

沃度酸曹達による網膜変性症の組織化学的研究

第 3 報

脂質並びにミトコンドリアの変化に就て

岡山大学医学部眼科学教室(主任: 赤木教授)

小山 泰 太

〔昭和 34 年 7 月 22 日受稿〕

I. 緒 言

著者は第 1 報第 2 報に於て NaIO_3 による特殊性網膜変性症を惹起せしめ、その病理組織学的所見並びに網膜の光化学反応に密接な関係を有する浜崎氏汞ケトエノール物質(Hg-K. E. S.), クロームケトエノール物質(Cr-K. E. S.) 及び D. N. A. の変化を主として早期のものに注目しつつ検索し、合せてモノヨード醋酸による変化との比較検討を試みた。本報では網膜全体の組成中蛋白に次いで多量に含⁽²⁾まれている脂質の変化とミトコンドリア(ミトと略記する)の変化に就て述べる。

ミトが細胞質の重要な働きをする部分だという事は細胞学者によつてかなり以前から考えられていたが細胞化学及び電子顕微鏡による細胞の微細構造の明かとなるにつれてその重要性は次第に明かとなり細胞内の代謝に於て極めて多数の酵素の存在部位である事が明かとなった。脂質の種類は極めて多いが今回は Ciaccio 法に於ける所謂リポイドに就て検査した。

II. 実験材料並びに方法

実験材料には前報同様体重 2 kg 前後の健康白色家兎を用い、予め前眼部及び眼底検査を行い異常のないものを使用した。5% NaIO_3 生理的食塩水液を対照 1 cc 宛毎日 1 回一定時刻に耳静脈内注射し、注射後 12 時間、24 時間、48 時間、3 日に空気栓塞死せしめ直ちに眼球摘出を行い固定液に投入した。脂質に就いては Ciaccio 固定を行いパラフィン切片とし染色には Sudan black B. と Sudan III. を用いた。ミトに就いては Kopsch-Regaud 固定を行い染色には Altmann-Schridde 法及び Heidenhein 鉄ヘマトキシリン法を用いた。Sudan black B による染色は Sudan III. によるものに比し著しく明瞭であ

るので主として Sudan black B 染色標本に就いて記載する。

III. 実験成績

A) Ciaccio 固定 Sudan black B 染色所見

1) 正常像

色素上皮細胞原形質は一般に Sudan black B. に対して淡青黒色顆粒状を呈し内に $1-5\mu$ 大の円形顆粒が存し、著明に青黒色に着染する。少々大形のものは時に中空性を示し、Lipochrin の壁は強く青黒色に染まり多房性に現われるものもある。視細胞に於ては外節は可なり強く青黒色に染まり屢々分節状構造を示す。内節との境界は明瞭で内節は Ellipsoid の部のみ少々著明に淡青黒色顆粒状を呈する。その他は外内網状層神経線維層が僅かに淡青色を呈し、神経線維中有髓の部は強く青黒色を呈する。Sudan III. に対しては橙色调に染まり、その着染の状態は略々 Sudan black B と同様である。

2) 注射後 12 時間(注射 1 回)(第 1 図, 第 5 図)

色素上皮細胞は大部分保たれているがその境界は幾分不鮮明となり原形質は Sudan black B. で暗青灰色に着染し、内に多数の 0.2μ 大の少々暗青黒色に染まる顆粒を認める。核は全く着染せず、尚胞体内には $10-20\mu$ 大の円形空泡を有し、時に之れは多房性となるがその外壁には著明に青黒色を呈する脂質を認める。視細胞外節は著明に暗青色を呈し時にその先端が輪状をなすものが認められるが之れが薬物作用による変性か標本製作時の人工的産物かは尚不明である。内節とは明瞭に境される。内節は外節と直接に接する部は細糸状の形態を呈し之れに続く内節エリプソイドに連なる。此の部は Sudan black B により少しく青黒色を呈する。併し乍ら外節に比しその呈色は弱い。他の諸層に於ては内網状

