

人眼 lamina suprachoroidea の微細構造に関する研究

小 関 武

秋田大学医学部眼科学教室

要 約

人眼の脈絡膜 lamina suprachoroidea を形態学的に検索を行った結果、本組織は5～10層の pigmented cell とその層間に介在する数層から10層に及ぶ fibroblast で構成されていた。pigmented cell 同志はお互い連結する傾向は少なかったが、fibroblast 同志は tight, gap 及び intermediate junction を介して連結し、強膜内面でシート状に眼球を包みこんでおり、fibroblast の薄く伸長した部分には不連続部が認められた。fibroblast に認められた tight junction は zonula occludens を示すことはなく、ほとんどが孤立型であった。このような lamina fusca の構造は易透過性を示すものであり、uveoscleral route の通路として大変合目的であると言える。逆にこのような構造上の特性はある一定の抵抗を示して房水が眼外に無制限に流出するのを規制している可能性が示された。(日眼会誌 96: 757-766, 1992)

キーワード: lamina suprachoroidea, 電子顕微鏡, 凍結切断法, 房水排出路, 人眼

Ultrastructural Studies of the Lamina Suprachoroidea in the Human Eye

Takeshi Koseki

Department of Ophthalmology, Akita University School of Medicine

Abstract

The lamina suprachoroidea of the human choroid was examined by electron microscopy using both thin sections and freeze fracture replicas. The lamina suprachoroidea was composed of 5-10 layers of pigmented cells interspersed with multiple layers of flattened fibroblastic cells. Tight junctions, gap junctions and intermediate junctions were seen between the fibroblastic cells. Tight junctions did not reveal zonula occludens but predominantly isolated types were revealed, as well as several pore-like fenestrations in the attenuated cell processes of the fibroblasts. The characteristic morphological appearance of the lamina suprachoroidea might suggest that the aqueous humour may be able to leak into the extraocular tissues through it. However, the numerous cellular layers and also the junctional complexes between the fibroblasts of the lamina suprachoroidea are likely to produce more resistance to uveoscleral drainage. As the multi-layered arrangement of fibroblastic cells and pigmented cells in the lamina suprachoroidea did not show the cellular barrier, it may be possible that the extraocular substances are able to flow into the eye through it. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 96: 757-766, 1992)

Key words: Lamina suprachoroidea, Electron microscope, Freeze fracture, Uveoscleral outflow, Human eye

別刷請求先: 010 秋田市本道1-1-1 秋田大学医学部眼科学教室 小関 武

(平成3年9月20日受付, 平成4年1月23日改訂受理)

Reprint requests to: Takeshi Koseki, M.D. Department of Ophthalmology, Akita University School of Medicine, 1-1-1 Hondo, Akita 010, Japan

(Received September 20, 1991 and accepted in revised form January 23, 1992)

I 緒 言

人眼 lamina suprachoroidea は脈絡膜の最外層に位置し、pigmented cell と fibroblast とが交互に積み重なった構造を示す細胞層である。前方は毛様体の中間まで、動物種によっては scleral spur にまで達しており、角膜以外の眼球全体を取り巻いている。この lamina suprachoroidea についての詳細なる研究は Kelly ら¹⁾が hamster を用いて電顕的検索を行ったのに端を発する。次いで我々は比較解剖学的観点から家兎²⁾³⁾および猿⁴⁾を用いて検索を進めた。その結果、いずれの動物種においても lamina suprachoroidea は 10 層前後の pigmented cell とその層間に存在する、全体で 50 層近くに及ぶ fibroblast から成っていた。このような緻密な細胞層から成る lamina suprachoroidea の存在理由及びその果たす役割については未だ何ら解明されていないのが現状である。今回はさらに研究をすすめる人眼の当該組織について検討を加え、その機能についても若干の考察を試みたので報告する。

II 材料および実験方法

人眼 7 眼を用いた。すべて上顎洞癌の眼窩内波及により眼球摘出のやむなきにいたった 48 歳から 76 歳まで男性 3 眼女性 4 眼である。摘出眼球は直ちに 3% glutaraldehyde (0.1 M cacodylate buffer) に浸漬し、赤道部で半割して同液中に保存し適宜必要に応じて組織を切り出し検索に用いた。切片用には 1% OsO₄ (0.1 M cacodylate buffer) に 2 時間後固定し、一部はタンニン酸ブロック染色を施し、系列脱水後 epon に包埋した。freeze fracture 用には網脈絡膜を強膜の付着したまま 3×4 mm の短冊型に切り出し、その上で網膜を剝離し、さらに強膜を可及的に切除して脈絡膜のみを取り出した。脈絡膜は 10%、20%、30% glycerol (0.1 M cacodylate buffer) に各 20 分浸漬し、quick freeze 用試料台に角度 90° で 1 mm の巾で溝を掘り組織を挿入した。真空中でシャーベットと化した液体窒素中に試料台と共に組織を浸して瞬時に凍結せしめ、通常の液体窒素に移した。JFD 9000 の試料台温度 -130°C で組織を挿入し、3×10⁻⁷Torr 以下の真空中で、試料温度 -100°C ~ -115°C の条件下で切断した。Pt-carbon を角度 60°, 30sec, 2.4kV, 80mA で回転蒸着した。さらに carbon を角度 90°, 40 sec, 2.4 kV, 60 mA の条件下で回転蒸着を加えた。組織と replica 膜は 100% methanol に浸して表面を洗浄し、sodium

hypochlorite で組織を融解して replica 膜を遊離させ、蒸留水で数回洗浄後、parlodion で支持膜を張った 100 mesh の grid に拾いあげ JEOL 1200 EX で観察した。

