

眼瞼閉鎖ラットの形態学 1. 眼球および視神経

岩本 壮太郎 *三浦 宏子

On the rat with closed eyelids 1. Eyeball and optic nerve

Soutarou IWAMOTO *Hiroko MIURA

Abstract

The purpose of the present study was to observe the morphological feature of eyeball, optic nerve, chiasm and tract in rats with naturally occurring ankyloblepharon. Twelve of 19 rats aged 12-18 weeks lost unilateral eyeball, and two of them lost both eyeballs. In most of them, the optic nerve of normal side was also poorly developed. In only one case, the nerve did not organize the optic chiasm and take an abnormal pathway. The orbit of rats without an eyeball was filled with a lump of fat. Prevalence of ankyloblepharon was dependent upon their age. In rats under 6 weeks, the prevalence of ankyloblepharon was significantly lower than the older rats aged above 12 weeks. These findings suggest that rats with naturally occurred ankyloblepharon have various pathologic observations. Thus, in future studies, it is necessary to examine the pathogenesis of them.

Key words : Ankyloblepharon / optic nerve / optic chiasm / optic tract

キーワード : 眼瞼 / 視神経 / 視交叉 / 視索

緒論

飼育中のwister系ラットに眼瞼閉鎖例が発生した。同腹のラットで繁殖した結果、多数の眼瞼閉鎖例（第一世代）が得られた。第一世代では一側だけに発症していたが、これらの発症ラットを親とする第二世代では両眼に発症する例も発生した。両眼瞼閉鎖ラットを親に持つ第三世代では過半数が一側あるいは両側の眼瞼閉鎖を伴う奇形を生じた。当初、第二世代の一側閉鎖例17匹、両側閉鎖例2匹について、眼球および視神経について観察した。遺伝性である可能性は高いと考えられるが、第三世代の新生児15匹について眼球の有無について検索したところ4例（27%）に認められたのみであった。

この結果から、この奇形が生後に発展することが推測されたが、一般にラットの眼瞼が開くのは3週齢以降であり、飼育中の途中経過については明らかにできなかった。

た。そこで上述した第二世代の17匹をA群、第三世代の9~10週齢18匹をB群、6~8週齢13匹をC群として解剖した結果を報告する。

材料と方法

1. 飼育条件： ラットは保健科学部動物飼育室で室温（15~24℃）で飼育した。一般にラットの飼育では餌は十分に与えて飼育するが、長期に飼育する場合には過剰な成長を引き起こすので、固形飼料を15~24 g/Dと十分な飲料水で飼育した。Wister系ラットは2年以上飼育すると皮下に良性の線維腫を形成する例が生じる。今回も正常ラット（以下N群）2例に、一側眼瞼閉鎖ラット（以下S群、図1）に1例発症した。N群の2例（いずれも雌）に腫瘍が発生し3ヶ月ほどで最大になり、その1~2ヶ月後に

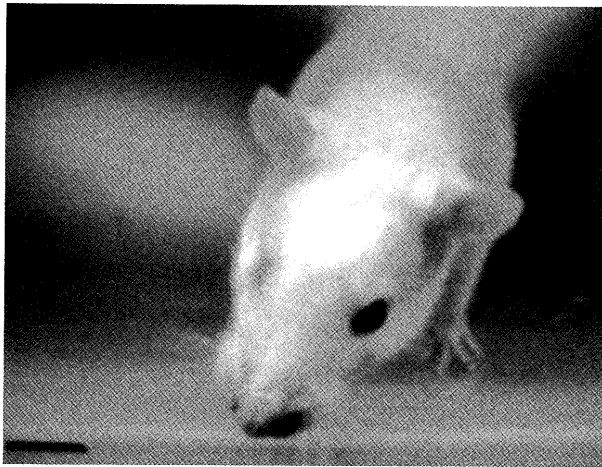


図1 一側眼瞼閉鎖ラット

死亡した。死亡時の腫瘍を除いた体重は268、262g、腫瘍の重量はそれぞれ68g、77gであった。S群の1例の雌で腫瘍が発生したが、55gで自然に体外に排出された。腫瘍についての統計は取っていないが、59例中の3例というのは、著者らの経験では通常の発生率よりもかなり低い値と考えられる。この飼育条件での最長生存期間は3年2ヶ月であり、生育に劣悪な条件とはいえない。24ヶ月での生存率はN群では雄91%、雌84%、S群では雄83%、雌93%であった。

