

科技部補助

大專學生研究計畫研究成果報告

* ***** *
* 計畫名稱：加速老化小鼠模式與抗加速老化組在視網膜變化的特性分析 *
* ***** *

執行計畫學生：王丹鳳
學生計畫編號：MOST 103-2815-C-040-056-B
研究期間：103年07月01日至104年02月28日止，計8個月
指導教授：張菡馨

處理方式：本計畫涉及專利或其他智慧財產權，2年後可公開查詢

執行單位：中山醫學大學營養學系（所）

中華民國 104年04月01日

加速老化小鼠模式與抗加速老化組在視網膜變化的特性分析

一.摘要：

在這個醫療環境發達的時代，隨著人們的壽命延長，許多老化相關疾病也逐漸受到重視，其中包含了眼睛黃斑部的老化。而在老化的研究當中，1970年東京大學的教授所發展出來加速老化小鼠 (Senescence-Accelerated Mouse Prone-8; SAMP8)的動物模式，已被大量運用在探討老化相關的疾病研究上。然而，目前利用該系列的小鼠比較其在視網膜老化過程中差異的相關研究尚未有完整的報告。因此，希望能藉由這個計畫比較加速老化小鼠與抗加速老化組(SAMR1)兩者視網膜的老化狀況。首先分別取得3、6、9個月大的SAMP8及SAMR1小鼠的眼睛組織，將其固定、脫水、包埋後，進行病理組織切片，搭配蘇木紫—伊紅染色，觀察這兩種小鼠在視網膜型態上的差異性，包含視網膜贅疣結節數量、視網膜個別細胞層厚度、整體視網膜厚度以及外核層細胞顆粒數等。本計畫的結果將顯現SAMP8及SAMR1小鼠兩者視網膜老化的差異性，可幫助視網膜老化相關研究的發展，同時在未來視網膜老化相關疾病的預防或是治療上，將可以提供一個具有基礎的研究模式。

關鍵字：SAMR1、SAMP8、視網膜、老年性黃斑部病變

二.研究動機與研究問題：

依據文獻指出，目前 senescence-accelerated mouse (SAM) 系列的衰老模式小鼠分別包含了九種加速老化小鼠(SAMP)以及三種抗加速老化小鼠(SAMR)，且這些小鼠大多數被應用在老化相關病理表現的探討上，如：抗加速老化系列的小鼠，目前的相關研究著重於淋巴系統以及卵巢腫瘤上；而加速老化系列的小鼠則是針對骨質疏鬆、聽覺跟記憶力退化以及神經性退化性疾病等研究[1]。至於眼睛相關的文獻，目前在NCBI Pubmed上僅找到三篇，分別是研究SAM系列小鼠血腦障壁及眼睛、耳朵神經細胞的老化情形[2]、研究加速老化小鼠視網膜超氧化物歧化酶的表現[3]，以及探討加速老化小鼠的老化機制[4]，但其資訊均十分片段且不完整。

因此，本計畫是希望能利用SAMR1及SAMP8兩種小鼠去探討兩者在視網膜老化過程中細胞結構與族群的變化。在經過九個月的飼養、犧牲後，觀察牠們視網膜組織型態的改變，並進一步探討老化過程中，視網膜細胞蛋白表現等，以探討視覺功能退化的可能機制。

三.文獻回顧與探討：

(A) 衰老模式小鼠：

衰老模式小鼠(Senescence-Accelerated Mouse; SAM)是 1970 年京都大學的研究團隊，藉由 AKR/J 品系選擇性近親繁殖而來。目前，已發展出 12 種品系，包含 9 種加速老化品系(Senescence-Accelerated Mouse; SAMP)以及 3 種抗衰老品系(Senescence-Accelerated Mouse resistant; SAMR)。以下是各個品系與其相對應之研究[1]。

Summary of the characteristics of different substrains of SAMP model

Strain	Characteristics
SAMP1	Senile amyloidosis, impaired immune system, impaired auditory system, retinal atrophy, hypertensive vascular disease, contracted kidney, pulmonary hyperinflation
SAMP2	Senile amyloidosis, impaired immune system
SAMP3	Degenerative arthrosis
SAMP6	Senile osteoporosis
SAMP7	Senile amyloidosis, thymoma
SAMP8	Age-related learning and memory deficits, anxiety, impaired immune system, age-dependent deposition of amyloid β -peptide
SAMP9	Age-related cataracts
SAMP 10	Brain atrophy, age-related learning and memory deficits, age-related depression
SAMP11	Age-related thickening of tunica media of thoracic aorta, senile amyloidosis, contracted kidney
SAMR1	Normal aging with non-thymic lymphoma, histiocytic sarcoma and ovarian cysts
SAMR4	Normal aging with non-thymic lymphoma, histiocytic sarcoma, no ovarian cysts
SAMR5	Normal aging with colitis

[表一]圖表來源: Experimental Gerontology 40 (2005) 774–783

(B) 加速老化小鼠(Senescence-Accelerated Mouse Prone; SAMP)：

加速老化小鼠目前總共有 9 種不同的系列，分別有 SAMP1、SAMP2、SAMP3、SAMP6、SAMP7、SAMP8、SAMP9、SAMP10、SAMP11。SAMP8 小鼠的平均壽命約 12.1 個月，在組織病理學的研究中發現，SAMP8 在老化過程中大腦組織會有海綿樣病變，腦幹會有星狀膠質細胞聚集的現象，另外血腦障壁的功能也隨著老化而受到影響[5]；另外 SAMP8 小鼠也被應用在老化相關的學習、記憶能力衰退的研究上[6]，因此 SAMP8 在神經性退化性疾病的研究上是個很好的動物模式。而目前 SAMP8 小鼠的研究方向主要與阿茲海默症有關[7]，相較於此，視網膜老化在 SAMP8 小鼠上的相關研究就變得少之又少。

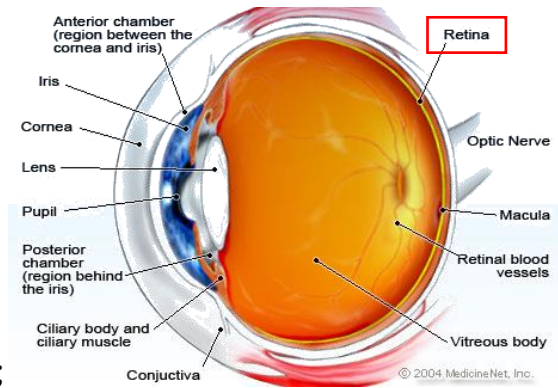
(C) 抗加速老化小鼠(Senescence-Accelerated Mouse resistant; SAMR)：

抗加速老化小鼠主要是作為加速老化小鼠(Senescence-Accelerated Mouse Prone; SAMP)的對照，目前共分成 3 種不同的系列，包含了 SAMR1、SAMR4 跟 SAMR5。SAMR 小鼠的壽命與 C57BL、CBA 等壽命較長的小鼠相近，平均壽命約 18.9 個月。而有研究指出，SAMR 小鼠與 SAMP 小鼠相比，其在老化疾病的發

展較慢且較晚，目前的發現主要與淋巴瘤或是子宮囊腫的形成有關[8, 9, 10]。此外，SAMR1 小鼠模式在視覺老化相關的研究也十分稀少。

(D) 視網膜基本結構與功能：

人的眼睛結構可分為眼球、眼瞼、淚器等結構。眼球為一橢圓狀結構，其解剖構造可分為結膜(conjunctia)、角膜(cornea)、鞏膜(sclera)、視網膜(retina)、虹膜(iris)、水晶體(lens)、玻璃體(vitreous body)、視神經(optic nerve)及脈絡膜(choroid)等(圖一)；其中視網膜是眼球壁中最內層的組織，外層與脈絡膜的布克氏膜(Bruck's membrane)緊密接觸，內層

