

円錐角膜、水疱性角膜症の複屈折性と組織病理像との相関

田村 園子¹⁾, 沖坂 重邦¹⁾, 百瀬 皓²⁾, 畑田 豊彦³⁾

¹⁾防衛医科大学校眼科学教室, ²⁾臨床眼科研究所, ³⁾東京工芸大学工学部

要 約

目 的：円錐角膜、水疱性角膜症の全層角膜移植母角膜標本を偏光フィルタを通して撮影し、角膜の偏光特性の変化を組織病理像と比較検討した。

方 法：1989 年から 1999 年までの 11 年間に、防衛医科大学校眼病理解究室で検索された全層角膜移植後母角膜 534 例中、円錐角膜 16 例、水疱性角膜症 189 例を検討した。偏光フィルタを通して撮影した角膜標本に出現する十字の模様をパターン分類し、ヘマトキシリン・エオジン染色角膜標本の実質の厚み、線維芽細胞様細胞

数を計測し、比較検討した。

結果と結論：角膜標本に偏光フィルタを通過して出現する十字模様パターンは、実質の線維芽細胞様細胞数と角膜実質の厚みと相関したが、角膜上皮、内皮の状態には関係していなかった。(日眼会誌 106：23-27, 2002)

キーワード：円錐角膜、水疱性角膜症、偏光フィルタ、双曲線状パターン、組織病理学

Correlation between Birefringence and Histopathologic Figures of Keratoconus and Bullous Keratopathy

Sonoko Tamura¹⁾, Shigekuni Okisaka¹⁾, Akira Momose²⁾ and Toyohiko Hatada³⁾

¹⁾Department of Ophthalmology, National Defense Medical College

²⁾Institute of Clinical Ophthalmology

³⁾Faculty of Engineering, Tokyo Institute of Polytechnics

Abstract

Purpose : We studied macroscopic pictures with polarizing filter and microscopic pictures of the corneas in keratoconus and bullous keratopathy.

Method : Among penetrating keratoplasty specimens referred to the National Defense Medical College, we investigated 16 keratoconus and 189 bullous keratopathy specimens. Macrophotographs with polarizing filter and light microscopic photographs (hematoxyline-eosin staining) were investigated. The hyperbolic polarizing pattern, stromal thickness of corneal specimens and number of fibroblast-like

cells in the stroma were analyzed.

Result : Hyperbolic polarizing patterns depended on the number of fibroblast-like cells in the stroma and the thickness of the stroma, but hyperbolic polarizing patterns had no relation with the epithelium or endothelium of the cornea. (J Jpn Ophthalmol Soc 106 : 23-27, 2002)

Key words : Keratoconus, Bullous keratopathy, Polarizing filter, Hyperbolic polarizing pattern, Histopathology

I 緒 言

偏光装置を用いると角膜実質をはじめ結合組織線維を主体とする眼組織の生体観察が可能となり、組織の内部構造を知る手がかりが得られる¹⁾。1つの投射光に対して2つの屈折光が得られる複屈折は、カラーゲン分子の固有複屈折と細線維の配列による形態複屈折の総和である²⁾。透明な角膜中心部には複屈折性による異方向性

で生じた双曲線状パターンが観察され、屈折力、厚み、応力などの変化が双曲線状パターンに影響を及ぼす³⁾。この複屈折性を利用した前眼部偏光計測法において、キン⁴⁾は屈折力が増加したり、角膜の厚みが増すと、双曲線間の距離が狭くなることを報告している。エキシマレーザーによる屈折矯正手術後の角膜偏光パターンを観察し、中心部切除により角膜全面の応力状態が変化し、周辺部分でも形状変化がみられ、乱視成分に大きく影響し

別刷請求先：359-8513 所沢市並木 3-2 防衛医科大学校眼科学教室 沖坂 重邦
(平成 13 年 4 月 9 日受付, 平成 13 年 6 月 13 日改訂受理)

Reprint requests to : Shigekuni Okisaka, M. D. Department of Ophthalmology, National Defense Medical College,
3-2 Namiki, Tokorozawa 359-8513, Japan

(Received April 9, 2001 and accepted in revised form June 13, 2001)

