

正常小児角膜内皮の生後発達 (図 7, 表 1)

塚 原 康 友*・山 本 節** (*兵庫県立こども病院眼科
**神戸大学医学部眼科学教室)

要 約

生後 2 日から 11 歳までの正常小児 28 例 55 眼の角膜内皮の細胞密度 (cells/mm²), 平均細胞面積 (μm²), 変動係数 (S.D./mean), 六角形細胞出現頻度 (%) を計測し, 角膜径を考慮に入れ内皮細胞総数を算出した. 細胞密度は最大が生後 2 日の 5,305, 最小が 11 歳の 3,067 で, 年齢に相関して減少していた ($p < 0.01$). 平均細胞面積は最小が生後 2 日の 189, 最大が 11 歳の 331 であった. 変動係数は 0.13~0.26, 六角形細胞出現頻度は 72%~91% で, 成人に比し均一な細胞形態が認められた. 内皮細胞総数は 297,000~554,000 とバラツキは大きいものの年齢による大きな減少は認められず, 生後の急激な細胞密度の低下の主な原因は角膜径の増大であると考えられた. (日眼会誌 93: 763-768, 1989)

キーワード: 角膜内皮細胞, 生後発達, スペキュラーマイクロスコーピー, イメージアナライザー法

Postnatal Development of Corneal Endothelial Cells in Normal Children

Yasutomo Tsukahara

Department of Ophthalmology, Kobe Children's Hospital

Misao Yamamoto

Department of Ophthalmology, Kobe University

Abstract

Fifty-five eyes of normal children from 2 days to 11 years old were examined with specular microscopy image analyzing system, and the mean cell density (cells/mm²), mean cell area (μm²), coefficient of variation (S.D./mean), percentage of hexagonal cells, and total endothelial cell counts were calculated. The mean cell density, which statistically decreased with age varied from 5305 to 3067. The mean cell area varied from 189 μm² to 331 μm². Coefficient of variation and percentage of hexagonal cells varied from 0.13 to 0.26, and from 91 to 72, respectively. Generally children showed lower endothelial cellular pleomorphism and irregularity. Estimated total endothelial cell counts, in consideration of corneal enlargement, varied from 297000 to 554000, and showed no remarkable decrease with age. This suggested that the main reason for postnatal decrease of cell density was not cell loss but corneal enlargement. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 93: 763-768, 1989)

Key words: Corneal endothelial cells, Postnatal development, Specular microscopy, Image analyzing system

別刷請求先: 650 神戸市中央区楠町 7-5-2 神戸大学医学部眼科学教室 塚原 康友

(平成元年 2 月 3 日受付, 平成元年 6 月 20 日改訂受理)

Reprint requests to: Yasutomo Tsukahara, M.D. Dept. of Ophthalmol., School of Med., Kobe Univ.

7-5-2 Kusunoki-cho, Chuō-ku, Kobe 650, Japan

(Received February 3, 1989 and accepted in revised form June 20, 1989)

I 緒 言

1968年の Maurice によるスペキュラーマイクロスコープの開発以来、角膜内皮の生体での観察が可能となり、正常眼及び各種疾患等での検討が広く行われるようになった。内皮細胞形態の変化を検討するためには各種のパラメーターの正常値が必要とされ、本邦でも大原らをはじめとする多くの報告^{1)~3)}がある。しかし、小児については、測定の大変さなどより詳細な報告例は少なく、角膜内皮の生後発達についても不明な点は多い。

また、小児においては、新生児期から乳児期にかけて著明な内皮細胞密度の減少を来すことが指摘されているが⁴⁾⁹⁾、この時期には、角膜自体の発育による角膜径の増大が見られるため、細胞密度の減少が細胞数そのものの減少によるものか、あるいは角膜径の増大に伴う見掛け上のものなのか、検討の余地があると考えられる。

