実験的角膜移植における角膜内皮細胞の経時的変化

-スペキュラーマイクロスコープによる生体観察-(図15)

篠田泰治(九州大学医学部眼科学教室)

Specular Microscopic Study on Sequential Changes of Corneal Endothelium after Experimental Corneal Transplantation

Yasuharu Shinoda

Department of Ophthalmology, Faculty of Medicine, Kyusyu University

要 約

全層角膜移植術による角膜内皮細胞への影響を検討するために,白色家兎31羽を用いて,自己角膜移植群, 同種移植群,同種移植後ステロイド投与群の3群に分けて実験的全層角膜移植術を行った.これらの角膜内皮 細胞をスペキュラーマイクロスコープで術後3週目から1年間という長期にわたって生体観察を行ない,以下 の結果を得た.1)移植術後の初期には部位によって平均細胞面積が異なっていた.移植片,とくに移植片創縁 部の平均細胞面積が最も大きく,母角膜の平均細胞面積が最も小さかった.2) 侵襲をうけた内皮細胞は術後速 かに修復反応がおこり,その経過は内皮細胞が分裂,増殖する家兎においても48週間以上の長期にわたって続 き,また移植片内皮細胞の修復は母角膜からの内皮細胞の進入によって援助されていると推定される.3)角膜 移植術後の経過中に免疫反応が生じた場合,免疫反応によって内皮細胞が新たに損傷された.このために角膜 内皮細胞の修復経過が著しく阻害された.角膜移植術によって角膜内皮は大きな影響を受け,とくに手術中に 内皮損傷が大きいと内皮細胞が増殖する家兎でも内皮の回復が大幅に遅れることから,手術中の機械的操作は 移植片の予後を左右する重要な因子である.さらに術後の免疫反応は,内皮細胞にとって新たな侵襲となり, 内皮細胞の修復過程はさらに遅延する.(日眼 92:1299-1308, 1988)

キーワード:スペキュラーマイクロスコープ、角膜移植、角膜内皮、創傷治癒、拒絶反応

Abstract

In order to evaluate the influence of transplantation on the corneal endothelium, experimental penetrating keratoplasties were performed on 31 rabbits. The rabbits were divided into three groups. In the first group, 15 rabbits underwent autologous rotational keratoplasty to study endothelial changes due to the operative damage. In the second group, 8 rabbits were used as donors and recipient pairs for homografts to examine whether or not graft rejection occurred. In the third group, 8 rabbits reviwed predonine for control of graft rejection in dosages of 1mg/kg/day for three months after homologous keratoplasty. Using the contact type specular microscope the corneal endothelia in different portions of the grafts (central part, wound margin and the intermediate part between the center and wound margin) and wound margins of the recipients were photographed every three weeks after the operation for over one year. With the use of a computerized digitizer, the endothelial cells were analyzed to determine the mean cell size. Various areas of the corneal endothelium in the grafts and recipient cornea showed various degrees of damage. In the control, the mean cell area was 298.

別刷請求先: 811-01 福岡県粕屋郡新宮町下府1360—1 篠田眼科医院 篠田 泰治 (昭和63年2月24日受付) Reprint requests to: Yasuharu Shinoda, M.D. Shinoda Eye Clinic 1360—1 Shimonofu Shingu-machi, Kasuya-gun, Fukuoka (Accepted for Publication, 1988) $0\pm 37.3\mu$ m². In the first group, the mean cell area was $523\pm 108.8\mu$ m² in the center, $542\pm 116.3\mu$ m² in the middle part, $611\pm 181.0\mu$ m² in the wound margin of the graft, and $298\pm 37.3\mu$ m² in the recipient cornea three weeks after the surgery. In all cases the most severe endothelial damage occurred near the wound margin of the graft, and the least damage in the recipient cornea near the wound. Corneal repair processes began rapidly in the endothelium postoperatively but continued for a long period, more than one year even in the first group. In the second group graft rejection was observed clinically in 4 out of 8 cases. A remarkable increase in the mean cell size occurred during the rejection process, but in the third group the corneal repair process became shorter than that in the second group. This indicated that endothelial healing process was prolonged due to graft rejection. It was concluded that keratoplasty has remarkable influence on the morphology of the corneal endothelium of the graft and recipient by mechanical damage as well as by graft rejection if that event occurred. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 92 : 1299–1308, 1988)

