

猿実験緑内障における視神経篩状板・細胞外マトリックスの免疫組織学的分析

福地 健郎

新潟大学医学部眼科学教室

要 約

アルゴンレーザー隅角照射によって作製した猿実験緑内障の視神経篩状板における細胞外マトリックス (ECM), collagen type I~VI, laminin, fibronectin, α -elastin の免疫反応性, 免疫局在性の変化について biotin-streptavidin 法を用いて免疫組織化学的に検討した. collagen type I, III, V, VI, fibronectin などは強膜に連続し肥厚した視神経篩状板の laminar beam にびまん性に染色が認められその反応はほぼ維持されていた. collagen type IV, laminin は laminar beam の縁及び血管と考えられる部位に線状に認められ, その染色は太く不均一で反応性は強くなっていた. α -elastin に対する染色は prelaminar portion で著しく低下し, 視神経篩状板でも軽度低下していた. 猿実験緑内障での乳頭陥凹の進行に伴う視神経篩状板におけるこれら ECM 成分の変化としては α -elastin が最も著しく, その他の成分は免疫局在性に関して正常眼と質的な差は認められなかった. (日眼会誌: 95: 303-310, 1991)

キーワード: 猿実験緑内障, 視神経篩状板, 細胞外マトリックス, 免疫組織化学, コラーゲン

Extracellular Matrix of the Optic Nerve Lamina Cribrosa in Monkey Eyes with Experimentally Induced Glaucoma

Takeo Fukuchi

Department of Ophthalmology, Niigata University School of Medicine

Abstract

The changes of immunoreactivity and immunolocalization of the extracellular matrices (ECM), collagen type I through VI, laminin, fibronectin and alpha-elastin, of optic nerve lamina cribrosa in argon laser induced glaucoma in monkey eyes were examined using a immunohistochemical method, biotin-streptavidin system. The results were consistent with the previous findings that in the experimental glaucoma eyes, diffuse immunoreactivity of collagen type I, III, V, VI, fibronectin were detected in the thickened and irregular laminar beams, while linear staining for collagen type IV and laminin were seen around the laminar beams and vascular walls were densely, thickly and irregularly, and furthermore immunoreactivity for alpha-elastin was reduced markedly in the glial columns and moderately in the lamina cribrosa. In the lamina cribrosa with optic disc cupping in laser-induced monkey glaucoma, the immunoreactivity for alpha-elastin was changed most greatly, and no qualitative differences were detected in comparison with normal fellow eyes for the other ECM components. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 95: 303-310, 1991)

Key words: Monkey experimentally induced glaucoma, Optic nerve lamina cribrosa, Extracellular matrix, Immunohistochemistry, Collagen

別刷請求先: 951 新潟市旭町通一番町 新潟大学医学部眼科学教室 福地 健郎

(平成2年6月15日受付, 平成2年10月12日改訂受理)

Reprint requests to: Takeo Fukuchi, M.D. Department of Ophthalmology, Niigata University School of Medicine.

Ichibancho, Asahimachidōri, Niigata 951, Japan

(Received June 15, 1990 and accepted in revised form October 12, 1990)

I 緒 言

Optic nerve lamina cribrosa¹⁾²⁾は眼球外へ向かう視神経線維を機械的に、また機能的に支持しており、眼圧上昇によって生ずる緑内障性視神経障害の発症、進展にとって重要な役割を果たしていることが推定されている^{3)~5)}。特にこの部の結合組織成分は、眼圧による圧迫に対して力学的に抵抗している組織と考えられることから、lamina cribrosaの結合組織に関する研究が行われてきた。その一例として視神経乳頭のトリプシン消化標本を走査電顕的に観察した研究があげられる⁶⁾⁷⁾。この流れのなかにあつて細胞外マトリックス(以下ECMと略す)に関する免疫組織化学的アプローチが注目されている。ECMは組織構造の維持、細胞の生存環境の提供、細胞分化・増殖への影響など様々な機能を持ち、生体の維持にとって非常に重要な組織であることが認識され、近年各分野で注目を集めている^{8)~11)}。特にlamina cribrosaに関して、ECMは眼圧に対して直接抵抗する組織であるとともに、視神経線維を取り巻きその代謝を維持している点でも重要である。従つてECMの個体差、先天性異常、加齢などによる後天的変化、病的変化などがlamina cribrosaの機械的、機能的耐圧能の個体差や低下を引き起こす可能性が考えられる。

