

(平成2年度 第94回総会)

特 別 講 演 (II)

白内障—臨床と病理—

藤 永 豊

鳥取大学医学部眼科学教室

共同研究者

松浦 啓之, 長田 正夫, 藤井 正満, 奥間 政昭

要 約

昭和45年から昭和63年までの18年間に白内障手術で得た156眼の老人性白内障の臨床所見と病理所見を比較検討した。加齢により、赤道部皮質の機能低下、核渦の構造的変化、水晶体外部変化を起こすことが判明した。後囊下白内障萎縮型の眼内レンズ挿入術の場合、後発白内障の発生やそれに対する処置が必要になる。老人性白内障の発生病理には多数の因子が関与するが、加齢により、赤道部の構造的障害が最も重要因子であると考えられた。Wistar系ラット180匹を同一環境下で長期間飼育し、白内障水晶体を病理組織学的に観察した。Wistar系ラットの加齢による白内障はヒト老人性白内障のモデルとして有用であると考えられた。抗白内障薬(ビタミンE, ARI, EPC, カタリン, 還元型カタリン)を長期間投与し、水晶体上皮細胞の細胞密度の変化を経時的に定量解析し、対照群との間に統計学的有意差を認めなかったことより、これらの薬剤は水晶体上皮細胞の増殖能以外の別の因子に作用しているものと思われた。培養水晶体上皮細胞をセレン添加の培養液で培養した結果、スーパーオキシドディスムターゼ(SOD)活性の低下がみられた。これは、セレンが水晶体上皮細胞の酸化促進作用のためと思われた。また、セレン添加の培養液にグルタチオン、ピレノキシンを加え、培養すると、SOD活性は正常範囲になった。白内障成因の1つに細胞の酸化が考えられ、これらの薬剤は抗白内障薬として効果があると考えられた。ウイスター京都ラット(WKY)の脳卒中難発症SHR(SHRSP)および脳卒中易発症SHR(SHRSP)の雄の水晶体混濁を観察し、 T_0 :混濁なし、 T_1 :核混濁、 T_2 :後囊下混濁、 T_3 :核と後囊下混濁、 T_4 :全混濁の5つのタイプに分類した。水晶体混濁の出現頻度は、生後3~9カ月齢ではWKY 2.6%, SHRSR 76.8%, SHRSP 88.2%で、高血圧群に高く、SHRSPでは T_1 、 T_4 の頻度が高かった。月齢では5カ月齢までは T_1 、6カ月以降は T_3 が増加し、加齢により核混濁に後囊下混濁を合併する可能性が考えられた。SHRの水晶体混濁の発生には、加齢、高血圧と遺伝素因の関与が推察された。(日眼会誌 94: 903-927, 1990)

キーワード: 老人性白内障, 後囊下白内障, 水晶体上皮細胞増殖能, スーパーオキシドディスムターゼ, 高血圧自然発症ラット

Cataract—Clinic and Pathology—

Yutaka Fujinaga

Department of Ophthalmology, Tottori University School of Medicine

別刷請求先: 590-01 大阪府堺市新松尾台2-2-4-223 藤永 豊

(平成2年8月7日受付, 平成2年8月7日受理)

Reprint requests to: Yutaka Fujinaga, M.D. 2-2-4-223, Shinhinodai, Sakai City, Osaka, 590-01, Japan

(Received August 7, 1990 and accepted August 7, 1990)

Abstract

Clinicopathological studies were performed on 156 lenses of human senile cataract obtained by cataract operations between 1970 and 1988. It became clear that the aging influences the functional destruction of the equatorial region, the pathological changes of the bow area, and changes of the extralens environment. After operation for the atrophic type of the posterior subcapsular cataract, aftercataract easily develops on the intraocular lens and this requires treatment. Long-term observations were carried out in 180 Wistar male rats under the same laboratory condition and histological studies were performed. The similarities between the senile Wistar rat cataract and the human senile cataract indicate that the Wistar rat cataract is useful as a model for studying the human senile cataract. These rats were initially classified into six groups (control, vitamin E diet, EPC eye drops, catalin eye drops and reduced catalin eye drops). To study the effects of the agents (vitamin E, ARI, EPC, catalin, reduced catalin) on the cataract in senile Wistar rats the mean cell density of lens epithelia were measured at 2 or 3-month intervals. There were no statistically significant differences in treated groups and the control group. The results suggest that these agents affect another factor of lens apart from the proliferative activity of lens epithelial cell. Effects of anti-cataract agents were investigated using cultured lens epithelial cells. When cultured rat lens epithelial cells were incubated in medium containing selenite, super-oxide dismutase (SOD) activity and GSH in the cells markedly decreased, and GSSG was markedly increased. When cultured rabbit lens epithelial cells were incubated in medium contained selenite and glutathione, SOD activity was maintained normal level. When cultured lens epithelial cells were incubated in medium contained selenite and pirenixin, SOD activity also maintained a normal level. These results suggest that both glutathione and pirenixin are effective as anti-cataract agents. Cataracts in spontaneously hypertensive rats (SHR) was investigated on male of Wistar-Kyoto rats (WKY), stroke resistant SHR (SHRSR) and stroke-prone SHR (SHRSP) rats aged 3 to 9 months. Cataracts in these rats were classified as follows: Type 0: no opacity, Type 1: nuclear opacity, Type 2: posterior subcapsular opacity, Type 3: nuclear opacity associated posterior subcapsular opacity and Type 4: complete opacity in both lenses. Incidence of cataract in WKY was 2.6%, SHRSR, 76.8% and SHRSP, 88.2%. Incidence of nuclear opacity was remarkably higher in SHRSP (48.5%). In SHR aged from 3 to 5 months, nuclear opacity was ahead of the appearance of posterior subcapsular opacity which was increased during aging. These results suggest that pathogenetic factors of cataract in SHR are aging and hypertension.

(Acta Soc Ophthalmol Jpn 94: 903-927, 1990)

Key words: Senile cataract, Posterior subcapsular cataract, Proliferative activity of lens epithelial cell, Super-oxide dismutase, Spontaneously hypertensive rats

I 初発白内障, 後囊下白内障 —臨床像と病理像

はじめに

現代の社会情勢の近代化, 多岐にわたる全身疾患の合併症の増加などから, 白内障が増える傾向にある。なかでも, 老人性白内障は, 人口の高齢化により, 増加しつつあり, 眼科診療で, 最も日常よく遭遇する疾患の一つでありながら, その成因は未だに不明とされ, また, 治療法も十分とはいえない。このような状況のなかで, 最も解決を早めなければならない眼疾患と考えられる。

まず, 著者が, 昭和45年から研究を続けてきた白内障の臨床像と病理像の成果の一部を報告する。

1. 症 例

昭和45年9月1日から昭和63年8月31日までの18年間, 鳥取大学眼科において施行した白内障手術眼数は2,298眼で, 囊内法(ICCE)を施行したもの1,503眼(65.4%), 囊外法(ECCE)を施行したもの549眼(23.9%), そのほか246眼(10.7%)であった。ICCEとECCEの各年代別白内障の手術眼数と頻度を対比してみると, 昭和40年代は, 手術眼444眼のうち, ICCE 332眼(74.8%)に対し, ECCEは9眼(2.0%), 昭和50年代は, 1,230眼のうち, ICCE 1,021眼(83.0%), ECCE

は76眼(6.2%)と両年代とも ECCE は少なかったが、昭和60年代は、624眼のうち、ICCE 150眼(24.0%)、ECCE 464眼(74.4%)と ECCE が急増し、逆転している(表1)。

これら白内障の臨床的観察には、一般的検査法のほか、カタラクトカメラによる徹照写真撮影法、フォトリットランプによる斜照写真撮影法、細隙灯写真撮影法を施行し、臨床所見を記録した。

手術を施行した老人性初発白内障を松浦¹⁾の臨床的分類法により、赤道部皮質混濁型、核混濁型、後囊下皮質混濁型(後囊下白内障)の3つに分類した。

白内障手術で摘出した水晶体を、つぎの方法により病理組織標本に作成した。水晶体は直ちに10%ホルマリン液に固定後、型のごとく光学顕微鏡標本を作成し、ヘマトキシリン、エオジン染色法を主に染色した。一部は透過型電子顕微鏡標本、走査型電子顕微鏡標本などに型のごとく作成した。

病理組織標本を作成した老人性初発白内障眼数は156眼で、内訳は松浦¹⁾の分類法によると赤道部皮質混濁型119眼、核混濁型12眼および後囊下白内障25眼であった。

2. 結 果

初発白内障の赤道部皮質混濁型と後囊下白内障の数例について述べる。

症例1:52歳、男性。

主訴:左眼の視力低下。

現病歴:約半年前より左眼の霧視に気づいた。最近、次第に増悪した。

視力、右=0.5 (n.c.)、左=0.2 (n.c.)。

所見。左眼赤道部に楔状、棍棒状、雲状などの白色混濁がみられ、特に7時から11時におよぶ白色楔状、棍棒状混濁が多数存在した(図1)。細隙灯写真(図2)では、赤道部に灰白色混濁が認められた。光顕では、赤道部皮質のH.E.染色で、皮質の中に楔状あるいは不規則に長く走るH.E.に均質に染まる変性部がみられた(図3)。また、電顕では、赤道部上皮細胞と皮質線維および皮質線維内に離開した部分がみられた(図4)が、前極部上皮細胞には特に異常はみられなかった(図5)。

症例2:98歳、男性。

主訴:両眼の視力障害。

現病歴:約1年前より両眼の視力が低下し、日常生活にも不自由を感じるようになった。

視力、右=n.d./30cm(n.c.)、左=0.02(0.04×+1.5

表1 各年代別白内障の手術眼数と頻度

昭和(年)	手術眼数	ICCE (%)	ECCE (%)	そのほか
45-49	444	332(74.8)	9(2.0)	103(23.2)
50-59	1230	1021(83.0)	76(6.2)	143(10.8)
60-63	624	150(24.0)	464(74.4)	10(1.6)
合計	2298	1503(65.4)	549(23.9)	246(10.7)

D)。

所見。左眼の赤道部の10時から2時にわたる線状あるいは楔状の混濁があり、中心部に黄褐色の混濁がみられた。光顕では、赤道部上皮細胞は一層に存在していたが、不正形で、後囊側への移動がみられ、核濁は消失していた(図6)。前極部上皮細胞直下の皮質線維は膨化し、迷入核が存在した。

症例3:52歳、女性。

主訴:両眼の視力低下。

現病歴:2、3年前より両眼の視力が低下し、飛蚊症を自覚した。

視力、右=0.15 (0.2×-4.0D)、左=0.15 (n.c.)。

所見。両眼の赤道部に車軸状混濁と前極部の白色塊状混濁を認め、徹照写真(図7)でも、赤道部車軸状混濁と前極部白色塊状混濁が強く認められた。光顕では、核濁の消失、上皮細胞の後方移動および皮質浅層の線維の融解と走行の乱れが認められ(図8)、前極部の上皮細胞は、ところどころ核の消失は認められたが、一層に保たれ、皮質浅層の融解と走行の乱れがみられた。

症例4:81歳、女性。

主訴:両眼の視力低下。

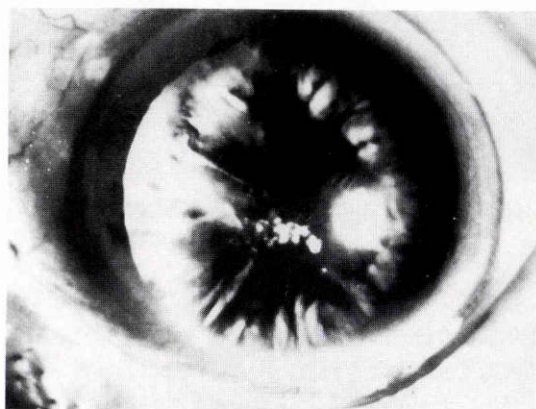


図1 症例1。斜照所見。赤道部の典型的混濁を示す。

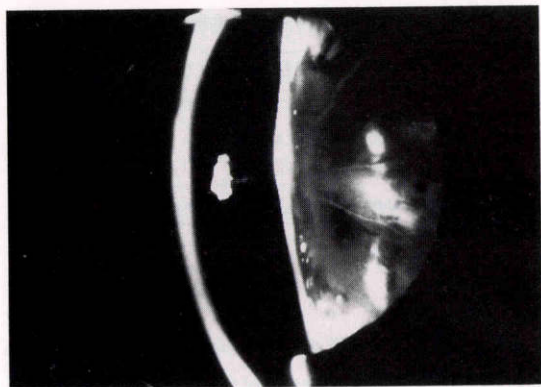


図2 症例1. 細隙灯所見. 赤道部の混濁を示す.

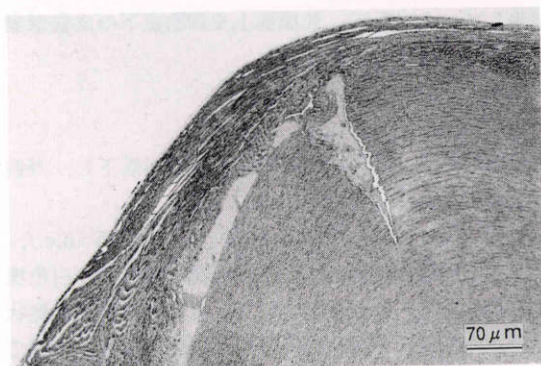


図3 症例1. 光顕所見(H.E.染色, ×100). 赤道部の変性像を示す.

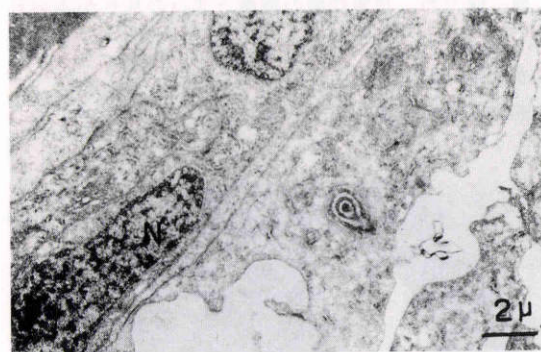


図4 症例1. 赤道部の電顕所見. 線維内の離開を示す.

