

病的硝子体にみられた I 型様コラーゲンについて (写真 6, 表 6)

原 彰・渡辺 龍雄・並松 茂樹 (日本医大第 1 病院)

Type I Like Collagen Appeared in Vitreous Disease

Akira Hara, Tatsuo Watanabe and Shigeki Namimatsu

Dept. of Ophthalmology Nippon Medical school First Hospital

要 約

増殖性硝子体網膜症, 増殖性網膜症, 硝子体膜形成等々の病的硝子体に対しビトロクトミーを行った33症例を疾患別に分類し, 硝子体手術時に採取した硝子体のコラーゲン線維を電顕下で調べた。コラーゲン線維は直径の細い正常硝子体にみられる II 型様コラーゲンと, 正常の硝子体には存在しない直径の太い I 型様コラーゲンがみられた。II 型様コラーゲンはすべての疾患からみられたが, I 型様コラーゲンは硝子体内異物, 眼球破裂からの疾患からみられた。I 型様コラーゲンの出現頻度は硝子体内異物で一番高かった。硝子体が病的状態におちいった場合, 硝子体の創傷修復機序として II 型コラーゲンだけが反応にあずかるのではなく, 硝子体内異物, 眼球破裂時では II 型コラーゲンに加え I 型コラーゲンも反応にあずかるといった二種類の反応様式がある事が考えられた。(日眼 92: 1363—1368, 1988)

キーワード: 増殖性網膜症, コラーゲン, 網膜剝離, 眼外傷

Abstract

Specimens taken from 33 vitrectomy cases were examined under electron microscopy. The vitreous diseases of the 33 cases included vitreous hemorrhage, proliferative retinopathy, retinal detachment and ocular trauma. Collagen fibers in each specimen were classified into specific types. The composition of different types of collagen fibers in each vitreous membrane was evaluated. collagen resunbhnng was Type2 observed in all cases of vitreous diseses. collagen resembluy Type 1 appeared only in the penetreating and perforating trauma group. Incidence of Type 1 like collagen appearance in specimens was higher in penetrating trauma than in perforating trauma. We assumed that the general wound healing response in the vitreous was carried out type 2 collagen. However in urgent situations, the wound healing response is carried out not only by type 2 collagen but also by type 1 collagen fiber. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 92: 1363—1368, 1988)

Key words: Proliferative vitreoretinopathy, collagen, Retinal detachment, Ocular trauma

I 緒 言

硝子体に増殖性変化の少ない網膜剝離の手術成績は手術手技の改善と共に90%以上の治癒を期待できる疾患になっている。しかしながら一旦硝子体に病変が起

こり増殖性硝子体網膜症(PVR)などの病的線維増殖膜が形成されると網膜剝離は難治性のものとなり, 眼内からのアプローチによる硝子体手術の進歩にも拘らず手術成績が不良となる。予後不良の原因である PVR 又は類似の増殖性硝子体膜がどのような細胞によって

別刷請求先: 102 東京都千代田区飯田橋 3—5—5 日本医科大学第 1 病院眼科 原 彰
(昭和63年 4 月11日受付)

Reprint requests to: Akira Hara, M.D. Dept. of Ophthal. Nippon Medical School First Hospital
3-5-5 Iidabashi, Chiyoda-ku, Tokyo, 102 Japan

(Accepted for Publication April 11, 1988)

形成されるのか知られており、単独ではなく主に色素上皮細胞、グリア細胞、線維芽細胞、マクロファージ等々の細胞成分がそれぞれ関与すると考えられている^{1)~4)}。

細胞をとりまく環境を形成する細胞外マトリックスについての研究が進み、細胞は細胞外マトリックスと密接に関係し合いながら分化、増殖を行っていることが知られるようになってきた。硝子体に形成された増殖性硝子体膜の細胞外マトリックスの性状を調べることで病的硝子体膜発生の機序が増々明らかにされると思われる。今回我々は前回と同じく⁵⁾病的硝子体膜の細胞外マトリックスの変化を調べる目的で硝子体の収縮と関係の深いコラーゲン線維の変化を、硝子体手術を行った患者の検体で調べ増殖性硝子体膜などの病的硝子体膜の形成機序を明らかにしようとした。

