

섬유 혈관성 당뇨망막전막에서 혈관주위세포에 대한 면역조직화학검사 및 전자현미경 관찰

우경호 · 김광수 · 권건영*

= 요 약 =

당뇨망막전막의 수축성에 대한 연구의 일환으로 7례의 섬유혈관성 당뇨망막전막의 혈관주위세포에 대해 면역조직화학염색 및 투과전자현미경 관찰을 시행하였다.

면역조직화학염색에서 혈관주위세포는 일부 혈관외 기질세포와 함께 anti-actin 항체에 강한 양성 반응을 보였다. 투과현미경 검사에서 혈관주위세포는 세포질내에 많은 소기관을 함유하여 왕성한 활동성을 보였고 actin 미세사로 여겨지는 풍부한 미세섬유를 갖고 있었는데, 흔히 내피세포에 면한 세포질내에 이들 미세섬유가 응집된 치밀체의 소견을 나타내었으며, 신생된 혈관을 함유하는 증식막에서는 내피세포에 비한 혈관주위세포수가 증가된 소견도 관찰되었다. 혈관외 기질에서 세포질내에 풍부한 미세사를 함유한 근섬유아세포도 관찰할 수 있었는데 이들은 형태학적 및 면역조직학적으로 혈관주위세포와 많은 유사성을 가지고 있었다.

본 연구에서 혈관주위세포는 당뇨망막전막형성에 있어서, 특히 초기와 증식기의 막의 발생에 중요한 역할을 하는 것으로 생각되며, 또한 이들 세포가 근섬유아세포의 유래에 관련될 수 있다는 소견은 찾아볼 수 없었지만 혈관주위세포는 당뇨망막전막의 수축기전에도 어느정도 관여할 것으로 여겨진다(한안지 37:1648~1655, 1996).

= Abstract =

Immunohistochemical Stain and Electron Microscopic Study on the Pericytes of Fibrovascular Diabetic Preretinal Membrane

Woo, Kyung Ho, MD., Kim, Kwang Soo, MD.,
Kwon, Keon Young, MD.*

〈접수일 : 1996년 5월 31일, 심사통과일 : 1996년 8월 17일〉

계명대학교 의과대학 안과학교실

Department of Ophthalmology, College of Medicine, Keimyung University, Taegu, Korea

계명대학교 의과대학 병리학교실*

Department of Pathology, College of Medicine, Keimyung University, Taegu, Korea

본 논문의 요지는 제 29차 대한 망막 학회에서 구연 발표되었음.

Seven fibrovascular diabetic preretinal membranes were examined with light-microscopic immunohistochemical stain and electron-microscopy to evaluate the possibility of pericytes to be involved in membrane contraction.

Pericytes were positively stained with anti-actin antibody together with some stromal cells thought to be myofibroblasts presumably. On transmission electron microscopic study, pericytes were highly active with numerous cytoplasmic processes and contained abundant microfilaments considered as actin in their cytoplasm. Pericyte/endothelial cell ratio of vascular channels were increased in some actively proliferative portion of the membranes. Myofibroblasts that contain abundant cytoplasmic microfilaments were also demonstrated in the extravascular stroma of the membranes and were very similar to the pericytes morphologically.

Although the evidence that the pericytes are related to the origin of the myofibroblasts could not be demonstrated, this study suggested that the pericytes may play important roles in development and contraction mechanism of fibrovascular diabetic preretinal membranes (J Korean Ophthalmol Soc 37:1648~1655, 1996).