現病歴: 4, 5年前より左眼の視力低下を自覚し, 1年前よりほとんど見えにくくなったが, 最近, 右眼の視力も低下してきた.

視力, 右=0.04 (n.c.), 左=n.d./20cm (n.c.).

所見. 右眼は, 赤道部の全周にほぼ同じ長さのび

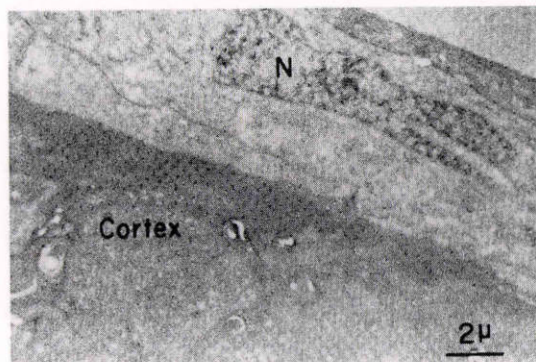


図5 症例1. 前極部上皮細胞の電顕所見. 異常を認めない.

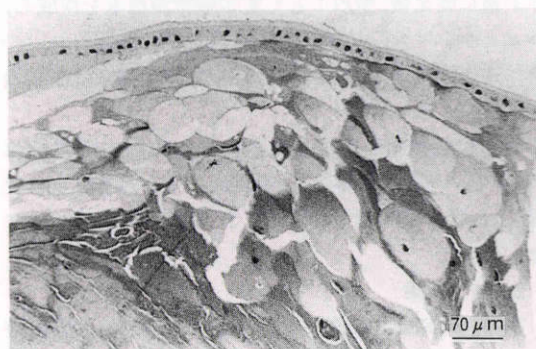


図6 症例2. 光顕所見(H.E.染色, ×100). 赤道部上皮細胞の後方移動を示す.

た冠状混濁が存在していた. 細隙灯では, 冠状混濁のほか後嚢下に褐色の混濁が一面に存在していた. 光顕では, 赤道部では皮質線維の走行に沿って層状に均質な物質が充満した間隙が存在し(図9), 後嚢下皮質では線維は, 後嚢と平行な融解像がみられ, その中に小顆粒が存在し, さらに皮質に図9と同様な間隙の拡大を認めた.

症例5: 60歳, 女性.

主訴: 両眼の視力低下.

現病歴: 2年前より左眼の視力低下に気づき, 1年前より右眼も視朦を感じるようになった.

視力, 右=0.1 (0.2×+1.0D), 左=0.2 (n.c.).

所見. 徹照写真で, 後嚢下にびまん性に広がる混濁が認められ, 赤道部皮質にも軽度混濁が認められた(図10). 光顕では, 後嚢下皮質線維の著明な膨化と一部に融解所見がみられ, 後嚢直下に扁平な迷入上皮細胞核が存在していた(図11). また, 後嚢側皮質は幅が広く,



図7 症例3. 徹照所見. 赤道部, 前極部に混濁を認める.

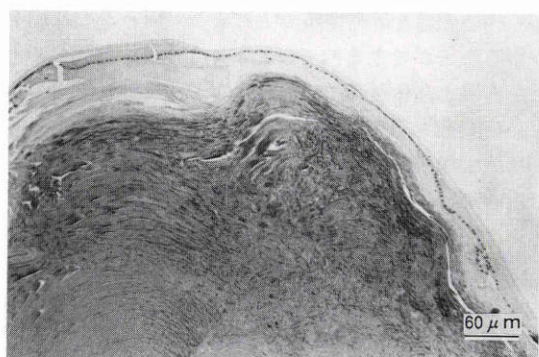
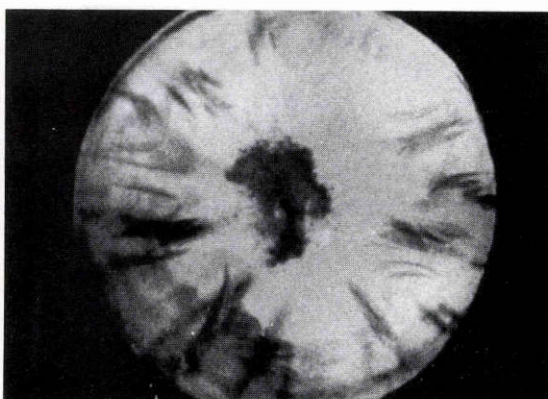


図8 症例3. 光顕所見(H.E.染色, $\times 130$). 赤道部上皮細胞の後方移動.

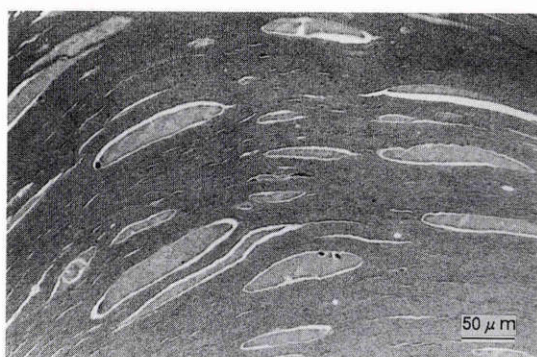


図9 症例4. 光顕所見(H.E.染色, $\times 150$). 赤道部皮質の層状間隙を示す.

完全に融解していた(図12). 電顕でも, 後囊直下の線維の著明な膨化所見がみられた(図13).

症例6: 65歳, 男性.

主訴: 両眼の視力低下.

現病歴: 約2年前より両眼の視力が低下してきた.

視力, 右=0.1 ($0.2 \times -4.0D$), 左=0.15 ($0.2 \times -3.0D$).

所見. 両眼の後極部を中心に後囊下に黄褐色の混濁が広い範囲に徹照写真で認められた(図14の上段). 細隙灯より, 後囊下, 特に後極部を中心に濃厚な黄褐色混濁を認めた(図14の下段). 光顕では, 後囊直下の皮質線維は層状を失い, 大小の空胞が多数形成され, ところどころに迷入核が存在した(図15). 透過型電顕では, 線維細胞膜の開大による空胞形成所見(図16), 走査型電顕でも, 後囊下皮質に大小, 多数の空胞が認められた(図17).

症例7: 66歳, 男性.

主訴: 両眼の視力低下.

現病歴: 1年前より両眼, 特に左眼の視力低下に気づいた. 次第に増悪するようになっていた.

視力, 右=0.1 ($0.2 \times -4.0D$), 左=0.06 (n.c.).

所見. 徹照写真により, 後囊直下全体におよぶ広範囲な濃厚な混濁が認められ(図18), 後極部付近の後囊直下の皮質線維は, 囊の厚さの数倍から10数倍に H.E. に濃染している所見がみられた(図19). 電顕でも, 後囊直下の皮質線維は density が高く, 線維の幅が狭まり濃縮している所見が認められた(図20).

3. 考 按

白内障, 特に老人性白内障の成因あるいは原因は, 数多くの研究がなされているにもかかわらず, 明らかにされていない.

著者は, 昭和45年以来, ICCE で摘出した白内障水晶

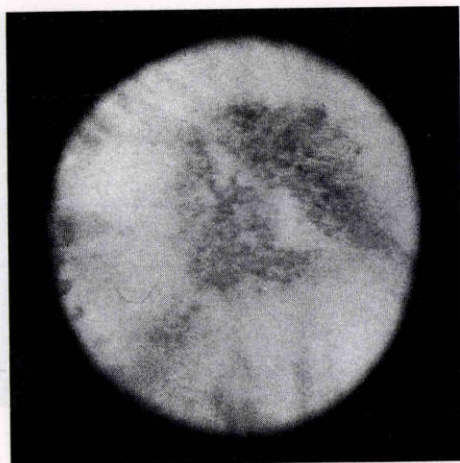


図10 症例5. 徹照所見. 後嚢下のびまん性混濁を示す.



図11 症例5 (H.E.染色, ×100). 光顕所見. 後嚢下皮質の膨化, 融解—膨化型を示す.

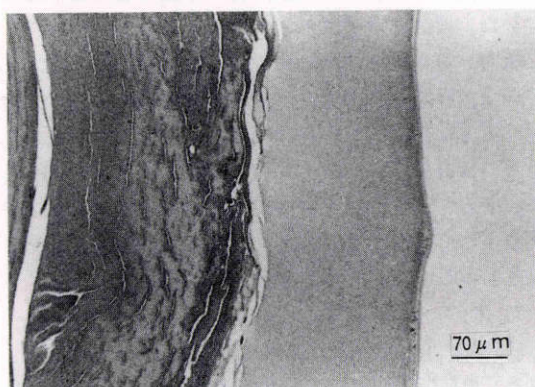


図12 症例5 (H.E.染色, ×100). 光顕所見. 後嚢皮質の融解を示す.

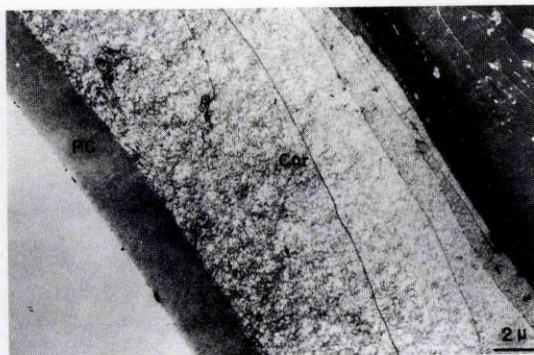


図13 症例5. 電顕所見. 後嚢直下の線維の膨化を示す.

体の病理組織を研究することにより, 何らかの原因を求めることができるのではないかと考え, ICCE で得た白内障晶体を光学顕微鏡, 電子顕微鏡などを使用し, 病理像を研究してきた.

鳥取大学眼科において, 昭和45年から昭和63年までの白内障の手術方法と眼数の変遷は, 表1に示したごとく, 昭和50年代までは ICCE の眼数が多数を占めていたが, 昭和60年から眼内レンズ挿入術を導入するようになり, ECCE の眼数が著明に増加した.

眼内レンズは, Ridley²⁾が1949年に初めて報告し, Shearing³⁾が後房レンズを開発した1977年以来, 広く普及するようになり, わが国においても早野⁴⁾, 竹内⁵⁾が, 眼内レンズの歴史を詳細に述べているごとく, 昭和50年の終わり頃から急速に普及した. 眼内レンズ挿入術を, 教室においても積極的に行うようになり, 白内障晶体の病理組織所見を観察する機会が少なくなったことと, 後嚢下白内障に対する後嚢研磨が重要になったことなどから, 白内障の臨床像と病理像に関する教室での研究成果をまとめ, 著者ら⁶⁾が報告した. 今回は, 老人性初発白内障と後嚢下白内障について報告した.

老人性白内障の分類法は種々あるが, 松浦⁷⁾は臨床上, 最もよくみられる赤道部皮質混濁型, 即ち, 赤道部皮質から混濁が始まり長い経過を経て未熟期, 成熟期へと進行するタイプ, 混濁が核部に強く起こる核混濁型, 後嚢下に強い混濁を生じてくる後嚢下混濁型(後嚢下白内障)の3つのタイプに分類した.

昭和45年から昭和63年まで18年間の鳥取大学眼科の, 白内障手術術式および手術眼数については, 前述のごとくである. 術前の臨床所見は眼科の一般検査法

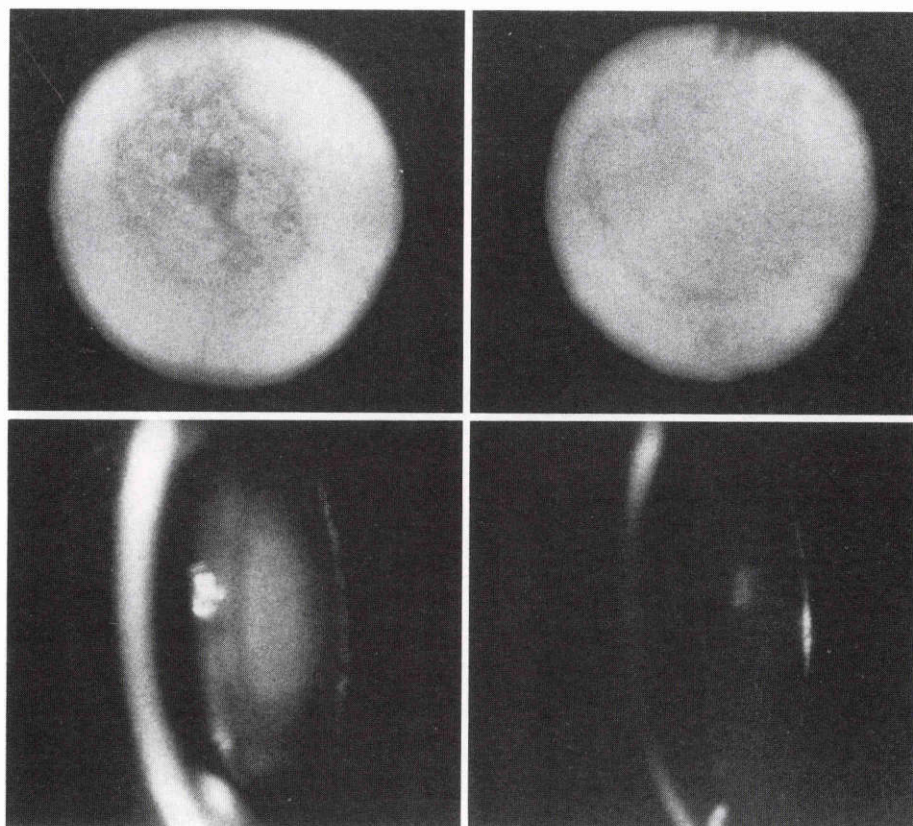


図14 症例6. 徹照写真(上段). 後囊下の広範囲な混濁を示す. 細隙灯所見(下段). 後囊下, 特に後極部に濃厚な混濁を認める.



