

甲状腺眼症における眼窩内脂肪組織の病理組織学的検討

陳 栄家*, 鹿児島武志*, 石井 康雄**, 堀 貞夫***, 井上 洋一****

*東京大学医学部眼科学教室, **新川橋病院眼科

東京女子医科大学糖尿病センター眼科, *オリンピア・クリニック眼科

要 約

観血的治療を受けた甲状腺眼症患者11例17検体より得られた眼窩脂肪織を光学顕微鏡および電子顕微鏡にて観察した。検体の組織学的, 免疫組織化学的染色から炎症性細胞の浸潤, 線維素の析出, 血管壁の硬化と血管腔の閉塞および親水性ムコ多糖体の沈着が観察された。脂肪織内に浸潤したリンパ球の一部は T cell であることが示され, また脂肪細胞やリンパ球に IgG の存在が認められた。これらの結果から, 本症における眼窩脂肪織の病態は免疫学的反応を背景とした慢性炎症に継続して, 結合織の増生, ムコ多糖体の沈着による眼窩脂肪織への二次的水分の貯留が起こり, その結果眼窩内圧の上昇をきたし眼球突出が発症するものと考えられた。今回の検索から, 眼窩脂肪織に対する自己免疫学的機序の関与が推察された。(日眼会誌 94: 846-855, 1990)

キーワード: 甲状腺眼症, 眼窩脂肪織, 免疫組織化学, T cell, IgG

Histopathological Observations on Orbital Fatty Tissue in Dysthyroid Ophthalmopathy

Rong Jia Chen*, Takeshi Kagoshima*, Yasuo Ishii*, Sadao Hori*** and Yoichi Inoue****

*Department of Ophthalmology, School of Medicine Tokyo University, **Eye Clinic, Shinkawabashi Hospital

***Department of Ophthalmology, Diabetes Center, Tokyo Women's Medical College

****Eye Division of Olympia Medical Clinic

Abstract

Seventeen specimens of orbital fatty tissue taken from cases of dysthyroid ophthalmopathy at the time of operation were observed by light and electron microscopy, and also by immunohistochemical staining. The pathological changes observed were infiltration of the chronic inflammatory cells, deposit of fibrin, sclerosis of vascular wall, occlusion of the vascular lumen, and accumulation of hydrophilic mucopolysaccharide. Immunoglobulin G was detected in fat cells and lymphocytes, and some of the infiltrating lymphocytes were determined to be T cells, by immunohistochemistry. These findings suggested that the pathology of the dysthyroid ophthalmopathy was closely related to the chronic inflammation induced by the immune reaction. The exophthalmos was considered to occur due to edema secondary to chronic inflammation and accumulation of the mucopolysaccharides. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 94: 846-855, 1990)

Key words: Dysthyroid ophthalmopathy, Orbital fatty tissue, Immunohistochemical, T-cell, Immunoglobulin G (IgG)

別刷請求先: 150 東京都渋谷区神宮前 6-35-3 オリンピア・クリニック眼科 井上 洋一

(平成元年11月21日受付, 平成2年1月24日改訂受理)

Reprint requests to: Yoichi Inoue, MD Eye Division of Olympia Medical Clinic
6-35-3 Jingumae, Shibuyaku, Tokyo 150, Japan

(Received November 21, 1989 and accepted in revised form January 24, 1990)

I 緒 言

甲状腺機能の異常時にしばしばみられる眼症状には、眼球突出、上下眼瞼後退、眼瞼腫脹、外眼筋の癒着による眼球運動障害、肥大筋また球後組織圧上昇による視神経に対する器械的圧迫および眼窩内組織の循環障害、あるいは涙液分泌不全や兎眼による角結膜症状など多彩である¹⁾²⁾。これらを総称して甲状腺眼症と称する。これらの諸症状のうち眼球突出は甲状腺機能亢進患者のうち、25~50%に認められる³⁾。

眼球突出の程度は、おもに脂肪組織、結合組織及び外眼筋組織から成り立つ球後組織の容積により反映されるが、内・外角靭帯はじめ眼球支持組織の伸展性の影響を受けることも報告されている。しかし、本症における眼球突出所見の要因には主に球後脂肪組織の体積の増大と外眼筋肥大の二つがあげられ、これらはCT scanなどで区別される⁴⁾。

組織学的な観察からは、これらの組織には炎症が関与すると考えられ、炎症に陥った組織には浮腫、結合組織の増生、瘢痕形成が生じ、結果として組織の容積の増加をまねき、眼球突出や外眼筋の肥大が生じ、それに付随して眼球運動障害などの臨床症状をひきおこすものと推測される^{5)~7)}。

甲状腺疾患の一部には発症機構に自己免疫反応の関与が推定されており、以下の諸説が有力であるがいまだ完全には解明されていない。1) 甲状腺と眼窩組織の間に眼球突出を生ずる共通抗原が存在する。2) 甲状腺抗原が眼窩組織に移動して抗原性を有し眼球突出を生ずる。3) 細菌、ウイルスなどの外来抗原に対する抗体が眼窩組織と交差反応をおこす。4) 眼窩組織に眼球突出を生ずる臓器特異性のある抗原が存在する^{8)~12)}。眼球突出の組織所見は眼窩組織の炎症であるが、眼球突出の病態における形態的な変化については詳しい研究はなされていない。

