

ラットセレン白内障の研究 (図27)

伊藤久太郎 (鳥取大学医学部眼科学教室)

Study of Selenite-induced Cataract in Rats

Kyutaro Ito

Department of Ophthalmology, Tottori University School of Medicine

要 約

実験的にラットセレン白内障を作成して、細隙灯、光顕および走査電顕にて経時的に観察し、次の結果を得た。1. 細隙灯による検査では、混濁は後嚢下、層間部、核部の順に出現した。後嚢下混濁は約3週間後には全例消失したが、層間部、核部の混濁は増強した。2. 光顕的には、後嚢下には空胞がみられ、層間部には核部を囲んで同心円状に皮質線維の変性、融解像が認められた。核部では、線維は徐々に崩壊し、無構造となった。3. 走査電顕的には以下の通りであった。1) 後嚢下空胞は赤道部後嚢下皮質浅層から後極部にかけて経時的に増大し、後縫合線を中心に蜂巣状構造を示したが、徐々に吸収された。2) 層間部では、水晶体線維は明瞭な境界を有して輪状に崩壊しており、この崩壊部では泥状組織内に大小無数の球状顆粒が認められた。3) 核部では、セレン投与1週間までは線維構造は比較的保たれていたが、その後は、水晶体線維は膨化を生じ、融合を伴うようになり、次第に構造が破壊され、表面の桑実状構造も消失した。投与12週間では、線維構造は泥状無構造となった。(日眼 91:220-229, 1987)

キーワード：ラット、水晶体、セレン、核白内障、走査電顕

Abstract

Slit lamp evaluations, light microscopic studies and scanning electron microscopic studies on selenite-induced cataract in rats were made and the following results were obtained: 1. Development of selenite-induced cataract appeared characteristically in each section of posterior subcapsule, cortex and nucleus. There is three stages of cataract which is posterior subcapsular cataract, zonular cataract and nuclear cataract. The posterior subcapsular lens opacity disappeared completely with approximately three weeks after injection selenite (1.6mg/kg b.w.). The other two types of cataract were gradually increased. 2. Light microscopically, the vacuoles were observed in the posterior subcapsular region initially. Then, in the region of the deep cortex, the lens fibers degenerated and fused into a concentric circle around the nucleus. In the region of the nucleus, the structure of the lens fibers was severely destroyed and formed a uniform mass. 3. Observation by scanning electron microscopy showed: 1) The vacuoles appeared at the lens bow in early stage and gradually spread throughout the posterior subcapsular region. Then, the vacuoles formed honeycomb patterns along the posterior Y suture. However the vacuoles gradually disappeared. 2) In the region of the deep cortex, the membrane and processes of the lens fibers were markedly destroyed. These structures of the lens fibers changed into a muddy mass where the globular granules were observed in the interfibrous spaces. 3) In the region of the nucleus, the structures of the lens fibers kept relatively well for a week after injection selenite. After that, the lens fibers got swollen and fused each other. Then, the structures of the lens fibers were gradually destroyed and the small globular surface structures of

別刷請求先：〒683 米子市西町86 鳥取大学医学部眼科学教室 伊藤久太郎

Reprint requests to: Kyutaro Ito, M.D. Dept. of Ophthalmol., Tottori Univ. School of Med.

86 Nishi-machi, Yonago 683, Japan

(昭和61年9月18日受付) (Accepted September 18, 1986.)

the fiber cells almost disappeared. At last the structures of the lens fibers changed into a muddy mass. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 91: 220—229, 1987)

Key words : rat, lens, selenite, nuclear cataract, scanning electron microscopy

I 緒 言

1977年, Ostadalova¹⁾は, 幼若ラットにセレンを皮下投与し, 白内障が生じることを初めて報告した. この白内障に関して従来より臨床的, 組織学的, 生化学的研究が広く行われているが, 臨床的には比較的短期間の観察に限られ, また, 組織学的には光学顕微鏡や透過型電子顕微鏡による平面的な観察が主体であった.

今回, ラットセレン白内障を作成し, セレン投与後比較的長期と考えられる3カ月までの水晶体について, 細隙灯による観察を行い, さらに水晶体線維の病理学的変化を走査型電子顕微鏡を用いて観察したので報告する.

II 実験方法

実験には, 生後10日目のWistar系雌雄ラット48匹を用い, 36匹に亜セレン酸ナトリウム3.5mg (セレン1.6mg)/kg b.w. を1回皮下注射した. 注射後は再び母親と同一のcageで飼育し, 母親には標準飼料と蒸留水を与えた.

セレン投与後は適宜散瞳し, 細隙灯で観察した. なお, ラットは生後約2週間は自然に開眼しないため, レザー刃にて瞼縁間を切開し観察した.

走査顕微鏡での観察のため, セレン投与後12時間, 24時間, 48時間, 72時間, 96時間, 1週間, 2週間, 4週間, 12週間を経過した時点で, クロロホルム麻酔下に眼球を摘出し, 水晶体を摘出した. 摘出した水晶体は, 2%グルタルアルデヒドと2%パラホルムアルデヒドで前固定し, その後双眼実体顕微鏡下で水晶体前極, 後極を軸として車軸状に4分割し, 皮質から核部に至る薄片を作成した. また, 一部は断面を観察試料とした. 後固定を1%四酸化オスミウム—2%タンニン酸—1%四酸化オスミウム法で行った後, 上昇エタノール系列にて脱水し, 酢酸イソアミルで置換した. 次いで日立HCP-2型臨界点乾燥装置でCO₂臨界点乾燥し, 真空蒸着装置日立HUS-5GB型を用いて金の蒸着を行い, 日立H-3010型走査型電子顕微鏡で観察した.

