

## 5,7-Dihydroxytryptamine의 세포독성에 의한 고양이 망막내 미세아교세포의 반응양상

주우현 · 남성안 · 조승목 · 조현후  
신민철 · 원무호 · 최창도

한림대학교 의과대학 해부학교실, 한림대학교 의과대학 춘천성심병원 안과학교실

### Microglial Reaction to the Cytotoxicity of 5, 7-Dihydroxytryptamine in the Cat Retina

Woo Hyun Joo, Seong Ahn Nam, Seung Mook Jo, Hyon Hoo Cho,  
Min Cheol Shin, Moo Ho Won and Chang Do Choi

Department of Anatomy, College of Medicine, Hallym University  
Department of Ophthalmology, College of Medicine, Hallym University

(Received August 7, 1998; revised September 24, 1998)

#### ABSTRACT

This study was designed to investigate the microglial reactions to the neurodegenerative changes in the cat retina. All experiments were performed using adult cats of both sex, weighing 2,500 g~3,500 g. 5,7-DHT (100 µg) dissolved in 0.1% ascorbic acid was injected into the vitreous body. All injections were performed in one-side eye; the other side served as the control, which was injected only with 0.1% ascorbic acid. Cats were sacrificed at 1, 3, 7, 14 and 21 days after intravitreal injection of 5,7-DHT. For light microscopy, retinae were fixed with 4% paraformaldehyde and processed using NDPase histochemistry. Same retinae were fixed with 1% paraformaldehyde-2.5% glutaraldehyde and processed for electron microscopy.

NDPase-positive microglial cells were mainly distributed in the inner plexiform layer of the retina, and characterized by a small somata with a few slender processes, which were also extended in the ganglion cell layer (GCL) and inner nuclear layer (INL). The intensity of the microglia stained for NDPase was abruptly increased at 7 day as compared with that of the control, and thereafter continuously sustained until 21 day, the last experimental group in this study.

Under the electron microscopical observation, microglial cells in the control group exhibited elongate nucleus with perinuclear chromatin condensation, and the perikaryon was scanty. However, a few hypertrophic glial cells were frequently found at 3 days after the drug injection. By 7 day, most microglial cells directed toward the degenerated neurons in the GCL, and the number of microglial cells was slightly increased as compared with the former group. At the 14 day, most microglial cells wrapped the degenerated cells in the GCL, and a few cells showed phagocytotic features. By 21 day,

most microglial cells were engaged in phagocytotic activity, and their cytoplasm was filled with the phagocytosed material.

Based on the results, 5,7-DHT may act as a specific neurotoxin to the cat retina, and microglial reactions to the neuronal death are already induced in early experimental stage. These results indicate that the microglial cells in the cat retina show characteristic features as a protective effect of neural tissue.

**Key words :** 5,7-DHT, Cat retina, Neuronal death, Microglia, NDPase, Phagocytosis

## 서 론

5,7-dihydroxytryptamine (5,7-DHT)은 indoleamine 유도체의 일종으로 중추신경계통내 통증조절, 행동조절, 수면유도, 감정조절 및 내분비조절 등 다양한 신경조절기능과 광범위한 신경분포를 특징으로 하는 세로토닌성 신경계통(serotonergic system)의 신경해부학적 분포와 신경생물학적 기능을 연구하는데 이용되고 있는 신경독소(neurotoxin)이다(Ross *et al.*, 1976).

포유류의 망막내에는 내재적인 세로토닌을 갖고 있거나, 또는 외부에서 투여된 indoleamines를 세포막을 통해서 빠른 속도로 흡수하고 세포질내 고농도로 축적할 수 있는 세포집단이 존재하는데, 이를 "indoleamine-accumulating cells (IACs)"이라 통칭한다. 동물에 따라 다르지만 주로 신경절세포(ganglion cell), 두극세포(bipolar cell) 및 무축삭세포(amacrine cell) 등이 이들 세포집단을 구성하고 있으며, 고양이 망막에서는 무축삭세포와 신경절세포가 이에 해당된다. 따라서 고양이 망막내 indoleamine 유도체인 5,7-DHT는 망막내 시각정보의 전달 과정에서 세로토닌이 갖는 신경생물학적 기능과 그들의 주위 세포들과의 연결관계를 연구하는데 흔히 사용되어 왔다(Ehinger & Floren, 1976; Adolph *et al.*, 1980; Osborne *et al.*, 1982; Sandle & Masland, 1986; Massey *et al.*, 1992).

