人工水晶体表面における細胞反応の透過型電子顕微鏡による研究（図4，表1）

石橋　達朗・菅井　滋・久保田敏昭
大西　克尚・猪俣　孟　（九州大学医学部眼科学教室）

Cellular Responses on the Intraocular Lenses: A Transmission Electron Microscopic Study

Tatsuro Ishibashi, Sigeru Sugai, Toshiaki Kubota, Yoshitaka Ohnishi and Hajime Inomata

Department of Ophthalmology, Faculty of Medicine, Kyushu University

要　約

人工水晶体（IOL）表面における細胞反応を透過型電子顕微鏡で観察できる新しい試料作製法を開発した．この方法は通常の透過型電子顕微鏡による観察のための試料作製の過程のうち，試料をアルコール系列による脱水後，プロピレンオキサイドを通さないでエポキシ樹脂に包埋するもので，試料作製時におけるIOLの溶解を防ぐことが可能である．この方法によって，移植後7日間経過したサル眼のIOLを観察すると，IOL表面にはマクロファージと多核巨細胞が同定された．また，これらの細胞とIOL表面との関係を明らかにすることができた．（日眼　92：762—766，1988）

キーワード：人工水晶体，透過型電子顕微鏡，マクロファージ，多核巨細胞

Abstract

We developed a new method of specimen preparation for the study of cellular responses on the intraocular lenses using a transmission electron microscope. This procedure eliminates propylene oxide treatment of the materials during the routine preparation processes for transmission electron microscopy. Using this procedure, two types of cells were identified on the intraocular lenses which were obtained from monkey eyes 7 days after implantation. These cells possessed the definite structural features of macrophages and multinucleated giant cells. The relation between these cell components and the intraocular lens surface was also clarified. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 92 : 762—766, 1988)

Key words: Intraocular lens, Transmission electron microscopy, Macrophage, Multinucleated giant cell

I　緒　　言

人工水晶体移植術は手術手技や挿入する人工水晶体（IOL）の材質や形状の大幅な改善により，この手術の安全性が増すにつれて，我が国においてもその普及率は目をみはるものがある．しかしながら，生体にとって異物であるIOLがどのようにして眼内環境に順応していくかは明らかでない．

臨床的にはスペキュラーマイクロスコープ[1]，組織学的にはWolterの開発したImplant Cytology

別刷請求先：812　福岡市東区馬出3－1－1　九州大学医学部眼科学教室　石橋　達朗　（昭和63年2月5日受付）
Reprint requests to: Tatsuro Ishibashi, M.D.　Dept. of Ophthalmol., Faculty of Med., Kyushu Univ
3-1-1 Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka 812, Japan
(Accepted February 5, 1988)

Technique[2)~5)]や走査型電子顕微鏡[6)~8)]を用いて，IOL表面に付着した細胞成分などが観察されている．しかし，これらの方法を用いても，付着した細胞の正確な同定は不可能である．細胞の同定には透過型電子顕微鏡による観察が必要であるが，現在よく使用されているIOLの素材がpolymethylmethacrylate（PMMA）のため，通常の試料作製の過程でPMMAが溶けてしまい，IOL表面に付着する細胞の同定は難しくなる．また仮に試料作製の過程でIOLが残っても，PMMAが硬質のため，切片作製が困難である．

今回我々は試料作製過程に改良を加えた結果，サル眼に移植したIOL表面に付着した細胞成分を透過型電子顕微鏡で同定することができたので報告する．

II　実験方法

1．実験動物および手術方法

実験動物として体重4～7kgのMacaca fuscata（日本ザル）（3匹，3眼）を用い，ケタラール10～15mg/kgの筋注による麻酔下にシムコ針による計画的嚢外法（ECCE）を施行した．ECCE後，通常のIOL手術に準じてIOLを後房に挿入した．IOLの素材はPMMAで市販のものを使用した．挿入はできるだけ嚢内固定になるようにした．IOL挿入後，8-0シルク糸にて縫合を行い，抗生物質およびステロイドを点眼した．IOL挿入後，7日目にケタラール麻酔下にて眼球を摘出し，病理組織学的検討の材料とした．

