

ヒト結膜杯細胞の発生に関する形態学的組織学的研究

宮下 公男*, 東 範行*, 樋田 哲夫**

*慶応義塾大学医学部眼科学教室, **杏林大学医学部眼科学教室

要 約

胎齢期におけるヒト結膜の杯細胞の発生過程を組織化学的に検討した。杯細胞は胎齢8週より円蓋部に出現したが、その形態はすでに成人の物に類似していた。ついで眼瞼結膜に拡がり、14週では眼球結膜にも認められるようになった。ヒアルロニダーゼ、コンドロイチナーゼ、シアリダーゼを用いた酵素消化試験の結果では、早期より杯細胞にはシアル酸が含まれていた。(日眼会誌 94:49-53, 1990)

キーワード: 結膜, 杯細胞, 発達, シアル酸

Morphological and Histochemical Studies on the Development of Human Conjunctival Goblet Cells

Kimio Miyashita*, Noriyuki Azuma* and Tetsuo Hida**

*Keio University School of Medicine, Department of Ophthalmology

**Kyorin University School of Medicine, Department of Ophthalmology

Abstract

This report deals with the development of human conjunctival goblet cells. Fifty-six eyes of human embryos and fetus ranging from 5 to 41 weeks of gestational age were used in this study. Glycosaminoglycans in the goblet cells were investigated histochemically using 1% alcian blue staining (pH=2.5) and PAS reagent staining and sialidase (neuraminidase) digestion. At 8 weeks, goblet cells appeared in the forniceal area, and they extended to the palpebral and bulbar conjunctiva. These cells were already similar to adult goblet cells. Alcian blue staining and the enzyme digestion method revealed the existence of sialic acid in the goblet cells from 9 weeks. These results suggest that at the early developmental stage the goblet cells develop from the forniceal area. It is also indicated that the goblet cells in the early developmental stage are already similar to cells in the adult stage because they contain mainly sialic acid as glycosaminoglycans. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 94: 49-53, 1990)

Key words: Conjunctiva, Goblet cell, Development, Sialic acid

I 緒 言

結膜杯細胞は涙液中のムチンを分泌し、感染防御や創傷治癒に重要な役割を担っている¹⁾。この細胞は基底細胞より分化し各種刺激に応じて主にシアル酸を含

むグリコサミノグリカンを分泌している²⁾³⁾。本細胞の成人の結膜内の分布についての検討は過去に多く行われており⁴⁾⁵⁾、また種々の結膜疾患で増減することも知られている⁶⁾が発達期の杯細胞に関する研究は少ない。従来の報告では杯細胞は胎齢10週に結膜上皮と角

別刷請求先: 160 東京都新宿区信濃町35 慶応義塾大学医学部眼科学教室 宮下 公男

(平成元年4月18日受付, 平成元年8月14日改訂受理)

Reprint requests to: Kimio Miyashita, M.D. Dept. of Ophthalmol., School of Med., Keio Univ.

35 Shinano-Machi, Shinjuku-ku, Tokyo, 160, Japan

(Received April 18, 1989 and accepted in revised form August 14, 1989)