2. 奇形の発症： 緒論で述べたとおり、発症例を産んだ雌と無差別に選択した雄から生まれたラットを第一世代とした。第一世代での発症率はS群が雄20%、雌38%で後者の頻度が高かった。雌の2例では初めN群であったものが、白内障様に眼球内が白色に変化した後、眼瞼が閉鎖した特異な例が見られたが、同一ケージに5匹の飼育を行っていたため眼瞼閉鎖後についての追跡はできなかった。また、S群の中に、いつの間にか症状が消失してN群に復帰する例

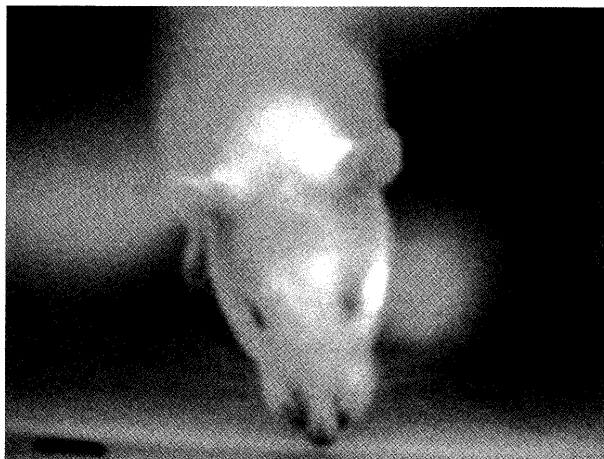


図2 両側眼瞼閉鎖ラット

も数例見られた。第二世代は雌雄とも、発症している第一世代のS群を親として繁殖した。発症率は雄26%、雌46%で雌が有為に高かったが、発症率は第一世代に比べてやや高い程度にとどまっている。しかしながら発症した雄11例のうち5例と雌17例のうち7例は両眼瞼が閉鎖（以下W群、図2）するものであった。第二世代は現在12~16ヶ月であるので、24ヶ月の生存率はまだ算出できないが、12ヶ月の生存率は90%以上である。第三世代はW群を両親に持つ現在6週令~10週令であるが、発症率は著しく高い。特にオスでの発症率が顕著に増加している。雄ではN群4例（11%）、S群21例（57%）、W群12例（32%）である。雌ではN群8例（31%）、S群10例（38%）、W群8例（31%）であり、総数では81%に発症していた。

W群は繁殖用に残し、S群についてのみ解剖して検索を行った。

結果

A群： 第二世代のS群17例（雄10例、雌7例）および中途死亡したW群2例（雄雌各1例）について眼窩周辺および脳底の骨を取り除いて眼球および視神経を観察した（表1、A群）。

W群の2例はいずれも眼球が消失しており眼窩内は脂肪塊で満たされていて、視神経、視索は存在しなかった。

S群のうち患側の眼球が存在したのは5例のみで、他はW群と同様に脂肪塊が取って代わっていた。5例のうち、視神経が存在したのは1例のみで、残る4例では、眼球はあっても視覚の伝導路は存在していなかった。視神経の存在した1例は細々とした視神経であったが、視交叉、視索共に存在した。視神経の存在しなかった16例のうち3例は視交叉が存在せず、かつ、視索は同側であった。結果的に17例中、生後の退行性変性を推測させる例は眼球の存在した5例で、他の9例とW群は遺伝的素因を疑わせるものであった。特筆すべき事項として、眼裂周囲に軟骨様の硬組織が眼窩前面に形成されている2例が観察された。

B群： 18例中眼球が存在したのは6例（33%）であったが、このうち3例は視神経が欠損していた。また、眼球が欠損していた17例のうち2例（S23、S24）では対側の眼球は存在しているものの視神経は欠損するものであった（表1、B群）。しかしながら、視交叉を欠くものは3例にすぎず、このうち1例は同側、2例は対側の