Key words : Specular microscope, Corneal transplantation, Corneal endothelium, Wound healing, Graft rejection

I 緒 言

角膜移植手術において移植片がうまく母角膜に生着 し、しかも透明性を維持してゆくためには、術後の角 膜内皮細胞が健常に保たれることが重要である。角膜 移植眼で角膜内皮細胞が損傷を受ける可能性として、 手術中の機械的な侵襲および術後の免疫拒絶反応の2 つが考えられる。この2つの因子が移植眼に強い影響 を及ぼした場合には移植片の透明治癒が困難になる。

角膜移植術後の経過中に免疫拒絶反応がおこると, 内皮細胞は傷害を受け,細胞脱落をきたす.その結果, 免疫反応を生じた時期以後は平均細胞面積の増大が加 速されることから,拒絶反応の内皮に与える侵襲の大 きさが指摘されている¹⁾²⁾.

一方,角膜移植手術において移植片を採取する操作, 移植片を母角膜に縫合する操作のそれぞれの過程で内 皮細胞が損傷される.とくに移植片の辺縁部は手術操 作の影響が直接及ぶため内皮細胞の脱落が著明である ことが推測されるが,これらの機械的な操作が実際に どの程度内皮細胞に障害をあたえているのか,そして 内皮細胞はその後,長期間にわたってどのような経過 をたどるのか興味深い.角膜移植後の角膜内皮細胞に ついての研究は臨床例による報告が多く^{113)~8)},これら 臨床例では対象となる症例の条件が必ずしも一定では なく,また実験的研究においても,生体で長期間にわ たって内皮細胞の動態を観察したものは少ない.とく に手術侵襲が内皮細胞に及ぼす影響を検討した報告は ほとんどみられない⁹⁾.

今回,角膜移植術という機械的侵襲によりどの程度,

内皮細胞は脱落するのか,この場合,移植片の部位に よって修復過程に差があるのか,また,家兎における 実験的角膜同種移植では免疫反応を生じにくいと言わ れているが¹⁰,術後経過中に,免疫反応がもし生じると すれば細胞修復過程にどんな影響が及ぶのか,さらに 免疫反応を生じた場合,ステロイドを投与すると,内 皮細胞修復はどのような経過をたどるのかといった問 題を明らかにするために家兎眼を用いて実験的に全層 角膜移植術を行った.まず手術操作が角膜内皮に及ぼ す影響を純粋に観察するため,術後に免疫反応が生じ る可能性の無い自己角膜移植を行った.また,角膜移 植後に免疫反応を生じさせその影響を検討するために 同種移植を行い,さらに同種移植眼においてステロイ ドを一定期間投与し免疫反応をあらかじめ抑制してお き,その修復経過を検討した.

家兎の内皮細胞は拡大,移動という性質に加えて, 分裂機能を有しており^{11)~14},家兎眼では内皮細胞が脱 落後,残存細胞の拡大と移動により平均細胞面積がひ とまず増大するが,分裂による細胞数の増加で個々の 細胞は縮小化に向かい,その結果,平均細胞面積は減 少する¹⁵⁾.したがって,内皮細胞の形態を観察し,平均 細胞面積を測定して,その増減を検討することは,内 皮細胞障害の修復過程を知る1つの方法である.

そこで,生体内で同一個体の内皮細胞を反復して観察し,写真撮影により記録することが可能なスペキュ ラーマイクロスコープを用いて移植片および母角膜の 内皮細胞を長期間にわたって経時的に観察した.

II 実験材料および方法

実験に用いた動物は体重2.6kgから3.3kgの白色家 兎31羽である.これを3群に分け,第1群15羽には自 己角膜回転移植(移植片を採取直後に180度回転させ て,再び母角膜に移植する)を行った.第2群8羽に は同種移植(2羽ずつ4組の家兎について,互いの角 膜移植片を交換して移植する)を,そして,第3群の 8羽には同種移植を行ったのち,術翌日からプレド= ンlmg/kgの筋注を毎日3ヵ月にわたって行った.

