

ヒト水晶体上皮細胞の密度と形態に関する研究

斎藤 純子*, 西 興史*, 日谷 博光**

*西眼科病院, **日谷眼科医院

要 約

ヒト水晶体上皮細胞の細胞密度および形態を年齢, 性, 白内障の成熟度, 糖尿病 (DM) の有無により検討した。白内障嚢外摘出時, 前嚢を Circular Capsulorhexis または Can Opener にて取り出し, 2~48時間後無染色で位相差顕微鏡にて観察, 前嚢中心部の細胞が隙間なく詰まった箇所を写真撮影(100倍)し, このネガを自動計測システムにて解析した。解析に適当なもの190例を用いた。結果は細胞密度は平均は全例(190)では $4,701 \pm 683 \text{ cells/sqmm}$ 。細胞密度は50歳以上では未滿に比べ有意に低い($p < 0.05$)。50歳以上では女性の方が男性より高い。DMのある症例では有意に低い($p < 0.05$)。白内障成熟度別では過熟白内障で有意に低い($p < 0.05$)。形態では5, 6, 7角形が85.6%を占め, 性別, DMの有無, 白内障成熟度による差はなかった。このうちDMでの水晶体上皮の細胞密度が低くなる機序につき Sorbitol の蓄積による Osmotic theory を用い考察した。(日眼会誌 94: 176-180, 1990)

キーワード: ヒト水晶体上皮細胞, 細胞密度, 細胞形態, 糖尿病, 年齢

Cell Density and Hexagonality of Lens Epithelium in Human Cataracts

Junko Saitoh*, Okihito Nishi* and Hiromitsu Hitani**

*Nishi Eye Hospital, **Hitani Eye Clinic

Abstract

One hundred and ninety flat preparations of human lens epithelium attached to the anterior capsule, obtained during surgical extracapsular cataract extraction (ECCE), were studied. The median cell density of all preparations was $4,701 \text{ cells/sqmm}$. The lens epithelium of the patients exceeding 50 years of age showed lower density than that of younger patients ($p < 0.05$). The epithelium of females showed a higher density than that of male patients. With increasing maturity of cataracts, the cell density decreased ($p < 0.05$). Moreover the cell density of DM patients was significantly lower than that of non-DM patients ($p < 0.05$). This result may be explained by the sorbitol pathway theory. There were no significant differences among any cases in term of hexagonality. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 94: 176-180, 1990)

Key words: human lens epithelium, Cell density, Hexagonality, Diabetes mellitus, age

I 緒 言

ヒト水晶体上皮の細胞密度に関する研究は, Konof-

sky ら¹⁾, さらに細胞形態(角数)については原ら²⁾, 重光ら³⁾によってなされている。

Konofsky は Hematoxylin-Eosin 染色の後, 顕微鏡

別刷請求先: 〒537 大阪市東成区中道4-14-26 西眼科病院 斎藤 純子。

(平成元年6月28日受付, 平成元年9月26日改訂受理)

Reprint requests to: Junko Saitoh, M.D. Nishi Eye Hospital 4-4-26 Nakamichi Higashinari-ku Osaka 537, Japan

(Received June 28, 1989 and accepted is revised form September 26, 1989)

下で細胞数の計測をしている。原らは無染色で位相差顕微鏡で写真撮影し計測、重光らは May-Grunwald-Giemsa 染色後、顕微鏡、全自動撮影装置、ジグタイザーにて計測している。

我々は最もあるがままの水晶体上皮を観察する方法と考えられる無染色、固定前に位相差顕微鏡にて撮影し、自動解析装置⁶⁾にて解析した。

検索の項目は、年代別、性別、白内障成熟度に分類した。白内障の型について、当初、過熟、未熟、皮質、核、前囊下、後囊下と分類したが成熟度以外は厳密な分類は困難なため、過熟と未熟と成熟度に大別した。前囊下白内障は中心部に混濁があるため除外した。また、未だ糖尿病ヒト水晶体上皮の関わりを述べた研究は少ない^{3)~5)}。これを調べるため糖尿病の有無についても検討し、若干の考察を加えた。

II 方 法

材料は1988年3月より1989年2月にかけて西眼科病院及び日谷眼科医院において、白内障囊外摘出術手術の際採取された前囊190例を用いた。この内164例は非糖尿病患者のもの、26例は糖尿病患者のものであった。糖尿病は内科にて75g 経口負荷試験施行により1980年 WHO の診断基準を満たすものであった。