現在までのところ、lamina cribrosaのECMに関する免疫組織化学的アプローチは主にcollagenなどのstructural proteinとlaminin, fibronectinなどのglycoproteinに関して研究されており^{12)~24)}、正常人眼^{12)~15)}、正常猿眼^{16)~18)}における各成分の分布、局在などがほぼ明らかにされている。我々も既に正常人眼、正常猿眼¹⁶⁾において分布・局在を観察し報告した。今回は猿眼にargon laser隅角過剰照射を行い実験緑内障眼を作製し、緑内障性視神経乳頭陥凹を生じたlamina cribrosaにおけるECMの免疫反応性、免疫局在性にとどのような変化が起きているかについて検討した。眼圧上昇によって生ずる乳頭陥凹にもなる視神経乳頭各組織の変化に関する研究^{25)~27)}は古くから数多く行われてきたが、この研究はlamina cribrosaの特にcollagenを始めとするECM成分の変化に注目した研究である。

II 実験方法

実験にはカニクイサル(cynomolgus monkey)3頭を用いた。左眼はコントロール眼とし、右眼に実験的

に緑内障眼を作製し左右眼を比較した。猿の年齢などに関しては不明である。実験緑内障眼はargon laserの隅角過剰照射によって作製した。照射条件はspot size 100 μ m, time 0.10sec, power 600~800mWで、線維柱帯色素帯部に全周に渡つて照射した。眼圧が上昇しない場合はこれを繰り返した。眼圧上昇後、一週毎に眼圧測定とTopcon社製同時立体眼底カメラによる観察、撮影を繰り返した。各猿はそれぞれ眼圧上昇後2.5カ月、3カ月、5カ月に(3例の眼圧経過を図1に示した。)過剰量のペントバルビタール(11mg/kg)静注及びケタラルール(9mg/kg)筋注により苦痛を与えることなく速やかに屠殺し抜眼した。この時点で右眼処置眼のすべての視神経乳頭に大きく深い明かな陥凹を認めた。

標本の作製方法は既報¹⁸⁾に準じ、眼球摘出後、0.1M phosphate buffered saline (PBS)で洗浄し、球後1.0mmの部位で視神経を切断、さらに眼球から視神経乳頭部のみを切り出し今回の実験に用いた。組織は未固定のまま速やかにプラスチック製包埋皿に入れO. C. T. compound(ともにTISSUE-TEK社)を加えた後、液体窒素に浸したイソペンタン中で急速凍結包埋した。Microtome-Cryostat (INTERNATIONAL EQUIPMENT社)の庫内を-20 $^{\circ}$ Cに設定しておき、ただちに厚さ6~8 μ mの凍結切片を作製した。切片はあらかじめ0.01% poly-L-lysine (Sigma社, U.S.A.)を塗布したスライドガラスに張り付けた。スライドガラスはケースに入れ、密封し-70 $^{\circ}$ Cの超低温フリーザー中で保存した。

酵素抗体法染色は既報¹⁸⁾に準じSTRAVIGEN Immunohistology Kit (BioGenex Laboratories社)によるBiotin-Streptavidin (B-SA) systemで行つた。-20 $^{\circ}$ Cの冷アセトンで5分間固定、風乾した後に、0.01M PBSにて洗浄した。以下の処理はすべて室温下の湿室内で行い、また各処置後の洗浄は0.01M PBSで5分間、3回ずつ行つた。まず内因性ペルオキシダーゼのブロッキングのために3% H₂O₂で5分間、非特異的結合のブロッキングのために5% normal goat serumで30分間処理した。

一次抗体としてはrabbit anti (bovine) collagen type I (1:200), rabbit anti (bovine) collagen type II (1:400), rabbit anti (bovine) collagen type III (1:800), rabbit anti (bovine) collagen type IV (1:1000), rabbit anti (human) collagen type V (1:600), rabbit anti (mouse) laminin (1:1500), rabbit

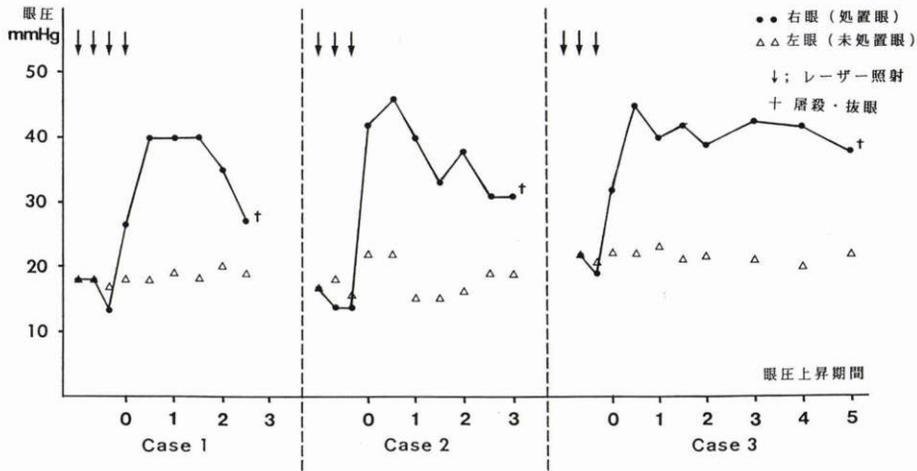


図1 カニクイサル3症例の眼圧経過(右眼:レーザー処置緑内障,左眼:正常コントロール眼)