III 実験結果

1. 光顕所見

人眼 lamina suprachoroidea は脈絡膜最外層に位置し、厚さは各症例によりまた部位により差があるが、おおよそ脈絡膜全体の 1/2 層前後を占め、光顕上 5 層から多いところで 10 層近くの pigmented cell の層として認められた。この pigmented cell の配列及び分布は眼球の部位によって若干の差が認められた。周辺部 lamina fusca における pigmented cell は薄く伸長していることが多く、比較的明瞭な層状をなして 6~7 層を数えた (図 1)。lamina suprachoroidea の前端は毛様体皺襞部の後縁まで達しており、そこで毛様体支質の結合織に換った。一方赤道部の lamina suprachoroidea は大型の血管の存在部位ではわずかの pigmented cell を認めるにすぎないが、大型血管を欠く部位では多層化を示し毛細血管板近くまで達した。ここでの pigmented cell は丸みを帯びて厚く、しかも比較的ばらばらに分布し、明らかな層状を成すというより脈絡膜外層に pigmented cell が漠然と散布された如き観を呈した (図 2)。後極部では脈絡膜の lamina vasculosa がよく発達して大型の血管が豊富に認められ、pigmented cell はその間を縫う様にして毛細血管

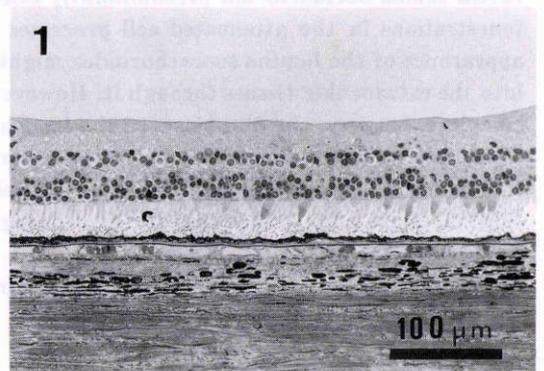


図 1 周辺部網脈絡膜，光顕。

lamina suprachoroidea は脈絡膜の外層に位置し、数層の pigmented cell として認められた。ここでは pigmented cell は薄く比較的層状構造は明瞭である。トルジンプルー染色，×100

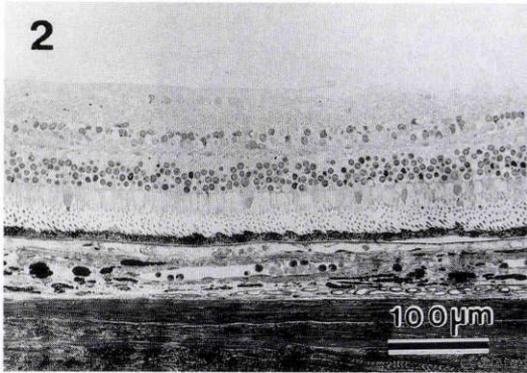


図2 赤道部網脈絡膜, 光顕.

lamina suprachoroideaに於ける pigmented cell は丸く厚みを帯び、層状をなすというより pigmented cell が脈絡膜外層に漠然と散布されたごとき観を呈した。トルイジンブルー染色, $\times 100$

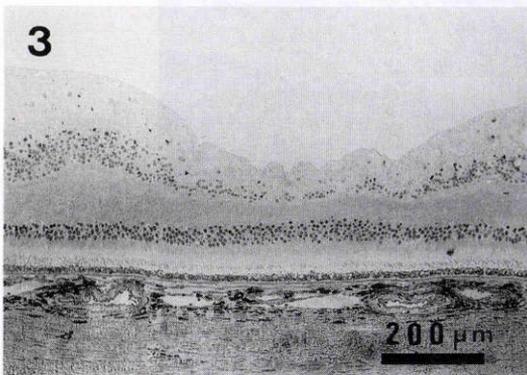


図3 後極部網脈絡膜, 光顕.

ここでは lamina vasculosa がよく発達しており pigmented cell は大型血管の間を縫うようにして毛細血管板近くまで及んでいた。トルイジンブルー染色, $\times 50$

板近くまで達し、このためここでの lamina suprachoroidea は他の部位より肥厚して見えた。pigmented cell の態度は赤道部におけると同様であった(図3)。

2. 電顕所見

光顕上 lamina suprachoroidea は pigmented cell の層として認識されたが、pigmented cell は電顕的に観察すると胞体内に円形のメラニン顆粒を多数配し、その水平端からは小突起が数本認められた。周辺部 lamina suprachoroidea における pigmented cell は薄く伸長して、隣接する細胞同志は時に gap junction ないし intermediate junction を形成して一部連結し、loose ながら層状構造を示した(図4)。これに対し赤

道から後極部に向かうにつれ細胞同志は離開する傾向が強くなり、junction の形成の頻度は少なくなり、光顕的にも明らかな様に秩序だった層状構造とはいえない状態であった(図5)。

