

家兎角膜への紫外線障害と紫外線遮断コンタクトレンズの効果

吉井 大¹⁾, 中谷 智¹⁾, 沖坂 重邦¹⁾, 水川 淳¹⁾
奥山美智子¹⁾, 中神 哲司¹⁾, 築島 謙次²⁾, 金原 久治³⁾¹⁾防衛医科大学校眼科学教室, ²⁾国立身体障害者リハビリテーションセンター病院眼科, ³⁾チバビジョン学術グループ

要 約

紫外線 B (280~320 nm) を遮断する吸収剤を含んだソフトコンタクトレンズ (SCL) の紫外線遮断効果を家兎角膜について検索した。瞬膜切除 3 週間後に, この SCL または通常の SCL を角膜に装着し, 出力 15 W の紫外線放電管 2 本を眼前 20 cm に置いて 3 時間照射した。その後 SCL を除去し, 3 時間後にフルオレセインで染色して前眼部を観察し, 摘出眼球を組織学的に検討した。紫外線遮断 SCL を装着した 6 眼の角膜には軽度の表層点状角膜

症があり, 通常の SCL を装着した 6 眼の角膜には強い表層点状角膜症ないし上皮欠損があった。組織病理学的にも同様な変化があった。紫外線遮断 SCL は, 通常の SCL に比べて, 今回の実験条件下では紫外線による角膜障害を軽減していた。(日眼会誌 102: 167—172, 1998)

キーワード: 角膜上皮, 紫外線, 紫外線遮断ソフトコンタクトレンズ

Effect of Ultraviolet-filtering Contact Lens on Rabbit Eyes after Exposure to Ultraviolet Light

Masaru Yoshii¹⁾, Satoru Nakatani¹⁾, Shigekuni Okisaka¹⁾, Atsushi Mizukawa¹⁾
Michiko Okuyama¹⁾, Tetsushi Nakagami¹⁾, Kenji Yanashima²⁾ and Kyuji Kimbara³⁾¹⁾Department of Ophthalmology, National Defense Medical College²⁾Eye Clinic, National Rehabilitation Center For the Disabled, ³⁾CIBA Vision K.K.

Abstract

We evaluated the protective effect of a newly designed soft contact lens (SCL) on rabbit eyes. This SCL absorbs the ultraviolet B light of wavelengths between 280 nm and 320 nm. Three weeks after resecting the nictitating membrane, the rabbit corneas were covered either by the new SCL or a conventional SCL. The eyes were exposed to ultraviolet light from two 15 W lamps placed 20 cm anteriorly for 3 hours. Another three hours after the exposure, the cornea was examined first with a slitlamp biomicroscope after staining with fluorescein and then by histopathological means after enucleation. Six eyes

wearing the new SCL showed moderate superficial punctate keratopathy. Six eyes wearing conventional SCL showed severe superficial keratopathy or corneal erosion. These findings were in good agreement with the histopathological findings. The new ultraviolet-filtering SCL was thus effective in protecting the rabbit cornea under our experimental conditions. (J Jpn Ophthalmol Soc 102: 167—172, 1998)

Key words: Corneal epithelium, Ultraviolet light, Ultraviolet-filtering contact lens

I 緒 言

紫外線 (以下, UV) による角膜障害¹⁾は, 臨床的に雪眼や溶接時の電気性眼炎として知られている。紫外線は, その生物学的作用から長波長域 UVA (320~400 nm), 中波長域 UVB (280~320 nm), 短波長域 UVC (190~280 nm) に分けられる。しかし, UVB の約半分と人体に最も有害であると考えられている UVC は, 大気やオゾン層により

遮断されて地表には到達しない。したがって, 地表において主に有害となるのは UVB である。その紫外線障害を予防するコンタクトレンズとして, 海外では既に 10 種類以上のコンタクトレンズが開発されている²⁾が, その基礎的研究に関する報告^{3)~6)}は少ない。

今回, 我々は日本で唯一入手可能な紫外線吸収剤 (トリアジン誘導体) を含んだソフトコンタクトレンズを用いて, 家兎角膜の紫外線に及ぼす影響について検討したの

別刷請求先: 359-0042 埼玉県所沢市並木 3-2 防衛医科大学校眼科学教室 吉井 大
(平成 9 年 6 月 3 日受付, 平成 9 年 11 月 26 日改訂受理)