II 対象と方法

昭和59年7月から昭和62年12月までに日本医科大学附属病院でclosed vitrectomy及びopen sky vitrectomyを行い病的硝子体膜を吸引採取し病理検査の出来た33症例33眼33検体を対象とした。対象の疾患別内訳は、1) 増殖性糖尿病性網膜症6例、2) 眼内異物5例、3) 交通外傷による眼球破裂5例、4) 網膜静脈分枝閉塞症4例、5) 無水晶体眼による網膜剥離3例、6) 裂孔原性網膜剥離2例、7) 鈍的外傷による鋸状縁断裂1例、8) 巨大裂孔1例、9) 老人性円盤状黄斑変性症1例、10) 血小板減少症1例、11) テルソン症候群1例、12) -18Dの強度近視1例である。又病的硝子体の形成に影響を与えると考えられる因子として硝子体出血、網膜裂孔、網膜剥離、光凝固、クライオ、強度近視、水晶体の有無等を術前の眼内状態としてビトロクトミー時に記録し、合わせて疾患発症よりビトロクトミー施行までの期間も記録した。手術器具にシュトルツ社マイクロビット MVS 1000を用いた。

切除吸引した病的硝子体膜は吸収ボトルに吸引したのち2.5~5%グルタルアルデヒド液に固定し後日の検査用として冷蔵庫に保存した。電顕下での観察に際し採取固定した検体は3,500/分で10~15分遠沈し有形成分を沈澱採取し1~2%四酸化オスミウムで後固定を行いアルコール系列で脱水し型の如くエポン樹脂に包埋した。超薄切片は1%タンニン酸染色を施したのち二重染色を行い電顕下で観察した。

III 結 果

1) 増殖性糖尿病性網膜症からの線維

6例とも程度の差はあれハンモック型の増殖性硝子体膜を形成していた。全裂に網膜裂孔は存在していない(表1)。この症例からの硝子体線維は直径20nm程で稿構造をもたないものが観察された。

2) 眼内異物からの線維

硝子体中にまで異物の進入した症例は5例で残り1例は幼少の頃に起こった事故のため異物の進入部が不明であった。この症例からの線維は直径が80~165nmで稿構造を認めるもの(写真1、2)4例、直径が200nmで稿構造を認めるもの(写真3)1例、直径20nmで稿構造を認めないもの6例であった(表2)。線維の形態からそれぞれa, b, cと分類して表記した。

3) 眼球破裂からの線維

全例とも交通外傷による眼球破裂である。ぶどう膜

表1 増殖性糖尿病性網膜症の症例

症例	網膜剥離	硝子体出血	光凝固	水晶体	線維	分類
1	+	+	+	+	20nm	c
2	+	+	+	-	20	c
4	+	+	+	+	20	c
14	-	+	-	-	20	c
23	+	-	+	+	20	c
24	+	+	+	+	20	c

網膜剥離、硝子体出血、光凝固の既往、水晶体の有無に関係せず線維の太さは約20nmであった。この線維群はcと分類した。

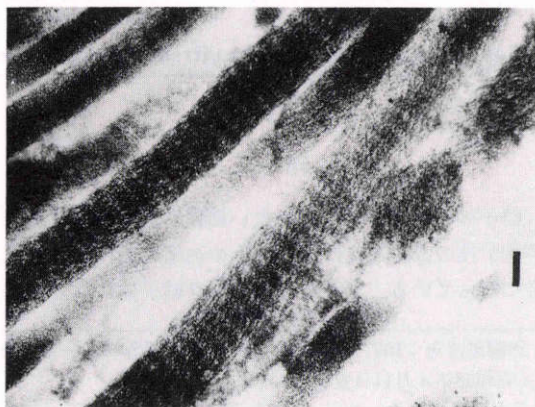


写真1 眼内異物からの線維(鉄穿入)直径165nm, 稿周期45nm, (96,000×バー100nm)

