

家兎水晶体上皮細胞の貪食能 (図2)

木 勢 恵 一 (大手前病院)

三 國 郁 夫* (東海大学眼科)

Phagocytosis of Cultured Rabbit Lens Epithelial Cells

Keiichi Kise and Ikuo Mikuni*

Ootemae Hospital

*Department of Ophthalmology, School of Medicine, Tokai University

要 約

家兎で正常水晶体および外傷性白内障水晶体の上皮細胞培養を行い以下の結果を得た。1. 正常家兎水晶体上皮細胞は貪食能を示した。2. 外傷性家兎白内障水晶体上皮細胞も正常と同程度に貪食能を示した。3. 貪食能は水晶体上皮細胞のもつ特徴で、外傷性白内障の成因に直接関与しないものと思われた。(日眼 92: 518—521, 1987)

キーワード: 貪食, 上皮細胞, 水晶体, 外傷性白内障, ラテックス

Abstract

Normal and cataractous lens epithelial cells of rabbits were cultured and the following details were observed by light microscopy. Rabbit normal lens epithelial cells phagocytosed latex particles. Rabbit cataractous lens epithelial cells also phagocytosed latex particles in the same degree. It was speculated that phagocytosis is a specific feature of rabbit lens epithelial cells and that this phenomenon is not specific for cataractogenesis. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 92: 518—521, 1988)

Key words: Phagocytosis, epithelium, lens, traumatic cataract, latex particles

I 緒 言

網膜色素上皮細胞が視細胞外節を貪食消化する事は明らかになっている (Young, R.W.: 1967¹⁾, Young, R.W. & Bok, D.: 1969²⁾, Young, R.W.: 1971³⁾, Young, R.W.: 1973⁴⁾). 一方水晶体上皮細胞が貪食作用を持つかどうかについては現在確実な証明はされていない。しかし, Shumailova⁵⁾ (1974) は, 水晶体眼炎の際の水晶体上皮細胞がマクロファージ作用をもち, さらに Elshnig's pearls が上皮性食細胞であると述べている。三國ら⁶⁾ (1982) は実験的ラット白内障の電顕像で重層した上皮細胞の細胞質内に液泡様形成と細胞膜の破片様 debris を示し, これらが貪食された可能性もあると

考えた。Heiderkrüger ら⁷⁾ (1972) は, 胎生12日目のラット水晶体上皮細胞が貪食している所見を電顕像で示している。これらの報告から水晶体上皮細胞に貪食作用がある事は十分予想される。

したがって, 我々は老人性白内障水晶体上皮細胞を培養して貪食能を調べたところ, 10例中すべてに貪食様所見を認めた⁸⁾。

同様に正常な人眼水晶体上皮細胞も貪食能をもつものかどうか興味をもったが正常な人間水晶体を入手する事は極めて困難である為, 家兎の正常水晶体上皮細胞を培養しその貪食能を調べた。同時に, 家兎の外傷性白内障眼より水晶体上皮細胞を培養しその貪食能を調べ両者について比較検討し興味ある所見を得たので

別刷請求先: 259-11 神奈川県伊勢原市望星台 東海大学医学部眼科学教室 三國 郁夫 (昭和62年10月19日受付)

Reprint requests to: Ikuo Mikuni, M.D. Dept. of Ophthalmol., School of Med., Tokai Univ.

