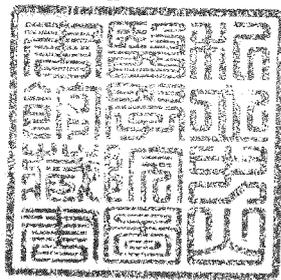


R
008.8
4281

私立中山醫學院臨床醫學研究所碩士論文

大白鼠虹膜經雷射
破壞後之電子顯微鏡研究

An Electron-microscopic study of the rat iris
after laser sphincterotomy



指導教授：廖克剛教授

研究生：彭美玲

中華民國八十五年一月

中山醫學院圖書館



C034325

之學位所通過。碩士學位及口試合格及醫學院及醫學研究所。本論文為中山醫學院教授予醫學碩士學位。必備條件之一，經中山醫學院中審會審查合格。

口試委員

臺灣大學醫學院解剖學科教授

盧國賢 博士

盧國賢

私立中山醫學院解剖學科教授

鄭敏雄 博士

鄭敏雄

私立中山醫學院解剖學科副教授
(論文指導教授)

廖克剛 博士

廖克剛

中華民國 八 十 五 年 一 月 二 十 日

學生彭美玲論文題目為大白鼠虹膜經雷射破壞後之電子顯微鏡研究，其論文已經中山醫學院臨床醫學研究所碩士論文考試委員會審查合格及口試通過，並由其指導教授核閱後無誤。

指導教授：廖克剛

簽名：

廖克剛
齊志剛

中華民國 85 年 2 月 28 日

誌 謝

感謝恩師廖克剛教授兩年半來悉心指導與啟迪，復蒙口試委員盧國賢教授與鄭敏雄教授詳加審閱批覽、指正，本論文始克完成，謹此誠摯敬謝。

實驗期間，承蒙劉春蘭老師、廖孟琴小姐指導操作電子顯微鏡標本及切片，楊明鈴老師在組織學的指點，使得實驗順利進行，特此致謝。

同儕邵佳和之協助與提攜，學弟潘偉廉、劉穎謙之熱心指導電腦操作，及中山附設醫院眼科楊文卿主任和昔日同仁的指正，才得以完成，特此一併致謝。

尤其要感謝父母教養之恩，公婆的協助理家，及外子漢斌的支持，使我無後顧之憂，謹以此論文獻給我最愛的您們及稚女珊珊、亭亭。

目 錄

Key Words -----	1
摘 要 -----	2
緒 言 -----	4
材料和研究方法 -----	7
結 果 -----	10
討 論 -----	18
Summary -----	20
參考資料 -----	21
附 圖 -----	24

Key Words :

Iris
Pupil
Sphincter pupillae
Sphincterotomy
Nd : YAG laser
Ciliary ganglion
SEM
TEM
Rat

摘 要

本研究以眼科用 Nd : YAG 雷射對大白鼠施行虹膜 (iris) 的括約肌切斷術 (sphincterotomy) , 使瞳孔放大 , 無光反應後 , 以光學顯微鏡及電子顯微鏡觀察虹膜變化及其對睫狀神經節逆行性的影響。

本實驗共用七隻大白鼠 , 以右眼為實驗組 , 左眼為對照組。實驗組以 Nd : YAG 雷射破壞右眼縮瞳肌後 , 飼養 1 、 3 、 5 、 6 、 9 、 10 、 13 日時 , 經腹腔麻醉以灌流法犧牲。取下左、右眼虹膜組織塊以臨界點乾燥法及金蒸著作掃描式電子顯微鏡之觀察。並取出左、右眼的睫狀神經節及連著周圍的視神經等截成適當長度後 , 脫水、包埋 , 以薄切分別用光學及穿透式電子顯微鏡觀察。

實驗結果 , 對照組方面 : 瞳孔以光照均有反應 , 虹膜組織以光學顯微鏡和掃描式電子顯微鏡觀察無異常發現。而睫狀神經節以光學顯微鏡觀察 , 其分布可歸為兩群 : 一在視神經髓鞘內 , 另則在髓鞘外。以穿透式電子顯微鏡觀察 , 其神經元均無變化。

實驗組方面：雷射術後第 1 日起肉眼即可見瞳孔放大，無光反應，光學顯微鏡下觀察睫狀神經節，其分布有兩群。掃描式電子顯微鏡觀察虹膜變化，發現縮瞳肌斷裂處均可見裸露的海綿狀基質（stroma），而術後第 1、3 日在斷裂組織上可見許多紅血球及巨噬細胞浸潤；術後第 5 日則可看到纖維芽胞的觸手狀突起，推測乃組織修補期；術後第 10 日則可見瞳孔邊緣變平滑，無隆起現象。以穿透式電子顯微鏡觀察，在術後第 6 日開始，神經元的高爾基氏體開始膨大，術後第 9 日高爾基氏體及內質網均有顯著膨大變性。術後第 13 日除以上變化外，神經元細胞及核均有皺縮現象。

綜合以上觀察得知，經由雷射破壞虹膜括約肌可經由逆行性的影響使睫狀體神經元退化，其細胞胞器如內質網、核醣體、高爾基氏體及細胞核均有顯著變化，表示其神經傳導物質的正常製造功能受破壞。

緒 言

有關虹膜的研究，在早期 Alphen 用光學顯微鏡觀察猴子縮瞳和散瞳的變化[1]，但為二度空間的圖相，後來 Hansson 開始用掃描式電子顯微鏡來觀察大白鼠的虹膜，開創三度空間的新視野[2]。Wan 用掃描式電子顯微鏡觀察比較大白鼠在縮瞳和散瞳時虹膜前表面及後表面的變化[3]，與本實驗的對照組相符：虹膜前表面由一層不規則形的纖維芽胞不完全覆蓋，這些細胞中央的卵狀凸起為細胞核，細胞表面沒有微絨毛（microvilli）或纖毛（cilia），在稀疏的細胞間形成的空隙即為虹膜上的隱洞（crypts），其內充斥結構鬆散的結締組織。虹膜後表面有許多環狀皺褶，和睫狀肌的放射狀走向相垂直，瞳孔邊緣有許多小隆起（humps），為括約肌收縮的結果。而對於雷射破壞縮瞳肌（sphincter pupillae）後的電子顯微鏡觀察，至今無人報告。

虹膜包括兩組平滑肌，屬於多單位平滑肌(multi-unit smooth muscle)，肌細胞之間無融合現象，故其收縮不遵守全或無律，而是作局部性精細地收縮。此兩組平滑肌由自主神經控制：交感神經（sympathetic nerve）支配擴瞳肌（dilator pupillae）；副交感神經（parasympathetic nerve）支配縮瞳肌（sphincter pupillae）。

瞳孔的收縮主要經由兩種機制，一為光反射（light reflex），一為近反射（near reflex）。光反射牽涉四種神經元：網膜上的感光細胞（photoreceptor）接受光刺激後經由視神經交叉到對側頂蓋前核（pre-tectal nucleus），先傳導到左右兩側的縮瞳核（Edinger-Westphal nucleus），再到睫狀神經節內與神經元形成突觸後，支配睫狀體內的睫狀肌及虹膜括約肌，進行調焦（accommodation）及縮瞳（miosis）的動作。

臨床病例有所謂“pupillary light-near dissociation syndrome”，如Argyl Robertson pupil, Parinaud's syndrome，Adies pupil等，其瞳孔雖無光反應，卻仍有調焦和近反射功能，而光反射和近反射之間的關係尚未真正明瞭[4]。

近年來科學界對視覺的傳導及其反射路徑有頗多的探討與論述，但大多著重於副視覺傳導系統（accessory optic system）之觀察瞭解[5-11]，另外不少從事睫狀神經節之研究多為胚胎時期神經節之培養及有關各種接受器的實驗[12,13]，然而對主司調焦的睫狀肌（ciliary muscle）及主司縮瞳的括約肌各別在睫狀神經節內的分布形態、數量多寡，到目前為止資料闕如。

睫狀神經節在人類乃位於外直肌和視神經之間，而在大白鼠則在內直肌和視神經間。神經節內包含三種來源的神經，一來自動眼神經（oculomotor nerve）的分支，屬副交

感神經，在神經節內形成突觸，節後神經再到縮瞳肌；二來自三叉神經（trigeminal nerve）的感覺神經根（sensory root）；三來自上頸神經節的交感神經纖維，支配擴瞳肌及眼內血管。故睫狀神經節內的神經元乃副交感神經所支配，專司瞳孔的收縮。

Nd：YAG 雷射的學名為摻釹鎳鋁石榴石雷射（Neodymium-doped yttrium aluminum garnet laser），在眼科用於虹膜打孔、青光眼及再發性白內障的治療，具有雷射光單色性（monochromaticity）、直接性（directionality）、同調性（coherence）、高亮度（intensity）、及偏極性（polarization）的特性，其對有色及透明組織均有作用。

本研究乃以大白鼠（Wistar strain）為實驗動物，以 Nd：YAG 雷射破壞虹膜的括約肌後追蹤觀察，於雷射照射後之第 1、3、5、6、9、10、13 日時，將動物犧牲，以光學及電子顯微鏡觀察虹膜及睫狀神經節等處之變化。

材料和研究方法

實驗動物採用體重從 200 到 500gm 的 Wistar 品系成鼠為材料，購自台大動物飼養中心，動物飼養於自然溫度與光週期之環境，水與食物由動物自行攝取。

一、研究方法：

1.雷射手術：

實驗動物先以 7 % chloral hydrate 行腹腔麻醉後，採用 Coherent Model 7900 Nd : YAG 雷射 (Coherent, Inc, Palo Alto, CA) (圖 1 , 2) 作右眼瞳孔切斷術 (sphincterotomy) [14-16]，其波長為 1.06 micron，脈衝寬度為 3 nanosecond，採 Q 開關 (Q-switch) 的運轉方式，aerial focal spot size 為 12 microns，左側眼則為對照組。

大白鼠的虹膜在裂隙燈下呈白色，許多紅色血管交錯其間，其縮瞳肌紋理清晰，可見環狀結構，在手術時儘量避開血管，在 2 點、5 點、7 點和 10 點位置由瞳孔邊緣向外作四個放射狀切開，每點發射一到二發即可見肌肉斷裂，能量為每發 3.0mJ 到 3.8mJ，在操作時可能會滲一點血，但隨即停止，不影響手術。術後以光筆檢查右眼之瞳孔光反應 (pupil light reflex)，再分別於術後飼養第 1、3、5、6、9、10、13 日後予以犧牲。

2. 標本的製備

實驗動物以水合三氯乙醛 (chloral hydrate) 行腹腔麻醉後，剪開胸腔使心臟露出，將灌流針插入左心室，隨後剪開右心耳引流血液，再以生理食鹽水 (0.9 % NaCl) 沖淨動物體內的殘存血液；再灌入 4 °C 的固定液 (4 % paraformaldehyde + 2.5% glutaldehyde 溶於 0.1M phosphate buffer ， pH= 7.4) 固定 30 分鐘後，斷頭、剪開上頭蓋骨，將腦移出，裸露第 2 、 3 對腦神經，再用 30 號細針挑破兩側角膜，再放入相同的固定液中作後固定 4 小時。

① 截取睫狀神經節 (ciliary ganglion) 標本

將後固定的頭顱置於手術顯微鏡 (Stereomicroscope ， Olympus) 下，剔除不必要的附屬組織 (adnexa tissue) ，保留完整的眼球，眼肌及神經，仔細分離內直肌和視神經，切取自 Circle of Zinn 往前 5mm 處的視神經及附近組織，抽去神經，留下視神經鞘及鄰近分佈的睫狀神經節。

② 截取虹膜 (iris) 標本之製備

將眼球從中作 coronal section 對切一半，去掉水晶體及玻璃體，放射狀切下 cornea-iris 組織塊。

3. 光學顯微鏡及穿透式電子顯微鏡標本之製備

取下虹膜及睫狀神經節之組織塊後，分別以 0.1M 磷酸鹽緩衝清洗液（ phosphate buffer + 7% sucrose, pH = 7.4 ）沖洗 5 - 6 次，然後以溶於相同緩衝液之 1 % 鉞酸作後固定 1-2 小時，再以緩衝液沖洗兩次，用酒精逐步脫水，再以 propylene oxide 處理後，包埋於樹脂中（ spurr resin ）。並置於 60 °C 溫箱中聚合 24 - 36 小時，標本塊以超薄切片機（ Reichert ultracut ）切下 0.5 ~ 1 μ 之厚片，經 0.5 % 甲苯胺藍（ Toluidine blue ）染色後作光學顯微鏡之觀察及搜尋睫狀神經節。

具有神經節的標本再切成 90 ~ 100nm 的超薄切片，置於 150 mesh 之銅網上，以飽和醋酸鈾及檸檬酸鉛作雙重染色後，置於穿透式電子顯微鏡（ JEOL TEM 1200 EX ）下觀察。

4. 掃描式顯微鏡標本之製備

取下含有虹膜之組織塊後，分別以 0.1M 磷酸鹽緩衝清洗液（ phosphate buffer + 7% sucrose, ph = 7.4 ）沖洗，再溶入相同緩衝液之 1 % 鉞酸作後固定 1 -3 小時，再以濃度漸高的酒精逐步脫水後，以液態 CO₂ 進行臨界點乾燥（ Tousimis sandri-780A, critical point dryer ）。標本乾燥完成後，以鍍碳的雙面膠固定於試銅台上，置於離子覆膜機（ JEOL Ion sputter JFC-1100 ）內 6 分鐘，將金蒸著在標本面約 300Å 厚度後，以掃描式電子顯微鏡（ JEOL T300 ）來觀察。

結 果

一、虹膜

(一)光反射變化的觀察

1.對照組（左眼）

雷射術後以光筆照老鼠左眼由第 1 日起到 13 日止 7 隻動物的左眼均有直接及間接光反射反應（ positive direct and indirect light reflex ）。

2.實驗組（右眼）

施行雷射括約肌切斷術後，以光筆照老鼠右眼，由第 1 日到 13 日 7 隻右眼瞳孔都呈散瞳狀態，無直接及間接光反射反應（ negative direct and indirect light reflex ）。

(二)光學顯微鏡的觀察

1.對照組

在光學顯微鏡下，虹膜組織和睫狀肌相連，末端呈膨大狀，由外到內可分為五層結構：表層由纖維芽胞（fibroblast）不完全覆蓋於上（圖3內1），中間有縫隙。第二層由薄的結締組織構成，此層缺乏血管構造（圖3內2）。第三層由較厚的結締組織構成，此層富含血管（圖3內3）。第四層為肌肉層（myoepithelial layer）（圖3內4,圖4），乃屬平滑肌構造，靠瞳孔端的膨起為縮瞳肌，其後連接有縱走的擴瞳肌（dilator pupillae）。第五層為上皮細胞層，因不含色素細胞，所以細胞較小（圖3內5）。

2.實驗組

在光學顯微鏡下，可見不完整的瞳孔邊緣（圖5,6），虹膜組織仍可見五層構造：表層由纖維芽胞構成，第二層為不含血管之薄的結締組織構成，第三層可見許多血管分布的厚的結締組織層（圖7,8），第四層由兩組肌肉組成，一為靠近瞳孔邊的環狀平滑肌（圖6,8），另一則為縱走的平滑肌（擴瞳肌），再往下為一層很薄的上皮細胞構成。在光學顯微鏡下，除了瞳孔邊緣非連續性外，和對照組沒有特別的變化。

(三)掃描式電子顯微鏡 (SEM) 的觀察

1.對照組

以掃描式電子顯微鏡觀察沒有施行雷射手術的左眼虹膜，術後 1、3、5、6、9、10、13 日都可見虹膜前表面有大小不一的隱洞 (crypts) (圖 9)，乃不規則的纖維芽胞構成(圖 10,11)，其細胞突起間圍成空洞，即為虹膜上的隱洞，這些洞呈圓或橢圓形，形狀大小不一(圖 10)，其內可見許多纖維狀結締組織 (fibrillar connective tissue) (圖 11,12)。

在虹膜的後表面可見表面有一層 amorphous layer(圖 13)及較淺的環狀皺褶 (circumferential grooves) (圖 14)，在瞳孔邊緣有許多隆起 (humps) (圖 15,16)。

2.實驗組

以掃描式電子顯微鏡觀察雷射手術後右眼的虹膜，術後第 1 日，可看到瞳孔邊緣有明顯切跡(圖 17,18)，虹膜根部 (iris root) 與睫狀體相連(圖 17)，虹膜前面為角膜組織(圖 17)，虹膜的後表面有許多環狀皺褶，在瞳孔斷裂面可見斷裂的肌肉組織(圖 19,20)和其內的海綿狀結締組織(圖 21,22,23,24)，傷口附近有紅血球及巨噬細胞出現(圖 25,26)。

術後第 3 日，可見瞳孔邊緣一端較平滑(圖 27,28)，在另一端有隆起(圖 29,30)，虹膜後表面覆蓋一層 amorphous layer(圖 31)，傷口附近可見紅血球(圖 32,33)。

術後第 5 日的標本，瞳孔邊緣相當不規則，可見斷裂的肌肉組織(圖 34,35)，虹膜後表面仍有 amorphous layer 覆蓋(圖 36,37,38,39)，亦可見環狀皺褶(圖 38,41)，在斷裂面有殘破的組織(圖 40)，有巨噬細胞出現(圖 42,43)。

術後第 6 日的標本塊，瞳孔邊緣較平整(圖 44)，可見斷裂的組織(圖 44)，虹膜後表面有一層 amorphous layer 覆蓋(圖 45)，可見縱走的小血管分布其上(圖 46,47)，斷裂傷口露出結締組織(圖 48)。

術後第 9 日的標本塊，瞳孔邊緣平整(圖 49)，虹膜後表面有 amorphous layer 覆蓋(圖 50)，有許多環狀皺褶(圖 50)。

術後第 10 日，瞳孔邊緣平整無隆起(圖 51,52)，虹膜和睫狀體相連(圖 51)，後表面有 amorphous layer 覆蓋(圖 53,54)，有許多環狀皺褶(圖 55,56)。

術後第 13 日，瞳孔邊緣橫切片可見環走的瞳孔血管(圖 57,58)，及一束環狀的縮瞳肌(圖 59,60)。

二、睫狀神經節

(一) 外觀

由於大白鼠的睫狀神經節肉眼辨識不易，故在手術解剖顯微鏡下摘取，其位於視神經和內直肌之間，由結締組織包住的透明構造，在手術解剖顯微鏡下觀察，實驗組和對照組無外觀上的差異。

(二) 光學顯微鏡的觀察

在光學顯微鏡下，睫狀神經節的分佈有兩群：一群在視神經髓鞘內，另一群在視神經髓鞘外，在視神經末端與肌肉交接處。

1. 對照組

在視神經髓鞘外的睫狀神經節位於肌肉或結締組織之間(圖 61,62)，周邊有平滑肌及小血管構造，有許多神經束穿過肌肉組織，另一組神經節則位於視神經髓鞘內，髓鞘內亦有許多神經纖維及大小血管，神經節內有巨大核的神經元及神經纖維(圖 61,62)，外有一層薄膜包被。

2. 實驗組

術後第 1 天的組織塊，睫狀神經節位於視神經髓鞘內，旁邊有神經纖維及大血管(圖 63)。神經節內有神經元細胞及許多神經纖維。

術後第 3 天的組織塊，睫狀神經節位於視神經髓鞘外的結締組織中，旁邊有許多脂肪細胞和結締組織(圖 64)。

術後第 5 天的組織塊，睫狀神經位於視神經髓鞘外，肌肉組織和神經纖維之間，有大而明顯的神經細胞核。

術後第 6 天的組織塊，睫狀神經節在視神經髓鞘內，神經元的核大而明顯，髓鞘內亦有其他神經纖維組織。

術後第 9 天的組織塊，睫狀神經節位於視神經髓鞘外的結締組織內，旁邊有大小血管及脂肪組織。

術後第 10 天的組織塊，睫狀神經節位於視神經髓鞘內(圖 65)，神經元細胞核大而明顯，髓鞘內亦有其他神經纖維(圖 66)。

術後第 13 天的組織塊，睫狀神經節位於視神經髓鞘內，附近有許多平滑肌和脂肪組織，髓鞘內亦有神經纖維束和血管。

(三) 穿透式電子顯微鏡的觀察

1. 對照組

睫狀神經節內之神經元在穿透式電子顯微鏡下可見大而明顯的細胞核，胞質內含有豐富的粗糙內質網（rER）、粒腺體、及高爾基氏體；可見溶素體（lysosome），細胞外有衛星細胞（satellite cell）包住。（圖 67）

在神經元外有許多含髓鞘及無髓鞘的神經纖維，外層由髓鞘細胞（Schwann cell）包住（圖 67），此外可看到含許多小泡的神經末稍（axon terminal）。

2. 實驗組

在穿透式電子顯微鏡底下，睫狀神經節的變化與對照組的差異與日俱增。在雷射手術後第 1、3、5 日的睫狀神經節組織，仍可見完整的神經元細胞，含大的細胞核（圖 69），細胞內有大量的高爾基氏體、粗糙內質網及粒腺體（圖 70），細胞外有衛星細胞包被。此外有許多含髓鞘及不含髓鞘的神經纖維，有髓鞘細胞在纖維外側（圖 69）。神經元的胞器及神經纖維都無明顯變化。

術後第 6 天開始產生了稍許變化：部分神經元細胞質內的高爾基氏體有少許擴大變形(圖 72,74)，平滑內質網亦有膨大的變化(圖 71)，而其他胞器如粒腺體、顆粒內質網及神經微絲 (neurofilament) 等均無影響(圖 73,74)。另外突觸後膜內可見核糖體增加，突觸結內則有許多扁平橢圓狀的小泡(圖 74)。

