

発達期ヒト角膜内皮の超微形態

—走査型および透過型電子顕微鏡的検討—

伊地知 洋¹⁾, 樋田 哲夫¹⁾, 福田 稔²⁾, 東 範行³⁾

¹⁾杏林大学医学部眼科学教室, ²⁾杏林大学医学部電子顕微鏡室, ³⁾国立小児病院眼科

要 約

胎齢5週から生後10か月までのヒト眼球標本26眼を使用し、走査型および透過型電子顕微鏡を用いて、角膜内皮の超微形態につき検討した。角膜内皮は胎齢7～8週頃から認められ、初期は不整形で2～3層構造であった。胎齢17週頃より1層となり、立方上皮の形態となった。初期の前房側には走査型および透過型電子顕微鏡にて多数のmicrovilliが認められたが、胎齢20週頃ではこれらは消退し、次いで細胞の中央に1本の細長いciliumが認められた。これらのciliumは発達と共に退縮し、生後10か月ではわずかな細胞にのみみられた。初期のmicrovilli内には均一なmicrotubuleのみが見られたが、胎齢中期のciliumには軸糸複合体(axial filament complex)構造が観察された。このciliumの役割は不明であるが、発達期の一時期に角膜内皮は特殊な形態を呈することが判明した。(日眼会誌 96:1351-1356, 1992)

キーワード：発達期ヒト角膜内皮, 走査型および透過型電子顕微鏡, 微絨毛, 絨毛, 軸糸複合体

Scanning and Transmission Electron Microscopic Studies of the Ultrastructure of the Corneal Endothelium in Developing Human Eye

Hiroshi Ijichi¹⁾, Tetsuo Hida¹⁾, Minoru Fukuda²⁾ and Noriyuki Azuma³⁾

¹⁾Department of Ophthalmology, Kyorin University School of Medicine

²⁾Laboratory for Electron Microscopy, Kyorin University School of Medicine

³⁾Eye Clinic, National Children's Hospital

Abstract

The ultramicrostructure of the human corneal endothelium was examined by scanning and transmission electron microscopy. The samples were corneas of 26 human eyes taken from fetuses of 5-22 weeks gestation and a newborn 10 months after birth. Corneal endothelium appeared at the seventh or eighth week after gestation. Initially, they formed an irregular structure of two to three layers. From the 17th week of gestation they formed a single layer, and assumed the form of a cuboidal epithelium. Scanning and transmission electron microscopy showed numerous microvilli protruding towards the anterior chamber. Within the microvilli uniform microtubules were observed. By the 20th week, these microvilli disappeared, and subsequently, a single long narrow cilium appeared in the center of each cell. Each cilium had an axial filament complex structure. This cilium involuted as development progressed, and was barely visible by the 10th month after birth. The significance of this cilium is not clear. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 96:1351-1356, 1992)

Key words: Development of human corneal endothelium, Scanning and transmission electron microscopy, Microvilli, Cilium, Axial filament complex

別刷請求先：181 三鷹市新川6-20-2 杏林大学医学部眼科学教室 伊地知 洋

(平成3年11月27日受付, 平成4年4月30日改訂受理)

Reprint requests to: Hiroshi Ijichi, M.D. Department of Ophthalmology, Kyorin University School of Medicine, 6-20-2 Shinkawa, Mitaka-shi 181, Japan

(Received November 27, 1991 and accepted in revised form April 30, 1992)

I 緒 言

角膜内皮の発生学的起源については不明な点が多い。発生過程における超微形態についてはこれまでに各種動物での報告はあるものの、ヒト胎生期角膜については透過型電子顕微鏡(TEM と略す)を使っての検討がわずかに行われているが^{1)~3)}、走査型電子顕微鏡(SEM と略す)を含めて系統的に行ったものはない。今回我々は、ヒト角膜内皮の発達期における超微形態の変化につき透過型および走査型電子顕微鏡所見を含めて検討したので報告する。

