32 - (746)

Iodoacetic Acid 硝子体内注入による実験的白内障の 病理組織学的研究(図6)

戸 塚 秀 子*・Toichiro Kuwabara** (*信州大学医学部眼科学教室)

Histopathological Study of Experimental Cataract Induced by Intravitreal Injection of Iodoacetic Acid

Hideko Totsuka and Toichiro Kuwabara*

Department of Ophthalmology, School of Medicine, Shinshu University *National Eye Institute, National Institutes of Health, U.S.A.

要 約

ラット硝子体内に5mM, 10mM, 50mMの各濃度の Iodoacetic Acid (IAA) を注入し, 経時的に水晶体及 び網膜を光学顕微鏡にて観察した. IAA は直接水晶体上皮に作用し, その分化機能を障害した. 10mMIAA で は不完全な水晶体線維の形成や bladder cell を生じ,後嚢下白内障を発症した. 高濃度では, 上皮は完全に分 化能力を喪失して異常増殖し,速やかに成熟白内障に進行した. 低濃度では, 経過中に分化機能の回復現象が 認められ,痕跡的な混濁は進行しなかった. IAA による水晶体上皮の障害は濃度依存性が認められ,白内障の 進行と密接な関係を示した. 同様の病理組織像を呈するヒト後嚢下白内障において,発症機転に上皮細胞障害 が関与していることが示唆された. (日眼 92:746-751, 1988)

キーワード: iodoacetic acid, 後嚢下白内障, bladder cell, 水晶体上皮細胞

Abstract

Rats were injected intravitreally with various concentrations of iodoacetic acid (IAA). Eyes were regularly studied by light microscopy at various time intervals after injection. IAA damaged lens epithelial cells and caused deficiency in differentiation. Epithelial cells displaced posteriorly, forming aberrant lens fiber and bladder cells with 10mM IAA. Posterior subcapsular catarect was observed in lenses. High dose IAA induced complete arrest of differentiation and abnormal proliferation of epithelial cells. Lenses showed rapidly progressing mature cataracts. Damaged epithelial cells regained normal differentiation ability in course of time with low dose IAA and opacity was unchanged. Epithelial cell damage by IAA was dose-related and was closely related to the progress of cataract. It is suggested that epithelial dysfunction plays a role in the development of human posterior subcapsular cataract which shares many histopathological features with IAA-induced cataract. (Acta Soc Ophthalmol Jpn. 92:746-751, 1988)

Key words : iodoacetic acid, posterior subcapsular cataract, bladder cell, lens epithelial cell

別刷請求先: 390 松本市旭 3 — 1 — 1 信州大学医学部眼科学教室 戸塚 秀子 (昭和63年 2 月 9 日受付) Reprint requests to: Hideko Totsuka, M.D. Dept. of Ophthalmol., School of Med., Shinshu Univ. 3-1-1 Asahi Matsumoto 390, Japan (Accepted February 9, 1988)

I 緒 言

Iodoacetic Acid (IAA)の静脈注射により, 網膜 視細胞が特異的に障害されることが報告¹⁾されて以 来, 網膜変性症の実験モデルとして広く研究されてき た.一方 Cibis ら²⁾は白内障も惹起されることを報告し たが, 網膜変性に二次的な変化とする意見³⁾もあり, 詳 細な検討はなされていない.本剤は組織障害量と致死 量とが非常に近いため,全身投与では致死率が高く¹⁾, 系統立った動物実験が困難である.そこで我々は,全 身的影響の少ない硝子体内注入を試みた.本方法によ り白内障の発症過程を明らかにし,その用量との関係 を病理組織学的に検討したので報告する.

II 実験方法

IAA 溶液は sodium iodoacetate (Sigma 社製) を生 理的食塩水で溶解し, NaOH により PH7.4に調整し た. 溶液は50mM, 10mM, 5mM 濃度の3種を作製し た.