今回、我々は、スペキュラーマイクロスコープ、及び画像解析装置を用い、正常小児の角膜内皮の各種パラメーターを算出し、また、角膜径も考慮に入れ一定の仮定のもとに、角膜内皮細胞総数の変化も算出し、検討したので報告する。

II 対象と方法

対象は、外傷、内眼部疾患の既往のない生後2日から11歳までの小児28例55眼、(男性16例31眼、女性12例24眼、1歳未満6眼、1歳10眼、2歳7眼、3歳2眼、4歳2眼、5歳6眼、6歳6眼、7歳8眼、8歳4眼、10歳2眼、11歳2眼)とした。

全身麻酔下の小児を側臥位にして開瞼器をかけ、角膜径を測定した後、甲南カメラ研究所製スペキュラーマイクスコープにて角膜中央部の内皮を撮影した。内皮細胞写真上に写し込まれた倍率計算用スケールをもとに400倍に拡大した内皮写真のプリント上の細胞境界を細胞200個につきトレースし、六角形細胞出現頻度を算出した後、サンコンタクト社製角膜内皮解析装置(イメージアナライザー法)にて解析し、平均細胞面積及び標準偏差、変動係数、細胞密度を算出した。

角膜内皮細胞総数については、(算出した細胞密度×角膜内皮面の総面積)とした。角膜内皮面の総面積については、生体では計測不可能なため、角膜内面を球面の一部と考えると、総面積 $S = 2\pi r^2 [1 - \cos \{\arcsin (d/2r)\}]$: (r :角膜曲率半径, d :角膜径)と算出される。このうち角膜曲率半径については図1のごとく、総面積に対する影響は角膜径による影響より小さいと

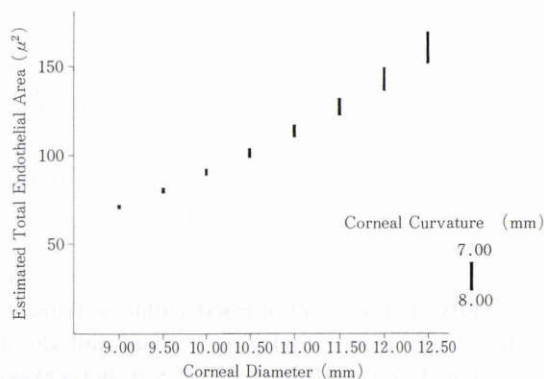


Fig. 1 Corneal diameter vs estimated total endothelial area, considering corneal curvature.

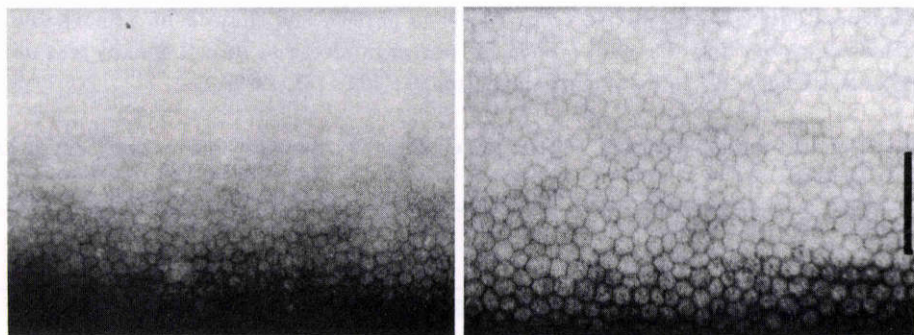


Fig. 2 Specular photomicrograph of corneal endothelium from a 2-day-old baby (left, 5305cells/mm²) and 11-year-old child (right, 3017cells/mm²) (Bar=0.1 mm)