層と神経線維層の中の有髄部が著明に暗青色を呈する。以上の如き変化の経膜各領域による差は認め難い。

Sudan III. 染色によるものは着染性は一般に Sudan black B 染色に比し弱く、その色調は橙色調で色素上皮原形質も Sudan black B では暗青灰色に Sudan III. では淡橙色に着染する。

3) 注射後24時間(注射1回)(第2図, 第6図)

多くの色素上皮細胞の核はヘマトキシリン(H. と略記する)に対し全く染色性を失うが胞体は尚かなりよくその形態を保っている。細胞質は淡青灰色に染まり中に微細な $0.1-0.2\mu$ 大の顆粒が多数少々濃青灰色に着染する。尚各細胞中に存する $10-20\mu$ 大の円形空泡の壁は濃青黒色を呈する。視細胞外節は少々濃青灰色を呈し、大体一様に着染する。その先端は屢々輪状に膨大する。内節との境界は明瞭で内節エリプソイドの部は少々顆粒状に青灰色に呈するが外節の呈色よりも弱い。尚視細胞核には散在性に変性を示すものが見られる。他の諸層の状態は注射後12時間の所見と同様である。Sudan III. 染色による所見は注射後12時間の所見と略々同様である。

4) 注射開始後48時間(第2回注射後24時間)(第3図, 第7図)。

色素上皮細胞の核はすべて消失し胞体は尚比較的良好に残存している。胞体は微細顆粒状で $10-20\mu$ 大球形の空泡が各細胞に1-2個存在する。視細胞外節は変性し多数の大なる空泡となつて存在する。視細胞核の多くは未だ著明な変性所見を示さない。Sudan black B 染色により色素上皮細胞の細胞質は微細顆粒状に少々著明に着染し、細胞内の大空泡は青黒色に強く充実性に着染する。視細胞外節は少々著明に青黒色を呈し内節との境界は明瞭である。外節間には多数の 20μ 大の空泡が認められるが之れは Sudan black B に着染せず、内節の着染状態は注射後24時間のものと同様である。又他の諸層も前記のものと同様である。

Sudan III. による着染は全体として橙色を示し、脂質の局在は Sudan black B と略々同様である。

5) 注射開始後3日(第3回注射後24時間)。(第4図, 第8図)。

色素上皮は殆んど全く破壊消失し、僅に所々残存せる色素上皮細胞は視細胞外節の間に散在する。視細胞外節は著明に破壊し、或るものは尚かなりその正常の形態を示すが多くのものは外節は破片となり

内節は球状或は泡沫状に膨化している。視細胞核の多くのものはクロマチン質が均質化し且つ淡染し核質融解の所見を示す。Sudan black B 染色によれば僅に残存せる色素上皮細胞の細胞質は淡青灰色を呈し少しく顆粒状を呈するのみで正常に存在する小顆粒或は大空泡は認められない。

視細胞外節の尚破壊していないものは Sudan black B に対する着染性も正常のものと大差を認めず時に少々染色性の弱いものが認められる。又破片となつた外節も可なり著明に青灰色を呈する。尚外節層には巨大な貪喰細胞が散在性に認められその中には多数の外節の破片を含み、その破片は著明に青黒色を呈する。内節外端部は著しく膨大しているものがあるが之等は Sudan black B に全く着染しない。

エリプソイドの部は変化少く、正常のものと同様微細顆粒状に弱く青灰色を呈する。他の諸層は正常のものと略々同様である。

Sudan III. による脂質の着染性も之れと大同小異である。

B) Mitochondria の変化

1) 正常像

色素上皮細胞に於てはミトは円形のものが多いが又糸状或は短桿状のものも可なり認められ、その分布は Bruch 氏膜に近い程密である。が核の周囲及び杆体先端に近い部にも存在する。大きさは円形のものでも少々大小を認めるが左程その差は著しくない。時に連珠状のものも認められる。視細胞外節は H. 或はフクシンに好染し、周囲とは明瞭に境され屢々分節状構造が明かに認められる。内節との境界は明かである。内節は外節と接する部は細く糸状を呈し、之れに次ぐエリプソイドは紡錘状を呈するがこの部には長さ約 5μ 程度の紐状のミトが密に視細胞の長軸に沿つて存在する。