本研究では甲状腺眼症における発症機構を解明するために、本症で眼球突出を呈する患者より得られた眼窩内脂肪組織について、光学顕微鏡・電子顕微鏡所見、免疫組織化学所見について検討した。

II 材料と方法

対象は甲状腺眼症患者11症例(男性5例、女性6例)17検体、年齢は23~76歳で、内分泌学的には euthyroid の状態であった。球後脂肪組織はこれらの症例の手術時に採取した。眼症の発症より手術にいたるまでの期

間は 1.36 ± 0.54 年(平均±標準偏差)で、全身的には甲状腺眼症に影響をあたえるような他の疾患は認められなかった。脂肪組織は以下に述べる手術時に採取した: 1) 上眼瞼後退に対する上眼瞼挙筋後転術、2) 球後圧の軽減と眼球突出に対する眼窩減圧術¹³⁾、3) 甲状腺眼症の複視の主な原因となっている外眼筋と眼窩組織の癒着の解除と眼位矯正。対照として用いた組織は、眼窩内新生物の摘除手術、外傷による眼窩壁骨折の整復手術を施行した際に得られた眼窩内の脂肪組織で、2症例2検体、それぞれ38歳と80歳の女性であった。

術中得られた眼窩内脂肪組織を組織学的検索の目的で下記のように固定、包埋、染色して観察した。

1) 光学顕微鏡標本

脂肪組織はただちに細切し、10%ホルマリン(リン酸緩衝液 pH 7.2)で24時間固定した。アルコール系列にて脱水し、パラフィン包埋した後4~8 μ mの切片を作成しヘマトキシリンエオジン(HE)染色を施行し光学顕微鏡にて観察した。一部分の切片は同時にリタングステン酸ヘマトキシリン(PTAH)染色を施行した。眼窩内脂肪組織の一部はただちに細切し、中性ホルマリンにて24時間固定の後0.05Mリン酸緩衝液加0.2M蔗糖の混合液にて4℃の低温室に3時間放置後脱水しJB-4 Embedding Kitを用いて包埋した。8 μ mの切片を作成し、Alcian blueで染色した。

2) 電子顕微鏡標本

眼窩脂肪組織を2.5%グルタルアルデヒドにて2時間固定した後、1%オスミウム酸による後固定を施して脱水しエポン包埋した。1 μ mの厚切り切片にトルイジン青染色を施して光学顕微鏡で、また超薄切片にウラン・鉛二重染色を施し透過型電子顕微鏡(JEM 100C)で観察した。

3) 免疫組織化学標本

20 μ mの凍結切片を作成した後DAKO社製のPAP(peroxidase-antiperoxidase)キットを用いてimmunoglobulin G(IgG)を検出した。一次抗体には抗ヒトマウスIgG抗体を、二次抗体として抗マウスウサギIgG抗体を用い、horseradish peroxidase(HRP)により発色させた。また同社製のAPAAP(Alkaliphosphatase Anti-Alkali phosphatase)キットを用いてT cellを染色した。抗体はPAP法と同様で発色にはalkaliphosphataseを用いた。さらにヘマトキシリンにて核染色を行い光学顕微鏡にて観察した。

III 結 果

1. 脂肪組織の光顕像

脂肪細胞の細胞間、間質および血管周囲にリンパ球を主体とした著明な円形細胞の浸潤があり、一部に形質細胞が混在して脂肪組織の慢性炎症像が認められた。症例によっては細胞浸潤は血管周囲に集簇してみられた(図1)。また脂肪細胞の一部は壊死傾向を認め、一方血管侵入を伴う膠原線維を主体とした結合織の増生も認められた。この増生した結合織の部分のWeigert 弾性線維染色では黒褐色に染色された弾性線維が多数認められた。脂肪細胞の間質に増生した瘢痕性結合織中の血管にしばしば内腔の閉塞が認められた(図2)。Alcian blue 染色で、脂肪細胞間は淡青色に染色されムコ多糖の沈着を認めた(図3)。対照とした正常脂肪細胞組織では以上と同じ条件の弾性染色やAlcian blue 染色方法では染色されなかった。PTAH 染色で、脂肪組織中に炎症細胞が存在する部位、および増生した結合織の周囲に青色に染まる線維素が認められた(図3)。

2. 脂肪組織の電顕像

一部の脂肪細胞は、細胞質内に空胞を形成し、電子

密度の低下した脂肪内に顆粒状の残渣を含んでおり、空胞変性を示した(図4)。脂肪織中にみられた一部の血管では、血管壁の中膜はほぼ正常な形態の平滑筋で構成されていたが、しばしば内腔の閉塞を認めた。強拡大像では、相対する内皮細胞がお互いに密に接し、内腔はほとんど認められなかった。内皮細胞自体はほぼ正常の形態をしめしていたが、内皮下には基底膜様物質が層状に肥厚し、所々に顆粒状残渣を認めた。時に、内腔側に近い中膜平滑筋細胞の一部に凝固壊死を認めた(図5)。PTAH 染色で陽性に染色された部分の電顕像では、電子密度の高い微細線維束を形成する線維束が、炎症細胞浸潤を示す脂肪織や結合織の周囲に、細胞残渣とともに認められた(図6)。