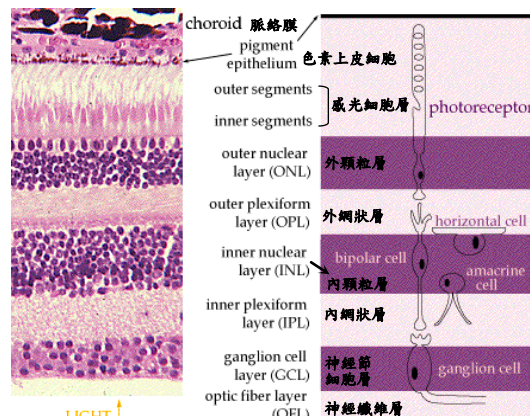


圖一、眼球結構
來源：http://www.medicinenet.com/image-collection/eye_anatomy_detail_picture/picture.htm

則與玻璃體相接，後部於視神經乳突緣與視神經相交，前部在鋸狀緣與結狀體相接[11]，佈滿感光細胞及神經纖維，血液是由脈絡膜與網膜小動脈所供應，其中心區域稱為黃斑部(macula lutea)，含有大量圓錐細胞，而視網膜的周邊則富含感狀細胞[12]。

其中視網膜是由胚層中的神經外胚層所發展而來，從第五周起會開始色素化，之後形成布克氏膜的內層，然後繼續發育各種神經細胞和神經纖維，如：桿狀、錐狀細胞、雙極細胞等，最後再發展黃斑部並成熟[13]。

視網膜是一種高度神經化的構造，傳入眼睛的光線刺激必定會經過視網膜的感光細胞將其轉變為神經脈衝後，在經由視神經傳回大腦枕部以形成視覺。而依照組織學的角度，從脈絡膜開始可將視網膜分成十層(圖二)，依序為：網膜色素上皮層(retinal pigment epithelium, RPE)、感光細胞層(rods and cones)、外境界層(outer limiting membrane)、外顆粒層(outer nuclear layer)、外網狀層(outer plexiform layer)、內顆粒層(inner nuclear layer)、內網狀層(inner plexiform layer)、神經節細胞層(ganglion cell layer)、神經纖維層(nerve fiber layer)及內境界層(internal limiting membrane)，



圖二、視網膜結構：由上至下為脈絡膜到神經纖維層
來源：<http://www.biologymad.com/nervoussystem/eyenotes.htm>

其中從感覺神經層開始到內境界層又可統稱為感覺視網膜層 (neurosensory retina)。以下為各層的基本介紹[14]：

視網膜組織學構造		
網膜色素上皮層	網膜色素上皮層	由單一層細胞組成，可形成血液—視網膜屏障，並可主動運輸養分及代謝廢物。
感覺視網膜	感光細胞層	分為錐狀細胞及桿狀細胞。錐狀細胞主要分布在黃斑部，負責辨識亮度及顏色；桿狀細胞分布於周邊，主要功能則是作為暗適應及周邊視力。
	外境界層	由 Muller 細胞所構成，位於感光細胞內節與細胞和之間。
	外顆粒層	感光細胞的神經元所在處。
	外網狀層	感光細胞的軸突及雙極細胞的突觸相接處。
	內顆粒層	水平細胞、雙極細胞等的細胞體。
	內網狀層	雙極細胞的軸突與神經節細胞相接處。
	神經節細胞層	神經節細胞體所在處，一個神經節細胞會對應到一個錐狀細胞或是數個桿狀細胞。
	神經纖維層	神經節細胞突觸聚集而成。
	內境界層	由 Muller 細胞基底膜所形成，與玻璃體相接。

(E)老化視網膜疾病

在老化過程中，視網膜最容易發生病變的位置是黃斑部，即老年性黃斑部病變(Age-Related Macular Degeneration, AMD)。老年性黃斑部病變是人類黃斑部的感光細胞、色素上皮細胞、脈絡膜微血管層等因退化而引起的病變，是西方人超過 60 歲視力不可逆喪失的主要原因，而根據先前國內台北榮總及陽明大學共同研究的統計，老年性黃斑部病變在台灣的盛行率也有 11.1% [15]。其惡化原因主要是由於色素上皮細胞萎縮、產生贅疣結節(drusen)，或是併發網膜下血管新生，在臨床上疾病類型可依照細胞是否有發生萎縮或是血管新生情形，區分成乾性(地圖樣萎縮)與濕性(血管新生)兩種[16]。

