

Royal College of Surgeons (RCS) ラット虹彩の変性

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発症し、網膜色素変性症の動物モデルとして知られている。今回我々は **RCS ラットの虹彩の形態を**観察し、正常 **Sprague-Dawley (SD) ラットと比較した**。光学顕微鏡では、生後1カ月の **RCS ラットの虹彩は正常な構造を示したが**、生後3カ月の **RCS ラットの虹彩では虹彩上皮細胞および実質細胞の萎縮がみられ**、生後6カ月ではこれがさらに進行していた。透過電子顕微鏡による観察では、生後1カ月の **RCS ラットの虹彩色素上皮細胞は正常であったが**、生後3カ月の **RCS ラットの虹彩上皮細胞のミトコンドリアは異常な形態を示し**、生後6カ月の **RCS ラットの**前虹彩上皮細胞および後虹彩上皮細胞は極端に扁平化し、細胞内小器官の減少とミトコンドリアの膨化が認められた。今回の研究により、**RCS ラットの虹彩上皮細胞が進行性に変性することが明らかとなった**。(日眼会誌 96: 45-50, 1992)

キーワード：遺伝性盲ラット, 虹彩, 虹彩上皮細胞, 網膜変性

Iris Degeneration 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 changes in the iris epithelial cells of the Royal College of Surgeons (RCS) rat are reported. Light microscopy demonstrated progressive thinning of the iris tissue of the RCS rat after 3 month of age. Transmission electron microscopy showed cellular degenerative changes in both the anterior and the posterior iris epithelium. It is possible that these changes in the iris are the result of the same type of genetically determined defect of the retinal pigment epithelial cells that characterizes this animal model for retinal degeneration. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 96: 45-50, 1992)

Key words: Royal College of Surgeons rat, Iris, Iris epithelium, Retinal degeneration

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おり¹⁾²⁾、網膜変性のほかに小眼球、白内障³⁾、毛様体の変性⁴⁾などが合併すること

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5月2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 May 2, 1991)

が報告されている。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⁹⁾、さらに RPE の視細胞外節の貪食能に
異常があることが報告され、培養系の実験でも RCS
ラットの RPE が視細胞外節を貪食する能力を欠如し

ていることが確認された⁶⁾⁷⁾。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
に組織学的には debris として認められる視細胞外節
の異常な蓄積が見られ、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。網膜色素上皮も形

