

	おやま とくひで
氏 名	尾 山 徳 秀
学 位	博 士 (医学)
学 位 記 番 号	新大院博(医)第187号
学位授与の日付	平成19年 3月22日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
博 士 論 文 名	The connective tissue and glial framework in the optic nerve head of the human eye:Light and scanning electron microscopic studies (ヒト眼における視神経乳頭の結合組織とグリア性骨格について: 光学顕微鏡および走査型電子顕微鏡による研究)
論文審査委員	主査 教授 車 田 正 男 副査 教授 阿 部 春 樹 副査 教授 牛 木 辰 男

博士論文の要旨

背景と目的

視神経の眼内部分、すなわち視神経乳頭は蜂の巣状の結合組織線維が層状に重なり合う篩状板と呼ばれる構造と、神経膠細胞、網膜内の神経節細胞から伸びる神経線維が集まる特異な部位である。臨床的にさまざまな視神経疾患(前部虚血性視神経症、視神経炎、緑内障など)が知られているが、中でも緑内障においては、眼内圧上昇および視神経乳頭周囲の虚血により視神経乳頭に陥凹が引き起こされることが知られている。したがって上述の特異な視神経乳頭部の構造解析を行なうことは、これらの視神経疾患の病態、治療、さらには予防の観点からも非常に重要である。これまでにヒトと種々の動物眼についての二次元的な光学的顕微鏡(光顕)、透過型電子顕微鏡観察、検討が行なわれている。しかし、ヒト眼での走査型電子顕微鏡(走査電顕)による三次元的解析は少なく、特に正常眼におけるこの部位の細胞構築に関しての報告はほとんどない。そこで本研究では、ヒト眼の視神経乳頭の細胞構築と結合組織骨格を、解剖学的に四つの部位(表面神経線維層 surface nerve fiber layer, 前篩状板部 prelaminar region, 篩状板部 laminar region, 後篩状板部 postlaminar region)に分けて、光顕および走査電顕を用いて三次元的構造を明らかにした。

材料と方法

新潟大学医学部の解剖実習検体より摘出した眼球を用いた。光顕標本は、摘出眼球を4%パラホルムアルデヒドで再固定し、視神経乳頭矢状断面のパラフィン切片を作製した。その後、ヘマトキシリン・エオジン(HE)染色、アルデヒドフクシン・マッソンゴールドナー(AF-MG)染色、鍍銀染色、抗 glial fibrillary acidic protein (GFAP)抗体による免疫染色を施し、光顕観察を行なった。走査電顕標本は、摘出眼球を2%グルタルアルデヒドで再固定し、結合組織の観察のために視神経乳頭部を10%NaOH(室温、7日間)で処理し、細胞成分を除去した。また別標本を、細胞構築の観察のために、30%KOH(65℃、8分)で処理し、コラーゲン成分や細胞間基質を含む細胞外マトリックスを除去した。その後、導電染色、脱水、臨

界点乾燥を行い、実体顕微鏡下で微細解剖を行なった後に、金属コーティングを施し走査電顕観察を行なった。

結果

光顕観察においては、HE 染色では不明瞭であった結合組織線維成分が AF-MG 染色、鍍銀染色で明らかになった。結合組織線維成分は、表面神経線維層では血管周囲を除いては存在しなかった。前篩状板部では篩状板から続く繊細な弾性線維とコラーゲン線維が存在し、神経線維を小束に分ける鞘のように多く存在していた。篩状板部では、弾性線維と細いコラーゲン線維が横走り、視神経線維を小束に束ねるように配列していた。また、後篩状板部では、篩状板から続く結合組織が、多くの孔の開いた不完全な隔壁を形成し、視神経線維束を取り巻いていた。次に、抗 GFAP 抗体による免疫組織化学により、グリア成分の分布を調べた。表面神経線維層では、硝子体と血管壁に向かってグリア境界膜を作る GFAP 陽性細胞を認めたが、前篩状板部では、GFAP 陽性細胞が柱状に視神経線維周囲に積み重なっていた(グリア柱)。篩状板部では、結合組織の線維配列に沿って GFAP 陽性細胞が認められた。後篩状板部では、神経線維束の中央に GFAP 陽性細胞の細胞体が存在し、その細胞の多数の突起が、神経線維束表面と血管周囲を取り巻くグリア境界膜を形成していた。