Boseidai, Isehara, Kanagawa 259-11, Japan

(Accepted October 19, 1987)

ここに報告する。

II 実験方法

1. 実験動物

体重約3kgの雄白色家兎8羽を用いた。

2. 化学薬品

Eagle's minimum essential medium (以下 MEM と略す)は、日水製薬(東京)から、牛胎児血清は GIBCO (Grand Island, NY, U.S.A.) から、latex 粒子 (平均直径 $1.091\mu\text{m}$) は、The Dow chemical Co. (Indiana-polis, U.S.A.) から購入した。

3. 培養水晶体上皮細胞の作製法

すべて右眼を対照眼、左眼を外傷性白内障眼(27G 注射針で10%牛胎児血清を含む MEM 0.2ml を水晶体に、in vivo で注入して作製)各々8眼ずつ、計16眼から水晶体を摘出した。

まず家兎を耳静脈より空気栓塞で殺した後、直ちに眼球を摘出した。眼球より摘出した水晶体は、Puck 液中に浮かばせて、実体顕微鏡下で水晶体後囊よりピンセットを用いて十字切開法により、前囊に向かって剝離した。水晶体前囊についた上皮細胞は、0.2ml の0.25%トリプシン液(DIFCO, U.S.A.)にいれて37℃、

5分間トリプシン消化を行った。5分後に10%牛胎児血清を含む MEM 液を0.5ml 追加してトリプシン消化を中止させた。ピペットでよくかく拌した後、あらかじめ preincubation してある Lab-Tek2 chamber 中の10%牛胎児血清を含む MEM 液に入れて5%CO₂、95%air のもとで培養した。細胞が Confluent にはえる迄(5~7日間)培養し実験に供した。

4. 食食能の観察

Latex 粒子を10⁸個/ml の濃度で含む MEM 液中で2日間食食反応させた。2日後に MEM 液で十分に洗浄し、エチルアルコールで1分間固定後、5分間ギムザ染色し、水洗後、光学顕微鏡で観察した。

III 結 果

光学顕微鏡所見

1. 対照眼

Confluent にはえた上皮細胞は、細胞の配列が乱れ、細胞自体の六角形のパターンは不正形である。多核をもつものや大小種々の細胞がみられ細胞質の中に空胞をもつものも少数みられる。Latex 粒子は核周囲の細胞質内へとり込まれるものが多く、核内にとり込まれ