Key words : Actin microfilament, Diabetic preretinal membrane, Electron-microscopy, Immunohistochemical stain, Pericytes

망막전막의 발생과 수축은 증식성 당뇨망막병증 환자에 있어서 시력상실의 주요 원인이다¹⁾. 당뇨망막병증의 병리 소견으로 망막의 모세혈관기저막의 비후, 모세혈관주위세포의 소실, 혈액망막장벽의 파괴, 신생혈관 형성등의 망막구조의 변화를 들 수 있는데, 이와 더불어 발생한 섬유혈관 망막전막이 점차 수축됨으로서 유리체출혈, 견인망막박리등을 일으켜 심각한 시력 손상을 초래한다²⁾. 망막전막의 형성에 관여하는 세포중 수축성을 띠는 세포로는 망막색소상피세포^{3,4)}, 교세포⁵⁾, 유리세포 및 혈관주위세포⁶⁾ 등이 알려져 있는데, Hiscott 등^{7,8)}은 이들중 망막색소상피세포에서 유래된 세포와 교세포는 막의 수축기전에 크게 관여하지 않는다고 하였다. Waller 등⁹⁾은 망막전막에서 actin이 풍부하게 존재하는 것으로 보아 이 물질이 임상적으로 관찰 할 수 있는 망막전막의 수축 현상과 관련이 있음을 시사한 반면, Sramek 등¹⁰⁾은 actin의 양과 망막전막의 수축정도와는 서로 상관이 없었다고 하였는데, 즉 막의 수축에 actin이 관여할 수 있으나 세포성 actin이 많다는 사실자체만으로는 막의 수축기전을 충분히 설명할 수 없다고 하였다. 혈관주위세포는 작은 세동맥, 모세혈관 및 세정맥의 내피세포를 둘러싸고 있으며, 수축작용으로 혈류를 조절하고 모세혈관구

조의 유지 및 투과성을 조절하며, 그외 탐식작용뿐 만 아니라 혈관신생에 관여하는등 여러가지 작용을 하는 것으로 알려져 있다¹¹⁾. 특히 세포질내에 actin을 비롯한 수축성 단백을 함유하고 있어서 이들에 관한 많은 연구가 이루어지고 있으나 아직도 혈관주위세포의 수축성에 대해서는 논란이 많다.

이에 저자는 당뇨망막전막의 발생 및 수축기전에 혈관주위세포가 중요한 역할을 할 수 있을 것으로 생각되어, 증식 당뇨망막병증 환자에서 유리체수술 중 채취한 섬유혈관 망막전막을 혈관주위세포를 중심으로 광학현미경적 면역조직화학검사 및 전자현미경적 관찰을 하였고, 아울러 이들 세포와 일반적인 증식막의 수축에 중요한 역할을 하는 것으로 알려진 근섬유유아세포와 형태학적으로 어떠한 유사성이 있는지를 알아보았다.

재료 및 방법

증식 당뇨망막병증 환자에서 유리체절제술중 얻은 비교적 큰 7례의 섬유혈관 망막전막을 대상으로 하였다. 채취된 각 망막전막은 두조각으로 나누어 광학 및 전자현미경 관찰을 시행하였다. 광학현미경 검사를 위해 조직의 절편을 10% 포르말린으로 치

리하여, hematoxylin & eosin 염색과 trichrome염색을 하였으며, 면역조직화학적 검사를 위해서는 조직을 다시 탈파라핀과 함수시킨 다음 조직절편의 내인성 peroxidase의 작용을 억제하기 위하여 3% 과산화수소로 20분간 처리하였고, 이후 중류수로 조심스럽게 씻은 뒤 신선한 완충용액으로 수세하였다. 이 과정 후에 조직 절편에 남아 있는 완충용액을 없애기 위하여 많은 양의 중류수로 씻어낸 다음, actin 및 collagen IV에 대한 일차 항체(primary antibody)와 같이 37°C에서 1시간 두었다가 완충용액으로 세척하였다. 2차 항체로 biotinylat-

ed anti-rabbit and anti-mouse immunoglobulin을 실온에서 10분간 조직절편에 적용하고 완충용액으로 조심스럽게 씻었다. 이 과정후 horseradish peroxidase에 conjugate된 streptavidin을 다시 조직절편에 적용시켜 실온에서 10분간 두었다가 완충용액으로 세척하였다. 준비된 substrate chromogen용액을 조직에 적용하여 10분간 반응시킨뒤, 조직 절편을 중류수로 조심스럽게 씻었다. Counterstain을 위해 조직 절편을 hematoxylin으로 1분간 대조염색한 뒤 중류수로 수세하고 탈수하여 봉입한 다음 광학현미경으로 검정하였

