

エキシマレーザー照射後の膠様滴状角膜 ジストロフィ症例の組織学的検討

伊東真由美, 高橋 次郎, 崎元 卓, 澤 充

日本大学医学部眼科学教室

要 約

目 的：膠様滴状角膜ジストロフィ症例におけるエキシマレーザー治療的角膜切除術(PTK)の影響を組織学的に検討した。

対象および方法：28歳, 女性。表層角膜移植術施行後の膠様滴状角膜ジストロフィ症例に対し, PTKを施行した。術後角膜中央部の再発に対し, 深層角膜移植術を施行した。その際, 得られた角膜片をレーザー照射部と非照射部に分け, 組織学的に検討した。

結 果：光学顕微鏡では, 両部位とも角膜上皮層の菲薄化, ボウマン膜の消失, 上皮下にアミロイド染色陽性物質がみられた。透過型電子顕微鏡では, 照射部の角膜上皮

下に変性細胞や非照射部にみられなかった2種類の錯綜したアミロイド線維がみられた。実質中層, 深層の膠原線維の層構造は保たれていた。

結 論：照射部の上皮下のアミロイド細線維に変化がみられ, レーザーの照射方法について検討が必要と考えられた。両部位の実質中層, 深層に差異はみられず, 本術式の角膜に対する安全性の一所見と考えられた。(日眼会誌 104: 44-50, 2000)

キーワード：膠様滴状角膜ジストロフィ, エキシマレーザー, 治療的角膜切除術

Histological Study of Gelatinous Drop-like Dystrophy Following Excimer Laser Phototherapeutic Keratectomy

Mayumi Ito, Jiro Takahashi, Takashi Sakimoto and Mitsuru Sawa

Department of Ophthalmology, Nihon University School of Medicine

Abstract

Purpose: Investigation of effects of excimer laser phototherapeutic keratectomy (PTK) on gelatinous drop-like dystrophy.

Object and Methods: The patient was a 28-year-old woman with gelatinous drop-like dystrophy. She had a history of penetrating keratoplasty and underwent PTK for recurrent lesions by spot mode several times. Finally her sight deteriorated and she underwent lamellar keratoplasty. We divided the corneal specimen into 2 halves, the non-ablated area and the ablated area. The corneal specimens were investigated histologically.

Results: Light microscopy showed a decrease in thickness of the epithelial layer, absence of Bowman's layer, and amyloid positive materials at the subepithelial layer in both areas. Electronmicroscopy showed irregularly arranged amyloid fibrils in the subepithelial layer of the non-ablated area. In the ablated area, two different types of amyloid fi-

brils were identified. In the middle and deep stromal layer, the collagen lamellar structure was intact and keratocytes were normal in both areas.

Conclusions: In the subepithelial layer, two different types of amyloid fibrils were identified in the ablated area. These findings might show that the original disease was affected by excimer laser ablation. In the middle and deep stromal layer, collagen lamellar structure was intact and keratocytes were normal in both areas. These findings suggest that PTK has less effect on the tissue beneath the ablated area, indicating that PTK is a useful and safe technique to remove corneal opacities. (J Jpn Ophthalmol Soc 104: 44-50, 2000)

Key words: Gelatinous drop-like dystrophy, Excimer laser, Phototherapeutic keratectomy

別刷請求先: 355-0003 埼玉県比企郡小川町小川 1525 小川赤十字病院眼科 伊東真由美
(平成 11 年 4 月 1 日受付, 平成 11 年 7 月 15 日改訂受理)

Reprint requests to: Mayumi Ito, M.D. Department of Ophthalmology, Ogawa Red Cross Hospital, 1525 Ogawa, Ogawa-machi, Hiki-gun, Saitama 355-0397, Japan

(Received April 1, 1999 and accepted in revised form July 15, 1999)

