

Royal College of Surgeons (RCS) ラットの角膜内皮細胞の 走査電子顕微鏡像

山口 克宏*, 山口 慶子*, James E. Turner**

*東北大学医学部眼科学教室, **ウェークフォレスト大学医学部解剖学教室

要 約

Royal College of Surgeons (RCS) ラットは、常染色体劣性遺伝の網膜変性を起こす網膜色素変性症の動物モデルであるが、今回 RCS ラットの角膜内皮を走査電子顕微鏡で観察した。生後1カ月の RCS ラットの角膜では、いくつかの内皮細胞表面に mushroom microvilli が認められた。生後3カ月の RCS ラットの角膜では、多くの角膜内皮細胞が明らかな細胞浮腫を示しており、表面には無数の filamentous microvilli が出現しているのが認められた。生後6カ月の RCS の角膜では、生後3カ月に認められた細胞浮腫は消失し、内皮細胞が slender microvilli をその表面に発現していた。今回示された RCS ラット角膜内皮細胞の病的変化は、変性が進行する網膜で産生された組織毒性酸化物質が前房に達し角膜内皮細胞を障害した結果生じたと考えられた。(日眼会誌 96: 28-33, 1992)

キーワード: 角膜内皮細胞, RCS ラット, 走査電子顕微鏡, 網膜変性

Scanning Electron Microscopic Observation of the Corneal Endothelium in the Royal College of Surgeons Rat

Katsuhiko Yamaguchi*, Keiko Yamaguchi* and James E. Turner**

*Department of Ophthalmology, School of Medicine, Tohoku University

**Department of Neurobiology and Anatomy, The Bowman Gray School of Medicine, Wake Forest University

Abstract

The pathologic change in the cell surface of the corneal endothelium of the Royal College of Surgeons (RCS) rat is reported. Scanning electron microscopy (SEM) of 1-month-old RCS rat revealed several mushroom-like microvilli on the endothelial surface. In the 3-month-old RCS rat, the corneal endothelium had numerous filamentous microvilli, and some of the corneal endothelial cells had cytoplasmic edema. In the 6-month-old RCS rat, SEM showed numerous slender microvilli on the surface of corneal endothelium. These endothelial changes could be caused by the toxic substances generated from the degenerating retina. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 96: 28-33, 1992)

Key words: Corneal endothelium, RCS rat, Scanning electron microscopy, Retinal degeneration

別刷請求先: 980 仙台市青葉区星陵町1-1 東北大学医学部眼科学教室 山口 克宏
(平成3年1月29日受付, 平成3年4月19日改訂受理)

Reprint requests to: Katsuhiko Yamaguchi, M.D. Department of Ophthalmology, School of Medicine, Tohoku University.

1-1 Seiryomachi, Aoba-ku, Sendai 980, Japan

(Received January 29, 1991 and accepted in revised form April 19, 1991)

I 緒 言

Royal College of Surgeons (RCS) ラットは、常染色体劣性遺伝の網膜変性を起こし、網膜色素変性症の動物モデルとして知られている¹⁾²⁾。RCS ラットは特徴的網膜変性に加えて、小眼球、白内障、毛様体の変性などの眼合併症を発症することが報告されており³⁾⁴⁾、遺伝的異常に加えて、変性網膜から発生する毒性物質に起因する組織障害機構が存在すると考えられている。しかし、これまで RCS ラットの角膜内皮細胞を観察した報告はない。我々は、RCS ラットの角膜内皮細胞を走査電子顕微鏡で観察し興味ある所見を得たので報告する。

II 実験方法

生後1, 3, 6カ月(各3匹)の RCS ラットを致死量のソディウムペンタバルビタールで屠殺し、眼球を摘出し直ちに Karnovsky 固定液のなかで角膜を切り出した後、さらに4℃で4時間固定した。次に0.1 M リン酸緩衝液で洗浄後、1%オスミウム酸で後固定した。50%, 70%, 90%, 95%エチルアルコール液でそれぞれ5分、100%エチルアルコールで10分を2回脱処理した後、二酸化炭素による臨界点乾燥を行った。カーボンで前蒸着した後、金蒸着装置にて金蒸着した組織を走査電子顕微鏡にて観察し写真撮影を行った。