II 方 法

試料は、胎齢5週から22週までの胎児および生後10か月の新生児のヒト眼球計26眼を使用した。これらは死体解剖保存法に則り得られたものであり、標本は摘出後直ちに2%グルタルアルデヒド液(pH 7.4)で約3時間固定し、半割した後、再度2%グルタルアルデヒド液にて一晚浸漬させ、翌日100 mM カコジル酸緩衝液にて洗浄した後、1%四酸化オスmiumで1時間後固定した。その後、エタノール系にて脱水し、一部はSEM用に臨界点乾燥後、金蒸着を行い、JSM-T 330型走査型電子顕微鏡にて鏡検、撮影を行った。他の一部はTEM用にエポンに包埋し、超薄切片作製後、酢酸ウランおよびクエン酸鉛染色を行い、

JEOL 1200 EX 型透過型電子顕微鏡にて鏡検、撮影を行った。

なお、標本作製には角膜中央部のみを用いた。

III 結 果

1. 胎齢5~11週目：角膜内皮は2~3層構造から

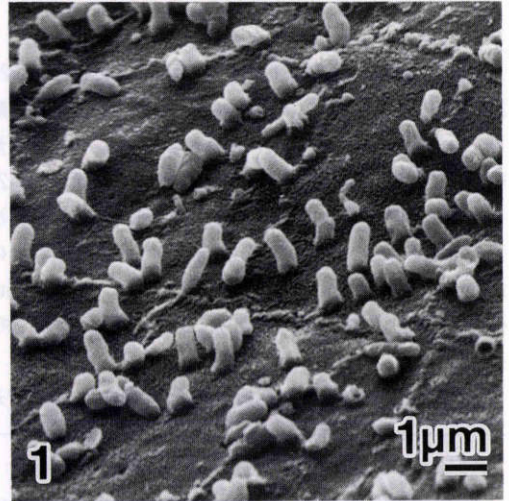


図1 胎齢16週の角膜内皮の走査電顕像。角膜内皮は不整形で、大小不同の大きさを呈している。また、その表面には多数のmicrovilliが認められる(×6,000)。

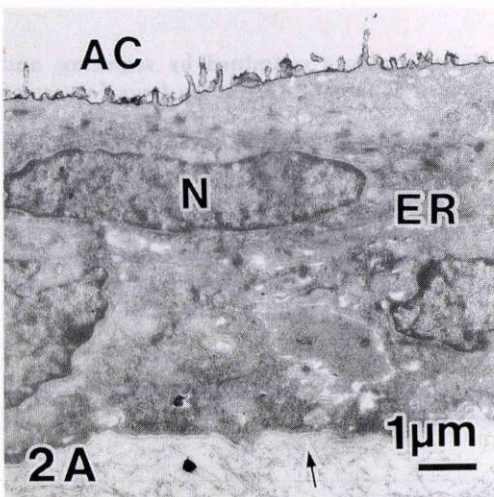


図2A 胎齢16週の角膜内皮の透過電顕像。2~3層構造から成る角膜内皮が観察される。実質側には、基底膜(矢印)が認められた(×7,400)。AC：前房，N：核，ER：粗面小胞体

