

## 眼内レンズ表面に付着した細胞の貪食能に 関する実験的研究

雑賀司珠也\*・田村 学\*・中尾 俊也\* ( \*和歌山県立医科大学眼科学教室 )  
金川 龍一\*・上野山謙四郎\*・平岡 純一\*\* ( \*\*同 第二解剖学教室 )

### 要 約

PMMA 製眼内レンズ付着細胞の貪食能を調べるために、白色家兎眼内に移植された眼内レンズを移植後 1 週間で摘出しラテックス粒子を加えた培養液中で30分間インキュベートした。その後、光学顕微鏡、走査型および透過型電子顕微鏡にて観察した。眼内レンズ表面にはマクロファージおよびその形態が変化したものと考えられている類上皮細胞や線維芽細胞様細胞、異物巨細胞などが観察された。球形のマクロファージは細胞表面に著明なひだ状構造を持ち、多くのラテックス粒子を付着させ、又、貪食能も著明であった。マクロファージが眼内レンズ上で形態を変化させるにつれ、表面のひだ状構造が減少し、貪食能も低下する傾向を示した。このことは、異物反応として眼内レンズに付着したマクロファージが類上皮細胞、線維芽細胞様細胞および異物巨細胞に変化するにつれその細胞活性が低下してゆくことを示唆するものと考えた。(日眼会誌 93: 1068-1074, 1989)

キーワード：眼内レンズ、異物反応、マクロファージ、ラテックス粒子、貪食

## Experimental Study of Phagocytosis of the Cells Observed on the Surface of Intraocular Lens

Shizuya Saika\*, Manabu Tamura\*, Toshiya Nakao\*,  
Ryuichi Kanagawa\*, Kenshiro Uenoyama\* and Jyun-ichi Hiraoka\*\*

\*Department of Ophthalmology, Wakayama Medical College

\*\*Department of Anatomy, Wakayama Medical College

### Abstract

It has been reported that macrophages adhere to implanted intraocular lens (IOL) in a reaction to the foreign body, and transform themselves into epithelioid cells, fibroblast-like cells, and foreign body giant cells. We attempted to examine the activity of these cells by studying phagocytosis. Extracapsular lens extractions with implantation of posterior chamber IOLs were performed in rabbit eyes. After one week, the implants were removed and incubated in culture medium containing latex beads to investigate phagocytosis of these cells adhering to the implants by light microscopy, scanning and transmission electron microscopy. The cells observed were macrophages, epithelioid cells, fibroblast-like cells, and foreign body giant cells. The round macrophage was most active in phagocytizing latex beads, while the activity was weaker in the epithelioid cells, fibroblast-like cells, and foreign body giant cells. The macrophages on the implants had many ruffles on their surface, and

別刷請求先：640 和歌山市七番町27 和歌山医大眼科 雑賀司珠也

(平成元年6月28日受付, 平成元年7月31日改訂受理)

Reprint requests to: Shizuya Saika, M.D. Dept. of Ophthalmol., Wakayama Medical College  
7-Bancho 27, Wakayama 640, Japan

(Received June 28, 1989 and accepted in revised form July 31, 1989)

many latex beads adhered to the cell surface. The epithelioid cells and foreign body giant cells had few ruffles with few latex beads on their surface. These results suggested that cellular activity of the macrophages on the implanted IOL might decrease as their shape transformed. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 93: 1068—1074, 1989)

**Key words:** Intraocular lens, Foreign body reaction, Macrophage, Latex beads, Phagocytosis

## 緒 言

白色家兎眼内に移植されたPMMA製眼内レンズ(IOL)表面には、異物反応としてマクロファージが付着するが、そのマクロファージは線維芽細胞様細胞や類上皮細胞、さらに多数のマクロファージが融合して形成される多核の異物巨細胞にその形態を変化させる事が知られている<sup>1)~11)</sup>。しかし、このIOLに付着したマクロファージが形態を変化させていくにつれて、その機能がどう変化してゆくのかという事を調べた報告はない。異物に付着した活性化マクロファージは非活性状態と比べて細胞表面のひだ状構造が増加していることが従来より知られている<sup>12)</sup>。我々はIOL付着細胞について細胞表面のひだ状構造と細胞表面へのラテックス粒子の付着およびその貪食能に注目し白色家兎眼内から摘出されたIOLをラテックス粒子を加えた培養液に入れてインキュベートすることによって、これらの種々の形態をとっているマクロファージの活性化状態を比較、検討することを試みた。