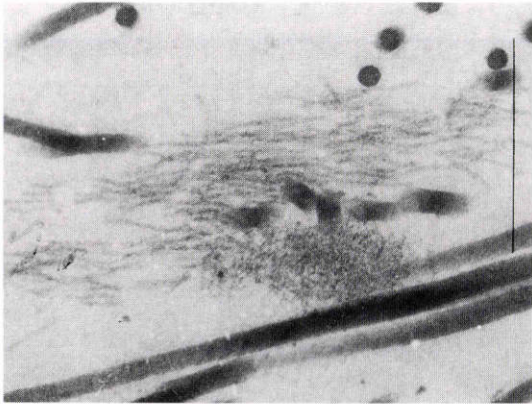


写真2 眼内異物からの線維（ステンレス鉋穿入）直径130nm，稿周期80nm. (60,000×，バー1,000nm)

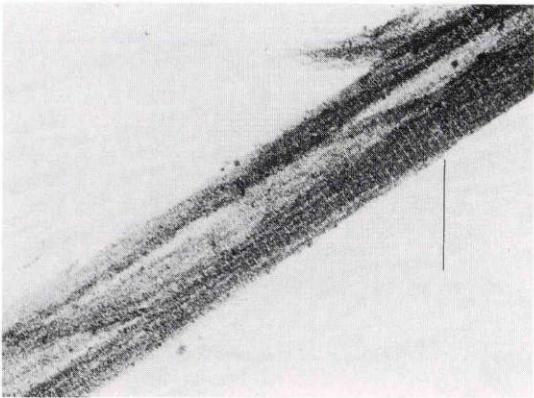


写真3 眼内異物からの線維（ブリキ穿入）直径200nm，稿周期45nm. (60,000×，バー500nm)

表2 硝子体内異物の症例

症例	異物	受傷時硝子体出血	裂孔	剝離	ビトレクトミーまでの期間	線維径稿	分類
5	鉄	—	不明	+	1.3年	165nm 45nm	a
8	ステンレス	+	不明	+	11ヶ月	130 82	a
11	ブリキ	+	+	+	1.4年	200 45	b
17	コンクリート	+	不明	+	1ヶ月	20	c
25	ガラス	—	+	+	8ヶ月	93 95	a
31	クギ	不明	不明	+	35年	78	a

硝子体異物にみられたコラーゲン線維は I 型様コラーゲン，フィブリン様線維，II 型様コラーゲンであった。それぞれの線維群を a，b，c として分類してある。c は全症例にみられたが表記していないものも含まれる。

の脱出は程度の差はあれ全例にみられた。観察された線維は直径210nm で稿構造をもつもの 1 例，直径300nm で稿構造をもつもの 1 例，直径20nm で稿構造をもたないもの全例であった（写真4）（表3）。

4) BRVO からの線維

硝子体出血，網膜剝離の有無が各疾患では同一でなかったにも拘らず，全例でみられた線維は20nm の太さで稿構造のない線維であった（表4）。

5) 無水晶体眼からの線維

無水晶体眼はすべて水晶体全摘手術を行いその後網膜剝離を起こした症例である。これ等で観察された線維は20nm で稿構造のない線維であった（表5）。

6) 裂孔原性網膜剝離からの線維

硝子体出血の有無にも拘らず観察された線維の太さは20nm のものであった（表6）。

7) その他の症例からの線維

鈍的外眼傷による鋸状縁断裂，巨大裂孔，老人性円盤状黄斑性変性症による硝子体出血，血小板減少症にみられた硝子体出血，テルソン症候群，-18D の強度近視にみられた硝子体変性等疾患が同一ではないにも拘らず直径20nm の線維が全症例からみられた。代表症例として鈍的眼外傷（写真5）と BRVO で硝子体出血の有ったもの（写真6）を示す。

