

## 網膜光受容体間基質分布の光応答の型分類

上原 文行\*, 大庭 紀雄\*, Douglas Yasumura\*\*, Matthew M. LaVail\*\*

\*鹿児島大学医学部眼科学教室, \*\*カリフォルニア大学サンフランシスコ校医学部解剖学及び眼科学教室

## 要 約

白色成熟ラットを、眼球摘出時の光の条件を変えて灌流固定し、光受容体間基質 (IPM) のコロイド鉄染色像について比較した。暗順応下では、視細胞外節全体および内節先端部の IPM がビマン性に染色された (暗順応型)。明順応 1 分後では、視細胞外節先端部および基底部 (内節先端部を含む) の IPM が帯状に染色された。外節中間部の IPM 染色は弱かった (初期明順応型)。明順応 5 ~ 30 分後では、視細胞外節先端部の IPM が帯状に、外節基底部から視細胞内節全体の IPM がビマン性に染色された。外節中間部の IPM の染色は弱かった (後期明順応型)。過度の光を照射した場合には、視細胞層全体にわたって IPM が染色された (過度光照射型)。視細胞外節周囲の IPM の光応答が内節基底部周囲の IPM の光応答に先行すること、および過度光照射型は種々の視細胞変性の過程でみられる IPM 分布の型に類似することが判明した。(日眼会誌 95 : 445-448, 1991)

キーワード : 網膜光受容体間基質, 光応答, 型分類, 灌流固定, ラット

### Classification of Light-Evoked Distribution of Interphotoreceptor Matrix

Fumiyuki Uehara\*, Norio Ohba\*, Douglas Yasumura\*\* and Matthew M. LaVail\*\*

\*Department of Ophthalmology, Kagoshima University Faculty of Medicine

\*\*Departments of Anatomy and Ophthalmology, University of California, San Francisco, School of Medicine

## Abstract

Distributional patterns of the interphotoreceptor matrix (IPM) under several different light conditions were examined in adult rats using colloidal iron staining. In the dark, the IPM distributed uniformly throughout photoreceptor outer segments including apical halves of inner segments. After exposure to light for 1 min, the colloidal iron-bound IPM concentrated in bands at apical and basal regions of outer segments and at apical inner segments. After exposure to light for 5~30 min, the IPM distributed throughout inner segments, in addition to the distribution at apical and basal outer segments. In excessive light, diffuse IPM staining was observed throughout the photoreceptor layer. These findings suggest that the light response of the IPM around outer segments precedes that around basal inner segments. It is also remarkable that the excessive light-induced distributional pattern of the IPM is similar to patterns in inherited retinal dystrophy and light-induced retinal degenerations. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 95 : 445-448, 1991)

Key words : Interphotoreceptor matrix, Light response, Classification, Perfusion fixation, Rat

別刷請求先 : 890 鹿児島市桜ヶ丘 8-35-1 鹿児島大学医学部眼科学教室 上原 文行

(平成2年9月21日受付, 平成2年10月2日受理)

Reprint requests to: Fumiyuki Uehara, M.D. Department of Ophthalmology, Kagoshima University Faculty of Medicine.

8-35-1 Sakuragaoka, Kagoshima 890, Japan

(Received September 21, 1990 and accepted October 2, 1990)

## I 緒 言

光受容体間基質(interphotoreceptor matrix, IPM)は、網膜色素上皮と視細胞外節、内節周囲の網膜下腔を満たし、さまざまな重要な機能を有している<sup>1)</sup>。最近筆者らは、明暗の光環境の変化に依存してラット IPM 成分の局在部位が変化することを発見した<sup>2)~4)</sup>。すなわち、暗順応下では、視細胞外節全体および内節先端部にピマン性に IPM が分布するのに対し、明順応下(室内蛍光灯下)では、視細胞外節先端部と外節基底部から内節全体にわたって IPM が分布する<sup>2)~4)</sup>。ところで、網膜の病態と IPM との関連については、遺伝性視細胞変性ラットの視細胞変性過程に IPM の異常が関与しているとの報告がある<sup>5)</sup>。また、過度の光、あるいは通常の蛍光灯でも連続して照射すると、ラットあるいはマウスの視細胞が変性することが知られている<sup>6)7)</sup>。この場合、過度の光照射によって IPM の光応答の異常が起こり、視細胞変性が引き起こされている可能性がある。そこで本研究においては、過度の光照射を含め、先の報告<sup>2)~4)</sup>よりもさらに細かく光の条件を変化させた場合の IPM 分布の様式について比較検討した。

