

ぶどう膜炎における角膜内皮障害 (図8)

小川 剛史 (国立呉病院眼科)

西内 貴子・三木 聡・三村 康男 (徳島大学医学部眼科学教室)

Scanning Electron Microscopic Findings of
Corneal Endothelial Damage in UveitisTakashi Ogawa*, Takako Nishiuchi**, Satoshi Miki**
and Yasuo Mimura**

*Department of Ophthalmology, Kure National Hospital

**Department of Ophthalmology, Tokushima University School of Medicine

要 約

家兎の硝子体内に10%牛血清アルブミンを0.1ml注入して非肉芽腫性の免疫原性ぶどう膜炎を惹起し、ぶどう膜炎が角膜内皮におよぼす影響を走査電子顕微鏡を用いて形態学的に観察し、以下の結果および結論を得た。1. 非肉芽腫性ぶどう膜炎の発症初期より角膜下方の内皮には、microvilliの増加が認められた。2. 前房蓄膿により覆われていた部では、炎症の消退とともに内皮細胞の変形や大小不同が強く現われた。3. 角膜内皮の形態変化は、ぶどう膜炎の経過中、常に角膜下方に強く現われ、上部および中央部の角膜内皮にはほとんど変化が現われなかった。4. 非肉芽腫性ぶどう膜炎において、炎症細胞と角膜内皮障害との関連が示唆された。(日眼 91:704—711, 1987)

キーワード：角膜内皮，実験的ぶどう膜炎，炎症細胞，走査電子顕微鏡，家兎

Abstract

It is generally considered that the cornea is rarely damaged in uveitis, but it has been reported that this can happen in patients with serious or prolonged uveitis. We induced experimental immunogenic uveitis in rabbit eyes by injecting 0.1ml of a 10% saline solution of bovine serum albumin into the vitreous body and observed morphological changes in the corneal endothelium at various stages after injection by scanning electron microscopy. The morphological characteristics of these endothelial lesions were discussed. The results obtained were as follows: 1) Many microvilli were observed on the surface of the endothelium in the early stages of nongranulomatous uveitis. 2) The morphological changes were always more severe in the inferior part of the cornea. The superior and central cornea showed few changes. 3) Corneal endothelium was more severely damaged in areas where inflammatory cells adhered. 4) In areas of the hypopyon many deformed cells appeared during the reparative process. These results suggest that inflammatory cells are important factors causing the production of corneal endothelial damage in nongranulomatous uveitis. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 91: 704—711, 1987)

Key words: Corneal endothelium, Experimental uveitis, Inflammatory cell, Scanning electron microscopy, rabbit

別刷請求先：737 呉市青山町3番1号 国立呉病院眼科 小川 剛史

Reprint requests to: Takashi Ogawa, M.D. Dept. of Ophthalmol., Kure National Hospital
3-1 Aoyama-cho, Kure 737, Japan

(昭和62年3月11日受付) (Accepted March 11, 1987)

I 緒 言

ぶどう膜炎と角膜との関係について、従来より、重症のぶどう膜炎では角膜浮腫を生じたり、炎症が遷延化すると角膜が肥厚することが知られている。しかし、一般のぶどう膜炎においては角膜内皮は障害されにくいと言われている。近年の specular microscope を用いた観察においても、神鳥ら¹⁾や岩下ら²⁾のように、ぶどう膜炎では角膜内皮に障害をおよぼさないとする報告が多い。しかし、これらの報告は、中央部の角膜のみを観察したものであり、下方の角膜所見は全く考慮されていない。一方、Setälä³⁾は豚脂様の角膜後面沈着物の著明な症例では、角膜中央部でも内皮細胞密度の低下が強いことを、大久保ら⁴⁾は陳旧性原田病症例で角膜中央から下方の角膜後面沈着物が多い部分に内皮細胞の変形と大型化を認めており、これらの報告では、陳旧性の肉芽腫性ぶどう膜炎において角膜後面沈着物と内皮障害との関連が示唆されている。しかし、非肉芽腫性ぶどう膜炎においては、角膜後面沈着物と内皮障害との関連を示唆する報告は見られない。

