

ミトコンドリア・ミオパチーにおける眼症状について

—その1：角膜所見について—

二宮 久子*, 金井 淳*, 早川むつ子*, 中島 章*

築島 謙次**, 佐藤 猛***, 三宅伊豫子****

*順天堂大学医学部眼科学教室, **国立身体障害者リハビリテーションセンター眼科
順天堂大学医学部脳神経内科学教室, *順天堂大学医学部形成外科学教室

要 約

ミトコンドリア・ミオパチー6症例(女性5例, 男性1例)の主にその角膜内皮細胞について検討し, また1剖検例については, その角膜を電子顕微鏡学的に観察した。細隙灯顕微鏡による観察では, 角膜は透明で, 角膜厚も正常範囲であった。スペキュラー・マイクロスコープにて観察した5症例10眼の角膜内皮細胞面積は, 各年代毎のコントロール群と比較して10眼中3眼に有意に増加が認められたが, 全体としての検定では有意差は認められなかった。しかし, 角膜内皮細胞面積のばらつきは, 全例有意に増加しており, 多形化細胞の占める割合も増加していた。また, 電子顕微鏡による観察にて, ミトコンドリアの形状は正常より大きく, 角膜実質内のミトコンドリアには, 一部球状封入体を認めた。(日眼会誌 94: 488—495, 1990)

キーワード: ミトコンドリア・ミオパチー, 角膜内皮細胞, 電子顕微鏡所見, スペキュラーマイクロスコープ

Ocular Symptoms in Mitochondrial Myopathy

Hisako Ninomiya*, Atsushi Kanai*, Mutsuko Hayakawa*, Akira Nakajima*

Kenji Yanashima**, Takeshi Sato*** and Iyoko Miyake****

*Department of Ophthalmology, Juntendo University School of Medicine

**Eye Clinic, National Center for Rehabilitation

***Department of Neurology, Juntendo University School of Medicine

****Department of Plastic Surgery, Juntendo University School of Medicine

Abstract

The corneal endothelial cells in 6 cases of mitochondrial myopathies were examined by specular microscope, and electron microscopic studies of the cornea were made in one autopsy case. The cornea was clear and the thickness was within the normal range. The endothelial cell mean size was larger in 3 out of 10 eyes than among controls and the variance of endothelial cell size was larger in all of 10 eyes than among controls. The difference was found to be statistically significant. Electron microscopical findings of the cornea revealed mitochondrial abnormalities. Inclusions were observed in the stromal keratocyte. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 94: 488—495, 1990)

Key words: Mitochondrial myopathy, Cornea, Electron microscope, Specular microscope

別刷請求先: 113 東京都文京区本郷2-1-1 順天堂大学医学部眼科学教室 二宮 久子

(平成元年7月10日受付, 平成元年10月23日改訂受理)

Reprint requests to: Hisako Ninomiya, M.D. Dept. of Ophthalmol., Juntendo Univ. School of Med.

2-1-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113, Japan

(Received July 10, 1989 and accepted in revised form October 23, 1989)

I 緒 言

ミトコンドリアは、生体内のエネルギー源であるATPを産生する細胞内小器官である。細胞内に普遍的に存在するために、その機能障害も骨格筋のみならず、中枢神経や他の臓器をも侵し、他系統疾患としての症状を呈することも少なくない。最近では筋症状よりむしろ中枢神経症状が顕著なものの報告^{1)~3)}が相次いでおり、ミトコンドリア・ミオパチーというよりは、むしろミトコンドリア脳筋症または、ミトコンドリア・サイトパシー⁴⁾と総称されている。

1962年に Luft ら⁵⁾によって、ミトコンドリアの形態異常を認める代謝性疾患の1例が初めて報告された。本邦における第1報は、1973年に柴崎ら⁶⁾によって報告されたものである。その後多数の報告がなされているが、最近では、生化学的検索も進み、微量の生検筋から酵素活性が測定できるようになり、チトクロームCオキシダーゼ(複合対IV)欠損^{7)~10)}やNADH-ユビキノレダクターゼ(複合対I)欠損¹¹⁾¹²⁾などが相次いで報告されてきている。眼症状としては、外眼筋麻痺以外に網膜色素変性症が良く知られているが、その他に白内障¹³⁾や視神経萎縮などの報告がある。