術後第 9 日，神經元內的平滑內質網顯著膨大，高爾基氏體亦擴張，粒腺體的脊亦擴張(圖 75,76)。

術後第 10 日，神經元內的高爾基氏體均顯著擴大，平滑內質網亦擴大 (圖 77,78) 。

術後第 13 日，可見 light 和 dark neuron，而 light neuron 核呈圓形，含均質真染色質 (euchromatin)，核仁常偏一側，平滑內質網及高爾基氏體均顯著擴大。dark neuron 可見細胞質內核糖體顯著增加，細胞質外有許多透明空泡，神經元細胞明顯萎縮變性；細胞質內含擴大的內質網，細胞核膜亦呈少許皺縮而不規則(圖 80)。

討 論

在本實驗設計當初曾試以神經毒蛋白 (Racin-60) 注入老鼠的眼睛前房內，讓虹膜肌萎縮，間接造成睫狀神經元的死亡，但動物的存活時間相當短暫，可能是這些神經毒劑打入前房後，隨著前房水 (aqueous) 回到眼球靜脈再回到體循環，造成全身毒性死亡，而且眼球內前房與後房相通，有毒物可經由後房進入睫狀肌，造成縮瞳肌、擴瞳肌和睫狀肌同時萎縮的現象，非本實驗的目的，故予以放棄。

本實驗以 Nd:YAG 雷射替代傳統的開刀或注射神經毒蛋白的方式來破壞動物的縮瞳肌的目的，在於此雷射光不需用器械切穿動物的角膜，可穿過透明的角膜組織直接作用在虹膜上，而且在裂隙燈下操作，每一發大小僅 12 microns，故可做較精細的切割。相較之下，雷射比較簡便又準確，術後合併症少，動物的存活率也高達百分之百。

本研究在掃描式電子顯微鏡觀察，發現以 Nd : YAG 雷射切割縮瞳肌後瞳孔邊緣變較平坦，但傷口處呈毛絮狀，此乃因每切割一處之縮瞳肌，需發射 1 - 2 發所致，而瞳孔邊緣的小隆起仍偶可發現，表示縮瞳肌纖維是相互交織的環狀小帶，而非單條環狀肌。術後第 5 天，有血球細胞浸潤傷口，到第 13 天，瞳孔邊緣更平滑，表示縮瞳肌無復合現象。

吾人以同一隻老鼠的左右眼為對照組及實驗組，可同時比較兩眼的差異。

縮瞳肌在破壞後的數天，其支配神經循著瓦式（Wallerian）退行性變化模式回溯到睫狀神經節，吾人試圖探討其內的形態變化及支配的神經元。在這之前，許多文獻探討不同動物的睫狀神經節[17-25]，多藉化學藥劑作神經標記，或為胚胎時期神經節之培養，J. Klooster (1993)以TEM觀察大白鼠的縮瞳核（E-W nucleus）在周邊及中樞投射路徑，發現通往睫狀神經節的副交感神經的神經末稍含許多透明、圓形的小泡及粒線體，而且和血管間無突觸相連[23]。吾人亦有相似的結果。

本實驗在破壞了大白鼠的虹膜括約肌後，在穿透式電子顯微鏡下觀察，術後第6日起睫狀神經節的部份神經元的胞器開始有變化，高爾基氏體稍微膨大；在第9日更為明顯，高爾基氏體顯著擴大，平滑內質網和粒腺體之脊也有擴大情形，胞質內出現空泡。在第13日神經元胞核偏向一側，異染色質增加，有時核質內亦有空泡狀之構造，核膜有皺縮現象，也有發現退化之軸突末梢。然而此種神經變性並非發生在所有的神經元，是否殘存完整的神經元即為控制睫狀肌（ciliary muscle）的副交感神經，仍有待進一步分析研究，此外，這些變性的神經是否會恢復生機，也待更長久的觀察。而分別支配括約肌和睫狀肌的神經元可望予以確認，更有助於臨床眼科對瞳孔的疾病作更縝密的判斷。

Summary

In rats, laser sphincterotomy causes pupil dilatation immediately. We studied the iris and ciliary ganglion responses to Q-switched Nd:YAG laser that applied to the iris in anesthetized rats, and a little retrograde degeneration was found on some ciliary ganglia.

A total of 14 eyes of 7 Wistar strain rats were examined. Seven right eyes of these rats that received Nd:YAG sphincterotomy were grouped as experimental ones, their intact left eyes were grouped as control ones. On the 1st, 3rd, 5th, 6th, 9th, 10th, 13th day after laser treatment, the rats were sacrificed and their irises and ciliary ganglia were prepared for light and electron microscopic examination.

In the control group of our study, the light reflex of pupil remained intact, the section of iris revealed 5 normal tissue layers under light microscope and normal architecture under scanning electron microscope. The ipsilateral ciliary ganglion of the control group localized at 2 sites: one aggregated on the optic nerve sheath, the other outside the optic nerve sheath. The neurons of the ciliary ganglion are normal in morphology. In the experimental group, the pupils dilated immediately after laser treatment and no prominent light responses in all 7 right eyes. Under scanning electron microscopic observation, the pupil margin became more smooth than the control group, loose stromal tissue was found beneath the wound. Under transmission electron microscopic examination of the ciliary ganglia, some retrograde degeneration was noted from the 6th day, and became more prominent on the 13th day.

From our study, iris sphincterotomy with Nd:YAG laser could induce retrograde degeneration of the ipsilateral ciliary ganglion.



參考資料

1. Alphen, G.W.H.M.(1963) : The structural changes in miosis and mydriasis of the monkey eye. Arch. Ophthalmol. 69,802.
2. Hansson, H.A.(1970) : Ultrastructure of the surface of the iris in the rat eye Z. Zellforsch. 110,192.
3. Wan C.L. (1975). A SEM study of the posterior and anterior surfaces of rat iris in pupillary dilatation and constriction. Exp. Eye Res. 20, 445 — 462.
4. Thompson HS (1975) : Pupillary light near dissociation : A classification. Surv. Ophthalmol. 19 : 290-292.
5. Yamadori-T ; Yamauchi-KE (1983) : An experimental anatomical study on the optic nerve fibers in the rat : Course of the accessory optic tract. Brain Res. 269(1) : 41-6.
6. Marcotte-RR ; Updyke-BV (1982) : Cortical visual areas of the cat project differentially onto the nuclei of the accessory optic system. Brain Res. 242(2) : 205 — 17.
7. Giolli-RA ; Blanks-RH ; Torigoe-Y (1984) : Pretectal and brain stem projection of the medial terminal nucleus of the accessory optic system of the rabbit and rat as studied by anterograde and retrograde neuronal tracing methods. J. Comp.Neurol. 227 (2) : 228-51.
8. Cooper-HM (1986) : The accessory optic system in a prosimian primate (Microcebus murinus) : evidence for a direct retinal projection to the medial terminal nucleus. J. Comp. Neurol. 249(1) : 28 — 47
9. Gregory-KM ; Giolli-RA (1985) : The dendritic architecture of the medial terminal nucleus of the accessory optic system in the rat, rabbit, and cat. Exp. Brain Res. 60(3) : 501 — 8.

10. Weber-JT ; Giolli-RA (1986) : The medial terminal nucleus of the monkey : evidence for a " complete " accessory optic system.
Brain Res. 365(1) : 164 – 8.

11. Clement-G ; Magnin-M (1984) Effect of accessory optic system lesions on vestibulo-ocular and optokinetic reflexes in the cat.
Exp. Brain Res. 55(1) : 49 – 59.

12. Davis-R ; Koelle-GB ; Sanville-UJ (1984) : Electron microscope localization of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase in the ciliary ganglion of the cat. J. Histochem. Cytochem. 32(8) : 849 – 61.

13. Monastersky-GM , Roisen-FJ (1984) : Comparison of neuritogenic activity of cyclic nucleotide and skeletal muscle-conditioned medium on ciliary ganglia in vitro.
Exp. neurol . 85(1) : 152 – 68.

14. Wise JB . (1987) : Large iridotomies by the linear incision technique using the Nd : YAG laser at low energy level. A study using cynomolgus monkeys.
Ophthalmol. 94 : 82 – 86.

15. Wise JB . (1986) A high-efficiency laser iridotomy-sphincterotomy lens.
Am .J. Ophthalmol. 101 : 546 – 553.

16. Wise JB. (1987) Low-energy linear-incision Nd : YAG laser iridotomy versus linear-incision argon laser iridotomy. Ophthalmol. 94 : 1531 – 1537.

17. K'o- Kaung Liao, Teh-cheng Jou (1975) : Anatomical study of the ciliary ganglion of *Macaca cyclopis*.
Biological Bulletin, NTNU.

18. Michele H.J. (1987) : Effects of preganglionic denervation and postganglionic axotomy on acetylcholine receptors in the chick ciliary ganglion.
J. Cell Biol. 105 : 1847 ~ 1854.

19. Richard D. (1984) : Electron microscope localization of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase in the ciliary ganglion of the cat.
J. Histochem. Cytochem. 32 : 849 – 861.

20. Satoshi K.(1988) : The accessory ciliary ganglion and the scattered ganglion cells in the short ciliary nerve in the cat.
Acta Soc. Ophthalmol. Jpn. 92 : 103 – 111.
21. Satoshi K. (1988) Localization of neurons giving rise to the preganglionic parasympathetic fibers passing through or bypassing the ciliary ganglion in the cat. Acta Soc. Ophthalmol. Jpn. 92 : 946 – 951.
22. Cynthia J. (1987) : Ultrastructural analysis of the distribution of synaptic buttons from labeled preganglionic axons on rabbit ciliary neurons.
J. Neurosci. 7(10) : 3274 – 3281.
23. J. Klooster(1993) : The peripheral and central projections of the E-W nucleus in the rat. A light and electron microscopic tracing study.
Brain Res. 632 : 260 – 273.
24. Yoshihiro H.(1993) : Effects of ciliary ganglionectomy on contractile responses in the dilator muscle of the rat iris. Exp. Eye Res. 56 : 135 – 141.
25. T.Ebendal (1985) : Parasympathetic neurotrophic activity in the rat iris : determination after different denervations. Neurosci. 16 : 181 – 185.

圖 1.2. Coherent model 7900 Nd:YAG 雷射。

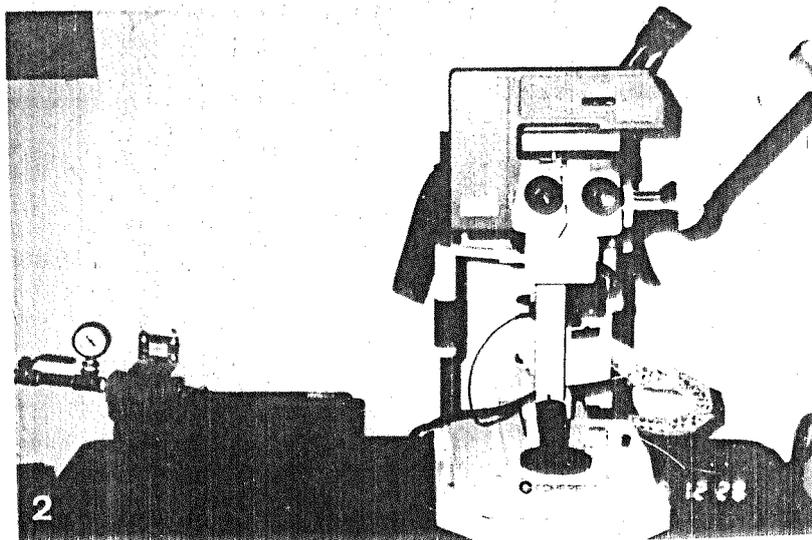
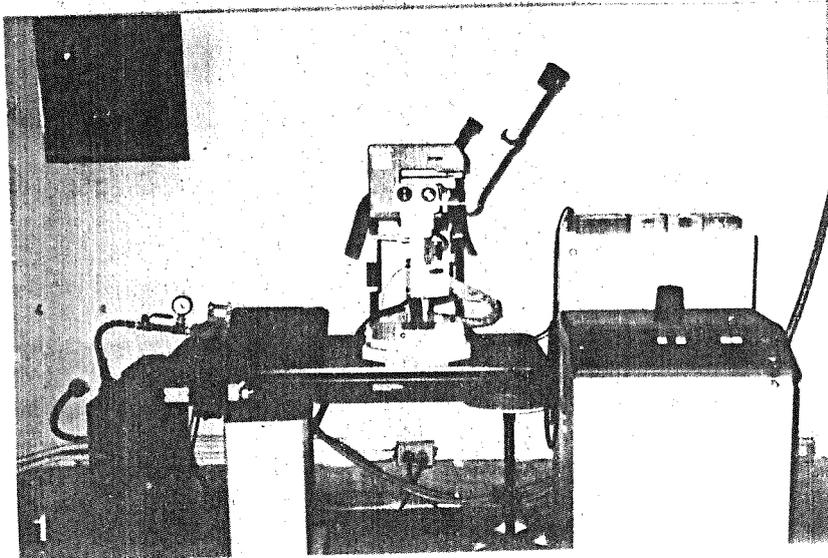


圖 3. 對照組之虹膜：由前到後可分五層構造：表層為纖維母細胞（1），第2層為不含血管的結締纖維組織（2），第3層為含血管的結締纖維組織（3），第4層為肌肉層（4），第5層為上皮細胞層（5）。表層可見隱洞（Cr）。（400x）。

圖 4. 上圖之放大對照組之虹膜：可見平整的瞳孔邊緣，瞳孔括約肌（S）在內。Cr:隱洞。（1600 x）。

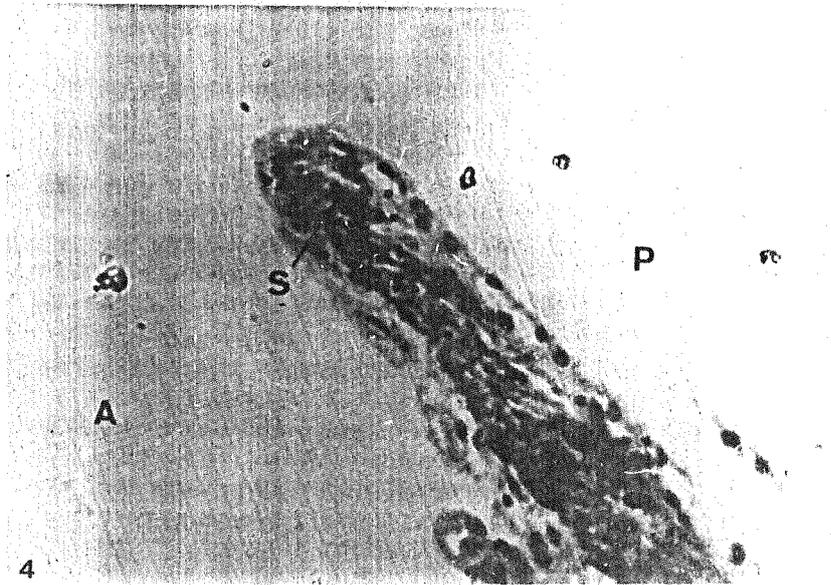
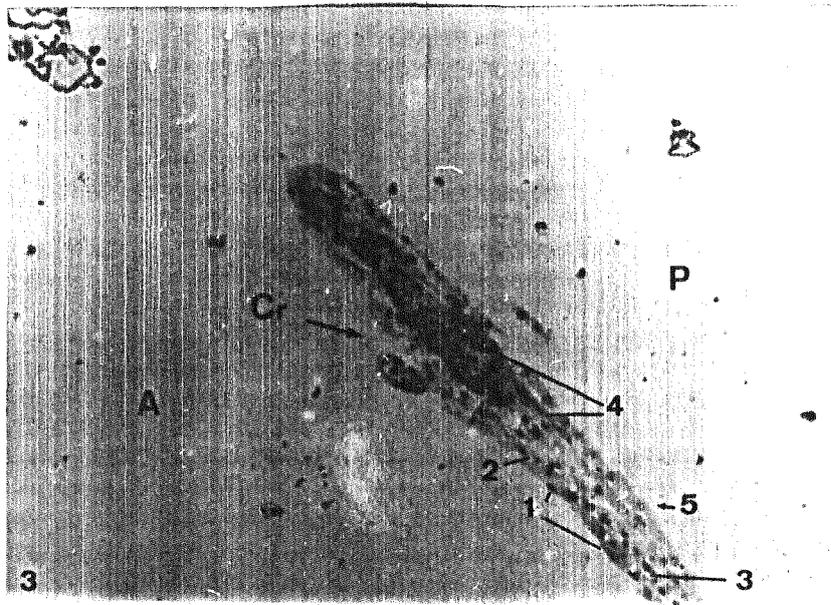


圖 5. 實驗組雷射術後之虹膜：可見不平整的瞳孔邊緣（→）。
A:前面,P:後面。(400x)。

圖 6. 上圖之放大：殘缺的瞳孔邊緣，仍有五層構造。
瞳孔括約肌在內。A:前面,P:後面。(1600x)。

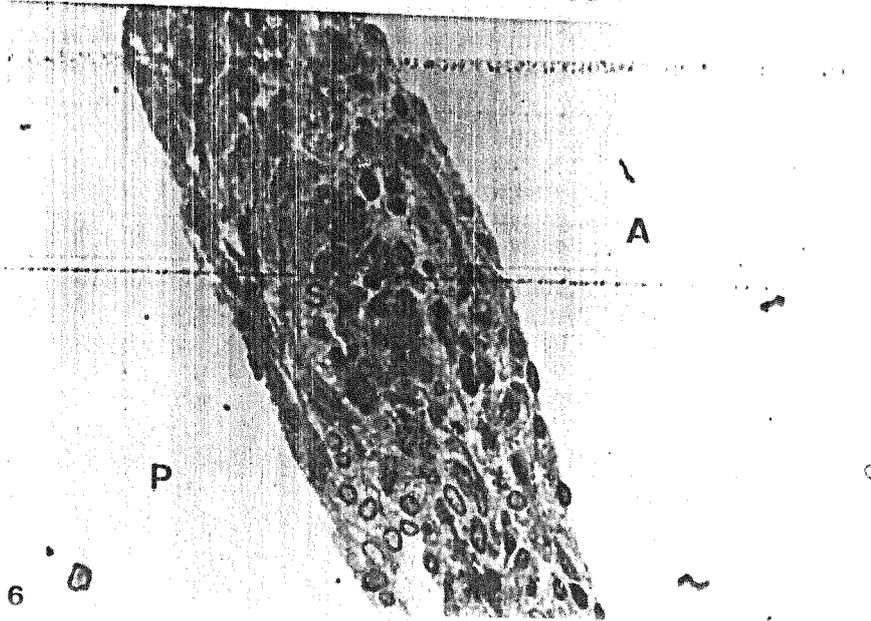
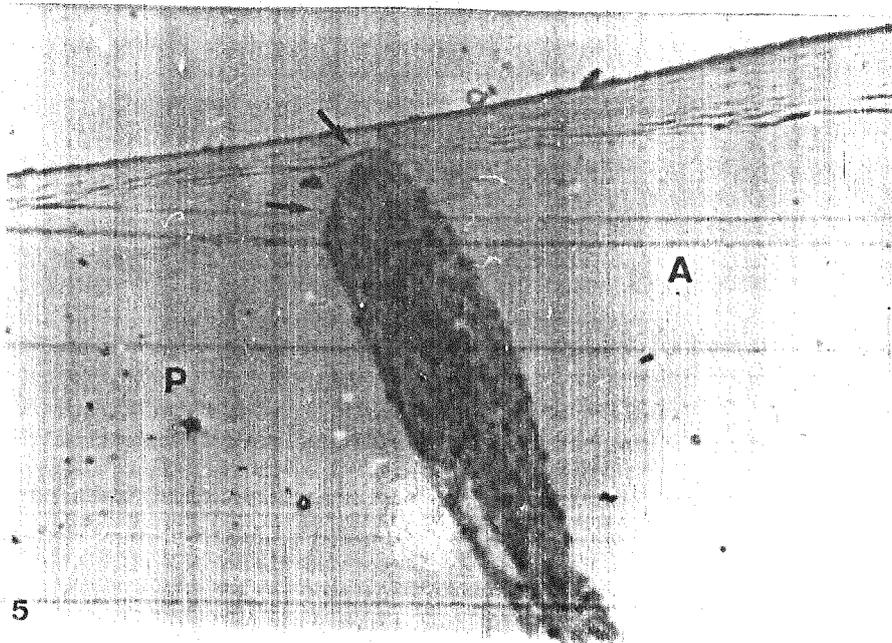


