

## 眼内増殖膜の形態学的研究

増殖性糖尿病性網膜症と増殖性硝子体網膜症について

青山 玲子

日本大学医学部眼科学教室

## 要 約

増殖性糖尿病性網膜症 (PDR) と増殖性硝子体網膜症 (PVR) の初発増殖膜 (30例および5例) と、PDR と PVR の silicone oil tamponade (SOT) 下増殖膜 (12例および3例) を硝子体手術時に採取し、連続切片を作成した。各々光学顕微鏡下および GFAP と Factor VIII 関連抗原を対象とした免疫酵素抗体法にて検索した。各症例の単位面積当りの新生血管数、基底膜肥厚血管の数、壁細胞増加血管の数、及び基底膜多層血管の数と一切片当りの膠原線維占有率を計測し比較検討した。SOT 下増殖膜においては、SO 注入期間が長期になると、PDR、PVR とも単位面積当りの細胞数は増加したが、膠原線維占有率は不変であった。PDR において、多形態の血管の出現率は初発と SOT 下増殖膜で同様の傾向を示した。免疫染色標本の比較により、PDR の初発増殖膜のみで血管増生優位のものが多く、他はグリア細胞優位のものが多いことが明らかとなった。(日眼会誌 94: 383-393, 1990)

キーワード: 増殖性糖尿病性網膜症, 増殖性硝子体網膜症, 眼内増殖膜, 組織, 定量分析

## Morphological Study on the Intraocular Proliferative Membrane of Proliferative Diabetic Retinopathy and Proliferative Vitreoretinopathy

Reiko Aoyama

Department of Ophthalmology, Nihon University School of Medicine

## Abstract

The membranes from 42 eyes with PDR and 8 eyes with PVR were removed during vitreous surgery. In 12 of those with PDR and 3 of the cases with PVR, the reformed membranes formed beneath silicone oil (SO) were removed and were histologically and immunohistochemically examined, using morphometrical quantitative analysis. In each case, area coefficient, fibrous content and the number of new vessels, and thicked basement membranes, increased wall cells and multilayer basement membranes of new vessels were studied.

In both PDR and PVR, the number of cells per unit area tended to be increased with the period of time after SO was injected, while the percentage of fibrous components did not change. The Percentage of occurrence of each type of new vessels was almost the same in both primary and reformed PDR membranes. In the primary proliferative PDR membranes, endothelial cell proliferation was found predominantiy, while glial hyperplasia was predominant in the primary reformed PVR membranes and the reformed membranes under SO of PDR and PVR. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 94: 383-393, 1990)

別刷請求先: 101 東京都千代田区神田駿河台1-8-13 駿河台日本大学病院眼科 青山 玲子  
(平成元年8月10日受付, 平成元年10月2日改訂受理)

Reprint requests to: Reiko Aoyama, M.D. Dept. of Ophthalmol., Nihon Univ. School of Med.  
1-8-13, Kanada-Surugadai, Chiyoda-ku, Tokyo, 101, Japan.

(Received August 10, 1989 and accepted in revised form October 2, 1989)

**Key words:** Proliferative diabetic retinopathy, Proliferative vitreoretinopathy, Intraocular proliferative membrane, Histology, Quantitative analysis

## I 緒 言

増殖性糖尿病性網膜症〔Proliferative diabetic retinopathy (PDR)〕と増殖性硝子体網膜症〔Proliferative vitreoretinopathy (PVR)〕は、硝子体手術の導入後、失明率こそ減少したが、視力予後は必ずしも良好ではない。また、silicone oil tamponade (SOT)後も再増殖膜の発生により再度網膜剥離が生じることがある。増殖膜の発生と病理について、現在まで多数の電顕による定性的研究がなされている。しかし、構成成分についての定量的研究はほとんどなされていない。今回、著者は硝子体手術時に採取した増殖膜を、PDRの初発増殖膜とSOT下再増殖膜、PVRの初発増殖膜とSOT下再増殖膜の4群に分け、その細胞成分、血管成分、線維成分についての組織学的検索に、免疫組織学的検索を加え、かつ定量的に検討した結果、若干の知見を得たので報告する。

## II 方 法

検体は当院での硝子体手術時に採取したPDRの初発30例の増殖膜、PVRの初発5例の増殖膜、PDRのSOT下再発12例の増殖膜、PVRのSOT再発3例の増殖膜である。増殖膜は採取後、直ちにオベガードRに保存し、約1時間から数時間以内に10%ホルマリン緩衝液(pH7.0)に投入し固定した。その後型通り脱水後パラフィン包埋し、厚さ3~4 $\mu$ mで1例につき40~120枚の連続切片を作り、中央部5枚の未染色標本を表1に示す各染色を施し、それぞれの切片の総細胞数、面積係数、膠原線維成分量、新生血管数、基底膜肥厚血管の数、壁細胞増加血管の数、及び基底膜多層血管の数を定量的に調べた。細胞数は、細胞の核を数え、面積係数は、連続切片中央部のHE染色標本を一定倍率(4×3×3.3倍)でボラロイド写真に撮り、面積測定装置KONTRONにより求めた。標本切片面積の大きい場合は合成写真を作成し計測した。一切片当りの膠原線維占有率はAzan-Mallory染色にて、cyanophil areaより5%刻みで求めた。軽度基底膜肥厚と判定した例を図1に示す。PAS染色にてこれ以上の肥厚を認めたものを基底膜肥厚血管とした。壁細胞増加血管は、壁細胞と内皮細胞の比が2:1以上のものとし、基底膜多層血管は基底膜が2層以上のものと