本論文では、家兎眼に非肉芽腫性の免疫原性ぶどう膜炎を惹起し、角膜内皮を発症初期より経時的に走査電子顕微鏡を用いて形態学的に観察し、非肉芽腫性ぶどう膜炎が角膜内皮細胞におよぼす影響を形態学的に検討した。

II 実験方法

1. 実験動物：体重2~2.5kgの白色家兎を17羽用いた。

2. 免疫原性ぶどう膜炎作成方法

起炎物質（抗原）としては、牛血清アルブミン（Armour社製、以下BSAと略す）を用いた。家兎の右眼に、10%BSAの生食水溶液0.1mlを経強膜的に27ゲージ針を用いて硝子体中央に注入した。左眼には、対照として生食水0.1mlを同様に注入した。

3. 観察方法

上記の処置後、ぶどう膜炎の経過を細隙燈顕微鏡および検眼鏡で観察しながら経時的に眼球を摘出（図1のごとく、BSA注入翌日、免疫原性ぶどう膜炎の発症初期、ぶどう膜炎最盛期、ぶどう膜炎消退期およびぶどう膜炎消退から約1カ月後の各時期の内皮の観察のため各々家兎3羽ずつ使用）し、角膜内皮を走査電子顕微鏡を用いて観察した。また、無処置眼の角膜内皮の観察のため、2羽4眼を摘出した。

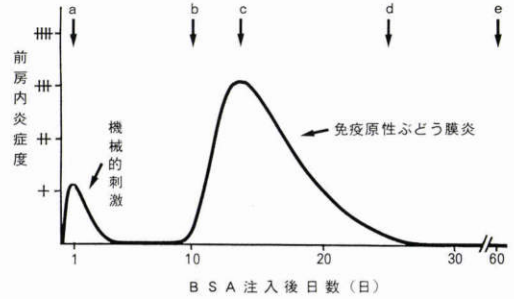


図1 ぶどう膜炎の経過および眼球摘出時期（↓）
a. BSA 注入翌日, b. ぶどう膜炎発症初期, c. ぶどう膜炎最盛期, d. ぶどう膜炎消退期, e. ぶどう膜炎消退後約1カ月

4. 走査電子顕微鏡による観察

家兎に致死量のペントバルビタール（ネプタール®）を静脈内注射し家兎を屠殺した後、ただちに眼球を摘出した。摘出した眼球を4%グルタルアルデヒド(0.1M 磷酸緩衝液, pH 7.4に溶解, 以下4%GAと略す)に浸しながら、前房中に4%GAを灌流し内皮をある程度固定した後、角膜を輪部強膜をつけたまま切除した。切除した強角膜片を4%GAおよび1%オスミウム酸(0.1M 磷酸緩衝液, pH 7.4に溶解)で固定した後、上昇アセトン系列で脱水し、酢酸イソアミルで置換した後、臨界点乾燥を行い、金-パラジウム合金を蒸着し、日立S-800型走査電子顕微鏡で加速電圧10KVにて観察した。

III 実験結果

1. 臨床所見

本法により惹起されたぶどう膜炎は、酒井の報告⁵⁾と同様に図1のような経過をたどった。BSA注入翌日には、機械的刺激および異物に対する反応と思われる軽度の炎症が起きたが、この炎症は2~3日以内に消失し、その後、BSA注入の約10日後に免疫原性ぶどう膜炎が発症した。発症3~5日後に炎症は最も強くなり、以後は徐々に軽減し、発症の約2~3週間後にはぶどう膜炎はほぼ消退した。図2にぶどう膜炎が最も強い時期の前眼部所見を示す。この時期には、輪部結膜および虹彩に充血が強く、瞳孔領にはフィブリンが析出していた。前房には無数の炎症細胞が出現し前房混濁が強く、下方には軽度の前房蓄膿とともに軽度の角膜浮腫も見られた。対照眼では、全経過中、虹彩や球結膜に充血は見られず、前房の炎症細胞は生食水注入の翌日にはわずか見られたが、2日目以後は全く見