図15 症例6. 光顕所見(H.E.染色, $\times 120$). 後囊直下の皮質の多数の空胞—空胞型を示す.

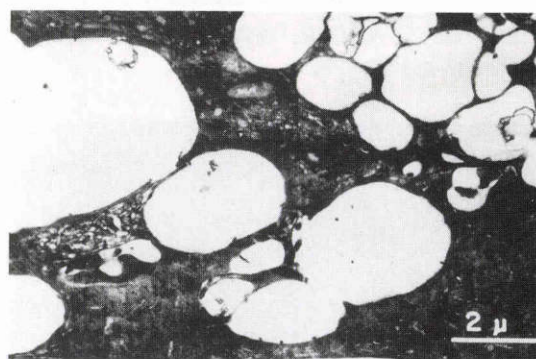


図16 症例6. 透過電顕所見. 線維細胞膜の開大による空胞を示す.

のほかに, カタラクトカメラによる徹照写真, フォトスリットランプによる斜照写真, 細隙灯写真などで記録した. 摘出標本は光学顕微鏡標本, 透過型電子顕微

鏡標本, 走査型電子顕微鏡標本を作成し, 観察した. 老人性白内障の組織標本は, 赤道部皮質混濁型が最も多く119眼, 後囊下白内障が25眼, 核混濁型が12眼であった.

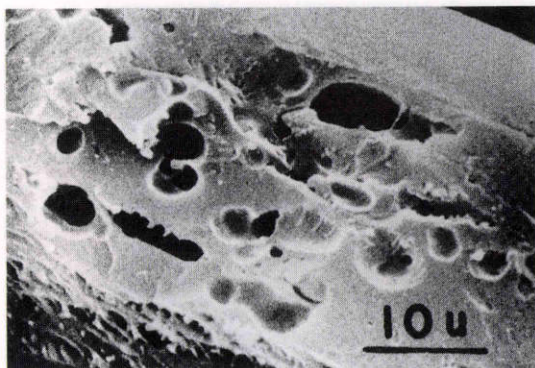


図17 症例6. 走査電顕所見. 後嚢下皮質の空胞を示す.

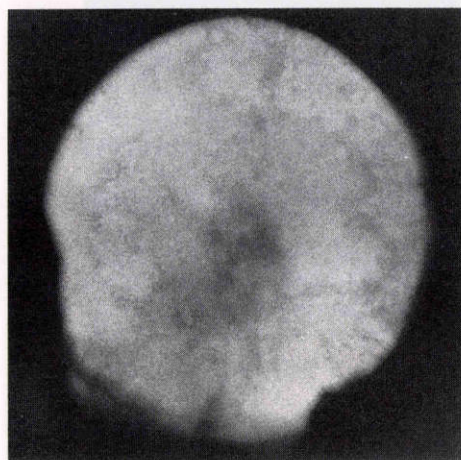


図18 症例7. 徹照所見. 後嚢直下全体に及ぶ広範囲な濃厚な混濁を示す.

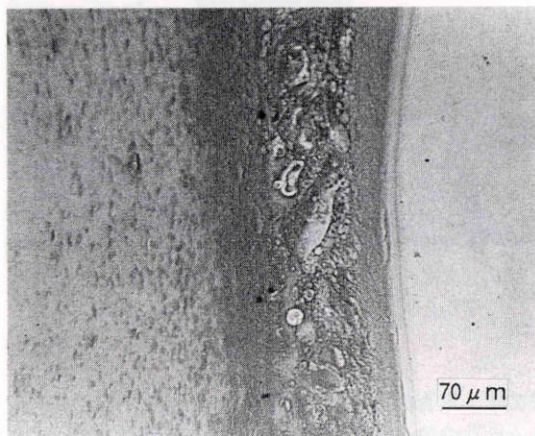


図19 症例7 (H.E.染色, ×130). 光顕所見. 後嚢直下の皮質が濃縮—萎縮型を示す.

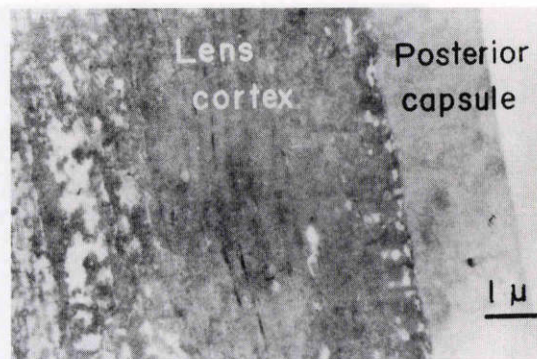


図20 症例7. 透過電顕像. 後嚢直下の皮質線維は density が高く, 線維幅が狭く濃縮している.

観察結果は前述のとおりである。症例1～4は初発白内障の赤道部皮質混濁型である。赤道部皮質混濁型は、赤道部に典型的な楔状、棍棒状、雲状あるいは冠状混濁がみられ、光顕で、赤道部皮質に変性部がみられ(症例1)、赤道部上皮細胞の後嚢側への移行、移動(症例2, 3)、核渦の消失、線維の膨化、融解、走行の乱れ(症例2, 3)、また、赤道部皮質に均質な物質が充満した間隙形成(症例4)などの所見がみられた。電顕では、上皮細胞と皮質線維および線維内離開(症例1)などの所見があった。これらに対し、前極部は異常がない(症例1)か、視力低下が著しかった症例2で、前極部皮質線維の膨化、症例3の視力障害の原因となった前極部の白色塊状混濁は、組織的に前極部の皮質浅層の融解と走行の乱れによると考えられ、また、症例4の後皮質間隙などの所見がみられたが、赤道部皮質の病理像に比較すれば軽度であった。

初発白内障混濁の発生部位について、増田ら⁷⁾は、大部分が赤道部に、時に後被膜下に、さらに稀に核に混濁が始まるとし、混濁の形については、赤道部の楔状の混濁が比較的多いと述べている。

松浦⁸⁻¹⁰⁾は、初発白内障の赤道部の電顕所見として、細胞間の間隙の拡大、線維の膨化、球状顆粒の出現があるのに反し、前極部上皮細胞付近でみられる変化は一般に軽度であるとしている。赤道部上皮細胞は、20歳前後までは水晶体線維は赤道部核渦で、核を失い、細胞形質は淡明化し、細胞内小器官も失われ、線維を形成してゆくとし、老化によってこの部の機能が低下してゆくとしている。小原ら¹¹⁾は、老人性白内障の水晶体囊の一部に上皮細胞由来と考えられる異常構造物を指摘し、老人性白内障の成因の1つに上皮細胞の異常

が関与することを述べている。

老人性白内障の後囊下白内障は、症例5～7に示したごとく、臨床的に視力障害を生じていると考えられる混濁は、主に後囊下に存在し、症例5、6では、びまん性に広がる後囊下混濁を認め、症例7では、後囊下全体におよぶ濃い混濁が存在し、組織的に後囊下皮質の膨化、融解（症例5）、著明な空胞形成（症例6）、また、H.E.に濃染し、電顕像では、densityが高く、線維幅が狭く、濃縮した所見（症例7）などの特徴がみられた。これら症例5～7は、臨床所見および病理所見から典型的な後囊下白内障のタイプで、著者ら⁶⁾は、眼内レンズ挿入術の後囊研磨の際、術前に後囊下組織の状態を予知できれば、有益ではないかと考えられるとし、前述の臨床所見および病理所見から、症例5は後囊下白内障の膨化型、症例6は空胞型、症例7は萎縮型の3つに分類した。即ち、後囊研磨の方法は膨化型、空胞型は容易で、十分な後囊研磨を必要としないか、また研磨を行わなくてもよい症例がある。しかし、萎縮型は、組織的に後皮質線維が萎縮し、硬化しており、十分な研磨でも残留皮質を十分に除去することが不可能か、破囊する症例もあり、後発白内障を発生し、後発白内障手術、YAGレーザー照射などの処置が必要となると考えられる。

以上、数例の臨床例を挙げ、それぞれの白内障手術で得た水晶体の組織標本を作成し、観察結果を述べた。

その結果、老人性初発白内障は、老化、加齢により、赤道部皮質の機能低下が起こり、水晶体上皮細胞、皮質の構造の病的変化を発生するものと思惟された。このことは、後囊下白内障についても同様なことが考えられた。これに加え、水晶体外部環境の変化も関与していることが考えられた。

老人性白内障の成因は、単一なものではなく、複数の因子が複雑に関与していると思われるが、赤道部皮質の老化、加齢による機能低下による構造的異常の発生が重要な因子の1つと思われる。

また、眼内レンズ挿入術の普及により、後囊下白内障の後囊下混濁の状態と後囊研磨方法との関係が重要となり、萎縮型に対し十分な臨床的観察が必要であるとともに、後囊研磨には十分な注意をもって行うか、後発白内障が発生した場合には、後発白内障手術か、YAGレーザー照射術などの処置が必要になる。

II ラットの加齢による白内障および種々の薬剤の抗白内障効果に関する形態学的検討

はじめに

ヒトの老人性白内障の形態学的研究は、これまで数多く報告され、白内障水晶体の形態学的特徴はかなり解明されてきた。しかし、老人性白内障の形態学的成因は、現在もなお不明である。この問題を解明していくには、若年の正常水晶体から加齢によって白内障に至る過程を経時的に検討していくことが必要となるが、ヒトでは対照となる正常水晶体の入手が難しいために検討が困難である。そこで動物モデルを用いることになるが、これまで用いられてきた白内障動物は遺伝性のあるいは化学物質によって惹起されるものがほとんどであり、ヒト老人性白内障の適当なモデルとはいえない。Gorthy¹²⁾¹³⁾はWistar系ラットの水晶体を長期間観察することにより、加齢によって白内障が出現することを報告している。今回、Wistar系ラットを長期間飼育し、加齢によって起こるラットの白内障がヒト老人性白内障のモデルとして適当かどうかを検討してみた。また、同時に種々の薬剤を長期間投与し、抗白内障効果について形態学的に検討した。

1. 実験方法

Wistar系雄ラット180匹を対照群、ビタミンE内服投与群および4種の点眼群の6群に分け、同一環境下で7カ月齢から24カ月齢まで飼育した。

1) 飼育および薬剤投与方法

① 対照群は薬剤を投与せず、オリエンタル固形飼料MF（ビタミンE含量：9.1mg/100g）で飼育した。

② ビタミンE内服投与群は100g当たり、dl- α -トコフェリルニコチネートを58.5mg含有した飼料で飼育した。

③ 4種の点眼群（0.2%ARI：アルドース還元酵素阻害剤、0.1%EPC：トコフェロールとアスコルビン酸のリン酸化合物、0.005%カタリン、0.005%還元型カタリン）は各々の点眼薬を1回5 μ l、1日4回連日点眼した。

2) 観察方法

2～3カ月毎に各群のラットを数匹ずつ屠殺し、以下の方法で観察した。

① 屠殺する前に、0.5%トロピカマイド、0.5%塩酸フェニレフリン（ミドリンP[®]）で散瞳して、水晶体の混濁の有無を細隙灯顕微鏡で観察し、同時に写真撮影

を行った。

② 摘出した水晶体を2%グルタルアルデヒド・2%ホルムアルデヒド混合液(2%GA+2%FA)で固定したのち、アルコール系列で脱水し、パラフィンで包埋した。包埋した試料より切片を作成し、H.E.染色を施して光学顕微鏡(オリンパスAH-2)で観察した。

また、走査型電子顕微鏡用の試料として2%GA+2%FA液で固定した水晶体を8分割し、実体顕微鏡下で核部および深層皮質部を除去して1%オスミウム酸-0.1Mリン酸緩衝液で再固定した。さらに、2%タンニン酸による導電染色、1%オスミウム酸-0.1Mリン酸緩衝液による再々固定を行ったのち、アルコール系列で脱水、酢酸イソアミルによる透徹、CO₂臨界点乾燥、イオンコーターによる金蒸着を順次行い、S-430型電子顕微鏡(日立)で観察した。

透過型電子顕微鏡用の試料は、2%GA+2%FA液で固定した水晶体を実体顕微鏡下で細切し、1%オスミウム酸-0.1Mリン酸緩衝液で再固定した。さらに、アルコール系列で脱水し、エポキシ樹脂で包埋したのち、超薄切片を作成し、酢酸ウランとクエン酸鉛で二重染色を行って、H-300型電子顕微鏡(日立)で観察した。

③ 摘出した水晶体をカルノワ液で固定したのち、水晶体を蒸留水に浮遊させながら実体顕微鏡下で囊および上皮を皮質から剝離して、スライドガラスの上に伸展させた。乾燥させたのち、ヘマトキシリン液で染色し、上皮伸展標本を作製した。観察は光学顕微鏡(オリンパスAH-2)で行い、同時に写真撮影した。さらに、得られた写真を複写機にかけ、細胞境界をトレースしたのち、角膜内皮計測システム(サンコンタクトレンズCA-100)を応用して、水晶体上皮の平均細胞密度の経時変化を定量解析した。測定値の統計学的有意差の判定には、Studentのt検定を用いた。

2. 結 果

1) 細隙灯顕微鏡所見

19カ月齢頃より軽度の白内障がみられはじめ、月齢が進むにつれて白内障の発生頻度は増加し、混濁の程度も強くなっていた。混濁は、前縫合線に沿った前皮質混濁、核混濁、後囊下皮質混濁および混合型の4つのタイプが観察された(図21)。前皮質混濁は最も初期に観察され、頻度も多かった。後囊下皮質混濁は前皮質混濁に少し遅れて出現し、後縫合線に沿った混濁、後囊下の皿状混濁あるいは後極部から赤道部に連なる