一方走査電顕観察では、NaOH 処理を施した標本で前篩状板部から後篩状板部に続くコラーゲン細線維網が三次元的に観察できた。前篩状板部では、コラーゲン細線維網が直径約 50-70 μm の鞘をつくり視神経線維を取り巻き、篩状板部では横走るコラーゲン細線維つくる層板に、直径約 100 μm の神経線維の通過孔が認められた。後篩状板部では、厚く直径もさらに大きな視神経線維鞘となるが、その鞘には周囲の神経線維束の連絡孔も多数みられた。KOH 処理を施した標本では、前篩状板部のグリア柱が三次元的に観察でき、周囲の視神経線維の連絡も明らかとなった。篩状板部では、明らかなグリア柱は見られなかったが、繊細な視神経線維の横の連絡と、神経線維を神経膠細胞が被覆している様子が立体的に観察できた。また、後篩状板部では、表面をグリア境界膜で包まれた視神経線維束が、三次元的に観察できた。

考察

本研究では二次元の光顕観察による結果をふまえた上で、走査型電子顕微鏡を用いた NaOH 消化法によりコラーゲン細線維の三次元構築を解析し、さらに KOH 消化法によりおもにグリア成分の細胞構築を解析した。これにより複雑な構造をしたヒト目の視神経乳頭の立体構造を詳しく解析することに成功した。その結果、視神経乳頭のコラーゲン線維成分は、全体が連続した網目を作っており、神経線維束をそれぞれの部位で異なる太さに束ねる鞘を作り、全体で神経線維を機械的な外力から保護するのに適した構造をしていることが明らかになった。とくに、前篩状板部と篩状板部においては、コラーゲン性の骨格の中に弾性線維が混じり、弾力があることが示された。これは、眼内圧の短い変化に対して可塑性をもつことができる一方で、慢性的な眼圧上昇においては影響を受けやすい構造と考えられた。また、視神経乳頭のコラーゲン成分の立体配置と結合組織の立体配置が呼応することから、視神経乳頭のコラーゲン成分が、篩状板を始めとしたこの部分の特異な結合組織構築に密接に関与することが示唆された。

(論文審査の要旨)

視神経の眼内部分(視神経乳頭)は、篩状板と呼ばれる蜂の巣状の結合組織の中に、神経膠細胞、網膜内の神経節細胞から伸びる神経線維が集まった特異な部位である。緑内障においては、眼内圧上昇や虚血によりこの視神経乳頭に陥凹が生じることが知られている。そこで本研究では、ヒト眼の視神経乳頭について、各種染色法を用いた顕微鏡観察とともに、走査電子顕微鏡のNaOH消化法によるコラーゲン細線維の三次元構造解析と、KOH消化法によるグリア成分の三次元細胞構築について解析した。視神経乳頭のコラーゲン線維成分は、全体で連続した網目を作るが、それぞれの部位では神経線維束を異なる太さに束ねる鞘を作り、神経線維を機械的な外力から保護するのに適した構造であることが明らかになった。特に、前篩状板部と篩状板部においては、コラーゲン成分の中に弾性線維が混じりあい、短期の眼内圧変化に対して可塑性をもつ一方で、長期の眼内圧変化においては影響を受けやすい構造を作っていた。また、視神経乳頭のグリア成分の立体配置と結合組織の立体配置が呼応することから、視神経乳頭のグリア成分が、篩状板を始めとしたこの部分の特異な結合組織構築に密接に関与することが示唆された。

本研究は、このように視神経乳頭部の立体微細形態を走査電顕で詳しく解析することに成功した点に意義がある。その成果は緑内障などの視神経疾患の病態解明における重要な形態学的な所見を提供するもので、学位論文としての価値を認める。