

# 眼内レンズと細胞反応に関する実験的研究

—フィブロネクチンの局在について—

金川 龍一, 雑賀司珠也, 宮本 香, 近江 俊作, 田村 学, 中尾 俊也

和歌山県立医科大学眼科学教室

## 要 約

家兎に眼内レンズ (IOL) を移植, IOL を経時的に摘出し, その表面に出現した細胞のフィブロネクチン局在を酵素抗体法により検索した. その結果 IOL 上のマクロファージ・多核巨細胞にフィブロネクチンの抗原性が認められた. フィブロネクチンの分布は移植後一週間目が最高で, 以後漸次低下してゆく傾向がみられた. フィブロネクチンは IOL 上のマクロファージ・多核巨細胞の運動・接着などに関係していると考えられ, 細胞の活動性が低下するにつれ減少してゆくように思われた. (日眼会誌 94: 549-552, 1990)

キーワード: 眼内レンズ, 免疫組織化学, マクロファージ, 多核巨細胞, フィブロネクチン

---

## Experimental Study of Cellular Response on the Intraocular Lens Surface in Terms of the Presence and Distribution of Fibronectin

Ryuichi Kanagawa, Shizuya Saika, Kaori Miyamoto,  
Shunsaku Ohmi, Manabu Tamura and Toshiya Nakao

*Department of Ophthalmology, Wakayama Medical College*

### Abstract

An immunohistochemical study was performed to observe cellular proliferation on the surface of implanted intraocular lenses (IOLs) in rabbit eyes. Rabbits were killed 3~28 days postoperatively. The removed IOLs were examined by an immunoperoxidase staining method using anti-fibronectin antibodies. The immunoreactivity for fibronectin was detected in macrophages and multinucleated giant cells attached to the IOL surface. Prominent stains were observed in these cells 1 week after the operation, and staining for fibronectin was less intense in the specimens 2 and 4 weeks after implantation. Fibronectin is produced by macrophages and multinucleated giant cells on the IOL surface, and might play important role in cellular adhesion and motility. Fibronectin immunoreactivity decreased with time and it may be related to cellular activity. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 94: 549-552, 1990)

**Key words:** Intraocular lens, Immunohistochemistry, Macrophages, Multinucleated giant cells, Fibronectin

---

別刷請求先: 〒640 和歌山市七番町27 和歌山医大眼科 金川 龍一  
(平成元年8月14日受付, 平成元年10月20日改訂受理)

Reprint requests to: Ryuichi Kanagawa, M.D. Dept. of Ophthalmol., Wakayama Medical College  
7 Ban-cho 27, Wakayama 640, Japan

(Received August 14, 1989 and accepted in revised form October 20, 1989)

## I 緒 言

我々は眼内レンズ(IOL)を家兎に移植し、術後IOL表面に観察された細胞の組織学的、組織化学的な変化について光顕的、電顕的に観察を行ってきた。その結果IOL表面に出現する細胞はそのほとんどがマクロファージであることを日眼会誌において報告した<sup>1)2)</sup>。今回我々は糖蛋白の一つであるフィブロネクチンに注目し、移植したIOL表面に現れた細胞成分のフィブロネクチン局在を酵素抗体法により検索したのでそれについて報告する。

## II 実験方法

### 1. 標本の作製

実験動物として体重約2.5kgの成熟雄性白色家兎(10羽, 20眼)を用いた。家兎をネンプタールで全身麻酔を行い、ミドリン®P(0.5%トロピカミド, 0.5%塩酸フェニレフリン)で散瞳後、水晶体嚢外摘出術を施行した。水晶体摘出後、ヒーロン®(ヒアルロン酸ナトリウム)を後房に注入し、市販のIOL(ORC社製)を後房に移植した。移植後3日, 1週, 2週, 4週後にIOLを摘出し免疫組織化学的に検討した。

### 2. 免疫組織化学

摘出したIOLは10%ホルマリン-カルシウムで4℃24時間固定した。続いて0.3%過酸化水素水を含むメタノール中に室温で20分間浸漬して内因性パーオキ

シダーゼ活性の除去を行った。次に200倍希釈のパーオキシダーゼ標識ヤギ抗ウサギフィブロネクチン抗体(Cappel Laboratories, USA)を4℃で12時間反応させた。反応後PBSで洗浄し, 3, 3'diaminobenzidine(DAB)-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>溶液を基質として発色させた。反応後水洗し, メチルグリーンで対比染色, アルコール脱水, キシロールを経てバルサムに封入し光学顕微鏡で観察した。