Table 1 Indices of the parameters

Case	Age	Mean endothelial cell density (/mm ²)	Mean endothelial cell area (μm ²)	Coefficient of variation (S.D./mean)	Percentage of hexagonal cells	Corneal diameter (mm)	Estimated endothelial cell counts (×10 ³)
1	2 days	5305	189	0.24	81	9.5	424
		5260	190	0.19	75	9.5	420
2	26 days	3547	282	0.21	76	9.7	297
		3533	283	0.21	75	9.8	303
3	2 M	4734	211	0.13	85	10.5	478
		4759	210	0.17	79	10.8	514
4	1 Y	3578	280	0.16	86	11.5	453
		3680	272	0.14	91	11.5	466
5	1 Y 1 M	3815	262	0.21	72	11.0	432
		3721	269	0.21	76	11.0	421
6	1 Y 4 M	3794	264	0.17	83	11.5	480
		3728	268	0.15	84	11.5	472
7	1 Y 8 M	4277	234	0.15	90	11.0	484
		4192	239	0.16	82	11.0	474
8	1 Y 9 M	3873	258	0.17	83	12.0	548
		3921	255	0.16	91	12.0	554
9	2 Y	4335	231	0.16	84	11.0	490
		4424	226	0.20	85	11.0	501
10	2 Y	4326	231	0.20	82	11.0	489
		4289	233	0.17	88	11.0	485
11	2 Y 4 M	3982	251	0.20	85	11.5	504
12	2 Y 8 M	4020	249	0.18	85	11.0	455
		4062	246	0.14	88	11.0	460
13	3 Y 3 M	4050	247	0.17	79	11.0	458
		4071	246	0.18	84	11.0	461
14	4 Y 5 M	3454	289	0.18	85	10.5	349
		3896	257	0.17	85	10.5	394
15	5 Y	3988	251	0.19	85	11.0	451
		3908	256	0.20	84	11.0	442
16	5 Y	3396	294	0.22	75	12.0	480
		3242	308	0.22	82	12.0	458
17	5 Y	4171	240	0.20	78	10.5	421
		4173	240	0.21	85	10.5	422
18	6 Y	3619	276	0.22	86	11.5	458
		3699	270	0.17	86	11.5	468
19	6 Y	3243	308	0.16	83	11.5	410
		3210	311	0.21	75	11.5	406
20	6 Y	3534	283	0.17	87	11.5	447
		3408	293	0.18	79	11.5	495
21	7 Y	3401	294	0.20	85	12.0	481
		3442	291	0.19	82	12.0	487
22	7 Y	3705	270	0.25	75	11.5	469
		3915	255	0.21	79	11.5	495
23	7 Y	3722	269	0.22	81	11.0	421
		3427	292	0.18	85	11.5	434
24	7 Y	3345	299	0.20	77	11.0	378
		3438	291	0.26	86	11.0	389
25	8 Y	3917	255	0.22	74	12.0	553
		3717	269	0.22	81	12.0	525
26	8 Y	3903	256	0.16	90	10.5	394
		3909	256	0.16	82	10.5	395
27	10 Y	3113	321	0.17	89	11.0	352
		3124	320	0.19	82	11.0	353
28	11 Y	3067	326	0.20	78	12.0	434
		3017	331	0.18	81	12.0	427

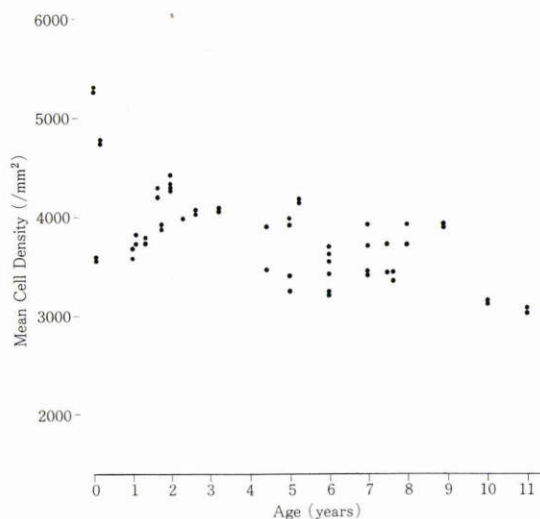


Fig. 3 Mean endothelial cell density.