3. 脂肪組織の免疫組織化学

a. IgG 染色所見

脂肪細胞の細胞膜にそって、また脂肪組織の間質の血管周囲にIgG 陽性の赤褐色の反応物の沈着を認めた(図7a, b)。増生した結合織組織内のリンパ球と思われる細胞には、IgG 染色陽性のものとIgG 染色陰性のものの両者が認められた(図7c)。このようなIgG 染色に陽性を示した症例は11例中3例、17検体中5検体であった。

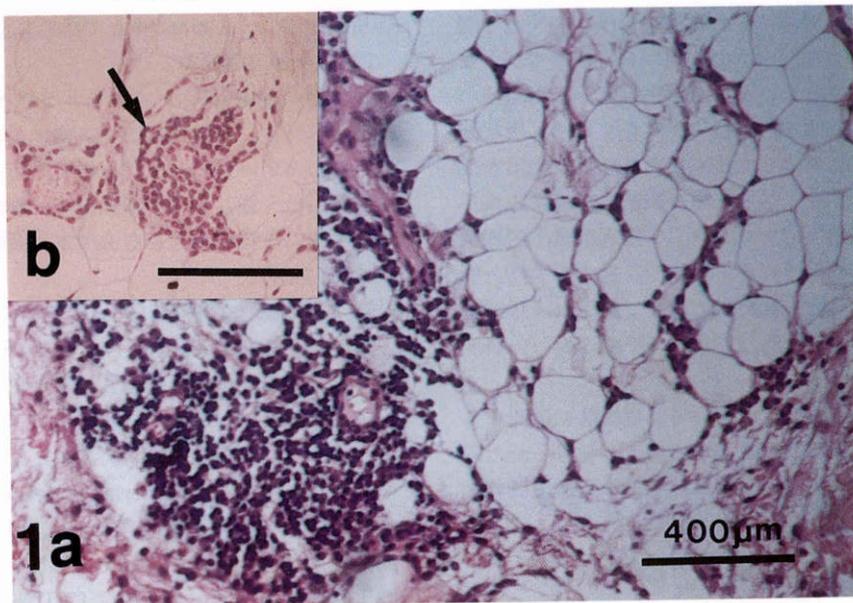


図1 眼窩脂肪織の光顕像

a: 間質の結合織や脂肪細胞間にリンパ球を主体とした円形細胞の著明な浸潤が認められる(H.E染色, $\times 50$)。b: 脂肪織の中に血管周辺に集簇して(矢印)円形細胞浸潤を認める(H.E染色, $\times 50$)。

