

前眼部虚血眼に発生した角膜浮腫に関する形態学的研究 (図10)

山根 淳志・戸倉 敬雄・西川 睦彦 (関西医科大学眼科学教室)
伊東 滋雄・伊東 良江・三木 弘彦

要 約

家兎眼の耳側鼻側両側の長後毛様動脈を閉塞して前眼部虚血を作成すると、その翌日に角膜浮腫が発生する。4日目頃に角膜の浮腫混濁は増強するが、2週間以後は改善していく。その角膜内皮細胞の変化を経時的に形態学的に観察した。処置後、角膜内皮細胞の前房側が凹凸不整になり、更に胞体内にライソゾーム顆粒と思われるトルイジンブルーで濃染する顆粒が多数出現した。3日目には、内皮細胞は壊死崩壊に陥り、一部は前房側に剝離脱落した。障害の強い内皮細胞の上に線維芽細胞様の細胞や炎症細胞が重畳した。11日目には、そういった細胞に入替わって角膜内皮細胞が再び一層の角膜内皮を形成した。この角膜の変化は房水中のプロスタグランジン (PG) の濃度に相関して発生しており、角膜浮腫の原因は房水中に多量に遊出してきた **chemical mediators** (PG を含めて) によって高度に角膜内皮が障害されたために発生したものである事が示唆された。(日眼会誌 93:714-721, 1989)

キーワード：長後毛様動脈, 角膜浮腫, 角膜内皮, プロスタグランジン

Morphological Study of Corneal Edema After Anterior Segment Ischemia

Atsushi Yamane, Takao Tokura, Mutsuhiko Nishikawa, Shigeo Ito,
Yoshie Ito and Hirohiko Miki

Department of Ophthalmology, Kansai Medical University

Abstract

This experiment was performed to investigate the correlation between morphological changes of the corneal endothelium and clinical corneal edematous opacities after a procedure causing obstruction of bilateral long posterior ciliary arteries of the albino-rabbits. Shortly after the procedure, corneal endothelium became irregular on the anterior-chamber side and there were numerous lysosomal granules in the cytoplasm of corneal endothelial cells. On the third day, endothelial cells became necrotic and collapsed and a part of the cells peeled into the anterior chamber. Fibroblast-like cells and inflammatory cells were piled up in severely damaged areas of the endothelium. On the 11th day, the corneal endothelium developed again as a single layered structure on Descemet's membrane. It's seemed that corneal edema was induced as a result of severe damage corneal endothelium exposed to biochemical mediators such as prostaglandins released into the aqueous humor because the severity of corneal edema indicated some relation to changes in the concentration of prostaglandins in aqueous humor after anterior segmental ischemia. (*Acta Soc Ophthalmol Jpn* 93: 714-721, 1989)

Key words: Long posterior ciliary artery, Corneal edema, Corneal endothelium, Prostaglandin

別刷請求先：570 大阪府守口市文園町1 関西医科大学眼科学教室 山根 淳志
(平成元年3月17日受付, 平成元年5月26日改訂受理)

Reprint requests to: Atsushi Yamane, M.D. Dept. of Ophthalmol., Kansai Medical Univ.
1 Fumizono-cho, Moriguchi 570, Japan

(Received March 17, 1989 and accepted in revised form May 26, 1989)

I 緒 言

家兎眼の耳側鼻側の両側長後毛様動脈を閉塞して前眼部虚血を発生させると処置翌日より角膜浮腫が発生し、4日目には角膜浮腫の増強に伴って角膜内へ新生血管が侵入し、角膜浮腫が改善するに伴って角膜新生血管も14日目頃に消退した。これら臨床的な角膜病変の発生に、処置後に房水中に増加した高濃度の内因性プロスタグランジン(PG)が関与していることを証明し、既に報告した^{1)~3)}。今回は前眼部虚血後の角膜組織を経時的に形態学的に観察し、房水中のPG濃度の増加と相関してどの様に角膜浮腫が発生し増強していったのかを考察した。