表1 染色法

光学顕微鏡の検索	目的
1) HE (Hematoxylin-Eosin) 染色法	
2) Azan-Mallory 染色法	膠原線維
3) PAS (periodic acid Schiff) 染色法	血管壁基底膜
免疫酵素抗体法 (PAP)	
目的	
1) GFAP (グリア線維酸性蛋白)	神経膠細胞
2) Factor VIII 関連抗原	血管内皮細胞

した。典型的所見を(図2, 7, 8)に示す。前述の検査項目の実測値を面積係数で除算し、各々の単位面積当り(/mm<sup>2</sup>)の換算値を得、比較検討を行った。以下の数値はすべてこの換算値によるものである。

## III 結 果

### (I) 細胞成分について(表2)

単位面積当りの平均細胞数はPDRの初発増殖膜で1,472±1,990、PDRのSOT下再増殖膜で1,747±2,640、PVR初発増殖膜で2,044±2,564、同SOT下再増殖膜は1,700±648であり、有意差は認められなかった。そこで、SOT下再増殖膜の細胞数につき、SO注入後5か月以上たってから手術を受けたものと5か月未満のものを比較すると、図9のごとくで、PDRでは、5か月未満の単位面積当りの細胞数の平均値は385±157、5か月以上の群での平均値は2,915±3,165であった。この両群の間には、5%の危険率で有意差があった。また、主な構成細胞の比較のため、各症例とも、50視野(×40)を観察し、網膜色素上皮細胞(RPE)とグリア細胞と炎症細胞の比を調べた(表4)。PVRは症例数が少ないため、この結果のみで判定することはできないが、PDRでは、5か月以上でグリア細胞が相対的に減少し、炎症細胞が増加していた。

構成細胞のうちグリア細胞と血管内皮細胞を明確にするため、隣接する切片の一方にglial fibrillary acidic protein (GFAP)を他方にFactor VIII関連抗原に対する免疫染色を行った(図3~6)。この両切片につきそれぞれの染色陽性の範囲を比較した(図10)。従来言われていた通り、定量的にもPDR初発増殖膜では血管優位のもので70%を占め、PVRの初発増殖膜と明かな違いが認められた。PDR、PVRとも、初発増

表2 細胞数と面積

PDR 初発増殖膜			PDRSOT 下再増殖膜		
検体番号	細胞数	面積	検体番号	細胞数	面積
1	2590 ( 785)	5175	19	458 ( 799)	899
2	233 ( 84)	4365	20	1380 ( 1458)	1484
3	485 ( 240)	3162	22	619 ( 366)	2649
6	624 ( 375)	2606	23	39 ( 357)	171
7	331 ( 2624)	198	24	7116 ( 10373)	1076
8	198 ( 598)	519	25	55 ( 289)	299
9	174 ( 1949)	140	26	51 ( 143)	559
11	408 ( 517)	1237	27	169 ( 520)	510
29	501 ( 452)	1737	41	1905 ( 515)	5805
30	382 ( 760)	788	48	433 ( 1576)	431
31	458 ( 931)	771	57	1321 ( 2931)	707
34	957 ( 262)	5726	58	468 ( 2751)	267
43	203 ( 189)	1680	75	87 ( 634)	215
44	1311 ( 2532)	812	平均値	1084.7 (1747.0)	1159.3
45	428 ( 1412)	475	標準偏差	1832.7 (2640.4)	1491.0
47	305 ( 262)	1825			
49	822 ( 764)	1688			
52	1498 ( 1245)	1887			
53	413 ( 917)	706			
54	347 ( 846)	643			
55	347 ( 453)	1201			
56	1474 ( 6489)	356			
59	412 ( 1213)	532			
60	1036 ( 4533)	358			
64	1589 ( 8475)	294			
69	496 ( 490)	1586			
70	878 ( 1423)	967			
72	1091 ( 1257)	1361			
73	1236 ( 617)	3140			
平均値	732.0 (1472.2)	1584			
標準偏差	549.6 (1889.7)	1442			

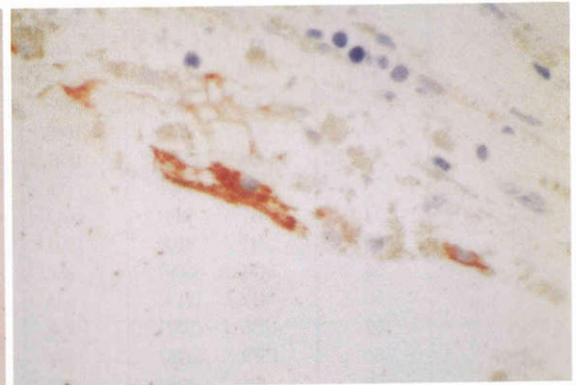
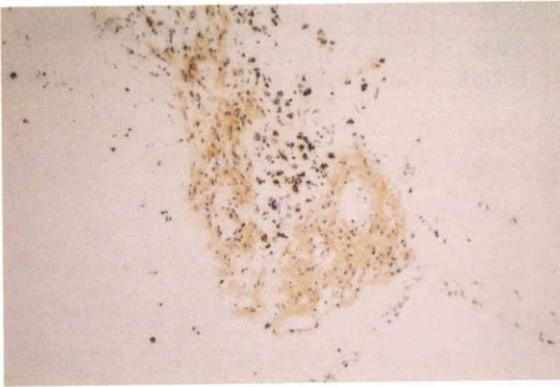
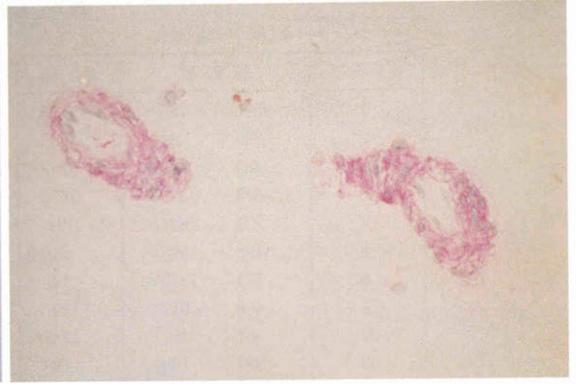
PVR 初発増殖膜			PVRSOT 下再増殖膜		
検体番号	細胞数	面積	検体番号	細胞数	面積
4	876 ( 1268)	1083	21	567 ( 1159)	767
12	165 ( 1013)	255	32	660 ( 1330)	778
33	964 ( 7712)	196	71	877 ( 2612)	527
38	273 ( 121)	3531	平均値	701.3 (1700.3)	690.6
39	341 ( 1246)	429	標準偏差	129.9 ( 648.3)	116.1
46	721 ( 902)	1254			
平均値	556.7 (2043.7)	1124.7			
標準偏差	309.6 (2563.5)	1148.2			