混濁として観察された。核混濁は核部に浅い球状の混濁として観察されたが頻度は少なかった。混合型は前皮質混濁と後囊下皮質混濁または核混濁と前、後皮質混濁の混合で、初期には頻度は少なかったが、月齢が進むにつれて多くなった。

対照群と薬剤投与群の間で、白内障発生頻度に大きな差はみられなかった。

2) 光学顕微鏡および電子顕微鏡所見

① 光学顕微鏡所見

前極部: 7カ月齢では上皮、皮質線維ともに異常所見はみられなかった。16カ月齢では皮質浅層に一部変性した線維が観察された。24カ月齢では上皮細胞核がところどころ消失している所見が観察され、その直下の皮質線維は著しく膨化していた(図22)。

赤道部: 7カ月齢では核渦は規則正しくS字状に配列し、皮質線維にも特に異常所見はみられなかった。16カ月齢では核渦が多少乱れ、皮質線維はわずかに膨化していた。24カ月齢では核渦が著しく乱れ、皮質線維も一部融解し、線維の配列も乱れていた(図23)。

後極部: 7カ月齢では異常所見はみられなかった。16カ月齢では後囊直下に小空胞が多数みられ、線維もわずかに膨化していた。24カ月齢では後囊直下の小空胞に加え、線維の膨化変性が著明であった(図24)。

② 走査型電子顕微鏡所見

前皮質線維浅層部を比較観察した。7カ月齢では線維が規則正しく並列し、稜突起がよく発達していた(図25, 26)。月齢が進むにつれて線維の配列不整がみられる水晶体が増加し、中等度の白内障がみられた24カ月齢の水晶体では、線維が膨化変性し、突起構造も崩壊した像が観察された(図27)。また、崩壊した線維の間に異常な球状構造物も観察された(図28)。

③ 透過型電子顕微鏡所見

前極部: 7カ月齢では上皮細胞および皮質線維に異常所見はみられなかった(図29)。中等度の白内障がみられた24カ月齢の水晶体では皮質線維の崩壊、空隙、層状あるいは球状構造物などの多彩な異常所見が観察された(図30)。

後極部: 7カ月齢では異常所見はみられなかった(図31)。24カ月齢では大小さまざまな空胞、線維の配列不整あるいは膨化所見が観察された(図32)。

光学顕微鏡および電子顕微鏡による以上のような組織所見は、薬剤投与の有無にかかわらず観察され、各群間で特に大きな差はなかった。

3) 上皮伸展標本所見

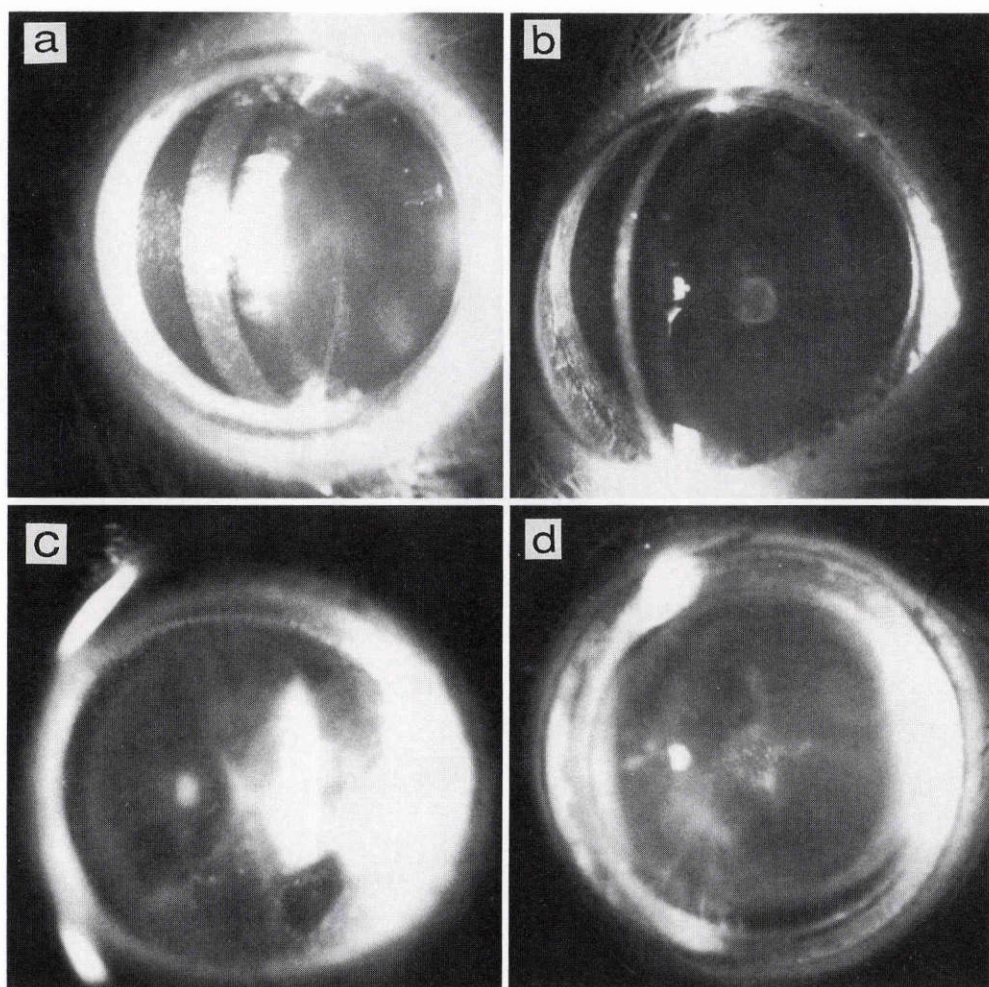


図21 細隙灯顕微鏡写真。a：前皮質混濁，b：核混濁，c：後嚢下皮質混濁，d：混合型。

7カ月齢の上皮中央部では上皮細胞核が規則正しく一様に分布し、赤道部では上皮細胞核の終末部が直線状に規則正しく配列していた。比較的高度の白内障がみられた24カ月齢の上皮中央部では濃縮変性した細胞核が散見され、赤道部では7カ月齢でみられた細胞核の直線状配列が崩壊していた(図33)。

対照群および薬剤投与群における水晶体上皮細胞の平均細胞密度の経時変化は表2のとおりであった。対照群では中央部と増殖帯の両部位で、月齢とともに平均細胞密度は減少し、t検定の結果、中央部では7カ月齢に対し16カ月齢以降で有意差($p < 0.01$)を認めた。増殖帯では7カ月齢に対し19カ月齢以降で有意差(7M~19, 22M : $p < 0.05$, 7M~24M : $p < 0.01$)を認めた。

薬剤投与群でも月齢とともに平均細胞密度が減少し、ビタミンE内服投与群の中央部では16カ月齢以降で有意差(7M~16, 19M : $p < 0.05$, 7M~22, 24M : $p < 0.01$)を認め、増殖帯でも16カ月齢以降で有意差($p < 0.01$)を認めた。ARI点眼群の中央部では13カ月齢以降で有意差(7M~13, 16M : $p < 0.05$, 7M~19, 22, 24M : $p < 0.01$)を認め、増殖帯でも13カ月齢以降で有意差($p < 0.01$)を認めた。EPC点眼群の中央部では16カ月齢以降で有意差(7M~16M : $p < 0.05$, 7M~19, 22, 24M : $p < 0.01$)を認め、増殖帯では13カ月齢以降で有意差(7M~13, 16M : $p < 0.05$, 7M~19, 22, 24M : $p < 0.01$)を認めた。カタリン点眼群では中央部と増殖帯の両部位において16カ月齢以降で有意差(7M

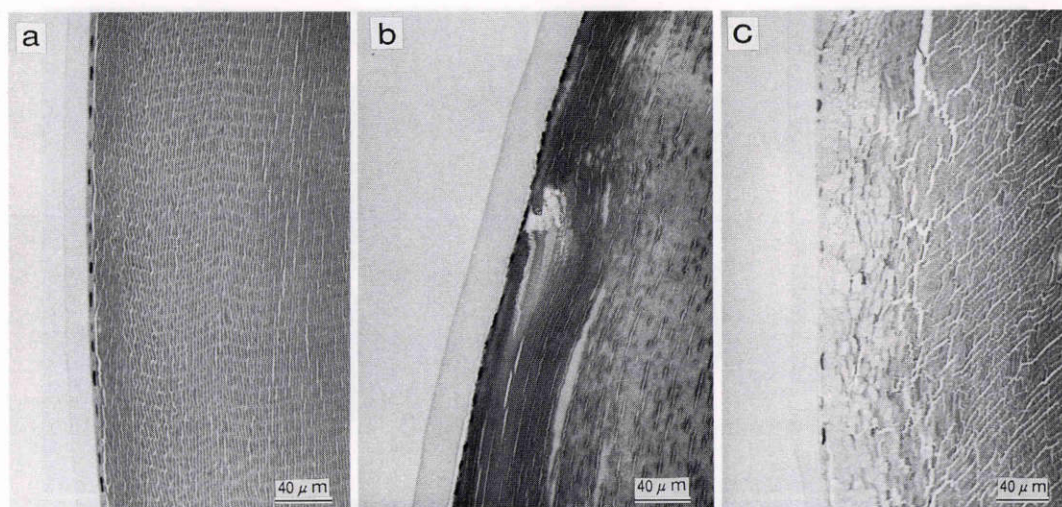


図22 前極部の光顕写真 (H.E.染色, $\times 180$). a: 7カ月齢では上皮, 皮質線維ともに異常所見はみられない. b: 16カ月齢では皮質浅層に一部変性した線維がみられる. c: 24カ月齢では上皮細胞核がところどころ消失し, その直下の皮質線維は著しく膨化している.

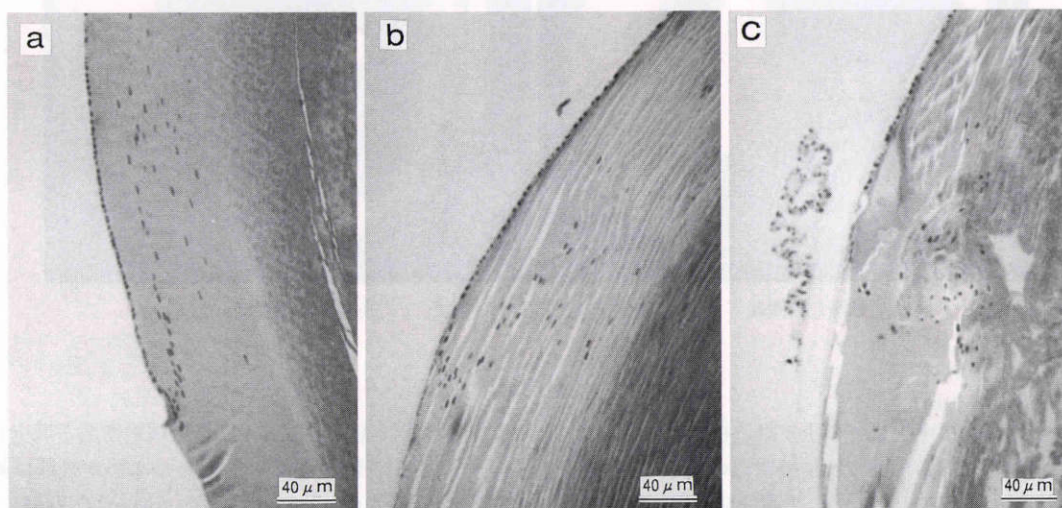


図23 赤道部の光顕写真 (H.E.染色, $\times 180$). a: 7カ月齢では核渦は規則正しく S 字状に配列し, 皮質線維にも異常所見はみられない. b: 16カ月齢では核渦が多少乱れ, 皮質線維はわずかに膨化している. c: 24カ月齢では核渦が著しく乱れ, 皮質線維は一部融解し, 配列も乱れている.

～16M: $p < 0.05$, 7M～19, 22, 24M: $p < 0.01$) を認めた. 還元型カタリン点眼群の中央部では16カ月齢以降で有意差 (7M～16M: $p < 0.05$, 7M～19, 22, 24M: $p < 0.01$) を認め, 増殖帯では19カ月齢以降で有意差 ($p < 0.05$) を認めた. 各月齢間における対照群と薬剤

投与群との比較は図34～38で示した. その中で, ARI点眼群の16カ月齢および19カ月齢の増殖帯で対照群に比べ有意 ($p < 0.05$) に減少していた. その他の薬剤投与群では対照群に比べ統計学的有意差はなかった.