参考のため, 顕微鏡用の試料も逐次作成した. 摘出した眼球は, 10%ホルマリン液で固定後, 型のごとく水洗, 上昇エタノール系列にて脱水, パラフィンで包埋した後, 4μm厚の切片を作成し, H.E. 染色後, 光学顕微鏡で観察した.

なお, 無処置の同日齢ラット12匹を対照群として用いた.

III 結 果

1. 細隙灯所見

対照群は, 水晶体が透明でその他特記すべき所見は認められなかった.

セレン白内障の混濁部位は次の3つに分類された. 最初に出現する混濁は, 赤道部後囊下皮質浅層で投与24時間には空胞の出現がみられた(図1). その後, 空胞は後極に向かって拡大し, 投与48時間には後囊下全面に認められた. これらの空胞は徐々に後極側から消失し, 後縫合線の周辺部の周りに融合拡大した空胞を認めるのみとなったが, 2—3週間後には全て消失した.

後囊下混濁に続いて, 層間部混濁が投与48時間より認められた. 最初は核部を取り囲む薄い同心円状の混濁であったが, 1—2週間後には徐々に増強していった.

さらに層間部混濁に遅れて, 核部混濁が投与72時間



図1 投与24時間, 後囊下空胞を認める.

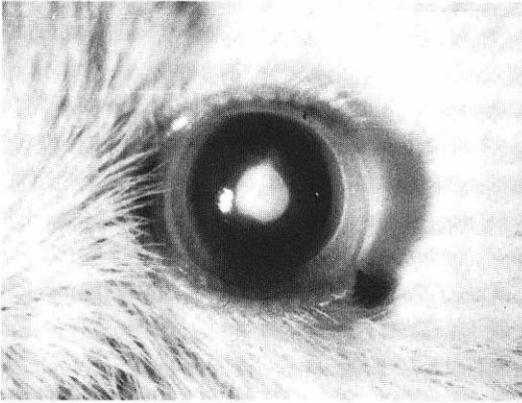


図2 投与2週、核部に濃厚な白色混濁を認める。

より出現した。最初は境界不鮮明であったが時間とともに濃厚な白色を示した(図2)。肉眼的には約2週間で典型的な臨床像が得られた。

各混濁の程度には多少左右差があり、また一部に軽い異型が認められたが、上述の混濁経過はほぼ一定していた。これを図示すれば図3のようになる。以上のような典型的な経過をとらず、図4にみるような成熟白内障を呈したものが1匹1眼あった。

白内障以外の眼合併症として、経過中角膜潰瘍を生じたものが2匹2眼あった(図5)。

2. 光顕所見

後囊下混濁の所見として、投与24時間には赤道部後囊下皮質浅層に微細空胞がみられた。投与48時間には空胞はさらに後囊下全般に及んだ(図6)。層間部混濁は皮質線維の変性、崩壊像として認められた。図7は投与96時間であるが、核部を囲んで同心円状に線維の変性、融解した部が弧をえがいていた。核部混濁は初期には核の周辺部で水晶体線維の軽い変性がみられたが、変化は徐々に進行し、投与1週間では核の周辺部に輪状の無構造な部分がみられ、その内部には水晶体線維の構造が失われ、濃縮した細胞質が顆粒状を呈し

ている領域がみられた(図8)。投与12週間には、水晶体の核部は殆ど崩壊し、無構造となっていた。また一部脱核の遅延もみられた。後囊下にみられた空胞は消失して観察されなかった(図9)。

3. 走査電顕所見

1) 後囊下混濁

投与12時間では、後囊下皮質浅層線維に稜突起の腫大、膨化がみられ、線維間には微細な球状顆粒の存在が認められた(図10)。投与24時間では、上記所見とともに線維内に円形または楕円形の空胞が多数みられ、また線維の部分的な膨化に伴って線維幅がやや不規則となり、配列に乱れが生じていた(図11)。投与48時間では、線維間に間隙が明瞭に認められ、また線維内空胞と線維間空胞が融合して空洞化している所があり、隣接する線維は押し曲げられていた(図12)。投与96時間には、後縫合線を中心として蜂巢状構造を示した(図13)。投与1週間では、後囊側より徐々に健常線維と置換され、空胞あるいは空洞化した所が縮小されていった(図14)。そして、投与4週間では、空胞は消失し正常線維のみとなった(図15)。

2) 層間部混濁

投与24時間の皮質深層線維では、線維面の一部が粗造化し、網目状となっていた(図16)。投与48時間には、各線維に著明な空胞形成が連続してみられた(図17)。これらの空胞を有する線維群は、比較的明瞭な境界をもって正常線維に挟まれていた(図18)。その後は、皮質線維の膨化が進行し、投与2週間後には、明瞭な境界を有して輪状に崩壊していた(図19)。この崩壊部では、水晶体線維は著明に膨化しており、隣接線維との融合もみられた。極度に崩壊した所では、線維構造は痕跡的となり無構造な泥状部内に直径約2~10 μ m大の大小無数の球状顆粒あるいはその存在していたと考えられる半球状の陥凹で占められていた(図20)。時には約30 μ m大に及ぶものも観察された(図21)。これらの球状顆粒と泥状組織の間には突起による接合など

