

第98回 日本眼科学会総会 宿題報告II

屈折・調節の基礎と臨床

強度近視の眼軸延長機転と網膜脈絡膜萎縮

所 敬

東京医科歯科大学医学部眼科学教室

共同研究者

船田みどり, 赤澤 嘉彦, 世古 裕子, 草刈 匡世, 上川床総一郎, 伊藤 睦子
森嶋 直人, 大竹 能輝, 大野 京子, 岩渕美代子, 山下 和雄, 由良 智継
小田島史枝, 福井 えみ, 野崎 麻也, 佐々木秀次, 石井 靖宏, 菅本 良治
坪井 俊一, 山下 悟

研究協力者

田中 靖彦, 桂 弘, 和気健二郎, 佐藤 哲二, 石田 明允, 東 洋
高久田和夫, 佐久間 昭

要 約

強度近視の視覚障害の主因である眼軸延長に伴う網膜脈絡膜萎縮を解明するために、実験近視モデルを用いて眼軸延長機転を主として成長因子の面から検討した。さらに、多数のヒト強度近視眼の解析から網膜脈絡膜萎縮を起こす説明因子を検索するとともに、その進行過程についても検討した。

I. 眼軸延長機転

ヒヨコに半透明ゴーグルまたは黒色ゴーグルを2週間装着させると、20~30 diopter (D)の近視化が起こった。しかし、24時間暗黒で飼育した場合には近視化はみられず、暗黒下でゴーグルを装着させても、ごく軽度の近視化が得られるのみであった。そこで、近視化には光が必要であり、ゴーグルによる温度上昇の影響は軽微なものと思われた。光学顕微鏡（光顕）所見では、近視ヒヨコ眼の後極部強膜は対照に比べて軟骨強膜が厚く、線維強膜は薄く、両者の境界が不明瞭で、ここに軟骨細胞の増殖像がみられた。次に、強膜各部位（眼底周辺部、赤道部、後極部）における細胞増殖能を proliferating cell nuclear antigen (PCNA), decorin, basic fibroblast growth factor (b-FGF), transforming growth factor- α (TGF- α), transforming growth factor- β

(TGF- β), insulin like growth factor-II (IGF-II), phosphotyrosine について免疫組織学的に陽性細胞率を調べた結果、b-FGF, TGF- α を除いて近視眼後極部で陽性率が高かった。このことから、ヒヨコ実験近視眼の後極部強膜では軟骨細胞の増殖が旺盛で成長因子の発現が多くみられた。電子顕微鏡（電顕）所見では、後極部強膜軟骨細胞の増殖像がみられ、線維強膜のコラーゲン線維の太さが細く、間隙は広がっていた。これらの所見は孵化前の強膜の所見に類似し、実験近視眼では孵化前の状態が持続していると考えられた。培養系では、培養軟骨細胞と網膜（網膜色素上皮を除く）あるいは網膜色素上皮+脈絡膜との co-culture によって、網膜との co-culture では培養軟骨細胞の増殖は有意に抑制され、網膜色素上皮+脈絡膜では有意に促進された ($p < 0.05$)。また、培養色素上皮細胞と培養軟骨細胞との co-culture によっても軟骨細胞の増殖を示した ($p < 0.05$)。したがって、網膜色素上皮細胞が軟骨細胞を増殖する因子を産生していることが示唆された。ウシの眼球各部位の脈絡膜の張力検査から、脈絡膜の前後方向の伸展度は部位により変化はなく、輪状方向より伸びやすい。そこで、この前後方向の張力が集中する視神経乳頭あるいは

別刷請求先：113 東京都文京区湯島1-5-45 東京医科歯科大学医学部眼科学教室 所 敬

(平成6年10月11日受付, 平成6年10月17日受理)

Reprint requests to: Takashi Tokoro, M.D. Department of Ophthalmology, Tokyo Medical and Dental University School of Medicine, 1-5-45 Yushima, Bunkyo-ku, Tokyo 113, Japan

(Received October 11, 1994 and accepted October 17, 1994)

黄斑部へ力学的負荷がかかるとともに眼圧も関与して眼軸が後極部方向に延長する可能性もあると考えられた。

II. 実験近視モデルの網膜脈絡膜萎縮

生後12か月の3匹のカニクイ猿の右眼に瞼々縫合をし、約4年後に開瞼し、これらを9年間飼育した。3匹のうち、最も近視の強い1匹(-19D)に網膜脈絡膜病変をみた。この組織学的所見は、短後毛様動脈穿通部で脈絡膜がヘルニア様に後方に隆起していた。また、電顕所見ではBruch膜に強い加齢変化がみられた。そこで、実験近視の網膜脈絡膜萎縮の発生には加齢が関係していると思われた。

III. ヒト網膜脈絡膜萎縮の進展

① 遺伝的背景：強度近視者26名で細胞間質レチノール結合タンパク質(IRBP)の4つのexonについてPCR-SSCPで遺伝子解析を行ったが、異常遺伝子を証明できなかった。② 網膜脈絡膜萎縮の説明因子：近視性網膜脈絡膜萎縮を説明する因子には年齢、屈折度、眼軸長と角膜屈折力があげられた。また、視力に影響する因子は、その寄与度から、Fuchs斑、びまん性病変、限局

性病変、眼軸長、年齢の順であった。したがって、視力低下の原因として後極部の網膜脈絡膜萎縮の影響が大きい。③ 長期観察例の網膜脈絡膜萎縮の進展：3年以上の経過観察で、びまん性病変では17.7%、限局性病変では17.2%に進行がみられた。将来の視力低下の説明因子を数量化II類で検討した結果、Fuchs斑が将来の視力低下に最も関係し、次いで、びまん性病変、限局性病変、眼軸長、年齢の順であった。また、これらから将来の視力低下をある程度推測できた。網膜脈絡膜萎縮の新しい進行様式として、単純性黄斑出血からlacquer crack lesion(LC)へ、LCからFuchs斑へ、LCから限局性病変への進行が従来の進行様式に追加された。④ 蛍光眼底造影と赤外蛍光眼底造影所見から、近視性網膜脈絡膜萎縮の初期変化は網膜色素上皮の障害が先の場合と脈絡膜毛細血管板の障害が先の場合とがみられた。(日眼会誌 98:1213-1237, 1994)

キーワード：眼軸延長機転、網膜脈絡膜萎縮の進展、実験近視モデル、成長因子、視力の予測

Mechanism of Axial Elongation and Chorioretinal Atrophy in High Myopia

Takashi Tokoro

Department of Ophthalmology, Tokyo Medical and Dental University School of Medicine

Abstract

Myopic chorioretinal atrophy with axial elongation is one of the main factors of visual impairment in high myopia. To clarify the causes of this chorioretinal atrophy (CRA), the mechanism of ocular axial elongation was investigated from the effects of growth factors on experimental myopia models. From the analysis of large numbers of humans with extreme myopia, the factors causing CRA and the process of progression of this atrophy were also studied.

I. Mechanism of ocular axial elongation

Myopic change of 20 to 30 diopters occurred in chicks when they wore translucent or black opaque goggles for 2 weeks. But when they were fed under dark conditions for 24 hours, myopic change did not occur, and even when the goggles were worn, only slight myopic changes occurred. Thus, it appeared that light was necessary for myopic change and an increase in temperature caused by the goggles had little influence on the myopic change. In light microscopic observations, the posterior sclera of myopic chick eyes had thicker cartilaginous sclera and thinner fibrous sclera than the normal controls and abnormal proliferation of chondrocytes was seen at the border area. To investigate the changes

in cell proliferation at 3 different locations (periphery, equator, posterior pole) of the sclera, the ratio of positive cells in PCNA, Decorin, b-FGF, TGF- α , TGF- β , IGF-II, and phosphotyrosine were studied immunohistologically. Positive ratios were higher at the posterior pole of the treated myopic eyes for all factors, except for b-FGF and TGF- α . We estimated that the proliferation of chondrocytes and revelation of growth factors were higher at the posterior pole of the sclera in the experimental myopic eye than in the control eyes. In electron microscopic observations, proliferation of chondrocytes in cartilaginous sclera was found and small diameter collagen fibrils with a large amount of ground substance were observed in the fibrous sclera. These observations were similar to those of the sclera before hatching. It appeared that the sclera of the experimental myopic eyes remained in the pre-hatching condition. In co-culture experiments of the cultured chondrocytes of cartilaginous sclera and the retina (retinal pigment epithelium (RPE) excluded), proliferation of the chondrocytes was suppressed significantly ($p < 0.05$). On the other hand, in the co-culture of chondrocytes and RPE-choroid, increase of the chondrocytes was induced

($p < 0.05$). Proliferation of the chondrocytes was also seen in the co-culture of cultured RPE cells and cultured chondrocytes ($p < 0.05$). Therefore, it appeared that RPE cells might be producing factors to proliferate chondrocytes. From a tension experiment with bovine choroid, we found that the degree of stretch in the longitudinal direction was stable in all choroidal locations, and that the degree of stretch was greater in the longitudinal direction than in the circular direction. This tension of the choroid in the longitudinal direction may accumulate in the optic disk or the macular area, and cause mechanical stress to these areas. Thus, it may be possible that the tension becomes one of the factors of axial elongation in the direction of the posterior pole.

II. CRA in experimental myopia models

3 monkeys (*Macaca fascicularis*) which were 12 months old, had their right eye lids sutured closed and reopened 4 years later. Further observations were carried out for another 9 years. Of these 3 monkeys, chorioretinal lesion was observed at the macular area in the one with the highest myopic change ($-19D$). A herniation of the choroid from the scleral dehiscence at the macular area was histologically observed at the penetrating position of a short posterior ciliary artery. This finding was similar to the lesion reported in human high myopic eyes. Also, from the electron microscopic observations, the treated high myopic eyes showed strong age-related to the changes in Bruch's membrane. Therefore, it appeared that aging was related to the occurrence of CRA in experimental myopia.

III. Progression of human CRA

1) Hereditary background: A search for candidate genes was performed focusing on IRBP using the PCR-SSCP technique in 26 persons with high myopia. However, no gene abnormality was proved.

2) Factors influencing CRA: To investigate the factors causing myopic CRA, age, refraction, axial length, and corneal power were studied. The main factors influencing decrease of the visual acuity in high myopia were found to be Fuchs' spot, diffuse lesions, focal lesions, axial length, and age in order of importance. Therefore, we considered that CRA in the posterior pole had a strong effect on the decrease in visual acuity. 3) Progression of CRA in long-term follow-up cases: Progression of the lesions was observed in 17.7% of the diffuse lesions and 17.2% of the focal lesions after more than 3 years of follow-up observation. Statistical analysis was used to investigate the factors which might cause decrease in visual acuity. The results showed that the existence of Fuchs' spot had the largest correlation with the prospective decrease in visual acuity, and the other factors correlated in the order of diffuse lesions, focal lesions, axial length, and age. From these results, presumption of the prospective decrease in visual acuity was thought to be possible in a reasonable range. Through these investigation, new courses of progression of CRA were discovered and added to the previous criteria. Those courses were simple macular hemorrhage to the lacquer crack lesion (LC), LC to Fuchs' spot, and LC to focal lesions. 4) Fundus observations by fluorescein angiography and infra-red fluorescein angiography: As a primary change in myopic CRA, either the impediment of RPE or the impediment of chorio-capillary layers in the choroid was observed. (Jpn Ophthalmol Soc 98: 1213-1237, 1994)

Key words: Mechanism of ocular axial elongation, Progression of chorioretinal atrophy, Experimental myopia model, Growth factor, Presumption of visual acuity

I 緒 言

東京都心身障害者福祉センターによる視覚障害の原因別頻度は、過去20年間強度近視がその首位を占めている¹⁾。視覚障害のうち、裸眼視力の低下は勿論であるが、矯正視力もしばしば低値を示し、特に、屈折度が強くなるほど、裸眼視力、矯正視力ともに不良になる²⁾。そして、40代の強度近視者で矯正視力が急激に低下するのは加齢と関係がある³⁾⁴⁾。強度近視が眼軸延長によって起こることは論を待たない。そして、この眼軸延長による網膜脈絡膜萎縮が視覚障害の主な原因になると考えられる⁵⁾。したがって、強度近視の本態を知るには、眼軸延長

機転を明らかにすることは極めて重要であり、これによって網膜脈絡膜萎縮の発生機序ならびに進行過程を検索することが可能となる。

眼軸延長機転の解明には確実な実験近視モデルの作成が不可欠である。1977年、WieselとRaviola⁶⁾が幼若サルに瞼々縫合して強度近視眼を作成することに成功して以来、確実な実験近視モデルとして用いられて来ている。さらに、この方法は他の実験動物にも応用され、眼軸延長機転の研究がサル⁷⁾⁸⁾、ヒヨコ^{9)~15)}、tree shrew¹⁶⁾などで行われて来ている。しかし、眼軸延長機転について明確な解答は得られていない。そこで、今回、著者らはサルとヒヨコの実験近視モデルを用いて、成長因子の面か

ら眼軸延長機転を調べるとともに、従来報告のなかった実験近視モデルで網膜脈絡膜萎縮が惹起されるか否かについて検討した結果、興味ある知見が得られた。

一方、人眼においては網膜脈絡膜萎縮が加齢と眼軸延長に関係があるとの報告がある⁵⁾¹⁷⁾¹⁸⁾。しかし、統計学的に眼軸延長と網膜脈絡膜萎縮との関係の報告や、眼軸延長に伴い網膜脈絡膜萎縮が経時的にどのように進展していくかについての詳細な検討はみられない。そこで、今回は厚生省網膜脈絡膜萎縮症調査研究班の病的近視診断の手びき¹⁹⁾に基づいて多数のヒトの強度近視眼の解析および経過観察の結果から、網膜脈絡膜萎縮の進展に影響する因子と新しい進展様式とが見出されたので、ここに報告する。

II 眼軸延長機転

1985年、RaviolaとWiesel⁷⁾はサルの種類によって近視発生の状況が異なることを見出した。すなわち、視神経を切断後瞼々縫合した場合、*Macaca mulatta*では同じように近視になるが、*Macaca arctoides*ではない。そこで、前者では局所因子を考えなければならない。Raviolaら⁸⁾は*Macaca mulatta*で閉瞼した眼の網膜を組織化学的に調べると、アマクリン細胞に polypeptide の一種である vasoactive intestinal polypeptide (VIP) を高値に証明し、これが眼軸延長の原因になる可能性があると述べている。いずれにしても、サルの視性刺激遮断による近視の発生および眼軸延長機転は中枢神経系と局所因子としての網膜の両者が関与していると思われる。一方、ヒヨコの実験でも、視神経を切断しても視性刺激遮断によって近視が惹起されることが報告されている¹⁰⁾¹¹⁾。そして、最近では、網膜内のドーパミン合成の減少が眼軸の延長を促進するとの報告がある^{12)~15)}。しかし、これらの実験結果は十分に確認されておらず、今なお、眼軸延長機転の解明には至っていない。そこで、今回著者らはこの眼軸延長機転を明らかにするために、実験近視眼の詳細な形態的解析を行うとともに成長因子の関与について *in vivo*, *in vitro* の両面から検討した。さらに、脈絡膜の張力と伸展性についても調べた。まず、視性刺激遮断の条件と近視化の程度について述べる。

1. 視性刺激遮断の条件と近視化

1) 方法

孵化後2日の white leghorn 雄の左眼に半透明プラスチックゴーグル (透過率80%) を α -cyanoacrylate で装着し、14日目に諸検査を行った。ゴーグルは外径18 mm、内径15 mm のポリスチレン製遠視管の底部から作製され、厚さ1 mm のラバーシートで縁取りされた。また、この内側に黒色ラッカーを塗り、透過率0%としたものを黒色ゴーグルとして用いた。12時間400 lux の照明の明所—12時間暗所で飼育したものを1群とし、24時間完全暗所下で飼育したものを2群とした。完全暗所下

飼育での給餌は現像用赤色灯下で行った。ゴーグルの種類、片眼あるいは両眼ゴーグル装用の群分けを図1に示した。

屈折度は線条検影器で測定された水平方向の値とし、眼軸長は超音波測定装置 (Nidek, US-3000) を用いて測定し、得られた値を Wallman ら²⁰⁾の報告に基づいて補正した。その後、エーテルの過剰麻酔で実殺し、左心室から灌流固定後、眼球摘出し、カリバーで角膜頂点から後極部強膜表面までの外眼軸長と水平方向の赤道径を計測した。