今回、ミトコンドリア・ミオパチー6症例を経験し、その5症例について主にその角膜内皮を観察し、また1剖検例については、その角膜を病理組織学的に検討したので報告する。

II 症例及び方法

対象：当院脳神経内科にて、筋生検を行い、ミトコ

表1 6症例の要約

眼症状・全身症状

症例No.	年齢	性別	発症年齢	家族性	眼症状					全身症状			
					視力低下	眼瞼下垂	眼球運動制限	眼振	網膜色素変性	難聴	筋力低下	知能低下	肝障害
1	40	女	15	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-
2	40	女	16	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-
3	46	男	15	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+
4	49	女	30	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
5	51	女	15	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-
6	23	女	13	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-
計					1	5	6	6	1	3	3	1	1

表2 角膜内皮細胞面積と多形化細胞の占める割合、角膜厚

症例No.	年齢	性別		角膜内皮細胞			角膜厚(mm)
				平均面積(μm ²)	S.D.(μm ²)	多形化細胞の割合(%)	
1	40	女	右	352.69	120.05	48.6	
			左	321.85	170.98	54.1	
2	40	女	右	291.28	80.40	32.5	0.507
			左	361.07	78.68	12.4	
3	46	男	右	496.39*	310.76	63.6	0.582
			左	522.48*	348.94	66.9	
4	49	女	右	365.84	120.05	37.3	0.513
			左	341.91	147.80	37.9	
5	51	女	右	479.50*	258.27	54.4	0.599
			左	263.24	133.07	44.8	

*有意水準1% コントロール40代(n=10) 348.1±18.7 μm²
50代(n=10) 373.0±44.7 μm²

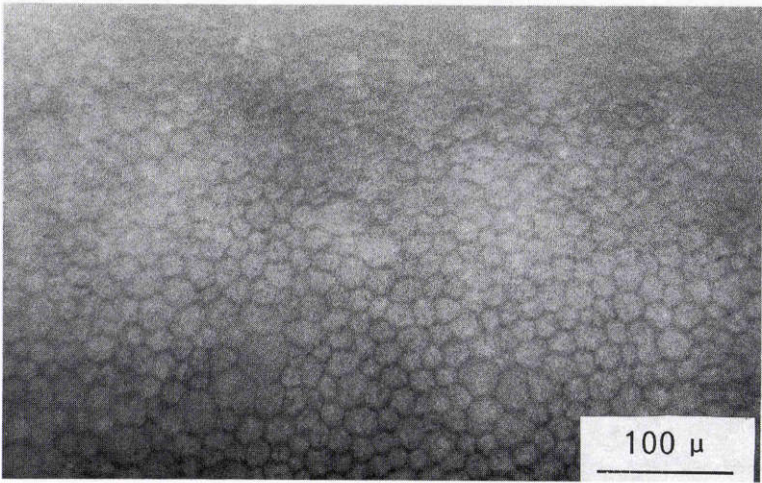


図1 症例1の角膜内皮細胞写真(スペキュラー・マイクروسコープ)

ンドリア・ミオパチーとの診断のついた男性1例，女性5例の計6症例である．6症例の概要を表1に示した．

眼症状としては，6症例12眼のうち，9眼が視力0.7以下の視力不良例であり，また全例に眼瞼下垂と眼球運動制限を認めた．また1症例には，非定型的網膜色素変性症を認めた．電気生理学的検討を含め眼底所見

についての詳細は，別報にて報告する予定である．

角膜内皮細胞の観察は甲南キーラー社のスペキュラー・マイクロスコープを使用し，撮影した．150個の内皮細胞をジギタイザーで面積を測定した．コントロール群として，同対象の同年代正常眼を各々10個ずつ同様に測定し，マッチングさせ比較検討した．