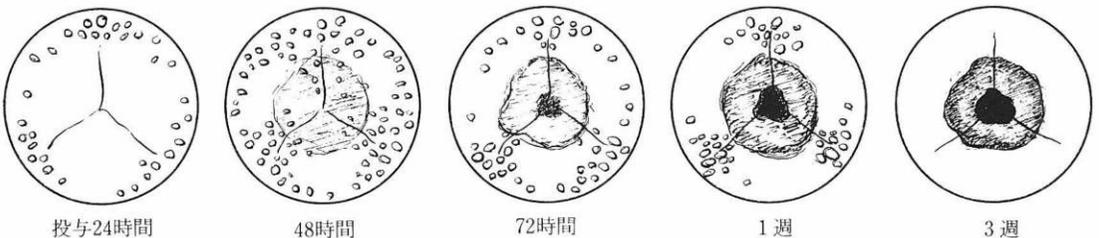


図3 典型的な混濁過程を示す。

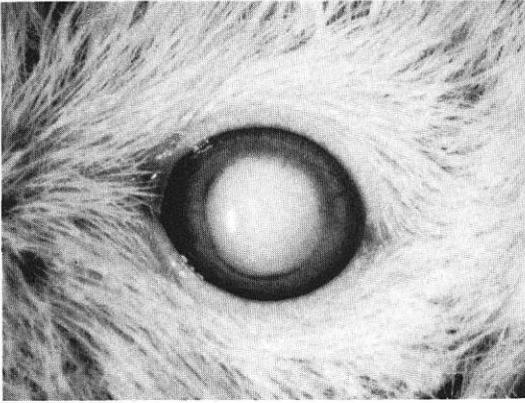


図4 投与2週, 異型の1例で, 全混濁を呈している.

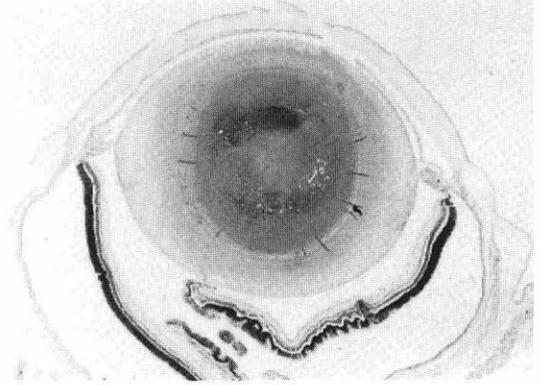


図7 投与96時間, 核部を輪状に囲んで, 皮質線維の変性, 融解を認める (H.E. 染色, ×10).

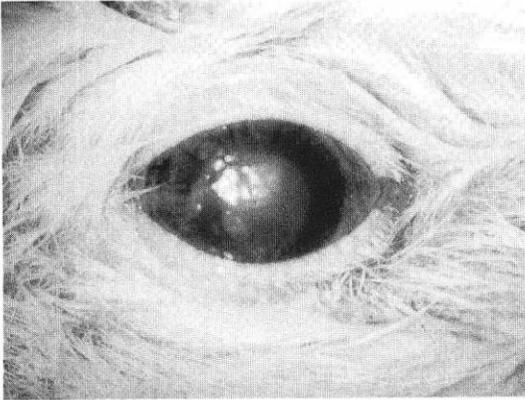


図5 角膜のほぼ中央に潰瘍を生じている.

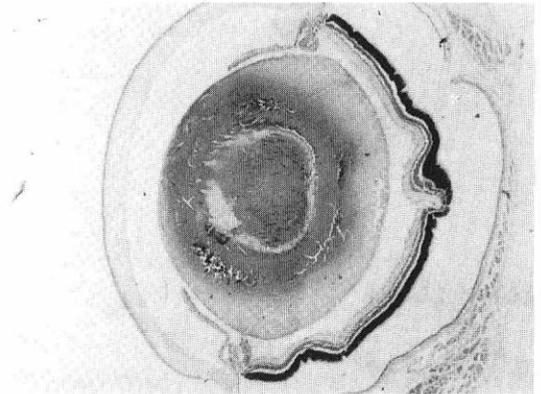


図8 投与1週, 核の周辺部が無構造となっている (H.E. 染色, ×10).

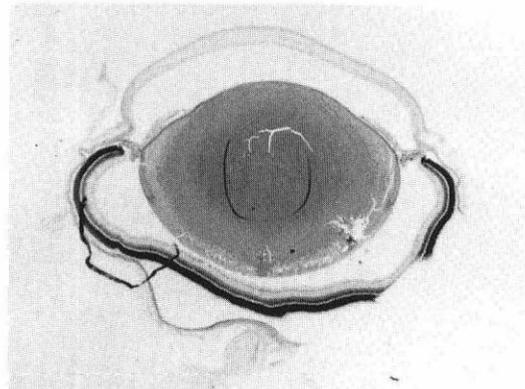


図6 投与48時間, 後嚢下に空胞を認める (H.E. 染色, ×10).

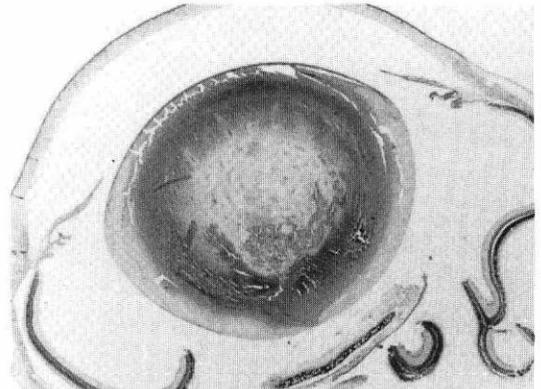


図9 投与12週, 核部は殆ど崩壊し無構造となっている. 一部に脱核の遅延も認める (H.E. 染色, ×10).