anti(mouse)fibronectin(1:1200)(以上ADVANCE社,東京), rabbit anti(human)collagen type VI(1:1000)(Chemicon社,U.S.A.), rabbit anti(human) α -elastin(1:500)(Elastin Product社,U.S.A.)のpolyclonal antibodyを用いた。以上の一次抗体をいずれも90分間反応させた。いずれの一次抗体についても右眼処置眼(緑内障)の切片と左眼非処置眼(正常コントロール眼)の切片とを同時に染色した。これらの抗体の特異性の検定はそれぞれOuchterlony法で行った。negative controlとしては非標識normal rabbit serumを用いた。

つづいて二次抗体(biotinylated goat anti-rabbit immunoglobulin), 標識試薬(streptavidin labeled peroxidase)をそれぞれ40分間反応させた。発色はDAB(diaminobentidin)もしくはAEC(3-amino-9-ethylcarbazole)で行い,一部の切片では対比染色をヘマトキシリンでおこなった。切片はクリスタルマウント(Biomed社,U.S.A.)で封入した後,光学顕微鏡的に観察した。

III 結 果

右眼眼圧上昇眼(以下緑内障とする)においても正常眼(既報)と同様に,非標識normal rabbit serumに対する染色(図2c)及び, collagen type IIに対する染色はいずれの部位にも認められなかった。また今回観察した緑内障眼はいずれも検眼鏡的に明かな視神経乳頭陥凹を認めた眼で,いずれの成分に関しても,

形態上の個体差,陥凹の程度による差がわずかに見られたがECMの変化は基本的には同一であった。

1. collagen type I, III (図2a, b)

lamina cribrosaはscleraと連続し著明な陥凹を示していたが, collagen type I, IIIはlamina cribrosaにびまん性に染色が認められた。lamina cribrosaは全体としては肥厚し横ずれが著しく,最表層部を除いて他の部はいずれも同様の濃度で染色された。いずれの緑内障眼においても部位によってlamina cribrosa最表層部でごくわずかに染色が強くなっているのが認められた。

2. collagen type IV, laminin (図3a, b, c, d)

collagen type IV, lamininに対する染色はlaminar beamの縁と血管と考えられる部位に沿って認められた。最表層部ではlaminar beamの間隙が狭まり圧縮された部が認められた。またbeamの縁を取り巻く線状の染色は正常眼に比較して太くirregularとなっていた。一方,lamina cribrosaの後方部はbeamが著明に肥厚しており,beamを取り巻く染色もまた太くirregularとなっていた。

3. collagen type V, VI, fibronectin (図4a, b, c)

基本的染色パターンはsclera, laminar beam, pial septaなどにびまん性に認められるとともに,laminar beamやpial septaの縁がより明瞭で,また血管と考えられる部位により染色が強いなどの特徴が認められた。緑内障における変化はcollagen type I, IIIと同