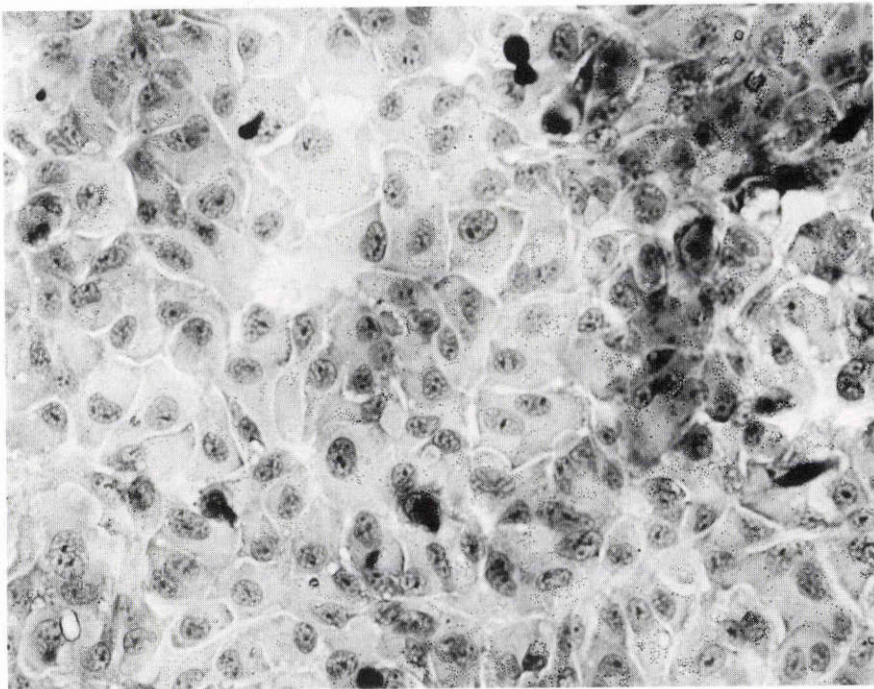


図1 正常な家兎水晶体上皮細胞の食食像。Giemsa 染色、 $\times 300$ 。

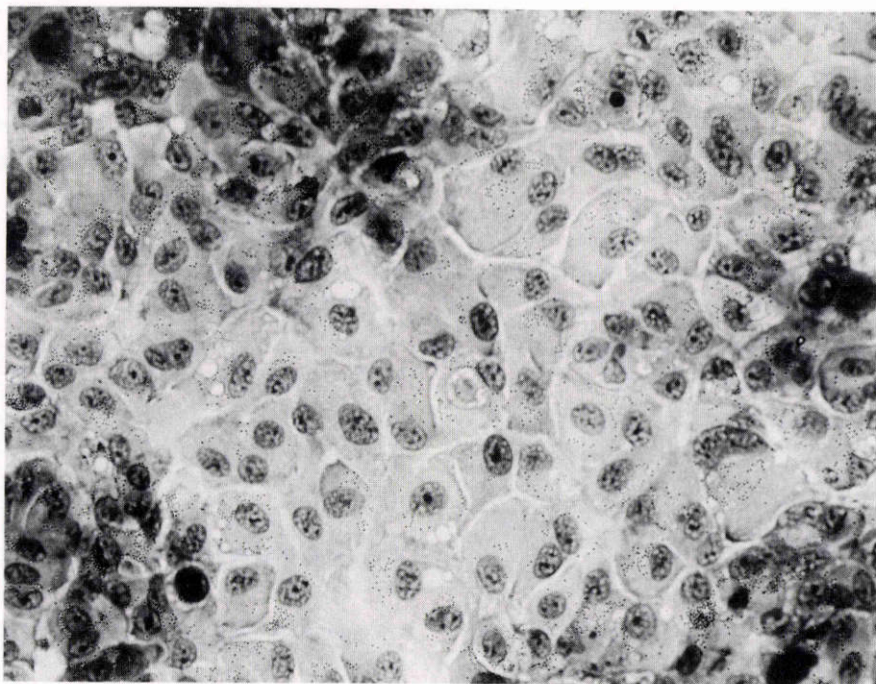


図2 外傷性家兎白内障水晶体上皮細胞の貪食像, Giemsa 染色, $\times 300$.

たように見えるものは少ない。

貪食能は, 光顕にて無作意に約100細胞を数え, 貪食していない細胞と比較すると全体の96%は貪食していることがわかった(図1)。

2. 外傷性白内障眼

Confluent にはえた白内障上皮細胞は, 対照眼と同様に細胞の配列が乱れて細胞自体の構造も六角形パターンはくずれている。多核をもつものもみられ細胞は大小種々である。細胞質には空胞のあるものがわずかにみられる。

Latex 粒子は細胞質内へとり込まれ核内にとり込まれた様に見えるのは少数である。貪食能は, 光顕にて無作意に約100細胞を数え貪食していない細胞と比較すると96%は貪食を行っていた(図2)。

IV 考 按

水晶体上皮細胞が白内障のような病的状態で貪食能を示すのか, あるいは正常でも貪食能をもっているのか興味あるところである。正常な人眼水晶体を手に入れることは極めて困難であるので, 代りに家兎の正常水晶体を用いて正常上皮細胞の貪食能を調べてみた。