圖 7. 實驗組雷射術後第 10 天之虹膜。A:前面,P:後面,B:血管。
(400x)。

圖 8. 上圖之放大。S:瞳孔括約肌。(1600x)。

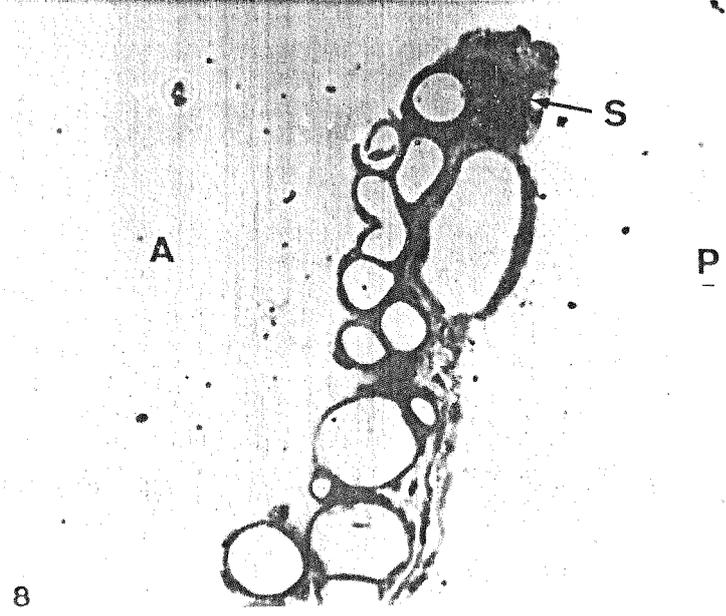
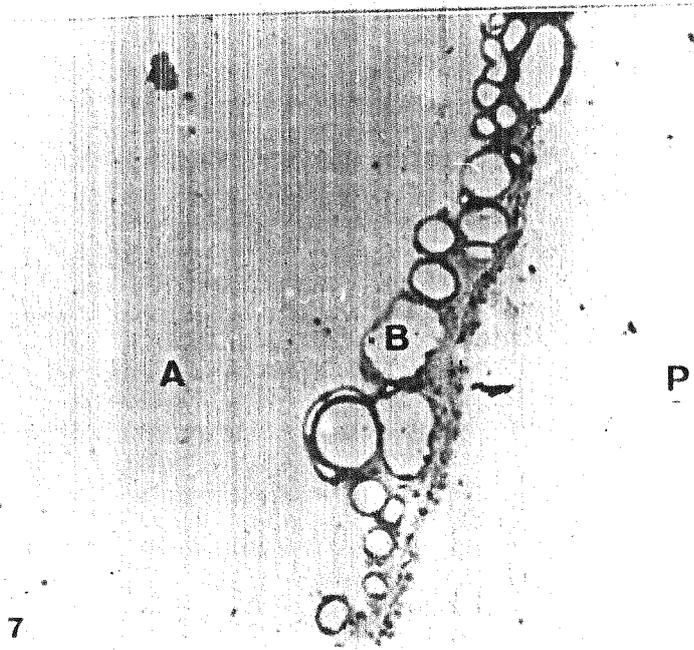


圖 9. 對照組之虹膜：虹膜（I）與睫狀體（C）相連，虹膜下為角
膜（E），虹膜前表面有大小不一的隱洞（C）。（69x）。

圖 10. 對照組之虹膜：虹膜前表面隱洞呈圓或橢圓形，由纖維芽胞
（F）構成。（480x）。

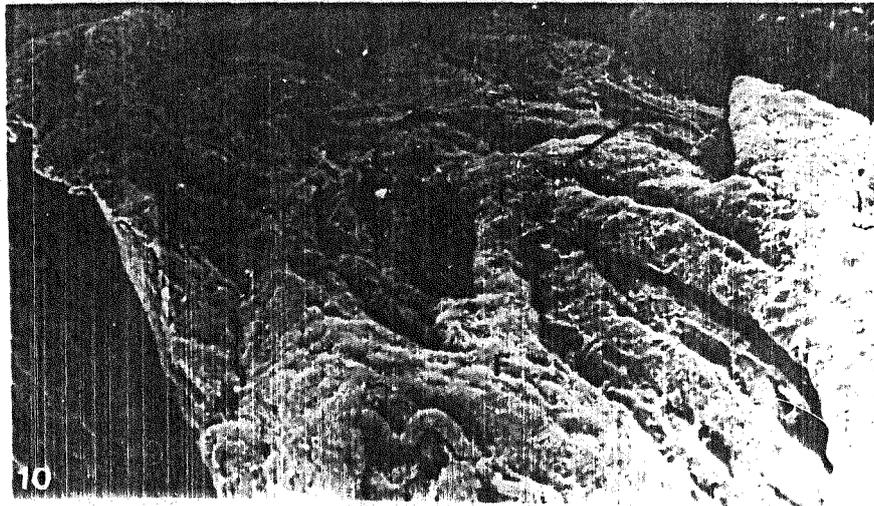
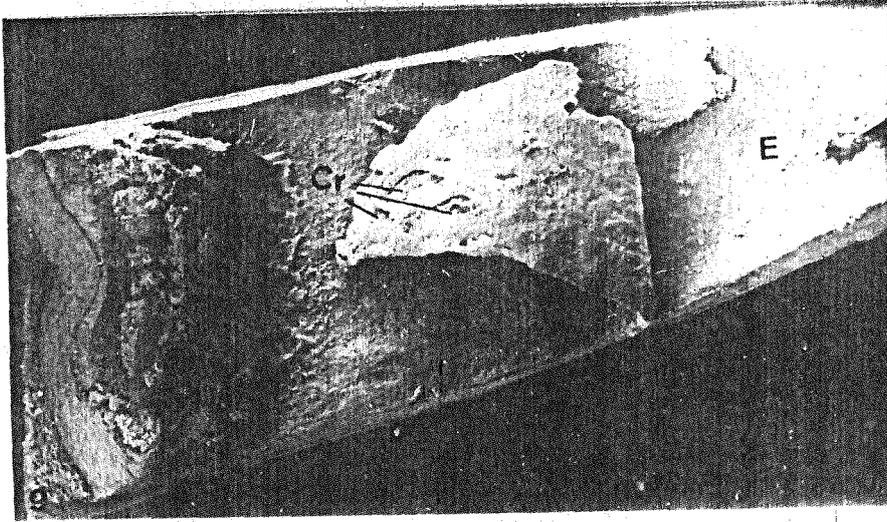


圖 11. 對照組之虹膜：虹膜前表面的纖維芽胞（F）。（2700x）

圖 12. 對照組之虹膜：虹膜前表面隱洞內有結締纖維組織。
（2100x）。

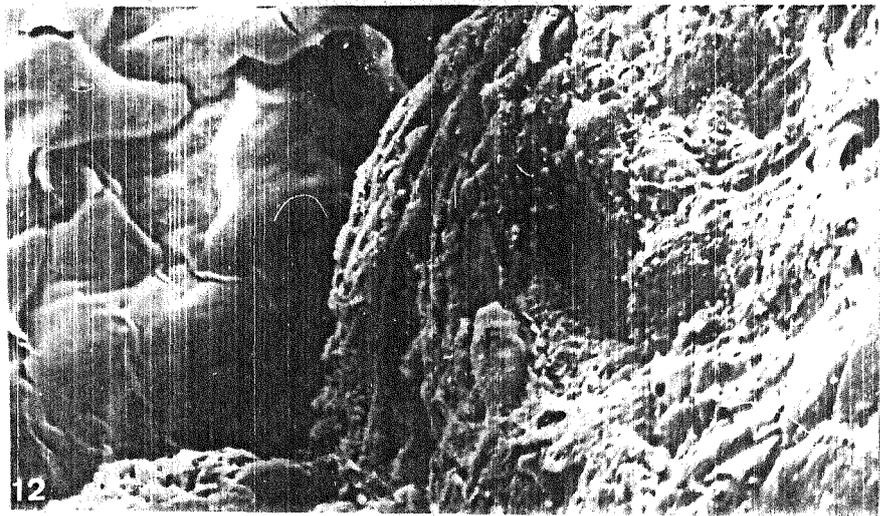
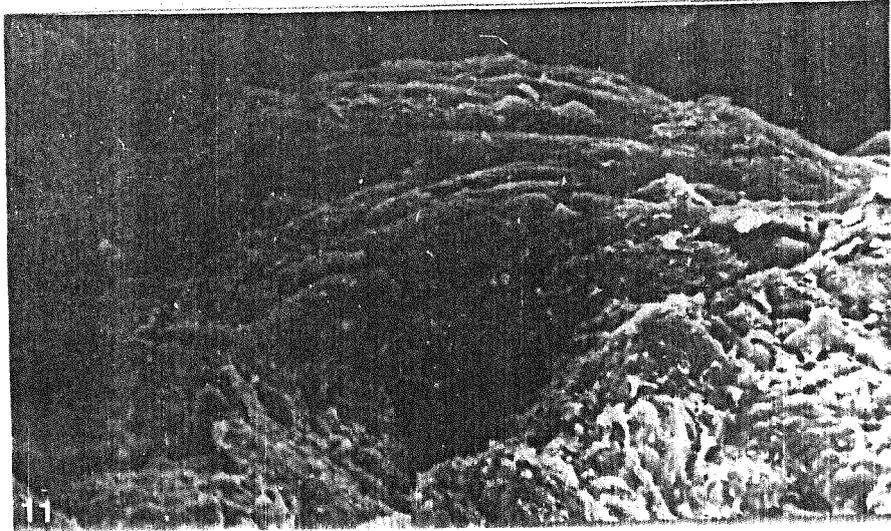


圖 13. 對照組之虹膜：虹膜與睫狀體 (C) 相連，虹膜下為角膜 (E)，
虹膜後表面有一層 amorphous layer 。 (69x) 。

圖 14. 對照組之虹膜：虹膜後表面的環狀皺褶 (G) 。 (480x) 。

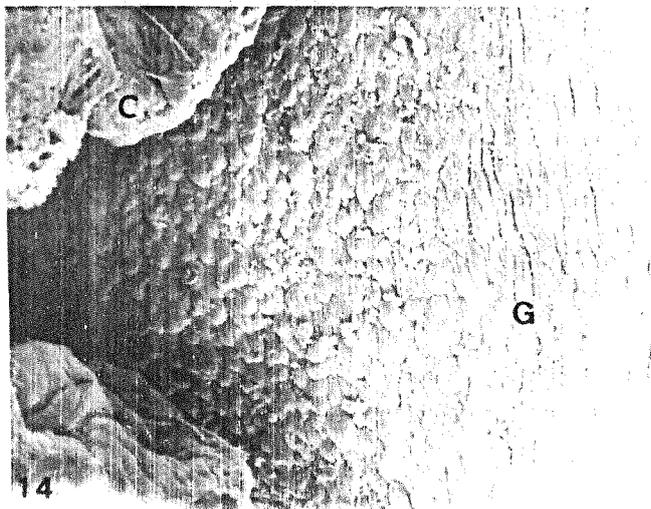
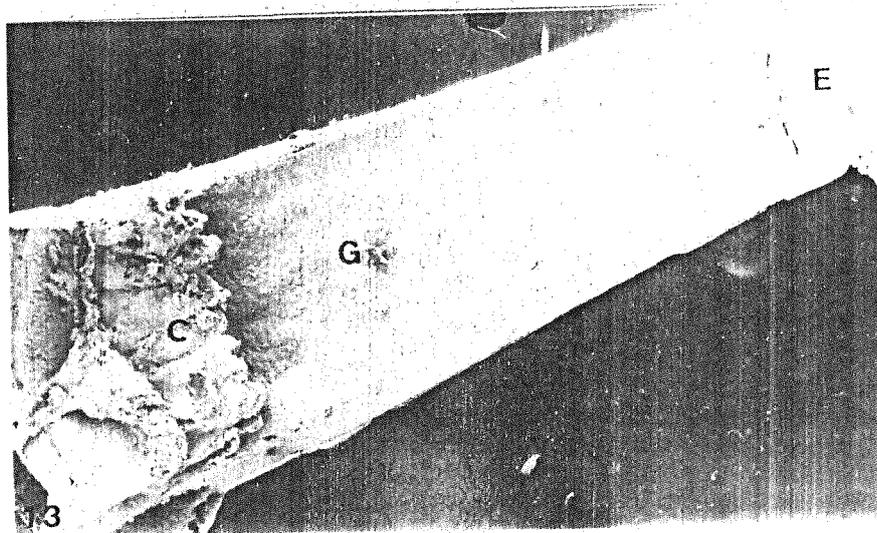


圖 15. 對照組之虹膜：虹膜瞳孔邊緣有許多隆起（H），虹膜後表面有一層 amorphous layer（A）。E: 角膜。（270x）。

圖 16. 對照組之虹膜：虹膜瞳孔邊緣的隆起（H）。（690x）。

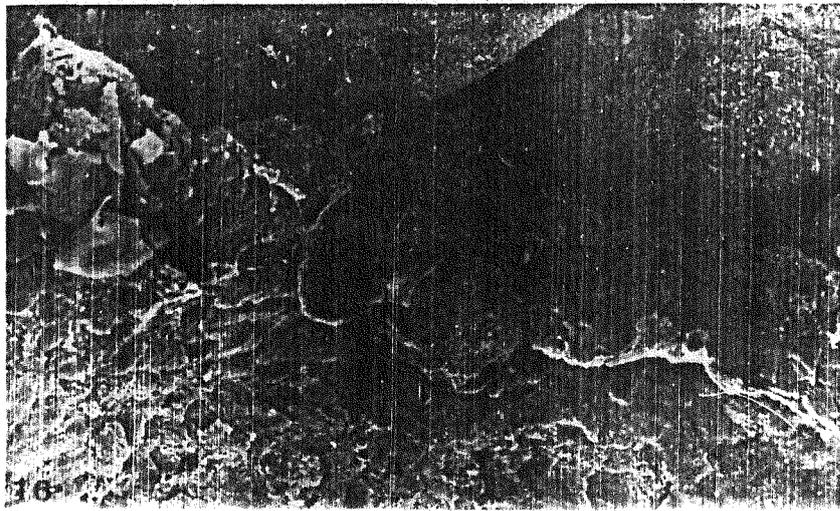
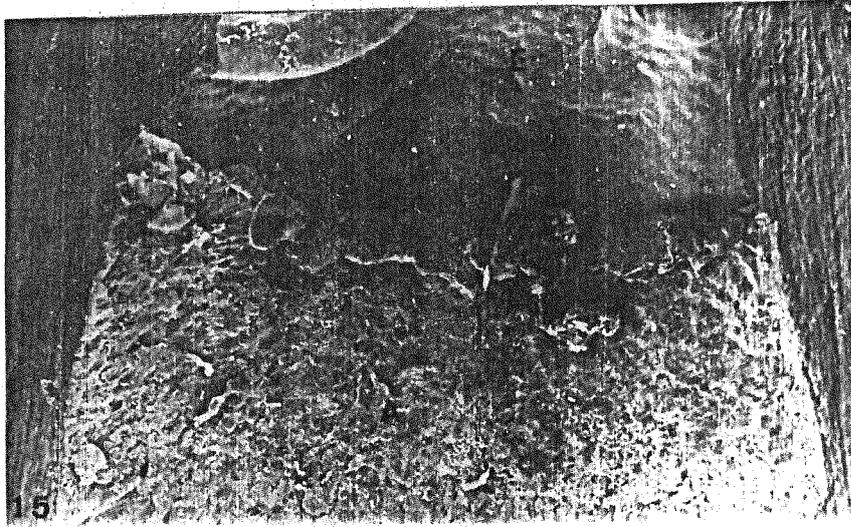


圖 17. 實驗組雷射術後第 1 天之虹膜：虹膜 (I) 與睫狀體 (C) 相連，虹膜下為角膜 (E)，瞳孔邊緣可見明顯切跡 (→)。
(100x)。

圖 18. 實驗組雷射術後第 1 天之虹膜：瞳孔邊緣可見明顯切跡(→)。
(210x)。

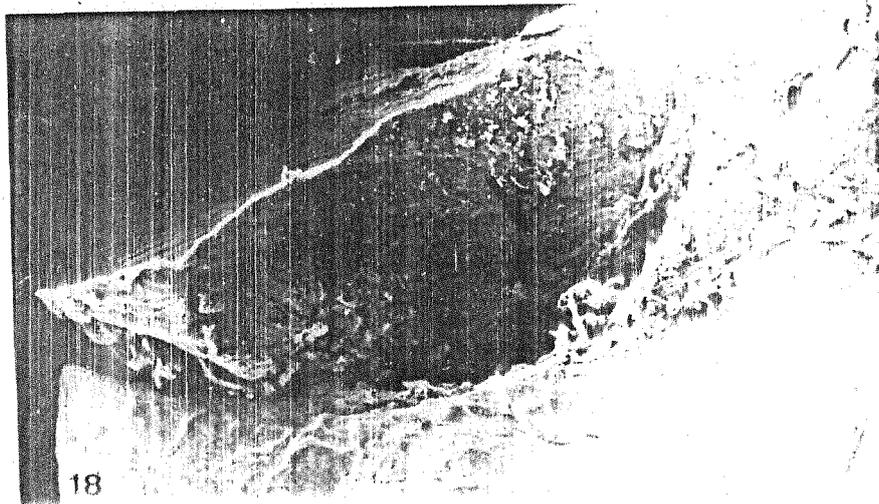
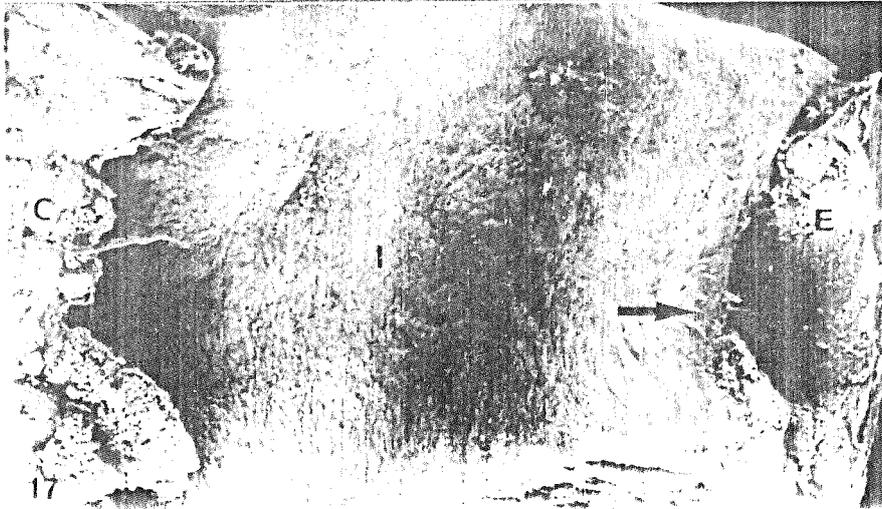


圖 19. 實驗組雷射術後第 1 天之虹膜：瞳孔邊緣有斷裂的肌肉組織。
G:環狀皺褶。(210x)。

圖 20. 實驗組雷射術後第 1 天之虹膜：瞳孔邊緣有斷裂的肌肉組織。
(>)。(2100x)。

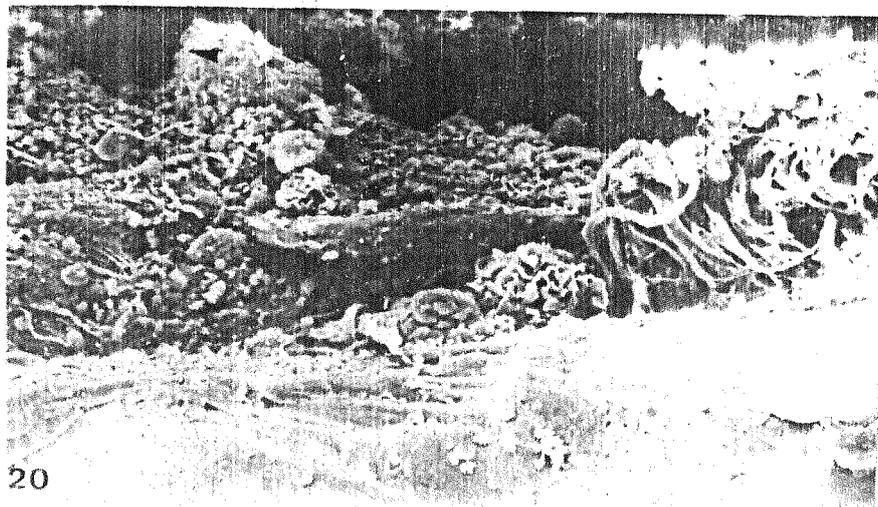
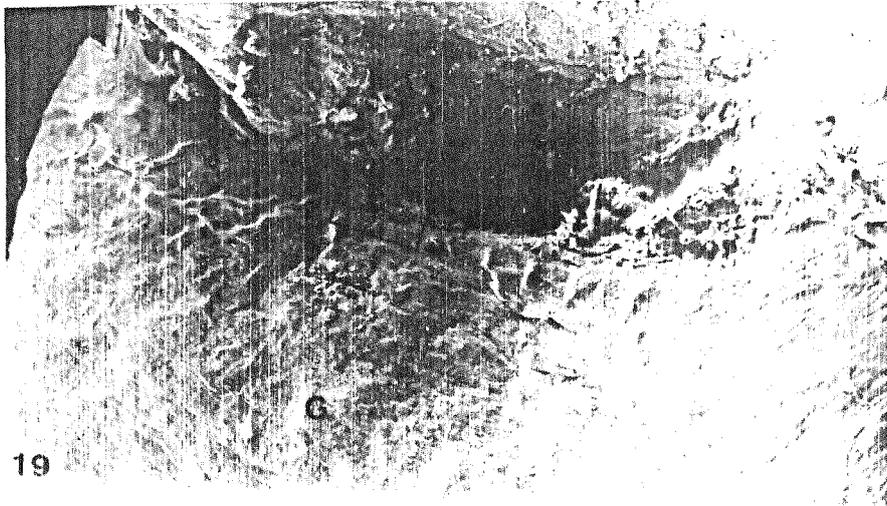