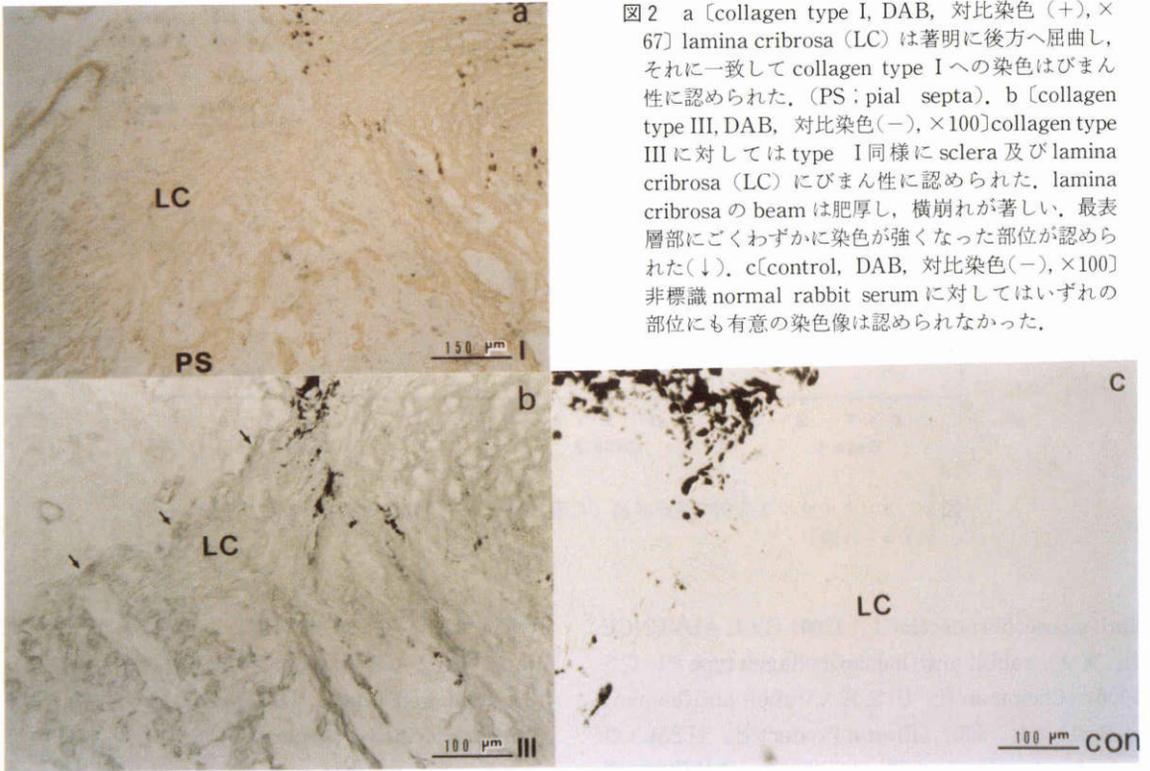


図2 a [collagen type I, DAB, 対比染色(+), ×67] lamina cribrosa (LC) は著明に後方へ屈曲し、それに一致して collagen type I への染色はびまん性に認められた。(PS: pial septa). b [collagen type III, DAB, 対比染色(-), ×100] collagen type III に対しては type I 同様に sclera 及び lamina cribrosa (LC) にびまん性に認められた, lamina cribrosa の beam は肥厚し, 横崩れが著しい, 最表層部にごくわずかに染色が強くなった部位が認められた(↓). c [control, DAB, 対比染色(-), ×100] 非標識 normal rabbit serum に対してはいずれの部位にも有意の染色像は認められなかった.

様で表層部に部位によって染色が強い部があり, 一方肥厚した lamina cribrosa にはやはりびまん性に染色が認められた. fibronectin で collagen type V, VI よりびまん性の染色が強い傾向が認められた.

4. α -elastin (図 5b)

glial column に沿った染色が著しく低下していた. laminar beam への染色も軽度低下していた. lamina cribrosa 最表層部に染色が強くと集積した例があった. またその染色パターンは正常では細かい直線的 band 状であるのに対して緑内障眼の特に laminar beam 内では band 状の染色は屈曲, 蛇行したものが多かった.

IV 考 按

ECM の成分は大きく, 1) 線維成分を構成する collagen と elastin, 2) laminin, fibronectin などの glycoprotein, 3) いわゆる無構造物質として認められる proteoglycan に分けられる⁸⁾⁻¹¹⁾. このうち optic nerve lamina cribrosa の ECM に関する免疫組織化学的研究ではまず力学的強度を規定すると考えられる collagen などの structural protein が注目され, ついで laminin, fibronectin などの glycoprotein について

研究が行われつつある¹²⁾⁻²⁴⁾. 現時点においてこれらの成分の分布, 局在¹²⁾⁻¹⁸⁾, 個体差, 発生¹⁹⁾・成長・加齢²⁰⁾ による変化などが検討され, 我々も人眼, 正常猿眼における ECM, 主に collagen type I~VI, α -elastin, laminin, fibronectin の分布・局在について報告した¹⁸⁾. 今回は猿眼に実験的緑内障を作製し, 眼圧上昇により視神経乳頭陥凹を生じた篩状板においてどのような ECM の変化が起きているかについて検討した. 人眼緑内障眼での ECM の変化を調べた報告は既にいくつか見られる²¹⁾⁻²³⁾が, そこで観察される ECM の変化は予め存在したものか, 陥凹の進行に伴って生じた結果か明らかではない. 今回の研究は他眼をコントロールとしておりこれと比較した変化は明らかに眼圧上昇の持続とそれに伴う乳頭陥凹の進行と共にみられた二次的变化であると結論することができる²⁴⁾. また視神経乳頭陥凹の進行に伴う視神経線維を取り巻く環境の変化をとらえるという意味で, 視神経線維の代謝などの影響を考える上でも意義あるものと考えられる.