視細胞に於てはその他の部にはミトは見られないがその足部即ち両極細胞との接合部はミトコンドリア染色により著明に着染する。

2) 注射後12時間(注射1回)

色素上皮の核は所々消失し、残存せるものもそのクロマチン網は染色性が弱い。ミトは殆んどが円形を呈し少々大小不同が見られ Bruch 氏膜に近い部に集るものが多いが又細胞内全体に一様に分布するものもある。時に棒状のものあり、外節は著明に H. 或はフクシン(F. と略記する)に染まり著しい分節状構造を呈する。エリプソイド中には 5μ 前

後の長さを有する糸状のミトが多数視細胞長軸に沿って密に束状に存在する。

3) 注射後24時間(注射1回)

色素上皮は薄くなり核は余り著明でない。ミトは円形で Bruch 氏膜に沿って一列にならび所々に密集している。併し乍ら12時間のものに比し著しく少い。視細胞外節は H. 或は F. によく染まり横紋様構を示す。内節は著しく変形し強く迂曲し、糸のもつれた様な形を示し内にはミトは著明でない。全体として H. 或は F. に少々強く染まる。

4) 注射開始後40時間(第2回注射後16時間)

色素上皮は著しい変性を示し Bruch 氏膜に沿った部に細胞質の附着を認めその中に少数のミトを認める。視細胞の内節はそこにある糸状ミトが排列を乱し又染色性に於て不整である。

5) 注射開始後48時間(第2回注射後24時間)

大体に於て注射後24時間の所見と同様であるがミトは少々大きいものがあり又2~3個集合せるもの等を認める。色素上皮の核は未だ認められるものもあるが H. に着染しない。

6) 注射開始後3日(第3回注射後24時間)

色素上皮は薄くなりミトは殆んどその外側にある Bruch 氏膜に近く集合している。大多数のものは円形を示す。視細胞外節は可なり H. 或は F. に着染するが著しく変形している。内節は注射後24時間のものに比して変形が少ないが、内部に存在するミトは迂曲しその排列も少々不整である。

IV. 総括並びに考按

網膜の脂質は NaIO_3 注射後12時間に於て色素上皮内のものが先ず減少の傾向を示す。併し細胞内に存する大空胞(Lipochrin)壁に存する脂質は可なり永く存在するのみならず或る時期は却つて Sudan 好性物質の増加を示す。之れは Hg- 又は Cr-K. E. S. の染色に於て此の部に多量のケトエノールリポイドの存在を示し之れが細胞の変性時にも可なり強く残存する事と一致した所見である。而して色素上皮細胞が全く破壊した時に於てはそのものは消失し細胞外に遊離残存する等の所見は認められない。

視細胞の Sudan 好性は正常のものとの間に著しい差異を認めず外節が崩壊して破片となつて居る時に於ても尚可なり著明に Sudan に染まる。内節の Ellipsoid も著者の検した範囲内では正常に近い着染性を長く保つ。他の諸層にも著しい変化を示さな

い。ミトは色素上皮細胞の変性と共に減少し又顆粒状のもののみよく残存する傾向を示す。そして核は既に全く消失し細胞質も大部分消失した時期に於ても尚 Bruch 氏膜に接して少数のものが着染性を保つのが認められる。網膜に脂質が多量に存する事、又夫が網膜外層に多量に存する点より之れが網膜の光化学反応に関し重要な役割を演ずるであろうとは古来多くの人の考えた所である¹³⁾¹⁹⁾²⁰⁾。網膜の脂質の生理的の消長に就ても又病的状態に於ける消長に就ても多くの業績を見るのであるが諸家の意見は可なり区々である。多くは明時に減少し、暗時に増加する傾向を報告している⁴⁾⁵⁾²²⁾。又明瞭な差異を認めない人もある³⁰⁾。