2) 結果

a. 半透明ゴーグルと黒色ゴーグルとの比較 (図1)

ゴーグル装用の左眼では著明な近視化がみられたが、非装用右眼では近視化は起こらなかった。半透明ゴーグル装用の左眼の屈折度は -29.55 ± 4.76 D ($n=11$)、対照の右眼は $+2.11 \pm 1.78$ D ($n=11$)；黒色ゴーグル装用の左眼の屈折度は -35.73 ± 7.13 D ($n=11$)、対照の右眼は $+2.59 \pm 2.03$ D ($n=11$) であった。半透明ゴーグル装用眼と黒色ゴーグル装用眼との比較では、後者が前者より有意に近視化していた (Mann-Whitney U 検定, $p < 0.05$)。眼軸長は実測値では半透明ゴーグル装用眼で 11.71 ± 0.59 mm ($n=16$)、対照眼 10.23 ± 0.36 mm ($n=16$) で有意差 ($p < 0.05$) はみられたが、超音波による生体眼での眼軸長では有意差はなかった。

b. 両眼ゴーグル装用での近視化 (図1)

両眼に半透明ゴーグルを装用させた時の屈折度は、右眼 -24.67 ± 6.43 D ($n=3$)、左眼 -22.66 ± 10.21 D ($n=3$) と両眼に強い近視化がみられ、眼軸長も延長していた。右眼半透明、左眼黒色ゴーグル装用の場合の屈折度はそれぞれ -32.00 ± 3.00 D ($n=9$)、 -33.44 ± 2.89 D ($n=9$)

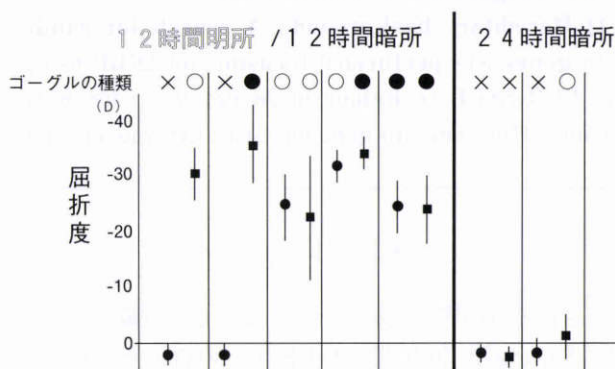


図1 視性刺激遮断の条件と近視化の程度。

種々のゴーグルを12時間明所—12時間暗所 (1群)、および24時間暗所 (2群) の条件下で、2週間装用させた後のヒヨコの両眼の屈折度を示す。ゴーグルの種類として、白丸は半透明ゴーグルを、黒丸は黒色ゴーグル装用を示し、罰印はゴーグルを装用していないことを示す。右対照眼の平均の屈折度を小黒丸で、左処置眼の平均の屈折度を小黒四角で表し、縦線は標準偏差を示す。

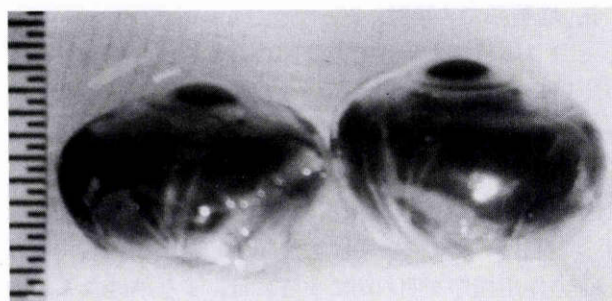


図2 摘出ヒヨコ眼球。

左処置眼（図右）が右対照眼（図左）に比べて拡大している。

で、左右眼の有意差はみられなかった。また、片眼ゴーグル装用眼との屈折度、眼軸長の比較でも有意差はみられなかった。

c. 暗所飼育での近視化（図1）

ゴーグルを装用させずに暗所飼育した場合には軽度の遠視化がみられた。暗所飼育で左眼に半透明ゴーグルを装用させた場合、右の対照眼 $+1.39 \pm 2.52$ D ($n=11$) に比べて左処置眼では -1.89 ± 4.07 D ($n=11$) と軽度の近視化がみられた ($p<0.05$)。眼軸長では有意差はなかった。

2. 組織学的検討

半透明ゴーグルを装着したヒヨコの左処置眼は、右対照眼に比べて大きくなっていた（図2）。拡大程度は眼軸方向に2、赤道径方向に1の割合であった。拡大した近視眼をより詳細に検討するために、その形態的变化を光学顕微鏡（光顕）、電子顕微鏡（電顕）を用いて観察した。

1) 方法

摘出眼球から、光顕観察（HE染色および免疫組織化学）用には、凍結標本とパラフィン標本、電顕観察用には、エポキシ樹脂標本が作製された。強膜各部位における細胞増殖能を調べるために、S期の細胞に局在することが知られている proliferating cell nuclear antigen (PCNA)、また、軟骨細胞の細胞外基質である proteoglycan (decorin) に対する抗体を用いて、免疫組織化学的に検討した。次に、間葉系の細胞の増殖・タンパク合成に関与する成長因子の存在を知るために、basic fibroblast growth factor (b-FGF)、transforming growth factor- α (TGF- α)、transforming growth factor- β (TGF- β)、insulin like growth factor-II (IGF-II) の局在、さらに、成長因子の標的細胞におけるチロシンのリン酸化を phosphotyrosine に対する抗体を用いて検出した。部位別に解析するために眼底周辺部、赤道部、後極部の陽性細胞率を求めた。

2) 結果

図3は眼球後極部の光顕写真である。ヒヨコの強膜は軟骨強膜と線維強膜から成り立っている。眼球全体の強膜を観察すると、眼底周辺部、赤道部においては対照眼

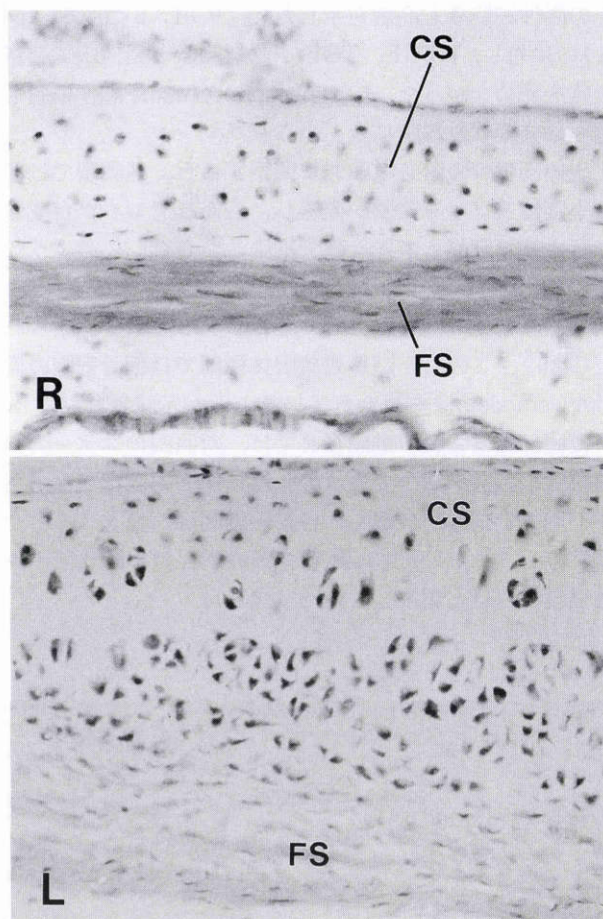


図3 ヒヨコ後極部強膜の光学顕微鏡（光顕）写真（ $\times 460$ ）。

対照眼（R）と比較して処置眼（L）の後極部強膜では軟骨性強膜（CS）の肥厚と線維強膜（FS）の菲薄化がみられ、両者の境界は不明瞭である。肥厚した軟骨強膜では細胞外基質が増大している内層と細胞が増殖している外層とに分けられる。

と近視眼との間には大きな形態的差はなかったが、後極部ではこの両者に著しい差が認められた（図3）。図3下方の処置眼では、上方の対照眼に比べて軟骨強膜が肥厚し、線維強膜は菲薄化していて、両者の境界が不明瞭であった。肥厚した軟骨強膜では細胞密度が低く、細胞外基質部分の増大している内層と細胞密度が高く、細胞の増殖している外層との2層に分けられた。

PCNA, decorin を免疫組織学的に観察した結果、特に PCNA は軟骨細胞の増殖している外層に、decorin は軟骨細胞外基質部分の増大している内層で陽性反応が強かった（図4（1）a, b）。そして、両者とも処置眼後極部軟骨強膜に多数の陽性細胞を認めた ($p<0.05$)（図5）。したがって、後極部軟骨強膜の肥厚は軟骨細胞の増殖と細胞外基質合成の増大によって生じていた。次に、この現象を惹起する因子を知るために、間葉系細胞の分化・増殖に関与することが知られている b-FGF, TGF- α , TGF- β , IGF-II について検討した。TGF- β , IGF-II は、処置眼後極部において強い陽性反応を示し（図4（2）c）、

その陽性細胞率も高値を示した($p<0.01$, $p<0.05$) (図5)のに対し, b-FGF, TGF- α は対照眼と処置眼で有意な差を認めなかった. また, phosphotyrosine 陽性細胞も後極部強膜軟骨細胞に多くみられた.

後極部軟骨強膜を電顕的に観察すると, 処置眼では粗面小胞体・ゴルジ装置が発達し, 盛んなタンパク合成像を示す軟骨細胞と未熟な軟骨細胞, さらに, このような軟骨細胞に隣接して細胞質が空胞化した hypertrophic 状の細胞と核の濃縮した apoptosis 状の細胞が認められた(図6). このことから処置眼後極部では軟骨細胞の盛んな remodeling が行われていることが示唆された.

後極部線維強膜の電顕写真では, 対照眼のコラーゲン細線維の太さが均一であるのに対して, 処置眼では太さが不均一で全体的に細く, 各細線維間隙が拡大していた(図7). これらの処置眼線維強膜の所見は, 孵化前の線維強膜の所見と類似していた(図8).

3. 培養系での検討

ヒヨコ実験近視眼強膜後極部における軟骨細胞の活性化と増殖が形態的に明らかにされるとともに, 同部位での成長因子の局在が免疫組織化学的に証明された. さらに軟骨細胞における phosphotyrosine の存在は, 後極部軟骨強膜の肥大が成長因子の傍分泌または自家分泌によって制御されている可能性を示唆した. しかし, 成長因子の作用機序を明らかにするには, より単純な系, すなわち培養系での検討が不可欠である. また, 組織学的所見では明らかに出来なかった, 網膜, 網膜色素上皮, 脈絡膜から成長因子が分泌される可能性についても検討した.

1) 方法

a. 種々の細胞成長因子が培養強膜軟骨細胞の増殖能に及ぼす影響

初代培養ニワトリ胚強膜軟骨細胞 ($7 \times 10^4/100 \mu/10\%$

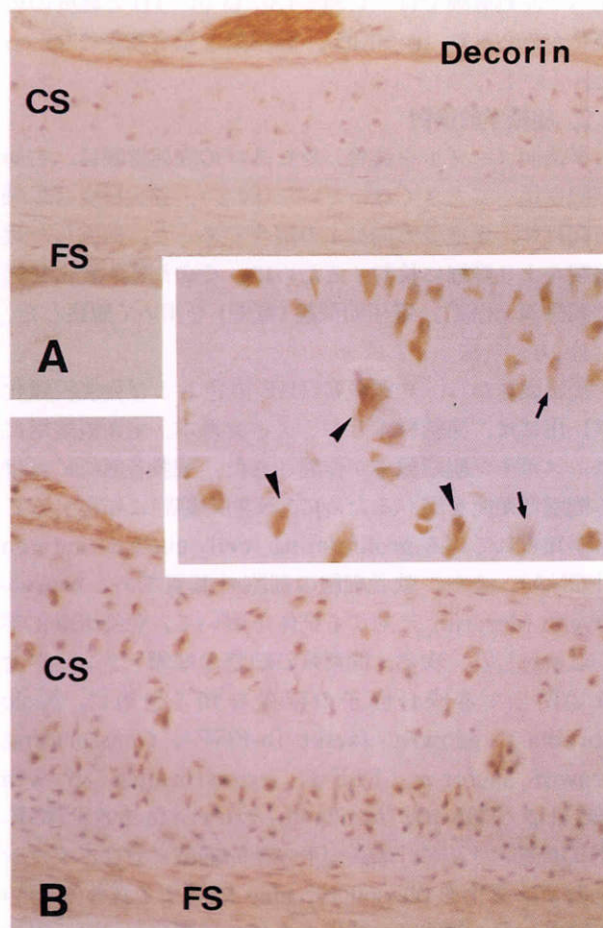
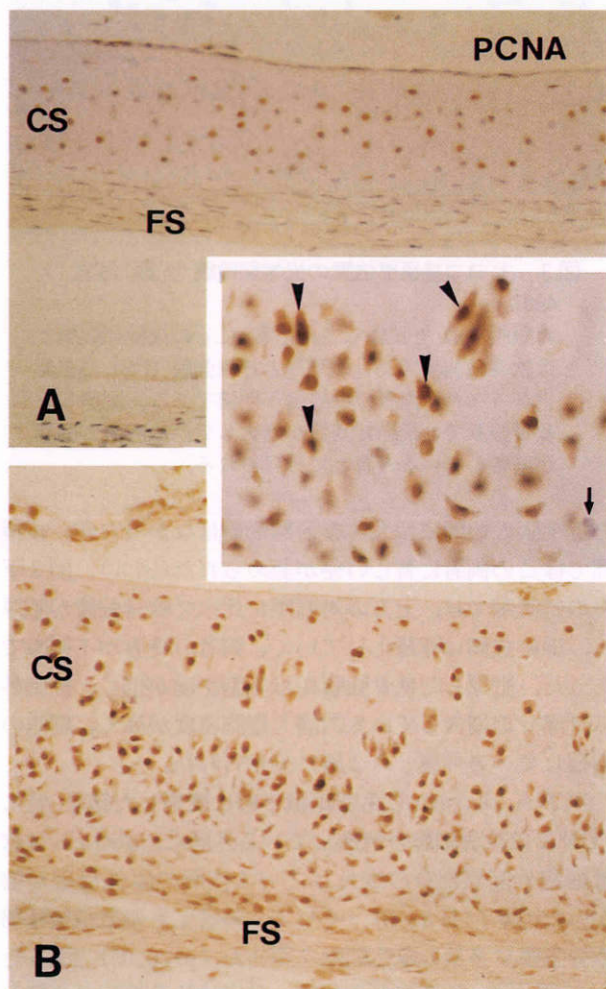


図4(1) PNCA, Decorin の免疫組織学的所見 (ヒヨコ後極部強膜)

a. PCNA: 対照眼 (A) と比べて, 処置眼 (B) では核に強い陽性反応が認められる ($\times 260$). 挿入図は強拡大の光顕写真 ($\times 530$). 陽性細胞 (矢じり) と陰性細胞 (矢印) を示している. FS: 線維強膜, CS: 軟骨強膜

b. Decorin: 対照眼 (A) と比べて, 処置眼 (B) では細胞質に強い陽性反応が認められる ($\times 260$). 挿入図は強拡大の光顕写真 ($\times 530$). 陽性 (矢じり) と陰性細胞 (矢印) を示している. FS: 線維強膜, CS: 軟骨強膜

FBS 加 F-12 培養液) を 24 穴培養プレートに播種し, 5 時間後に b-FGF, TGF- α , TGF- β , IGF-I, IGF-II, platelet-derived growth factor AB (PDGF-AB), platelet-derived growth factor BB (PDGF-BB) を含む 0.5% FBS 加 F-12 培養液 0.5 ml を添加し, 3 日目に培養液を交換した. 5 日目に軟骨細胞数を測定し, 各成長因子について dose response curve を作成し, 飽和した濃度での細胞数を対照を 100 にした時の増加分で比較した.

b. ヒヨコ網膜 (網膜色素上皮を除く), 網膜色素上皮 + 脈絡膜が培養軟骨細胞の増殖能に及ぼす影響

網膜 (網膜色素上皮を除く), 網膜色素上皮 + 脈絡膜からの液性因子が培養軟骨細胞の増殖能に影響を与えるかを検討するために, これらの組織と培養軟骨細胞とを co-culture した. co-culture には Costar 社製の Transwell-COL[®] を用い, そのインサートの透過性膜上に 24 穴培養プレートを用い, 0.5% FBS 加 F-12 培養液中で 5 mm 四方の組織片を器官培養した. そして, その培養上清が透過性膜を通して培養軟骨細胞の増殖に影響を与えるかを検討した. 軟骨細胞を播種してから 24 時間後に

co-culture を開始し, 5 日目に軟骨細胞数を測定し, 軟骨細胞の増殖能を軟骨細胞単独培養群と比較した.

c. 培養ニワトリ胚網膜色素上皮とニワトリ胚強膜軟骨細胞との相互作用

前述の方法では, 網膜色素上皮と脈絡膜の分離は困難である. そこで, 網膜色素上皮単独の作用を知るために培養網膜色素上皮細胞と培養軟骨細胞とを co-culture した. co-culture には Costar 社製の Transwell-COL[®] (数百 kDa 以下の物質を通す膜) と, 高研社製の透過性コラーゲン膜 (6 kDa 以下の物質を通す膜) の 2 種類の透過膜を用いた (図 9).