各群における24カ月齢の平均細胞密度の減少率は表

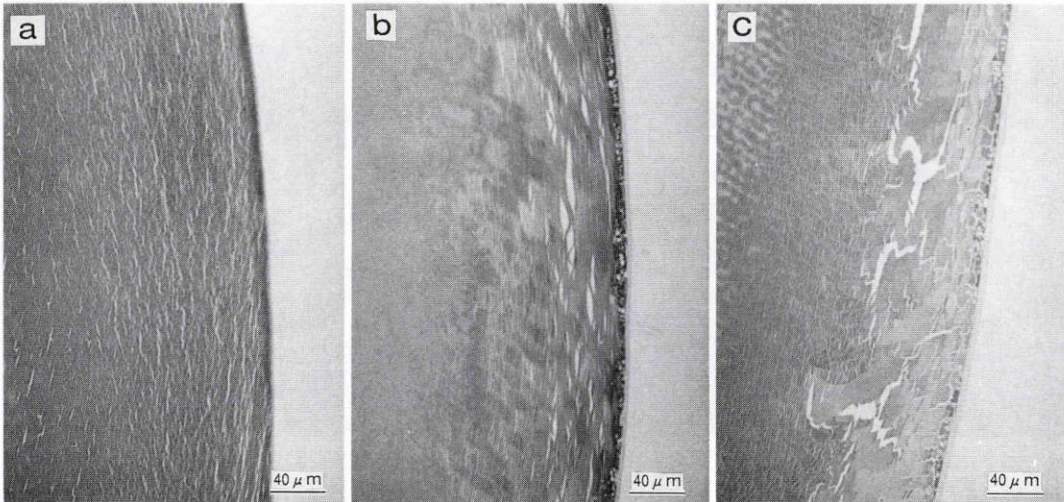


図24 後極部の光顕写真(H.E.染色, $\times 180$). a: 7カ月齢では異常所見はみられない。
b: 16カ月齢では後囊直下に小空胞が多数みられ、線維もわずかに膨化している。
c: 24カ月齢では後囊直下の小空胞に加え、線維の膨化変性所見がみられる。

表 2 対照群および薬剤投与群における水晶体上皮平均細胞密度の経時変化

[単位: cells/mm²]

群	月 齢	7 M	10M	13M	16M	19M	22M	24M
対 照 群	C	3598.3 (± 315.1)	3444.9 (± 208.3)	3451.6 (± 132.8)	3144.3 (± 135.7)	2923.0 (± 104.1)	2693.0 (± 197.5)	2581.6 (± 253.6)
	G	12635.9 (± 1266.3)	12676.9 (± 488.0)	11976.9 (± 761.2)	11698.0 (± 912.5)	11129.1 (± 746.2)	10672.0 (± 453.5)	10473.9 (± 499.6)
Vit.E 内服群	C	—	3326.2 (± 211.9)	3413.6 (± 94.0)	3205.6 (± 92.4)	3030.4 (± 76.4)	2839.2 (± 117.6)	2656.1 (± 237.7)
	G	—	12818.7 (± 429.5)	12302.4 (± 543.8)	11550.0 (± 348.0)	11408.0 (± 445.1)	10958.2 (± 400.5)	10730.1 (± 809.0)
ARI 点眼群	C	—	3303.1 (± 436.0)	3171.7 (± 145.0)	3246.2 (± 153.8)	2893.2 (± 317.4)	2727.7 (± 295.5)	*2565.0 ($\pm 3.4.1$)
	G	—	12539.1 (± 746.2)	11367.8 (± 1372.5)	10334.2 (± 618.9)	9981.5 (± 984.9)	10102.3 (± 649.1)	*9912.7 (± 800.5)
EPC 点眼群	C	—	3411.9 (± 125.4)	3353.1 (± 197.2)	3226.4 (± 100.0)	2987.7 (± 81.5)	2861.0 (± 287.8)	*2866.7 (± 167.7)
	G	—	12432.8 (± 539.0)	11601.3 (± 369.2)	11452.6 (± 718.9)	11189.5 (± 703.0)	10937.0 (± 793.2)	*10835.4 (± 985.9)
カタリン点眼群	C	—	3307.7 (± 193.0)	3214.5 (± 109.2)	3076.9 (± 168.1)	2860.6 (± 83.2)	2622.4 (± 228.1)	*2790.6 (± 250.3)
	G	—	12224.3 (± 388.1)	11836.6 (± 122.8)	11782.9 (± 551.8)	10763.4 (± 775.8)	10871.9 (± 752.2)	*10686.5 (± 477.6)
還元型カタリン点眼群	C	—	3337.8 (± 131.4)	3337.3 (± 128.5)	3172.2 (± 107.6)	2991.1 (± 192.4)	2647.3 (± 281.4)	*2675.9 (± 350.9)
	G	—	12169.6 (± 1306.8)	11863.4 (± 461.3)	11693.9 (± 564.7)	11456.6 (± 479.7)	10622.9 (± 719.2)	*10617.5 (± 680.3)

C: 中央部, G: 増殖帯, **S.D.

(n=6, 但し*はn=4)

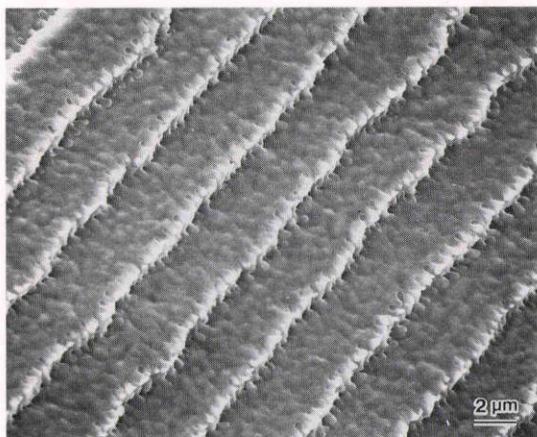


図25 7ヵ月齢の走査電顕写真。線維は規則正しく並列している。

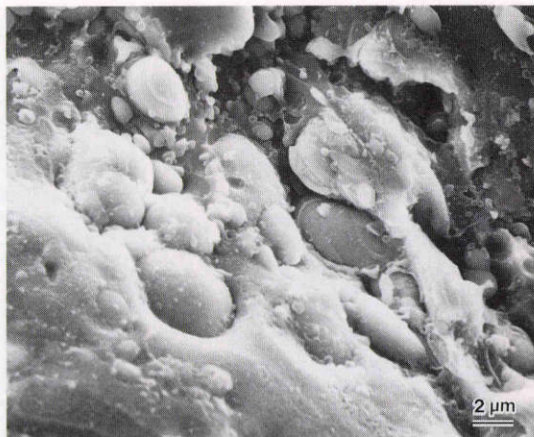


図28 24ヵ月齢の走査電顕写真。崩壊した線維の間に球状構造物がみられる。

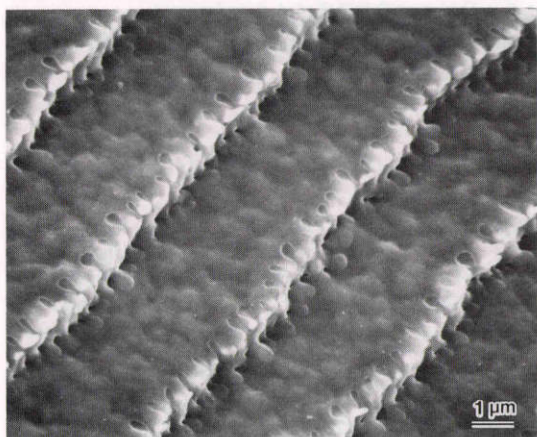


図26 7ヵ月齢の走査電顕写真。稜突起はよく発達し、一様に分布している。

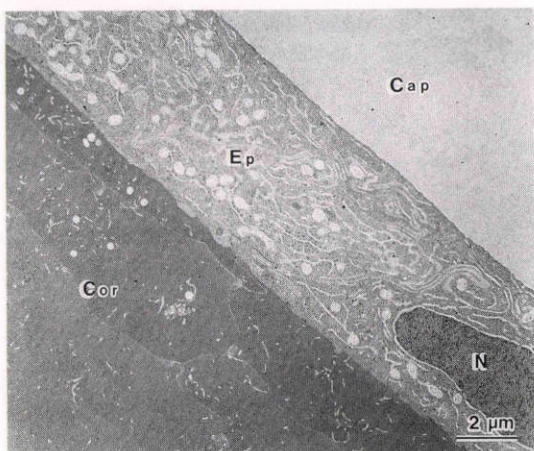


図29 7ヵ月齢の前極部の透過電顕写真。上皮細胞、皮質線維に異常所見はみられない。Cap：水晶体囊、Ep：上皮細胞、N：核、Cor：皮質線維。

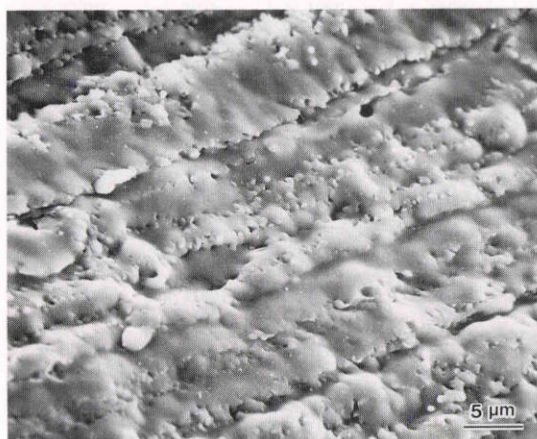


図27 24ヵ月齢の走査電顕写真。線維は膨化変性し、突起構造も崩壊している。

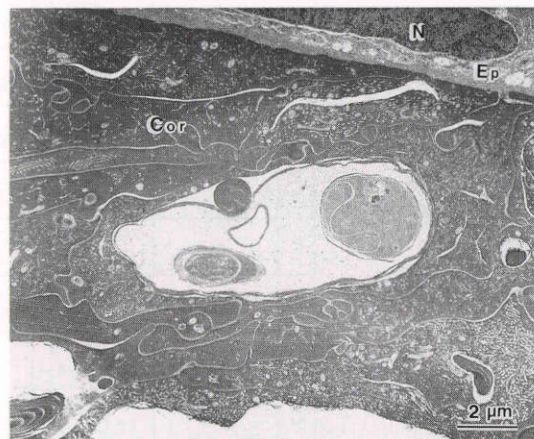


図30 24ヵ月齢の前極部の透過電顕写真。皮質線維の崩壊、空隙、層状あるいは球状構造物がみられる。

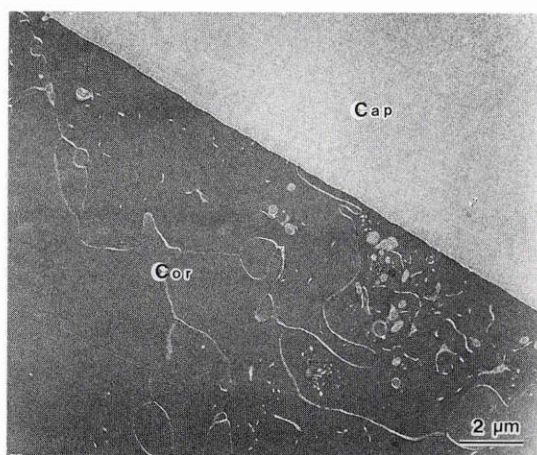


図31 7カ月齢の後極部の透過電顕写真。異常所見はみられない。

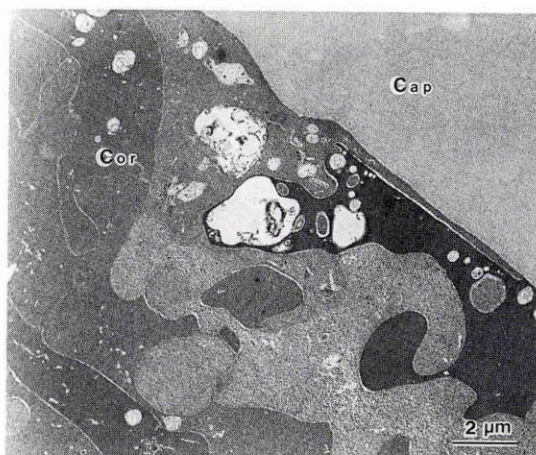


図32 24カ月齢の後極部の透過電顕写真。皮質線維に空胞，線維の膨化，配列不整がみられる。

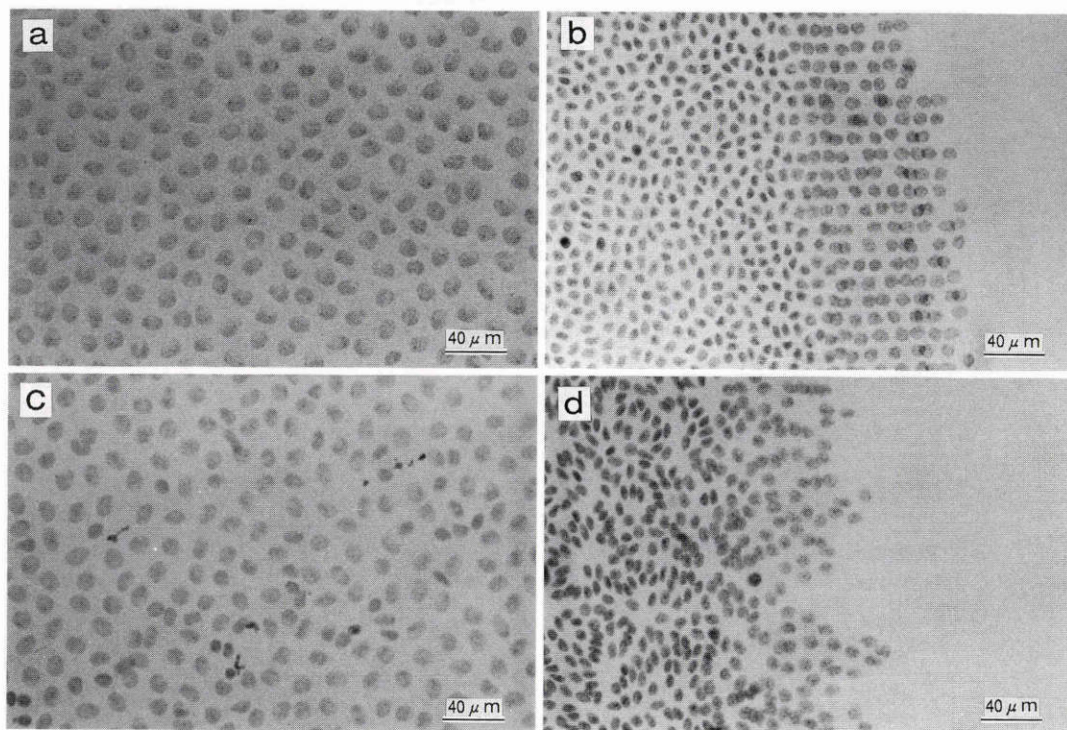


図33 上皮伸展標本写真（ヘマトキシリン染色， $\times 200$ ）。a：7カ月齢の上皮中央部では，細胞核が一様に分布し，b：赤道部では，細胞核の終末部が直線状に配列している。c：比較的高度の白内障がみられた24カ月齢の上皮中央部では濃縮変性した細胞核が散見され，d：赤道部では，終末部の細胞核の直線状配列が崩壊している。