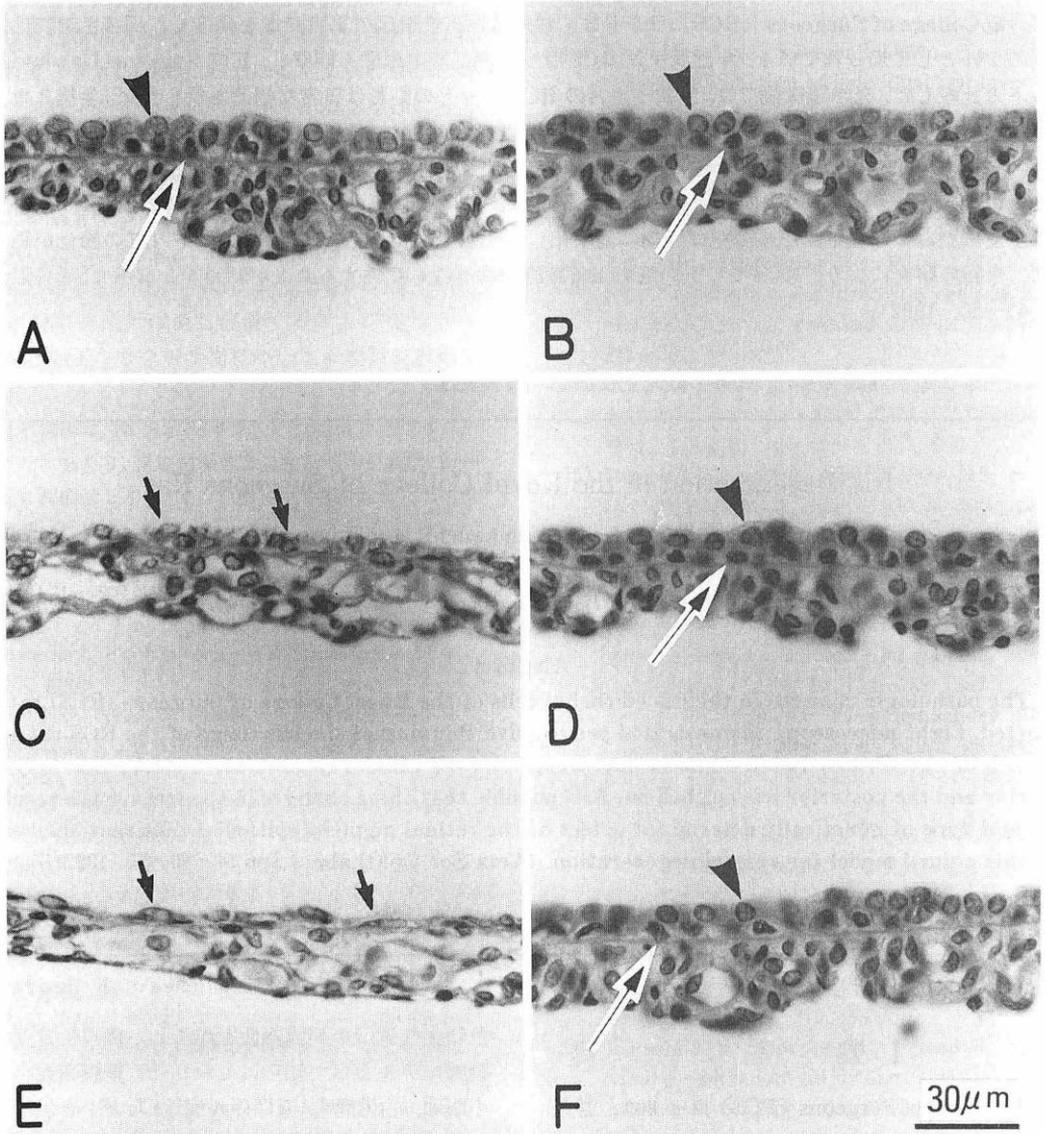


図1 RCS および SD ラットの虹彩の光学顕微鏡像(ヘマトキシリン-エオジン染色)。生後 1 カ月
の RCS ラットの虹彩 (A) の形態は正常であるが、生後 3 カ月の RCS ラットの虹彩 (C) では虹
彩の虹彩上皮細胞および実質が萎縮し、生後 6 カ月の RCS ラットの虹彩 (E) では虹彩の虹彩上
皮細胞および実質の萎縮がさらに進行している。いっぽう SD ラットの虹彩には異常は生後 6 カ
月まで認められない。黒矢じりは正常な後虹彩上皮細胞、白矢印は正常な前虹彩上皮細胞を示し
(A, B, D, F)、黒矢印は異常な虹彩上皮細胞を示す (C, E)。(×460)

態学的異常を示し、tight junctionやNa-K ATPaseの局在も変化する⁸⁾⁹⁾。このようにRCSラットの網膜色素上皮細胞の遺伝的な機能障害が明らかにされているが^{5)~9)}、その発生学的関係からRCSラットの虹彩上皮にも同様の異常が存在することが推測される。今回RCSラットの虹彩の病理像を光学および電子顕微鏡で観察し興味ある所見を得たので報告する。