実験には、体重200gの Sprague-Dawley 系ラットを 使用した. 各ラットをベントバルビタールの腹腔内注 射により麻酔し、眼球の耳側赤道部で、強膜より垂直 に硝子体中央部に向けて30ゲージ針の Hamilton マイ クロシリンジを刺入した. 瞳孔領より、針先が硝子体 中にあること、水晶体が損傷されていないことを確認 した後、 5μ lの IAA 溶液を硝子体内に注入した. 対照 実験としては同量の生理的食塩水を用いた.

注入後5時間,24時間,3日,1週から4週までの 各週と6週間,8週間,12週間後に生体顕微鏡下でラッ ト水晶体を観察した後,眼球摘出を行った。各時期に おける IAA 注入眼および対照眼とも,各々4 眼以上に なるように実験を行った。

眼球摘出後,角膜に小切開を加えた後に10%ホルマ リンに固定し,所定の方法にてアルコール脱水し,メ タクリル樹脂に包埋した.視神経乳頭を通る矢状断で 厚さ2.5µmの切片を作成し,ヘマトキシリン・エオジ ンおよび PAS 反応後光学顕微鏡にて観察した.なお, 1 眼につき少なくとも8切片以上作成し,鏡検した.

III 結 果

1. 10mMIAA 注入群

注入5時間後には、核濃縮や浮腫に陥った水晶体上 皮細胞が散在的に認められ、一部は壊死に陥り欠落し ていた(図 1a). この上皮の変化は germinal zone か



図1 10mMIAA の硝子体内注入後5時間 a:水晶体上皮には,核濃縮に陥った細胞や浮腫を来 たした細胞が認められる。一部の上皮細胞は壊死に陥 り欠落している(矢印).(H.E.染色,×320) b:赤道部では,bow 細胞が浮腫を来たし,上皮はびま ん性に核濃縮を生じている。(H.E. 染色,×210)

ら赤道部にかけて最も強く,この領域では上皮はびまん性に障害されていた.また,赤道部では bow 細胞の 浮腫が認められた (図 1b).

24時間後には, germinal zone から赤道部にわたる 壊死上皮は脱落して一塊となり,浮腫を来たした bow 細胞は,この壊死塊とともに赤道部において境界鮮明 な腫大細胞の集合体を形成した.一方,germinal zone から赤道部にかけての上皮は修復され,新しい上皮細 胞で被れていた(図2).

その後、赤道部の腫大細胞群は壊死塊をとり囲むよ うに elongation し、膨潤した水晶体線維となってい た.一方修復された上皮細胞は、赤道部で浮腫線維を 形成しながらその核は後方に偏位してゆき、bow 構築 に不正像を生じた(図 3a). 2~3週間後には、これら の膨化線維の伸展に一致して、臨床的に、赤道部から



図2 10mMIAAの硝子体内注入後24時間の水晶体 赤道部. 壊死上皮は脱落して一塊となり(矢印). 著 しく腫大した bow 細胞も浮腫細胞集塊を形成して いる. 赤道部の上皮は修復され,新しい上皮細胞で 被れている.(H.E.染色,×210)

後方にかけて大きな vacuole が観察された(図 3b).同 一水晶体においても,切片により正常な bow 構築も観 察され,赤道部の変化は全周にわたるものではなく, 部分的におきていた.

4週間後には異常線維は後極に達し,後嚢下に形や 大小不同の細胞集積像が認められた.これらの線維細 胞は核を保有しており,浮腫の著明な bladder cell や 線維の特徴を示す interdigitation を持った紡錘形細 胞が混在していた.そして,bow 構築様の細胞配列も 散見された(図 4a).水晶体には,後嚢下に微細なレー ス状のびまん性の混濁が観察され,典型的な後嚢下白 内障を呈していた(図 4b).