## II 実験方法

白色成熟ラット(RCS-rdy<sup>+</sup>; 8~10週齢)を、明{7AM 照明 on: Cage 部照度は20 foot-candle (ft-c)}: 暗(7PM 照明 off)=12:12時間周期下に飼育した。ラットを暗順応(絶対暗室; 夜どうし12時間; 7AM に以下の実験を開始)させた後、7群(各群3匹)に分け、以下の光条件のもとに炭酸ガスを吸引させることによって安楽死させた。1) 暗順応を継続、2) 明順応(Cage 部照度は50ft-c; 7AM 照明 on) 1, 5, 10, 15, 30分後、3) 過度の光(照度は500ft-c)照射10分。先に報告した方法<sup>2)~4)</sup>に従って、固定液に2.5%glutaraldehyde, 2%paraformaldehyde (0.1M phosphate buffer, pH 7.3, 37°C)を使用して直ちにラットを灌流固定した。灌流固定の間、ずっとそれぞれ安楽死前と同じ光条件を維持(頭部を黒色テープで被覆あるいは光を照射)した。眼窩内容除去を行い、眼球を一晩さらに同固定液を用いて浸潤固定した後、水洗、methanol-methylcellosolveを用いて脱水、polyester wax に包埋した。8 $\mu$ m の組織切片を作成し、Röhlichの方法<sup>8)</sup>でコロイド鉄染色した。上記の各実験条件下の網膜色素上皮、視細胞外節、および内節部の IPM の

染色部位の分布について、光学顕微鏡で観察、比較検討した。なお、光顕レベルでは染色部が細胞表面に限局しているのか、網膜下腔内物質まで分布しているのかを区別するのは困難であったため、これらを一括して観察結果には IPM として記載した。

## III 結 果

1. ラットを暗順応下に灌流固定した場合、視細胞外節全体および内節先端部の IPM がピマン性に染色された。しかし、内節基底側半分の IPM はほとんど染色されなかった(図 1a: 暗順応型)。

2. ラットを室内光下に明順応させて1分後に灌流固定した場合、視細胞外節先端部および基底部(内節先端部を含む)の IPM が帯状に染色された。外節中間部の IPM の染色は弱かった。内節基底部の IPM はほとんど染色されないか、あるいは部分的にごくわずかに染色された(図 1b: 初期明順応型)。ラットを室内光下に明順応させて5, 10, 15, 30分後に灌流固定した場合、共通して次の IPM 染色が観察された。視細胞外節先端部の IPM が帯状に染色されるとともに、外節基底部から視細胞内節全体にわたって IPM が染色された。また、外節中間部の IPM の染色は、明順応1分後と同様に弱かった(図 1c: 明順応5分後: 後期明順応型)。

3. ラットの眼球に過度の光を照射しながら灌流固定した場合、ほとんどの眼球部位で内節周囲の IPM は集積したままの状態に染色されるとともに、暗順応下と同様に外節全体にわたってピマン性に IPM が染色された。すなわち、視細胞層全体にわたって IPM が一様に強く染色された(図 1d: 過度光照射型)。しかし、切片によっては、眼球赤道部の一部で明順応5~30分と同様の染色像(後期明順応型)が観察された。

## IV 考 按

今回の実験において、暗状態から明状態へ光環境が変化するのに伴って起こる IPM 分布の変化を、光の強さと光照射時間をパラメーターとして調べた。先の報告<sup>2)~4)</sup>を確認するとともに、IPM の光応答をより詳細に、動的に把握することができた。すなわち、暗順応下では視細胞外節周囲全体及び内節先端部にピマン性に分布していた IPM (暗順応型)が、まず室内光に応答して外節先端部および基底部(内節先端部を含む)へ分布濃縮(分離)する(初期明順応型)。光照射の時間がのびると、次の段階として、外節周囲の IPM は両