圖 21. 實驗組雷射術後第 1 天之虹膜：斷裂面下有可見結締纖維組織。(1000x)。

圖 22. 實驗組雷射術後第 1 天之虹膜：瞳孔斷裂面及環走的皺褶。(700x)。

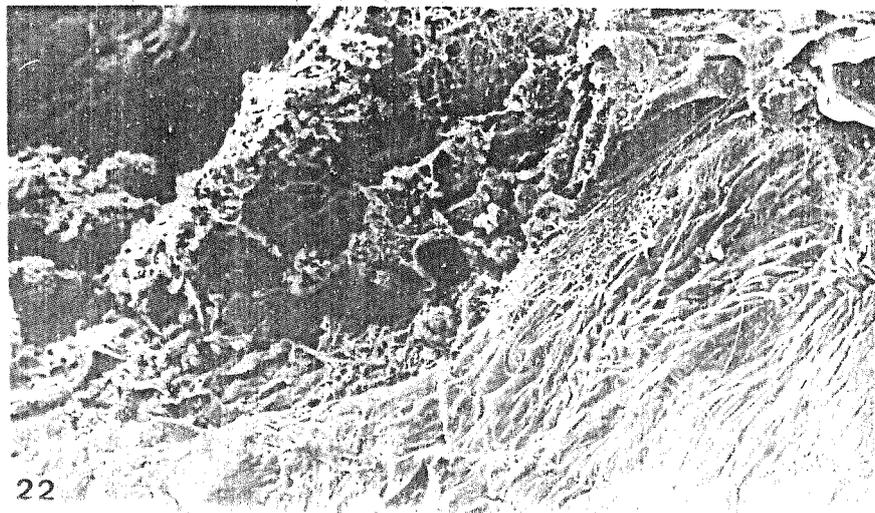
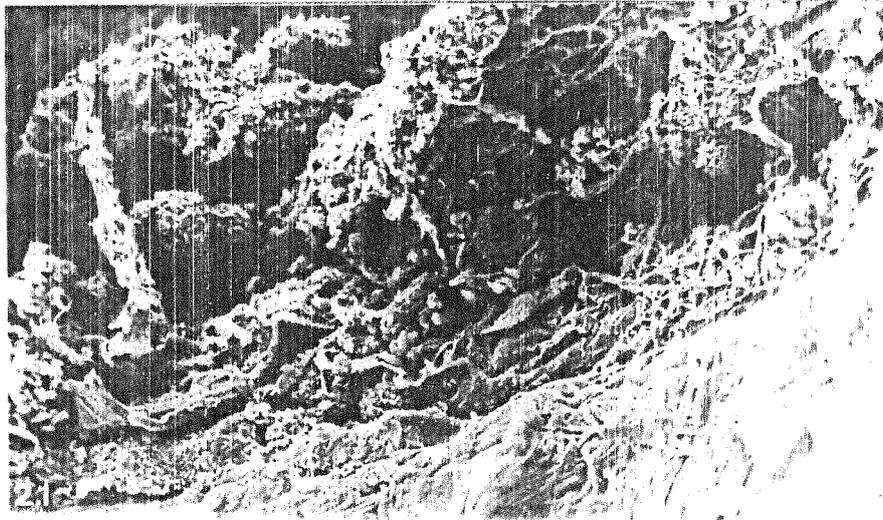


圖 23. 實驗組雷射術後第 1 天之虹膜：斷裂面下的露出結締纖維組織。(1400x)。

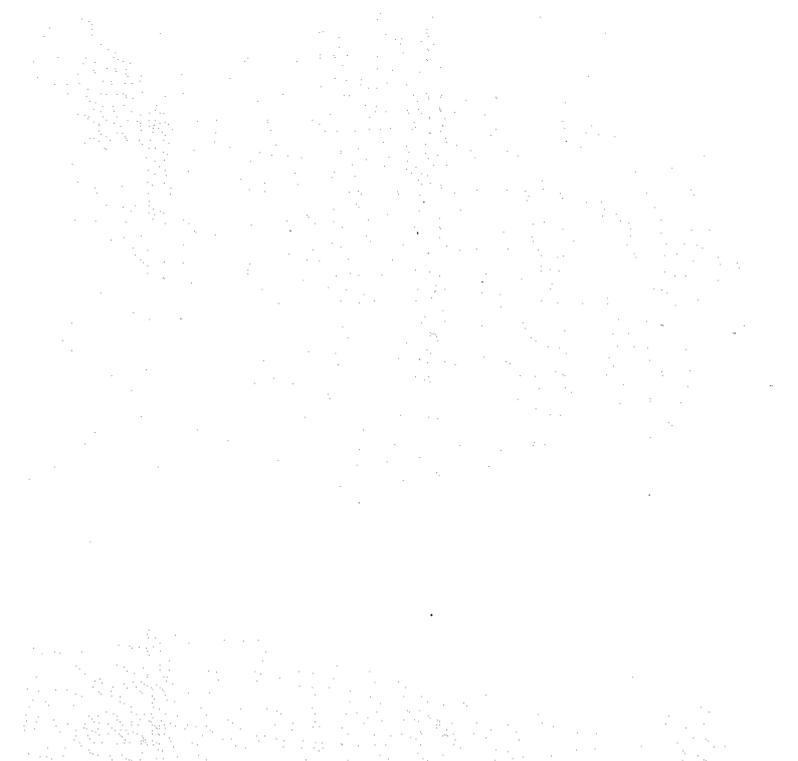


圖 24. 實驗組雷射術後第 1 天之虹膜：斷裂面下露出的結締纖維組織。(2800x)。



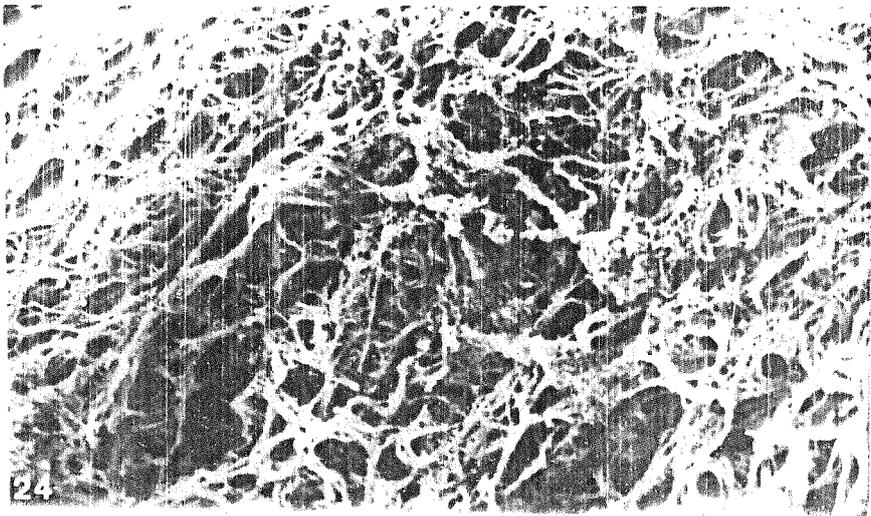
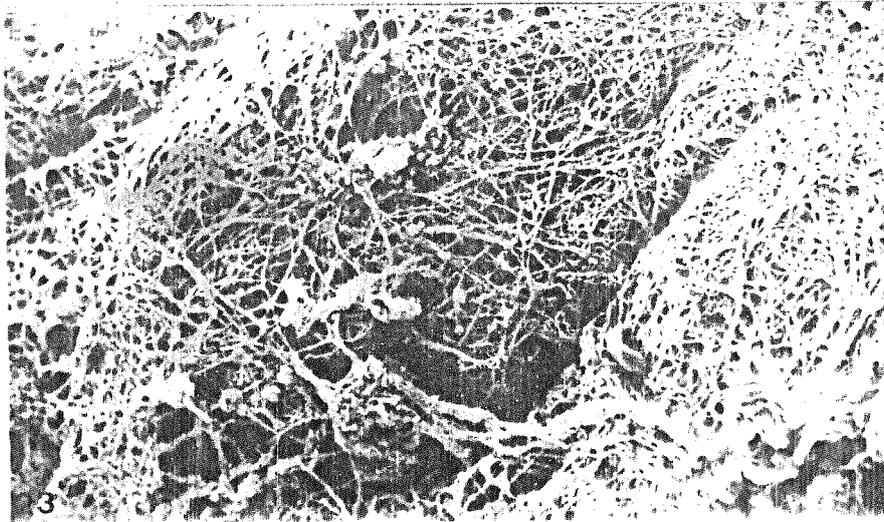


圖 25. 實驗組雷射術後第 1 天之虹膜：瞳孔斷裂面有巨噬細胞出現。
(2100x)。

圖 26. 實驗組雷射術後第 1 天之虹膜：瞳孔斷裂面的巨噬細胞出現。
(2800x)。

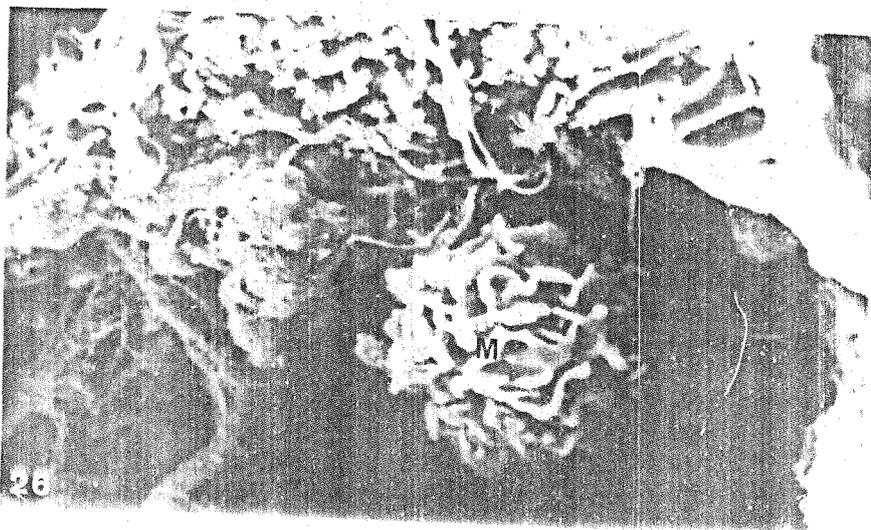
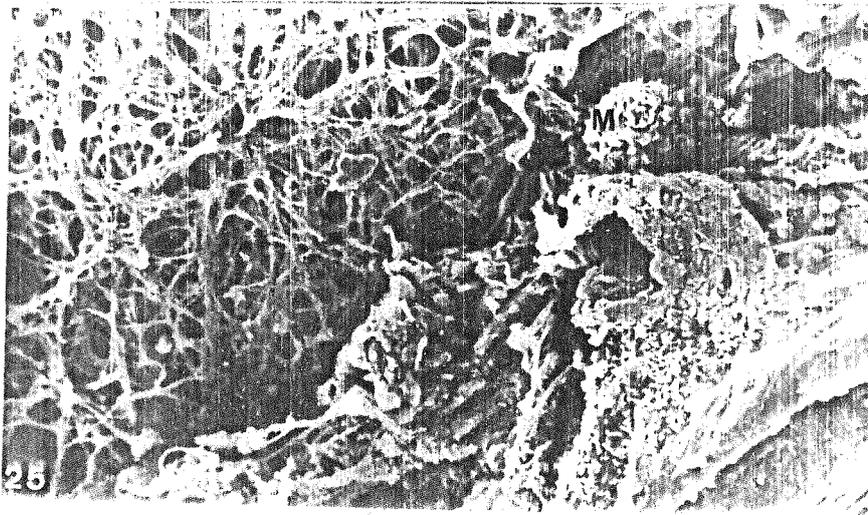


圖 27. 實驗組雷射術後第 3 天之虹膜：虹膜上有殘留的玻璃體（V），
虹膜下為角膜（K）。（70x）。

圖 28. 實驗組雷射術後第 3 天之虹膜：瞳孔邊緣變平滑（▶）。
（210x）。

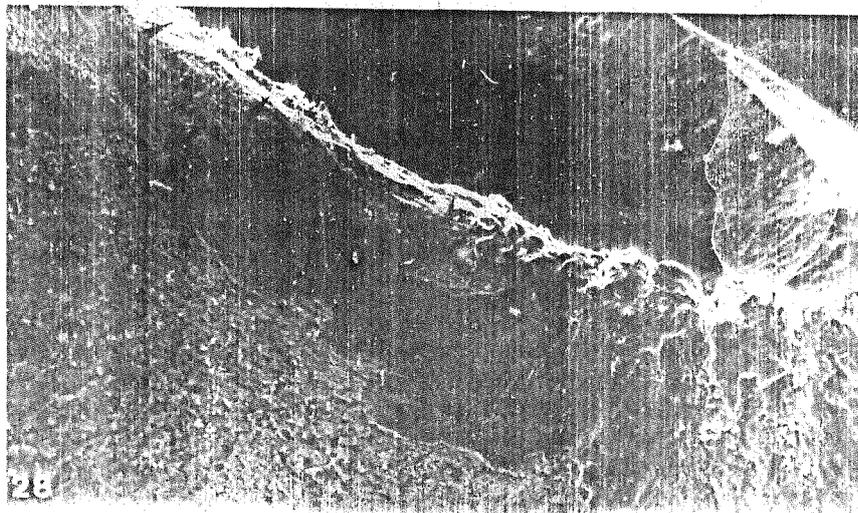
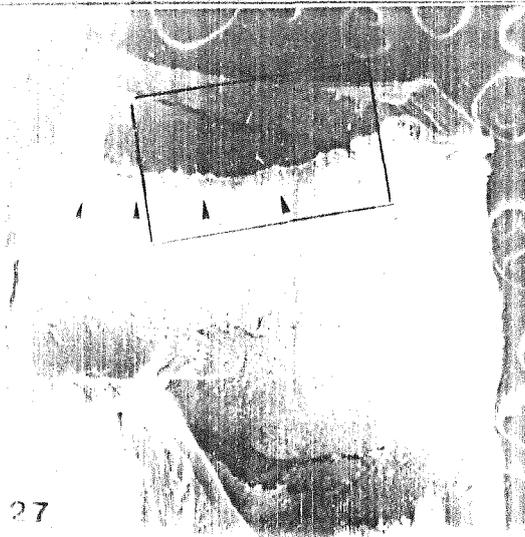


圖 29. 實驗組雷射術後第 3 天之虹膜：瞳孔邊緣隆起處 (H) ，虹膜上有一層 amorphous layer (A) 。 (210x) 。

圖 30. 實驗組雷射術後第 3 天之虹膜：瞳孔邊緣隆起處 (➡) 。

(490x) 。

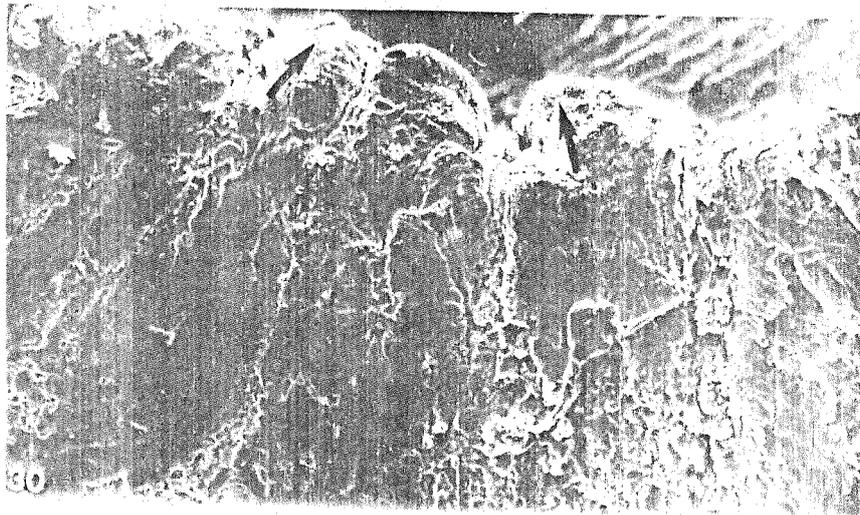
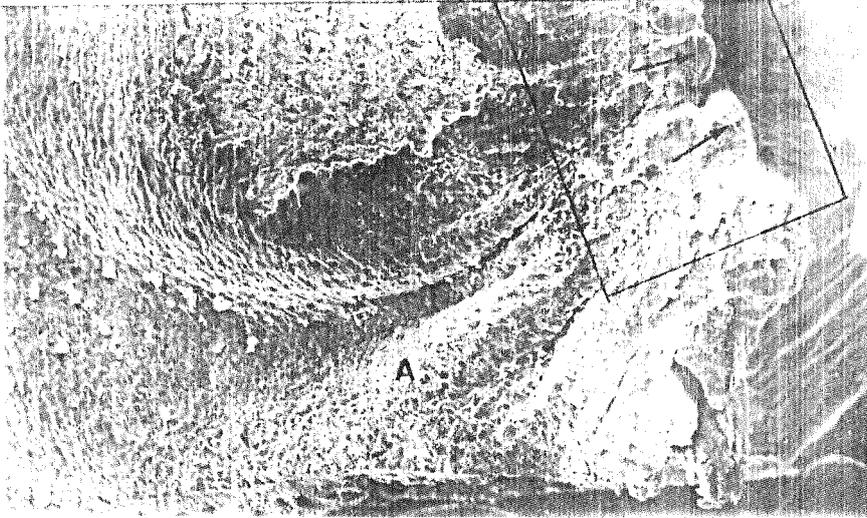


圖 31. 實驗組雷射術後第 3 天之虹膜：虹膜上有一層破裂的 amorphous layer (A) 。 (700x)

圖 32 實驗組雷射術後第 3 天之虹膜：傷口附近有紅血球 (r) 。 (2800x) 。

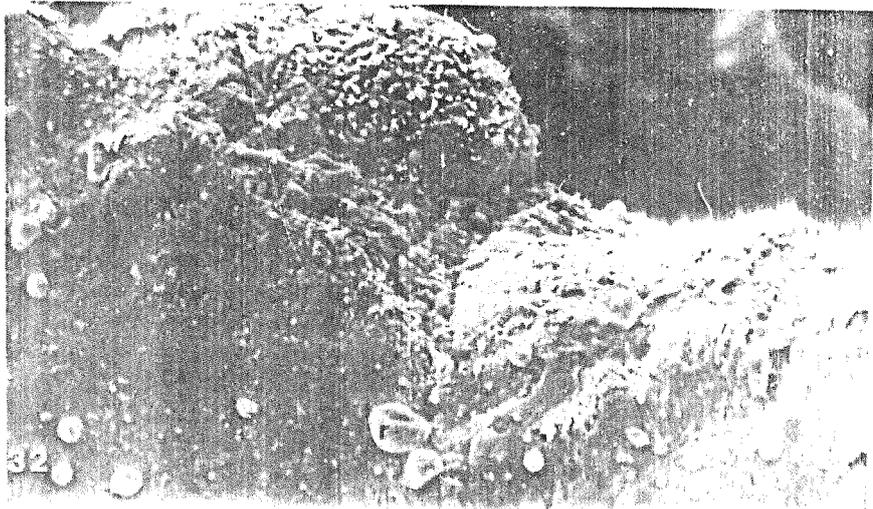
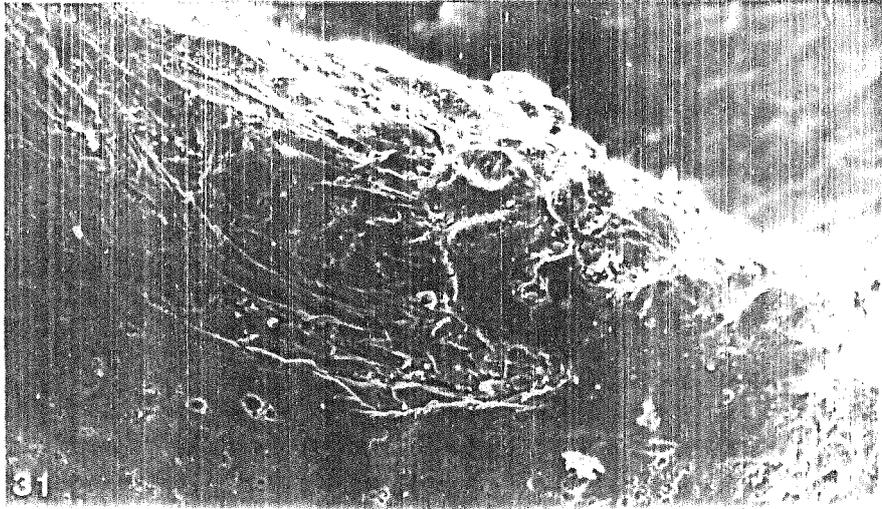
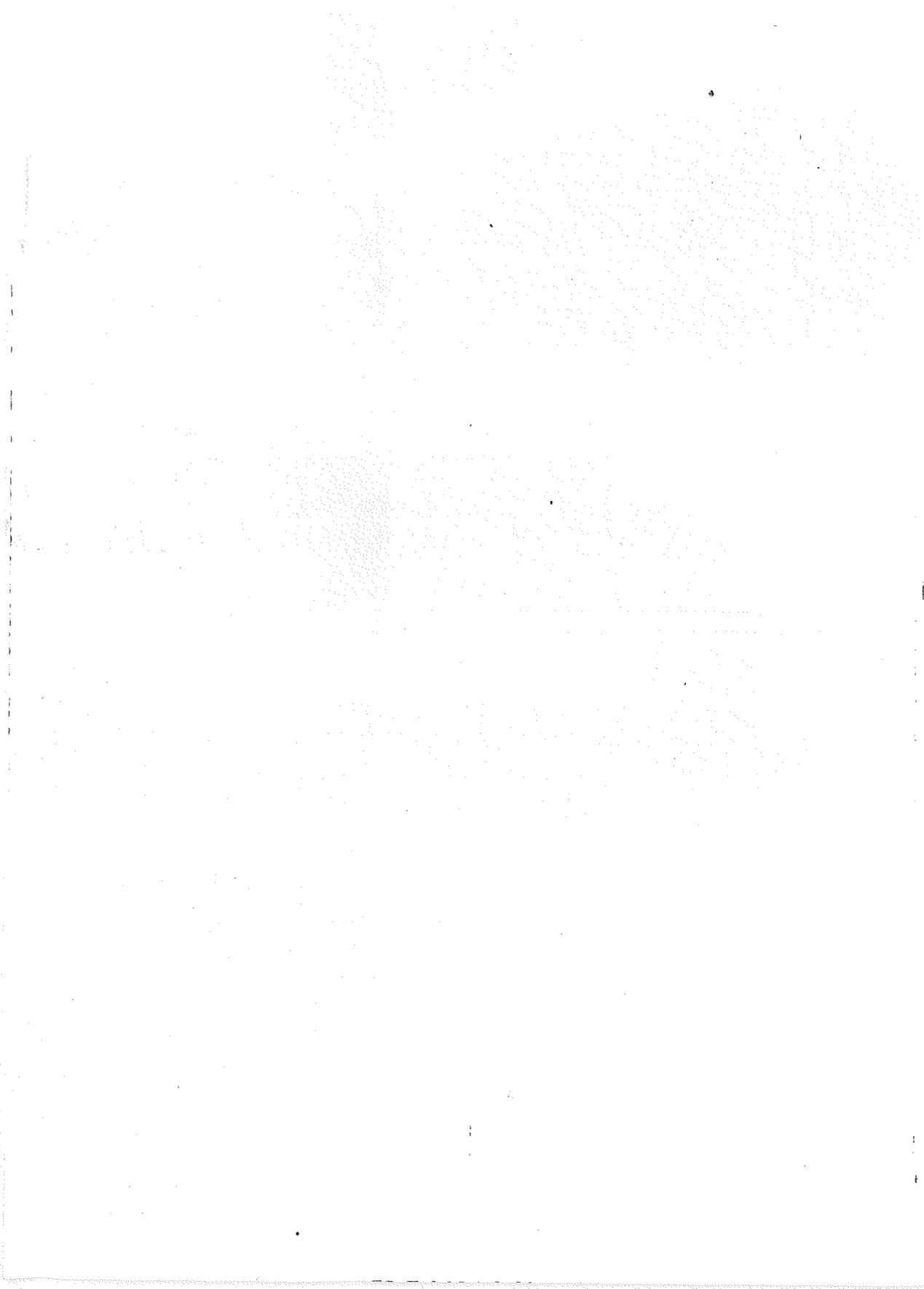