ニワトリ胚軟骨強膜から得た初代軟骨細胞を透過性コラーゲン膜上に播種し, 10% FCS 加 HamF-12 培養液で培養した. 24 時間後に, この軟骨細胞が生えているコラーゲン膜を, 継代後 7 日目の 2 代目継代ニワトリ胚網膜色素上皮細胞が生えた培養プレートに移し, これと同時に無血清 HamF-12 培養液に代え co-culture した. 対照は, 培養液を上記と同時に無血清培養液に交換し, コラーゲン膜上に単独に培養した軟骨細胞とした. 軟骨細胞と網膜色素上皮細胞を, 4 日間 co-culture した後, コ

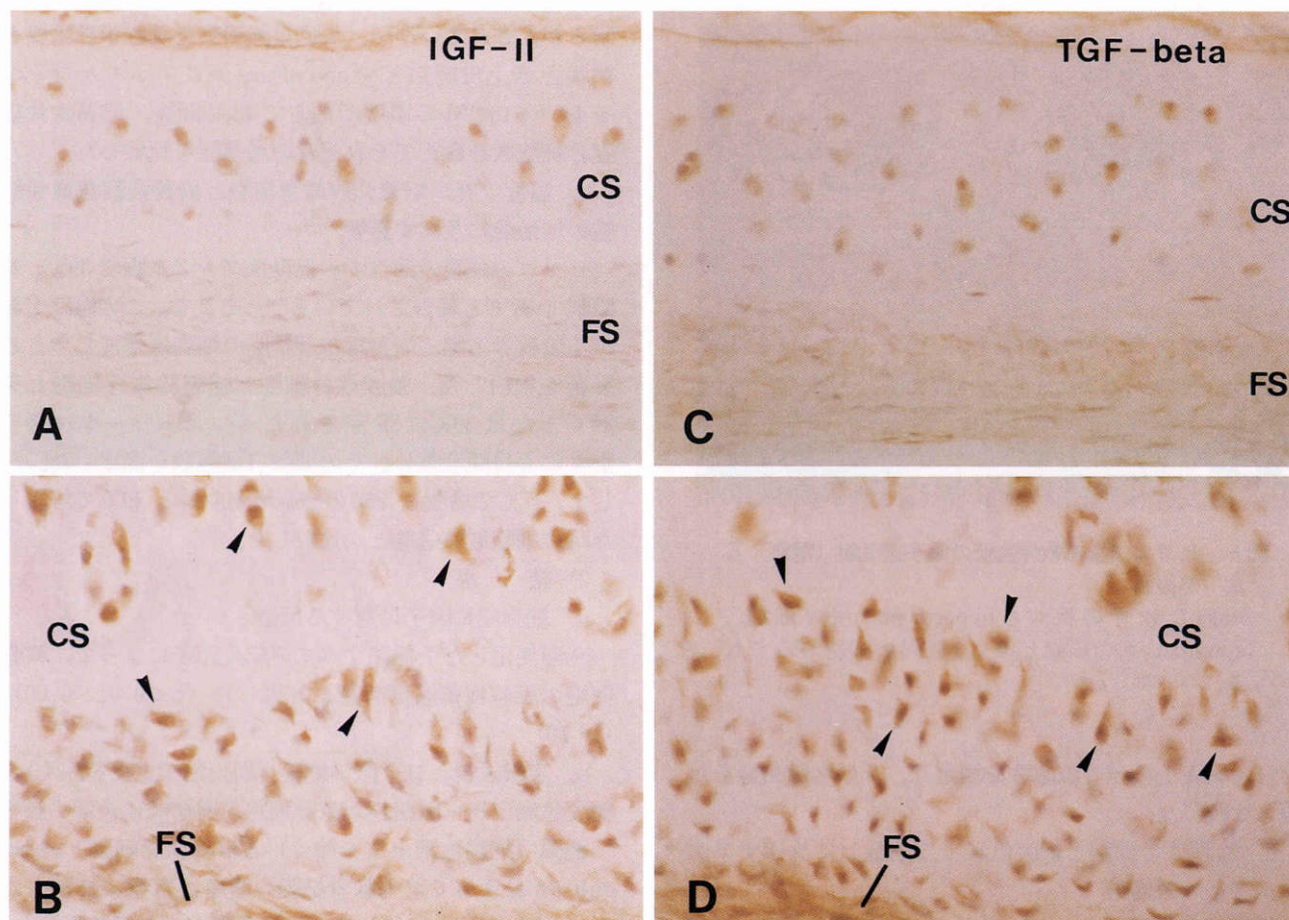


図 4 (2) IGF-II, TGF- β の免疫組織学的所見 (ヒヨコ後極部強膜).

c. IGF-II, TGF- β : 処置眼 (B, D) では多数の強陽性細胞 (矢じり) がみられるのに対し, 対照眼 (A, C) では少数の弱陽性細胞みられるにすぎない ($\times 530$). FS: 線維強膜, CS: 軟骨強膜

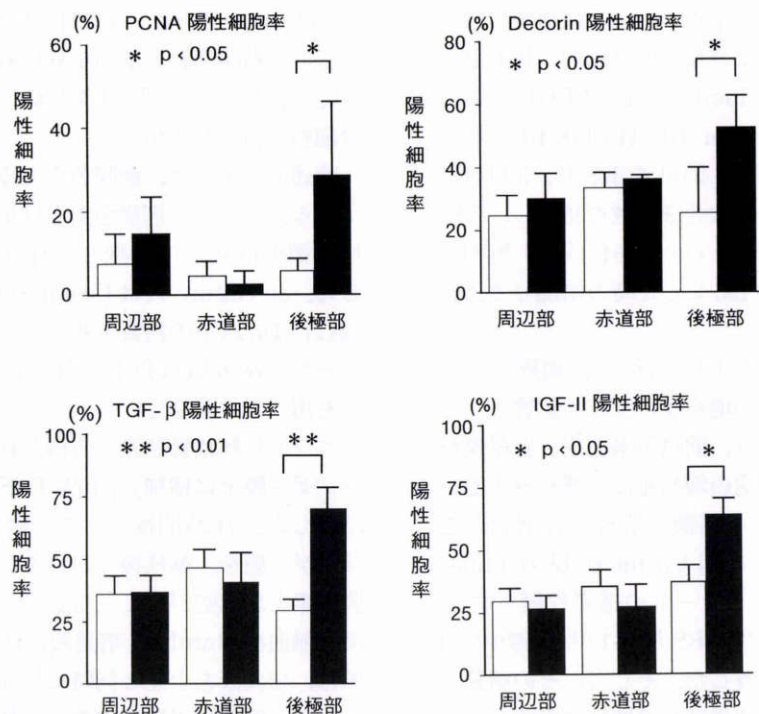


図5 眼底周辺部、赤道部および後極部強膜別のPCNA、Decorin、TGF-β、IGF-II陽性細胞率の平均値と標準偏差（縦線）を示す。

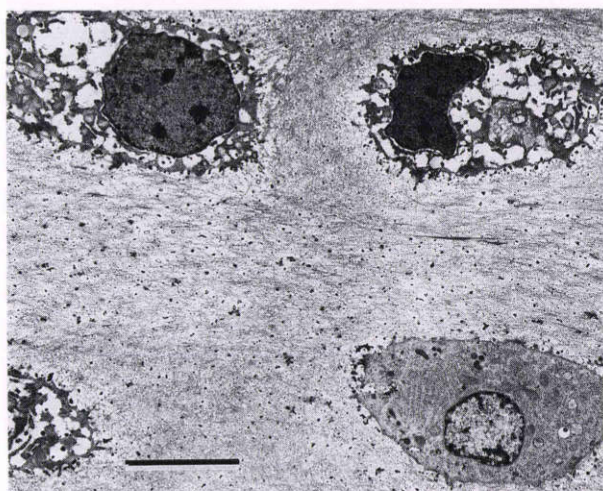


図6 ヒヨコ後極部軟骨強膜の電子顕微鏡（電顕）写真（処置眼）。

未熟な軟骨細胞からhypertrophic状の細胞、apoptosis状の細胞と様々な段階の細胞がみられる。バーは5μm

ラーゲン膜上の軟骨細胞数を測定し、その増殖曲線を対照と比較した。

d. 強膜軟骨細胞と網膜色素上皮細胞とに及ぼすアポモルフィンの効果

視性刺激遮断による実験近視では、網膜内のドーパミンが減少し、ドーパミンアゴニストのアポモルフィンを投与すると、この近視化が抑制されるとの報告がある^{12)~15)}。しかし、アポモルフィンの作用機序については

明らかにされていない。今回は強膜軟骨細胞単独培養と網膜色素上皮細胞とのco-culture系にアポモルフィンを 10^{-7} ~ 10^{-4} Mの濃度で加えて48時間後、培養軟骨細胞の細胞数を数えてそれぞれの増殖能を比較した。

e. 温度上昇が培養強膜軟骨細胞と培養強膜線維芽細胞の増殖能に及ぼす影響

ヒヨコの強膜の深さでの温度はゴーグル眼で39°C、対照眼で37°Cと報告されている²¹⁾。そこで、この温度上昇が培養軟骨細胞、培養線維芽細胞の細胞増殖能に与える影響を検討した。強膜軟骨細胞と強膜線維芽細胞とを37°Cまたは39°Cに設定されたインキュベーター内で別々に5日間培養し、その間毎日細胞数を測定した。そして、37°Cで培養した時の細胞増殖曲線と39°Cで培養した時の細胞増殖曲線とを比較した。

2) 結果

a. 細胞成長因子に対する反応

今回使用した7種類すべての成長因子によって、軟骨細胞の細胞増殖能は有意に亢進した($p < 0.01 \sim 0.05$) (図10)。

b. 実験近視ヒヨコ眼の網膜（網膜色素上皮を除く）、網膜色素上皮+脈絡膜が軟骨細胞の増殖能に及ぼす影響

網膜（網膜色素上皮を除く）と培養軟骨細胞とのco-cultureによって培養軟骨細胞の増殖は有意に抑制された($p < 0.05$)のに対して、網膜色素上皮+脈絡膜とco-cultureによって軟骨細胞の増殖は有意に促進された($p < 0.05$)。また、網膜（網膜色素上皮を除く）+網膜色素上皮+脈絡膜とのco-cultureでは軟骨細胞単独培養

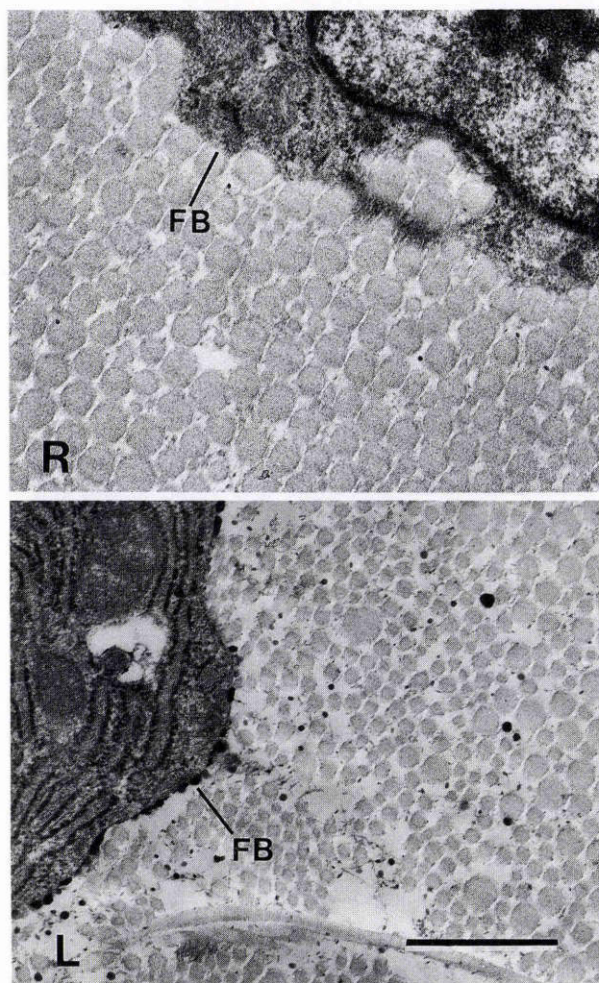


図7 ヒヨコ後極部線維強膜の電顕写真.

対照眼(R)ではコラーゲン細線維の太さが均一であるが、処置眼(L)では太さが不均一で全体に細く、各線維間が拡大している。パーは1 μ m



図8 孵化前(受精後14日)の線維強膜の電顕写真。コラーゲン細線維の太さは全体的に細く、各線維間隙が広い。処置眼後極部線維強膜の所見と類似している。パーは1 μ m

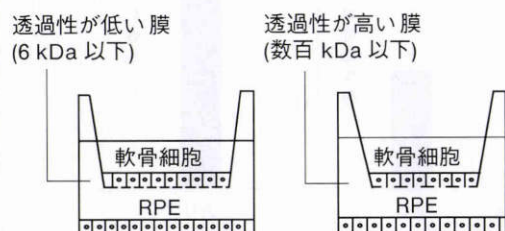


図9 培養網膜色素上皮細胞と培養軟骨細胞との co-culture.