IV 考 按

自験例の病的硝子体から観察された線維の種類，性状を大別すると，(a) 直径78~210nm で45~100nm の稿構造をみるもの，(b) 直径200nm と300nm で43nm と45nm の稿構造をみるもの，(c) 直径20nm で稿構造のみられないものとに大別できるようである。(a)，

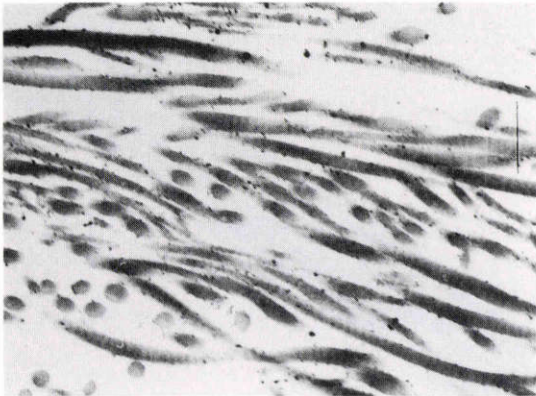


写真4 眼球破裂からの線維。直径210nm, 稿周期95nm (20,000×, パー1,000nm)

表3 眼球破裂の症例

症例	裂傷部	受傷時硝子体出血	ビトレクトミーまでの期間	線維径稿	分類
10	角強膜	+	6ヶ月	20nm	c
12	強膜	+	1ヶ月	300 43	b
19	角強膜	+	7ヶ月	20	c
27	強膜	+	2ヶ月	210 95	a
32	角強膜	—	1ヶ月	20	c

交通事故による眼球破裂にみられたコラーゲン線維はI型様コラーゲン, フィブリン様線維, II型様コラーゲンであった。線維群cは全例にみられたが表記は割愛した。

表4 BRVOの症例

症例	硝子体出血	網膜剥離	出血からビトレクトミーまでの期間	線維	分類
9	+	—	2.3年	20nm	c
16	+	—	2年	20	c
20	+	—	1.8年	20	c
28	+	+	8ヶ月	20	c

硝子体出血, 網膜剥離, 手術までの期間に関係なくコラーゲン線維の太さは約20nmであった。分類をcとした。

表5 無水晶体の症例

症例	網膜剥離	裂孔	ICCEからビトレクトミーまでの期間	線維	分類
6	偏平全剥離	不明	2ヶ月	20nm	c
13	1/4剥離	+	1年	20	c
18	全剥離	不明	8ヶ月	20	c

無水晶体眼で網膜剥離を伴った症例のコラーゲン線維は約20nmであった。分類をcとした。

表6 裂孔原性網膜剥離の症例

症例	網膜剥離	硝子体出血	ビトレクトミーまでの期間	線維	分類
3	PVR C3	+	10ヶ月	20nm	c
22	PVR C2	—	1ヶ月	20	c

PVRの程度, 硝子体出血の有無に関係なくコラーゲン線維の太さは約20nmであった。分類をcとした。

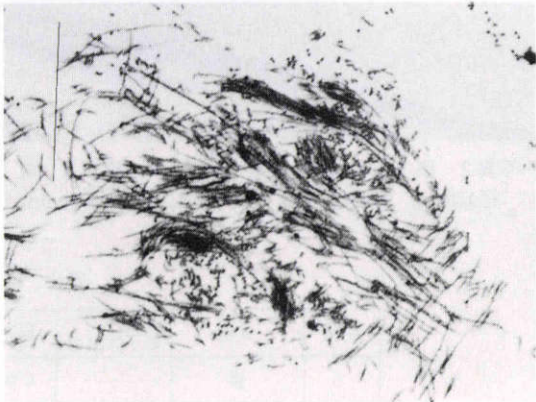


写真5 鈍的眼外傷からの線維。直径約20nm, 稿構造なし (10,000×, パー1,000nm)