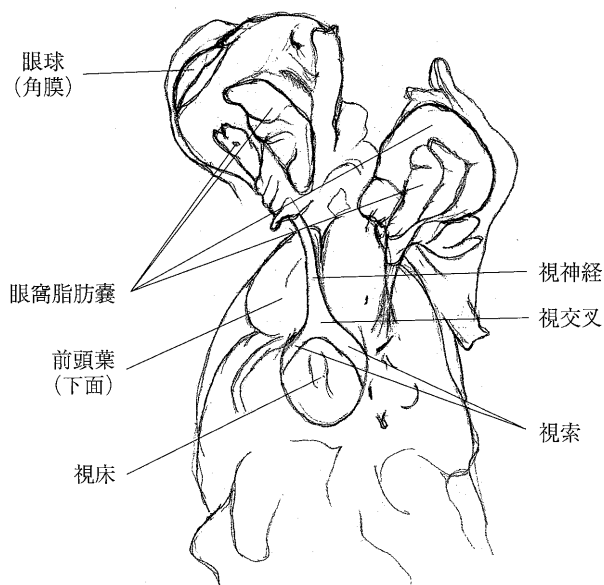
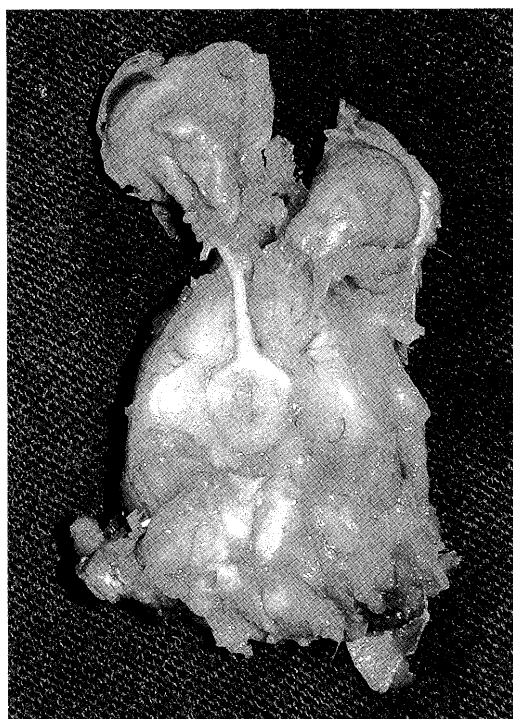


図3 左眼球欠損例(脳底部)

表1 各個体の観察結果

| 個体番号 | 性 | 体重(g) | 患側 | 眼球 | 視神経 | 視交叉 | 視索 | 備考 | |
|------|-----|-------|-----|----|-----|-----|----|----|------|
| A群 | W1 | ♀ | 157 | R | - | - | - | | |
| | | | | L | - | - | - | | |
| | W2 | ♂ | 100 | R | - | - | - | | |
| | | | | L | - | - | - | | |
| | S12 | ♀ | 290 | R | - | ○ | ○ | | |
| | S14 | ♂ | 283 | R | ○ | - | - | R | |
| | S15 | ♂ | 276 | L | ○ | - | ○ | ○ | |
| | S8 | ♂ | 271 | R | - | - | - | R | |
| | S10 | ♀ | 251 | R | - | - | ○ | ○ | 眼窩前壁 |
| | S5 | ♀ | 234 | L | - | - | ○ | ○ | |
| | S17 | ♀ | 234 | L | ○ | - | - | - | |
| | S16 | ♀ | 226 | L | - | - | - | L | |
| | S4 | ♀ | 224 | R | - | - | ○ | ○ | |
| | S2 | ♀ | 222 | R | - | - | - | ◎ | 眼窩前壁 |
| | S6 | ♀ | 209 | L | - | - | ○ | ○ | 眼窩前壁 |
| | S13 | ♀ | 203 | L | - | - | ○ | ○ | |
| S9 | ♂ | 190 | L | - | - | ○ | ○ | | |
| S7 | ♂ | 179 | L | - | - | ○ | ○ | | |
| S11 | ♂ | 170 | L | - | - | ○ | ○ | | |
| S3 | ♀ | 158 | L | ○ | ○ | ○ | ○ | | |
| S1 | ♀ | 157 | L | ○ | - | ○ | ○ | | |
| B群 | S49 | ♂ | 133 | R | - | - | ○ | ○ | |
| | S48 | ♂ | 128 | L | - | ○ | - | L | |
| | S21 | ♂ | 119 | L | ○ | - | - | R | |
| | S22 | ♂ | 113 | R | - | - | - | - | |
| | S23 | ♂ | 102 | R | - | - | ○ | ○ | |
| | | | | L | ○ | - | ○ | ○ | |
| | S27 | ♂ | 99 | L | - | - | ○ | ○ | |
| | S50 | ♂ | 96 | L | - | - | ○ | ○ | |
| | S25 | ♀ | 95 | L | - | - | ○ | ○ | |
| | S24 | ♂ | 94 | R | ○ | - | ○ | ○ | |
| | | | | L | - | - | ○ | ○ | |
| | S26 | ♂ | 85 | L | ○ | ○ | ○ | ○ | |
| | S29 | ♀ | 81 | L | ○ | ○ | ○ | ○ | |
| | S35 | ♀ | 81 | L | ○ | - | ○ | ○ | |
| | S28 | ♂ | 78 | L | - | - | ○ | ○ | |
| S30 | ♀ | 72 | L | ○ | ○ | ○ | ○ | | |
| S32 | ♂ | 70 | R | - | - | ○ | ○ | | |
| S34 | ♂ | 66 | L | ○ | - | ○ | ○ | | |
| S31 | ♀ | 65 | R | - | - | ○ | ○ | | |
| S33 | ♂ | 63 | L | - | - | ○ | ○ | | |