その後、これらの異常線維は次第に変性に陥るとと もに正常皮質との境界域にも皮質線維の変性が始ま り、6週間後には後皮質に液化や debris の散布領域が



図3 10mMIAA の硝子体内注入後2週間 a:水晶体赤道部では,新しく形成されつつある水晶 体線維の核が後方に偏位し,bow 構築が乱れている. これらの線維は膨化しており,正常の皮質線維との境 界(矢印)は鮮明である.(H. E. 染色,×210) b:水晶体には,赤道部より後方にかけて大きな vacuole が観察される.

形成された.そして,水晶体は後皮質の混濁が増強し ていった. 昭和63年5月10日



図4 10mMIAA の硝子体内注入後 4 週間 a:異常線維は後極に達し,後囊下に著明な浮腫を来 たした bladder cell が集積している. interdigitation を示す紡錘形の細胞や, bow 構築様の細胞配列(矢印) が認められる.(H.E. 染色,×90) b:水晶体には,後嚢下白内障が観察される.

2. 50mMIAA 注入群

注入後早期の上皮障害は著明で,多くの細胞が壊死 に陥って欠落し、上皮細胞層は虫食い状を呈した、そ の後上皮細胞は全く bow を形成せず, 後嚢に沿って後 方へ異常に増殖していった(図5). どの切片において も bow は観察されず、赤道部全周にわたる変化であっ た. これらの異常上皮は顕著な核小体を有しており, 重層化や不正な配列を示し, mitosis も散見された. そ して、2週間後にはすでに後極に達した。水晶体がこ れらの異常上皮で被れると, 隣接する皮質線維は変性 し始め、膨潤や液化を来たした(図 6a). 異常上皮は随 所に限局的な増殖細胞集塊を形成し, 胞体内に変性水 晶体物質を取り込んだ細胞も観察された(図 6b). そし て皮質線維の変化は急速に進行し、4週間後には皮質 全層にわたる線維の崩壊を生じた. Suture は広く楔状 に開離し、この領域には液化物質が貯留していた、臨床 的には,水晶体は乳白色に混濁し成熟白内障を呈した.



図5 50mMIAAの硝子体内注入後3日の水晶体赤 道部.上皮細胞は全くbowを形成せず,後方に向 かって増殖しつつある.その細胞配列は不正になり, 一部には重層化がみられる.24時間後にみられた浮 腫細胞群は壊死塊をとり囲むようにelongationし, 膨化線維(星印)を形成している.(H.E.染色,× 220)

これらの異常上皮は徐々に基底膜物質を産生し, capsuleの肥厚および上皮細胞間に PAS 反応陽性の 小球状体を形成した.その後上皮は, fibroblast 様の細 胞に metaplasia をおこし,水晶体は次第に石灰化,萎 縮を来たした.

3. 5mMIAA 注入群

早期の上皮細胞の変化は軽微で,赤道部の bow 細胞 に軽い浮腫を認めたが,24時間後には浮腫は消失した. その後,散在性に bow 構築の不正,浮腫線維の形成や 脱核の遅延を生じたが,2~3週間後より再び正常な bow が形成されるようになった.新しい正常線維によ り,浮腫線維は皮質深層におしやられ,後皮質に帯状 に配列して水晶体細胞構築の乱れを生じたが,変性に 陥ることはなかった.臨床的には,水晶体後皮質に微



図6 50mMIAA の硝子体内注入後2週間の水晶体 後極部

a:異常上皮細胞は後極に達し,水晶体後皮質は上皮 で被れている.この上皮に隣接する皮質線維には,膨 潤や液化(星印)が認められる.mitosis(矢印)がみ られる.(H.E.染色,×310)

b:異常上皮は顕著な核小体を有し,随所に増殖細胞 集塊を形成している.胞体内に変性水晶体物質をとり 込んだ細胞(矢印)が認められる.(H.E.染色,×350)

細な混濁が観察されたが、白内障の進行は認められな かった.