III 結 果

生後1カ月の RCS ラットの角膜では、角膜内皮細胞は不規則な多角形配列を示し、内皮細胞の境界は明瞭で interdigitation もよく保存されていた。いくつかの内皮細胞表面には mushroom microvilli が認められていた(図1A, B)。生後3カ月の RCS ラットの角膜では、多くの角膜内皮細胞が細胞浮腫を示していたが、内皮細胞の脱落などは認められなかった。角膜内皮細胞の表面には無数の filamentous microvilli が出現しているのが認められた(図2A, B)。生後6カ月の RCS ラットの角膜内皮細胞表面には slender microvilli が認められたが、生後3カ月に認められた細胞浮腫は消失し、細胞の大小不同や脱落は明らかではなかった(図3A, B)。

IV 考 按

RCS ラットの網膜は生後約20日まで正常に発育するが、この時点から網膜下腔に視細胞外節が異常に蓄

積し、組織学的には debris として認められ、その結果生後2カ月までに網膜視細胞が2次的に変性消失する。これまで RCS ラットの網膜変性の原因が網膜色素上皮(RPE)にあることがキメラの実験で示され⁵⁾、さらに RPE の視細胞外節の食能に異常があることが報告されている⁶⁾⁷⁾。視細胞外節には多量の不飽和脂肪酸が含まれており、脈絡膜から供給される酸素と外界からの光エネルギーにより過酸化反応が生じている。正常のラットでは、superoxide dismutase や peroxidase などの還元酵素、vitamin A や vitamin E などの抗酸化剤が過酸化反応を中和していると考えられている。しかし、大量の不飽和脂肪酸を含有する視細胞外節が網膜下腔に異常に蓄積する RCS ラットでは、過酸化脂質、過酸化水素、活性酸素などの組織毒性酸化物質が産生され、これが網膜細胞を障害し変性に至らしめると考えられている⁸⁾。Zigler ら⁹⁾は、RCS ラットの硝子体中の過酸化物の濃度を測定し、網膜変性の進行する時期に著しく増加することから、これが RCS ラットの白内障の原因であると報告している。Wilson ら¹⁰⁾は、網脈絡膜変性症のひとつである脳回転状網脈絡膜萎縮症で、角膜内皮細胞のミトコンドリアに浮腫状変性が起こり角膜内皮細胞が脱落することを報告した。Hull ら¹¹⁾は、過剰の過酸化物が角膜内皮を障害することを報告し、Grayson¹²⁾は病的状態の角膜内皮細胞が mushroom microvilli, filamentous microvilli および slender microvilli を細胞表面に示すことを報告した。今回示された RCS ラット角膜内皮細胞の病的変化は、変性が進行する網膜で産生された組織毒性酸化物質が前房に達し角膜内皮細胞を障害した結果生じたと考えられた。すなわち、RCS ラットでは視細胞外節が網膜下腔に異常に蓄積し、過酸化脂質、過酸化水素、活性酸素などの組織毒性酸化物質が産生され網膜細胞を変性させると同時に、硝子体に拡散し水晶体では白内障を発症させ、さらに房水に拡散し角膜内皮細胞を障害すると考えられた。しかし、この角膜内皮細胞の病的変化が網膜色素上皮と同様に、組織に遺伝的に規定された変性である可能性もあり、今後さらに検討する必要があると思われる。

