

HRPのシロネズミ眼球内注入による動 眼神経副核群のHRP陽性反応について

山 内 高 円

OBSERVATIONS ON THE HRP-LABELED ACCESSORY OCULOMOTOR NUCLEAR COMPLEX AFTER INTRAOCULAR HRP INJECTIONS IN ALBINO RATS

Koh-en YAMAUCHI

The horseradish peroxidase (HRP) labeled accessory oculomotor nuclear complex was observed in albino rats by means of the HRP method. Both cell bodies and nerve fibers of the contralateral accessory oculomotor nuclear complex accumulated HRP after intraocular but not intraorbital HRP injections. Intraocular injections also resulted in retrograde transport of HRP to a part of the ipsilateral accessory oculomotor nuclear complex.

These results may suggest the possibility of the accessory oculomotor nuclear complex sending directly their axonal processes to the retina of the eye-ball.

シロネズミ眼球内へのhorseradish peroxidase (HRP) 注入により、対側の動眼神経副核群にHRP陽性反応が観察され、同側の同神経核群の一部にもHRP反応が認められた。さらに、この神経核から出る神経線維も反応を示した。これらの結果は、動眼神経副核群から直接眼球の網膜へ分布する遠心性神経線維が存在する可能性を示唆するものと思われる。

結 言

脊椎動物の眼球網膜から出ていく求心性神経線維である視神経線維については多くの報告があり、主視索路と副視索路から構成されている⁽¹⁾。主視索路の大部分の視神経線維は対側の外側膝状体、視索前野、上丘等に終止すると見なされていたが⁽²⁾、さらに、尾側の下丘にも分布していることが報告された^(3,4)。副視索路についての報告は少なく、最近この神経路の脳表面における分布⁽⁵⁾とその走行方向⁽⁶⁾が明らかにされた。

一方、眼球網膜に終止する遠心性神経線維については、まだ十分な研究はなされていない。この種の神経線維が存在することは、1889年にVON MONAKOW⁽⁷⁾によって初めてウサギやネコで報告されて以来、下等動物のヘビ⁽⁸⁾から高等動物のヒト⁽⁹⁾まで、各種の脊椎動物でその存在が確認された。しかしながら、中枢における起始神経細胞から網膜における終末神経線維までの全走行が報告されたものは鳥類^(10,11)だけであり、哺乳類についてはほとんど調べられていない。

それ故、シロネズミの眼球内にhorseradish peroxidase (HRP) を注入することにより、網膜に分布する遠心性神経線維の有無について検索した。

材料および方法

雌雄のWistar系およびSprague-Dawley系のシロネズミ20匹を用いて、眼球網膜に分布する遠心性神経線維の観察を行った。約3 μ lの20% HRP液(SigmaVI型)をエーテル麻醉下で、左側の眼球硝子体内にガラス製のマイクロチューブを用いて注入した。注入後、48時間目にエーテル麻醉下で生理食塩水を心臓から灌流し、引続いて0.1M磷酸緩衝液でpHを7.4に調節した1.25%glutaraldehydeと1% paraformaldehydeの混合液で灌流固定し、さらに10%ショ糖液を灌流した。灌流終了後、直ちに脳を取出し4℃で冷却した上述の10%のショ糖液に12時間放置してから、約40 μ mの水平断および矢状断の凍結連続切片をクリオスタットを用いて作製した。得られた切片を一時的に4℃の磷酸緩衝液に保存しておき、随時スライドガラスに載せて冷蔵庫内で乾燥させたのち、我々の改良したHRP法に従ってHRP反応を施した⁽¹²⁾。暗室でのHRP反応終了後、ドライヤーで乾燥させ、直接キシロールで透徹したのちカバーガラスを載せ永久標本とし、暗視野顕微鏡下で観察した。

結果および考察

ラットの視神経線維の約90~95%が視交叉で交叉して対側の脳の各神経核に終止することはよく知られている。今回の観察においても主視索路は外側膝状体、上丘にHRP反応が認められ、副視索路は主に内側終核に終止していた。