II 材料と方法

実験動物には成熟白色家兎(体重1.2~1.8kg)6羽8眼を用いた。ペントバルビタール(ネプタール®)1mlの耳静脈注入による全身麻酔の後、左眼の球結膜を角膜輪部に沿って輪状切開し、内外両側の直筋を切断し強膜を露出した。そして、両側の長後毛様動脈を強膜貫入部より前方約3mmにわたって焼灼凝固し、更にその中央を切断した。切断した直筋と結膜は縫合せず、処置を終えた。

処置30分後、2日、3日、4日、7日、11日に眼球摘出の上、直ちに強角膜輪部を含めて角膜を切除して2倍希釈Karnovsky液に約1時間浸漬固定し、細切して更に同液で一晩固定した。その後2%Osmium液で1時間後固定し、エタノール系列で脱水して、Epon812、または、Spurrに包埋した。その後、ミクロ

トーム(ULTRATOME V, LKB社)で超薄切片を作成し、トルイジンブルー染色液で染色して顕微鏡で観察し、更に一部をタンニン酸・酢酸ウラニール、クエン酸鉛の二重染色の後、透過電顕(日立500型)で観察した。

III 結 果

処置後30分の角膜は透明であった。光学顕微鏡(光顕)所見では角膜輪部に反応性の形質細胞の増加と軽度の炎症細胞の浸潤、輪部血管の拡張充血を認めた。角膜内皮細胞は胞体が軽度膨化し前房側がやや凹凸不整になっていたが、角膜実質は規則正しい板状の層構造を示した(図1)。2日目には角膜内皮細胞の核周囲にトルイジンブルーで濃染する顆粒が多く出現していたが、内皮細胞は脱落崩壊せず一層の膜構造としてデスマ膜上に維持されていた(図2)。しかし、この時期には既に明白な角膜浮腫が発生しており、負膜内皮細胞は機能的には障害されている事が推察された。3日目には角膜内皮細胞の胞体は濃縮してデスマ膜上にちぢれた様に“ちりめん状”に並び(図3a)、一部で胞体内に多数の顆粒をもつ変性した内皮細胞が重畳化していた(図3b)。重畳化の部位を電子顕微鏡(電顕)で観察すると、障害された角膜内皮の胞体の一部がデスマ膜上より剝離して房水中に脱落していく過程を示していた(図4)。又、光顕で顆粒にみえたものは電顕では腫大したライソゾーム顆粒であった。この時期には角膜の浮腫混濁は更に増強し臨床的に隙隙灯顕微鏡での前房内の観察が困難となった。4日目には、電顕所見で一部の角膜内皮の胞体が完全に崩壊して、デスマ膜



