

前房穿開後の血液房水柵破綻に関する形態学的研究

久保田敏昭, 大西 克尚, 石橋 達朗, 菅井 滋

九州大学医学部眼科学教室

要 約

手術操作で前房を開放した場合における血液房水柵の破綻の経時的变化をサルを使って形態学的に検討した。角膜輪部全層切開術後7日目に horseradish peroxidase を静脈内に注入して眼球摘出した例では horseradish peroxidase は毛様体無色素上皮細胞の側面先端に存在する tight junction を越えて認められ、血液房水柵の破綻は機能的に修復していないことが証明された。術後1年経過しても毛様体皺襞部の最前端に毛様体色素上皮細胞と毛様体無色素上皮細胞の2層からなる嚢胞の形成がみられ、術後長期にわたって血液房水柵の破綻が残る可能性を示唆していた。(日眼会誌 94: 243-249, 1990)

キーワード: 毛様体, 血液房水柵, Horseradish peroxidase, 猿

Morphological Study of the Disruption of the Blood-Aqueous Barrier Following Paracentesis

Toshiaki Kubota, Yoshitaka Ohnishi, Tatsuro Ishibashi, and Shigeru Sugai

Department of Ophthalmology, Faculty of Medicine, Kyushu University

Abstract

Long-term morphological changes of the blood-aqueous barrier following paracentesis were studied in monkeys. Horseradish peroxidase molecules given intravenously were detected in the intercellular space beyond the tight junction between the nonpigmented ciliary epithelial cells in a monkey 7 days after the operation. The data demonstrated that the breakdown of the blood-aqueous barrier was not functionally repaired 7 days after the operation. Cysts were observed at the most anterior portions of the ciliary processes in monkeys surviving for 14 days to 1 year. These cysts consisted of two layers of both pigmented and nonpigmented epithelial cells. These findings suggest that the breakdown of the blood-aqueous barrier remains not to be repaired for long periods. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 94: 243-249, 1990)

Key words: Ciliary body, Blood-aqueous barrier, Horseradish peroxidase, Monkey

I 緒 言

着帯 zonula adherens などの細胞間結合が存在する^{1)~4)}。これらの細胞間結合のうち、毛様体無色素上皮細胞の側面先端部にある閉鎖帯(密着結合)は血液房水柵として機能することが horseradish peroxidase

毛様体上皮細胞間には、細隙結合 gap junction, 閉鎖帯 zonula occludens (密着結合 tight junction), 接

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 久保田 敏昭

(平成元年9月26日受付, 平成元年10月16日改訂受理)

Reprint requests to: Toshiaki Kubota, M.D. Dept. of Ophthalmol., Faculty of Med., Kyushu Univ. 3-1-1 Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka 812, Japan

(Received September 26, 1989 and accepted in revised form October 16, 1989)

(HRP) をトレーサーとして使った動物実験により明らかにされている^{15)~11)}。前房穿刺により房水中に蛋白やフィブリン量が増加するのは血液房水柵の破綻により血液中の成分が房水中に漏出するためである^{12)~15)}。手術中や術後にみられるフィブリンの析出は臨床においてよく経験するが、この血液房水柵の破綻は毛様体無色素上皮層の最前端部でおこり、しばしば囊胞形成を伴うことが知られている^{13)~15)}。本研究では、一定時間前房を開けた場合におこる血液房水柵の破綻が手術後長期にどのような状態になるかを猿を使った実験で組織学的に検討した。

II 材料と方法

実験には体重4~11kgの15頭15眼の日本猿 (*Macaca fuscata*) を使用した。塩酸ケタミンの筋注による麻酔下に、左眼上方の輪部角膜を約90度全層切開(前房穿開)し、15分毎に前房水を流出させ、1時間、4時間、6時間後に角膜を8~0絹糸にて縫合し、抗生物質およびステロイドを点眼した。術後1日~1年の様々な期間の後に、塩酸ケタミン麻酔下に眼球を摘出し、病理組織学的検討の材料とした。術後4日と7日に眼球摘出した2頭には眼摘の15分前に horseradish peroxidase (以下 HRP と略) (Sigma Chemical Co., Type II) 500mg/kg を静注した。摘出眼球を直ちに12時部より鼻側半と耳側半に半割し、鼻側半は10%ホルマリンで固定、アルコール系列で脱水後、パ

