

フナ網膜の電子顕微鏡的研究

I. 色素上皮, 杆体・錐体層, 外顆粒層および外網状層の微細構造

金沢大学医学部解剖学第一講座(主任 本陣良平教授)

田 中 左 知 子

(昭和44年12月1日受付)

網膜の微細構造に関しては, 19世紀中頃から, Schultze¹⁾ らによって光学顕微鏡(以下「光顕」と略記)検索がなされ, その後 Cajal²⁾ の Golgi 鍍銀法によるノイロンおよびグリア構築学を経て, Polyak³⁾ がこれらを集大成した。しかし光顕分解能の限界を超える微構造が不明のまま残された。

今世紀の後半に入って, 電子顕微鏡(以下「電顕」と略記)の分解能と, その生物試料への応用が進むとともに, 電顕検索による網膜微構造の検索が開始された。すなわち, Sjöstrand⁴⁾⁵⁾ の研究に端を発し, De Robertis⁶⁾, Ladman⁷⁾, Cohen⁸⁾, Villegas⁹⁾, Yamada¹⁰⁾, Nilsson¹¹⁾ らによる各種動物の視細胞を中心とした研究が公表された。しかし魚類に関しては未だ詳細な報告を見ない。一方, 近年 Evans¹²⁾, Stell¹³⁾, Dowling^{14)~16)} らを中心として Golgi 鍍銀法の知見と電顕所見を結びつけ, 網膜内の視覚機構を解明せんとする動きがでているが, 未だ不明な点が多い。

フナの網膜は網膜電位の研究にしばしば使用され, その微構造の解明は生理学の研究分野からも強く望まれている。この意味で著者はフナ網膜微構造を電顕によって検し, 知見を得たので報告する。

研究材料と研究方法

材料にはフナ (*Carassius carassius*) の網膜を用いた。フナ眼球を -10°C ~ -5°C の冷室内で照明下に摘出し, その前半部を除去, 後半部を固定液中に投じた。光顕検索には (1) hematoxylin-eosin 染色, (2) Weigert 鉄 hematoxylin 染色, (3) Azan 染色, (4) toluidine blue 染色などのほか, (5) Cajal 氏本陣変法¹⁷⁾ による軸索染色, (6) Weigert-Pal 氏髓鞘染色などの手技を用いた。

電顕検索のためには, 眼球後半部の網膜を細切し, 0°C ~ 4°C の固定液中に投じ, 1~2時間固定した。固定液としては, ペロナル・酢酸ナトリウム緩衝 (pH 7.4) 1% OsO_4 液またはクロム・オスmium固定液¹⁸⁾ を用いた。試料をエタノール系列で脱水し, Epon 812²⁰⁾ に包埋した。薄切は LKB-Ultratome 4800 により, 酢酸ウラニル²¹⁾ と鉛²²⁾²³⁾ の二重染色を行なった。鏡検は HU-11P 型, HU-11DS 型, JEM-7 型電顕により, 直接倍率は 3,000~20,000 とし, 引伸し拡大陽面を作製して観察した。なお電顕用試料ブロックより厚さ約 1μ の切片を作製し, toluidine blue 染色²⁴⁾ を施し, 光顕検索を行なって対照とした。

所 見

I. 可視光顕微鏡所見

フナ網膜は, 眼底中央部において約 300μ の厚さを示し, 色素上皮, 杆体・錐体層, 外顆粒層, 外網状層, 内顆粒層, 内網状層, 神経細胞層, 神経線維層を区分する(写真1)。

色素上皮細胞は, 杆体・錐体層に大きな突起を出す。突起は外境界膜の近傍に達し, 内部に多数の褐色顆粒を含む。色素上皮細胞の核存在部付近の細胞膜は, 限局的に eosin に強染する。これは電顕所見に述べるデスモゾーム (desmosome) 構造の存在のためである。

視細胞は全長 $130\sim 150\mu$ で, うち $90\sim 100\mu$ は杆体・錐体層に, $20\sim 30\mu$ は外顆粒層に, $5\sim 10\mu$ は外網状層に存在する。外網状層には, 視細胞の中核側突起の末端である杆状体小球 (rod spherule) と錐状体小足 (cone pedicle) を認める。外顆粒層には, 杆状体細胞 (rod cell) の核が数列をなして存する。 OsO_4

Electron Microscopic Studies on the Retina of the Crucian Carp. I. On the Fine Structure of the Pigment Epithelium, Layer of Rods and Cones, Outer Granule Layer and Outer Plexiform Layer, **Sachiko Tanaka**, Department of Anatomy (Director: Prof. R. Honjin), School of Medicine, Kanazawa University,

固定, Epon 包埋, toluidine blue 染色標本では, 外顆粒層の核は toluidine blue によく染まるが, ときに外顆粒層内の上方部 (鞏膜側) に, toluidine blue に淡染し, クロマチン顆粒が偏在する核の存在を見た. 外顆粒層の最上方には, eosin によく染まる外境界膜が存在し, 杆体・錐体層との間を境いし, その上方に, これに接して, hematoxylin 難染で核小体の明瞭な大型の核が, 単独あるいは 2 個対をなして 1 列に並んでいる. 単独の核は単錐体 (single cone), 対をなす核は双生錐体 (twin cone) の核である. 杆状体細胞では, 核の周囲の細胞質は極めて少ない. 錐状体細胞 (cone cell) ではこれよりやや多くの細胞質が存し, 上方に約 $10\sim 20\mu$ 伸長して長径約 10μ の eosin に強染する ellipsoid を形成し, ellipsoid 先端から eosin 淡染の外節部がさらに上方に伸びている. 杆体・錐体層には, このほか eosin に淡染し, 幅の狭い杆状体細胞の内節, 外節が深く進入し, 外節はときとして色素上皮細胞の核の付近にまで達する. 軸索染色標本では, 内顆粒層内に存する双極細胞の突起が外網状層に向かって走る像が見られる.

II. 電子顕微鏡所見

1. 色素上皮細胞

隣接する色素上皮細胞の細胞膜には, 核の高さで $1\sim 2\mu$ の長さにはわたるデスモゾーム構造を見る (25)~(29). デスモゾーム部には, 2 枚の細胞膜の陥入と電子密度大な物質の沈着および張原線維 (tonofilament) の発達を見る. Bruch 膜との間に存する組織腔に向けて, 細胞基底部から多数のミクロビリ (microvilli) を出し, その先端は嚢状に膨大し, メラニン顆粒や多数のリボ核蛋白顆粒 (以下「RNP 顆粒」と略記), 小胞などを含む (写真 2). ミクロビリは細胞基底部のみでなく, ときに細胞側面にも見られる.

Bruch 膜と色素上皮細胞との間の組織腔には, 少量の膠原線維, 弾性線維, ミクロビリなどの断面が散在する. 組織腔は幅 20μ にまで発達するが, ときに色素上皮細胞基底部が直ちに Bruch 膜に接している部があり, このような部位では色素上皮細胞はミクロビリを出さず, 細胞膜の陥入が見られる (28)~(31).

色素上皮細胞の核のクロマチン顆粒は一般に少量, 分布は均一で, 全体として明調を呈し, $1\sim 2$ 個の核小体を見る. ときにクロマチン顆粒に富み, 暗調を呈する核を見ることもある. 核の周囲の細胞質には, メラニン顆粒が外側核膜に密接して環状に配列している (写真 3).

色素細胞は, 杆体・錐体層内に太い突起を送り, そ

の先端は細かく分岐する. 胞体および突起は, 多数のメラニン顆粒, グアニン顆粒, ミトコンドリア (mitochondria (以下「ミト」と略記), RNP 顆粒, 滑面小胞体, 多胞小体 (multivesicular body), リゾソーム (lysosome), myeloid body などを含む (写真 3)). ミトのクリスタ (crista) の形は不規則で, 基質内にはしばしばミト内小顆粒が見られる. ミトは細胞基底部に多く集まる傾向があり, 核周辺より突起の先端部に行くにしたがってしだいに減少し, 突起の先端部では全く見る事ができない. 細胞内には球形ないし多角形の小胞が多数見られ, その間に多数の RNP 顆粒が存在する. 核部から突起先端部にいたる中間部において, 小胞が蜂巢状に配列する像にしばしば接した.

色素上皮の突起先端部に, 長さ 2μ , 内腔 $100\sim 200\text{Å}$ を示す堆積した扁平嚢の集合体が見られる. 扁平嚢は両端で膨大部を形成し, ときに内腔が非常に狭くなり, Porter ら (29) のいう myeloid body 状を呈することがある.

細胞基底部から核周囲にかけて, 径 $1.5\mu\sim 3.5\mu$ の球形ないし卵形の断面を示し, 限界膜により囲まれた, 視細胞の層板体に類似した層板体を見ることがある (写真 4). 限界膜に囲まれた内部には, ときに層板構造のほか微細顆粒の存在を見る. 層板体は Porter ら (29) の lipid inclusion, Bairati ら (27) の lamellated body に一致する.

そのほか, 限界膜とこれに囲まれた電子密度大な紡錐形の小体と微細顆粒とからなる小体がある. 強拡大で見ると, 紡錐形の小体には, その長軸に平行に走る細い線維が認められる. 細い線維の周期は 80Å である. また径 $0.2\sim 2\mu$ のリゾソームに類似した構造が見られ, しばしば紡錐状の小体の近傍に位置している (写真 5).

メラニン顆粒は 1 枚の限界膜を有し, 内部は細顆粒状または均質な物質により満たされている. メラニン顆粒とは別に, 径 0.7μ の球形の顆粒が存し, その内部は電子密度小な均質な物質によって満たされている. これは奥田 (30) がフナ網膜において記述したグアニン顆粒に一致する. グアニン顆粒は突起の先端部を除く全細胞質内に分布する (写真 2, 3).