圖 33. 實驗組雷射術後第 3 天之虹膜：傷口附近的紅血球 (r) 。
(2800x) 。



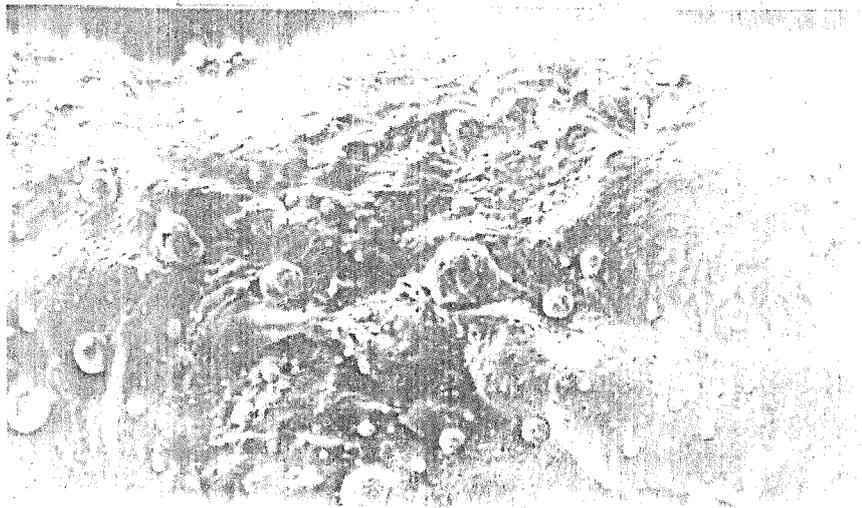


圖 34. 實驗組雷射術後第 5 天之虹膜：瞳孔邊緣不規則，可見裂斷的肌肉（→）。（140x）。

圖 35. 實驗組雷射術後第 5 天之虹膜：虹膜上有一層破裂的 amorphous layer（A）。（700x）。

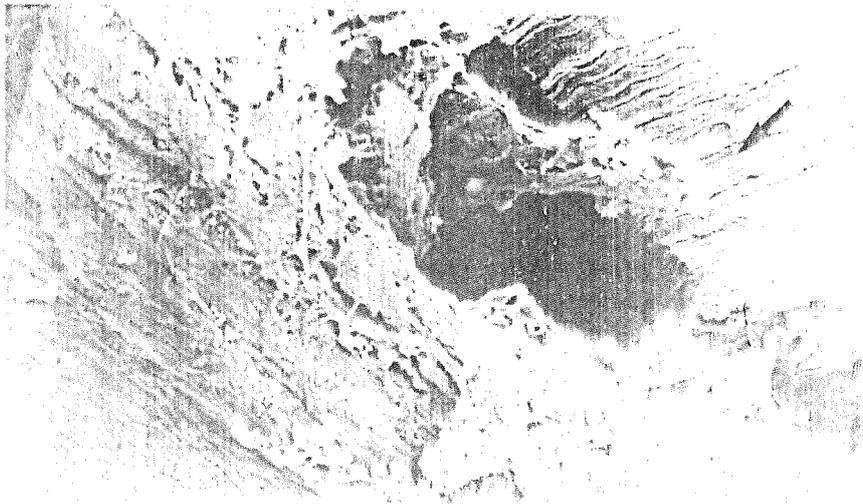
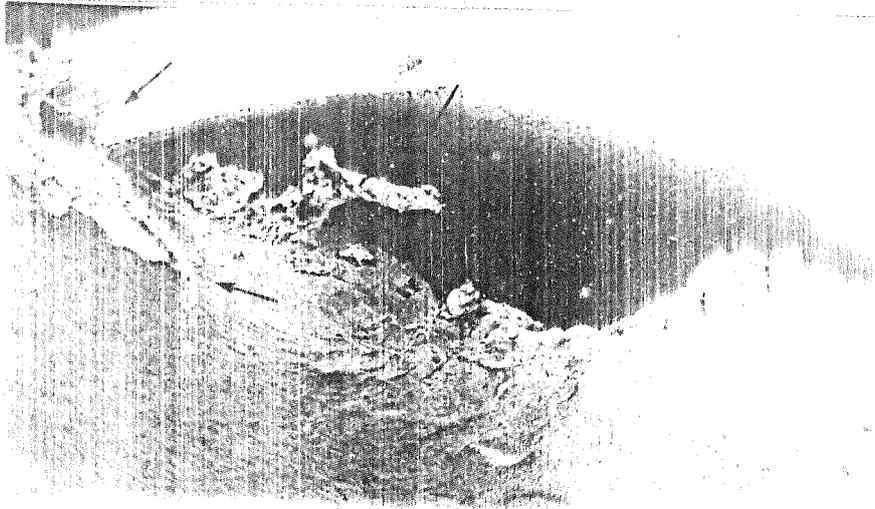


圖 36. 實驗組雷射術後第 5 天之虹膜： amorphous layer (A) 。
(1000x) 。

圖 37. 實驗組雷射術後第 5 天之虹膜： amorphous layer (→) 。

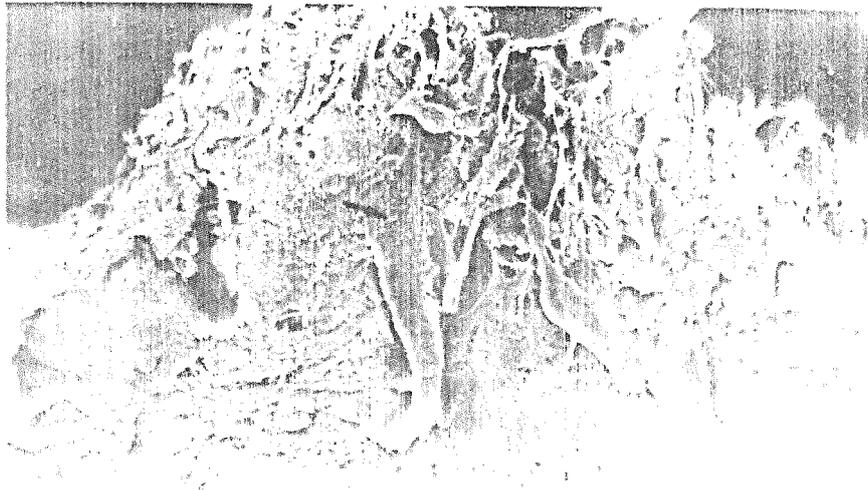
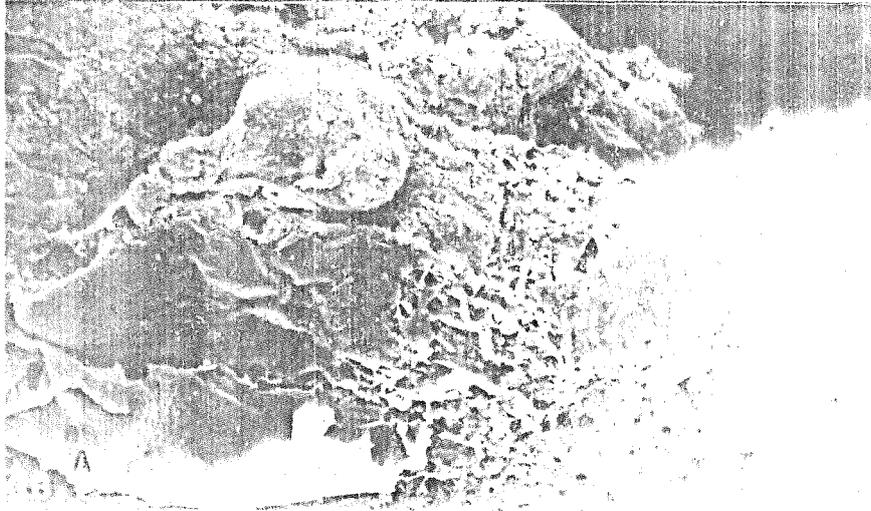


圖 38. 實驗組雷射術後第 5 天之虹膜： amorphous layer (A)。下為環走的皺褶。(1400x)。

圖 39. 實驗組雷射術後第 5 天之虹膜： amorphous layer (A)。(700x)。

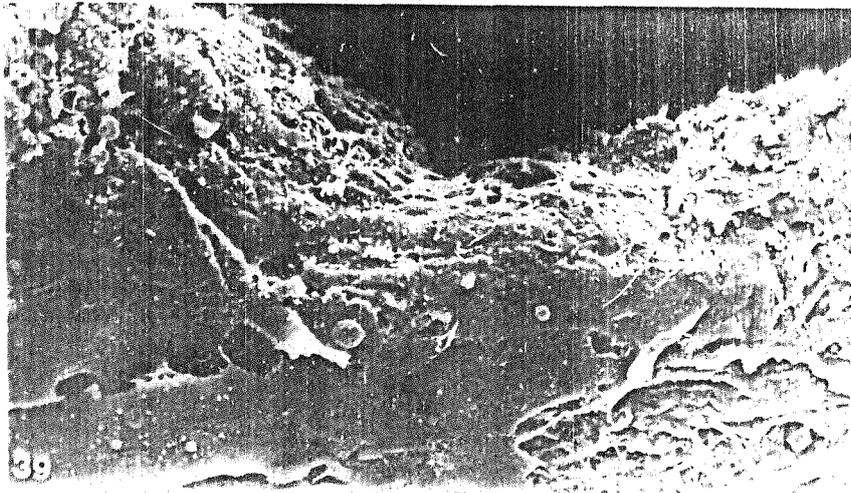
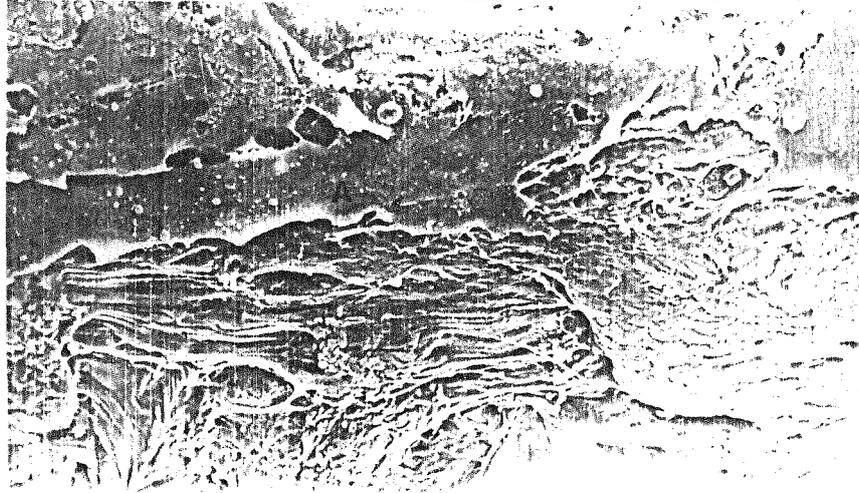


圖 40. 實驗組雷射術後第 5 天之虹膜：瞳孔斷裂面露出結締纖維組織，上有血管（v）。（1400x）

圖 41. 實驗組雷射術後第 5 天之虹膜：虹膜後表面有環走的皺褶（G）。（700x）。

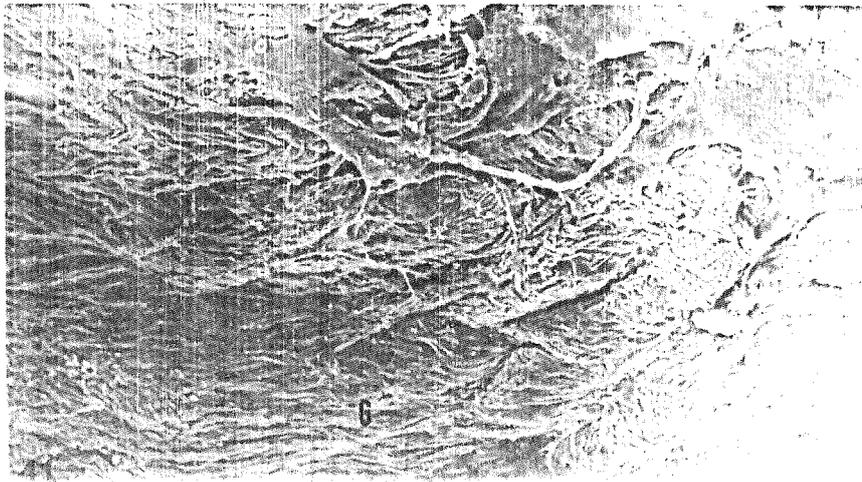
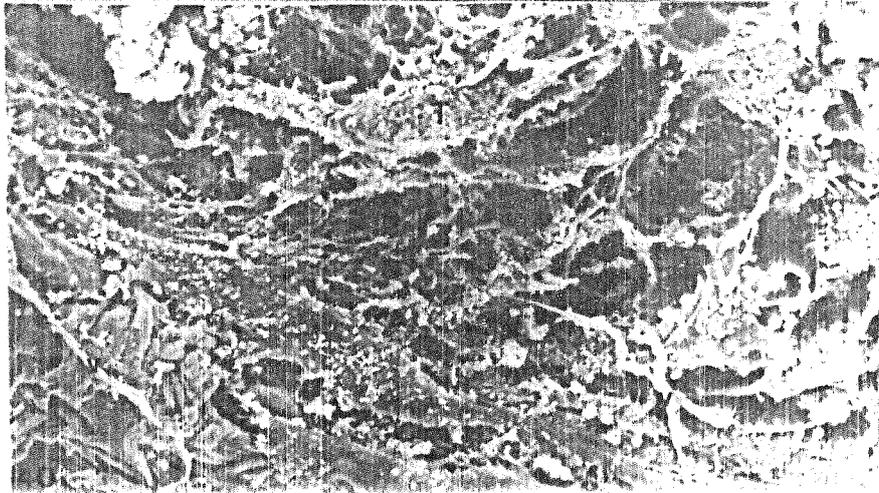


圖 42. 實驗組雷射術後第 5 天之虹膜：瞳孔斷裂面附近的紅血球。
(1300x)。

圖 43. 實驗組雷射術後第 5 天之虹膜：瞳孔斷裂面有巨噬細胞 (M)
出現。(2800x)。

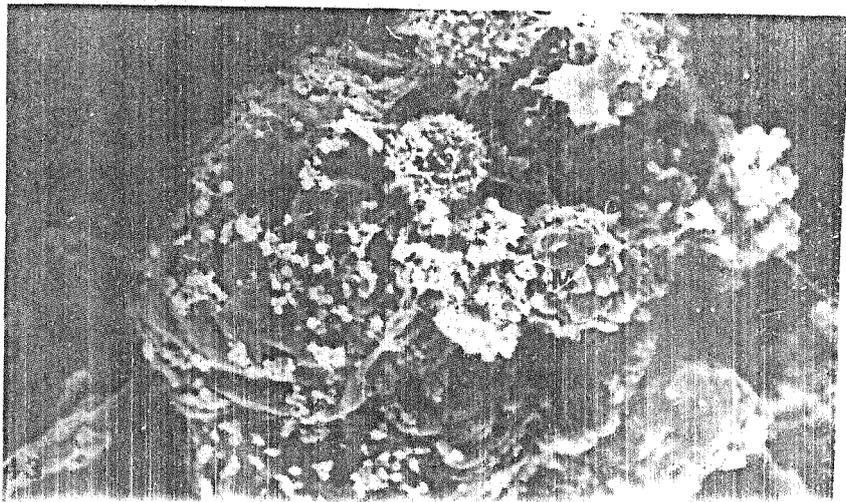
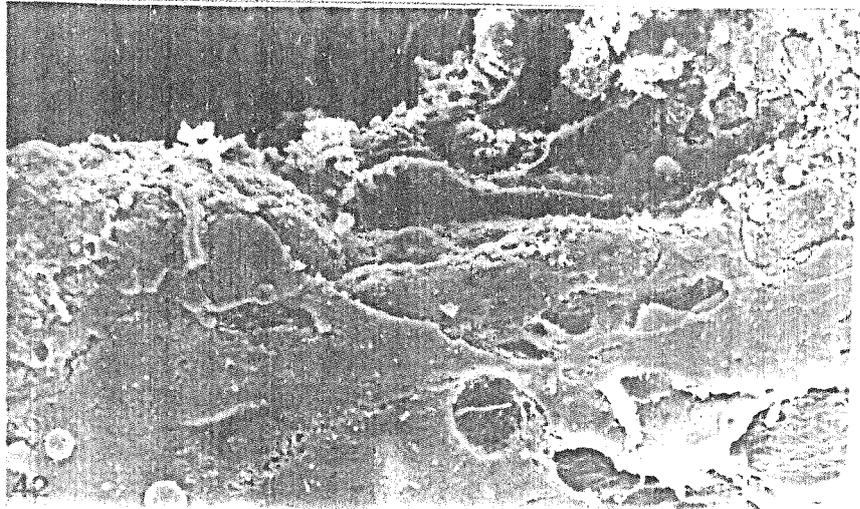


圖 44. 實驗組雷射術後第 6 天之虹膜：瞳孔斷裂面變平整，露出肌肉組織 (➡)。E:角膜,I:虹膜。(270x)。

圖 45. 實驗組雷射術後第 6 天之虹膜：虹膜後表面有一層破裂的 amorphous layer。(1100x)。

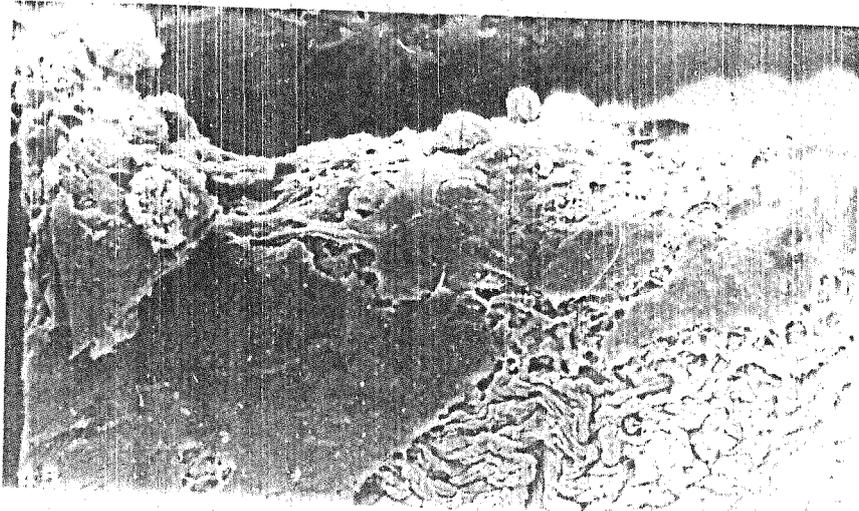
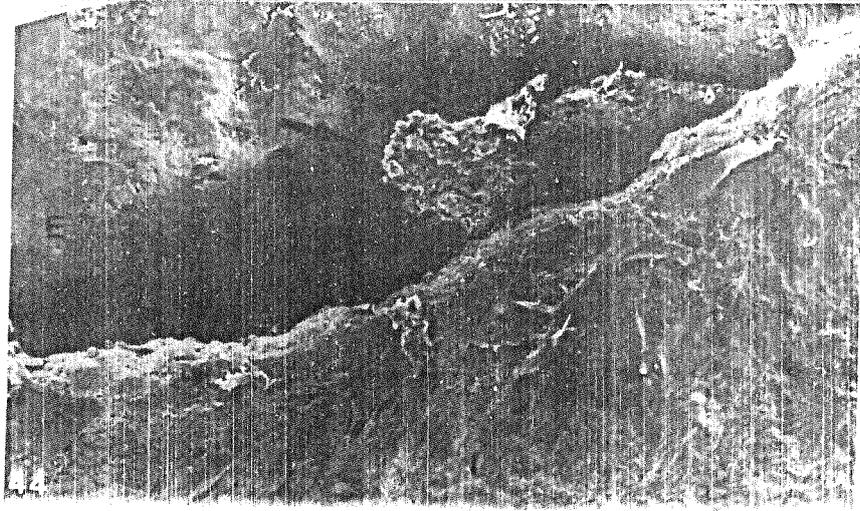