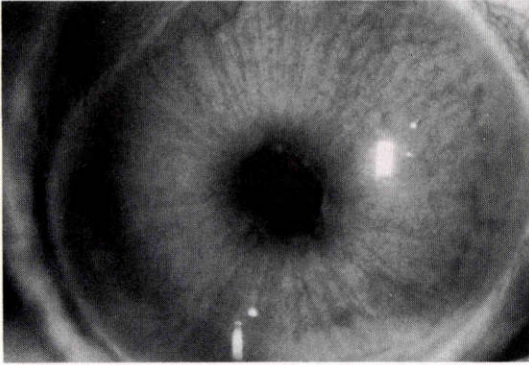


図2 ぶどう膜炎最強期の前眼部所見
輪部および虹彩の充血が強く、瞳孔領にはフィブリンが析出している。下方の角膜には軽度の浮腫が見られる。

られなかった。

2. 走査電子顕微鏡所見

1) 無処置眼

無処置眼の家兎角膜内皮細胞の所見を図3に示す。弱拡大(図3-a)で見ると、内皮細胞はほぼ六角形を呈し石垣状に規則正しく配列しており、大小不同はほとんど見られない。強拡大(図3-b)で見ると、細胞間結合部は overlapping flap(細い矢印)が互いに重なりあって強固な結合を示す。細胞表面には、少数の短い microvilli や数個の小窩が見られる。Single cilium(太い矢印)をもつ細胞は正常ではごくわずかであり、cilium が内皮細胞より出ている部には小孔が見られる。

2) 対照眼

対照眼では、無処置眼と差異は見られなかった。

3) BSA 注入眼

a) BSA 注入の約24時間後

この時期では、角膜の上部～中央部には変化が見られなかった。しかし、下方では軽度の変化が現われた。図4-aのように、内皮細胞の境界は microvilli の増加によりやや不明瞭に見え、細胞がやや丸みをおび、少数の炎症細胞が角膜内皮に付着していた。矢印の部のように炎症細胞が集積した部では、内皮の表層が破壊された部も見られた。強拡大(図4-b)で見ると、内皮細胞には microvilli の増加および細胞表面や細胞間結合部に軽度の剝離様所見(矢印)が見られた。

b) ぶどう膜炎発症初期(BSA 注入10日目)

免疫原性ぶどう膜炎が発症した初期では、角膜の上部～中央部には変化が見られなかった。しかし、下方では、炎症細胞の付着はまだ少なく内皮細胞の境界も明瞭であった(図5-a)が、強拡大で見ると、内皮細胞の表面は粗造となり、microvilli の増加および細胞表面や細胞間結合部に軽度の剝離様所見(矢印)が認められた(図5-b)。

c) ぶどう膜炎最強期(BSA 注入13日目)

ぶどう膜炎が最も強い時期でも、角膜の上部～中央部の内皮はやや丸みをおび、microvilli がやや多く見えた(矢印)のみで、その他には変化が見られなかった(図6-a, b)。しかし、下方では多量の炎症細胞が付着しており、前房蓄膿様に沈着した部では、内皮は炎症細胞により覆われているため、走査電子顕微鏡では

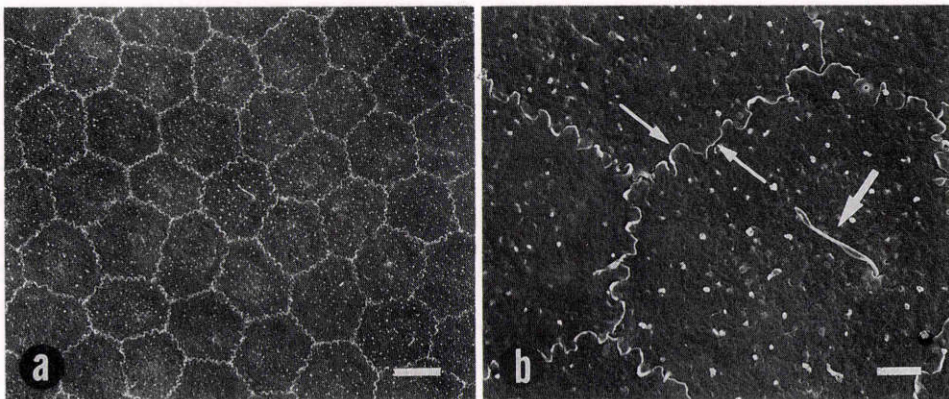


図3 無処置家兎角膜内皮の走査電顕像

a. 内皮細胞はほぼ六角形で、規則正しく配列している(bar: 10 μ m). b. 細胞間結合部は overlapping flap(細い矢印)が互いに重なりあって強固な結合を示す。細胞表面には少数の microvilli が見られる。太い矢印は single cilium を示す(bar: 2 μ m)。