これまでのヒト緑内障眼における ECM の変化に関する報告として, まず Tengroth ら²¹⁾は視神経乳頭の collagen を生化学的に分析し緑内障眼では正常眼と

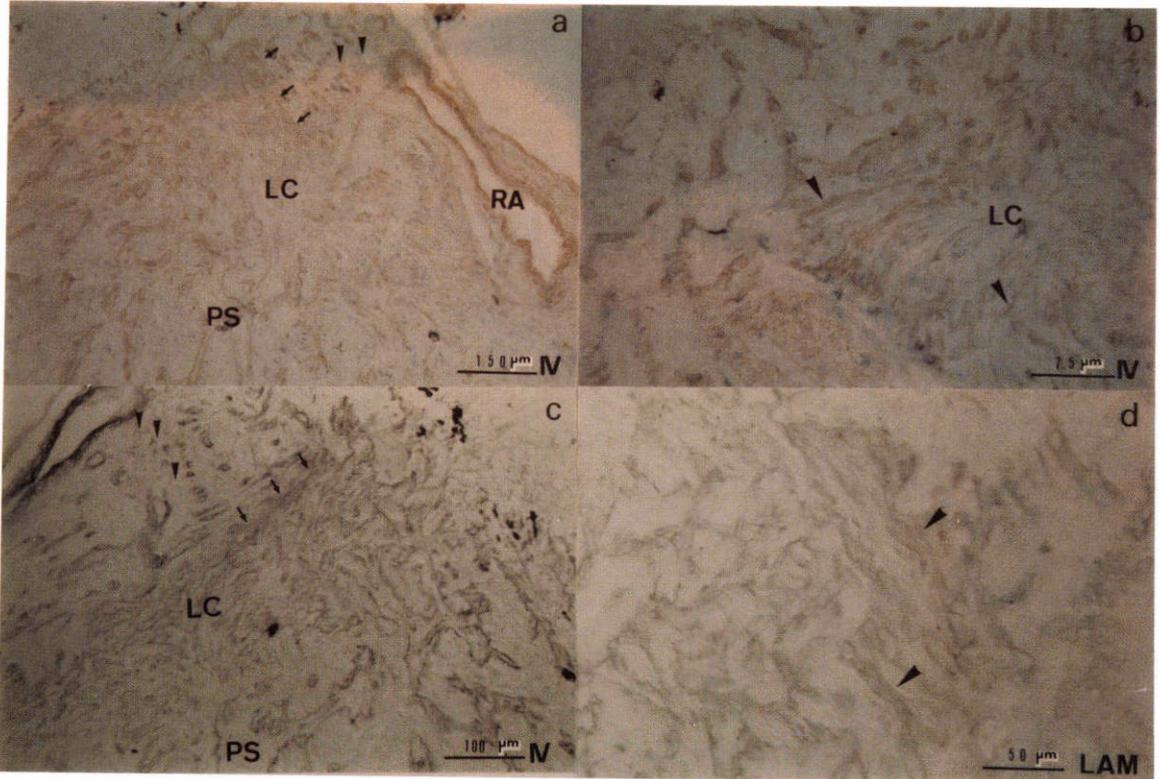


図3 a[collagen type IV, DAB, 対比染色(+), ×67]collagen type IV に対しては正常眼と同様に lamina cribrosa (LC) の beam 縁に沿うように線状の染色が認められた, 最表層部で線状の染色が密になった部位 (↓) があり, また prelaminar region 部では nerve fiber の存在する部位に collagen type IV に対する細かい deposit が認められた(▼). b[laminin, DAB, 対比染色(+), ×133]強拡大では lamina cribrosa 及び pial septa の縁に沿って線状の染色が明瞭に認められる (▼). c [collagen type IV, DAB, 対比染色(-), ×100] 最表層部では beam の間隙が狭まり collagen type IV に対する線状の染色が強かつ密となっていた (↓). (PS; pial septa). d [laminin, DAB, 対比染色(-), ×200] laminin に対する染色は collagen type IV と同一であった. lamina cribrosa の表層では laminar beam が狭まり, 後方では肥厚していた. いずれの部位でも線状の染色は太く irregular になっていた (▼).

比較し, 著明に collagen の concentration が高く, その組成にも変化があることを報告した. 一方, Hernandez ら²²⁾は免疫組織化学的方法で cribriform plate の compression による ECM の集積, collagen type IV による厚く irregular な基底膜の形成, elastic fiber の断裂と消失, collagen type VI は lamina core に集積し基底膜に厚く存在していることを報告し, Floyd ら²³⁾は末期の緑内障の一眼において prelaminar portion への laminin の集積を認めたと報告している. これに対し今回と同様な猿実験緑内障における変化については Morrison ら²⁴⁾による報告があるのみで, severe な緑内障においては laminar beam の厚さは増加し正常眼と同様の濃度で collagen type I, III,

elastin が染色され, astrocyte に伴う beam を取り巻く基底膜は厚くなっていたと報告している.