移植の術式は全層角膜移植とし、ネンブタール30 mg/kgの静注麻酔下で、6mmトレパンを用いて移植 片を採取し、ただちに母角膜にのせて、10-0ナイロン 糸で8針縫合した。術中にはフィブリンの析出を抑制 するために200i.u./mlのヘパリンを点眼した。術操作 はすべて手術用顕微鏡下で行った。なお術眼はすべて 左眼とし、右眼はコントロールとした。術後3週間は 毎日、抗生物質の点眼を1日2回両眼に行い、術後感



HOST GRAFT 1 2 3 4 ・・・・・。 スペキュラーマイクロスコープによる角膜内 皮の竪索部位

LEFT

```
1 移植片の中央部■
2 移植片の中間部▲
3 移植片の創緑部・
4 母角膜の創緑部。
```

図1 スペキュラーマイクロスコープによる角膜内皮細胞の観察部位を示す.コント ロールの右眼は中央部で代表した.左眼は移植片の中央部,創縁部,創縁と中央の 中間部,さらに母角膜の合計4箇所を選んだ.



図 2

図 3

図2 自己角膜回転移植術直後の家兎角膜を示す.角膜は全体的に軽い浮腫を認める.

図3 術後3週目の家兎角膜を示す.角膜浮腫はほぼ消失し,移植片の生着は良好である.

42 - (1302)

染を防止した.

移植後の経過観察の方法としてはスペキュラーマイ クロスコープ(甲南,キーラー社製)を用いた.使用 したスペキュラーは角膜接触型であることから術後早 期には角膜内皮観察によって圧迫などの侵襲が加わる のを避けるため,術後3週間目より観察を開始し,以 後3週間ごとに左眼移植片および母角膜の内皮細胞と 右眼の内皮細胞を写真撮影した.

観察部位として、左眼移植片の中央部瞳孔領, 創縁 部,および創縁と中央の中間部の合計3カ所を選んだ. また正常の角膜内皮細胞はスペキュラーマイクロス コープによる生体観察⁴¹⁶,および,組織学的な検索¹⁷⁾ より,部位による差はなく,細胞の大きさ,形は均一 であることが知られているので,コントロールの右眼 では観察部位の代表として1カ所だけ瞳孔領中央部を 選んだ(図1).

内皮細胞の面積測定は従来報告されてきた方法に準 じた¹⁸⁾¹⁹⁾.まず撮影したフィルムは印画紙上460倍に拡 大し、多角形を成す各細胞の頂点をディジタイザーで なぞることによりマイクロコンピューターに入力し、 平均細胞面積および標準偏差を算出した.

III 結 果

1. 自己角膜移植群

全例15羽とも術翌日には軽度の結膜充血,角膜浮腫 を認めたが,その後の経過は順調で,スペキュラーマ イクロスコープによる内皮観察は可能であった。やが て結膜充血と角膜浮腫は去り,角膜移植片は透明治癒 した.図2は術直後の移植眼を示す.軽い充血と淡い 角膜浮腫を認める.図3は術後3週目の移植眼を示す. 移植片の生着は良好で透明性も維持されている.

図4は術後3週間目の移植片,母角膜およびコント ロール角膜内皮細胞のスペキュラーマイクロスコープ によって得られた写真である.コントロール眼をみる と角膜内皮細胞は6角形を主体とした多角形のモザイ ク状配列をとり、細胞の大きさはほぼ均一である.コ ントロール眼の平均細胞面積は、298±37.3 μ m²であっ た.術後3週目では図4(4b~4e)に示すように平均 細胞面積に部位差がみられ、移植片の創縁部が最大で 611±181.0 μ m²であった.中間部542±116.5 μ m²,中央 部523±108.8 μ m²の順に小さくなり、母角膜の創縁部 の面積が最も小さく、450±83.4 μ m²であった.図5は 移植片創縁部の内皮細胞のスペキュラーによる写真を 示す.内皮細胞の長軸が創縁部へ向かっている所見が



図4 自己角膜移植術後3週間目の角膜内皮のスペ キュラーマイクロスコープによる写真.上から右眼 中央部(4a),左眼移植片中央部(4b),移植片中間 部(4c),移植片創縁部(4d),母角膜創縁部(4e) を示す.コントロールとして使用した右眼中央部の 内皮細胞は6角形を主体としてほぼ均一の大きさで ある.移植片創縁部の内皮細胞は大型化している. 写真4dの右端は創縁を示す.×150