( ) 内は単位面積当り (/mm<sup>2</sup>)

増殖膜に比べ SOT 下再増殖膜では、グリア細胞優位のものが増加し、PDR では69%、PVR では100%であった。SOT 下における再増殖膜では、グリア細胞の増殖がより盛んであることを示唆する結果となった。

(II) 血管系について (表3)

新生血管は図11のごとく、PDR の初発増殖膜では100% (30/30)に、PDR の SOT 下再増殖膜では100% (12/12)に、PVR の初発増殖膜では20% (1/5)に、



- 図1 軽度の基底膜肥厚血管。(PAS染色, ×40)  
 図2 壁細胞増加, 基底膜多層が認められる。(PAS染色, ×40)  
 図3 glia細胞が茶褐色に染色されている。(免疫染色, GFAP, ×10)  
 図4 AEC (3-amino-9-ethylcarbazole) 発色により glia細胞が赤褐色に染色されている。(免疫染色, GFAP, ×40)  
 図5 内皮細胞が茶褐色に濃染されている。(免疫染色, 抗第VIII因子関連抗原抗体, ×10)  
 図6 AEC発色により, 内皮細胞が赤褐色されている。(免疫染色, 抗第VIII因子関連抗原抗体, ×40)

図1	図2
図3	図4
図5	図6

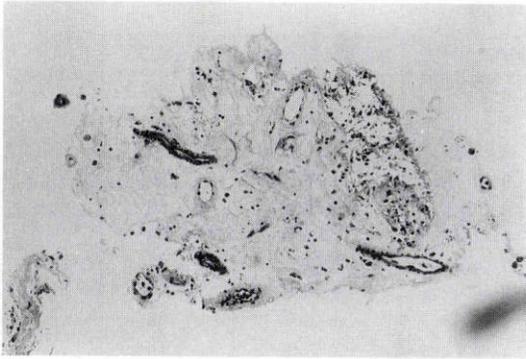


図 7 様々な形態の新生血管が認められる。(Azan-Malloly 染色, ×10)

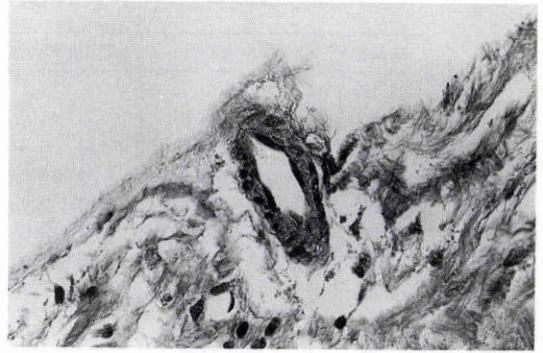


図 8 高度の基底膜肥厚と壁細胞増加が認められる。(Azan-Malloly 染色, ×40)

表 3  
PDR 初発増殖膜

検体番号	新生血管数	基底膜肥厚血管数	壁細胞増加血管数	基底膜多層血管数	CYAN(%)
1	132 (40.0)	45 (13.6)	4 (1.2)	0 (0.0)	75
2	83 (29.8)	7 (2.5)	2 (0.7)	0 (0.0)	80
3	112 (55.5)	20 (9.9)	10 (5.0)	4 (2.0)	70
6	3 (1.8)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	90
7	4 (31.7)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	55
8	7 (21.1)	2 (6.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	90
9	5 (56.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	50
11	58 (73.5)	16 (20.3)	2 (2.5)	3 (3.8)	90
29	13 (11.7)	3 (2.7)	5 (4.5)	0 (0.0)	85
30	26 (51.7)	0 (0.0)	3 (6.0)	0 (0.0)	75
31	71 (144.4)	6 (12.2)	6 (12.2)	0 (0.0)	80
34	61 (16.7)	7 (1.9)	3 (0.8)	0 (0.0)	90
35	33 (68.7)	5 (10.4)	6 (12.5)	1 (2.1)	75
43	28 (26.1)	22 (20.5)	12 (11.2)	7 (6.5)	85
44	31 (59.9)	12 (23.2)	12 (23.2)	5 (9.7)	70
45	10 (33.0)	3 (9.9)	2 (6.6)	1 (3.3)	85
47	15 (12.9)	6 (5.2)	2 (1.7)	1 (0.9)	95
49	28 (26.0)	2 (1.9)	2 (1.9)	0 (0.0)	70
52	35 (29.1)	16 (13.3)	6 (5.0)	1 (0.8)	65
53	12 (26.7)	3 (6.7)	0 (0.0)	0 (0.0)	90
54	57 (139.0)	16 (39.0)	1 (2.4)	0 (0.0)	90
55	23 (30.0)	10 (13.1)	3 (3.9)	0 (0.0)	90
56	4 (17.6)	3 (13.2)	2 (8.8)	0 (0.0)	20
59	12 (35.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	90
60	25 (109.4)	11 (48.1)	3 (13.1)	2 (8.7)	85
64	6 (32.0)	3 (16.0)	2 (10.7)	0 (0.0)	40
69	24 (23.7)	8 (7.9)	6 (5.9)	2 (2.0)	95
70	19 (30.8)	4 (6.5)	8 (13.0)	0 (0.0)	85
72	75 (86.4)	10 (11.5)	2 (2.3)	0 (0.0)	90
73	10 (5.0)	6 (3.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	90
平均値	34.1 (44.2)	8.2 (10.6)	3.5 (33.0)	0.9 (8.5)	78.0
標準偏差	32.5 (35.2)	9.1 (11.0)	3.4 (35.4)	1.7 (16.4)	17.1