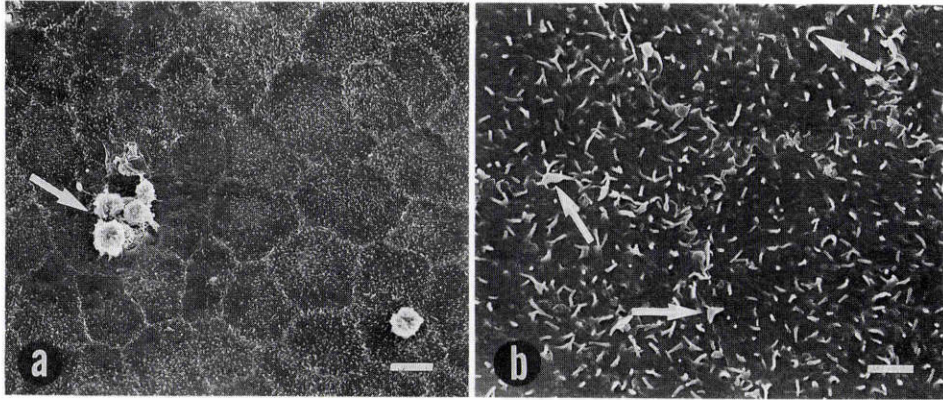


図4 BSA 注入約24時間後の角膜下方の内皮の走査電顕像

a. 内皮細胞の境界はやや不明瞭に見え、細胞がやや丸みを帯びている。炎症細胞の付着は少ないが、矢印の部では内皮の表層が破壊されている (bar: 10 μ m). b. Microvilli の増加および細胞表面や細胞間結合部に軽度の剝離様所見 (矢印) が見られる (bar: 2 μ m).

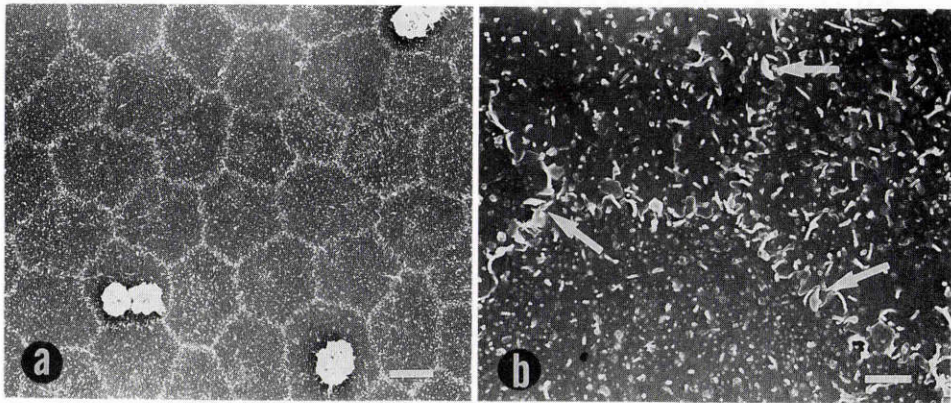


図5 ぶどう膜炎発症初期の角膜下方の内皮の走査電顕像

a. 炎症細胞の付着は少なく、内皮細胞の境界は明瞭である (bar: 10 μ m). b. Microvilli の増加および細胞表面や細胞間結合部に軽度の剝離様所見 (矢印) が見られる (bar: 2 μ m).