右は透過性の低い膜(6 kDa 以下)、左は高い膜(数百 kDa 以下)を使用した場合の図。

と同様の増殖で、これらの影響はなかった(図11)。

c. 培養網膜色素上皮細胞が軟骨細胞の増殖能に及ぼす影響

数百 kDa 以下の物質を通す透過性の高い膜(Transwell-COL®)を使用した場合には軟骨細胞の増殖が促進されたが、6 kDa 以下の物質のみを通す透過性の低い膜(透過性コラーゲン膜)を使用した場合には軟骨細胞の増殖は抑制された(図12)。

d. 培養軟骨細胞と培養網膜色素上皮細胞に及ぼすアポモルフィンの影響

2×10^{-5} M の濃度のアポモルフィンによって、co-culture 群の軟骨細胞の細胞増殖は著明に抑制されたが、軟骨細胞単独培養群では、わずかに抑制されたのみであった(図13)。一方、同じ濃度のアポモルフィンによって網膜色素上皮細胞の増殖は影響をうけなかった。したがって、アポモルフィンが網膜色素上皮を介して軟骨細胞の増殖能を制御する可能性が考えられる。

e. 温度上昇が培養強膜軟骨細胞と培養強膜線維芽細

胞の増殖能に及ぼす影響

培養条件を $37 \rightarrow 39^{\circ}\text{C}$ に上げることで、軟骨細胞も線維芽細胞も細胞増殖能は亢進した(図14)。

4. 脈絡膜の伸展性

脈絡膜の張力と伸展度との関係を調べた。

1) 方 法

ウシの屠殺直後に眼球を摘出し、摘出後3時間以内に標本を作成した。顕微鏡下に網膜を除去後、鋸状縁、赤道部前方および後方の網膜色素上皮+脈絡膜を $4\text{ mm} \times 6\text{ mm}$ の大きさに切除し標本とした。標本は長軸方向の眼球の前後方向にある縦走標本と、赤道方向にある輪状標本の2種類のものを上述の3部位で作成した。標本の両端を8-0 絹糸で結び、0.9% 生理的食塩水 50 ml (温度 $34 \pm 1.0^{\circ}\text{C}$) を満たした試験管内に懸垂した。絹糸の一端

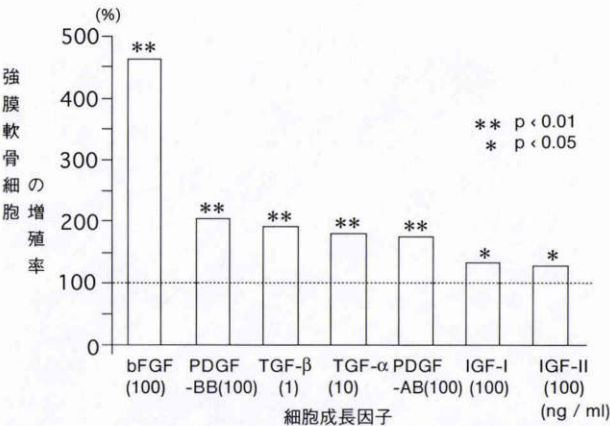


図 10 ニワトリ胚強膜軟骨細胞の増殖に及ぼす細胞成長因子の効果。
縦軸は、細胞成長因子を加えた時に増殖した強膜軟骨細胞数を、細胞成長因子を加えない時の細胞数(対照)で割って、百分率で表した。横軸の括弧内の値は加えた細胞成長因子の濃度を示し、この値は各細胞成長因子の強膜軟骨細胞増殖に対する dose response curve で、成長因子の作用が飽和する濃度から決定した。図は増殖率の高い順に配列してある。

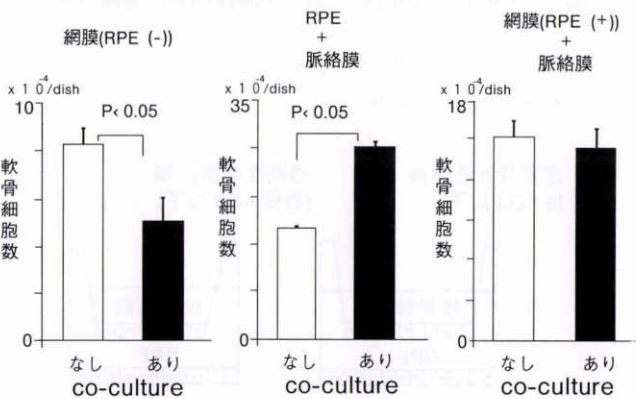


図 11 ヒヨコ眼の網膜・網膜色素上皮・脈絡膜がニワトリ胚強膜軟骨細胞の増殖に及ぼす影響。
縦軸は、1穴あたりの増殖した強膜軟骨細胞数を表している。横軸の“なし”は強膜軟骨細胞を単独で培養したことを示し、“あり”は図中の3通りの条件下で co-culture したことを意味する。棒グラフの値は細胞数の平均値であり、縦線は標準偏差を示す。

を固定した上で、もう一端を張力センサー (UL 型, 新興通信製) に接続し、増幅器 (6 M-52 型, 三栄測定器製) を経て張力を測定した。また、モーターで1分間に1 mm 上下移動した時の標本の伸びを直線型ポテンシオメーター (LP-20 FB 型, 緑測器製) で計測した。この張力と伸びとの変化を、記録計 (3078 型, 横河電機製) を介して同時に記録した。測定精度は calibration の結果、張力は1,000 mg に対して±1.0%, 伸びは1.0 mm に対し±2.0%であった²²⁾。

2) 結 果

張力 600 mg 当たりの各部位での伸展度は表 1 のごと

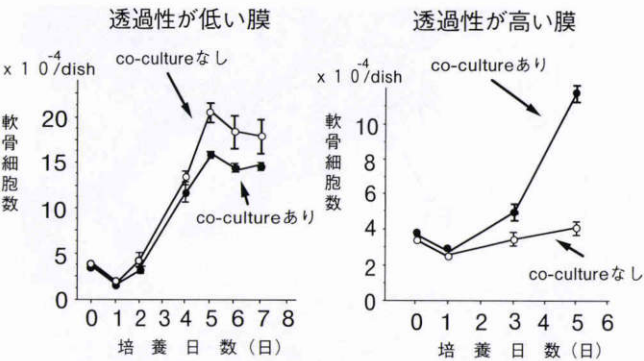


図 12 培養ニワトリ胚網膜色素上皮細胞がニワトリ胚強膜軟骨細胞の増殖に及ぼす影響。
縦軸は1穴あたりの増殖した強膜軟骨細胞数を表している。図中の co-culture なし (白丸) は強膜軟骨細胞を単独で培養したことを示し、co-culture あり (黒丸) はニワトリ胚網膜色素上皮細胞とともに培養したことを意味する。この co-culture の際に、培養した強膜軟骨細胞と網膜色素上皮細胞の境に透過性の異なるコラーゲン膜を用いた。図の各点が表示値は強膜軟骨細胞の平均値であり、縦線は標準偏差である。

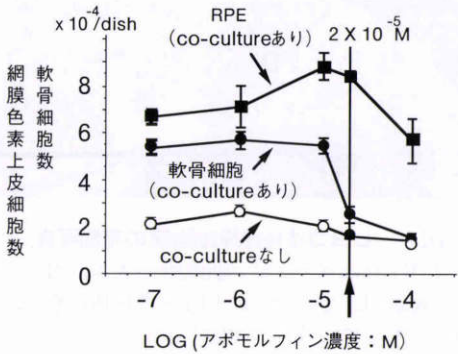


図 13 ニワトリ胚網膜色素上皮およびニワトリ胚強膜軟骨細胞に及ぼすアポモルフィンの影響。
縦軸は1穴あたりの増殖した網膜色素上皮細胞数、もしくは強膜軟骨細胞数を表している。横軸は培養液に加えたアポモルフィンの濃度を対数表示している。図中の白丸は強膜軟骨細胞をアポモルフィン下で単独に培養した時の軟骨細胞数の平均値を示し、一方、黒四角はアポモルフィン下で、co-culture を行った際の網膜色素上皮細胞数の平均値、黒丸は軟骨細胞数の平均値を示している。縦線は標準偏差である。

表 1 眼球各部位での脈絡膜の伸展度 (張力 600 mg あたり)

部 位	N	伸 展 方 向	
		前後方向 (mm)	輪状方向 (mm)
鋸状縁	8	1.34±0.35	1.01±0.34
赤道部前方	8	1.32±0.32	0.93±0.26
赤道部後方	8	1.33±0.38	0.88±0.23

N：眼数、値は平均値±標準偏差
標本サイズ：幅 4 mm×長さ 6 mm

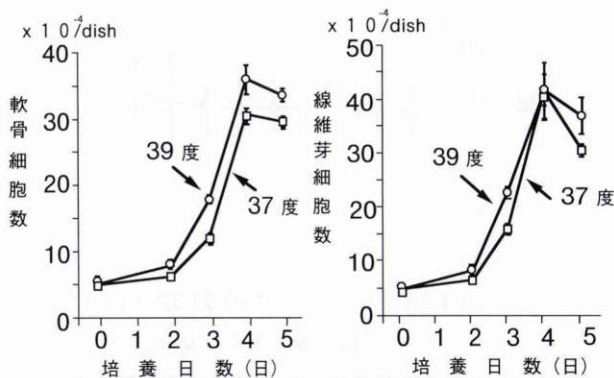


図14 温度上昇がニワトリ胚強膜軟骨細胞および線維芽細胞の増殖に及ぼす影響。

縦軸は1穴あたりの増殖した強膜軟骨細胞数および線維芽細胞数を表している。図中の白四角は37°Cで培養した時の細胞数の平均値を、白丸は39°Cで培養した時の細胞数の平均値を示している。縦線は標準偏差である。

くで、縦走方向では各部位での伸展度は部位によって変わらず、輪状方向の伸びは後極部にいくに従って小さくなる傾向がみられた。

5. 考 按

瞼々縫合やゴーグルなどを装着させてパターン視を遮断すると強い近視が惹起される。この原因は網膜上の朦朧像を知覚することによって考えられていたが、1985年 Raviola と Wiesel⁹⁾がサルの種類によっては、視神経を切断しても近視が起こること、Troilo ら¹⁰⁾はヒヨコで視神経を切断しても近視化することから、視神経より末梢の局所因子が注目されるようになった。この局所因子として、アマクリン細胞中のVIPの増加⁹⁾、網膜内のドーパミンの減少^{12)~15)}などがあげられるが、その原因については未だ明らかではない。

Jensen ら²³⁾は、ヒヨコを白熱灯の常明下で飼育すると眼球が拡大することを報告した。一方、Chiu ら²⁴⁾、大石ら²⁵⁾²⁶⁾は常暗下でヒヨコを飼育すると眼球肥大の起きることを報告し、大石らは眼軸延長とともに-2~-4 D程度の近視化をみている。そこで今回は、まず光の影響について検討した。ゴーグルに光が80%透過する半透明ゴーグルと、光が100%遮断される黒色ゴーグルを用いた結果、黒色ゴーグルの方が近視化が強く起こった。それでは、暗所飼育でゴーグルなしでも近視化が起こるかを24時間暗所でヒヨコを2週間飼育したところ、大石ら²⁵⁾²⁶⁾の報告では弱度の近視の発生をみているが、今回の結果では近視化は惹起されなかった。そこで、近視化はゴーグル装着による眼球の温度の上昇に起因する可能性を考えて、24時間暗所飼育のヒヨコ眼に半透明ゴーグルを装着させたが、近視化はごくわずかであった。In vitroの実験では37~39°Cへの温度上昇によって細胞の増殖は促進されたが、上述のごとく in vivoの結果では暗所でゴーグル装着眼での近視発生はごく軽度であり、

温度上昇の影響があったとしても軽微と思われた。黒色ゴーグルを12時間明所-12時間暗所で装着させた場合には、この眼に光が入らず暗所と同じ条件と思われるが、強い近視となった。これは、他眼から光が入ると、黒色ゴーグル装着眼でごくわずかな光の侵入があること、第3の眼としての松果体の働き²⁷⁾があることなどが考えられる。両眼に黒色ゴーグルを装着させれば上述の第1の点は解決されるが、両眼に黒色ゴーグルを装着させた場合には餌を食べず飼育が困難で、すべて死亡し、確かめることは出来なかった。第2の点は黒色ゴーグル装着部に厚さ1mmのラバーシートで縁取りし、光の侵入を防いだが100%防げたかは疑問が残る。第3の松果体の働きについては現在検討中であるが、いずれにしても実験近視の発生には光が必要である²⁸⁾。

ゴーグルを装着させて近視が惹起された眼の後極部強膜の組織学的所見は、孵化前の幼若な強膜の所見と類似していた(図8)。したがって、ゴーグル装着眼では孵化前の状態が孵化後も持続していると考えられる。ヒヨコの形態覚遮断近視の後極部強膜内にタンパクやプロテオグリカンの合成能が増加しているという報告がある^{28)~30)}。今回の結果でも、眼球後極部では軟骨細胞のプロテオグリカン合成能が増大しているとともに、盛んな細胞増殖像が認められた。このことは、S期の細胞(PCNA陽性細胞)が対照眼と比較して有意に増加している事実と一致していた。また、同部位に成長因子のTGF- β 、IGF-II陽性細胞が多数認められることから、これらの因子が近視眼後極部の細胞増殖に深く関与していると考えられる。しかし、Gottlieb ら³¹⁾の報告のごとく細胞は増加するが、細胞外基質の合成能も増すため、細胞密度は必ずしも増加していない。In vitroではTGF- β 、IGF-IIと同様な反応を示したb-FGF、TGF- α が、in vivoでは対照眼と処置眼との間で有意な差はなかった。この理由として、孵化後の後極部強膜軟骨細胞と孵化後ゴーグルを装着させた処置眼の後極部強膜軟骨細胞では、それぞれの成長因子に対する感受性が異なることが考えられる³²⁾。一方、TGF- β は増殖抑制に働くとの報告もあり³³⁾³⁴⁾、今後、成長因子の濃度による作用の違い、投与時期や他の成長因子との関連性についても検討されなければならない。いずれにしても、眼球後極部強膜を構成する細胞は眼底周辺部や赤道部における細胞とは異なり、より未分化な細胞から成ることが推測される。この考えは、Rada ら³⁵⁾の後極部を含む各部位のタンパク合成能を比較した生化学的所見によっても支持される。

培養系で7種類の成長因子で培養軟骨細胞の増殖能は亢進したが、これらの成長因子がどこから分泌されるかを孵化後1週間のヒヨコの網膜(網膜色素上皮を除く)、網膜色素上皮+脈絡膜あるいは網膜全層+脈絡膜と培養軟骨細胞とのco-cultureを行い、軟骨細胞の増殖能を検討した。その結果、網膜色素上皮を除いた網膜とのco-

culture によって、軟骨細胞の増殖は有意に抑制されたことから、網膜内に軟骨細胞の異常発育を阻止する因子があると思われる。Ehrlich ら³⁶⁾はヒヨコ硝子体中に種々の neurotoxin を注入した実験から、閉瞼眼球の拡大には視細胞が関与していると報告している。また、ヒヨコ処置眼の網膜電図では律動様小波 (OP 波) の振幅が著明に減弱していることから網膜内層の変化が考えられる³⁷⁾。これらのことから、視細胞より内層の網膜が増殖の抑制効果をもつ可能性も考えられる。この網膜内層の抑制因子として、アマクリン細胞でのドーパミン合成³⁸⁾や TGF- β ³²⁾³⁹⁾などが関係している可能性もあるが、今後の検討が必要である。網膜色素上皮+脈絡膜と培養軟骨細胞との co-culture によって軟骨細胞の増殖は有意に促進された。器官培養では網膜色素上皮と脈絡膜との剝離は困難なので、培養網膜色素上皮と培養軟骨細胞との co-culture した結果、透過性の高い膜を使用した場合には軟骨細胞の増殖は促進されたが、透過性の低い膜では増殖が促進されなかった。そこで、網膜色素上皮から、軟骨細胞の増殖を促進する比較的大きな分子の物質を培養上清中に分泌していることがわかった。この因子は分子量あるいは従来の報告から^{40)~42)}成長因子の一種であると考えられる。今後は、western blotting 法などで培養上清中の物質を同定する予定である。

ドーパミンアゴニストであるアポモルフィンを用いると近視化が抑制されることが報告されている^{12)~15)}。今回は *in vitro* でその機序を検討するため、強膜軟骨細胞と網膜色素上皮細胞との co-culture 系にドーパミンアゴニストであるアポモルフィンを添加した。2×10⁻⁵M で co-culture 系での軟骨細胞の増殖は著明に抑制された。単独培養の軟骨細胞の増殖には大きな影響がないことから考えて、アポモルフィンが網膜色素上皮細胞を介して軟骨細胞に影響を与えている可能性が高いと考えられた。

脈絡膜の強膜への接着は赤道部から後極にかけては強く、鋸状縁では弱い。そして、鋸状縁と赤道部の間では実際的な接着はないので、脈絡膜と強膜との間の上脈絡膜腔の圧力は脈絡膜の弾性で眼圧より低いといわれている⁴³⁾⁴⁴⁾。今回のウシ脈絡膜の眼球の前後方向への伸展度は、鋸状縁、赤道部前方、赤道部後方でほとんど同一であり、輪状方向より伸びやすい傾向にある。脈絡膜の物理的性質が一定である場合、力学的に赤道部から後極部の脈絡膜へ前方方向の張力が伝わりと考えられる。そして、この力が集中する視神経乳頭あるいは黄斑部への力学的負荷がかかると思われる。人間では調節によって Bruch 膜が前方へ牽引され、赤道部より前方では上脈絡膜腔が開くため⁴⁴⁾、強膜を伸展する眼圧の付加は後極部に強いと考えられる。ヒト強度近視 951 眼の眼圧を眼軸長別にみると、図 15 のごとく、眼軸長が長くなっても下降する傾向はなく、却って上昇傾向にある。したがって、