図1 処置後30分の角膜内皮：内皮細胞の大きさが少し不揃いとなり、前房側が凹凸不整になった(×400)。

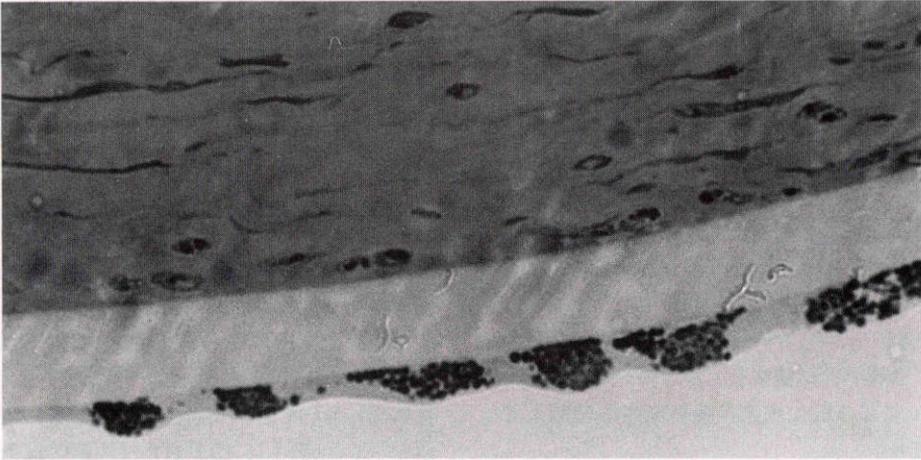


図2 処置2日目の角膜内皮：胞体内に多数のトルイジンブルーで濃染する顆粒の出現をみたが，胞体は一層の膜構造を維持していた（×500）。

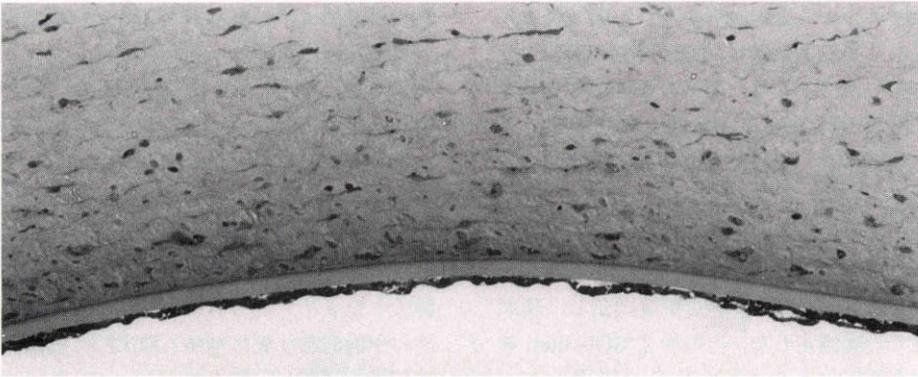


図3a 処置3日目の角膜内皮：胞体は濃縮してデスマ膜上に“ちりめん”状にちじれて並んでいた（×200）。

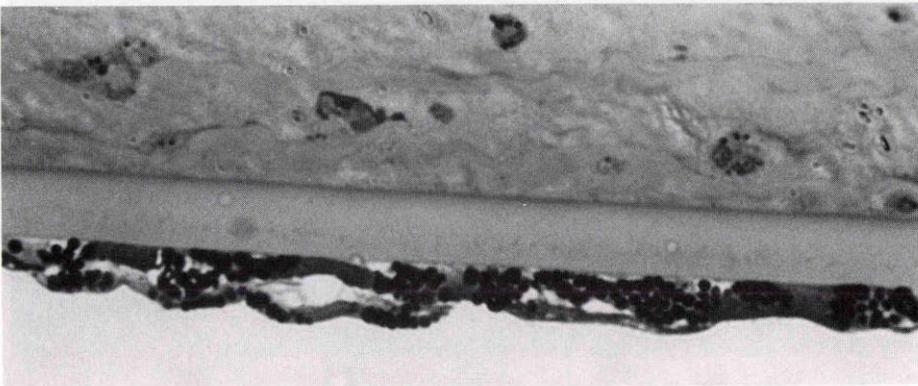


図3b 同上の拡大：変性した内皮細胞が重疊化していた（×500）。

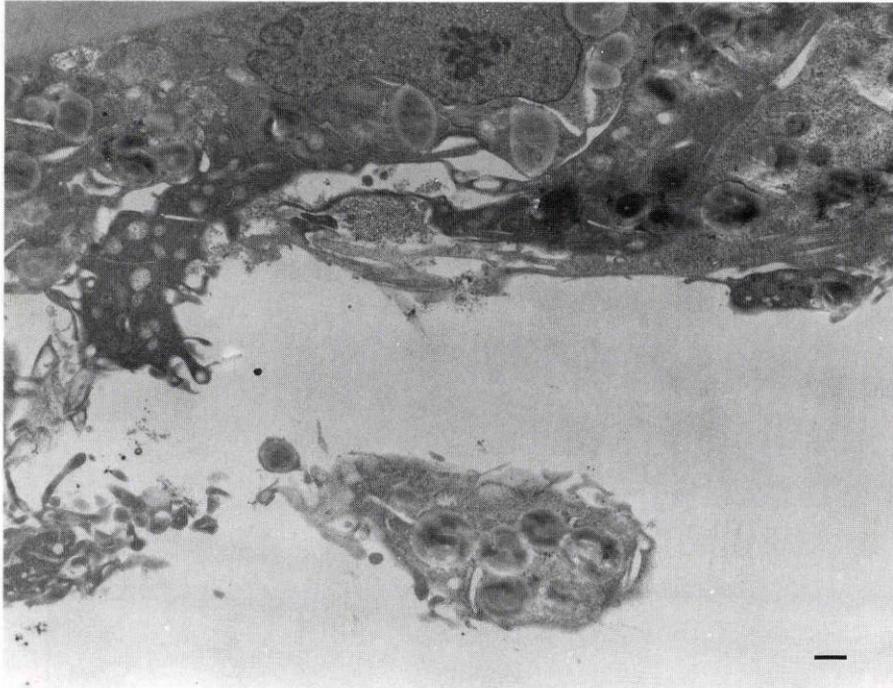