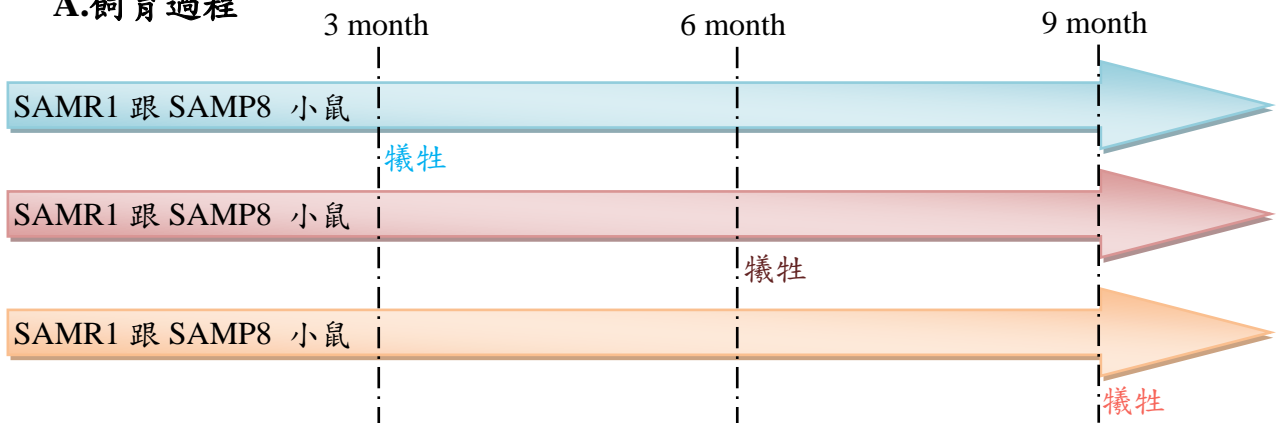
乾性老年性黃斑部病變約佔 90%，其眼底可見視網膜色素上皮細

胞及脈絡膜微血管有萎縮的現象或是色素性變化，其中還包含贅疣結節的堆積，而其視力退化的狀況較緩慢漸進且較輕微。

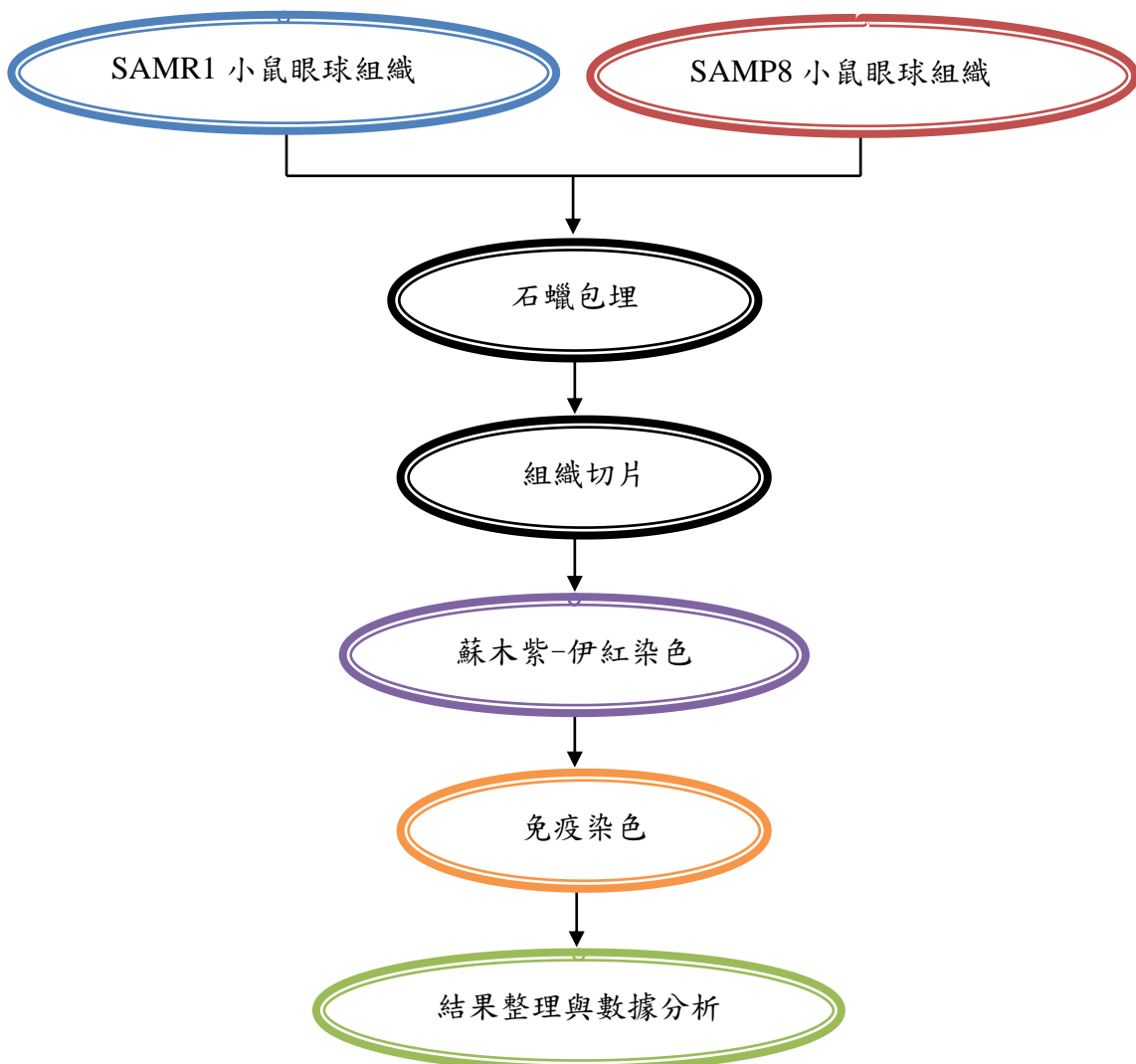
濕性老年性黃斑部病變則佔 10%，相較於乾性病變會造成急速且嚴重的中心視力喪失，其眼底的變化包含(1)視網膜色素上皮細胞有剝離的現象、(2)脈絡膜新生血管病穿越布克氏膜，甚至進入色素上皮細胞下或網膜下的空隙、(3)視網膜下有出血或是黃斑部處有積水等現象[17]。

四.研究方法與步驟：

A.飼育過程



B.實驗流程



C. 實驗材料及處理

我們這次使用抗加速老化組小鼠(SAMR1)與加速老化小鼠(SAMP8)做為實驗動物，實驗時間為期 9 個月，待實驗結束後將小鼠犧牲並摘取眼球器官。

D. 眼球摘取與後續處理

在犧牲後我們沿著眼窩摘取小鼠的整顆眼球，之後用生理食鹽水將表面髒污及血液稍微清洗後立即放入固定液中，之後進行脫水、包埋，然後再以病理組織切片的方式收取整顆眼球的組織切片，以後之後的染色及分析。

E. 染色及數據分析

首先我們挑選有視神經頭的組織玻片進行蘇木紫－伊紅染色，初步觀察抗加速老化組小鼠(SAMR1)與加速老化小鼠(SAMP8)的視網膜結構是否有差異性，如：整體視網膜厚度、外顆粒層厚度、感光細胞層厚度等。因為內顆粒層水平細胞可以增強視覺對比，色素上皮細胞則與眼球的保護和營養代謝有關，因此當這兩種細胞如果在老化過程中明顯減少的現象，那麼便可能影響眼球的健康及視力。

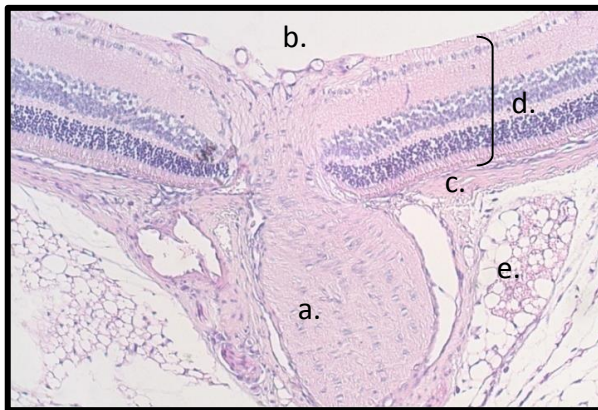
蘇木紫－伊紅染色(H&E stain)

1. Xylene 脫蠟
 2. 100% Alcohol 洗去 Xylene
 3. 依次以 95%、75%、50%、25% Alcohol 復水
 4. 再浸入 MQ 水
 5. Hematoxylin 85-90 s
 6. Acid alcohol 10 s
 7. Eosin 15 s
 8. 最後用顯微鏡檢查
- ※步驟第 5.6.7.後都要用一次水沖洗 3 次

五.預期結果：

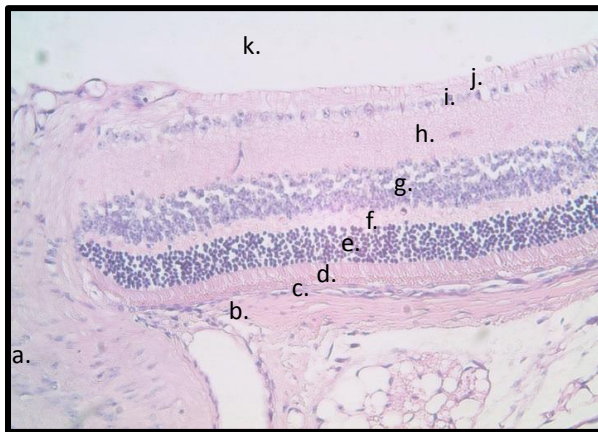
A.初步結果

a.眼球後半部結構



- a. 視神經
- b. 玻璃體
- c. 脈絡膜
- d. 視網膜
- e. 結締組織

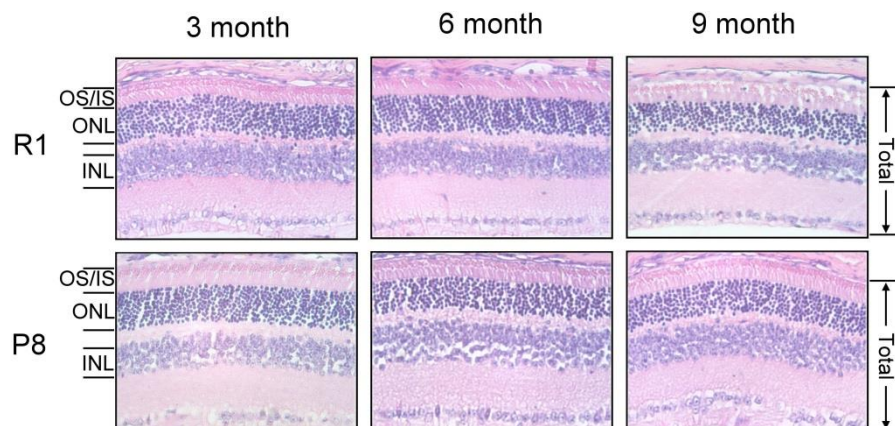
b.視網膜組織結構



- a. 視神經
- b. 脈絡膜
- c. 色素上皮層
- d. 感光細胞層
- e. 外顆粒層
- f. 外網狀層
- g. 內顆粒層
- h. 內網狀層
- i. 神經節細胞層
- j. 神經纖維層
- k. 玻璃體