## 方 法

体重約2.5キログラムの白色家兎6羽12眼を用いて実験を行った。囊外水晶体摘出術および後房IOL挿入を行った後、1週間後に屠殺し、眼内レンズを無菌的に摘出した。摘出したIOLをすばやく直径35mmのプラスチック製無菌シャーレに入れた。牛胎児血清を10%加えたイーグルMEM(ニッスイ)に直径1.0マイクロメートルのラテックス粒子(ポリサイエンス社製)を濃度が約 $1.3 \times 10^9/cm^3$ になるように加えたものを同シャーレに2.5cc加え、37.4°C、炭酸ガス濃度5%、

湿度100%の下で30分間インキュベートした。そして以下のごとく光学顕微鏡、透過型および走査型電子顕微鏡を用いて観察を行った(図1)。

### 1. 光学顕微鏡による観察

インキュベート終了後、細胞表面に付着しているだけのラテックス粒子を出来るだけ洗い流す目的で、0.25%トリプシンを1分間、37°Cで反応させた後、Wolterのimplant cytology technique<sup>13)</sup>を用いてヘマトキシリン=エオジン染色を行いグリセリンゼラチンで包埋後、光学顕微鏡で観察した。

### 2. 透過型電子顕微鏡による観察

インキュベート終了後、IOLを遠沈管内で0.25%トリプシン溶液1mlに浸し37°Cで10分間作用させ眼内レンズから付着細胞を遊離させ、そこに0.2Mリン酸緩衝液2ml、4%オスミウム酸溶液1mlを加え70分間4°Cにて静置し細胞を固定した。固定後、IOLを遠沈管から取り去り固定された細胞を0.1Mリン酸緩衝液で3回リンスした。さらにこの細胞浮遊液を2,000rpmで5分間遠沈し上清を捨て60°Cの2%寒天溶液3mlを加え2,500rpmで10分間遠沈した。遠沈終了時、寒天は凝固し細胞は遠沈管の底部に集まっていた。遠沈管から寒天を取り出し細胞が集まっている部分のみを実体顕微鏡下に切離し、固定された細胞が寒天に包埋された状態でアセトン系列による脱水、Epon 812への包埋を行い超薄切片作成後、電子染色を行い観察を行った。

### 3. 走査型電子顕微鏡による観察

インキュベート終了後、IOLごと2%グルタルアルデヒドにて24時間固定し、エタノール系列による脱水、液化炭酸ガスによる臨界点乾燥、金蒸着を行い観察を行った。

## 結 果

### 1. 光学顕微鏡による観察

ヘマトキシリン=エオジン染色されたIOL表面にはマクロファージ、類上皮細胞、線維芽細胞様細胞、および異物巨細胞が観察された。球型のマクロファージと極性の弱い線維芽細胞様細胞には多数のラテッ

1. 囊外水晶体摘出、後房眼内レンズ移植
2. 眼内レンズ摘出(1週間後)
3. ラテックス粒子を加えた培養液(イーグルMEM)中で摘出眼内レンズをインキュベート(30分)
4. 観察(光顕、透過電顕、走査電顕)