圖 46. 實驗組雷射術後第 6 天之虹膜：虹膜後表面的 amorphous layer (A)，上有血管 (▶)。(1300x)。

圖 47. 實驗組雷射術後第 6 天之虹膜：高倍 (2700x)。

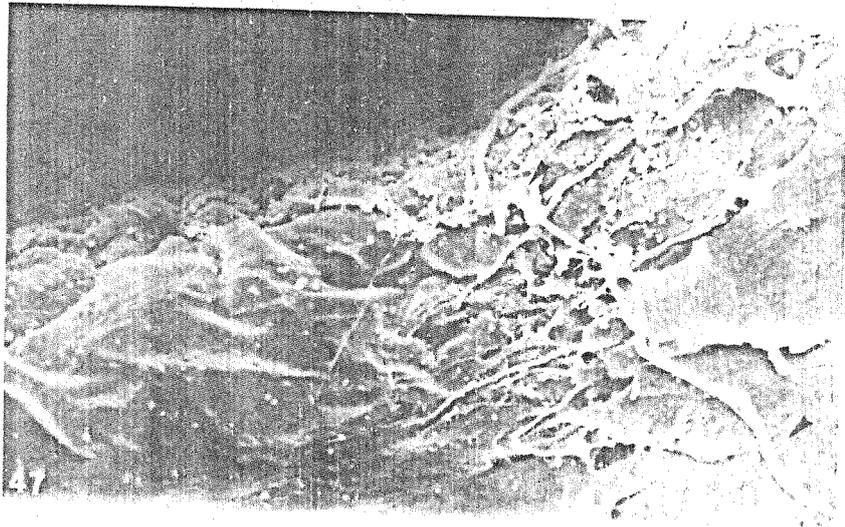
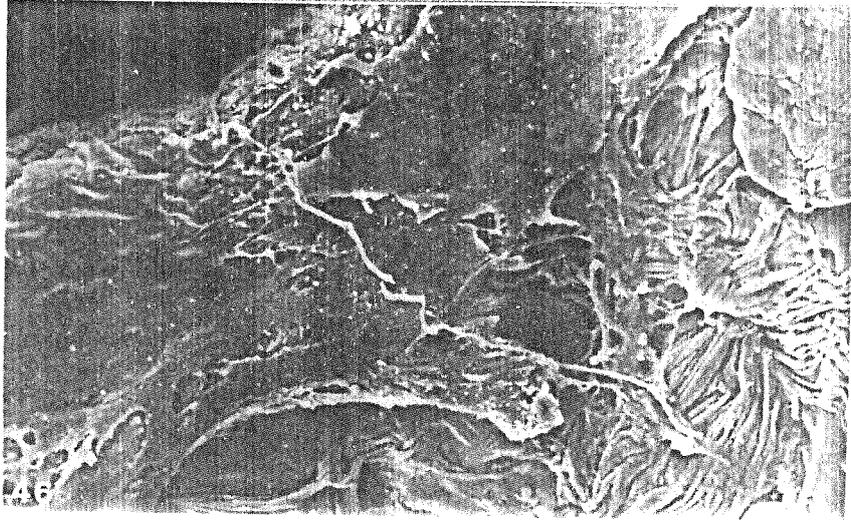
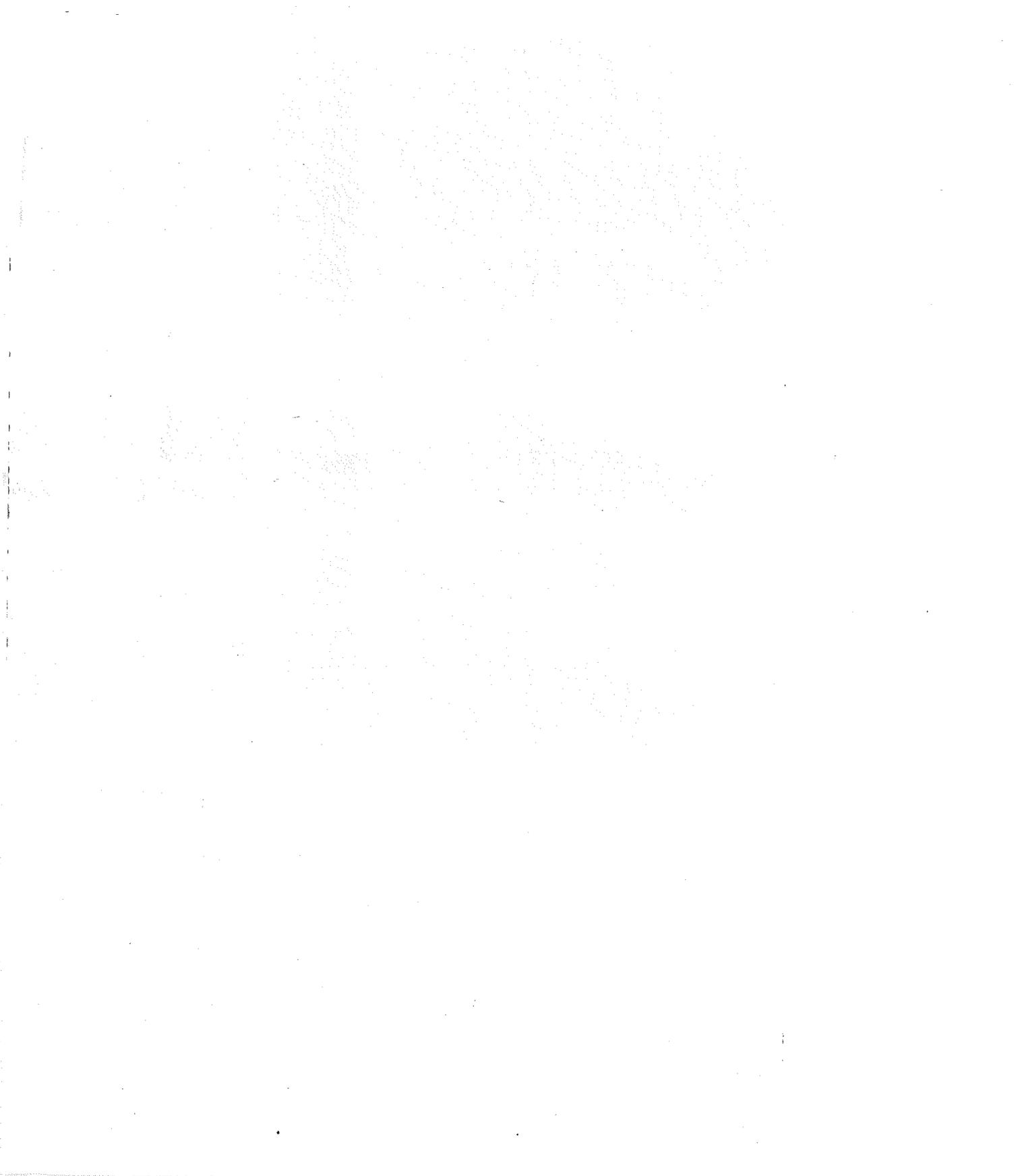


圖 48. 實驗組雷射術後第 6 天之虹膜：瞳孔斷裂面附近露出結締纖維組織 (T) 。 (4800x) 。



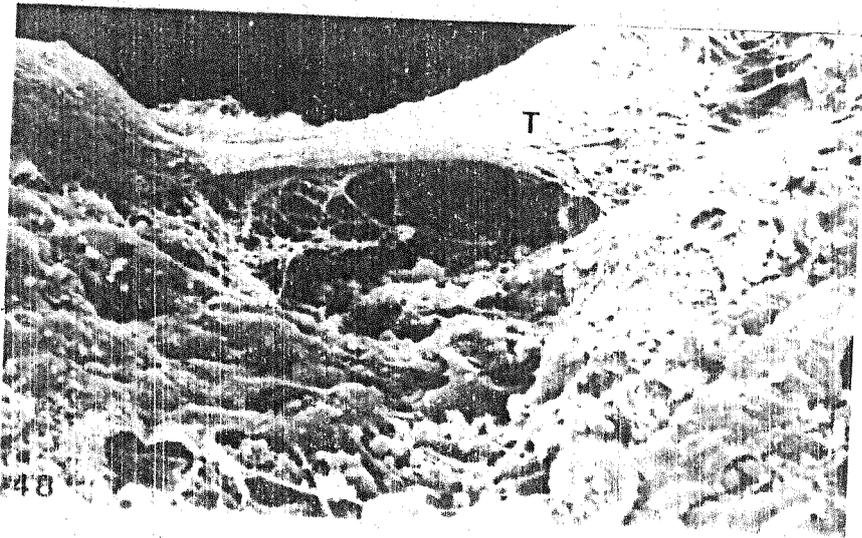
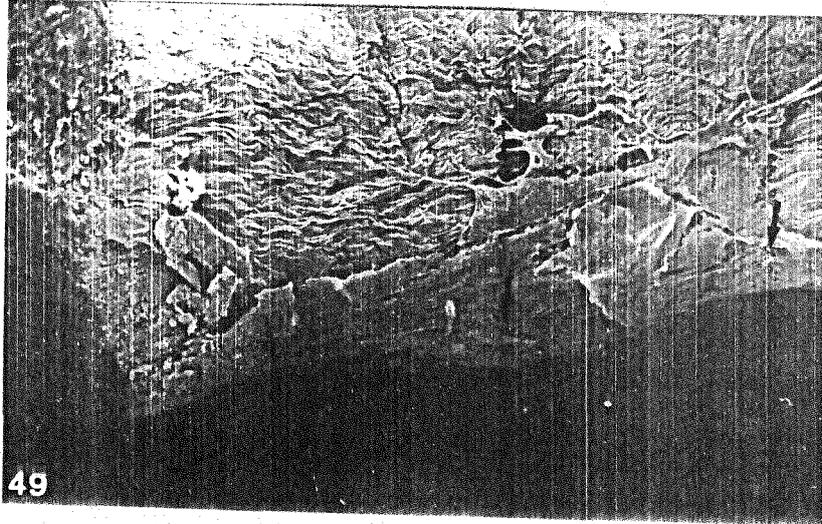
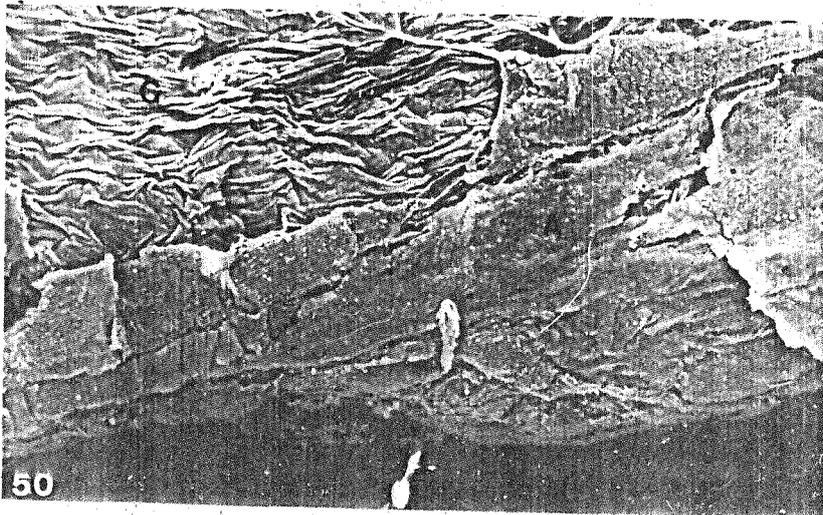


圖 49. 實驗組雷射術後第 9 天之虹膜：瞳孔斷裂面平整 (→)。
(480x)。

圖 50. 上圖之放大：虹膜後表面有環狀皺褶 (G)。(1000x)。



49



50

圖 51. 實驗組雷射術後第 10 天之虹膜：虹膜（I）與睫狀體（C）相連，虹膜下為角膜（E），瞳孔斷裂面平整無隆起（→）。（100x）。

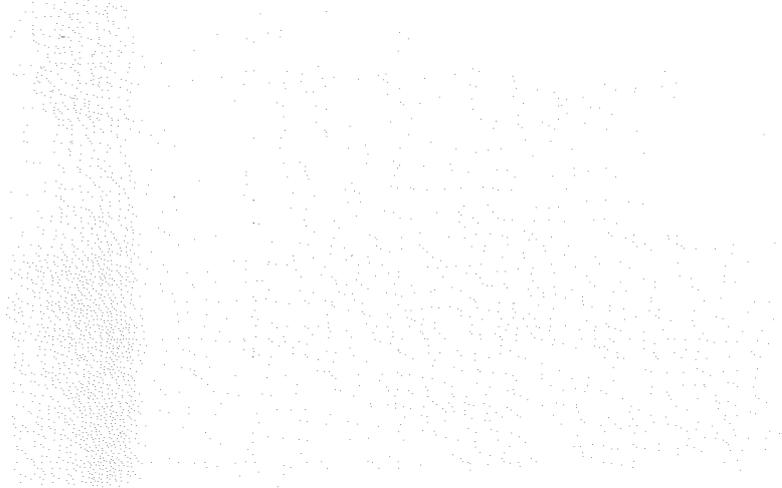


圖 52. 實驗組雷射術後第 10 天之虹膜。（125x）。



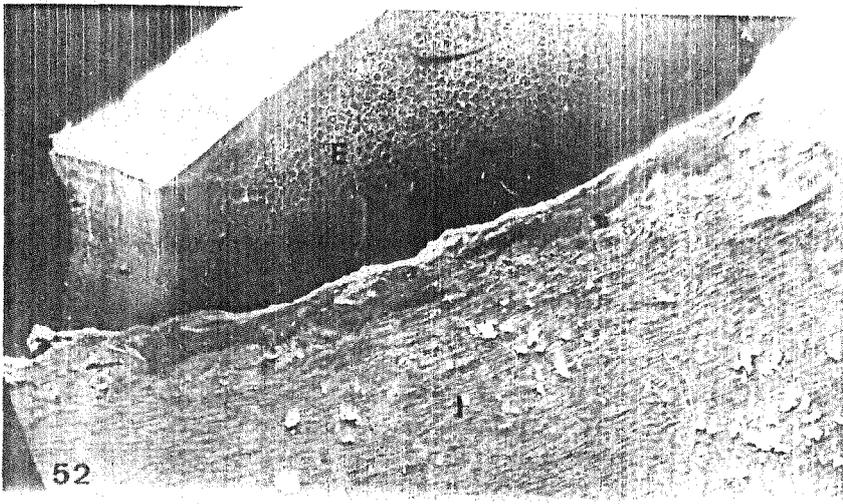
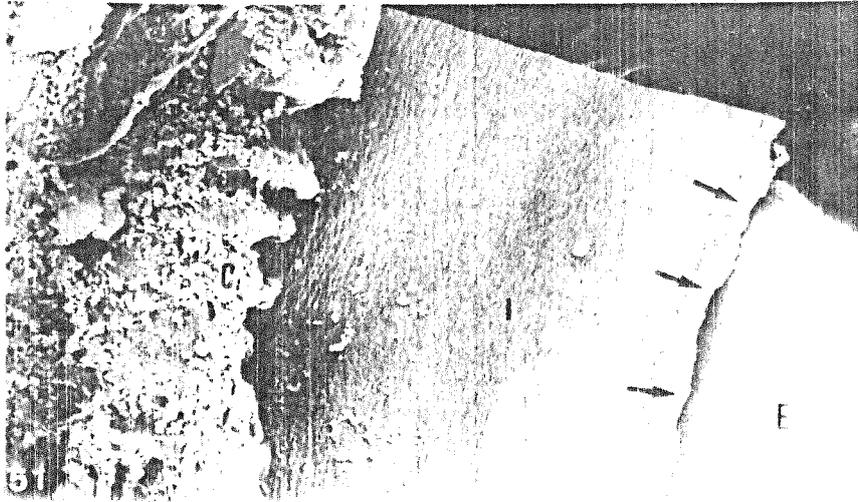


圖 53. 實驗組雷射術後第 10 天之虹膜：虹膜後表面有一層破裂的 amorphous layer (A) 。 (1000x)

圖 54. 實驗組雷射術後第 10 天之虹膜：amorphous layer 及環狀皺褶 (G) 。 (1000x) 。

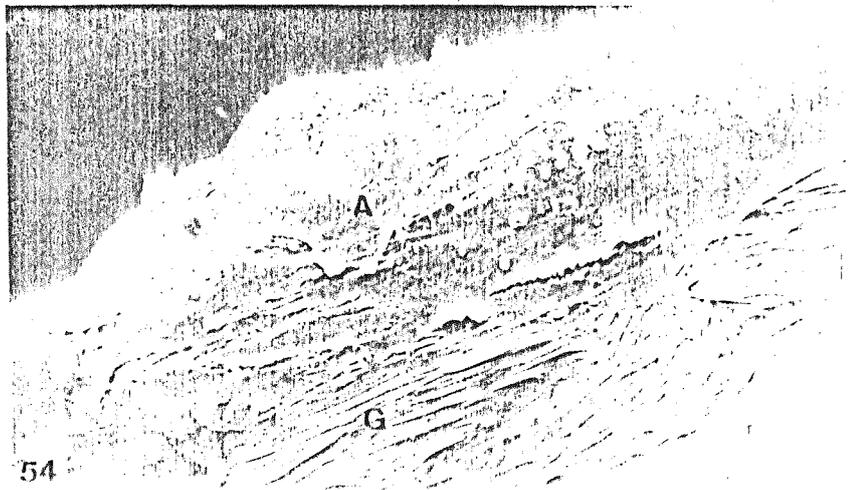
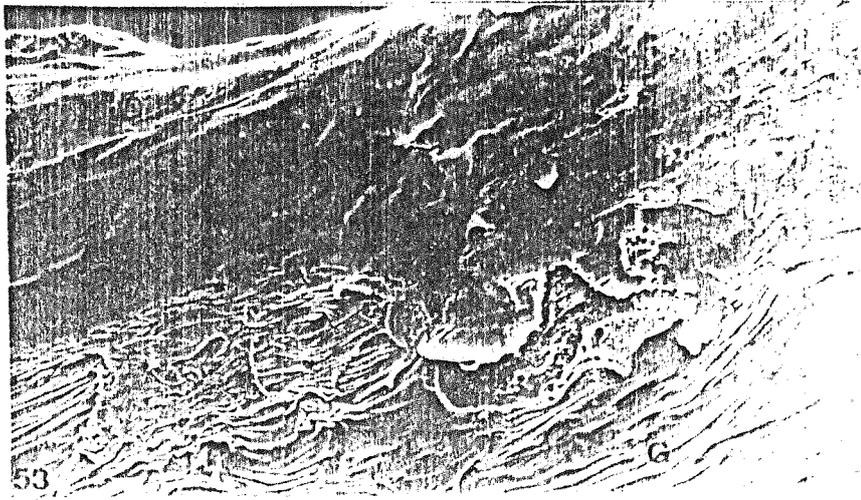


圖 55. 實驗組雷射術後第 10 天之虹膜：環狀皺褶（G）近瞳孔處皺褶較細。（1350x）。

圖 56. 實驗組雷射術後第 10 天之虹膜：環狀皺褶（G）近瞳孔處皺褶較粗。（1350x）。

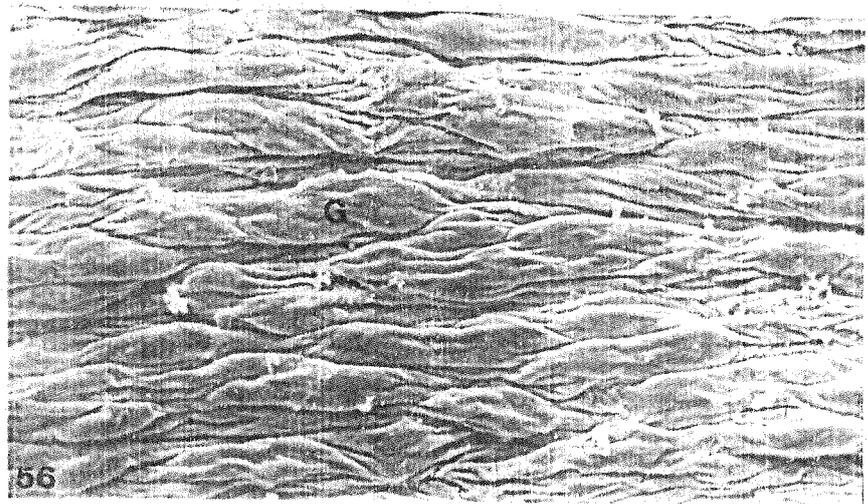
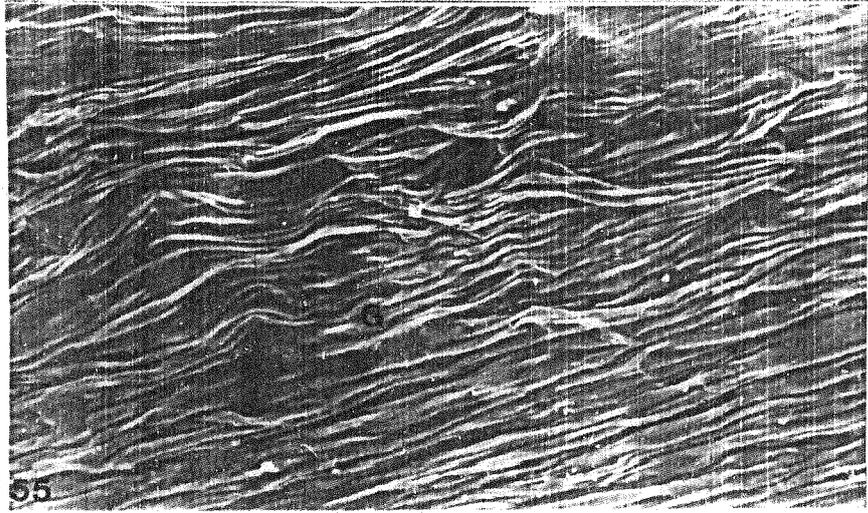