Fig. 1. Fig. 1. Light micrograph of a vascular diabetic preretinal membrane. Many small blood vessels(arrows) with open lumens are present in the hypercellular membrane (Hematoxylin & eosin stain, $\times 100$).

Fig. 2. Light micrograph showing highly vascular membrane with abundant extracellular collagen matrix that appears to be blue (Trichrome stain, $\times 200$).

Fig. 3. Light micrograph showing a vascular diabetic preretinal membrane stained with monoclonal anti-actin. Pericytes(arrows) are positively stained ($\times 200$).

Fig. 4. Light micrograph shows blood vessel walls deeply stained with anti-type IV collagen. Pericytes(arrows) were easily discernable from endothelial cells(arrow head) ($\times 200$).

다.

전자현미경 검사를 위해서는 조직 절편을 2.5% glutaraldehyde용액으로 1-4°C에서 2시간 전 고정을 하고 0.1M 인산염 완충용액으로 세척한 후 1% osmium tetroxide용액에 2시간 후고정한 뒤 같은 완충용액으로 세척하여 계열 ethanol로 탈수하고 propylene oxide로 치환한 후 Luft방법^[13]에 의한 epon혼합물로 포매하여 37°C에 12시간, 60°C에 48시간동안 열중합을 시켰다. 포매된 조직을 1μm두께로 박절한 후 toluidine blue염색을 실시하여 관찰부위를 선택한 다음, Sorvall MT-5000형 초박절기에 Dupont diamond knife를 부착하여 회백색(40-60nm)의 간접색을 나타내는 초박절편을 얻어 grid에 부착 시킨뒤, Watson^[13] 및 Reynold방법^[14]에 의한 uranyl acetate와 lead citrate로 이중 전자염색을 실시하여 Hitachi H-600형 투과 전자현미경으로 관찰하였다.

결 과

1. 광학현미경 관찰

H&E염색과 trichrome염색에서 망막전막은 7례 모두 풍부한 교원섬유와 많은 모세혈관들을 함유하고 있음을 알 수 있었다(Fig. 1, 2). 면역조직화학 염색에서 혈관주위세포는 actin 항체에 대해 강한 양성반응을 보였고 혈관의 기질내의 일부 세포도 양성반응을 나타내었다(Fig. 3). 혈관기저막을 포함하여 혈관주위의 막 기질이 Collagen IV 항체에 양성반응을 보였으며, 혈관주위세포는 염색된 기저막에 들러싸여 내피세포와의 구분이 비교적 용이하였다(Fig. 4).

2. 전자현미경 관찰

투과전자현미경소견에서 혈관주위세포는 세포질내에 풍부한 과립내형질세망을 갖고 있어 왕성한 활동성을 보였으며(Fig. 5), 일부 세포는 불규칙한 세포질 돌기를 내면서 혈관의 기질쪽으로 활발히 신장되어가는 소견도 관찰되었다(Fig. 6, 7). 또한 혈관주위세포는 세포질내에 actin 미세사로 여겨지는 풍부한 미세섬유를 함유하고 있었는데, 이들은 대개 일정한 방향으로 배열하고 있었고 군데군데 이들 미세