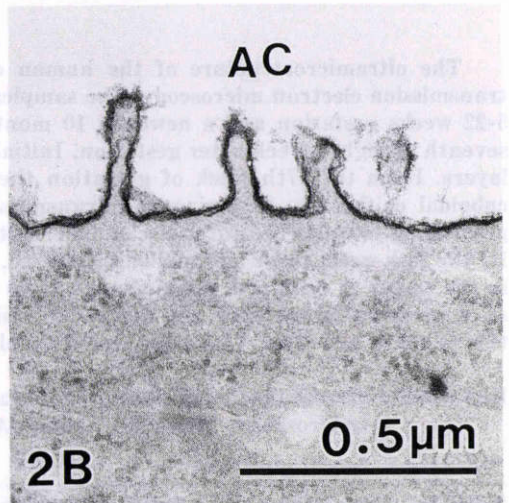


図2B 胎齢16週の角膜内皮の透過電顕像(拡大)。Microvilliの縦断面が観察される(×62,000)。AC：前房

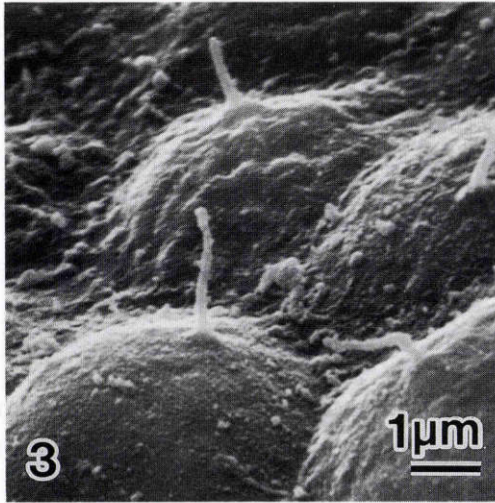


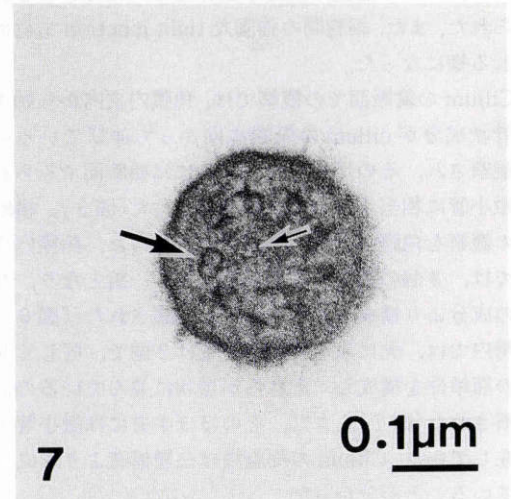
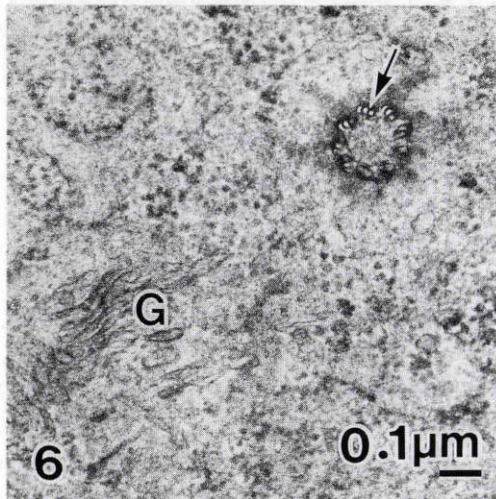
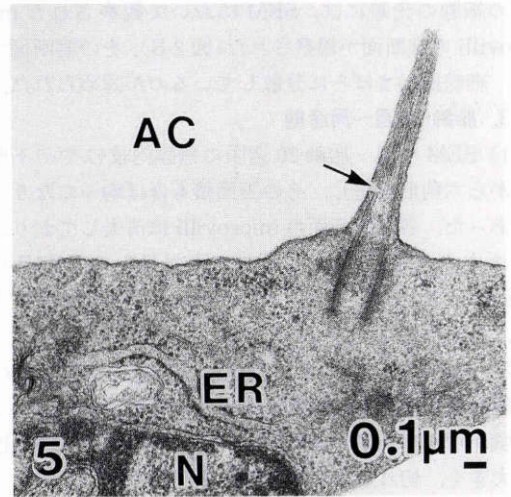
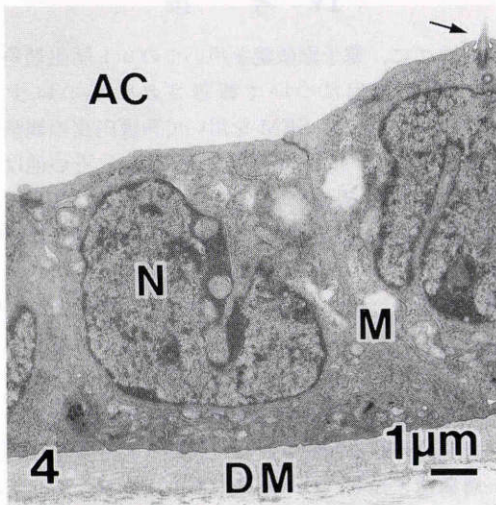
図3 胎齢22週の角膜内皮の走査電顕像。各細胞の中央に前房へ向かって伸びる1本の細長いciliumを認める(×9,500)。