図-1

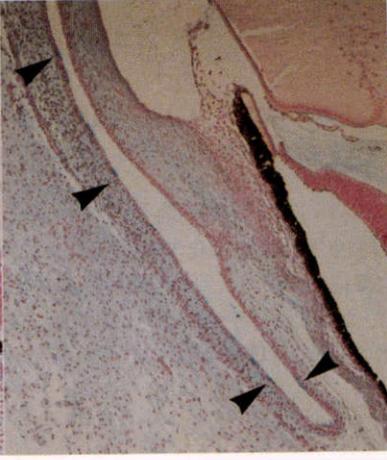


図-2

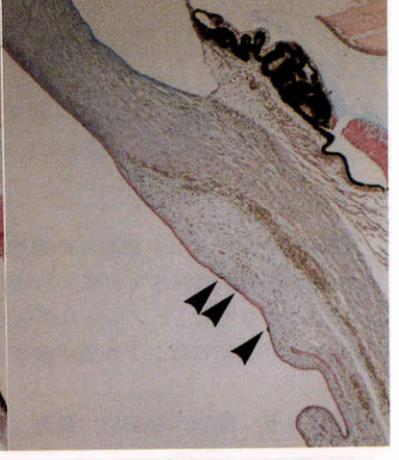


図-3

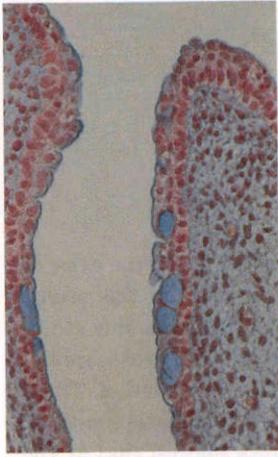


図-4a



図-4b

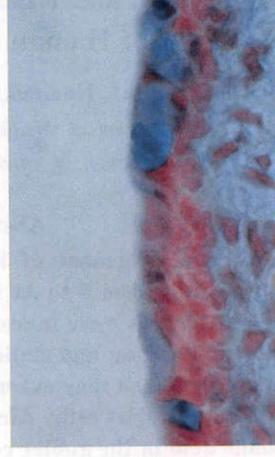


図-5a

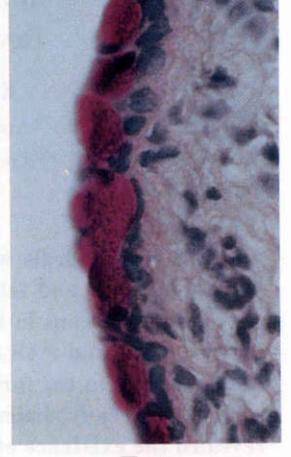


図-5b

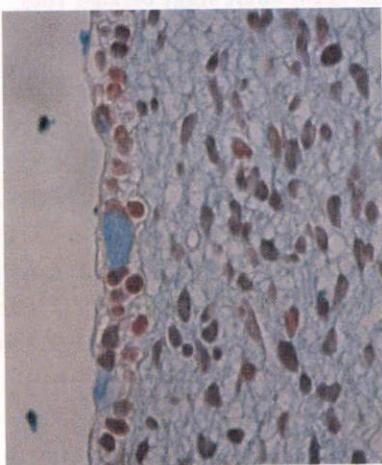


図-6a

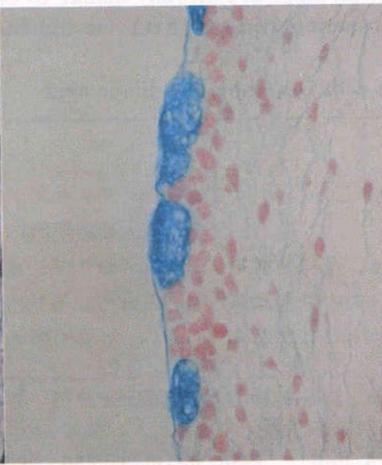


図-6b

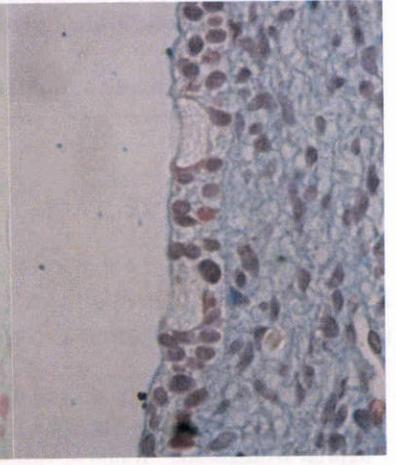


図-6c

膜上皮・眼瞼が分化するときに発生し、12週に結膜円蓋部に明瞭な細胞が認められるようになるといわれている⁷⁾。また Sellheyer ら⁸⁾は胎齢11.5週での電子顕微鏡下の観察で成熟した杯細胞を認めており、Podhorany⁹⁾は6カ月胎児では杯細胞の密度は成人より疎であるとしている。しかしながらその発生過程と形態についてはいまだに十分には解明されておらず、また細胞内に含まれる成分についても検討は行われていない。胎齢期は外的刺激の最も少ない時期にあり¹⁰⁾、この時期の杯細胞を検討することは杯細胞の本来の生理学的特徴を考える上でも意義があると思われる。今回著者らはヒト結膜原基の杯細胞の発生過程を観察し、またそれらに含まれるグリコサミノグリカンについても組織学的検討を行ったので報告する。

II 材料および方法

材料は胎齢5週から41週までのヒト眼球標本56眼を使用した。これらの眼球は死体解剖保存法に従って入手したものである。胎齢は妊娠週数より算定し、各眼組織の発達程度をもってその裏付けとした。対照として2歳および成人眼球5眼を使用した。これらの標本は4%パラホルムアルデヒド100mMリン酸緩衝液中で2~3日間固定した。5週から10週の標本は眼窩組織を含め一塊として摘出し、それ以降の比較の後期の標本では眼球とその周囲組織のみを摘出し固定した。その後エタノール系列で脱水したあとにパラフィンに包埋した。各標本の3 μ mの連続切片を作成しマヘマトキシリン・エオジン染色、1%アルシアンブルー染色(pH 2.5)、およびPAS染色を行い、各胎齢における杯細胞の分布と形態の変化を光学顕微鏡下に検討した。