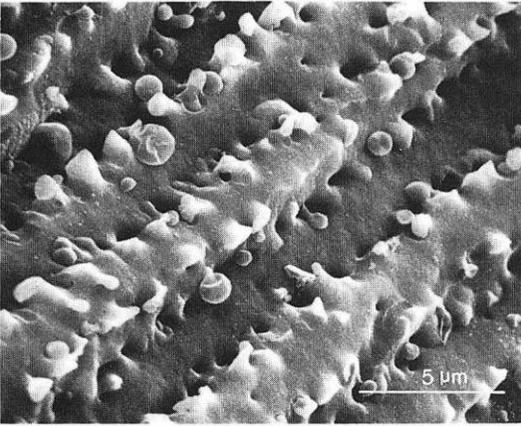


図10 投与12時間. 後囊下皮質浅層. 稜突起の腫大と線維間に微小な球状顆粒を認める.

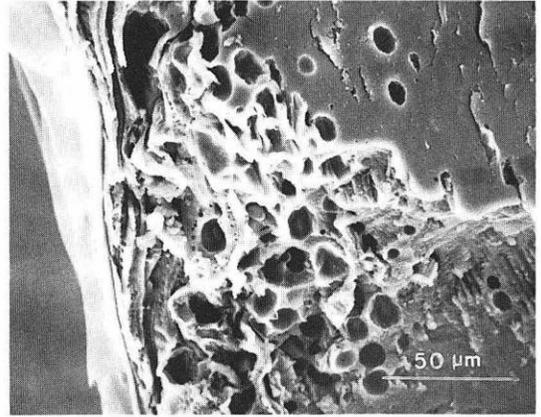


図13 投与96時間. 後囊下皮質浅層矢状面. 空胞が蜂巢状構造を示す.

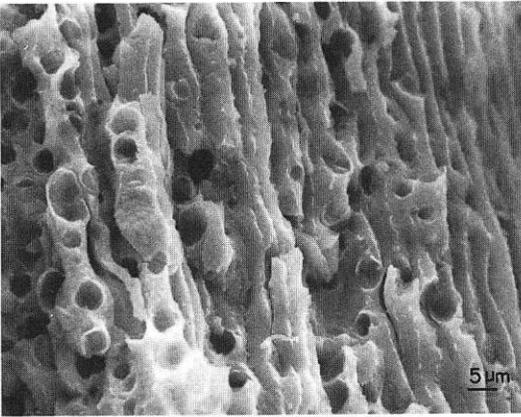


図11 投与24時間. 後囊下皮質浅層. 線維内に多数の空胞を認め、また線維の膨化により配列が乱れている.

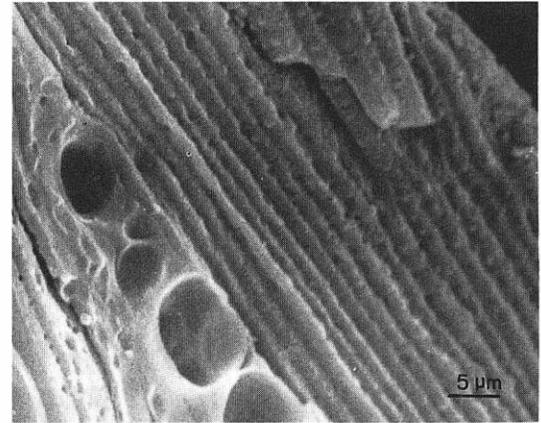


図14 投与1週. 後囊下皮質浅層矢状面. 後囊側より正常線維と置換されている.

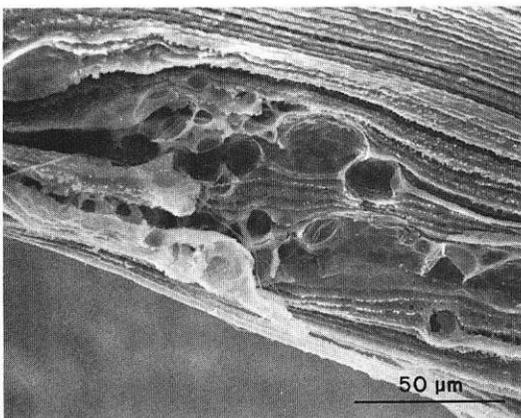


図12 投与48時間. 後囊下皮質浅層矢状面. 巨大な空胞により隣接線維が屈曲している.

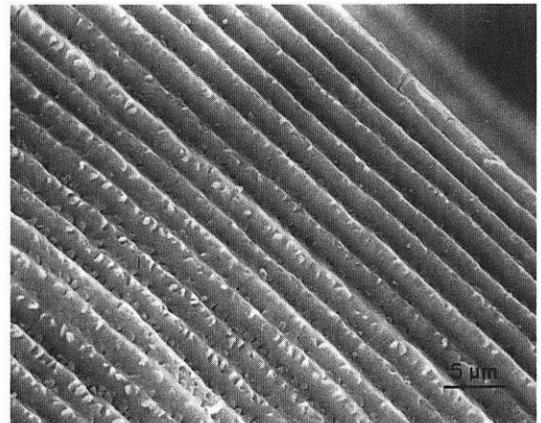


図15 投与2週. 後囊下皮質浅層矢状面. 空胞は消失している.