剖検例は48歳の男性で症例1の兄である．34歳頃よ

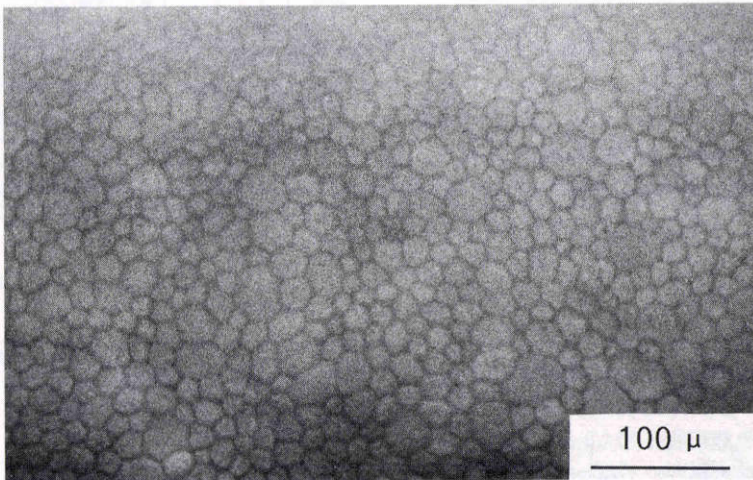


図2 症例3の角膜内皮細胞写真（スペキュラー・マイクロスコープ）

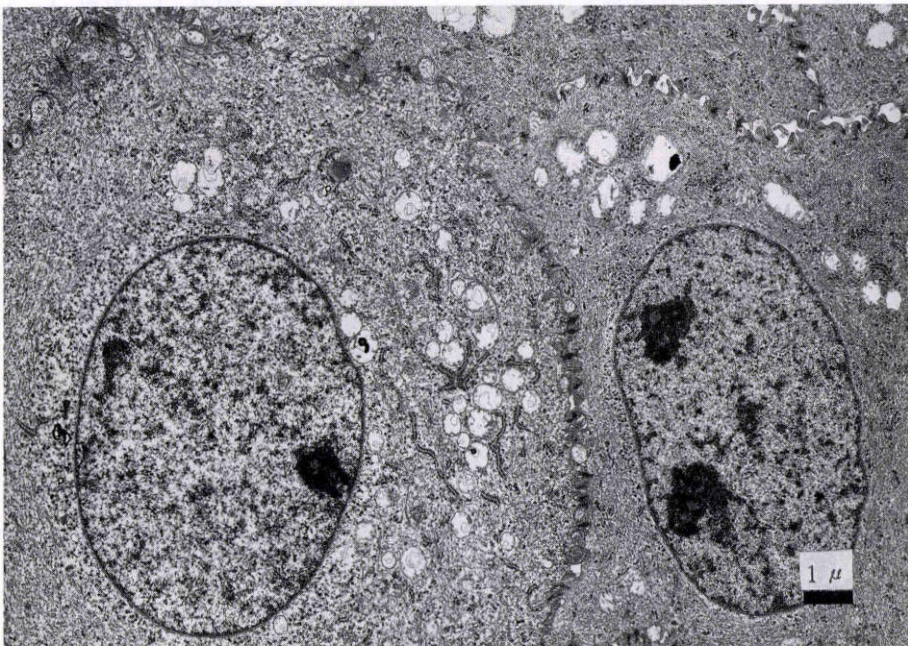


図3 角膜上皮基底細胞・細胞質内には空胞状のミトコンドリアがみられる(×7,000)

