

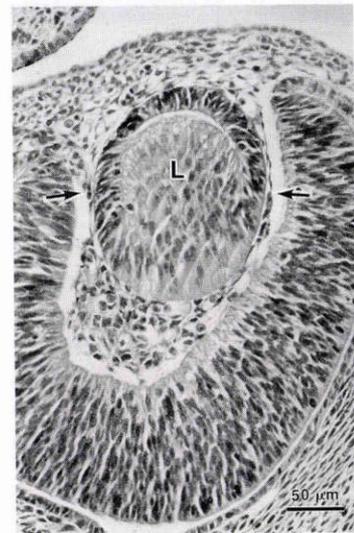


図50 Ochratoxin A 胎生 7 日投与で成立した Jcl: ICR マウス胎生13日の硝子体形成異常. 眼杯前縁部と硝子体中の間葉細胞とが, 水晶体(L)赤道部に沿って連続的に移行(矢印)している. HE 染色, ×160.

検索したところ, 出生仔で硝子体中の間葉組織塊が黒色を呈し(図46), 黒色の色素を有するメラニン細胞様の細胞が多数増生している像(図47)が観察された. 胎生18日にも, 硝子体中の間葉組織塊の中に黒色色素を保有する細胞(図48, 図49)が検出され, その細胞は, 光学顕微鏡的には脈絡膜のメラニン細胞と同一の

像を呈していた. 胎生13日の硝子体形成異常では, 眼杯前縁部の間葉細胞と硝子体中の間葉細胞とが連続的に移行していた(図50, 図51). また, 胎生期および生後に硝子体中の間葉細胞が内板に接着し, 牽引して膜を形成している像もみられた(図52, 図53).

iv) 眼杯前縁部の過剰増生: 胎生 7 日に ochratoxin A の投与を受けた胎生16日や18日の胎仔の中に, 眼杯前縁部が異常に伸展して, 水晶体を下方へ偏位させ

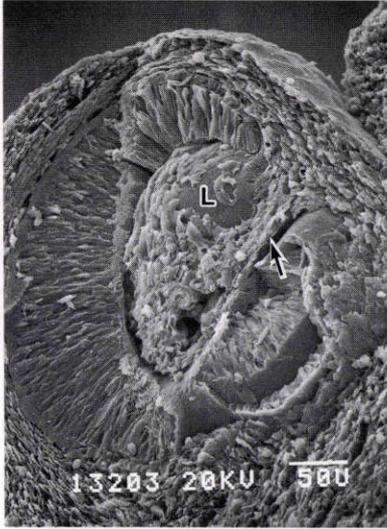


図51 Ochratoxin A 胎生 7 日投与で成立した Jcl: ICR マウス胎生13日の硝子体形成異常。小眼球例であり、眼杯前縁部と硝子体中との連続的移行像(矢印)が三次元的に観察される。(L)は水晶体。HE 染色, $\times 140$ 。



図52 Ochratoxin A 胎生 7 日投与で成立した C57 BL/6NJcl マウス胎生18日の硝子体形成異常。硝子体中の間葉組織が眼杯内板と癒着(大矢印)し、牽引している。前房隅角形成異常を合併し、硝子体中の間葉組織の中には多数の黒色素(小矢印)がみられる。HE 染色, $\times 50$ 。

眼杯軸を下転したり(図54)、眼杯口内への侵入を阻害するように水晶体胞を角膜の方へ押し上げたりしている像(図55)があり、眼杯前縁部と硝子体中の間葉組織との線維血管性吻合像(図54, 図55)もみられた。一部の胎仔では、このような吻合に沿って、眼杯前縁部が硝子体中へ過剰に増生していた(図54)。また、胎

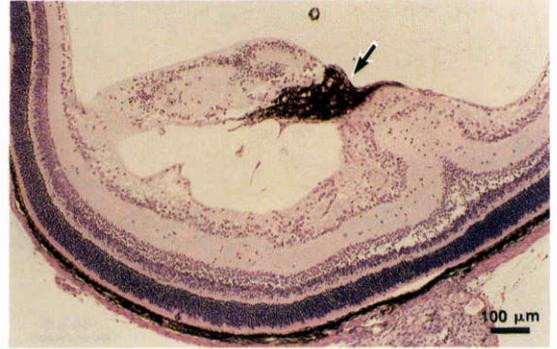


図53 Ochratoxin A 胎生 7 日投与で成立した C57 BL/6NJcl マウス生後 2 週目の硝子体形成異常。網膜壁形成がみられ、その頂上部に黒色組織塊(矢印)が癒着している。連続切片で観察すると、網膜は鎌状襞を形成していた。HE 染色, $\times 50$ 。

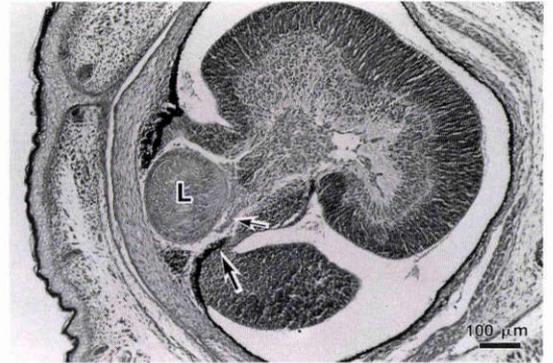


図54 Ochratoxin A 胎生 7 日投与で成立した C57 BL/6NJcl マウス胎生18日の眼杯前縁部の過剰増生。上方の眼杯前縁部に圧迫されて水晶体(L)は下方へ偏位し、眼杯軸は下転している。下方の眼杯前縁部と硝子体中の間葉組織の間に線維血管性吻合(小矢印)がみられ、その吻合に沿って眼杯前縁部(大矢印)が硝子体中へ向かって過剰に増生している。HE 染色, $\times 50$ 。

生裂閉鎖直後の胎生13日には、下方の眼杯前縁部が水晶体に沿って赤道部から後極部に向かって伸展している所見(図56)もえられた。

v) 視神経乳頭部の陥凹: 乳頭部に胎生裂閉鎖不全があっても、胎生期には陥凹はほとんどみられない(図57)が、生後になると乳頭部に陥凹が生じ、陥凹内へ網膜が陥入している所見(図58)が多数観察された。

2. Elo マウスの硝子体形成異常

今回の検索でも、胎生期には硝子体中に過剰な間葉

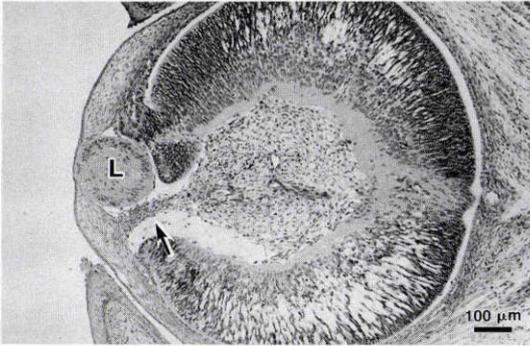


図55 Ochratoxin A 胎生 7 日投与で成立した Jcl: ICR マウス胎生16日の硝子体形成異常。小さな水晶体(L)が、上方の眼杯前縁部により圧迫されるように角膜に接着し、下方の眼杯前縁部から硝子体中にかけて間葉組織が連続的に移行し、線維血管性物合(矢印)を形成している。硝子体中の間葉組織は眼杯内板と広範に癒着している。HE 染色, ×50。

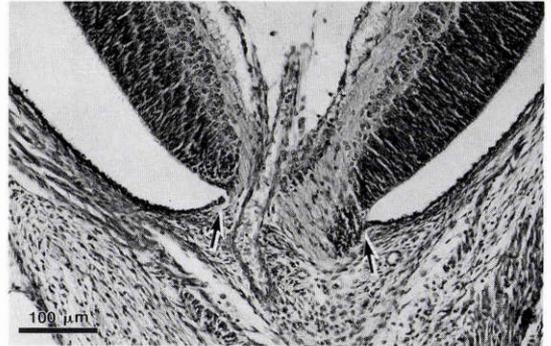


図57 Ochratoxin A 胎生 7 日投与で成立した Jcl: ICR マウス胎生18日の視神経乳頭部形成異常。乳頭部の胎生裂閉鎖不全のため、乳頭縁で眼杯内板が外反して視神経入口部(矢印)が拡大しているが、陥凹はみられない。HE 染色, ×100。

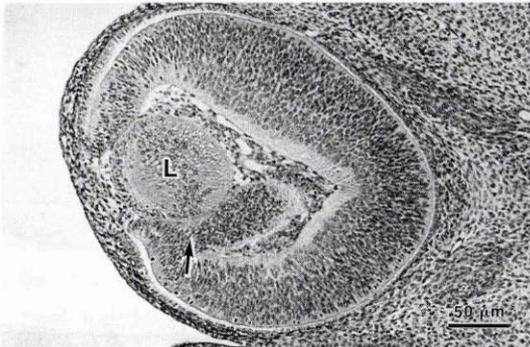


図56 Ochratoxin A 胎生 7 日投与で成立した Jcl: ICR マウス胎生13日の所見。下方の胎生裂部に一致する部位から、眼杯前縁部(矢印)が水晶体(L)に沿って硝子体中へ増生している。HE 染色, ×160。

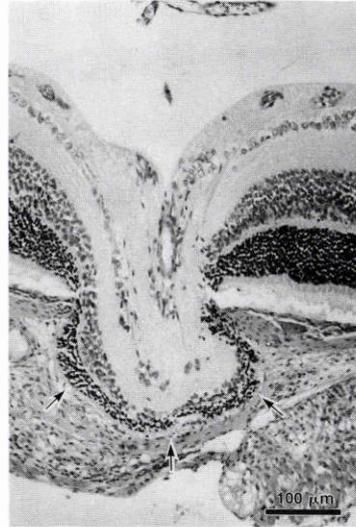


図58 Ochratoxin A 胎生 7 日投与で成立した Jcl: ICR マウス生後 2 週の視神経乳頭部形成異常。乳頭部が陥凹し、そこへ網膜(矢印)が陥入している。HE 染色, ×100。

