

眼瞼閉鎖ラットの形態学 2. 無眼球症

岩本 壮太郎 園田 徹 *川野 純一 **伊吹 太希

On the rat with closed eyelids 2. Anophthalmos

Soutarou IWAMOTO Tooru SONODA *Jun-ichi KAWANO and **Taiki IBUKI

Abstract

Many anomalies of the visual system, bilateral anophthalmos, unilateral anophthalmos and optic nerve degeneration seem to be closely related to microphthalmos were found in KUHw-rats derived from a Wistar strain inbred colony. Nevertheless the rats have no recognizable eye and optic nerve in both sides were completely missing, their eyelids and optic tracts were present in anophthalmos rats. Diffuse axonal degeneration of the optic nerve on the affected side and contra-lateral optic tract were observed in microphthalmos rats. Breeding and morphological studies were undertaken to determine the nature of the ocular defect, as well as its cause and pathogenesis. These anomalies were found to be inherited as an autosomal recessive trait with variable expressivity. The studies of the prenatal morphogenesis of the microphthalmos suggested that the primary disorder reflects a disturbance of the neuroepithelium of the retinal anlage and results in defective early formation of the optic cup. Microphthalmos and anophthalmos are congenital ocular malformations that may create eyelid malformations because of the absence of the globe's trophic effects on the growth of the lids and orbit. It is particularly relevant in understanding the pathogenesis of microphthalmos in the human eye.

Key words : anophthalmos / microphthalmos / rat

キーワード : 無眼球症 / 小眼球症 / ラット

2006. 1.18 受理

緒論

本学で発生したWistar系眼瞼閉鎖症ラット(KUHw-rat)は遺伝的に継続される無眼球症(anophthalmos)および小眼球症(microphthalmos)ラットであることが明らかになった。

1側無眼球症のF2(KUHw-s、以下S型)から産まれたF3の無眼球症の発症率は雄26%、雌46%で雌が有為に高かったが、発症率はF2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6例は両側の無眼球症(KUHw-w、以下W型)であった。

いずれも24ヶ月の生存率は90%以上であり、出産能力も平均6.7匹で、通常の出産数と大差なかった。F3のW型を両親に持つF4では、過半数が何らかの形でこれらの奇形を発症していた。前回の観察では週齢の若いラットでは出現頻度が低いという傾向が覗かれたため、今回、週齢別の発症率を観察した。また、佐藤焼酎製造

九州保健福祉大学 作業療法学科、*視機能療法学科、**佐藤焼酎製造場(株)

九州保健福祉大学

宮崎県延岡市吉野町 1714 - 1

*Department of Occupational Therapy and Department of Orthoptics and Visual Sciences

School of Health Science, Kyushu University of Health and Welfare, **Sato - shouchu - seizojou co.ltd.

Kyushu University of Health and Welfare

1714-1, Yoshino-cho, Nobeoka-City, Miyazaki Pref.882-8508, Japan

**1221-1, Kagase-cho, Nobeoka-City, Miyazaki Pref.882-0085, Japan

場との共同研究であるモロミ酢の試飲効果についても観察を行った。

方法

1. 週齢ごとの発症率を観察するため、アトランダムに2匹ずつを選び、週齢ごとの解剖結果をまとめた。少産(6匹以下)例では1匹/週とした。
2. 佐藤焼酎製造場が新たに健康飲料として開発を進めているモロミ酢が、奇形発症の抑制効果を持つかどうかのテストを行った。方法は交配直前から、飲料水に代えて、モロミ酢を2倍に希釈したものを用い、生後4週まで母子に飲用させた。2倍に希釈した理由は原液を飲用させたところ、1日に通常の約3倍(約50cc)を飲用してしまい、床敷を毎日変えなければならない状況が生じたためである。