これらの pigmented cell の層間には膠原および弾性の線維成分と fibroblast とが認められた。線維成分は細胞間を充填する如く lamina suprachoroidea 全体に認められたが、内側により多く分布する傾向を示した。fibroblast は pigmented cell の各々の層間に強膜にはほぼ平行して配列していたが、ときに U ターンしたり S 字状を描く事もあった。fibroblast の層数は lamina suprachoroidea の内外で差が認められ、pigmented cell の層状構造が比較的明瞭な周辺 lamina fusca を例にとると、内側の pigmented cell の間では 1~2 層の fibroblast をみるにすぎないが、外側に向うに従い層数を増し最外側では 10 層前後を数えた。従って fibroblast のみを単純に計算すると 40 層前後となった(図4)。赤道部および後極部でも同様に fibroblast は pigmented cell の間を縫う様に配列し、内側より外側の pigmented cell の間に fibroblast はより多層化する傾向を示した(図5)。しかしここでの fibroblast の全層数は 20~30 層と周辺部より減少していた。各々の fibroblast は核の存在部以外は 100 nm 程度と極めて薄く伸長しており、そこにそれほど頻度は多くないが細胞の不連続部が認められた(図6)。これらの fibroblast は free end に終わることは少なく、隣接する fibroblast 同志は何らかの junction を介して連結する傾向が示され、重層する fibroblast 同志にも junction が認められた。これらの junction は tight junction, gap junction および intermediate junction の 3 種であった(図7)。

3. freeze fracture 所見

本法は fibroblast にみられた tight junction の拡がり連続性、gap junction の分布および gap junction と tight junction との関連性を観察する目的で施行した。本法における切断面は偶然性に支配され、脈絡膜内においては lamina suprachoroidea の細胞成分以外に毛細血管、動脈および静脈の内皮細胞と周皮細胞、さらに毛様体筋があり、これらの細胞膜間を切断する可能性もまた充分にあり得た。殊に lamina suprachoroidea における fibroblast と同様に tight junction を有する血管内皮細胞との鑑別が特に肝要であったので、若干これらの点に触れておきたい。図8では tight junction は P face に ridge, E face に

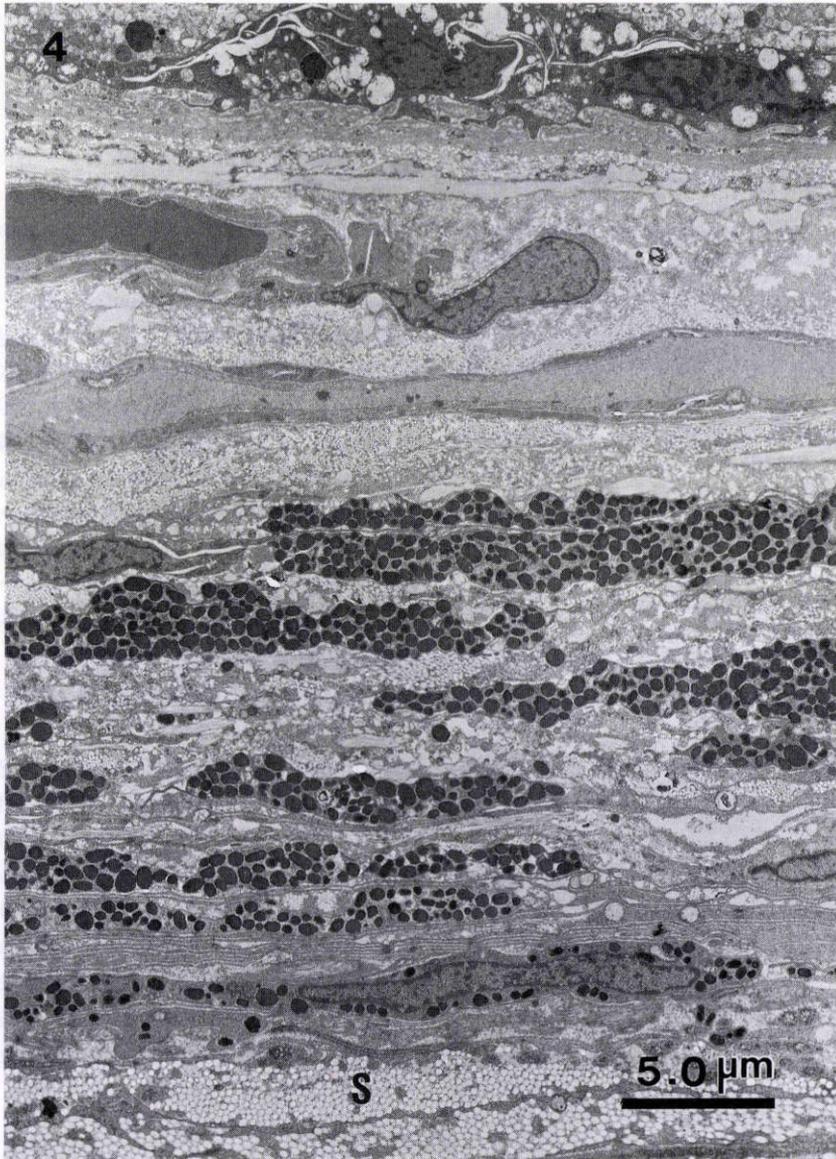


図4 周辺部脈絡膜, 電顕.

lamina suprachoroidea には6~7層の pigmented cell とその層間に膠原および弾性線維の線維成分と fibroblast とが認められた. fibroblast は外側の pigmented cell 層間により多く存在した. $\times 3,750$, S: sclera

groove として認められ, junctional particle ないし strand はE面により著明で, 全体として網状に入り組んでいた. gap junction は少なく, 細胞膜に多数の plasmalemmal vesicle が認められ定型的な脈絡膜毛細血管を示すものであった. 図9では tight junction はE面で浅い groove として認められるものの, junctional particle ないし strand を一切欠き venule の内

皮細胞を示していた. これらの groove は3~5本が並行に走り交錯することはなく, その長さは種々で多くは free end に終わった. 従ってこの free end の個所を迷路 puzzle を解くように辿ると tight junction に阻まれることなく, 容易に一側から他側に通ずることができた.