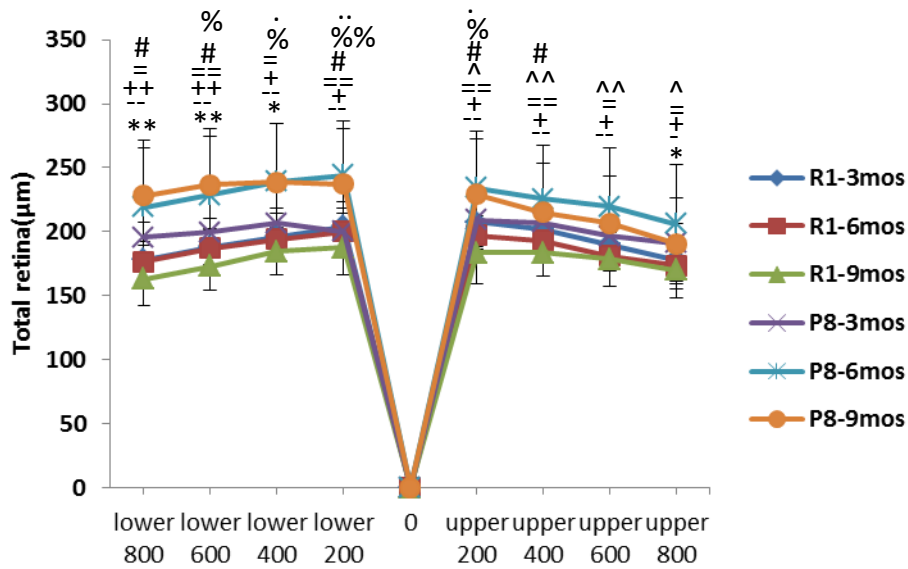
B.目前實驗結果

根據先前的實驗結果，陸續建立出抗加速老化小鼠3、6、9月齡以及加速老化小鼠3、6、9月齡的視網膜相關資料，期望能經由此計畫來比較抗加速老化小鼠與加速老化小鼠，因為老化速率的不同在視網膜形態上所造成的差異，並希望能經由該研究刺激眼睛老化醫學的相關研究及應用。

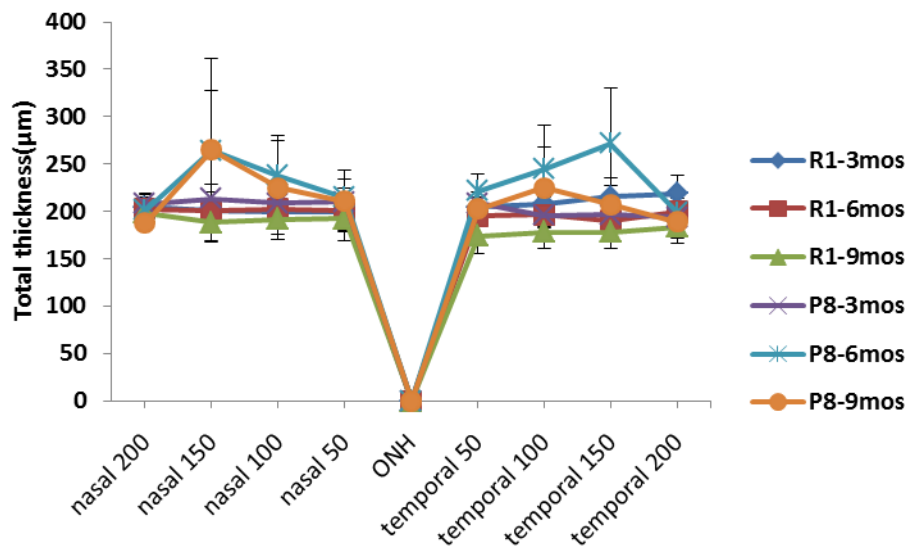


a.SAMP8 小鼠視網膜厚度較 SAMR1 小鼠大

視網膜是脊椎動物和一些頭足綱動物眼球後部的一層非常薄的細胞層，含有可以感受光的視桿細胞和視錐細胞可轉化為神經信號。這些信號被視網膜上的其它神經細胞處理後演化為視網膜神經節細胞的動作電位。視網膜神經節細胞的軸突組成視神經，不但有感光的作用，而它在視覺中也有重要作用。在形態形成的過程中，視網膜和視神經是從腦中延伸出來的。結果發現，不同年齡的抗加速老化小鼠中，其視網膜的厚度隨年齡增加逐漸減少，且加速老化小鼠視網膜反而較抗加速老化小鼠厚(圖一)。



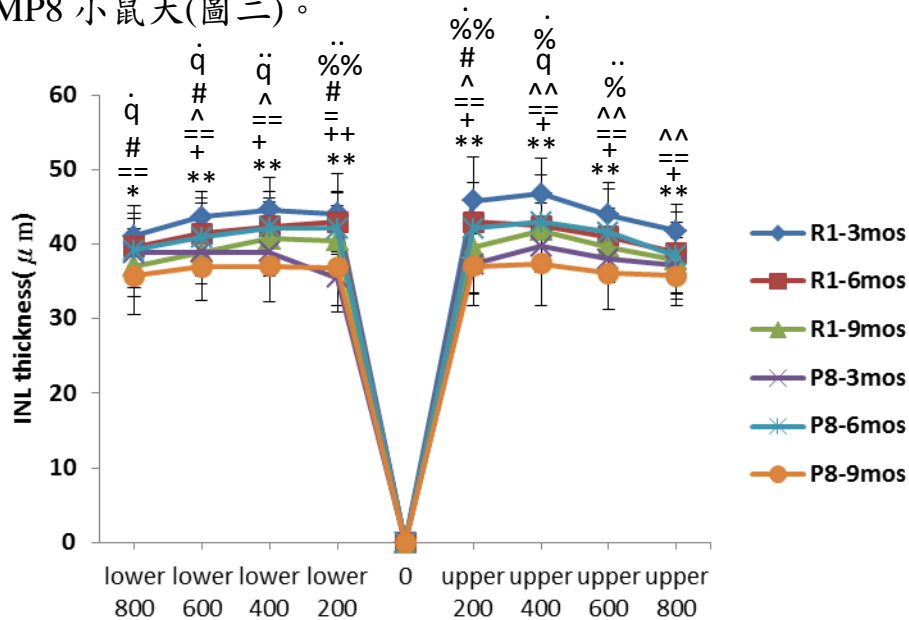
圖一、為三、六、九週齡 SAMR1 小鼠與 SAMP8 小鼠視網膜厚度之比較。(upper 為上眼瞼，lower 為下眼瞼) *,p<0.05, **,p<0.001, R1-3 與 P8-3 比較; --,p<0.001, -,p<0.05, R1-6 與 P8-6 比較; ++,p<0.001, +,p<0.05, R1-9 與 P8-9 比較; =,p<0.05, ==,p<0.001, R1-3 與 R1-9 比較; ^,p<0.05, ^^,p<0.001, R1-3 與 R1-6 比較; #,p<0.05, ##,p<0.001, R1-6 與 R1-9 比較; %,p<0.05, %%,p<0.001, P8-3 與 P8-6 比較; .,p<0.05, ..,p<0.001, P8-6 與 P8-9 比較。