以上述べた色素上皮細胞のほかには少数ではあるが, メラニン顆粒類似の色素顆粒を含む細胞が Bruch 膜に接近して存する. この種の細胞は網膜に対し切線方向に長軸を持ち, 長軸方向の両端から色素上皮層の基底部に向けて大きな突起を出している. 胞体は色素上皮細胞のそれより小さく, 顆粒成分に富み, 多数の色

素顆粒のほか、粗面小胞体、RNP 顆粒、ミト、Golgi 体、リゾソーム、多胞小体などを含有する。しかしグアニン顆粒に相当する顆粒を含まず、いわゆる網膜の色素上皮細胞とは様相を異にする(写真6)。

2. 視細胞とその構成

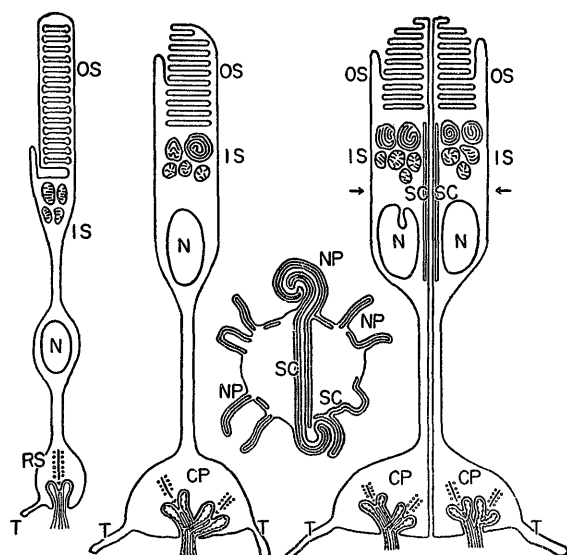
視細胞は杆状体細胞と錐状体細胞とに区分され、錐状体細胞はさらに単錐体と、2個の細胞が互いに密接して対をなす双生錐体とに分けられる。杆状体、錐状体細胞はいずれも核を中心として、下方(硝子体側)と上方の双方に突起を出し、下方の突起は外網状層に達し杆状体小球、錐状体小足となり、双極細胞、水平細胞の dendrites とシナプスを形成する。上方の突起は杆体・錐体層内に、内節、外節を形成する(図1)。視細胞の内節、外節の間には、上

含み暗調を呈する。クロマチン顆粒の分布は均一ではない。核の周囲の細胞質は一般に狭いが(幅約 0.3μ)、ときにかかなり広い細胞質を持つこともあり、その部位では Golgi 体、小胞体、RNP 顆粒、ミト、リゾソームなどが見られる。Golgi 体の発達が良い。

ii) 杆状体細胞内節部

杆状体細胞は核の上方で急激にその径を狭め(径 0.1μ)、他の杆状体細胞の核部の間を走ったのち、外境界膜部で Müller 細胞突起と閉鎖堤を形成し、さらに杆体・錐体層に入り、myoid および ellipsoid の2部よりなる内節を形成する。myoid は内節の下半部を占め、核部から続く径 $0.5\sim 1.0\mu$ 、長さ数 μ にわたる細長い突起であり、内部には突起に平行に走る径 $300\sim 400\text{Å}$ の微小細管や RNP 顆粒の発達が著

図1 フナ網膜内の3種の視細胞の縦断模型図



左より杆状体細胞、単錐体、双生錐体を示す。それぞれ、外節部(OS)、内節部(IS)、核部(N)と視細胞終足部からなり、終足部は、杆状体細胞では杆状体小球(RS)、錐状体細胞では錐状体小足(CP)を形成する。視細胞終足からは telodendron (T) が伸びている。杆状体小球には1個、錐状体小足には数個のシナプスリボンがあり、下方から多数の dendrites が進入し、シナプスリボンの先端の近くで triad を形成する。錐状体小足では、triad を形成する3個の dendrites のうち、側方に位置する2個は、特異な膜肥厚を示す。双生錐体では、核部から内節部にかけて、needle like process (NP) および subsurface cistern (SC) の発達が見られる。単錐体と双生錐体の間の図は、双生錐体の矢印の部位における横断図を示す。2個の細胞から伸びた、絡みあった needle like process に注意されたい。

方から伸びてくる色素上皮細胞の突起が存する。色素上皮細胞の突起と視細胞の外節はしばしば接近して 100Å の間隙を見るにすぎない。杆状体細胞の核は外顆粒層の大部分を占め、その間を Müller 細胞の突起や視細胞の突起が走り、この間、所々で小膨大部を形成する。視細胞突起の膨大部は径 $4\sim 7\mu$ に達し、内部には多数の神経細線維(neurofilament)^{32)~35)} 神経細管(neurotubules)³⁴⁾ 粗面または滑面小胞体、RNP 顆粒を含む。これに対し、Müller 細胞突起の膨大部は小さく径 $1\sim 2\mu$ で、多数のグリコゲン顆粒⁶⁾³⁷⁾ によって満たされている。

1) 杆状体細胞

i) 杆状体細胞核部

杆状体細胞の核は、比較的多量のクロマチン顆粒を

しい。ellipsoid 部は径 2μ 、長さ $7\sim 8\mu$ で、内部にはミトの集積がある。ミトは ellipsoid 下部では小型であるが、上部にいくに従い大型となり、径 $1.7\sim 2.0\mu$ に達する。ミトのクリスタは一般に単純で平行配列を示し、基質内には多数の小顆粒を見る。内節と外節は結合纖毛によって連続し、結合纖毛は2個の subunits からなる9対の周辺線維からなり、中心線維を欠く。ellipsoid 上端からは数個の calycal process³⁸⁾ と呼ばれる径 $0.1\sim 0.2\mu$ の細い突起がでて外節に沿って上行し、外節中間部の高さにまで達する。calycal process の内部には微小細管と RNP 顆粒を認める。

iii) 杆状体細胞外節部

杆状体細胞外節には、rod sacs³⁹⁾ と呼ばれる外節

長軸に対し垂直方向に規則正しく堆積した扁平嚢がある。rod sacs は互いに 100 Å の距離を有し、ほぼ 320 Å の周期で堆積している。その外側端は、径 200~300 Å の断面で小球状の膨大部を形成する。外節部には縦に走る切痕状陥凹 (incision)⁴³⁾⁴⁰⁾ が認められた。rod sacs 相互間や rod sacs と外節全体を包む細胞限界膜との間には、膜構造による何らの結合を見ない。このことは rod sacs がすでに報告されているように³⁸⁾⁴¹⁾⁴²⁾、個々独立した closed sac であることを示している (写真7)。

iv) 杆状体細胞終足部

杆状体細胞の下方へ伸びる突起は外網状層にいたり、その長軸を網膜に対して、垂直方向に持つ長径 3.5~4 μ, 短径 2.3~2.5 μ の杆状体小球⁷⁾⁴³⁾⁴⁴⁾を形成して終る。杆状体小球からさらに下方に向って、径 0.2 μ, 長さ 2 μ の微小な突起がある。これは Sjöstrand⁴⁴⁾, Cohen³⁸⁾ らにより、telodendritic expansions または telodendron と呼ばれたものに一致する。杆状体小球内には径 400~600 Å の多数のシナプス小胞⁷⁾ が散在している。シナプス小胞は球状で 1 層の限界膜とやや電子密度大な均質な内容を含む。杆状体小球内には、通常 1 個まれに 2 個のシナプスリボン⁷⁾ があり、また滑面小胞体、径約 100 Å のグリコゲン顆粒、微小細管、細線維などを見る。しかし、ミトは全く認めない。滑面小胞体は一般に散在するがときに集合して網工像を呈し、Yamada⁴⁵⁾ のいう tubular network を示すこともある (写真13, 14, 16)。

杆状体小球はその下方において深い陥入を示し、陥入部には双極細胞などの dendrites が分岐しつつ進入する。dendrite と杆状体小球の限界膜とが接する部位では、杆状体小球の限界膜の電子密度が大となり、さらに電子密度大な物質の沈着が見られる。このような膜の肥厚は杆状体小球の限界膜にのみ見られるのが普通であるが、ときに dendrite, 杆状体小球双方の相対する膜に 0.2~0.3 μ にわたり肥厚が見られた (図1-a, 写真13)。しかし膜の肥厚部位にシナプス小胞の集積は見られない。シナプスリボンの近傍の杆状体小球の限界膜の部は、電子密度の増大が大である。杆状体小球の限界膜の陥入によって生ずる管は、分岐しながら杆状体小球内へ進入する dendrites の数に比し少ないため、2~3 個の dendrites が束をなして 1 枚の杆状体小球の限界膜によって取り囲まれている像にしばしば接した。このような部位では、dendrites 間に tight junction 様構造の存在するものもあった。

シナプスリボンの先端部に近い陥入の内部では、3 個の dendrites による triad の形成が見られる。これらの dendrites の由来に関しては双極細胞、少なくとも大型双極細胞の突起が杆状体小球の陥凹部に入ることを電顕的にたしかめ得たから、triad の dendrites の少なくとも一部のものは大型双極細胞に由来することは容易に推測できる (写真16)。しかし triad の近傍における dendrite は分岐迂曲するので、双極細胞の末梢突起が triad のどの dendrite に達するのか連続してたどることはできなかった。

2) 錐状体細胞

i) 錐状体細胞核部

錐状体細胞の核は外境界膜の上方に位置し、クロマチン顆粒の分布は均一で少量である。核周囲にはやや多量の細胞質が存在し、小胞体、RNP 顆粒、細線維、グリコゲン顆粒、Golgi 体などの発達が著しい (写真10)。

ii) 錐状体細胞内節部

錐状体細胞内節部は径 7~9 μ で狭窄は見られない。しかし錐状体細胞内節はその内容により、杆状体細胞の myoid に相当する下半部と ellipsoid に相当する上半部に分けることができる。下半部は太く (径 7~9 μ) 内部に粗面小胞体、Golgi 体、RNP 顆粒、リゾゾーム、多胞小体、微小細管、細線維などを有する。細線維の発達はとくに著しい。ellipsoid 部には多数のミトの集塊が認められる。ミトは ellipsoid 下部および周辺部においては比較的小さいが (径 0.5~0.6 μ), ellipsoid 上部および中心部に行くに従って大型となり (径 3~4 μ), 渦巻状を呈したクリスタがミトの内部全体を埋め、基質は殆んど見られなくなる。個々のミトは互いに密接する。

錐状体細胞にも内節上端からの突起である calycal process が存し (写真8), 外節に沿って伸長している。錐状体細胞の calycal process は杆状体細胞のそれより太い。calycal process の数は水平断面の所見より、1 個の錐状体細胞に約10個である。錐状体細胞における calycal process は、その基部ではかなり長い範囲にわたり外節部に直接結合している。

iii) 錐状体細胞外節部

錐状体細胞外節には、外節長軸に対し垂直方向に重なった 360 Å の周期を持って平行に規則正しく並んだ多数の層板体 (cone sacs)³⁹⁾ がある。cone sacs の特徴は、錐状体細胞の限界膜が内部に齧入して層板体を形成し、層板体の外面に細胞限界膜がないことである。しかも個々の cone sacs は、rod sacs が個々の間に連絡を持たず独立していたのに対し、その膜が