今回の観察の結果, これまでの緑内障に関する報告と同様にサル実験的緑内障においても ECM 各成分の存在, 分布という質的な点に関してそれぞれ左眼非処置正常眼との間に光顕レベルでは明らかな差は認められなかった. ただし間質性線維性コラーゲンである type I, III, V, ハイブリッドコラーゲンと呼ばれる type VI, fibronectin は肥厚した lamina cribrosa 及び pial septa にびまん性に認められ, 一方基底膜コラーゲンである type IV, 及び laminin は lamina cribrosa 及び pial septa を取り巻く染色が厚く強くなっていた. これに対して α -elastin は正常眼でよく染色

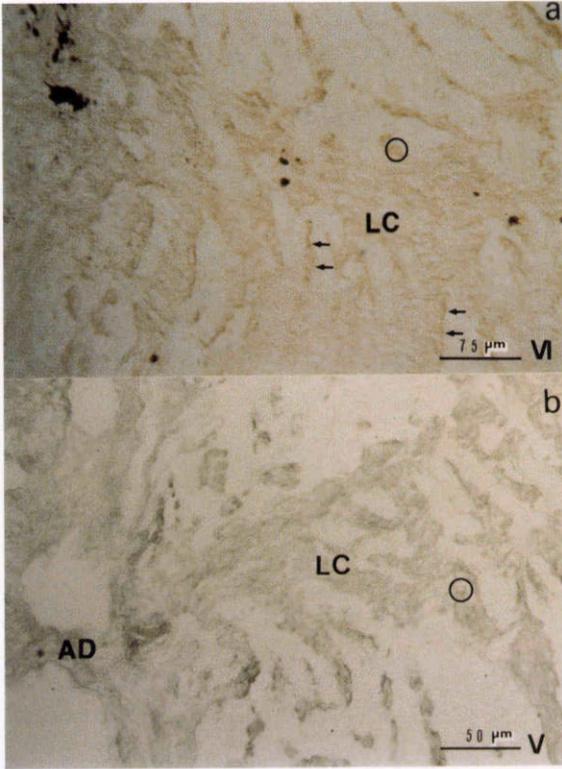


図4 a [collagen type VI, DAB, 対比染色(-), ×67] collagen type VI に対する染色は, collagen type I, III に類似し, lamina cribrosa (LC) でびまん性に染色された, laminar beam 及び pial septa の edge で染色が強い傾向を認めた(↓). b [collagen type V, DAB, 対比染色(-), ×200] adventitia (AD) もびまん性に染色され central artery 周囲の染色が明瞭である. c [fibronectin, DAB, 対比染色(-), ×200] fibronectin に対する染色もほぼ同様のパターンであるが, よりびまん性の染色が強く, また prelaminar region における血管に対する染色も明瞭である (○内).

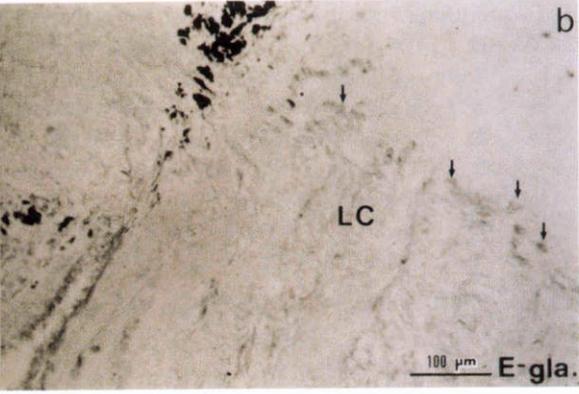
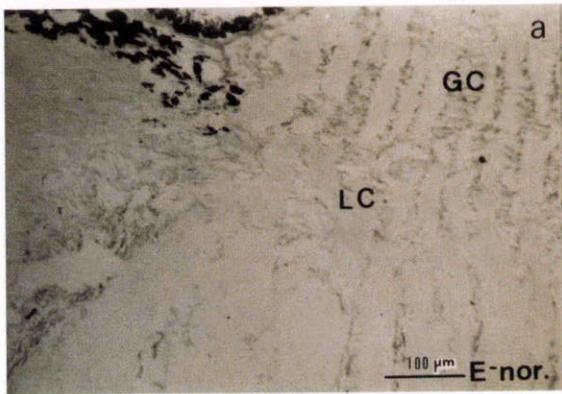
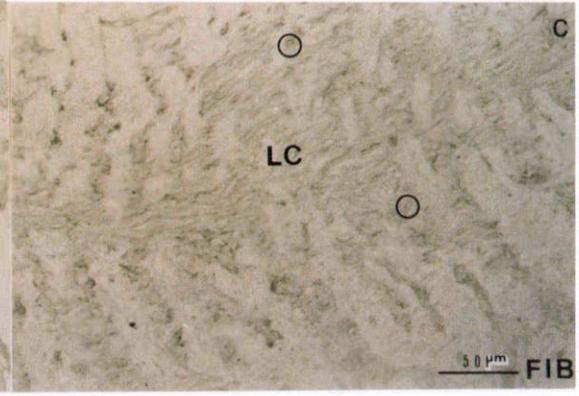
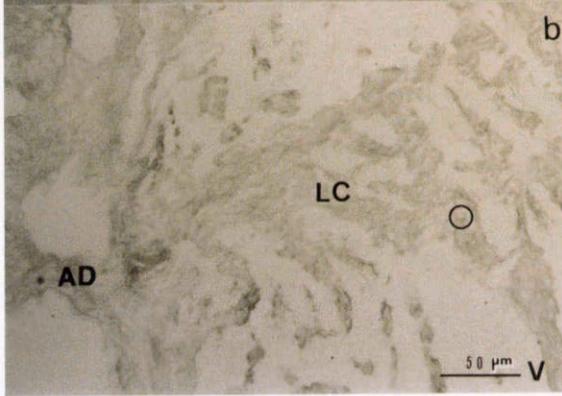