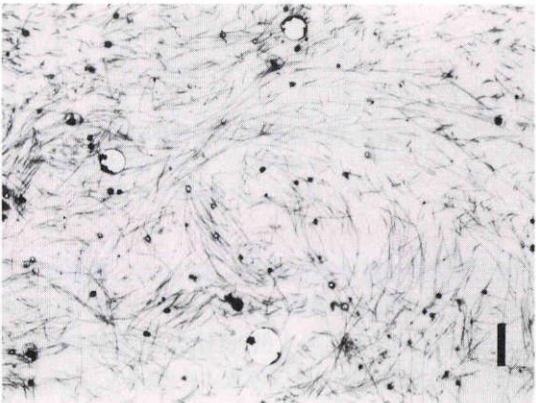


写真6 BRVOからの線維。直径20nm, 稿構造なし。(10,000×パー500nm)

(b)の太い線維は眼内異物, 眼球破裂の症例にのみ出現していた。我々が観察した線維がどのような線維なのか形態学的な特徴から考察してみたい。

コラーゲン線維は現在11種類ほど存在すると考えられており身体各部位により構成するコラーゲン線維の種類や太さが異なる⁶⁾。この内間質コラーゲンとよばれているものはI型, II型, III型で65~67nmの稿構造をもち、線維形成にあずかるものである⁷⁾。I型コ

ラーゲンは皮フ、靱帯、角膜に存在し直径45~180nmの線維を形成し身体のコラーゲンの90%を含める基本的なコラーゲンである。I型コラーゲンをポジティブ染色すると65~67nm 稿周期の中に更にa~eに別かれた12本の稿構造がみられることが観察されている⁸⁾。

II型コラーゲンは硝子体や軟骨に存在しI型よりも細い線維で10~80nmの線維を形成する。III型は皮フ、血管にみられ網膜線維と言われているもので40~50nmの線維を形成する。線維の稿構造はI型に糖質が少ないことから認め易く、II型は糖質が多いため認めづらく、III型はこれらの中間といわれている⁷⁾。人眼の正常硝子体線維はII型コラーゲンからなることは知られており10~20nmの太さで⁹⁾、稿周期が22nmで見られることもある¹⁰⁾。

長周期線維(FCS)は角膜組織、隅角組織、瘢痕組織、腫瘍組織などに出現することがあり四型に分類されている¹¹⁾¹²⁾⁸⁾。I型は稿周期が250nmで稿のオーバーラップ幅が460nmのもの、IV型は稿周期が170nmで稿のオーバーラップが127nmのもの、II型、III型はこの中間を示し幅広いオーバーラップが特徴である。

稿構造をもつものとして病的状態で出現するフィブリンは凝集が低酸性状態で起こるとき通常ではみられない稿構造がみられ易くなり、稿周期は20~35nmとされている¹⁰⁾¹³⁾。

自験例の全症例にみられた直径20nm程の細い線維③は従来から硝子体にあったものが又は新たに分泌された本来の硝子体コラーゲンであろう。直径のやや太い稿構造のある線維④は稿周期が67nm 近辺でないものもあるが、自験例の染色法が陽性染色で細かいバンドが出現するため67nm以外の所に稿周期があらわれてもよく、又太い線維が集合して形成されていることから、病的状態で新しく硝子体に分泌されたI型様コラーゲンではないかと考えられる。病的コラーゲンの形態は横断面が不正円で歪みがあり配列が不均一で線維の走行が屈曲しているなどの特徴をもつことから¹⁴⁾症例31の眼傷眼でのコラーゲンはこのような病的なものに近いものと考えられる。