一端で翻転し隣接する cone sac の膜に連続している (写真8). すなわち、錐状体細胞外節はすでに種々の動物³⁸⁾⁴²⁾⁴⁶⁾⁴⁷⁾で指摘されているように、フナにおいても細胞膜が折りたたまれてできたものであることを示している。しかし cone sacs は細胞膜の折れ込んだ部に対する薄片の切断部位に応じて種々の形を呈し、上記のような折れこみを示すもののほか、細胞質内に閉鎖されたものや、細胞限界膜に囲まれず細胞質を囲んだ扁平な囊の集積を示すものなどいろいろである。これらの3種の断面像は数 μ にわたって交互に出現するのが普通である。なお閉鎖された cone sacs の外側端には断面で球状の膨大は見られなかった。

iv) 錐状体細胞終足部

錐状体細胞の中枢側突起は外網状層において錐状体小足を作って終る (写真12)。錐状体小足は杆状体小球よりさらに下方に位置し、径 $5\sim 8\mu$ の下方に向かって扇状に広がった濾斗形を呈する。錐状体小足からさらに下方に向かって径 $0.3\sim 0.7\mu$ の突起 (telodendron) がでる。錐状体小足内には多数のシナプス小胞、 $5\sim 10$ 個のシナプスリボンを見るほか、径 $100\sim 150\text{\AA}$ のグリコゲン顆粒、滑面小胞体、細線維、微小細管などを見る。しかしミトは全く見られない。シナプス小胞は径 $400\sim 700\text{\AA}$ でほぼ均一な分布を示し、シナプスリボンの部位を除いて集簇性は認められない。またこの部には tubular network は見られなかった。錐状体小足内は、杆状体小球に比し全体として明調を呈する。

錐状体小足はその下方において細胞膜の深い陥入を示し、陥入部には双極細胞、水平細胞などの dendrites が細かく分岐しつつ進入し、蜂巢状を呈する。錐状体小足へ入る dendrites の数は、杆状体小球へ入るものに比しはるかに多い。錐状体小足においても、視細胞側の陥入の数は dendrites の数に比し少なく、その結果多数の dendrites が1束をなして錐状体小足の膜により取囲まれている。錐状体小足における dendrites の内部進入は杆状体小球におけるよりも浅く、そのため蜂巢状構造は錐状体小足の下方極に限局している。錐状体小足内へ進入する dendrites は、その構造から下記の3型に区分される。

第I型: 径 $0.1\sim 0.2\mu$ の小さな断面を示し、内部はおおむね均質で小器官をほとんど認めない。この種の dendrites は数本ないし10本が1束となり、1枚の視細胞膜により共通に囲まれ、錐状体小足の中心部の表面近くに位置する。dendrites 間には、しばしばデスモゾームまたは tight junction を見る。この型の dendrite は内部構造が杆状体小球に入る双極細胞

の dendrite に似ているから、おそらく双極細胞由来のものであろう。

第II型: 錐状体小足の下方極近くに稀に見られるもので、径 $0.2\sim 0.5\mu$ のときに径 1μ に達する断面として観察される。小型のものは一般に小足の中心部、大型のものは周辺部に多く見られ、dendrite 内部には径 $400\sim 600\text{\AA}$ のシナプス小胞様の小胞を含んでいる。この dendrite の構造は、杆状体小球、錐状体小足の構造によく似ている。従って、この第II型 dendrite は視細胞由来の telodendron と考えられ、杆状体小球の telodendron が一般に径 0.2μ の小さなものであることを考えると、その大部分は錐状体小足に由来するものであろう。

第III型: この型のものは、水平細胞から出て錐状体小足内へ直接進入している像を写真上で連続的に確認できたもので、水平細胞の dendrite であることは明らかである。水平細胞 dendrite は錐状体小足表面の中心部より進入し、第I型 dendrites の間隙を通過して錐状体小足のより深部 (上方) に達した後分岐し、末端小膨大を形成する。その結果、水平細胞 dendrites は第I型 dendrites の周囲に径 $1.5\sim 2.0\mu$ の断面として観察される。dendrite 内部は一般に比較的電子密度小な明るい均質な物質によって満されているが、ときに RNP 顆粒またはグリコゲン顆粒と思われる顆粒や、径 $400\sim 600\text{\AA}$ の小胞を散在させている (写真12)。

末端膨大部は2個対をなして存在することが多く、その間にシナプスリボンをはさんでいる。またこの種の dendrites はその細胞膜の特異な分化により、他の dendrites と容易に区別できる。すなわち、水平細胞 dendrites の細胞膜はほぼ 0.1μ の間隔を置いて、 $0.05\sim 0.1\mu$ の長さにならって電子密度大な物質が沈着し、破線状の膜肥厚を示している。しかしこの部位にシナプス小胞の集積は見られない (写真12)。水平細胞 dendrite 末端部と接する錐状体小足の限界膜はしばしば不規則な凹凸を示し、視細胞側への突出はときに顕著であり、径 $500\sim 700\text{\AA}$ の小胞に連続している像に接することがある。このような像は杆状体小球においても観察されるが、錐状体小足においてはさらに顕著である。

上記3型の dendrites のうち、第III型 dendrite は水平細胞との直結が確認されるので、水平細胞由来のものであることは明白である。第II型 dendrite はその内部構造から視細胞終足、とくに錐状体小足からの telodendron と考えられる。第I型 dendrite に関しては古くから錐状体小足における双極細胞 dend-

rite の進入が光顕下に 証明され²⁾³⁾, また今回の検索においても大型双極細胞の錐状体小足内への直接の進入を見ているので, 双極細胞由来のものと考えられる。

錐状体小足内におけるこれら dendrites 相互間および視細胞の中枢側突起の末端と dendrite との間, すなわち, 第 I 型—第 I 型 dendrite, 第 I 型—第 II 型 dendrite, 第 I 型 dendrite—視細胞終足 (写真 13), 第 II 型 dendrite—視細胞終足 (写真 16) 接触部において, しばしばデスモゾームないし tight junction 様の構造が観察された (図 2)。

v) 双 生 錐 体

双生錐体は後に述べる subsurface cistern, needle like process による 2 個の細胞の密着のほかは単錐体とその構造は全く等しい。カエルなどに見られる複錐体 (double cone) と異なり, 双生錐体では主体と副体との差は見られない。双生錐体を構成する 2 個の錐状体細胞は核部, 内節部においては Müller 細胞その他の成分を介在させることなく平坦な面をもって接している (図 1, 写真 10)。

双生錐体の非接合面からは, 翼状の放射状に長く突きでた突起がでる (図 1, 写真 11)。これは Yasuzumi ら⁴⁸⁾ (ジュウシマツ), Yamada¹⁰⁾ (オタマジャクシ), Cohen⁴⁹⁾ (ハト) により gear like structure, needle like process などと呼ばれたものに一致する。needle like process は核部より内節上部にわたって存し, 内節上部へ行くに従ってその発達が著しくなる。needle like process は核部より内節部にわたり, 細胞から放射状に突出した幅 0.1μ の板状構造と考えられ, 突出部は $2\sim 3\mu$ に達しゆるやかな彎曲を示す (写真 11)。双生錐体を構成する個々の細胞の接合部両端より突出した needle like process は互いに絡みあいながら伸長する (図 1)。process の間には杆状体細胞の myoid 部, あるいは他の錐状体細胞の内節部が位置している (写真 11)。

双生錐体にはその外境界膜部の細胞質内から起り, 内節 ellipsoid 最上端部にまで達する Berger⁵⁰⁾ が guppy (*Lebistes reticulatus*) で報告した subsurface cistern を見ることができる。subsurface cistern は $200\sim 400\text{\AA}$ の内腔を持った扁平嚢で細胞膜下にあり, これとは $100\sim 300\text{\AA}$ の距離を保ちつつ細胞膜に沿って存し, 細胞の核部, 内節部の全表面に見られ, needle like process 内にも進入する。双生錐体接合面では, 双方の細胞の細胞膜に沿って subsurface cistern の発達が見られるため, 6 枚の膜が平行して走っている像に接する (図 1, 写真 10,

11)。

3) シナプスリボン

シナプスリボンは杆状体小球においては長さ $0.8\sim 1.3\mu$ (写真 13, 14, 16), 錐状体小足では $0.4\sim 1\mu$ で (写真 12, 15), 長さのほか, この両者の間に基本的な構造上の差はない。シナプスリボンはほぼ 300\AA の幅を有し, 電子密度大な 2 層とそれらに挟まれた電子密度小な 1 層を区分する (写真 15)。両側の電子密度大な 2 層はときに両端で癒合する。リボンの両側には $400\sim 500\text{\AA}$ の距離を置いて径 $400\sim 600\text{\AA}$ のシナプス小胞が 1 列に並び, リボンと小胞の列の間には電子密度大な物質の存在を見る。シナプスリボンはときにリボン状を呈さず, 方形の電子密度大な物質とシナプス小胞の集まりとして観察される。

シナプスリボンの存在部では, その下方側先端において dendrites の triad が形成され, これと相対している (写真 12~16)。両側に存在する dendrites はシナプスリボンをはさんで局所的に接近し, ために相対する視細胞終足の限界膜間の距離は約 0.07μ となる。しかし, これは dendrite 分岐部基部において再び広がり断面において径 0.15μ の半円を形成する。半円の中心部には arciform density⁷⁾ を見る (写真 13, 15)。arciform density は Matsusaka⁵¹⁾ により報告されているように三叉状構造を呈し, シナプスリボンと視細胞限界膜との間に介在する。半円部および狭窄部には, 視細胞, dendrite の双方の膜の肥厚が見られ, シナプスリボンの存在と併せ, この部位での特殊な働きが想定される。

錐状体小足ではシナプスリボンに対して triad を形成する dendrites のうち, 両側に位置する 2 個は前述のように水平細胞の dendrites である。一方, 中央部の 1 個は前述の第 I 型 dendrite に属するものであり, 双極細胞 dendrite と考えられる。錐状体小足では, このように 2 個の水平細胞 dendrites と 1 個の双極細胞 dendrite が triad を形成して, シナプス小胞を付すシナプスリボンとともに興奮伝達に関与しているものであろう (写真 12)。

杆状体小球においても同じく triad の形成が見られるが, 個々の dendrites の同定は現段階では困難であった (写真 13, 14, 16)。

3. 外 網 状 層

外網状層は上方からまず 3~4 列をなして杆状体小球, つぎに 1 列の錐状体小足が並び, 下方には双極細胞と水平細胞の dendrites, 杆状体小球, 錐状体小足からの telodendron, Müller 細胞の突起などが網工を形成する。個々の杆状体小球, 錐状体小足は, 一般