( ) は単位面積当たり

Abbreviation : CYAN=cyanophil area

PDRSOT 下再増殖膜

検体番号	新生血管数	基底膜肥厚血管数	壁細胞増加血管数	基底膜多層血管数	CYAN(%)
19	4 (13.7)	1 (13.7)	0 (0.0)	0 (0.0)	70
20	17 (18.0)	5 (18.0)	2 (2.1)	0 (0.0)	40
22	35 (20.7)	14 (8.3)	5 (3.0)	0 (0.0)	70
23	6 (54.9)	4 (36.6)	0 (0.0)	0 (0.0)	90
25	6 (31.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	50
26	7 (19.6)	2 (5.6)	1 (2.8)	1 (2.8)	90
27	14 (43.0)	7 (21.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	90
41	31 (8.4)	5 (1.4)	0 (0.0)	0 (0.0)	90
48	13 (47.3)	4 (14.6)	2 (7.3)	1 (3.6)	85
57	5 (11.1)	2 (4.4)	2 (4.4)	2 (4.4)	75
58	22 (129.3)	12 (70.6)	1 (5.9)	0 (0.0)	15
75	1 (7.4)	1 (7.4)	1 (7.4)	0 (0.0)	85
平均値	13.4 (33.7)	4.8 (16.8)	1.2 (2.7)	0.3 (0.9)	70.8
標準偏差	10.5 (32.6)	4.2 (18.9)	1.4 (2.8)	0.6 (1.6)	23.1

PVR 初発増殖膜

検体番号	新生血管数	基底膜肥厚血管数	壁細胞増加血管数	基底膜多層血管数	CYAN(%)
5	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	80
12	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	60
33	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	75
38	2 (0.9)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	80
39	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	50
平均値	0.4 (0.2)	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)	69.0
標準偏差	0.8 (0.4)	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)	12.0

PVRSOT 下再増殖膜

検体番号	新生血管数	基底膜肥厚血管数	壁細胞増加血管数	基底膜多層血管数	CYAN(%)
21	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	70
32	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	70
71	2 (6.0)	2 (6.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	70
平均値	0.7 (2.0)	0.7 (2.0)	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)	70.0
標準偏差	0.9 (2.8)	0.9 (2.8)	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)	0.0

同 SOT 下再増殖膜の33.3% (1/3) に認められた。ただし、PVR の初発増殖膜で新生血管が認められた症例は、周辺部ぶどう膜炎の疑いの既往があった。PDR において、基底膜肥厚血管の出現率は初発増殖膜と SOT 下再増殖膜の間で差はなかった。しかし、壁細胞増加血管と基底膜多層血管の出現率については、前者がほぼ2倍の頻度であった。PVR では、基底膜肥厚血管が SOT 下再増殖の1例に認められたのみであった。

また、単位面積当りの多形態血管数を表5に示す。PDR における壁細胞増加血管と基底膜多層血管は出現率と平均血管数がほぼ比例関係にあり、出現の認められた切片においては差が無いと考えられる。基底膜肥厚血管の出現率は同様であったが、単位面積当りの

数は SOT 下にて多く認められた。この結果については分散分析にて有意差が認められた ( $p < 0.01$ )。

PDR 初発増殖膜を糖尿病発見からの期間を5年以上の群 (平均14.4年) と5年未満の群 (2.45年) に分けて比較すると、表6のごとく、罹病期間の長い方に基底膜肥厚血管、壁細胞増加血管がより多く出現することが分かった。また、治療方法と各形態血管数について調べたところ、差は認められなかった (表7)。

### (III) 膠原線維成分について

一切片当りの膠原線維占有率について、Azan-Mallory 染色標本の cyanophil area の割合を調べ5%刻みで記載した。図12に示すように、PDR、PVR とも、60%以上を膠原線維が占めるものが大半であっ

