

鶏網膜櫛周囲細胞の食作用に関する研究

中川壯一*・北川 浩*・上原正人*

平成2年5月31日受付

Phagocytosis of Peripectinate Cells in the Chicken Retina

Souichi NAKAGAWA*, Hiroshi KITAGAWA* and Masato UEHARA*

Peripectinate cells attached sparsely to the surface of the pecten oculi. The present study examined the morphological characteristics of peripectinate cells following a single injection into the vitreous body of inactivated *E. coli*, or a soaking the enucleated pecten in inactivated *E. coli* containing cell incubation medium. Fifteen or thirty minutes after insemination, the pectens were fixed with buffered aldehydes and routinely prepared for scanning and transmission electron microscopy. Peripectinate cells of normal chickens possessed flat cell bodies with usually irregular surfaces and were poor in cytoplasm. Following the bacteria insemination, peripectinate cells ingested rapidly the bacteria and emigrating erythrocytes. The activated peripectinate cells showed conspicuous morphological changes, including complicated cell body, expanding pseudopodia and increase in lysosome and vacuoles. Our results clearly indicate that peripectinate cells are macrophages in the chicken eye ball.

緒 言

鳥類の網膜は、多くの哺乳類のそれに劣らぬ厚さを有しているにもかかわらず血管を欠くこと、視神経円盤部から硝子体眼房中に突出した網膜櫛 (Pecten oculi, 以下ペクテンと記す) を持つことが大きな特徴である。鳥類のみに存在するペクテンは血管を主体とした組織で、血管間には色素細胞が分布し、ペクテン表層は完全に色素細胞によって覆われ、さらにその表面は網膜の内境界層と連続する基底膜によって覆われている (HODGES⁹⁾ の総

説を参照)。ペクテン表面にはペクテン周囲細胞と呼ばれる扁平な細胞が散在性に付着しているが、この細胞に関する研究はいたって少なく、光学および透過型電子顕微鏡的観察があるにすぎない^{5, 8, 21, 22, 24)}。しかし、SAMAN and STROM²¹⁾を除くこれらの報告は硝子体細胞、あるいは網膜櫛の研究が目的で、ペクテン周囲細胞については簡単に触れているのみである。走査型電子顕微鏡的観察は中川ら¹⁹⁾のみである。機能的意義に関しても、本細胞は哺乳類や鶏の硝子体皮質に存在する硝子体細胞と同じものであって、食作用、微飲作用および分泌能によ

* 鳥取大学農学部獣医学科家畜解剖学講座

* Department of Veterinary Anatomy, Faculty of Agriculture, Tottori University

て硝子体とペクテンの保持およびこれらの構造間の物質交換をしていると示唆されてきた^{2), 8), 21)}。

ペクテン周囲細胞の研究は数えるほどしかなく、さらに走査型電子顕微鏡的研究は全く不十分であり、より多くの研究の蓄積が求められている。この論文の目的は、ホルマリン不活化大腸菌を成鶏の硝子体中に投与するか、ないしは摘出したペクテンを大腸菌浮遊液に浸したのち、光学顕微鏡、走査型および透過型電子顕微鏡を用いてペクテン周囲細胞の異物に対する食作用や反応性を形態学的に検索することにある。

材料と方法

白色レグホーン種の成鶏を大腸菌投与群に8羽、対照群に3羽の計11羽用いた。大腸菌は10%ホルマリンで死菌としたものを用いた。

投与群のうち5羽(A群)には、クロロホルム麻醉下で 2.8×10^{10} /mlの濃度の大腸菌浮遊生理食塩水0.1mlを右側眼球の硝子体中に注入した。注入は角膜と水晶体部から注射針で刺入して行い、出血しないようにした。注入から15分後、クロロホルム麻醉下で左心室から灌流固定し、ついでペクテンを採取し、その半分を透過型電子顕微鏡用標本に、残り半分を走査型電子顕微鏡用標本にした。

投与群のうち3羽(B群)は、クロロホルム麻醉下で断頭殺後、右側眼球の鋸状縁より角膜側を除去し、ついで硝子体を除去した。さらに、 1.4×10^{10} /mlの濃度の大腸菌浮遊細胞培養液(MEDIUM 199)0.6mlを注ぎ、ペクテンを37°C、30分間同液に浸した。ついで、ペクテンを採取し、浸漬固定後A群に準じて標本を作成した。