に Müller 細胞の突起により隔てられているが、ときに双生錐体のものと思われる 2 個の錐状体小足が相接して存在する像に接する。

外網状層内には axo-somatic, axo-dendritic, dendro-dendritic と呼ばれるべき多様なシナプス結合⁵²⁾⁵³⁾が見られるが、これらをその由来する細胞の種類を中心として分類すると、i) 視細胞と双極細胞または水平細胞間のシナプス結合, ii) 視細胞相互間のシナプス結合, iii) 双極細胞または水平細胞を中心としたシナプス結合の 3 群に分けられる (図 2)。

i) 視細胞と双極細胞または水平細胞間のシナプス結合

Cajal²⁾, Stell¹³⁾ らは硬骨魚類の網膜内に 2 種の双極細胞、すなわち大型双極細胞と小型双極細胞の存

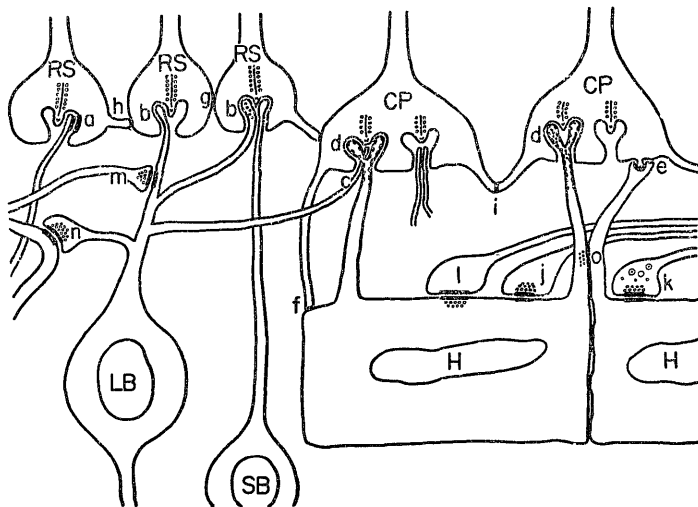
球内へ直接追求することはできなかった。また水平細胞 dendrite が錐状体小足内へ入らずに小足表面に接し、径約 0.1μ の球状の膜の陥凹を示しつつデスモーム様構造を呈する像を認めた (図 2-e)。

錐状体小足から出た telodendron の一部のものは水平細胞の突起あるいは胞体に接し、tight junction 構造を呈する (図 2-f)。

ii) 視細胞相互間のシナプス結合

視細胞終足は通常 Müller 細胞の突起によって互いに隔てられているが、ときとして視細胞終足同志の直接の接触、またしばしばこれからでた telodendron を介しての接触が見られる。前者としては、a) 杆状体小球—杆状体小球結合 (図 2-g), b) 杆状体小球—錐状体小足結合, c) 錐状体小足—錐状体小足

図 2 外網状層内におけるシナプス結合の模型図



a, b, c, d, e, f は、視細胞と双極細胞または水平細胞間のシナプス結合、g, h, i は視細胞相互間のシナプス結合。j, k, l, m, n, o は、双極細胞または水平細胞を中心としたシナプス結合を示す (本文参照)。CP: 錐状体小足, H: 水平細胞, LB: 大型双極細胞, RS: 杆状体小球, SB: 小型双極細胞。

在を指摘したが、今回著者の検索においても、フナ網膜内に 2 種の双極細胞を見ることができた。そのうち小型双極細胞は内顆粒層内でも下方に位置するため、その dendrite を末端まで追跡することはできなかったが、大型双極細胞は外網状層に近く位置するため、比較的容易にその dendrite を追うことができた。その結果、大型双極細胞はその突起を杆状体小球 (図 2-b), 錐状体小足 (図 2-c) 内へ挿入し、シナプスに関与することを確かめ得た。シナプス部位の微細構造については前述した。なお、同一の双極細胞に由来する dendrites が 2~3 個の隣接する杆状体小球とシナプスを形成している像に接した。

一方、水平細胞 dendrite に関しては前述した特異的な膜の肥厚を示しつつ、錐状体小足内へ進入している像に接することができた (図 2-d), 杆状体小

結合の 3 種があり、結合部位の分化としては、1) Müller 細胞の介在を欠き双方の視細胞終足の膜が接近する (写真16)。2) 双方の視細胞終足の膜に陥入が見られる。3) 接触部位における tight junction 構造の発達、などがあげられる。後者、すなわち telodendron を介するものとしては、a) 錐状体小足で見られたように telodendron が視細胞終足内へ進入するもの、b) 終足表面に tight junction を作って終るもの (図 2-h, 写真16), また c) telodendron-telodendron 結合 (図 2-i, 写真20) をあげることができる。telodendron は接触部においては tight junction 構造を示す。telodendron 内には径 $500\sim 700\text{\AA}$ の小胞が存在するが、その分布は均一である。

iii) 双極細胞または水平細胞を中心としたシナプス結合

外網状層には、上記の視細胞を中心としたシナプス結合のほか、水平細胞あるいは双極細胞を中心としたシナプス結合がある。これらは一部のものを除き、接触部における膜 (synaptic membrane) の肥厚とシナプス小胞の集積とを伴ういわゆる conventional synapse³³⁾ に属し、終末内にはミトや径 300~500Å のシナプス小胞を含有する (写真17)。シナプス小胞は、視細胞終末で見られたものに比し一般に小さく、輪廓の不明瞭なものが多い。また内部に径 600Å の電子密度大な顆粒を持つ径 800Å の含顆粒小胞 (cored vesicle)⁵⁴⁾ を含む終末も存在する (写真18)。これらのシナプス結合には axo-somatic なものと axo-dendritic なものとがある。

axo-somatic 結合には、水平細胞胞体に終るシナプス終末が見られる。これは小型のシナプス終末として、水平細胞の外網状層に面する部位に終る (図2-j, 写真17)。またこの部位の終末には、含顆粒小胞を含むものがある (図2-k, 写真18)。稀に水平細胞の胞体側にシナプス小胞の集積を見る soma-dendritic 結合もある (図2-1, 写真19)。

axo-dendritic シナプスは外網状層にしばしば出現し、中には含顆粒小胞を含む終末も見られたが、これらの大部分は如何なる細胞に由来するものであるか不明である。大型双極細胞の dendrite に終る終末や (図2-m), 大型双極細胞の dendrite が他のノイロンに終わってシナプスを形成している像にも接した (図2-n)。

また外網状層には、水平細胞を中心とした tight junction 構造の発達が著しい。魚類の水平細胞胞体間の tight junction に関しては、Yamada ら⁵⁵⁾ の報告があるが、フナ網膜では、水平細胞 dendrite—水平細胞 dendrite, 水平細胞 dendrite—大型双極細胞 dendrite 間に tight junction を認めた。とくに水平細胞相互間に見られる tight junction の発達は著しく、まその部にシナプス小胞の集積や球状陥凹 (膜の肥厚を伴う) が見られることがある (図2-o)。

4. Müller 細胞および外境界膜

色素上皮層から外網状層にいたる間には、色素上皮細胞、視細胞および各種ノイロンの突起のほか、これらの間隙を縫って内顆粒層にその核を持つ Müller 細胞の突起が存在する。内顆粒層から上行する Müller 細胞の細い突起は外網状層内で膨大し、次いで細枝に分岐する。膨大部にはグリコゲン顆粒が満ち、ミトが散在する。また 300~400Å の明るい内腔を持つ滑面小胞体が多数存在する。滑面小胞体の発達は外網状層の

最上方においてとくに著しい。Müller 細胞の突起は外網状層から外顆粒層へ細い突起となって進入し、この部では突起の内部に2~3列の滑面小胞体を含む。Müller 細胞突起は外顆粒層内においても膨大部を形成し、膨大部には多数のグリコゲン顆粒とともに、ミト、リゾゾームを見る。Müller 細胞の突起は外顆粒層の上縁で急激に広がり、視細胞との間に閉鎖堤を形成した後、杆体・錐体層内に多数のミクロビリールを出している。閉鎖堤は1列に並び外境界膜を形成する。ミクロビリールはグリコゲン顆粒に満たされた径 2μ の膨大部を形成することがある (写真9, 10, 11)。

考 察

1. 色素上皮細胞

網膜色素上皮の微構造に関しては、すでに多数の電顕報告がある²⁵⁾⁻³¹⁾⁵⁶⁾⁵⁷⁾。今回の所見は原則的にはほぼこれらに一致したが、フナに特有な構造もいくつか見出した。

第1は、Bruch 膜に接して存し大きな突起を有し、特異な顆粒の存在、ミトの形態、メラニン顆粒の分布などの特徴から、外胚葉性由来の網膜色素上皮細胞とは明らかに異なる細胞の存在である。網膜内におけるこの種細胞に関しては現在まで何ら報告を見ない。この種細胞はその構造特徴から、おそらく脈絡膜に由来する間葉性色素細胞と推定される。

第2は、同一視野において、色素上皮細胞に明調のものと暗調のものを見たことである。明調核の細胞では細胞質の量が大で、小胞、メラニン顆粒、グアニン顆粒、ミトなどが多数見られ、RNP 顆粒の発達はよくない。これに反し、暗調核の細胞では蜂巣状に並んだ小胞の発達が著しく、小胞間は RNP 顆粒によって埋められている。これら両種の細胞間には移行型が見られるが、これは色素上皮細胞の機能状態の差を示すものであろう。なおいずれの細胞においても、核は1列に並びメラニン顆粒によりとり囲まれている。

第3は、色素上皮細胞の基底部に細胞膜の鰓入を見たことである。この部の細胞膜の鰓入は、多くの研究者により種々の動物ですでに報告されたところであるが²⁶⁾²⁸⁾⁻³¹⁾⁵⁶⁾、ただ、奥田³⁰⁾の、フナにおいてはこの種の鰓入は存せず、細胞基底部が平滑であるとの記載と相反する知見である。

第4に、上記の鰓入と同時に、Bruch 膜方向に多数のミクロビリールが著明に発達していることを認めた。おそらく、フナ網膜のミクロビリールは通常のものとは異なり、細胞からの起始部が極めて細いため、従来の研究者に見落されたものであろう。ミクロビリールお

よび基底膜入は、脈絡膜毛細血管より組織間腔を介しての色素上皮の代謝に重要な意味を持つものである。

第5に、色素上皮細胞の細胞質内に見出された層板構造がある。この構造は Porter ら²⁹⁾によって lipid inclusion, Dowling ら²⁶⁾によって, inclusion body, Bairati ら²⁷⁾によって lamellated body と記述されたものに一致する。Bairati ら²⁷⁾は、彼らのいう lamellated body が色素上皮によって視細胞外節部が貪食された結果生じたものであると述べている。著者の今回の検索結果によると、層板構造が限界膜によって囲まれ、その破壊の程度に種々の段階が見られ、層板構造とともに多数の小顆粒が見られた。以上の所見から、著者は Bairati らの見解を支持したい。80Å 周期で配列した結晶状層板体は、推測が許されるならば、メラニン顆粒に関係あるものであろう。

2. 視細胞

網膜の視細胞に動物による差異があることは古くから知られたところである。電顕下においても Leach⁵⁸⁾ (ヒト, サル), Samarajaski ら⁵⁹⁾ (リス), Meyer ら⁶⁰⁾ (ニワトリ), Pedler ら⁶²⁾ (サル) らによりこのことが確認されている。今回の著者の検索により、フナ網膜に杆状体、単錐体、双生錐体の3種の視細胞の存在が明示された。primary cone と accessory cone よりなるいわゆる複錐体¹¹⁾⁶⁰⁾は存在しない。