섬유가 응집된 치밀체의 소견도 관찰 할 수 있었다(Fig. 7, 8). 대부분의 내피세포와 혈관주위세포는 다층의 비후된 기저막에 들러싸여 있었지만(Fig. 6, 8), 일부 혈관주위세포는 혈관의 기질과 구분이 어려울 정도로 미세섬유를 포함한 세포질 성분이 혈관의 기질과 교통하고 있었다(Fig. 7). 중식막의 혈관 중갓 신생된 혈관에서 혈관주위세포는 비교적 크고 등근 핵을 가지고 있었고 상대적으로 세포질은 적었으며 일부 혈관에서는 내피세포에 비한 혈관주위세포의 수가 많아 보였다(Fig. 9, 10). 반면 발달된 혈관의 경우 핵막이 핵물되어 모양이 다소 불규칙해지고 세포질은 많았으며(Fig. 1, 11), 혈관주위세포의 지지가 없는 일부 내피세포의 벽은 유창화가 되어 있었다(Fig. 6, 7). 혈관의 기질에서 세포질내에 혈관주위세포에서 관찰된 것과 유사한 풍부한 미세섬유와 이들이 응집된 치밀체의 소견을 보이는 세포가 다수 발견되었는데, 이들은 근섬유아세포로서 면역조직화학염색에서 양성을 나타낸 기질세포로 여겨지며 형태학적으로나 면역조직화학적으로 혈관주위세포와 많은 유사성을 가지고 있었다(Fig. 12).

고 찰

당뇨망막병증은 합병된 망막전막이 점차 수축됨으로서 발생된 망막주름, 황반전위, 유리체출혈, 견인망막박리등으로 인하여 심각한 시력 장애가 초래될 수 있다^[1,2]. 망막전막의 수축작용의 기전에 대해서 과거에는 교원질의 수축작용에 의한 것으로 알려져 있었으나, Abercombie등^[15]은 ascorbic acid로 교원질 형성을 억제시킨 조직에서도 수축작용이 일어나는 것을 관찰하여 이러한 설을 반박하였고, 최근에 와서 Laqua등^[16]과 Wallow등^[9]은 세포질내에 많은 양의 actin 미세사를 함유하고 있는 세포들의 수축작용으로 인하여 망막전막이 수축할 것이라고 하였다. 이러한 actin은 안세포(ocular cell)를 포함한 많은 비근육세포의 세포질에서 미세사로 존재하는 단백질로서, 세포의 운동성과 형태결정과 같은 수축현상에 관여하는 것으로 알려져 있다^[9,10,17]. 일부 actin을 함유하는 세포는 혈관세포에서 유래할 수 있는데, Wallow등^[9]은 이러한 세포가 모세혈관강의 외측부에 존재하여 혈관주위세포라고 추정하였으며

Fig. 5. Electron micrograph of proliferating vessels in a diabetic preretinal membrane. Pericyte(P) have a heterochromatic nucleus(N) and abundant cytoplasm with many cytoplasmic organelle. Pericyte are separated from endothelial cells(En) by thin basal lamina (uranyl acetate and lead citrate, $\times 5,100$).

Fig. 6. Electron micrograph showing a developed vessel. A proliferated capillary is enveloped with multilayered basement membrane(*). Irregular cytoplasmic processes of pericytes(Pc) are extended into the surrounding stroma. Some part of endothelial cells(En) revealed cytoplasmic thickening with irregular luminal surface. L: lumen, (uranyl acetate and lead acetate, $\times 8,500$).

Fig. 7. Higher magnification of the pericyte shown in Fig. 6. Cytoplasm of the pericyte has abundant microfilaments(*) and thickened microfilament band(arrow) is seen closely apposed to basal lamina(BL). Some part of pericyte's cytoplasm(open arrows) is inserting into basal lamina. Endothelial cytoplasm(open arrows) is inserting into basal lamina. Endothelial cytoplasm has fenestrate(arrow heads) that are bridged by thin diaphragm (uranyl acetate and lead citrate, $\times 28,900$).

Fig. 8. Electron micrograph showing a pericyte with abundant cytoplasmic micro-filaments(*) and organelle. Pericyte demonstrates a plasmalemmal vesicle(arrow head) and surrounding multilayered basal lamina(BL). Endothelial cell(En) showed abundant pinocytotic vesicles(arrows) (uranyl acetate and lead citrate, $\times 25,500$).