両投与群とも左側ペクテンは無処置例として同様に標本を作成した。

対照群の3羽は、A群に準じて、右側眼球の硝子体中に生理食塩水を0.1ml注入し、同様に標本を作成した。

実験に用いた固定液はpH7.4、0.1Mの磷酸緩衝液に溶解した3%グルタルアルデヒドと4%パラホルムアルデヒド混液である。透過型電子顕微鏡標本の作成には通常の方法に従い、包埋はエポキシ樹脂のEpok 812(応研商事)を用いた。走査型電子顕微鏡標本の作成も通常の方法に従い、蒸着には白金を用いた。

結 果

光学顕微鏡所見

投与群のペクテン周囲細胞は膨化し、そのため一定領域に見られる細胞数は増加した。膨化した細胞には顕著

に伸長した突起と大小の空胞形成が観察された(図1)。B群で、菌および出血した赤血球がペクテン周囲細胞表面に付着、ないしは取り込まれた像が頻りに観察された。しかし、A群では同様の所見は得られなかった。

投与例の対側無処置例、および対照例のペクテン周囲細胞に上記変化は全く見られなかった。

走査型電子顕微鏡所見

投与例のペクテン周囲細胞の分布は、正常例と同様に比較的均等な散在性であり、数的増加も見られなかった。ペクテン周囲細胞は膨化し、胞体からは良く発達した波状の偽足が伸びだしていた(図2)。我々は正常時のペクテン周囲細胞を走査電子顕微鏡的に観察し、その形態学的特徴から5型に分類した²¹⁾。今回の投与例では大半がⅢ型に属したが、しかし正常例より著しく多形性に富んでいた。正常例に見られた糸状偽足は消失していた。

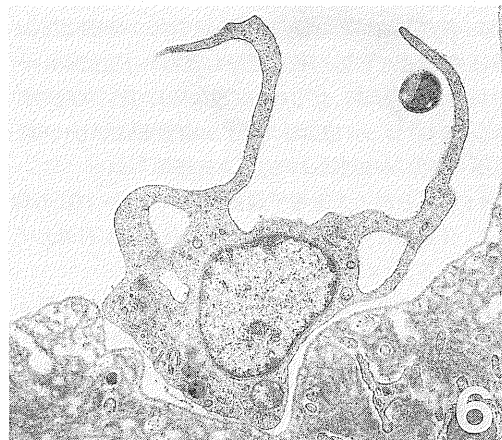
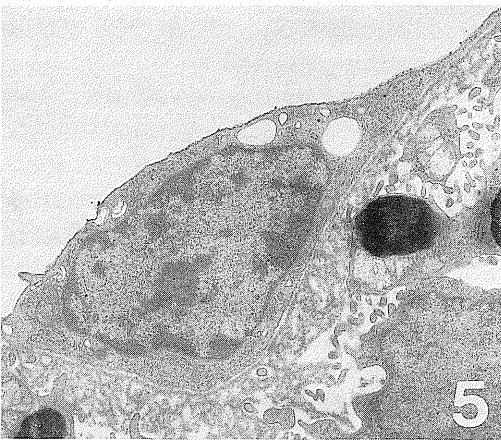
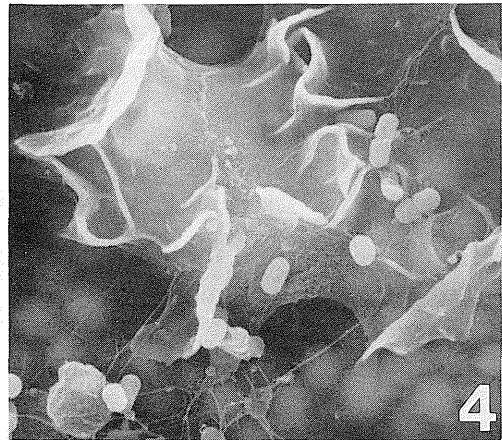
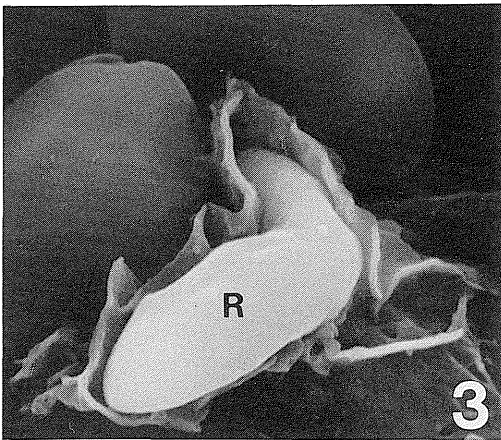
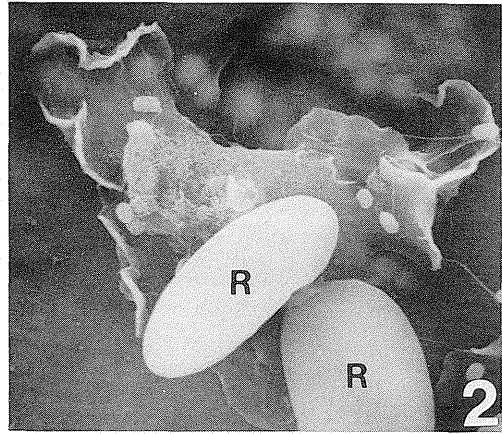
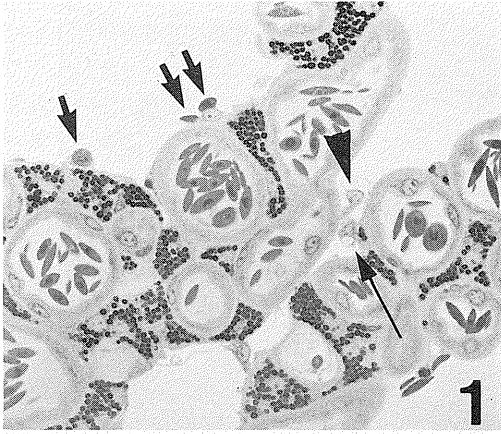
B群のペクテン周囲細胞には大腸菌や赤血球が細胞表面に付着し(図3)、時には赤血球を波状の偽足により取り囲む像も見られた(図4)。菌は単に細胞表面に付着するもの他に、細胞表面の浅い窪みの中に付着するものも見られた。A群のペクテン周囲細胞はB群と同様の細胞変化を示しながら、菌の付着は著しく少なかった。