ていることが推論された⁵⁾。

角膜の偏光計測は生理的な状態にある透明角膜に対して応用されたものであるが、この角膜偏光計測が固定された角膜にも同じように応用可能であるかを検討した報告はない。そこで、予備実験として固定された正常角膜にも双曲線状パターンが存在することを明らかにした後、角膜の厚さの変化する円錐角膜および水疱性角膜症と組織病理診断された全層角膜移植母角膜を用いて、偏光パターンと組織病理像との関連性について検討を試みた。

II 実験方法

予備実験として角膜の透明な剖検眼 3 眼を 1.0% グルタルアルデヒド、2.5% ホルマリン(pH 7.2, 0.15 mol リン酸緩衝液)で固定後、強角膜片を切り出した。また 1989~1999 年までの 11 年間に、防衛医科大学校眼病理研究室で検索した全層角膜移植母角膜 534 例中、組織病理学的に円錐角膜と診断された 16 例、水疱性角膜症と診断された 189 例を対象とした。母角膜片も 1.0% グルタルアルデヒド、2.5% ホルマリン(pH 7.2, 0.15 mol リン酸緩衝液)で固定された。7 mm 電動トレパンで角膜の形状に損傷を起こさないように摘出され、固定中にも変形を起こしていない母角膜のみを用い、WILD Photomakroscopie M 400 に偏光子と検光子を挿入し、FUJICHROME Provia 1600 フィルムで撮影した。強角膜片および母角膜片を偏光実体顕微鏡を用いて撮影後、実体顕微鏡下で角膜の中央を通る垂直な面で半切し、パラフィン包埋標本作製し、実質に対して垂直な面で 5 μ m の厚さの切片を薄切し、ヘマトキシリン・エオジン(HE)染色を施し光学顕微鏡で観察した。HE 染色した角膜標本を 40 倍の対物レンズで切片の中央部を選んで写真撮影し、5.0 倍に拡大した写真から実質の厚み、線維芽細胞様細胞数を計測し、偏光パターンと比較検討した。角膜実質の厚さの中央から上皮側を実質表層、内皮側を実質深層として、線維芽細胞様細胞数を計測した。

III 結果

予備実験としての透明な角膜は、双曲線の間隔の狭い十字状パターン(1型)を示した(図1)。これに反し、円錐角膜および水疱性角膜症の母角膜では双曲線状パターンは、双曲線の間隔の狭い十字状パターン(1型)、双曲線の間隔の広い菱形パターン(2型)、前二者に分類されないもの(3型)に分類された(図2)。円錐角膜および水疱性角膜症の各タイプの割合を示すと、円錐角膜では1型5例(31%)、2型8例(50%)、3型3例(19%)であった。水疱性角膜症では1型20例(11%)、2型154例(81%)、3型15例(8%)であった。双曲線状パターンとして1、2、3型の出現頻度は円錐角膜では3:5:2であり、水疱性角膜症ではほぼ1:8:1であった(図3)。

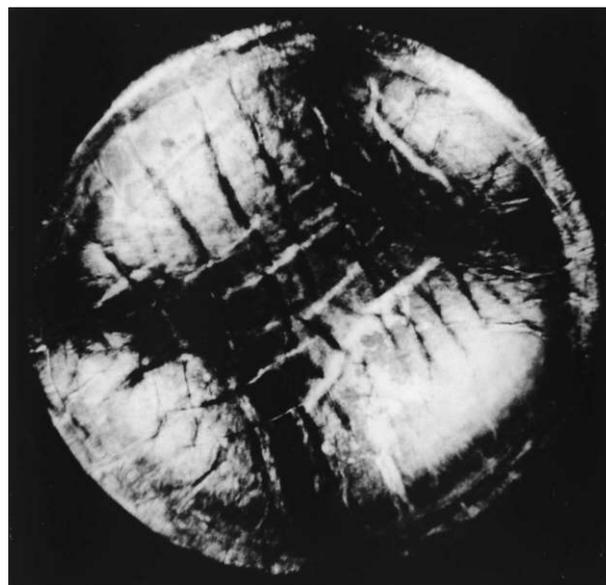


図1 剖検眼角膜の偏光実体顕微鏡写真の双曲線状パターン(1型)。

円錐角膜での双曲線状パターンは実質の菲薄化に伴い、1型から2型に移行していた。Descemet膜破裂が起こると、1型ないし2型から3型に移行し、修復が良好であれば2型に戻っていた(図4)。水疱性角膜症では角膜実質の厚みが増すと、双曲線状パターンは1型が減少し、2型ないし3型が多くみられた(図5)。