Fig. 9. Electron micrograph of a newly formed vessel with abundant endothelial cell cytoplasm (En). Pericyte (P) has a large heterochromatic nucleus (N) and relatively little cytoplasm and is separated from endothelial cells by thin basal lamina (arrows) (uranyl acetate and lead acetate, $\times 17,000$).

Fig. 10. Electron micrograph of a newly formed vessel. Pericytes (P) have abundant cell organelle and cytoplasmic process (arrow) into the surrounding stroma. Number of pericyte is relatively more than that of endothelial cells. (uranyl acetate and lead citrate, $\times 10,200$).

Fig. 11. Electron micrograph showing a pericyte of developed vessel. Pericyte (P) has an irregular convoluted large heterochromatic nucleus (N) and relatively small amount of cytoplasm. Cytoplasm contains microfilament plaques (arrows) along the plasma membrane (uranyl acetate and lead citrate, $\times 13,600$).

Fig. 12. Electron micrograph of a myofibroblast-like cell with irregular convoluted nucleus (N) and abundant cytoplasmic organelles. Thick microfilament plaques (arrows) are seen along the plasma membrane of the cell. This cell is very similar to the pericyte shown in Fig. 11. morphologically (uranyl acetate and lead citrate, $\times 17,000$).

증식성 혈관주위세포가 actin함유 세포의 생성에 관여할 것으로 생각하였다. 그러나 Gabbiani 등¹⁸⁾은

actin함유세포의 기원이 혈관세포(vascular cell)로

부터만 유래하지는 않는다고 하였는데, 왜냐하면 섬유아세포가 혈관세포보다는 육아조직에서 더 많이 존재하고 혈관을 포함하지 않는 망막전막도 수축하기 때문이다. Wallow 등⁹은 actin이 당뇨망막병증과 같은 혈관성 망막전막에서 혈관주위세포의 세포질에서 뿐만 아니라 교원성 기질에서도 많이 분포한다고 하였던 바, 망막전막에서 혈관 주위에서의 수축은 혈관주위세포가 주로 담당하고 혈관에서 떨어진 곳에서의 수축은 근섬유아세포(myofibroblast)가 담당할 것으로 생각하였다.

혈관주위세포는 중간엽세포와 섬유아세포에서 유래하여 작은 세동맥, 모세 혈관, 세정맥을 둘러싸고 있는 혈관세포로서, 1873년 Rouget에 의해 처음 소개된 후, 1923년 Zimmermann에 의해 혈관주위세포로 명명되었는데, 이 세포의 초미세 구조 및 생리학적, 생화학적 특성에 대해서는 많은 연구가 되어 있으나, 그 역할은 아직까지 확실히 규명되고 있지 않다¹⁹. 지금까지 알려진 이 세포의 기능을 보면 수축작용에 의해 모세혈관을 통한 혈류와 투과성을 조절하고, 모세혈관의 구조를 유지시키는 것으로 알려져 있으며, 또한 탐식작용과 혈관형성(angiogenesis)에 관여하고¹¹, 다른 형태의 세포로도 분화할 수 있는 것으로 알려져 있다²⁰. 혈관 주위세포의 수축작용은 actin, myosin, tropomyosin과 actin-fibronectin unit, cyclic GMP-dependent protein kinase 등에 의해 이루어지게 되나^{19,20}, actin의 양과 수축력을 상관이 없는 것으로 알려져 있으며¹⁰, 생화학적으로 평활근세포와의 유사점이 알려져 있다^{19,20}. 혈관주위세포는 변형하여 평활근 세포, 섬유아세포, 골모세포, 연골모세포, 전지방세포 및 교세포등으로 분화될 수 있다는 보고가 있으며²⁰, 상처 치유 과정에서는 혈관주위세포가 내피세포의 유사분열을 조절하고, 혈관 신생화에 관여하는 것으로 알려져 있다¹⁹.