一方 lamina suprachoroidea では pigmented cell

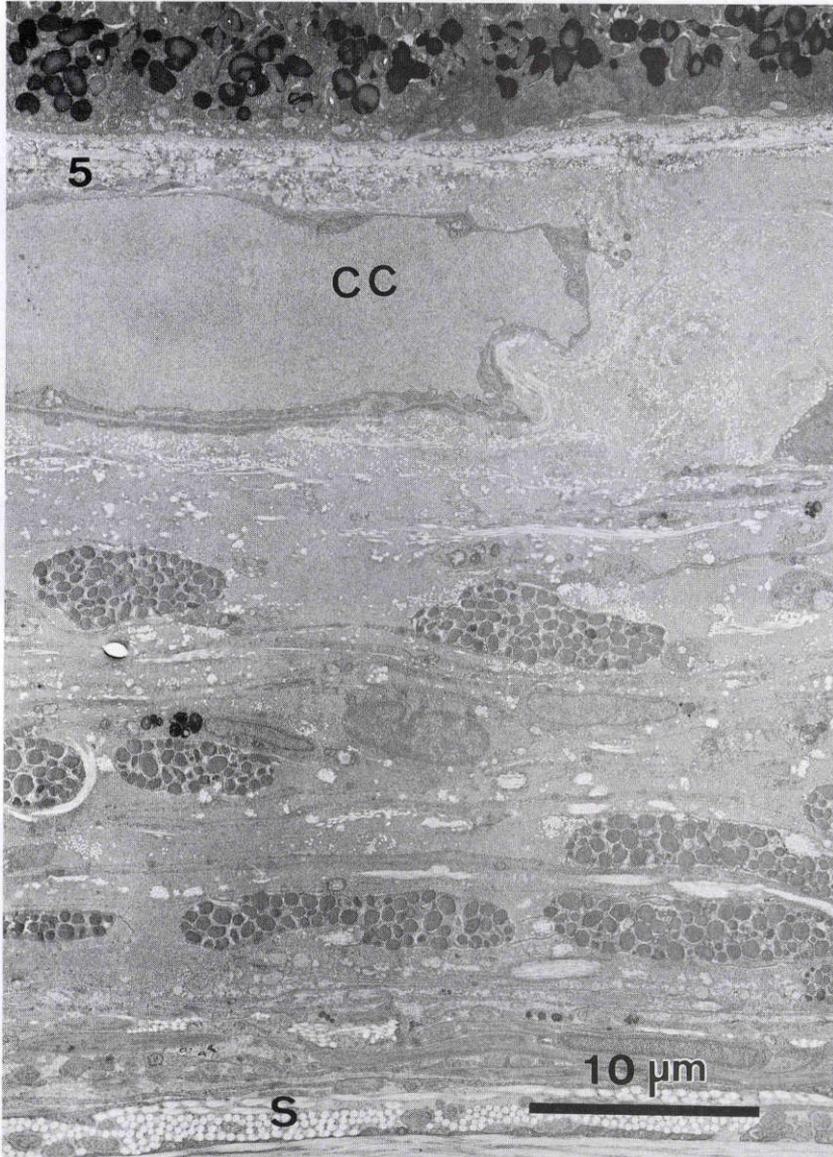


図5 赤道部脈絡膜, 電顕.

ここでは lamina suprachoroidea の pigmented cell 同志は離開する傾向が強く, 明らかな層状構造を示さなくなった. ここでも fibroblast は pigmented cell の間を縫うようにして認められたが, その全層数は周辺部に比べて減少した. $\times 3,000$, CC: choriocapillary. S: sclera

はその胞体内に含有する pigmented granule を反映して凹凸を示し, 平滑さを欠くことから fibroblast とは容易に識別された. fibroblast は切片上 100 nm 程度と薄い細胞であったが replica 膜で平面的に観察すると, それぞれの fibroblast はロープ状の細いものではなく, シート状の拡がりみせ極めて長大な細胞である

ことを示していた. この fibroblast にみられる tight junction は P 面に ridge, E 面に groove とし particle ないし strand の多くは E 面に認められ, 血管内皮細胞と同様の態度が示された. ここでの tight junction は細胞全周を取り巻く zonula occludens を示すことではなく, ほとんどが孤立型でその形態は直線状, U 字