図1 方法

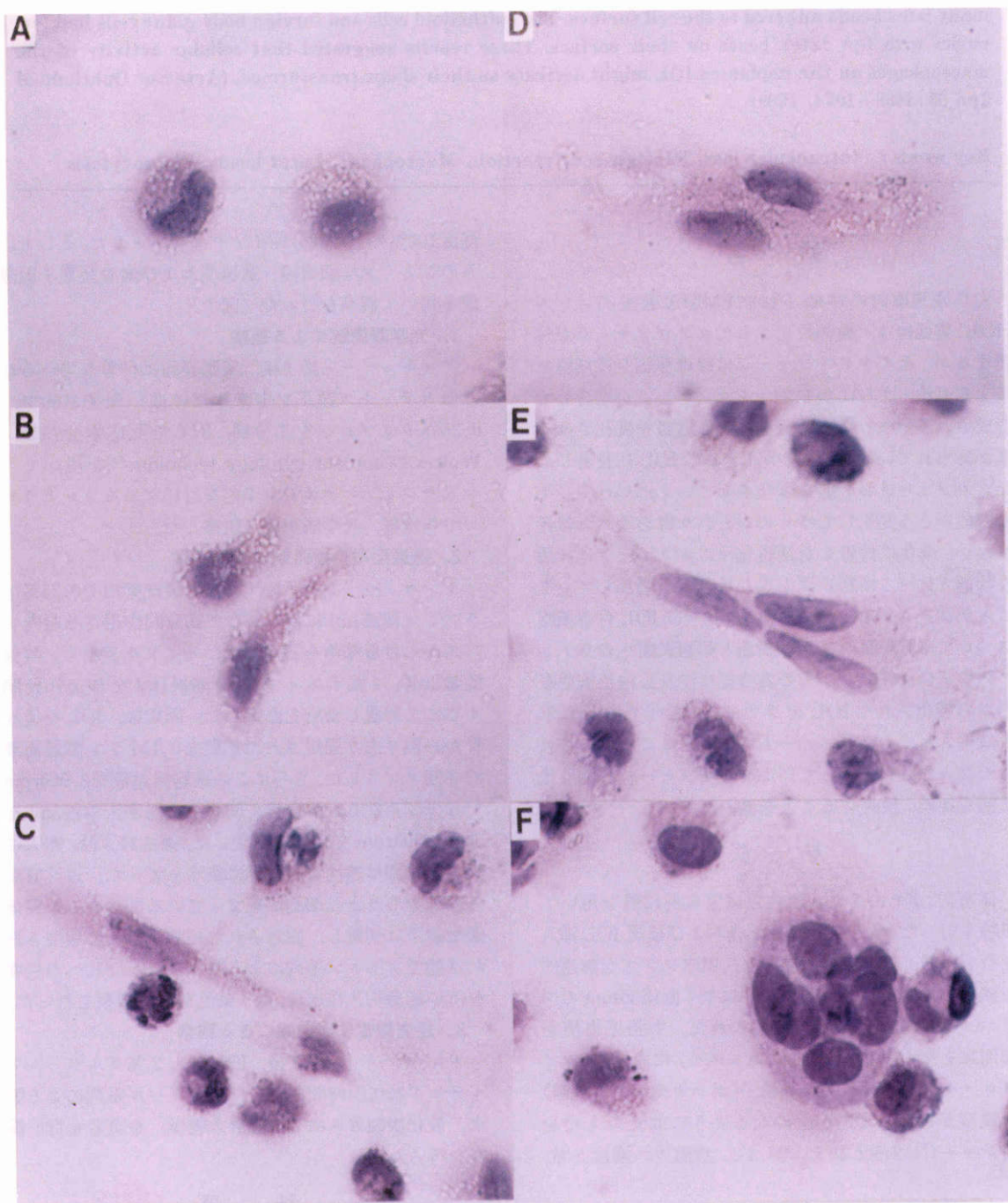


図2 眼内レンズ上に認められた細胞の光学顕微鏡写真（ヘマトキシリン，エオジン染色，実倍率×1,089）

A: 球型のマクロファージ，多数のラテックス粒子が貪食されている。B: 極性化の弱い線維芽細胞様細胞，マクロファージ同様，多数のラテックス粒子を貪食している。C: 極性化の強い線維芽細胞様細胞（中央），極性化の弱いものに比べ，貪食されたラテックス粒子数は少ない。D: 2核の細胞，E: 3核の細胞，F: 多核の異物巨細胞，これら複数の核を持つ細胞は，貪食能が弱い。

クス粒子が観察された(図 2A, B), 線維芽細胞様細胞でより極性化したもの(図 2C)は, より少数のラテックス粒子が観察された。多核化した細胞では胞体が扁平化し観察されるラテックス粒子はごく少数である傾向が認められた(図 2D, E, F)。