ラフィン包埋し、HE染色切片を作成し光顕下に観察した。耳側半は4%グルタルアルデヒド-0.1M カコジル酸緩衝液に数時間浸漬固定した後、毛様体皺襞部を含むように虹彩根部から毛様体扁平部までを細切し、同固定液に一昼夜浸漬固定した。HRP非注入例は、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。HRP注入例では、室温にて0.01%hydrogen peroxidase と5mgの3,3'-diaminobenzidine を含む10mlの0.05M Tris-HCL buffer (pH 7.6) の反応液中で15分間反応させた後、洗浄し、1%オスミウム酸-0.1M カコジル酸緩衝液にて後固定を行った。その後アルコール系列で脱水、エポキシ樹脂で包埋し、包埋した試料より厚さ約1 μ mの切片をPorter-Blum MT2B型のミクロトームで作成し、アズールIIで染色し、光顕下に観察した。さらに透過型電子顕微鏡用には、同じミクロトームで超薄切片を作成し、HRP非注入例では酢酸ウランとクエン酸鉛の二重染色を行い、HRP注入例は酢酸ウランの単染色にて日本電子100CX型電子顕微鏡で観察した。

III 結果

前房開放した時間の長短によらず、毛様体皺襞部最前端に囊胞の形成が観察された。以下に毛様体皺襞部の所見を生存期間の短い順に述べる。

1時間の前房開放の後、1日後に眼球摘出を行った

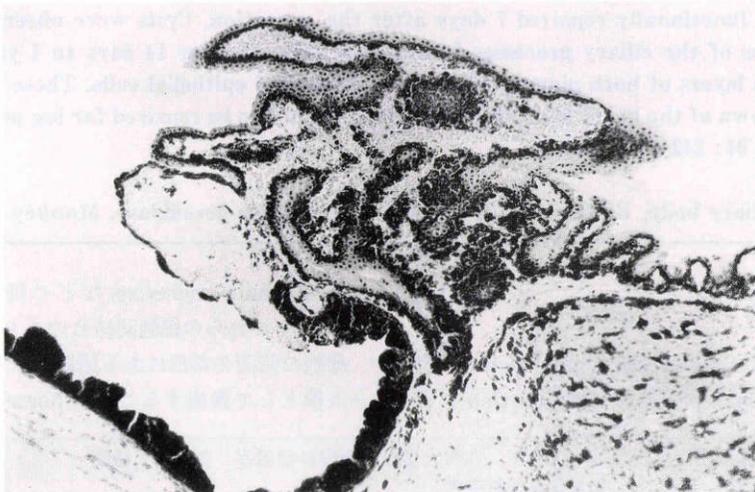


図1 1時間の前房開放後、1日後に眼球摘出を行った眼球の毛様体部。毛様体皺襞部の最前端に囊胞が形成され、囊胞内にはフィブリンを含む内容物が認められる (HE染色, $\times 100$)。

眼球の毛様体部には、毛様体皺襞部の最前端に囊胞状に毛様体実質の血管と毛様体上皮間が拡大している所見が認められた。毛様体無色素上皮細胞の配列は乱れ、この囊胞内にはフィブリンを含む内容物が認められた。囊胞壁には一部色素上皮細胞が認められず囊胞内と後房は連絡していた(図1)。