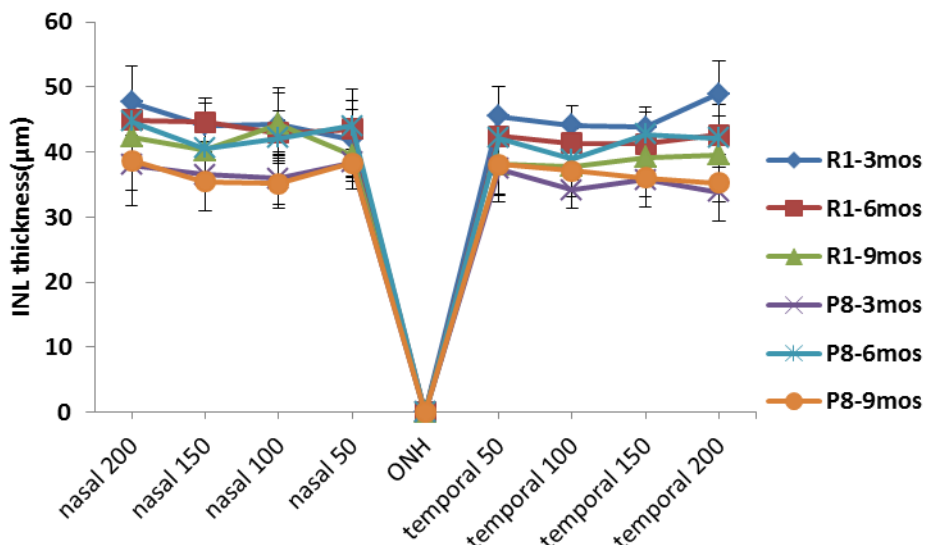
圖一之一、為三、六、九週齡 SAMR1 小鼠與 SAMP8 小鼠視網膜厚度之比較。(nasal 為鼻側，temporal 為耳側)

b.SAMR1 小鼠視網膜內顆粒層厚度較 SAMP8 小鼠大

內顆粒層為許多神經細胞主體的聚集處，具有協助感光細胞的訊息傳遞，以及加強視覺對比等功能。當內顆粒層的細胞受到損害甚至死亡時，則可能會影響視覺訊號的傳遞。SAMR1 小鼠視網膜內顆粒層厚度隨著年齡增長而減少，且 SAMR1 小鼠的視網膜內顆粒層厚度較 SAMP8 小鼠大(圖二)。



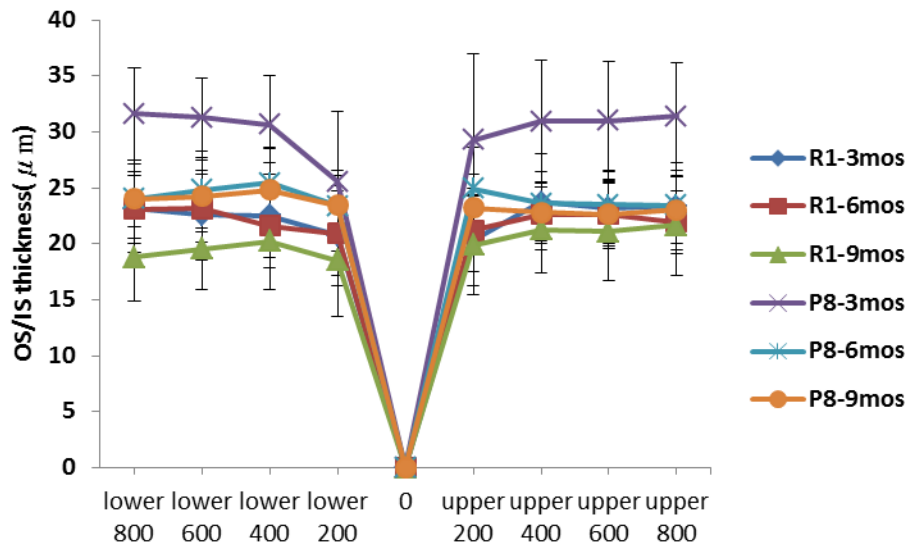
圖二、為三、六、九週齡 SAMR1 小鼠與 SAMP8 小鼠視網膜內顆粒層厚度之比較。(upper 為上眼瞼，lower 為下眼瞼) * $p < 0.05$ ，** $p < 0.001$ ，R1-3 與 P8-3 比較；+ $p < 0.05$ ，++ $p < 0.001$ ，R1-9 與 P8-9 比較；= $p < 0.05$ ，== $p < 0.001$ ，R1-3 與 R1-9 比較；^ $p < 0.05$ ，R1-3 與 R1-6 比較；# $p < 0.05$ ，R1-6 與 R1-9 比較；q $p < 0.05$ ，P8-3 與 P8-9 比較；% $p < 0.05$ ，%% $p < 0.001$ ，P8-3 與 P8-6 比較；.. $p < 0.05$ ，... $p < 0.001$ ，P8-6 與 P8-9 比較。



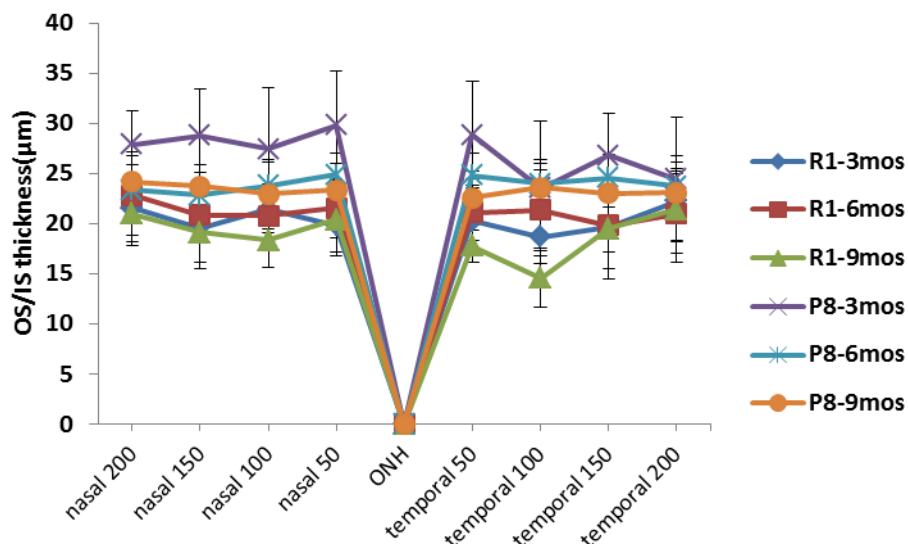
圖二之一、為三、六、九週齡 SAMR1 小鼠與 SAMP8 小鼠視網膜內顆粒層厚度之比較。(nasal 為鼻側，temporal 為耳

c.三月齡 SAMP8 小鼠與三月齡 SAMR1 小鼠視網膜感光細胞層厚度有顯著差異

雖然感光細胞層占整個視網膜的比例不高，但其功能卻深深影響我們的視覺功能。在三月齡的 SAMP8 小鼠與 SAMR1 小鼠中，視網膜感光細胞層厚度有顯著差異，尤其是 SAMP8 三月齡的感光細胞層厚度明顯與其他月齡區別，可能是因應加速老化而增生，且 SAMP8 小鼠視網膜感光細胞層厚度平均都比 SAMR1 小鼠大(圖三)。