I 緒 言

膠様滴状角膜ジストロフィ(膠様滴状角膜変性症)は、角膜上皮下および実質浅層にアミロイド沈着が生じる遺伝性疾患¹⁾²⁾である。本疾患に対する従来からの外科的治療法には、角膜切除術、角膜移植術などがある^{3)~5)}。しかし、いずれの方法においても、術後、原疾患の再発の問題があり³⁾、特に角膜移植術では術式の選択、再発例に対する処置、再手術の適応決定の難しさの問題点もある。近年、エキシマレーザーによる治療的角膜切除術(phototherapeutic keratectomy, PTK)が角膜疾患に対し臨床応用されるようになり、本症の治療方法としてもその治療効果が報告⁶⁾⁷⁾されているが、疾患自体の特殊性から、PTK 術後においても病変の再発がある。しかし、レーザー再照射療法が可能なることから、PTK は本症に対する簡便かつ有効な手術術式として注目されている⁷⁾。我々は PTK 後に、原病変の再発と角膜混濁のために角膜移植術を要した膠様滴状角膜ジストロフィ症例を経験した。その角膜組織を観察し、本症でのエキシマレーザー照射の影響を組織学的に検討した。

II 対象および方法

1. 対 象

症例は膠様滴状角膜ジストロフィと診断された 28 歳女性である。1991 年 12 月に日本大学医学部附属光が丘病院眼科で、右眼に対し表層角膜移植術を施行した。術後 2 年目に病巣が再発し、視力障害、異物感、羞明感の自覚症状が増強したため、病巣の切除を行う目的で、患者の同意を得て、1993 年 12 月に臨床治験として、PTK を日本大学医学部附属板橋病院眼科で施行した。エキシマレーザー装置は MEL 60 (Aesculap Meditec 社) を使用し、表 1 に示す条件下で照射を施行した。術後、異物感、羞明感などの自覚症状は軽減したが、初回 PTK 後約 6 か月目に照射部位に病巣が再発したため、再照射を行った。レーザー照射 6 か月~1 年後は経過良好であったが、その後、再発により自覚症状が悪化し、患者の希望により 1995 年 6 月、1996 年 5 月の合計 4 回の PTK を行った。最終照射後 5 か月目に角膜混濁が角膜中央部にみられ、視力低下が生じた(図 1)。病変の除去目的で 1997 年 1 月に深層角膜移植術を施行した。その際、得られた角膜片を対象とし、以下の組織学的検討を行った。

2. 方 法

診療録からレーザー照射部を確認し、試料をレーザー

表 1 照射条件

照射方法	spot mode
照射径(mm)	1.5
エネルギー密度(mJ/cm ²)	800~1,200
周波数(Hz)	3 or 5

非照射部とレーザー照射部とに分け、検討を行った。試料の一部を 10%ホルマリン液に固定し、パラフィン包埋後、光学顕微鏡用切片を作製し、コンゴレッド染色を行った。その他の試料は 2.5% グルタルアルデヒド液で浸漬固定後、1% オスミウム液により後固定し、アルコール系列で脱水後、エポキシ樹脂包埋した。ミクロトーム 2088 Ultrotome[®] (LKB 社) を用い、光学顕微鏡観察用に試料を作製し、トルイジンブルー染色を行い観察を行った。電子顕微鏡観察用に超薄切片を作製し、酢酸ウランおよび硝酸鉛による二重染色後、透過型電子顕微鏡 JEM 1200 EX[®] (日本電子) を用いて観察を行った。

III 結 果

1. 光学顕微鏡所見

1) レーザー非照射部

角膜上皮層は菲薄化し、トルイジンブルーで強く染色された。ボウマン膜は消失し、上皮下にトルイジンブルーで淡く染色される無構造物質が塊状にみられた。無構造物質の周辺には変性した角膜実質細胞がみられた。実質浅層では膠原線維の層構造は消失していたが、実質中層から深層の膠原線維の層構造は保たれていた(図 2A)。

2) レーザー照射部

角膜上皮層は菲薄化し、トルイジンブルーで強く染色された。ボウマン膜は消失し、上皮下にトルイジンブルーで淡く染色される層状の無構造物質がみられた。無構造物質の内部には変性した細胞成分が混在していた。実質浅層の膠原線維の層構造は消失していたが、実質中層から深層の膠原線維の層構造は保たれていた(図 2B)。トルイジンブルーで染色される無構造物質は、コンゴレッド染色で陽性を示した。実質中層、深層にはコンゴレッド染色陽性物質はみられなかった(図 2B)。