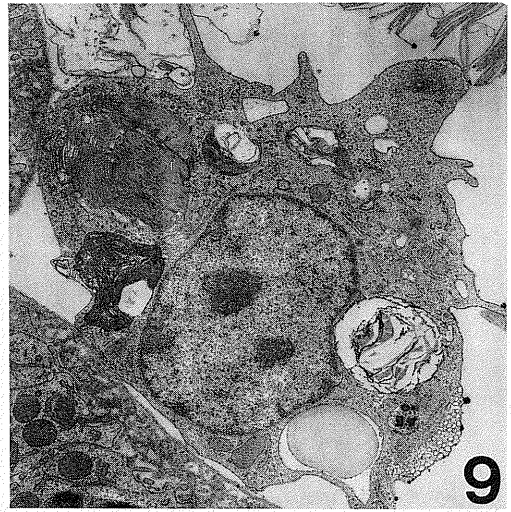
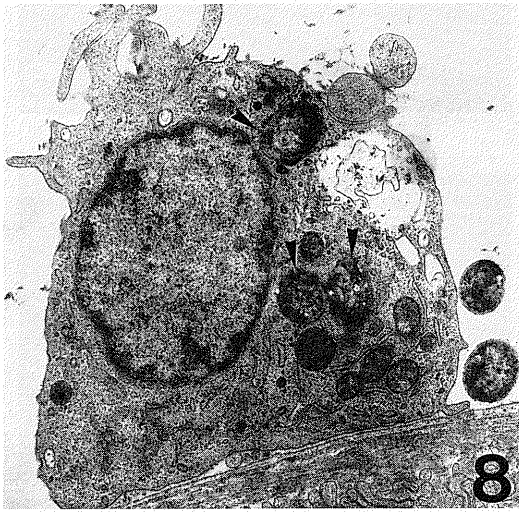
投与例の対側無処置例および対照例のペクテン周囲細胞は正常例と同様であった。

透過型電子顕微鏡所見

投与例の対側無処置例および対照例の間に相違は見られなかった。これらのペクテン周囲細胞は扁平で、遊離縁に短い突起を有し、ペクテン表面に一定の間隔を保って接していた。核は円形から楕円形であった。細胞質は乏しく、遊離縁側には大小の空胞が存在し、時に内部に雲状物質が見られた(図5)。