円錐角膜の実質中の線維芽細胞様細胞数の中間値が150~300個/0.25 mm²であったので、それ以上とそれ以下の3群に分けて、双曲線状パターンと比較したのが図6、7である。これらの図から円錐角膜、水疱性角膜症ともに双曲線状パターンと表層実質の線維芽細胞様細胞の数とは相関していなかった(図7、8)。水疱性角膜症において双極線状パターン3型になるものはすべて表層と深層における線維芽細胞様細胞数には差がなかった(図9)。水疱性角膜症において、厚みと線維芽細胞様細胞数とは相関はなかった(図10)。

IV 考 按

前眼部偏光計測法により、双曲線状パターンの形状、距離の変化から角膜の形状、応力状態の計測が可能である⁶⁾。今回、我々は角膜偏光パターンを3タイプに分類して比較検討し、円錐角膜では、急性水症を起こす前までの時期には厚みが薄く、1型が多くみられた(図5)。Descemet膜破裂を起こすと角膜内の水分量が増し、それとともに線維芽細胞様細胞数が増加して3型へと移行していた(図5、7)。Descemet膜破裂が治癒してくると厚みが薄くなり、2型、1型へと移行し(図5)、線維芽細胞様細胞数の出現率は多くなり、1型での線維芽細胞様細胞数の多い症例はDescemet膜破裂後であった。

