

人工水晶体細胞反応に関する実験的研究

(5) 酵素抗体法による観察 (図4)

金川 龍一・近江 俊作 (和歌山県立医科大学眼科学教室)
田村 学・上野山謙四郎Experimental Study of Cellular Response on the
Intraocular Lens Surface(5) Light Microscopic Observation Using
Enzyme-Labeled Antibody Method

Ryuichi Kanagawa, Shunsaku Ohmi, Manabu Tamura and Kenshiro Uenoyama

Department of Ophthalmology, Wakayama Medical College

要 約

移植された人工水晶体 (IOL) 表面に増殖する細胞について、その細胞形態並びに動態を知る目的で、家兎の水晶体嚢外摘出術後 IOL を移植して観察した。摘出した IOL 表面に抗マクロファージ抗体を用いて、免疫組織化学的検索を行なった。その結果、IOL 表面には多数のマクロファージ様細胞がみられた。マクロファージは IOL 異物反応において主役の役割を演じているものと考えられる。(日眼 92: 1520—1522, 1988)

キーワード: 人工水晶体, 細胞増殖, 酵素抗体法, マクロファージ

Abstract

Immunohistochemical study was carried out to observe cellular proliferation on the surface of the implanted intraocular lens (IOL) in the rabbit eye. After extracapsular lens extraction, a posterior chamber lens was implanted. One week after implantation, the IOL was removed and examined by an indirect immunohistochemical method using anti-macrophage anti serum. Numerous macrophages and related cells including epithelioid cells, giant cells and fibroblast-like cells, were stained on the surface of the IOL. The majority of cells observed on the implanted IOL were macrophages. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 92: 1520—1522, 1988)

Key words: Intraocular lens, Cellular proliferation, Enzyme-labeled antibody method, Macrophage

I 緒 言

眼内に移植された人工水晶体 (IOL) 表面に増殖した細胞反応については、Wolter¹⁾が最初に報告し、その後同様な研究が報告されているが、組織化学的手法によって観察した報告は少ない。我々は、以前より眼内レンズの異物反応について組織学的に検討を重ねてき

た。今回は、新たに抗マクロファージ抗体を用い、免疫組織化学的方法により検討を加えたのでそれについて報告する。

II 実験方法

1. 標本の作製

実験動物として体重約2.5kgの成熟雄性白色家兎

別刷請求先: 640 和歌山市七番丁27 和歌山医大眼科 金川 龍一 (昭和63年5月18日受付)

Reprint requests to: Ryuichi Kanagawa, M.D. Dept. of Ophthalmol., Wakayama Medical College
7 Bancho 27, Wakayama 640, Japan

(Accepted for publication May 18, 1988)

(5羽, 10眼)を用いた。家兎をネンブータルで全身麻酔したあとに、ミドリンPで散瞳後、水晶体囊外摘出術を施行した。水晶体摘出後、ヒーロンを後房に注入し市販のIOLを後房に移植した。術後は毎日肉眼的に経過観察を行なった。7日目にIOLを摘出して組織化学的に検討した。

2. 免疫組織化学

摘出IOLは10%ホルマリン—カルシウムで4℃24時間固定した。続いて0.3%過酸化水素加メタノール(30%過酸化水素原液:メタノール=1:100)に室温で20分間浸漬して内因性ペルキオキシダーゼ活性の除去を行なった。一次抗体は、ラット腹腔浸出マクロファージを家兎にて免疫して得られた抗血清のIgG分画を

200倍に希釈したものをを用い、4℃12時間反応させた。反応後 phosphate buffered saline (PBS) で洗浄し、二次抗体としてペルオキシダーゼ標識抗ウサギ IgG を200倍に希釈したものをを用い、4℃で6時間反応させた。反応後PBSで洗浄し、3, 3'diaminobenzidine (DAB)溶液で室温にて反応させた。DAB溶液は20mgのDABを100mlのトリス緩衝液に溶解し100 μ lのH₂O₂を加えたものである。反応後、水洗してキシロールを経てバルサムに封入し、光学顕微鏡で観察した。なお対照には一次抗体として正常ウサギ血清を用いた。