図4 処置3日目の角膜内皮細胞：障害された角膜内皮の胞体の一部が剥がれて前房中に脱落していた（電顕，バーは1 μ m）。

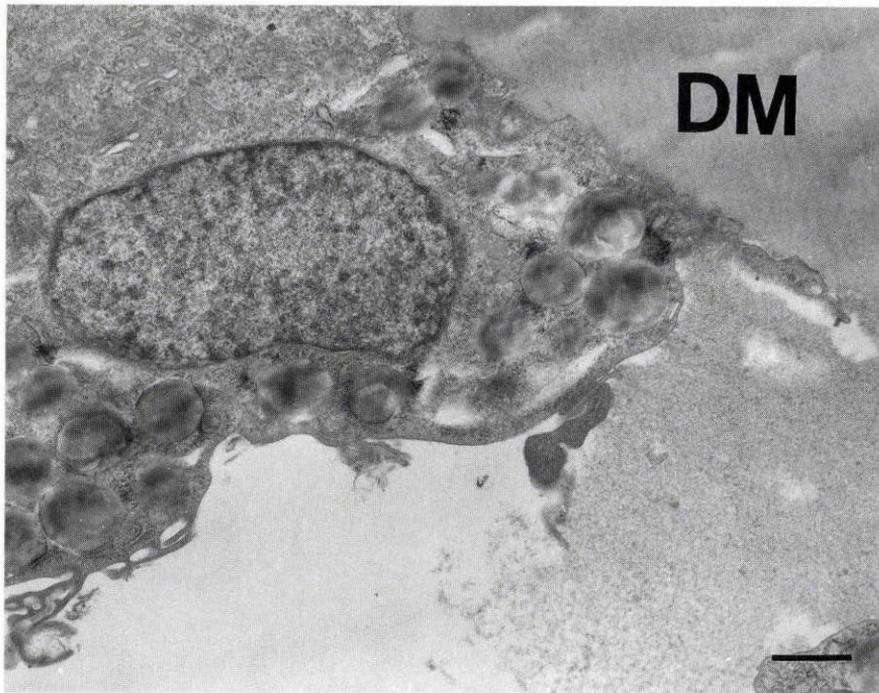


図5 処理4日目の角膜内皮細胞：胞体が崩壊してデスマ膜上には無構造の崩壊産物だけが存在している部位もみられた（電顕，バーは1 μ m）。

DM；デスマ膜

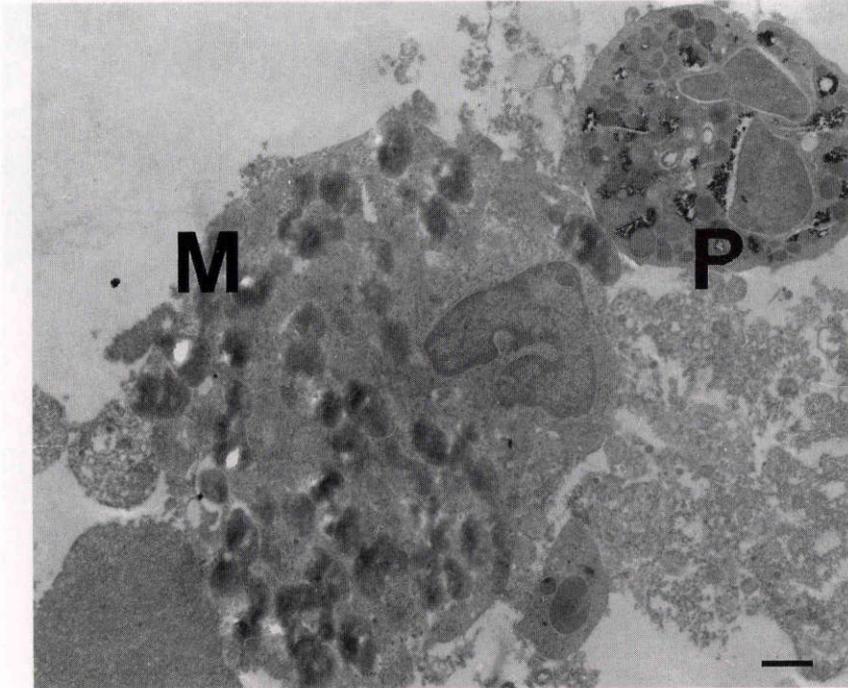


図6 処置4日目の前房内：前房水中には細胞の崩壊産物とそれを貪食したマクロファージや多核白血球などをみた（電顕，バーは $1\mu\text{m}$ ）。

P：多核白血球，M：マクロファージ