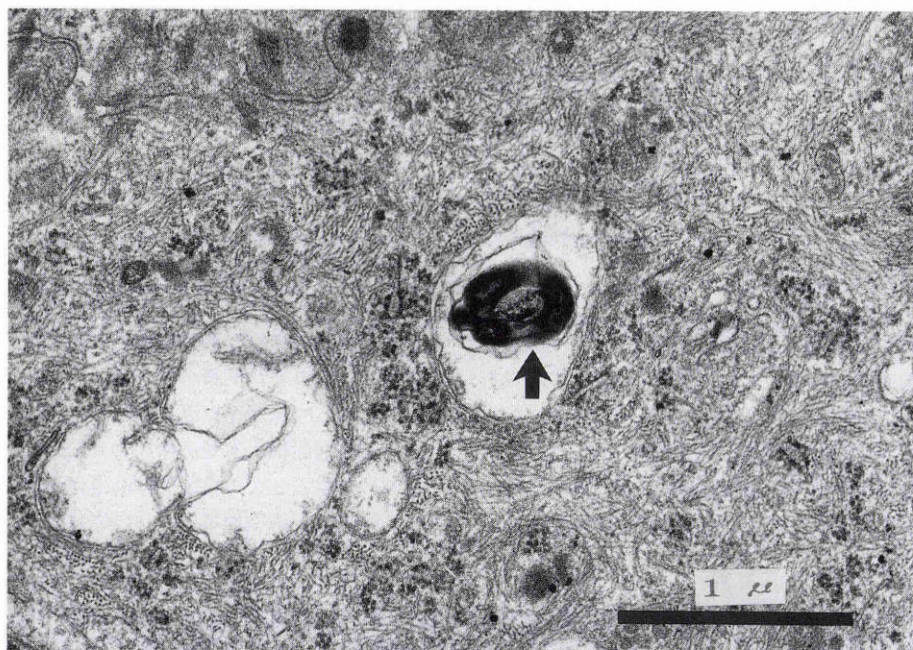


図4 基底細胞質内のミトコンドリアの一部に電子密度の高い封入体(矢印)がみられる($\times 37,000$).

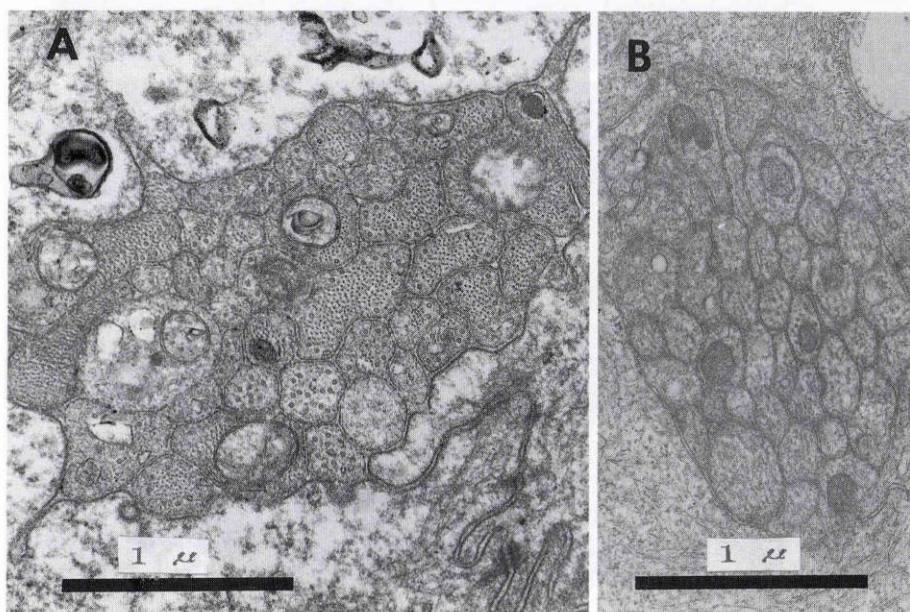


図5 角膜上皮基底細胞間に存在する神経線維

A: ミトコンドリア・ミオパチーの症例. axon内のミトコンドリアはやや大きく, クリステの消失がみられる($\times 37,000$). B: 正常角膜. axon内のミトコンドリアのクリステの消失は認められない($\times 37,000$).

り下肢の筋力低下出現し、44歳時当院脳神経内科にて筋生検を施行され、ミトコンドリア・ミオパチーとの診断をうけた。その後、次第に症状進行し、急性呼吸心不全にて死亡した。眼症状としては、眼瞼下垂と眼球運動制限を認め、眼底には特に異常を認めなかった。しかし、生前当科受診しておらず詳細については、不明である。またコントロールとして、死後8時間経過した50歳の剖検例を用いた。

これらの剖検眼は2.5%グルタルアルデヒド0.1M 燐酸緩衝溶液で前固定後、角膜片を細切し、一部を透過型電子顕微鏡用標本として1.0%オスミウム酸0.1M 燐酸緩衝溶液で後固定した。エタノール系にて脱水し、エポン樹脂にて包埋して、厚切り切片を1.0%トルイジンブルー染色液で染色し、更に超薄切片を作成して、二重電子染色にて染色した。日立 H-500型透過型電子