組織などは認められなかった(図59)。しかし、生後 5 日頃から硝子体動脈が拡張しはじめ、変性、崩壊して硝子体中に脱出した水晶体線維組織塊に間葉細胞が侵入する所見がみられるようになる(図60)。その後、硝子体中の間葉細胞成分が次第に増加し、変性、崩壊した水晶体の赤道部付近に毛様突起が伸展・延長し、そこから間葉組織が水晶体内へ侵入している像(図61、図62)が観察され、生後40日頃には第一次硝子体過形成遺残に類似した所見(図63)を呈するようになった。

3. ヒトの眼先天異常

1) 13トリソミー症候群の眼異常所見

i) 症例 1: 胎生22週の死産児。両眼とも小眼球で、左眼(図64)は極度に小さく眼軸が下転していた。両眼とも前眼部の形成が不良で、一部に軟骨組織がみられた。水晶体は小さく、左眼(図65)では痕跡組織が認められるのみであった。両眼とも前眼部から硝子体中にかけて線維血管性組織が連続的に増生して、硝子体腔を充満していた。この組織は網膜と癒着し、網膜には多数の褶曲やロゼット形成が観察された。両眼の

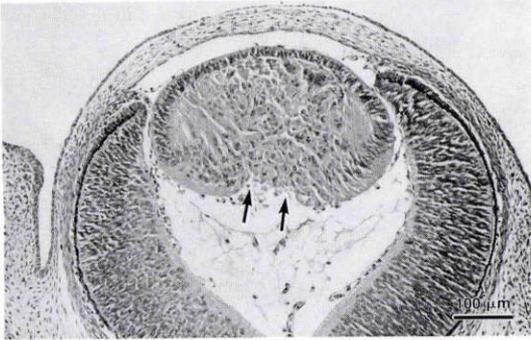


図59 優性小眼症 (Eye lens obsolescence, *Elo*) マウス胎生14日, 水晶体線維細胞が変性崩壊した後囊(矢印)が破綻しているが, 硝子体中には間葉組織塊などは存在しない, HE 染色, ×80.



図62 図61の拡大像, 変性崩壊した水晶体の中へ, 線維血管性組織(矢印)が侵入している, HE 染色, ×100.

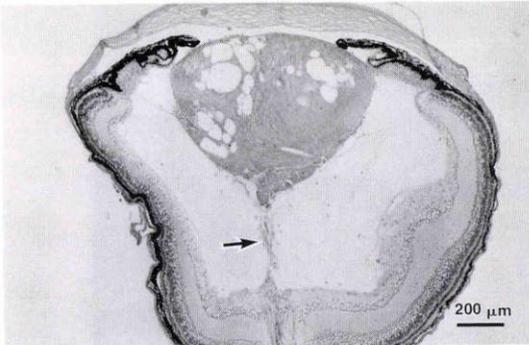


図60 *Elo* マウス生後5日, 硝子体中に突出した水晶体線維に対して間葉組織が増生し, 硝子体動脈(矢印)が拡張してきている, HE 染色, ×32.

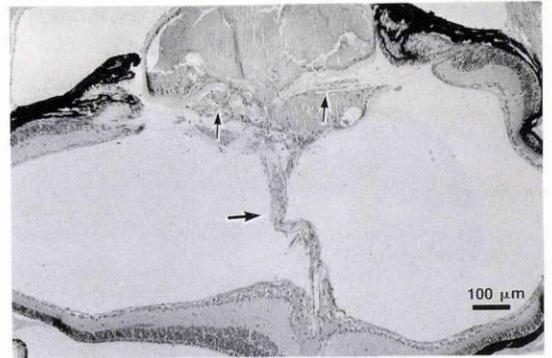


図63 *Elo* マウス生後40日, 硝子体動脈(大矢印)が拡張し, 水晶体内に線維血管性組織(小矢印)が侵入・増生している. ヒトの第一次硝子体過形成遺残(PHPV) 類似の像を呈している, HE 染色, ×50.

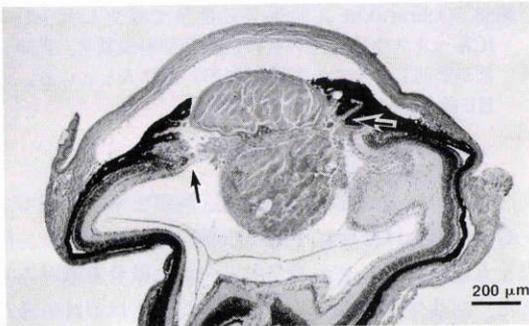


図61 *Elo* マウス生後35日, 毛様突起(矢印)が変性崩壊した水晶体赤道部付近に伸展している, HE 染色, ×32.



図64 胎生22週の13トリソミー症候群の左眼球剖面, 極度の小眼球で, 角膜, 水晶体などは外形的に不明である.

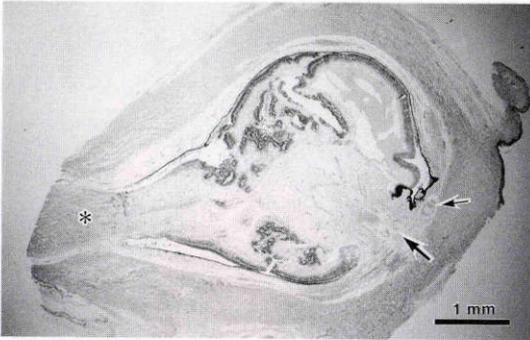


図65 胎生22週の13トリソミー症候群の左眼。前眼部は、形成が不良で下方に偏位し、水晶体の痕跡組織(小矢印)が認められる。線維血管性組織が前眼部から硝子体中にかけて連続的に増生して硝子体腔を充填し、網膜と癒着している。網膜は多数の襞やロゼットを形成している。眼球の大きさに比して太くなった視神経(*)がみられる。HE染色, ×10。

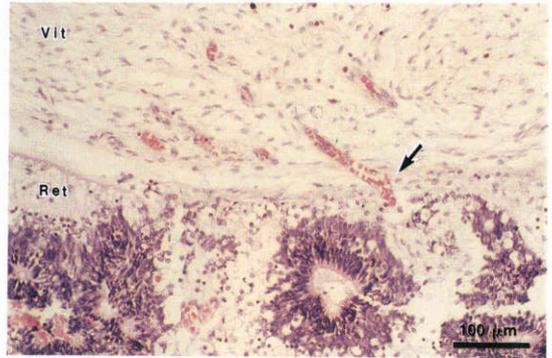


図67 胎生22週の13トリソミー症候群の左眼。内境界膜の認められない部位で網膜(Ret)と硝子体(Vit)が癒着し、一部には硝子体から網膜内への血管侵入像(矢印)がみられる。HE染色, ×100。

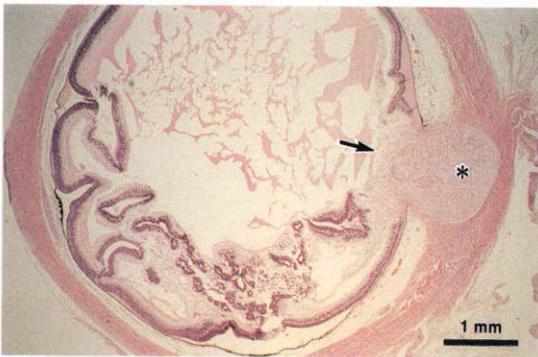


図66 胎生22週の13トリソミー症候群の右眼。網膜は多数の襞を形成している。視神経(*)は異常に太く、乳頭上には塊状となった視神経線維(矢印)が存在する。HE染色, ×10。

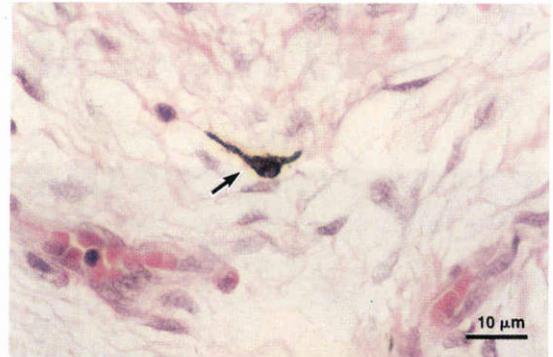


図68 胎生22週の13トリソミー症候群の左眼。硝子体中の線維血管性組織塊の中に、メラニン細胞(矢印)が認められる。HE染色, ×800。

視神経は眼球の大きさに比して異常に太く、右眼(図66)では乳頭上に塊状となった視神経線維が存在していた。網膜と硝子体の癒着部には内境界膜が存在せず、赤道部付近で硝子体から網膜内への血管侵入像(図67)がみられた。また、硝子体中の線維血管性組織内にメラニン細胞と思われる色素保有細胞が検出された(図68)。

ii) 症例 2⁴⁰⁾: 胎生30週の死産児。右眼(図69)では、水晶体下方の赤道部に向かって網膜組織が異所性に増生し、一部に鋸状縁様の構造がみられた。そこから先端部は2層の上皮細胞からなり、水晶体後極に伸展し

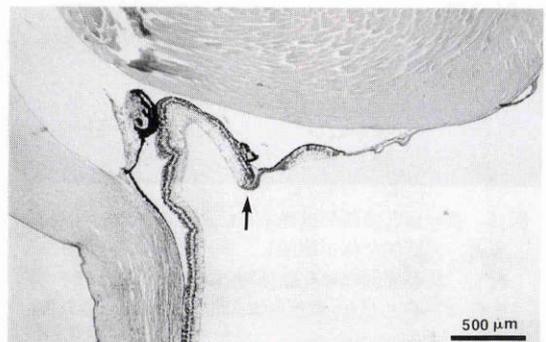


図69 胎生30週の13トリソミー症候群の右眼。下方の水晶体赤道部に沿って網膜が増生し、一部に鋸状縁様の構造(矢印)がみられる。そこから先端部は2層の上皮細胞からなり、水晶体後極に伸展している。HE染色, ×20。

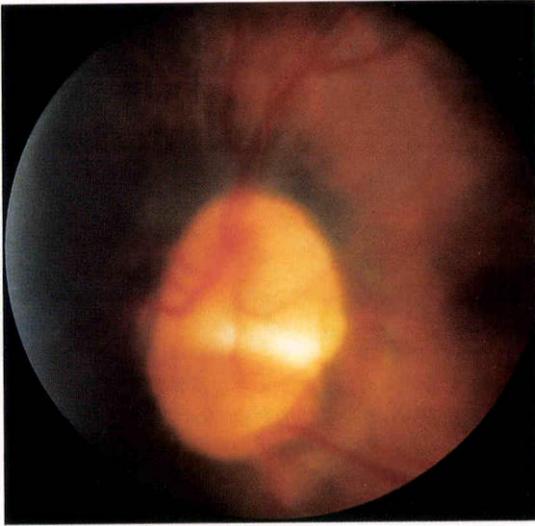


図70 視神経乳頭部形成異常の症例1の左眼、生後1カ月で、左眼乳頭部は拡大して下半分には陥凹がみられ、視神経乳頭欠損と診断した。黄斑部は、正常の位置に認められる。