正常および外傷性白内障水晶体上皮細胞培養において, 白川弘^{9)~11)}などがニワトリ胚培養網膜色素上皮細胞

で示したような培養上皮細胞に特徴的な六角形の整然とした配列の細胞は得られなかった。岩手医大細菌学教室から家兎水晶体細胞¹²⁾(Rabbit Lens Cells; RLC)を入手し, 10%牛胎児血清加 MEM で培養しても, 六角形の整然とした配列の細胞は得られなかった。したがって, 培養細胞の形態はこれ以上, 完成したものにするのは困難と考えて, この培養細胞を用いることにした。Latex 粒子を2日間培養液に加え, 十分に貪食を行わせた後, 10%牛胎児血清加 MEM で十分に洗浄し, latex 粒子が細胞表面や, 細胞間隙に残らないように注意した。それでもなお上皮細胞に latex 粒子が吸着している可能性もあるので, latex 粒子をとりこんだ細胞を, さらにテフロン・ポリスマン・ヘラで剝離し, 培養液中に浮遊させて, 培養顕微鏡を高倍率(400倍)にして, 立体的に細胞を観察することにより吸着ではなく確実に貪食されていることを確認した。光学顕微鏡で観察の際, 核と同じピントで見える latex 粒子は明らかに細胞にとりこまれた粒子つまり貪食と考え, 核上にかさなってみえる粒子は細胞質中かあるいは細胞膜に附着したものかは光顕的には判別が困難で今回の貪食からは除外して考えた。正常及び白内障上皮細胞ともに核の囲りに latex がとりこまれる傾向があり現在のところその理由は不明であるが興

味深い所見と思われた。正常水晶体上皮細胞を、光顕にて一視野の中で無作意に約100細胞を数え貪食していない細胞と比較すると全体の96%は貪食していることが判った。

同様の操作を外傷性白内障に行うと、96%の貪食がみられ、両者の間に有意の差はみられなかった。しかし貪食した latex の数を各細胞単位で算出し、貪食した latex 粒子分布をみると、両者に違いの出る可能性もあるのでこれから検討の予定である。

正常水晶体上皮細胞と外傷性白内障水晶体上皮細胞との間で in vitro で貪食能に差がないことは、貪食能が外傷性白内障と直接関係がないことも考えられるが、一つの事実として今回報告した。

稿を終えるにあたり、ご校閲いただきました尾羽沢大教授に感謝いたします。

文 献

- 1) **Younjg RW**: The renewal of photoreceptor cell outer segments. *J Cell Biol* 33: 61—72, 1967.
- 2) **Young RW, Bok D**: Participation of the retinal pigment epithelium in the rod outer segment renewal process. *J Cell Biol* 42: 392—402, 1969.
- 3) **Young RW**: Shedding of discs from rod outer segments in the rhesus monkey. *J Ultrastruct Res* 34: 190—263, 1971.
- 4) **Young RW**: Renewal system in rods and cones. *Ann Ophthalmol* 5: 843—852, 1973.
- 5) **Shumailova AN**: Phagocytosis in phakogenic ophthalmia. *Oftalmol Zh (Oftal'mologicheskii Zhurnal)* 29: 297—301, 1974.
- 6) **三国郁夫, 藤原隆明**: 実験的 Hydroxyurea 白内障における bow area 上皮細胞群の挙動について. *日眼* 86: 1308—1312, 1982.
- 7) **Heiderkrüger R, Merker HJ**: Electron microscopical studies on the lens development in rat embryos. *Z Anat Entwickl.-Gesch* 136: 115—124, 1972.
- 8) **三国郁夫, 木勢恵一**: 老人性白内障水晶体上皮細胞の貪食能. *日眼* 92: 514—517, 1988.
- 9) **白川弘泰, 荻野誠周, 松田晴子他**: 網膜色素上皮貪食能について. *眼紀* 33: 2387—2391, 1982.
- 10) **Ogino N, Matsumura M, Shirakawa H, et al**: Phagocytic activity of cultured retinal pigment epithelial cells from chick embryo: Inhibition by melatonin and cyclic AMP, and its reversal by taurine and cyclic GMP. *Ophthalmic Research* 15: 72—89, 1983.
- 11) **白川弘泰, 荻野誠周, 松村美代他**: ニワトリ胚培養網膜色素上皮細胞膜分画の adenylate cyclase 活性と guanylate cyclase 活性. *日眼* 88: 203—207, 1984.
- 12) **金生英雄**: 家兎水晶体上皮細胞の培養および Herpes Simplex virus の型決定への応用についての研究. *岩手医誌* 36: 341—353, 1984.