稿を終えるにあたり御校閲を賜りました東北大学眼科学教室玉井 信教授に深謝いたします。

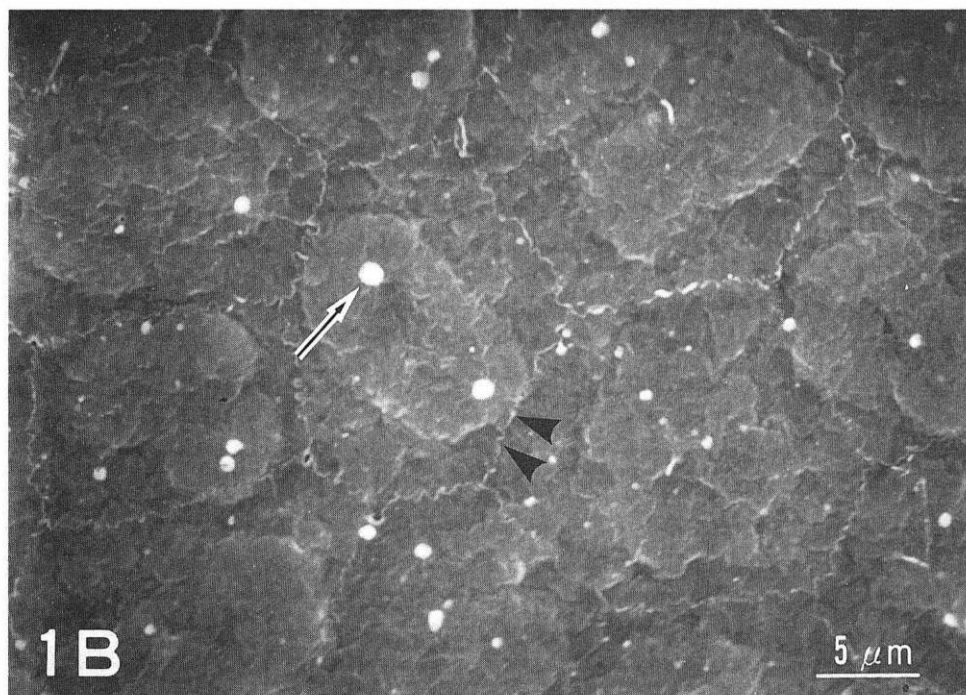
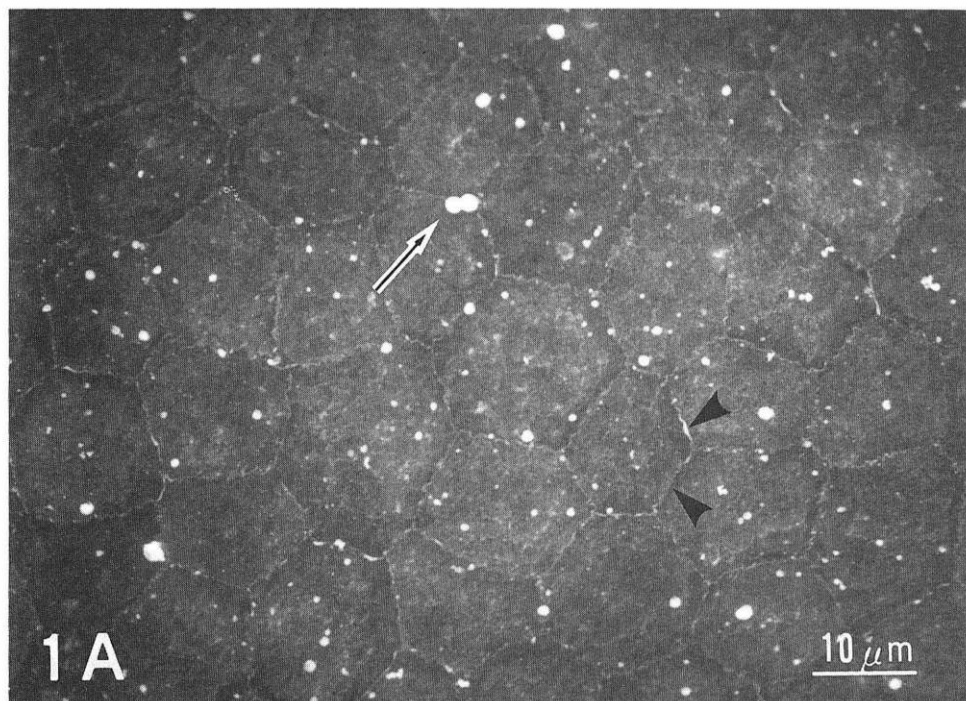