3のとおりであった。各群とも増殖帯より中央部での減少率が大きかった。

4. 考 按

Wistar系ラットは加齢によって白内障が起きることが確認され，混濁は前皮質混濁，核混濁，後囊下皮

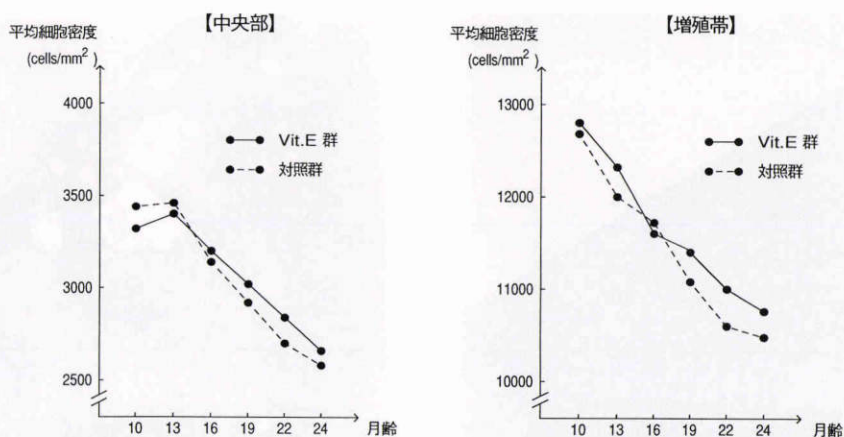


図34 ビタミンE内服投与群の水晶体上皮平均細胞密度

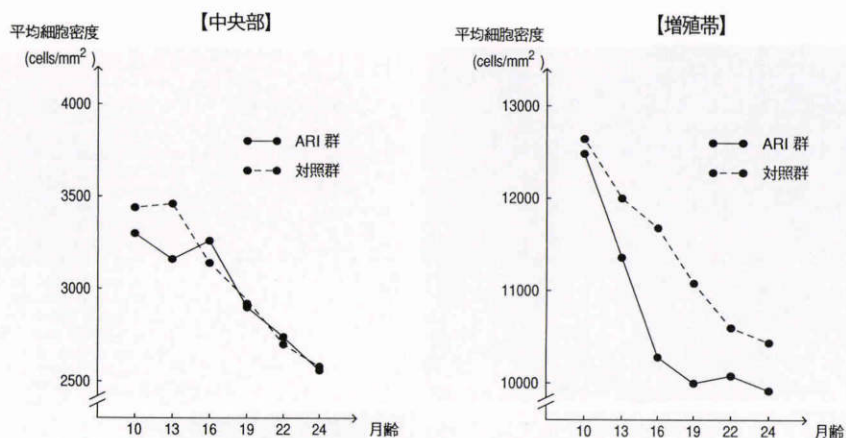


図35 ARI点眼群の水晶体上皮平均細胞密度

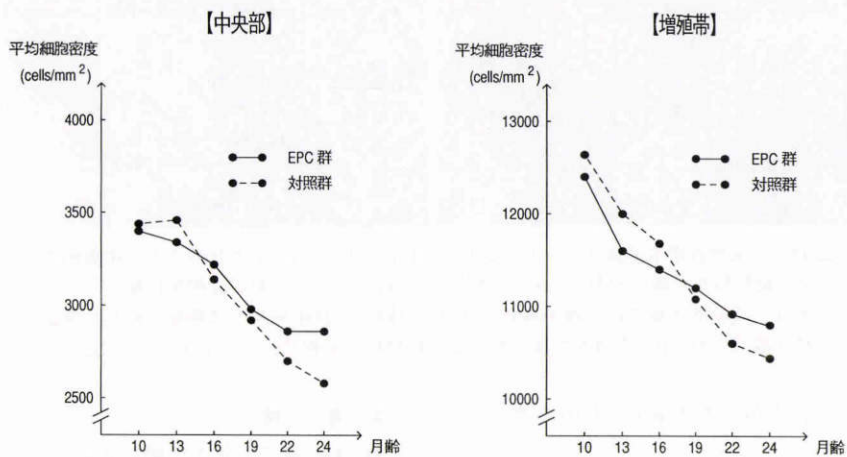


図36 EPC点眼群の水晶体上皮平均細胞密度

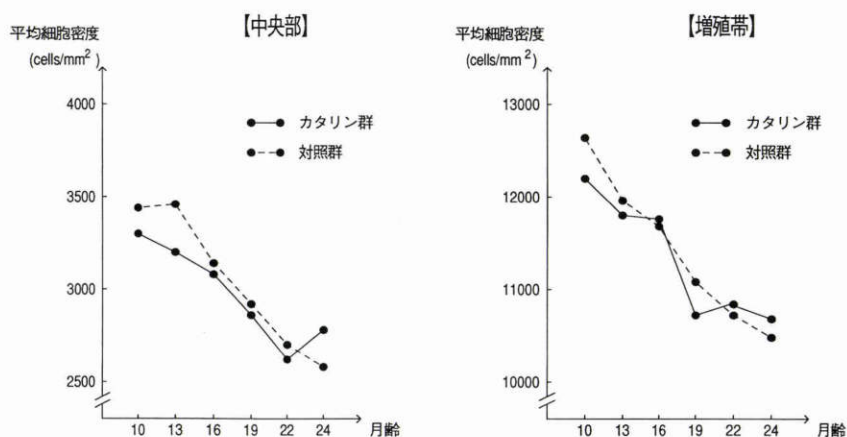


図37 カタリン点眼群の水晶体上皮平均細胞密度

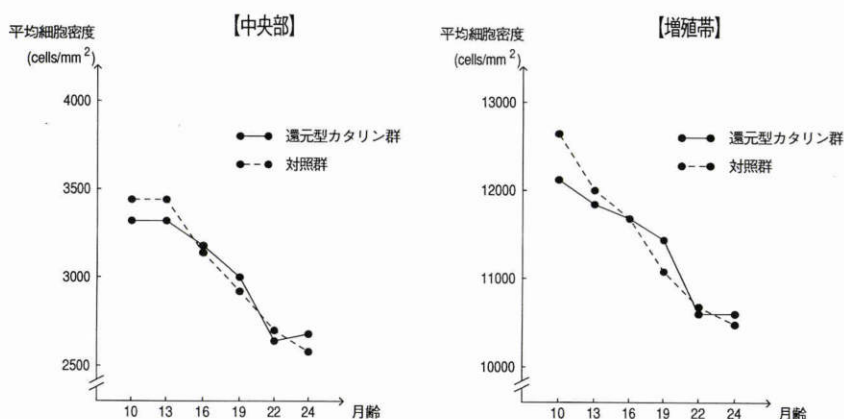


図38 還元型カタリン点眼群の水晶体上皮平均細胞密度

表3 対照群および薬剤投与群の平均細胞密度の減少率

$$\text{平均細胞密度の減少率(\%)} = \frac{7 \text{カ月齢の平均細胞密度} - 24 \text{カ月齢の平均細胞密度}}{7 \text{カ月齢の平均細胞密度}} \times 100$$

	対照群	Vit.E 群	ARI 群	EPC 群	カタリン群	還元型カタリン群
中央部 (%)	28.3	26.2	28.7	20.3	22.4	25.6
増殖帯 (%)	17.1	15.1	21.6	14.2	15.4	16.0

質混濁および混合型の4つのタイプが存在することが判明した。Wistar系ラットの加齢による白内障は、ほとんどが前、後縫合部の皮質線維から初発しており、ヒトの老人性白内障で臨床最上よくみられる赤道部皮質の楔状混濁は初期には観察されなかった。このような初期の混濁形式の相違の一因として水晶体の形状の違いがあげられる。山本¹⁴⁾はヒト老人性白内障にお

ける赤道部皮質の楔状混濁の一成因として、絶えず行われる調節運動の際生じる水晶体内の歪力が赤道部皮質に集中して作用するためではないかと述べている。この説を適用し、形態学的な面からのみ考えると、ラット水晶体はほぼ球形をしており、調節運動の際生じる水晶体内の歪力は縫合部に絶えず作用し、初期の形態学的変化が縫合部に起こりやすいのではないかと予想

される。

また、ラットの核白内障とヒトの老人性核白内障が異なる点は混濁の色である。ラットでは白濁であるのに対し、ヒトではほとんどが黄褐色である。水晶体の着色に関する研究はこれまで幾つか報告されている^{15)~22)}。これらの報告によると、水晶体の着色は水晶体の構造蛋白であるトリプトファン残基が紫外線あるいは近紫外線によって光酸化され、キヌレニン残基になるためとされている。ラットは夜行性で紫外線の暴露が少ないために白色の核混濁なのか、また、紫外線に暴露されると果たして *in vivo* で黄褐色を呈してくるのかどうか興味深い。

光学顕微鏡による観察結果から、ラット水晶体は白内障が出現するにつれて、上皮細胞核の部分的消失、前極部、赤道部、後極部の皮質線維に空胞の出現、線維の膨化あるいは融解、核渦の乱れなどの変化が生じてくることが判明したが、このような所見はヒトの老人性白内障の光顕所見⁶⁾に近似していた。

走査型電子顕微鏡による観察では、ラットの白内障水晶体において、皮質線維の走行異常、線維突起構造の崩壊、球状構造物などがみられたが、これらの所見もヒトの老人性白内障の走査電顕所見²³⁾によく似ていた。

また、透過型電子顕微鏡による観察で、ラット白内障水晶体の皮質線維に空胞、配列不整、膨化、層状あるいは球状構造物がみられたが、ヒトの老人性白内障でも観察されており⁸⁾²⁴⁾、共通した組織所見と思われる。

上皮伸展標本において、白内障水晶体では上皮中央部で細胞核の濃縮変性、赤道部で細胞核の配列異常が観察されたが、これらは光学顕微鏡で観察された上皮細胞核の消失、核渦の乱れを示す所見で、ラットの加齢による白内障に上皮細胞が関与していることを示唆している。また、上皮細胞の平均細胞密度が中央部と増殖帯の両部位で、月齢とともに減少していることが判明したが、これは加齢変化としての細胞減数と考えられた。von Sallmann ら²⁵⁾は、³H-thymidine を静注したラットの水晶体上皮の全伸展標本を用いて加齢と有糸分裂細胞数の関係、細胞分裂の時間的経過などを検討し、加齢とともに有糸分裂細胞数が減少することを報告している。また、単位面積当たりの細胞数から上皮細胞の総数を概算し、加齢による変化を検討している。しかし、生後2週齢から13カ月齢までしか検討しておらず、その結果も13カ月齢で減少していた点を

除くと、水晶体の成長期を反映して加齢とともに細胞数が増加している。水晶体上皮細胞の総数は概算でしか求められず、定量解析には不適当な方法である。上皮細胞数の変化は平均細胞密度で比較するのが妥当であり、また、上皮細胞の特徴から中央部と増殖帯に分けて検討する必要があると思われる。

動物モデルを用いた薬剤の抗白内障効果に関する実験は、動物水晶体の生化学的および形態学的特性がヒトと多少異なる点で、その結果を直接にはヒトに適用できないが、抗白内障薬の開発に際し、貴重な情報を提供してくれるものと思われる。本実験では種々の薬剤の抗白内障効果を、主に水晶体上皮細胞の平均細胞密度の変化を定量解析することにより検討してみた。

今回用いた薬剤の中で、ビタミンE(α -トコフェロール)は抗酸化作用、生体膜の安定化作用に関与しているとされ²⁶⁾²⁷⁾、実験的白内障を抑制する効果があるとの報告が幾つかみられる^{28)~34)}。今回の実験では、上皮の平均細胞密度の変化において対照群と統計学的有意差がなかったことより、ビタミンEは上皮細胞の増殖能にはそれ程大きく関与していないように思われた。ARIはPolyol-Osmotic説^{35)~38)}に基づいて開発された薬剤で、実験的糖白内障に著明な抑制効果を発揮することはこれまで多数報告されている^{39)~45)}。今回の実験では、対照群と比較して平均細胞密度が減少傾向にあった。この結果のみで上皮細胞の増殖能を論じることにはできないが、正常状態のラットに長期間、高濃度のARIを点眼した場合、上皮細胞の増殖能に影響を及ぼす可能性があることを示唆しており、今後再検討をする課題と思われた。カタリンはキノイド説⁴⁶⁾に基づいて開発された点眼薬で、その抗白内障効果に関する臨床的報告は多数あるが^{47)~64)}、組織学的研究は著者ら⁶⁵⁾が行った以外あまりみられない。今回の実験では、上皮の平均細胞密度の変化において対照群と統計学的有意差がなかったことより、この薬剤に抗白内障効果があれば上皮細胞の増殖能以外の別の因子に作用していると考えられた。

以上のことより、Wistar系ラットの加齢による白内障は、初期の混濁形式がヒトの老人性白内障と異なるが、進行は緩徐で組織所見もヒトと比較的共通しており、ヒトの老人性白内障のモデルとして有用であると思われた。種々の薬剤の抗白内障効果に関しては、今回の実験が同一個体を経時的に観察したものではなく、しかも組織を観察する目的で経時的に屠殺したために、初期と後期でラットの匹数が異なったこと、白

内障の程度を定量化するのが困難であったことなどから、各群の白内障発生率を厳密に比較することができず薬効の判定は困難であった。水晶体上皮の細胞密度の定量解析は、上皮細胞の特徴を知る上で有用な方法であるが、必ずしも細胞密度の減少イコール白内障とはいえず、単独で薬効判定に適用するには無理があると思われた。