顕微鏡にて観察した。走査型電子顕微鏡使用標本は1.0%オスミウム酸0.1M 燐酸緩衝溶液にて後固定し、エタノール系で脱水、臨界点乾燥後日立 S-800型走査電子顕微鏡にて観察した。

III 結 果

1. 角膜内皮細胞面積について

5症例10眼の角膜内皮細胞をスペキュラー・マイクロスコプにて観察した。1症例(症例6)は、眼振があるために詳細な観察が出来なかった。5症例の角膜内皮細胞の平均面積とばらつき、多形化細胞の占める割合そして角膜厚を表2に示した。

内皮細胞面積が有意に増加していたのは、10眼中3眼で、全体としての検定では有意差は認められなかった。しかし、細胞面積のばらつきは、コントロール群

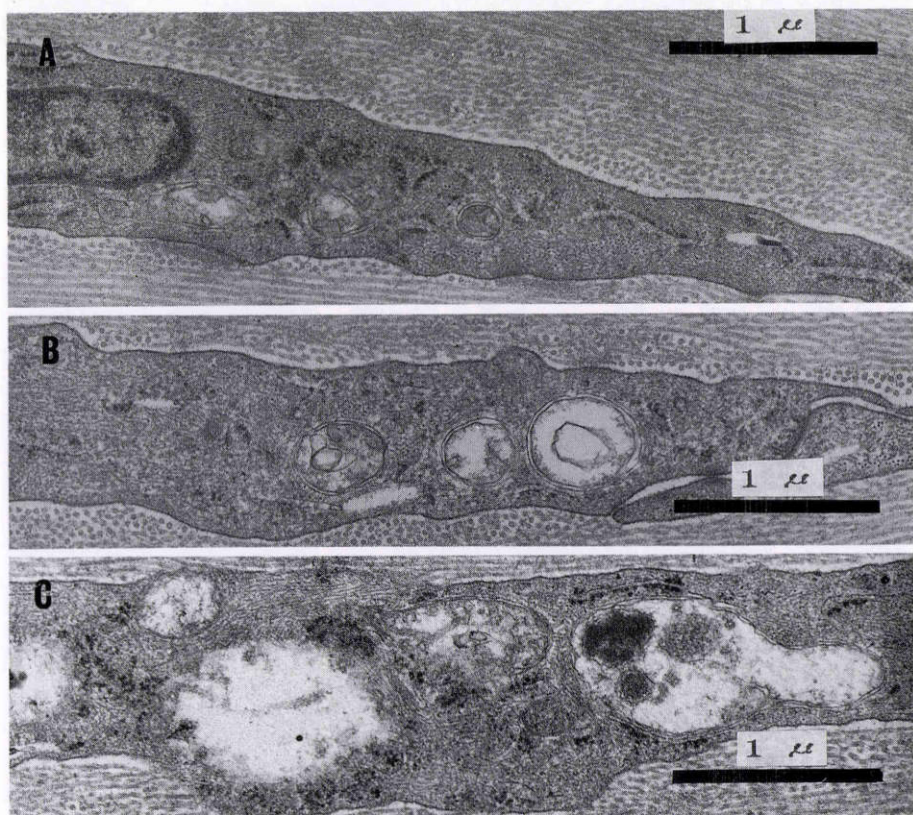


図6 実質細胞

A: 正常角膜: 細胞質内にはミトコンドリア・粗面小胞体が見られる。B: ミトコンドリア・ミオパチー, 大きなミトコンドリアの一部はクリステの消失が見られる。C: ミトコンドリア・ミオパチー, ミトコンドリアの一部に封入体が見られる (A, B, C $\times 37,000$)。