2．病理組織学的検討

摘出眼球を直ちに4％グルタールアルデヒド－0.1Mカコジル酸緩衝液に浸し，固定した．約60分後に固定液中で眼球を赤道部で2分割し，IOLのみを取り出し，実体顕微鏡下に観察した．IOLを細切し，同じ固定液で一昼夜固定し，0.1Mカコジル酸緩衝液で洗浄後，1％オスミウム酸－0.1Mカコジル酸緩衝液にて90分間後固定を行った．アルコール系列で脱水後，プロピレンオキサイドは使用せず，エポキシ樹脂に包埋した（表1）．

包埋した試料より厚さ約1ミクロンの切片をPorter-Blum MT2B型のミクロトームで作製し，アズールIIで染色し，光顕にて観察した．さらに透過型電子顕微鏡用には，同じミクロトームにて超薄切片を作製し，酢酸ウランとクエン酸鉛による二重染色を行い，日本電子100CX型電子顕微鏡で観察した．

表1　透過型電子顕微鏡によるIOL表面細胞反応の観察のための試料作製法．

1. 摘出IOLを細切し，4％グルタールアルデヒド－0.1Mカコジル酸緩衝液で固定	（一昼夜）
2. 0.1Mカコジル酸緩衝液で洗浄	（60分）
3. 1％オスミウム酸－0.1Mカコジル酸緩衝液で後固定	（90分）
4. アルコール系列で脱水	
50％アルコール	（10分）
70％アルコール	（10分）
85％アルコール	（10分）
95％アルコール	（10分）
100％アルコール	（20分×3）
5. 100％アルコール（1）／エポキシ樹脂（1）混合液	（90分）
6. 100％アルコール（1）／エポキシ樹脂（2）混合液	（一昼夜）
7. エポキシ樹脂	（90分）
8. エポキシ樹脂に包埋	

III　結　　果

摘出したIOLは肉眼的には透明であり，実体顕微鏡下では所々に細胞成分と思われる付着物が認められた．光顕による観察では2種類の細胞が区別できた．一つは単核球であり，もう一つは多核の巨細胞であった．

透過型電子顕微鏡による観察でも細胞成分は2つに大別された．一つは円形あるいは類円形の細胞で，大きさは10ミクロン前後，多数の偽足突起を有していた．核は円形あるいは楕円形で一部に切れ込みがみられるものもあった．クロマチンは比較的乏しいが，核膜に接して強く認められた．細胞質には粗面小胞体やリボゾームが豊富で，空胞や小胞，ライソゾーム，ミトコンドリア，フィラメントなどが認められた．以上の電顕的観察によりこの細胞をマクロファージと同定した（図1）．

もう一つは多核の大きな扁平な細胞であり，大きいものは直径数百ミクロンにも達した．核がある部の細胞質は厚いが，細胞の辺縁部になるにつれて，細胞質が非薄化していた．この細胞のIOL表面に面する側には偽足突起はほとんどみられなかったが，反対側には多数認められた．核は数個から十数個存在し，その微細構造はマクロファージの核に類似していた．細胞質の微細構造もマクロファージに類似していたが，多数の空胞，小胞，ファゴライソゾームがみられた．以上よりこの細胞を多核巨細胞と同定した（図2，3）．

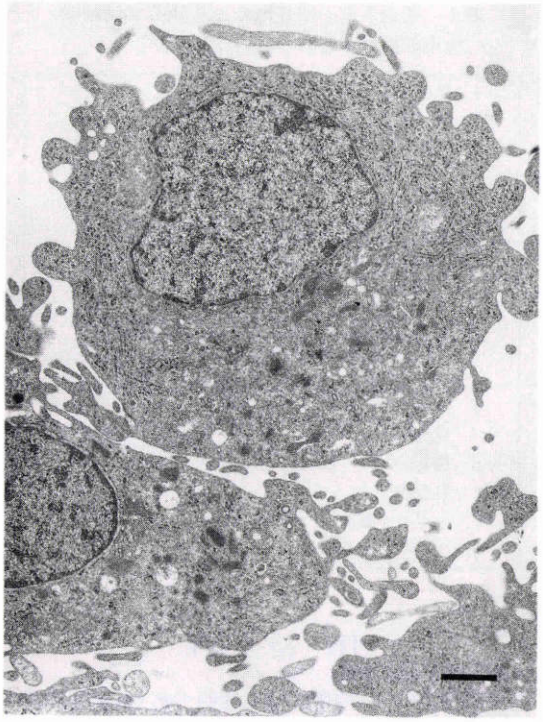

図1　マクロファージの透過電顕像．多数の偽足突起と細胞質内には粗面小胞体，空胞，小胞，ライソゾームなどが認められる．(bar : 1μm)