III 培養水晶体上皮細胞におけるセレンの影響とグルタチオンとピレノキシンの効果

はじめに

白内障の予防薬といわれるものが、いろいろな仮説をもとにして作られ⁶⁶⁾⁶⁷⁾、いくつか市販されている。そしてその有効性を判定するのに動物実験モデルも使われる⁶⁸⁾が、その判定は難しいようである。その理由に、動物そのものの個体差も考えられるし、薬剤の前房内濃度の変化も考えられる。そこで培養水晶体上皮細胞を用いて、薬剤の効果判定を試みた。その理由は、薬剤が直接細胞に接するので、判定も比較的容易になるのではないかと考えたからである。

培養上皮細胞を使って老人性白内障の薬物治療のことを調べるためには、細胞にダメージを与える方法を考える必要がある。老人性白内障の実験モデルの1つとして、セレンによる白内障が使われる⁶⁹⁾。今回、セレンを培養液に加えることにした。

つぎに、老化のプロセスになんらかの関係があるといわれる、superoxide dismutase (SOD) 活性⁷⁰⁾の測定結果を指標に薬剤の効果調べた。

白内障予防薬として日常臨床で最もよく処方されていると思われるものの有効成分、グルタチオン、およびピレノキシンの効果を判定することにした。

1. 実験方法

1) 培養液調整法：Eagle MEM 培地「ニッスイ」(カナマイシン60mg/mlを含む)の5.15gを、500mlの蒸留水に溶解し、オートクレーブで滅菌した。冷却後、10%炭酸水素ナトリウムム15mlを加え、基本培養液(以下MEMと略す)とした。細胞培養用、および実験用の培養液には、MEM 90mlに10mlの牛胎児血清と30mgのグルタミンを加えたものを使用した。

2) 細胞培養法：ラットと白色家兎は雌雄の別なく使用した。エーテルまたは静脈内空気注入法によって家兎を殺し、眼球を摘出し、冷PBS中に入れた。つぎに、イソジンの中に入れ、1分間消毒し、PBSで2回

洗浄した。以下の操作はできるだけ無菌状態で行った。水晶体を摘出し培養液の中に入れ、その中で、水晶体後極を切り取って、水晶体囊をはがし、別に用意した培養液の中に入れた。以上の操作はすべて水冷温度で行った。Dispase (1,000unit/ml MEM) 5mlと水晶体囊を3.5mmプラスチック培養皿に入れ、37℃、10～15分間5%CO₂培養器中でincubateした。そののち等量の培養液を入れ、かるく2～3回suspensionし、15mlプラスチック試験管に移し、800rpmで5分間遠沈した。上清をすてたのち、培養液を10ml加え、かるく2～3回suspensionし、再び遠沈し、上清を捨てた。培養液を1dishあたり3ml程度加え、3.5mmプラスチック培養皿に移し、5%CO₂培養器中でincubationを始めた。週に2回、培養液を交換し、3.5mmのプラスチック培養皿のコルフルエントになったものを実験材料として用いた。

3) 薬剤添加法：亜セレン酸ナトリウムを培養液に溶解して10⁻⁷Mとしたものを作成した。また、その混濁液に、グルタチオンを10⁻³Mになるように、また、ピレノキシンを10⁻⁶Mになるように加えた。

4) 実験方法：培養細胞に、培養のみ、セレン添加培養液、セレンとグルタチオン添加培養液、セレンとピレノキシン添加培養液の4種のもので48時間培養した。そののを、培養液を捨て、Dishに1mlのPBSを入れ、cell scraperで万遍なくかき取り、試験管に入れ、回転式のホモジェナイザーを使って、細胞をホモジェナイズし、1mlのependorf tubeに0.5ml移し遠心沈澱した(1万回転、10分間、4℃)。上澄みを取ってGSH、GSSG量とSOD活性を測定した。GSH、GSSG量の測定にはSedlakら⁷¹⁾の方法に準じて行った。SOD活性測定にはSODテストワークーを使用し、蛋白定量にはBio-Rad Protein Assayを使用した。各群の個数は6とした。

2. 結果

ラットからの培養水晶体上皮細胞にセレンを加えると、還元型グルタチオンの減少と、酸化型グルタチオンの上昇が見られた(図39)。その培養水晶体上皮細胞のSOD活性は、時間と共に低下していた(図40)。つぎに、家兎からの培養水晶体上皮細胞において、培養液にセレンとグルタチオンとを加えると、SOD活性は、セレン添加培養液で培養したものとは比べ、著明に上昇していた。それは、コントロールに比べても、少し増加していたが、有意の差はなかった(図41)。また培養液にピレノキシンを加えても、SOD活性は、セレ

ン添加の培養液で培養したものとは比べ、上昇していた(図41)。

3. 考 按

実験的セレン白内障の成因については、いくつか報告されている。水晶体上皮細胞の膜透過性が傷害されたために、カチオンバランスが乱れ、水晶体の混濁をきたすという報告⁷²⁾や、水晶体の Na-K-ATPase の活性低下が水晶体混濁の原因になるという報告もされている⁷³⁾。過剰のセレン投与により、還元型グルタチオンの減少と、酸化型グルタチオン(GSSG)の上昇が起こり、GSSG と水晶体に存在するタンパク質との複合物が水晶体混濁をひき起こすといわれている⁷⁴⁾。今回の実験でも、培養水晶体上皮細胞をセレンを含む培養液

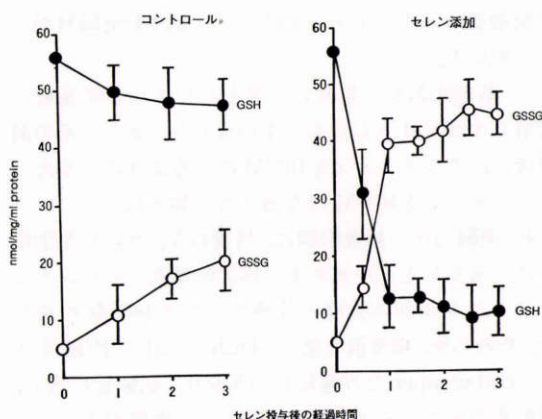


図39 培養水晶体上皮細胞におけるGSHとGSSGの変化

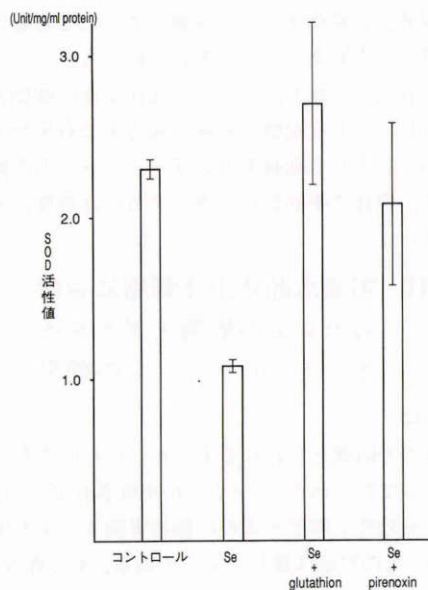


図41 SOD活性に及ぼすSe, Se+glutathione, Se+pironoxinの影響

で培養したところGSHの低下とGSSHの上昇が見られた。これらは、水晶体の酸化となんらかの関わりがあると思われた。

培養水晶体上皮細胞をセレンを含む培養液で培養すると、SODの酵素活性が、細胞内で低下していた。ということは、セレンは活性酵素の上昇を促進させ、細胞内で生じた、酸化作用の働きを持つ活性酸素が増えたために、それを打ち消すためのSODが消費されたのではないかと考えられた。この酵素は、老化のプロセスと、なんらかの関与が考えられる⁷⁰⁾となされているので、SODが、老人性白内障の発生にも重要な役割を果たしていると思われた。

培養液にセレンとグルタチオンとを加えてみると、SOD活性はコントロールと同じか、少し増加していた。SOD活性とグルタチオンとはなんらかの関係があることを思わせた。つまりグルタチオンはSOD活性の低下を防ぐと考えられた。

つぎは、グルタチオンのかわりにピレノキシンを加えてみた。ピレノキシンは、白内障キノン説に基づいて、薬効があるということである⁶⁷⁾が、今回の実験からは、ピレノキシンもSOD活性の低下を防ぐ作用を、グルタチオンほどではないが、持っていることが判明した。

以上のことより、市販の点眼薬の有効成分の薬効を、

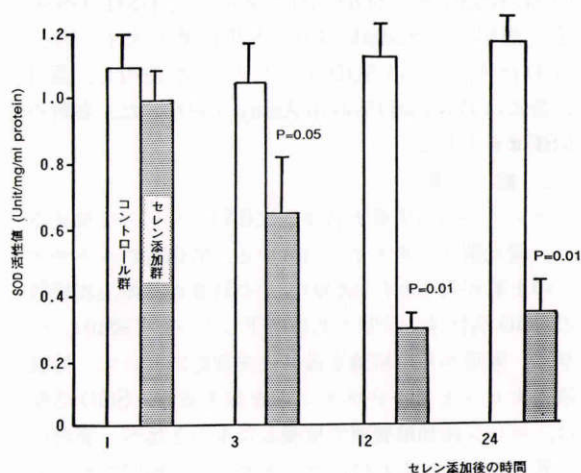


図40 培養水晶体上皮細胞のSOD活性に与えるセレンの影響

培養水晶体上皮細胞を使って調べてみると、効果があることが明らかであると思惟される。

IV 高血圧自然発症ラット における白内障

はじめに

高血圧自然発症ラット (Spontaneously Hypertensive Rats: SHR)⁷⁸⁾は、ヒトの本態性高血圧のモデル動物として広く研究されている。1974年にはSHRから脳卒中易発症高血圧自然発症ラット (Stroke-prone SHR: SHRSP)⁷⁶⁾⁷⁷⁾が分離され、高血圧の合併症、特に脳血管疾患を中心とした研究に用いられている。

SHRの眼科学領域における研究は、主に眼底所見を対象としており⁷⁸⁾⁷⁹⁾、白内障についてはKochら⁸⁰⁾による報告が初めてであり、近年では斉藤ら⁸¹⁾、野田ら⁸²⁾の報告がある。SHRは、正常血圧のウイスター京都ラット (Wistar-Kyoto Rats: WKY)を基に作成されている。SHRSPの分離により、従来のSHRは、脳卒中の発症程度から易発症性のSHRSPと、難発症性SHR (Stroke-resistant SHR: SHRSP)に分けられる傾向にある。

SHRの白内障に関する研究は、WKY, SHRSR, SHRSPで、年齢を合わせて比較することがより厳密と考えられ、さらに、雄と雌では、その血圧上昇の時期や程度に差があるため、雌雄は分けて各々の系統を比較すべきである。

今回、WKY, SHRSR および SHRSP を用いて、雄における生体下の水晶体混濁の有無を、多くのラットで詳細に観察したので報告する。

1. 実験方法

対象は、WKY 雄100～305日齢38匹、SHRSR 雄114～571日齢150匹 (B₁系第67～71世代70匹、B₂系第70～75世代80匹)、SHRSP 雄91～355日齢69匹 (A₁-Sb系第72～76世代39匹、A₃系第72～74世代30匹)である。

すべてのラットは、散瞳剤 (ミドリン P®) 点眼後、無麻酔下にポータブル・スリットランプ (コーワ社製 SL-5) で、水晶体混濁の有無と部位を観察記録した。

2. 結 果

1) ラットにおける水晶体混濁様式と分類

ラットにおける水晶体混濁様式はつぎのとおりであった。

水晶体混濁が全く認められないもの、水晶体中央の球状の核混濁のみ認められるもの、水晶体後囊下の水晶体縫合線に混濁を認めるもの、前述の水晶体核と後

囊下の両者に混濁を認めるもの、水晶体皮質全体に混濁の認められるもの。

以上の所見を基に、ラット水晶体の混濁様式を、便宜上5つのタイプに分類した。

Type 0 (T₀): 水晶体混濁の全く認められないもの。

Type 1 (T₁): 水晶体の核のみに混濁を認めるもの。

Type 2 (T₂): 水晶体の後囊下のみに混濁を認めるもの。

Type 3 (T₃): 水晶体の核と後囊下の両方に混濁を認めるもの。

Type 4 (T₄): 水晶体全体に混濁を認めるもの。

2) ラット水晶体混濁の発生頻度および一致率

3カ月齢から9カ月齢の雄におけるWKY, SHRSR および SHRSP の水晶体混濁の発生頻度を前述の分類に従い、調査した。

WKYでは、T₀ 97.4%, T₁ 2.6%, T₂ 0%, T₃ 0%, SHRSRでは、T₀ 23.2%, T₁ 22.1%, T₂ 32.6%, T₃ 22.1%, SHRSPでは、T₀ 11.8%, T₁ 48.5%, T₂ 8.8%, T₃ 30.9%であった。いずれの系統でもT₄は全く認められなかった (図42)。

左右眼のタイプの一致率は、WKY 100%, SHRSR 97%, SHRSP 89%であった。

3つの系統を、月齢によって、3カ月齢～5カ月齢と6カ月齢～9カ月齢の2つに分けて比較した。

WKYでは、3～5カ月齢17匹、6～9カ月齢21匹で、3～5カ月齢ではT₀ 100%, T₁, T₂, T₃はいずれも0%, 6～9カ月齢ではT₀ 95.2%, T₁ 4.8%, T₂, T₃はいずれも0%であった。

SHRSRでは、3～5カ月齢34匹、6～9カ月齢52匹で、3～5カ月齢では、T₀ 32.3%, T₁ 23.6%, T₂ 32.3%, T₃ 11.8%, 6～9カ月齢では、T₀ 17.3%, T₁ 21.2%, T₂ 32.7%, T₃ 28.8%であった。