1) 双生錐体

双生錐体⁴⁸⁾⁵⁰⁾⁶³⁾の接着が、外節、内節の部位のみならず、核部から外顆粒層を通して、錐状体小足に到るまで完全に密着するか否かは問題となる点であるが、今回の観察では確認できなかった。しかし、外網状層においてしばしば2個の錐状体小足が相接して存在する知見を得ているので、おそらく錐状体小足に到るまで相接して走り、互いに遠く分離することはないと考えられる。双生錐体の核部から内節部にかけて発達している needle like process は、その内部に長く伸びた subsurface cistern と共に双方の細胞間の強い結合を示唆するものである。Yamada¹⁰⁾によれば、オタマジャクシの needle like process の間は神経膠要素、すなわち Müller 細胞によって埋められ、ノイロン-グリア間の代謝に関与しているという。しかしフナ網膜の Müller 細胞は、外境界膜より上方ではマイクロビリーを呈するにすぎず、視細胞との間に特別の結合は見られなかった。しかもフナの場合、process 内における subsurface cistern の発達が大きい。以上の知見は、needle like process

がノイロン-グリア間の結合よりは、ノイロン-ノイロン間の結合に何らかの意義を持つことを示すものと考えられる。

subsurface cistern に関しては、Berger⁵⁰⁾ が guppy についてこれを subsurface membranes と呼び、その構造を詳述している。彼は連続切片法により、subsurface membranes が細胞膜から独立した扁平嚢状構造であることを確認しているが、著者の今回の観察においても同様の結果を得るにいたった。しかし subsurface membranes が細胞内節部の2個の双生錐体細胞の接合面においてのみ発達しているとする Berger の記述は、著者の所見と異なっている。フナ網膜においては、cistern は外境界膜部の直上からはじまり、核部を通して内節上端部にまで連続して存し、しかも細胞接合面のみならず遊離側においても広く発達し、さらに needle like process 内に入り、その先端部まで進入していることが明らかとなった。subsurface cistern に関しては、Rosenbluth⁶⁴⁾⁶⁵⁾の蝸牛神経節をはじめとする多数のノイロンにおける報告があり、Smith⁶⁶⁾は内耳の外有毛細胞でその存在を確認している。

2) 視細胞内節部

フナ網膜視細胞の内節部は、杆状体細胞と錐状体細胞との間で大きな差が見られる。とくに myoid, ellipsoid の発達、ellipsoid におけるミトの形態、calycal process の発達などは著しい差異を示す。

calycal process に関しては、Cohen⁶⁷⁾ (サル), Cohen⁴⁹⁾ (ハト), Brown ら⁴¹⁾ (*Necturus*) らの報告がある。フナ網膜の calycal process はすでに述べたように、杆状体細胞と錐状体細胞とで、外節に対する相対的位置関係を異にしている。Brown ら⁴¹⁾の *Necturus* では、杆状体細胞、錐状体細胞ともに、process はその全長にわたって外節から独立している。フナの杆状体細胞では *Necturus* のものとほぼ同様な構成を示したが、錐状体細胞では calycal process と外節 lamella を含む細胞質は、少なくともその基部において合一している。Brown らは calycal process の機能として、外節、内節間における物質輸送を想定しているが、今回の著者の知見からは、にわかにその当否を論じ難い。

3) 視細胞の中核側突起の終末部の構造および外網状層におけるシナプス結合

杆状体小球、錐状体小足の微細構造に関しては、De Robertis ら⁴³⁾にはじまる多数の研究があり、魚類のそれに関しては、Villegas⁹⁾, 奥田³⁰⁾, Stell¹³⁾らの報告がある。この部にミトが存在することを

Ladman⁷⁾ がラットで記載しているが、フナの場合ミトはこの部に存在しない。この知見は De Robertis^ら⁴³⁾ がウサギで指摘し、その後多数の研究者による否定知見と全く一致する。

シナプスリボンは網膜の内網状層⁶⁹⁾⁷⁰⁾をはじめ内耳の外有毛細胞⁶⁶⁾、魚類発電器⁷¹⁾などの感覚細胞にその存在が報告され、これの興奮伝達機能、とくに感覚細胞のそれとの関連が推測されている。しかしその機構は明らかでない。Matsusaka⁵¹⁾、Stell¹³⁾ らの報告にもあるように、フナのシナプスリボンは両面にシナプス小胞が集積した扁平嚢状構造で、その下方極を dendrite 分岐部にはさまれた視細胞膜の半円筒状の部に入れ、視細胞膜とは arciform density を介して対峙している。シナプスリボンの両側に見られるシナプス小胞の列、リボンと小胞列間の電子密度大な物質の存在、arciform density の発達、シナプスリボン先端における視細胞膜と dendrite 膜の肥厚の存在、これに反して、シナプスリボン存在部以外の部における視細胞膜と dendrite 膜の間における上記特殊構造の不在などは、シナプスリボンの存在部位が、視細胞における刺激伝達に主要な役割を果たしていることを暗示するものであろう。

シナプスリボンに相対する dendrites が triad を形成することは Stell¹³⁾、Dowling¹⁵⁾、Dowling^ら¹⁴⁾ 16)により報告されているが、triad を形成する各 dendrite の由来に関しては不明な点が多い。

Stell¹³⁾ は、金魚で杆状体小球では triad を形成する dendrites のうち、側方の2個は vitread horizontal cell に、中心部に位置する1個は large bipolar cell に由来し、一方錐状体小足では、側方の2個は scleral horizontal cell に、中心部の1個は small bipolar または large bipolar cell に由来するとの説を述べている。Dowling一派も Stell とほぼ同様な説を立て、視細胞と双極細胞および水平細胞とのシナプス結合の存在を主張している。

今回の著者の検索では、視細胞の中樞側終末部に入る dendrites およびこれらによって作られる triad の個々の dendrite の由来を決定するに当って、幸運に同一切片内で外部から連続して追求し得る場合のみに限って、その由来と性格を決定し、憶測による誤りをできるだけ排除しようとした。その結果、錐状体小足の triad に参加する dendrites のうち、側方の2個の dendrites は、直接写真上に連続した知見が得られ、しかも膜に特異な肥厚があることから、水平細胞由来のものであることが明確となった。中心部に位置する dendrite の由来に関しては、大型双極細胞の

dendrite が外部から小足内へ進入することは明らかであるが、進入後、dendrite が屈曲し、またその膜構造が特徴を欠くため、dendrite を triad の部まで直接追求することはできなかった。従って、大型双極細胞の dendrite の末梢枝が錐状体小足に入るとは確実で、これが triad に参加する可能性は非常に高いが、なお反論の余地がある。小型双極細胞の錐状体小足への直接の進入を認めることはできなかったが、大型双極細胞の数が小型双極細胞の数に比し非常に少ないこと、Golgi 鍍銀法所見²⁾ から小型双極細胞の錐状体小足におけるシナプス形成が確実であることより、錐状体小足における triad の形成には、水平細胞、小型双極細胞、大型双極細胞の3者が関与しているものと考えられる。なお錐状体小足内へは telodendron の進入も見られるが、これは一般に浅層で終わり、triad まで追求し得なかった。

杆状体小球でも dendrites による triad の形成が見られるが、錐状体小足におけるような特異な膜分化を示す dendrite を見ることはできなかった。また杆状体小球は錐状体小足に比し、上方に位置するため、小球内へ進入する dendrites を直接追跡することは錐状体小足におけるより一層困難であった。しかし多数の写真の精査により、大型双極細胞の dendrite が杆状体小球内へ進入し、triad に参加する像を同一写真上に確認することができた。光顕所見では、多数の小型および大型双極細胞が視細胞の求心性終末に向けて dendrites を送っている像が見られるから、小型双極細胞の dendrites もまた杆状体小球とシナプスを形成していることは、ほぼ誤りのないところであろう。杆状体小球内へ入る dendrites の一部のものはシナプス小胞様の小胞を有するが、これはときに大型双極細胞の dendrite であることが認められた。

視細胞終足における dendrite および視細胞の膜の分化に関して、視細胞側の膜肥厚とシナプス小胞の集積⁴³⁾、杆状体小球と双極細胞との間のデスモゾーム構造¹²⁾、視細胞と dendrite 間のデスモゾーム構造¹⁶⁾⁷²⁾などの報告がある。フナ網膜においても、シナプスリボンとは無関係に、視細胞終足と dendrite 間にデスモゾーム構造を、さらに錐状体小足では dendrites 相互間に tight junction 構造が見られた。

視細胞終足からでる telodendron に関しては、Sjostrand⁴⁴⁾ がモルモットにおいて、 α -cell、 β -cell 間における interreceptor contact として報告して以来、いくつかの報告がある¹²⁾¹⁶⁾³⁸⁾⁷³⁾。彼らは、Hartline⁷⁴⁾⁷⁵⁾ が Limulus の視細胞で見た視細胞間の興奮抑制作用を脊椎動物の視細胞にあてはめ、telo-

dendron による結合を視細胞間における抑制シナプスと考えている。フナ網膜においても、前述のように視細胞間の結合には、視細胞終足部の直接あるいは telodendron を介しての結合があり、結合部位には、細胞膜の陥入あるいは tight junction が見出された。しかしこのような構造が促進的なものか抑制的なものかは、にわかに断じ難い。

外網状層に見出される conventional synapse や tight junction 結合は、これを構成する要素の同定は必ずしも容易ではない。また今回の検索によって、外網状層内に初めて含顆粒小胞を持つシナプス終末を見出した。網膜内の含顆粒小胞に関する従来の知見は、De Iraldi ら⁷⁶⁾によるラットの内網状層内の granulated vesicle の観察があるにすぎず、外網状層には未だ含顆粒小胞の見られる終末の報告を見ない。De Iraldi ら⁷⁶⁾は内網状層における granulated vesicle の一部が網膜遠心性線維に属するものであると述べている。網膜内の遠心性線維に関しては Maturana ら⁷⁷⁾、Cowan ら⁷⁸⁾の光顕による実験とともに Dowling ら⁷⁹⁾の電顕による実験がある。彼らにより、内網状層、内顆粒層内の遠心性線維の存在は証明されているが、外網状層内の遠心性線維に関しては未だ報告を見ない。

結 論

フナ網膜を電子顕微鏡によって検し、次の結果を得た。

1. 色素上皮細胞は、上方に多数のマイクロビリーを出し、細胞内には、メラニン顆粒やグアニン顆粒とともに、貪食された視細胞外節の変形したもの、80Å 周期で並んだ結晶状構造などが存する。

2. 色素上皮層内には、細胞の形、メラニン顆粒の存在様式など、一般の色素上皮細胞と異なる細胞が存する。

3. フナ網膜には杆状体、単錐体、双生錐体の3種の視細胞が存する。双生錐体の核部および内節部では、胞体より放射状に突出した needle like process および subsurface cistern の発達が著しい。錐状体細胞の ellipsoid には、大型で複雑なクリスタを持つミトが集積している。内節上端から出る calycal process は杆状体細胞では外節と直接の連絡を見ないが、錐状体細胞では、その一部が外節と直接連絡している。