## 2. 透過型電子顕微鏡による観察

先のヘマトキシリン=エオジン染色による光学顕微

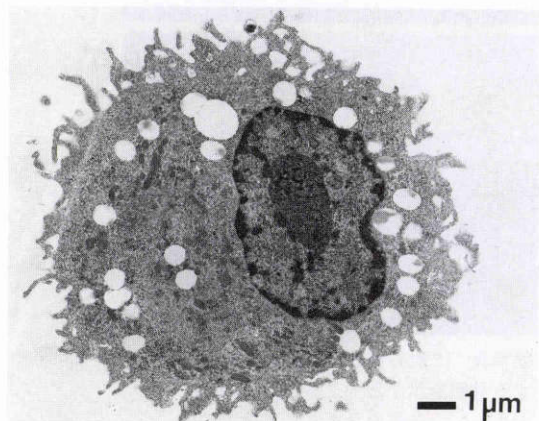


図3 トリプシンで眼内レンズから遊離させたマクロファージの透過電顕写真。多数のラテックス粒子が細胞質内に認められる。

鏡での観察では, トリプシンを用いて洗浄を行ったとは言え, 球形のマクロファージなどにおいて多数観察されたラテックス粒子は貪食されているのではなく, 単に細胞表面に付着しているだけの可能性も否定できないので, 透過型電子顕微鏡による観察を行った。その結果, 球形のマクロファージが多数のラテックス粒子を貪食しているのが観察された(図 3)。多核の細胞の透過電顕像も得られたが, ラテックス粒子は貪食されていなかった(図 4)。又, 一部, 単核で貪食の弱い細胞も観察されたが, これは線維芽細胞様細胞等の光顕での観察で貪食の弱かった細胞がトリプシンで眼内レンズ表面から遊離させられたため球形になったものと推定した。

## 3. 走査型電子顕微鏡による観察

球形のマクロファージは, 細胞表面に著明なひだ状構造を形成し, 同時に多数のラテックス粒子をその表面に付着させていた(図 5①)。類上皮細胞に近い形態に変化したマクロファージは, 扁平化するに従い表面のひだ状構造が著明ではなくなり, 同時に付着したラテックス粒子数も減少した(図 5②, ③, ④)。又, 1つの類上皮細胞に注目すると, 細胞周辺部の偽足を形成しといる部分は細胞表面が平らで, ラテックス粒子は細胞質が多くひだ状構造の観察される部分に付着し