投与例において、細胞は膨化し、遊離縁に長い突起を有し、ペクテン表面との間隔がやや不規則になっていた(図6-8)。核は対照例と同様に円形から楕円形を示したが、扁平なものや陥凹を持つもの、時に大きな食小体や水解小体の存在により変形したものも見られた。細胞質は増加し、空胞は数と大きさ共に増加していた(図6-8)。空胞には著しい増加を示すものや内部に雲状物をしばしば含むものも現われた。B群において、細胞内に出血による赤血球(図7)、菌(図8)の他に、網膜辺円部の切開により剥落したと思われる視細胞外節(図9)が取り込まれていた。水解小体も増加していた(図8)。





付 図 説 明

第1図：投与B群の光学顕微鏡像。ペクテン周囲細胞は肥厚しているが特に肥厚したもの(短矢印)、赤血球を附着したもの(二重矢印)、長い突起を伸ばしたもの(矢頭)、大きな空胞を含むもの(長矢印)が観察される。(×1,000)

第2図：投与B群の走査電子顕微鏡像。アメーバ状の胞体表面に赤血球(R)と菌(矢頭)が附着している。(×4,000)

第3図：投与B群の走査型電子顕微鏡像。波状の偽足が赤血球(R)を取り囲んでいる。(×5,100)

第4図：投与群の走査電子顕微鏡像。波状の長い偽足と胞体表面に附着した菌(矢頭)を示す。(×3,800)

第5図：生理食塩水投与例のペクテン周囲細胞の透過型電子顕微鏡像。ペクテンとペクテン周囲細胞の間隙は均一で狭い。細胞質は狭く、細胞小器官に乏しい。(×8,900)

第6-9図：投与B群の透過型電子顕微鏡像。ペクテンとペクテン周囲細胞の間隙は不均一になっている。

第6図：突起の伸長と空胞の大型化を示す。(×8,600)

第7図：赤血球を取り込んでいるペクテン周囲細胞。(×9,500)

第8図：楕円形の核、肥厚した胞体と取り込まれた菌(矢頭)を示す。(×9,800)

第9図：視細胞外節が取り込まれたペクテン周囲細胞。(×6,900)

考 察

ペクテン周細胞の走査型電子顕微鏡的研究は中川ら¹⁹⁾のみが知られている。彼らによると、本細胞はペクテン表面の浅い窪みに位置して、ペクテン表面にほぼ均等に分布しており、組織切片による観察から知られていた以上に豊富に存在すること、細胞の多くは著しく扁平でペクテンに密着していることが示された。

今回の実験では、死菌を投与しペクテン周細胞の食作用を観察するにあたり、血行性大食細胞の侵入する可能性を考慮して、硝子体眼房内投与後短時間で(15分)、ないしは摘出した眼球に直接死菌浮遊液を投与して観察した。したがって、今回観察した細胞に血行性大食細胞の参加は無く、ペクテン周細胞そのものを観察したと考えられる。

当研究により、ペクテン周細胞は旺盛な食作用を有することが証明された。実験A群ではペクテン周細胞の活性化は観察されたものの、胞体内への菌の取り込みは観察されなかった。硝子体中に注入した血液に対する炎症性反応の遅いことが知られており、その理由の一つとして硝子体の特殊な構造が挙げられている⁶⁾。当実験における死菌投与も、今回観察した短時間の内には同様の理由によって、投与された菌の移動および大食細胞の菌への移動が妨げられているのだろう。しかし、A群においてもペクテン周細胞の活性化が見られたことは、活性化させる何らかの因子が菌から拡散しているためであろう。

ペクテン周細胞と類似した環境下にある食細胞として、硝子体細胞、脳室の脈絡叢表面に散在性に分布する上脈絡叢細胞 epiplexus cell (Kolmer cell)、同じく脳室の上衣表面に散在性に分布する上上衣細胞 supraependymal cell、およびクモ膜下腔遊走細胞 subarachnoid free cell が挙げられる。

硝子体細胞は硝子体周辺部、特に網膜周辺部から網様体にかけて散在性に分布しており、このことは古くから知られている(この細胞の研究史はHAMBURG⁸⁾に詳述されている)。提案されている硝子体細胞の機能のうち食作用のみが確認されている^{2, 3, 7, 8, 26)}。鳥類の硝子体細胞の研究者は、ペクテン周細胞と硝子体細胞をその構造上の類似点から同一視している^{2, 8, 21)}。硝子体細胞の透過型電子顕微鏡的研究^{20, 21, 25)}とペクテン周細胞の同様の研究^{5, 21, 22)}、および今回の結果からも、両細胞は形態的に静止期の大食細胞に類似している。両細胞は後述する上脈絡叢細胞と上上衣細胞に比較しうる関係にあるの