図1 A 生後1カ月のRCSラットの角膜内皮走査電子顕微鏡像, 不規則な多角形配列を示し, 内皮細胞の境界には interdigitation (矢頭) が明瞭である, 内皮細胞表面には mushroom microvilli (矢印) が認められている, ($\times 1,630$)

B 生後1カ月のRCSラットの角膜内皮細胞の拡大像, ($\times 3,260$)

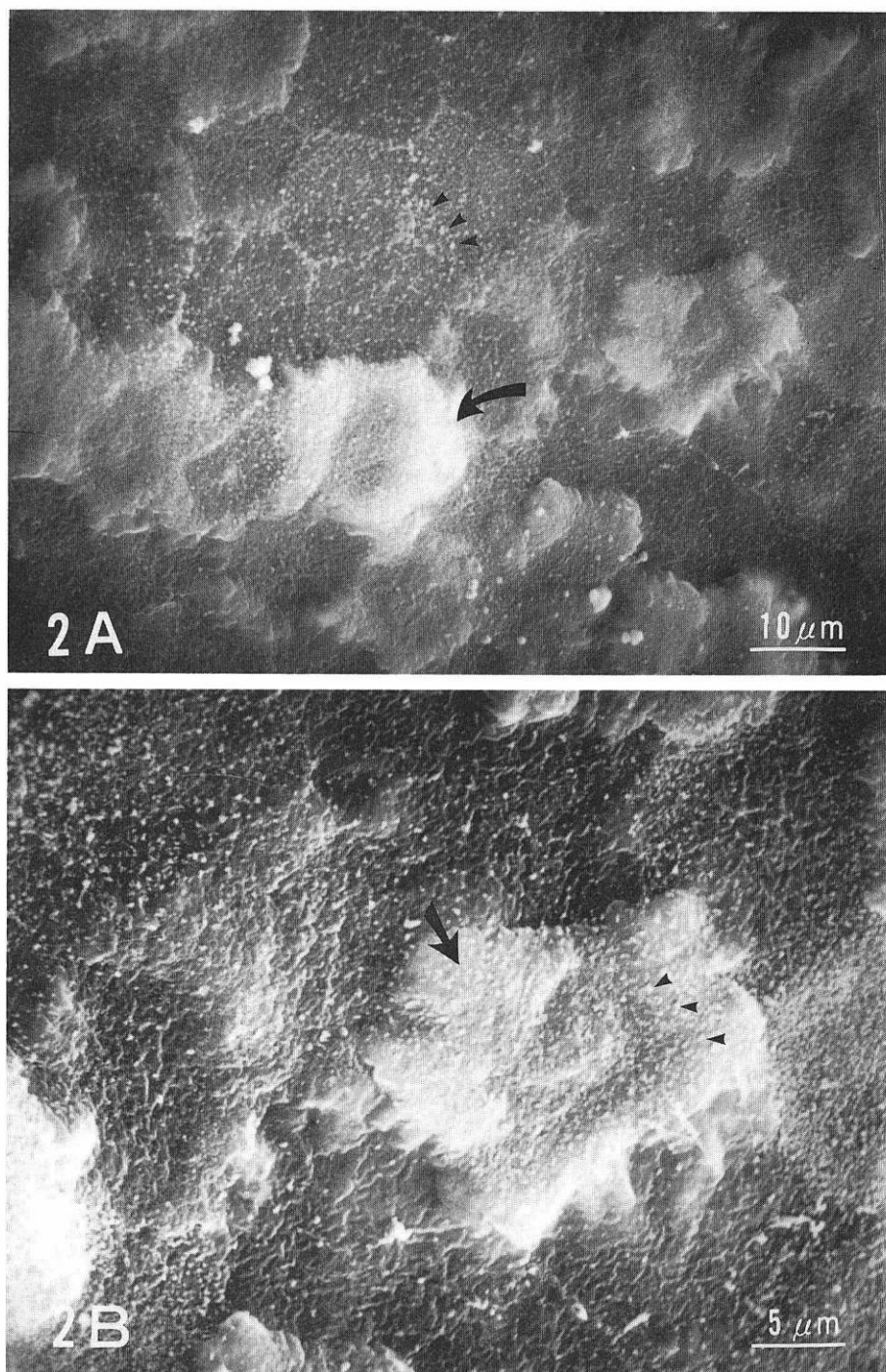


図2A 生後3カ月のRCSラットの角膜内皮走査電子顕微鏡像, 角膜内皮細胞が明らかな細胞浮腫を示している(矢印), 角膜内皮細胞の表面には無数の filamentous microvilli が出現している(矢頭), ($\times 1,630$)