6時間の前房開放後、7日後に眼球摘出の15分前にHRPを注入した眼球の毛様体皺襞部最前端を電子顕微鏡で観察すると、high densityのHRPは毛様体上皮層では色素上皮細胞間隙および色素上皮細胞と無色素上皮細胞との間隙を縫うように認められ、一部でHRPは無色素上皮細胞の側面先端に存在するtight junctionを越えて無色素上皮細胞間腔に認められた(図2, 3, 4)。また単核球が色素上皮細胞および無色素上皮細胞間隙に認められ、無色素上皮細胞間隙は

一部開大していた(図2)。

6時間の前房開放後14日後に眼摘を行った例、4時間の前房開放後8カ月後に眼摘を行った例、4時間の前房開放後11カ月後に眼摘を行った例、および1時間の前房開放後1年後に眼摘を行った例の眼球の毛様体部には、毛様体皺襞部の最前端に囊胞の形成が認められた。このように術後2週間以上経過した例では、囊胞は毛様体色素上皮細胞が連続して存在していて、囊胞内にはフィブリンなどの内容物は認められなかった(図5A, B)。電子顕微鏡で観察すると、囊胞の内側と外側に基底膜が認められ、色素上皮細胞と無色素上皮細胞の2層の細胞からなっていた(図6)。また上皮細胞間隙に単核球の遊出がみられ、一部無色素上皮細胞の間隙が開大しているが、明らかなtight junctionの破綻は観察されなかった。