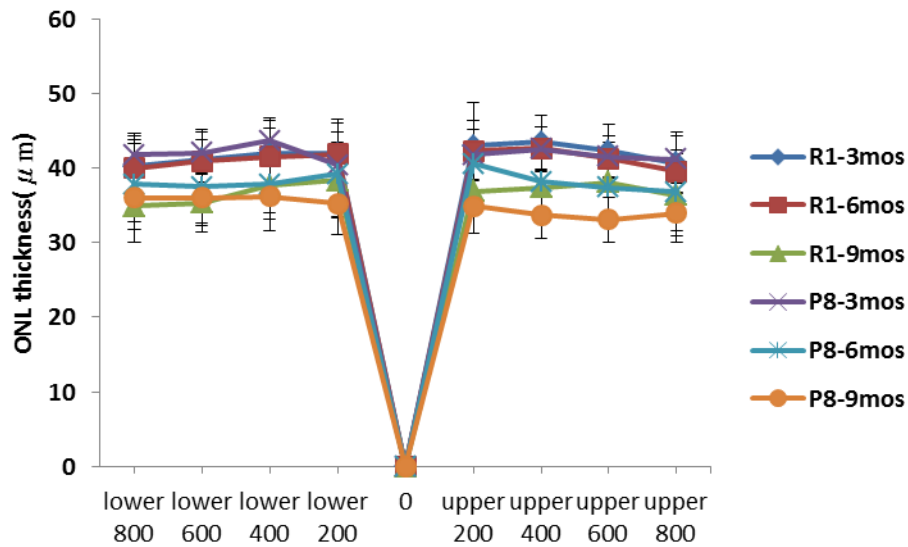
圖三、為三、六、九週齡 SAMR1 小鼠與 SAMP8 小鼠視網膜感光細胞層厚度之比較。(upper 為上眼瞼，lower 為下眼瞼)



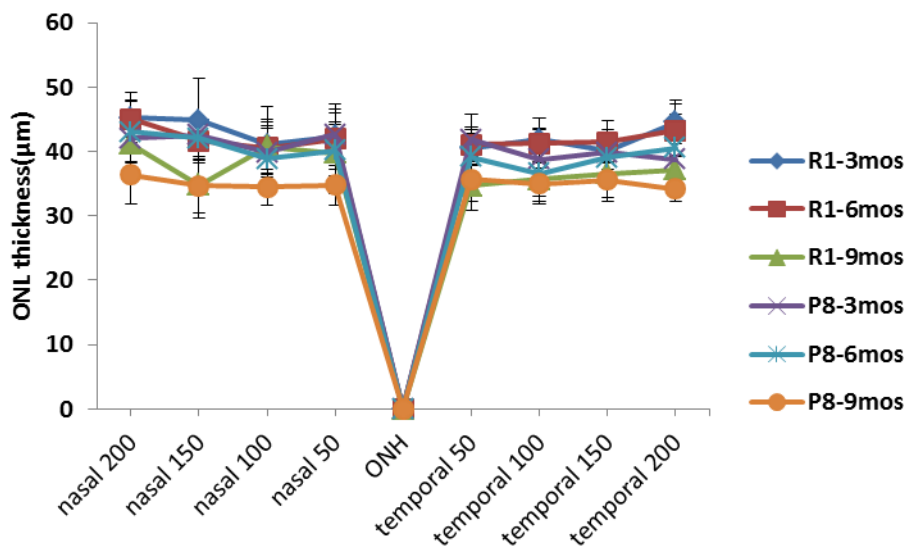
圖三之一、為三、六、九週齡 SAMR1 小鼠與 SAMP8 小鼠視網膜感光細胞層厚度之比較。(nasal 為鼻側，temporal 為耳側)

d.SAMR1 視網膜外顆粒層厚度及細胞數隨年齡增長而減少

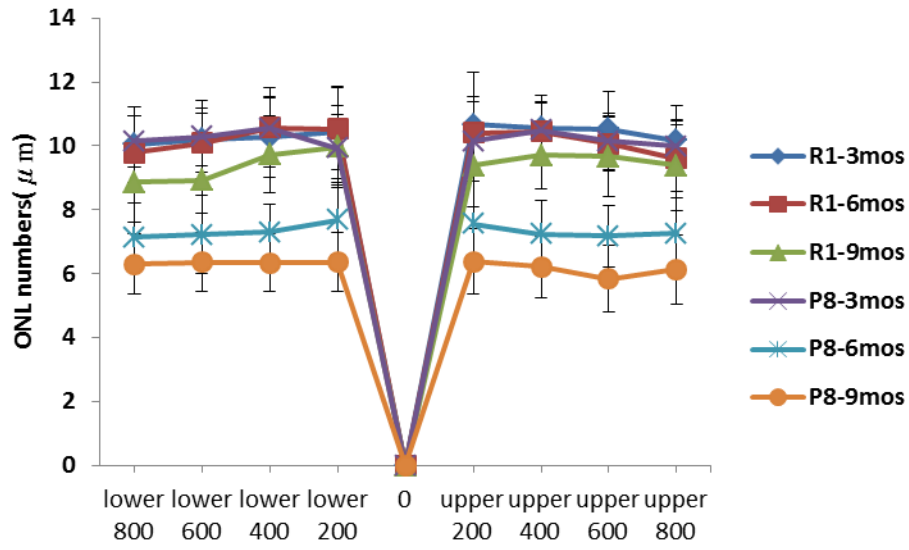
外顆粒層主要是感光細胞神經元的集合處，向內有神經軸突的伸展。當感光細胞神經元受到紫外線、氧化壓力或發炎反應等因素的影響，導致其功能受損甚至死亡，便會進而影響感光細胞層的功能，使得視覺訊息傳遞受到阻礙。隨著年紀增長，視網膜外核層的厚度與細胞數也隨之減少，可明顯看出 SAMP8 小鼠視網膜外核層的厚度與細胞數隨著年紀增長而減少；但 SAMR1 視網膜外顆粒層的密度反而隨年紀增長而增加(圖四、五、六)。



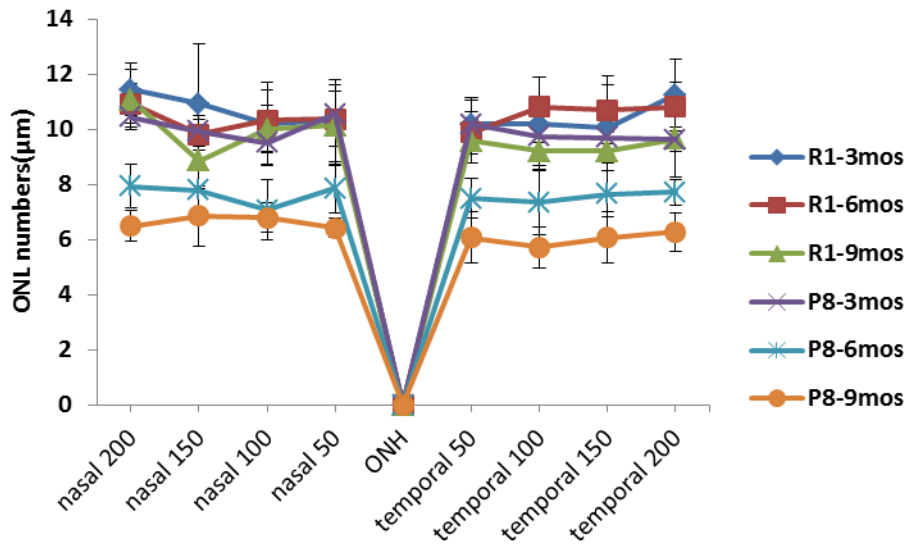
圖四、為三、六、九週齡 SAMR1 小鼠與 SAMP8 小鼠視網膜外顆粒層厚度之比較。(upper 為上眼瞼，lower 為下眼瞼)