更に色素上皮内の脂質と視細胞内の夫とは病的状態に於て必ずしも同一の傾向を示さず、反対の態度を示す事も報告されている⁴⁾。

私の実験に於ては色素上皮内の脂質は変性の進行と共に漸次減少し、唯 Lipochrin 中の脂質のみは必ずしも減少せず或る時間には却つて増加の傾向を示す。更に視細胞外節内の脂質は著しい変動を示さず外節が崩壊しても尚その破片中には明かに著明な脂質が証明されるのであつて此の点上野氏³⁰⁾のモノヨード醋酸注射時に於ける所見と同様である。更に内節 Ellipsoid の部の脂質も著しい変動を示さない。此の部の Sudan 好性は如何なる機転によるか不明であるが或はそこにあるミトと関係があるかも知れないと考えられる。

NaIO_3 の中毒機転に関しては以前より諸説があるが之れが分解しヨードを遊離するとの考えがある。而して網膜には脂質が多いので遊離したヨードの少くも一部は脂質のあるものと結合し代謝障害を起す事も考えられる。又 NaIO_3 は酸化剤である為めに細胞内の多くの酵素はその活性基を酸化されて不活性化される事も考えられる。

一般に動物体内に於ける脂質は Ciaccio によれば 1. 貯蔵物質 2. 特別の内分泌腺(副腎皮質、黄体等)の作用と密接に結び付いている脂質 3. 細胞の基本構成要素となつて居る脂質に分けられるが通常の組織化学的方法で証明されるのは 1. 及び 2. であつて、第3のものは検出不可能であるとする。今網膜に於ける脂質をこの何れに属するかと考えて見るに色素上皮内のものも視細胞外節のものも普通の方法で容易に検出し得る点より 1 或は 2 の範囲に入ると考えられるが貯蔵物質として考えるのは色素上皮内のものは別としても視細胞の機能上不適當と考え

られる。即ち色素上皮内の脂質は Lipochrin 或は Myeloid 顆粒としてよく知られ之等は形態的に見ても明かに一種の貯蔵物質と考え得るが視細胞外節内に存する脂質はその全体に充満し、電顕的に見ても Sjöstrand¹⁸⁾ の考えが正しければ脂質はその重要な構成成分となつている。私の実験に於て色素上皮の脂質は NaIO_3 により減少傾向を僅か乍ら認めたのに反し視細胞内の脂質に認むべき影響がなかつたのは此の様な脂質の生物学的差異によるものとして解釈され得るのではなからうか。最近小島氏⁷⁾ 等は網膜の Lipase に対する NaIO_3 の作用を検し、その活性が注射後 3 日に上昇し以後一定し更に 8 日に至り上昇した事を示されたのは興味があるが之れは網膜の如何なる層と関連したものか不明であつて組織化学的に証明し得る脂質の変化と直ちに結び付けて考えるのは困難である。

次にミトの変化に就て考えると、色素上皮には多数のミトが存するが之は NaIO_3 注射の初期僅かに減少の傾向を示すが変性が進み核の消失、胞体の一部の崩壊後も尚残つた細胞質内に可なり多数に認められる点に於て NaIO_3 の毒性はミトに対しては此の際左程強くは作用していないとの感を抱かしめるのである。又視細胞内でミトの存在する部位は Ellipsoid が主であり Perikaryon には殆んど存せず僅かに足部に 1 個位のミトを見るというのが最近の電子顕微鏡による所見であるが、Heidenhein 鉄ヘマトキシリン染色或は Altmann-Schridde 法では所謂足部も著明に着染するのである。併し之は外節の着染と同様に非特異性のものと考えるべきである。而して Ellipsoid の部に存するミトは視細胞が可なり変化した後尚充分に認め得るので此の部も大して影響を受けていない事が推測される。以上を総括して考えると NaIO_3 は先ず、色素上皮細胞就中その核に作用し脂質にも軽度の変化を起す事が知られるがミトの所見には記すべき変化を示さない。核の代謝殊に核と細胞質との間に於ける物質交換については未だ十分の解明が行われていないので NaIO_3 の作用機転も尚不明と言う他はない。