B 生後3カ月のRCSラットの角膜内皮細胞の拡大像, ($\times 3,260$)

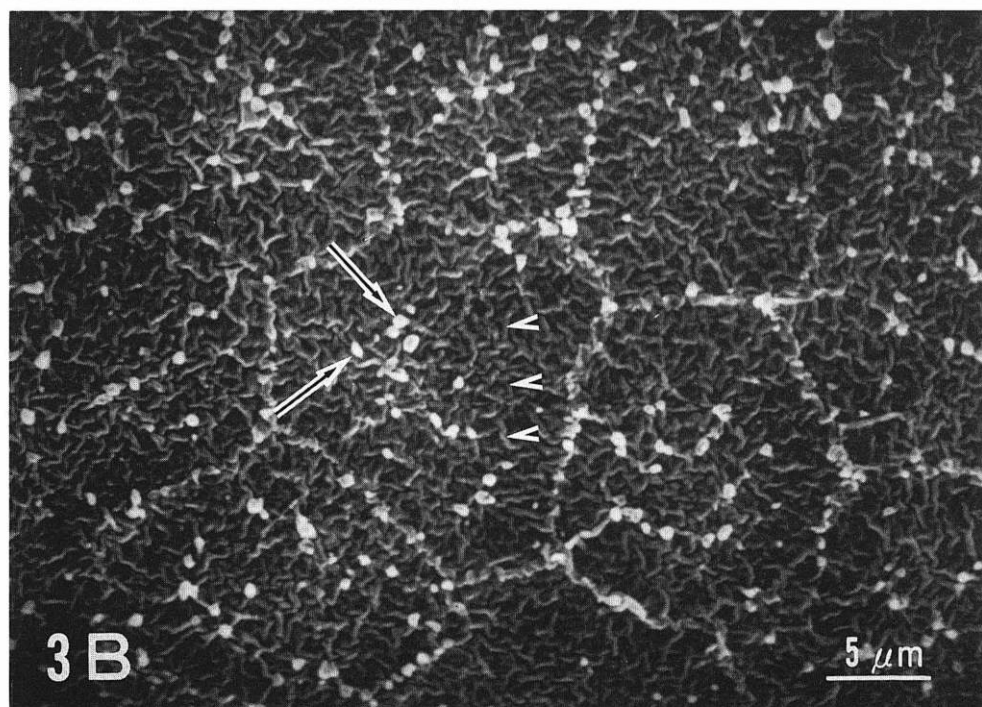
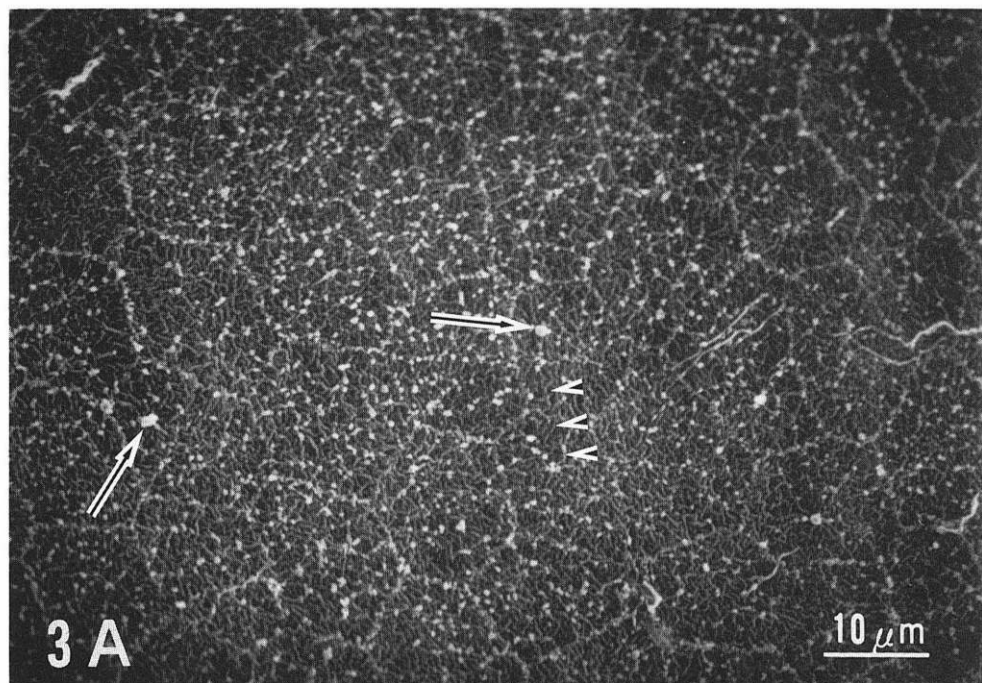