III 結 果

術中、術後とも重篤な合併症は認められなかった。

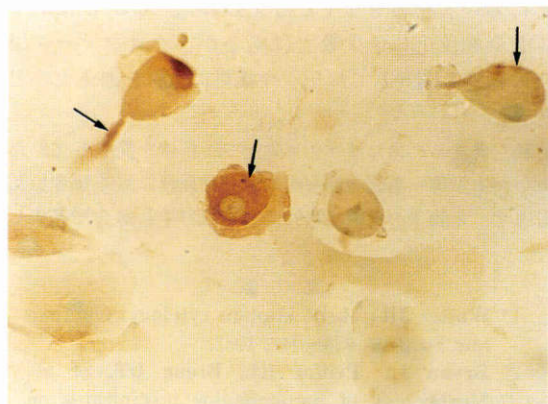


図1 IOL上に出現した円形細胞を示す。円形細胞はマクロファージ抗血清による染色に、強いDAB陽性反応を示した(矢印)。(酵素抗体間接法×475)



図2 IOL上に出現した類上皮細胞を示す。細胞膜にDAB陽性反応がみられる(矢印)。(酵素抗体間接法, ×610)

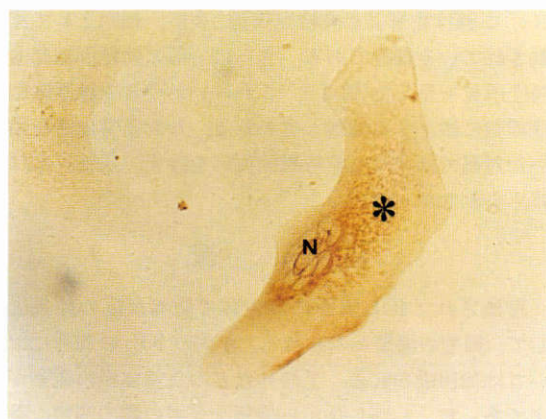


図3 IOL上に出現した多核巨細胞を示す。この細胞は巨大であるとともに核(N)が複数みられる。DAB陽性反応は細胞膜に認められる(*印)。(酵素抗体間接法×450)

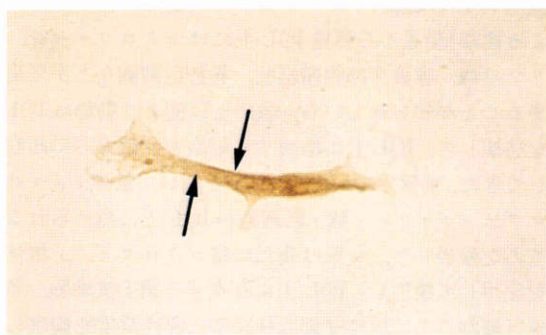


図4 IOL上に出現した線維芽細胞を示す。細胞膜にDAB陽性反応(矢印)が認められる。(酵素抗体間接法×520)

術翌日、角膜には軽度の浮腫が認められたが、7日目には角膜はほぼ透明化していた。術後7日目に摘出した IOL は肉眼的には透明であってその表面には著変は認められなかった。

光顕下の観察によって IOL 表面には各種の形態を示す細胞が散在していた。例えば図1のような直径20ミクロン前後の円形細胞、やや大型の不規則な形をした細胞(図2)が数多く認められた。これらの細胞は抗マクロファージ血清による染色によって細胞膜に強い陽性反応が出現し、一部の細胞では原形質にも弱い反応がみられた。円形の細胞はマクロファージであり、やや大型の細胞は類上皮細胞であると思われる。これらの細胞は移植7日目の IOL 上において最もよく観察される細胞であった。また胞体内に多数の核を有する大型の細胞にも DAB 陽性所見が認められた(図3)。これは従来より異物巨細胞、多核巨細胞として記載されている細胞である。さらに一部の紡錘形細胞も陽性所見を呈した(図4)。これはいわゆる線維芽細胞様細胞に該当する細胞と思われる。なお正常血清を用いた対照ではすべて非特異的反応を除き、陽性反応は認められなかった。