に比べ危険率1%で有意に大きく多形化細胞の占める割合も増加していた。

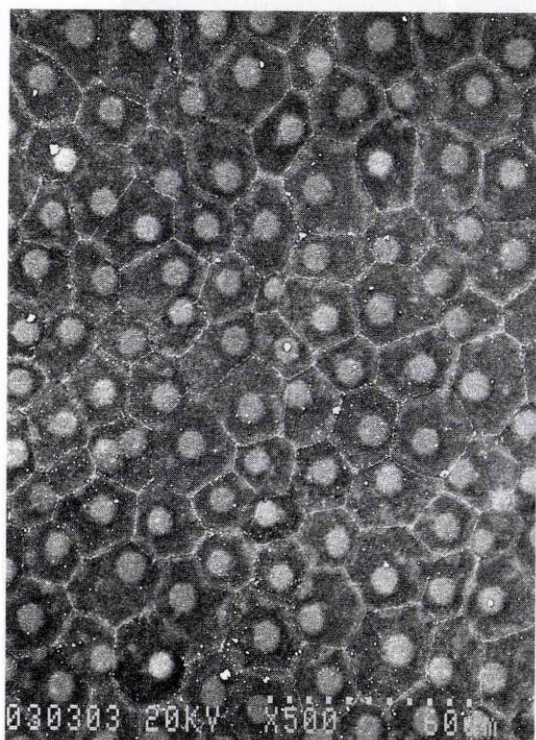


図7 内皮細胞。細胞は大小不同，多形性を示している（走査型電顕写真×500）。

図1に症例1（40歳，女性）のスペキュラー・マイクロスコープによる写真を示す。今回の5症例中では，最も内皮細胞の変化の少なかった症例で，細胞面積の増加は認められなかったものの，多形化細胞の占める割合は増加していた。図2には症例3（46歳，男性）の写真を示す。最も内皮細胞の変化が大きかった症例で，細胞面積とばらつきが増加していた。

2. 角膜組織の電子顕微鏡学的所見

角膜上皮細胞内のミトコンドリアの形状は，正常よりやや大きい傾向が認められた。また，ミトコンドリア内の空腔変性が強く認められ（図3），基底細胞質内のミトコンドリアの一部に電子密度の高い封入体が認められた（図4）。神経線維 Axon 内に存在するミトコンドリアも正常にみられるものより大きく，クリステの消失，電子密度の高い封入体が認められた（図5）。

実質組織は，規則正しい膠原線維の薄葉構造を形成し，その層間には実質細胞が扁平な型で存在し，細胞内のミトコンドリアは空腔化し，一部に球状封入体が認められた（図6）。

走査型電子顕微鏡による内皮細胞の観察では，細胞の形成にはばらつきが認められた（図7）。透過型電子顕微鏡による観察では，内皮細胞には多数のミトコンドリアが存在し，上皮細胞，実質細胞と同様に正常と比べて大きく，空腔変性が強くクリステの消失も認められた。一部には，電子密度の高い封入体が認められた（図8，9）。