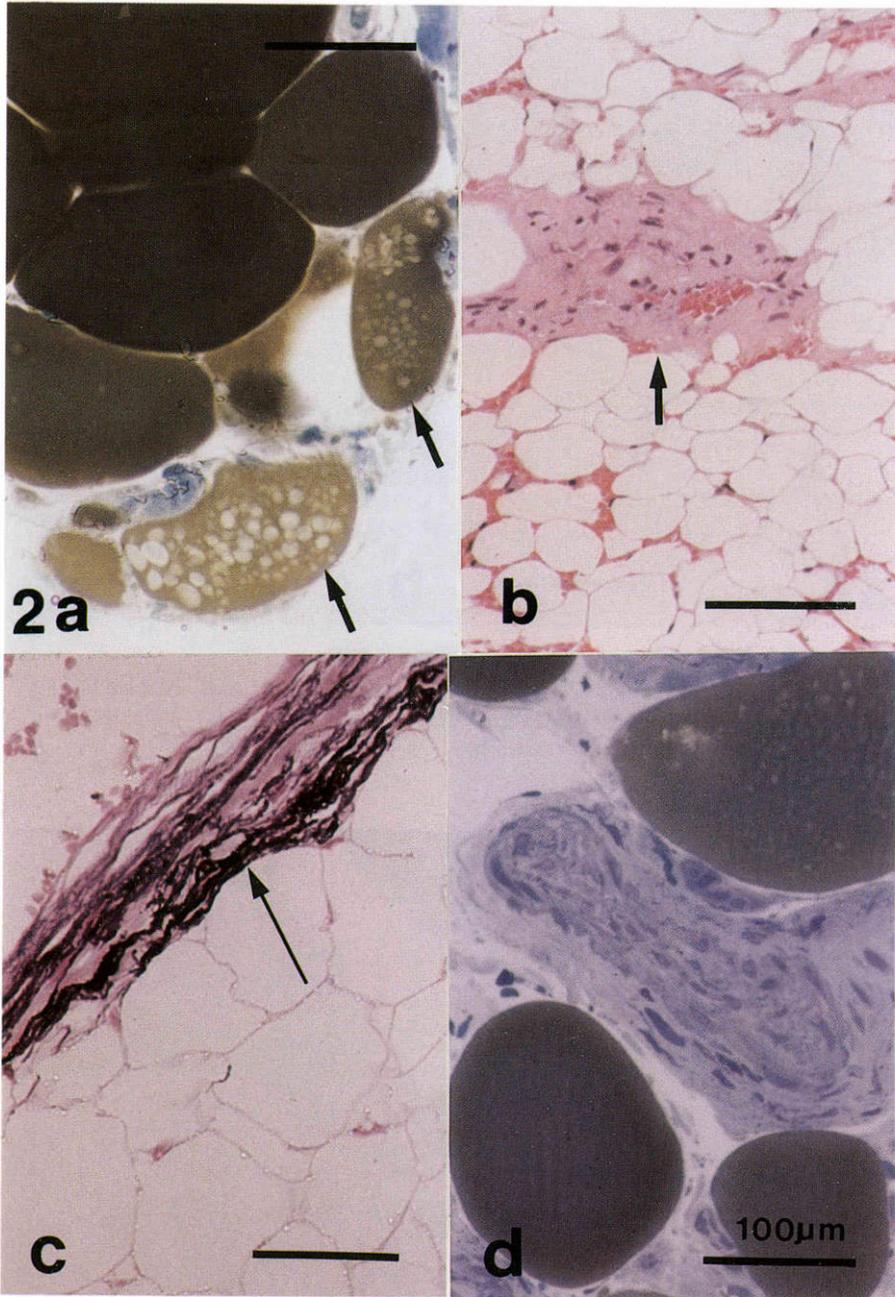


図2 眼窩内脂肪織の光顕像

a: 正常の脂肪織はオスミウム酸で黒褐色に染まっているが、その近傍にオスミウム酸で淡く染まり大小不均一な空胞をしめす細胞(矢印)が見られる。(エボン包埋切片のトルイジンブルー染色, ×200)。b: 脂肪織の中に結合織が増生し、血管を含んだ瘢痕組織(矢印)が認められる。c: 増生した結合織の中に黒褐色を呈する弾性繊維(矢印)が認められる(Weigert 染色, ×100)。d: 脂肪織中の血管。内腔が完全に閉塞している。(エボン包埋切片のトルイジンブルー染色, ×200)。

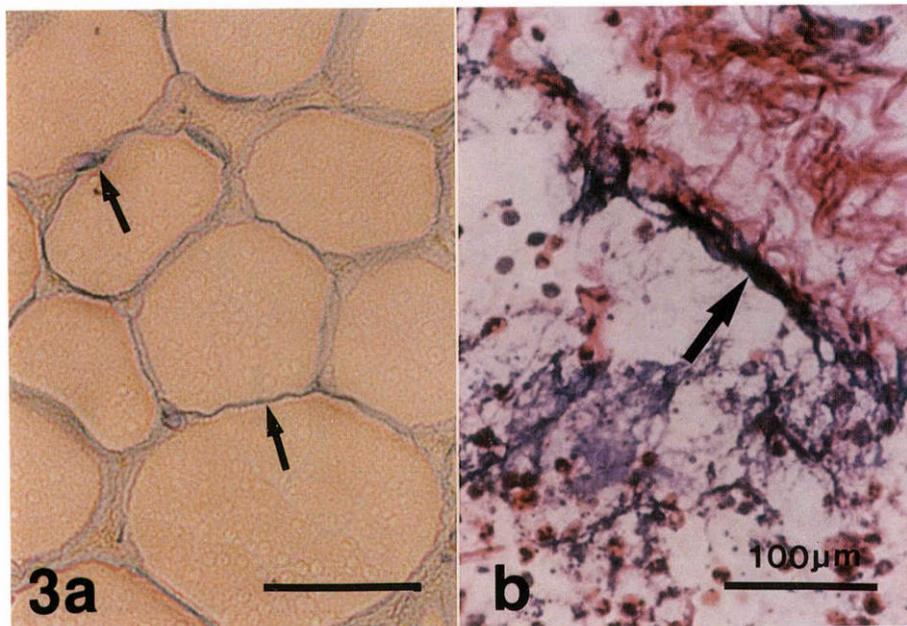


図3 眼窩脂肪織の光顕像

a: 脂肪細胞間に青色に染まるムコ多糖体の沈着(矢印)が認められる(Alucian blue染色, $\times 200$). b: 脂肪織の炎症細胞浸潤がある部位およびその近傍に, 青色の線維素(矢印)が認められる(燐タングステン酸ヘマトキシリン染色, $\times 200$).



図4 眼窩脂肪織の電顕像

脂肪細胞の細胞質に空胞変性(↑↑)を認める. 脂肪は電子密度がやや低く, その中に顆粒状の残渣(↑)が見られる($\times 6,000$).