もう一つの直径の太い線維⑤は眼内異物と眼球破裂の症例から各1例ずつみられた。これらの線維状のものは集合を作らず断面も円形ではない所からフィブリンであろうと考えられるが稿周期が長い事などは病的コラーゲンであるとする可能性も否定できない。

眼内異物、眼球破裂の症例から出現したI型様コ

ラーゲン線維は通常硝子体には存在しないのであるが病的な状態に陥った硝子体中には存在することがあるらしい。Constable¹⁵⁾は人眼で瘢痕化した病的硝子体膜を調べた所直径40~100nm、稿周期64nmの構造をもつコラーゲン線維が稀にみとめられたという。家兎眼で自家血を注入した実験では太さ40~80nm、稿周期60~66nmの病的コラーゲンの出現がみられたという。Swan¹⁶⁾は家兎硝子体に自家血を注入し器質化した硝子体膜をしらべた所直径の太い稿構造のはっきりした線維が出現したとのべている。Kao¹⁷⁾は家兎硝子体に自家血を注入した実験から硝子体の病的硝子体膜から通常硝子体にみられないI型コラーゲンが出現したことをgel electrophoresis でみとめた。

硝子体と同じくII型コラーゲンで構成される軟骨組織は病的な状態ではcell-matrixの正常な相互関係が破られ、急速な細胞増殖がおきI型コラーゲンを分泌するようになるという¹⁸⁾。

これらの報告は自験例の眼外傷症例の出現したI型類似のコラーゲンがI型コラーゲンであることを示唆しているものといえよう。Mayne¹⁹⁾はMarfan syndrome, osteogenesis imperfectaの培養線維芽細胞中に通常 $\alpha_1(I)\alpha_2(I)$ 型コラーゲンとは異なる $\alpha_1(I)_3$ のトリマー型I型コラーゲンが出現すると述べている。Narayanan²⁰⁾病的なgingivaからの線維芽細胞からトリマー型のI型コラーゲンが形成されたと述べている。これらの事は病的状態で出現したI型コラーゲンの場合はトリマー型のコラーゲンである可能性も示している。

眼内異物、眼球破裂の症例からのみI型様コラーゲンの出現がみられたがどのような理由からであろうか。Cleary²¹⁾は家兎眼に実験的外傷性牽引性網膜剥離を起こすとき強膜に切開を加え自家血を硝子体に注入したものでは、強膜に切開を加えないものに比べ硝子体増殖膜の形成が強く起こると述べている。増殖膜の形成に上強膜、脈絡膜、毛様体の無色素上皮細胞も関与するようになる事が原因であろうと考察している。自験例では交通外傷による眼球破裂眼からよりも眼内異物眼からの増殖性硝子体膜からI型様コラーゲンの出現をみる症例が多かった。I型様コラーゲンが創傷修復過程の反応として出現する考えるならば眼内異物の方が眼球破裂眼よりも修復機序が強いことを示唆しているのではなからうか。一般に創傷修復は受傷後2日目ぐらいの早い時期から開始されるとされる²²⁾²³⁾。このときはコラーゲンの分泌が行われる前にまずグリ

コースアミノグリカンの分泌がなされるといわれる²⁴⁾。自験例の眼内異物眼でI型様コラーゲンが出現していなかった症例では受傷からビトレクトミーまで1カ月間より修復治癒反応は充分進んでいる筈であり、基本的にI型コラーゲンの出現しなかった反応であろうと考えられる。

以上各疾患にみられた病的硝子体膜のコラーゲン線維の形態から考えると通常のII型コラーゲンが増殖性反応に関与し、突発的で救急の増殖性反応にはII型コラーゲンばかりでなくI型様コラーゲンも関与してくと考えられた。