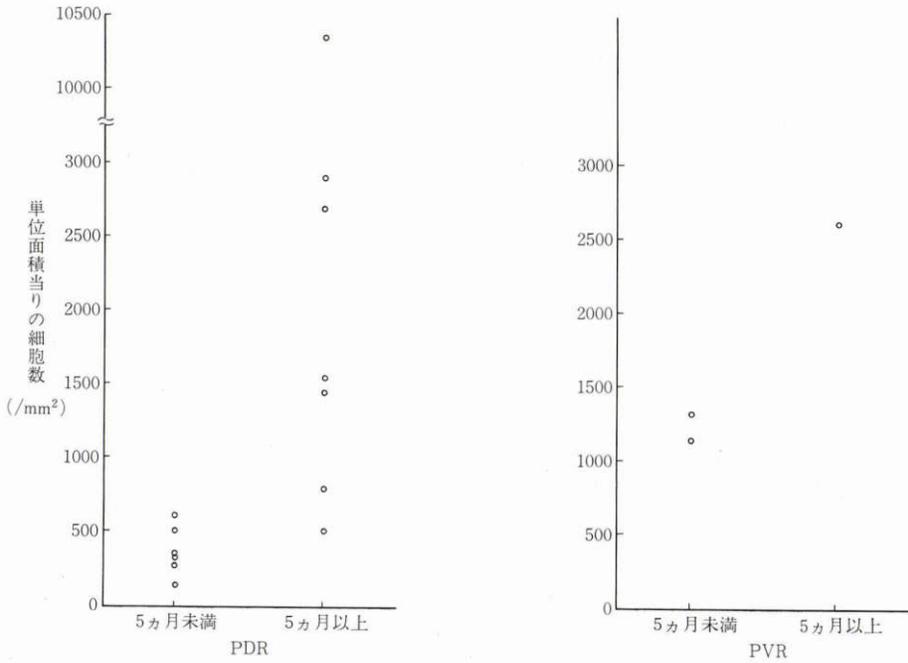


図 9 SOT 下再増殖膜の細胞数

表 4 構成細胞の比率 (%)

(1) PDR SOT 下再増殖膜

No.	5 カ月未満		5 カ月以上	
	RPE	Glia : 炎症細胞	No.	RPE : Glia : 炎症細胞
22	1	93 : 6	19	14 : 61 : 25
23	7	86 : 7	20	17 : 67 : 16
25	6	82 : 12	24	3 : 88 : 9
26	8	86 : 6	41	12 : 64 : 24
27	33	61 : 6	48	10 : 85 : 5
57	3	94 : 3	58	33 : 59 : 8
75	34	62 : 4		
平均	13	81 : 6	平均	15 : 71 : 14

(2) PVR SOT 下再増殖膜

No.	5 カ月未満		5 カ月以上	
	RPE	Glia : 炎症細胞	No.	RPE : Glia : 炎症細胞
21	29	59 : 12	71	48 : 26 : 26
22	23	73 : 4		
平均	26	66 : 8	平均	48 : 26 : 26

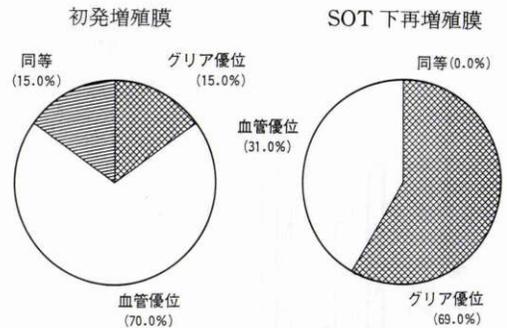


図10 PDR

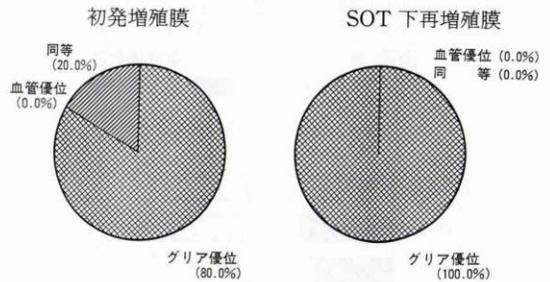


図10 PVR

た、90%以上を膠原線維が占めるものがPDRでは初発増殖膜、SOT下再増殖膜のそれぞれ40%、30%に見られ、PVRでは認められなかった。臨床においてPDRの硝子体手術時に、厚みをもったしっかりした膜にと

きどき遭遇するが、このような膠原線維成分に富む膜と考えられる。

表5 単位面積当り各形態血管数 (/mm<sup>2</sup>)

	新生血管	基底膜肥厚	壁細胞増加	基底膜多層
PDR 初発 (n=30)	44.2	10.6	33.0	8.5
PDR SOT 下 (n=12)	33.7	16.8	2.7	0.9
PVR 初発 (n=5)	0.2	0	0	0
PVR SOT 下 (n=3)	2.0	2.0	0	0

表6 PDR 初発増殖膜

	新生血管⊕	基底膜肥厚⊕	壁細胞増加⊕	基底膜多層⊕
DM 5年以上 (平均14.4年)	100% (13/13)	92.3% (12/13)	92.3% (12/13)	23.1% (3/13)
DM 5年未満 (平均2.45年)	100% (9/9)	66.7% (6/9)	66.7% (6/9)	22.2% (2/9)

表7 PDR 初発増殖膜

	新生血管⊕	基底膜肥厚⊕	壁細胞増加⊕	基底膜多層⊕
インスリン療法	100% (5/5)	80% (4/5)	80% (4/5)	40% (2/5)
内服療法	100% (13/13)	92.3% (12/13)	84.6% (11/13)	15.4% (2/13)
食事療法	100% (11/11)	81.8% (9/11)	72.7% (8/11)	54.5% (6/11)