V. 結 論

1. 著者は家兎に NaIO_3 静注を行いその際網膜に起る変性時の脂質及びミトの変化を検索した。
2. 色素上皮内の脂質は Lipochrin を除けば僅かに減少の傾向を示す。
3. 視細胞外節及び Ellipsoid の部の脂質は著し

い変化を示さない。

4. 色素上皮内のミトは早期に少しく減少の傾向を示すが一部のものは可なりよく残存する。

第 1 乃至第 3 編の総括

NaIO_3 が惹起する実験的網膜変性はその病理学的所見が人の網膜色素変性に極めてよく似ている為に、多くの人があらゆる方面よりその成立機転の追及を行つているが未だ不明の点が多い。

著者は第 1 報に於て早期に於ける病理組織学的変化及び DNA 系物質を主成分とし又脂質をも含む浜崎氏汞ケトエノール物質の消長を検して、汞ケトエノール物質は網膜の変性と共に減少するが尚可なり長く残存する事より同様の変性を示すモノヨード醋酸が早期にケトエノール物質を減少消失せしめるに対し、本毒物は寧ろケトエノール物質に対しては間接的に作用する事を推定した。

第 2 報に於ては同様にして NaIO_3 クロームケトエノール物質及び DNA に対する影響を検し、此の際もクロームケトエノール物質に対しては、モノヨード醋酸と反対に作用は間接的である事を見た。又ケトエノール物質中では汞ケトエノール物質よりもクロームケトエノール物質の方が早期に減少する点はモノヨード醋酸中毒の場合と似ている事を認めた。此の事は奥田氏が蛙の暗順応実験に於て示したクロームケトエノール物質が汞ケトエノール物質に比し著しく光に対する反応の強い事実と思ひ合わせて興味のある点である。

第 3 報に於ては前述の如く網膜の脂質は NaIO_3 に対しては著しい反応を示さないものであるが之も上野氏のモノヨード醋酸中毒実験と類似の結果であつて網膜殊に視細胞の脂質は斯る毒物に対しては寧ろ間接的の反応を示すにすぎない事が分る。 NaIO_3 或はモノヨード醋酸の如く特殊な細胞に対し特異的に作用する毒物はその細胞内侵襲部位としてミトが先ず考えられるのであるが NaIO_3 の場合はミトの変化も特異的でなく寧ろ最も早く色素上皮細胞核の消失を来したのであるが本毒物が核の物質代謝如何に作用するかに就ては今後の研究が期待されるのである。