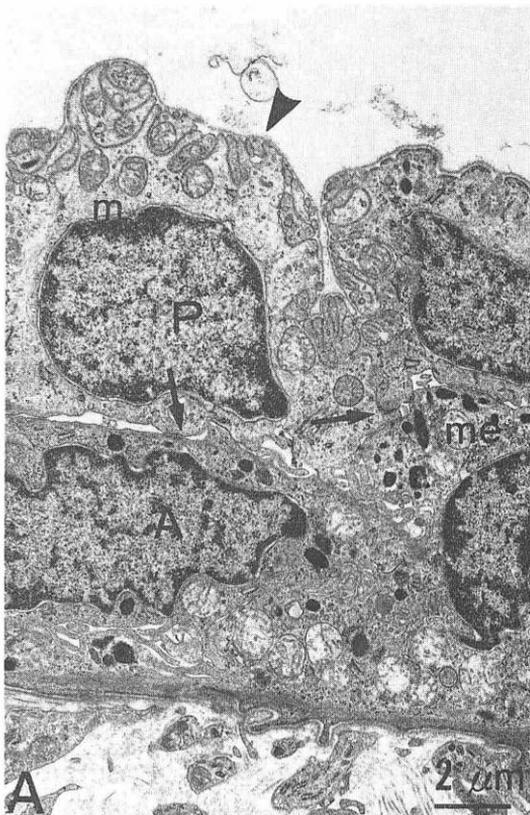
II 実験方法

研究材料として、生後1カ月、3カ月および6カ月のRCSラットをそれぞれ6匹ずつ使用し、また同じ年齢のSprague-Dawley (SD)ラットを正常コントロールとしてそれぞれ6匹ずつ使用した。実験動物(n=3)を致死量のソディウムペントバルビタールで屠殺後、直ちに眼球を摘出し、4%パラフォルムアルデヒド加0.1Mリン酸緩衝液(pH 7.4)にて16時間固定後パラフィンに包埋した。次に10 μ mの切片を作成し、ヘマトキシリンエオジンで染色し虹彩の形態を光学顕微鏡的に観察した。また、電子顕微鏡的観察に

は実験動物(n=3)をソディウムペントバルビタールで麻酔後、左心室から2.5%グルタル固定液で約3分間(50 ml)灌流固定した。その後直ちに眼球を摘出し、虹彩組織を切り出しさらに3時間、4 $^{\circ}$ Cで固定した。次に組織を0.1Mリン酸緩衝液で洗浄し、4 $^{\circ}$ Cの1%オスミウム酸で後固定した。さらに虹彩組織をエチルアルコール液系列で脱水処理した後、エポンに包埋した。最後に組織の超薄切片を酢酸ウランとクエン酸鉛で染色し、Zeiss EM 10透過型電子顕微鏡にて観察し写真撮影を行った。

III 結果

光学顕微鏡では、生後1カ月のRCSラットの虹彩(図1A)と生後1カ月のSDラットの虹彩(図1B)を比較すると、形態にとくに差は認められず、後面はほぼ正方形の前および後虹彩上皮細胞の2層の上皮構造を有し、その前方には血管の多い豊富な実質を認めた。生後3カ月のRCSラットの虹彩では上皮細胞と実質の萎縮が認められた(図1C)、生後6カ月のRCSラッ