角膜の干渉像は二軸性であり、実質薄葉が完全にラン

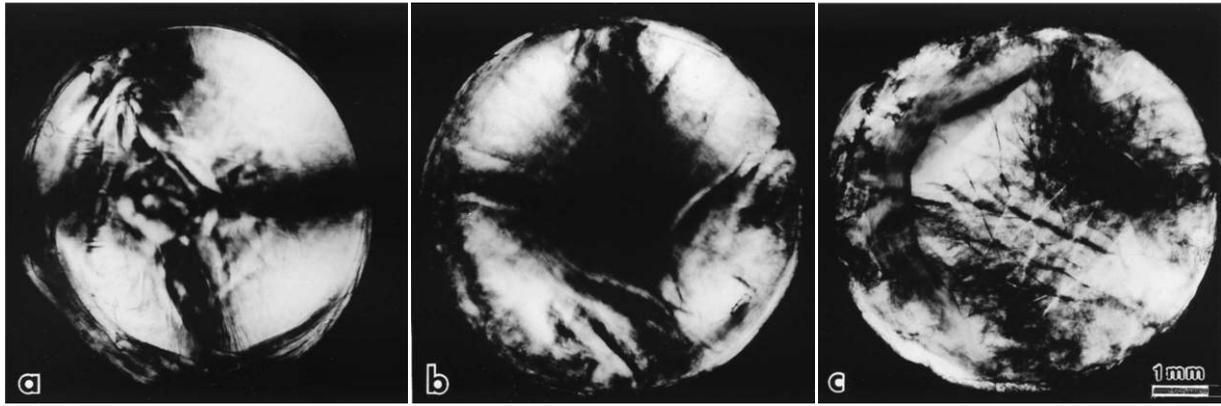


図 2 母角膜片の偏光実体顕微鏡写真の双曲線状パターン。
a : 1 型, b : 2 型, c : 3 型

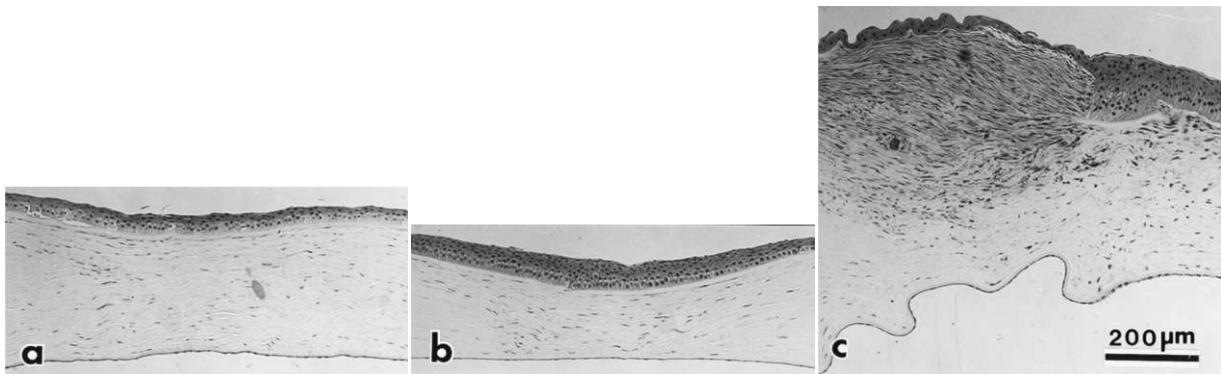


図 3 円錐角膜の偏光実体顕微鏡写真の双曲線状パターンと組織病理像。
a : 1 型 角膜の厚さ 300 μm , 線維芽細胞様細胞数 254 個/ 0.25 mm^2
b : 2 型 角膜の厚さ 200 μm , 線維芽細胞様細胞数 278 個/ 0.25 mm^2
c : 3 型 角膜の厚さ 700 μm , 線維芽細胞様細胞数 831 個/ 0.25 mm^2

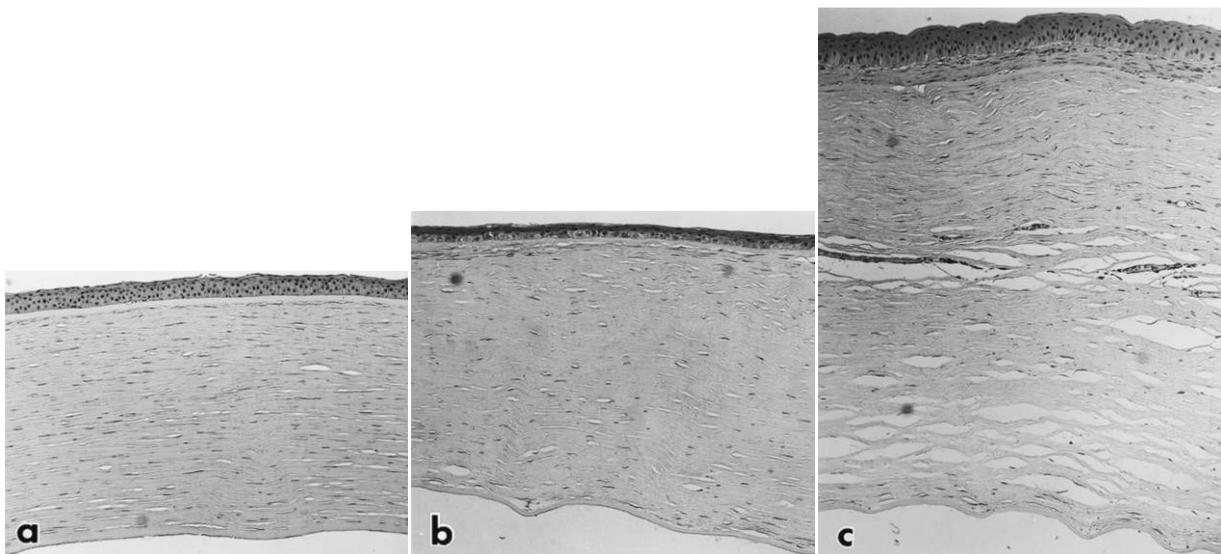


図 4 水疱性角膜症の偏光実体顕微鏡の双曲線状パターンと組織病理像。
a : 1 型 角膜の厚さ 500 μm , 線維芽細胞様細胞数 210 個/ 0.25 mm^2
b : 2 型 角膜の厚さ 650 μm , 線維芽細胞様細胞数 152 個/ 0.25 mm^2
c : 3 型 角膜の厚さ 1100 μm , 線維芽細胞様細胞数 257 個/ 0.25 mm^2