文 献

- 1) Elwyn, H.: Diseases of the Retina, 1946.
- 2) Friedenwald: Ophthalmic pathology, 383, 1952.
- 3) 藤田・中眼, 13, 147, 大10.
- 4) 平田・眼臨, 41, 153, 昭22.
- 5) 石川・日眼, 56, 54, 昭27.
- 6) Karli, P.: C. R. Soc. Biol. paris, 146/21~22, 1770, 1953.
- 7) 小島外・日眼, 63, 575, 昭34.
- 8) 川村: 日新医学, 第7年, 1号, 大6.
- 9) Ladato, G.: G. ital. oftalmol., 4/3, 226, 1951.
- 10) 馬島 日眼, 26, 521, 大11.
- 11) Noell, W. K.: J. Cell. & Comp. Physiol., 37, 283, 1951.
- 12) 中島: 網膜の化学, 創元社.
- 13) 小口・日眼, 18, 1175, 大3.
- 14) 大森: 日眼, 40, 179, 昭11.
- 15) 奥田・日眼, 59, 1467, 昭30.
- 16) Sidman, R. L. & Wislowski, G. B.: J. histochem. Cytochem., 2, 413, 1954.
- 17) Sorsby, A.: Brit. J. Ophthal., 25, 58, 1941.
- 18) Sjöstrand, F. S.: J. Cell. and Comp. physiol., 42, 45, 1953.
- 19) 杉田 日眼, 26, 231, 大11.
- 20) 杉田 日眼, 27, 1, 大12.
- 21) Thannhauser, S. J. and Reichel, M.: J. of Biolog. Chem., 113, 311, 1936.
- 22) 高松: 日眼, 39, 598, 昭10.
- 23) 田辺 日眼, 41, 2075, 昭12.
- 24) 田丸 日眼, 43II, 1928, 昭14.
- 25) 谷口 日眼, 58, 1330, 昭29.
- 26) 谷口 日眼, 59, 659, 昭30.
- 27) 馬詰・日眼, 32, 389, 昭3.
- 28) 上野: 日眼, 59, 1098, 昭30.
- 29) 上野: 日眼, 60, 359, 昭31.
- 30) 上野: 眼紀, 8, 123, 昭32.
- 31) 山田・日眼, 40, 435, 昭11.

附 図 説 明

第1図 1回注射後12時間 ciaccio 固定 (Sudan black B 染色)

色素上皮は大部分保たれているが核は全く着染しない。その他は大体に於いて正常像と略々同様の所見を呈する。

第2図 1回注射後24時間 ciaccio 固定 (Sudan black B 染色)

色素上皮細胞核は H. に対し全く着染しないが胞体は尚可なりその形態を保っている。諸層に於ける脂質の局在性は注射後12時間のものと大差を認めない。

第3図 注射開始後48時間 (第2回注射後24時間) ciaccio 固定 (Sudan black B 染色)

色素上皮細胞核はすべて消失する。外節は変性し多数の大空泡状をなす。諸層に於ける脂質の着染性、並に局在性は注射後24時間のものと大差を認めない。

第4図 注射開始後3日 (第3回注射後24時間) ciaccio 固定 (Sudan black B 染色)

色素上皮は殆んど全く破壊消失し残存部は外節間に散在する。外節、内節共に変性像を示す。視細胞核にも変性所見を認める。破壊が相当著明であるが残存せる組織に於ける脂質の局在性には著変を認めない。

第5図 1回注射後12時間 ciaccio 固定 (Sudan III 染色)

Sudan black B 染色に比し着染性が弱く、色調は橙色調を示す。

第6図 1回注射後24時間 ciaccio 固定 (Sudan III 染色)

第7図 注射開始後48時間 ciaccio 固定 (Sudan III 染色)

第8図 注射開始後3日 ciaccio 固定 (Sudan III 染色)

Histochemical Studies on Retinal Degeneration Treated with Sodium Iodate.

(Report III.) On the Changes of Lipids and Mitochondria

By

Yasuta Koyama

Dept. of Ophthalmology. Okayama University Medical School.

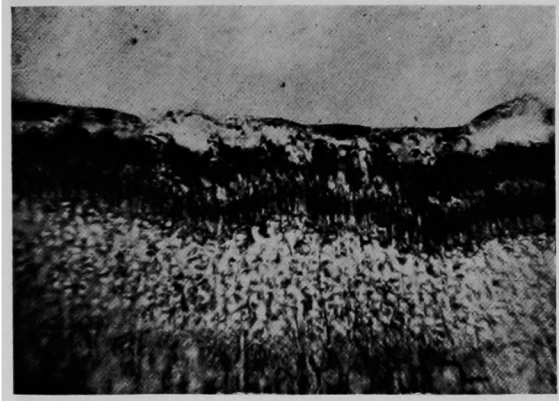
The author studied on the changes of the lipid and mitochondria in experimental degeneration of the retina of the rabbit caused by intravenous injection of 5% solution of sodium iodate.