みられる.その後,各部位の細胞面積は図6のグラフ に示すように術後6週目までに急激に細胞面積が減少 する.6週目を過ぎると細胞面積は緩やかに縮小した. 長期的にはコントロール値に次第に近づいた.つまり, 術前の面積にまで回復する傾向がみられた.術後3週 目では移植片の創縁部の細胞面積はもっとも大きく, その後,細胞の回復速度は他の部位に比べて速い傾向 にあった.一方,母角膜では術後3週目に細胞面積が もっとも小さいにもかかわらず細胞の回復速度は非常 に緩徐であった.各部位の平均細胞面積は術後平均36 週目にほぼコントロールの値と同じになった. 昭和63年8月10日



図5 移植片創縁部のスペキュラーマイクロスコープ による写真. 個々の内皮細胞は創縁(写真下方)へ 向かって細胞の長軸を伸ばしている.×150



図6 自己角膜移植群の角膜内皮各部位における平均 細胞面積の経過.移植片創縁部の回復は速やかであ るが,一方母角膜の回復は緩やかな傾向を示す. (n=15)

2. 同種移植群

術翌日に8例とも軽度の充血と角膜浮腫を生じた が、やがて充血、浮腫は軽減した。しかし、そのうち に4羽に突然、結膜充血と角膜浮腫が起こった。角膜 浮腫は早いもので23日目に、遅いもので75日目に生じ、 とくに45日目に出現した1羽は次第に浮腫性混濁が増 強し、血管が侵入し移植片に白斑を残した。その他の 3羽は充血と浮腫は一時的のもので(図8)、浮腫を生 じてから17日目ないし31日目に角膜は再び透明となっ た。この現象は上記のような臨床的な所見から、 Khodadoust²⁰⁾らの記述している免疫反応による拒絶



図7 同種移植群の各部位の平均細胞面積の経過。自 己移植群に比べて,細胞面積の縮小化は遅れている。 (n=8)



図8 同移植後23日目に角膜浮腫を生じた症例.結膜 から血管が移植片の方へ進入し,移植片に浮腫を生 じている.

反応に相当する.残りの5羽についてはこのような反応はみられず経過は良好であった.

スペキュラーによる内皮観察では、8羽とも術後3 週間目の平均面積が最大であった.移植片創縁部642± 157.0 μ m²,中央部593±107.2 μ m²,中間部571±111.5 μ m²,母角膜創縁部479±102.2 μ m²で,自己角膜移植群 と同じく移植片の平均面積の増大が著明であった。同 種移植群では、各部の平均細胞面積の均一化、および、 術前値への回復過程は症例によって差異をみるが、全 症例を平均してみると、自己移植群に比べて回復が長 期化していた(図7).



図9 突発性の角膜浮腫を生じた症例の平均細胞の面積の経過. 突発性角膜浮腫(矢印)を境にして平均面積の新たな増大を示す.



の細胞面積の経過。回復は比較的順調である。(n= 4)

突発性の結膜充血と角膜浮腫を生じた4羽について は、そのうち1羽の経過を図9に示すが、この突発性 の変化、つまり拒絶反応を生じた時期(図9の矢印) を境にして平均面積の新たな増大または回復の遅延を きたしていた。とくに浮腫性混濁を強く生じた移植片 の創縁部では細胞面積の著しい増大を認めた。

拒絶反応の影響を最も受ける移植片創縁部の細胞面 積の経過をみると,拒絶反応を生じなかった4例は回 復が速やかであった(図10).ただし自己角膜移植の症



図11 突発性の角膜浮腫を生じた症例の移植片創縁部 の平均細胞面積の経過,突発性角膜浮腫(矢印)を 境にして平均面積の新たな増大または回復の遅延を 示す(n=4)

例が術後36週目には術前値に回復したのに比べ,同時 期の同種移植の症例の平均細胞面積は有意に大きく(t 検定,p<0.01),回復は遅延傾向にあった.これに対 し,臨床的に拒絶反応を生じた4症例はすべて拒絶反 応を境にして細胞面積の新たな増大,または回復の遅 延をきたした(図11).これら拒絶反応を生じた4例は 生じなかった4例にくらべ48週後の平均細胞面積は有 意に大きかった(t検定,p<0.01).

