

## 網膜光受容体間基質分布の2相性光応答の検出

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

種々の年齢の正常白色ラットの明、暗順応下の網膜光受容体間基質 (IPM) のコロイド鉄染色像について比較検討した。暗順応下では、すべての日齢、年齢で視細胞外節全体および内節先端部に、IPM のビマン性の分布 (暗順応型) が観察された。明順応下では、生後12日目にはまだ暗順応型を示したが、生後14日目にはこれに加え、ところどころ内節基底部まで IPM の分布が拡大した。生後16日目に初めて外節先端部と外節基底部および内節先端部に IPM の集積像 (明順応型) がみられたが、明順応時間が長くなるとともに、内節周囲の IPM 分布は先端部から基底部へと拡大した。生後1年目には再び生後14日目と同じ IPM の分布が観察された。IPM の光に応答した分布の変化は、視細胞外節部 (内節先端部を含む) と内節基底部との間で分離しており、後者が前者よりも発生学的により早く出現するだけでなく、より長期にわたって保存されることが判明した。(日眼会誌 95:850-853, 1991)

キーワード: 網膜光受容体間基質, 光応答, 生後発達, ラット, コロイド鉄染色

## Detection of Dual Phase of Light Response 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

The postnatal development of light-evoked changes in the interphotoreceptor matrix (IPM), a complex of the extracellular matrix that surrounds the photoreceptors and lies between them and the retinal pigment epithelium, was studied by use of a histochemical probe colloidal iron in rats at various postnatal days of age. In the dark, IPM constituents distributed uniformly throughout the outer segment zone and in the apical region of the inner segment zone; this dark pattern of IPM distribution was commonly observed in animals ranging from postnatal day 12 to one year. In the light, little changes were observed at postnatal day 12, followed by varying light-evoked changes in the IPM with increasing ages. At postnatal day 14, the IPM constituents showed a distribution towards the basal region of the inner segment zone along with the dark pattern. At postnatal day 16, they concentrated in bands at the apical and basal region of the outer segment zone, and also in the inner segment zone with expansion from the apical to basal region with increasing time after light exposure. At age one year, the light-adapted IPM constituents were distributed in a manner similar to that on postnatal day 14. The present results confirm the light-evoked changes in the IPM as revealed by colloidal iron-recognized IPM components and provide evidence for postnatal development of the light-evoked

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11月30日受付, 平成2年12月27日改訂受理)

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

8-35-1 Sakuragaoka, Kagoshima 890, Japan

(Received November 30, 1990 and accepted in revised form December 27, 1990)



changes in the IPM components, whereby the changes appeared earlier and were preserved longer in the basal region of the inner segment. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 95: 850-853, 1991)

**Key words:** Interphotoreceptor matrix, Light response, Postnatal development, Rat, Colloidal iron staining

## I 緒 言

光受容体間質(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ているが、実験の時刻に無関係に、明暗の光環境の変化に依存してその局在部位が変化する<sup>1)~3)</sup>。すなわち、IPMは、暗順応下では視細胞外節全体および内節先端部にビマン性に分布するのに対し、明順応下では視細胞外節先端部に帯状に、外節基底部から視細胞内節全体にわたってビマン性に分布する<sup>1)~3)</sup>。一方、暗順応から明順応に移行する際のIPMの分布の変化(IPMの光応答)を、明順応光照射時間をパラメーターとして調べると、視細胞外節および内節先端部周囲のIPMの光応答の方が、内節基底部周囲の光応答よりも時間的に先行しておこる<sup>4)</sup>。このようにIPMの光応答の様式は、視細胞の部位によって2つの成分に分離される可能性が高い。そこで本研究においては、幼若および1歳齢ラットを用いた実験を追加することによって、このことをさらに明確にした。

## II 実験方法

明(7AM 照明 on: cage 部照度は20ft-c) : 暗(7PM 照明 off) = 12 : 12時間周期下に飼育した白色ラット(RCS-rdy<sup>+</sup>; 生後12日, 14日, 16日, 1年)を明順応(cage 部照度は50ft-c) 1, 5, 30分後(7AM 照明 on), あるいは暗順応(絶対暗室内; 7~9AM) 2時間後に、炭酸ガスを吸引させることによって安楽死させた(各実験条件につき3~4匹ずつラットを使用)。死後直ちにこれらのラットを先に報告した方法<sup>1)~4)</sup>で灌流固定した。眼窩内容除去を行い、さらに一晚浸潤固定の後、水洗し、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>5)</sup>でコロイド鉄染色した。網膜色素上皮、視細胞外節、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した。なお、光頻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り、これらを一括して観察結果にはIPMと記載した。