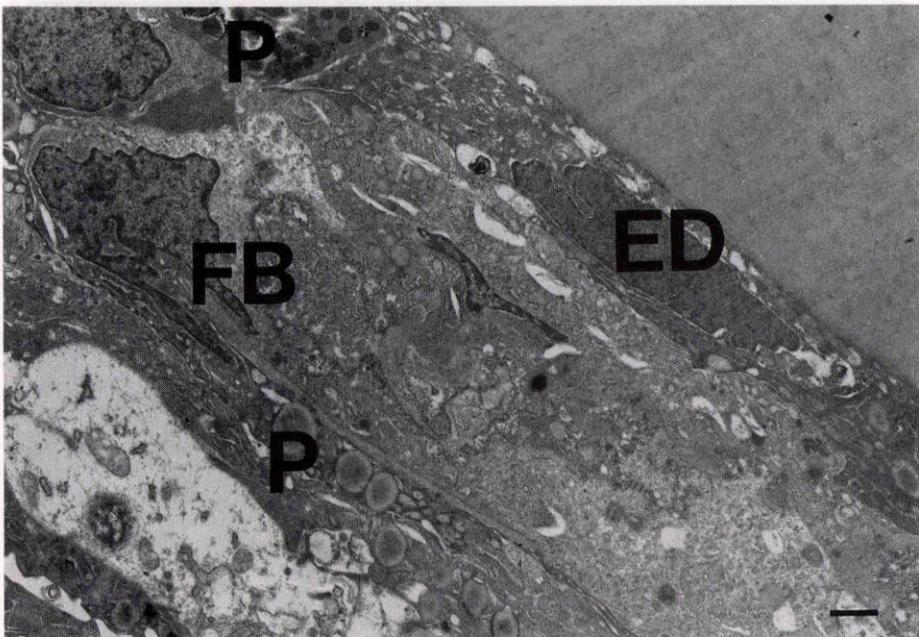


図7 処置4日目の周辺部の角膜内皮：障害された角膜内皮細胞の上を覆う様に線維芽細胞様の細胞や炎症細胞が重畳化していた（電顕，バーは $1\mu\text{m}$ ）。

FB：線維芽細胞様細胞，P：多核白血球，ED：角膜内皮細胞

上に無構造の崩壊産物だけが存在している部位もみられた(図5)。前房水中には細胞の崩壊産物とそれを貧食したマクロファージや多核白血球がみられた(図6)。又、周辺部の角膜のデスメ膜上では、障害された内皮の上を覆う様に角膜内皮細胞より電子密度が低く胞体内に大きなライゾゾーム顆粒をほとんど持たない扁平な線維芽細胞様の細胞や炎症細胞が重疊化し、多層の膜構造を形成していた(図7)。7日目は著明な角膜の浮腫混濁は存続していた。大小不同の角膜内皮細