2. 透過型電子顕微鏡所見

1) 上皮および上皮下

a) レーザー非照射部

上皮細胞は扁平化し、細胞間隙の開大、細胞内小器官の変性、空胞がみられた。上皮基底層の細胞膜は消失し、ボウマン膜は消失していた。上皮下には錯綜した直径約 8~10 nm のアミロイド細線維がみられ、アミロイド線維と上皮基底細胞との間には明確な境界はみられなかった(図 3A)。

b) レーザー照射部

非照射部と同様、上皮細胞間隙の開大、細胞内小器官の変性、空胞がみられた。上皮基底層の細胞膜、ボウマン膜は消失していた。上皮下には錯綜した直径約 8~10 nm のアミロイド細線維がみられ、アミロイド線維と上皮基底細胞との間には明確な境界はみられなかった(図 3B)。

2) 実 質 浅 層

a) レーザー非照射部

実質浅層の膠原線維には層構造の乱れが生じており、



図1 右眼前眼部写真(最終照射後5か月目).
角膜中央部に角膜混濁がみられる.

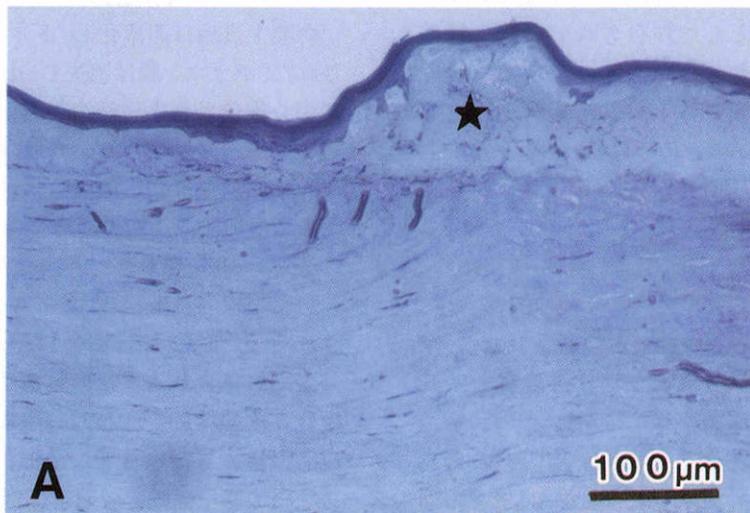


図2A 光学顕微鏡写真(非照射部).

角膜上皮層は菲薄化し、ボウマン膜は消失している。上皮下に変性した実質細胞に取り囲まれた無構造物質がみられる(★). 実質浅層の膠原線維の層構造は消失しているが、中層、深層の層構造は保たれている。トルイジンブルー染色

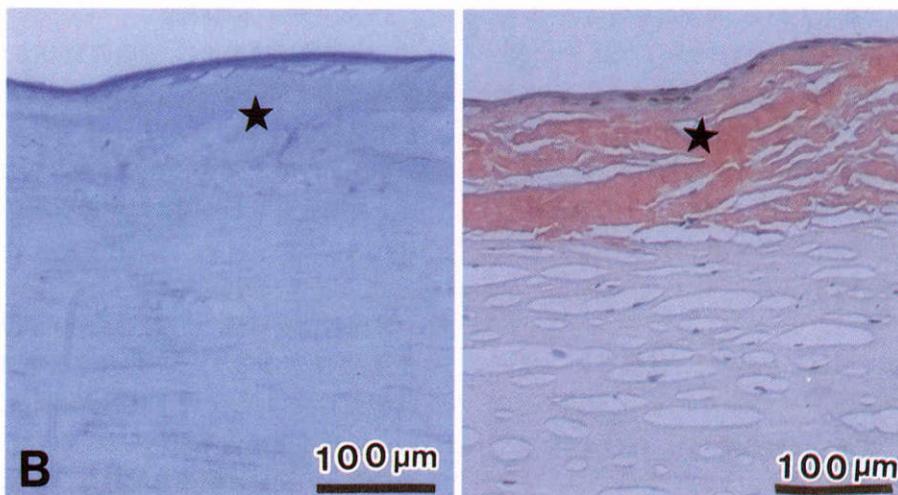


図2B 光学顕微鏡写真(照射部).