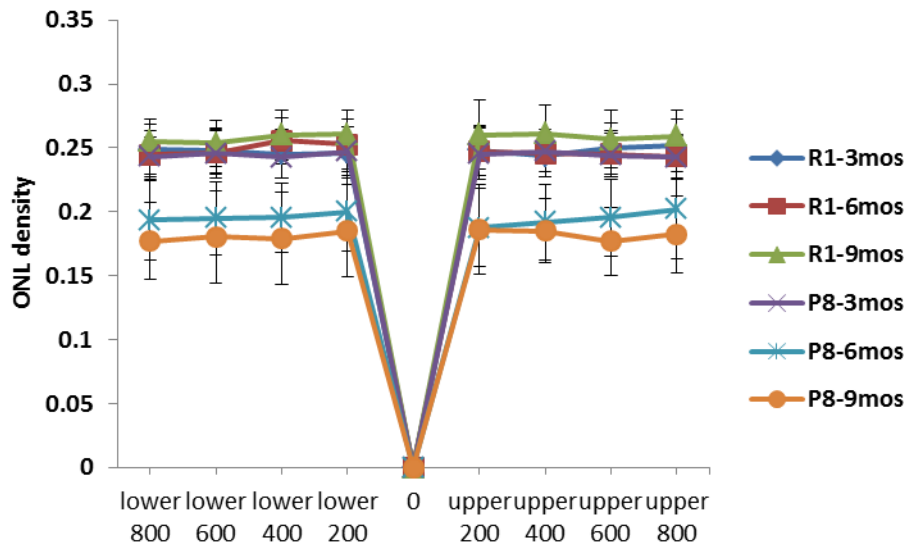
圖四之一、為三、六、九週齡 SAMR1 小鼠與 SAMP8 小鼠視網膜外顆粒層厚度之比較。(nasal 為鼻側，temporal 為耳側)



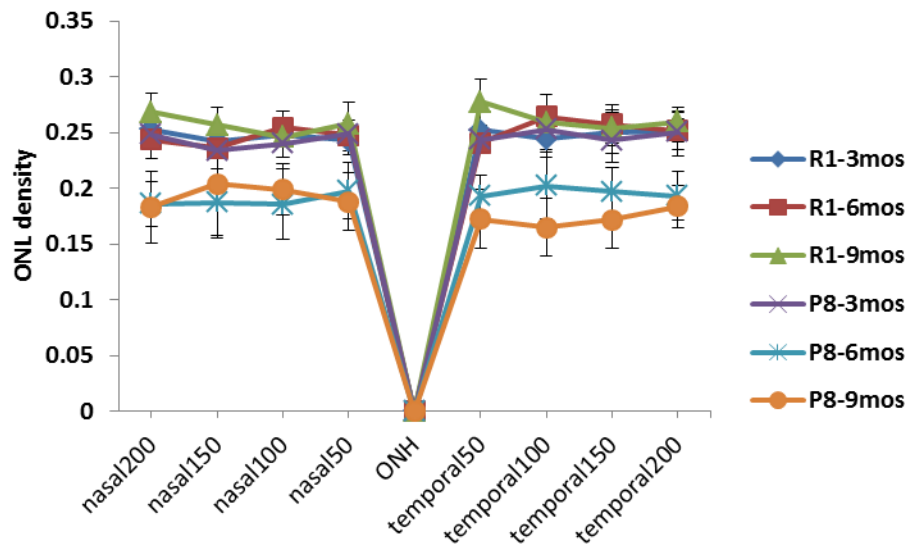
圖五、為三、六、九週齡 SAMR1 小鼠與 SAMP8 小鼠視網膜外顆粒層顆粒細胞之比較。(upper 為上眼瞼，lower 為下眼瞼)



圖五之一、為三、六、九週齡 SAMR1 小鼠與 SAMP8 小鼠視網膜外顆粒層顆粒細胞之比較。(nasal 為鼻側，temporal 為耳側)



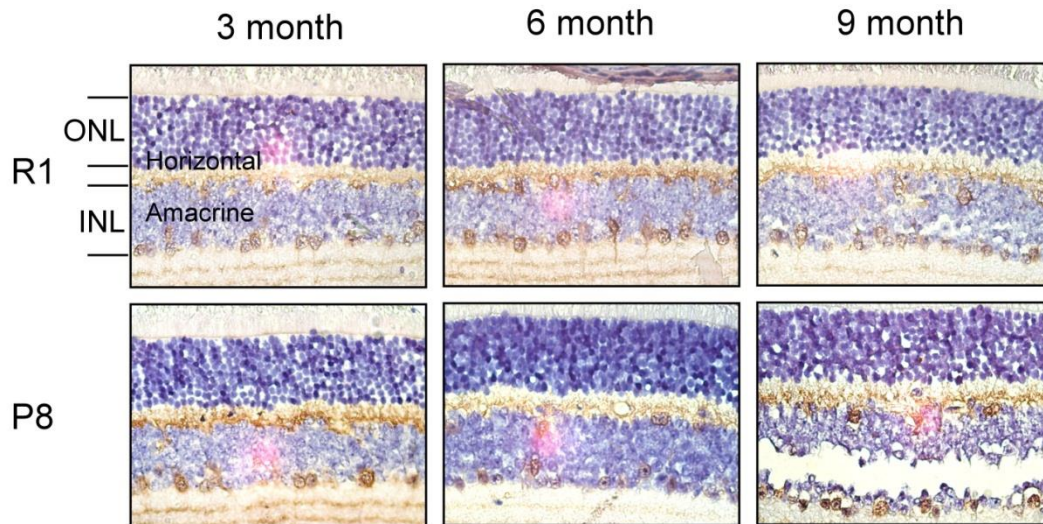
圖六、為三、六、九週齡 SAMR1 小鼠與 SAMP8 小鼠視網膜外顆粒層密度之比較。(upper 為上眼瞼，lower 為下眼瞼)



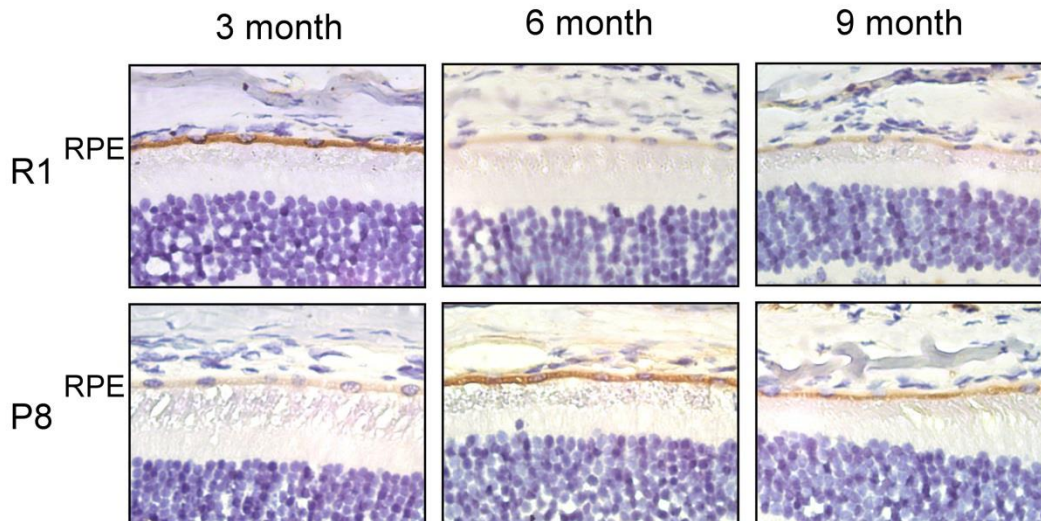
圖六之一、為三、六、九週齡 SAMR1 小鼠與 SAMP8 小鼠視網膜外顆粒層密度之比較。(nasal 為鼻側，temporal 為耳側)

e. Calbindin

從照片中可看出加速老化組(SAMP8)的神經細胞隨著年齡增加而有增加的趨勢，而抗加速老化組(SAMR1)的神經細胞沒有明顯變化，顯示出在加速老化的情況下，可能會導致神經細胞的增生，也許是為了對抗老化的現象。