| | | | | | | | | |
|-----|-----|----|----|---|---|---|---|---|
| C群 | S40 | ♀ | 55 | R | ○ | ○ | ○ | ○ |
| | S37 | ♀ | 50 | L | - | - | - | - |
| | S41 | ♀ | 48 | L | - | ○ | ○ | ○ |
| | S43 | ♂ | 46 | R | ○ | ○ | ○ | ○ |
| | S38 | ♀ | 45 | L | ○ | ○ | ○ | ○ |
| | S36 | ♀ | 43 | L | - | - | ○ | L |
| | S39 | ♂ | 43 | L | ○ | ○ | ○ | ○ |
| | S44 | ♂ | 41 | L | - | - | ○ | ○ |
| | S42 | ♀ | 40 | L | - | - | - | L |
| | S47 | ♂ | 40 | R | ○ | - | - | R |
| | S45 | ♂ | 39 | L | ○ | ○ | ○ | ○ |
| | S46 | ♂ | 34 | L | ○ | ○ | ○ | ○ |
| S51 | ♂ | 32 | L | ○ | - | ○ | ○ | |

○=正常 ◎=異常に太い ○=異常に細い -=欠損

視索のみが存在した。この3例を除く14例は視交叉、視索は正常に観察された。

C群： 13例中眼球欠損は5例、視神経欠損は6例であったが、他に極めて細く明らかに退化傾向が認められるものが4例存在した。視交叉についても欠損2例のほか退化傾向が1例観察された。視交叉欠損3例はいずれも同側の視索を持つものであった。視索の欠損は2例、退化傾向にあるもの1例が観察された(表1, C)。この結果から考えるとN群についても解剖を試みる必要があったと考えられるが、現存の飼育設備では60匹の飼育が限度であり、途中で飼育を放棄せざるを得なかった。

考察

本学で新たに自家繁殖したWister系ラットで眼球欠損

という奇形を生じた。これがミュータントであるかどうかはまだ結論付けられない。文献^{6,7)}によればこうしたミュータントは存在するが、本例がこれらのミュータントと同一であるか否かは詳細な分析が必要になる。また、眼球のみが存在し視神経が欠損する1例についても類似した例⁸⁾の報告がある。この場合は、網膜からの神経節細胞の線維が伸張しなかったと考えられ、栄養的な問題等で生後、視神経線維が減少する例^{4,5,13)}が対比して考えられる。例数が少ないが、親が育児を放棄した生後死亡例、兄弟は成長したが生後1週間以内に死亡した第三世代15例について眼瞼を剥離し、眼球の有無のみを表面から観察した結果、4例(27%)に眼球欠損(いずれも一側のみ)が存在していた。この事実から本報告における奇形は既に胎児期から発生する素因に基づくと考えられる。しかしながら一方で、数例の可逆的変化を示した例、白内障類似の経過をたどって眼瞼閉鎖した例を考えると後天的な要素が作用していることも考えられる。

新生児群、C群(6~8週齢, 3週齢1例を含む)、B群(9~10週齢)、A群(12月齢超)の4群を比較すると眼球欠損例は27%、43%、68%、76%と明らかに成長に伴って欠損の比率が高くなっている。以下は新生児群を除いた結果になるが、視神経の欠損例はC・B・A群の順に43%・79%・95%であり視神経退化傾向のものを含めると71%・84%・100%となる。同様に視交叉について観察した結果は、29%・16%・38%で、退化傾向のものを含めると、36%・16%・38%となりB群の数値が低かった。

視索の両側欠損例はA群の両眼球欠損例にのみ観察された。1例欠損例はそれぞれの群で2例(14%)・1例(5%)・4例(19%)と残存している例が多い。これら7例のうち対側の視索残存例は3例、同側の視索残存例は4例であった。これらの結果から、成長に伴って奇形の発症率は上昇していることは明瞭と言える。また、大多数の症例で視交叉、視索が残存していたが、これらを構成する神経線維は網膜に由来するものであり、眼球あるいは視神経を失った例では内部に神経線維が存在するとは考え難く、神経鞘あるいは結合組織のみによって構成されていると推測される。