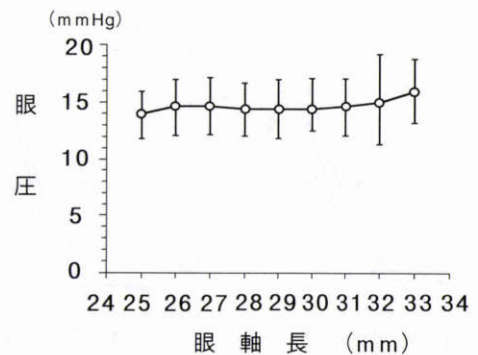


図 15 ヒト強度近視眼における眼軸長別の眼圧の平均値。

縦軸は眼圧を、横軸は眼軸長を示す。-8.25 D 以上のヒト強度近視 951 眼を 25 mm から 1 mm 幅で眼軸長別に分けて、各眼軸長における眼圧の平均値 (白丸) および標準偏差 (縦線) を示す。

強度近視で眼軸が長くなったり、後部ぶどう腫の生じた眼球では薄くなった脈絡膜や強膜が眼圧によってさらに伸展されて、後極部の方向に眼球は拡大すると考えられる⁴⁵⁾。

III 実験近視モデルに網膜脈絡膜病変は起こるか

実験近視眼の組織所見として早期から強膜の菲薄化が指摘されていたが、実験近視モデルで網膜脈絡膜病変をみたという報告はない。一方、ヒト強度近視の網膜脈絡膜萎縮は加齢に伴って著明となり、組織学的には変性と萎縮を主体としている。今回、サル実験近視モデルを長期間観察した結果、網膜脈絡膜病変がみられた。そこで、臨床経過と組織学的検討とを報告する。

1. 方 法

対象は、カニクイサル (*Macaca fascicularis*) 3 匹 (No. 1, No. 3, No. 9) を用いた。いずれも 1978 年約 1 歳齢時に右眼に瞼々縫合を施行した。約 4 年後の 1982 年に開瞼し、検影法による屈折検査、超音波測定装置による眼軸長測定、眼底検査および眼底写真撮影を行った。その後、1984 年、1986 年、1991 年に同一の検査をした。1991 年検査時に No. 3 の右眼黄斑部に白色病変がみられ、1992 年臨床検査後に組織学的検討を行った⁴⁶⁾。1993 年 No. 1, No. 9 についても組織学的検査をした。左心室から 1% グルタルアルデヒド 3% ホルムアルデヒドで灌流固定をした。摘出眼球は細切後オスミウム後固定後パラフィンおよびエポキシ樹脂に包埋し、光顕あるいは電顕で観察した。

2. 結 果

1) 臨床所見

4 年後開瞼時の 3 匹 (No. 1, No. 3, No. 9) の屈折度は右眼 -8.0 D, -19.0 D, -3.75 D, 左眼 +1.0 D, +0.25 D, +1.0 D; 眼軸長は右眼 18.5 mm, 21.1 mm,

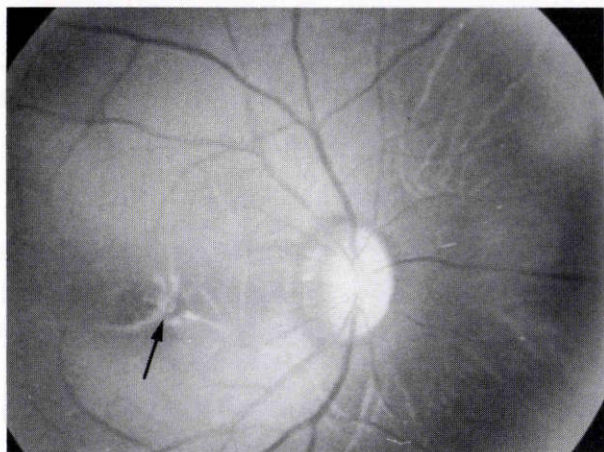


図 16 サル眼 (No. 3) の眼底写真.

右処置眼の中心窩やや鼻側に約 1/3 乳頭径の白色病変がみられる。

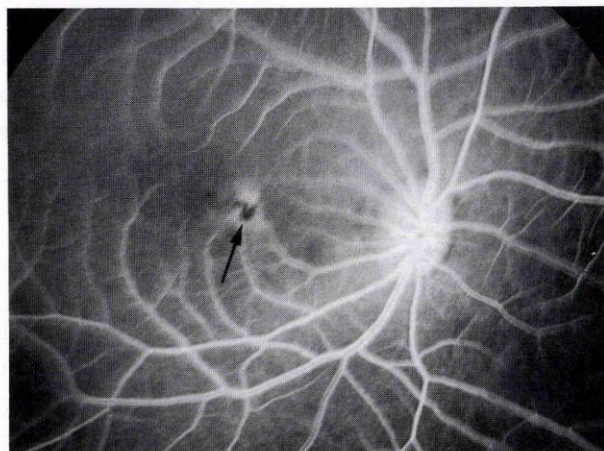


図 17 サル眼 (No. 3) の蛍光眼底造影写真.

右処置眼の病変の中心部は初期に過蛍光に囲まれた低蛍光病変 (図 14, 6 秒), 後期には過蛍光病変となる。

18.9 mm, 左眼 17.5 mm, 17.2 mm, 17.8 mm であった。そして、最終検査時の屈折度は右眼 -9.5 D , -19.0 D , -4.5 D , 左眼は $+1.18\text{ D}$, -2.88 D , -1.0 D であった。眼軸長は右眼 20.7 mm, 22.2 mm, 20.6 mm, 左眼は 18.5 mm, 18.3 mm, 18.7 mm であった。

眼底所見は, No. 3 では右処置眼眼底中心窩やや鼻側に約 1/3 乳頭径の白色病変があった (図 16)。その病変は, 蛍光眼底造影検査では初期には過蛍光に囲まれた低蛍光, 後期には過蛍光病変としてみられた (図 17)。右眼には 1/3 乳頭径, 左眼には 1/4 乳頭径の耳側コーヌスがあった (図 16)。No. 1 では右眼に耳側コーヌスを認める他著変はなく, No. 9 では両眼ともに異常所見はなかった。

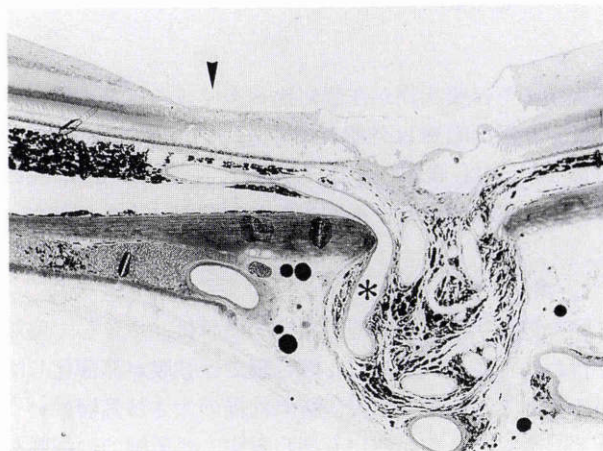
2) 組織所見

No. 3 摘出眼球は, 外眼軸長右眼 21 mm, 左眼 18.5 mm で, 後部ぶどう腫などの形態異常はなかった (図 18)。検眼的にみられた病変部は中心窩鼻側に位置し, 強



図 18 摘出サル眼球 (No. 3).

対照眼 (図左) に比べて処置眼 (図右) が拡大している。

図 19 サル眼 (No. 3) 後極部の顕微鏡写真 ($\times 33$).

右処置眼では中心窩 (矢じり) 鼻側の強膜裂開部から脈絡膜が陥頓している。この部位に短後毛様動脈がみられる (*). トルイジンブルー染色

膜が 0.5 mm に渡って裂開し, その部位から脈絡膜が眼外に陥頓していた (図 19)。中に短後毛様動脈が穿通していた。病変部の脈絡膜毛細血管は閉塞し, 網膜色素上皮は菲薄化し, 変性していた。網膜内には内層および外層に二重に嚢胞がみられ, 中心窩では病変部に引続き漿液性網膜剝離がみられた。

中心窩部の強膜の厚さは右処置眼 $90\sim 120\text{ }\mu\text{m}$, 左対照眼 $190\text{ }\mu\text{m}$ と右眼強膜の菲薄化が観察された。電顕による中心窩部両眼対称部位の比較では, 右眼 Bruch 膜内に線維成分の増加, wide spaced collagen 様の沈着物の増加がみられた。

No. 1 摘出眼球の外眼軸長は, 右処置眼 20 mm, 左対照眼 18 mm であった。中心窩部の強膜の厚さは, 右眼 $140\text{ }\mu\text{m}$, 左眼 $250\text{ }\mu\text{m}$ と右眼強膜の菲薄化があった。中心窩部の電顕的比較では, 右眼網膜色素上皮に lipoid degeneration などの変性, また Bruch 膜内への顆粒状,

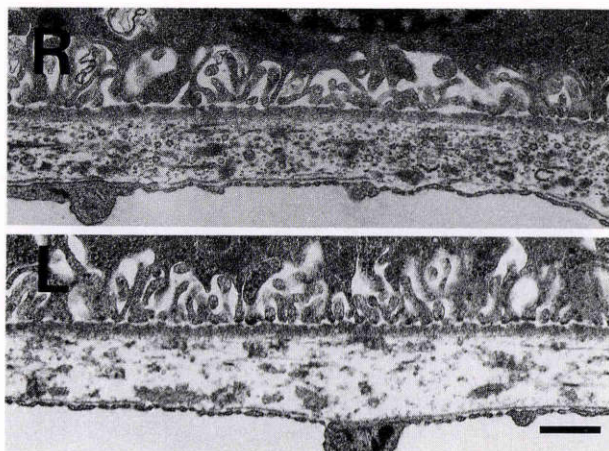


図20 サル眼 (No. 1) 中心窩部の Bruch 膜の電顕写真.

上図の右処置眼 (R) には左眼対照眼 (L) に比べて Bruch 膜に多量の多形性物質の沈着がみられる。パーは 1 μ m

空胞状または膜状物が左眼に比べ多くみられた (図21)。

No. 9 摘出眼球は外眼軸長右眼 20 mm, 左眼 19 mm であった。中心窩部の強膜の厚さは、右眼 170 μ m, 左眼 165 μ m, 電顕の比較でも明らかな左右差はみられなかった。

3. 考 按

瞼々縫合サル眼の病理組織学的検討は、主として強膜で行われている⁴⁷⁾。しかし、縫合眼では強膜が菲薄化していることと、通常は強膜の膠原線維の太さは外層にいくほど、太くなっているにも拘わらず、処置眼では強膜の外層の膠原線維は内層と変わらない太さであることなどの報告があるのみである⁴⁷⁾。今回は、サル強度近視眼で Bruch 膜に異常沈着が多くみられた。これは、従来報告されているヒトやサル眼の Bruch 膜の加齢変化によるものと類似している所見である⁴⁸⁾⁴⁹⁾。今回実験に用いたサルは、生後 14 歳で人間の 55~60 歳に相当する。したがって、両眼ともに加齢変化はみられてもよいが、この変化が対照の左眼に比べて処置眼の右眼で著明であった。これは強度近視眼では、網膜色素上皮の加齢変化が促進され、その結果 Bruch 膜への異常沈着物が増加したものと考えられる。

No. 3 のサルにみられた強膜裂開部の病変は 59 歳のヒトの強度近視眼で報告されている強膜裂開部の病変と類似しており⁵⁰⁾、菲薄化した強膜を穿通する短後毛様動脈の穿通孔が眼圧により徐々に開大し、脈絡膜の陥頓、続いて脈絡膜毛細血管の閉塞、網膜色素上皮の機能異常、神経網膜の変性を起こしたと考えられた。

Stafford ら⁵¹⁾は検査した 574 匹 (1,148 眼) のサルのうち、7 眼に脈絡膜新生血管をみている。これらは、いずれも、年齢は 18~25 歳で、屈折度は -8.25~-10 D の強度近視眼であった。そこで、自然経過のサル眼でも

0.61% 程度に強度近視に伴うと思われる網膜脈絡膜病変がみられる。したがって、実験近視モデルでも加齢によって網膜脈絡膜病変が起こる可能性が高いと思われる。

IV ヒト網膜脈絡膜萎縮の進展

強度近視はほとんどすべて豹紋状眼底を伴うが、網膜脈絡膜萎縮に移行するものがある。網膜脈絡膜萎縮にはびまん性病変と限局性病変があり、この他に Fuchs 斑がある。

網膜脈絡膜の進行様式には大きく 3 つの経路がある¹⁹⁾。第 1 は豹紋状眼底 (T) からびまん性点状線状病変 (D 1)、びまん性面状病変 (D 2) を経て黄斑部萎縮病変 (MA) に至るもの、第 2 は豹紋状眼底 (T) から限局性斑点状病変 (P 1)、限局性斑状病変 (P 2) を経て黄斑部萎縮病変 (MA) になるもの、第 3 は豹紋状眼底に血管新生型黄斑部出血の活動期 (HN 1) から瘢痕期 (HN 2) を経て黄斑部萎縮病変 (MA) に至る進展様式である。今回は、この網膜脈絡膜萎縮を起こす説明因子について検討するとともに、長期経過観察結果から先に報告した進展様式とは別の経路の有無、視機能のうちで最も重要な視力の予測の可能性などについて検討した。

1. 遺伝的背景

強度近視が家族性に出現することは知られており⁵²⁾、臨床的な遺伝形式の報告は種々とある⁵³⁾⁵⁴⁾。しかし、最近では基礎的な遺伝子解析の研究方法が開発されてきている。細胞間質レチノール結合タンパク質 (interphotoreceptor retinol binding protein, IRBP) は、光を受けて退色したロドプシンから出てくるレチノイドを光受容細胞から色素上皮細胞に運ぶ役割、また逆にロドプシンをつくる際のレチノールを供給する働きをもっていると考えられている。また、IRBP に変異を来す網膜疾患は未だ知られていない。そこで、強度近視による網膜脈絡膜萎縮の遺伝子候補として IRBP を選択し、このタンパクにおける点変異の検出が可能かどうかを検討した。

1) 方 法

IRBP の 4 つの exon について、PCR-SSCP (polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism) によって遺伝子解析を強度近視者 26 名について行った。

2) 結 果

4 つの exon で遺伝子の点変異は検出されなかった。したがって、強度近視性網膜脈絡膜萎縮を起こす点変異は、この方法では IRBP には検出出来なかった。

2. 網膜脈絡膜萎縮の説明因子

1) 対象ならびに方法

対象は、東京医科歯科大学強度近視外来を受診した屈折度 -8.25~-37.0 D までの不同視眼を除く両眼強度近視で、白内障その他眼疾患のあるものは除外した。そ

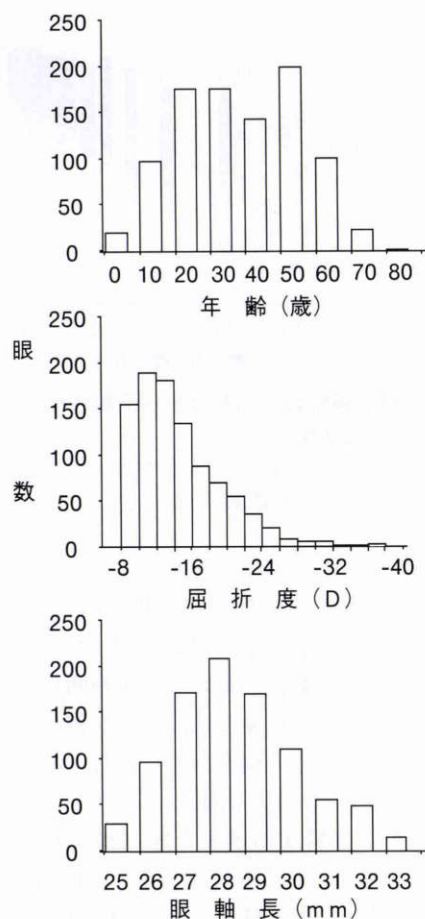


図 21 強度近視眼 (544 名 951 眼) の年齢, 屈折度および眼軸長分布.

の数は男性 211 名 387 眼, 女性 333 名 568 眼で, 総計 544 名 955 眼であった. これら対象の年齢分布は図 21 のごとくである.