図3A 生後6カ月のRCSの角膜内皮走査電子顕微鏡像。角膜内皮細胞表面には slender microvilli が認められる(矢頭)。いくつかの細胞では slender microvilli に加えて mushroom microvilli も認められる(矢印)。(×1,630)

B 生後6カ月のRCSラットの角膜内皮細胞の拡大像。(×3,260)

文 献

- 1) **Bourne MC, Campbell DA, Tansley K**: Hereditary degeneration of the rat retina. *Br J Ophthalmol* 22: 613—623, 1938.
 - 2) **Dowling JE, Sidman RL**: Inherited retinal dystrophy in the rat. *J Cell Biol* 14: 73—109, 1962.
 - 3) **LaVail MM, Sidman RL, Gerhardt CO**: Congenic strains of RCS rats with inherited retinal dystrophy. *J Hered* 66: 242—244, 1975.
 - 4) **Yamaguchi K, Yamaguchi K, Turner JE**: Ciliary body degeneration in the Royal College Surgeons dystrophic rat. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 31 (Suppl): 446, 1990.
 - 5) **Mullen RJ, LaVail MM**: Inherited retinal dystrophy: Primary defect in pigment epithelium determined with experimental rat chimeras. *Science* 192: 799—801, 1976.
 - 6) **Bok D, Hall MO**: The role of the pigment epithelium in the etiology of inherited retinal dystrophy in the rat. *J Cell Biol* 49: 664—682, 1971.
 - 7) **Tamai M, O'Brien PJ**: Retinal dystrophy in the RCS rat: In vivo and vitro studies of phagocytic action of the pigment epithelium on the shed rod outer segments. *Exp Eye Res* 28: 399—411, 1979.
 - 8) **Blanks JC, Johnson LV**: Vascular atrophy associated with photoreceptor degeneration in mutant mice, in LaVail MM, Hollyfield JG, Anderson RE (ed): *Retinal Degeneration: Experimental and Clinical Studies*, New York, Alan R Liss, 189—208, 1985.
 - 9) **Zigler JS, Hess HH**: Cataracts in the Royal College of Surgeons rat: Evidence for initiation by lipid peroxidation products. *Exp Eye Res* 41: 67—76, 1985.
 - 10) **Wilson DJ, Weleber RG, Green R**: Ocular clinicopathologic study of gyrate atrophy. *Am J Ophthalmol* 111: 24—33, 1991.
 - 11) **Hull DS, Csukas S, Green K, et al**: Hydrogen peroxide and corneal endothelium. *Acta Ophthalmol* 59: 409—421, 1981.
 - 12) **Grayson M**: The nature of hereditary deep polymorphous dystrophy of the cornea. Its association with iris and anterior chamber dysgenesis. *Trans Am Ophthalmol Soc* 72: 516, 559, 1974.
-