Reprint requests to: Masaru Yoshii, M.D. Department of Ophthalmology, National Defense Medical College,
3-2 Namiki, Tokorozawa-shi, Saitama-ken 359-0042, Japan

(Received June 3, 1997 and accepted in revised form November 26, 1997)

で報告する。

II 実験方法

白色家兎(ニュージーランド系)の瞬膜切除を行い、抗菌剤(オフロキサシン)眼軟膏を点入して圧迫止血を行った。その後2週間、抗菌剤(オフロキサシン)点眼を1日3回施行した。瞬膜切除3週間後、角膜・結膜の状態を Draize Scale で評価し、合計点が5点未満の条件を満足する家兎を実験に用いた。

実験に使用した UVP 社製(販売元:フナコシ(株))の紫外線放電管(長波長 15 W 放電管, 34-0009-01)の波長—強度特性曲線と紫外線吸収剤を含んだソフトコンタクトレンズ(「ティアソフト UV」, 以下, UV-CL)の紫外線吸収曲線を図 1 a, b にそれぞれ示した。家兎 A 群には、片眼に UV-CL を装着し、他眼は遮蔽した。この UV-CL は、紫外線放電管から照射される紫外線(図 1 a)のうちの 280~320 nm の UVB を 95% 遮断する(図 1 b)トリアジン誘導体を含んでいる。家兎 B 群には、片眼に紫外線吸収剤を含まない通常のソフトコンタクトレンズ(「バイコン」, 以下 non UV-CL)を装着し、他眼は遮蔽した。どちらのソフトコンタクトレンズも、Flat/−1.00 D/13.80(註. 非球面レンズであるため、ベースカーブはレンズの中心から周辺に向かって変化してゆく。したがって、Flat または Steep で表示される)の同一規格で統一した。対照眼は、ソフトコンタクトレンズのみ装着して紫外線照射を行わない状態とした(家兎 C 群)。

紫外線照射は、紫外線放電管(図 1 a)を家兎眼前 20 cm に 2 本並列にして配置し、3 時間行った。この紫外線放電管は、図 1 a に示されたように紫外線の UVB も放出するが、UVA を主体として放出する特性がある。3 時間という照射時間は、コンタクトレンズの装用なしでびまん性表層角膜炎が生じた予備実験のデータを根拠として決定

した。家兎は、各群とも 6 匹ずつ用いた。照射中は、紫外線防護メガネを使用しながら、ソフトコンタクトレンズがはずれかけていないかどうか注意して観察した。3 時間の紫外線照射直後にソフトコンタクトレンズをはずし、さらに 3 時間後、塩酸ケタミン(ケタラール®)の浅い麻酔下に角膜のフルオレセイン染色を行い、前眼部のフォトリット撮影を行った。その後、致死量の麻酔薬の静脈内投与を行い、直ちに開眼器で開眼したままの状態に結膜嚢に固定液(1% グルタルアルデヒド・2.5% ホルマリン混合液, pH 7.2 磷酸緩衝液)を満たした後、眼球摘出を行った。眼球摘出時、血液が角膜に付着しないように注意した。角膜・強膜・虹彩・毛様体を含む前眼部組織を後眼部から分離し、角膜中央を通る面で 2 分した。2 分した一方は、強膜中央部の 3 mm 幅の組織片のパラフィン包埋切片を、ヘマトキシリン・エオジン(HE)染色、過ヨウ素酸シッフ(PAS)染色、マッソン 3 色染色、terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end labeling(TUNEL 法)で染色した。また、眼球を 2 分した他方の標本の前眼部組織から、角膜表面の走査型電子顕微鏡標本を作製した。毎回、実験を開始する前に紫外線の強度を UVP 社製アナログ型紫外線強度計(フナコシ(株), 38970301)J-221 型(365 nm 専用)で測定し、同じ強度の紫外線であることを確認して実験を開始した。

III 結果

角膜のフルオレセイン染色による細隙灯顕微鏡検査(図 2)では、UV-CL の A 群の角膜はほとんどフルオレセインに染色されていないか、またはごく軽度の点状の染色パターンが認められた(図 2 a)。non UV-CL の B 群の角膜では A 群の場合よりもさらに拡大された領域が斑状に染色されていた(図 2 b)。