前囊は22G 針の先端を曲げた Cystotome を用い、直径約4~7mm の Circular Capsulotomy、一部 Can Opener により切除した。前囊切除が完了するやすぐに、前囊より水晶体上皮が剥がれ落ちないように小切開を加えた角膜創より前囊をゆっくり丁寧に取り出し、生理食塩水で満たした小瓶に一時保存した。これを2~48時間以内に、一度シャーレに移し、スパーテルにてすくい上げ、スライドガラス上にふんわりと広げた。Circular Capsulotomy された前囊は表面にほんの少しの生理食塩水がついていると折れたり曲がりたりせずに平らに広げることが容易であった。直ちに、位相差顕微鏡にて観察し中央部の細胞が隙間なく詰まった箇所を写真撮影した(100倍)(図1)。このネガフィルムを角膜内皮自動解析装置⁶⁾にて解析した。細胞密度と角数は約20分で解析された。上皮は前囊より容易に剥がれ易いため手術後ただちに観察するのを原則とし、その方が撮影に適当なだけの細胞が残っていることが多かったが、およそ48時間を経てもきちんとした細胞形態を保ち撮影に適当と見られる例もかなりあった。従って、まず予備実験として、

1. 48時間後に撮影した上皮細胞が生食中での保存

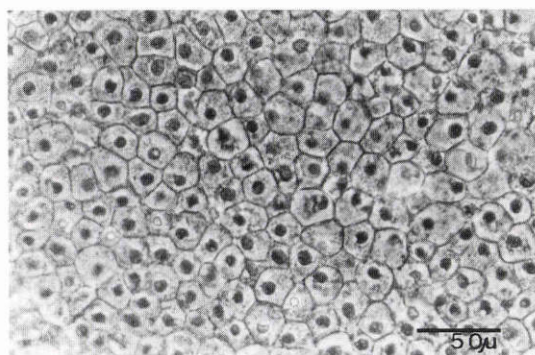


図1 位相差顕微鏡下で撮影した水晶体上皮細胞 (×100)

により細胞密度を変えないか調べるため、手術2時間後に撮影した前囊を再び生食中に保存し48時間後に再び撮影することのできた9例につき検討した。

次に本実験として、

2. 細胞密度(細胞面積)、5、6、7角形の占める割合を、糖尿病(DM)の有無、年代別、性別、白内障の成熟度(過熟、未熟)に関しt検定を行った。

III 結 果

1. 2時間後と48時間後の写真の解析の結果2時間後の細胞密度平均は $4,644 \pm 462$ cells/sqmm, 48時間後の平均は $4,656 \pm 474$ cells/sqmmであり、両者の相関は $\gamma = 0.96724$ 、一次回帰直線を求めると、 $Y = 0.990849X + 54.4023$ (X: 2時間後の密度 Y: 48時間後の密度)となり48時間後であっても細胞の形態を保っているものは解析に適当であるとみなした。

2. 190例につき検討した。1症例につき平均211個の細胞を測定した。細胞密度(cells/sqmm)の最低値は3,072、最高値は6,499、平均は $4,701 \pm 683$ であり、細胞面積(sqμ)は最高値325、最低値154、平均値は 217.5 ± 33.8 であり、細胞形態に関し、5角形は $23.9 \pm 5.7\%$ 、6角形 $39.1 \pm 8.2\%$ 、7角形 $22.6 \pm 4.5\%$ であり、5~7角形で85.6%を占めた。

1) DMの有無によって分けると(+)群26例で平均細胞密度 $4,464 \pm 625$ cells/sqmm(細胞面積 228.4 sqμ)、(-)群164例で平均密度 $4,742 \pm 688$ cells/sqmm(面積 215.8 sqμ)と、(+)群で細胞密度は有意に低い(面積は有意に大きい)($p < 0.05$)。細胞角数は5、6、7角形とも有意差はない(表1、2)。

2) DMのある症例では細胞密度が有意に低くなることがわかったのでDMのない症例のみに関して年

表 1

DM(+)群

年代	例数	面積 $\text{sq}\mu$	密度 コ/sqmm	5 角形	6 角形	7 角形	5-7 角形%
30歳	1	208.4	4798	23.7	39	21.2	83.9
40—	1	198.8	5029	24	23.3	25.6	72.9
50—	5	234.5 $\pm$ 53.4	4439 $\pm$ 978	20.5 $\pm$ 2.3	39.7 $\pm$ 1.2	25.1 $\pm$ 3.0	85.2
60—	10	228.9 $\pm$ 33.3	4450 $\pm$ 637	24.0 $\pm$ 5.0	40.0 $\pm$ 7.5	23.3 $\pm$ 2.6	87.3
70—	5	243.7 $\pm$ 17.4	4120 $\pm$ 293	24.3 $\pm$ 2.6	37.4 $\pm$ 9.6	24.2 $\pm$ 3.9	85.9
80—	4	223.8 $\pm$ 17.4	4487 $\pm$ 328	19.4 $\pm$ 5.0	43.7 $\pm$ 8.8	21.4 $\pm$ 3.9	84.9
計	26	*228.4 $\pm$ 36.4	☆4464 $\pm$ 625	22.6 $\pm$ 4.3	39.7 $\pm$ 8.9	23.5 $\pm$ 3.1	85.8