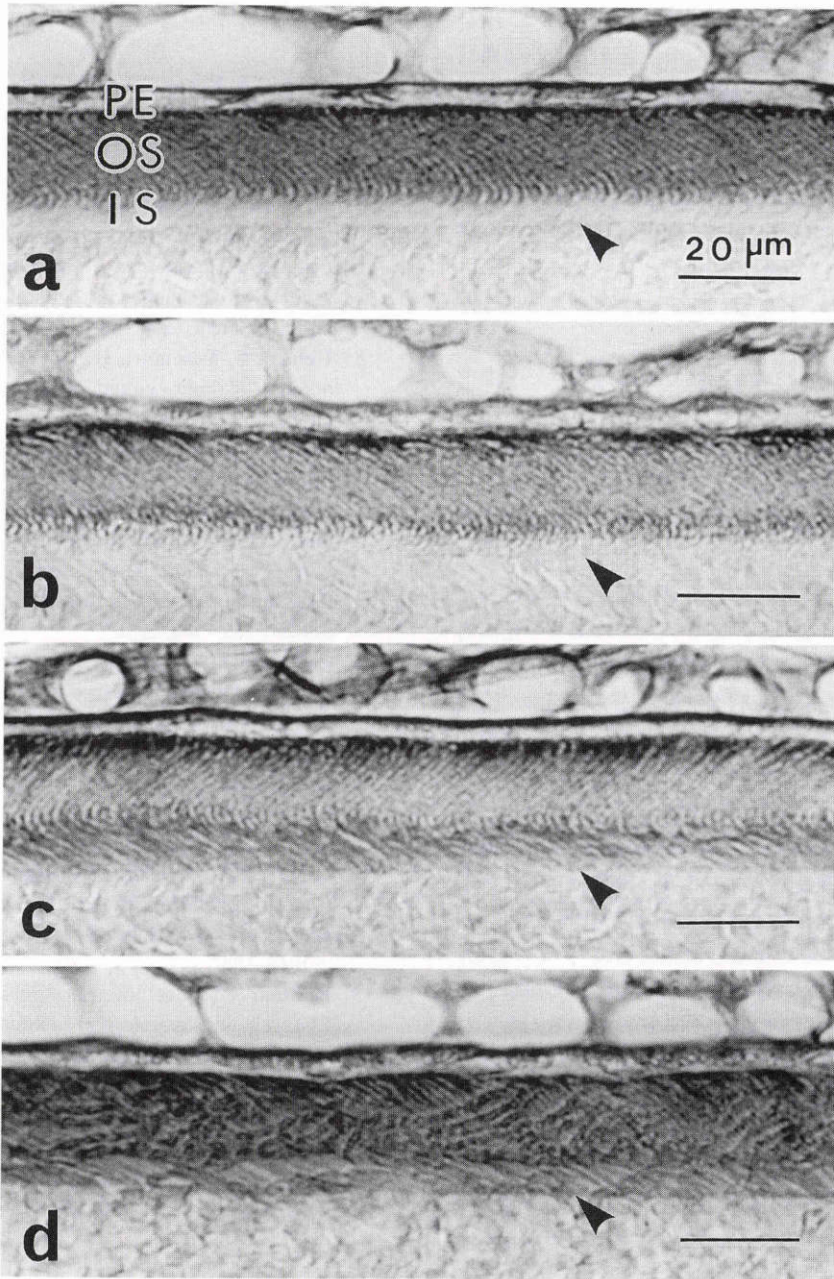


図1 ラット網膜光受容体間基質 (IPM) のコロイド鉄染色像 (×750)

a: 暗順応下では、視細胞外節全体及び内節先端部の IPM がビマン性に染色されているが、内節基底側半分の IPM は殆ど染色されていない(暗順応型)。PE: 網膜色素上皮; OS: 視細胞外節; IS: 視細胞内節; 矢頭: 外境界膜. b: 明順応 1 分後では、視細胞外節先端部及び基底部 (内節先端部を含む) の IPM が帯状に染色されているが、外節中間部の IPM 染色は弱く、内節基底部の IPM は殆ど染色されていない (初期明順応型)。矢頭: 外境界膜. c: 明順応 5 分後では、視細胞外節先端部が帯状に、外節基底部から視細胞内節全体にわたってビマン性に IPM が染色されているが、外節中間部の IPM 染色は弱い(後期明順応型)。矢頭: 外境界膜. d: 過度の光を照射した場合、視細胞層全体にわたって IPM が染色されている (過度光照射型)。矢頭: 外境界膜