左：トルイジンブルー染色角膜上皮層は菲薄化し、ボウマン膜は消失している。上皮下に無構造物質がみられる(★). 右：アミロイド染色無構造物質はアミロイド染色陽性を示した(★).

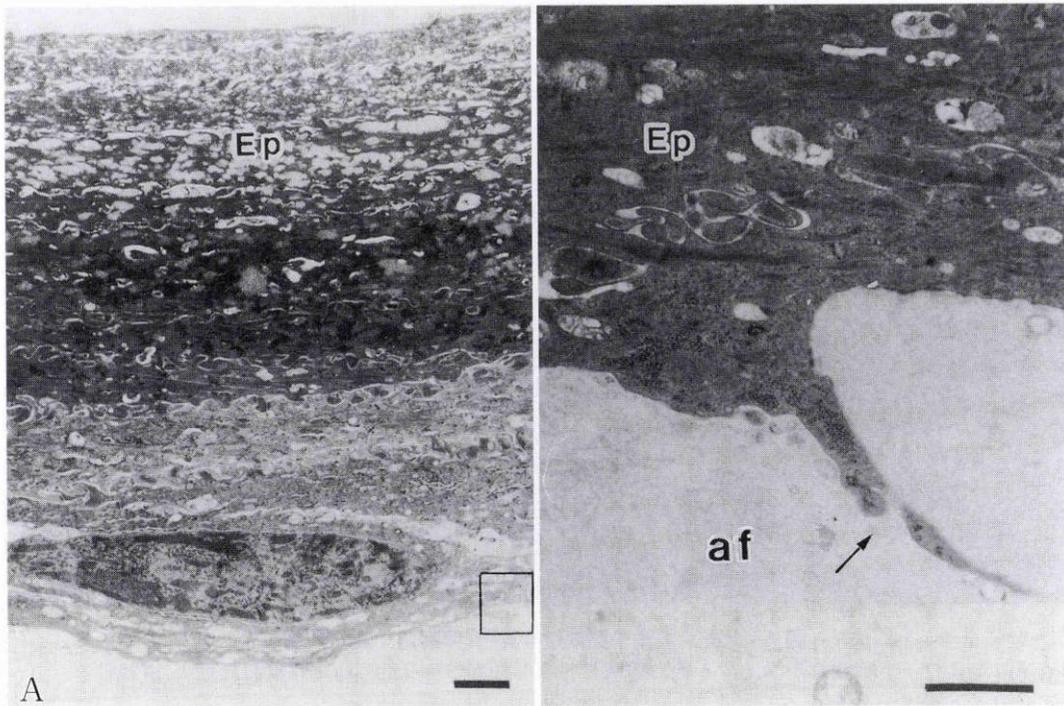


図 3A 透過型電子顕微鏡写真(非照射部：上皮, 上皮下).

角膜上皮層(Ep)は菲薄化し, 上皮細胞間隙は開大している. 細胞内小器官は変性している. 上皮下には直径約 8~10 nm のアミロイド細線維(af)がある. アミロイド細線維に接する上皮細胞の細胞膜は部分的に消失している(矢印). 写真右は拡大, バーは 1 μm