結果

外見的には眼瞼閉鎖で判別されるが、解剖所見では様々な変異が認められる。最も進行した視覚系(両眼球・視神経・視索)完全欠損例は2例を見たのみであった。眼球は存在しても視神経が欠損する、眼球と視神経が欠損するにもかかわらず視索が残存するなど不可解な例が少なくない。少数例として、視神経が同側の視索へ移行するケース数例、眼球が形成されず水晶体のみが残存するケース1例が見られた。F3のW型を両親とするF4では、N(外見的には正常)・S・Wのいずれの型も混在する。この他に小眼球症(以下m型)と思われる例が多数観察された。また1腹で7匹の全てがN型である例が1ケース見られた。

1週に満たない個体は13匹、26眼球あり、死産、脆弱な体力であるため3日以内に死亡、あるいは多産(11~13匹)であるため10匹を残して深麻酔で死亡させたものである。これら、13匹ではW型は存在せず、N型は3例(23%)であった。残る10例は両眼が小眼球症のもの(以下mm型)3例、片目が小眼球症のもの(以下Nm型)4例、無眼球症と小眼球症の組み合わせ(以下Sm型)が3例であった。眼球数では26球中無眼球3球(11.5%)、小眼球13球(50.0%)、正常球10球(38.5%)であった。

1週齢25匹ではN型9例(36%)を除き、W型3例を含めて何らかの発症が認められた。その内訳は、Nm型5例、mm型4例、Sm型2例、S型2例であった。眼球数では無眼球10球(20%)、小眼球15球(30%)、

正常球25球(50%)であった。

2週齢23匹ではN型5例(22%)、W型10例、Nm型1例、Sm型3例、S型4例でmm型は見られなかった。眼球数では無眼球27球(58.7%)、小眼球4球(8.7%)、正常球15球(32.6%)であった。

3週齢21匹ではN型3例(14.3%)、W型4例、Nm型6例、mm型1例、S型7例でSm型は見られなかった。眼球数では無眼球15球(35.7%)、小眼球8球(19.0%)、正常球19球(45.2%)であった。

4週齢14匹ではN型3例(21.4%)、W型4例、Nm型1例、mm型1例、S型4例、Sm型1例であった。眼球数では無眼球13球(46.4%)、小眼球4球(14.3%)、正常球11球(39.3%)であった。

5週齢3匹ではN型1例(33.3%)、W型1例、Nm型1例、S型1例であった。眼球数では無眼球3球(50%)、正常球3球(50%)であった。

各週齢で、N型あるいは正常眼球が50%を超えることはなかった。また、乳児期では無眼球症は少なく、幼児期に増加する傾向は見られるが、必ずしも週齢と共に増加すると結論付けられる結果は得られなかった。

モロミ酢の飲用実験は、9家族61仔についての観察で、N型15例(24.6%)、W型30例(49.2%)でW型が増加しておりN型は減少している。いずれも有意の差は認められず、奇形発症の抑制効果は認められなかった。その他のS型10例(16.4%)、Sm型4例(6.7%)、Nm型4例(6.6%)、mm型2例(3.3%)をあわせて、視覚器障害の発症率は75.4%に達する。この実験はモロミ酢への添加物を考慮するための予備実験であるが、少なくとも、モロミ酢単独では奇形の発症抑制効果は認められないことが明らかになった。

考察

前回報告¹⁾した眼球のみが存在し視神経が欠損する例については、別例で組織学的検証を行ったが、少なくとも網膜の神経節細胞層に顕著な変化は認められなかった(図-1)。ShenとBaisdenは網膜の変性を報告して

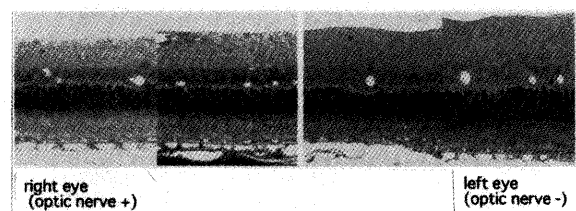


図1：視神経が存在するラット(左)と存在しないラットの網膜(右)：中央の濃い部分が神経節細胞層

いるが、KUHW-rat ではこれらの例とは異なるように思われる。栄養的な問題等で生後視神経線維が減少する例^{3,4)}とも異なっている。

F 2 が S 型であったのに対して F 3 で W 型が発症したことに関連して、今泉ら⁵⁾の報告は興味深い。すなわち片眼に無眼球症を発症している母親と両眼で無眼球症を発症したケースであり、常染色体性優性遺伝形式の家族内発生と報告されている。

