

人工水晶体細胞反応に関する実験的研究

(1) トリプシンを用いた透過型電顕による観察 (図6)

金川 龍一・近江 俊作 (和歌山県立医科大学眼科学教室)
榎本 善収・山下 隆之

Experimental Study of the Cellular Response on the Intraocular Lens Surface

(1) Transmission Electron Microscopic Observation
after Trypsin Treatment

Ryuichi Kanagawa, Shunsaku Ohmi, Yoshikazu Enomoto
and Takayuki Yamashita

Department of Ophthalmology Wakayama Medical College

要 約

人工水晶体 (IOL) の細胞反応を研究する目的で、家兎を用い IOL 移植実験を行った。IOL 表面に付着した細胞をトリプシンで処理し、透過型電子顕微鏡による観察を行った。その結果、内部構造の違いにより組織球、リンパ球、巨細胞の3種類の細胞が区別された。(日眼 91: 1099—1102, 1987)

キーワード：人工水晶体，細胞反応，トリプシン，透過型電子顕微鏡

Abstract

An electron microscopic study was performed to observe cell components on the surface of the implanted intraocular lens (IOL). The IOLs were removed after implantation in the rabbit eye and the cells on the IOL were collected with trypsin solution, and were examined by transmission electron microscopy. Three types of cells were distinguished on the IOL, i.e. macrophages, lymphocytes and giant cells. (*Acta Soc Ophthalmol Jpn* 91: 1099—1102, 1987)

Key words: Intraocular lens, Cellular response, Trypsin, Transmission electron microscopy

I 緒 言

移植された人工水晶体 (IOL) 表面に起こる細胞反応について形態学的な報告は数多い。しかしながら細胞の超微細構造に関する報告はほとんどみられない。我々は蛋白分解酵素であるトリプシンを用いて IOL 表面に付着した細胞を遊離させた後、細胞を集め試料を作製し、透過型電子顕微鏡により観察することができたので報告する。

II 実験方法

1. 実験動物

実験動物として体重約2.5kgの成熟白色家兎(2羽, 4眼)を用いた。

2. 実験方法

家兎にネンブータルで全身麻酔を行いミドリンP点眼で散瞳後、水晶体嚢外摘出術を行った。線維素析出を予防するため手術直前にヘパリン1,000単位/kg

別刷請求先：〒640 和歌山市七番丁1 和歌山医大眼科 金川 龍一

Reprint requests to: Ryuichi Kanagawa, M.D. Dept. of Ophthalmol., Wakayama Medical College
7 Bancho 1, Wakayama 640, Japan

(昭和62年6月16日受付) (Accepted June 16, 1987)