한편 포유류 망막내에는 여러 종류의 신경아교세포(neuroglia)들이 존재하며, 이들 세포들은 각각의 발생학적 기원, 주된 세포기능 및 세포의 형태에 따라 미세아교세포(microglia), 부챗살아교세포(Müller cell) 및 별아교세포(astroglia) 등으로 구분된

다. 여러 신경질환에서 볼 수 있는 신경조직의 병소에는 이들 아교세포들이 밀집되어 있음을 쉽게 관찰할 수 있는데, 이러한 신경아교세포들의 빠르고 다양한 반응들은 해당 신경질환에서 볼 수 있는 독특한 신경중세의 주원인이 되기도 하고, 병의 진행 및 경과에 매우 중요한 관건이 된다는 것은 주지의 사실이다. 즉, 각각의 아교세포들이 일련의 세포활동을 통해 병소에 염증세포를 불러 들이고, 손상된 신경세포를 포식활동을 통해서 제거하고, 다른 아교세포들과 협력하여 신경조직의 손상을 최소화함으로써 결국 생체의 회복을 돕는다(Jensen *et al.*, 1994; Gehrmann & Banati, 1995).

최근들어 중추신경계통내 각 신경부위에서 각 종 아교세포들이 영위하는 신경생물학적 기능은 많은 연구자들의 집중적인 연구대상이 되고 있으며, 이러한 노력은 각 종 신경질환의 병리기전을 밝히고 더 나아가 그 치료법을 개발하는데 매우 중요한 관건이 되고 있다. 그러나 지금까지 이에 관한 연구들은 대부분 생화학적 및 약리학적 연구(Carswell *et al.*, 1975; Barinaga, 1996; Beg & Baltimore, 1996; Bemelmans *et al.*, 1996; Grilli *et al.*, 1996) 였을 뿐 형태학적인 연구는 매우 미진한 실정이다. 이에 본 연구자들은 고양이 안구 유리체방내 일정량의 5,7-DHT을 투여하여 신경독소에 의한 미세아교세포들의 일련의 반응양상 등을 광학 및 전자현미경을 통해 경시적으로 관찰하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험동물 및 실험군 배정

성숙한 고양이(2,500 g~3,500 g)를 실험동물로 사용하여 대조군으로 5 마리를, 실험군 3, 7, 14 및

21일군에 각각 5마리씩 배정하여 총 25마리를 사용하였다. 각 군의 실험동물은 12시간의 명암주기가 교대로 유지되는 실내에서 사육하였다.

## 2. 약물투여 및 조직처리

약물투여는 pentobarbital sodium (25 mg/kg)을 정맥주사하여 고양이를 마취한 후 0.1% ascorbic acid가 함유된 100  $\mu$ l에 녹인 100  $\mu$ g의 5,7-DHT (Sigma사, creatine sulfate)를 30 gauge 주사침을 이용하여 왼쪽 안구의 각막과 공막의 경계부 (limbus)에서 뒤쪽 2 mm 지점의 공막을 통해서 유리체방내로 주사하였다. 약물투여시 유리체방내 골고루 주사하기 위하여 주사전에 0.5% tropicamide를 각막의 앞면에 도포하여 동공을 확대한 후 유리체방내 주사침 끝의 위치를 확인하면서 위쪽, 아래쪽, 코쪽 그리고 관자쪽에 각각 25  $\mu$ l씩 나누어 주사하였다. 오른쪽 안구는 대조군으로 이용하기 위하여 0.1% ascorbic acid를 왼쪽과 같은 조건으로 투여하였다.

약물투여 후 동물을 3, 7, 14 및 21일군으로 분리하여 사육하였으며, 해당 실험군에 이르러 동물을 길게 마취한 후 왼쪽 및 오른쪽 안구를 각각 적출하였다.