渋谷⁶⁾によれば、視神経無形成症の病理発生についてはいまだに論議のあるところであり、硝子体動脈および結合組織を含む中胚葉組織の発生異常の結果生じるとされている。一方、視神経の低形成症は網膜神経節細胞の発生異常によって生じるとされている。従来の発生学教科書からも、視神経が存在しない症例では神経節細胞の存在を疑わざるをえないが、今回の組織像はこれを否定するものであった。しいて言うならば、いったん形成された視神経が何らかの理由でその線維を失ったものと考えられる。一方で、S 型の前駆型ではないかと考えられるのが眼球そのものは小さくないにもかかわらず、視神経が退化しつつある例（図 2）である。通常ラット

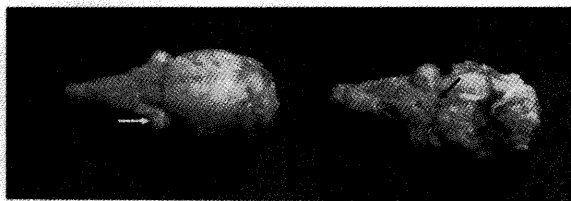


図 2：外皮を剥離した 3 週齢ラットの背側面（左）と腹側面（右）：強靱な眼瞼板（左図矢印）および細い視神経（右図矢印）とそれに続く右視索

の眼球ではその半分が眼窩の外側に突出しているが、このラットの左眼球は約三分の一が突出しているのみである。その原因は、眼球前部の縁にある強靱な結合組織性のリング（左図中矢印）がその突出を拒んでいることにある。その結果として左視神経が異常に細くなっている（右図中矢印）ことが判る。小眼球症を生じているケースではほとんどの例が、こうした視神経萎縮を伴っている。眼球からの刺激の減少が原因で神経節細胞の廃用性萎縮を引き起こしている可能性も考えられる。小眼球症は、その個体差も大きく、明らかに小さい眼球から、ほぼ正常な大きさに達していながら上述の例のように、機能的に退化の傾向があると考えられる例までさまざまであり、その径も画一的とはいえない。したがって、有無で明瞭に区別される無眼球症と同一に扱うことは難しく、今後、症例の観察を増やして行きたい。

無眼球症を含む眼球の形成異常については S D（C

D）系ラットでは比較的多く見られるが、Wistar 系ラットでは少ないとされている。また、小眼球症ラットについては京都大学で BN-mc（Microphthalmos rat）としてその系が維持されている⁸⁾。また、ラットの系は不明であるが、KUHW-rat と同様に無眼球症、小眼球症、正常体の混在するコロニーがあることがインターネット上に記録されている（J T Buss：Department of Biological Sciences, Ferris State University）。

眼球は、胎生初期に前脳から突出した眼包と体表の外胚葉との間で融合が起こり形成されることが知られているが、この上皮が形成不全の原因となるケースがある。Padmanabhan⁸⁾らはこうしたケースではしばしば眼瞼の形成が阻害されることを明らかにしている。KUHW-rat では眼瞼は形成されており、こうした上皮側の形成不全ではないと考えられ、眼球が形成されず水晶体のみが形成された 1 例もこれを裏付けている。

ラットの視覚はヒトと異なり、両眼視できる範囲はごく限られた狭い領域であり、視神経の線維の 95% は対側の視索に交叉する⁹⁾とされている。このことは図 2 の左視神経が細く、右視索が同様に細くなっていることから類推される。しかしながら、大多数の例で左右の眼球および視神経を失っているにもかかわらず、視索が左右につながっている（図 3）のが観察される。こうした