IV 考 按

移植された IOL 表面には生体の防御反応の結果として、細胞の増殖がみられる。従来の IOL の病理においては摘出眼の虹彩、毛様体などの支持組織の観察が主であった。しかしながら後房レンズの囊内固定、毛様体溝固定の安全性がほぼ確立した現時点において、生体における適合性を検討するために IOL 表面に増殖した細胞に関心が向けられるようになり、近年これらの細胞に関する報告が増加している。この分野では摘出 IOL の観察²⁾やスペキュラーマイクロスコープによる観察³⁾結果から移植 IOL 上にはマクロファージ、リンパ球、線維芽細胞様細胞、異物巨細胞などが出現することが知られている。我々も以前より動物に IOL を移植して、IOL 上に増殖する細胞を形態学的に観察してきた。前報⁴⁾では透過型電顕を用いて検索し、マクロファージ・リンパ球・巨細胞が IOL 上に認められることを報告した。今回は新たに抗マクロファージ抗体を使用して染色し、IOL 上に存在する類上皮細胞、多核巨細胞さらに線維芽細胞様細胞に陽性反応を観察した。マクロファージは単核貪食細胞系に属し、外来の異物を貪食・処理する働きをもつ⁵⁾。マクロファージが

分解できないような異物や菌体が永く残存する場合、類上皮細胞・多核巨細胞が出現することが知られている⁶⁾。この類上皮細胞、多核巨細胞の性質や由来についてはまだ不明な点が多い。今回の観察結果から我々はこのような推論を試みた。即ち最初に IOL 上に出現する細胞はマクロファージであって、これが経時的变化によって類上皮細胞、多核巨細胞に変化する。さらに紡錘形を示す線維芽細胞様細胞もマクロファージ由来のものと思われる。この観察結果は Wolter⁷⁾や Puck⁸⁾の報告と一致し、彼らも IOL 上に出現する細胞はマクロファージにその起源を求めている。IOL 上に増殖する細胞はほとんどが、マクロファージやマクロファージ起源の細胞で、マクロファージは IOL 異物反応において主役をなすと考えられた。しかしながら IOL 異物反応には少数ではあるがマクロファージ以外の細胞も関与しており、今後更に検討を加えたいと思う。

稿を終えるにあたりマクロファージ抗体を提供していた本学第一解剖学教室熊本哲三助教授に深く感謝いたします。本論文の要旨は第92回日本眼科学会総会で発表した。

文 献

- 1) Wolter JR: Lens implant cytology. *Ophthalmic Surg* 13: 939-942, 1982.
- 2) Bryan JA, Peiffer RL, Broun DT, et al: Morphology of pseudophakic precipitates on intraocular lenses removed from human patients. *Am Intra-Ocular Implant Soc J* 11: 260-267, 1985.
- 3) 岡田 潔, 佐川宏明, 戸張幾生: 眼内レンズ表面における異物巨細胞の運動性, *眼臨* 81: 1899-1903, 1987.
- 4) 金川龍一, 近江俊作, 榎本善収他: 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, *日眼* 91: 1099-1102, 1987.
- 5) 高橋 潔: 単核性食細胞系の問題点, *病理と臨床* 4: 226-230, 1986.
- 6) Roitt I, Brostoff J, Male D: IV 型アレルギー, 免疫学イラストレイテッド, 259-268, 南江堂, 1986.
- 7) Wolter JR: Cytopathology of intraocular lens implantation. *Ophthalmol* 92: 135-142, 1985.
- 8) Puck A, Tso MOM, Yue B: Cellular deposits on intraocular lenses. *Acta Ophthalmol* 170: 54-60, 1985.

(第92回日眼総会原著)