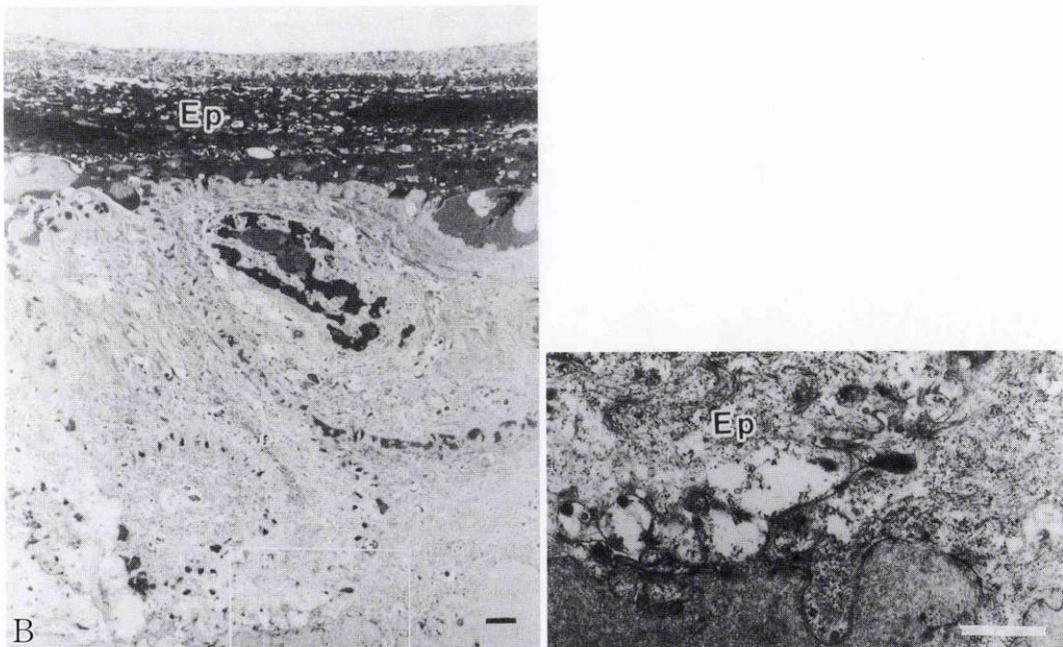


図 3B 透過型電子顕微鏡写真(照射部：上皮, 上皮下).

上皮細胞間隙は開大している. 細胞内小器官は変性している. 上皮下には直径約 8~10 nm のアミロイド細線維がある. アミロイド細線維に接する上皮細胞の細胞膜は部分的に消失している. 写真右は拡大, バーは 1 μm

実質細胞の変性所見がみられた. 直径約 8~10 nm のアミロイド細線維がフェルト状に錯綜している所見がみられた(図 4A).

b) レーザー照射部

非照射部と同様に, 実質浅層の膠原線維には層構造の乱れが生じており, 実質細胞の変性所見がみられた. 非照射部にみられたアミロイド線維と同質の直径約 8~10 nm のアミロイド線維と, それよりやや高電子染色性を

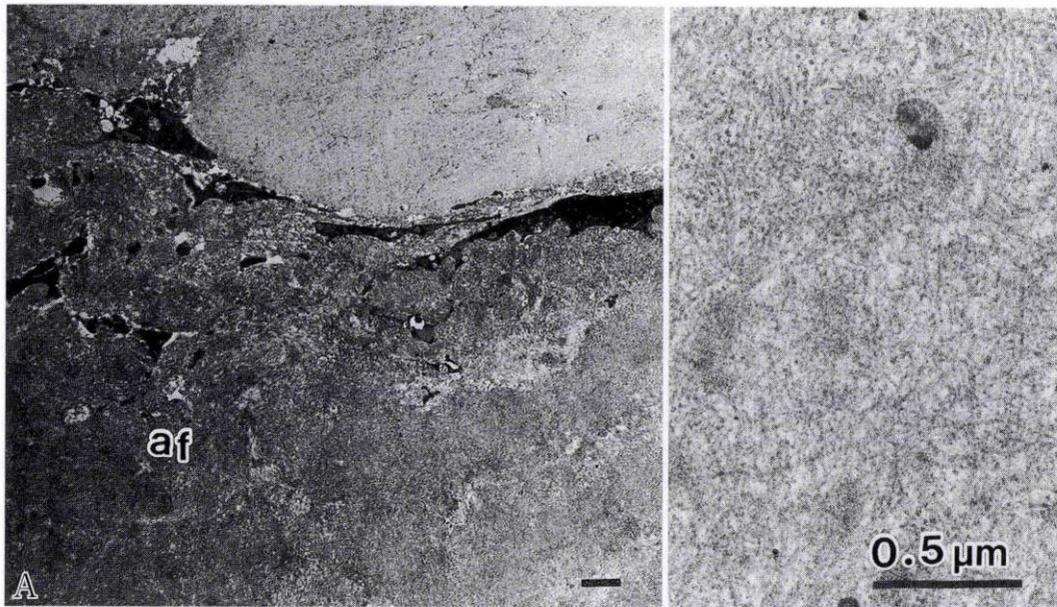


図4A 透過型電子顕微鏡写真(非照射部：実質浅層).