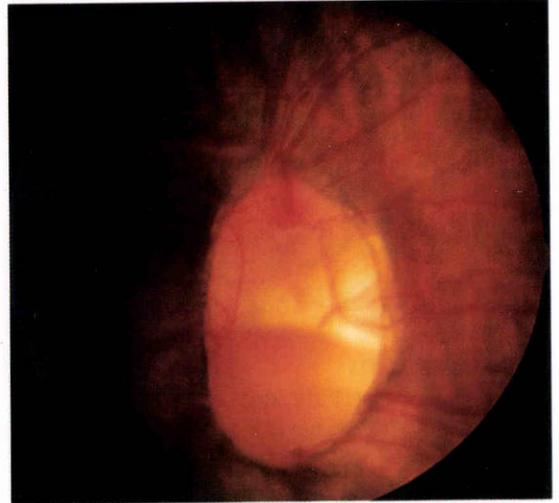


図72 視神経乳頭部形成異常の症例2の左眼、生後1カ月で、視神経乳頭欠損と診断した。

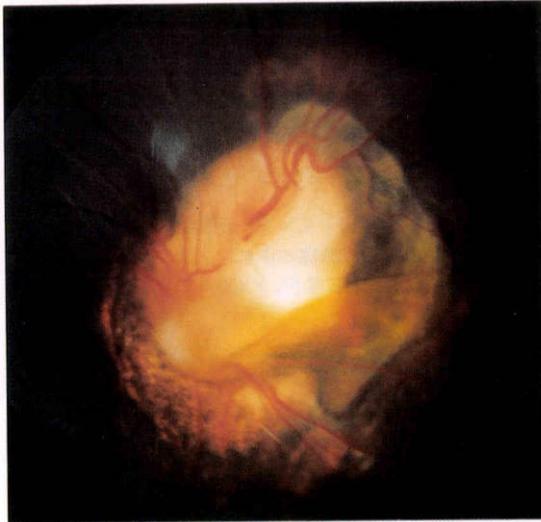


図71 視神経乳頭部形成異常の症例1の左眼、生後12カ月。乳頭部全体が陥凹し、網膜血管は直線的に走行し、乳頭周囲には網脈絡膜萎縮巣がみられる。黄斑部は不明となり、黄色色素が陥凹内に認められる。

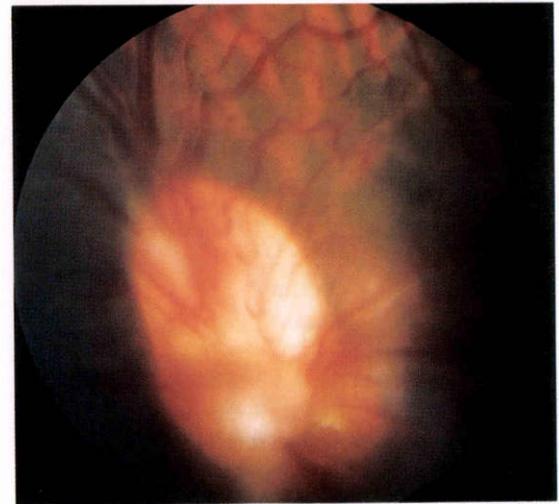


図73 視神経乳頭部形成異常の症例2の左眼、生後12カ月で、乳頭部は陥凹し、網膜血管の走行異常がみられる。

ていた。角膜水晶体癒着や角膜内皮・実質の部分的欠損、下方の隅角や虹彩・毛様体の形成不全も合併していた。左眼には異常はなかった。

2) 視神経乳頭部形成異常例

i) 症例1：在胎40週、出生体重2,210gの女児。低出生体重児のため、生後1カ月に眼底検査を受け、右眼脈絡膜欠損、左眼重複乳頭を指摘され、名古屋市立大学病院眼科へ紹介された。初診時(生後1カ月)、右眼の視神経乳頭下方に約1/3乳頭径大の脈絡膜欠損があり、左眼では乳頭欠損のため乳頭径が約2倍に拡大しており(図70)、両眼とも胎生裂閉鎖不全による定型的コロボーマと診断した。この時点で、両眼とも黄斑部

は検眼鏡的に異常はなかった。生後7カ月の再診時、左眼では乳頭部全体が陥凹し、網膜が扁平に剝離しているのが発見され、黄斑部は不明で黄色色素が乳頭陥凹部内に認められた。その後、乳頭部の陥凹がさらに進行し、網膜血管は直線的に走行するようになり、網膜剝離は次第に消失して乳頭周囲に網脈絡膜萎縮巣が出現してきた(図71)。経過観察中、右眼には著変はなく、両眼とも高眼圧は明らかでなかった。

ii) 症例2：在胎38週1日、出生体重3,336gの女児。多発奇形があるため、小児科から精査を依頼され、生後23日に名古屋市立大学病院眼科を受診した。両眼とも軽度の瞳孔膜遺残があり、視神経乳頭欠損がみられた。左眼の乳頭径は約2倍に拡大し(図72)、中心小窩は不明瞭であった。右眼黄斑部には異常はなかった。経過観察していたところ、生後2カ月頃から左眼に扁平な網膜剝離が出現し、乳頭部が陥凹してきた。その後、左眼網膜剝離は消失してきたが乳頭部の陥凹が進行し、生後7カ月ごろには、網膜血管の走行異常、乳頭周囲網脈絡膜萎縮巣が出現し、黄色色素が乳頭陥凹部の耳側に認められるようになった(図73)。この症例では、全身的に大血管転移症、動脈管開存、後鼻孔閉鎖、精神発達遅滞、CT上脳萎縮像、耳介変形を合併していた。このため、coloboma:C, heart disease:H, atresia choanae:A, retarded growth and retarded development and/or CNS anomalies:R, genital hypoplasia:G, ear anomalies and/or deafness:Eの各異常の頭文字をとった症候群として知られるCHARGE association⁴¹⁾と診断された。

IV 考 按

1. 眼先天異常の成立臨界期

ある催奇形因子が作用して、特定の先天異常が成立する可能性のある発生段階、すなわち胎齢の範囲を、その先天異常についての臨界期あるいは感受期という⁴²⁾。眼先天異常の成立臨界期については、ヒトでサリドマイド⁴³⁾や風疹⁴⁴⁾がよく知られている。実験奇形学的にも、マウスでX線による小眼球や白内障などの臨界期に関する研究¹⁷⁾⁴⁵⁾⁴⁶⁾があるが、その他の形成異常についてはほとんど検討されていない。

Ochratoxin Aは、*Aspergillus ochraceus*, *Penicillium viridicatum*などのカビにより産生される毒素⁴⁷⁾で、催奇形作用の機序については不明であるが、さまざまな動物に強い催奇形性を有している^{48)~50)}。

本研究では、Jcl:ICRマウスの妊娠7日から11日の

いずれかの日に、母獣の腹腔内に ochratoxin A を投与し、胎生16日胎仔の眼部を組織学的に検索して、臨界期の検討を行った。マウスとヒトでは胎生期間が異なり比較は困難であるが、ochratoxin A が投与されたマウスの胎生7日から11日はヒトの胎生2.5週から胎生6週、観察日のマウス胎生16日はヒトの胎生16週に相当する¹⁰⁾⁵¹⁾。Ochratoxin A は、妊娠7日に5mg/kg投与すると胎仔死亡率が高くなりすぎ、3mg/kgが胎仔死亡率、奇形発生率ともに眼形成異常の検討に適切な量であること²⁵⁾と、妊娠8日以後に3mg/kg投与しても催奇形率が低すぎるために、妊娠7日には3mg/kg、妊娠8日以後には5mg/kgを投与した。

無眼球からさまざまな程度の小眼球が観察されたが、眼窩以外に存在する小眼球は将来退行変性に陥り、いわゆる臨床的無眼球⁹⁾になると考えられる。また、無水晶体眼は、すべて小眼球にみられた。マウスでは、眼胞や水晶体板は胎生9日に発生し、両者が相互に作用をおよぼすことにより眼杯や水晶体へと分化・発育して行く¹⁰⁾⁴⁵⁾⁵²⁾。これら原基の発生が障害されると、組織相互作用に歪が生じ、無眼球から小眼球・無水晶体眼などの一連の異常が成立することになる³⁾⁴⁾¹⁰⁾。今回の実験で、原基の形成障害に基づく無眼球・小眼球・無水晶体眼が胎生9日以後の ochratoxin A 投与では成立しなかったことから、これらの成立臨界期は胎生8日以前であることが明らかになった。馬嶋⁵³⁾は、小眼球の成立を発生機序から、1. 眼胞形成障害によるもの、2. 水晶体起因性のもの、3. 硝子体起因性のもの、4. 胎生裂閉鎖不全によるもの、5. 眼杯発育障害によるもの、6. その他と分類した。本実験で成立した小眼球は、1および2に該当する。このように、小眼球はさまざまな成因而より成立するため、今回の結果を全てに当てはめることはできず、その成立臨界期は成因ごとに異なる点に注意しなければならない。

前房隅角形成異常は胎生10日投与まで成立していたが、胎生9日以後の投与では程度が軽かった。水晶体胞分離不全は、胎生10日以後の投与では成立しなかった。既報²²⁾のX線を胎生11日に照射した実験では水晶体胞分離不全は発生しなかったもので、その成立臨界期は胎生10日以前と推定したが、今回の結果から、マウスにおける水晶体胞分離不全の成立臨界期は胎生9日以前であることが明らかになった。これは、ヒトの胎生4週に相当する時期である¹⁰⁾⁵¹⁾。硝子体形成異常は、全投与期間を通じて成立したが、胎生9日以後の投与では頻度が激減し、胎生10日以後では程度も軽かった。

表8 前眼部を構成する組織の発生源

表面外胚葉 surface ectoderm	→	角膜上皮 水晶体
神経堤 neural crest	→	角膜内皮 角膜実質 隅角線維柱帯 虹彩実質 毛様体実質 強膜