図4 胎齢22週の角膜内皮の透過電顕像。この頃より1層構造となり、立方性を呈している。核が非常に大きく、細胞小器官もよく認められる(×6,000)。AC:前房、N:核、M:ミトコンドリア、DM:デスメ膜、矢印:ciliumの縦断面

図5 胎齢22週のciliumの透過電顕像。角膜内皮内から始まる管状成分がciliumの先端へ伸びている。その間に微細管構造(矢印)も透見される(×30,000)。AC:前房、N:核、ER:粗面小胞体

図6 胎齢22週の角膜内皮内でのciliumの透過電顕像。3個の隣接する微細管が一組(矢印)となり、9個の亜単位が環状に並んでいる(×55,000)。G:ゴルジ装置

図7 胎齢22週の前房内でのciliumの透過電顕像。2個の隣接する微細管が一組(大矢印)となり、9個の亜単位が環状に並んでいる。その中央に微細管(小矢印)が認められる(×62,000)。



なる重層構造を呈し、細胞間隙は拡大していた。デスメ膜は観察されなかった。SEMは施行し得なかった。

2. 胎齢 12~16 週目

1) SEM 所見：この頃の角膜内皮は不整形で、大小不規則な大きさを呈していた。その前房側には多数の microvilli が認められた (図 1)。各 microvilli は約 $1 \mu\text{m}$ の長さで、直径は約 $0.5 \mu\text{m}$ であった。

2) TEM 所見：角膜内皮は 2~3 層構造よりなり、最も前房側の細胞は扁平であったが、他は多形性で細胞間隙の拡大も認められた。また、所どころで desmosome 様構造がみられた。この頃、デスメ膜はまだ観察されなかったが、基底膜の形成は認められた (図 2A)。細胞内の核は前房側の細胞では扁平であったが、他は種々の形態をとり、細胞小器官はいずれの細胞においても粗面小胞体以外は不明瞭であった。前房側の細胞の先端には、SEM において観察された microvilli の縦断面が観察された (図 2B)。その縦断面では、細線維がまばらに分散しているのが認められた。

3. 胎齢 17 週~周産期

1) SEM 所見：胎齢 20 週頃の角膜内皮はやや不整ながら六角形を呈し、その表面積もほぼ均一になりつつあった。各細胞表面の microvilli は消失しており、ほぼ中央に前房側へ向かって伸びる 1 本の細長い cilium を認めた (図 3)。各 cilium は約 $2 \mu\text{m}$ の長さで、直径は約 $0.2 \mu\text{m}$ であった。

2) TEM 所見：胎齢 17 週頃より角膜内皮は本来の一層構造となり、縦断面では正方形を呈していた。この頃からデスメ膜の形成が明らかとなった (図 4)。核は大きく、切れ込みが目立ち、細胞小器官もミトコンドリア、ゴルジ装置、粗面小胞体などがはっきりと認められた。また、細胞間の強固な tight junction も認められるようになった。