胞がデスメ膜を裏打ちする様に存在しており、核がトリジンブルーでよく染色され、胞体内の顆粒はほとんど目立たなくなった(図8)。11日目には角膜浮腫は急激に改善の方向に向い、角膜実質内には新生血管の管腔を認めたが浮腫は軽減しコラーゲンの板状構造の乱れは少なく(図9)、角膜内皮はまだ胞体の大きさが不揃いであるが、一層の膜となってきれいにデスメ膜を覆っていた(図10)。

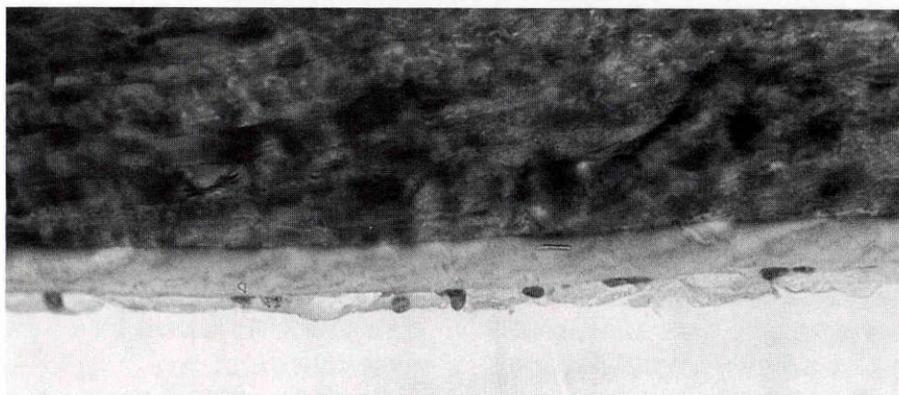


図8 処置7日目の角膜内皮：内皮細胞の核がトリジンブルーでよく染色される様になり、胞体内の顆粒は目立たなくなった(×400)。

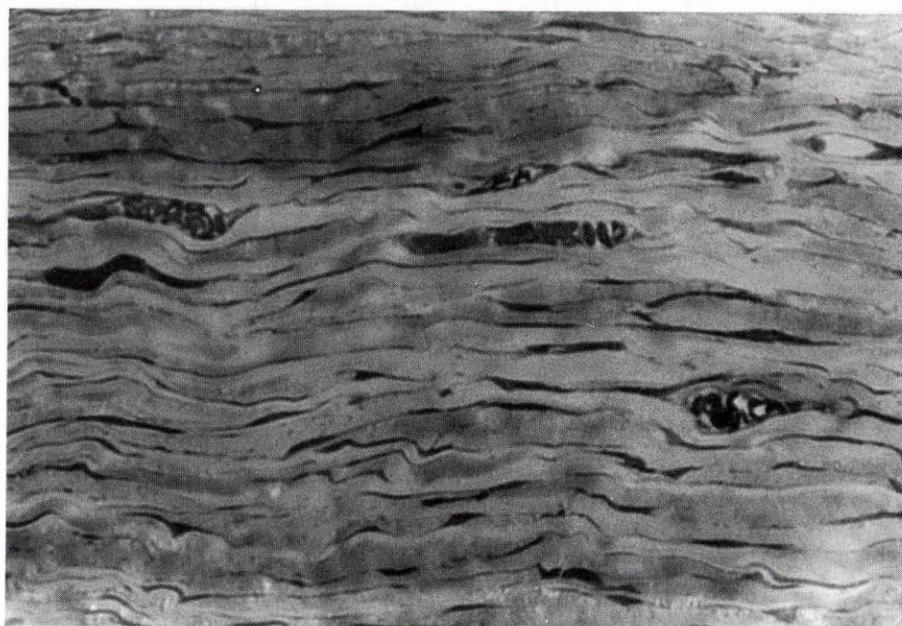


図9 処理11日目の角膜実質：実質内に新生血管の管腔は残存しているが層葉構造の乱れは軽減した(×400)。

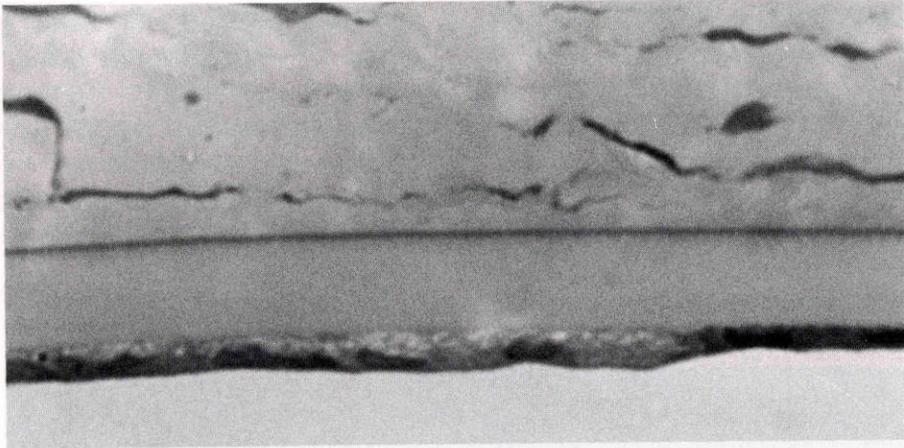


図10 処理11日目の角膜内皮：胞体は不揃いであるが一層の扁平な膜を形成していた（×500）。

IV 考 按

実験的な前眼部虚血後の角膜浮腫の発生については1971年に Pfister が報告している⁴⁾が、経時的に角膜内皮の形態学的変化をみた報告はない。彼は同時に房水中のグルコース濃度と酸素分圧を測定し、その低下から角膜浮腫の原因として代謝障害を推察している。又、Green ら⁵⁾が *in vitro* の実験で採取角膜は浸漬溶液にグルコースを入れる事によって採取時の厚さを維持できたと報告している様に、角膜の代謝障害は角膜浮腫の原因になる。