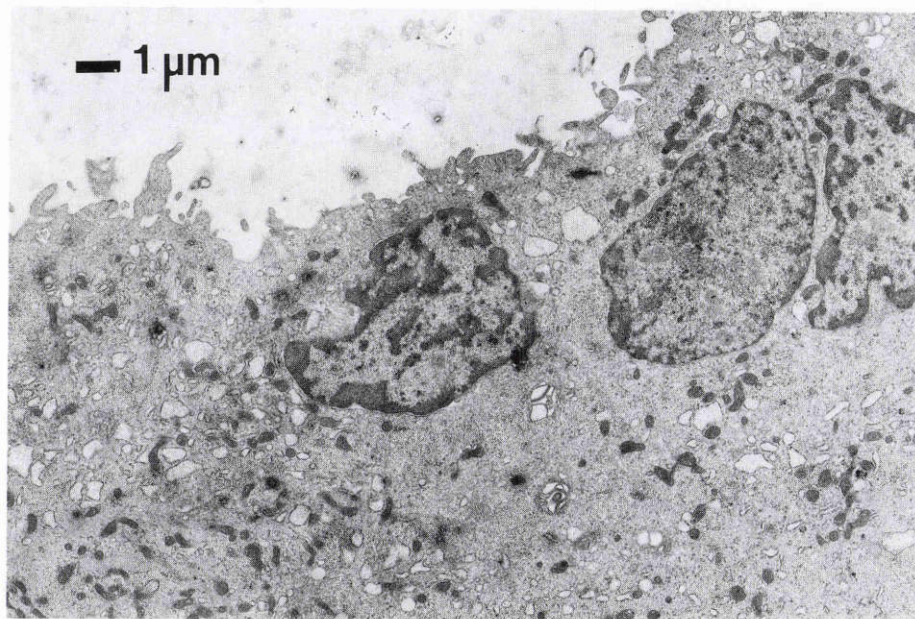


図4 図3と同様にして得られた異物巨細胞の透過電顕写真。ラテックス粒子は細胞質内に認められない。

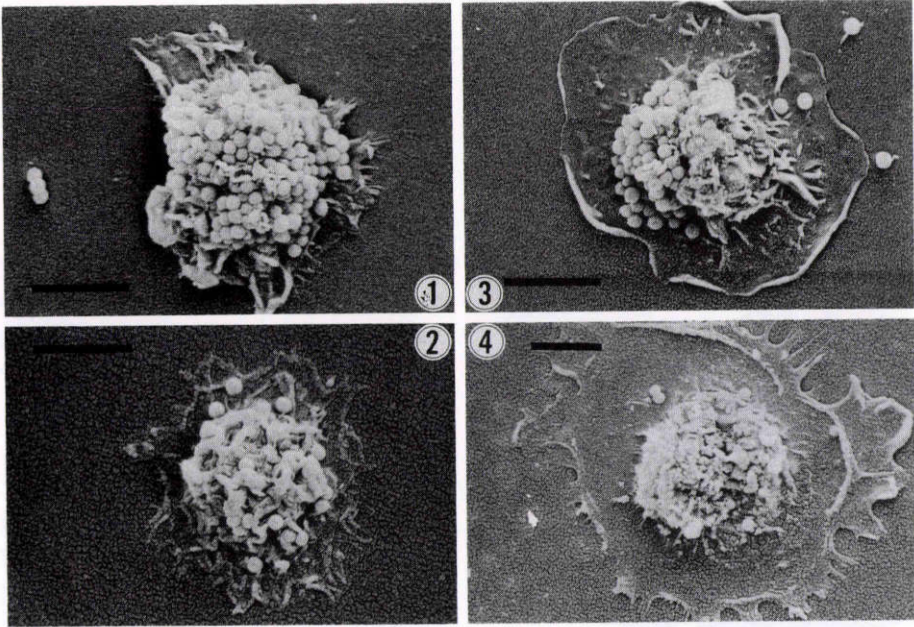


図5 眼内レンズ上に認められた細胞の走査電顕写真。これらの写真は、球型のマクロファージ①が類上皮細胞④に変化する過程を示すと考えられる。球型のマクロファージの細胞表面には、ひだ状構造とともに、多数のラテックス粒子が附着しているのが観察される。②、③、④と細胞が扁平化し、類上皮細胞へと変化するにつれ、細胞表面のひだ状構造が減少し、附着ラテックス粒子数も減少する。(バー、5 $\mu$ m)

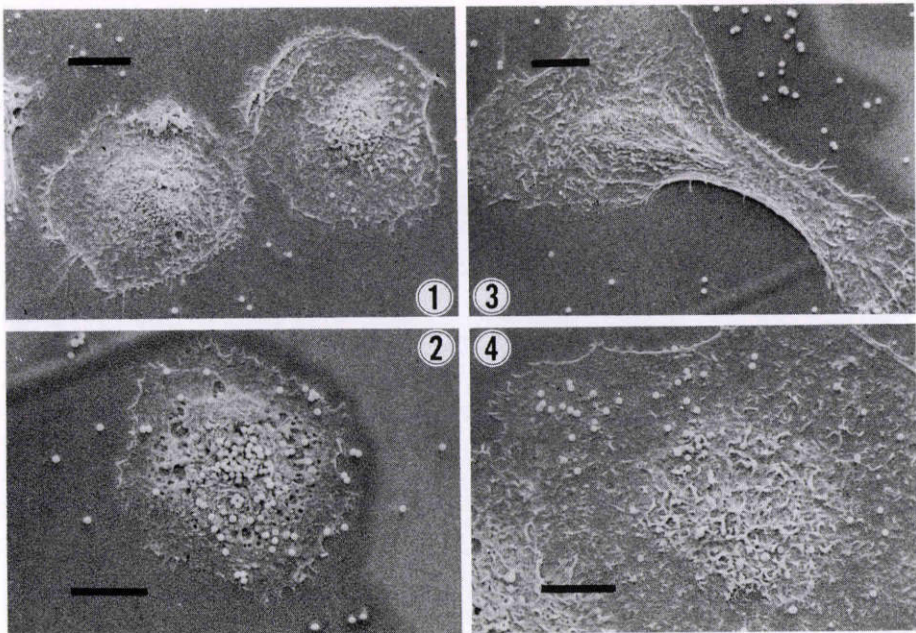


図6 図5と同様にして得られた走査電顕写真。これらの細胞は多核の異物巨細胞と考えられるが、表面のひだ状構造は著明でなく、また、附着ラテックス粒子数も少ない。(バー、10 $\mu$ m)