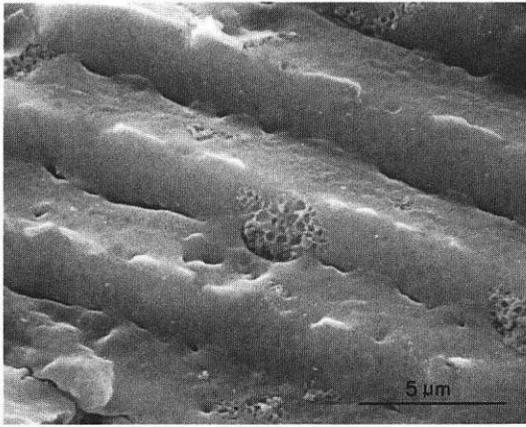


図16 投与24時間. 皮質深層. 線維壁の一部が粗造化し, 網目状となっている.

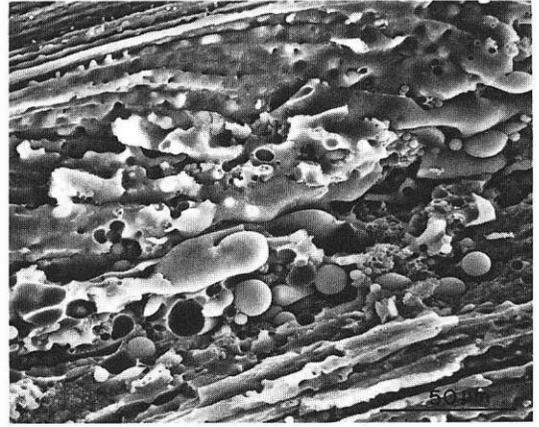


図19 投与2週. 皮質深層矢状面. 線維は膨化, 融合がみられ, 大小無数の球状顆粒も認められる.

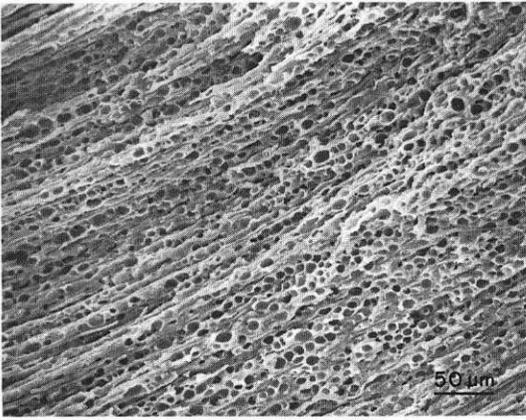


図17 投与48時間. 皮質深層. 各線維に著明な空胞形成が連続してみられる.

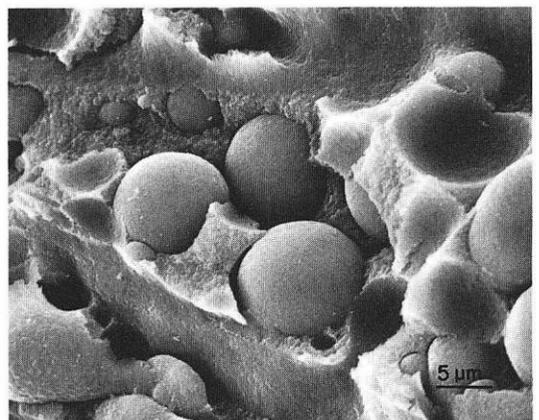


図20 投与2週. 皮質深層. 泥状組織内に大小無数の球状顆粒を認める.

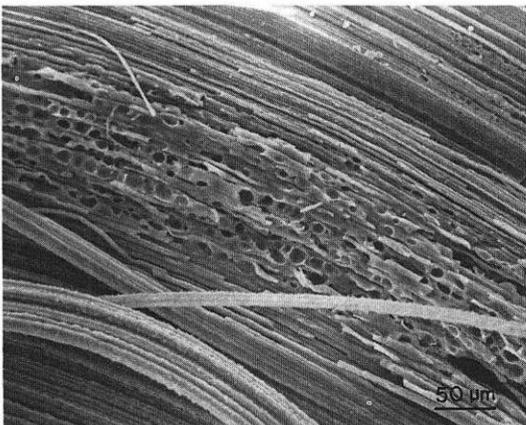


図18 投与48時間. 皮質深層矢状面. 空胞を有する線維群は, 比較的明瞭な境界をもって正常線維に挟まれている.

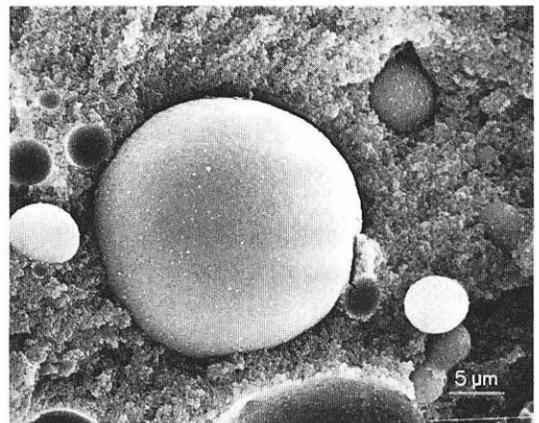


図21 投与2週. 皮質深層. 時に直径30μmに及ぶ球状顆粒も認められる.