これらの対象について, 以下の検査を行った.

i) 視力検査は, 大島式 5m 視力表を用い, 屈折検査は, 他覚的屈折検査後レンズ交換法で自覚的屈折検査を行い, この値を用いた.

ii) 眼底検査はミドリン P®点眼で散瞳後, ボンノスコープあるいは立体双眼検眼鏡を用いて眼底検査を行った. そして, 必要に応じて Goldmann の 3 面鏡や +90 D の前置レンズを用いて眼底観察を行った. また, 症例によっては蛍光眼底造影検査, 赤外蛍光眼底造影検査も行った.

iii) 眼軸長の測定は超音波測定装置 (Alpha 20/20) を用いて測定した.

iv) 視野検査は, Haag-Streit 製 Goldmann 量的視野計を用いて動的量的視野測定を行った.

v) 角膜曲率半径の測定は, Litmann 型オプタルモメーターで測定した.

2) 結 果

a. 屈折度と眼軸長

対象の屈折度の度数分布は図 21 のごとくである. -10

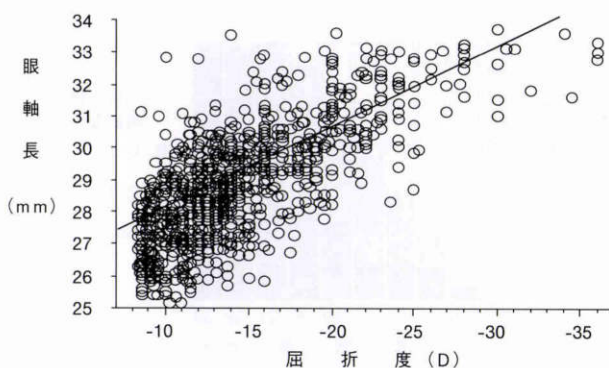


図 22 屈折度と眼軸長との相関.
相関係数 0.589 で有意の相関がみられる.

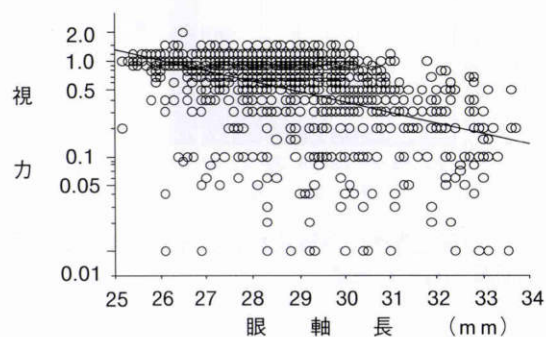


図 23 強度近視眼の眼軸長と矯正視力との関係.

D 以上のものは 764 眼 (80.0%), -20 D 以上のものは 135 眼 (14.2%), -30 D 以上のものは 12 眼 (1.2%) で, 最強近視もかなりの率で含まれている.

眼軸長の分布は図 21 のごとくで, 正規分布に近い分布を示していた. 眼軸長が 30 mm 以上のものも 233 眼 (24.4%) にみられた.

屈折度と眼軸長との相関 (図 22) は, 従来の報告と同様で高い相関関係が認められた (相関係数 0.589, 帰帰直線 $y = -0.285x - 24.751$, $p < 0.001$). しかし, 同一屈折度でも 4 mm 程度の眼軸長差がみられた.

b. 矯正視力と眼軸長

眼軸延長による視機能変化のうちで最も重要な矯正視力との関係を見ると, 図 23 のごとくであり, 眼軸長が 30.0 mm を超えると矯正視力は 1.0 以下となった. 特に 30.0 mm 以上になると矯正視力の低下は著しい. しかし, 眼軸長の比較的短いものでも矯正視力の悪いものもみられた.

c. 網膜脈絡膜萎縮の頻度

951 眼中びまん性病変は 577 眼 (60.7%) (このうち, lacquer crack lesion (LC) 60 眼 (6.3%) を含む), 限局性病変 117 眼 (12.3%), Fuchs 斑 108 眼 (11.3%) がみられた. 限局性病変の中にはびまん性病変を 98% に合併していた.

びまん性病変と限局性病変に分類し, 眼軸長別にそれぞれの萎縮病変の程度別頻度をみると, 図 24 のごとく眼

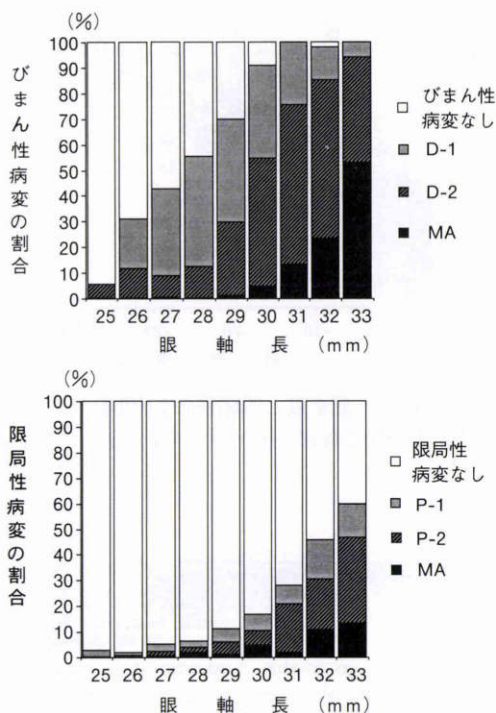


図24 強度近視眼の眼軸長別のびまん性病変と限局性病変の程度別頻度。

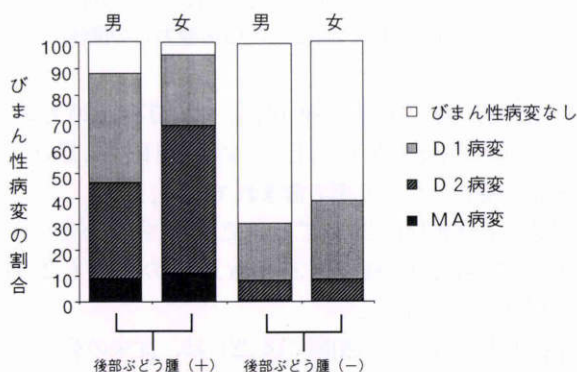


図25 後部ぶどう腫の有無とびまん性病変の程度別頻度。

軸長が長くなるほど萎縮病変の頻度は増すとともに、その程度の強いものが増加した。

眼軸延長に強く関連する後部ぶどう腫の有無とびまん性病変の程度別頻度をみると、後部ぶどう腫のあるものではびまん性病変の程度も強く頻度も高かった(図25)。

d. 網膜脈絡膜萎縮の病変別進行因子

びまん性病変(D)を(萎縮病変のないもの、D1, D2, MA), 限局性病変(P)を(萎縮病変のないもの、P1, P2, MA), 血管新生型黄斑出血(HN)を(萎縮病変のないもの、HN1, HN2, MA)とそれぞれを4つの程度に分類して、各程度と年齢、屈折度、眼軸長の関係をみると(Kruskal-Wallis 独立多群の検定), D, P, HNともに程度の進むほど、すなわち、D1→D2→MA; P1→P2→MA; HN1→HN2→MAとなるほど有意に年齢が上昇し、屈折度、眼軸長が大きくなるとが示され

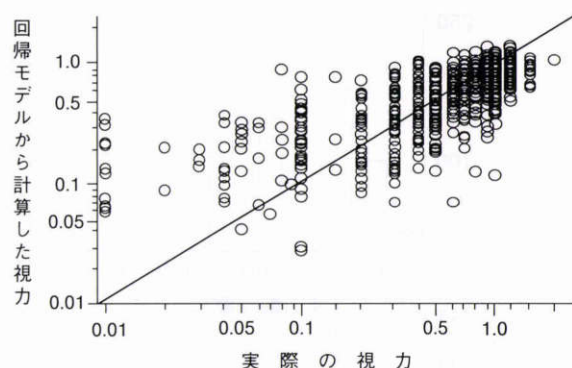


図26 強度近視眼の説明変数から予測される視力と実際の視力との関係。

縦軸は重回帰式から予測された視力の対数表示、横軸は実際の視力の対数表示である。

た($p<0.0001$)。DとPとは程度が進むほど角膜屈折力が大きくなる傾向もあった($p<0.001$, $p<0.002$)。したがって、それぞれの病変群で病変が強いものほど高年齢で、近視度が強く眼軸長が長いことが判明した。また、びまん性病変と限局性病変では、病変が強くなるほど角膜曲率半径が小さくなる傾向がみられた。

e. 現在の視力を説明する因子

現在の視力に影響する因子を重回帰分析(stepwise regression)でモデル式として求めると、 $\log V = 1.528 - 0.002 Y - 0.115 D - 0.161 P - 0.314 F - 0.028 A$ となる。ここで、V:視力、Y:年齢(歳)、A:眼軸長(mm)、D:びまん性病変(none=1, T=2, D1=3, D2=4, MA=5), P:限局性病変(none=1, P1=2, P2=3, MA=4), F:Fuchs斑(none=1, HN1=2, HN2=3, MA=4)である。

視力に対し、寄与度の大きい因子を数量化I類で分析すると、Fuchs斑(偏相関係数:0.463, 以下同じ)、びまん性病変(0.298)、限局性病変(0.191)、眼軸長(0.178)、年齢(0.107)の順で、視力低下の原因として後極部の網膜脈絡膜萎縮の影響が大きい。

上述の式を用いて、説明変数から予想される視力を計算し、これを実際の視力と比較すると図26のごとくなる。低視力側では実際の視力よりも予想される視力が悪く出る傾向があったが、重相関係数0.780で決定係数は0.608であり、実際の視力の変動も約6割を説明することができた。

3. 長期観察例の網膜脈絡膜萎縮の進展

網膜脈絡膜萎縮がどのように進展するかを3年以上経過観察出来た221名389眼を対象に検討した。初診時の年齢分布、屈折度、眼軸長は図27のごとくである。

1) 方法

検査法は2.と同様である。

2) 結果

a. びまん性病変

びまん性病変でT→D1(LC)14眼, D1→D2 10眼,

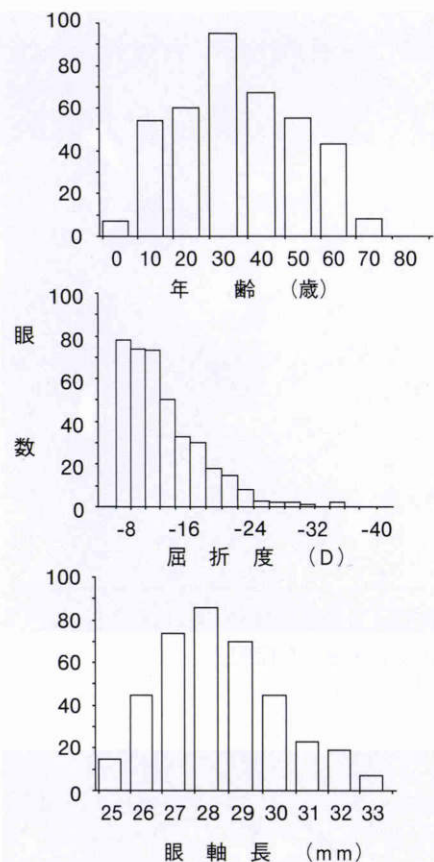


図27 3年以上経過観察した強度近視眼(221名389眼)の年齢, 屈折度および眼軸長分布。

D2の拡大57眼で計81眼(17.7%)に進行がみられた。

LCは経過によって種々の病像に進展した。経過観察が出来たLCの51名64眼中36眼(56.2%)に何らかの

進行がみられた。すなわち, LCの増加が23.4%, LC→Pが20.3%(図28), LC→D2が14.1%, LC→Fuchs斑が3.1%(図29)であった。このようにLCから種々の病像に進展することがわかった。

また, 網膜脈絡膜萎縮の進展にしばしば新生血管を伴わない単純出血がある。経過中にこれからLCが形成されたのは21名23眼中10名11眼(47.8%)で, 単純性出血が起こるとその半数にLCが生じた(図30)。

b. 限局性病変

限局性病変の進展にはD1(LC)→P9眼, P1→P210眼, P2の拡大60眼計79眼(17.2%)に何らかの進行がみられた。

c. Fuchs 斑

5年以上経過観察出来たのは21名24眼で, このうち18眼(75%)は平均7.5年後にFuchs斑の周囲に萎縮巣が拡大して黄斑部萎縮病変となった。そして, 経過観察中視力が0.1以下になったものは24眼中22眼(91.7%)であった。

d. 数量化II類による将来の視力の予想

対象は, 3年以上東京医科歯科大学強度近視専門外来で観察出来た男性68名115眼, 女性94名150眼, 計162名265眼である。将来の視力低下の説明因子として, 年齢, 性, 眼軸長, 角膜曲率半径, 視野, びまん性病変, 限局性病変, Fuchs斑を選択し, これらについて数量化II類を用いて検討した。上記説明因子の選択には他の因子も加えて, 視力低下を目的変数とするロジスティック回帰分析を行い, その偏相関係数の値を参考とした。

種々の説明因子のカテゴリー化は年齢(23歳以下, 24~55歳, 56歳以上), 性(男性, 女性), 眼軸長(26.9



図28 Lacquer crack lesion から2年後に限局性病変に進展した症例。
23歳男性, 左眼, 屈折度-22.0 D, 眼軸長30.1 mm。



図29 Lacquer crack lesion から1年後に Fuchs 斑に進展した症例。
56 歳女性。左眼。屈折度 -16.0 D, 眼軸長 27.1 mm.

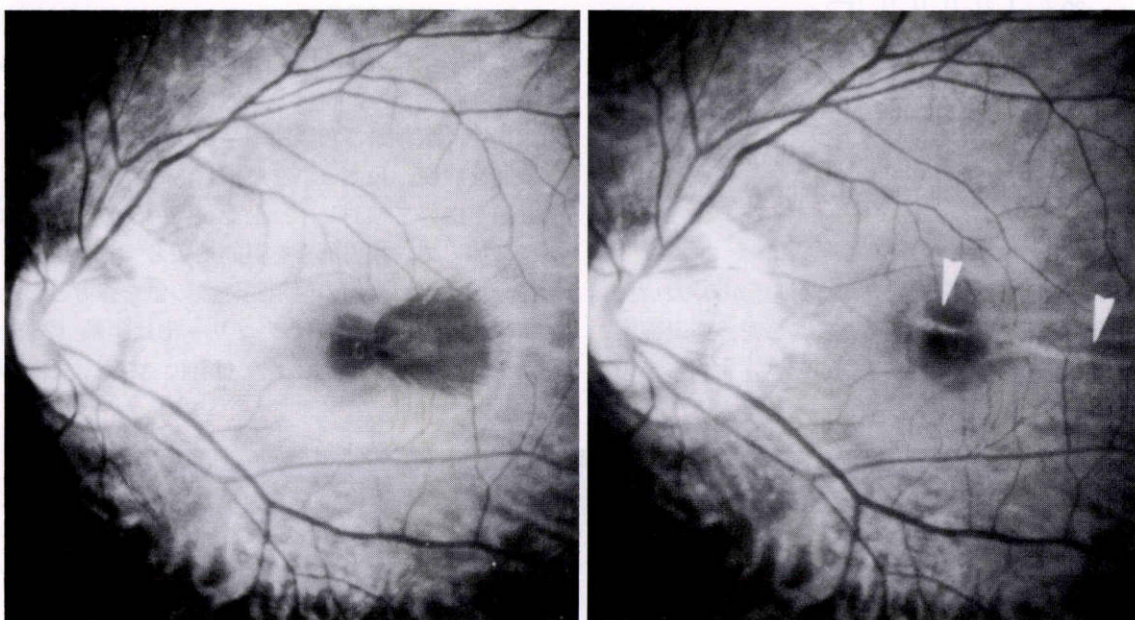


図30 単純出血から2年後に lacquer crack lesion に進展した症例。
30 歳女性。左眼。屈折度 -8.50 D, 眼軸長 28.3 mm.

mm 以下, 27.0~29.9 mm, 30.0 mm 以上), 角膜曲率半径 (7.39 mm, 7.40~7.89 mm, 7.90 mm 以上), 視野 (正常視野, マ盲点拡大, 傍中心暗点, 中心暗点), びまん性病変 (びまん性病変なし, D1, D2, MA), 限局性病変 (限局性病変なし, P1, P2), Fuchs 斑 (あり, なし) のごとく行った。