さらに杯細胞に含まれているグリコサミノグリカン

の種類を組織化学的に検討するためにヒアルロニダーゼ、コンドロイチナーゼAC、コンドロイチナーゼABC、シアリダーゼによる酵素消化試験を行った。ヒアルロニダーゼ(生化学工業)消化は100TUR/mlの放線菌ヒアルロニダーゼ・100mMリン酸緩衝液(pH=5.0)で40℃、5時間行った。コンドロイチナーゼABCおよびコンドロイチナーゼAC(生化学工業)消化は5U/ml・50mMトリス酸緩衝液(それぞれpH=8.0および7.5)で37℃、2時間施行し、シアリダーゼ(ノイラミニダーゼ、生化学工業)消化は1U/mL・50mM酢酸緩衝液0.9%塩化ナトリウム・0.1%塩化カルシウム加(pH=5.5)で37℃、24時間施行した。各々の消化後1%アルシアンブルー染色(pH 2.5)、PAS染色を行い、各々酵素を含まない同緩衝液あるいは蒸留水に同時間浸したコントロールの標本の染色性との比較を行った。

III 結果

1. 杯細胞の分布・形態

対照の2歳例および成人の眼球では杯細胞は輪部以外の眼球・眼瞼結膜に認められ、これらはアルシアンブルー染色、PAS染色に強い陽性を示した。発達期の標本では、初期の胎齢5~7週の表層外胚葉にはいまだ杯細胞は認められなかった(図1)。胎齢8週になると閉鎖した瞼裂内の結膜嚢は2層の円柱上皮となった。この時期はいまだ杯細胞と確認しうる細胞は認められなかったが3例中2例に円蓋部に胞体が大きくて明るく、核が中央にある細胞が認められ、これらはアルシアンブルー染色およびPAS染色で淡く染色された。胎齢9~10週では結膜上皮は2~3層の立方上皮となり、9例中7例に円蓋部に成人の杯細胞とよく類似する細胞が認められた。これらは発達とともに眼瞼

図説明

- 図1 胎齢6週の前眼部、杯細胞は認められない(アルシアンブルー染色、 $\times 20$)。
 図2 胎齢9週の結膜原基。杯細胞(矢印)は眼瞼結膜、円蓋部に認められる(アルシアンブルー染色、 $\times 20$)。
 図3 胎齢14週の結膜原基。眼球結膜にも杯細胞(矢印)の分布が拡大している(アルシアンブルー染色、 $\times 20$)。
 図4 胎齢9週の杯細胞。丈の低い細胞と高い細胞が認められる(a:アルシアンブルー染色、b: PAS染色、 $\times 100$)。
 図5 胎齢14週の杯細胞。成人と類似する丈の高い杯細胞が密集して認められる(a:アルシアンブルー染色、b: PAS染色、 $\times 200$)。
 図6 胎齢9週の杯細胞の酵素消化試験。a:コントロール、b:コンドロイチナーゼABC処理後、角膜や眼瞼の実質のアルシアンブルー染色性は低下するが、杯細胞の染色性は変化しない。c:シアリダーゼ処理後、アルシアンブルー染色性は著明に低下している(アルシアンブルー染色、 $\times 200$)。

結膜にも出現がみられたが、眼球結膜での分布は少なかった(図2)。胎齡14週頃より結膜上皮はやや扁平化し、杯細胞の分布は眼球結膜に拡大した(図3)。杯細胞の形態については胎齡9~10週では杯細胞の高さは周囲の上皮細胞とほぼ同じものと丈の高いものがあり、細胞質はアルシアンブルー染色およびPAS染色に強い陽性を示した(図4)。胎齡20週では胎齡9週に比して丈が高い杯細胞が多く認められるようになっていたと思われたが、染色性については同様であった(図5)。またそれ以降はその形態・染色性ともに大きな変化は認められなかった。

2. 杯細胞内のグリコサミノグリカンに対する酵素消化試験

ヒアルロニダーゼ、コンドロイチナーゼABC、およびコンドロイチナーゼABCによる消化試験では胎齡9週以降いずれも杯細胞内のアルシアンブルー染色性は低下しなかった。しかしながらシアリダーゼによる消化試験では、アルシアンブルーの染色性は初期より消失した。対照の成人眼でもシアリダーゼによってのみアルシアンブルーの染色性の減弱が認められた(図6)。