Lipids in the pigment epithelium slightly decrease with the exception of those in the lipochrin.

No remarkable change was observed in the lipids of the outer segments and ellipsoid of visual cells.

Most of the mitochondria in pigment epithelial cells disappeared as the cells degenerate, but some of them remained unchanged even in rather advanced stages of degeneration.

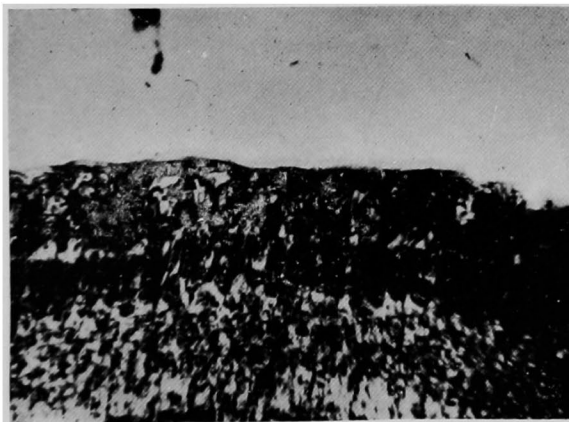
小 山 論 文 附 図



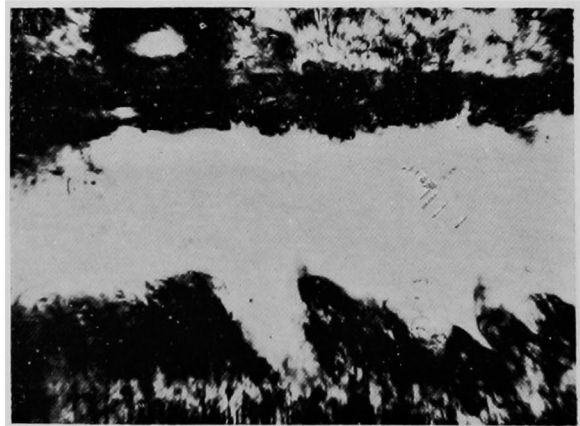
第 1 図



第 2 図

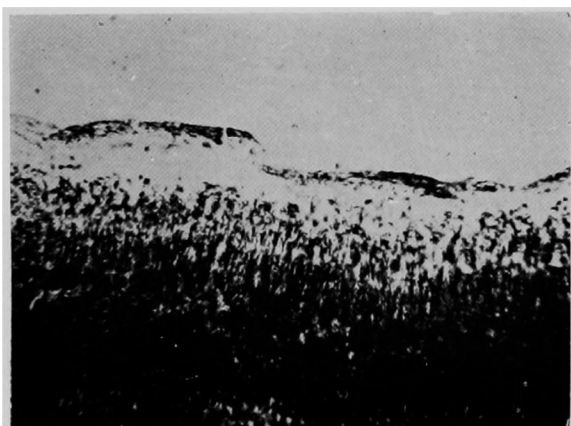


第 3 図

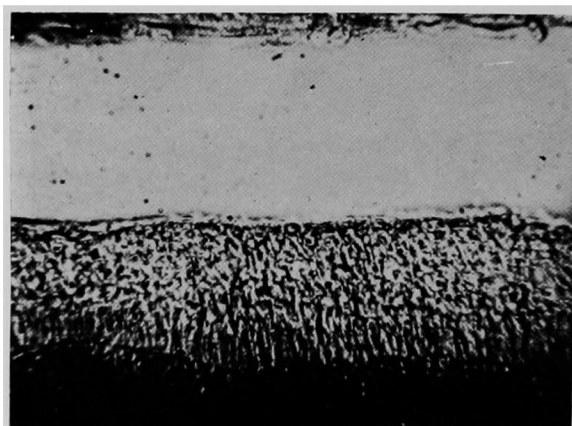


第 4 図

小山 論文 附 図



第 5 図



第 6 図



第 7 図



第 8 図