圖 57. 實驗組雷射術後第 13 天之虹膜：瞳孔斷裂面之橫切面可見環走的血管（V）及肌肉（S）。（685x）。

圖 58. 實驗組雷射術後第 13 天之虹膜：高倍。（1350x）。

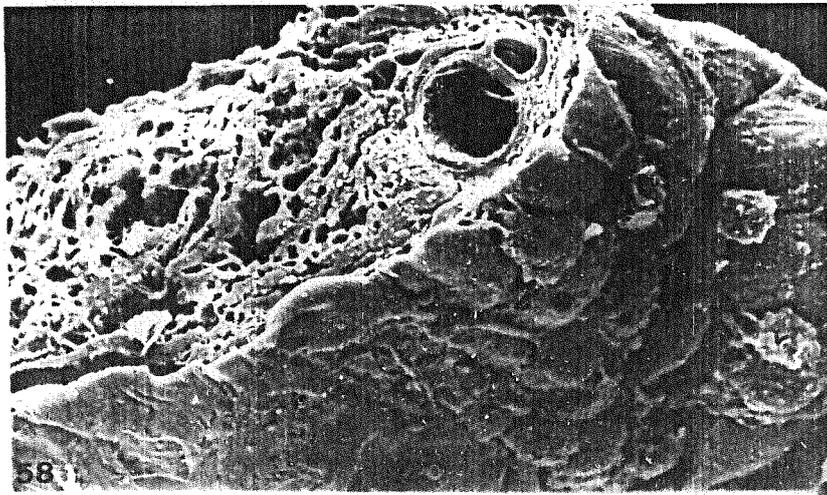
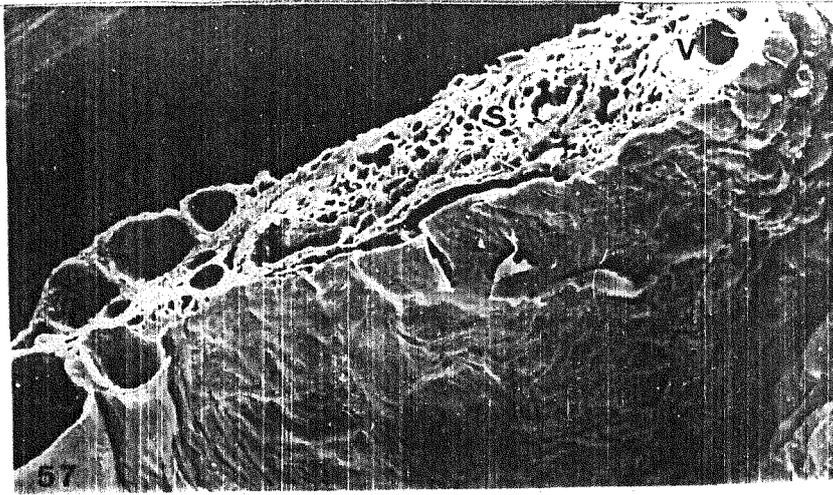


圖 59. 實驗組雷射術後第 13 天之虹膜：瞳孔斷裂面的肌肉。
(2000x)。

圖 60. 實驗組雷射術後第 13 天之虹膜：瞳孔斷裂面的肌肉。高倍。
(4800 x)。

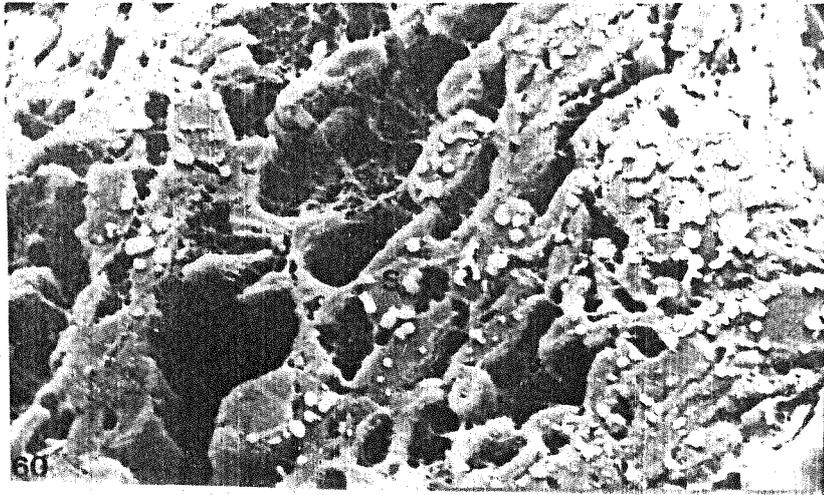
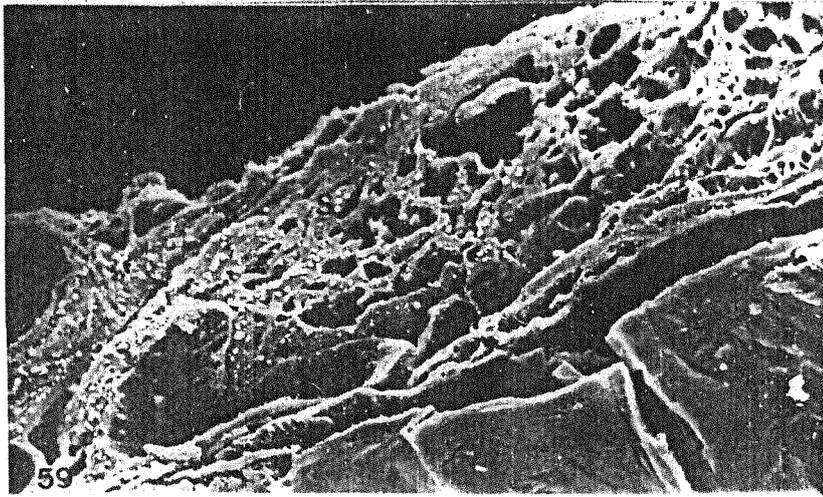


圖 61. 對照組之睫狀神經節：神經節（G）在視神經鞘內，大核的神經元（N）旁邊有許多神經纖維（F）。(1600x)。

圖 62. 對照組之睫狀神經節：神經節（G）在視神經鞘外，神經節內可見大核的神經元（N），此神經節旁邊有許多肌肉細胞（M）。(400x)。

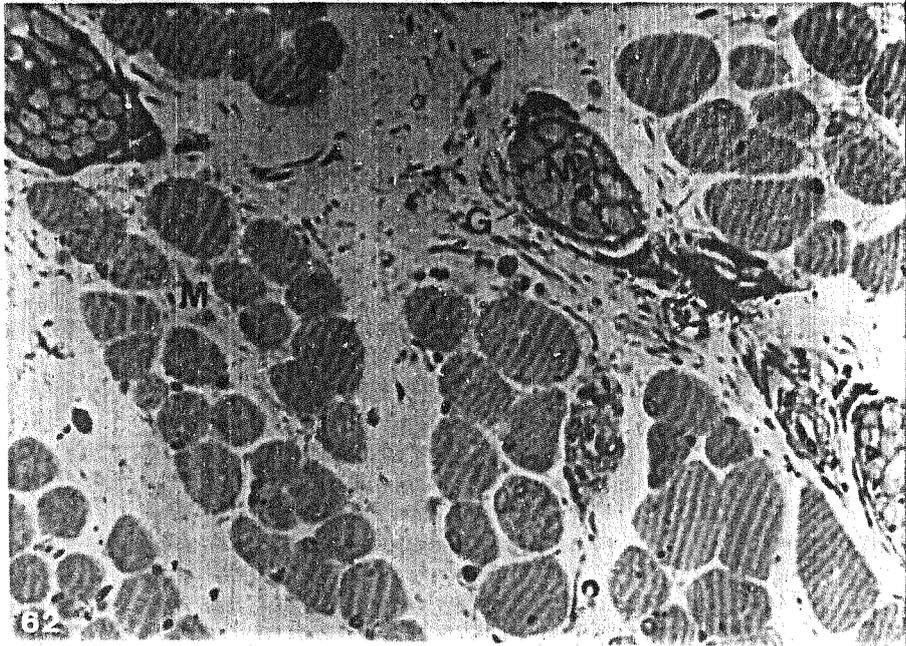
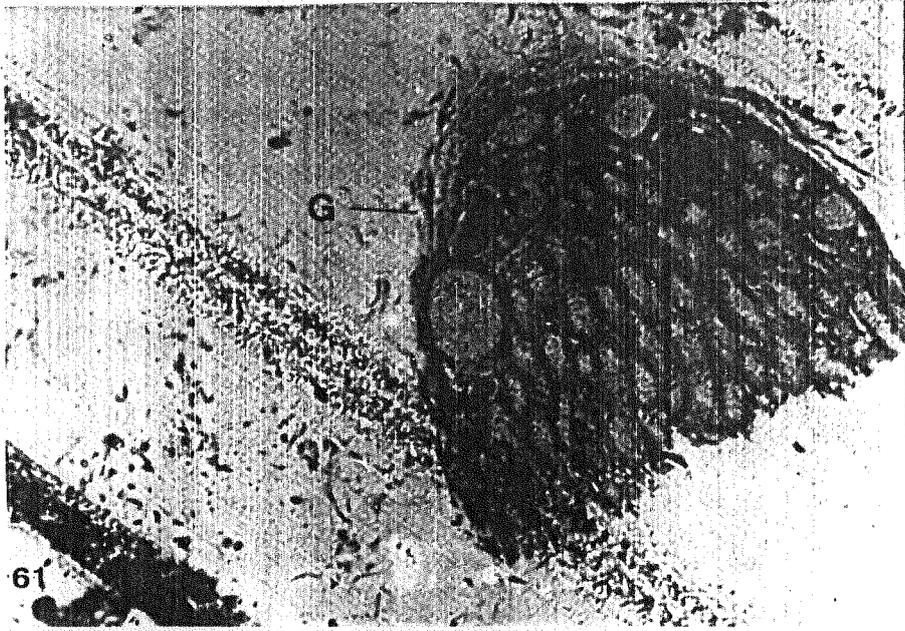


圖 63. 實驗組雷射術後第 1 天之睫狀神經節：神經節（G）在視神經鞘內，髓鞘內另有神經纖維（F）。（1600x）。

圖 64. 實驗組雷射術後第 3 天之睫狀神經節：神經節（G）在視神經鞘外，旁邊有血管（V）及結締纖維組織（C）。神經節內可見大核的神經元（N）。（400x）。

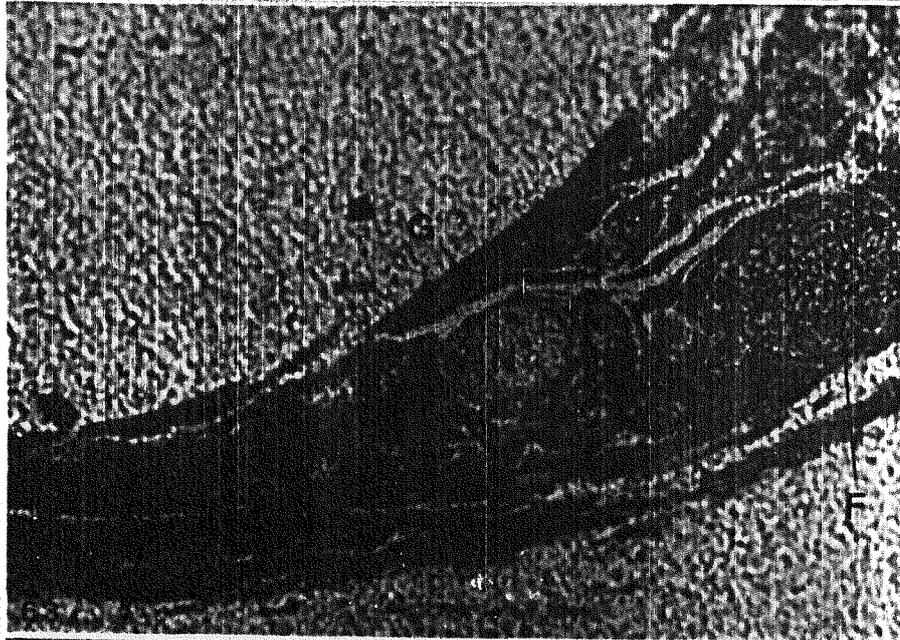


圖 65. 實驗組雷射術後第 10 天之睫狀神經節（低倍）：神經節（G）在視神經鞘內，神經節內可見大核的神經元（N），髓鞘內另有神經纖維，髓鞘外為肌肉組織（M）。（400x）。

圖 66. 實驗組雷射術後第 10 天之睫狀神經節（高倍）。（1600x）。

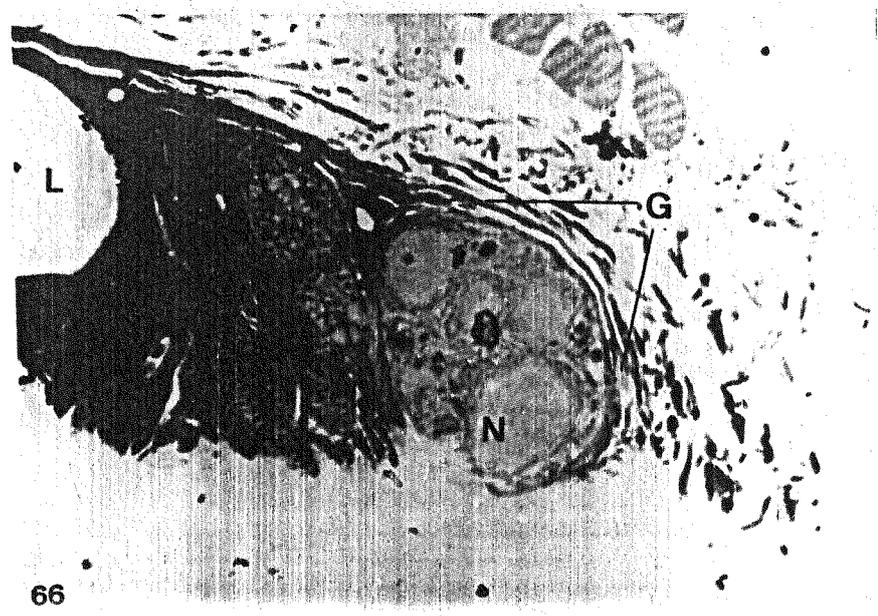
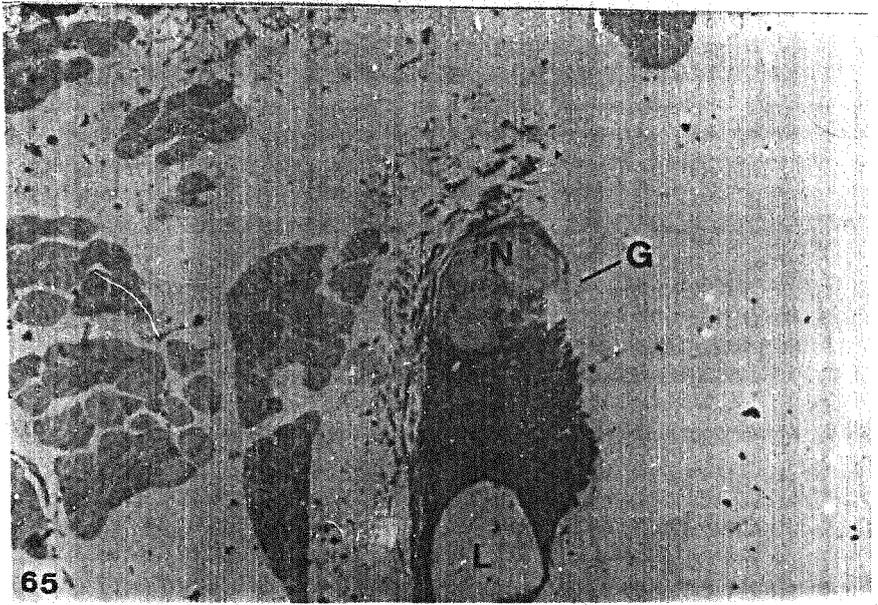


圖 67. 對照組之睫狀神經節：睫狀神經元內細胞核 (Nu) 大而明顯，細胞核膜平滑。外有 Schwann 細胞 (S) 包住神經纖維。

圖 68. 對照組之睫狀神經節：神經元細胞內含豐富的粗糙內質網、粒腺體 (M) 和高爾基式體 (G)，另有溶素體。

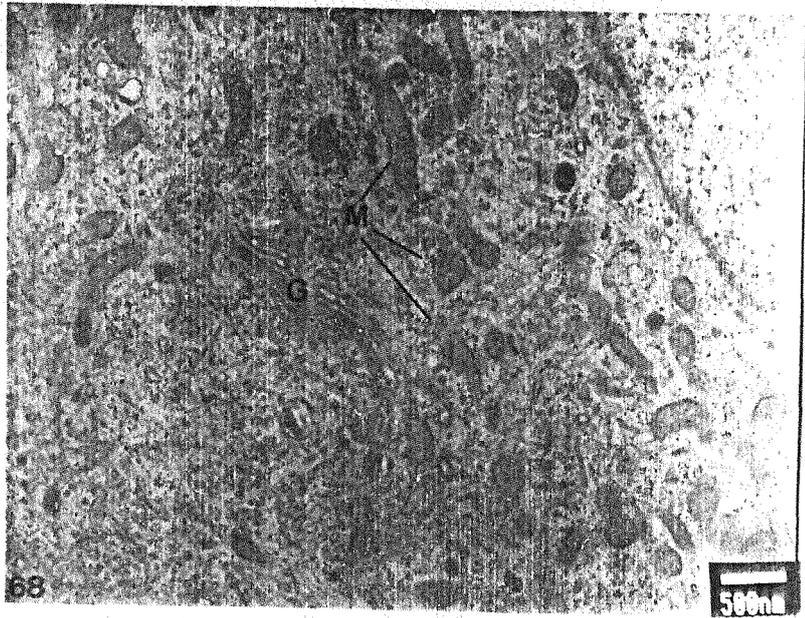
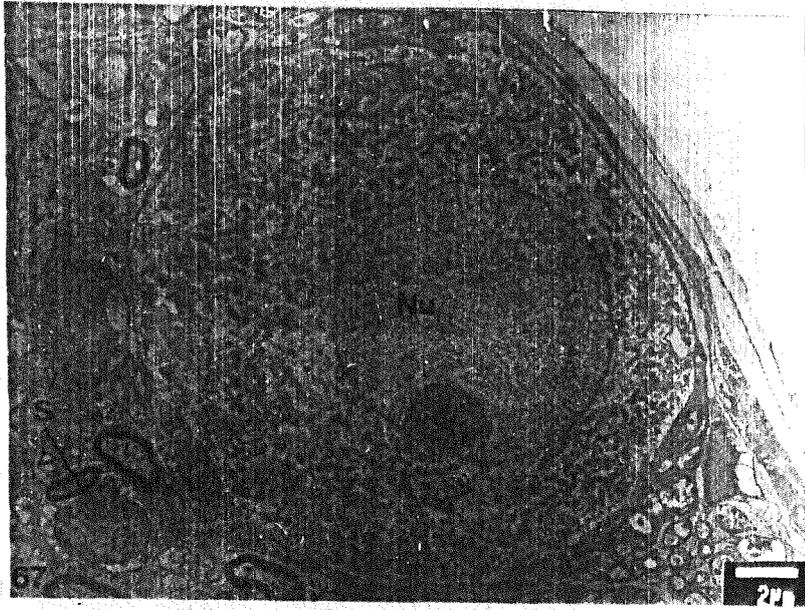


圖 69. 實驗組雷射術後第 3 天之睫狀神經節：神經元內細胞核 (Nu) 的膜仍完整，細胞內含豐富的粗糙內質網、粒腺體 (M) 和高爾基式體 (G)，細胞外有神經纖維 (N) 及微血管。