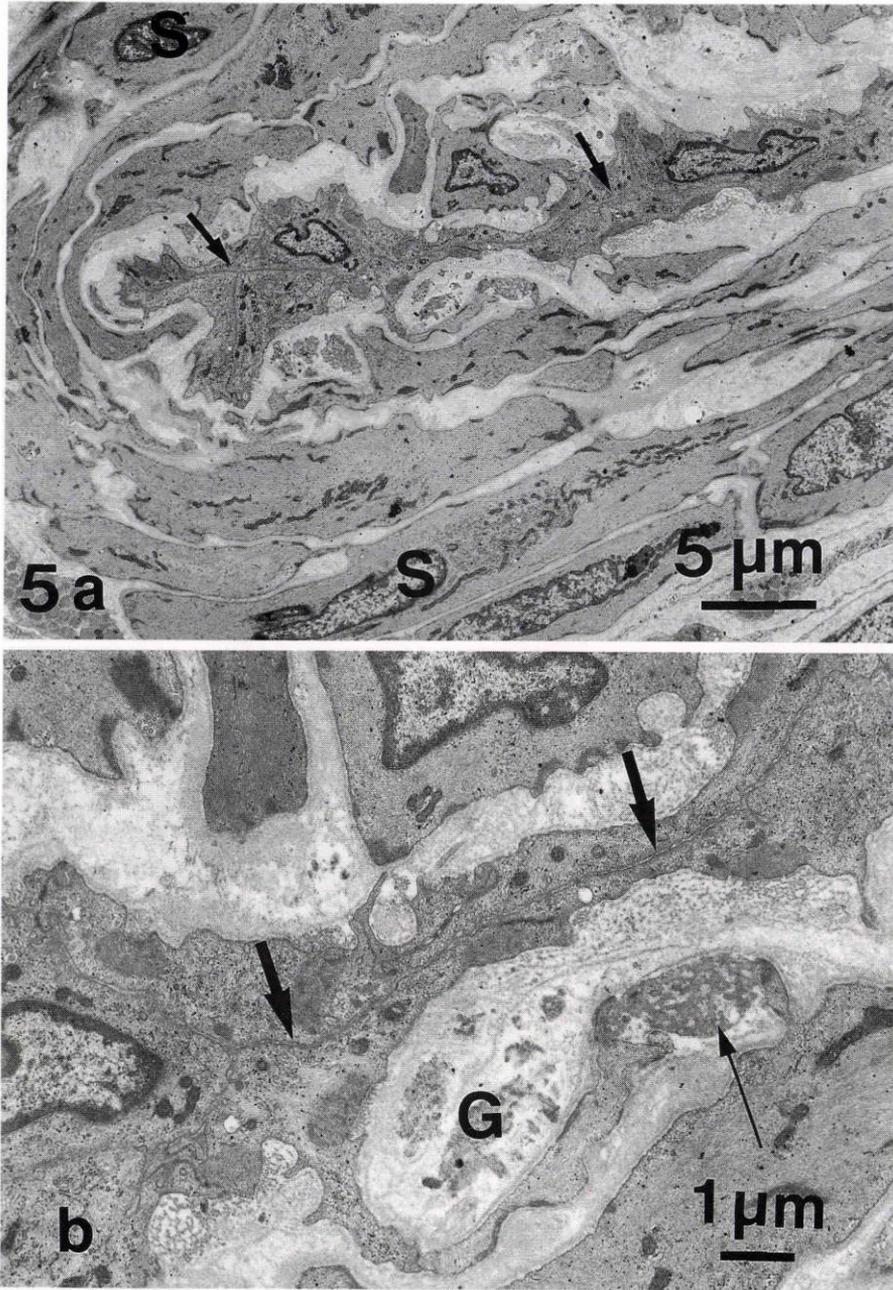


図5 眼窩脂肪組織の電顕像

a: 脂肪織中の内腔が閉塞した血管。ほぼ正常と思われる中膜平滑筋細胞(S)が輪状に配列しているが、内腔は完全に閉塞し、相対する内皮細胞が密に接している(矢印)。(×3,000)。b: aの強拡大像。相対する内皮細胞が密に接し、血管内腔はほとんど見られない(太い矢印)。内皮細胞下には基底膜様物質が層状に肥厚し、また顆粒状の残渣の集簇が認められた(G)。内腔に近い平滑筋の一部には、凝固壊死がみられた(細い矢印)(×9,800)。