それぞれの説明因子の偏相関係数をみると (表2), Fuchs 斑が将来の視力低下に最も関係し, 次いで, びまん性病変, 限局性病変, 眼軸長, 年齢と続き, 性差は大きな影響を与えなかった。それぞれのカテゴリースコア

の数値の大きいほど視力低下しやすいことを示している。

これらのスコアを各症例で計算して, その分布をみると (図31の黒丸は3年以上の経過観察中に視力低下あり, 白丸は同期間中の視力低下なしを示している) 予想スコア0.3以上に視力低下の眼がみられたが, スコア0.3以上の全症例80眼中28眼 (35%) で上記の経過観察期間で視力低下の起こることが判明した。また, スコアが1.0以上では56%に視力低下が起こっており, このスコアを用いて将来の視力低下をある程度推測できる可能

表 2 強度近視患者の将来の視力低下を予想する因子
(数量化Ⅱ類による分析)

アイテム	カテゴリー	カテゴリー 数量	範 囲	偏相 関係数
年 齢	23 歳以下	-0.2970	0.8266	0.1480
	24 歳以上	0.0045		
	55 歳以下			
	56 歳以上	0.5296		
性	女性	-0.1414	0.2537	0.0813
	男性	0.1123		
眼 軸 長	26.9 mm 以下	-0.3508	0.5646	0.1712
	27.0 mm 以上	0.2137		
	29.9 mm 以下			
	30.0 mm 以上	0.3470		
角 膜 曲 率 半 径	7.39 mm 以下	0.2176	0.8379	0.1339
	7.40 mm 以上	0.0968		
	7.89 mm 以下			
	7.90 mm 以上	-0.3246		
視 野	正常視野	-0.0908	1.336	0.1428
	マリオット盲点の 拡大	0.3640		
	傍中心暗点	0.5096		
	中心暗点	1.2453		
びまん性 病変	びまん性病変なし	-0.2821	0.8379	0.1764
	D 1 病変	0.0121		
	D 2 病変	0.5558		
	MA 病変	0.2612		
限 局 性 病変	限局性病変なし	0.3950	1.5406	0.1773
	P 1 病変	0.5085		
	P 2 病変	1.0321		
Fuchs 斑	Fuchs 斑なし	-0.1493	1.9268	0.2792
	Fuchs 斑あり	1.7775		

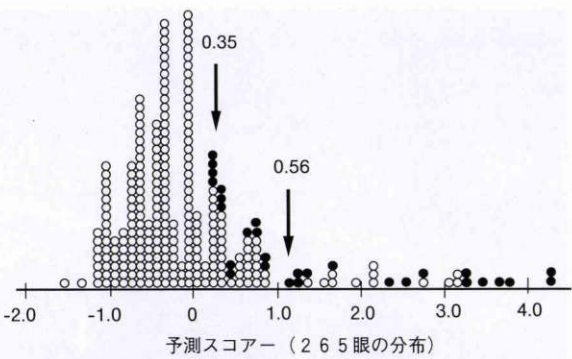


図 31 3 年以上経過観察した強度近視眼の観察開始時におけるスコア値 (数量化理論Ⅱ類による) と視力低下との関係。
横軸は数量化理論Ⅱ類のカテゴリー数量から計算されたスコア値を示す。各丸は経過した症例を示し、白丸は経過観察中に視力が不変だったものを、黒丸は視力低下したものを示す。

性がある。

スコアの計算法の 1 例を示す (表 2)。

症例は 73 歳 (+0.5296) の女性 (+0.1123)。眼軸長は 28.5 mm (+0.2137)、角膜曲率半径 7.51 mm (+0.0968)、視野正常 (-0.0908) である。眼底所見ではびまん性病変 D₂ (+0.5558)、限局性病変なし (+0.3950)、Fuchs 斑あり (+1.7775) であったとすると、

$$+0.5296 + 0.1123 + 0.2137 + 0.0968 - 0.0908 + 0.5558 + 0.3950 + 1.7775 = 3.5900$$

この数値を図 31 に照らし合わせると、3 年後に 35% の割合で視力低下が起こることが予想される。

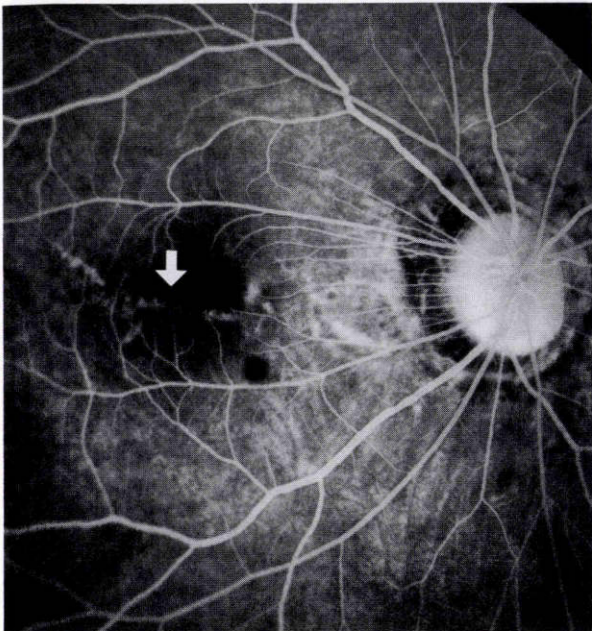


図 32 網膜色素上皮の障害が先行する症例。
39 歳男性。右眼。屈折度 -15.0 D、眼軸長 30.6 mm。a. 蛍光眼底造影写真：LC による線状の過蛍光認める (矢印)。b. 赤外蛍光眼底造影写真：異常を認めない。

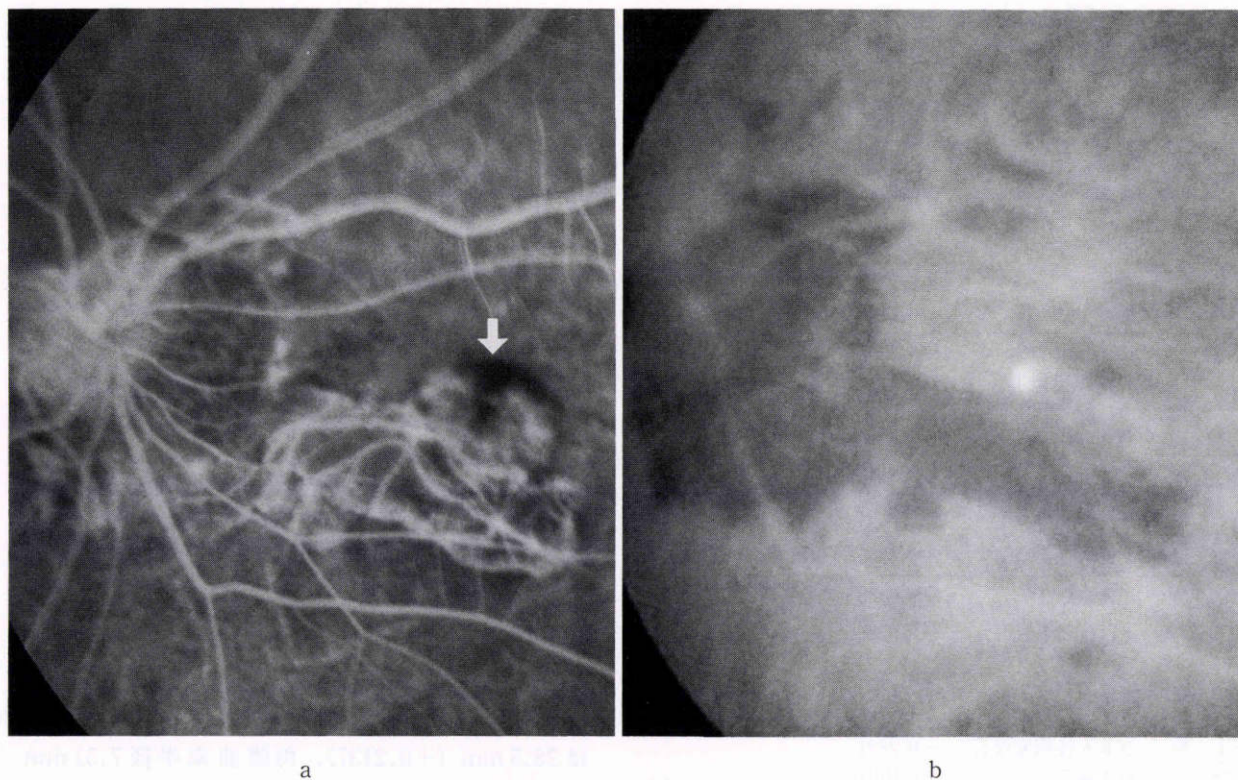


図 33 網膜色素上皮の障害が先行する症例.

47 歳女性, 左眼, 屈折度 -14.0 D, 眼軸長 27.2 mm. a. 蛍光眼底造影写真: 限局性病変の辺縁に過蛍光部を認める (矢印). b. 赤外蛍光眼底造影写真: 同部位には異常を認めない.

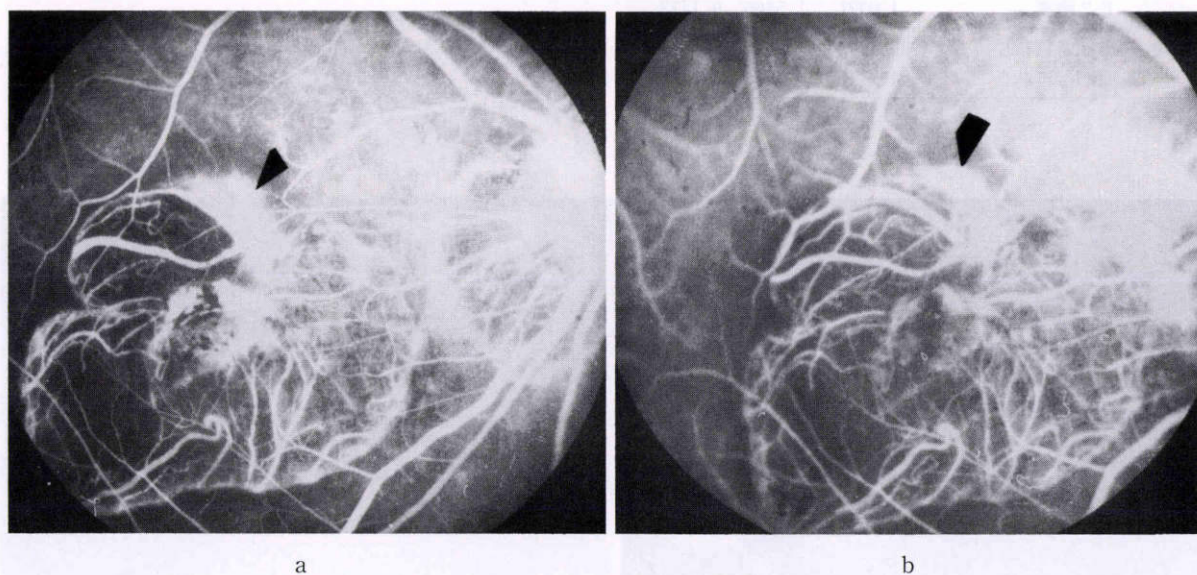


図 34 網膜色素上皮の障害が先行する症例.

a. 蛍光眼底造影写真: 限局性病変の辺縁に過蛍光部認める (矢じり). b. 蛍光眼底造影写真: 1 年後に低蛍光を呈した (矢じり).

4. 近視性網膜脈絡膜萎縮病変の障害部位

網膜色素上皮と脈絡膜毛細血管板のどちらかの障害が先行するかを蛍光眼底造影写真 (FAG) と赤外蛍光眼底造影写真 (ICG) とから検討する

1) 方 法

FAG と ICG とを同一眼で撮影し, 両者を比較した.

2) 結 果

a. 網膜色素上皮の障害が先行する症例

LC は FAG 所見では window defect によると思われる線状の過蛍光を示す. 一方, ICG では多くの場合, 線状の低蛍光を呈するが, 中には何ら変化がない症例もあった (図 32). また, FAG では限局性病変の周囲に

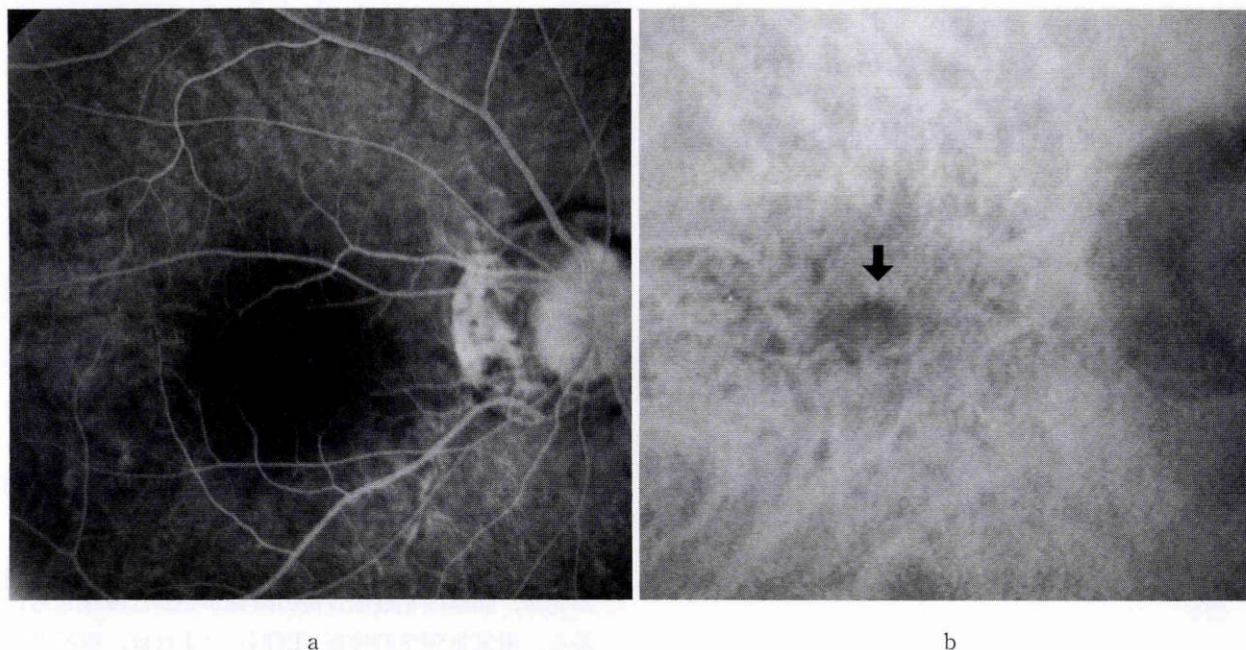


図 35 脈絡膜毛細血管板の障害が先行する症例。

39 歳男性，右眼，屈折度 -15.5 D，眼軸長 30.1 mm. a, 蛍光眼底造影写真：異常を認めない. b, 赤外蛍光眼底造影写真：黄斑部に低蛍光領域を認める（矢印）。

window defect によると思われる過蛍光部があるが，ICG では変化が認められない症例（図 33）もあった。いずれも網膜色素上皮の障害が脈絡膜毛細血管の障害に先行するものと考えられる。

FAG で経過を追った症例で，限局性萎縮巣の辺縁の window defect が 1 年後には低蛍光になった症例（図 34）なども網膜色素上皮の障害が先行し，その後，脈絡膜毛細血管板が消失した所見と思われる。

b. 脈絡膜毛細血管板の障害が先行する症例

カラー眼底写真および FAG では豹紋状眼底のみで，その他の異常所見のない症例でも ICG で黄斑部に低蛍光領域を呈する症例があった（図 35）。これは脈絡膜毛細血管が網膜色素上皮に先行して障害された所見と考えられる。

5. 考 按

1) 強度近視の遺伝

強度近視の発生状況をみると，家族例と散发例とがみられ，遺伝関係があるものとなないものがあると思われる。このうち，家族発生例の臨床的検討から常染色体優性遺伝形式と，常染色体劣性遺伝形式の 2 形式があると推定されている⁵³⁾。しかし，単純な遺伝形式ではなく，遺伝的異質性のあること⁵⁴⁾や多因子遺伝の可能性⁵⁵⁾⁵⁶⁾も疑われている。