上皮下にアミロイド細線維がフェルト状に錯綜してみられる(バーは1 μ m). 写真右は拡大. 直径約8~10 nmのアミロイド線維がある.

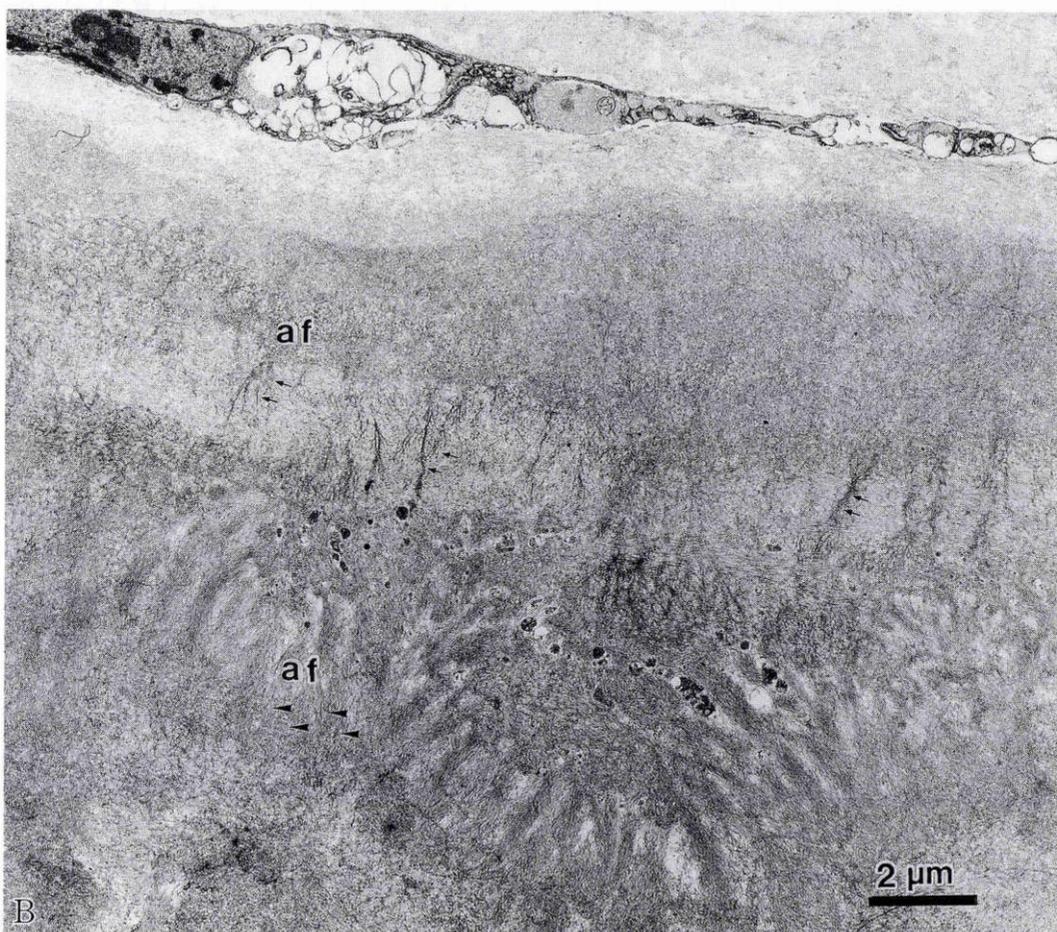


図4B 透過型電子顕微鏡写真(照射部：実質浅層).

非照射部とは異なり, 2種類の電子染色性のアミロイド細線維がみられる. 矢じりは照射部と同様の直径約8~10 nmのアミロイド線維, 矢印はそれよりやや高電子染色性を示す直径約11~13 nmのアミロイド線維である.