## 3. 조직화학적 염색

약물투여에 따른 각 실험군의 미세아교세포에 대한 세포활동성의 표지로서 NDPase (nucleoside diphosphatase)에 대한 효소반응을 비교하기 위하여 Schnitzer (1989)의 방법을 응용하였다. 먼저 고양이 안구를 적출하여 망막을 분리한 후 4% paraformaldehyde [0.1 M cacodylate buffer (pH 7.2), 8% sucrose and 5% dimethylsulfoxide (DMSO)] 고정액에 4°C에서 4시간 고정하였다. 그 후 0.1 M cacodylate buffer [(pH 7.2), 8% sucrose]에 4°C에서 12시간 방치한 후 0.2 M tris-maleate buffer [(pH 7.2), 8% sucrose]로 세척한 다음 37°C에서 1시간 동안 배양액 [0.2 M tris-maleate buffer (pH 7.2), 1% lead citrate, 25 mM manganese chloride, 5% DMSO, 10 mM cytidine diphosphate (CDP)]에 반응시켰다. 이어서 조직절편을 증류수로 세척하고 2% aqueous ammonium sulfide 용액에

실온에서 2분간 반응시킨 후 증류수로 세척한 다음 glycerin jelly로 cover-slip을 덮어 표본제작을 완료하였다.

각 실험군에서 미세아교세포의 수적인 반응양상을 객관적으로 비교하기 위해 화상분석장치 (image analyzer, IBAS, Kontron)에서 단위면적 (1 mm<sup>2</sup>)당 NDPase염색 양성반응을 나타내는 미세아교세포의 수를 계수하였다.

## 4. 광학 및 전자현미경적 관찰

각 실험군에서 적출된 안구를 톱니돌레 (ora serrata)를 따라 절개하여 각막을 포함한 안구의 앞부분을 제거한 후 해부현미경하에서 망막의 중앙부위로부터 일정부위, 즉 위관자쪽 (superiotemporal region)의 망막을 절취하여 1% paraformaldehyde-2.5% glutaraldehyde액에 2시간 전고정하고, 1% osmium tetroxide액에 2시간 후고정하였다. 그 후 알코올을 탈수과정, acetone 치환과정을 거쳐 Epon-Araldite 혼합액에 포매하였다. 포매된 망막조직은 초박절단기 (Reichert-Jung, Germany)를 이용하여 1  $\mu$ m 두께의 박절편 (semithin)을 작성하여 1% toluidine blue로 진하게 염색하여 광학현미경하에서 관찰부위를 결정된 후, 70 nm 두께의 초박절편을 작성하여 Formvar를 입힌 단공 grid에 부착시켰다. Uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색을 시행한 후 투과전자현미경 (Zeiss TEM 109, Germany)하에서 망막내 신경절세포의 사멸과정과 이에 따른 미세아교세포들의 반응양상을 관찰하였다.

## 결 과

각 실험군에서 미세아교세포들의 세포활성도를 비교하기 위하여, 망막을 맥락막 (choroid)으로 부터 분리하여 미세아교세포의 세포질내 NDPase에 대한 효소조직화학적 염색을 시행하였던 바, 광학현미경상 NDPase에 대한 염색강도 (stain intensity)를 대조군의 것 (Fig. 1a)과 비교하였을 때, 실험 3일군에서는 미약한 증가소견이 관찰되었으나 (Fig. 1b), 7일군에 이르러 뚜렷이 증가되었으며 (Fig. 1c), 이러한 소견은 21일군 까지 이어졌다 (Fig. 1d). 대조군

에서 관찰된 NDPase 양성반응 미세아교세포는 세포체의 모양이 구형 및 난원형을 띠었고, 세포질돌기는 가늘고, 구불구불한 형태를 띠었던 반면에, 각 실험군에서 관찰된 NDPase 양성반응 미세아교세포의 경우 세포체의 모양이 다양하였고, 세포질돌기도 더욱 두꺼워지고, 구불구불한 형태를 띠었다.

한편 전자현미경으로 살펴본 대조군의 경우 미세아교세포들은 이들의 세포체를 주로 속얼기층의 위쪽에 두고 있었으나, 세포질돌기들은 신경섬유층과 바깥얼기층까지 뻗어 있었다. 대조군의 미세아교세포들은 속얼기층과 평행하게 길쭉한 형태를 취하고 있었고, 세포체의 크기는  $4 \times 9 \mu\text{m}$  정도였으며, 짧고 불규칙한 세포돌기를 내고 있었다. 이들 세포의 세포질은 핵 주위에 띠를 이루고 있을 정도로 매우 빈약하였으며, 세포질내 소기관들의 발달이 미약하여 전반적인 전자밀도도 매우 낮았다. 이들 세포의 핵은 주로 방추형을 띠고 있었고, 핵의 주변부를 따라 뭉친염색질(heterochromatin)이 형성되어 있었으며, 이들의 전자밀도가 매우 높아서 핵소체와 구분되기 어려웠다(Fig. 2). 그런데 약물투여 후 3일에는 이들 세포의 세포질이 비후되고, 세포소기관이 증가되었기 때문에 전반적인 전자밀도가 다소 증가되었다(Fig. 3). 이러한 소견은 실험 7일군까지 이어졌으며, 다만 일부 미세아교세포의 경우 세포이동(migration)을 통해 신경절세포층 쪽으로 향하였다(Fig. 4). 한편 실험 14일군 및 21일군에서는 변성된 신경절세포가 이동을 마친 미세아교세포들에 의해 포식되는 소견을 흔히 관찰할 수 있었으며, 특히 21일군에서 관찰되는 미세아교세포들의 세포질은 포식활동의 결과로 포식소체(phagosomes)와 잔여소체(residual bodies)로 가득 채워 있었다(Fig. 5).