各濃度の IAA 注入群とも,水晶体上皮に変化を認め た注入後早期には,網膜に特異的な変化は認められな かった.50mMIAA 注入群では,速やかに全層にわた る著明な非特異的網膜障害が進行した.10mM および 5mMIAA では,徐々に視細胞層の変性,萎縮が進行し たが,その程度は部位的,時間的にばらつきが大きかっ た.

同量の生理的食塩水の硝子体内注入によっては,水 晶体,網膜ともに何ら変化は認められなかった.

IV 考 按

Cibis ら²¹の報告した IAA の全身投与による白内障 は、臨床的にも形態学的にも本実験の10mM 投与群に 生じた白内障にほぼ一致している,しかし,全身投与 実験では白内障発現までの潜伏期間や混濁程度に著し いばらつきがあり,発症率もあまり高くはない.我々 の実験では,IAA の硝子体内注入により全身的影響を 受けることなく dose を変えることができ,白内障の 進行と IAA 濃度との関係において再現性のある結果 が得られた.Tieri ら³は網膜変性と白内障出現との time lag を指摘し,白内障は網膜変性に二次的に生じ たものと考えた.しかし,本実験では IAA の注入直後 に水晶体上皮の変化を生じた.そしてその後の一連の 病理組織学的変化は,臨床的に認めうる水晶体混濁に 先行することが示され,IAA は直接水晶体上皮を障害 することが明らかとなった.

IAA 注入後早期には、上皮に細胞浮腫や欠落、クロ マチンの凝集を生じ、これらの障害細胞の分布頻度は IAA 濃度に依存していた.このような上皮の病理組織 所見は、放射線照射により生じる変化⁴⁾と類似してい る.また本実験で認められた上皮細胞の減少は、水晶 体の加令現象においても観察されており、老人性白内 障の一要因として指摘されている⁵⁾.

次に各濃度における経時的な水晶体の変化を比較検 討する。10mMIAA 投与群では、障害された上皮はそ の後膨化線維を形成した. これらの線維は elongation が不充分で,赤道部より後方に向かう短い線維となっ て後方に偏位していった. この時期に肉眼的に観察さ れた赤道部後方の大きな vacuole は、光顕像における 膨化線維の伸展に一致しており, また正常線維と膨化 線維との間には鮮明な境界が認められたことより、屈 折の異なる両者の間の光学的不連続に起因するもので あろう.異常線維細胞は核を保有しており、限局的な 膨化を示すものから浮腫の著明な bladder cell まで 様々な形態を示した. これらの細胞は脱核⁶⁰の障害が あり、水晶体線維への成熟"が不完全であることを示 していると考えられる.またその形態の多様性は、様々 な分化程度および成熟段階を反映しているものと推察 される. 同様な上皮細胞の後方偏位は, 遺伝性白内障 マウス8)9),老人性白内障10),放射線白内障11),眼内炎 の併発白内障¹²⁾, gyrate atrophy¹³⁾, 網膜色素変性症 やステロイド白内障14)でも認められている.50 mMIAA によっては異なった白内障進行様式が観察 された. 著明な早期の上皮障害の後, その分化能力は 完全に失われ、後方へ異常に増殖していった、これら の上皮は顕著な核小体を持ち, germinal zone 以外で の細胞分裂,基底膜物質の産生,胞体内への変性水晶

体物質のとり込みなど,異常活性が示唆された.そし て, 異常上皮に隣接する皮質線維には, 急速に膨潤や 液化が始まった. Streeten ら¹⁰は,輪状に配列した後 方偏位細胞に囲まれた皮質線維の液化領域を認め,本 実験結果と類似した所見を観察している. そして, 偏 位細胞には発達した細胞内小器官や lysosome がみら れるため白内障の進展に cytolysis の関与が推察され ており15)、本実験で認められた上皮の異常活性は興味 深い所見である、一方5mMIAA では、上皮は経過中に 再び正常な分化能力を回復し、一時的に形成された異 常線維は、かつて成熟過程に障害を来たしたことを示 す痕跡として皮質深層に残存した.このように IAA に よる上皮細胞の機能障害は濃度依存性を示し, 白内障 の進行と密接な関係が認められた. Worgul ら16)は、X 線の線量により上皮の反応が異なることを指摘し、本 実験における IAA 量と上皮障害の関係に類似してお り両者の白内障発症機序に共通性が推定される.