圖 70. 上圖之放大：細胞內含豐富的粗糙內質網 (rER)、粒腺體 (C) 和高爾基式體 (G)，形態正常。

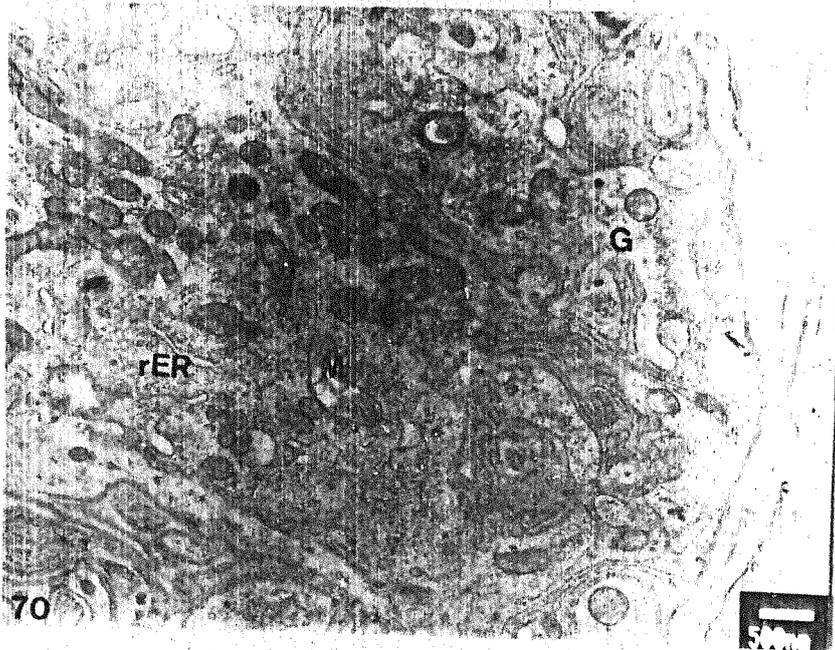
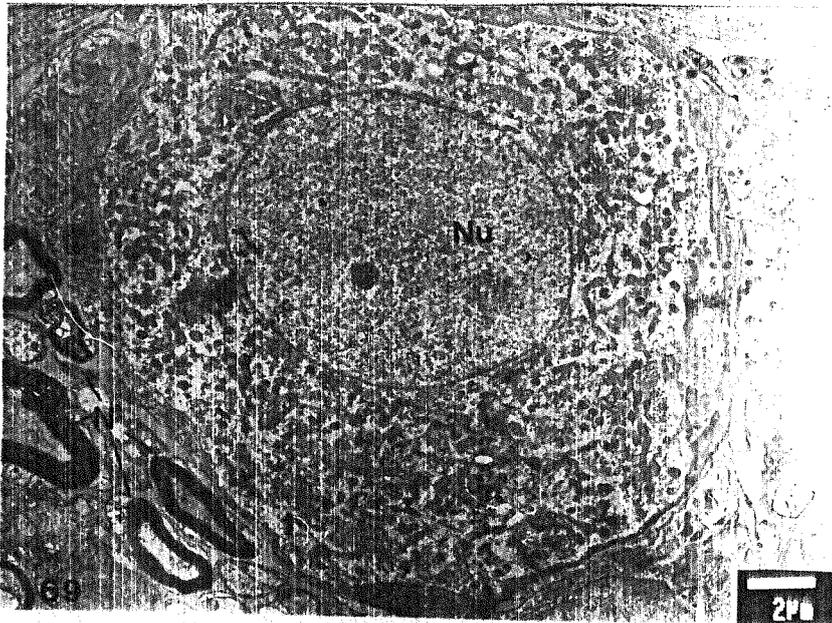


圖 71. 實驗組雷射術後第 6 天之睫狀神經節：神經元細胞質的平滑內質網（sER）有膨大，而其他胞器較少變化。

圖 72. 實驗組雷射術後第 6 天之睫狀神經節：細胞內粒腺體（M）和高爾基式體（G）較無變化。

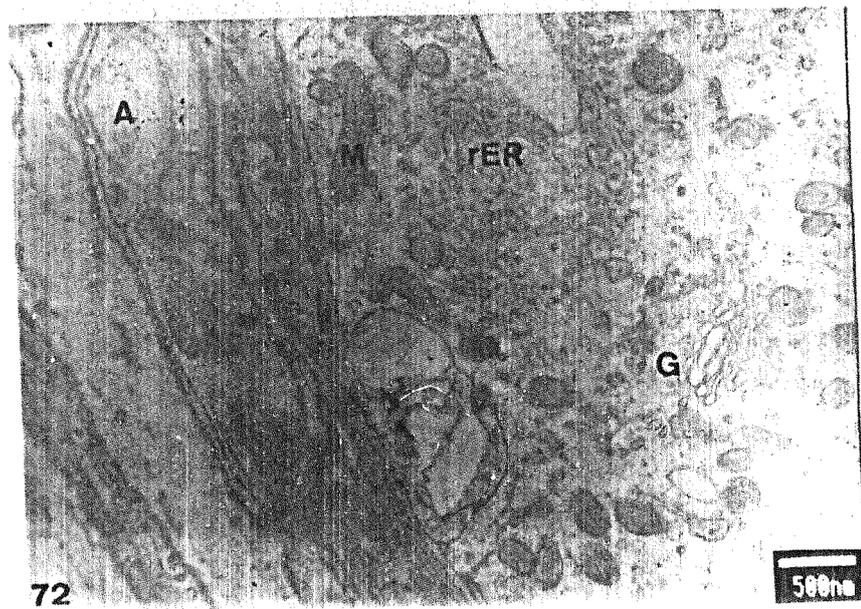
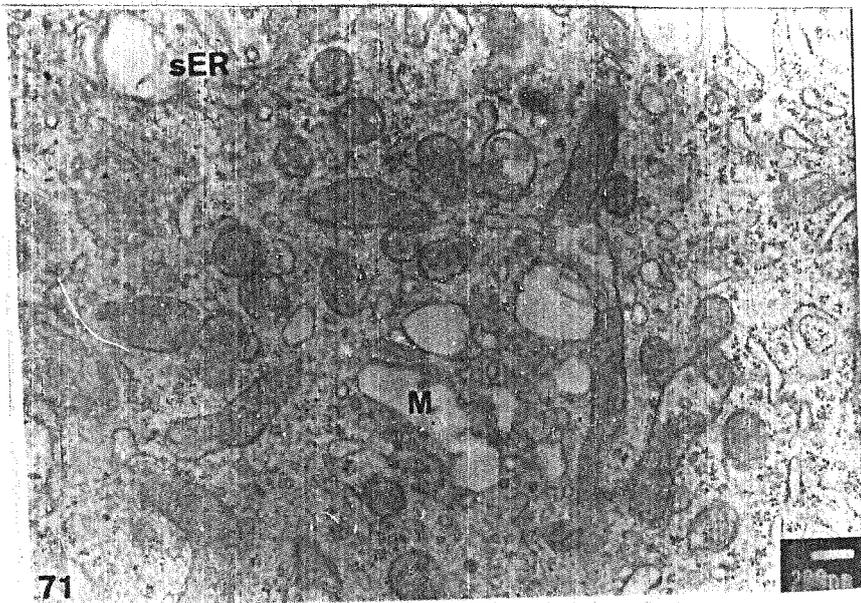


圖 73. 實驗組雷射術後第 6 天之睫狀神經節：可見神經元細胞與節前神經（A）形成突觸（➤），M: 粒腺体。

圖 74. 實驗組雷射術後第 6 天之睫狀神經節：神經元細胞與節前神經（A）形成突觸（➤），神經軸末端有許多含 acetylcholine 的扁平橢圓形小泡。M: 粒腺体。

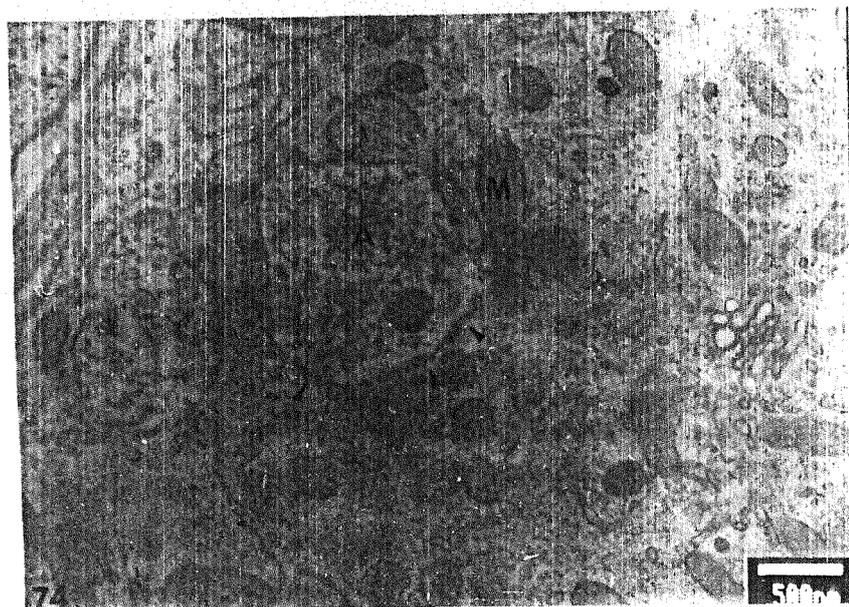
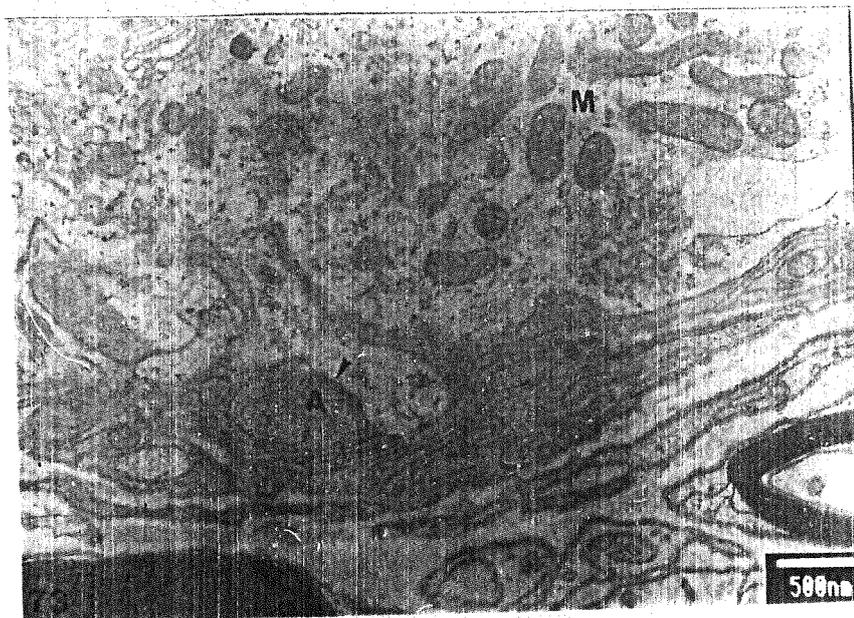


圖 75. 實驗組雷射術後第 9 天之睫狀神經節：神經元細胞質的平滑內質網（sER）有顯著膨大，高爾基式體亦擴張。

圖 76. 實驗組雷射術後第 9 天之睫狀神經節：神經元細胞質的平滑內質網（sER）顯著膨大，高倍。M: 粒腺體。

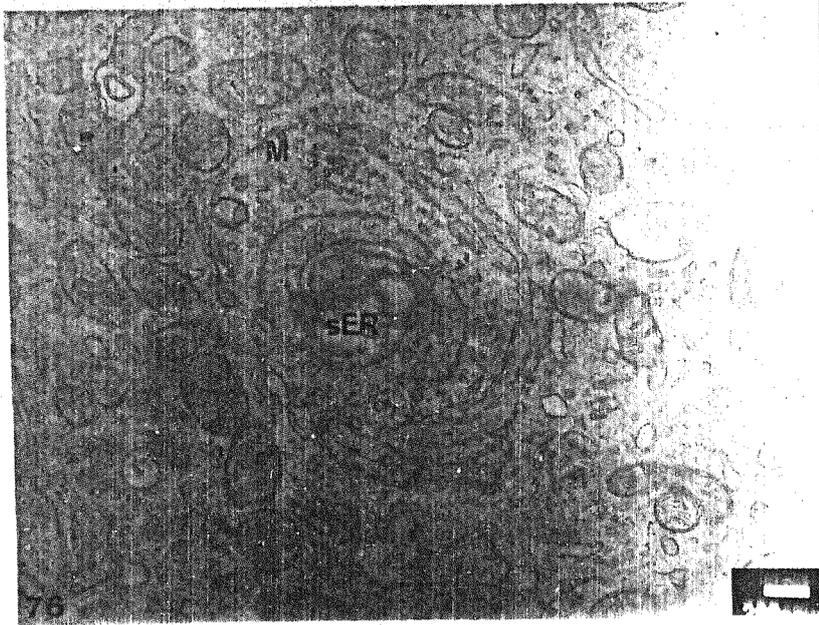
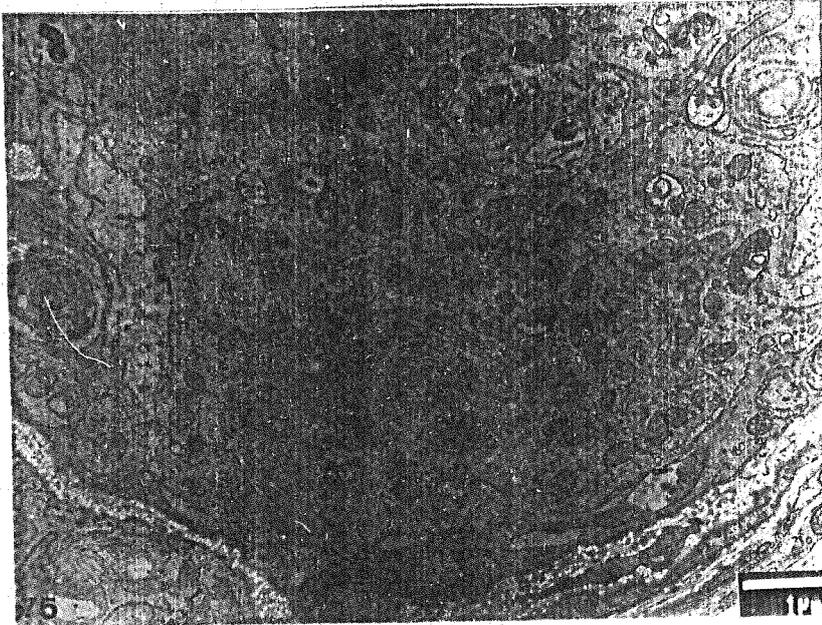


圖 77. 實驗組雷射術後第 10 天之睫狀神經節：鄰近變性神經元細胞的其他組織亦開始有變化。

圖 78. 實驗組雷射術後第 10 天之睫狀神經節：神經元細胞質內高爾基式體（G）顯著擴張，平滑內質網破碎。M: 粒腺體。

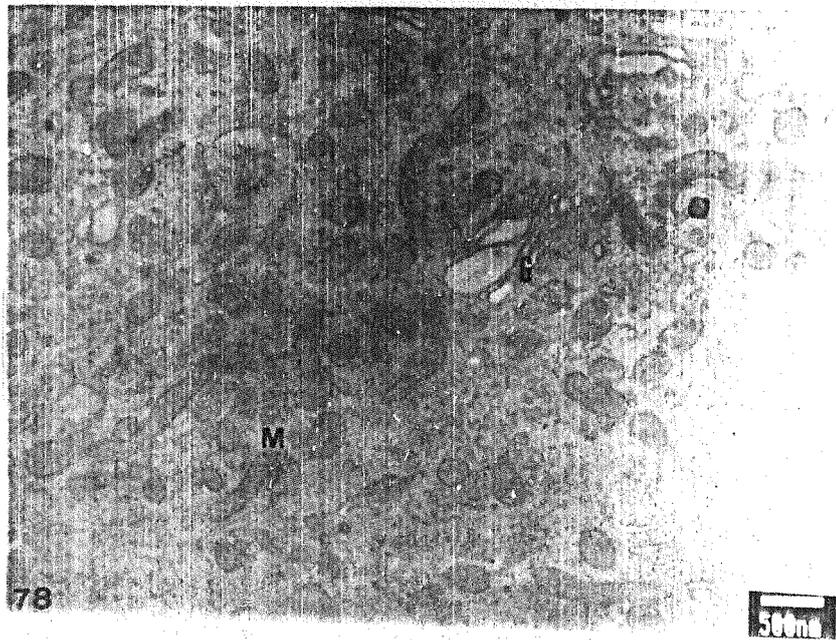
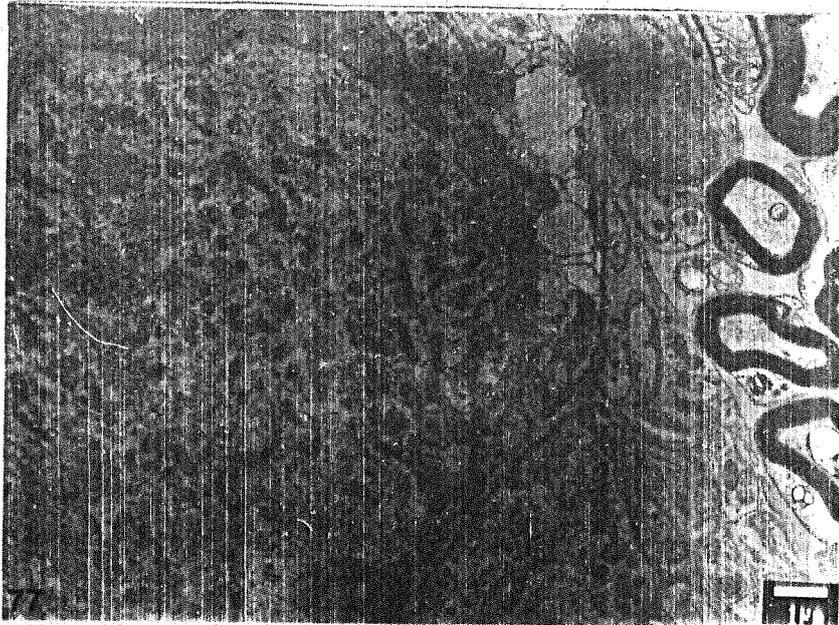
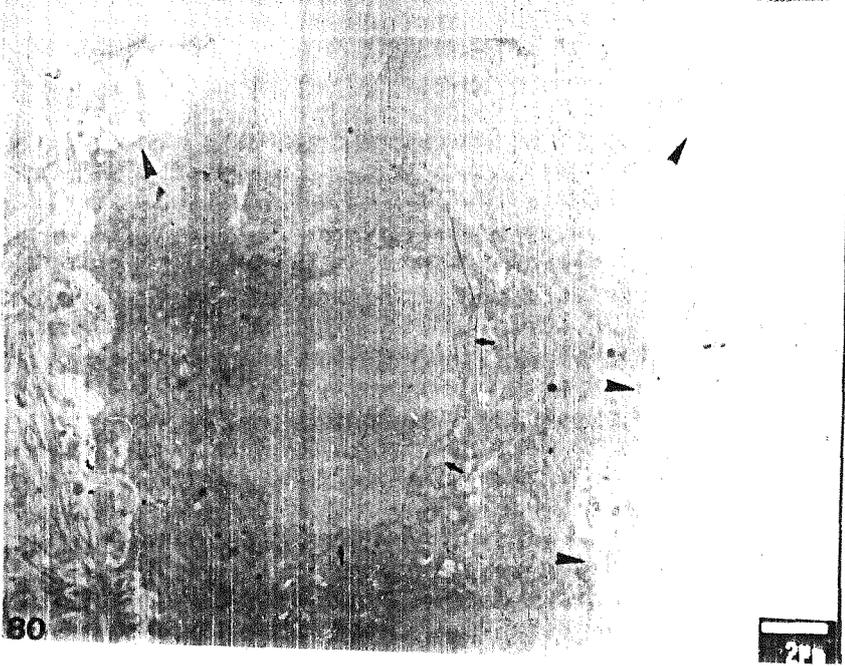
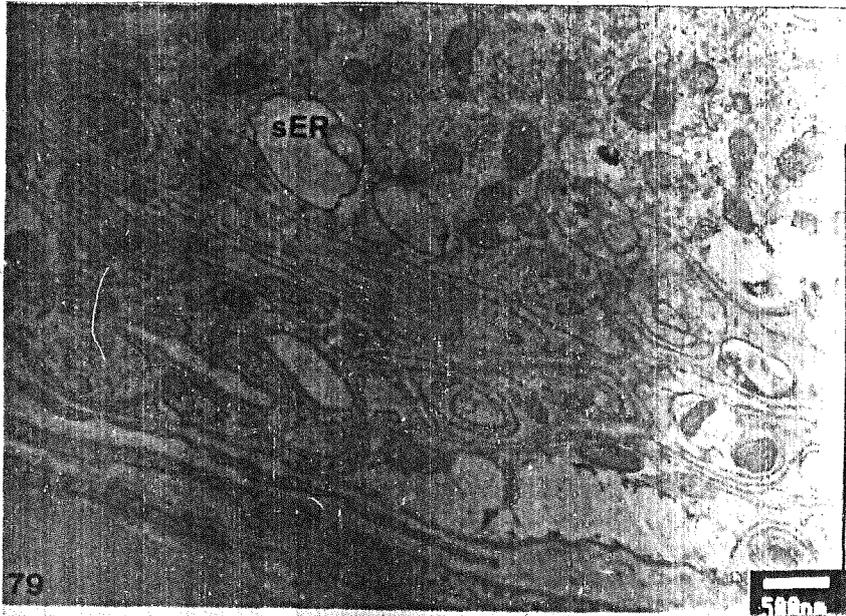


圖 79. 實驗組雷射術後第 13 天之睫狀神經節：神經元細胞質內平滑內質網（sER）顯著膨大，有空泡出現。

圖 80. 實驗組雷射術後第 13 天之睫狀神經節：神經元細胞與鄰近組織間隙加大有空泡出現（▶），神經元內細胞核膜呈現皺褶（→）。



日期	姓名

《 授 權 書 》

本人所撰(著)八十四 學年度第一學期私立中山醫 學院 大學

臨床醫學研究所(碩) 博士學位論文(論文名稱:大白鼠虹膜經雷射破壞後之 電子顯微鏡研究)

之提要 同意 不同意 開放供學術利用。

姓名: 彭美玲

立書人: 地址: 苗栗市為公路307巷505

身分證統一編號: X110005601

聯絡電話: (037) 261920-126

中華民國 八十五年 二月 十五日 日