文 献

- 1) **Machmer R, van Horn D, Aabery TM**: Pigment epithelial proliferation in human retinal detachment with massive periretinal proliferation. *Am J Ophthalmol* 84: 383—393, 1977.
- 2) **van Horn D, Aabery TM, Machmer R, et al**: Glial cell proliferation in human retinal detachment with massive periretinal proliferation. *Am J Ophthalmol* 84: 383—393, 1977.
- 3) **Green WR, Kenyon KR, Michels RG, et al**: Ultrastructure of epiretinal membranes causing macular pucker and retinal re-attachment surgery. *Trans. ophthalmol Soc UK* 99: 65—77, 1979.
- 4) **Mandelcorn MS, Machmer R, Rinberg E, et al**: Proliferation and metaplasia of intravitreal retinal pigment epithelium cell autotransplants. *Am J Ophthalmol* 80: 227—237, 1975.
- 5) 原 彰, 松本和子, 小柴良博他: 人眼増殖性硝子体膜の細胞外マトリックスについて. *眼紀* 37: 774—778, 1986.
- 6) **Gay S, Miller E**: What is collagen, what is not. *Ultrastructural pathology* 4: 365—377, 1983.
- 7) 永井 裕, 藤本大三郎: コラーゲン代謝と疾患. 講談社サイエンティスユック, 1982.
- 8) **Ruggeri A, Mott PM**: Ultrastructure of the connective tissue matrix. *Martinus Nijhoff Pub* Boston 1984.
- 9) **Snomden JM, Swann DA**: Vitreous structure. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 19: 610—618, 1980.
- 10) **Carner A, Klintworth GK**: Pathobiology of ocular disease. *Marcel Dekker Inc* New York, 1982.
- 11) 北岡光彦, 上田みち子, 小山田郁子他: 軟骨型コラーゲンによる異型岡期性線維の電顕的観察. *体質医研報* 32: 46—48, 1981.
- 12) 梶川欽一郎: 結合組織. 金原出版, 1984.
- 13) **Ghadially FN**: Ultrastructural pathology of the cell and matrix. *Butterworths, Ondon*, 1982.
- 14) **Longacre JJ**: The ultrastructure of collagen. *Charles C Thomas Pub. Springfield*, 1976.
- 15) **Constable IJ**: Pathology of vitreous membranes. In *vitreous surgery and advances in fundus diagnosis and treatment*. ed Freeman HM, Hirose T, Schpense CL, Appleton-century Crofts, 1977.
- 16) **Swann D**: On the integrity of vitreous structure. in *vitreous surgery and advances in fundus diagnosis and treatment* ed Frenan MM., Hirose T, Schepeus CL.
- 17) **Raymond LA, Chromokos E, Bibler LW, et al**: Change in vitreous collagen after penetrating injury. *Ophthalmic Res* 17: 102—105, 1985.
- 18) **Müller PK, Lemmen K, Gay S, et al**: Immunochemical and biochemical study of collagen synthesis by chondrocytes in culture. *Exp Cell Res* 108: 47—55, 1977.
- 19) **Mayne R, Vail M, Miller EJ**: Analysis of changes in collagen biosynthesis that occur when chick chondrocytes are grown in 5-bromo-2'-deoxyuridine. *Proc Nat Acad Sci USA* 72: 4511—4515, 1975.
- 20) **Narayanan AS, Page RC**: Biochemical characterization of collagens synthesised by fibroblasts derived from normal and diseased human gingiva. *J Biol Chem* 251: 5464—5471, 1976.
- 21) **Cleary PE, Ryan SJ**: Experimental posterior penetrating eye injury in the rabbit. *Brit J Ophthalmol* 63: 312—321, 1979.
- 22) **van der Meulen**: Present state of knowledge on process of healing in collagen structures. *Int J Sports Med* 3: 4—8, 1982.
- 23) **O'Hare RP, Fallon A, Brodley JF, et al**: Isolation of collagen stimulating factors from healing wounds. *J Clin pathol* 36: 707—711, 1983.
- 24) **Stanbesand J, Fisher N**: The ultrastructural characteristics of abnormal collagen fibrils in various organs. *Connect Tiss Res* 7: 213—217, 1980.

(第92回日眼総会原著)