移植片の細胞面積が免疫反応により著しく変化する のに比べて,母角膜の創縁部付近の平均細胞面積はあ まり変化する様子はみられず,その後しばらくして 徐々に面積が増大した(図9).またこのとき母角膜創 縁部において,細胞面積の増大だけでなく,移植片へ 向かって細胞の長軸を伸展させる様子もみられた.

臨床的に拒絶反応が生じた時期では、角膜の混濁の ため、内皮観察が困難であったが、混濁が軽快した時 点の内皮の状態をみると、障害を受けた付近の細胞は 大型化して、核が明瞭に認められ、細胞の輪郭が丸み をおびたものや、紡錘形をした細胞がみられ不安定な モザイクバターンを示し、再び活発な修復が開始され ている様子がうかがえた(図12).

3. ステロイド筋注群

8 羽は術翌日には全例,軽度から中等度の結膜充血, 角膜浮腫を生じた。術後の充血と浮腫は軽快したが, 同種移植群の場合と同じく,経過中に突発する結膜充 昭和63年8月10日



図12 突発性の角膜混濁を生じた症例のスペキュラー マイクロスコープによる内皮所見.細胞の輪郭は丸 みをおびたものや,紡錘形をした細胞もみられ、モ ザイクパターンは不安定である.×150



過. 細胞面積の縮小化は速やかである. (n=8)

血,角膜混濁を生じた症例が4羽あった.このような 変化は早いもので術後26日目より,遅いもので術後67 日目に発症した.しかし,いずれの場合も強い混濁を きたした症例はなく,持続期間は3日,長期のもので も15日間と,同種移植群にくらべ短期間であった.残 り4羽は術後経過順調で,移植片への血管侵入もみと めなかった.

これら8羽の内皮を観察すると(図13),前述の2群 と同様に観察を開始した術後3週目の細胞面積が最大 であった.移植片創縁部が最も面積が大きく663± 117.7μm²,中間部が602±163.0μm²,中央部579±



図14 ステロイド筋注群のうち拒絶反応を生じなかった症例の移植片創縁部の平均細胞面積の経過(n=4)同種移植群と同じく回復は比較的順調である。



図15 ステロイド筋注群のうち拒絶反応を生じた症例 の移植片創縁部の平均細胞面積の経過.(n=4)反応 (矢印)を境に平均面積の新たな増大,または回復の 鈍化傾向を示す.

112.2µm², 母角膜創縁部498±85.4µm²で, 自己移植群 や同種移植群とほぼ同じような傾向にあり, 移植片の 面積増大が著しいのに対し, 母角膜では面積増大は最 も小さかった. 術後長期観察では48週目において各部 位における平均面積はほぼ同じになっていたが, まだ 術前の面積までには回復していなかった. しかし, 術 後48週目に同種移植群と比べると各部位とも平均細胞 面積は有意に小さくなっていた(t検定, p<0.01). 拒絶反応を生じなかった4例は順調な回復がみられ たが(図14),自己移植群にくらべると同時期における 平均細胞面積は有意に大きく(t検定,p<0.01),経過 が延長していた.これに対して拒絶反応を生じた4例 の移植片創縁部の細胞面積の経過をみると(図15),同 種移植群と同様に,反応を境にして平均面積の新たな 増大,もしくは回復の鈍化傾向を示した.拒絶反応を 生じた4例の48週後の平均細胞面積は反応を生じな かった4例の面積にくらべると有意に大きかった(t 検定,p<0.01).

IV 考 按

1. 免疫反応がおこらない場合の角膜内皮の修復過 程

手術操作による機械的損傷を受けた角膜内皮細胞は 測定したいずれの部位においても,術後3週間目の平 均細胞面積が最大で,この時,創縁部付近では内皮細 胞が創縁へ向かって,一定の方向性を示した.これは 創縁部へ向かう細胞はその形が扁平化し,細胞の長軸 は創縁部へ向かって伸展するという従来の報告²¹⁾²²⁾に 一致した所見である.同じ程度の手術侵襲を受ける機 会があると考えられた移植片の創縁部と母角膜創縁部 とでは移植後3週目には平均細胞面積に差が認められ たが,これは,移植片の採取や回転する操作などで移 植片にひずみを生じ,移植片は母角膜にくらべて,さ らに大きな内皮障害をうけたことを意味する.