図 3 a は UV-CL (A 群)、図 3 b は non UV-CL (B 群)

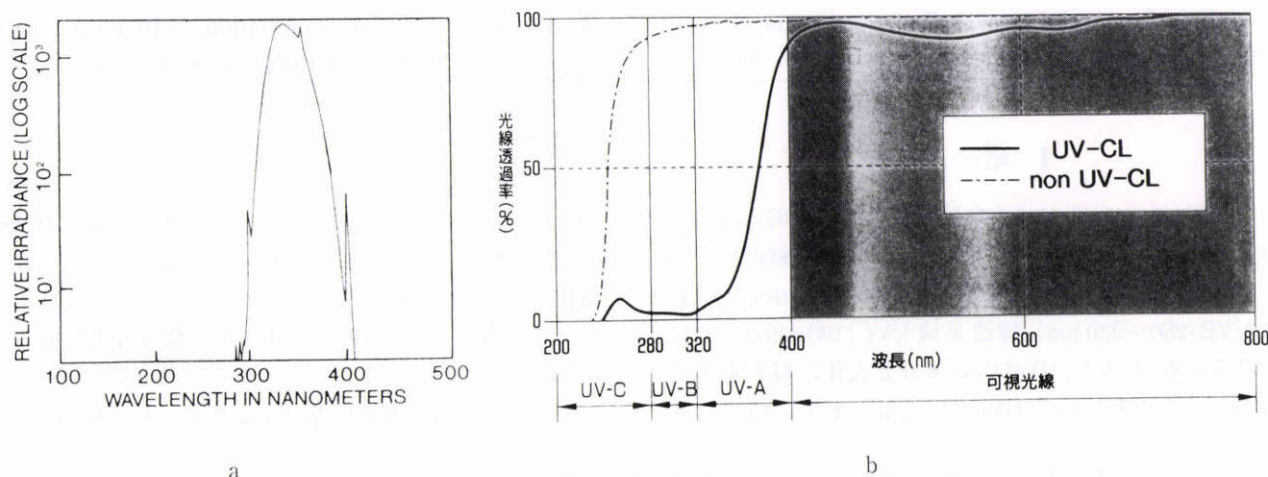


図 1 使用した紫外線放電管の波長—強度特性曲線(a)と紫外線遮断ソフトコンタクトレンズ(UV-CL)の紫外線吸収特性(b)。

使用した紫外線放電管は、UVB も放出し(a)、UV-CL はこの帯域の紫外線をほとんど遮断することがわかる(両図表は、それぞれ(株)フナコシ、(株)チバ・ビジョンから掲載許可を得た)。