図5 a [正常コントロール眼, α-elastin, DAB, 対比染色(-), ×100], b [実験緑内障眼, α-elastin, DAB, 対比染色(-), ×100] α-elastin に対しては sclera や arachnoid membrane が正常と同様に染色されているのに対して glial column (GC) に沿った染色は著しく低下していた. この切片では lamina cribrosa (LC) のごく表層部で α-elastin が集積し染色が強くなっていた (↓). (a は文献19), Fig. 4 と同一)

される glial column での反応性の低下が著しく, lamina cribrosa の最表層部で集積が認められ, その後方ではまた低下していた. これらの結果は elastic fiber に関してなど一部に違いはあるが, 進行した緑内障眼の所見としてはこれまでの報告のヒト眼, 猿眼の

いずれの結果ともほぼ一致している. これらの ECM の変化からは実験緑内障眼においては視神経線維の脱落, 消失にともなって lamina cribrosa 及び retrolaminar portion ではいわゆる結合組織の骨組みを持っており組織の修復・再構築が活発に行われてい

ると考えられた。またこれらの変化は単なる組織修復による結果のみであるか、眼圧上昇に対する glial cell を始めるとする細胞レベルでの反応の結果であるか不明だが、両者のいずれもが関与している可能性が考えられる。以上から、乳頭陥凹の進行に伴って lamina cribrosa は肥厚し、collagen などの structural protein は維持されるか増加し、硬度が増すことが考えられる。また elastin の低下に伴い弾性が低下し、結果的に視神経乳頭の可塑性の低下が引き起こされ得る。従ってこのような視神経乳頭では眼圧の影響でさらに加わった形態変化が非可逆的な変化となる可能性が考えられ、臨床的にも²⁸⁾実験的にも²⁹⁾眼圧低下による cup の reversibility は早期緑内障で著しく、進行したものではわずかであることが報告されているが、今回の結果はこの事実と関連があるかもしれない。

ただし今回の研究は緑内障進行にともなう視神経乳頭の組織切片上の各成分の免疫組織化学的分布・局在に関して検討したものであり、この方法のみで ECM の眼圧に対する抵抗性について追求することは難しい。ECM と組織の硬度・弾性の関係については collagen の存在や成分だけでなくその配列や Ca の沈着などの他の要素も複雑に関与していることが知られている。この分野に関しては未だ不明な部分が多く、lamina cribrosa の ECM と眼圧に対する力学的抵抗性という問題については、さらに ECM に関する基礎的知見及び方法論における新たな発見を待たねばならない。また厚さ 6~8 μ m の凍結切片を光顕的に観察したものであるため詳細にわたる観察には限界があり、また定性的な手法であるため量的な比較にも限界がある。今回認めた変化の電顕的超微細構造との関係については今後検討の予定である。また今回の結果に関連して既に lamina cribrosa における proteoglycan の分布やその collagen などとの相互作用などに関する研究が始められている³⁰⁾が、lamina cribrosa の構築上の強度変化を論ずるのに重要なポイントとなるもので同様の対象を用いて検討の予定である。

稿を終えるにあたり岩田和雄教授の御指導、御校閲に感謝いたします。また実験等に関して御指導、御助言いただきました関 伶子先生、黒澤明充先生、沢口昭一先生、共同実験者の白柏基宏先生、原 浩昭先生にこの場を借り感謝いたします。

文 献

1) **Anderson DR, Francisco S**: Ultrastructure of human and monkey lamina cribrosa and optic