## III 結 果

1. 生後12日目。明順応時間に無関係に、明順応下でも暗順応下でも、視細胞外節全体から内節先端にかけて、IPMのビマン性のコロイド鉄染色像が観察された。内節基底側半分のIPMは明、暗順応ともにほとんど染色されなかった(図1a, b)。すなわち、この日齢ではIPMの光応答はみられなかった。

2. 生後14日目。1分間の明順応後には、外節全体から内節先端にかけてビマン性のIPM染色像が観察された<sup>2)</sup>。明順応後5~30分と時間が長くなると、明順応早期と同じ染色像を示した眼球部位<sup>2)</sup>と、さらに内節基底部までビマン性にIPMの染色部位が拡大した部位(図1c)とがみられた。両者の割合はラットによって異なっていた。暗順応下では、外節全体から内節先端にかけてビマン性のIPM染色像が観察された<sup>2)</sup>(図1d)。

3. 生後16日目。1分間の明順応後には、外節先端部、外節基底部および内節先端部にIPMの染色像がみられた。そして、内節基底部側に点状にIPMの染色像がところどころみられた(図1e)。明順応後5~30分と時間が長くなると、外節先端部に帯状に、内節全体にビマン性にIPM染色像がみられた。これは既報告の典型的な明順応パターン<sup>1)</sup>に一致する。暗順応下では、外節全体から内節先端にかけてのビマン性のIPM染色像が観察された<sup>2)</sup>(図1f)。

4. 生後1年目。1分間の明順応後には、外節全体から内節先端部にかけてビマン性に強いIPM染色像が観察された。明順応5~30分後には、外節および内節の全体にわたりビマン性に強いIPM染色像が観察された(図1g)。暗順応下では、外節全体から内節先端にかけてビマン性に強いIPM染色像が観察された(図1h)。

## IV 考 按

ラットIPMの光応答は、生後16日目になって初めて出現することを先に報告した<sup>2)</sup>。今回、再度視細胞内節基底部のIPM分布に注目して詳細に観察したとこ