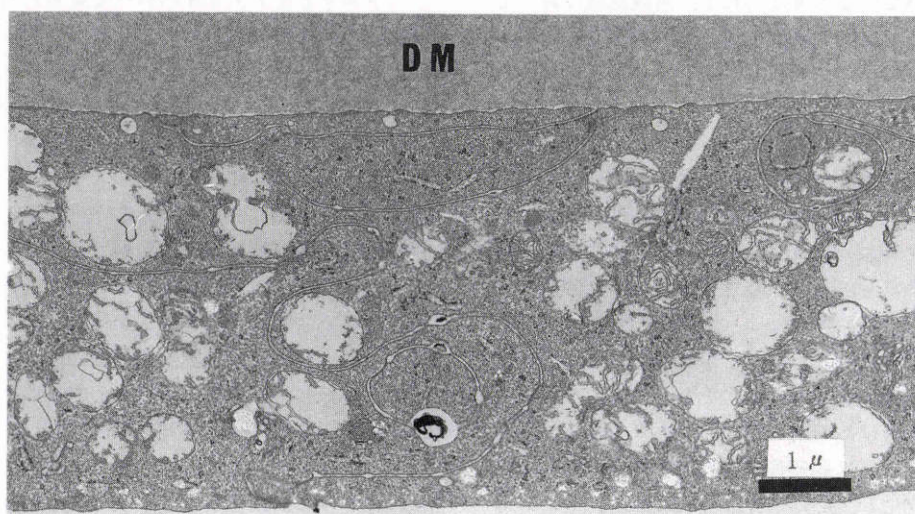


図8 内皮細胞。多くのミトコンドリアに空腔変性を示し，クリステの消失がみられる（×15,000）。

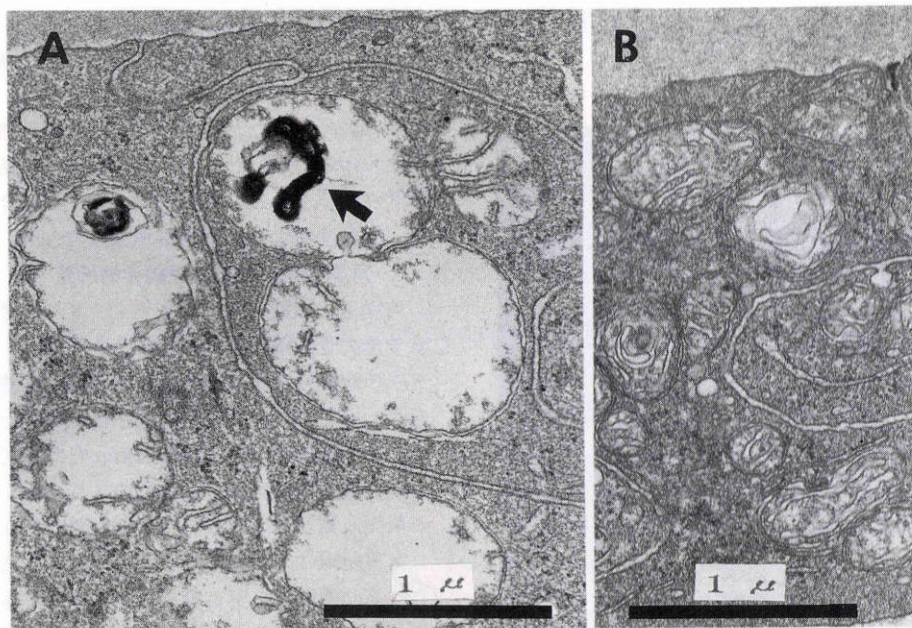


図9 内皮細胞

A: ミトコンドリア・ミオパチー。ミトコンドリアは正常に比べて大きく、一部に電子密度の高い封入体(矢印)がみられる。B: 正常細胞: 一部のミトコンドリアのクリステの消失がみられる (A, B 共 $\times 37,000$)

IV 考 按

細胞内できる ATP の90%以上がミトコンドリアで作られ、1個の細胞内のミトコンドリアの大きさ、形、数は、その細胞が必要とするエネルギーの要求度に依りて規定されていると考えられる。角膜組織においては、上皮細胞及び実質細胞に比べて内皮細胞にミトコンドリアが最も多く認められ、ミトコンドリアの形状は楕円形で、クリステの発達もよい。ミトコンドリア・ミオパチーにおいて、そのミトコンドリアの代謝異常が角膜内皮細胞にも影響を及ぼしている可能性が考えられることから、今回その角膜内皮細胞をスペキュラー・マイクروسコープにて観察した。内皮細胞面積は、同年齢のコントロール群と比較して、10眼中3眼で有意に大きくなっていたが、全体としての検定では有意差は認められなかった。しかし内皮細胞面積のばらつきは、全例有意に増加していた。また、多形化細胞の占める割合は、有意に増加していた。最近、桃井らはミトコンドリア脳筋症患者の培養骨格筋細胞のクローン化に成功しているが¹⁴⁾、それにチトクロームCオキシダーゼ活性染色を行い、活性陽性のミトコンドリアと陰性のミトコンドリアが同一細胞内に混在して

いることを報告している。このことから考えると、本症における角膜内皮細胞の代謝障害は一部のミトコンドリアでのみ起きており、障害の強くなった内皮細胞が変性、脱剥し修復されるために、他の細胞の面積が拡大し、多形化したものと思われる。