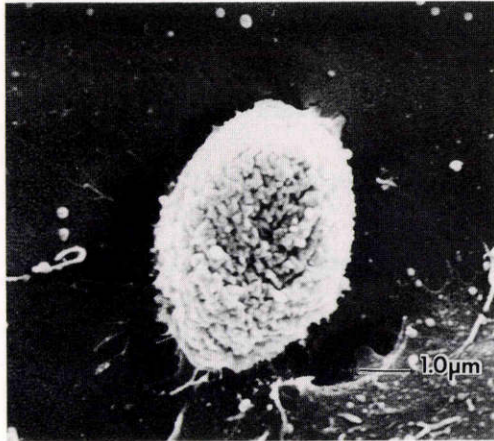


図1 組織球の走査電顕像：表面は偽足状突起によりおおわれている。

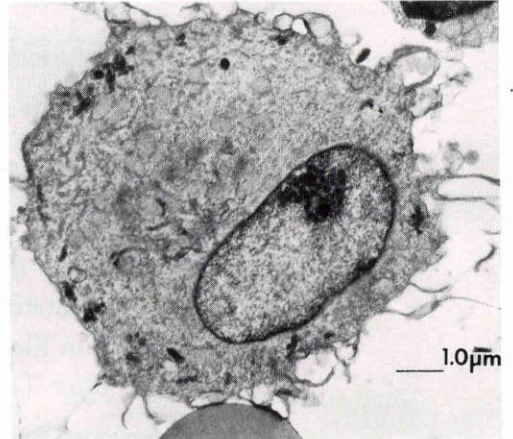


図2 組織球の透過電顕像：細胞質内にライソゾームが豊富に認められる。

を耳静脈より投与した。水晶体摘出後市販の Polymethylmethacrylate (PMMA) IOL を後房に挿入した。術翌日、手術用顕微鏡にて観察すると角膜には中等度の浮腫が認められた。しかしながら術後7日目の観察では角膜はほぼ透明化しており前房内にも著変はみられなかった。移植後7日目に IOL を摘出した。摘出 IOL は 0.1% トリプシン・0.05M リン酸緩衝液 (pH 7.4) に浸漬し細胞を遊離させた。その後培養液 (RPMI・1640) にて洗浄、遠心沈殿 (4,000rpm, 10分) して細胞を集めた。得られた沈渣は 1% オスミウム酸・リン酸緩衝液で 1 時間固定を行い Durcupan 系列で脱水の後に樹脂包埋した¹⁾。つづいて超薄切片を作製し、ウラニウムと酢酸鉛の二重染色を施し、透過型電子顕微鏡 (JEM100SX) で観察した。また摘出 IOL の一部は 2% グルタルアルデヒドによる固定後、エタノール系列にて脱水、臨界点乾燥、金蒸着の後、走査型電子顕微鏡 (JSM T220) で観察した。

III 結 果

摘出した IOL は肉眼的には透明で何ら変化は認められなかった。走査電顕による表面の観察では、IOL は被膜に包まれており所々に細胞の付着が認められた。一羽の家兎で一眼は走査電顕用、他眼は透過電顕用に 2 個の標本を作成したが、走査電顕の観察結果では細胞数、細胞の種類などで個体間に大きな差異はないように思われた。遠心沈殿して得られた沈渣を透過電顕により観察した。それらの細胞の内部構造の違いにより、少なくとも 3 種類の細胞が区別できた。すな

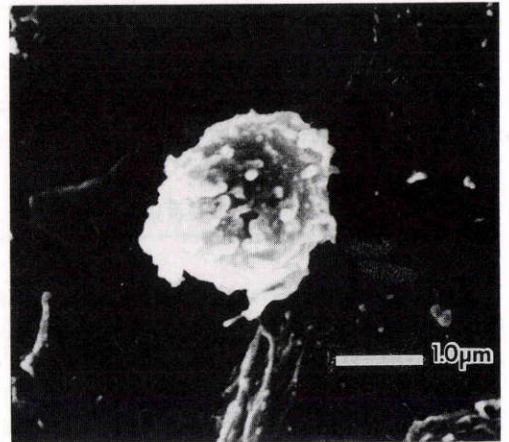


図3 リンパ球の走査電顕像：表面は微絨毛状突起でおおわれている。

わち組織球、リンパ球、巨細胞であった。

(1) 組織球

走査および透過電顕下で最も多くみられる細胞であって、円形あるいは楕円形を呈し、細胞の径は約 10 μm 程度である。表面は葉状突起によりおおわれている(図1)。核はややクロマチンに乏しく形は楕円形である。ライソゾームが豊富に認められ、ミトコンドリアや粗面小胞体も観察される(図2)。

(2) リンパ球

直径約 5 μm の球形細胞で表面は微絨毛状突起によりおおわれている(図3)。透過電顕による観察では核は不規則な形態を示し、核膜の陥凹がみられる。核内にはクロマチンが多い。細胞には少数のミトコンドリ