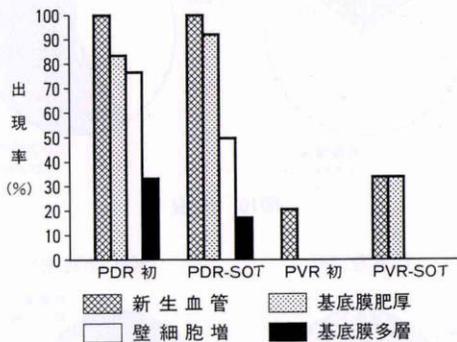


図11 各形態血管の出現率

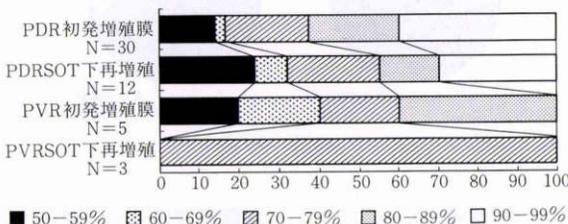


図12 膠原線維占有率

### IV 考 察

1943年 Ballantyne と Loewenstein が網膜に小血管瘤が発生することを認め<sup>1)</sup>、糖尿病性網膜症の概念が生まれ、Ashton が細小血管基底膜の肥厚が起る網膜病変を diabetic microangiopathy と呼ぶことを提唱した<sup>2)</sup>。以後、網膜病変の組織学的検索と共に増殖膜の解析もすすめられてきた。Kampik ら<sup>3)</sup>、岸ら<sup>4)</sup>、田中ら<sup>5)</sup>、堀ら<sup>6)</sup>、新行内ら<sup>7)</sup>により電子顕微鏡下での観察が報告され色素上皮細胞、大食細胞、線維芽細胞、星状膠細胞、平滑筋様細胞、血液細胞、内皮細胞、血管壁細胞が確認されている。

PVRについては、Machemer, Laqua により、長期間つづいた網膜剥離に続発して網膜の前、後面や硝子体腔に線維性の膜様増殖膜組織を生じ、難治性におちいった病態の網膜剥離であると報告され<sup>8)9)</sup>、その発生と病態の解明のため動物実験による研究も行われてきた<sup>10)~12)</sup>。細胞成分は、電子顕微鏡下での形態的特徴から RPE、大食細胞、線維芽細胞、星状膠細胞、平滑筋

様細胞の5型に分類されているが、増殖細胞の同定には通常のエレクトロ観察では困難な場合があり、最近では電顕的に中間径線維と称される線維を免疫組織学的に検出することにより、細胞由来が検討されている。本邦でも大島ら<sup>16)</sup>がGFAPにて、白川<sup>17)18)</sup>、吉村ら<sup>19)</sup>が抗vimentin抗体、抗keratin抗体を用いて、それぞれグリア系由来細胞、間葉系由来細胞、上皮系由来細胞を染色し、細胞の由来を検討している。また、構成細胞の電子顕微鏡下での形態的特徴が明らかにされ、構成細胞内のactinが細胞の収縮とさらには増殖膜全体の収縮と関与することも示唆されている。

このように、PDR、PVRの増殖膜につき徐々に組織像が明らかにされ、増殖膜の発生、進展の解明が進められてきている。今回著者は光学顕微鏡下にて観察を行い定量的に増殖膜の成分につき検索し、その特徴を調べた。

#### (I) 細胞成分について

増殖膜の構成細胞の解析に当たり、形態学的にははっきり標識を持つ細胞以外は同定困難であり、起源の決定できない細胞が多い。そこで、前述のような免疫組織学的に細胞の標識となる蛋白を染色して細胞由来を同定することがPVRの増殖膜において行われてきている。中間径線維のGFAPを用いてグリア系由来細胞を、Factor VIII関連抗原を用いて血管内皮系細胞の検出をおこなったところ、PDR、PVRの増殖膜とも、HE染色では同定し難い細胞も容易に鑑別できた。また、本邦では眼内増殖膜の内皮細胞をFactor VIII関連抗原の存在で確認し、検索した報告は極めて少ないが、著者の試みでは明瞭に識別できた。これにより新生血管形成初期の内皮細胞のみの血管や血管腔の不明瞭な血管の内皮細胞も区別できた。この両免疫染色標本の比較により、PDRの初発増殖膜では血管優位のもが多く、PVRの初発増殖膜、PDR、PVRのSOT下再増殖膜では、グリア細胞優位のもが多いことが明らかとなった。また、PDR、PVRとも、初発増殖膜よりSOT下再増殖膜にてグリア細胞の増殖が盛んであること示唆する結果となった。

SOT下再増殖膜の単位面積当たりの細胞数について、SO注入5カ月以上で有意に増加することがわかったが、更にその構成細胞の比率の変動について、PDR、PVRの両者につき検討した。主な構成細胞である網膜色素上皮細胞(RPE)、グリア細胞、炎症細胞の比を調べた。標本切片面積の小さいNo. 27と75を除き、PDRにおいて、5カ月未満では、RPEは10%以下であった

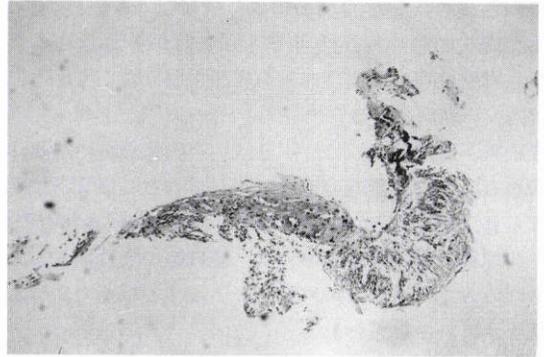


図13 PVR初発増殖膜。(Azan-Malloly染色, ×4)