Cilium の縦断面での観察では、角膜内皮内から始まる管状成分が cilium の先端に向かって伸びているのが観察され、その切片内での中央には横断面でみられる微小管に相当する管状構造がみられた (図 5)。横断面の観察を角膜内皮内と、前房内で行った。角膜内皮内では、3 個の隣接する微小管 3 個が一組となり、9 個の成分より構成されているのが観察された (図 6)。前房内では、先にみられた微小管は 2 個で、同じく 9 個の垂単位を構成し、それらが環状に並んでいるのが観察された (図 7)。また、そのほぼ中央には微小管が存在していた。Cilium の細胞膜は三層構造より形成されていることが分かった。

4. 生後 10 か月

1) SEM 所見：角膜内皮は本来の六角形を呈していた。極少数ではあったが、胎齢 22 週時にみられた細長い cilium が細胞中央から前房側へ伸びているのが観察された (図 8A, B)。この cilium の平均的長さは約 $2 \mu\text{m}$ で、直径は $0.2 \mu\text{m}$ と胎齢 22 週時みられたものとはほぼ同様の大きさであった。

2) TEM 所見：胎齢期の角膜内皮に比べると全体的に扁平化し、核は楕円形で切れ込みなどはなく、ミトコンドリアや粗面小胞体などが豊富にみられた。また、デスメ膜も本来の厚さをもって認められた (図 9)。Cilium の横断面および縦断面では、先の胎齢 22 週時にみられた cilium と同様の内部構造が認められた (図 10)。

IV 考 按

現在までに、電子顕微鏡を用いてのヒト胎生期角膜内皮の発生過程について報告されたものは少ない^{1)~4)}。これらの中、SEM を用いて角膜内皮の観察を行っているのは、杉田⁴⁾の報告だけであり、その他は全て TEM のみの観察である。今回我々は、TEM と SEM 両者を用いて発達期の角膜内皮の超微形態観察を行った。

角膜内皮は従来の報告とほぼ同様に、胎齢 2 か月頃から認められた。この頃は 2~3 層構造から成り、各細胞は大きさが不規則で未熟な tight junction で結合している。胎齢 4 か月頃の前房側の細胞の表面には多数の microvilli が観察された。胎齢 5 か月頃から内皮は一層構造となり、核の細胞内に占める割合が非常に大きくなり、細胞小器官の発達も認められるようになった。胎齢 6 か月には先の microvilli は消退し、各細胞の中央に細胞内から前房側へ向かって伸びる 1 本の cilium が認められた。従来の報告では、SEM を用いて杉田⁴⁾が胎齢 6 か月ヒト胎児の角膜内皮細胞の前房側表面に少数の短い microvilli と single cilium を認めている。形状、大きさ共に我々が認めたものと同じものであると思われる。これについて、ヒト成人あるいは成熟哺乳動物ではほとんど認められなかった事より、単なる胎生期の遺残物ではないかと述べている。また、水谷²⁾は胎齢 3 か月の TEM による観察で、Wulle³⁾は胎齢 8 週、9 週、10 週および 4 か月の TEM による観察で同様の cilium を認めている。Cintron⁵⁾は、胎齢 21 日目の家兎の SEM にて同様の cilium を観察している。今回はまず胎齢 15 週から 19 週にか