前眼部虚血では毛様体組織も障害されるので房水の性状が変化し、当然房水によって養われている角膜内皮細胞はその代謝系に影響を受けられると思われる。しかし、前回の報告¹⁾³⁾で、我々は前眼部虚血後の角膜浮腫の増悪化を PG 合成阻害剤の点眼治療により抑制し角膜の浮腫混濁を軽減する事が出来た。従って、前眼部虚血後の角膜浮腫増悪の主たる原因は代謝障害ではなく、房水中に増加した PG などの chemical mediator が角膜を直接的に障害した為であると考えた。

早期の機能的な角膜内皮障害については、形態学的変化だけでは証明できず、細胞膜表面の外側の ATPase の活性などの変化を酵素抗体法などで調べなければならない。しかし、少なくとも角膜内皮の胞体の大きさの不揃いは処置30分後からみられており、この変化は内皮の代謝障害が影響するには早すぎると思われるので、沖坂⁶⁾、伊沢ら⁷⁾、増永⁸⁾が報告している前眼部刺激後の毛様体上皮の変化と同様の障害が角膜

内皮にも発生したと考えられる。彼等はこの時の毛様体上皮の変化を前眼部刺激によって房水中に増加した PG に原因を求めている。しかし、PG が眼組織の細胞のどの部位に作用してどのような変化をもたらすかはまだ明確に証明されていない。

前回の報告³⁾で房水中に PGE が多量に存在しているのに拘わらず角膜浮腫が軽度であった事実より PG そのもの自体が直接に細胞を障害するのではなく、細胞障害に関係の深い何等かの chemical mediator を活性化させる作用をしている事も考えられる。