なお抗体の特異性を検討するため, 抗体(100倍希釈)とウサギフィブロネクチン100μg/ml(Biomedical Technologies Inc. USA)を混和, 冷蔵庫中で一昼夜反応させた。反応液を遠心沈澱(3000rpm, 30分)して, その上清を用いてIOL上の細胞を染色した。

## III 結 果

移植3日後の標本において, IOL表面には各種の形態を示す細胞が存在していた。円形, 楕円形, 紡錘形を呈する細胞が多数見られ, これらはマクロファージであると思われるが, いずれも細胞質, 細胞膜にDAB陽性反応が認められた(図1)。移植1週間後では楕円形細胞が増加していた, それに加えて紡錘形細胞が長い突起を伸ばしている所見が目立った, これらの細胞は強いDAB陽性所見を示した(図2)。さらに胞体内に十数個の核をもつ多核巨細胞が観察され, この細胞の核周囲の細胞質, 及び細胞膜にDAB陽性反応が強く認められた(図3)。移植2週間目になるとマクロ



図 1

図1 移植3日目のIOL上に出現した細胞を示す。円形, 楕円形, 紡錘形細胞は, 抗フィブロネクチン抗体による染色にDAB陽性反応を示した。(酵素抗体法染色, ×125)

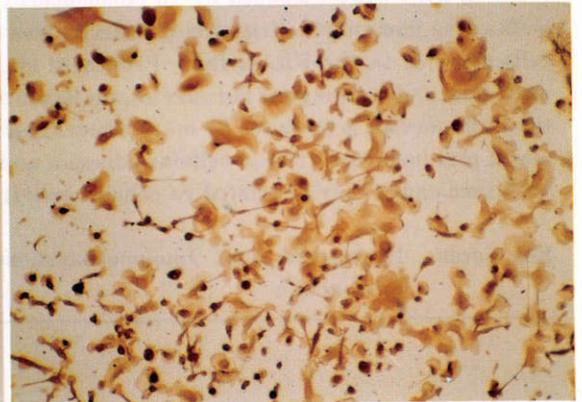


図 2

図2 移植7日目のIOL表面の細胞成分。楕円形, 紡錘形細胞は強いDAB陽性反応を呈した。(酵素抗体法染色, ×250)



図 3

図3 移植7日目、IOL上に出現した多核巨細胞を示す。細胞質(\*印)、細胞膜(矢印)にDAB陽性反応が認められた。(酵素抗体法染色, ×125)

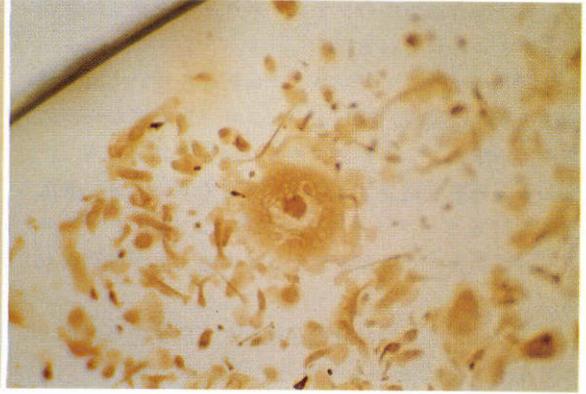


図 4

図4 移植14日目のIOL上の細胞成分。マクロファージ、多核巨細胞はDAB陽性反応を示した。(酵素抗体法染色, ×125)



図 5

図5 移植28日目のIOL上にみられたマクロファージ、多核巨細胞を示す。それらは弱いDAB陽性反応を呈した。(酵素抗体法染色, ×125)

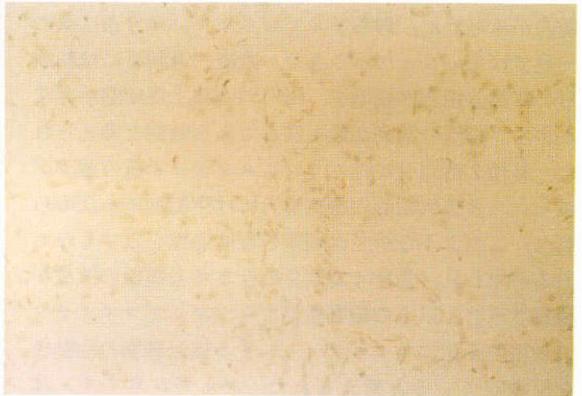


図 6

図6 抗体の特異性の検討を移植3日目のIOLで行った。IOL上細胞にDAB陽性反応は認められなかった。(酵素抗体法染色, ×125)