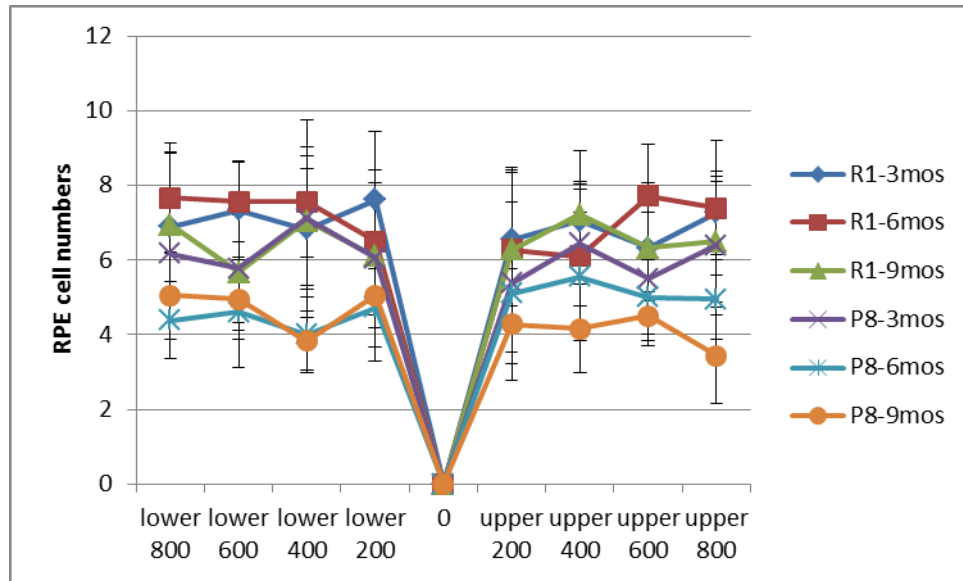


f. RPE 65



g. RPE 細胞數的減少與老化有關

大致上，SAMR1 小鼠的 RPE 細胞數大於 SAMP8 小鼠；在 SAMR1 小鼠中，RPE 細胞數在不同月分中並沒有明顯的變化，而 SAMP8 小鼠的細胞數則隨著年齡的增加而降低，因此可以知道在加速老化的情況下 RPE 細胞是會受到影響的。



圖七、為三、六、九週齡 SAMR1 小鼠與 SAMP8 小鼠 RPE 細胞數之比較。(upper 為上眼瞼，lower 為下眼瞼)

C. 討論

由於加速老化小鼠(SAMP8)的老化速度遠快於抗加速老化小鼠(SAMR)，因此我們在視網膜的型態上，不論是外顆粒層厚度、密度及細胞數、內顆粒層厚度以及 RPE 細胞數等，抗加速老化小鼠的視網膜結構相較於加速老化小鼠會來得厚且完整；但視網膜整體厚度與感光細胞層厚度，卻是加速老化小鼠大於抗加速老化小鼠，可能是加速老化產生的一些病變所造成。此外，神經細胞的數量在老化過程中也逐漸增加，我們利用 Calbindin 觀察水平細胞及色素上皮細胞在加速老化小鼠的視網膜中，尤其是 SAMP8 小鼠的細胞數目是明顯增加的，這與原先的預期不符，也許是為了對抗老化的現象。最後我們也期望本計畫的研究結果能促進視覺老化相關研究發展，增加未來眼睛老化相關疾病預防以及治療的幫助。

六.參考文獻：

1. D. Allan Butterfield, H. Fai Poon ; The senescence-accelerated prone mouse (SAMP8): A model of age-related cognitive decline with relevance to alterations of the gene, *Experimental Gerontology* 40 (2005) 774–783 expression and protein abnormalities in Alzheimer’s disease
2. Hosokawa M, Ueno M. ; Aging of blood-brain barrier and neuronal cells of eye and ear in SAM mice. *Neurobiol Aging*. 1999 Mar-Apr;20(2):117-23.
3. Ogawa T, Ohira A, Amemiya T, Kubo N, Sato H. ; Superoxide dismutase in senescence-accelerated mouse retina. *Histochem J*. 2001 Jan;33(1):43-50.
4. Carter TA, Greenhall JA, Yoshida S, Fuchs S, Helton R, Swaroop A, Lockhart DJ, Barlow C. ; Mechanisms of aging in senescence-accelerated mice. *Genome Biol*. 2005;6(6):R48. Epub 2005 Jun 1.
5. Kawamata T, Akiguchi I, Yagi H, Irino M, Sugiyama H, Akiyama H, Shimada A, Takemura M, Ueno M, Kitabayashi T, Ohnishi K, Seriu N, Higuchi K, Hosokawa M, Takeda T (1997) Neuropathological studies on strains of Senescence-Accelerated Mice (SAM) with age-related deficits in learning and memory. *Exp. Gerontol*. 32, 161-170.
6. Gui-Hai Chena, Yue-Ju Wanga, Xiao-Min Wangb, Jiang-Ning Zhouc ; Accelerated senescence prone mouse-8 shows early onset of deficits in spatial learning and memory in the radial six-arm water maze. *Physiology & Behavior* 82 (2004) 883 – 890
7. D. Allan Butterfield, H. Fai Poon ; The senescence-accelerated prone mouse (SAMP8): A model of age-related cognitive decline with relevance to alterations of the gene expression and protein abnormalities in Alzheimer’s disease. *Experimental Gerontology* 40 (2005) 774–783
8. Takeda T, Hosokawa M, Takeshita S, Irino M, Higuchi K, Matsushita T, Tomita Y, Yasuhira K, Hamamoto H, Shimizu K, Ishii M, Yamamuro T (1981) A new murine model of accelerated senescence. *Mech. Ageing Dev*. 17, 183-194.
9. Hosokawa M, Kasai R, Higuchi K, Takeshita S, Shimizu K, Hamamoto H, Honma A, Irino M, Toda K, Matsumura A, Matsushita T, Takeda T (1984) Grading score system: A method for evaluation of the degree of senescence in senescence accelerated mouse (SAM). *Mech. Ageing Dev*. 26, 91-102.
10. Takeda T, Hosokawa M, Higuchi K (1991) Senescence-accelerated

mouse (SAM): A novel murine model of accelerated senescence. J. Amer. Geriatr. Soc. 39, 911-919.

11. Vaughan DG, Asbury T, Riordan-Eva P: General Ophthalmology 16th ed. Stamford, Connecticut: Appleton & Lange, 2004.

12. Bron AJ: Wolff's Anatomy of the Eye and Orbit, 8th ed. Chapman & Hall Medical, 1997.

13. Jakobiec FA (ed): Ocular Anatomy, Embryology and Teratology. Philadelphia: Harper and Row, 1982

14. 許紋銘主編(2007)：實用臨床眼科學。台北市：合記。

15. 鍾玉衡、方信智 老年性黃斑部病變 家庭醫學與基層醫療 第二十四卷 第六期

16. Ryan SJ: Retina 4th ed. St. Louis: Mosby 2005.

17. Alfaro DV: Age-Related Macular Degeneration: A comprehensive Textbook. 2005