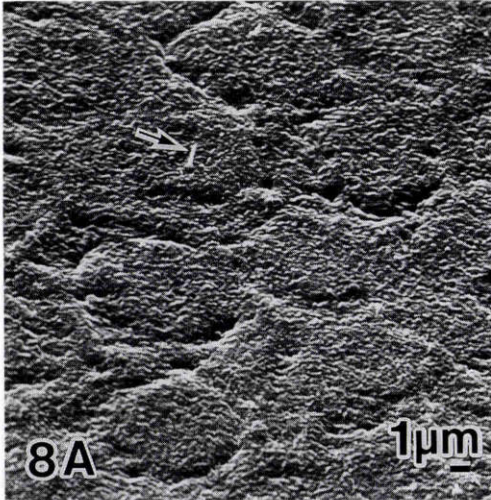


図8A 生後10か月の角膜内皮の走査電顕像。各細胞は六角形を呈している。Cilium (矢印)も認められる(×2,200)。

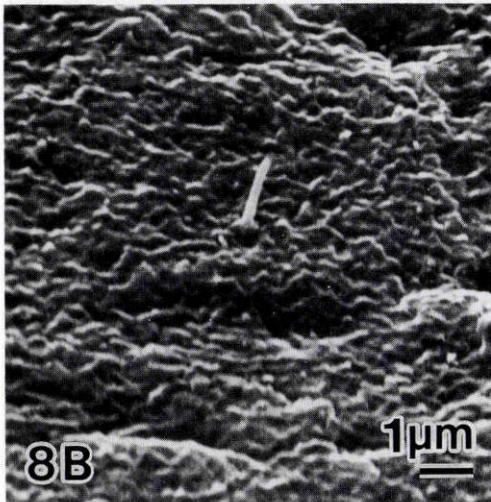


図8B 生後10か月のciliumの走査電顕像。一本の細長いciliumがごくわずかに認められる(×7,500)。

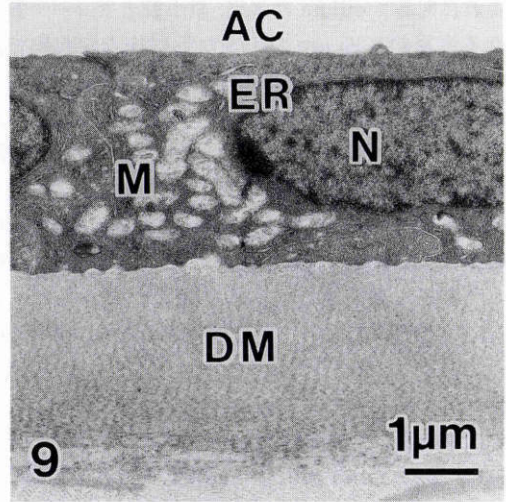


図9 生後10か月の角膜内皮の透過電顕像。細胞は本来の厚さをもって認められ、ミトコンドリアや粗面小胞体などが豊富に認められる(×10,000)。AC:前房, N:核, ER:粗面小胞体, M:ミトコンドリア, DM:デスマ膜

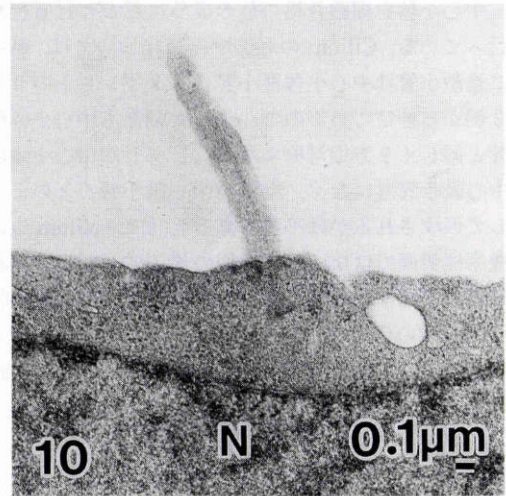


図10 生後10か月のciliumの透過電顕像。胎齢22週時と同様のciliumが認められる(×29,000)。N:核

けて microvilli が出現し、これが消退した後に全く別の cilium が胎齢 20 週頃から見られた。これが胎児期の一過性の所見であることが明らかになった。

Microvilli は、多くの動物細胞の表面にみられる指状の突起である⁹⁾。特に、その機能上非常に大きな表面積を必要とする上皮細胞に存在している。ヒト小腸においては、長さ 1 μm、直径約 0.08 μm の大きさで、細

胞の吸収面積は通常の約 20 倍も広くなると言われる。ヒトでの房水の生産は、胎生 4～6 か月頃に始まる⁷⁾。発達期のヒト角膜内皮の microvilli はこの房水産生開始時期とほぼ一致する事より、microvilli は房水の循環がまだ開始していない時期に増大する細胞内の代謝を行うための表面積拡大を担っていると考えられる。