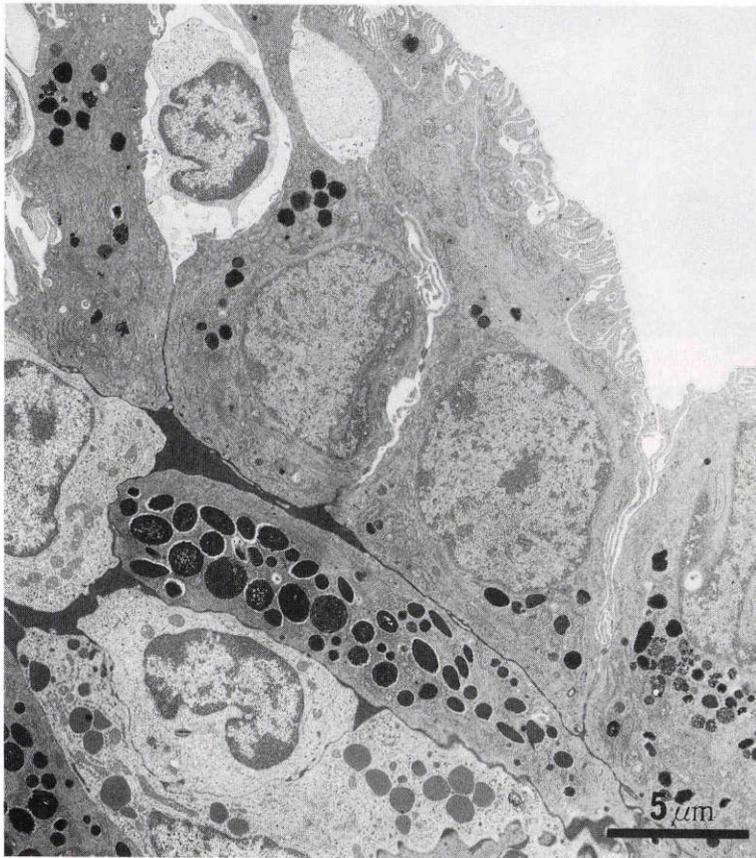


図2 6時間の前房開放後、7日後に眼球摘出の15分前にHRPを注入した眼球の電子顕微鏡写真(×3,750)。

HRPは色素上皮細胞間隙および色素上皮細胞と無色素上皮細胞との間隙を縫うように認められ、単核球が細胞間隙に存在する。

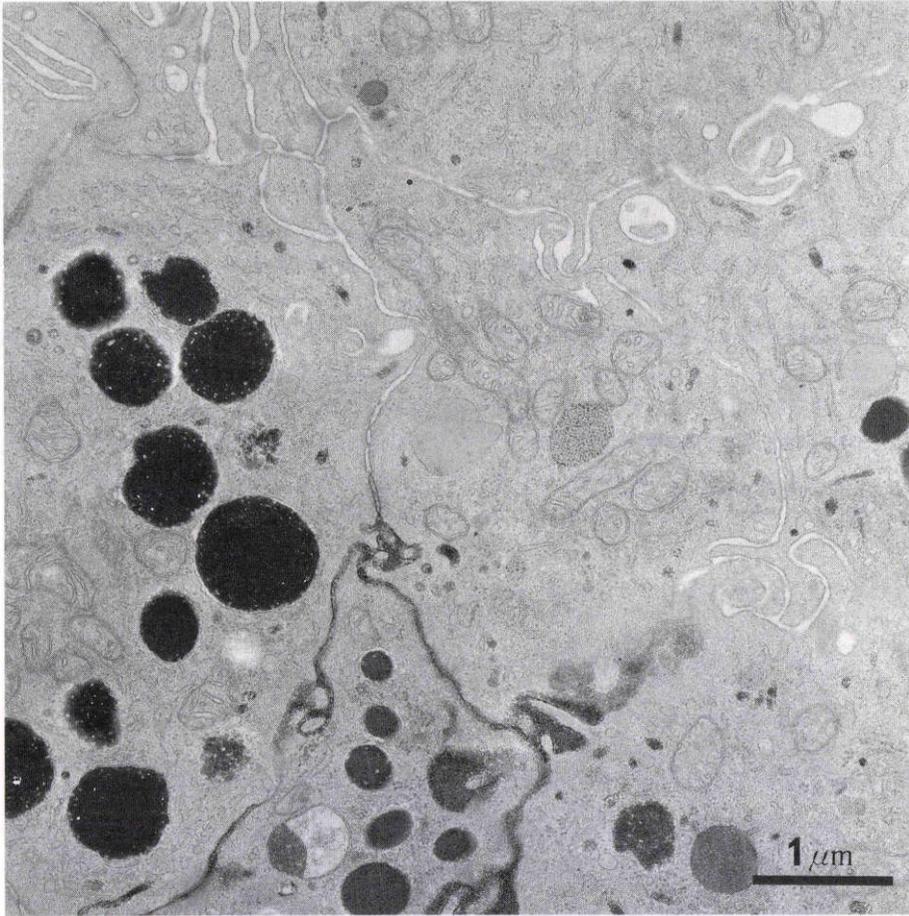


図3 HRP注入例の電子顕微鏡写真(×19,000).

HRPは無色素上皮細胞間の側面先端に存在するtight junctionでせき止められている。

IV 考 按

従来の報告には前房穿刺の後、短時間での血液房水柵の破綻を報告した論文は数多い^{11)~15)}。しかし今回の報告のように血液房水柵の破綻が起こる毛様体皺襞部を長期にわたって観察した報告はみられない。今回のHRPをトレーサーとして使った実験では、7日後に多くの部ではHRPは毛様体無色素上皮細胞間の側面先端部にあるtight junctionを越えていなかったが、一部HRPがtight junctionを越えて認められた。このことより、前房穿刺1週間後では血液房水柵の破綻は機能的に完全には修復されていないことが証明された。前房穿刺後に毛様体皺襞部の最前端で血液房水柵の破綻がおり、しばしば囊胞の形成がみられること

は以前に報告されている^{13)~15)}。今回の実験においても前房穿刺の1日後に眼摘した例で、従来の報告と同じくフィブリンを多く含む囊胞が観察された。また前房穿刺の2週間あるいは1年の長期にわたっても毛様体皺襞部の最前端に囊胞の形成がみられた。この囊胞については従来報告がない。術後長期に認められた囊胞が機能的な血液房水柵の破綻を直接的に意味するものではないが、少量のフィブリンは観察されない可能性があり、形態学的に囊胞が認められたことはこの部の血液房水柵は脆弱で、血液房水柵の破綻が長期に残る可能性を示唆している。