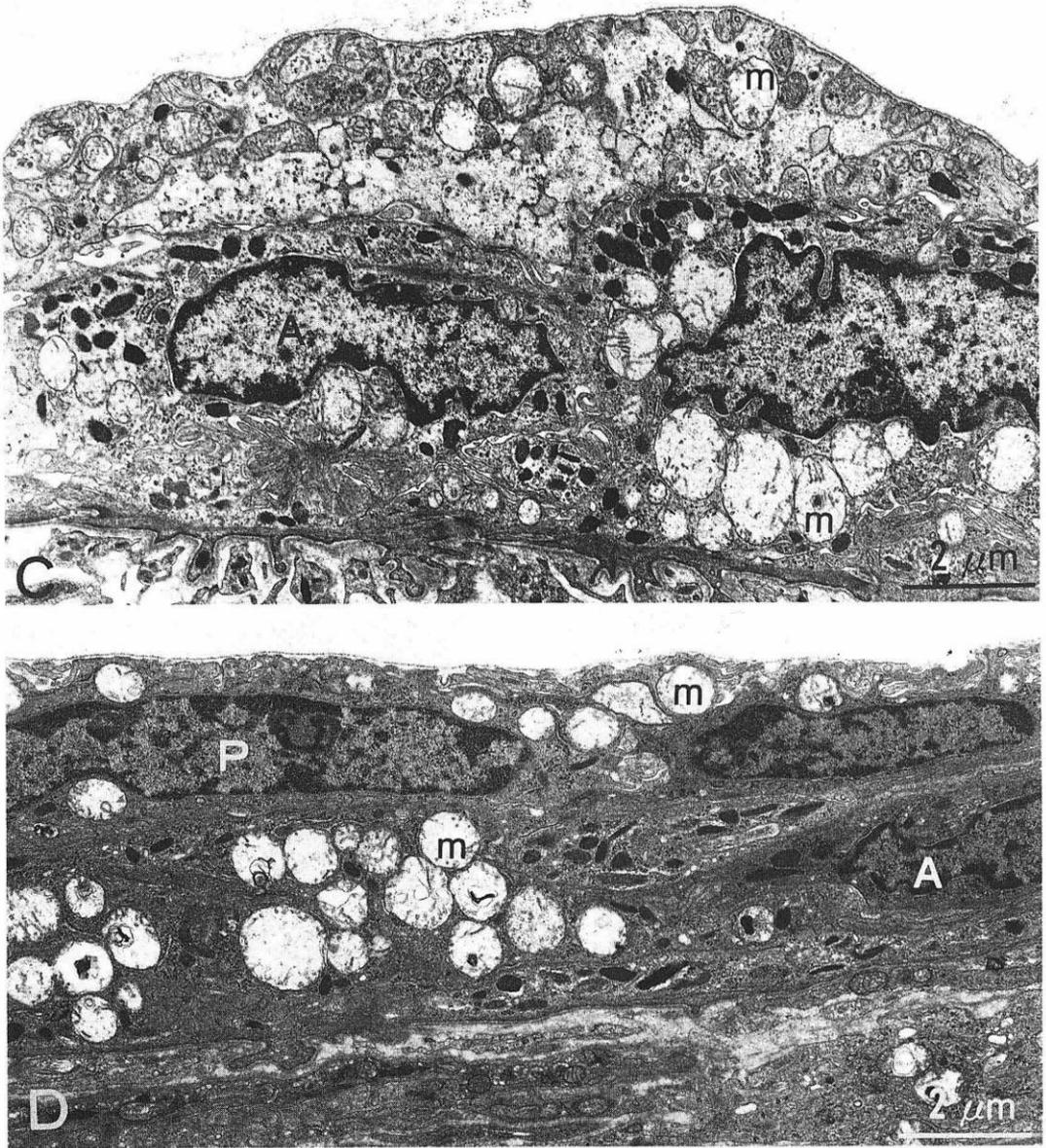


図2 RCS ラットおよびSD ラットの虹彩の透過電子顕微鏡像。生後1カ月のRCS ラットの虹彩上皮細胞(A; $\times 5,000$)と生後6カ月のSD ラットの虹彩上皮細胞(B; $\times 5,000$)は前虹彩上皮細胞(A)および後虹彩上皮細胞(P)よりなる2層構造を示し、上皮細胞相互間にtight junction(矢印)が認められる。前虹彩上皮細胞には多数のメラノソーム(me)が含まれ、実質側には基底膜が存在している。後虹彩上皮細胞の後房側にはbasal infolding(矢じり)が存在し、メラノソームは前虹彩上皮より少ない。生後3カ月のRCS ラットの虹彩上皮細胞(C; $\times 7,000$)の細胞質は浮腫状でミトコンドリア(m)は空泡変性を示している。生後6カ月のRCS ラットの虹彩上皮細胞(D; $\times 7,000$)は明らかな形態学的異常を示し、前虹彩上皮細胞(A)および後虹彩上皮細胞(P)は極端に扁平化し、細胞内小器官の減少とミトコンドリアの膨化が認められる。

トでは、虹彩上皮細胞および実質の病的変化はさらに著明となった(図1E)、いっぽうSDラットでは、生後3カ月および6カ月の虹彩にこのような変化は認められなかった(図1DおよびF)。

透過型電子顕微鏡による観察では、生後1カ月のRCSラットの虹彩上皮は2層構造を示し、それぞれの色素上皮細胞は互いのapex同士が向い合っており、色素上皮細胞相互間にtight junctionが認められた。前虹彩色素上皮細胞には多数のメラノソームが含まれ、実質側には基底膜が存在していた。後虹彩上皮細胞の後房側にはbasal infoldingが存在し、メラノソームは前虹彩上皮細胞より少なく、細胞内小器官の構造は正常と考えられた。いっぽう生後3カ月のRCSラットの虹彩上皮細胞では、細胞質は浮腫状でミトコンドリアに形態学的異常が認められた(図2C)。生後6カ月のRCSラットの虹彩では、前虹彩上皮細胞および後虹彩上皮細胞は極端に扁平化し、細胞内小器官の減少とミトコンドリアの著しい膨化が認められた(図2D)。いっぽうSDラットの虹彩上皮細胞には形態学的異常は生後6カ月まで認められなかった(図2B)。