ミトコンドリア・ミオパチーで見られるミトコンドリアの形状異常にはいろいろあるが、数の増加、大きさ異常(巨大化)、形の異常などに分けられる。形の異常としては、クリステの増加により奇怪な形をしたり、クリステが環状となったもの、結晶状封入体、球状封入体、小顆粒封入体、またマトリックスの電子密度が高くなっているものなどがある¹⁵⁾。今回の剖検例での角膜組織の電子顕微鏡学的観察ではミトコンドリアの大きさは、ほぼ同じ死後時間を経過した同年齢の剖検眼と比べて2倍以上の大きさを示し、クリステの消失が強く認められた。角膜実質細胞においては球状封入体も認められた。角膜上皮細胞と内皮細胞のミトコンドリアの一部には、電子密度の高い封入体も認められ、これもミトコンドリアの形態異常が疑われる。しかし、角膜におけるこれらのミトコンドリアの異常は、外眼筋に比べ非常に少なく、角膜におけるエネルギー代謝などにどの程度影響を与えているかは、今後更に検討

する必要があると思われる。

なお本論文の要旨は第91回日本眼科学会総会において講演した。

文 献

- 1) **Shapira Y, Harel S, Russell A**: Mitochondrial encephalomyopathies. A group of neuromuscular disorders with defects in oxidative metabolism. *Israel J Med Sci* 13: 161—164, 1977.
- 2) **Stumpf DA**: Mitochondrial multisystem disorders: Clinical, biochemical, and morphologic features. *Curr Neurol* 2: 117—149, 1979.
- 3) **Fukuhara N, Tokiguchi S, Shirakawa K, et al**: Myoclonus epilepsy associated with ragged-red fibers (Mitochondrial abnormalities). Disease entity or a syndrome? Light- and electronmicroscopic studies of two cases and review literature. *J Neurol Sci* 47: 117—133, 1980.
- 4) **Egger J, Lake BD, Wilson J**: Mitochondrial cytopathy: A multisystem disorder with ragged-red fibres on muscle biopsy. *Arch Dis Child* 56: 741—752, 1981.
- 5) **Luft R, Ikkos D, Palmieri G, et al**: Mitochondrial abnormalities in the cerebrohepatorenal syndrome. *Ann Neurol* 6: 173—174, 1979.
- 6) **柴崎 浩, 三田哲司, 黒岩義五郎**: Mitochondrial myopathy の 1 例. *臨床神経* 13: 45—51, 1973.
- 7) **Tzagoloff A**: Mitochondria. Plenum Press, New York, 1982.
- 8) **Wikstorm M, Krab K, Saraste M**: Cytochrome Oxidase. A Synthesis. Academic Press, New York, 1981.
- 9) **Zeviani M, Moggio M, Bonilla E, et al**: Cytochrome-c-oxidase deficiency: Clinical and biochemical heterogeneity (Abstr). *Neurology (Cleveland)* 35 Suppl 1: 95, 1985.
- 10) **DiMauro S, Bonilla E, Zeviani M, et al**: Mitochondrial myopathies. *Ann Neurol* 17: 521—538, 1985.
- 11) **Morgan-Hughes JA, Darveniza P, Landon DN, et al**: A mitochondrial myopathy with a deficiency of respiratory chain NADH-CoQ reductase activity. *J Neurol Sci* 43: 27—46, 1979.
- 12) **Morgan-Hughes JA, Hayes D, Cooper M, et al**: Mitochondrial myopathies; deficiencies localized to complex I and complex III of the mitochondrial respiratory chain. *Biochem Soc Trans* 13: 648—650, 1985.
- 13) **山本雅彦, 和田義明, 佐野元規, 他**: 網膜色素変性, 白内障, 難聴, 失調, 痴呆を主徴とした mitochondrial myopathy の 1 例. *臨床神経* 26: 1080—1087, 1986.
- 14) **桃井真理子, 下泉秀夫, 中三川見利, 他**: ミトコンドリア脳筋症の培養骨格筋細胞のクローン化の試み. 厚生省「神経疾患研究委託費」筋ジストロフィー症の臨床, 病態と成因に関する研究, 杉田班昭和61年度研究報告書, 258—260, 1987.
- 15) **福原信義**: ミトコンドリア・ミオパチー. *神経進歩* 25: 1320—1341, 1981.