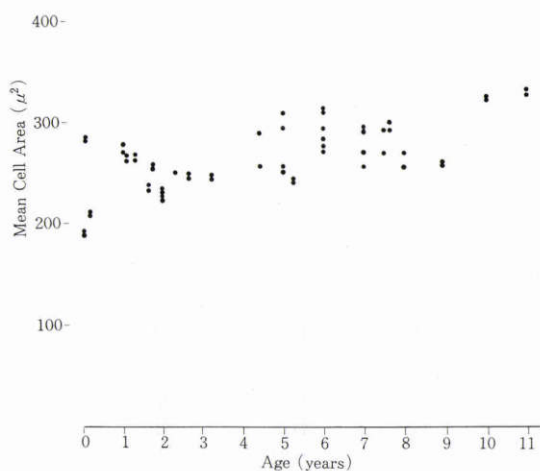


Fig. 4 Mean endothelial cell area.

考えられたため、定数7.5mmを代入した。

III 結果 (表1)

各症例の平均細胞密度 (cells/mm²) は、最大が生後2日の5305, 最小が11歳の3017であり(図2), 年齢に相関して減少していた($r=0.67$, t -test: $p<0.01$) (図3)。

平均細胞面積 (μm²) は、最小が生後2日の189, 最大が11歳の331で、年齢に相関して増加していた ($r=0.69$, t -test: $p<0.01$) (図4)。

変動係数は最小が生後2カ月の0.13, 最大が7歳8カ月の0.26, 六角形細胞出現頻度は最高が1歳の91%,

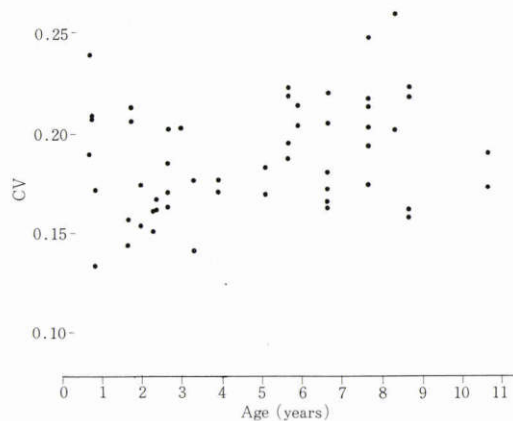


Fig. 5 Coefficient of variation.

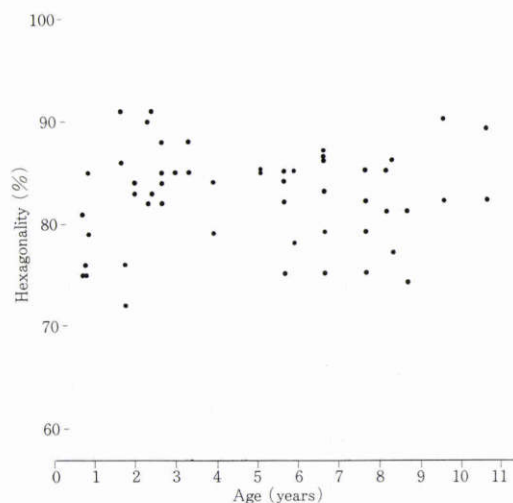


Fig. 6 Percentage of hexagonal cells.

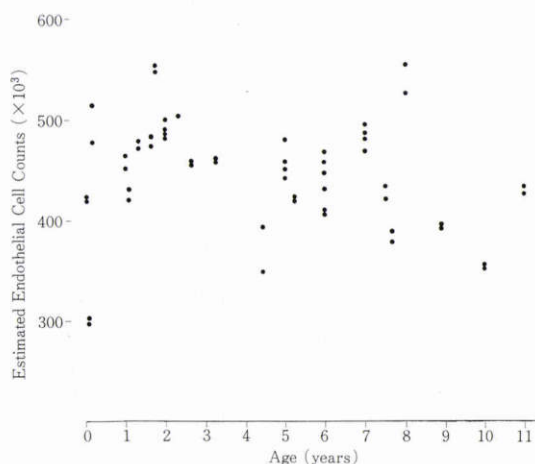


Fig. 7 Estimated endothelial cell counts.