が、5カ月以上ではわずかに増加し、グリア細胞は平均10%程度減少し、炎症細胞の比率は、2倍以上増加した。PVRのSOT下再増殖膜症例数が少ないため今回のみの検討では結論付けることはできないが、PDRと同様の傾向をしめした。PVRの初発増殖膜を構成する細胞成分について掘らは、網膜剥離発症からの期間の短い網膜前増殖膜には大食細胞、RPE、星状膠細胞が多くみられ、時間の経過した増殖膜では前2者の出現頻度は小さくなり、星状膠細胞の出現頻度が極めて大きくなったとしている<sup>15)</sup>。今回の著者の調べたSOT下再増殖膜では炎症細胞の出現頻度が増加しているが、この中には大食細胞、組織球、好中球、リンパ球を含んでいると考えられ、SOを異物として貪食する大食細胞と反応性に出現する組織球が主に増加したと考えられた。

眼内増殖膜において、構成細胞成分のうちグリア細胞はかなりの量を占めるが、PDR、PVRの初発増殖膜ではその配列に特徴がみられた。PDRでは、グリア細胞はそれぞれさまざまな方向を向いて不規則に並んでいるが、PVRでは、「つぼみ型」にある程度方向性をもって並んでいた(図13)。

#### (II) 血管成分について

糖尿病の初期の血管変化は最小血管瘤よりもむしろ最小血管基底膜の肥厚が認められると報告されているが<sup>20)</sup>、PDR、PVRの増殖膜内の新生血管においても基底膜の肥厚が認められ、光学顕微鏡下では均一なPAS染色陽性の物質として認められた。基底膜の肥厚は徐々に厚さを増し、一部は層状を呈するようになる。また、毛細血管の壁細胞の変性消失が起こることはCogan<sup>21)</sup>らにより指摘されており、堀らにより増殖膜の新生血管においても同様の変化が認められることが

報告されている<sup>9)</sup>。今回の標本を検索してみると、主として内皮細胞のみからなる毛細血管が多数認められた。新生血管の形成は血管の周囲を取りまいて血管内皮の基底膜に断裂が生じ、その裂隙をとって内皮細胞が遊走しはじめ、引き続いて内皮細胞の増殖が始まる。はじめ盲端の血管はやがて吻合し血管内腔が作られ、ある血管は血流が増大し、太い血管となる<sup>22)</sup>。内皮細胞のみの血管の中には、壁細胞の変性消失したもののみならず、この壁細胞の出現する以前の血管も含まれていると思われる。

基底膜肥厚や壁細胞の増加は、新生血管の成熟化と関係していると思われるが、この様な血管の出現率はPDRの初発増殖膜、SOT下再増殖膜で同様の傾向を示した。また、新生血管、基底膜肥厚血管、壁細胞増加血管、基底膜多層血管の出現率について、治療方法別、すなわちインスリン療法、内服薬療法、食事療法に分けて比較したところ全く差は認められなかった。血糖コントロール不良の症例は網膜症の進行が早いということは周知の事実であるが、治療法には関係なく、血糖コントロールが良好であれば新生血管も少なく増殖膜も菲薄であり、不良である期間が長期にわたれば新生血管の数も多く、基底膜肥厚、壁細胞増加の傾向が認められ、膠原線維量も増え増殖膜自体も厚みを増すと考えられる。

PVRの初発増殖膜では、血管成分はほとんど認められないとされているが、今回は5症例のうち1例に認められた。この症例は周辺部ぶどう膜炎の疑いの既往があり、これが原因となり新生血管が発生した可能性も否定できない。また、PVRのSOT下再増殖膜において、森らは12例中5例に<sup>23)</sup>、新行内らは4例中1例に新生血管を認めている<sup>7)</sup>。その血管組織の出現の原因として、硝子体切除、眼内冷凍凝固、眼内ジアテルミーなど眼内操作による手術侵襲と、SOの眼球への慢性的な機械的刺激の影響が挙げられている<sup>23)</sup>。今回、新生血管の認められた1症例は、硝子体切除術、冷凍凝固術、retinectomy, retinal tack挿入、および眼内光凝固を行っていた。このうち、新生血管の認められなかった2症例で行われなかったのは、冷凍凝固術とretinectomy, retinal tack挿入であり、これらが新生血管の発生の誘因となり得た可能性が否定できない。

### (III) 膠原線維成分について

PDR, PVR共初発増殖膜, SOT下再増殖膜にかかわらず膠原線維占有率の平均は70%前後であった。これは手術適応となる時期には増殖膜中の膠原線維ある

程度発達した段階であるためほとんど差が無いと考えられた。

現在まで、増殖膜に関する電子顕微鏡下で定性的検索の報告例は多数あったが、定量的報告はなかった。これは、多数の症例収集が困難なこと、増殖膜の切除部位、採取状態、標本切片により各組織成分の偏りが考えられることによる。増殖膜は硝子体手術時に可能な限り広範囲に一枚の膜として採取したが、その平均試料面積比はPDR初発増殖膜：同SOT下再増殖膜：PVR初発増殖膜：同SOT下再増殖膜=67.7：10.8：1.5：1であった。採取時の損傷や乾燥などの影響のもっとも少ないと思われる中央部の標本切片を染色に供した。その結果、眼内増殖膜の細胞成分、血管成分、線維成分につき新たに定量的知見を得ることができた。