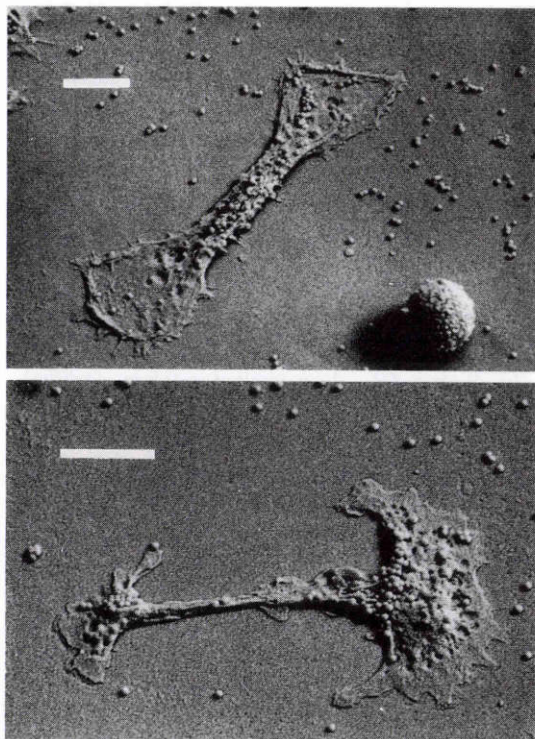


図7 図5、6と同様にして得られた線維芽細胞様細胞の走査電顕写真。表面のひだ状構造は著明ではなく、付着ラテックス粒子数も少ない(バー、10 $\mu$ m)

ていた(図5③、④)。細胞が多核化すると細胞表面のひだ状構造は減少し、同時に付着しているラテックス粒子数も非常に少数となった(図6)。線維芽細胞様細胞については、ひだ状構造は減少しラテックス粒子の付着は弱く、とくに偽足の部分は類上皮細胞とおなじように表面が平らでほとんどラテックス粒子は付着していなかった(図7)。

## 考 按

移植された IOL に対する異物反応は、主として単核貪食細胞系(mononuclear phagocyte system)が作用し、血液中の単球(monocyte)由来と考えられるマクロファージが IOL 表面に付着すると考えられている。そして、この付着したマクロファージが IOL 表面で類上皮細胞、線維芽細胞様細胞、ひいては多くのマクロファージの融合によって形成されると考えられる異物巨細胞になることが最近の報告で示唆されており<sup>11)</sup>、さらに抗マクロファージ抗体を用いた酵素抗体法による研究で認められている<sup>14)</sup>。しかし、このよう

に眼内レンズ表面でマクロファージが形態を変化させるにつれて、その機能がどう変化するかを調べた報告はない。今回、我々は、一般に活性化マクロファージに観察されるとされている細胞表面のひだ状構造と細胞表面へのラテックス粒子の付着およびその貪食に注目して実験を行った。その結果、IOL に付着して間もないと考えられる球形のマクロファージは、細胞表面に著明なひだ状構造<sup>12)</sup>を形成し、多数のラテックス粒子を付着させていると同時に、貪食も強く、活性化マクロファージと言える状態であった。それに対して、類上皮細胞や線維芽細胞様細胞、異物巨細胞といった眼内レンズに付着後あるいは程度時間が経過していると考えられる細胞は、表面のひだ状構造、付着ラテックス粒子数、貪食能がともに低下する傾向が観察された。以前、我々が白色家兎眼内に IOL を移植した場合をマウス腹腔内に移植した場合と細胞反応の異差について比較、検討した結果、眼内の方が付着細胞が少なく異物反応は弱いものであった<sup>15)16)</sup>。また、白色家兎眼内に IOL を移植した場合の付着細胞は、術後1カ月経過するとかなり減少していることが報告されている<sup>17)</sup>。さらに臨床症例において前房内遊出細胞は術後、房水のタンパク質濃度と共に経時的に減少することも報告されている<sup>18)19)</sup>。