かも知れない。硝子体細胞とペクテン周細胞は共に食作用を有していることから同じ細胞であるかも知れない。しかし、両細胞の形態、組織化学的性質、刺激に対する反応性および起源を確認するまで両者の関係を断定することはできない。ところで、哺乳類の硝子体細胞は単一のものではなく、大食細胞や線維芽細胞等を含むという報告がある^{2, 12)}。今回および先の我々の観察¹⁹⁾によると、ペクテン周細胞は一種類のみであった。

脳室の脈絡叢表面には上脈絡叢細胞が、脳室の上衣細胞表面には上上衣細胞が散在性に分布している。両細胞の形態学的研究は比較的多く、特に近年は走査型電子顕微鏡的研究^{1, 10, 11, 14, 23)}も加わっている。また、上脈絡叢細胞は単球に由来し、血中の単球が上衣下の結合組織中に現われ、ついで上衣細胞内を通過して脈絡叢表面に達するとされている¹³⁾。脳室内に異物がある時には、単球は血液中から脳室内へ速やかに移行することも知られている¹⁷⁾。両細胞は表面構造において若干異なることの報告もあるが¹⁶⁾、活発な食作用を有しており、脳室系の異物除去を主任務とする本質的に同じ細胞とみなされ、両者を合わせて脳室大食細胞と総称する場合も多い^{1, 4, 10, 11, 14, 16, 17, 23)}。脳室大食細胞は多形性に富んでいるため一概に言えないが、形態的にペクテン周細胞と若干異なっていた。一般に、静止期の脳室大食細胞はペクテン周細胞より突起の発達がよく、細胞質が豊富である。ペクテン周細胞の起源および出現経路は不明であるが、大食細胞の形態が存在部位によって変化することは良く知られており、ペクテン周細胞が上脈絡叢細胞と同様に単球起源である可能性は高いと考えられる。

クモ膜下腔遊走細胞は別名クモ膜下腔大食細胞とも称され、旺盛な食作用を持つ。上脈絡叢細胞やペクテン周細胞とこの細胞は構造的に異なり^{15, 18)}、また起源も軟膜細胞であって単球ではない¹⁷⁾。クモ膜下腔には単球由来の大食細胞や他の白血球も混在しており、炎症時にはこれら白血球が著増する点でも脳室や硝子体眼房とは異なっている。

総 括

鳥類の網膜には、網膜櫛(Pecten oculi、本論文ではペクテンと呼称する)と呼ばれる特殊な脈管装置が視神経円盤部から硝子体中に突出している。網膜櫛の表面にはペクテン周細胞が散在性に分布している。本研究の目的は、ホルマリン不活化大腸菌を硝子体内に投与するか、摘出した網膜櫛を死菌浮遊液に浸す方法でペクテ

ン周囲細胞の反応を観察することにある。その結果、扁平なペクテン周囲細胞は肥厚し、波状の偽足も著しく発達し、菌および摘出時の出血した赤血球等を旺盛に貪食していた。細胞質には空胞や水解小体が増加した。この結果、ペクテン周囲細胞は眼球内の大食細胞であることが強く示唆された。類似した環境下に存在する食細胞、すなわち硝子体眼房の網様体および網膜周辺部に主に見られる硝子体細胞、脳室の脈絡叢表面にある上脈絡叢細胞、脳室内面にある上上衣細胞、クモ膜下腔のクモ膜下腔遊走細胞、との関係についても考察した。