硝子体中に存在する間葉組織の量から考えて、胎生9日以前の投与では硝子体原基そのものが過形成となっているのに対して、胎生10日以後の投与では本来退縮していく硝子体中の間葉組織成分、すなわち第一次硝子体が退縮せずに遺残しているものと解釈する。このように、前房隅角形成異常、水晶体胞分離不全、硝子体形成異常の成立臨界期はマウスの胎生9日ごろまでに限定され、これら三者の異常には共通の臨界期が存在すると思われる。

角膜上皮と水晶体胞は表面外胚葉由来で、角膜内皮・実質は遊走してきた神経堤細胞 neural crest cell により形成される。また、虹彩や毛様体実質、隅角線維柱帯、強膜などを形成する間葉組織も、神経堤由来とされている^{54)~58)}(表8)。マウスでは、間葉細胞が胎生9日に眼胞周囲に認められるようになる¹⁰⁾⁵²⁾が、この発生段階で頭部にみられる間葉細胞は神経堤細胞である⁵⁹⁾。従って、神経堤細胞は胎生9日に眼胞周囲に到達し、胎生10日から11日にかけて表面外胚葉と水晶体胞の分離につれて両者の間に侵入して角膜内皮、ついで角膜実質を形成する。胎生12日には水晶体胞が表面外胚葉から完全に分離し、胎生13日には角膜上皮・実質・内皮が明瞭に区別されるようになる。さらに、眼杯前縁部の神経堤細胞が中胚葉由来の組織との相互作用により分化・発育して、瞳孔膜、虹彩実質、隅角線維柱帯などを形成し、前眼部が三次元的に増大するにつれて前房が発生してくる⁵⁾⁵²⁾。従来、硝子体の発生に関与している間葉細胞の由来については不明とされていたが、眼杯前縁部と硝子体中の間葉組織は連続的に移行しており、後述するように硝子体形成異常の発生には神経堤細胞が関与していると推定できる。

以上のように、前房隅角形成異常、水晶体胞分離不全、硝子体形成異常にはいずれも神経堤細胞が関与しており、神経堤細胞が眼胞周囲に遊走してくるマウス胎生9日以前の障害により好発していることから、こ

れら三者の成立臨界期は神経堤細胞の遊走時期と関連していると結論する。勿論、これらの異常は単独でも発生するが、併発する場合には神経堤細胞がより早期に障害されたり、神経堤細胞と関連した組織相互作用に歪が生じていることなどが考えられる。

胎生裂閉鎖不全は、胎生7日と8日の投与で多数みられ、他のいろいろな形成異常と合併していた。胎生9日以後の投与でも少数に観察されたが、程度は軽かった。X線をマウスの胎生11日に照射した実験²²⁾でも、程度の軽い胎生裂閉鎖不全が成立した。マウスでは胎生12日に胎生裂の閉鎖が完了⁴⁵⁾⁵²⁾⁶⁰⁾⁶¹⁾するため、閉鎖不全は胎生12日まで成立する可能性があるが、本研究によりマウスでは胎生8日以前の障害で好発することが明らかとなった。

このように、胎生裂閉鎖不全は胎生8日以前の障害で好発するが、これは無眼球、小眼球、無水晶体眼の成立臨界期に当たり、当然これら三者の成立と密接に関連している³⁾⁴⁾。また、前房隅角形成異常、水晶体胞分離不全、硝子体形成異常の好発時期とも一致し、後述するようにこれらの成立にも胎生裂閉鎖不全が関与していることを示している。今回は有色のC57BL/6NJclマウスも用いたが、胎仔および出生仔の外形観察で虹彩欠損の診断が容易であり、胎生裂閉鎖不全の研究に有用であることが示された。

異所性視神経線維も胎生7日および8日の投与で多くみられ、胎生裂閉鎖不全や視神経無形成と関連していた²⁴⁾²⁶⁾。

網膜ロゼット形成は、胎生8日以後の投与で観察され、胎生9日以後に好発していた。網膜異形成は、形成段階にある網膜の正常組織発生が障害された結果としてみられる非特異的病変であり、ロゼット形成が特徴的な所見である。今回観察されたロゼットは、中央に境界膜があり、周囲を一層の細胞が取り囲んでいた。これは、Lahavら⁶²⁾の分類の一層ロゼットに相当する。網膜ロゼットが胎生7日投与でみられず、胎生9日以後の投与で高頻度であったのは、ロゼットは修復過程で観察される所見のため、胎生7日投与では胎生16日までにすでに修復されており、胎生9日以後の投与では胎生16日にまだ修復過程にあるためと考えることもできる。しかし、diphenylhydantoinをJcl:ICRマウス胎生7日に投与して胎生18日に胎仔を検索したところ、他の異常に比して網膜ロゼットが高頻度に成立しており³⁰⁾、網膜ロゼット形成には作因特異性が関与している可能性がある。

以上のように、マウスにおけるさまざまな眼形成異常の成立臨界期を明らかにすることができた。この結果を直接ヒトに当てはめるのには多くの制約¹⁰⁾⁴²⁾があるが、臨床的に眼先天異常を取り扱う上で、臨界期に関する基礎的なデータを示すことができたと思われ、また、眼形成異常が好発したマウス胎生7~9日は、ヒトの胎生2.5~4週に相当し、妊娠に気づかないことも多い時期であるから、临床上注意しなければならない。

2. 前房隅角形成異常

隅角組織の発生に関して、胎生早期には角膜内皮細胞に連続する膜様構造物が線維柱帯の前面を覆うように存在し、胎生末期になってこの膜様物に間隙ができたり、退縮することにより線維柱帯が形成されるとする説^{5)58)63)~67)}がある。しかし、McMenamin⁶⁸⁾⁶⁹⁾は、ヒト胎児の隅角部を透過および走査電子顕微鏡で観察して、胎生12~14週に角膜内皮細胞は隅角底まで広がっているが隅角底の細胞には間隙が存在し、胎生18~20週までに線維柱帯内皮細胞層の間隙の数や大きさが増大すると述べ、角膜内皮細胞に連続した膜様構造物の存在を否定している。今回のマウス胎生16日の走査電子顕微鏡による観察でも、線維柱帯を覆い隠すような膜状構造物は認められず、隅角底の細胞には無数の細胞間隙が存在し、網目状の三次元的構築がみられたことから、すでに線維柱帯が発生していると考えられる。マウス胎生16日はヒトの胎生16週に相当する⁵¹⁾ので、今回の結果はMcMenaminの所見に一致し、マウスでも膜様構造物の存在は否定できた。今後、隅角部の発生や先天緑内障の成因を形態学的に研究する場合には、このような三次元的な検索が重要となる。

Ochratoxin Aにより虹彩索状物や角膜内皮の形成異常などが多数成立したが、これらの異常は、臨床的にみられるAxenfeld-Rieger症候群⁷⁰⁾やPeters奇形⁷¹⁾の一例に相当する。今回走査電子顕微鏡を用いることにより、日常臨床での細隙灯顕微鏡や隅角鏡所見に類似した三次元的な像をとらえることができ、その上、高倍率での観察が可能となった。角膜内皮に線維柱帯に類似する三次元的な網目構造をした細胞間隙がみられたが、このような異常があれば、房水が角膜実質内に侵入して強い浮腫・混濁をきたすことになる。临床上、Axenfeld-Rieger症候群やPeters奇形で経過と共に角膜混濁が減少することがある⁷²⁾が、このような細胞間隙が次第に修復されることにより角膜の透明性が增加することも考えられる。

今回観察された胎生11日に前眼部を形成する神経堤細胞由来の間葉細胞の過剰侵入像と、胎生13日に角膜内皮や実質を形成する間葉細胞が過剰なため、両者の区別が不能となっている所見から、虹彩索状物の成立機序は、瞳孔膜の形成に関与する血管内皮細胞が、過剰な神経堤細胞により侵入を阻害され、水晶体表面ではなく角膜内皮の方向へ伸展し、分化異常により生じた角膜内皮細胞の細胞間隙に付着することにより発生すると考える。このように、発生早期に神経堤細胞が過剰に侵入すると、組織相互作用にさまざまな歪が生じ、神経堤細胞のその後の分化・発育が障害されて角膜内皮や実質、隅角線維柱帯、虹彩実質などの異常や虹彩索状物が発生し、Axenfeld-Rieger症候群やPeters奇形、先天緑内障などが成立する。すなわち、これらの異常は、神経堤細胞の遊走不全に基づいて発生すると考えられている⁵⁵⁾⁷⁰⁾⁷²⁾⁷³⁾が、実験奇形学的にもこの説を支持する結果がえられた。

3. 水晶体胞分離不全

水晶体胞分離不全は、マウスで遺伝的³⁵⁾⁷⁴⁾⁷⁵⁾に、あるいはさまざまな外因^{21)22)24)27)31)36)~39)}により成立する。水晶体胞分離不全があると、角膜内皮や実質を形成する神経堤細胞の遊走が水晶体茎で阻止され、角膜中央部に内皮や実質の欠損を生じ、Peters奇形に相当する形成異常が発生する²⁷⁾³⁷⁾⁷⁵⁾。さらに、虹彩実質や瞳孔膜、隅角線維柱帯などを形成する神経堤細胞の障害程度に応じて、多彩な前眼部の形成異常が成立する²⁷⁾³⁷⁾³⁸⁾。

水晶体胞分離の機序は、さまざまな角度から研究されている^{13)39)76)~78)}ので、これらをもとに考察する。発生初期には、表面外胚葉の基底膜と眼胞を形成する神経上皮細胞の基底膜はお互いに向き合っているが、これらの基底膜が産生する細胞外基質に誘導されて神経堤細胞が両者の間に遊走してくる。水晶体胞や眼杯の形成とともに、神経堤細胞がなんらかの遺伝的情報を水晶体茎の細胞に伝えるか、分離を促す誘導物質を産生して水晶体胞の分離が進行する。その際、細胞死が起こるため、貪食細胞の作用が必要となる。水晶体茎が消失すると、眼杯前縁部から中央部へ向かって遊走してきた神経堤細胞はお互いに接触可能となり、神経堤細胞同士の接着によりその遊走がコントロールされ、前眼部の発生が進行する。このような機序が、時間的にも空間的にも調和のとれた過程で進行することにより、水晶体胞の分離が完成する。