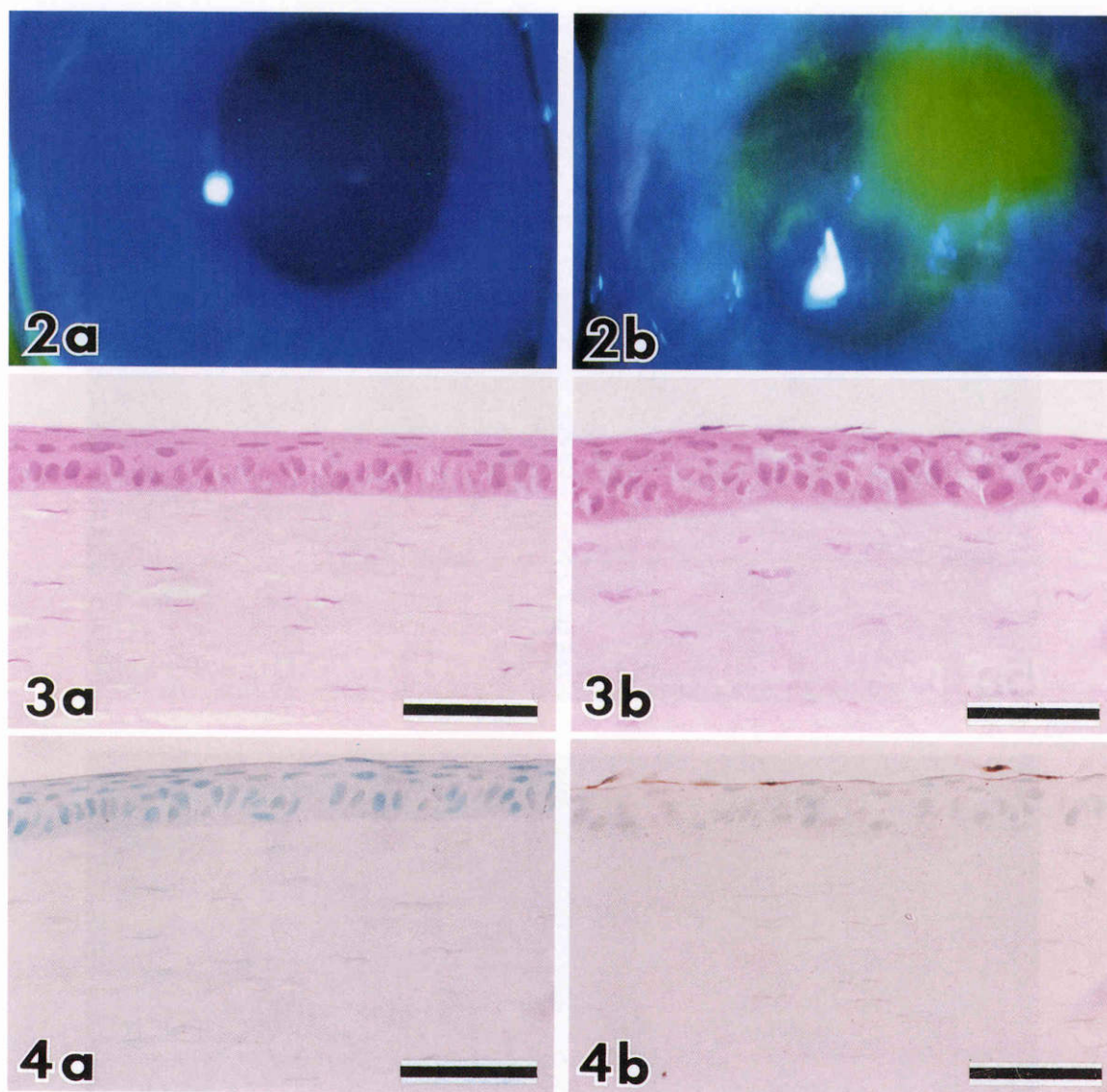


図 2 フルオレセイン染色による UV-CL 装着眼(a)と紫外線遮断剤を含まない通常のソフトコンタクトレンズ(non UV-CL)装着眼(b)の角膜表面のスリットフォト写真。

a: 角膜表面はフルオレセインに染色されていない。b: 角膜表面の障害部にフルオレセインが斑状ないし点状に染色されている。

図 3 UV-CL 装着眼(a)と non UV-CL 装着眼(b)の角膜上皮・実質のヘマトキシリン・エオシン染色光学顕微鏡写真。

a: 角膜上皮細胞には異常を認めない。b: 角膜最表層の上皮細胞の剥離, 基底細胞・翼状細胞の細胞内および細胞外の浮腫がみられる。角膜実質の薄葉の乱れも認められる。バー 50 μ m

図 4 UV-CL 装着眼(a)と non UV-CL 装着眼(b)の角膜上皮・実質の terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end labeling (TUNEL 法) 染色光学顕微鏡写真。

a: 角膜上皮細胞には異常を認めない。b: 角膜最表層の細胞は TUNEL 法で陽性に染まり, 剥離しているものも認められる。バー 50 μ m

を装用して紫外線照射した角膜中央部の光学顕微鏡写真である。A 群では, 上皮・実質細胞ともに異常を認めない。B 群の角膜では, 角膜最表層の上皮細胞が剥離し, 基底細胞と翼状細胞の細胞内・外の浮腫がみられる。角膜実質の薄葉の乱れも認められる。また, B 群の角膜の別の部位では上皮細胞に空胞変性が認められ, その細胞核が濃縮していた。A 群, B 群ともに角膜内皮細胞に形態学的な変化はなかった。