これに対して cilium は本来、微小管とタンパク質からなる直径約 $0.25 \mu\text{m}$ の小さな毛の様な突起物である⁶⁾。Cilium はいろいろな種類の細胞の表面に生えており、ほとんどの動物と一部の二等動物にみられ、細胞はこの cilium によって表面の液体を動かし、単細胞の場合には液体中での遊泳に使われている。よく知られるヒトの気管の上皮細胞には 1cm^2 あたり 10^9 本以上の膨大な cilium があり、異物やバクテリアの様な吸入した顆粒を粘液層とともに喉頭まで掃きだしている。また、輸卵管に沿って卵を運搬するのも、cilium の働きである。一般的に cilium は、その芯にある軸糸(axoneme)の屈曲により運動を行う。この軸糸にはその中心構造としての微小管を持ち、1対の単微小管を中央に、そのまわりを9対の二連微小管が取り巻く、いわゆる“9+2”配列を持つ⁶⁾⁸⁾。発達期ヒト角膜での cilium の同様な構造は前房内だけであるが、角膜内皮内では、今回認められた様な3つの微小管が融合した三連管が9組配列し、中央の微小管は認められない。Cilium 軸糸の中心小体は習慣上基底小体と呼ばれる。この中心小体には基底小根と言う構造が付着しており、中心小体を細胞骨格の他の成分に結びつける役割を行っている。Cilium の形成や再生においては、軸糸の二連微小管は中心小体微小管のトリプレットのうちの2個から伸びているので、cilium 軸糸も中心小体微小管と同じく9方相対称になる。しかし、中心小体には中心微小管対はなく、軸糸の中心微小管がどのようにして形成されるかは不明である⁶⁾。また、cilium の運動機序は明確ではないが、9個の周辺成分が定められた順序に収縮する動きを起こすとされ、中央の微小管は活動刺激の伝達構造と考えられている⁸⁾。発達期ヒト角膜内皮において同様な cilium の構造が認められ

たことより、何らかの運動に関係していることが考えられる。ただし、この機能は不明である。Cilium は角膜内皮の起源や、発生期において特殊な役割りをしていられるかもしれない。胎生期にいかなる役割りをしていられるか、今後多くの動物における比較検討や別の面からのアプローチによる検討が必要であろうと思われる。

稿を終えるにあたり、御校閲頂きました藤原隆明教授に深謝致します。

本論文の要旨は、第95回日本眼科学会総会(1991)において発表した。

文 献

- 1) 宮下俊輔：胎生期角膜の電子顕微鏡的研究。第3報。人胎児角膜について。日眼会誌 68:526-539, 1964.
- 2) 水谷由紀夫：胎生期ヒト角膜の電子顕微鏡的組織化学的研究。日眼会誌 80:851-886, 1976.
- 3) Wulle KG: Electron microscopy of the fetal development of the corneal endothelium and Descemet's membrane of the human eye. Invest Ophthalmol 11: 897-904, 1972.
- 4) 杉田 新：眼組織の走査電子顕微鏡的研究。第1報。角膜上皮および角膜内皮。日眼会誌 80:867-882, 1976.
- 5) Cintron C, Covington HI, Kublin CL: Morphogenesis of rabbit corneal endothelium. Curr Eye Res 7: 913-929, 1988.
- 6) Alberts B, Bray D, Lewis J, et al: Molecular biology of the cell (2nd ed). New York, Garland Publishing, 644-652, 1989.
- 7) Wulle KG: The development of the productive and draining system of the aqueous humor in the human eye. Adv Ophthal 26: 296-355, 1972.
- 8) Toner PG, Carr KE: 細胞の構造。電子顕微鏡の見方。大森正樹(訳)。東京、文光堂、77-79, 1976.