## 고 찰

대조군을 비롯한 각 실험군에서 출현하는 미세아교세포들의 세포활성도를 비교하기 위하여 각 실험군의 고양이 망막에서 NDPase를 이용하여 조직화학적으로 염색하여 광학현미경하에서 관찰하였던 바 실험 3일군에서는 염색반응도에 있어 대조군의 것과는 별 차이가 없었으나, 실험 7일군에 이르러 매우 높

은 염색반응도를 보였으며, 그 이후 실험 14 및 21일군 까지 거의 같은 수준의 염색반응도를 보였다. 본 연구의 결과는 약물에 의한 사멸된 신경세포의 출현수가 최고치를 보인 실험 14일군 이전에 이미 미세아교세포들의 세포활성도가 최고에 달한다는 점에 주목할 일이다. Pearson등(1993)이 고양이 망막의 신경절세포층의 발생과 성숙과정에서 볼 수 있는 신경절세포의 자연사(programmed cell death)에 대한 연구를 통해 신경절세포의 자연사가 최고치에 이르기 전에 이미 미세아교세포의 증식이 선행된다고 보고한 바 있고, Schnitzer와 Scherer(1990)이 토끼에서 시각신경을 절단하여 망막내 신경절세포의 사멸을 유도한 후 5일째에 이르러 안쪽얼기층에 존재하는 미세아교세포가 NDPase에 대한 높은 염색반응도를 보였다는 것 또한 본 연구의 결과와 대동소이하다. 그러나 중추신경계통 및 말초신경계통에서 인위적이고 실험적인 방법으로 신경세포의 퇴행성변화를 유발할 경우 미세아교세포의 증식과 포식활동은 대개 신경세포의 사멸이 최고에 달한 후 뒤이어서 시작되었다는 보고(Stagaard *et al.*, 1987; Jensen *et al.*, 1994; Gehrman & Banati, 1995; Chae *et al.*, 1998b)가 대부분이며, 특히 Chae(1998b) 등이 흰쥐 등쪽술기핵을 대상으로 5,7-DHT의 세포독성에 의한 미세아교세포의 반응에 관한 연구를 통해 초기 실험군인 1일군과 3일군에 이미 심한 세포손상이 초래되었음에도 이에 따른 미세아교세포들의 반응은 매우 미약하였으나, 신경세포의 퇴행성변화가 극심하였던 실험 5일군 이후 즉, 실험 10일군에 이르러서는 미세아교세포의 출현수 및 포식활동이 전 실험군을 통하여 가장 뚜렷하였다가, 다시 후기 실험군인 20일군에 이르러는 앞선 10일군에 비해 격감되었다는 보고는 본 연구의 결과에 상반된다. 이러한 결과는 5,7-DHT에 의해 중추신경계통내 신경세포들이 주로 세포질의 암조성변성으로 사멸된다는 것을 상기할 때(Kerr *et al.*, 1995), 아마도 5,7-DHT의 세포독성에 따른 미세아교세포의 활동변화에 대한 조절은 뇌조직의 종류 및 투여경로에 따라 매우 복잡한 조절기전이 작용할 것으로 사료된다.