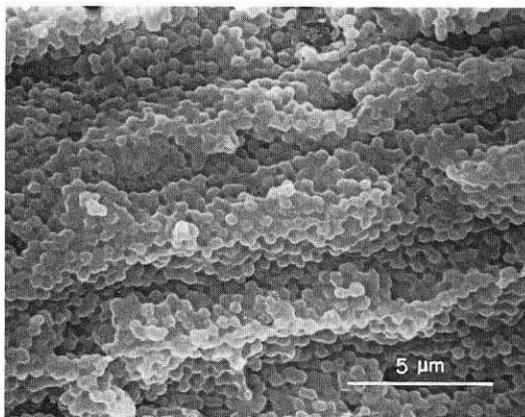


図22 2週正常ラット。核部深層。線維表面は桑実状構造を認め、全体が波状を呈している。

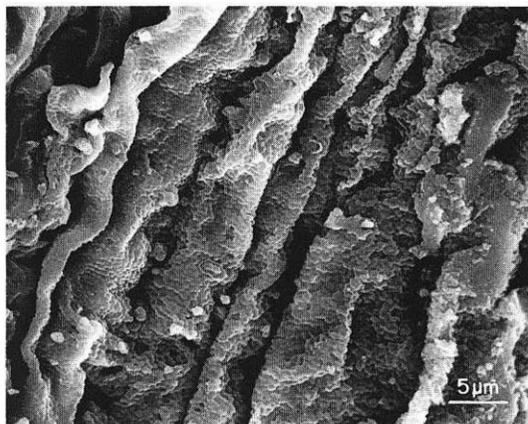


図24 投与1週。核部深層。線維に膨化とそれに続くと思われる萎縮が混在している。

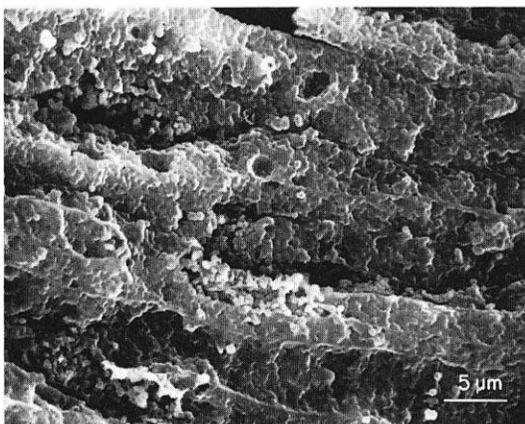


図23 投与72時間。核部深層。線維構造はよく保たれているが、所々で線維表面の桑実状構造が失われている。

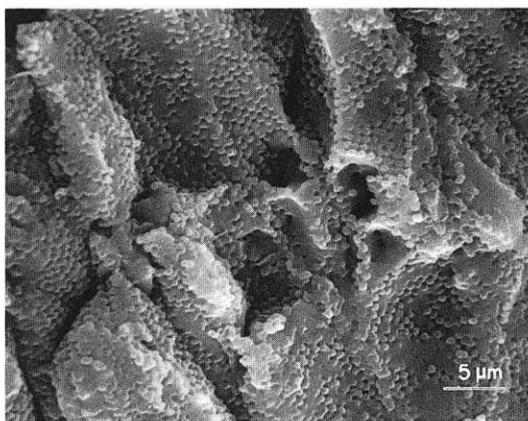


図25 投与2週。核部深層。線維間の境界が不明瞭となり、線維は互いに膨化、融合している。

は認められなかった。

3) 核部混濁

正常ラットの核部深層所見として対照群の生後2週間のものを示すと図22のごとくである。水晶体線維の表面は桑実状構造を呈しており、全体が軽く波状を呈していた。また、この部位では線維間に結合に関与する突起は殆ど認められなかった。投与72時間では、細隙灯で明瞭な混濁として認められたものの全体として線維構造はよく保たれていた。所々で線維表面の桑実状構造が消失し、平坦になっていた。また、線維壁の一部が剥離された所では、線維内が微細な顆粒状を呈しているのが認められた(図23)。投与1週間では、線維に膨化とそれに続くと思われる萎縮が混在して認め

