

氏 名 (本籍) みぞ ぐち じ ろう
溝 口 二 郎

学 位 の 種 類 医 学 博 士

学 位 記 番 号 医 第 1 5 0 6 号

学 位 授 与 年 月 日 昭 和 5 8 年 9 月 1 4 日

学 位 授 与 の 要 件 学 位 規 則 第 5 条 第 2 項 該 当

最 終 学 歴 昭 和 4 5 年 3 月
弘前大学理学部卒業

学 位 論 文 題 目 ヒト網膜錐状体小足の神経細枝連絡に関する
連続切片電顕観察

(主 査)

論 文 審 査 委 員 教 授 山 本 敏 行 教 授 森 富

教 授 水 野 勝 義

論文内容要旨

目 的

ヒトを含む多くの脊椎動物網膜において、錐状体光受容細胞が、色覚に関する第一次ニューロンとして重要視され、その軸索突起終末の膨大部は錐状体小足とよばれる。錐状体小足は、第二次ニューロンである水平細胞と連合性ニューロンである水平細胞の樹状突起群に対し、特殊な陥入結合と基底結合を形成する。アカゲザルなどの網膜において、それらニューロン連絡がゴルジ法により、光学顕微鏡的に明らかにされている。しかし、それら第二次ニューロン樹状突起細枝が、錐状体小足の近傍において分枝し、後シナプス要素を構成する詳細な経緯は、光学顕微鏡の解像力限界を越えている。

このように網膜脳層のニューロン鎖の知識は、一方の極にゴルジ法に基づく細胞形態分類とその連絡関係をおき、他の極に電顕的シナプス構造をおく。両極の間には、たとえばここに報告する錐状体小足底面に関する神経細枝の詳細な分析が、方法的困難ゆえに取り残されている。またヒト網膜について、それらの点を研究した例はない。そこで私は、ヒト網膜の連続超薄切片を作製し、電子顕微鏡的に樹状突起細枝のすべてを復構し、分析を試みることにした。

材 料 と 方 法

眼科手術的に摘出の後、グルタルアルデヒド液に数週間保存されたヒト眼球を入手した。カコジレート緩衝-2% OsO₄ 溶液 (pH 7.3) により一昼夜固定を行い、エポキシ樹脂 (Quetol 812) に常法により包埋した。

全ての切片は厚さ 600~700 Å を基準として作製した。フォルムバル膜を張った単孔メッシュに連続切片各10枚をすくい乾燥した後、2%酢酸ウラン水溶液と飽和クエン酸鉛溶液により染色した。観察および撮影はJSEM-200型電子顕微鏡により加速電圧100KV、直接倍率5,000又は6,500倍で行った。引伸し後の電顕写真に透明な塩化ポリビニールシートを重ねて、目標とする神経細枝の断面をトレースし、その経過を追求した。立体復構の為には、水平連続切片において、すべての陥入結合が錐状体小足の最大輪郭を含む水平面に分布するものと仮定して、投影模式図を作製した。また縦断連続切片において、切片平面にたいしてほぼ垂直に位置していたリボン構造4個を基準として立体復構を行い、すべての陥入結合と基底面に接する細枝群を、錐状体小足の最大輪郭を含む水平面に投影模式化した。

結 果

水平連続切片系列：中心窩中心より約10mm 外方において水平連続切片 50 枚を作製し、1 個の錐状体小足に32個の陥入結合を数えた。それらのリボン構造の方位には一定の法則性が認められなかった。中央細枝 1 本，外側細枝 1 対 2 本よりなる典型的三重突起をもつ陥入結合が70%を占めた。

縦断連続切片系列：旁中心窩網膜では、縦断連続切片97枚を作製し、およそ $10 \times 12 \mu$ の空間領域について完全に立体復構を行った。この系列は17個の陥入結合を含むことから推定して1個の錐状体の約55%部分を含むものと思われた。その底面近くに関係するグリア要素以外の神経細枝の総数は212本であった。14本が中央細枝すなわち陥入小型双極細胞樹状突起，26本が垂中央細枝すなわち扁平小型双極細胞樹状突起であると判定された。これら26本の垂中央細枝はそれぞれ基底細枝と共通幹に発していることが確かめられた。垂中央細枝を送る扁平小型双極細胞が狭受容野型双極細胞であろうと思われた。

結 語

ヒト網膜錐状体小足 2 例について、電顕的連続切片法を行い、次の諸点を明らかにし得た。

- ① 錐状体小足はおよそ32個の陥入結合と多数の基底結合を形成する。
- ② 陥入結合の後シナプス要素は、原則として中央細枝 1，垂中央細枝 1～2，外側細枝 2 よりなるいわゆる三重突起より成る。しかし、隣り合う陥入結合が中央細枝または外側細枝を共有する例が少なくない。
- ③ 基底結合の全数は確認し得ないが、錐状体小足底面の55%を含む立体復構において、上記三重突起に加わる外側細枝15本，垂中央細枝16本が基底面とも接することが明らかとなり、その他142本の基底細枝が数えられた。

陥入結合に外側細枝を送る水平細胞体を確かめること，基底結合に上記以外に細枝を送る広受容野型双極細胞体を確かめること等の問題は、私の観察領域を大きく越え結論を得なかった。

審査結果の要旨

光受容細胞の一つである錐状体細胞が、双極細胞および水平細胞とどのような機能的連絡を持つかは、視覚情報処理の初期過程を知るうえに重要である。これに関する研究は、従来、ゴルジ法を用いた光顕的観察、並びにランダム切片の電顕的観察を主に行われてきた。しかし、光顕的観察は、錐状体小足のシナプスを微細な点に至るまで明らかにするに足る解像力を持たず、一方、ランダム切片の電顕的観察は、三次元的に広がるシナプスの立体像を把握し得ぬがゆえに、小足シナプスの詳細な解明はいまだ不十分なままに取り残されてきた。特にヒトについてのこの種の研究は報告が少なく、諸動物の所見からわずかに類推するにとどまっている状態である。

本論文は、手術的に摘出したヒトの網膜より膨大な数にのぼる連続超薄切片を作成し、その電顕像を三次元的に再構築した所見を詳しく報告している。それによれば、1個の錐状体小足にみられた32個の陥入結合において、シナプスリボンの方向性には規則性が認められず、中央細枝1本と外側細枝1対2本からなる典型的トライアッドをなすものが約70%を占めた。また、別の錐状小足では、小足の約55%を含む視野の中に総数212本の神経細枝が進入し、そのうち14本は陥入小型双極細胞由来の中央細枝、26本が扁平小型双極細胞由来の垂中央細枝と判定された。そして、垂中央細枝は、それぞれ基底細枝と共通幹に発することが確かめられ、扁平小型双極細胞が狭受容野型双極細胞と同一、ないしは類似のニューロンと推定されるという。

このような研究は、きわめて高度の観察技術と長時間に及ぶ丹念な作業によって初めて可能であり、かつ、本研究は、網膜内におけるニューロン間の連絡網を解明する上に、示唆に富む重要な知見をもたらしている。

よって、本研究は学位授与に値するものと認められる。