한편 전자현미경으로 살펴본 미세아교세포의 변화된 소견으로는 실험 3일군에 이르러 빈약했던 세포

질이 비후되고, 세포소기관이 풍부해졌는데, 특히 용해소체의 수가 뚜렷이 증가되었으며, 그 이후 신경절세포의 퇴행성변화가 극심한 실험 7일 및 14일 군에 이르러서는 신경절세포층에 많은 수의 미세아교세포들이 관찰되었는데 이는 세포분열을 통한 수적인 증식인지 단순한 세포이동을 통한 숫적 증가인지 본 실험의 결과로는 단정지을 수 없으나 실험 21일 군에 이르러서는 왕성한 포식활동이 종료되었으며, 미세아교세포의 세포질은 포식소체 및 잔여소체로 가득 채워졌다. 이는 Chae 등의 결과와 비교할 때 다소 상이하였는데, 즉 신경세포의 손상이 극심하였던 실험 5일 군 이후에서야 미세아교세포의 활동성이 최고치에 도달하였던 반면에, 본 연구에서는 신경절세포의 사멸이 극심하였던 실험 14일 군 이전에 이미 뚜렷한 반응을 보였다. 이러한 사실은 일단 활성화된 미세아교세포가 갖는 세포활동의 양상과 손상된 세포의 처리방법은 뇌조직 및 손상된 신경세포의 종류에 따라 크게 다르지 않지만, 이들 세포의 반응시기 및 활동성의 조절은 매우 복잡한 조절기전이 관여되기 때문이라고 생각한다.

이상의 결과로부터 5,7-DHT는 고양이 망막에 대하여 강한 신경독소로 작용하여 여러 신경세포의 사멸을 초래하며, 이에 따른 미세아교세포들의 반응양상으로는 세포이동과 증식을 통해서 손상된 신경세포를 제거한다는 사실을 알게 되었으며, 앞으로 이와 관련하여 세포활성물질(cytokines)의 변화양상을 포함한 분자생물학적 연구를 보완함으로써 신경독소에 의한 신경세포의 사멸기전과 미세아교세포가 갖는 신경생물학적 기능을 밝히고자 한다.

## 결 론

신경독성물질인 5,7-dihydroxytryptamine (5,7-DHT)이 고양이 망막에 미치는 독성영향과 이에 따른 미세아교세포들의 반응양상을 형태학적으로 규명하고자 본 연구를 시행하였다. 고양이 안구의 유리체방내로 100 µg의 5,7-DHT를 1회 투여한 후 망막내 미세아교세포들의 변화를 경시적으로(3, 7, 14 및 21일) 관찰하였던 바 아래와 같은 결과를 얻었다.

미세아교세포들의 변화를 밝히기 위한 효소조직화학적 염색 결과는 약물투여 7일에 미세아교세포의 수가 증가되고 이들 세포의 돌기가 확장되는 등 세포활동이 뚜렷이 증가된 소견을 관찰할 수 있었으며, 그 이후에도 이러한 소견은 21일까지 계속 이어졌다. 한편 전자현미경상 미세아교세포들의 변화양상으로는 변성된 신경절세포가 위치한 곳으로의 세포이동과 그 후 세포분열을 통한 세포수의 증가가 선행되며, 그 이후 활발한 포식작용을 통해 손상된 신경절세포가 제거되었다.

이상의 결과로 부터 5,7-DHT는 고양이 망막내 심한 세포독성을 유발하는 신경독소이며, 여러 신경세포의 퇴행성변화에 따른 미세아교세포들의 다양한 변화는 신경조직의 손상에 대한 생체의 반응양상의 하나라고 사료된다.

## 참 고 문 헌

- Adolph A, Dowling JE, Ehinger B, 1980. Monoaminergic neurons of the mudpuppy retina, *Cell Tiss. Res.* 210, 269-282
- Barinaga M, 1996. Life-death balance within the cell, *Science* 274(5288), 724
- Beg AA, Baltimore D, 1996. An essential role for NF-κB in preventing TNF-induced cell death, *Science* 274, 782-784
- Bemelmans MHA, van Tits LJH, Buurman WA, 1996. Tumor necrosis factor: Function, Release and Clearance, *Crit. Rev. Immunol.* 16, 1-11
- Carswell EA, Old LJ, Green S, Fiore N, Williamson B, 1975. An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 72(9), 3666-3670
- Chae JM, Jo SM, Nam SA, Yoon SS, Ko BM, Choi CD, Choi WB, 1998a. Cytotoxic effect of 5,7-DHT on the serotonergic neurons in the dorsal raphe nucleus of the rat, *Korean J. Anat.* 31(1), 151-166
- Chae JM, Jo SM, Nam SA, Yoon SS, Ko BM, Choi CD, Choi WB, 1998b. Cytotoxic effect of 5,7-DHT on the endogenous glial cells in the dorsal raphe nucleus of the rat, *Korean J.*