直接に観察できなかった。図6-c, dは、前房蓄膿(星印)の上側の境界部を示す。内皮細胞は、microvilliが著明に増加し細胞境界が不明瞭に見えた(図6-c)。強拡大で見ると、図6-dのように、microvilliの著明な増加とともに、矢印の部のように炎症細胞が内皮細胞間に侵入しつつあるのではないかとと思われる部が多く観察された。しかし、直接に観察できる範囲の内皮では、内皮細胞自体の剝離および脱落した所見は見られなかった。

d) ぶどう膜炎消退期 (BSA 注入24日目)

ぶどう膜炎がほぼ消退した時期では、角膜の上部

～中央部の内皮では変化が見られなかった。しかし、ぶどう膜炎が強かった時期に前房蓄膿により覆われていた部と思われる角膜下方の内皮細胞は、弱拡大でも細胞境界は明瞭となり、microvilliが増加した細胞も非常に少なくなったが、変形した内皮細胞が多く大小不同も強く見られた。また、single cilium(細い矢印)をもつ細胞が対照に比べ非常に多く認められた。これらの所見は、角膜下方に一樣にはなく散在性に見られた。炎症細胞の付着は非常に少なくなっていたが、太い矢印で示すように炎症細胞が付着した部では内皮の表層が破壊された部も認められた(図7-a)。また、

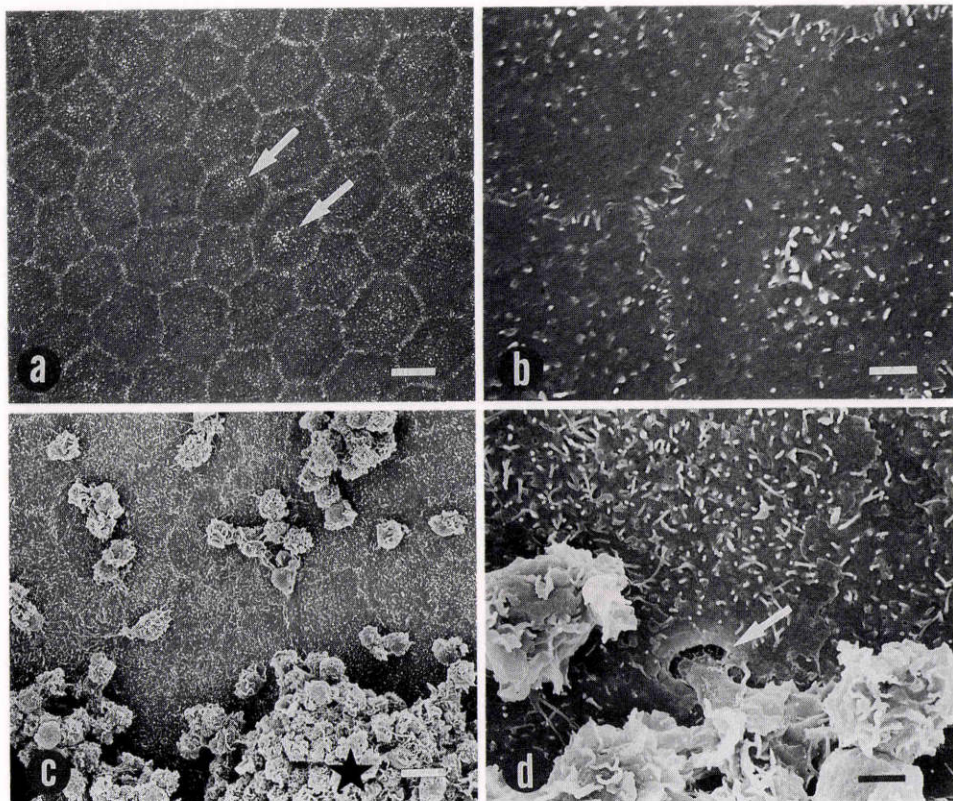


図6 ぶどう膜炎最強期(図2に示した家兎眼の同時期)の内皮の走査電顕像
(a, b: 中央部角膜, c, d: 下部角膜)

a. 細胞境界は明瞭であるが、細胞がやや丸みを帯びており、microvilli がやや多い(矢印)(bar: 10 μ m). b. 細胞間結合部には異常は見られない(bar: 2 μ m). c. 多量の炎症細胞が付着し前房蓄膿を形成している(星印). 内皮細胞には microvilli が著明に増加し、細胞境界が不明瞭に見える(bar: 10 μ m). d. 炎症細胞が内皮細胞間に侵入しつつある(矢印)(bar: 2 μ m).