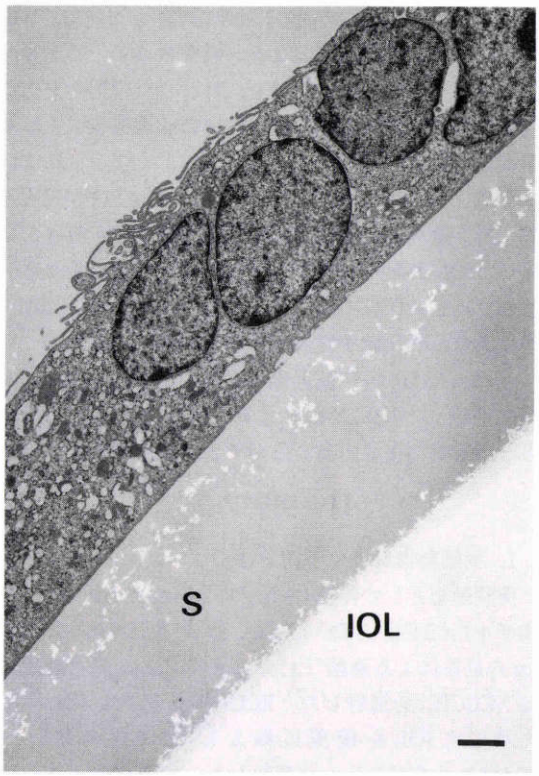

図2　多核巨細胞の透過電顕像．4つの核がみられ，細胞質内には多数の空胞，小胞，ライソゾームなどが認められる．IOL表面(IOL)に面しない側には多数の偽足突起がみられる．またIOL表面（IOL）と巨細胞との間には間隙（S）が認められる．(bar : 2μm)

マクロファージと多核巨細胞が混在してみられる部位では，IOL表面に近い部に必ず多核巨細胞がみられ，その巨細胞に接するようにマクロファージがみられた．

これらの細胞は直接IOL表面に接するのではなく，数ミクロンの間隙が認められた(図2，3)．また，IOL表面に面する細胞の細胞膜に接して，細胞膜と同じくらいの厚さの微細顆粒状の膜様物がみられた（図4）．

IV　考　　按

移植したIOL表面に付着する細胞成分を観察するためには，現在まで主に3つの方法が報告されている．

一つは臨床的な方法でスペキュラーマイクロスコープ[1]を用い，生体眼において細胞成分が観察されている．この方法は生体眼での観察という意味ではすぐれたものであるが，細胞の同定は不可能である．

もう一つはWolterの開発した方法[2)~5)]で，摘出したIOLをそのまま固定染色し，表面の細胞反応を平面的に光顕で観察するものであるが，この方法でも細胞の同定はできない．

さらに，電子顕微鏡による観察として，走査型電子顕微鏡を使った報告がなされているが[6)~8)]，この方法でも表面構造は分かるが，内部構造は不明であり，正確な細胞の同定はできない．従って，細胞を表現する言葉として，「……様細胞」という名称が使われているのが現状である．

また最近，金川ら[9)]はIOL表面に付着した細胞をトリプシンで処理し，遊離した細胞を遠沈して集め，透過型電子顕微鏡で観察している．しかしこの方法は試料作製過程において種々のアーティファクトが加わり，またIOL表面と細胞との関係も把握することができない．

我々の開発した方法は，通常の透過型電子顕微鏡による観察のための試料作製過程のうち，プロピレンオキサイドを使用しないだけである．その理由はPMMAがプロピレンオキサイドにより溶解するため