- Anat. 31(1), 167-179
- Ehinger B, Fløen I, 1976. Indoleamine-accumulating neurons in the retina of rabbit, cat and goldfish., *Cell Tiss. Res.* 175, 37-48
- Gehrmann J, Banati RB, 1995. Microglial turnover in the injured CNS: activated microglia undergo delayed DNA fragmentation following peripheral nerve injury, *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 54(5), 680-688
- Grilli M, Pizzi M, Memo M, Spano PF, 1996. Neuroprotection by aspirin and sodium salicylate through blockade of NF- $\kappa$ B activation, *Science* 274(5291), 1383-1385
- Jensen MB, Gonzalez, Castellano B, Zimmer J, 1994. Microglial and astroglial reactions to anterograde axonal degeneration: a histochemical and immunocytochemical study of the adult rat fascia dentata after entorhinal perforant path lesions, *Exp. Brain Res.* 98, 245-260
- Kerr JFR, Gobe GC, Winterford CM & Harmon BV, 1995. Anatomical methods in cell death, *Methods in Cell Biology.* 46, 1-27
- Massey SC, Mills SL, Marc RE, 1992. All indoleamine-accumulating cells in the rabbit retina contain GABA, *J. Comp. Neurol.* 322, 275-291
- Osborne NN, Nesselhut T, Nicholas DA, Patel S, Cuello AC, 1982. Serotonin-containing neurons in vertebrate retinas, *J. Neurochem.* 39, 1519-1528
- Pearson HE, Payne BR, Cunningham TJ, 1993. Microglial invasion and activation in response to naturally occurring neuronal degeneration in the ganglion cell layer of the postnatal cat retina, *Develop. Brain Res.* 76, 249-255
- Ross CA, Trulsson ME, Jacobs BL, 1976. Depletion of brain serotonin following intraventricular 5,7-dihydroxytryptamine fails to disrupt sleep in the rat, *Brain Res.* 114, 517-523
- Sandle JH, Masland RH, 1986. A system of indoleamine-accumulating neurons in the rabbit retina, *J. Neurosci.* 6(11), 3331-3347
- Schnitzer J, 1989. Enzyme-histochemical demonstration of microglial cells in the adult and postnatal rabbit retina, *J. Comp. Neurol.* 282, 249-263
- Schnitzer J, Scherer J, 1990. Microglial cell responses in the rabbit retina following transection of the optic nerve, *J. Comp. Neurol.* 302, 779-791
- Stagaard M, Balslev Y, Lundberg JJ, Møllgård K, 1987. Microglia in the hypendyma of the rat subcommissural organ following brain lesion with serotonin neurotoxin, *J. Neurocytol.* 16, 131-142

## FIGURE LEGENDS

**Fig. 1.** Photographs showing NDPase-positive microglial cells in a whole-mounted cat retinae taken from control (**a**), 3 (**b**), 7 (**c**) and 21 (**d**) days after administration of 5,7-DHT. The focus is on the microglia situated in the border of the inner plexiform layer and ganglion cell layer. In **a**, a few microglia are found in the inner plexiform layer. Notice that their somata (arrows) is oval in shape. The somata have two or more thick basal processes from which branched multiple coarse, and short secondary processes. In **b**, the somata of microglia are slightly increased in number, and their processes are become more or less thick and tortuous as compared with the control retinae. In **c** & **d**, more numerous microglia appeared, particularly, in ganglion cell layer. Their somata (arrows) are become more polygonal in shape, and their processes are become more thick and tortuous as compared with the control retina. Scale bar, 10  $\mu\text{m}$ .

**Figs. 2-5.** Electron micrographs of microglial cells taken from the retinae of control (2), 3 (3), 7 (4), and 21 (5) days after 5,7-DHT administration. In Fig. 2, a microglial cell (*mc*) observed in inner plexiform layer (*IPL*) has a characteristic features, which shows scanty cytoplasm with less developed organelles and an elongated nucleus with perinuclear chromatin. In Fig. 3, a microglial cell (*mc*) showing hypertrophic features, such as abundant cytoplasm with well developed organelles, especially, lysosome and mitochondria (arrows), as compared with these of the control. In addition, the cell tends to migrate toward ganglion cell layer (*GCL*). In Fig. 4, a microglial cell migrating toward a degenerated cell (*dc*) located in ganglion cell layer (*GCL*) is illustrated. In Fig. 5, phagocytosed debris (arrow) of a degenerated cell engulfed by a microglial cell is noticed in the cytoplasm. Scale bar, 3  $\mu\text{m}$