IV 考 按

成人における杯細胞の分布についての検討は多くなされており、化学傷癒痕期に増加、眼天疱創で減少するなどの変化を示し⁶⁾、生理的には眼瞼・眼球結膜、特に鼻下側に多く分布するといわれている¹¹⁾。しかしながら胎齡早期での分布や成分についての報告は著者らの渉猟しうる限りではない。

今回の結果では胎齡5~7週ではまだ杯細胞は認められなかったが、胎齡8週になると未熟な杯細胞と思われる分泌細胞が結膜囊内円蓋部に出現することが判明した。胎齡9週には眼瞼結膜側に杯細胞が明らかに認められるようになったが眼球結膜には認められなかった。この時期は眼裂が全く閉鎖されている無刺激な状態でありこの状態でも杯細胞が出現することが明らかになった。また一般に杯細胞は結膜上皮の特徴とされている。今回杯細胞が円蓋部から出現しその分布がまず眼瞼結膜に拡大したことは、眼瞼結膜の分化が眼球結膜より早いことを示唆するものである。以後杯細胞は眼球結膜側にも出現した。また細胞の形態も9週に比して20週で丈の高い細胞が多く認められるようになったのは成熟を示すものと思われる。

成人の杯細胞は多彩な糖鎖を有するシアル酸を産生

している³⁾。このシアル酸は組織化学的にはシアリダーゼによる消化でアルシアンブルーの染色性は減弱しPAS染色性は不変であるとされている。今回初期の杯細胞に含まれるグリコサミノグリカンを検討するために酵素消化試験を行ったが、その所見は成人と類似し胎齡期早期の9週の杯細胞にすでにシアル酸を主体とする酸性ムコ多糖の存在が示唆された。従って発生過程で角膜実質、強膜など他の眼組織でグリコサミノグリカンはその組成をかえていくが、杯細胞に関しては発生早期よりすでに成人と同様の成分を有していることが判明した。

今回胎齡期の杯細胞の発生が円蓋部より始まり眼瞼結膜ついで眼球結膜にその分布を拡大することが明らかになり、またその主成分が早期よりシアル酸であることが明らかになったが、今後は電顕によって結膜の微細構造の発生過程を検討する予定である。眼裂が閉鎖している時期のような外的刺激のない時期にすでにシアル酸が産生されていることは、今後この成分の意義を考えていく上で興味ある所見であると思われる。

稿を終えるにあたり御校閲を賜りました植村恭夫教授に深謝いたします。

文 献

- 1) 北野周作: Ocular surface—その生理と病態. 日眼会誌 91: 1—26, 1987.
- 2) Srinivasan BD, Jakobiec FA, Iwamoto T: Conjunctiva. Biochemical Foundation of Ophthalmology 1(29): 16—19, Harper and Low Co. Philadelphia, 1985.
- 3) 松本和郎, 三村康男: 結膜杯細胞の組織化学. Connective Tissue 6: 85—90, 1974.
- 4) Greiner JV, Henriquez AS, Covington HI, et al: Goblet cell of the human conjunctiva. Arch Ophthalmol 99: 2190—2197, 1981.
- 5) Moor CP, Willson NJ, Nordheim EV, et al: Density and distribution of canine conjunctival goblet cell. Invest Ophthalmol Vis Soc 28: 1925—1932, 1987.
- 6) Tseng SCG, Hirst LW, Maumenee AE, et al: Possible mechanism for the loss of goblet cells in mucin-deficient disorders. Ophthalmology 91: 545—552, 1984.
- 7) Spencer WH, Zimmerman LE: Conjunctiva Ophthalmic pathology. 1: 109—113, WB Saunders Co. Philadelphia, 1984.
- 8) Sellheyer K, Spitznas M: Ultrastructural observations on the development of the human conjunctival epithelium. Graefe Arch Clin Exp Ophthalmol 226: 489—499, 1988.

- 9) **Podhorányi G**: Über die Becherzellen der Bindehaut. *Albert Graefes Klin Exp Ophthalmol* 169: 285-293, 1966.
- 10) **上田美知子**: 幼若家兎結膜の成熟過程, 特に杯細胞に関する細胞学的研究, *眼紀* 10: 1072-1098, 1959.
- 11) **Kessig SV**: Mucous gland system of the conjunctive: A quantitative normal anatomic study. *Acta Ophthalmol* 46(Suppl 95): 9-131, 1968.
-