今回の観察で、水晶体胞分離不全と胎生裂閉鎖不全、

硝子体形成異常の関連性を検討したところ、これらは高率に合併していた。胎生裂閉鎖不全は、眼杯を形成する神経上皮細胞の異常により成立する²⁾。従って、胎生裂閉鎖不全を生じるような神経上皮細胞の基底膜が産生する細胞外基質も異常となり、神経堤細胞の誘導が障害され遊走不全が生じたり、表面外胚葉と神経上皮細胞の相互作用にも歪が起るため、分離不全が発生し易くなる。水晶体胞分離不全があると、遺残した水晶体茎により中央部へ遊走してきた神経堤細胞同士との接着が阻害される。このため、遊走のコントロールが障害され、神経堤細胞が過剰に侵入して前房隅角形成異常を生じ、さらに水晶体に沿って硝子体中まで侵入すれば、硝子体形成異常を引き起こすことになる。また、神経堤細胞の遊走時期と表面外胚葉や神経上皮細胞の分化速度の不調和や神経堤細胞自身に異常があれば、分離が障害される。このように、水晶体胞分離不全と前房隅角形成異常、胎生裂閉鎖不全、硝子体形成異常の間には発生学的に関連があり、表面外胚葉、眼杯および神経堤細胞の相互作用の異常により、これら一連の形成異常が成立する。今回の観察では、水晶体胞分離以前にすでに前眼部に神経堤細胞が過剰に侵入している所見をえたことから、ochratoxin Aによる水晶体胞分離不全の発生には、神経堤細胞が重要な役割を演じていると考察する。

4. 前眼部間葉異発生

前眼部の形成異常には数多くの種類があり、さまざまな名称で呼ばれてきたが、従来、後部胎生環、Axenfeld-Rieger 症候群、Peters 奇形、後部円錐角膜、虹彩隅角異発生などを総称して「前房分割症候群 anterior chamber cleavage syndrome」⁷⁹⁾が使用されてきた。しかし、前房は分割 cleavage により発生するのではないこと⁵⁾⁶⁵⁾⁷⁰⁾と、角膜内皮や実質、虹彩・毛様体実質、隅角線維柱帯などを形成する間葉組織は中胚葉由来ではなく神経堤細胞から発生することが明らかになるにつれて、前房分割症候群という用語は発生学的に正しくなく、「前眼部間葉異発生 mesenchymal dysgenesis of the ocular anterior segment」という用語⁸⁰⁾が提唱された。異発生 dysgenesis とは、発生病理学的に「器官原基の発生が不十分なために構成組織成分が不均等に発達したもの」と定義される⁸¹⁾。これらの前房隅角形成異常は、前述したように前眼部を取り巻く各組織の器官原基を形成する神経堤細胞の異常により発生するので、実験奇形学的にもこの用語が適切と考える。

5. 硝子体形成異常

さまざまな程度の硝子体形成異常が成立したが、これらは臨床的な第一次硝子体過形成遺残 persistent hyperplastic primary vitreous (PHPV) に相当する²⁴⁾。

キメラ実験や放射性同位元素を用いた研究⁵⁴⁾⁵⁶⁾により、眼杯前縁部の間葉細胞は神経堤細胞由来であることが明らかにされているが、硝子体の発生に神経堤細胞が関与しているかどうかや硝子体中の間葉細胞の起源については不明のままであった。これは、硝子体の正常発生には神経堤細胞が関与していないか、関与していても少量の神経堤細胞しか硝子体中に侵入しないため、証明されなかったのかもしれない。一方、Cook は、C57Bl/6J マウスの自然発生³⁵⁾や、エタノール³⁶⁾による硝子体形成異常を検索して、硝子体中に色素を含んだ組織塊が存在することを記載し、Boevéら⁸²⁾は、遺伝的に発生する Doberman pinscher の硝子体形成異常で、硝子体中の組織塊の中にメラニン細胞の存在を報告しているが、両者ともその起源について詳細には検討していない。

Ochratoxin A で成立した硝子体形成異常では、胎生早期に眼杯前縁部の間葉組織と硝子体中の間葉組織との連続的な移行像が観察された。これは、前述したように神経堤細胞の遊走のコントロールが障害され、眼杯前部に過剰に遊走した神経堤細胞が硝子体中まで連続的に侵入している所見と考えられ、硝子体中の間葉細胞は神経堤細胞の可能性が高いといえる。また、胎生裂を介して眼杯周囲と硝子体中の間葉組織が連続している像から、硝子体形成異常には胎生裂からの間葉細胞の過剰侵入も関与していると思われる。

C57BL/6NJcl マウスのぶどう膜メラニン細胞では、胎生17日から光学顕微鏡でメラニン色素が確認できるようになった。Ochratoxin A により成立した硝子体形成異常では、胎生16日には硝子体中の細胞に色素は認められなかったが、胎生18日には観察されるようになり、ぶどう膜メラニン細胞と硝子体中の色素保有細胞における色素出現時期はほぼ一致していた。また、硝子体中の色素保有細胞は、光学顕微鏡による観察ではぶどう膜のメラニン細胞と同一の構造をしており、貪食細胞ではなくメラニン細胞そのものと考えられる。メラニン細胞の起源は神経堤細胞であり⁵⁶⁾⁵⁷⁾、硝子体形成異常では器官形成期にすでに間葉細胞が過剰になっていることから、分化したメラニン細胞が硝子体中へ侵入したのではなく、硝子体原基の発生時期に硝

子体中に侵入した神経堤細胞がメラニン細胞へ分化したと考えるのが妥当である。このように、硝子体中にメラニン細胞が検出されたことから、硝子体形成異常は神経堤細胞が硝子体中へ過剰に侵入することにより成立することが明らかとなった。

従来の実験では、アルビノの ddN マウス²¹⁾²²⁾²⁴⁾や Jcl:ICR マウス²⁵⁾²⁷⁾²⁸⁾を用いていたために、硝子体中にメラニン細胞が存在しても発見できなかったが、今後、ヒトを含めた有色動物における硝子体形成異常では、硝子体中の組織塊にメラニン細胞が存在するか十分検索する必要がある。

マウスでは、胎生13日になり水晶体嚢や内境界膜が形成されると、硝子体中の血管系以外の間葉細胞は水晶体や内板から分離する。しかし、硝子体形成異常では、硝子体中に過剰な間葉細胞が存在し、胎生13日になっても水晶体や内板から分離せず、接着したままの所見がみられた。水晶体は無血管組織で胎生期には硝子体血管により栄養されているが、硝子体形成異常では過剰な間葉組織が存在するためにこの栄養供給が障害され、形成される嚢が脆弱となり、眼球の発育につれて間葉組織に牽引されて PHPV でもみられる後嚢裂開が引き起こされる²⁸⁾³⁴⁾⁸³⁾。一方、この時期の内板も無血管⁸⁴⁾であるため、硝子体形成異常により過剰な間葉細胞が存在すると硝子体血管からの栄養供給が障害されて内境界膜の形成が障害されたり、間葉細胞と内板との分離が起きずに接着したままであればその部位の内境界膜は形成されないことになる。このようにして、内境界膜の形成が障害された部位に、網膜・硝子体癒着が発生する。その後の発育につれて、癒着部の網膜が牽引されることにより、PHPV でみられるような網膜鎌状襷が成立する³⁾。

マウス胎生14日には、網膜血管は発生しておらず眼杯内板は無血管である⁸⁴⁾。従って、ochratoxin A 投与で胎生14日以後にみられた硝子体血管の網膜内への侵入像は、網膜血管の硝子体中への増生でも、硝子体血管と網膜血管との吻合でもなく、硝子体血管が眼杯内板に侵入している像と解釈すべきである。

この侵入像は、内境界膜の欠損部にみられた。ラットにおける脳の血管新生は、マウスの胎生10日に相当する胎生11日に、神経管の神経上皮細胞の基底膜側から血管内皮細胞が侵入することにより始まる^{85)~88)}。頭部神経管と眼杯は連続しており、神経管神経上皮細胞の基底膜は内板の内境界膜に相当する。このため、脳と同様に硝子体血管が内板へ侵入する可能性はある

が、内板から分化する網膜の機能にとって硝子体側からの血管侵入が不都合なためか、その侵入が抑制されていると推定される。しかし、硝子体形成異常により内境界膜に欠損部があれば、そこから硝子体血管が侵入しうることが示された。

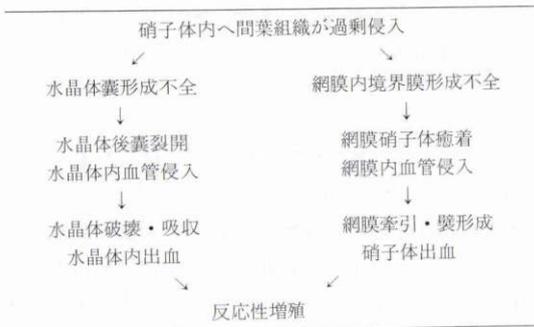
Elo マウスは自然突然変異により出現したもので、1969年、織田ら⁸⁹⁾により発見され、その遺伝子は第一染色体上に存在することが報告された。水晶体原基は一旦形成されるが、ホモ接合体では胎生12日から水晶体線維細胞に変性が現われ、発育とともに水晶体の崩壊が進み小眼球となることが解明されている⁹⁰⁾。現在では、 γ -crystallin との関連性⁹¹⁾で、遺伝子分析^{92)~94)}が行われてきている。我々も³²⁾、織田らから一対の *Elo* マウスを譲り受け飼育・交配して繁殖させ、胎仔および出生仔の眼球を組織学的に検索し、ヘテロ接合体では胎生13日から水晶体の変性像が出現し、生後の観察で PHPV に類似した所見がみられることを報告した。

今回、*Elo* マウスにおける硝子体形成異常について再検討した。前報と同様に、胎生期には硝子体間葉組織に異常はなく、生後になって硝子体動脈の拡張や変性・崩壊した水晶体周囲に線維血管性組織が存在するようになり、PHPV に類似した像が出現してきた。生後の過程の詳細な観察により、毛様体から水晶体赤道部に間葉組織が侵入している像は、毛様小帯に沿って線維血管性組織が反応性に増生している所見と考えた。このように、*Elo* マウスにおける硝子体形成異常は、変性・崩壊して硝子体中へ脱出した水晶体線維細胞に対して、硝子体血管や毛様体組織が反応して線維血管性増殖が引き起こされ成立すると結論する。