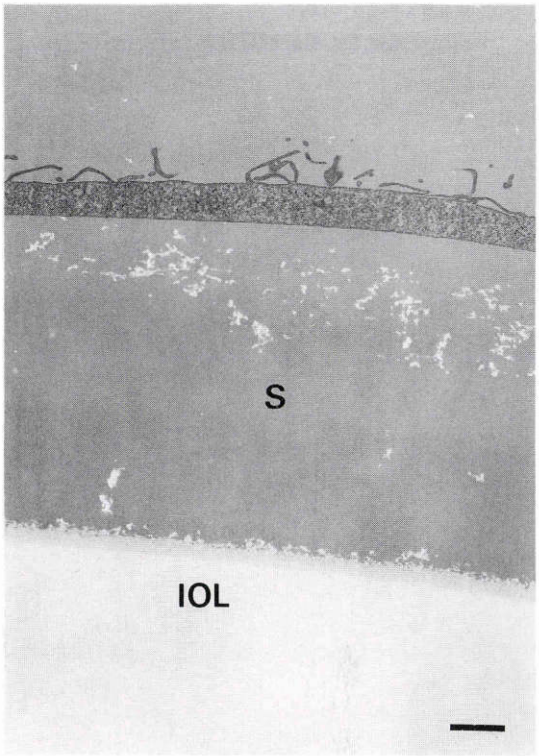

図3　多核巨細胞の透過電顕像．図2の巨細胞の辺縁部で，細胞質が薄くなっている．IOL表面(IOL)に面しない側には偽足突起がみられ，IOL表面(IOL)と巨細胞との間には間隙（S）が認められる．(bar：2μm)

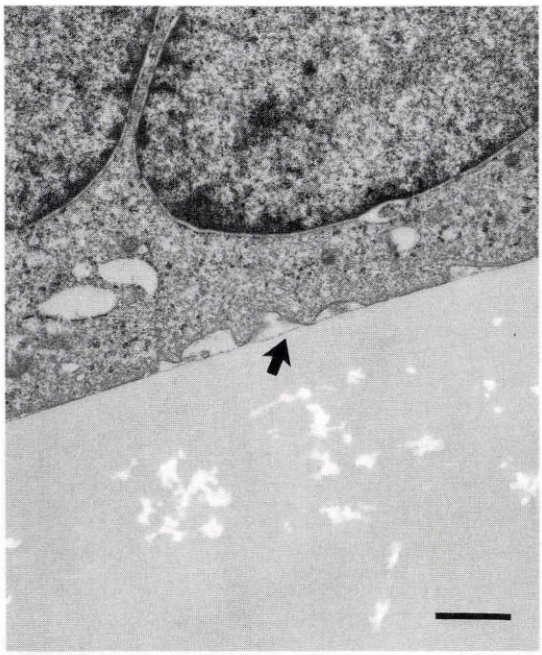

図4　多核巨細胞の透過電顕像．図2の拡大図．IOL表面に面する細胞膜に接して，微細顆粒状の膜様物（矢印）がみられる．(bar：1μm)

である．しかしながら，プロピレンオキサイドを通さなくても，細胞の微細構造の観察において，通常の観察と同じような十分満足のいく結果がえられ，また細胞とIOL表面との関係も観察できる．

今回の観察では，サル眼に移植後7日のIOL表面には細胞成分として，マクロファージと多核巨細胞が同定された．これらの細胞は直接IOL表面に付着しているのではなく，狭い間隙を有していた．また，IOL表面に面する細胞の細胞膜に接して，微細顆粒状の膜様物がみられた．このIOL表面と細胞との間隙，さらには膜様物の性質については今後検討していく予定である．

以上より，今回我々が開発した試料作製法は，今後のIOL表面における種々の反応の検討において有用な手段になると思われる．

文　献

1) Ohara K：Biomicroscopy of surface deposits resembling foreign-body giant cells on implanted intraocular lenses. Am J Ophthalmol 99：304—311, 1985.
2) **Wolter JR：** Lens implant cytology. Ophthalmic Surg 13：939—942, 1982.
3) **Wolter JR：** Cell life on the surface of lens implants. Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol 218：244—249, 1982.
4) **Wolter JR：** Foreign body giant cells on intraocular lens implants. Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol 219：103—111, 1982.
5) **Wolter JR：** Cytopathology of intraocular lens implantation. Ophthalmology 92：135—142, 1985.
6) **Sievers H, von Domarus D：** Foreign-body reaction against intraocular lenses. Am J Ophthalmol 97：743—751, 1984.
7) **Figueras MJ, Jongebloed WL, Worst JGF：** Scanning electron microscopy study of experimental intraocular lens implantation in the rabbit eye. J Cataract Refract Surg 12：523—528, 1986.

8) **川島秀俊, 清水公也, 堀　貞夫**他：人工水晶体移殖術を旋行したサル眼の病理組織学的検討．日眼 91：1000—1007, 1987.
9) **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.