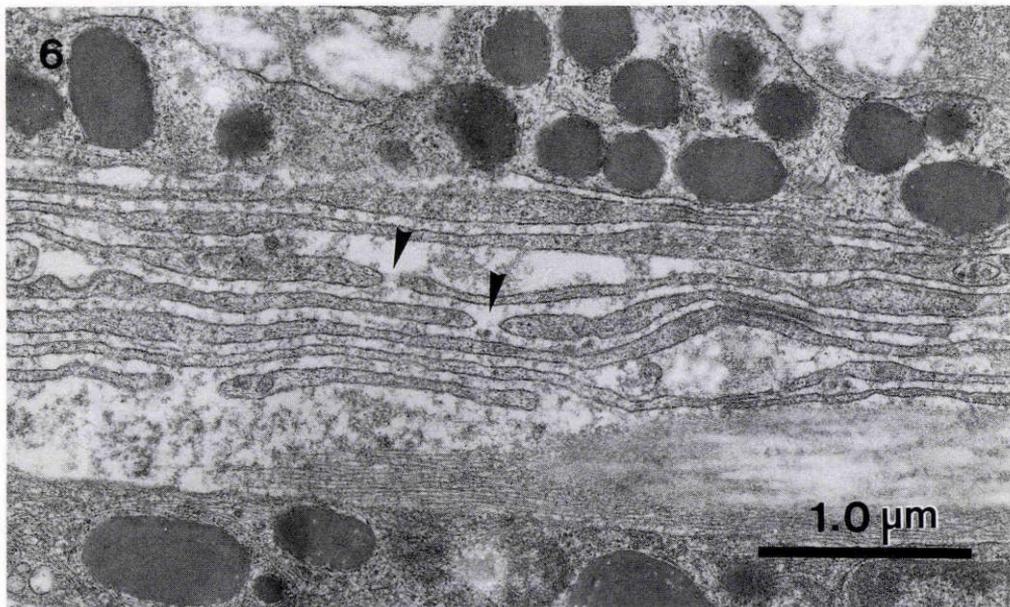


図6 lamina suprachoroidea, 電顕。
fibroblast の薄く延びた部分には細胞の不連続の箇所(矢じり)が認められた。
×28,000

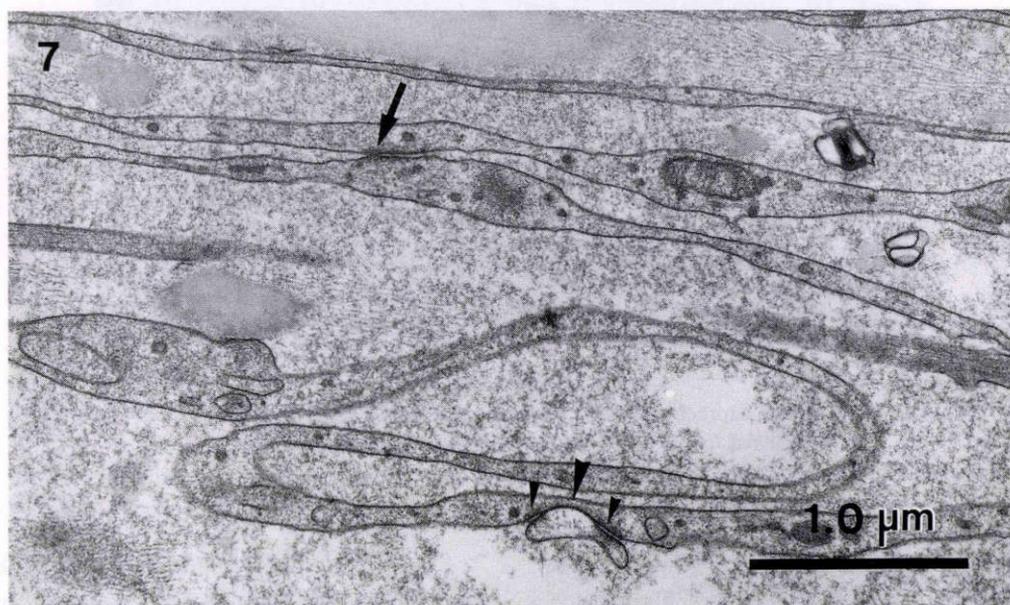


図7 lamina suprachoroidea, 電顕。
fibroblast は時に S 字状を描き, 細胞間には tight junction (矢印), gap junction (矢じり), 及び intermediate junction (小さい矢じり)が認められた。タンニン酸ブロッ
ク染色, ×28,000

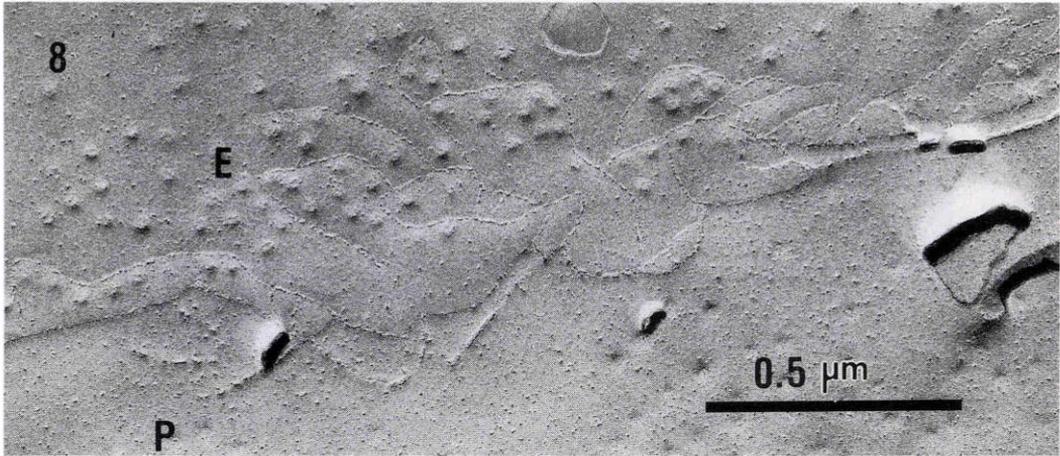


図8 脈絡膜毛細血管, replica 膜.
tight junction は P face に ridge, E face に groove として認められ, junctional particle ないし strand は E face により多く, 細胞膜には plasmalemmal vesicle が多数認められた. $\times 66,000$