一方、残りの10~5%の非交叉性視神経線維のうち主視索路は、同側の上述の神経核にHRP反応が観察されたが、副視索路については反応が認められなかった。系統発生的に視神経線維の交叉率は各脊椎動物により異なっており、魚類では100%の立体交叉(全て対側へ)、鳥類では100%の平面交叉、人類では50%の平面交叉(視神経の外側半分が同側へ、内側半分が対側へ)をそれぞれ示している。この様な交叉率の違いは、解剖学的には顔面における眼球の位置と密接に関係があり、眼球が顔面の側面にある動物では100%の交叉率を示し、眼球の位置が次第に前面に移行するに従って50%へと交叉率が減少し、同側へ向う視神経線維の数が増加してくる。従って、生理学的には単視野から両視野へと変化し、物体をより立体的に見ることができるように進化したことが伺える。この様な意味において、交叉率が90~95%と系統発生的に中間段階にあるラットの視覚系についての研究は、鶏の視覚手段による採食行動の究明に大きな意義があるものと思われる。

眼球網膜の求心性神経線維である視神経線維についての研究に比べ、遠心性神経線維の報告は極めて少ない。その理由としては、このHRP法では神経内に取込まれたHRPは、順行性と逆行性の両方向への軸索流によって終末部と起始細胞に運ばれ、そこでHRP反応を示すため両者を区別することが困難なためである。次に、網膜の遠心性神経線維の起始細胞が中枢神経系内のどこに存在するか不明なため、広範囲に渡って捜し出さなければならないし、さらに、従来のHRP法では、HRP反応後時間と共に反応が消失するので十分な観察が不可能であったことも大きな原因と考えられる。しかしながら、我々⁽¹²⁾が改良したHRP法では永久標本として保存でき、詳細な観察が可能となった。その結果、対側の大部分の動眼神経副核群(図1-A)やその神経線維(図1-B, C)に、また同側のこれらの部位の一部にもHRP反応が認められた。哺乳類では、一般的に動眼神経副核からの神経線維は眼窩内で毛様体神経節に終わり、ここでシナプスをかえて短毛様体神経として眼球内に入り、毛様体筋や瞳孔括約筋に終止すると言われている。それ故、今回観察された動眼神経副核群のHRP反応について考える場合、眼球硝子体内に注入されたHRPがどのような経路を経て動眼神経副核群まで運ばれたのかが問題となる。HRP注入時に、毛様体筋か瞳孔括約筋が損傷を受け、その傷口からHRPが吸収されて毛様体神経節に運ばれ、そこでtrans-neuronalな輸送により動眼神経副核群まで逆行性に運ばれたとするのが最も正統な解釈であると思われる。しかしながら、注入時の損傷を防ぐため非常に細いガラス製のマイクロチューブを使用していること、またtrans-neronalな輸送は余り考えられないことなどの理由により、動眼神経副核群からの神経線維が直接網膜そのものに終止しているとも考えられる。それ故、動眼神経副核群にHRPを注入し、順行性の軸索流輸送によるHRPの網膜分布または同神経核群の破壊などの追試実験を行う必要があると思われる。

脊椎動物における網膜への遠心性神経線維の分布はヘビ⁽⁸⁾、ウサギとネコ⁽⁷⁾、およびヒト⁽⁹⁾で確認されているが、その起始細胞の所在についての報告は少ない。しかしながら、鳥類においてはこの様な神経線維についての研究はかなり進められており、中脳視葉の背内側表面に位置するisthmo-optic nucleusから出る神経線維がisthmo-optic tractを経て視交叉で視神経に合流し、眼球網膜のアマクリン細胞に終止することが判っている^(11,13)。鳥類におけるこの様な