また, TUNEL 法による標本(図 4)では, A 群では(図 4 a)陽性に染まっている細胞はないが, B 群では(図 4 b)角膜表層から剥離している細胞や空胞変性を示した細胞が TUNEL 陽性に染色されていた。

走査型電子顕微鏡による観察(図 5)では, 角膜最表層の上皮が脱落している所見が両群でみられたが, その脱落の程度は non UV-CL の B 群の方が UV-CL の A 群よりもより明瞭に認められた。以上の所見は, 各群の家兎

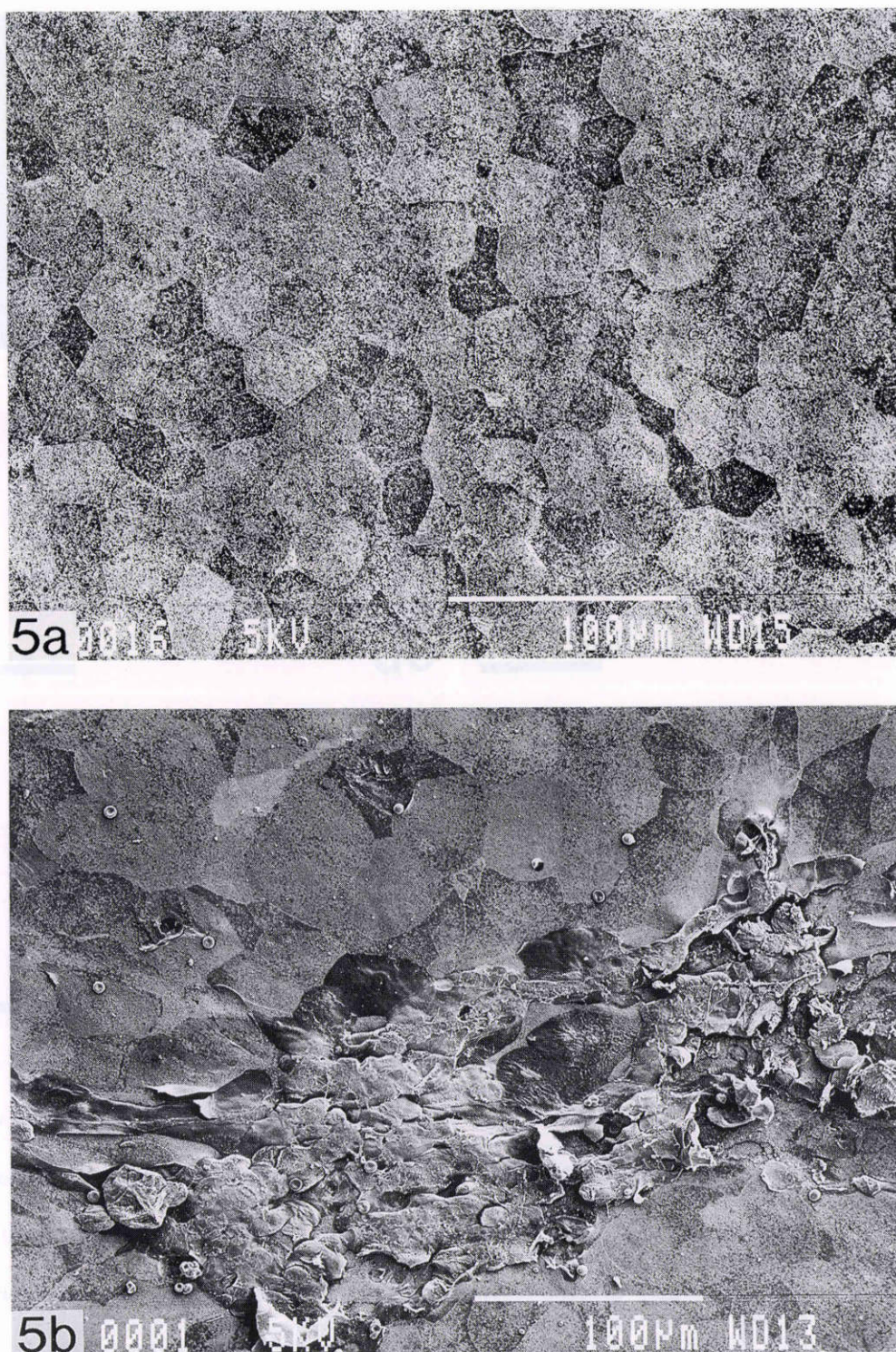


図5 UV-CL 装着眼(a)と non UV-CL 装着眼(b)の角膜表面の走査電子顕微鏡写真。
角膜最表層の上皮が脱落している所見は, UV-CL 群よりも non UV-CL 群に著明に認められる。