無脳症の血管増殖性網膜症は、胎生末期になって発育途上の網膜血管先端部から新生血管が硝子体中に増殖したものである⁹⁵⁾⁹⁶⁾。一方、家族性滲出性硝子体網膜症 familial exudative vitreoretinopathy (FEVR) は、胎生8カ月頃に網膜血管の発育が停止し、胎生末期あるいは生後になって網膜血管先端部から滲出機転が生じて増殖性変化が引き起こされ、さまざまな網膜硝子体異常が発生する疾患である⁹⁷⁾⁹⁸⁾。

Ochratoxin A により成立した硝子体形成異常は、前述したように器官形成期に眼杯前縁部から、あるいは胎生裂を介して硝子体中に間葉細胞が過剰に侵入することにより発生するもので、臨床的な PHPV に相当する。临床上、PHPV と FEVR との異同が論じられている^{97)~100)}が、PHPV と FEVR とは成因も発生時期も異なる全く別個な疾患である。

表9 原発性硝子体形成異常の成立機序



第一次硝子体過形成遺残にみられる、さまざまな合併異常の成立過程に相当する。

このように、硝子体形成異常はさまざまな成因により成立するので、臨床上也次のように、原発性と続発性とに分類して取り扱うのが適切と考える。

1) 原発性硝子体形成異常：硝子体原基の発生異常、すなわち異発生で、器官形成期（ヒト胎生3～10週）に硝子体中に神経堤細胞由来の間葉組織が過剰に侵入することにより発生するもので、臨床的な PHPV に相当する。

2) 続発性硝子体形成異常：硝子体原基の発生後、すなわち器官形成期以後の異常により反応性に線維血管性増殖が引き起こされるもので、Elo マウスのような水晶体起因性や無脳児の血管増殖性網膜症、FEVR のような網膜血管の増殖性変化に基づく網膜血管起因性の疾患などが含まれる。

ヒトでは在胎期間が長いので、原発性硝子体形成異常であっても在胎中に続発性的変化を引き起こし、多彩な臨床像をとるようになる。今回の観察結果を基にした原発性硝子体形成異常の成立機序を表9に示す。硝子体中に出血したり、水晶体後嚢裂開などにより水晶体線維細胞が硝子体中に脱出すれば、反応的に線維血管性増殖が引き起こされ、続発性硝子体形成異常にみられるのと同様な変化が加わる。そのような眼球を組織学的に観察しても、原発性か続発性かの判別が困難となる。その際、前述したように、原発性であれば硝子体中にメラニン細胞が存在する可能性があるため、メラニン細胞の有無を十分に検索することが重要である。もし、メラニン細胞が検出されれば、原発性硝子体形成異常、すなわち PHPV と診断できると考える。

6. ヒトの眼先天異常

13トリソミー症候群胎生22週の症例1では、赤道部付近に硝子体血管の網膜内への侵入像が観察された。この発生段階では、網膜血管はまだ乳頭周囲にしか発達しておらず¹⁰¹⁾、赤道部付近の網膜は無血管である。従って、この異常血管像はマウスで観察されたのと同様に、硝子体血管が内境界膜の欠損部から網膜内に侵入している所見と解釈される。また、硝子体中の間葉組織内に、色素保有細胞が検出されたが、これもマウスと同様、光学顕微鏡的にメラニン細胞と同定できる。従って、この症例における硝子体形成異常は原発性、すなわち、PHPV と診断される。従来報告でも、13トリソミー症候群の硝子体形成異常で、硝子体中にメラニン細胞が検出されたことと記載されている症例^{102)~104)}がある。大庭ら¹⁰⁵⁾も、硝子体形成異常で硝子体中にメラニン細胞の異所性増殖が起こると記述している。このように、マウスで確認された所見がヒトの胎児でも検出されたことから、ヒトの硝子体形成異常も神経堤細胞の過剰侵入により発生することが示され、実験奇形学的にヒトの硝子体形成異常の成立機序を証明できたと考える。さらに、この症例では眼球の大きさに比して過剰な視神経線維が認められた。視神経線維は網膜神経節細胞の軸索突起であるので、この所見は網膜神経節細胞自体の数が過剰になっていることを意味している。従って、同一眼に観察された網膜の褶曲像は、硝子体の牽引により生じたのではなく、網膜の過剰増生により形成されていると解釈できる。

13トリソミーの眼形成異常成立過程

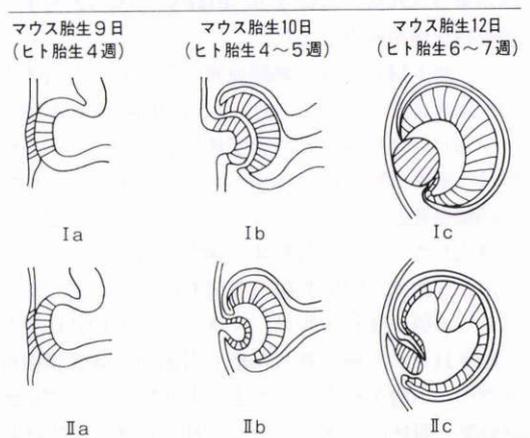


図74 眼杯前縁部の過剰増生により、多彩な形成異常が発生する。

症例2でも軽度ではあるが、下方の眼杯前縁部が過剰に増生していた。このことから、13トリソミーにおける眼杯の発生には、遺伝子量的効果¹⁰⁶⁾が働いている可能性が推定される。すなわち、13番染色体が1本多いため眼杯の発育をコントロールする遺伝情報が過剰となり、眼杯の発育速度が異常に早くなって組織相互作用に歪を生じ、13トリソミーにみられる多彩な眼形成異常¹⁰⁴⁾が発生すると考える。今回の2症例における眼形成異常の成立機序を図74に示す。眼杯の発育速度が異常に早くなれば、胎生裂部を除いて眼杯組織が過剰に増生し伸展する。その際、発育速度が比較的緩徐(図74, Ia~Ic)であれば、胎生裂部から水晶体後方に眼杯が伸展して症例2のようになり、発育速度が急速(図74, IIa~IIc)であれば眼杯が水晶体を下方に押しやり眼杯軸が下転して症例1のような異常が成立することになる。

視神経乳頭部形成異常では、2症例とも生後早期には視神経乳頭欠損の像を示していたが、次第に乳頭部に陥凹が生じ、その進行と共に網膜剝離、黄斑部偏位、網膜血管の直線的走行、乳頭周囲網脈絡膜萎縮巣などが出現し、生後6カ月以後に朝顔症候群あるいは乳頭周囲ぶどう腫様の所見を呈してきた。マウスで観察された同様の過程と比較検討して、その成立機序を考察する(表10)。脈絡膜原基は眼杯外板に誘導され発生し、強膜は脈絡膜原基との相互作用により眼杯周囲の神経

堤由来の間葉組織から発生する⁵⁾。乳頭部の胎生裂閉鎖不全によるコロボーマ、すなわち乳頭欠損例では、この組織相互作用に歪を生じ、乳頭周囲の強膜の発生が障害されて脆弱となり、眼内圧の影響や生後の眼球の発育につれて乳頭周囲の強膜が過剰に伸展され、乳頭部に陥凹が生じて朝顔症候群や乳頭周囲ぶどう腫が成立する。

臨床的に朝顔症候群や乳頭周囲ぶどう腫に併発する網膜剝離について、さまざまな機序が考えられている¹⁰⁷⁾。今回の観察で、乳頭部の陥凹が進行するにつれて陥凹底へ網膜が陥入することにより牽引性網膜剝離が発生するという、1つの機序が明らかになった。

朝顔症候群で乳頭部陥凹内に黄斑色素が認められることがあり、黄斑部自体の形成異常なのか、あるいは正常の位置で分化した黄斑部が陥凹部内に偏位したのか論議されている¹⁰⁸⁾¹⁰⁹⁾。今回の症例で、初診時正常の位置にあった黄斑部が、乳頭部の陥凹の進行とともに陥凹内へ偏位したことから、後者の説による症例の存在を確認することができた。

網膜が乳頭部陥凹内へ陥入すれば、網膜血管は牽引され直線的走行となり、陥凹部周囲の網脈絡膜は伸展され脈絡膜循環も障害されて萎縮に陥る。従って、網膜血管の直線的走行や乳頭周囲網脈絡膜萎縮巣は、網膜血管や網脈絡膜自体の発生異常ではなく、乳頭部の陥凹の進行につれて二次的に生ずる異常であることも、今回の経過観察から明らかにされた。

このように、先天異常であっても、生後の発育につれて多彩に変化することによりはじめて典型的な臨床像が完成したり、逆に発育と共に典型像を失うことがあるので、診断の上からも成立機序を解明するためにも、臨床例の注意深い経過観察が重要となる。

稿を終えるに当たり、宿題報告の機会を与えていただいた日本眼科学会評議員各位、総会長糸井素一名誉教授、種々適切な御指示を賜った座長中島 章名誉教授ならびに終始御指導・御校閲を賜った恩師馬嶋昭生教授に衷心より感謝の意を表します。実験奇形学的研究に有益な御助言を賜った名古屋大学環境医学研究所亀山義郎名誉教授、故星野清助教授ならびに織田銃一助手、出生前診断をはじめ種々の御教示をいただいた名古屋市立大学医学部産科・婦人科鈴木 薫助教授に深謝いたします。また、名古屋市立大学眼科学教室同窓会および愛知県眼科医会の御支援に謝意を表すとともに、共同研究者をはじめ名古屋市立大学眼科学教室員全員の協力に感謝いたします。