- nerve head. Arch Ophthalmol 82: 800-814, 1969.
- 2) **Hogan MJ, Alvarade JA, Weddell JE**: Optic nerve. In Histology of the Human Eye. WB Saunders Com, Philadelphia, 523-606, 1971.
- 3) **Quigley HA, Addicks W, Green R, et al**: Optic nerve damage in human glaucoma. II. The site of injury and susceptibility to damage. Arch Ophthalmol 99: 635-649, 1981.
- 4) **Quigley HA, Hohman RM, Addicks W, et al**: Morphologic changes in the lamina cribrosa correlated with neural loss in open-angle glaucoma. Am J Ophthalmol 95: 673-691, 1983.
- 5) **岩田和雄**: 原発開放隅角緑内障の初期病態. 臨眼 39: 407-424, 1985.
- 6) **Quigley HA, Addicks W**: Regional differences in the structure of the lamina cribrosa and their relation to glaucomatous optic nerve damage. Arch Ophthalmol 99: 137-143, 1981.
- 7) **福地健郎, 沢口昭一, 白柏基広, 他**: ヒト, 及び各種実験動物における視神経篩板の立体構造. 日眼会誌 91: 1212-1280, 1987.
- 8) **Hay ED**: Extracellular matrix. J Cell Biol 91: 205-223, 1981.
- 9) **梶川欽一郎**: 結合組織. 東京, 金原出版, 1-8, 131-223, 279-382, 1984.
- 10) **梶川欽一郎, 永井 裕, 藤本大三郎, 他**: 特集 細胞外マトリックス. 生体の化学 39: 258-314, 1988.
- 11) **Goldberg BD, Rabinovitch M**: Connective tissue. In Weiss L.ed): Cell and Tissue Biology, 6th ed, Urban & Schwarzenberg, Inc Baltimore 155-173, 1988.
- 12) **Hernandez MR, Igoe F, Neufeld AH**: Extracellular matrix of the human optic nerve head. Am J Ophthalmol 102: 139-148, 1986.
- 13) **Hernandez MR, Luo XX, Igoe F, et al**: Extracellular matrix of the human lamina cribrosa. Am J Ophthalmol 104: 567-576, 1987.
- 14) **Rehenberg M, Ammitzball T, Tengroth B**: Collagen distribution in the lamina cribrosa and the trabecular meshwork of the human eye. Br J Ophthalmol 71: 886-892, 1987.
- 15) **Goldbaum MH, Jeng S, Longemann R, et al**: The extracellular matrix of the human optic nerve head. Arch Ophthalmol 107: 1225-1231, 1989.
- 16) **Morrison JC, Jerden JA, L'Hernault NL, et al**: The extracellular matrix composition of the monkey optic nerve head. Invest Ophthalmol Vis Sci 29: 1141-1150, 1988.

- 17) **Morrison JC, L'Hernault NL, Jerden JA, et al:** Ultrastructural localization of extracellular matrix components in the optic nerve head. *Arch Ophthalmol* 107: 123-129, 1989.
- 18) **福地健郎:** 正常サル眼における視神経篩状板・細胞外マトリックスの免疫組織化学的分析. *日眼会誌* 94: 1024-1030, 1990.
- 19) **Morrison JC, Jerden JA, Dorman ME, et al:** Structural proteins of the neonatal and adult lamina cribrosa. *Arch Ophthalmol* 107: 1220-1224, 1989.
- 20) **Hernandez MR, Luo XX, Andrzejewska W, et al:** Age-related change in the extracellular matrix of the human optic nerve head. *Am J Ophthalmol* 107: 476-484, 1989.
- 21) **Tengroth B, Ammitzboll T:** Change in the content and composition of collagen in the glaucomatous eye. Basis for a new hypothesis for the genesis of chronic open angle glaucoma. A preliminary report. *Acta Ophthalmol* 62: 999-1008, 1984.
- 22) **Hernandez MR, Andrzejewska WM, Neufferd AH:** Changes in the extracellular matrix of the human optic nerve head in primary open-angle glaucoma. *Am J Ophthalmol* 109: 180-188, 1990.
- 23) **Floyd BB, Cleveland PH, Worthen DM:** Extracellular matrix of the optic nerve head in normal and glaucomatous eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 29(ARVO Suppl): 353, 1988.
- 24) **Morrison JC, Dorman ME, Quigley HA:** Extracellular matrix changes in the glaucomatous optic atrophy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 30(ARVO Suppl): 201, 1989.
- 25) **Fuchs E:** *Über die Lamina Cribrosa.* von Graefes *Arch* 91: 435-485, 1916.
- 26) **Minckler DS:** Optic nerve damage in glaucoma. I. Obstruction to axoplasmic flow. *Surv Ophthalmol* 26: 128-136, 1981.
- 27) **Quigley HA, Hohman RM, Addicks W, et al:** Blood vessels of the glaucomatous optic disc in experimental primate and human eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 25: 918-931, 1984.
- 28) **Shin DH, Bielik M, Hong YJ, et al:** Reversal of glaucomatous optic disc cupping in adult patients. *Arch Ophthalmol* 115: 1599-1603, 1989.
- 29) **Shirakashi M, Nanba K, Iwata K, et al:** Quantitative analysis of reversibility of the cupping in primate glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 31(ARVO Suppl): 467, 1990.
- 30) **沢口昭一, 岩田和雄, 海谷忠良:** 正常視神経乳頭篩状板における Sulfated-proteoglycan の分布と形態. *日眼会誌* 95: 311-317, 1991.