細胞間結合部を強拡大で見ると、overlapping flap による嵌合が形成されていない部(矢印)が多く見られた(図7-b).

e) ぶどう膜炎消退から約1カ月後

角膜内皮細胞は下方においてもほぼ六角形となり細胞の変形や大小不同はほとんど見られなくなった。炎症細胞の付着はごくわずかになったが、この時期では内皮細胞境界部よりもむしろ内皮細胞面上に多く付着していた(図8-a)。細胞間結合部では、overlapping flap による嵌合も十分形成されており、強固な結合がなされていた(図8-b)。

IV 考 按

著者らは、今回、家兎眼の硝子体内にBSAを注入し

て免疫原性ぶどう膜炎を惹起し、このぶどう膜炎が角膜内皮におよぼす影響を走査電子顕微鏡を用いて観察した。このぶどう膜炎については、すでに多くの報告がなされており、臨床経過や組織像などの基本的病像がほぼ解明されており、再現性も高いため⁵⁾⁶⁾、今回の実験モデルに用いた。

今回惹起したぶどう膜炎は、臨床的にはやや強度の非肉芽腫性ぶどう膜炎であるが、今回の観察では、ぶどう膜炎時の角膜内皮に生じた形態変化は、ぶどう膜炎の経過中、常に角膜下方に強く現われ、ぶどう膜炎の消退期には細胞の変形や大小不同が強く見られた。しかし、炎症が最も強い時期においても、上部や中央部の角膜内皮には microvilli のごく軽度の増加が見られたのみであった。この観察結果より考えると、臨床

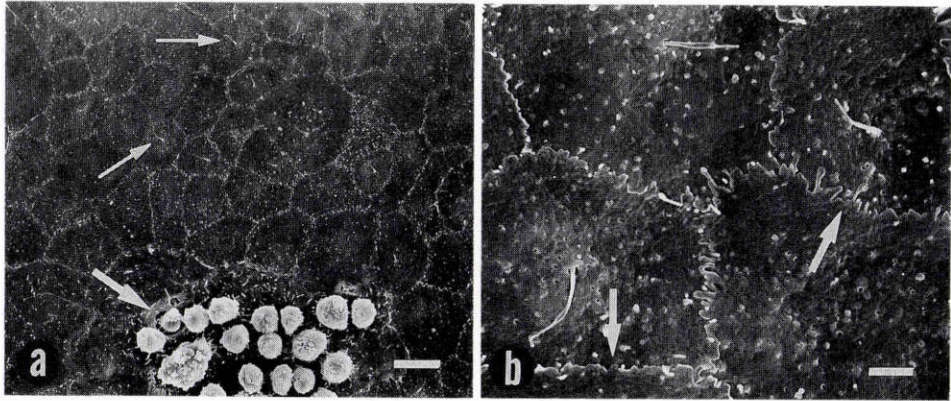


図7 ぶどう膜炎消退期の角膜下方の内皮の走査電顕像

a. Microvilli は著明に減少しているが、変形した内皮細胞が多く、大小不同が強い、太い矢印の部では内皮の表層が破壊されている、Single cilium (細い矢印) をもつ細胞が多い (bar: 10 μ m). b. 細胞間結合部では、矢印の部のように overlapping flap による嵌合が形成されていない部が多い (bar: 2 μ m).