50歳以上の平均

24*229.5 $\pm$ 33.0★4443 $\pm$ 628

年齢平均

DM(+)全体

64.1 $\pm$ 15.7

(歳) 50歳以上

◎67.5 $\pm$ 8.5

表 2

DM(-)群

年代	例数	面積 $\text{sq}\mu$	密度 コ/sqmm	5 角形	6 角形	7 角形	5-7 角形%
30歳	1	168.4	5939	24.6	35.7	24	84.3
40—	9	200.6 $\pm$ 26.6	5062 $\pm$ 663	24.2 $\pm$ 7.6	44.0 $\pm$ 5.4	22.7 $\pm$ 6.9	90.9
50—	11	208.9 $\pm$ 19.9	4829 $\pm$ 484	24.4 $\pm$ 3.3	35.4 $\pm$ 6.8	21.5 $\pm$ 8.2	81.3
60—	36	213.2 $\pm$ 35.5	4811 $\pm$ 759	24.3 $\pm$ 4.7	40.9 $\pm$ 7.4	22.8 $\pm$ 5	86.7
70—	79	217.6 $\pm$ 33.6	4696 $\pm$ 671	24.7 $\pm$ 6.9	37.9 $\pm$ 9.0	22.5 $\pm$ 5.3	85.1
80—	28	217.0 $\pm$ 33.1	4700 $\pm$ 640	23.0 $\pm$ 4.5	40.1 $\pm$ 7.4	22.7 $\pm$ 3.3	85.8
計	164	*215.8 $\pm$ 33.9	☆4742 $\pm$ 688	24.2 $\pm$ 5.8	39.0 $\pm$ 8.2	22.5 $\pm$ 5.2	85.7

50歳以上の平均

154*216.1 $\pm$ 33.1★4728 $\pm$ 674

年齢平均

DM(-)全体

70.3 $\pm$ 12.7

(歳) 50歳以上

◎72.3 $\pm$ 8.5

*※☆★ #p<0.05, ◎p<0.01

表 3 50歳以上と未満 (DM(-)群)

年代	例数	面積 $\text{sq}\mu$	密度 コ/sqmm	5 角形	6 角形	7 角形	5-7 角形%
—49	10	196.3 $\pm$ 33	*5176 $\pm$ 731	24.4 $\pm$ 7.2	43.4 $\pm$ 6.1	22.6 $\pm$ 6.6	90.0
50—	154	216.6 $\pm$ 33.8	*4728 $\pm$ 674	24.2 $\pm$ 5.8	38.8 $\pm$ 8.2	22.5 $\pm$ 5.2	85.5

*p<0.05

表 4 性別 (DM(-)群)

A. 全体

Sex	例数	面積 $\text{sq}\mu$	密度 コ/sqmm	5 角形	6 角形	7 角形	5-7 角形%
Male	53	219.5 $\pm$ 39.9	4693 $\pm$ 781	23.9 $\pm$ 4.9	39.1 $\pm$ 7.8	23.3 $\pm$ 5.3	86.3
Female	111	213.9 $\pm$ 30.5	4766 $\pm$ 642	24.4 $\pm$ 6.3	38.9 $\pm$ 8.4	22.2 $\pm$ 5.2	85.5

年齢平均 Male ☆ 67.5 $\pm$ 14.5

☆p<0.05

(歳) Female ☆ 71.7 $\pm$ 11.6

B. 年代別細胞密度 (コ/sqmm)

M (例)

F (例)

40—	5158 $\pm$ 665(4)	4616 $\pm$ 1018(5)
50—	4563 $\pm$ 494(5)	4879 $\pm$ 571(6)
60—	4723 $\pm$ 1021(24)	4855 $\pm$ 610(12)
70—	4659 $\pm$ 643(27)	4715 $\pm$ 691(52)
80—	4208 $\pm$ 1107(4)	4782 $\pm$ 520(24)

表5 白内障の成熟度別 (DM(-)群)