본 연구는 섬유혈관 당뇨망막전막을 대상으로 하였으며 anti-actin 항체와 anti-type IV collagen 항체를 이용한 면역조직화학염색을 하여 광학현미경으로 검사하였고, 아울러 투과전자현미경으로 막의 초미세구조를 관찰하였다. 망막전막들은 모두 많은 모세혈관들을 가지고 있었고, 혈관의 기질에는 많은 간질세포와 풍부한 교원섬유를 함유하고 있어서 막

의 증식이 활발함을 알 수 있었다. 또한 초미세구조 관찰에서 혈관주위세포는 세포질내에 풍부한 과립내 형질세포를 갖고 있고, 일부 세포는 불규칙한 세포질 돌기를 내면서 혈관의 기질쪽으로 활발히 신장되어 가는 소견을 보여 활동성이旺盛함을 알 수 있었으나, 이 세포들이 다른 세포로 변형되어 가는 소견은 관찰할 수 없었다. 면역조직화학염색에서 혈관세포중 혈관주위세포는 actin 항체에 선택적으로 강한 양성반응을 보였으며, 혈관의 기질의 일부 세포도 양성반응을 나타내었는데 아마도 근섬유아세포로 여겨지는 세포들이었다. 전자현미경 검사에서도 Wallow 등⁹이 관찰한 소견과 같이 혈관주위세포는 세포질내에 actin 미세사로 여겨지는 풍부한 미세섬유를 함유하고 있었는데, 이들은 대개 일정한 방향으로 배열하고 있었고, 군데군데 이들 미세섬유가 응집된 치밀체의 소견도 관찰 할 수 있었다. 일부 혈관주위세포는 혈관의 기질과 구분이 어려울 정도로 미세섬유를 포함한 세포질 성분이 혈관의 기질과 교통하고 있었는데 이는 주위조직과의 유착성을 좋게하여 혈관이나 막기질에서의 수축작용을 좀더 용이하게 할 것으로 생각되었다. 이러한 소견은 Wallow 등⁹이 혈관주위세포에서 관찰된 소견과 일부 관련이 있을 것으로 생각되는데, 그들은 세포질 돌기내의 actin 미세사가 혈관의 기질내로 신장되어 세포의 수축성을 실질내로 전달하는 매체로 작용할 수 있다고 하였다. 또한 본 연구에서 혈관의 기질세포중 세포질내에 혈관주위세포에서 관찰된 것과 유사한 풍부한 미세섬유와 이들이 응집된 치밀체의 소견을 보이는 세포가 다수 발견되었는데, 이들은 면역조직화학염색에서 actin 항체에 양성을 나타낸 근섬유아세포로 여겨지는 기질세포이며, 형태학적으로나 면역조직화학적으로 혈관주위세포와 많은 유사성을 보였다. 이러한 근섬유아세포의 세포질에는 평활근세포에서 보는 것과 비슷한 많은 양의 actin 미세사가 있으며, 수축성 세포에서 볼 수 있는 핵함입과 수축작용을 용이하게 할 수 있는 세포 대 세포 및 세포 대 기질 결합을 하는 특징을 갖고 있다. 이 세포는 혈관외막, 부교세포, 유리세포, 모양체상피세포에서 유래하는 것으로 알려져 있다⁹.

본 연구를 통하여 볼 때 혈관주위세포 및 근섬유아세포는 세포질내에 풍부한 actin 세사를 함유하고 있

고 형태학적으로나 면역조직학적으로 서로 많은 유사성을 갖고 있어서, 이들 두 세포의 유래가 같을 수 있다는 것을 시사하고 있으며, 만약 이것이 사실이 아니라도 혈관주위세포는 세포자체의 구조적 및 생화학적인 성상과 주위조직과의 밀접한 연관성 등으로 인하여 당뇨망막전막의 발생과 수축에 중요한 역할을 하는 것으로 여겨진다.