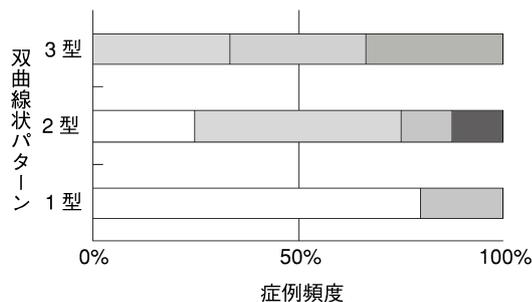


図 5 円錐角膜における双曲線状パターンと角膜実質の厚みの比較。

□ : ≤300 μ m ■ : ≤400 μ m ■ : ≤500 μ m ■ : ≤600 μ m
 ■ : ≤700 μ m ■ : ≤800 μ m ■ : ≤900 μ m ■ : ≤1000 μ m

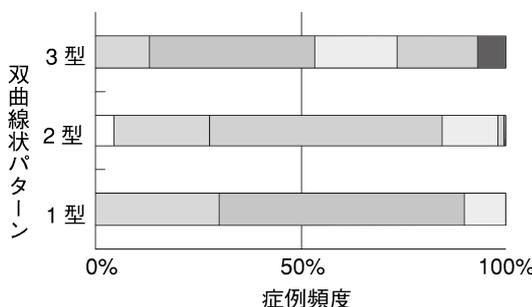


図 6 水疱性角膜症における双曲線状パターンと角膜実質の厚みの比較。

□ : ≤300 μ m ■ : ≤400 μ m ■ : ≤500 μ m ■ : ≤600 μ m
 ■ : ≤700 μ m ■ : ≤800 μ m ■ : ≤900 μ m ■ : ≤1000 μ m

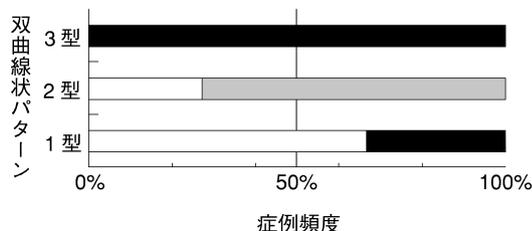


図 7 円錐角膜における双曲線状パターンと実質表層の線維芽細胞様細胞出現率の比較。

□ : ≤150 個/0.25 mm² ■ : ≤300 個/0.25 mm²
 ■ : ≥300 個/0.25 mm²

ダム配列しているのではなく、ある方向へ配列する傾向があるためと考えられている。また、角膜の複屈折は表層で大きく、深層で小さいことが見出されている。そこで、実質の表層と深層の線維芽細胞様細胞数と角膜複屈折性につき検討した。水疱性角膜症において線維芽細胞様細胞数を表層と深層に分けて比較すると、1型は主に表層の細胞数が深層より多く、3型はすべて表層と深層の細胞数が同等であった(図9)。実質薄葉のランダム配列は線維芽細胞様細胞がコラーゲン細線維束の方向性を規定しているからであると考えられ、線維芽細胞様細胞