ファージの細胞数の減少がみられるとともに、巨大な多核巨細胞が標本上で目立った。これらの多核巨細胞は胞体内に数十個の核を有し、空胞の形成も認められた。マクロファージ、多核巨細胞ともに細胞質に弱いDAB陽性反応を示した(図4)。移植4週間後の標本ではマクロファージの細胞数はさらに減少を示した。IOL上には全体で十数個の多核巨細胞が存在していた。これらのマクロファージ、多核巨細胞は弱いDAB陽性反応を示した(図5)。

なお抗体の特異性の検討を移植3日後のIOLで

行った。図6に示すようにIOL上細胞にはDAB陽性反応が認められなかった。

#### IV 考 按

IOLを眼内に移植した時の生体反応において、眼内移植後のIOL表面には多数のマクロファージが附着し、それらが融合することによって多核巨細胞が形成されることは既に明らかになっている<sup>3)</sup>。最近の電顕による観察結果からIOL上にはマクロファージなどの細胞以外に、膜様物が観察されるという報告があり、

この膜様物は血漿中のフィブロネクチン由来ではなからうかといわれている<sup>4)5)</sup>。

今回我々は、フィブロネクチン抗体を用いて酵素抗体法を試みた結果、IOL上のマクロファージならびに多核巨細胞にフィブロネクチンの局在を証明し得た。IOL上の薄膜を確認することはできなかったが、IOL上におけるフィブロネクチンの産生に関してマクロファージが大きな役割をはたしていることが推察される。

フィブロネクチンは線維芽細胞など間葉系細胞により分泌されることがよく知られている。他方マクロファージがフィブロネクチンを産生・分泌することが最近判明しており<sup>6)</sup>、マクロファージの産生したフィブロネクチンはIOL上で自らの運動や粘着性に関与しているものと考えられる。

さらに今回の観察結果では、フィブロネクチンの局在は術後一週間目が最も強く、以後漸次低下してゆく傾向がみられた。即ちフィブロネクチンの分布は単に一定ではないことが示された。術後一週間目には紡錘形の線維芽細胞様細胞や、楕円形の類上皮細胞が非常に多く、細胞の活動が最も盛んである時期と考えられた。移植2週間目になるとマクロファージ数の減少がみられ、多核巨細胞の細胞質内には空胞形成も認められた。このような所見は細胞の変性過程を示すものであると思われ、術後4週間目の標本でも類似の所見が観察された。以上の観察結果より、フィブロネクチンの局在の変化はマクロファージや多核巨細胞の活動性を反映していると考えられた。フィブロネクチンは種々の生物学的活性をもっており、その働きの一つに網内系の機能を高める作用がある<sup>7)</sup>。臨床的に術後炎症は1週間は持続し、その時期にフィブリン反応の発生を見ることもある。術後早期にIOL上に付着したマクロファージは、傷ついた血球・フィブリンなどの処

理に関与すると思われ、その異物処理活動が最高に達するのが術後7日目あたりと考えられる。

フィブロネクチンには細胞性のみならず血漿性フィブロネクチンもある。さらにまだ知られていない生理活性をもつ可能性もあり、眼内ではたす役割について今後の検討課題も多く残されている。我々はIOL上細胞におけるフィブロネクチン局在とその推移を明らかにしたが、今回の実験結果はIOL上の細胞反応を研究する上で1つの手掛かりになるものと思われる。

#### 文 献

- 1) 金川龍一, 近江俊作, 榎本善収, 他: 人工水晶体細胞反応に関する実験的研究。(1)トリプシンを用いた透過型電顕による観察。日眼会誌 92: 1099—1102, 1987.
- 2) 金川龍一, 近江俊作, 田村 学, 他: 人工水晶体細胞反応に関する実験的研究。(5)酵素抗体法による観察。日眼会誌 92: 1520—1522, 1988.
- 3) Wolter JR: Fusion of macrophages on lens implants resulting in the formation of giant cells. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 221: 1—7, 1983.
- 4) Kappelhof JP, Pameyer JH, De Jong PTVM, et al: The proteinaceous coating and cytology of implant lenses in rabbits. Am J Ophthalmol 102: 750—758, 1986.
- 5) 石橋達朗, 久保田敏昭, 菅井 滋, 他: 眼内レンズ表面における細胞反応の透過型電子顕微鏡による観察。(1)初期反応。日眼会誌 92: 2089—2093, 1988.
- 6) Alitalo K, Hovi T, Veheri A: Fibronectin is produced by human macrophages. J Exp Med 151: 602—613, 1980.
- 7) Yamada KM, Olden K: Fibronectin adhesive glycoproteins of cell surface and blood. Nature 275: 179—184, 1978.