

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 20 日現在

機関番号：13601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462727

研究課題名(和文) 上眼瞼ミュラー筋の構造的特徴と刺激伝達機能に関する組織化学的研究

研究課題名(英文) Histological study for structural aspects and stimulus conducting function in the supratarsal Mueller's muscle of the eyelid

研究代表者

杠 俊介 (YUZURIHA, Shunsuke)

信州大学・学術研究院医学系・教授

研究者番号：10270969

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：ミュラー筋は眼瞼縁に存在する平滑筋組織である。同筋は交感神経刺激により収縮する。同筋は上眼瞼を挙上する筋であるとともに、骨格筋で動眼神経支配である上眼瞼挙筋を収縮させる機械刺激受容器官としても働いている。本研究では、眼瞼ミュラー筋は血管や膀胱と同じ中胚葉由来平滑筋細胞で構成されること、その平滑筋の間にはギャップ結合が存在すること、およびその平滑筋組織内には、 $\beta_2$ を除いて、 $\beta_1$ 、 $\alpha_2$ 、 $\alpha_1$ の順でアドレナリン受容体が強く発現していることを組織学的に証明した。

研究成果の概要(英文)：Mueller's muscle is a smooth muscle tissue on the margin of eyelid. It is contracted by stimulation of the sympathetic nerve. It is not only one of the muscle elevating upper eyelid but also a mechanoreceptor in order to contract the levator palpebral muscle which is a main eye opening skeletal muscle innervated by oculomotor nerve. In this histological study, we found that Mueller's muscle was composed of smooth muscles originated from mesoderm like blood vessels and urinary bladder, and that there were some types of gap junctions between the smooth muscles. Some types of adrenergic receptors except  $\beta_2$  were found in the smooth muscle tissues in the order of  $\beta_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\alpha_1$ .

研究分野：形成外科学

キーワード：眼瞼 ミュラー筋 アドレナリン受容体 交感神経 眼瞼下垂症 眼瞼内反症 ビメンチン

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 上眼瞼ミュラー筋の平滑筋線維の間の結合組織には求心性神経である有髄の三叉神経固有感覚神経線維が存在し、ミュラー筋は機械受容器の役割をなしている。

(2) 上眼瞼ミュラー筋の機械受容器が伸展されると、上眼瞼挙筋の遅筋や前頭筋の遅筋が反射的に収縮し開瞼が無意識に維持される。

(3) 上眼瞼ミュラー筋の組織像を見ると、多数の平滑筋細胞が密接したグループを形成し、結合組織で分断されたグループが多く集まってミュラー筋となっている。

(4) 平滑筋線維一本一本に無髄の交感神経線維が遠心性に神経支配しているわけではなく、その神経線維の分布はまばらである。

(5) 消化管や膀胱に存在するカハール介在細胞が上眼瞼ミュラー筋内にも存在し、ミュラー筋緊張状態の制御にカハール介在細胞が働いているらしい。

(6) 平滑筋は下記 2 つのタイプに分類されている。

1) Multi-unit smooth muscle 複合単位平滑筋

- ・独立分離した筋線維からなる
- ・筋線維表面は基底膜様のコラーゲンや糖タンパクで構成された薄い膜に覆われる
- ・骨格筋線維のように各筋線維が単一の神経終板で支配されている
- ・制御は主に神経信号
- ・眼球の毛様体筋、虹彩筋、立毛筋

2) Unitary smooth muscle 単体平滑筋

- ・1 つの単体として一緒に収縮する数百数千もの平滑筋線維の集合体
- ・1 本の筋線維に発生した収縮は隣接した筋線維に波及
- ・細胞間の細胞膜はギャップ結合で接合されている
- ・合胞体平滑筋とも呼ばれている
- ・腸管、胆管、尿管、子宮、血管など内臓の器官壁 (内臓平滑筋)

(7) 虹彩の瞳孔散大筋や瞳孔括約筋は眼杯の神経外胚葉に由来し、これらの平滑筋は上皮細胞が平滑筋細胞へ転換してできているが、通常の平滑筋細胞は間葉系の中胚葉から発生する。