表10 視神経乳頭部形成異常の成立機序



視神経乳頭部の陥凹の進行とともに、さまざまな合併異常が発生する。

本研究の一部は、平成3年度日本医師会医学研究助成費の援助を受けたことを付記し、感謝の意を表します。

文 献

- 1) 谷村 孝：先天異常の成因と発達過程。岡本直正編，臨床人体発生学。先天異常の理解のために，東京，南江堂，115—150，1983。
- 2) Barber AN：Embryology of the Human Eye. St Louis, The C.V. Mosby Co., 13—63, 1955.
- 3) Mann I：Developmental Abnormalities of the Eye (2nd ed). London, British Medical Association, 1—98, 188—216, 1957.
- 4) Duke-Elder S：Congenital deformities, in Duke-Elder S (ed)：System of Ophthalmology, Vol III, Normal and Abnormal Development, Part 2. London, Henry Kimpton, 317—496, 1964.
- 5) Ozanics V, Jakobiec FA：Prenatal development of the eye and its adnexa, in Duane TO, Jaeger EA (ed)：Biomedical Foundation of Ophthalmology, Vol 1, Anatomy, Embryology and Teratology, Chap 2. Philadelphia, Harper & Row, 1—86, 1983.
- 6) 斉藤伊三雄，荻野誠周：X染色体伴性網膜色素変性症の遺伝子研究—現状と展望—。眼科 29：1217—1224, 1987。
- 7) 戸塚清一：網膜芽細胞腫と遺伝子。眼科 29：1225—1232, 1987。
- 8) 尾崎史恵子：白内障と遺伝子。眼科 29：1233—1239, 1987。
- 9) 山本修士，下村嘉一：眼科領域における Polymerase Chain Reaction 法の応用。臨眼 45：61—63, 1991。
- 10) 亀山義郎：眼球的発生異常。中島 章，秋吉正豊編：薬物と感覚障害。東京，ソフトサイエンス社，52—69, 1980。
- 11) Coulombre AJ：The eye, in DeHaan RL, Ursprung H (ed)：Organogenesis. New York, Plenum Press, 219—251, 1965.
- 12) Coulombre AJ, Coulombre JL：Abnormal organogenesis in the eye, in Wilson JG, Fraser FC (ed)：Handbook of Teratology, Vol 2, Mechanisms and Pathogenesis. New York, Plenum Press, 329—341, 1977.
- 13) Schook P：Cell action and cell interaction during ocular morphogenesis, in Duane TO, Jaeger EA (ed)：Biomedical Foundation of Ophthalmology, Vol 1, Anatomy, Embryology and Teratology, Chap 5. Philadelphia, Harper & Row, 1—21, 1983.
- 14) Wilson JG：Current status of teratology, in Wilson JG, Fraser FC (ed)：Handbook of Teratology, Vol 1, General Principles and Etiology. New York, Plenum Press, 47—74, 1977.
- 15) Fraser FC：Relation of animal studies to the problem in man, in Wilson JG, Fraser FC (ed)：Handbook of Teratology, Vol 1, General Principles and Etiology. New York, Plenum Press, 75—96, 1977.
- 16) 安田峰生：実験奇形学の最近の進歩。馬場一雄，高島敬忠編：小児科MOOK 11 先天異常。東京，金原出版，3—9, 1983。
- 17) Russell LB：X-ray induced developmental abnormalities in the mouse and their use in the analysis of embryological patterns. J Exp Zool 114：545—601, 1950.
- 18) Majima A：Eye-abnormalities in mice embryos caused by X-radiation of mothers. —On changes in the initial stage of development by irradiation on the 8th day of pregnancy—. Jpn J Ophthalmol 5：104—114, 1961.
- 19) 馬嶋昭生：X線放射による実験的眼異常形成の研究—ハツカネズミ胎子における眼異常の成立過程について—。日眼会誌 65：2091—2100, 1961。
- 20) 橋本 勝，白井正一郎，馬嶋昭生：Cyclophosphamide による実験的眼形成異常の研究。眼紀 27：42—47, 1976。
- 21) 橋本 勝：X線による眼形成異常に関する研究 (I)—150R 照射によるマウス胎子および出生後の眼異常の成立について—。眼紀 28：587—594, 1977。
- 22) 竹内 廣，橋本 勝，白井正一郎：X線による眼形成異常に関する実験的研究 II—200R 照射によるマウス胎子および出生後の眼異常の成立について—。日眼会誌 81：1180—1189, 1977。
- 23) Shirai S：Eye abnormalities in mouse fetuses caused by simultaneous irradiation of X-rays and ultrasound. 1. The effects of ultrasound on the teratogenicity of X-ray irradiation. Cong Anom 18：261—268, 1978.
- 24) Shirai S：Eye abnormalities in mouse fetuses caused by simultaneous irradiation of X-rays and ultrasound. 2. Developmental abnormalities of the eye. Cong Anom 18：269—279, 1978.
- 25) 白井正一郎，大鹿 智，湯口修次，他：Ochratoxin A による眼形成異常に関する研究 (I)。日眼会誌 88：627—634, 1984。
- 26) 大鹿 智，白井正一郎，湯口修次，他：Ochratoxin A による眼形成異常に関する研究 (II)—視神経無形成について—。眼紀 35：937—945, 1984。
- 27) 白井正一郎，大鹿 智，馬嶋昭生：Ochratoxin A による眼形成異常に関する研究 (III)—前眼部形成異常について—。日眼会誌 89：753—760, 1985。
- 28) 白井正一郎：Ochratoxin A によるマウス胎子の水晶体形成異常について。あたらしい眼科 2：

- 1731—1736, 1985.
- 29) 大鹿 智, 白井正一郎, 馬嶋昭生: Ochratoxin A による眼形成異常に関する研究(IV)—マウス胎仔の視神経乳頭部形成異常について—. 日眼会誌 92: 414—422, 1988.
- 30) 長坂 誠, 白井正一郎, 馬嶋昭生: Diphenylhydantoin による眼形成異常に関する研究(第1報). 眼紀 40: 2927—2931, 1989.
- 31) 森 宏明, 佐野雅洋, 白井正一郎, 他: 妊娠マウスへのエタノール投与による胎仔の眼形成異常. 眼紀 42: 1458—1463, 1991.
- 32) 湯口修次, 馬嶋昭生, 白井正一郎, 他: 優性小眼症マウス (Eye lens obsolescence, *Elo*) における水晶体・硝子体形成異常. 日眼会誌 89: 1104—1110, 1985.
- 33) Kobayashi H: Genetical and morphological studies on congenital cataract and microphthalmia (*Cts*) in mice. *Cong Anom* 20: 391—398, 1980.
- 34) 二村健一, 白井正一郎, 馬嶋昭生: *Cts* マウスにおよぼす ochratoxin A の影響 (II)—水晶体嚢形成異常の成立機序について—. 日眼会誌 92: 462—467, 1988.
- 35) Cook CS, Sulik KK: Sequential scanning electron microscopic analyses of normal and spontaneously occurring abnormal ocular development in C57B1/6J mice. *Scanning Electron Microsc* 3: 1215—1227, 1986.
- 36) Cook CS, Nowotny AZ, Sulik KK: Fetal alcohol syndrome. Eye malformations in a mouse model. *Arch Ophthalmol* 105: 1576—1581, 1987.
- 37) Cook CS, Sulik KK: Keratolenticular dysgenesis (Peters' anomaly) as a result of acute embryonic insult during gastrulation. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus* 25: 60—66, 1988.
- 38) Cook SC: Experimental models of anterior segment dysgenesis. *Ophthalmic Pediatr Genetics* 10: 33—46, 1989.
- 39) Cook CS, Sulik KK: Laminin and fibronectin in retinoid-induced keratolenticular dysgenesis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 31: 751—757, 1990.
- 40) 宇野 真, 佐野雅洋, 白井正一郎, 他: 13 トリソミーにみられた眼形成異常. 眼紀 42: 1991 (印刷中).
- 41) Pagon RA, Graham JM, Zonana J, et al: Coloboma, congenital heart disease, and choanal atresia with multiple anomalies: CHARGE association. *J Pediatr* 99: 223—227, 1981.
- 42) 谷村 孝: 環境因子によるヒトの奇形—とくに臨界期について—. 鈴木雅洲編: 産婦人科 MOOK 25 奇形—早期発見と出生後の対策—. 東京, 金原出版, 97—122, 1983.
- 43) Schardein JL (谷村 孝 訳): 薬の催奇形性とその評価. 東京, 講談社, 145—154, 1979.
- 44) Wolf SM: Rubella syndrome, in Darrell RW (ed): *Viral Disease of the Eye*, Philadelphia, Lea & Febiger, 199—207, 1985.
- 45) Rugh R: The Mouse. Its Reproduction and Development. Minneapolis, Burgess Publishing, 245—248, 303, 1968.
- 46) 村上氏廣: 先天異常成立の諸原則および基本問題. 村上氏廣, 馬場一雄, 鈴木雅洲編: 出生前の医学—先天異常の基礎と臨床—. 第2版, 東京, 医学書院, 12—24, 1976.
- 47) Hood RD: Effects of mycotoxins on development, in Persaud TVN (ed): *Advances in the Study of Birth Defects*. Vol 2. Lancaster, MTP Press, 191—210, 1979.
- 48) Hayes AW, Hood RD, Lee HL: Teratogenic effects of ochratoxin A in mice. *Teratology* 9: 93—98, 1974.
- 49) Arora RG, Frölen H: Interference of mycotoxins with prenatal development of the mouse: II. Ochratoxin A induced teratogenic effects in relation to the dose and stage of gestation. *Acta Vet Scand* 22: 535—552, 1981.
- 50) 林 和男, 亀山義郎: Ochratoxin A のマウスにおける催奇形性. 環研年報 32: 228—229, 1981.
- 51) 亀山義郎: 比較発生病理学よりみた中枢神経系の先天異常. 脳と発達 3: 449—459, 1971.
- 52) 白井正一郎: 眼の発生. 谷口慶晃, 猪俣 孟編: 眼科 MOOK 28 眼病理学. 東京, 金原出版, 1—17, 1986.
- 53) 馬嶋昭生: 小眼球. 中島 章, 猪俣 孟, 植村恭夫, 他編: 眼科診療 Questions & Answers, 遺伝. 東京, 六法出版社, 1042—1045, 1984.
- 54) Johnston MC, Noden DM, Hazelton RD, et al: Origins of avian ocular and periocular tissues. *Exp Eye Res* 29: 27—43, 1979.
- 55) Kupfer C, Kaiser-Kupfer MI: Observations on the development of the anterior chamber angle with reference to the pathogenesis of congenital glaucomas. *Am J Ophthalmol* 88: 424—426, 1979.
- 56) Noden DM: Periocular mesenchyme: Neural crest and mesodermal interactions, in Duane TO, Jaeger EA (ed): *Biomedical Foundation of Ophthalmology*. Vol 1. Anatomy, Embryology and Teratology, Chap 3. Philadelphia, Harper & Row, 1—23, 1983.
- 57) Beauchamp GR, Knepper PA: Role of the