最低が 1 歳 1 カ月の 72% であった (図 5, 6)。

角膜の内皮細胞総数は 297,000~554,000 と症例によりばらつきが認められるが年齢による大きな減少は認められなかった (図 7)。

IV 考 按

スペキュラーマイクロスコープの開発以来、眼病変等を角膜内皮の変化としてとらえ、検討しようとする試みが各方面でなされている。そのため、角膜内皮の各種パラメーターの正常値が必要となる。ただ、成人例に比し小児では測定 of 困難さなどから報告例^{4)~7)}も少なく、また、角膜内皮のパラメーターとしても変動係数、六角形細胞出現頻度などの細胞の多形性、バラツキを表す数値を定量的に示した報告は我々の知る限りでは認められない。さらに、小児、特に新生児期の角膜の生後発達については明らかでない点も多く、この時期の角膜内皮の形態的变化を正確にとらえることは有意義なことと考えられる。小児では検査に対する協力性が得られず、通常、接触型スペキュラーマイクロスコープでは、年長児でなければ検査は不可能であるが、全身麻酔下に小児を側臥位にすることにより新生児においても可能であった。

スペキュラーマイクロスコープにて撮影した写真からの解析については、方法により数値が異なることが指摘されている事もあり⁸⁾、注意を要するところかと思われる。実際に現在主に使用されている解析方法としては fixed flame 法、variable flame 法、ディジタイザー法、イメージアナライザー法がある¹⁾。このうち前二者は変動係数、六角形細胞出現頻度などは算出出来ない。後の二者も含めて、現在のところ総ての方法において徒手にての入力操作が含まれるため、誤差を完全に除くことは不可能であるが、誤差を最小限にするために種々の努力がなされている。従来のイメージアナライザー法では、細胞境界をトレースした線の面積は細胞の面積に含まれないため、トレースの線の太さが誤差の原因となり得るが、今回使用した解析装置ではトレースの線の太さを自動的に VDT 上の 1 ドットの太さにまで処理し、更にその境界線の面積を一定の数式によりその隣あった細胞の面積に配分するため、事実上解析によって生じる誤差は無視出来得ると考えられる。

角膜内皮は、一般に成長とともに細胞密度の減少並びに、細胞面積の拡大、細胞の多形性及びバラツキの増大が認められている^{1)~3)}。角膜内皮細胞密度の小児

期の正常値については、種々の報告^{4)~7)}があり、数値についても乳児期で 3,000~6,000 程度と大きな相違が認められる。今回の我々の検討では 1 歳未満の平均が 4,523 で、従来の報告と大きな隔たりはなかった。

生後の内皮細胞密度の減少率については、報告毎に対象とした年齢層が異なるため比較は出来ないが、学童期もしくは成人に至るまでに 14~35% の減少を認め、また、特に生後の 1 年間で減少率が著しいとする報告^{4)~7)9)}が多い。我々の検討でも内皮細胞密度は年齢に伴って有意に減少していた。

乳幼児期の細胞の多形性やバラツキについては定量的に表した報告は認められないが、加齢とともに多形性やバラツキが増加すると報告⁵⁾⁹⁾は認められる。今回の検討から、小児の角膜内皮は従来の成人での数値¹⁾と比較して変動係数、六角形細胞出現頻度のいずれからもより均一で、多形性が少ないと考えられた。Murphy ら⁹⁾は組織学的研究により、角膜内皮細胞の多形性は年齢に伴い上昇するが出生前には多形性の低下が認められることを指摘している。今回の我々の検討においては、年齢による変化については症例数も少なくバラツキも多いため明らかではなかった。小児の内皮細胞の多形性の変化、特に出生前後での内皮細胞形態の安定化の完了の時期がいつ頃であるかについては不明な点が多く、今後とも検討を加える必要があると考えられた。