## V 結 語

眼内増殖膜について構成成分の定量的検索を行ったところ次の結果を得た。

① SOT下再増殖膜において、SO注入期間が5カ月未満と、5カ月以上の群を比較するとPDR, PVRとも単位面積当りの細胞数は5カ月以上で増加した。

② PDRにおいて、新生血管は全例に認められ、初発増殖膜とSOT下再増殖膜で基底膜肥厚血管、壁細胞増加血管、基底膜多層血管の出現率は同様の傾向を示した。

③ 膠原線維占有率は、PDR, PVR共、初発増殖膜とSOT下再増殖膜の間で、差は認められなかった。また、SO注入期間との関連性も認められなかった。

④ GFAPとFactor VIIIを用いた免疫染色標本の比較により、PDRの初発増殖膜では血管優位のものが多く、PVRの初発増殖膜、PDRとPVRのSOT下再増殖膜では、グリア細胞優位のものが多いことが明らかになった。

今回、多数の試料を入手する機会が得られ、2次元的検索により定量化を試み、その結果を検討した。これは限られた平面の「場」での検討であり、今後より正確を期すためには3次元的検索が必要であり、切片からの情報を再構築し立体的解析をすることにより、増殖膜の構造を明らかにしていくことをこれからの課題としたい。

(稿を終えるに当たり、ご校閲いただきました日本大学医学部眼科学教室 松井瑞夫教授、同第二病理学教室 桜井勇教授に深謝いたします。また、ご指導いただきました同眼

科学教室 佐藤 節講師, 佐藤幸裕講師, 同第二病理学教室 齊藤 誠氏にも感謝いたします。尚, 本稿の要旨は第27回北日本眼科学会で発表した。) )

#### 文 献

- 1) **Ballantyne AJ, Loewenstein A**: Disease of the retina. 1. The pathology of diabetic retinopathy. *Trans Ophthalmol Soc UK* 63: 95—114, 1943.
- 2) **Ashton N**: Diabetic microangiopathy. *Adv Ophthalmol* 8: 1—84, 1958.
- 3) **Kampik A, Kenyon KR, Michels RG, et al**: Epiretinal and vitreous membranes comparative study of 56 cases. *Arch Ophthalmol* 99: 1445—1454, 1981.
- 4) **岸 章治, 沼賀哲郎, 山崎伸一, 他**: 単純型糖尿病性網膜症の網膜表面構造. *日眼会誌* 85: 684—696, 1981.
- 5) **田中 稔, 沖坂重邦**: 糖尿病性網膜症の成因と病理. *眼科* 23: 41—47, 1981.
- 6) **堀 貞夫, 箕田健生, 田野保雄, 他**: 増殖性糖尿病性網膜症における新生血管の微細構造. *眼紀* 33: 439—444, 1982.
- 7) **新行内佐代子, 佐藤 節, 佐藤幸裕, 他**: 眼内シリコンオイルタンポナーデ下での網膜上増殖組織. *眼紀* 40: 36—41, 1982.
- 8) **Laqua H, Machemer R**: Clinical-pathological correlation in massive periretinal proliferation. *Am J Ophthalmol* 80: 913—929, 1975.
- 9) **Machemer R**: Pathogenesis & classification of massive periretinal proliferation. *Br J Ophthalmol* 62: 737—747, 1978.
- 10) **Machemer R, Laqua H**: Pigment epithelium proliferation in retinal detachment (massive periretinal proliferation). *Am J Ophthalmol* 80: 1—23, 1975.
- 11) **Mandelcorn MS, Machemer R, Fineberg E, et al**: Proliferation and metaplasia of intravitreal retinal pigment epithelium cell auto trans plants. *Am J Ophthalmol* 80: 227—237, 1975.
- 12) **Laqua H, Machemer R**: Glial cell proliferation in retinal detachment (massive periretinal proliferation). *Am J Ophthalmol* 80: 602—619, 1975.
- 13) **Machemer R, Laqua H**: Pigment epithelial proliferation in retinal detachment (Massive Periretinal Proliferation). *Am J Ophthalmol* 80: 1—23, 1975.
- 14) **堀 貞夫**: 増殖性硝子体網膜症 (PVR) の発生と病理. 増殖性硝子体網膜症 (PVR) の臨床と基礎. 19—37, 世界保健通信社, 東京, 1987.
- 15) **堀 貞夫, 山下英俊, 他**: 増殖性硝子体網膜症の発生と病態. *眼科* 29: 39—45, 1987.
- 16) **大島健司, 大平明弘, 林 英之, 他**: 増殖性硝子体網膜症の増殖膜の研究. *細胞* 16(9): 12—17, 1984.
- 17) **白川弘泰, 山川良治, 吉村長久, 他**: 増殖性硝子体網膜症の1症例. *日眼会誌* 90: 16—21, 1986.
- 18) **白川弘泰, 山川良治, 吉村長久, 他**: 増殖性硝子体網膜症 (網膜前及び後増殖膜) 免疫組織学的検討. *日眼会誌* 90: 121—127, 1986.
- 19) **吉村長久**: 増殖性硝子体網膜症の発生機序をどう考えるか. *新しい眼科* 2: 1203—1209, 1985.
- 20) **Yamashita T, Rosen DA**: Electronmicroscopic study of diabetic capillary aneurysm. *Arch Ophthalmol* 62: 785—790, 1962.
- 21) **Cogan DG, Toussaint D, Kuwabara T**: Retinal Vascular Patterns. IV. Diabetic retinopathy. *Arch Ophthalmol* 66: 366—378, 1961.
- 22) **佐藤 節**: 網膜新生血管の発生病理. *眼科* 28: 425—432, 1986.
- 23) **森野以知朗, 上総良三, 山中昭夫**: シリコンオイル注入眼より得られた網膜前増殖膜について. *眼紀* 38: 1210—1216, 1987.