(8) ミュラー筋が、どちらの平滑筋タイプに属しているか、またどのような細胞に由来しているのかはわかっていない。

(9) ミュラー筋の緊張制御にどのような刺激伝達物質が働き、どのようなレセプターが発現しているかはまだ不明な点が多い。

## 2. 研究の目的

(1) ミュラー筋平滑筋細胞同士あるいはその周囲のカハール介在細胞や神経細胞との間にギャップ結合 (各種コネクシン) が存在するかどうかを検証すること。

(2) ミュラー筋が外胚葉由来 (サイトケラチン陽性) か中胚葉由来 (ビメンチン陽性) かを明らかにすること。

(3) ミュラー筋内で刺激の伝達に働いている主な交感神経のレセプターはいずれの型 (1、2、1、2 など) かを明らかにすること。

## 3. 研究の方法

5 個の正常上眼瞼組織 (年齢  $82.6 \pm 6.2$  歳) および 7 個の正常下眼瞼組織 (年齢  $81.8 \pm 6.8$  歳) から連続切片を作成した。

機械刺激受容チャネル (TRPV1, TRPV2, TRPV4, TRPV6)、ギャップ結合 (Cx32, Cx36, Cx43, Cx45)、カハール介在細胞 (cKit)、アドレナリン受容体 AR (1, 2, 1, 2)、細胞骨格 (ビメンチン、サイトケラチン、平滑筋アクチン)、神経線維 (S100, TH: tyrosine hydroxylase) に対する抗体を一次抗体とした免疫組織化学染色を行った。

## 4. 研究成果

ミュラー筋平滑筋細胞に発現していたものは、TRPV2、TRPV4、TRPV6、Cx32、Cx36、Cx43、AR 1、AR 2、AR 1、ビメンチン (図 1)、平滑筋アクチン。ミュラー筋組織内に、cKit 陽性細胞、多くの S100 陽性神経線維、疎らな TH 陽性神経線維を認めた。