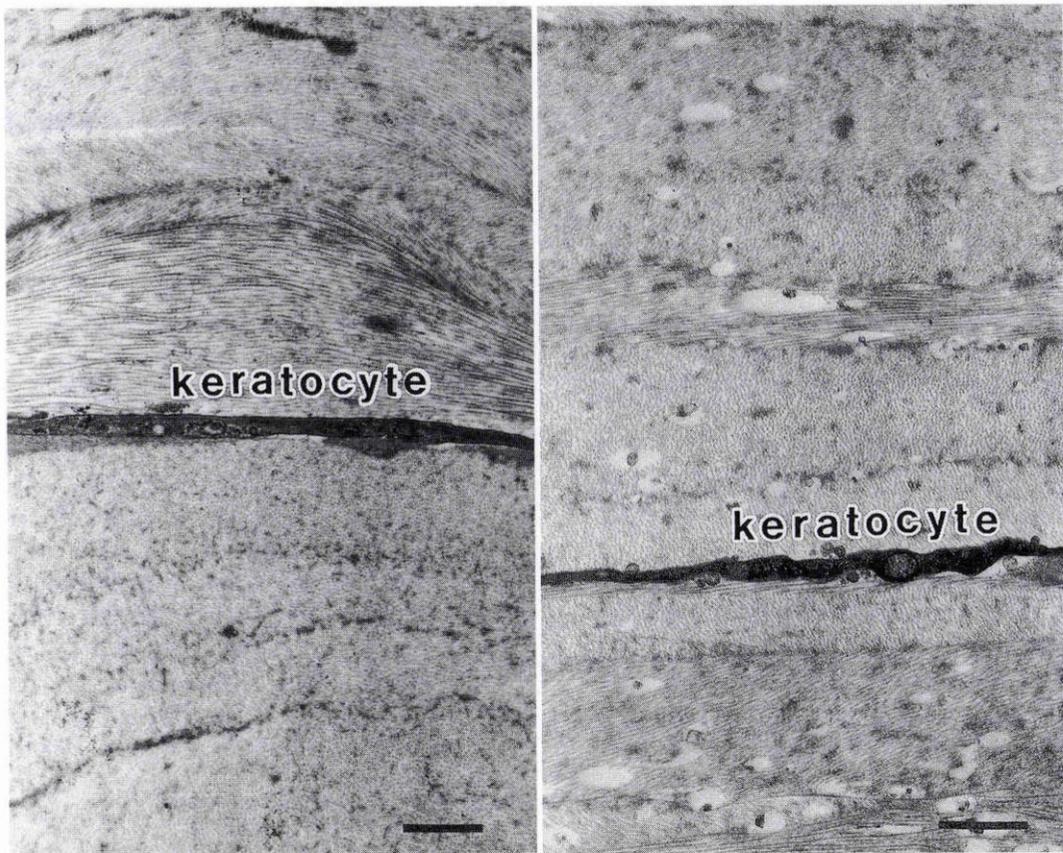


図 5 透過型電子顕微鏡写真(実質深層).

写真左は非照射部. 実質細胞は上下に僅かに突起を伸ばすものの, 正常に近い形態を保っている. 膠原線維の層構造は保たれている. 膠原線維間に, 電子密度の高い顆粒状の物質を含んだ空砲がみられる. バーは $1\mu\text{m}$
 写真右は照射部. 実質細胞は上下に僅かに突起を伸ばすものの, 正常に近い形態を保っている. 膠原線維の層構造は保たれている. バーは $1\mu\text{m}$

示す直径約 $11\sim 13\text{ nm}$ のアミロイド細線維がみられた (図 4B).

3) 実質の中層～深層

a) レーザー非照射部

実質中層, 深層の実質細胞はほぼ正常な形態を呈し, 膠原線維の層構造は保たれていた (図 5).

b) レーザー照射部

実質の中層, 深層の実質細胞はほぼ正常な形態を呈し, 膠原線維の層構造は保たれていた (図 5).

IV 考 按

PTK 照射後の膠様滴状角膜ジストロフィ症例を組織学的に検討したところ, 光学顕微鏡による観察では, レーザー非照射部, 照射部ともに上皮細胞の扁平化, 基底細胞の変性, 上皮基底膜, ボウマン膜の消失所見がみられ, 上皮にはコンゴレッド染色陽性の無構造物質があった. これらの所見は, 過去に報告されている, PTK を施行されていない膠様滴状角膜ジストロフィ症例の組織学的所見と同様の結果であったことから^{2)8)~12)}, エキシマレーザー照射に起因するものではなく, 疾患自体による変化と考えられた. しかし, 上皮下にあった無構造物質の