また移植片においてもその平均細胞面積に部位差が あり,直接,機械的損傷をうける創縁部が最も細胞面 積が増大した。場⁹らは実験的水疱性角膜症眼に移植 した角膜内皮の伸展標本において, 創縁部付近で細胞 面積の著しい増大を報告しているが、今回の結果も同 様の傾向を示した. それから次第に細胞面積は減少に 向らが、術後6週目から急激に細胞面積が減少する現 象が見られ、その後は徐々に面積が縮小する傾向が あった. これは術中の侵襲によって脱落した内皮細胞 を補うために修復過程の早い時期に残存細胞が動員さ れ、拡大、移動による修復が行われ、細胞分裂機能の 効果が出てきて細胞が縮小に向かったため6週目頃か ら平均細胞面積の急激な減少がおこったことを示唆す る、Olsen¹⁵⁾らによると家兎の内皮細胞の欠損部は初期 には急速に被覆されるが,正常の内皮パターンに回復 するには長期間を要するとされている。術後6週目を 過ぎるとゆるやかに細胞面積は縮小したが、これは急 速な欠損部の被覆,細胞の補充をある程度終えるとそ の後はゆっくりと細胞の再配列が営まれ、松田³⁰らが 角膜内皮の創傷治癒過程において、長期にわたり、細 胞の再配列が生じることを報告しているように、個々 の細胞がより安定した形をとろうとする過程にはいっ たことを示す.また平均36週目あたりから細胞面積が 術前の値と同じになったことは、内皮細胞はこの時期 に術中の侵襲からようやく回復したことを示す.

創傷回復の経過として,移植後3週目の平均面積が 小さい中央部や母角膜の創縁部が先に細胞修復を終了 し,平均面積がもっとも大きい移植片創縁部の回復が 遅れて,修復から最後までとり残されるということは なく,移植片の各部の面積は常に均一になりながら, 回復へ向かう傾向がみられた.これは細胞脱落の少な かった部位よりも,損傷が強くて多数の細胞が脱落し た部位の修復が先に急速に行われ,角膜移植片全体が より均一な状態で回復へ向かおうとする機序が働いた ことを示唆する.

母角膜では術後3週目の平均細胞面積が小さいにも かかわらず移植片の3部位に比べて面積減少に至る経 過は非常に緩慢であった.このことは移植片の内皮細 胞は創傷部へ向かって拡大と移動を続け、また創傷部 の細胞分裂によって新しい細胞を補充し、さらに母角 膜側からも同様の機転が生じ、ついには母角膜内皮細 胞が移植片と母角膜との境界部を越えて、積極的に移 植片内へ進入して移植片内皮の修復を援助する機転が 働いたことを示唆する.このためグラフでは、移植片 創縁部は術後初期に細胞面積が大きいにもかかわら ず、平均細胞面積の縮小過程は急速に行われ、一方、 母角膜の平均細胞面積の縮小する過程は緩慢に経過し たものと思われる.

楊⁹⁰らは、実験的水疱性角膜症眼に移植された移植 片の内皮細胞が母角細胞に存在したことを観察して、 創傷部を越えて内皮細胞が移動しうることを示した. また Polack²³⁾らは³H-thymidine で標識した内皮を移 植片として正常眼に移植し、母角膜側から移植片へ内 皮細胞が移動したことを示した.さらに Espiritu²⁴⁾ら は母角膜と異なる性の角膜を移植し、内皮細胞を組織 培養し、性染色質の陽性率を計測し、母角膜側から移 植片内に内皮細胞が移動することを確認した.Olson ら²⁵⁰は雄の母角膜内皮細胞を脱落させたのち、雌の角 膜を移植し、各部位の内皮細胞の性染色質の有無を調 べ、内皮細胞が,創傷部を越えて移動することを証明 した.これらの報告は今回の実験において移植片内へ 母角膜細胞が進入したため母角細胞の面積縮小が遅れ 昭和63年8月10日

たことを説明する根拠となる.