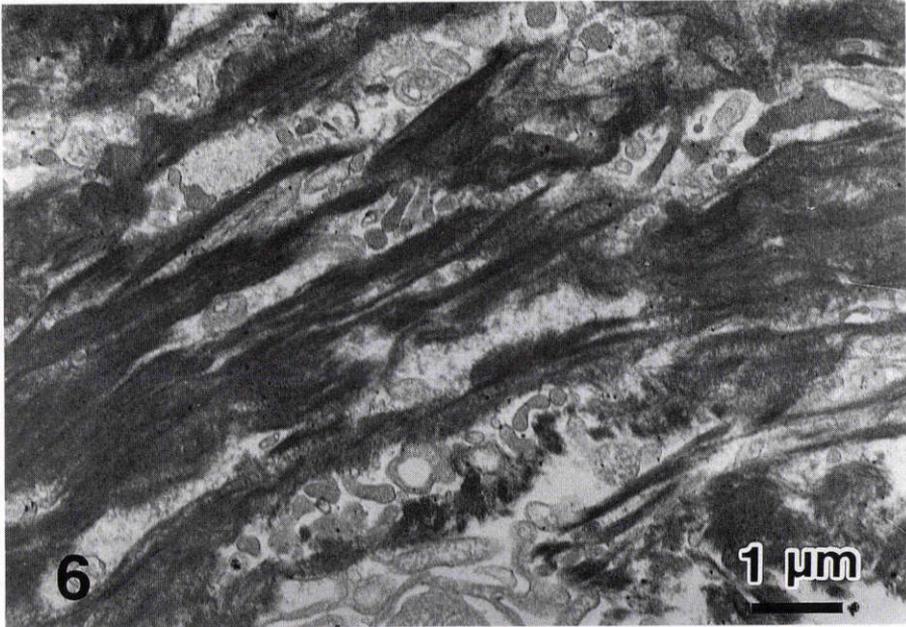


図6 脂肪組織間質の線維素析出

電子密度の高い、微細線維束を形成する線維素が細胞残渣とともに認められる(×12,000).

b. T cell 染色所見

脂肪組織の中に、一部赤褐色に染色された T cell 染色陽性のリンパ球が集簇して認められた(図7d)。しかし、浸潤したリンパ球細胞には T cell 染色で染色されない細胞もあった。このような T cell 染色で陽性を示した症例は18例中7例で、その7例から採取した17検体中13検体であった。

IV 考 按

甲状腺眼症に伴う眼窩内の病態を推測する手段として CT 検査が用いられ、球後組織の脂肪組織、結合織、筋組織などの腫大が認められる⁴⁾¹⁴⁾。

今回我々は眼球突出にみられる脂肪組織に注目し組織学的検索を行った結果、眼窩脂肪組織の炎症性細胞浸潤、膠原繊維の増生、瘢痕形成など多彩な変化が観察された。これらの所見から推測される本症の眼窩脂肪組織における病理変化の過程は、なんらかの原因で球後脂肪組織自体の炎症が遷延化して慢性の炎症のみでなく血管周囲炎を発症し、血管壁の透過性が亢進したことにより血管内の血漿蛋白物質が組織間質に漏出するものと思われる。これらの炎症反応は、脂肪組織の間質での結合織の増生、瘢痕形成を引き起こす一因と

考えられる。血管周囲炎はさらに脂肪組織内の末梢血管の閉塞をひきおこす可能性があり、閉塞により灌流領域の脂肪細胞の変性と繊維性瘢痕化に移行する過程を助長するものと考えられる。

甲状腺眼症においてみられる眼球突出の病態には諸検査により脂肪組織の増加によるものと、外眼筋肥大により生じたものの2つの型に大きく分けられるが¹³⁾、いずれにしても球後組織の増量による眼窩内圧の上昇がおもな発症機構である。眼球突出の成因は年齢分布によって2つの型があり、高年齢者には外眼筋の肥大による眼球突出が多いのに比べ、若年齢者では眼窩脂肪組織の容積の増加によることが多い¹⁵⁾。甲状腺眼症における眼瞼の所見では、眼瞼後退のみを示す型とこれに加えて眼瞼の腫脹を伴う型があるが、眼瞼腫脹を伴う型では増加した眼窩内脂肪組織が前方へ圧出され、上眼瞼の腫大をおこすと考えられる¹⁵⁾。この部分の脂肪組織中にもリンパ球、形質細胞の浸潤、間質中の結合織の増加など、今回眼窩脂肪組織にみられたのと同様な組織所見が認められる⁶⁾。