処置2日目からは角膜内皮は光顕でも明らかな変性を来す。胞体内にトルイジンブルーで濃染する顆粒が多数出現し、その後胞体が強く変性し胞体全体が薄くちじれた様になって崩壊していく。電顕では胞体内のほとんどをライソゾーム顆粒が占めており、細胞が障害されて自己のライソゾーム酵素で自己融解して崩壊していった。こういった細胞変性は薬物障害の時にみられる細胞障害型と類似した所見であり、房水中の何等かの chemical mediators が関与している事が強く疑われる。前報¹⁾で房水中の PGE 濃度が高濃度となった処置4日目に角膜内皮障害が強く、その後房水中の PG が低下傾向になると障害された角膜内皮の上を取り敢えず線維芽細胞様の細胞が覆って角膜実質と前房の間にバリアーを形成した。この細胞が角膜内皮細胞と同様の機能を営むとは考えられないので単なる機械的なバリアー効果しか持たないと思われるが、この時期から角膜浮腫は軽減化の方向に向いた。また、家兎眼の角膜内皮細胞は再生増殖能力があるので、後にそ

の空間に周辺部の比較的障害の軽い角膜内皮細胞から新たな内皮細胞が増殖してデスメ膜の上を再被覆して、元に戻ったものと思われた。それが処置11日~14日後で、臨床的に角膜浮腫は改善し、形態学的にもデスメ膜の上を角膜内皮細胞と思われる細胞が一層の膜構造を形成していた。

以上より、前眼部虚血後の高度の角膜浮腫の発生は、虚血によって障害された虹彩毛様体組織から房水中に chemical mediators (PG を含め) が多量に放出され、その為に角膜内皮細胞が二次的に強く障害されて発生したもので、角膜内皮細胞障害は胞体内のライソゾーム顆粒が腫大崩壊し、ライソゾーム酵素が胞体内に遊出して自己の細胞を崩壊させる自己障害型の細胞融解が原因であろうと思われた。その後、岡田⁹⁾が報告した側副血行路の形成による前眼部虚血の改善に伴い、虹彩毛様体組織の障害が軽減し、房水中の PG 濃度が減少傾向になったのと同様に他の chemical mediators の放出も減少し、角膜内皮細胞の障害が改善されたものと推察された。

稿を終えるにあたり、宇山昌延教授の御指導、御校閲に深く感謝致します。

文 献

- 1) 山根淳志, 戸倉敬雄, 佐野貴之他: 前眼部虚血後に発生する角膜新生血管とプロスタグランデインの関係(その1). 日眼会誌 91: 993—999, 1987.
- 2) 山根淳志, 戸倉敬雄, 佐野貴之他: 前眼部虚血後の角膜浮腫および角膜新生血管の発生とプロスタグランデインの関与(その2). 眼紀 38: 1579—1584, 1987.
- 3) 山根淳志, 戸倉敬雄, 佐野貴之他: 前眼部虚血後に発生する角膜新生血管とプロスタグランデインの関係(その3). 日眼会誌 91: 1079—1085, 1987.
- 4) Pfister RR, Friend J, Dohlman CH: Anterior segment necrosis in rabbits. Arch Ophthalmol 86: 301—307, 1971.
- 5) Green K, Otori T: Studies on corneal physiology in vitro. Exp Eye Res 9: 268—280, 1970.
- 6) 沖坂重邦: プロスタグランデインズの房水動態に及ぼす影響に関する形態学的研究—プロスタグランデイン E₁ 結膜下注射及び前房穿刺による猿の血液房水柵破壊の局在について—. 日眼会誌 80: 436—447, 1976.
- 7) 伊沢保穂, 増田寛次郎: 機械的刺激に対する血液房水柵破壊とプロスタグランデインズ. 日眼会誌 80: 448—451, 1976.
- 8) 増永純子: Prostaglandin の血液房水柵に及ぼす影響に関する電子顕微鏡的研究. 第1報. 血液房水柵に及ぼす影響. 日眼会誌 84: 427—437, 1980.
- 9) 岡田寿夫, 佐野貴之, 米田宗道他: 前眼部循環障害における側副血行路の形成. 1. 長後毛様動脈閉塞実験. 日眼会誌 89: 611—618, 1985.