以上述べた如く IAA による白内障は、一次的な上皮 障害にひき続き二次的に水晶体線維の変化を来たし、 その病理像はヒト後嚢下白内障と同様所見が示され た.したがって、ヒト白内障にみられる異所性上皮や bladder cell は、分化能力の低下した上皮細胞にその 起源を求めることができるであろう.Eshaghian ら¹⁵⁾ は、ヒト後嚢下白内障における上皮の後方偏位は後極 での外的要因か変性水晶体線維によるかは不明である が、何らかの刺激に対する反応であろうと述べている. しかし、本実験結果より初発変化は上皮であり、赤道 部からの病変が進行して来たものであることが示唆さ れる.これらのことより、ヒト後嚢下白内障の発症機 転において上皮細胞の機能障害が関与していると考え られる.

終りに,技術的協力をいただいた Mrs. Nicole Newman に感謝致します.

尚,本論文の要旨は,第91回日本眼科学会総会において発 表した。

文 献

- Noell WK: The impairment of visual cell structure by iodoacetate. J Cell Comp Physiol 40: 25-45, 1952.
- Cibis PA, Constant M, Pribyl A, et al: Ocular lesions produced by iodoacetate. Arch Ophthalmol 57: 508-519, 1957.
- Tieri O, Vecchione L: Monolateral cataract provoked with iodoacetic acid. Acta Ophthal-

mologica 41: 205-212, 1963.

- Cogan DG, Donaldson DD: Experimental radiation cataracts. 1. Cataracts in the rabbit following single X-ray exposure. Arch Ophthalmol 45: 508-522, 1951.
- Kuwabara T: Age-related changes of the eye. Han SS, Coons DH, The University of Mishigan, 46-78, 1977.
- Imaizumi M, Kuwabara T: Denucleation process of the lens. Invest Ophthalmol 13: 973 -981, 1974.
- Kuwabara T: The maturation of the lens cell: A morphologic study. Exp Eye Res 20: 427 -443, 1975.
- Uga S, Kador PF, Kuwabara T: Cytological study of Philly mouse cataract. Exp Eye Res 30: 79-92, 1980.
- Burns RP, Anderson RS, Feeney-Burns L: Cataract-webbed trait in Peromyscus. II. Biomicroscopy and histology of eyes. Invest Ophthalmol 19: 31-42, 1980.
- 10) Streeten BW, Eshaghian J: Human posterior subcapsular cataract: A gross and flat preparation study. Arch Ophthalmol 96: 1653 -1658, 1978.
- Cogan DG, Donaldson DD, Reese AB: Clinical and pathological characteristics of radiation cataract. Arch Ophthalmol 47: 55-70, 1952.
- 12) Friedlaender RP, Barile MF, Kuwabara T, et al: Ocular pathology induced by the suckling mouse cataract agent. Invest Ophthalmol 15: 640-647, 1976.
- 13) Kupfer MK, Kuwabara T, Uga S, et al: Cataract in gyrate atrophy: Clinical and morphologic studies. Invest Ophthalmol 24: 432 -436, 1983.
- 14) Eshaghian J, Rafferty NS, Goossens W: Human cataracta complicata: Clinicopathologic correlation. Ophthalmology 88: 155 -163, 1981.
- 15) Eshaghian J, Steeten BW: Human posterior subcapsular cataract: An ultrastructural study of the posteriorly migrating cells. Arch Ophthalmol 98: 134-143, 1980.
- 16) Worgul BV, Merriam GR, Szechter A, et al: Lens epithelium and radiation cataract. I. Preliminary studies. Arch Ophthalmol 94: 996 --999, 1976.

(第91回日眼総会原著)