本症では臨床治療として免疫抑制剤、ステロイドホルモンおよび放射線照射などにより眼窩球後組織における炎症症状の改善が認められる事実から、甲状腺

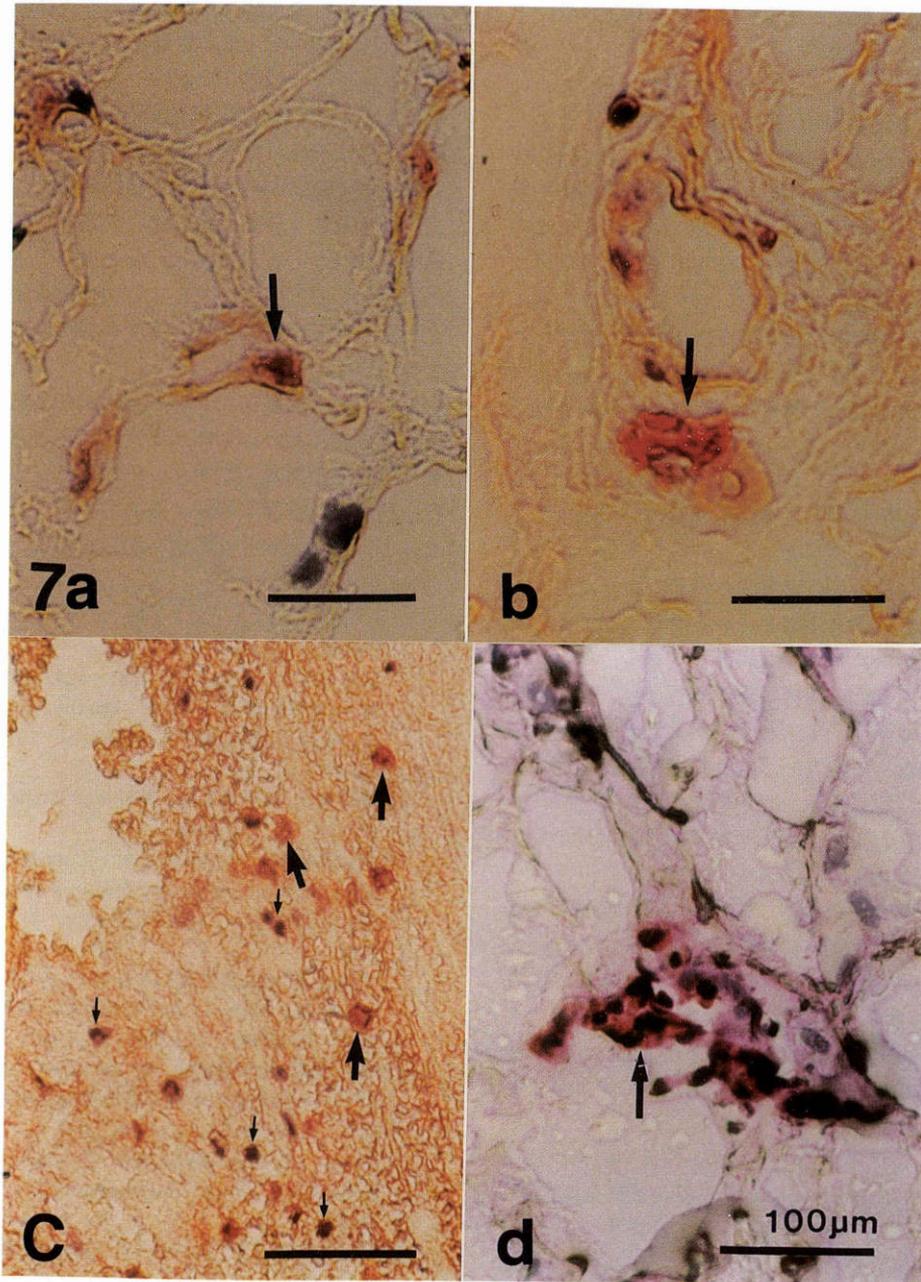


図 7 眼窩脂肪織の免疫組織化学染色

a: 脂肪細胞膜に沿って赤褐色の染まる IgG が検出される (×200). b: 間質の血管周囲の細胞にも IgG 反応陽性物質が認められる (×200). c: 増生した結合織の周囲にみられた炎症細胞には, IgG 陽性 (太い↑) のものと陰性 (↑) のものが認められる (×200). d: 眼窩脂肪織の免疫化学染色の光顕像. 脂肪織の中に浸潤したリンパ球の一部は, APAAP 法で赤色に染色される T-cell である (×200).

眼症になんらかの免疫上の機転が働き、発症していると考えられている³⁾¹²⁾¹⁶⁾¹⁷⁾。

脂肪組織に対するこのような免疫機構の病態についての報告は少ない。今回、我々は組織学的にどのような形で免疫機構が介在しているかを検討した。PAP法により、出現頻度が高くはなかったが脂肪細胞膜や間質の血管周囲、および浸潤したリンパ球に明瞭にIgGが検出され、また同時にリンパ球を主とした白血球や形質細胞なども間質に浸潤していた。これらの一連の所見は球後脂肪組織における免疫機構の関与をうかがわせ、眼球突出における脂肪組織内で起こっている炎症反応に免疫学的機転が関与している可能性があることをしめしている。ただし今回検出されたIgGが、球後組織に特異的に存在したものか、または単に非特異的に存在したものが観察されたものなのかは鑑別できなかった。

結合織の増生は、甲状腺眼症の活動期よりはむしろ炎症が遷延化し症状が固定している時期に起こると考えられ、組織学的には慢性脂肪織炎である。急性期の標本を採取して今回と同様の検索を行えば、免疫反応に関与しうる他の因子も含めて、病態がさらに鮮明になるかもしれない。しかし、急性期の甲状腺眼症を手術することは、臨床症状をさらに悪化させる危険性があり手術は控えたため、今回の検索には急性期の症例は含まれていない。

眼窩脂肪組織の容積の増加については、脂肪細胞の数の増加か、脂肪細胞自身の体積の増加であるのかはまだ定説がない。鹿兒島¹⁸⁾は、甲状腺眼症の患者の眼窩脂肪組織の水分含有量が正常組織と比べ有意に多かったことから、水分含有量の増加すなわち浮腫が本症の眼窩脂肪組織の容積の増加の一因をなしているとしている。

本症の手術時に得られた筋組織の組織学的変化については、間質にリンパ球を中心とした炎症性細胞浸潤、結合織の増加⁵⁾⁷⁾、ムコ多糖の存在が報告されている¹⁹⁾²⁰⁾。筋線維間質を中心に何らかの免疫反応が起こり、その結果活性化された免疫リンパ球が線維芽細胞を刺激し、筋線維の間質にヒアルロン酸を中心とした親水性のムコ多糖を産生させるという報告もある^{19)~21)}。ムコ多糖の増加により二次的に水分の貯留が起こり、筋層の間質成分が増大し、肉眼的に筋肥大として認められると推測されている。