術後長期に認められた囊胞の内腔および外側の両面に基底膜が認められ、毛様体色素上皮細胞と無色素上皮細胞の2層の細胞からなっていた。毛様体には時に

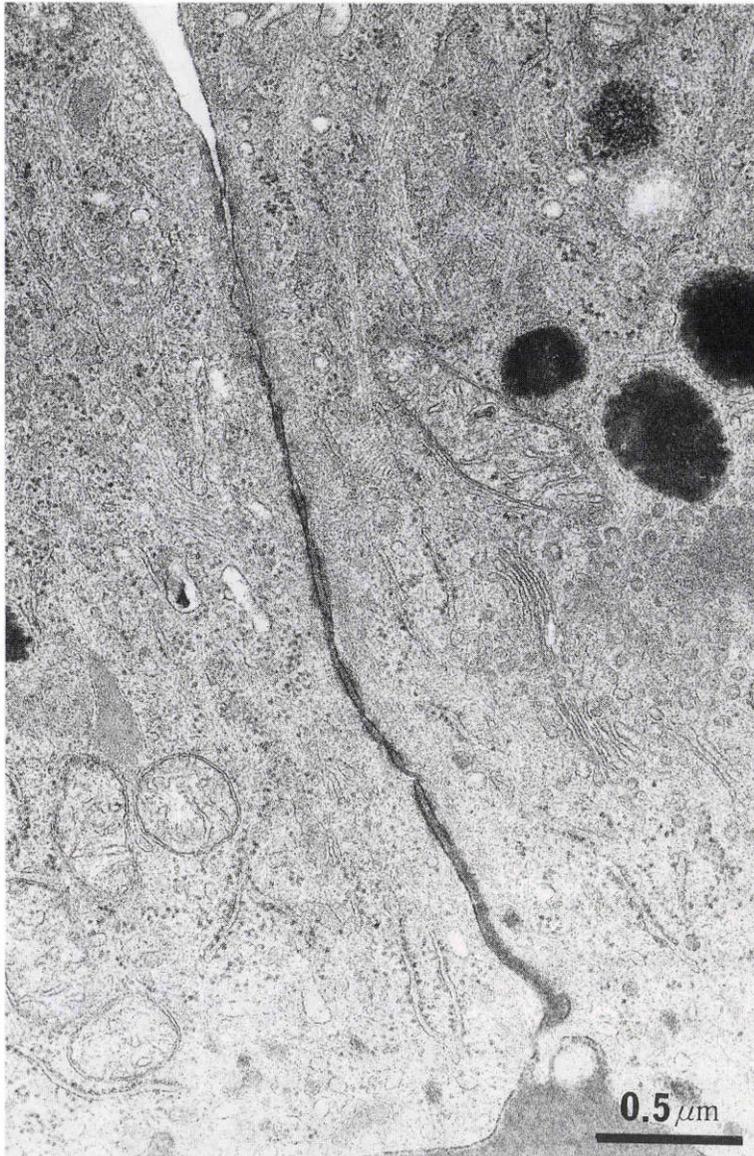


図4 HRP 注入例の電子顕微鏡写真(×38,500)。HRPはtight junctionを越えて認められる。

先天性嚢胞がみられ、それは1層の無色素上皮細胞からなるが¹⁶⁾¹⁷⁾。今回の実験で観察された嚢胞は常に毛様体皺襞部の最前端に観察されたこと、また嚢胞は常に2層の細胞から形成されていたことより先天性のものとは区別できる。

今回の実験で毛様体皺襞部に観察された嚢胞の形成は、角膜全層を切開してから縫合するまでの時間の長短によらず認められた。このことは一度前房をあける

と、その開放時間の長短によらず血液房水柵の破綻は長期にわたって残る可能性があることを示唆している。従って手術などにおいて前房を開けた場合には長期にわたってフィブリンや前房微塵が出現する可能性があるといえる。