- neural crest in anterior segment development and disease. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus* 21 : 209—214, 1984.
- 58) **Tripathi BJ, Tripathi RC** : Embryology of the anterior segment of the human eye, in Ritch R, Shields MB, Krupin T (ed) : *The Glaucomas*. St Louis, The C.V. Mosby Co., Vol 1, 3—40, 1989.
- 59) **Osumi-Yamashita N, Eto K** : Mammalian cranial neural crest cells and facial development. *Develop Growth & Differ* 32 : 451—459, 1990.
- 60) 鈴木 敬, 白井正一郎, 馬嶋昭生 : 胎生裂の閉鎖機序に関する形態学的研究(I). *日眼会誌* 92 : 238—242, 1988.
- 61) 鈴木 敬, 白井正一郎, 馬嶋昭生 : 胎生裂の閉鎖機序に関する形態学的研究(II)—電子顕微鏡所見についての検討—. *日眼会誌* 93 : 247—253, 1989.
- 62) **Lahav M, Albert DM, Wyand S** : Clinical and histopathologic classification of retinal dysplasia. *Am J Ophthalmol* 75 : 648—667, 1973.
- 63) **Hansson H-A, Jerndal T** : Scanning electron microscopic studies on the development of the iridocorneal angle in human eyes. *Invest Ophthalmol* 10 : 252—265, 1971.
- 64) **Kupfer C, Ross K** : The development of outflow facility in human eyes. *Invest Ophthalmol* 10 : 513—517, 1971.
- 65) **Smelser GK, Ozanics V** : The development of the trabecular meshwork in primate eyes. *Am J Ophthalmol* 71 : 366—385, 1971.
- 66) **Wulle KG** : The development of the productive and draining system of the aqueous humor in the human eye. *Adv Ophthalmol* 26 : 296—355, 1972.
- 67) **Van Buskirk EM** : Clinical implications of iridocorneal angle development. *Ophthalmology* 88 : 361—367, 1981.
- 68) **McMenamin PG** : A morphological study of the inner surface of the anterior chamber angle in pre and postnatal human eyes. *Curr Eye Res* 8 : 727—739, 1989.
- 69) **McMenamin PG** : Human fetal iridocorneal angle: a light and scanning electron microscopic study. *Br J Ophthalmol* 73 : 871—879, 1989.
- 70) **Shields MB** : Axenfeld-Rieger syndrome, in Ritch R, Shields MB, Krupin T (ed) : *The Glaucomas*. Vol 2. St Louis, The C.V. Mosby Co., 885—895, 1989.
- 71) **Schottenstein EM** : Peters' anomalies, in Ritch R, Shields MB, Krupin T (ed) : *The Glaucomas*. Vol 2. St Louis, The C.V. Mosby Co., 897—903, 1989.
- 72) 尾関年則, 佐野雅洋, 森 宏明他, 他 : 神経堤細胞遊走不全と前眼部形成異常. *臨眼* 45 : 1419—1423, 1991.
- 73) **Bahn CF, Falls HF, Varley GA, et al** : Classification of corneal endothelial disorders based on neural crest origin. *Ophthalmology* 91 : 558—563, 1984.
- 74) **Pierro LJ, Spiggle J** : Congenital eye defects in the mouse. 1. Corneal opacity in C57 Black mice. *J Exp Zool* 166 : 25—38, 1967.
- 75) **Sanyal S, Hawkins RK** : *Dysgenetic lens(dyl)*—a new gene in the mouse. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 18 : 642—645, 1979.
- 76) **Meier S** : Initiation of corneal differentiation prior to cornea-lens association. *Cell Tiss Res* 184 : 255—267, 1977.
- 77) **Garcia-Porrero JA, Collado JA, Ojeda JL** : Cell death during detachment of the lens rudiment from ectoderm in the chick embryo. *Anat Rec* 193 : 791—804, 1979.
- 78) **Garcia-Porrero JA, Colvee E, Ojeda JL** : The mechanisms of cell death and phagocytosis in the early chick lens morphogenesis: A scanning electron microscopy and cytochemical approach. *Anat Rec* 208 : 123—136, 1984.
- 79) **Waring GO III, Rodrigues MM, Laibson PR** : Anterior chamber cleavage syndrome. A step-ladder classification. *Surv Ophthalmol* 20 : 3—27, 1975.
- 80) **Waring GO III** : Congenital and neonatal corneal abnormalities, in Leibowitz HW (ed) : *Corneal Disorders. Clinical Diagnosis and Management*. Philadelphia, WB Saunders, 29—56, 1984.
- 81) 池田高良 : 発達過程における異常発育と腫瘍, 岡本直正編 : *臨床人体発生学. 先天異常の理解のために*. 東京, 南江堂, 161—176, 1983.
- 82) **Boevé MH, van der Linde-Sipman T, Stades FC** : Early morphogenesis of persistent hyperplastic tunica vasculosa lentis and primary vitreous. The dog as an ontogenetic model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 29 : 1076—1086, 1988.
- 83) **Boevé MH, van der Linde-Sipman JS, Stades FC, et al** : Early morphogenesis of persistent hyperplastic tunica vasculosa lentis and primary vitreous. A transmission electron microscopic study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 31 : 1886—1894, 1990.
- 84) **Patz A** : Clinical and experimental studies on retinal neovascularization. *Am J Ophthalmol* 94 : 715—743, 1982.

- 85) 葺石米孝, 浅田総一郎, 江藤一洋: ラット全胚培養法による脳血管構築機序の検討。(I)子宮内正常発生胎仔と培養胎仔の比較。厚生省神経疾患, 発達期における脳循環障害調査研究班(班長・松本悟), 昭和61年度研究報告書, 7-13, 1987.
- 86) 葺石米孝, 江藤一洋: ラット全胚培養法による脳血管構築機序の検討。(II)子宮内正常発生胎仔と培養胎仔の比較。厚生省神経疾患, 発達期における脳循環障害調査研究班(班長・松本悟), 昭和62年度研究報告書, 7-14, 1988.
- 87) 葺石米孝, 藤本正文, 大隅典子, 他: ラット全胚培養法による脳血管構築機序の検討。(III)培養胎仔へのプロタミンの影響。厚生省神経疾患, 発達期における脳循環障害調査研究班(班長・松本悟), 昭和63年度研究報告書, 11-17, 1989.
- 88) 大隅典子, 葺石米孝, 江藤一洋: ラット全胚培養法による脳血管構築機序の検討。(IV)子宮内正常発生胎仔におけるbFGFの局在。厚生省神経疾患, 発達期における脳循環障害調査研究班(班長・松本悟), 平成元年度研究報告書, 10-17, 1990.
- 89) Oda S, Watanabe T, Kondo K: A new mutation, Eye lens obsolescence, *Elo* on chromosome 1 in the mouse. Jap J Genetics 55: 71-75, 1980.
- 90) Oda S, Watanabe K, Fujisawa H, et al: Impaired development of lens fibers in genetic microphthalmia, Eye lens obsolescence, *Elo*, of the mouse. Exp Eye Res 31: 673-681, 1980.
- 91) Watanabe K, Fujisawa H, Oda S, et al: Organ culture and immunohistochemistry of the genetically malformed lens, in Eye lens obsolescence, *Elo*, of the mouse. Exp Eye Res 31: 683-689, 1980.
- 92) Quinlan P, Oda S, Breitman ML, et al: The mouse eye lens obsolescence (*Elo*) mutant: studies on crystallin gene expression and linkage analysis between the mutant locus and the γ -crystallin genes. Gene Dev 1: 637-644, 1987.
- 93) Masaki S, Watanabe T: Suppression of lens γ -crystallin encoded by *Len-1* in the mutant mouse with eye lens obsolescence (*Elo*). Exp Eye Res 47: 727-735, 1988.
- 94) Masaki S, Watanabe T: Linkage analysis of the mutation locus in the eye lens obsolescence (*Elo*) mouse. Genomics 5: 259-263, 1989.
- 95) Addison DJ, Font RL, Manschot WA: Proliferative retinopathy in anencephalic babies. Am J Ophthalmol 74: 967-976, 1972.
- 96) 池田晃三, 佐野雅洋, 白井正一郎, 他: 無脳症4例の眼病理組織学的所見。眼紀 40: 2451-2457, 1989.
- 97) van Nouhuys CE: Dominant Exudative Vitreoretinopathy and Other Vascular Developmental Disorders of the Peripheral Retina. The Hague, Dr W Junk Publishers, 227-231, 361-368, 1982.
- 98) van Nouhuys CE: Signs, complications, and platelet aggregation in familial exudative vitreoretinopathy. Am J Ophthalmol 111: 34-41, 1991.
- 99) 白井正一郎: Dragged disc および retinal fold を来す疾患。眼科 31: 255-261, 1989.
- 100) 東 範行: 硝子体疾患—第一次硝子体過形成遺残と家族性滲出性硝子体網膜症—。あたらしい眼科 6: 6: 1803-1812, 1989.
- 101) Patz A: The role of oxygen in retrolental fibroplasia. Pediatrics 19: 504-524, 1957.
- 102) Roch LM, Petrucci JV, Barber AN: Studies on the development of the eye in the 13-15 trisomy syndrome. Am J Ophthalmol 60: 1067-1074, 1965.
- 103) Apple DJ, Holden JD, Stallworth B: Ocular pathology of Patau's syndrome with an unbalanced D/D translocation. Am J Ophthalmol 70: 383-391, 1970.
- 104) Apple DJ, Naumann GOH: Malformations and anomalies of the eye, in Naumann GOH, Apple DJ (ed): Pathology of the Eye. New York, Springer-Verlag, 63-98, 1986.
- 105) 大庭紀雄: 網膜硝子体形成不全症候群。大庭紀雄編: 遺伝性眼底疾患。東京, 金原出版, 285-298, 1987.
- 106) 梶井 正: 染色体異常—発生機序と形態—。梶井正, 松田一郎, 山村研一編: 医科遺伝学。東京, 南江堂, 245-285, 1991.
- 107) 東 範行: 朝顔症候群と類縁疾患。眼科 31: 235-246, 1989.
- 108) 山名敏子, 西村みえ子: 朝顔症候群における後極部網膜血管および黄斑部の異常。臨眼 37: 543-547, 1983.
- 109) 東 範行, 小口芳久, 植村恭夫: 朝顔症候群。臨眼 38: 975-981, 1984.