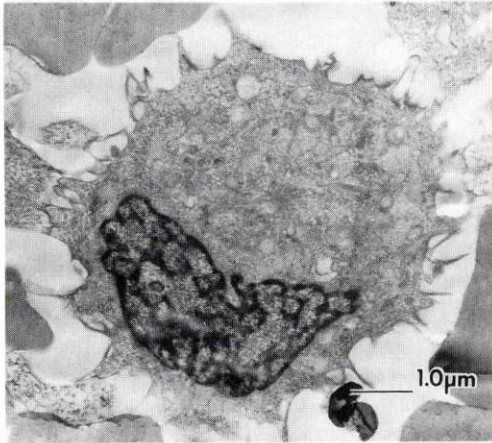


図4 リンパ球の透過電顕像：核は不規則な形態を示し、クロマチンが多い。

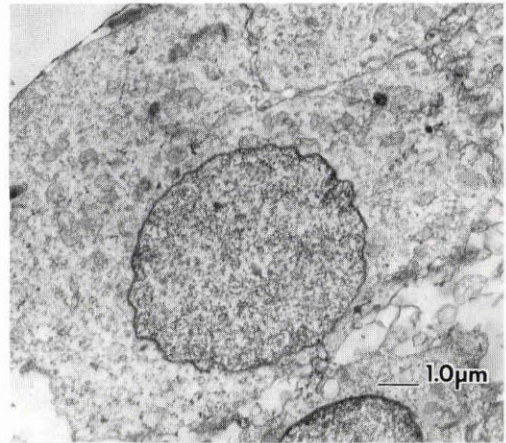


図6 巨細胞の透過電顕像：細胞質にはミトコンドリアと vesicle が認められる。

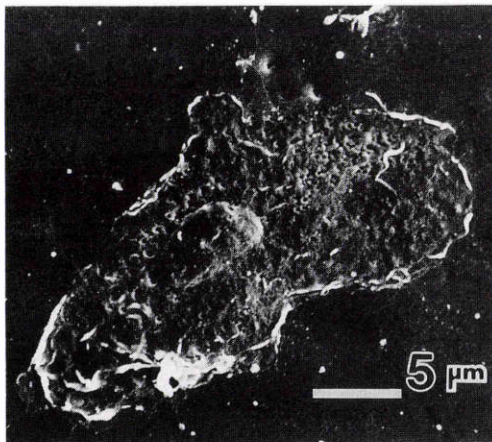


図5 巨細胞の走査電顕像：扁平で不規則な形をした細胞である。

アヤリボゾームが認められた(図4)。

(3) 巨細胞

IOL表面に広がっている、扁平で不規則な形をした細胞でまれに認められた。表面は平滑であって、長さは数十ミクロンに達する巨大な細胞である(図5)。透過電顕によって核膜はやや不規則な凹凸がみられクロマチンもほぼ平均的に分散しているのが認められた。細胞質にはミトコンドリアと多数の小さな vesicle が豊富に認められるのが特徴である(図6)。

IV 考 按

移植した IOL 表面に生じる細胞反応を観察するためにはいくつかの方法がある。代表的なのは、Wolter²⁾

により始められた方法である。これは摘出した IOL をそのままヘマトキシリン・エオジン染色して光顕的に観察する方法である。またスペキュラーマイクروسコープを用いた生体眼における観察³⁾も可能であり、これも光顕的方法といえよう。しかしながら光顕的方法は解像力に限界があるため、細胞の内部構造観察には不十分な場合がある。そのため我々は走査および透過電顕による観察を試みた。

摘出した IOL を電顕的に観察した報告は散見される。Sievers ら⁴⁾は Binkhorst four loop lens 上に附着した細胞を走査電顕下で観察した後、同一標本を Epon812 に包埋し、光顕的に観察に成功している。しかしながら IOL 上の細胞の超微細構造を透過電顕で観察したという報告はみられない。

我々は組織培養で用いられるトリプシン処理方法⁵⁾を IOL 表面の細胞観察に応用した。トリプシンはその酵素作用により細胞間質を消化除去し、細胞の浮遊液を作る目的で用いられる。通常0.25%の濃度が用いられるが、我々はさらに低濃度の0.1%の濃度を使用し細胞に与える障害を少なくした。また脱水過程においては Durcupan による脱水⁶⁾を行い、細胞数の減少の防止と、アルコールによる細胞内成分の流出の防止をかけた。以上の工夫により超微細構造の観察において十分満足のいく結果が得られ、今後 IOL の細胞反応の研究に有用な手段になると思われる。

透過電顕により3種類の細胞、すなわち組織球、リンパ球および巨細胞が同定されたが、その中でも組織球が最も多くみられた。走査電顕および光顕では、や

や大型で突起を伸ばした紡錘形の線維芽細胞様細胞が数多くみられる⁶⁾。しかしながら今回の透過電顕による観察では、線維芽細胞様細胞もしくは線維芽細胞は認められなかった。その大きさの細胞はすべて組織球であり、このことは線維芽細胞様細胞は組織球の変化したものであるという Wolter の仮説⁷⁾を支持するものである。また巨細胞は組織球より生じると考えられており⁸⁾、今回の実験結果から、我々は組織球が IOL 細胞反応の主役をなすとの結論を得た。

稿を終えるにあたり御校閲をいただきました上野山謙四郎教授に深謝いたします。

本論文の要旨は第91回日本眼科学会総会で発表した。

文 献

- 1) **Kushida H**: Improved methods for embedding with Durcupan. *J Electron Microscopy* 13: 139-144, 1964.
- 2) **Wolter JR**: Lens implant cytology. *Ophthalmic Surg* 13: 939-942, 1982.
- 3) **Ohara K**: Biomicroscopy of surface deposits resembling foreign-body giant cells on implanted intraocular lenses. *Am J Ophthalmol* 99: 304-311, 1985.
- 4) **Sievers H, Domarus D**: Foreign body reaction against intraocular lenses. *Am J Ophthalmol* 97: 743-751, 1984.
- 5) **木村 廉, 堀田 進, 大山昭夫**: 組織培養. 基本と実際. 大阪, 永井書店, 50-61, 1976.
- 6) **上野山謙四郎**: 眼内レンズと細胞反応(1). IOL 上細胞の染色法と観察. *IOL* 1: 38-41, 1987.
- 7) **Wolter JR**: Cytopathology of intraocular lens implantation. *Ophthalmol* 92: 135-142, 1985.
- 8) **Wolter JR**: Foreign body reaction to firm nuclear lens substance. *Ophthalmic Surg* 14: 135-138, 1983.

(第91回日眼総会原著)