これらのことから、眼内での IOL に対する異物反応は弱く、しかも、術後の組織損傷の修復に伴って経時的に弱くなり IOL を包みこむ異物肉芽腫を形成することなく不完全なものにおおると考えられる。このため、IOL は透明性を保ちレンズとしての機能を損なわれることがないと推定されるが、この際、付着したマクロファージの多くは付着後、細胞活性が低下し最終的に死滅、脱落してゆくであろうとすることが考えられる。今回の実験結果は、この IOL 上でのマクロファージの活性低下の一面を示すものであろう。しかし、白色家兎に水晶体摘出および IOL 移植を行った場合、術後1カ月経過すると IOL 表面に観察される細胞は、単核の細胞が減少し、ほとんどが多核の異物巨細胞となってしまふ。このように単核のマクロファージに比べて多核の異物巨細胞がなぜ残存するかという疑問も残されており、今後さらに検討が必要であろう。

稿を終えるに当たり、IOL を提供して頂きました株式会社シード、HOYA 株式会社に感謝致します。

本論文の要旨は第93回日本眼科学会総会で発表した。

## 文 献

- 1) 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, 日眼会誌 91: 1099-1102, 1987.
- 2) 近江俊作, 榎本善収, 金川龍一他: 人工水晶体細胞反応に関する実験的研究(2)マクロファージ形態変化の観察, 日眼会誌 91: 1094-1098, 1987.
- 3) 田村 学, 近江俊作, 的場美穂他: 眼内レンズ細胞反応に関する実験的研究(4)マクロファージの基質固着性について, 日眼会誌 92: 1349-1353, 1988.
- 4) Uenoyama K, Mataba M, Kanagawa R, et al: Experimental intraocular lens implantation in the rabbit eye and in the mouse peritoneal space. Part I: Cellular components observed on the implanted lens surface. J Cataract Refract Surg 14: 187-191, 1988.
- 5) Uenoyama K, Matoba M, Kanagawa R, et al: Experimental intraocular lens implantation in the rabbit eye and in the mouse peritoneal space. Part II: Morphological stages of the macrophage on the implanted lens surgace. J Cataract Refract Surg 14: 192-196, 1988.
- 6) Uenoyama K, Matoba M, Kanagawa R, et al: Experimental intraocular lens implantation in the rabbit eye and in the mouse peritoneal space. Part III: Giant cell formation on the implanted lens surface. J Cataract Refract Surg 14: 197-201, 1988.
- 7) 上野山謙四郎: 眼内レンズと細胞反応-(1) IOL上細胞の染色法と観察, IOL: 38-41, 1987.
- 8) 上野山謙四郎, 金川龍一, 榎本善収他: 眼内レンズと細胞反応-(2) IOLに現れる細胞成分, IOL2: 103-106, 1987.
- 9) 上野脩幸, 玉井嗣彦, 目代康子他: 有色家免眼移植人工水晶体表面付着細胞の電顕的観察, I. 移植後早期例について, 日眼会誌 92: 1335-1348, 1988.
- 10) Wolter JR: Cytopathology of intraocular lens implantation. Ophthalmology 92: 135-142, 1985.
- 11) Wolter JR: Fusion of macrophages on lens implants resulting in the formation of giant cell. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 221: 1-7, 1982.
- 12) 徐 啓源: 血液遊離細胞の表面超微形態, 東京, 東京医学社, 65, 1982.
- 13) Wolter JR: Lens implant cytology. Ophthalmic Surgery 13: 939-942, 1982.
- 14) 金川龍一, 近江俊作, 田村 学他: 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, 日眼会誌 92: 1520-1522, 1988.
- 15) 的場美穂, 金川龍一, 倉淵信哉他: Implant Cytology Techiqueを用いた人工水晶体生体反応の実験的研究, 日眼会誌 90: 1333-1340, 1986.
- 16) 上野山謙四郎, 金川龍一, 田村 学他: 眼内レンズと細胞反応(3)眼内反応とマウス腹腔内反応の差異, IOL 1: 142-146, 1987.
- 17) 近江俊作, 田村 学, 榎本善収他: 人工水晶体細胞反応に関する実験的研究, 3. 人工水晶体表面細胞の経時的変化, 眼紀 39: 1274-1277, 1988.
- 18) 釣巻 稔, 澤 充, 清水昊幸: 後房眼内レンズ挿入術後の前房内蛋白濃度と細胞数について-フィブリン反応発症との関係-, 日眼会誌 92: 1690-1695, 1988.
- 19) 大鹿哲郎, 増田寛次郎: 各種眼内レンズ術後炎症の定量的比較検討, 臨眼 43: 177-180, 1989.