遺伝形式による臨床像の違いについて，福下⁵¹⁾は常染色体優性遺伝では矯正視力と眼軸長との相関が強く，後極部眼底変化は若年者では比較的軽く，加齢により網膜脈絡膜萎縮病変が進行していく傾向があると述べている。一方，劣性遺伝では発症年齢が低く，矯正視力と屈

折度および眼軸長との相関はみられず，早期から眼軸の延長と高度の眼底変化がみられると述べている。また，小川ら⁵⁴⁾は強度近視になるにつれて常染色体劣性遺伝の割合が多くなり，網膜脈絡膜萎縮を伴う頻度が高いと報告している。しかし，このような臨床的家系調査による方法には限界がある。そこで，近年開発された PCR-SSCP 解析法で，眼に発現するタンパクの遺伝子の点変異検出を試みた。IRBP が強度近視の網膜脈絡膜萎縮に関連する可能性もあると考え解析を試みたが，IRBP すべての exon で点変異が証明出来なかった。そこで，将来は他のタンパクで解析を試みたい。

2) 網膜脈絡膜萎縮症の進展

強度近視の診断基準は，厚生省特定疾患網膜脈絡膜萎縮症調査研究班の報告によった¹⁹⁾。この基準は今後変更される可能性はあるが，現時点では適切なものと考えた。

強度近視では，裸眼視力が低下するのは勿論であるが，矯正視力も低下し，視覚障害者の原因の上位を占めている¹⁾。この視力低下の原因は，今回の結果から網膜脈絡膜萎縮症のうちでも，Fuchs 斑，限局性病変，びまん性病変の順に視力低下の説明因子としては強く作用した。そして，この原因は主として眼軸延長によることが明らかにされた。また，年齢因子も大きく，40 代では視力が急激に低下し，実験近視サルの結果と合わせて加齢による眼底病変の進行との関連が示唆される。

林⁵⁷⁾は，網膜脈絡膜萎縮症と視力との関係について，びまん性病変では矯正視力が 0.1 以下になることは稀であるが，限局性病変では，この変化が中心窩を含む場合には著しい視力低下が惹起されると述べている。今回の結

- 3) 所 敬, 林 一彦, 打田昭子, 佐藤百合子, 山下牧子: 病的近視の視力予後に関する研究—眼軸長よりの検討. 臨眼 34: 879—883, 1980.
- 4) 市川 宏: 老化と眼の機能. 臨眼 35: 9—26, 1981.
- 5) 所 敬, 林 一彦, 佐藤公子, 打田昭子, 伊藤百合子: 強度近視の視機能障害とその病態に関する研究. 日眼会誌 81: 330—339, 1977.
- 6) Wiesel TN, Raviola E: Myopia and eye enlargement after neonatal lid fusion in monkeys. *Nature* 266: 66—68, 1977.
- 7) Raviola E, Wiesel TN: An animal model of myopia. *New Engl J Med* 312: 1609—1615, 1985.
- 8) Raviola E, Wiesel TN: The mechanism of lid suture myopia. *Acta Ophthalmol* 66 (Suppl 185): 91—92, 1988.
- 9) Wallman J, Turkel J, Trachtman J: Extreme myopia produced by modest change in early visual experience. *Science* 201: 1249—1251, 1978.
- 10) Troilo D, Gottlieb MD, Wallman J: Visual deprivation causes myopia in chicks with optic nerve section. *Curr Eye Res* 6: 993—999, 1987.
- 11) Wildsoet CF, Pettigrew JD: Experimental myopia and anomalous eye growth patterns unaffected by optic nerve section in chickens. Evidence for local control of eye growth. *Clin Vis Sci* 3: 99—107, 1988.
- 12) Iuvone PM, Tigges M, Stone RA, Lambert S, Laties AM: Apomorphine inhibits development of myopia in visually-deprived infant rhesus monkeys. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 31 (ARVO Suppl): P254, 1248—23, 1990.
- 13) Stone RA, Lin T, Iuvone PM, Laties AM: Postnatal control of ocular growth: Dopaminergic mechanisms, In: Bock GA, et al (Eds): *Myopia and Control of Eye Growth*. Ciba Foundation Symposium 155, 45—62, John Wiley and Sons, Chichester, 1990.
- 14) Stone RA, Lin T, Laties AM, Iuvone PM, Fugate-Wentzek LA, Gottlieb MD, Wallman J: Apomorphine blocks axial elongation of the visually deprived chick eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 30 (ARVO Suppl): P31, 80, 1989.
- 15) Lin T, Stone RA, Laties AM, Iuvone PM: Altered dopamine metabolism and form-deprivation myopia. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 29 (ARVO Suppl): P33, 36, 1988.
- 16) Sherman SM, Norton TT, Casagrande VA: Myopia in the lid-sutured tree shrew (*Tupaia glis*). *Brain Res* 124: 154—157, 1977.
- 17) 大竹能輝, 伊藤睦子, 赤澤嘉彦, 船田みどり, 所敬, 土岐達雄: 強度近視に伴う脈絡膜新生血管の予後不良因子の検討. 臨眼 48: 1218—1219, 1994.
- 18) Curtin BJ, Karlin DB: Axial length measurements and fundus changes of the myopic eye. *Am J Ophthalmol* 71: 42—53, 1971.
- 19) 所 敬, 丸尾敏夫, 金井 淳, 林 一彦: 病的近視診断の手びき. 厚生省特定疾患網膜脈絡膜萎縮症調査研究班. 1—14, 1987.
- 20) Wallman J, Adams JI: Developmental aspects of experimental myopia in chicks: Susceptibility, recovery and relation to emmetropization. *Vision Res* 27: 1139—1163, 1987.
- 21) Hodoss W, Revzin AM, Kuenze WJ: Thermal gradients in the chick eye: A contributing factor in experimental myopia. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 28: 1859—1866, 1987.
- 22) 上川床総一郎, 所 敬, 東 洋, 今井祥二, 石田明允: ウシ脈絡膜の力学的特性. 日眼会誌 98: 733—737, 1994.
- 23) Jensen LS, Matson WE: Enlargement of avian eye by subjecting chicks to continuous incandescent illumination. *Science* 125: 741, 1957.
- 24) Chiu PSL, Lauber JK, Kinneer A: Dimensional and physiological lesions in the eye as influenced by the light environment. *Proc Soc Exp Biol Med* 148: 1223—1228, 1975.
- 25) 大石 正, 白木かほる, 曾谷尚之, 奥沢 巖: ニワトリ成鳥の眼に及ぼす常明及び常暗の影響. 日眼会誌 85: 132—136, 1981.
- 26) 白木かほる, 曾谷尚之, 大石 正, 奥沢 巖: ニワトリの眼に及ぼす常暗の影響. 眼紀 32: 1157—1163, 1981.
- 27) 和気健二郎: 松果体の系統進化. 蛋核酵 35: 325—329, 1990.
- 28) Napper GA, Vingrys AJ, Squires MA, Vessey GA, Barrington M, Brennau NA: Influence of continuity of exposure and length of light/dark cycle on occlusion-induced myopia. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 33 (ARVO Suppl): P711, 93—65, 1992.
- 29) Nickla DL, Gottlieb MD, Christensen AM, Pena C, Teakle EM, Haspel J, Wallman J: *In vitro* proteoglycan synthesis in higher in sclera from myopic eyes and lower on sclera from recovering eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 33 (ARVO Suppl): P1054, 1815, 1992.
- 30) Christensen AM, Wallman J: Evidence that increased scleral growth underlies visual deprivation myopia in chicks. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 32: 2143—2150, 1991.
- 31) Gottlieb MD, Joshi HB, Wallman J: Local changes in the sclera of chick eyes made myopic by form deprivation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 29 (ARVO Suppl): P32, 30, 1988.
- 32) Tcheng M, Fuhrmann G, Hartmann M-P, Curtois Y, Jeanny J-C: Spatial and temporal expression patterns of FGF receptor genes type 1 and type 2 in the developing chick retina. *Exp Eye Res* 58: 351—358, 1994.
- 33) 本田 茂, 関谷善文, 片上千加子, 山本 節: ヒヨコ強角膜に対する TGF- β の影響. 厚生省特定疾患網膜脈絡膜萎縮症調査研究班. 平成5年度報告書 146—147, 1994.
- 34) Rohrer B, Stell WK: Basic fibroblast growth factor (bFGF) and transforming growth factor beta (TGF- β) act as stop and go signals to modu-

- late postnatal ocular growth in chick. *Exp Eye Res* 58: 553—562, 1994.
- 35) **Rada JA, Matthews AL**: Visual deprivation upregulates extracellular matrix synthesis by chick scleral chondrocytes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 35: 2436—2447, 1994.
 - 36) **Ehrlich D, Sattayasai J, Zappia J, Barrington M**: Effects of selective neurotoxins on eye growth in the young chick. In: Bock GA, et al (Eds): *Myopia and the Control of Eye Growth*. Ciba Foundation Symposium 155: 63—88, John Wiley and Sons, Chichester, 1990.
 - 37) 不二門尚, 大本達也: 実験的近視眼の網膜機能について, 一雉のERGの指標として一. *眼紀* 42: 1189—1194, 1991.
 - 38) **Datum KH, Kohler K, Zrenner E**: Immunhistochemische Untersuchung zur Rolle dopaminerger retinaler Zellen bei der neuronalen Helligkeitsanpassung. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 203: 59—69, 1993.
 - 39) **Lutty GA, Merges C, Threlkeld AB, Crone S, McLeod DS**: Heterogeneity in localization of isoforms of TGF- β in human retina, vitreous and choroid. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 34: 477—487, 1993.
 - 40) **Consigli SA, Lyser KM, Joseph-Silverstein J**: The temporal and spatial expression of basic fibroblast growth factor during ocular development in chicken. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 34: 559—566, 1993.
 - 41) **Ishigooka H, Kitaoka T, Boutilier SB, Bost LM, Aotaki-Keen AE, Tablin F, et al**: Developmental expression of bFGF in the bovine retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 34: 2813—2823, 1993.
 - 42) **Ohuchi H, Noji S, Agata K, Nohno T, Koyama E, Myokai F, et al**: Gene expression of growth factors and their receptors during development and regeneration of chicken eye, as revealed by in situ hybridization. *X ICER-abstracts*, S. 94, 304, 1992.
 - 43) **Moses RA**: Detachment of ciliary body-anatomical and physical considerations. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 4: 935—941, 1965.
 - 44) **van Alphen GWHM**: Emmetropization in the primate eye. In: Bock GA, et al (Eds): *Myopia and the Control Eye Growth*. Ciba Foundation Symposium 155, 115—125, John Wiley and Sons, Chichester, 1990.
 - 45) **Akazawa Y, Tokoro T, Funata M**: Ocular pulse and pulsatile change of scleral strain in living in situ rabbit eyes. *Optometry and Visual Science* 71: 207—211, 1994.
 - 46) 所 敬, 福下公子, 林 一彦, 佐藤 明, 井上博隆, 井伊みどり: 眼々縫合による猿眼の実験近視モデル. *日眼会誌* 88: 384—392, 1984.
 - 47) **Funata M, Tokoro T**: Scleral change in experimentally myopic monkeys. *Gr Arch Clin Exp Ophthalmol* 228: 174—179, 1990.
 - 48) **Hogan MJ, Alvarado J**: Studies on the human macula-4. Aging changes in Bruchs membrane. *Arch Ophthalmol* 77: 410—420, 1967.
 - 49) **Ishibashi T, Sorgente N, Patterson R, Ryan SJ**: Aging changes in Bruch's membrane in monkeys: An electron microscopic study. *Ophthalmologica* 192: 179—190, 1986.
 - 50) **Plocher R**: Ein Beitrag zur Dehiszenz der Sklera bei hoher Myopie. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 62: 94—98, 1919.
 - 51) **Stafford TJ, Anness SH, Fine BS**: Spontaneous degenerative maculopathy in the monkey. *Ophthalmology* 91: 513—521, 1984.
 - 52) **Duke-Elder S**: Anomalies of refraction and accommodation. 207—504, *System of Ophthalmology Vol. 5, Ophthalmic Optics and Refraction*, Henry-Kimpton, London, 1970.
 - 53) 福下公子: 強度近視の臨床遺伝的研究. *日眼会誌* 86: 273—277, 1982.
 - 54) 小川昭彦, 藤木慶子, 田辺歌子, 中島 章: 中等度近視, 強度近視による網脈絡膜萎縮の集団遺伝的解析. *日眼会誌* 85: 1006—1008, 1981.
 - 55) **Goldschmidt E**: Heredity. In: Curtin BJ (Ed): *The Myopias*. Harper & Row, Philadelphia 63—72, 1985.
 - 56) 中島 章: 眼球各屈折要素の遺伝性およびその相互関係について. *臨眼* 14: 1649—1655, 1960.
 - 57) 林 一彦: 病的近視の後極部眼底病変. *臨眼* 32: 271—284, 1978.
 - 58) **Curtin BJ**: The posterior staphyloma of pathologic myopia. *Trans Am Ophthalmol Soc* 75: 67—86, 1977.
 - 59) **Curtin BJ, Karlin DB**: Axial length measurements and fundus changes of the myopic eye. *Am J Ophthalmol* 71: 42—53, 1971.
 - 60) 福下公子, 村松知幸, 所 敬: 強度近視における後部ぶどう腫の頻度. 厚生省特定疾患網膜脈絡膜萎縮症調査研究班, 昭和55年度研究報告書 29—32, 1981.
 - 61) 長南常男: 近視眼の病理組織学的研究. *日眼会誌* 63: 2144—2163, 1959.
 - 62) 大野広子: 近視性網膜脈絡膜萎縮症の電子顕微鏡的研究. 第1報. 脈絡膜の変化について. *眼紀* 34: 1244—1253, 1983. 第2報. 網膜色素上皮細胞の変化について. *眼紀* 35: 1152—1160, 1984.
 - 63) 大野京子, 伊藤睦子, 所 敬: 強度近視におけるlacquer crack lesionの進行過程. *臨眼* 48: 255—258, 1994.
 - 64) 林 一彦: 強度近視. *眼科Mook* 34: 100—109, 1987.
 - 65) 田中健彦: 自然気胸のブロンカズマベルナ胸腔内注入療法—数量化II類による予後の検討と適応についてならびに胸腔内癒着促進剤注入療法の現況—. *日胸臨* 49: 267—275, 1990.
 - 66) 打田昭子: 強度近視の電気生理学的研究. *日眼会誌* 81: 1328—1350, 1977.
 - 67) **Blach RK, Jay B, Kolb H**: Electrical activity of the eye in high myopia. *Br J Ophthalmol* 50: 629

- 641, 1966.
- 68) 三河隆子：近視と EOG ratio. 日眼会誌 78: 265—276, 1974.
- 69) Arden GB, Barrada A, Kelsey JH: New clinical test of retinal function based upon the standing potential of the eye. Br J Ophthalmol 46: 449—467, 1962.
- 70) 打田昭子, 所 敬, 林 一彦, 福下公子：高張液負荷による強度近視の EOG. 眼紀 30: 1794—1798, 1979.
- 71) Henkind P, Gartner S: The relationship between retinal pigment epithelium and choriocapillaris. Trans Ophthalmol Soc UK 103: 444—447, 1983.
- 72) Korte GE, Reppucci U, Henkind P: RPE destruction causes choriocapillary atrophy. Invest Ophthalmol Vis Sci 25: 1135—1145, 1984.
- 73) 森 繁広：網膜色素上皮障害の脈絡膜循環に与える影響. 第1報. オルニチン投与による4週までの変化. 眼紀 44: 1130—1139, 1993.
- 74) Behrendt T, Duane TD: Investigation of fundus oculi with spectral reflectance photography. I. Depth and integrity of fundal structures. Arch Ophthalmol 75: 375—379, 1966.
- 75) 林 一彦：赤外線を利用した機器の進歩. 赤外眼底撮影法. 眼科 27: 1541—1550, 1985.
- 76) 吉田晃敏：近視眼における血液眼内柵. 眼紀 40: 109—117, 1989.
- 77) 石子智士, 吉田晃敏, 保坂明郎：猿を用いた実験近視における屈折および血液眼内柵透過性の変化. 日眼会誌 95: 522—529, 1991.
-