猪俣 孟教授の御校閲に感謝致します。

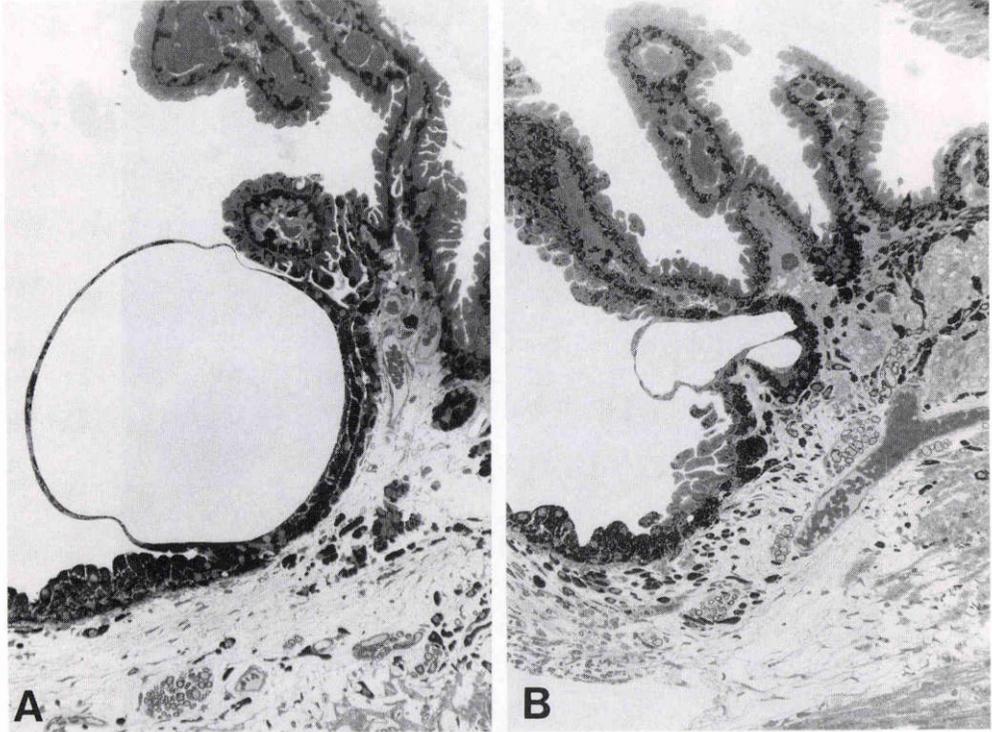


図5 A：6時間の前房開放後，14日後に眼球摘出を行った眼球の光顕写真（アズールII染色， $\times 150$ ），B：4時間の前房開放後，11ヵ月後に眼球摘出を行った眼球の光顕写真（アズールII染色， $\times 150$ ），毛様体皺襞部の最前端に嚢胞の形成が認められた。

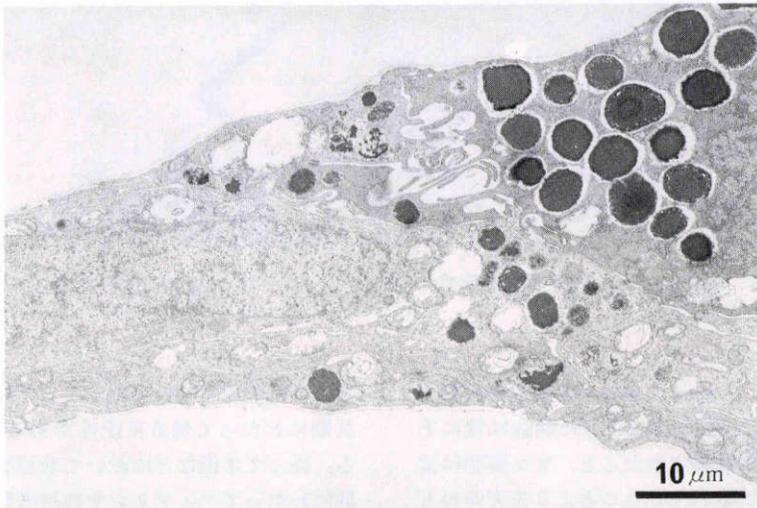


図6 図5 Bでみられた嚢胞の電子顕微鏡写真（ $\times 7,000$ ），色素上皮細胞と無色素上皮細胞からなる嚢胞の内腔側と外側の両面に基底膜が認められる。