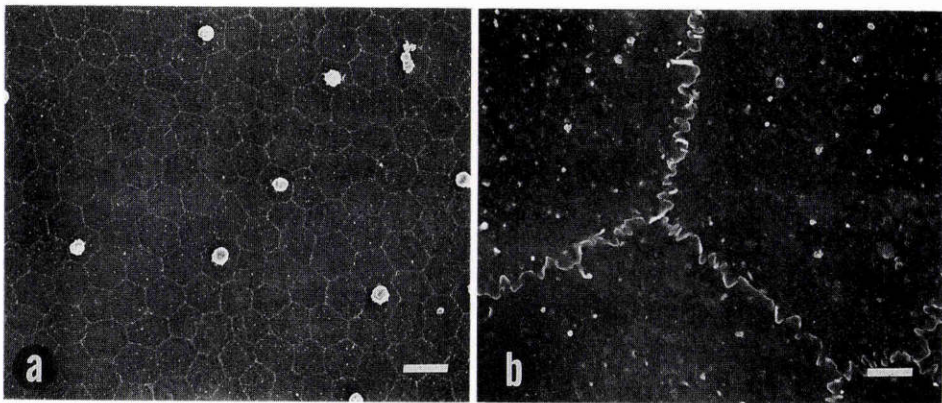


図8 ぶどう膜炎消退から約1カ月後の角膜下方の内皮の走査電顕像

a. 内皮細胞には変形や大小不同は見られない、炎症細胞は内皮細胞面上に付着している (bar: 20 μ m). b. 細胞間結合部では、overlapping flap による嵌合が強固に形成されている (bar: 2 μ m).

的にぶどう膜炎における角膜内皮障害を specular microscope などで検討する場合にも、一般に行われているような角膜中央部のみの観察¹⁾²⁾では異常が検出されることはむしろ稀であり、同時により下方の内皮を観察すれば、何らかの異常を検出できる場合も比較的多いのではないかとと思われる。したがって、ぶどう膜炎における角膜内皮障害の病態を正確に把握するためには、角膜中央部だけでなく、より下方の内皮についても詳細な観察が不可欠と考えられる。

ぶどう膜炎における角膜内皮の形態変化の程度は、炎症細胞の付着の有無により大きな差があるものと思

われた。炎症細胞が付着していない部では、microvilli の増加および細胞表面や細胞間結合部に軽度の剝離様所見が見られたのみである。これらの所見は細胞膜のごく表層に生じた変化であること、また、ぶどう膜炎の全経過中、炎症細胞が付着していない部では細胞の剝離や脱落は認められなかったことなどより、これらの変化は可逆性と思われ、細胞の剝離脱落にまでは進展しないものと思われる。一方、炎症細胞が付着した部では内皮細胞の表層が障害されている所見が見られたこと (図4-a, 図7-a)、また、炎症が最も強かった時期には、前房蓄膿により覆われていた角膜内皮は走

査電子顕微鏡では直接に観察することはできなかったが、炎症細胞が著明に減少して、この部の内皮を走査電子顕微鏡で直接観察可能となったぶどう膜炎消退期には、この部の内皮細胞には変形や大小不同が強く現われていた。角膜と角膜後面沈着物との関係について、従来より角膜後面沈着物が慢性的に長期間存在した場合に角膜内皮を障害する可能性があると考えられている⁷⁾⁸⁾。しかし、今回の著者らの観察では、以上のように非肉芽腫性ぶどう膜炎の急性期においても、角膜内皮に付着した炎症細胞と内皮細胞の障害との関連性が示唆された。以上の観点より考えると、臨床的に非肉芽腫性ぶどう膜炎のペーチェット病などにおいても、一般には内皮障害は見られないとされている¹²⁾が、前房蓄膿を生じるほどの強度の炎症の場合、とくに眼発作をくりかえした眼では、角膜中央部の内皮には異常が現われなくても、角膜下方の内皮細胞には、変形や大小不同が現われている可能性も十分考えられるのではないと思われる。

炎症細胞の内皮障害についての組織学的研究では、角膜移植後の拒否反応の一つとしてリンパ球が内皮を障害する⁹⁾¹⁰⁾ことや、感作したリンパ球を家兎の前房内に注入するとリンパ球が角膜内皮を障害する¹¹⁾ことが報告されている。著者らが観察したような免疫原性ぶどう膜炎では、角膜後面沈着物を形成する炎症細胞は、単核球(リンパ球、形質細胞など)が主体であるが、前房蓄膿の中には多核球も多く見られる¹²⁾。また、BSA注入翌日には、炎症細胞により内皮の表層が障害されているのではないと思われる所見が認められた(図2-a)が、この時期の浸潤細胞は多核球が主体である¹³⁾ことなどより考えると、ぶどう膜炎において角膜内皮を障害する可能性を持つ炎症細胞は、リンパ球だけでなく、各種組織障害因子を放出したり、貪食能を有する多核球なども考えられる。しかし、この検討には透過電子顕微鏡などを用いてさらに綿密な検討が必要であろう。