REFERENCES

- 1) Patz A : *Current Concepts in Ophthalmology. Retinal Vascular Disease.* New Engl J Med 298:1451-1454, 1978.
- 2) Andrew PS, Robert BM, Arnall P: *Retina. St Louis, The CV Mosby Company,* 1989, pp 301-402.
- 3) Mueller-Jensen K, Machemer R, Azarnia R : *Autotransplantation of Retinal Pigment Epithelium in Intravitreal Diffusion Chamber.* Am J Ophthalmol 80:530-537, 1975.
- 4) Mandelcorn MS, Machemer R, Fineberg E, Hersch R : *Proliferation and Metaplasia of Intravitreal Retinal Pigment Epithelium Cell Autotransplants.* Am J Ophthalmol 80:227-237, 1975.
- 5) Byer NE : Spontaneous Disappearance of Early Postoperative Preretinal Retraction: A Sequel of Retinal Detachment Surgery. Arch Ophthalmol 90:133-135, 1973.
- 6) Newsome DA, Rodrigues MM, Machemer R : *Human Massive Periretinal Proliferation: in Vitro Characteristics of Cellular Components.* Arch Ophthalmol 99:873-880, 1981.
- 7) Hiscott PS, Grierson I, McLeod D : *Retinal Pigment Epithelial Cells in Epiretinal Membranes: An Immunohistochemical Study.* Br J Ophthalmol 68:708-715, 1984.
- 8) Hiscott PS, Grierson I, Trombetta CJ, et al : *Retina and Epithelial Glia-An immunohistochemical Study.* Br J Ophthalmol 68:698-707, 1984.
- 9) Wallow IH, Greaser ML, Stevens TS : *Actin Filaments in Diabetic Fibrovascular Preretinal Membrane.* Arch Ophthalmol 99:2175-2181, 1981.
- 10) Sramek SJ, Wallow IH, Stevens TS, Nork TM : *Immunostaining of Preretinal Membranes for Actin, Fibrinectin, and Glial Fibrillary Acidic Protein.* Ophthalmology 96:835-841, 1989.
- 11) Ishibashi T, Inomata H, Sakamoto T, Ryan SJ : *Pericytes of Newly Formed Vessels in Experimental Subretinal Neovascularization.* Arch Ophthalmol 113:227-231, 1995.
- 12) Luft LH : *Improvement in Epoxy Resin Embedding Method.* J Biophys Biochem Cytol 9:409-414, 1961.
- 13) Watson ML : *Staining of Tissue Sections for Electron Microscopy with Heavy Metals.* J Biophys Biochem Cytol 226:475-479, 1958.
- 14) Reynolds ES : *The use of lead citrate at high pH as electron opaque stain in electron microscopy.* J Cell Biol 17:208-212, 1963.
- 15) Abercombie M, Flint MH, James DW : *Wound Contraction in Relation to Collagen Formation in Scorbatic Guinea Pigs.* J Embryol Exp Morphol 4:167-175, 1956.
- 16) Laqua H, Machemer R : *Glial Cell Proliferation in Retinal Detachment (Massive Periretinal Proliferation).* Am J Ophthalmol 80: 602-618, 1975.
- 17) Gordon SR : *In Situ Demonstration of Actin in Normal and Injured Ocular Tissues Using 7-nitrobens-2-oxa-1,3-diazole Phallacidin.* Cell Motil 4:343-354, 1982.
- 18) Gabbiani G : *Granulation Tissue as a Contractile Organ: A Study of Structure and Function.* J Exp Med 135:719-734, 1972.
- 19) Sims DE : *The Pericyte - A Review.* Tissue & cell 18:153-174, 1986.
- 20) Sims DE : *Recent Advances in Pericyte Biology - Implications for Health and Disease.* Can J Cardiol 7:431-443, 1991.