端に分離したままで、視細胞内節の基底部まで IPM が蓄積する(後期明順応型)。このことから、外節周囲の IPM の光応答と、内節基底部の IPM の光応答とは同時に起こるのではなく、前者がまず起こったあとに後者が起こることが判明した。前者は視細胞外節の電気生理学的変化(過分極)に伴って、迅速におこる反応であろうと推定される。それに対し、後者は内節で産生される IPM 成分が、明状態下では外節側への拡散が阻害されて、内節部に次第に蓄積するのではないかと考えられる。

過度の光を照射した場合、多くの眼球部位で内節部周囲の IPM は集積したままの状態にとどまり、外節先端部および基底部に分離していた IPM は暗順応下と同様に再び外節全体にわたってビマン性に分布するようになる(過度光照射型)。一部の眼球赤道部では後期明順応型の IPM 分布を呈したままのことがあるが、これは微妙な光の不均一性のために強い光が当たらない部位が存在するためか、あるいはその部位の光に対する感受性が低いためか、2つの理由が考えられるであろう。過度の光を長時間当て続けると視細胞が変性することが報告<sup>67)</sup>されている。だが、外節から内節が変性短縮する間、過度光照射型の IPM 分布はそのまま保持されることを筆者らは観察している<sup>9)</sup>。また、遺伝性のラットあるいはマウスの視細胞変性でも、視細胞外節が短くなるのに先行、あるいは並行して、明暗の光の条件に関係なく過度光照射型の IPM 分布が共通してみられることを筆者らは報告した<sup>9)</sup>。この場合、IPM の光応答に伴う視細胞と網膜色素上皮細胞との間の物質交換、輸送が障害されるわけであるから、これによって視細胞外節の変性が加速されている可能性が高い。また、内節から産生される IPM 成分が内節部に蓄積することによって内節の機能にフィードバックがかかり、外節新生機能などが抑制されている可能性もあるであろう。今回、同定された IPM 分布の過度光照射型は、視細胞変性の前段階として重要な意義を有

しているものと考えられる。

#### 文 献

- 1) Adler AJ, Evans CD: Proteins of the bovine interphotoreceptor matrix: Retinoid binding and other functions. In Bridges CD, Adler AJ (ed), *The Interphotoreceptor Matrix in Health and Disease*, New York, Alan R Liss Inc, 65—88, 1985.
- 2) Uehara F, Yasumura D, LaVail MM, et al: Light-evoked changes in the interphotoreceptor matrix. *Science* 248: 1633—1636, 1990.
- 3) Uehara F, Yasumura D, LaVail MM: Development of light-evoked changes of the interphotoreceptor matrix in normal and RCS rats with inherited retinal dystrophy. *Exp Eye Res* (in press, 1991).
- 4) Uehara F, Yasumura D, LaVail MM: Rod- and cone-associated interphotoreceptor matrix in the rat retina: Differences in light-evoked distributional changes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 32: 285—292, 1991.
- 5) LaVail MM, Pinto LH, Yasumura D: The interphotoreceptor matrix in rats with inherited retinal dystrophy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 21: 658—668, 1981.
- 6) Noell WK, Walker VS, Kang BS, et al: Retinal damage by light in rats. *Invest Ophthalmol* 5: 450—473, 1966.
- 7) LaVail MM, Gorrin GM, Repaci MA, et al: Genetic regulation of light damage to photoreceptors. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 28: 1043—1048, 1987.
- 8) Röhlich P: The interphotoreceptor matrix: Electron microscopic and histochemical observations on the vertebrate retina. *Exp Eye Res* 10: 80—96, 1970.
- 9) Yasumura D, Uehara F, LaVail MM: Development of light-evoked changes of the interphotoreceptor matrix in normal and degenerative retinas. *Invest Ophthalmol Vis Sci (Suppl)* 31: 72, 1990.