4. 視細胞終足部は、シナプスリボン、シナプス小胞等を含み、下方から多数の dendrites が進入して、シナプスリボンの先端で triad を形成する。また杆

状体小球、錐状体小足ともに telodendron を出す。

5. 外網状層に下記のシナプス結合を見る。1) 視細胞と双極細胞または水平細胞間のシナプス結合：大型双極細胞は、杆状体小球、錐状体小足の双方へ dendrite を進入させ、dendrite 内部には、ときに小胞を含む。水平細胞 dendrite は、錐状体小足内へ破線状の膜肥厚を示しつつ進入し、シナプスリボンの部位で、他の dendrite と共に triad を形成する。dendrite 内には小胞を認める。なお、視細胞終足内において、視細胞—dendrite、dendrite—dendrite 膜間に、しばしばデスモゾームないし tight junction を認めた。また、錐状体小足の telodendron と水平細胞との間に tight junction を認めた。2) 視細胞相互間のシナプス結合：杆状体小球、錐状体小足は、ときに Müller 細胞の介在を欠き、相互に陥入、tight junction などで結合する。また telodendron を介しての tight junction 結合をしばしば見た。3) 双極細胞または水平細胞を中心としたシナプス結合：外網状層内には、多数の conventional synapse や tight junction 結合を見る。ときに含顆粒小胞を含む終末が見られ、しばしば水平細胞胞体に終わっている。tight junction 結合は、水平細胞を中心としてよく発達する。

6. Müller 細胞は外網状層で多数の滑面小胞体を存在させるとともに細かく分岐し、外顆粒層内に進入上行し、外顆粒層最外側において閉鎖堤を形成した後、杆体・錐体層に多数のマイクロビリーを送る。閉鎖堤は連続して外境界膜を形成する。

稿を終えるにあたり、御指導と御校閲をいただいた本陣良平教授に感謝いたします。また、研究にあたつて御協力いただいた中村俊雄助教授、宮下鎮憲技官、写真部、電子顕微鏡室の神戸龍雄、吉田敏衛、西村竹治郎、増村幸吉、山口稔毅、島村俊夫、伊藤正人の諸氏に厚く御礼を申し上げます。

文 献

- 1) Schultze, M. : Arch. Mikrosk. Anat., 3, 215 (1867).
- 2) Román y Cajal, S. : La. Cellule, 9, 121 (1893).
- 3) Polyak, S. : The Vertebrate Visual System, Chicago, The University of Chicago Press, 1957.
- 4) Sjöström, F. S. : J. Cellul. Comp. Physiol., 42, 15 (1953).
- 5) Sjöstrand, F. S. : J. Cellul. Comp. Physiol., 42, 45 (1953).
- 6) De Robertis, E. : J. Biophys. Biochem. Cytol., 2, 319 (1956).
- 7) Ladman, A. J. : J. Biophys. Biochem.

- Cytol., 4, 459 (1958). 8) Cohen, A. I. : Amer. J. Anat., 107, 23 (1960).
- 9) Villegas, G. M. : J. Gen. Physiol., 43, suppl. 15 (1960). 10) Yamada, E. : J. Electron Micro. (Tokyo), 9, 1 (1960).
- 11) Nilsson, S. E. G. : J. Ultrastruct. Res., 10, 390 (1964). 12) Evans, E. M. : Z. Zellforsch., 71, 499 (1966) 13) Stell, W. K. : Amer. J. Anat., 121, 401 (1967).
- 14) Dowling, J. E. & Boycott, B. B. : Proc. Roy. Soc., B. 160, 80 (1968). 15) Dowling, J. E. : Proc. Roy. Soc., B. 170, 205 (1968).
- 16) Dowling, J. E. & Werblin, F. S. : J. Neurophysiol., 32, 315 (1969). 17) Honjin, R. : Cytol. Neurol. Stud., 9, 1 (1954). 18) Palade, G. E. : J. Exp. Med., 95, 285 (1952).
- 19) Dalton, A. J. : Anat. Rec., 121, 281 (1965). 20) Luft, J. H. : J. Biophys. Biochem. Cytol., 9, 409 (1961).
- 21) Watson, M. L. : J. Biophys. Biochem. Cytol., 4, 475 (1958). 22) Reynolds, E. S. : J. Biophys. Biochem. Cytol., 17, 208 (1963).
- 23) Sato, T. : J. Electron Micro. (Tokyo), 17, 158 (1968). 24) Trump, B. F., Smuckler, E. A. & Benditt, E. P. : J. Ultrastruct. Res., 5, 343 (1961).
- 25) Yoshida, E. : Jap. J. Ophth., 1, 13 (1961). 26) Dowling, J. E. & Gibbons, I. R. : J. Cell Biol., 14, 459 (1962).
- 27) Bairati, A. & Orzalesi, N. : J. Ultrastruct. Res., 9, 484 (1963). 28) Matsusaka, T. : Z. Zellforsch., 81, 100 (1967).
- 29) Porter, K. R. & Yamada, E. : J. Biophys. Biochem. Cytol., 8, 181 (1960). 30) 奥田観士 : 日眼会誌, 65, 2126 (1961).
- 31) Okuda, K. : Jap. J. Ophth., 6, 77 (1962). 32) Palay, S. L. & Palade, G. E. : J. Biophys. Biochem. Cytol., 1, 69 (1955).
- 33) 本陣良平 : 細胞化学シンボ, 5, 109 (1957). 34) Cravioto, H. : J. Comp. Neurol., 126, 453 (1966).
- 35) 本陣良平 : 解剖誌, 32, 89 (1957). 36) Ladman, A. J. : Anat. Rec., 139, 247 (1961).
- 37) Pedler, C. : Exp. Eye Res., 2, 296 (1963). 38) Cohen, A. I. : Biol. Rev., 38, 427 (1963).
- 39) De Robertis, E. & Lasansky, A. : The Structure of the Eye p. 29, New York, Academic Press, 1961. 40) Yamada, E. : Kurume med. J., 4, 127 (1957).
- 41) Brown, P., Gibbons, J. R. & Wald, G. : J. Cell Biol., 19, 79 (1963). 42) Nilsson, S. E. G. : J. Ultrastruct. Res., 11, 581 (1964).
- 43) De Robertis, E. & Franchi, C. M. : J. Biophys. Biochem. Cytol., 2, 307 (1956). 44) Sjöstrand, F. S. : J. Ultrastruct. Res., 2, 122 (1958).
- 45) Yamada, E. : Intracellular Membraneous Structure, p. 49, Japan Society for Cell Biology, Okayama, Japan, 1963. 46) Moody, M. F. & Robertson, J. D. : J. Biophys. Biochem. Cytol., 7, 87 (1960).
- 47) Cohen, A. I. : Invest. Ophthal., 3, 198 (1964). 48) Yasuzumi, G., Tezuka, O. & Ikeda, T. : J. Ultrastruct. Res., 1, 295 (1958).
- 49) Cohen, A. I. : Exp. Eye Res., 2, 88 (1963). 50) Berger, E. R. : J. Ultrastruct. Res., 17, 220 (1967).
- 51) Matsusaka, T. : J. Ultrastruct. Res., 18, 55 (1967). 52) 本陣良平 : 神経進歩, 6, 873 (1962).
- 53) Gray, E. G. : J. Anat., 93, 420 (1959). 54) 本陣良平・高橋 暁 : 細胞化学シンボ, 16, 59 (1966).
- 55) Yamada, E. & Ishikawa, T. : Sympos. Quant. Biol., 30, 383 (1965). 56) Yamada, E. : The Structure of the Eye, p. 73, New York, Academic Press, 1961.
- 57) Breathnach, A. S. & Wyllie, L. M. A. : J. Ultrastruct. Res., 16, 584 (1966). 58) Leach, E. H. : J. Roy. Micro. Soc., 82, 135 (1963).
- 59) Samarajaski, T., Ord, J. M. & Keefe, J. R. : J. Cell Biol., 28, 489 (1966). 60) Meyer, D. B. & Cooper, T. G. : Amer. J. Anat., 118, 723 (1966).
- 61) Morris, V. B. & Shorey, C. D. : J. Comp. Neurol., 129, 313 (1967). 62) Pedler, C. & Tilly, R. : Exp. Eye Res., 4, 370 (1965).
- 63) Pedler, C. & Tansley, K. : Exp. Eye Res., 2, 39 (1963). 64) Rosenbluth, J. : J. Cell., Biol. 12, 329 (1962).
- 65) Rosenbluth, J. : J. Cell

- Biol., 13, 405 (1962). 66) Smith, C. A. & Sjöstrand, F. S.: J. Ultrastruct. Res., 5, 523 (1961). 67) Cohen, A. I.: Exp. Eye Res., 1, 128 (1961). 68) Cohen, A. I.: J. Cell Biol., 37, 424 (1968). 69) Kidd, M.: J. Anat., 96, 179 (1962). 70) Dowling, J. E. & Boycott, B. B.: Sympos. Quant. Biol., 30, 393 (1965). 71) Lissman, H. W. & Mullinger, A. M.: Proc. Roy. Soc., B, 169, 345 (1968). 72) Lasansky, A.: J. Cell Biol., 40, 577 (1969). 73) Cohen, A. I.: J. Anat., 99, 595 (1965). 74) Hartline, H. K., Wagner, H. G. & Ratliff, F.: J. Gen. Physiol., 39, 651 (1956). 75) Hartline, H. K.: Science, 164, 270 (1969). 76) De Iraldi, A. P. & Etcheverry, G. J.: Z. Zellforsch., 81, 283 (1967). 77) Maturana, H. R. & Frenk, S.: Science., 150, 359 (1965). 78) Cowan, W. M. & Powell, T. P. S.: Proc. Roy. Soc., B, 158, 232 (1963). 79) Dowling, J. E. & Cowan, W. M.: Z. Zellforsch., 71, 14 (1966).