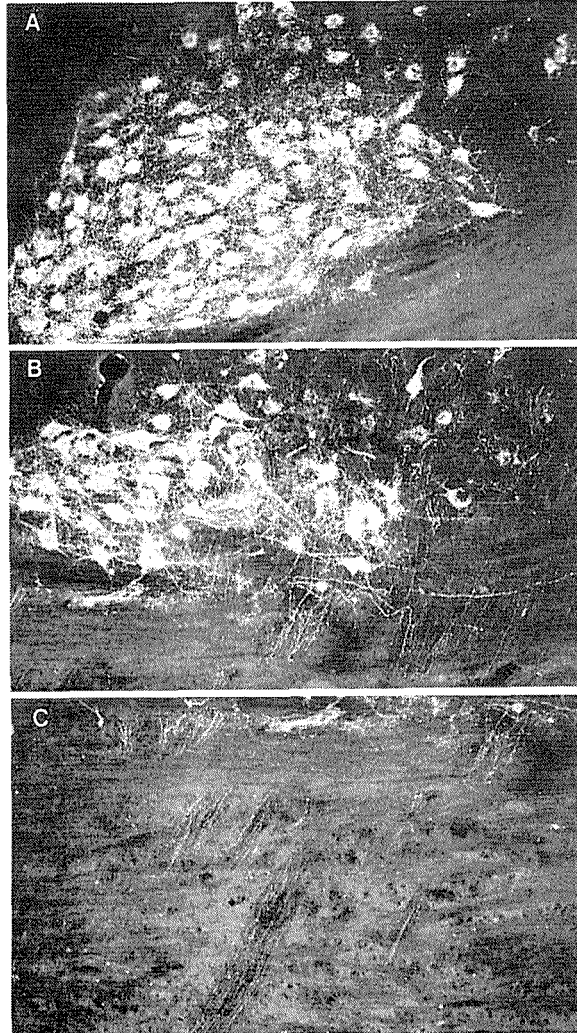


Fig.1, Dark field photomicrographs to show contralateral HRP positive reactions in sagittal sections after HRP injections into the left vitreous body of the rat eye-ball. x 198. A : Cell bodies of the accessory oculomotor nuclear complex showing HRP reaction. B : Cell bodies and their axonal fibers running ventralward. C : Axonal nerve fibers of the more ventral part of the section in B.

遠心性神経線維の生理的機能についてはほとんど知られていないが、MILES⁽¹³⁾は視神経線維を経て送られてきた視覚情報を逆に、網膜に返す local feed back の機構に関与しているのではなかろうかと述べている。

今後、ラットにおける眼球網膜への遠心性神経線維について解剖・生理学的に更に詳細に解明する必要があるものと思われる。

引用文献

- (1) MAI, J. K., The accessory optic system and the retino-hypothalamic system. A review, *J. Hirnforsch.*, **19**, 213-288 (1978)
- (2) YAMADORI, T., An experimental anatomical study on the optic nerve fibers in the rat by using a new selective silver impregnation technique: Termination of the main optic tract, *Okajimas Fol. Anat. Jpn.*, **54**, 229-246 (1977)
- (3) ITAYA, S. K. and HOESEN, G. W. VAN, Retinal innervation of the inferior colliculus in rat and monkey, *Brain Res.*, **233**, 45-52 (1982).
- (4) YAMAUCHI, K. and YAMADORI, T., Retinal projection to the inferior colliculus in the rat, *Act. Anat.*, **114**, 355-360 (1982).
- (5) YAMADORI, T. and YAMAUCHI, K., An experimental anatomical study on the optic nerve fibers in the rat: Courses of the accessory optic tract, *Brain Res.*, **269**, 41-46 (1983).
- (6) YAMAUCHI, K., YAMADORI, T., UMETANI, T. and HANABUSA, H., Course of the accessory optic fascicular fibers in the rat, *Neuroscience Letters*, **40**, 215-220 (1983).
- (7) VON MONAKOW, C., Experimentelle und pathologisch-anatomische Untersuchungen über die optischen Centren und Bahnen, *Arch Psychiat Nervenkr.*, **20**, 714-787 (1889)
- (8) HALPERN, M., WANG, R. T. and COLMAN, D. R., Centrifugal fibers to the eye in a nonavian vertebrate: Source revealed by horseradish peroxidase studies, *Science*, **194**, 1185-1188 (1976).
- (9) HONRUBIA, F. M. and ELLIOTT, J. H., Efferent innervation of the retina, I. Morphologic study of the human retina, *Arch Ophthal.*, **80**, 98-103 (1968).
- (10) COWAN, W. M. and POWELL, T. P. S., Centrifugal fibers in the avian visual system, *Proc. roy. Soc. B.* **158**, 232-252 (1963).
- (11) CROSSLAND, W. J. and HUGHES, C. P., Observations on the afferent and efferent connections of the avian isthmo-optic nucleus, *Brain Res.*, **145**, 239-256 (1978).
- (12) YAMAUCHI, K., HANABUSA, H. and YAMADORI, T., Modified technique of Mesulam's tetramethylbenzidine method to prevent fading of the color of the reaction product, *Okajimas Folia Ant. Jpn.*, **60**, 409-414 (1984).
- (13) MILES, F. A., Centrifugal effects in the avian retina, *Science*, **170**, 992-995 (1970).

(1987年5月29日受理)