2. 免疫反応が生じた場合の角膜内皮の修復過程

同種移植群,ステロイド投与群,ともに免疫反応を 生じない各々4例は順調に回復傾向を示したが,自己 移植群とくらべると,有意の差をもって経過が遅れて おり,これは同種移植をしたことでなんらかの要因が はたらいたためと考えられるが,今回の実験結果だけ ではその理由を説明できなかった.

移植片に免疫反応が生じるとリンパ球が内皮細胞を 障害することが組織学的に証明されているが²⁶⁾⁻²⁸⁾, 今 回の場合,スペキュラーマイクロスコーブによる観察 ではリンパ球によって内皮が破壊され細胞脱落を生じ たことは証明できなかった.しかし,血管の移植片へ の侵入を伴って突発性の結膜充血,角膜浮腫を臨床的 に認めたことや図12にみられたようなスペキュラーマ イクロスコーブによる内皮の変化,また,この時期を 境にして平均細胞面積の新たな増大がみられたこと, さらにステロイド投与によって平均細胞面積の縮小過 程が短縮されたことから,術後の経過中,移植片に免 疫拒絶反応が生じたものと推定された.

ステロイド投与群においても免疫反応が8例中4羽 に生じたものの、同種移植群にくらべると臨床的所見 は軽く、短期間のうちに臨床症状は消失し、さらに免 疫反応による内皮細胞修復経過の遅延も比較的小さ く、その後の内皮細胞の修復は同種移植群より速やか に行われたことはステロイドの筋注によって免疫反応 が完全ではないが、ある程度抑制されたことを示して いる.

一方,移植片の各部の面積の経過に比べて,母角膜 細胞の平均面積の縮小化はゆるやかな過程をたどった ことは,母角膜細胞の移植片への拡大,移動を示唆す る所見と考えられる.母角膜では直接,免疫反応の影 響を受けることは少なく,内皮細胞の脱落を免れる. したがって,免疫反応の結果,移植片が細胞面積の増 大をきたす時点ではほとんど変化はみられず,その後 移植片内の修復過程を援助するため母角膜内皮細胞の 移植片内進入が始まり,その結果,母角膜の内皮の平 均細胞面積の増大が遅れたと推定される.

今回の実験は下記のように要約される.手術操作の 角膜内皮に与える侵襲の大きさは相当な規模であっ た.また角膜内皮の回復は長期間にわたることがわ かった.順調に移植が行われた症例においても移植片 および母角膜の内皮細胞の面積増大が著明で、しかも 部位によって内皮細胞の面積値が異なっていた.また、 内皮細胞の回復速度にも部位差があり、このことから 母角膜の内皮細胞が移植片内に移動することが推定さ れた.さらに、移植片に拒絶反応が生じた場合には、 新たに内皮細胞が損傷されることになるため、内皮細 胞の修復が大幅に遅れた.

すなわち,角膜移植術中の機械的操作は移植片の予 後を左右する重要な因子であり,また移植術後に移植 片に免疫反応が生じた場合には移植片の内皮細胞はさ らに障害されて細胞脱落をきたすので内皮細胞の修復 が遅れる.

稿を終るに臨み,終始懇切なるご指導ご校閲を賜った,猪 俣 孟教授に深謝致します.また,実験に際し,ご指導いた だいた大西克尚助教授に感謝致します.

なお,本研究には,福岡市大島眼科病院院長松井孝夫博士 のご援助を受けた.付記して謝意を表します.