型	例数	面積sqμ	密度コ/sqmm	5角形	6角形	7角形	5-7角形%
過熟	25	*227±37.6	*4513±687	23 ±3.4	38.8±6.4	22.7±5.7	84.5
未熟	106	*212±25.4	*4820±705	24.5±6.5	40.2±8.2	22.6±5.2	87.3

年齢平均 過熟★ 71.2±13.5

(歳) 未熟★ 70.8±9.00

***p<0.05

代別に検討した。30歳代、40歳代で密度が高く、5, 6, 7, 80歳代で徐々に低くなっている。そこで50歳未満と50歳以上に分けて検討した。平均細胞密度は50歳未満で5,176±731cells/sqmm, 50歳以上で4,728±674cells/sqmmと若年者で細胞密度は有意に高かった(p<0.05)。細胞角数は6角形について50歳未満が43.4%, 50歳以上が38.8%と若年者で占める割合が大きい(表2, 3)。

3) 男女別に検討 (DM (-) 群につき) すると、平均細胞密度 (平均細胞面積) は男性53例で4,693±781cells/sqmm (219.5±39.9sqμ), 女性111例で、4,766±642cells/sqmm (213.9±30.5sqμ) と50歳以上では各年代において女性で細胞面積は小さく密度はやや高いが有意差は認めなかった。細胞角数は5, 6, 7角形とも男女間で有意差はない(表4A, B)。

4) 白内障の成熟度について検討すると、平均細胞密度 (平均細胞面積) は過熟白内障25例で4,513±781cells/sqmm (227±37.6sqμ), 未熟白内障106例で4,820±705cells/sqmm (212±25.4) と過熟白内障で細胞密度は有意に低い (細胞面積は有意に大きい) (p<0.05)。細胞角数については5, 6角形の占める割合が未熟白内障で多いが有意差はない(表5)。

IV 考 按

年齢が高くなるにつれて細胞密度が低くなることは、すでに Konofsky¹⁾, 重光ら²⁾により述べられている。我々のデータでは50歳以上になると明らかに密度が低下していた。水晶体上皮細胞の分裂は加齢と共に少なくなる¹³⁾。特に50歳を境として分裂が少なくなることが推察される。

性別に関し Konofsky は女性で密度が高いとのべているが我々のデータでは50歳以上の各年代で女性が男性に比し密度は高いが明かな差は認められなかった。

また、過熟白内障において細胞密度が低下していたがこれは、検討した未熟白内障と年齢に有意差はないため加齢という要素を除外して考えると、水晶体の内側からの圧がかかるため上皮細胞が障害を受けるた

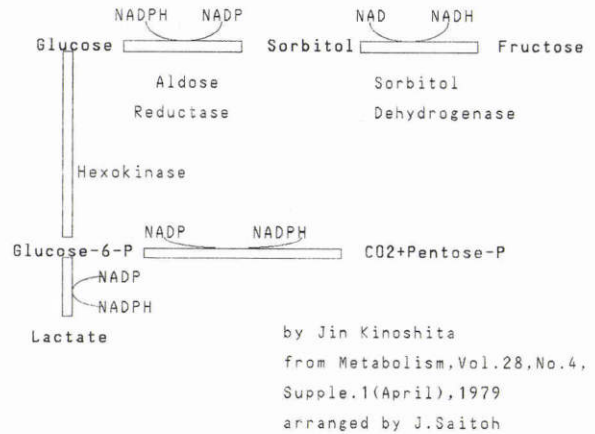


図2 The Sorbitol Pathway

め¹⁾, 細胞が減っていくことも一因として考えられる。

今回、我々の研究で最も注目すべきは、糖尿病のある水晶体上皮細胞の平均面積が大きくなっている (即ち、細胞密度が低くなっている) 点である。すべての症例の内、密度の極端に高い50歳未満の症例を除外し検討してみても DM (+) 群で4,443±628cells/sqmm (229.5±33sqμ), DM (-) 群で4,728±674cells/sqmm (216.1±33.1sqμ) と DM 群で密度が低い。これもまた DM (+) 群の平均年齢が67.5歳, DM (-) 群の平均年齢が72.3歳と (+) 群が若年であることを考慮に入れば DM (+) 群で密度が低く、平均細胞面積が大きいことはいよいよ歴然とする。この糖尿病状態において上皮細胞密度が低くなる原因について考察する。今4つの仮説を立てることができる。すなわち、

1. 中心部の上皮細胞が拡大する (浮腫を起こす)。
2. 上皮細胞がなんらかの原因で一部死滅する。
3. 前赤道部での細胞分裂が低下する。
4. 上皮細胞が赤道部を越え後極へと移動する。