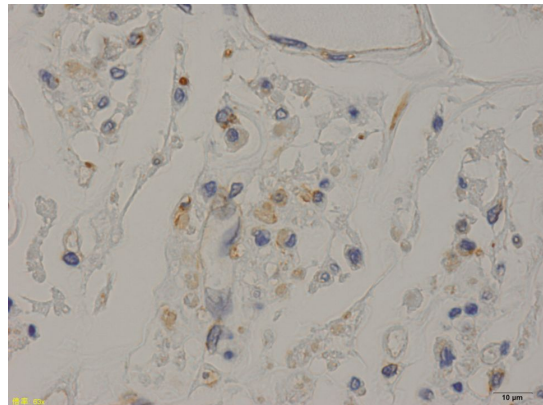


図 1. ビメンチン

TRPV1、Cx45、AR 2、サイトケラチン (図 2) は陰性であった。

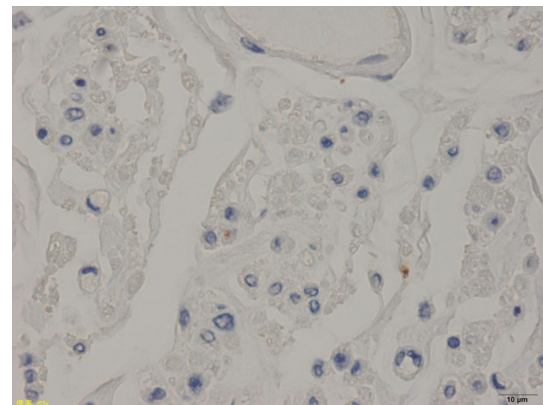


図 2. サイトケラチン

ミュラー筋平滑筋組織内には、1 と 2 (図 3) の受容体が強く発現していた。1 (図 4) はそれらに次いで発現していた。2

の発現は見られなかった。涙腺組織内にある太い涙腺神経束には、1, 2, 1の順で神経線維が密に存在した。

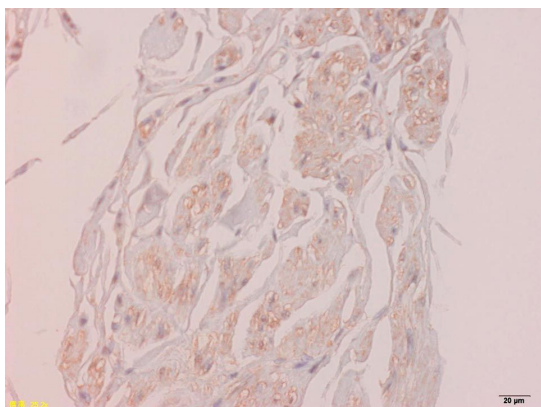


図3. アドレナリン 2受容体

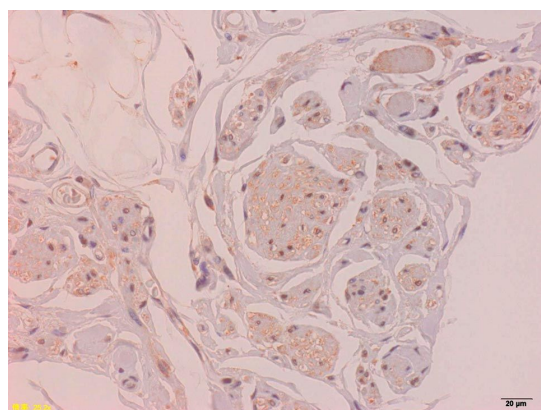


図4. アドレナリン 1受容体

以上の結果より、以下のように考察した。  
上眼瞼に比べ下眼瞼のミューラー筋組織は小さいが、神経受容体の組成は同様であった。  
眼瞼ミューラー筋は血管や膀胱と同じ中胚葉由来平滑筋細胞で構成される。その平滑筋同士はギャップ結合で刺激が伝達される。ミューラー筋内には有髄神経が多く分布する一方、交感神経節後線維はわずかである。平滑筋細胞の間隙には他の内臓平滑筋同様にカハール介在細胞が存在し神経末端と平滑筋細胞の間の刺激伝達に寄与している。ミューラー筋平滑筋にはアドレナリン 1 他受容体が分布する。ミューラー筋平滑筋には機械刺激受容チャネルが存在する。眼瞼に加えられた進展や温度などの機械刺激はミューラー筋平滑筋細胞膜上のチャネルを開き、細胞内カルシウムイオン濃度を上昇させ、ミューラー筋を収縮させると考える。  
眼瞼組織において、アドレナリン受容体は、涙腺組織、ミューラー筋、結膜組織、血管壁などいたるところに、それぞれのサブタイプが異なる組成で存在していた。上下眼瞼のミューラー筋は機械刺激受容器官であるとともに、その緊張弛緩の状況により、眼瞼下垂症や眼瞼内反症、眼瞼痙攣など眼瞼に様々な病態を引き起こす可能性がある。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

伴緑也、松尾清、杠俊介、伴碧、下眼瞼内反症、形成外科、査読有、59巻、2016、12-19

Matsuo K、Ban R、Hama Y、Yuzuriha S、Eyelid opening with trigeminal proprioceptive activation regulates a brainstem mechanism、PLoS One、査読有、10巻、2015、e0134659、doi: 10.1371/journal.pone.0134659. eCollection 2015.

[学会発表](計4件)

松尾清、まぶたは視野の維持だけでなく、青斑核を刺激して覚醒・筋緊張・交感神経緊張を制御するために開けている、日本形成外科学会総会・学術集会、2016年4月13-15日、福岡国際会議場(福岡市)

Ban R、Aponeurotic blepharoptosis repair for Japanese patients、日本形成外科学会総会・学術集会、国際美容外科学会合同シンポジウム、2016年4月13-15日、福岡国際会議場(福岡市)

杠俊介、涙腺神経およびミューラー筋における交感神経アドレナリン受容体サブタイプの発現様式に関する組織化学的研究、日本形成外科学会基礎学術集会、2015年10月8-9日、岩手県民会館(盛岡市)

杠俊介、眼瞼ミューラー筋組織はどのように物理刺激を受容して伝達し開瞼を調節するのか 組織化学的検討、日本形成外科学会基礎学術集会、2014年10月9-10日、キッセイ文化ホール(松本市)

[図書](計1件)

杠俊介、南山堂、後天性眼瞼下垂症、TEXT形成外科学 改訂3版、2017、425(291-293)

## 6. 研究組織

(1)研究代表者

杠俊介(YUZURIHA, Shunsuke)  
信州大学・学術研究院医学系・教授  
研究者番号: 10270969

(2)研究分担者

松尾清(MATSUO, Kiyoshi)  
信州大学・医学部・特任教授  
研究者番号: 20135156

伴緑也(BAN, Ryokuya)

信州大学・学術研究院医学系(医学部附属病院)・講師  
研究者番号: 30447784

柳澤 大輔 (YANAGISAWA, Daisuke)  
信州大学・医学部附属病院・助教 (特定雇用)  
研究者番号 : 40646527

常川 主裕 (TSUNEKAWA, Kazuhiro)  
信州大学・医学部附属病院・助教 (特定雇用)  
研究者番号 : 30625778  
(平成 26 ~ 27 年度)

大畑 えりか (OHATA, Erika)  
信州大学・医学部附属病院・助教 (診療)  
研究者番号 : 60625789  
(平成 26 ~ 27 年度)

西岡 宏 (NISHIOKA, Hiroshi)  
信州大学・医学部附属病院・助教 (診療)  
研究者番号 : 50721023  
(平成 26 年度)

(3) 連携研究者  
なし

(4) 研究協力者  
なし