写 真 説 明

写真は、写真1を除き全て薄切片の電顕像である。スケールは、写真1では100 μ 、写真5は0.1 μ 、他は全て1 μ を示す。

Plate I

写真1 Azan 染色による光顕写真

上方は脈絡膜、その直下に網膜色素上皮を認める。以下、内境界膜にいたる網膜内の各層が認められる。杆体・錐体層内に、楕円形の錐状体細胞の ellipsoid 部が明示されている。 ×150

写真2 Bruch 膜と色素上皮の基底部

写真の下部に見える色素上皮細胞基底部から、多数のミクロビリヤ (MI) が、写真中央の Bruch 膜方向に突出している。上方には、脈絡膜毛細血管の内皮細胞および血管内腔 (CA) を見る。色素上皮細胞基底部にはグアニン顆粒 (G) が存在する。 ×13,000

写真3 色素上皮細胞の核とその周辺

核の周囲は、外側核膜に接して電子密度の極めて大なメラニン顆粒によりとり囲まれている。細胞質内にはグアニン顆粒 (G)、メラニン顆粒、ミト (矢印) など

が存在する。 ×10,000

写真4 色素上皮細胞内に見られた層板体構造

層板構造は限界膜により囲まれ、写真上部には層板構造の破壊像が見られる。 ×40,000

写真5 色素上皮細胞内に出現した結晶構造

結晶構造は1層の限界膜に囲まれ、内部に80Åの周期性の線維構造が見られる。写真左下方に小顆粒の集合体を見る。 ×93,000

写真6 色素上皮層内に見られる小型細胞

胞体は周囲の色素上皮細胞に比し暗調を呈し、Golgi 体、ミト、メラニン顆粒類似の顆粒を含むがグアニン顆粒を欠く。 ×7,000

Plate II

写真7 杆状体細胞外節部

rod sacs は約320Åの周期で堆積し、全体は細胞限界膜によって囲まれている。rod sacs の外側端は断面で球状の膨大を示す。左方には他の杆状体細胞の内節部とそれが含むミトが見られる。 ×33,000

写真8 錐状体細胞外節部

cone sacs は rod sacs と異なり、内節部から続く細胞膜の折れ込みからなり、全体は限界膜に包まれることなく、外部の組織腔に開放されている。左方には内節より伸びる calycal process (CAP) が見られる。 ×33,000

写真9 外境界膜部の断面

Müller 細胞の突起 (M) は、外顆粒層上端で視細胞または他の Müller 細胞との間に閉鎖堤を形成した後、杆体・錐体層に向けてミクロビリヤ (MI) を出す。閉鎖堤は一列に並び外境界膜を構成する。 ×10,000

写真10 双生錐体の核と subsurface cistern

双生錐体の核部の最下方では、Müller 細胞との間に閉鎖堤が見られる (矢印)。双方の細胞の細胞質内に、細胞膜に沿って核部より内節部上行する subsurface cistern (SC) が見られる。錐状体細胞の内節には、細線維の発達が著しい。 ×12,000

写真11 needle like process (NP) と subsurface cistern (SC)

双生錐体の非接合面から放射状の翼状構造として突出した needle like process は、ゆるやかに彎曲しながら、この場合、杆状体細胞 (R) の間へ伸長する。process 内には subsurface cistern が先端部にまで発達する。subsurface cistern は太い突起の部分では、細胞膜に沿って位置する。左方には、Müller 細胞のミクロビリヤ (M) が見られる。

×33,000

Plate III**写真12** 錐状体小足

小足内には多数のシナプス小胞とシナプスリボン(SR)が見られる。下方から多数の dendrites が分岐しつつ進入し、シナプスリボンの部位で2個の水平細胞 dendrites (H) と双極細胞由来と思われる1個の dendrite (B) により triad が形成される。水平細胞 dendrites には特異な膜肥厚が見られ、また、dendrite 内にはシナプス小胞様の小胞が存在する(矢印)。

×23,000

写真13 杆状体小球

小球内には多数のシナプス小胞と1本のシナプスリボン(SR)が存する。シナプスリボン先端では、3個の dendrites 断面により triad が形成され、シナプスリボンは arciform density を介して triad に相対している。また dendrite と小球の限界膜の間にデスマゾーム構造を見る(矢印)。

×23,000

写真14 杆状体小球

triad の中心に位置する大型双極細胞由来と思われる dendrites 内に、多数のシナプス小胞類似の小胞を見る。

×23,000

写真15 錐状体小足におけるシナプスリボンと arciform density

シナプスリボンは、電子密度大な2層とそれらに挟まれた電子密度小な1層の3層からなる。リボンの先端には arciform density (矢印) が存し、またリボンとリボンに沿って並ぶシナプス小胞の間には、電子密度大な物質の存在を認める。

×67,000

Plate IV

写真16 杆状体小球と大型双極細胞 dendrite とのシナプス

大型双極細胞 (LB) の dendrite が直接杆状体小球内へ進入している像が見られる。

2個の杆状体小球は一部で Müller 細胞の介在を欠き直接する(矢印)。また右方の杆状体小球には telodendron が tight junction を形成している(矢印)。

×19,000

写真17 水平細胞体上のシナプス

シナプス小胞、ミトを含む神経終末が、外網状層内において水平細胞体 (H) に終わっている。シナプス小胞のシナプス膜への集簇を矢印で示す。

×23,000

写真18 外網状層内の顆粒性シナプス

顆粒性シナプス小胞を含む神経終末が、水平細胞体 (H) に終わっている。矢印はシナプス小胞の集簇を示す。

×23,000

写真19 水平細胞体の一部に見られるシナプス

水平細胞体 (H) にシナプス小胞の集簇が見られ、他のノイロンとの間にシナプス結合が認められる(矢印)。

×23,000

写真20 錐状体小足由来の telodendron 同志間の tight junction

外網状層内では、錐状体小足由来の telodendron 同志が、しばしば tight junction 結合をしている(矢印)。

×23,000

写真21 水平細胞 dendrite の球状陥凹

錐状体小足へ水平細胞 dendrite (H) が接し、デスマゾームを形成するとともに球状陥凹を示す(矢印)。

×23,000

Abstract

The fine structure of the crucian carp (*Carassius carassius*) retina was studied by light and electron microscopies. The results were summarized as follows.

1. The pigment epithelial cells extend many microvilli toward the Bruch's membrane and have a desmosome structure at the level of nuclei. They contain melanin granules, guanine granules, lipid inclusions and crystal-like inclusions. The nucleus is surrounded by many melanin granules lying along the outer nuclear membrane.

2. There is found a special cell which differs from the ordinary pigment epithelial cell in the appearance of melanin granules, mitochondria, etc.

3. Three types of photoreceptors, rod, single cone and twin cone are found. The ellipsoid of the cone has large mitochondria filled with many complex cristae. The inner segments of both the rod and the cone extend the calycal processes along their outer segment. The calycal process of the rod does not contact directly with the lamellae of the outer segment, while the base of the calycal process of the cone is connected directly with the cone outer segment.

At the level of the nucleus and the inner segment of the twin cone, there are many needle-like processes which are wing-like projections arranged radially along the long axis of the twin cone. At this level the subsurface cisterns are found along the limiting membrane of the twin cone.

The synaptic terminals of the photoreceptors are found in the outer plexiform layer. They contain many synaptic vesicles and synaptic ribbons but not a mitochondrion. The terminals are generally separated from each other by the processes of Müller cells.

At the vitread pole of the terminal, many dendrites enter into the terminal to form fine branches in it. The terminal itself extends telodendrons.

4. There are found many synaptic contacts in the outer plexiform layer as follows.

i) Synaptic contacts between the photoreceptor and the bipolar and horizontal cells.

The large bipolar cell sends its dendrites into both the rod spherule and the cone pedicle. The horizontal cell sends its dendrites into the cone pedicles to form a triad near the synaptic ribbon, as a synaptic complex. In the triad of the cone pedicle the lateral elements appear to be dendrites from the horizontal cell because of special thickening in their limiting membrane. Vesicles similar to the synaptic vesicles are found in the dendrites of the large bipolar and horizontal cells.

ii) Synaptic contacts between the photoreceptors.

Sometimes the photoreceptor terminals are in contact with each other by invaginations and tight junctions without mediation of the Müller cell processes. Telodendrons of the photoreceptor terminals run toward the neighbouring photoreceptor terminal and touch its outer surface. The telodendron-telodendron contacts are also frequently seen.

iii) Synaptic contacts among the bipolar and horizontal cells.

In the outer plexiform layer, there are many conventional synapses which have clustered synaptic vesicles and pre- and postsynaptic membranes. Sometimes they contain granulated vesicles. The horizontal cell and the telodendron of the photoreceptor terminal frequently form tight junction with dendrites of the other neurons.

5. In the outer plexiform layer, the Müller cell has smooth surfaced endoplasmic reticulum in a compact form. The Müller cell forms many fine branches among the photoreceptors particularly in the outer half of the outer plexiform layer. At the outermost of the outer granule layer, the Müller cells form a terminal bar which assumes the outer limiting membrane, then they send many microvilli into the layer of rods and cones.