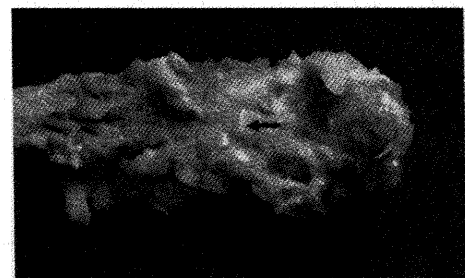


図 3：両側無眼球症ラット（KUHW-w）の脳下面：視床下面を横断する視索（矢印）

例の視交叉部分の標本を電子顕微鏡（図 4）で観察する

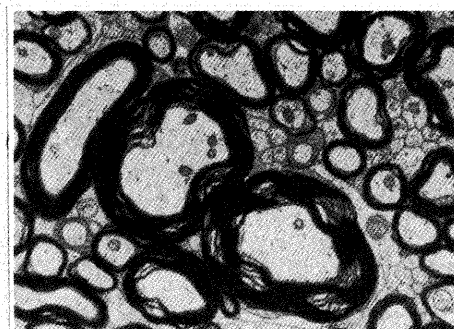


図 4：両側無眼球症ラット（KUHW-w）の視交叉断面

と正体不明の細胞と共に、mitochondriaを含む、明らかに神経線維と判断される横断面が映し出される。こうした交連系線維は左右の外側膝状体を連絡するとしか考えられないが、正常なラットにも存在するかどうかについては不明である。考えられることは、左右の視野の大部分が異なるため、一般には脳梁を通るとされる線維以外に、交連系の線維が必要なのではないかということである。もうひとつの考え方は、眼杯がターゲットとなるべき相手（上皮）を失い、対側の視索に誘導された可能性が考えられる。いずれも推測の域を脱しないが、正常な視覚伝導路を持つ個体にこうした線維があるかどうかの確認が必要と思われる。

無眼球症については本症例のような高頻度の報告は見当たらないことから、特異的な遺伝形質を有する系として確立されつつあると考える。ラットの視神経では95%の線維が、対側へと交叉するとされ、今回の観察では左右の視索を結ぶ線維の存在も認められ、視覚器障害、治験薬の開発に有効な実験動物と考えている。

本研究は独立行政法人「科学技術振興機構」平成17年度、実用化のための可能性試験調査（奇形ラットを利用した健康食品の効用に関する研究）の補助金による研究の一環として行われた。

謝辞

標本作成にあたっては、宮崎大学医学部解剖学第二講座、菅沼龍夫教授のご指導、ご援助があったことを記して謝意に代えさせていただきます。

文献

1. 岩本壮太郎、三浦宏子：眼瞼閉鎖ラットの形態学
1. 眼球および視神経. 九州保健福祉大学研究紀要 6 : 223 ~ 227, 2005
2. Shen C.L. and Baisden R.H. : 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 : 270-274, 1986
3. Lam K., Sefton A.J. and Bennett M.R. : Loss of axons from the optic nerve of the rat during early postnatal development. Brain Res. 255 : 487-491, 1982
4. Bedi K.S. and Warren M.A. : The effects of undernutrition during early life on the rat optic nerve fibre number and size-frequency distribution. J.Comp. Neurol. 10, 219 : 125-132, 1983
5. 今泉清, 升野光雄：脳形成異常の発生機序に関する臨床的・基礎的研究, 精神発達遅滞を伴う眼球形成不全症の遺伝学的研究. 厚生省精神・神経疾患研究委託費による9年度研究報告集 : 368-369, 1998
6. 渋谷 一元：実験動物における眼疾患—その1—, 日本生物化学研究所報告, 2005
7. D Williams: Laboratory animal ophthalmology-An overview. Animal Technology 43 :147-165, 1992
8. 丹羽愛樹、大野京子、加藤志津香、近藤恭司：遺伝性小眼球症ラットの育成. 第5回日本疾患モデル動物学会記録. 1988年
9. Padmanabhan R. Singh G. and Singh S : Malformations of the eye resulting from maternal hypervitaminosis A during gestation in the rat. Acta Anat.(Basel) 110 : 291-298, 1981