IV 考 按

我々は、先にRCSラットの毛様体を組織学的に検討し、毛様体上皮が生後1カ月までは正常に発育するが、生後3カ月以降病理学的に明らかな変性を示すことを報告した⁴⁾。毛様体上皮細胞は発生学的に眼杯に由来し、毛様体色素上皮細胞は網膜色素上皮細胞と連続し、毛様体無色素上皮細胞は神経網膜と連続している。したがって、毛様体色素上皮細胞は網膜色素上皮細胞と発生学的な関係が近く、RCSラットでは遺伝的な異常を発現する可能性がある。いっぽう、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。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¹⁰⁾。Ziglerら¹¹⁾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、これらの物質が硝子体

中を前方に拡散し水晶体に達して白内障を生じさせると報告した。したがって、これらの物質が白内障と同様のメカニズムで毛様体の変性を修飾する可能性も考えられている⁴⁾。

Wilsonら¹²⁾はヒトの脳回転状網脈絡膜萎縮症の眼組織を検討し、病理学的変化が網膜のみならず角膜内皮、毛様体色素上皮細胞、毛様体無色素上皮細胞、毛様体の平滑筋および虹彩などに認められたことを報告した。とくにミトコンドリアの膨化が角膜内皮と毛様体上皮細胞に著明に認められ、本疾患の化学的異常との関連を指摘している。ミトコンドリアは、細胞代謝の中心的役割を担っているため、細胞障害による影響が容易に出現する。今回の我々の検討では、生後3カ月のRCSラットの虹彩上皮細胞の細胞質は浮腫状で、ミトコンドリアは空胞変性を示していた。さらに生後6カ月のRCSラットの虹彩上皮細胞は明らかな形態学的異常を示し、前虹彩上皮細胞および後虹彩上皮細胞は極端に扁平化し、細胞質の脱水化、細胞内小器官の減少とミトコンドリアの膨化が認められた。これらの所見はRCSラット虹彩の退行性変性を示していると考えられた。

虹彩上皮は発生学的に眼杯に由来し、前虹彩上皮細胞は眼杯の外板を起源とし毛様体色素上皮細胞さらに網膜色素上皮細胞と連続しており、後虹彩上皮細胞は眼杯の内板を起源とし、毛様体無色素上皮細胞さらに神経網膜と連続している。このような発生学的な関係から、RCSラットの虹彩が網膜色素上皮細胞と同様の遺伝的な異常を発現する可能性があると考えられる。また他の眼内組織と同様に、変性網膜で産生された組織毒性酸化物質が虹彩の変性を助長する可能性も考えられる。ヒトの網膜色素変性症では、後囊下白内障¹³⁾、狭隅角緑内障¹⁴⁾、硝子体混濁¹⁵⁾などの眼合併症が報告されているが、虹彩に関しては知見が少なく今後ヒトにおいても検討していく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医学部眼科学教室玉井 信教授に深謝いたします。

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 (Suppl)* 31 : 446, 1990.
 - 5) **Mullen RJ, La Vail 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) **Caldwell RB, McLaughlin BJ** : Permeability of retinal pigment epithelial cell junctions in the dystrophic retina. *Exp Eye Res* 36 : 415—427, 1983.
 - 9) **Caldwell RB, McLaughlin BJ** : Redistribution of Na-K ATPase in the dystrophic rat retinal pigment epithelium. *J Neurocytol* 13 : 895—910, 1984.
 - 10) **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.
 - 11) **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.
 - 12) **Wilson DJ, Weleber RG, Green WR** : Ocular clinicopathologic study of Gyrate atrophy. *Am J Ophthalmol* 111 : 24—33, 1991.
 - 13) **Heckenlively JJ** : The frequency of posterior subcapsular cataract in the hereditary retinal degeneration. *Am J Ophthalmol* 93 : 733—738, 1982.
 - 14) **Gartner S, Schlossman A** : Retinitis pigmentosa associated with glaucoma. *Am J Ophthalmol* 32 : 1337—1350, 1949.
 - 15) **Pruett RC** : Retinitis pigmentosa. A biomicroscopical study of vitreous abnormalities. *Arch Ophthalmol* 93 : 603—608, 1975.
-