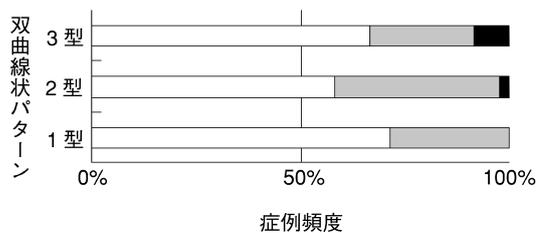


図 8 水疱性角膜症における双曲線状パターンと実質表層の線維芽細胞様細胞出現率の比較。

□ : ≤150 個/0.25 mm² ■ : ≤300 個/0.25 mm²
 ■ : ≥300 個/0.25 mm²

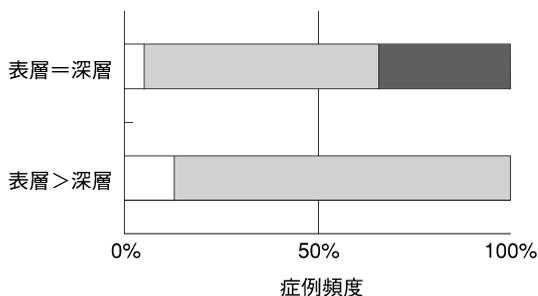


図 9 水疱性角膜症における実質表層と深層の線維芽細胞様細胞数(表層の細胞数が深層より多い症例、表層と深層の細胞数が同等な症例)と双曲線状パターンの比較。

□ : 1 型 ■ : 2 型 ■ : 3 型

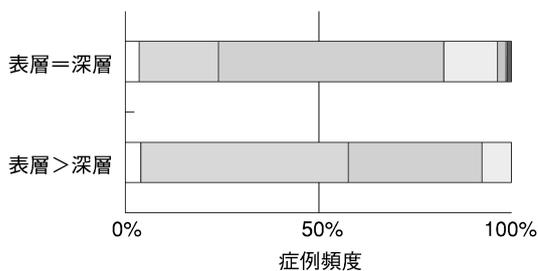


図 10 水疱性角膜症における実質表層と深層の線維芽細胞様細胞数(表層の細胞数が深層より多い症例、表層と深層の細胞数が同等な症例)と実質の厚さの比較。

□ : ≤300 μ m ■ : ≤400 μ m ■ : ≤500 μ m ■ : ≤600 μ m
 ■ : ≤700 μ m ■ : ≤800 μ m ■ : ≤900 μ m ■ : ≤1000 μ m

が減少すると薄葉のランダム配列も乱れ、双曲線状パターンが1型から2, 3型へ移行することを示している。角膜内皮細胞のポンプ作用が傷害された水疱性角膜症における線維芽細胞様細胞密度はまず実質深層において減少し、次第に表層の細胞数も減少して行くという Liuら⁷⁾の報告にもあるように、水疱性角膜症において線維芽細胞様細胞数を角膜実質の表層と深層で比較すると、深層の方が表層よりも線維芽細胞様細胞数が少ないものが多くみられ、1型はほとんどがここに含まれていた。

水疱性角膜症が進行すると双曲線状パターンは 3 型に移行するため、線維芽細胞様細胞数が表層と深層で同数であれば 3 型に分類されると考えられる。

前眼部偏光計測法を臨床に応用する場合には、眼球外から入射した光が角膜内を往復して眼球外に出てきたところを計測する。したがって、角膜実質の厚さ、線維芽細胞様細胞数の他にも多数の要素も関与してくるであろうから、上皮、実質、内皮を通過する際の偏光の位層ずれを細かく測定する必要があると生じてくるものとする。今回 3 型に分類されたパターンに関しても今後さらに検討し、厚さ、線維芽細胞様細胞数の情報に加えて新しい情報が得られるように研究を発展させれば臨床検査としても有用になってくるものと思われる。

文 献

- 1) 三島 濟一：偏光を応用した眼の生体顕微鏡検査の理論。その 5. 鋭敏色板の応用，眼臨 53：480—482, 1959.
- 2) 吉川 義三：角膜の光学的特性，眼紀 19：1212—1223, 1968.
- 3) キン・マウン・トウエ，大頭 仁：角膜の複屈折性を利用した眼球応力状態の観測。視覚の科学 15：79—84, 1994.
- 4) キン マウン トウエ：生体角膜の複屈折効果 厚み・応力時に伴う複屈折率差変化。光学 26：211—217, 1997.
- 5) キン マウン トウエ，吉田裕司，中安清夫，石川 隆，金井 淳，石川和夫，他：角膜手術の光学的形状解析 エキシマレーザーによる角膜への影響。眼紀 47：57—64, 1996.
- 6) Ichihashi Y, Khin M：Birefringence effect of the *in vivo* cornea. Optical Engineering 34：693—700, 1994.
- 7) Liu G, Okisaka S, Mizukawa A, Momose A：Histopathological study of pseudophakic bullous keratopathy developing after anterior chamber or iris-supported intraocular lens implantation. Jpn J Ophthalmol 37：414—425, 1993.