出生時の角膜の総内皮細胞数については 35 万から 100 万まで、報告⁸⁾⁹⁾により大きな差があり、個体差によるものと同時に算出方法等によっても異なるものと考えられる。今回の我々の検討では 40 万~50 万の症例が多かった。

前述した生後の細胞密度の急激な減少に対し、Sherard ら⁴⁾は、細胞数の減少により生じるとしているのに対し、Murphy ら⁹⁾は生後の角膜径の増大が主な要因であるとしている。角膜径は 1 歳頃までに大きな発達を遂げるとされており¹⁰⁾、細胞密度の減少の著しい時期とほぼ一致する。

今回の我々の検討では、細胞密度は 1 歳未満より 8~11 歳までに 25.8% の減少を認めるのに対し、角膜径の増大を考慮に入れ算出した総細胞数では 2.5% の減少となり、生後の急激な細胞密度の減少は、角膜径の増大による要因が主であると考えられた。なお、組織学的に乳幼児期の角膜内皮細胞に明らかに死滅したものを認めなかったとする報告⁹⁾があるが、出生後の外界からの影響などによっても幼児期には角膜内皮細胞

は全く死滅しないと考えることには無理があると思われる、内皮細胞数の真の減少自体については否定は出来ないと考えられる。

以上のように少なくとも幼児期以降の角膜内皮細胞の密度や形態については、従来から報告されている成人での変化とほぼ同様に、成長とともに細胞密度の減少、多形性、バラツキの増加傾向が認められた。ただ、乳児期においてはちょうどその時期に角膜の形態、構造自体が大きく変化を遂げる時期でもあり、また、解析した症例数も少ないため今後とも十分な検討が必要であると考えられた。

(稿を終えるにあたり、角膜内皮計測システムを貸与頂いたサンコンタクトレンズ社に厚くお礼申し上げます。)

文 献

- 1) 大原國俊, 水流忠彦, 伊野田繁: 角膜内皮細胞のパラメーター. 日眼会誌 91: 1073—1078, 1987.
- 2) 松田 司, 大迫一人, 須田秩史他: 全層角膜移植における角膜内皮細胞の経時的変化について. 第1報. 健常角膜内皮細胞分布について. 眼紀 32: 569—572, 1981.
- 3) 馬嶋慶直, 野川秀利, 湯浅英治: Specular microscope による角膜内皮細胞の考察—経年変化ならびに白内障術後変化について—. 日眼会誌 83: 936—946, 1979.
- 4) Sherrard ES, Novakovic P, Speedwell L: Age-related changes of the corneal endothelium and stroma as seen in vivo by specular microscopy. Eye 1: 197—203, 1987.
- 5) Hiles DA, Biglan AW, Fetherolf EC: Central corneal endothelial cell counts in children. Am Intra-ocular Implant Soc J 5: 292—300, 1979.
- 6) Bahn CF, Glassman RM, MacCallum DK, et al: Postnatal development of corneal endothelium. Invest. Ophthalmol Vis Sci 27: 44—51, 1986.
- 7) Laule A, Cable MK, Hoffman CE, et al: Endothelial cell population changes of human cornea during life. Arch Ophthalmol 96: 2031—2035, 1978.
- 8) Warning GO, Krohn MA, Ford GE, et al: Four methods of measuring human corneal endothelial cells from specular photomicrographs. Arch Ophthalmol 98: 848—855, 1980.
- 9) Murphy C, Alvarado J, Juster R, et al: Prenatal and postnatal cellularity of the human corneal endothelium. Invest. Ophthalmol Vis. Sci 25: 312—322, 1984.
- 10) 加藤和男, 金井 淳, 稲富 誠: 小児の角膜の形態的発達. 眼科 19: 471—480, 1977.