片眼で同側の視索につながる例の発生に関しては、一部線維が非交叉である視神経の例が^{1,2,9,10)}報告されており、一側の眼球喪失によってこうした変異につながったことが考えられる。胎児期、新生児期のビタミンAの欠損によって、多くの眼球奇形³⁾が生じた例も報告されている。本例においても給餌制限によって栄養の偏りが生じたことも考えられるが、同一条件で2年以上生存した

個体もあり、給餌制限がこれだけ多数の奇形を発症させた原因とは考えにくい。

眼球の発生に関連する血管系は硝子体動脈であるがこの動脈に関連する毛細管のapoptosis^{11,12)}が原因で奇形が発生する可能性も否定できない。Taniguchi¹¹⁾らによれば、こうしたapoptosisを発生させる細胞は生後20日あまり残存し、生後の1日目よりも10~20日にもっとも活性化するとされている。第三世代の6週齢以上のラットで50%以上の発生率をしめした眼瞼閉鎖例が、生後1週間以内の15個体では4例(26%)と約半数であることを考えると、毛細管のapoptosis細胞が原因とする説も捨てがたい。

当初は眼瞼の閉鎖によって、網膜への刺激が減少することによって、網膜の退化、眼球の発育不全等を予測していたが、眼球欠損という奇形が生じていたことで、今後の研究方針を大きく変えざるを得ないことになった。今後の方針としては、1. 胎児期、生後1日、1~4週齢の各週齢ごとに発生率の比較、2. 視神経を欠損した眼球の網膜の細胞構築、3. 片眼例における大脳皮質視覚領の細胞構築上の違い、4. 片眼例の視交叉の前後における神経線維の走行、5. N群の剖出結果等を中心に組織学的な検索を進めたい。

また、生後の給餌あるいは薬剤投与による発生率改善の可能性についても協力者があれば進めたい課題である。

文献

1. Lund RD, Miller BF. Secondary effects of fetal eye damage in rats on intact central optic projections. *Brain Res.* 92:279-89, 1975
2. Land PW, Lund RD. Development of the rat's uncrossed retinotectal pathway and its relation to plasticity studies. *Science*, 205 (4407) :698-700, 1975
3. Padmanabhan R, Singh G, Singh S Malformations of the eye resulting from maternal hypervitaminosis A during gestation in the rat. *Acta Anat (Basel)* . ;110 (4) :291-8, 1981
4. Lam K, Sefton AJ, Bennett MR. Loss of axons from the optic nerve of the rat during early postnatal development. *Brain Res.* Mar; 255:487-91. 1982
5. Bedi KS, Warren MA. The effects of undernutrition during early life on the rat optic

- nerve fibre number and size-frequency distribution. *J Comp Neurol.* 10; 219:125-32, 1983
6. Shen CL, Baisden RH. Expansion of the ipsilateral retinal projection to the medial terminal nucleus of the accessory optic system in rats with one eye removed. :*Exp Neurol.*;93 :270-4, 1986
 7. Tokunaga A, Sugita S, Otani K. Uncrossed retinogeniculate and retino-tectal projections in the hereditary unilaterally microphthalmic rats. *Neurosci Res.* ;4:195-210.1987
 8. Tokunaga A, Sugita S, Otani K et al.. Uncrossed retinal projection to the medial nucleus. : *Exp Neurol.* Feb;95:516-20.1987
 9. Uno H, Sawai H, Fukuda Y. Anomalous optic nerve fiber convergences in the ipsilateral retinocollicular projection: a comparison of congenitally monocular and neonatally one-eye-removed rats. *Exp Neurol.* ;96:462-8, 1987
 10. Tokunaga A, Sugita S, Otani K. Uncrossed retinogeniculate and retino-tectal projections in the hereditary unilaterally microphthalmic rats. *Neurosci Res.*;4:195-210, 1987
 11. Taniguchi H, Kitaoka T, Gong H et al. Apoptosis of the hyaloid artery in the rat eye.: *Anat Anz.* ;181:555-60.1999
 12. Cellerino A, Bahr M, Isenmann S. Apoptosis in the developing visual system. : *Cell Tissue Res.* ;301:53-69.2000
 13. Dietz GP, Kilic E, Bahr M. Inhibition of neuronal apoptosis in vitro and in vivo using TAT-mediated protein transduction. *Mol Cell Neurosci.* ;21 (1) :29-37, 2002