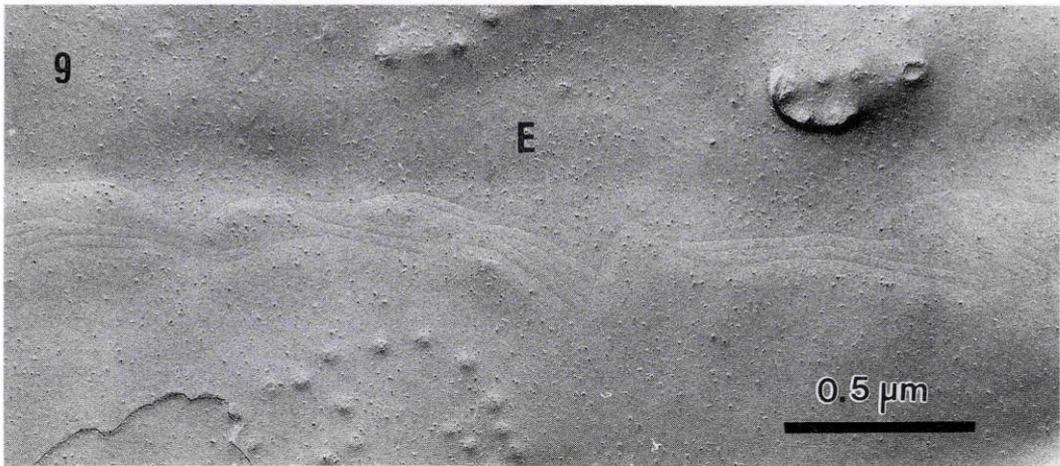


図9 脈絡膜細静脈, replica 膜.
tight junction は E face で浅い groove として認められたが, junctional particle ないし strand を一切欠いた. $\times 50,000$

型あるいは楕円形と種々を示した(図10). なかには長い tight junction のところどころが分断された様な不連続を示す例もみられたが稀であった(図11). gap junction は常に P 面のみ particle の集合として, E 面には complement として認められた. ここでの gap junction は particle の数が 30~50 コ程度の小型のものが多く, 全体として長円形ないし線状を示した(図12). gap junction と tight junction との間には明らかな関連性を認め難かった.

IV 考 按

lamina suprachoroidea についての系統だった研究は Kelly ら¹⁾が hamster について行ったのが最初であるが, その際鋸状縁付近の脈絡膜において脈絡膜全層にわたる, lamina suprachoroidea と同様の pigmented cell と fibroblast とが交互に積み重なった細胞層を認め anterior compact zone と名づけ, 視神経近くの核部組織にも同様の細胞層を認めて⁵⁾posterior

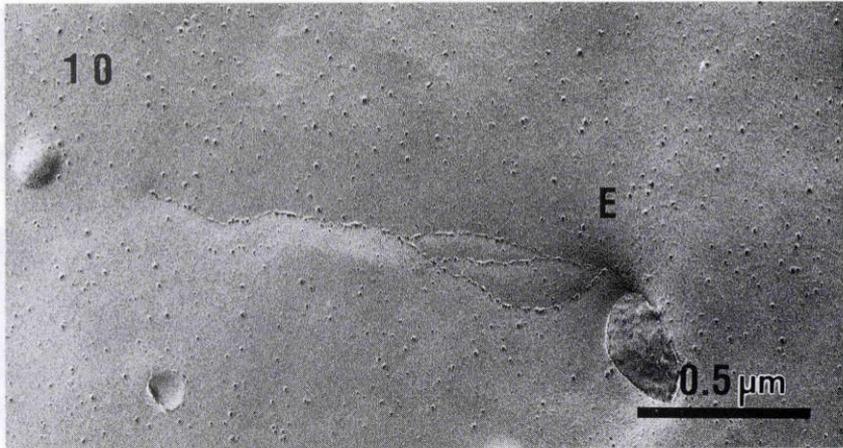


図10 lamina suprachoroidea, replica 膜.

fibroblast 間の tight junction は P face に ridge, E face に groove として, particle の多くは E face に認められた. これらの tight junction は zonula occludens を示すことはなくほとんどが孤立型であった. $\times 42,000$

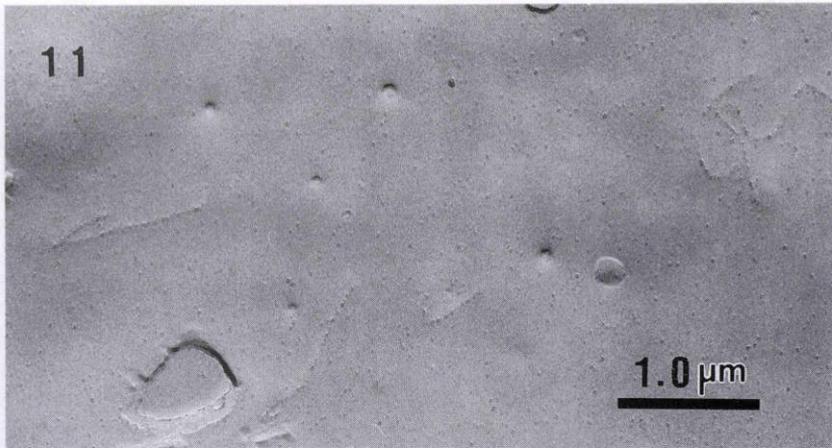


図11 lamina suprachoroidea, replica 膜.