文 献

- 1) **Shabo AL, Maxwell DS**: Electron microscopic localization of occluding junctions in the primate ciliary process and pars plana. *Invest Ophthalmol* 12: 863—865, 1973.
- 2) **Raviola G**: The structural basis of blood-aqueous barriers. *Exp Eye Res* 25(Suppl): 27—63, 1977.
- 3) **Hirsch M, Montcourrier P, Renard G**: Ultrastructure of the blood-aqueous barrier in normal condition and after paracentesis: A freeze-fracture study in the rabbit. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol* 203: 169—179, 1977.
- 4) **Raviola G, Raviola E**: Intercellular junctions in the ciliary epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 17: 958—981, 1978.
- 5) **Bairati AJ, Orazalesi N**: The structure of the epithelium of the ciliary body, a study of the junctional complexes and of the changes associated with the production of plasmoid aqueous humor. *Zeitschrift Zellforschung* 69: 635—658, 1966.
- 6) **Shiose Y**: Electron microscopic studies on blood-retinal and blood-aqueous barriers. *Jpn J Ophthalmol* 14: 73—87, 1970.
- 7) **Vegge T**: An epithelial blood-aqueous barrier to horseradish peroxidase in the ciliary process of the vervet monkey (*Cercopithecus aethiops*). *Zellforsch Mikrok Anat* 114: 309—320, 1971.
- 8) **Smith RS**: Ultrastructural studies of the blood-aqueous barrier 1: Transport of an electron-dense tracer in the iris and ciliary body of the mouse. *Am J Ophthalmol* 71: 1066—1077, 1971.
- 9) **Smith RS, Rudt LA**: Ultrastructural studies of the blood-aqueous barrier 2: The barrier to horseradish peroxidase in primates. *Am J Ophthalmol* 76: 937—947, 1973.
- 10) **Uusitalo R**: An electron microscopical study of the blood-aqueous barrier in the ciliary body and iris of the rabbit. *Exp Eye Res* 17: 49—63, 1973.
- 11) **Raviola G**: Effects of paracentesis on the blood-aqueous barrier: An electron microscope study on *Macaca mulatta* using horseradish peroxidase as a tracer. *Invest Ophthalmol* 13: 828—858, 1974.
- 12) **Smelser GK, Pei YF**: Cytological basis of protein leakage into the eye following paracentesis. An electron microscopic study. *Invest Ophthalmol* 4: 249—263, 1965.
- 13) **Okisaka S**: Effects of paracentesis on the blood-aqueous barrier: A light and electron microscopic study on cynomolgus monkey. *Invest Ophthalmol* 15: 824—834, 1976.
- 14) **Bartels SP, Pederson JE, Gaasterland DE, et al**: Sites of breakdown of the blood-aqueous barrier after paracentesis of the rhesus monkey eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 18: 1050—1060, 1979.
- 15) **Ohnishi Y, Tanaka M**: Effects of pilocarpine and paracentesis on occluding junctions between the nonpigmented ciliary epithelial cell. *Exp Eye Res* 32: 635—647, 1981.
- 16) **Yanoff M, Fine BS**: Cysts of the iris and anterior ciliary body (pars plicata): Ocular pathology. Philadelphia, Harper & Row, 405—408, 1982.
- 17) **Naumann GOH**: Tumors of the nonpigmented ciliary body epithelium, In Naumann GOH, Apple DJ (eds): *Pathology of the Eye*. New York, Springer-Verlag, 479—483, 1986.