Plate I

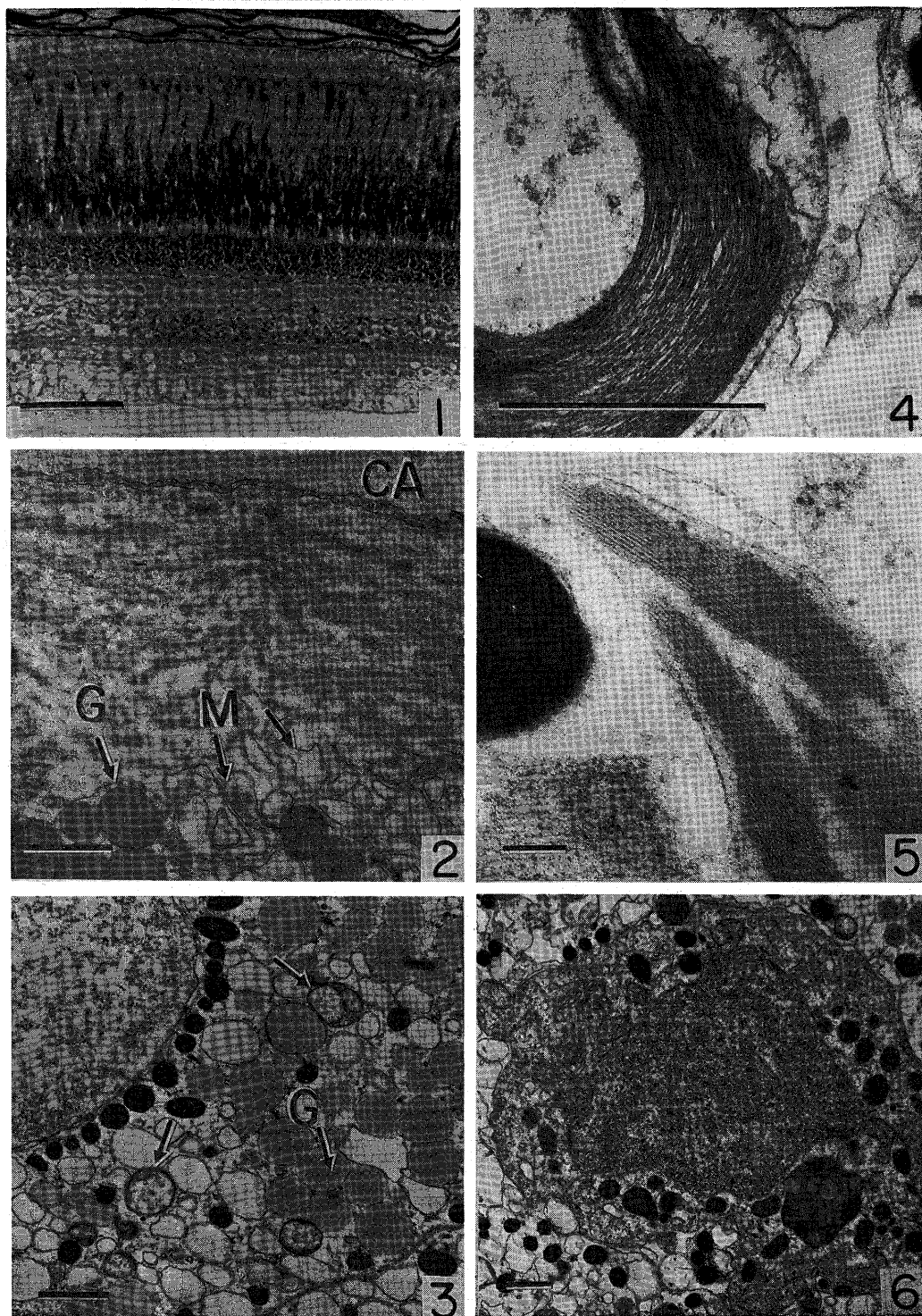


Plate II

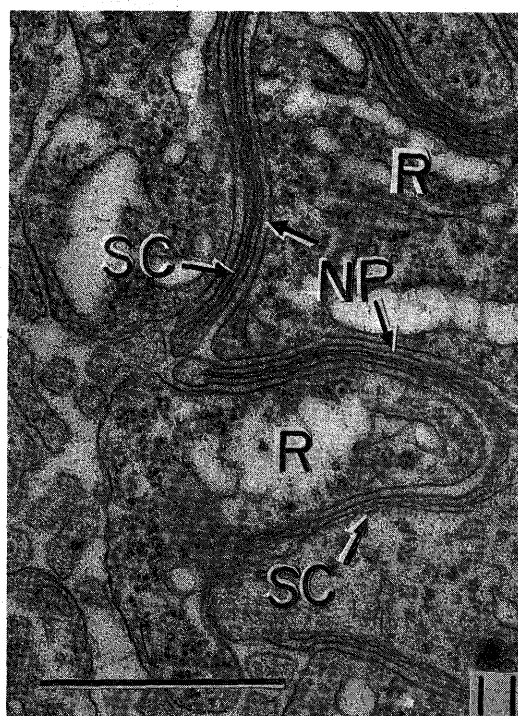
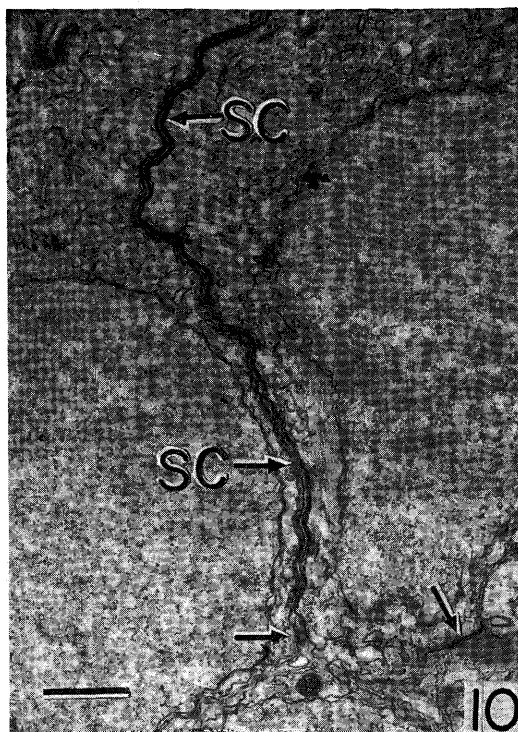
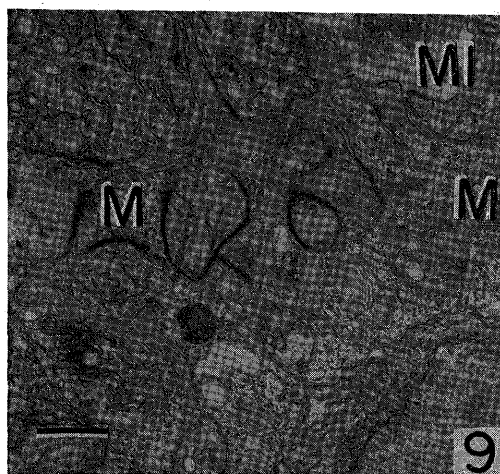
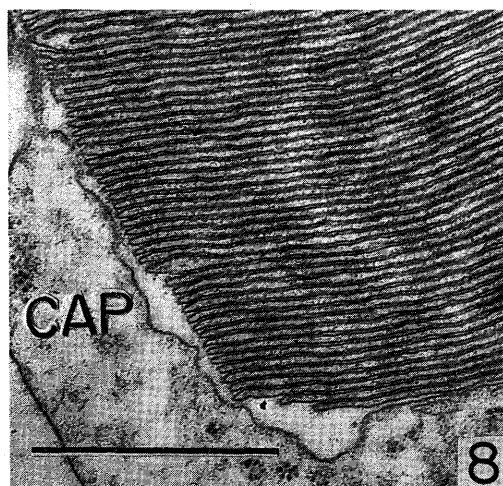
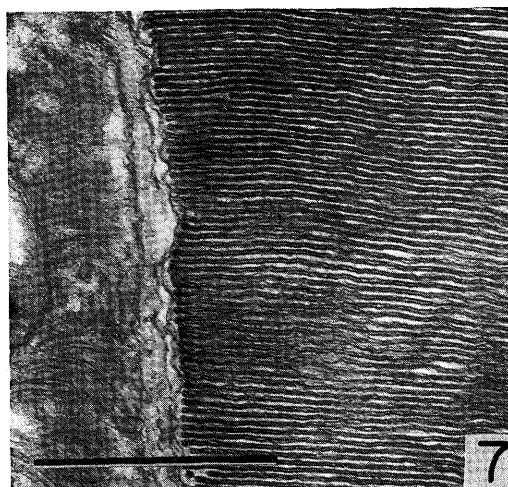


Plate III

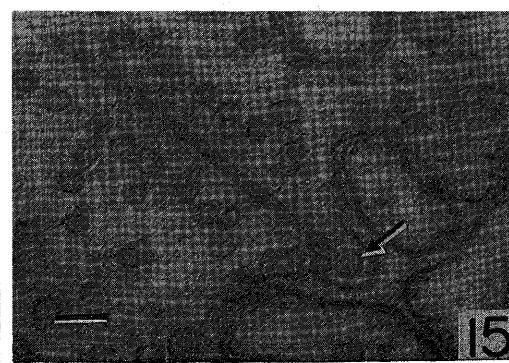
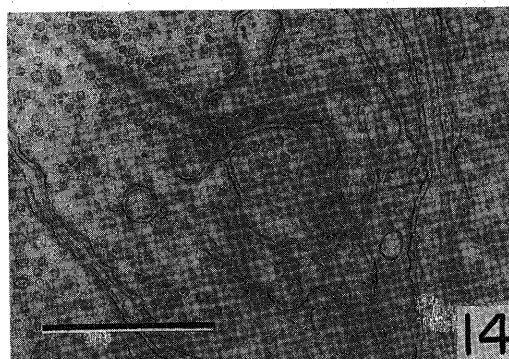
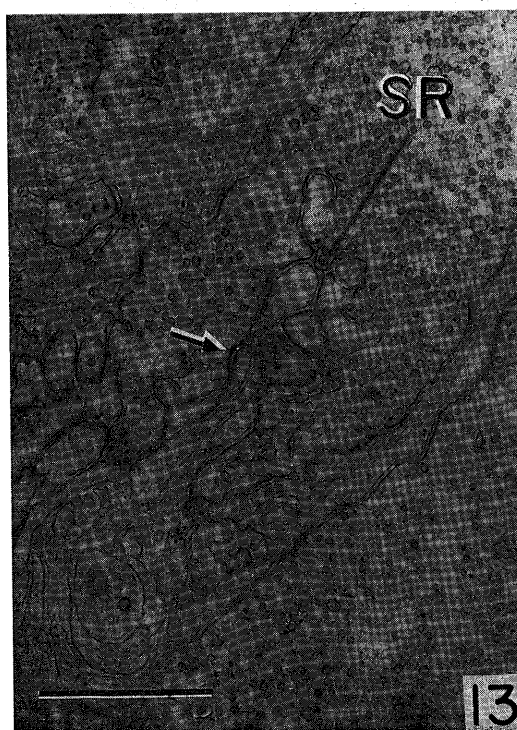
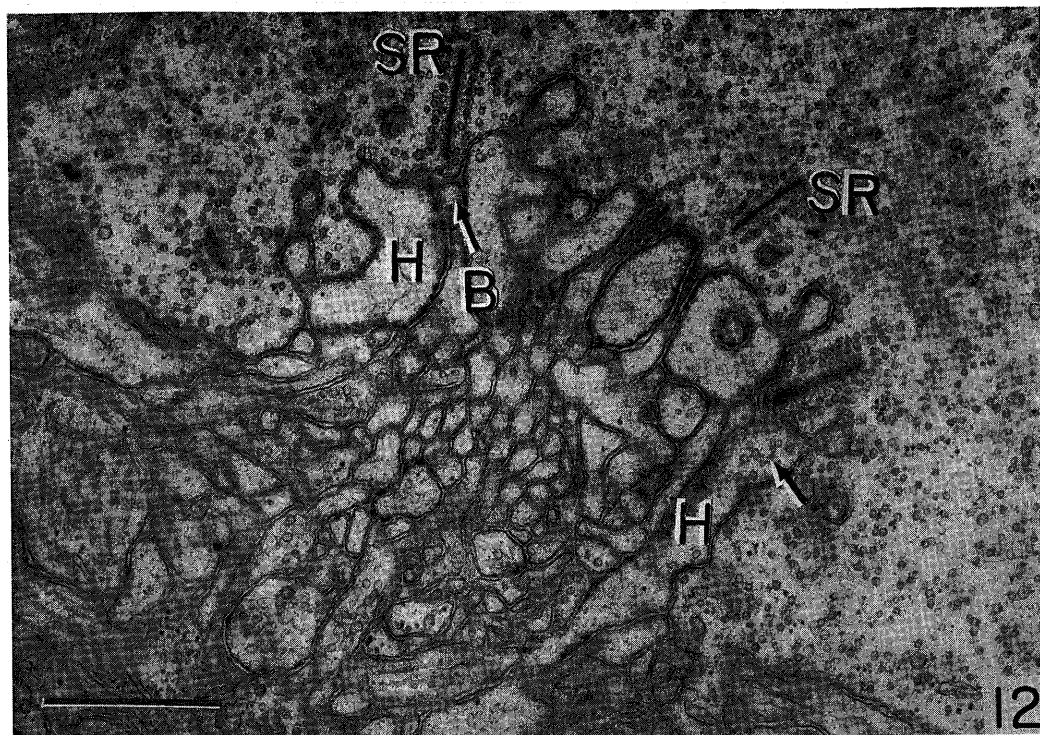


Plate IV