fibroblast 間には連続した tight junction のところどころが分断されたような不連続を示すものも稀に認められた. $\times 20,000$

compact zone とした. 従って脈絡膜は前方を anterior compact zone, 後方を posterior compact zone, 内側を網膜色素上皮細胞, 外側を lamina suprachoroidea で境された uveal compartment なる考え方を示し, 発生学的に脳における subarachnoid space に比肩しうる構造であるとするひとつの概念を発表した. その後我々はその様な構造が他の動物にも共通してみられる普遍的なものか, 比較解剖学的観点から家兎²⁾³⁾および猿⁴⁾を対象として検索を重ねてきた. その結果 hamster にみられる anterior compact zone の

様な脈絡膜全層にわたる細胞層の存在は認められなかったものの, lamina suprachoroidea 自体の構造は hamster 同様 pigmented cell と fibroblast が交互に積み重なったものであった. これらの動物の pigmented cell は 4~15 層を数え, それぞれの pigmented cell の間に数層から 10 層に及ぶ fibroblast の層を認め, fibroblast は全体として 50 層前後に達した. さらにこれらの動物に共通して, pigmented cell 同志は連結する傾向は少なく稀に intermediate ないし gap junction を形成する程度であったが, fibroblast は極く薄

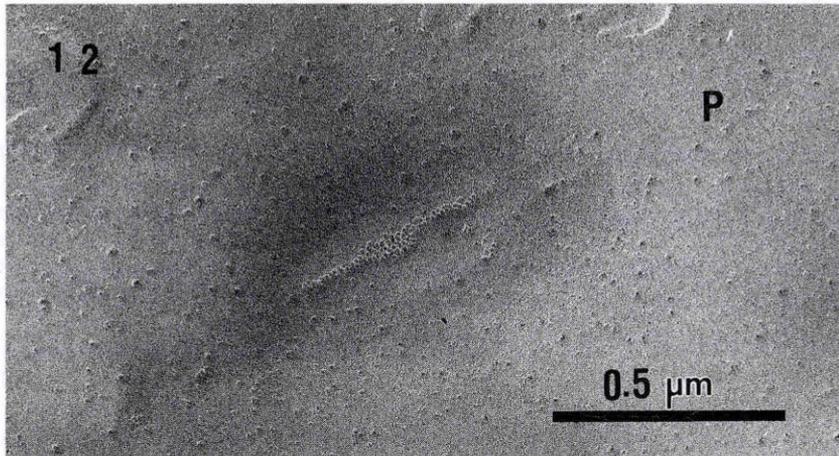


図12 lamina suprachoroidea, replica膜.

fibroblast 間に見られた gap junction は tight junction とは明らかな関連性を認め難く, particle の数は 30~50 個の小型のものがほとんどであった. $\times 60,000$

いものの長大な細胞でシート状の拡がりを見せ、隣接する細胞同志は tight junction, gap junction および intermediate junction を形成して連結する傾向が強く認められた。このような tight junction の拡がりを見るとハムスター⁶⁾および家兎²⁾³⁾では zonula occludens の可能性は否定できなかったものの、多くは不連続型ないし孤立型が占め、猿では zonula occludens は否定され⁴⁾不連続型と孤立型から成っていた。このような猿眼における fibroblast の所見は Raviola ら⁷⁾の検索結果とよく一致した。

今回の人眼 lamina suprachoroidea の検索結果でもその基本構造には大きな差はなく、pigmented cell と fibroblast とが交互に積み重なった構造をしており、それぞれの細胞の拡がりおよび隣接する細胞同志の結合様式もほぼ同様であった。相違点は fibroblast よりむしろ pigmented cell の方にあり、pigmented cell は後極に向かうにつれ厚く丸みを帯び、隣り合う細胞同志は離開する傾向を示し、規則的な層状配列を示さなくなった。fibroblast における tight junction は猿眼と同様で zonula occludens は認められず、さらに不連続型も極めて稀でほとんど孤立型が占めた。gap junction の配置は他の動物と異なり tight junction との関連性は認め難く、これとは別箇に孤立して存在した。なお人眼においても家兎および猿眼と同様に anterior compact zone は認められなかった。このような重層する pigmented cell と fibroblast から成る lamina fusca の果たす役割については、今のところ何らの解

釈も与えられていない。pigmented cell の機能のひとつは瞳孔以外からの散乱光の射入を防いでいることは容易に想像されうる。fibroblast については一般に生体においてコラーゲン、グリコサミノグリカン、エラスチンおよびフィブロネクチン等の細胞間物質の合成、貪食作用、さらに細胞自体が収縮作用を有するとされている⁸⁾。lamina fusca に存在する fibroblast の役割の一部は強膜および脈絡膜内の膠原線維の代謝に深く関与していることは明白であろう。

一方、房水は主として iridocorneal angle に存在するシュレム管ないし aqueous plexus からのいわゆる conventional route から排出されるとされてきたが、近年もうひとつの排出路として uveoscleral route が注目されている。これは隅角の一部を形成する虹彩根部ないし毛様体から房水が入り、そこから毛様体筋線維の間を通過して脈絡膜に達し、漸時 suprachoroidea および強膜を貫いて眼外に排出される route である。全排出量に占める uveoscleral route からの排出量の比率は動物種により、報告者によってかなりの差があり、家兎では 2.8%¹⁴⁾から 25%¹⁵⁾、猿では 20%¹⁶⁾から 35%¹⁷⁾、人眼では毛様体筋の緊張の程度によって差があり、ピロカルピンによって毛様体筋を緊張させた際は 0~3%と少なく、アトロピンによる弛緩の際は 4~27%と上昇し、これらの薬物を使用しなかった場合は 4~14%であったという¹⁸⁾。形態学的観点からは毛様体筋細胞間には体内の他の平滑筋細胞と大きく異なっており、gap junction すら欠き macula adherens ない