においてほぼ同様に観察され, 再現性が確認された。

角膜表面に照射された紫外線強度は, 365 nm において $1500 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ であった(光エネルギーとして, $16.2 \text{ J}/\text{cm}^2$ に換算される)。また, 対照眼の C 群の角膜所見は, A 群の所見とほぼ同様であり, ほとんど変化がなかった。

IV 考 按

今回の実験により, 紫外線吸収剤を含んだ UV-CL は, 紫外線吸収剤を含まない通常のコンタクトレンズ(non UV-CL)よりも紫外線による角膜上皮障害を軽減することが, フルオレセイン染色による細隙灯顕微鏡検査と摘出眼球角膜の組織病理学的検査で明らかとなった。

Bergmanson ら³⁾は家兎眼の片眼に紫外線を遮断するハイドロゲル・コンタクトレンズを装着し、他眼に通常のハイドロゲル・コンタクトレンズを装着して、 $113 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ (295~305 nm で 300 nm にピークがある)の紫外線強度で 29.5 分間照射し(光エネルギーでは、 $0.2 \text{ J}/\text{cm}^2$)、24 時間後に眼球摘出を行って組織病理学的に検討した。その結果、通常のコンタクトレンズを装着した方の角膜上皮ばかりでなく、実質や内皮細胞まで障害を認めたが、紫外線を遮断するコンタクトレンズを装着した場合には、角膜には何ら異常を認めなかったと報告した。同様な実験はいずれも RGP (rigid gas-permeable) コンタクトレンズを用いて行われ、Dumbleton ら⁴⁾は $625 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ (285~315 nm)の紫外線強度で 2,364 秒間照射 ($1.48 \text{ J}/\text{cm}^2$)、Cullen ら⁵⁾は $450 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ (285~315 nm)の条件で、22 秒~1,680 秒まで照射 ($0.01 \sim 0.76 \text{ J}/\text{cm}^2$)、さらに、Ahmedbhai ら⁶⁾は 0.03 または $0.02 \text{ J}/\text{cm}^2$ (296~314 nm)の条件で照射を行い、角膜上皮から角膜内皮に至るまでの障害を認めたと報告した。

我々の結果と彼らの結果とは、紫外線を遮断するコンタクトレンズを装用した角膜障害が通常のコンタクトレンズよりもより軽度であるという点で一致している。しかし、角膜実質から内皮細胞まで障害が認められたとする彼らの所見は、角膜病変が上皮層に局限し、実質や内皮細胞には病変が観察されなかった我々の結果とは異なっている。これは、紫外線強度・波長帯域や照射時間および眼球摘出までの時間が異なっていることが考えられる。

角膜の UV 感受性には、288~290 nm に最大ピークがあり、254 nm にも 2 番目のピークがあることが明らかになっている。これに対応する核酸と芳香族アミノ酸の 2 つのグループの発色団が正常角膜内に存在している。角膜内皮および実質内にも UV (288 nm) を吸収するが、角膜上皮層に 2 つの発色団が最も多く存在するため、初期の変化像が角膜浅層に局限する¹⁾と考えられている。したがって、紫外線照射の強度は、我々の条件よりも Bergmanson らの条件の方がより強力であったために、角膜病変に差が生じたと推察される。紫外線波長はある単一の波長ではなく、ある帯域にまたがっているため、紫外線の強度を全体として正確に計算することは困難とされている^{7,8)}。つまり、照射した紫外線の全帯域にわたってそのエネルギーを測定し、一括に全体として表現することは物理的に困難であると考えられている。紫外線強度(測定値)から光エネルギーとして換算した値で両者を比較すると、彼らの $0.2 \text{ J}/\text{cm}^2$ は我々の $16.2 \text{ J}/\text{cm}^2$ に対して強度が弱いということになり、前述した病理所見とは相反することになる。用いた紫外線放電管が両者間で異なるために、異なる波長(ピークがそれぞれ 300 nm と 365 nm)において測定した紫外線強度を単純に比較することができない。したがって、光エネルギー値のみから実験系における刺激の実際の強度が両者のうち、どちらが