内部を透過型電子顕微鏡を用いて観察すると, 非照射部ではアミロイド細線維がフェルト状に錯綜していたのに対し, 照射部では電子染色性の異なる, 直径約 $8\sim 10\text{ nm}$, $11\sim 13\text{ nm}$ の 2 種類の細線維があった. これらは, 約 31 nm の直径をもつ角膜実質細胞とは明らかに異なったもので, その形状からアミロイド細線維と同定された. この 2 種類の細線維があった原因は不明であったが, その発症には手術侵襲, すなわち, 繰り返し施行した角膜切除の関与も考えられた. また, 複数回のエキシマレーザー照射により細線維変化が生じた可能性もあり, 本症でのレーザー照射部位, 回数などについての検討を行う必要があると考えられた.

角膜実質深層では, 今回の検討では非照射部, 照射部とも実質の層構造が保たれており, 実質細胞もほぼ正常に近い形態を保ち, 組織学的には照射部, 非照射部間の差異はなかった. 複数回のレーザー照射後にもかかわらず, 実質深層組織への影響がなかったことは, 本術式の角膜深層組織への安全性を推定する結果とも考えられる. しかし, 家兎眼に対するエキシマレーザー照射後, 一過性ではあるが, 角膜深層組織および角膜内皮に変化がみられることから¹³⁾¹⁴⁾, PTK 術後の膠様滴状角膜ジストロフィ症

例においても、内皮細胞への影響を生じる可能性はある。したがって、PTK においても角膜内皮への影響を十分考慮し、手術、経過観察を行うことが重要であると考えられた。

文 献

- 1) 中泉行徳：稀有なる角膜変状について. 日眼会誌 18: 949—950, 1914.
- 2) 松井正明, 伊藤健二, 秋谷 忍：膠様滴状角膜変性症の組織像について. 眼紀 23: 466—473, 1972.
- 3) 山口達夫：角膜変性症の術後再発. 眼紀 29: 208—217, 1978.
- 4) 佐久間敦之, 横山利幸, 加藤和男, 金井 淳：膠様滴状角膜変性症再発例に対し表層角膜移植術および角膜上皮移植術を施行した 4 例. 臨眼 45: 527—530, 1991.
- 5) 土至田宏, 上杉祐子, 中安清夫, 金井 淳：膠様滴状角膜ジストロフィに対する角膜移植術. 臨眼 49: 449—452, 1995.
- 6) 田村周子, 高橋圭三, 細谷比左志, 井上幸次, 切通彰, 木下 茂, 他：角膜変性症に対するエキシマレーザー表層角膜除術の治療効果. 臨眼 49: 287—291, 1995.
- 7) 高橋次郎, 伊東眞由美, 伏見典子, 崎元 卓, 澤充：エキシマレーザー治療的角膜切除術 (PTK) 術後の臨床成績について. 眼科 39: 1395—1405, 1997.
- 8) 法貴 隆, 越智伸行, 須田秩史, 大鳥利文, 清水芳樹：膠様滴状角膜変性症の amyloid fibril 発生に関する研究. 日眼会誌 80: 914—924, 1976.
- 9) 清水由規：膠様滴状角膜変性症の組織所見. 臨眼 14: 37—40, 1960.
- 10) 進藤晋一：8 年間経過を観察した膠様滴状角膜変性症の 1 例とその組織所見. 臨眼 23: 1167—1174, 1969.
- 11) Akiya S, Ito K, Matsui M: Gelatinous drop-like dystrophy of cornea. 臨眼 26: 815—826, 1972.
- 12) Griffith DG, Fine BS: Light and electron microscopic observations in a superficial corneal dystrophy. Am J Ophthalmol 63: 1659—1666, 1967.
- 13) 伊東眞由美, 高橋次郎, 伏見典子, 崎元 卓, 澤充：エキシマレーザー照射後の角膜内皮細胞の組織学的検討. 日眼会誌 101: 801—807, 1997.
- 14) Hanna KD, Pouliquen Y, Warning GO, Savoldelli M, Cotter J, Morten K, et al: Corneal stromal wound healing in rabbits after 193-nm excimer laser surface ablation. Arch Ophthalmol 107: 895—901, 1989.