今回の我々の観察では、脂肪細胞間質に Alcian blue 染色による青色の無構造物質の沈着が認められたが、

これらは筋組織に認められたものと同様のムコ多糖であろうと考えられる。親水性のムコ多糖が沈着することが原因となり組織へ二次的に水分の貯留がおこることになる。今回見られた甲状腺眼症における慢性期の眼窩内脂肪組織の病態である、リンパ球を主とした炎症細胞の浸潤、末梢血管の閉塞、間質での結合織の増生、およびムコ多糖の沈着は、筋組織に見られたのと同様な組織学的所見である。これらのことから、脂肪組織にも外眼筋と同様のなんらかの免疫反応機構が引金となり、それに引き続く慢性炎症が発症している可能性が示唆される。

今回の甲状腺眼症における脂肪織の組織学的検索により若年者においてしばしば見られる眼球突出の原因である眼窩脂肪織の増加は、免疫反応を基盤とした慢性脂肪織炎に続発する結合織の増生と、ムコ多糖の沈着による二次的水分の貯留が原因となる可能性が示唆された。

文 献

- 1) 伊藤国彦, 井上洋一, 伴 良雄: パセドウ病と悪性眼球突出症. 眼科 23: 1261—1269, 1981.
- 2) 井上洋一, 井上トヨ子: Dysthyroid ophthalmopathy の臨床的研究. 日眼会誌 75: 845—856, 1971.
- 3) 葛谷信明, 山下亀次郎: 悪性眼球突出症. 診断と治療 73: 31—34, 1985.
- 4) Trockel SC, Jakobiec FA: Correlation of CT scanning and pathologic features of ophthalmic Graves' disease. Ophthalmology 88: 553—564, 1981.
- 5) 真木寿之, 杉田幸二郎, 井上洋一, 他: Dysthyroid ophthalmopathy における外眼筋の病理組織学的検討. 臨床神経 22: 300—306, 1982.
- 6) 陳 栄家, 鹿兒島武志, 堀 貞夫, 他: 甲状腺眼症における眼窩脂肪組織の病理組織学的検討. あたらしい眼科 5: 1465—1468, 1988.
- 7) Kroll AJ, Kuwabara T: Dysthyroid ocular myopathy. Arch Ophthalmol 76: 244—257, 1966.
- 8) Weetman AP, Cohen S, Gatter KC, et al: Immunohistochemical analysis of the retrobulbar tissues in Graves' ophthalmopathy. Clin Exp Immunol 75: 222—227, 1989.
- 9) Wall JR: Autoimmunity and Graves' Ophthalmopathy. The Eye and Orbit in the Thyroid Disease. ed by Gorman C, 103—119 Raven Press, New York, 1984.
- 10) Sergott RC, Felberg NT, Savino PJ, et al: The clinical immunology of the Graves' ophthalmopathy.

- almopathy. *Ophthalmology* 88: 484—487, 1981.
- 11) **Kidd A, Okita N, Row VV, et al:** Immunologic aspects of Graves' and Hashimoto's diseases. *Metabolism* 29: 80—90, 1980.
 - 12) 浜田 昇: 甲状腺眼症の病因, 臓器特異的疾患か? *神経眼科* 6: 150—156, 1989.
 - 13) 井上洋一: 悪性眼球突出症. *現代医療* 18: 2137—2141, 1986.
 - 14) **Hallin ES, Feldon SE:** Graves' ophthalmopathy: 1. Simple CT estimates of extraocular muscle volume. *Br J Ophthalmol* 72: 674—677, 1988.
 - 15) 井上洋一: 甲状腺と眼—概論. *神経眼科* 6: 142—149, 1989.
 - 16) **Pinchera A, Bartalena L, Chiovato L, et al:** Radiotherapy of Graves' ophthalmopathy. *The Eye and Orbit in thyroid Disease*. ed Gorman CA, et al, Raven Press, New York, 301—316, 1984.
 - 17) **Hurbli T, Char DH, Harris J, et al:** Radiation therapy for thyroid eye diseases. *Am J Ophthalmol* 99: 633—637, 1985.
 - 18) 鹿児島武志, 堀 貞夫, 脊山洋右, 他: 甲状腺眼症における眼窩脂肪組織の分析. *あたらしい眼科* 3: 419—422, 1986.
 - 19) **Hufnagel TJ, Hickey WF, Cobbs WH, et al:** Immunohistochemical and ultrastructural studies on the exentrated orbital tissues of a patient with Graves' disease. *Ophthalmology* 91: 1411—1419, 1984.
 - 20) **Campbell RJ:** Pathology of Graves' ophthalmopathy. *The Eye and Orbit in Thyroid Disease*. ed Gorman CA, et al, Raven Press, New York, 25—31, 1984.
 - 21) **Tallstedt L, Norberg R:** Immunohistochemical staining of normal and Graves' extraocular muscle. *Invest Ophthalmol Visual Sci* 29: 175—184, 1988.
-