しかし、今回前囊は、直径4~7mm, この内多くは5~6mm であり、この中でも中心部の細胞を撮影したため、3, 4の仮説を用いて前赤道部あるいはそれより後方の細胞について議論することはできない。した

がって、1, 2の仮説を用いる。

既にKinoshitaらにより糖尿病状態の水晶体線維細胞では、Sorbitolが蓄積することにより細胞の膨化が起こることが説明されている。すなわち正常の前房内血糖値下では、Glucoseはrate limiting enzymeであるHexokinaseによりG-6-Pとなり、解糖系を経てFructose, 1-6-Diphosphate, Pyruvic acid, そして、Lactic acidへ代謝される。一部はPentose shuntによりPentoseを経てCO₂に代謝される。ごくわずかではあるが好気下にKrebs cycleを回り、Tricarboxylic acidを経てCO₂に代謝されるものもある。これらはいずれも膜（前囊）を透過し水晶体内に蓄積されることはない。しかし高血糖状態になるとHexokinaseは飽和されGlucoseはAldose Reductase (AR)を介しSorbitolに変化する¹⁴⁾。Sorbitolは膜透過性が少ないために水晶体内に蓄積し、高浸透圧となるため水分を引き、水晶体線維細胞が膨化し、混濁し白内障を引き起こす^{7)~10)} (図2)。

ところが、ヒト水晶体内のARに対する染色は皮質水晶体線維細胞よりも水晶体上皮細胞にはるかに強い⁵⁾。とすれば、高血糖状態において前房水を通して水晶体上皮細胞に入った過剰なGlucoseは、ARによりSorbitolへと代謝され、細胞中に蓄積されるために、浸透圧に従って水分を引き膨化、拡大する（浮腫を起こす）と考えることができそうである。今回写真に残すことはできなかったが、この浸透圧の上昇により一部の細胞が死滅することは考えられそうである。

さて、上皮細胞の形態（5, 6, 7角形の占める割合）は検討したすべての項目において有意差が認められなかったがこれは、角膜内皮のように一度失われた細胞は周りの細胞が拡張して補われる¹¹⁾¹²⁾のと違い一生を通じて分裂増殖を続けている¹³⁾からと考えられる。

本研究の要旨は第28回日本白内障学会で発表した。

文 献

1) Konofsky K, Naumann GOH, Guggenmoos-

Holzmann I: Cell density and sex chromatin in lens epithelium of human cataracts. *Ophthalmology* 94: 7, 875-880, 1987.

- 2) 原 孜, 原 たか子: Endocapsular Cataract Surgery に於ける水晶体上皮細胞除去法の検討. *日本の眼科* 59: 305-309, 1988.
- 3) 重光利朗, 馬嶋慶直, 謝 莉娜: ヒト水晶体上皮細胞の加齢変化について. *眼紀* on print.
- 4) 神谷美保子, 馬嶋慶直, 中澤 清: 糖性白内障水晶体の上皮細胞増殖現象に対する生化学的解析. *日眼会誌* 91: 459-464, 1987.
- 5) Akagi Y, Yagima Y, Kador PF, et al: Localization of aldose reductase in the human eye. *Diabetes* 33: 562-566, 1984.
- 6) Nishi O, Hanasaki K: Automated morphometry of corneal endothelial cell; use of video canera and video tape recorder. *Br J Ophthalmol* 72(1): 68-73, 1988.
- 7) Kinoshita JH, Fukushi S, Kador P, et al: Aldose reductase in diabetic complication of the eye. *Metabolism* 28: 462-469, 1979.
- 8) Kinoshita JH, Kador P, Datiles M: Aldose reductase in diabetic cataracts. *AMA* 246: 257-261, 1981.
- 9) Cogan D, Kinoshita JH, Kador PF, et al: Aldose reductase and complication of diabetes. *Ann Int Med* 101: 82-91, 1984.
- 10) 福士 克: アルドース還元酵素阻害剤と糖尿病性合併症. *眼紀* 26: 695-704, 1984.
- 11) Matsuda M, Suda T, Manabe R: Serial alterations in endothelial cell shape and pattern after intra-ocular surgery. *Am J Ophthalmol* 98: 313-319, 1984.
- 12) Schultz KJ: Corneal endothelial changes in type I and type II diabetes mellitus. *Am J Ophthalmol* 98: 401, 1984.
- 13) Nauman GOH, Apple DJ, 西興 史 訳: 眼病理学. 東京, シュプリンガーフェアラーク東京株式会社, 22, 1987.
- 14) Moses: *Adler's Physiology of the Eye*, St. Louis, Mosby, 290-299, 1981.