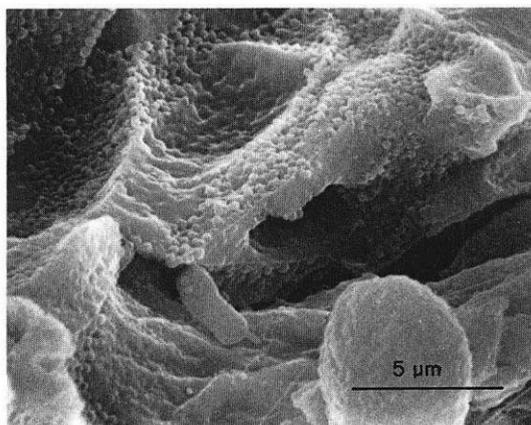


図26 投与4週。核部深層。線維の融合はさらに進行しており、右下には球状顆粒を認める。

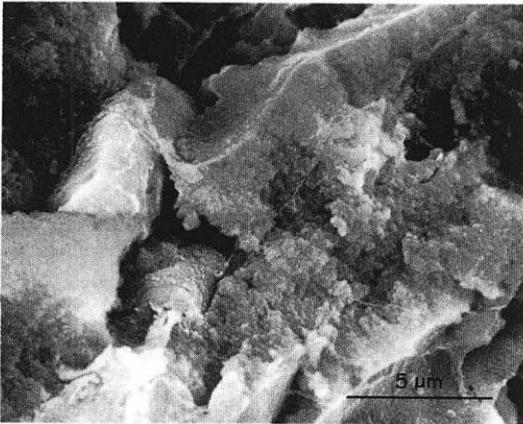


図27 投与12週，核部深層，線維構造は破壊され，線維壁は消失したり，存在しても痕跡的であり，内部は泥状な状態へと変化している。

られた(図24)。投与2週間では，線維間の境界が不明瞭となり，線維の膨化，融合が認められ，また線維表面の桑実状構造の消失もみられた(図25)。投与4週間では，同様に線維の融合がさらに進行しており，時に球状顆粒も認められた(図26)。投与12週間では，線維構造は破壊され，表面の桑実状構造も殆ど失われ，線維壁は消失したり，存在しても痕跡的であった。線維内は無構造の泥状な状態へと変化していた(図27)。

IV 考 按

Ostadalova ら¹⁾が1977年に幼若ラットにセレンを投与すると白内障が生じることを報告して以来，生化学的，組織学的研究が広く行われている。しかし，細隙灯所見については，Shearer ら²⁾の報告があるものの比較的短期間の観察に限られており，混濁の消長についても充分ではなかった。今回，セレン白内障の進行過程を細隙灯を用い，詳細に観察しその結果を図3に示した。後囊下，層間部，核部混濁はそれぞれ24時間単位で出現し，進行速度は速やかであり，また皮質表層から核部へと波及していく過程は一定であった。これは，セレンにより水晶体が障害を受ける部位が後囊下の皮質表層に近い部位であろうと推測させた。後囊下空胞については，Shearer ら²⁾がセレン投与後10日目まで観察して約半数で消失したと述べているが，さらに観察を延長すると，遅いものでも3週間内には完全に消失することが判明した。このように後囊下混濁は跡形もなく消失するのに対して，層間部，核部の混濁は回復不能であったことは興味深い。また，他の

実験的白内障，例えばナフタリン白内障，ストレプトゾトシン糖尿病白内障などが進行して成熟白内障に至るのに対して，セレン白内障では混濁は停止性であり，このことからセレンの水晶体に対する毒性は一過性で，その障害はすぐに修復されるものと考えられる。上述した典型的な混濁とは明らかに異なる異型と思われる成熟白内障を示すものがみられた。これは，ラットの個体差によるもので，セレンの毒性に対する水晶体線維の異常な反応であろう。日常の臨床で種々な形態の先天性白内障をみることが多いが，そうした混濁の多様性は白内障の原因が同一であっても個体差により種々の形態をとりうる可能性が考えられる。これまで白内障以外の眼障害についての報告はないが，経過中角膜潰瘍を生じたものがあった。これもセレンの毒性により生じた抵抗力の減弱の1つの現われであろうと推測された。

セレン白内障の成因については種々の生化学的検討が行われているが，現在なお不明である。Bunce³⁾，富川⁴⁾らは，セレン投与直後に水晶体GSH量の著明な低下を報告し，このGSHの低下が水晶体蛋白SH基の酸化を誘起し，それに続く蛋白質の不可逆的な変性を起こすと推測している。しかし，David ら⁵⁾はGSH合成阻害剤であるbuthionine sulfoximineを幼若ラットに投与したが白内障は生じなかったとし，GSHの低下は二次的な変化と推測している。一方，セレン白内障，とくに核部混濁とCa⁺⁺との関連を指摘する報告がみられる⁷⁾。Shearer ら⁷⁾は核部混濁出現前より核内Ca⁺⁺濃度が上昇したと報告し，核部混濁はCa⁺⁺誘発の水晶体蛋白質の不溶化にあると推論した。David ら⁸⁾は核部でCa⁺⁺に誘発される蛋白質分解が生じていると推測している。

これらの生化学的研究結果をふまえて，今回のラットセレン白内障の走査電顕所見を次のごとく考える。

後囊下混濁にみられる特徴としては，空胞形成が主体であり，さらに稜突起の腫大，微小な球状顆粒の出現が挙げられる。富永⁹⁾，長田¹⁰⁾らは実験的家兎ナフタリン白内障の初期像を走査電顕で観察し，同様の諸変化を報告しており，興味深い。富永⁹⁾はそれらの変化が進行していくと報告しているが，セレン白内障では逆に消失しており，前述したようにセレンの毒性がナフタリンと異なり持続しないためであろう。後囊下の空胞は互いに融合し空洞化するの認められ，それに伴って隣接線維も走行異常を示したが，徐々に正常線維と置換されていく過程が観察された。こうした再生

あるいは修復能力は、幼若ラットという年齢からくる幼若性あるいはラットという種属性のために生じたものであろうと考えられる。

層間部混濁についての組織学的検討は、これまでの光顕¹¹⁾あるいは透過電顕¹²⁾による研究では充分に明らかにされていない。光顕では水晶体皮質線維の変性、融解像がみられたが、走査電顕ではより微細な変化がとらえられた。即ち、水晶体線維が崩壊する前段階として、後囊下混濁と同様に空胞が出現し、引き続き、崩壊した泥状組織内に球状顆粒がみられたことである。この球状顆粒は、松戸¹³⁾が報告した老人性白内障皮質にみられるものに酷似しており、その本態は松戸¹³⁾の述べる通り不溶性蛋白分子の凝集したものと考えられる。