し desmosome が認められるにすぎない¹⁹⁾²⁰⁾。毛様体筋の収縮ないし弛緩によって uveoscleral outflow が影響されるとする考え方には若干説得力が欠けるように思われる。lamina suprachoroidea は以上述べてきたように、その構造上の特性からは barrier にはならず、むしろ易透過性を示すものであり、uveoscleral route の通路としては大変合目的な構造であるといえることができる。しかし、この様な構造上の特性は逆に多量の房水を無制限に眼外に流出せしめるのではなく、ある一定の抵抗を示して流出量を規制している可能性がある。換言すれば lamina suprachoroidea は filter paper あるいは篩の様な役割を果たし、房水はここで濾過されて一定量宛眼外に排出されるとするものである。逆に本組織が barrier と成り得ない以上、眼外の物質もまた強膜から lamina fusca を経て眼内に流入する可能性を有しており、その際にも lamina suprachoroidea は眼外物質が眼内に無制限に流入するのを防いでいることが考えられる。この様に lamina fusca を介して眼内と眼外の物質の交流があるとすれば、その流れの方向は何らかの圧勾配によって支配されているものと推測される。どの様な圧勾配によるものかを解明することは日常臨床上、緑内障の治療もしくは眼内への薬剤移行等その応用範囲は極めて多岐にわたるものといえよう。

本論文の要旨は第 15 回日本微小循環学会総会において発表した。

文 献

- 1) Kelly DE, Hageman GS, McGregor JA: Uveal compartmentalization in the hamster eye revealed by fine structural and tracer studies: Implications for uveoscleral outflow. Invest Ophthalmol Vis Sci 24: 1288—1304, 1983.
- 2) Koseki T, Wood RL, Kelly DE: Structural analysis of potential barriers to bulkflow exchanges between uvea and sclera in eyes of rabbits. Cell Tissue Res 259: 255—263, 1990.
- 3) 小関 武: 有色家兔眼 lamina fusca の微細構造. 秋田医学 16: 453—465, 1989.
- 4) Wood RL, Koseki T, Kelly DE: Structural analysis of potential barriers to bulkflow exchanges between uvea and sclera in eyes of Macaque monkeys. Cell Tissue Res 260: 459—468, 1990.
- 5) Shen JY, Kelly DE, Hyman S, et al: Intraorbital cerebrospinal fluid outflow and the posterior uveal compartment of the hamster eye. Cell Tissue Res 240: 77—87, 1985.
- 6) Hageman GS, Kelly DE: Fibrillar and cytoskeletal substructure of tight junctions: Analysis of single-stranded tight junctions linking fibroblasts of the lamina fusca in hamster eyes. Cell Tissue Res 238: 545—557, 1984.
- 7) Raviola G, Sagaties MJ, Miller C: Intercellular junctions between fibroblasts in connective tissues of the eye of Macaque monkeys. Invest Ophthalmol Vis Sci 28: 834—841, 1987.
- 8) 梶川欽一郎: 結合組織. 東京, 金原出版, 19—47, 1984.
- 9) Bill A, Hellsing K: Production and drainage of aqueous humor in the cynomolgus monkey. Invest Ophthalmol 4: 920—926, 1965.
- 10) Bill A: Aqueous humor dynamics in monkeys. Exp Eye Res 11: 195—206, 1971.
- 11) Inomata H, Bill A, Smelser GK: Unconventional routes of aqueous humor outflow in cynomolgus monkey. Am J Ophthalmol 73: 893—907, 1972.
- 12) Inomata H: Exit sites of uveoscleral flow of aqueous humor in cynomolgus monkey eyes. Exp Eye Res 25: 113—118, 1977.
- 13) Pederson JE, Gaasterland DE, Maclellan HM: Uveoscleral aqueous outflow in the rhesus monkey: Importance of uveal reabsorption. Invest Ophthalmol Vis Sci 16: 1008—1017, 1977.
- 14) Bill A: The routes for bulk drainage of aqueous humor in rabbits with and without cyclodialysis. Doc Ophthalmol 20: 157—169, 1966.
- 15) Tripathi RC: Uveoscleral drainage of aqueous humor. Exp Eye Res (Suppl) 305—308, 1977.
- 16) Bill A: The aqueous humor drainage mechanism in the cynomolgus monkey with evidence for unconventional routes. Invest Ophthalmol 4: 911—919, 1965.
- 17) Bill A: Conventional and uveoscleral drainage of aqueous humor in the cynomolgus monkey at normal and high intraocular pressure. Exp Eye Res 5: 45—54, 1966.
- 18) Bill A: Uveoscleral drainage of aqueous humor in human eyes. Exp Eye Res 12: 275—281, 1971.
- 19) Ishikawa T: Fine structure of the human ciliary muscle. Invest Ophthalmol 1: 587—608, 1962.
- 20) Lütjen-Drecoll E, Tamm E, Kaufman PL: Age changes in rhesus monkey ciliary muscle: Light and electron microscopy. Exp Eye Res 47: 885—899, 1988.