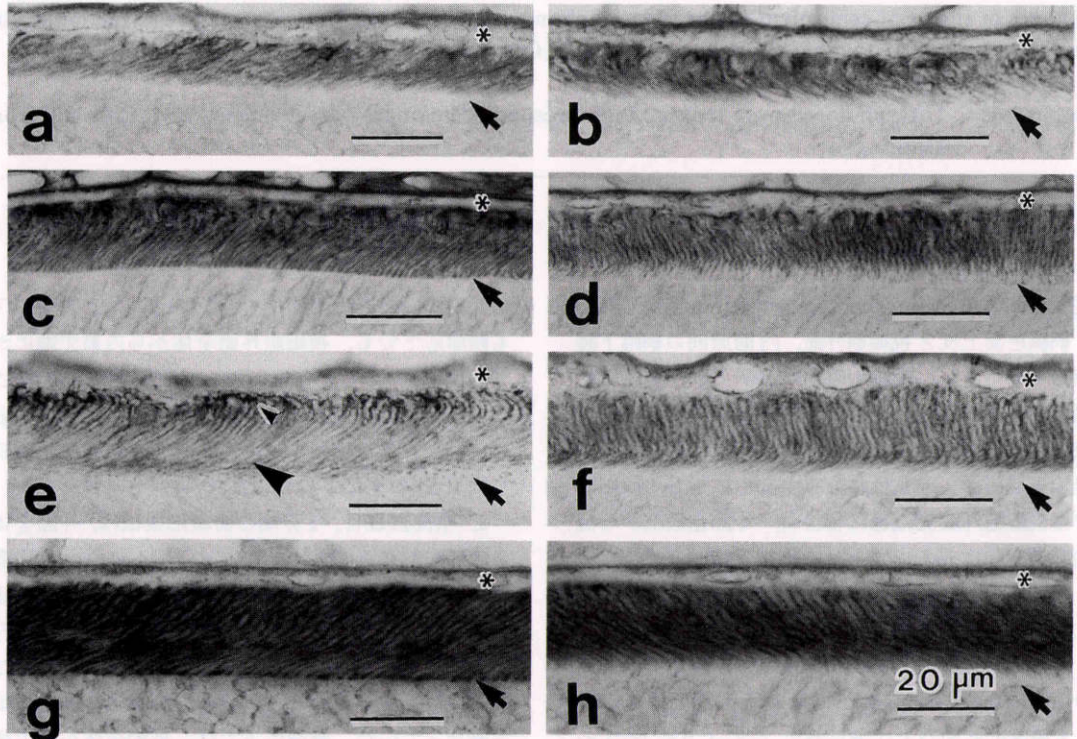


図1 網膜光受容体間基質 (IPM) のコロイド鉄染色像 ( $\times 600$ ; \*: 網膜色素上皮細胞, 矢印: 外境界膜)

a), b) 生後12日目. 明順応5分後(a), および暗順応2時間後(b)とも, 視細胞外節全体および内節先端側半分領域に, IPMのビマン性のコロイド鉄染色像が観察される. c) 生後14日目. 明順応5分後, 外節, 内節全体にわたりビマン性にIPMの染色像が観察される. d) 生後14日目. 暗順応2時間後, 外節全体から内節先端部にかけてビマン性のIPM染色像が観察される. e) 生後16日目. 明順応1分後, 外節先端部(小矢頭)と外節基底部(大矢頭; 内節先端部を含む)にIPMの染色像がみられる. また, ところどころ内節基底部側(大矢頭と矢印の間)に点状の染色像もみられる. f) 生後16日目. 暗順応2時間後, 外節全体から内節先端部にかけてビマン性のIPM染色像が観察される. g) 生後1年目. 明順応5分後, 外節, 内節全体にわたりビマン性に強いIPMの染色像が観察される. h) 生後1年目. 暗順応2時間後, 外節全体から内節先端部にかけてビマン性の強いIPM染色像が観察される.

る, まだ視細胞外節周囲で光に応答したIPMの外節先端部と内節先端部を含む外節基底部への解離がおこらない生後14日目の時点で, 既に一部の眼球部位では光に応答して内節基底部周囲へのIPMの蓄積が始まっていた. すなわち, 発生学的には内節基底部周囲へのIPM蓄積光応答の方が, 外節および内節先端部周囲のIPM光応答よりもより早い時期から出現することが明らかになった. また, 生後1年目のラットで光に対する外節周囲のIPMの解離が既におこらなくなっているにもかかわらず, 内節基底部周囲へのIPMの蓄積応答はまだ観察された. すなわち, 内節基底部周囲へのIPM蓄積光応答の方が, 外節および内節先

端部周囲のIPM光応答よりも加齢変化の影響を受けにくく, より長く保たれることが判明した.

成熟ラットを暗室から明室へ移した場合, 外節および内節先端部周囲のIPM光応答(初期明順応型)の方が, 内節基底部周囲へのIPM蓄積光応答(後期明順応型)よりも時間的に早く起こる<sup>4)</sup>ことを先に報告した. 今回の幼若および1歳齢ラットを用いた研究によって, IPMの光応答は後期明順応型の方が初期明順応型よりも発生学的により早く出現するだけでなく, より長期にわたって保存されることが明らかになったことから, 今後とも, IPMの光応答は, 2相性の応答としてそれぞれの成分を区別して研究を進めていく必要が

あるであろう。

ところで、今回得られた1歳齢ラットの明順応下のIPM染色像は、通常の明室光下に灌流固定したにもかかわらず、成熟ラットの過度光照射型<sup>4)</sup>と同じパターンを示したことは、とくに興味深い。このIPMパターンは、種々のラット、マウスの遺伝性視細胞変性に先行、あるいは並行してみられるIPM染色像<sup>6)</sup>と類似していることから、1歳齢ラット視細胞は、既に加齢変性の準備段階に入っているのではないかと推定される。

#### 文 献

- 1) Uehara F, Yasumura D, Matthes MT, et al: Light-evoked changes in the interphotoreceptor matrix. *Science* 248: 1633—1636, 1990.
- 2) 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* 1991(in press).
- 3) 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.
- 4) 上原文行, 大庭紀雄, LaVail MM, 他: 網膜光受容体間基質分布の光応答の型分類. *日眼会誌* 95: 445—448, 1991.
- 5) Röhlich P: The interphotoreceptor matrix: Electron microscopic and histochemical observations on the vertebrate retina. *Exp Eye Res* 10: 80—96, 1970.
- 6) 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.