後囊下混濁、層間部混濁は、いずれも水晶体線維内の空胞形成を初発としており、含水量の増加による線維細胞の膨脹が本態と考えられる。事実、Shearer ら⁷⁾はセレン投与直後に Na⁺の上昇と K⁺の低下がみられたと報告しており、セレンにより正常イオンバランスが一過性に障害されたのであろう。では何故、後囊下皮質浅層の空胞が吸収され、層間部の空胞が線維の変性、崩壊に進行するのか疑問が残る。1つの推測として、内部の水晶体皮質線維は表層のものと比較して細胞内小器官の減少などがあり、代謝が不活発であり、そのため修復能力に差が現われるのかもしれない。

核部の混濁は、後囊下あるいは層間部の混濁と比較して細隙灯で明らかな混濁が観察されるにもかかわらず、形態学的異常が分りにくいように思われた。とくに混濁初期においてその印象が強く、また異常がみられても、線維表面の桑実状構造の消失などで、皮質型の混濁のように容易には変化をとらえられなかった。一戸¹⁴⁾は、脳卒中易発症高血圧自然発症ラットにみられた核部混濁を凍結処理後走査電顕で観察し、対照と比較して形態学的差異が充分にとらえられなかったと報告し、その原因として核部線維の混沌とした形状のため異常が検出し難いのではないかと推論している。確かにそういう面も考えられるが、皮質型の混濁と比べて核部の混濁は線維内の変化が主なため、表面形態を観察する走査電顕では初期の変化を把握するのは困難なのではないかと思われる。

核部混濁は皮質型の混濁と違って空胞を初発とすることもなく、また Shearer ら⁷⁾の結果でも核部混濁の出現時期には陽イオンバランスの崩れもないことより、含水量の増加に基づいて発症するとは考えられな

い。むしろ、Shearer ら⁷⁾、David ら⁸⁾が述べるように Ca⁺⁺濃度の上昇により水晶体蛋白分子の3次元または4次元構造の破壊があり、透光性が失われ、徐々に線維構造の破壊に進行していくのであろうと考えられる。

Russell ら¹²⁾は、生後11日目のラットセレン白内障を透過電顕で観察し、混濁した核部線維内は均一な細胞質で充満しておらず、偏在した細胞質のため蜂巢様構造を呈すると報告している。これも、混濁の原因が線維細胞内にあり、走査電顕で容易に観察できないという根拠であろう。

このようにセレン白内障は、走査電顕で容易に形態的異常の分る皮質型混濁と、逆に容易にとらえられない核型混濁が同居する奇妙な白内障と考えられた。そして、この形態的異常の差は、混濁の原因についても異なる可能性を示しているように思う。即ち、皮質型混濁は Na⁺、K⁺のバランスの不均衡によって生じる水分の異常の関与が考えられ、核型混濁は水分の関与が殆どなく、Ca⁺⁺など他の要因によると考えられた。

本論文の要旨は第90回日本眼科学会総会で報告した。ご指導とご校閲を賜った藤永 豊教授に厚く感謝致します。

文 献

- 1) Ostadalova I, Babicky A, Obenberger J: Cataract induced by administration of a single dose of sodium selenite to suckling rats. *Experientia* 34: 222—223, 1977.
- 2) Shearer TR, Anderson RS, Britton JL, Palmer EA: Early development of selenium-induced cataract: Slit lamp evaluation. *Exp Eye Res* 36: 781—788, 1983.
- 3) Shearer TR, Anderson RS: Histologic changes during selenite cataractogenesis: A light microscopy study. *Exp Eye Res* 40: 557—565, 1985.
- 4) Bunce GE, Hess JL: Biochemical changes associated with selenite-induced cataract in the rat. *Exp Eye Res* 33: 505—514, 1981.
- 5) 富川節子: セレン白内障の成因に関する生化学的研究—ラット水晶体について—, *眼臨* 79: 28—33, 1985.
- 6) David LL, Shearer TR: State of sulphhydryl in selenite cataract. *Toxicology and Applied Pharmacology* 74: 109—115, 1984.
- 7) Shearer TR, David LL: Role of calcium in selenium cataract. *Curr Eye Res* 2: 777—784, 1983.
- 8) David LL, Shearer TR: Calcium-activated

- proteolysis in the lens nucleus during selenite cataractogenesis. Invest Ophthalmol Vis Sci 25: 1275—1283, 1984.
- 9) 富永暁子：ナフタリン白内障の走査電子顕微鏡による初期像の研究. 臨眼 33: 1015—1020, 1979.
- 10) 長田正夫：実験的ナフタリン白内障と動物眼虹彩色との関連について, 第1報. 家兎における水晶体の電顕的研究. 日眼 85: 870—879, 1981.
- 11) Shearer TR, McCormack DW, DeSart DJ, Britton JL, Lopez MT: Histological evaluation of selenium induced cataracts. Exp Eye Res 31: 327—333, 1980.
- 12) Russell NJ, Royland JE, McCawley EL, Shearer TR: Ultrastructural study of selenite-induced nuclear cataracts. Invest Ophthalmol Vis Sci 25: 751—757, 1984.
- 13) 松戸武夫：人眼水晶体線維構造の走査電顕的研究. 日眼 77: 853—872, 1973.
- 14) 一戸 敏：ラット正常水晶体および白内障水晶体に関する形態学的検討—とくに水晶体水分の局在について—, 眼紀 36: 470—477, 1985.
(第90回日眼総会原著)
-