一方、ぶどう膜炎においては、ぶどう膜および炎症細胞からライソゾーム酵素¹⁴⁾や活性酸素¹⁵⁾およびプロスタグランディン¹⁶⁾などの組織障害因子が前房中に遊出することが報告されており、Aryaらはin vivo¹⁷⁾およびin vitro¹⁸⁾においてライソゾーム酵素抽出液が角膜内皮を障害することを報告している。今回の観察でも、炎症細胞がまだごくわずかししか付着していない炎症初期でも、内皮細胞表面にはすでに軽度の形態変化が見られたことより、これらの遊出物質などもぶどう

膜炎時に角膜内皮に影響をおよぼしうる重要な因子の一つと考えられる。

しかし、今回の観察結果より考えると、非肉芽腫性ぶどう膜炎において、角膜内皮障害を惹起する可能性をもつ最も重要な因子は、角膜内皮に付着した炎症細胞であると思われる。

文 献

- 1) 神島高世, 澤 充, 伊沢保穂他: ぶどう膜炎眼における角膜内皮細胞の観察. ペーチェット病眼について. 臨眼 34: 1451—1454, 1980.
- 2) 岩下正美, 川俣達男, 長谷見通子他: ぶどう膜炎における角膜内皮細胞. 臨眼 37: 461—466, 1983.
- 3) Setälä K: Corneal endothelial cell density in iridocyclitis. Acta Ophthalmol 57: 277—286, 1979.
- 4) 大久保彰, 伊野田繁, 大原國俊: 前眼部炎症と角膜内皮(1). 角膜内皮パノラマ撮影と細胞形状の定量的解析. 日眼 87: 1233—1241, 1983.
- 5) 酒井文明: 実験的ブドウ膜炎の研究. 第1報. 家兎の実験的ブドウ膜炎における毛様体扁平部の組織学的研究. 日眼 81: 1074—1081, 1977.
- 6) 臼井正彦: 実験的ぶどう膜炎の研究とその動向. 宇山昌延編, 眼科Mook 12, ぶどう膜炎, 東京, 金原出版, 282—298, 1980.
- 7) Cook C, Langham M: Corneal thickness in interstitial keratitis. Br J Ophthalmol 37: 301—304, 1953.
- 8) Stocker WF: The endothelium of the cornea and its clinical implications. Second ED, Springfield, Illinois, Charles C Thomas, 58—61, 1971.
- 9) Inomata H, Smelser GK, Polack FM: The fine structural changes in the corneal endothelium during graft rejection. Invest Ophthalmol 9: 263—271, 1970.
- 10) Polack FM: Scanning electron microscopy of corneal graft rejection: Epithelial rejection, endothelial rejection, and formation of posterior graft membranes. Invest Ophthalmol 11: 1—14, 1972.
- 11) Montcourrier P, Renard G, Pouliquen Y, et al: Lymphocyte cytotoxicity against corneal endothelium in rabbits. Immunology and immunopathology of the eye. USA, Masson Publishing, 161—166, 1979.
- 12) Inomata H, Smelser GK: Fine structural alterations of corneal endothelium during experimental uveitis. Invest Ophthalmol 9: 272—285, 1970.
- 13) Uusitalo H: An experimental uveitis induced

- by bovine serum albumin. A transmission and scanning electron microscopic study. *Acta Ophthalmol* 62: 413-424, 1984.
- 14) 早坂征次: 眼疾患とライソゾームの関連. *眼科* 17: 203-212, 1975.
- 15) 大柳善彦: スーパーオキシドと医学. 東京, 共立出版, 1981.
- 16) 藤原久子: ぶどう膜炎の病巣におけるアラキドン酸代謝について. *眼紀* 34: 2398-2402, 1983.
- 17) **Arya DV, Mannagh J, Irvine AR Jr, et al:** Effect of lysosomes on corneal endothelium: An in vivo study. *Invest Ophthalmol* 11: 655-661, 1972.
- 18) **Arya DV, Mannagh J, Irvine AR Jr:** Effect of lysosomes on cultured rabbit corneal endothelial cells. *Invest Ophthalmol* 11: 662-667, 1972.
-