謝 辞

本研究に用いた大腸菌は本学の家畜微生物学教室から提供されたものである。家畜微生物学教室の大槻助教授、實方講師に対して深謝いたします。

文 献

- 1) Allen, D. J., and Low, F. N. : Scannig electron microscopy of the subarachnoid space in the dog. III. Cranial levels. *J. Comp. Neurol.*, **161** 515-540 (1981)
- 2) Balazs, E. A., Toth, L. Z. J., Eckl, E. A., and Mitchell, A. P. : Studies on the structure of the vitreous body. XIII. Cytological and histochemical studies on the cortical tissue layer. *Exp. Eye Res.*, **3** 57-71 (1964)
- 3) Boltz-Nitulescu, G., Grabner, G., and Forster, O. : Macrophage-like properties of human hyalocytes. *Adv. Exp. Med.*, **121** 223-228 (1979)
- 4) Carpenter, S. J., McCarthy, L. E., and Borison, H. L. : Electron microscopic study on the epiplexus (Kolmer) cells of the cat choroid plexus. *Z. Zellforsch.*, **110** 471-486 (1970)
- 5) Fischlschweiger, W. and O'Rahilly, R. : The ultrastructure of the pecten oculi in the chick. *Acta Anat.*, **165** 561-578 (1966)
- 6) Forrester, J. V., and Grierson, I. : The cellular response to blood in the vitreous : An Ultrastructural study. *J. Pathol.*, **129** 43-52 (1979)
- 7) Grabner, G., Boltz, G., and Forster, O. : Macrophage-like properties of human hyalocytes. *Invest. Ophthalmol. Visual Sci.*, **19** 333-340 (1980)
- 8) Hamburg, A. : Some investigation on the cells of the vitreous body. *Ophthalmologica*, **138** 81-107 (1959)
- 9) Hodges, R. D. : *The Histology of the fowl*. Academic Press, London, New York and San Francisco (1971) pp. 554-558
- 10) Hosoya, Y., and Fujita, T. : Scanning electron microscope observation of intraventricular macrophages (Kolmer cells) in the rat retina. *Arch. Histol. Jpn.*, **35** 133-140 (1973)
- 11) 古賀信憲 : Kolmer cell (Epiplexus cell)の異物反応に関する研究. 日大医誌, **40** 655-674 (1981)
- 12) Kondo, T., H., Tazawa, Y., and Tanimura, I. : Fine structure of the bovine and human vitreous body. In *The structure of the eye*. Edited by Hollyfield, H. G., Elsevier, North Holland, (1982) pp. 369-377
- 13) Ling, E. A. : Ultrastructure and mode of formation of epiplexus cells in the choroid plexus in the lateral ventricles of the monkey (*Macaca fascicularis*). *J. Anat.*, **133** 555-569 (1981)
- 14) Ling, E. A., Tseng, C. Y., and Wong, W. C. : An electron microscopical study of epiplexus and suprapendymal cell of the prenatal rat brain following a maternal injection of 6-aminonicotinamide. *J. Anat.*, **140** 119-129 (1985)
- 15) Malloy, J. J., and Low, F. N. : Scanning electron microscopy of the subarachnoid space in the dog. IV. Subarachnoid macrophages. *J. Comp. Neurol.*, **167** 257-284 (1976)
- 16) Maxwell, W. L., and McGadey, J. : Response of intraventricular macrophages after penetrant cerebral lesion. *J. Anat.*, **160** 145-155 (1988)
- 17) Merchant, R. E., and Low, F. N. : Scanning electron-microscopy of the subarachnoid space in the dog : Evidence for a non-hematogenous origin of subarachnoid macrophages. *Am. J. Anat.*, **156** 183-206 (1979)
- 18) Morse, D. E., and Low, F. N. : The fine structure of subarachnoid macrophages in the rat. *Anat. Rec.*, **174** 469-476 (1972)
- 19) 中川壯一・上原正人 : 鶏眼球のペクテン周囲細胞の形態学的研究. 鳥大農研報, **42** 153-160 (1989)
- 20) Salu, P., Claeskens, W., De Wilde, A., Hijmans, W., and Wisse, E. : Light and electron microscopic studies of the rat hyalocyte after perfusion fixation. *Ophthalm. Res.*, **17** 125-130 (1985)
- 21) Seaman, A. R., and Storm, H. K. : Electron microscope observations on the hyalocytes of the vitreous body in the domestic fowl (*Gallus domesticus*). *Exp. Eye Res.*,

- 4 13-17 (1965)
- 22) Semba, T. : The Fine structure of the pecten studied with the electron microscope. *Kyushu J. Aed. Sci.*, **13** 217-232 (1962)
- 23) Shimada, T., Ko, K. -D., and Murakami, M. : Scanning and transmission electron microscopic observations of epiplexus cells (Kolmer cells) in monkey brain. *Kurume Med. J.*, **22** 17-22 (1975)
- 24) Szirmai, J. A., and Balazs, E. A. : Studies on the structure of the vitreous body. III. Cells in the cortical layer. *A. M. A. Arch. Ophthalmol.*, **59** 34-48 (1958)
- 25) 田川義継・佐賀徳博・松田英彦：モルモット硝子体細胞の形態および細胞組織化学的研究。日眼会誌，**90** 522-526 (1986)
- 26) Yamamoto, K., and Fujimoto, S. : Phagocytic activity of hyalocytes in postnatal hyaloid artery. *Jpn. J. Ophthalmol.*, **28** : 189-195 (1984)