文

献

- 須田秩史,松田 司,大迫一人他:全層角膜移植に おける角膜内皮細胞の経時的変化.第三報,全層角 膜移植後の拒絶反応による角膜内皮障害. 眼紀 32:2249-2254, 1982.
- 2)今泉利雄, 熊谷俊一, 近藤 駿他: 全角膜移植片の 内皮細胞, Donor side からの検討. 眼紀 34: 1149-1155, 1983.
- 3) 松田 司,塩崎陽一,須田秩史他:ヒト角膜内皮細胞の創傷治癒過程,細胞の形,配列の変化について、日眼 86:1944-1951, 1982.
- 松田 司,大迫一人,須田秩史他:全角膜移植にお ける角膜内皮細胞の経時的変化について.眼紀 32:569-572, 1981.
- 5) Matsuda M, Suda T, Manabe R: Long term observations of the graft endothelium with different postoperative courses. Jpn J Ophthalmol 27: 556-566, 1983.
- Olsen J: Post-operative changes in the endothelial cell density of corneal grafts. Acta Ophthalmol 59: 863-870, 1981.
- Culbertson WW, Abbott RL, Foster RK: Endothelial cell loss in penetrating keratoplasty. Ophthalmology 89: 600-604, 1982.
- 8) 松原正男,木村内子,佐藤 孜他:角膜移植片の透明性と内皮細胞面積について.臨眼 38: 751-755,1984.
- 9) 楊 弘吉, 佐藤 孜, 松原正男他:実験的水疱性角 膜症眼に移植した角膜の内皮細胞の研究.日眼 87;701-707, 1983.
- Maumenee AE: The influence of donorrecipient sensitization on corneal grafts. Amer J Ophthalmol 34: 142, 1951.
- 11) Binder RF, Binder HF: Regenerative process

48 - (1308)

in the endothelium of the cornea Arch Ophthalmol 57: 11-13, 1957.

- 12) Faure JP, Kim YZ, Graft B: Formation of the giant cells in the corneal endothelium during its regeneration after destruction by freezing. Exp Eye Res 12: 6-12, 1971.
- Sanchez J, Polack FM : Effect of topical steroids on the healing of corneal endothelium. Invest Ophthalmol 13: 17-22, 1974.
- 14) Renard G, Hirsch M, Faure JP, et al: Ultrastructural study on the regeneration of the corneal endothelial cells. Jpn J Ophthalmol 20: 243-246, 1976.
- 15) Olsen EG, Daranger M: The healing of rabbit corneal endothelium. Acta Ophthalmol 62: 796-807, 1984.
- 16) Blackwell WL, Gravenstein N, Kaufman HE: Comparison of central corneal endothelial cell numbers with peripheral areas. Am J Ophthalmol 84: 473-476, 1977.
- 17) Svedbergh B, Bill A: Scanning electron microscopic studies of the corneal endothelium in man and monkeys. Acta Ophthalmol 50: 321 -326, 1972.
- 18) Laing RA, Sandstrom M, Berrospi AR: Morphological changes in corneal endothelial cells after penetrating keratoplasty. Am J Ophthalmol 82: 459-464, 1976.
- Sato T: Studies on th endothelium of the corneal graft. Jpn J Ophthalmol 22: 114-126, 1978.

- 20) Khodadoust AA, Silverstein AM: Transplantation and rejection of individual cell layers of the cornea. Invest Ophthalmol 8: 180, 1969.
- 21) Ogita Y, Higuchi S, Kani K, et al: Wound healing of the endothelium of the living cat cornea. A specular microscopic study. Jpn J Ophthalmol 25: 326-334, 1981.
- 22) 松田 司,塩崎陽一,稲葉昌丸他ニヒト角膜内皮細胞の創傷治癒過程,部位別経時的変化について.日眼 88:115-120,1984.
- 23) Polack FM, Smelser GK, Rose J: Long-term survival of isotopically labeled stromal and endothelial cells in corneal homografts. Am J ophthalmol 57: 67-79, 1964.
- 24) Espiritu RB, Kara CB, Tabawitz D: Studies on the healing of corneal grafts. Am J Ophthalmol 52: 91-95, 1961.
- 25) Olson RJ, Levenson JE: Migration of donor endothelium in keratoplasty. Am J Ophthalmol 84: 711-714, 1977.
- 26) Inomata H, Smelser GK, Polack FM: The fine structural change in the corneal endothelium during graft rejection. Invest Ophthalmol 4: 263-271, 1970.
- 27) 栗林利治, 飯島富士雄:人眼における角膜拒絶反応. 臨眼 35:1443-1449, 1981.
- 28) Polack FM: Scanning electron microscopy of corneal graft rejection, eipthelial rejection, endothelial rejection, and formation of posterior graft membranes. Invest Ophthalmol 11: 1-14, 1972.