どれだけ強かったかどうか結論することは困難であるが、紫外線障害の程度は紫外線強度と紫外線帯域の両者に関係すると推察される。

今回我々が使用した紫外線放電管は、図 1 a に示すように、365 nm にピークがあり、約 280~420 nm の帯域の紫外線を放射する。この帯域は UVB を含み、かつ、過去の報告^{3)~6)}で使用された紫外線の帯域(285~315 nm)と比較して、より可視光線側の波長帯域に近いので、紫外線強度は別にして、我々が用いた紫外線帯域の方が自然界の紫外線帯域の条件により近く、より生理的条件に近いといえる。故に、紫外線照射による障害が角膜上皮に局限して観察されたという我々の結果は、日常よくみられる電気性眼炎や雪眼の臨床所見と類似し、角膜浅層での変化がフィルターの役目を行うために、紫外線がさらに眼球の深層へ侵入するのを防ぐという生理的合理性と合致している。

TUNEL 法は、細胞核デオキシリボ核酸(DNA)の断片化を証明するのに必要な染色法と考えられており、細胞のアポトーシスを解析するのに役立つ方法である⁹⁾と考えられている。今回、non UV-CL 装着眼の角膜表層から剥離していた細胞に、TUNEL 陽性に染色された部位が確認された。角膜上皮には、①多くの生存能力のある細胞、②少数の生存能力のない細胞、さらに、③アポトーシスを起こす細胞があり、典型的なアポトーシスによる他に、最終的な分化を起こすメカニズムによっても角膜表層から細胞が脱落してゆくと考えられている¹⁰⁾。今回の我々の紫外線強度では、角膜上皮が変性を起こして核 DNA 断片化のために TUNEL 陽性に染色された部位が見出された可能性があり、純粋なアポトーシスを観察した可能性は低い。今後、さらに紫外線強度を変えて、ごく初期の角膜障害が起きる条件下で、TUNEL 法による観察を行う必要がある。

文 献

- 1) 佐々木一之：紫外線の眼に及ぼす影響。眼科 24：739—745, 1982.
- 2) Bergmanson J, Sheldon T, Cullen A: A sting in the rays. Optician 212: 17—22, 1996.
- 3) Bergmanson JPG, Pitts GP, Chu LWF: Protection from harmful UV radiation by contact lenses. J Am Optom Assoc 59: 178—182, 1988.
- 4) Dumbleton KA, Cullen AP, Doughty MJ: Protection from acute exposure to ultraviolet radiation by ultraviolet-absorbing RGP contact lenses. Ophthalmic Physiol Opt 11: 232—238, 1991.
- 5) Cullen AP, Dumbleton KA, Chou BR: Contact lenses and acute exposure to ultraviolet radiation. Optom Vis Sci 66: 407—411, 1989.
- 6) Ahmedbhai N, Cullen AP: The influence of contact lens wear on the corneal response to ultraviolet

- let radiation. *Ophthalmic Physiol Opt* 8:183—189, 1988.
- 7) **Wester U**: Solar ultraviolet radiation on the Canary islands and in Sweden - a comparison of irradiance levels. In: Paschier W (Ed): *Human Exposure to UVR*. Elsevier Science Publishers, Heidelberg, 275—279, 1987.
- 8) **Michael R**: Environmental sources of ultraviolet radiation. In: Michael R (Ed): *Threshold Dose Estimation for Ultraviolet Radiation induced Cataract* (Thesis). Carolinska Institute, Stockholm, 10—15, 1997.
- 9) **山田 武, 大山ハルミ**: アポトーシス概論. 山田武, 他(編): *アポトーシス*, 日経サイエンス社, 東京, 10—63, 1995.
- 10) **Ren H, Wilson G**: Apoptosis in the corneal epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 37:1017—1025, 1996.
-