SHRSPでは、3～5カ月齢36匹、6～9カ月齢32匹で、3～5カ月齢では、T₀ 13.9%, T₁ 75.0%, T₂ 9.4%, T₃ 18.8%, 6～9カ月齢では、T₀ 15.6%, T₃ 56.2%であった (図43)。

3. 考 按

SHRにおける白内障の観察は、SHRが兄妹交配により近交系として確立され、すでに第70世代に達しており、できる限り対象ラットを同じ特徴のある系統で比較する必要がある。

Kochら⁸⁰⁾の報告は、SHRからSHRSPが分離されて間もない頃のもののため、現在のSHRSRとSHRSPの両者を含んだ結果と考えられる。30匹で、4

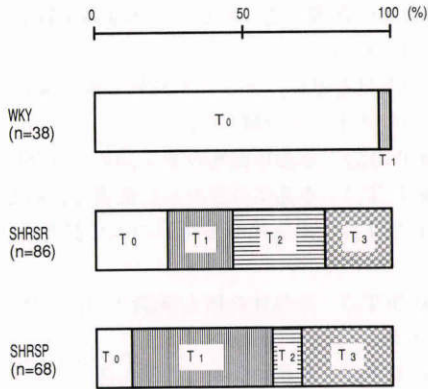


図42 ラット水晶体混濁の発生頻度 (n:匹数)

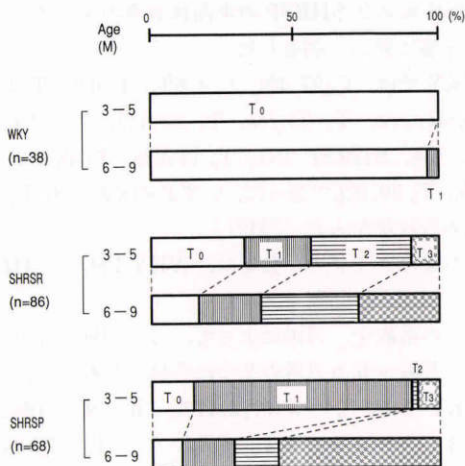


図43 ラット水晶体混濁の月齢による発生頻度 (n:匹数)

週齢11匹, 12週齢7匹, 21週齢5匹, 50週齢7匹について, 生体下での細隙灯所見の詳細を記述しているが, 雌雄の記載がない。

斉藤ら⁸¹⁾, 野田ら⁸²⁾の報告は, WKY, SHRSR, SHRSPの白内障について, 数多くのラットで比較しているが, 雌雄は分けておらず, 従って SHRSPでも生後12~17カ月齢まで生存している。SHRSPでは雄の平均生存期間は9カ月で, 厳密な同一条件下では, 80%以上が脳卒中で死亡する⁷⁶⁾⁷⁷⁾ため12カ月齢以降は雌のデータが主と考えられる。

このため, 本研究では, ラットにおける高血圧の白内障の関連を明らかにする目的で, 対象を以下の条件に限定して観察した。

① 対象ラットは雄のみとする。

② WKYをコントロールとし, SHRSR, SHRSPで比較する。

③ 月齢は, 生後3カ月齢以降で, WKY, SHRSR, SHRSPの3系統を比較するために平均寿命の最も短い9カ月齢までとする。

④ SHRSRとSHRSPでは, 血圧の上昇期と考えられる3~5カ月齢, 高血圧で安定した時期にある6~9カ月齢の2つの時期で比較し, コントロールとしてWKYも同じ時期に分ける。

全ラットで水晶体混濁を観察すると, 最長571日齢までのラットでは, 5つのタイプの水晶体混濁が認められた。これを便宜上, Type 0 (T₀) から Type 4 (T₄) まで分類し, 生後3~9カ月齢までのラットで各々の頻度を比較した。

3系統のラットでの水晶体混濁の出現頻度は, WKY 2.6%, SHRSR 76.8%, SHRSP 88.2%であった。月齢を, 生後3カ月~9カ月に限って比較すると高血圧自然症ラットの白内障の出現頻度は, 正常血圧ラットに比べ極めて高かった。高血圧による白内障発生の機序は明らかではないが, 白内障発生に対する高血圧の影響が確かめられた。また, SHRのうち, SHRSRではT₁の核のみの混濁が22.1%であったのに対し, SHRSPでは48.5%と高率であった。SHRの水晶体の核混濁は先天性であるとする報告⁸⁰⁾もあり, より若いラットで確かめる必要があるが, 遺伝素因の関与も推察される。

月齢を3~5カ月と6~9カ月で比較すると, WKYにおいては, 加齢によりT₁の核混濁を生じるようにも考えるが, より長期の同一ラットでの経時的観察を明らかにする必要がある。SHRSRでは, 3~5カ月齢でT₂の後囊下混濁が, T₁の核混濁より多く, 6~9カ月齢ではT₃の核と後囊下の両方の混濁が増加した。SHRSPでは3~5カ月齢でT₁の核混濁が75%と極めて高頻度にみられ, 6~9カ月齢ではT₃の核と後囊下の両方の混濁が増加した。SHRSPでは, 核混濁が先に出現し, ついで後囊下混濁が加わると推察された。

本研究では, ラット水晶体混濁を5つのタイプに分けて分類したが, この分類は, 水晶体混濁の進行を示すStage分類として考えてもよいと思う。より若い時期あるいはWKYとSHRSRのさらに年齢の進んだ時期での比較が今後必要であろう。

血圧値との関連は, 本研究ではまだ明らかにしていないが, SHRにおける血圧上昇期の因子と高血圧が維

持される因子は異なっており⁸³⁾、今後、3系統の水晶体混濁の発生と血圧がどのような相関をもつか、雌雄の比較も含めて今後、興味深い研究と思う。

本研究では、SHRにおける白内障がWKYに比べ早い時期から生じること、その要因として加齢や、一部高血圧と遺伝素因の関与の可能性が示された。SHRの白内障発生の特徴を理解し、その特徴に基づいてヒト白内障モデルとしての研究は、今後、老人性白内障の臨床面で多大な貢献をすることになるであろう。

第94回日本眼科学会総会の特別講演の機会を与えられた日本眼科学会評議員各位ならびに総会長松尾信彦教授、座長の労をおとり下さった植村恭夫理事長に深甚なる謝意を表します。

また、本研究に長年にわたり、ご努力下さった医局員各位ならびに島根医大眼科学教室医局員各位に厚く感謝いたします。さらに、快くご援助を賜った玉井嗣彦教授に御礼申し上げますと共に、本論文の原稿作成に献身的にご尽力頂きました直江久美子氏に深く感謝いたします。

文 献

- 1) 松浦啓之：水晶体の病理。あたらしい眼科 5: 1537—1543, 1988.
- 2) Ridley H: Intraocular acrylic lens. Trans Ophthalmol Soc UK 71: 617—621, 1951.
- 3) Shearing SP: Posterior chamber lens implantation. Int Ophthalmol Clin 22: 135—153, 1982.
- 4) 早野三郎：眼内人工水晶体の種類と選択。眼科 22: 19—27, 1980.
- 5) 竹内光彦：人工水晶体の展望。眼科 22: 423—431, 1980.
- 6) 藤永 豊, 松浦啓之：白内障—臨床像と病理像。東京, 金原出版, 1987.
- 7) 増田義哉, 庄司義治：水晶体疾患。大塚 任, 鹿野信一 編。臨床眼科全書, 5-2, 眼病各論III。東京, 金原出版, 307—322, 1972.
- 8) 松浦啓之：白内障。三島清一 編。眼科 Mook 28, 眼病理, 東京, 金原出版, 190—207, 1986.
- 9) 松浦啓之：諸種白内障の電子顕微鏡的研究。第2報。老人性白内障および前極白内障の電子顕微鏡的観察。眼紀 19: 348—361, 1968.
- 10) Matsuura H: Electron microscopic observations in human senile and anterior polar cataract. Yonago Acta med 12: 75—80, 1968.
- 11) 小原真樹夫, 宇賀茂三, 石川 哲：ヒト老人性白内障の成因に関する病理組織学的研究。日眼会誌 88: 550—558, 1984.
- 12) Gorthy WC: Cataracts in the aging rat lens. Their morphological characterization and evaluation as a model for human senile cataracts. Ophthalmic Res 9: 329—342, 1977.
- 13) Gorthy WC: Cataracts in the aging rat lens. Morphology and acid phosphatase histochemistry of incipient forms. Exp Eye Res 27: 301—322, 1978.
- 14) 山本寛次：水晶体の加齢と老人性白内障の発症機構について。日本の眼科 52: 379—387, 1981.
- 15) Pirie A: Photo-oxidation of proteins and comparison of photo-oxidized proteins with those of the cataractous human lens. Israel J Med Sci 8: 1567—1576, 1972.
- 16) Grover D, Zigman S: Coloration of human lenses by near ultraviolet photooxidized tryptophan. Exp Eye Res 13: 70—76, 1972.
- 17) Kurzel RB, Wolbarsht ML: Spectral studies on normal and cataractous intact human lenses. Exp Eye Res 17: 65—71, 1973.
- 18) Truscott RJW, Faull K, Augusteyn RC: The identification of anthranilic acid in proteolytic digests of cataractous lens proteins. Ophthalmic Res 9: 263—268, 1977.
- 19) Borkman RF, Lerman S: Evidence for a free radical mechanism in aging and u.v. irradiated ocular lenses. Exp Eye Res 25: 303—309, 1977.
- 20) Weiter JJ, Subramanian S: Free radicals produced in human lenses by a biophotonic process. Invest Ophthalmol 17: 869—873, 1978.
- 21) Borkman RF: Ultraviolet action spectrum for tryptophan destruction in aqueous solution. Photochemistry and Photobiology 26: 163—166, 1977.
- 22) 山本寛次, 錦織敏治, 栗本良子：老人性核白内障の発症機序に関する3-ハイドロオキシキノレニンの意義に就いて。日眼会誌 85: 880—889, 1981.
- 23) 松戸武夫：人眼水晶体線維構造の走査電顕的研究。日眼会誌 77: 853—872, 1973.
- 24) 松浦啓之, 長田正夫, 三浦孝博, 他：人眼水晶体における後囊下混濁の微細構造。眼紀 35: 474—479, 1984.
- 25) von Sallmann L, Grimes P: Effect of age on cell division, ³H-thymidine incorporation, and diurnal rhythm in the lens epithelium of rats. Invest Ophthalmol 5: 560—567, 1966.
- 26) 福沢健治：ビタミンE。ビタミン 58: 517—524, 1984.
- 27) 浦野四郎：ビタミンEの生体膜安定化作用。ビタミン 63: 75—85, 1989.
- 28) Trevithick JR, Creighton MO, Ross WM, et al: Modelling cortical cataractogenesis: 2. in vitro effects on the lens of agents preventing glucose and sorbitol-induced cataracts. Can J Ophthalmol 16: 32—38, 1981.
- 29) Stewart-DeHaan PJ, Creighton MO, Sanwal M, et al: Effect of vitamin E on cortical catar-

- actogenesis induced by elevated temperature in intact rat lenses in medium 199. *Exp Eye Res* 32: 51—60, 1981.
- 30) **Ross WM, Creighton MO, Stewart-DeHaan PJ**, et al: Modelling cortical cataractogenesis: 3. in vivo effects of vitamin E on cataractogenesis in diabetic rats. *Can J Ophthalmol* 17: 61—66, 1982.
 - 31) **Libondi T, Menzione M, Iuliano G**, et al: Changes of some biochemical parameters of the lens in galactose-treated weaned rats with and without vitamin E therapy. *Ophthalmic Res* 17: 42—48, 1985.
 - 32) **Creighton MO, Ross WM, Stewart-DeHaan PJ**, et al: Modelling cortical cataractogenesis VIII: Effects of vitamin E treatment on galactose-induced cataracts. *Exp Eye Res* 40: 213—222, 1985.
 - 33) 平井樹男, 馬嶋慶直, 中村紀美, 他: 実験的糖尿病性白内障のビタミン E 投与効果. あたらしい眼科 3: 247—250, 1986.
 - 34) 服部博之, 馬嶋慶直, 平井樹男, 他: ストレプトゾトシン (STZ) 糖尿病性白内障の進行に対する vitamin E の抑制効果について. 眼紀 40: 1914—1919, 1989.
 - 35) **Kinoshita JH, Merola LO, Satoh K**, et al: Osmotic changes caused by the accumulation of dulcitol in the lenses of rats fed with galactose. *Nature* 194: 1085—1087, 1962.
 - 36) **Kinoshita JH**: Cataracts in galactosemia. The Jonas S. Friedenwald memorial lecture. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 4: 786—799, 1965.
 - 37) **Kinoshita JH**: Mechanisms initiating cataract formation. Proctor lecture. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 13: 713—724, 1974.
 - 38) **Kinoshita JH**: 白内障発生に関する生化学的考察. 日眼会誌 80: 1362—1371, 1976.
 - 39) **Unakar NJ, Genyea C, Reddan JR**, et al: Ultrastructural changes during the development and reversal of galactose cataract. *Exp Eye Res* 26: 123—133, 1978.
 - 40) **Tian-Sheng HU, Merola LO, Kuwabara T**, et al: Prevention and reversal of galactose cataract in rats with topical sorbinil. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 25: 603—605, 1984.
 - 41) 赤木好男, 田坂 宏, 中路 裕, 他: ラットガラクトース白内障に対する Aldose reductase (AR) 阻害剤の効果. 日眼会誌 89: 1276—1281, 1985.
 - 42) 田坂 宏, 中路 裕, 田村邦嘉, 他: アルドースリダクターゼ阻害剤, Eisai E-1008, ONO-2235 のガラクトース白内障に対する効果. あたらしい眼科 2: 1283—1286, 1985.
 - 43) 赤木好男, 秋宗万里, 中路 裕, 他: Aldose reductase 阻害剤 (ICI, 128, 436), その 1. ラットガラクトース白内障に対する効果. 眼紀 37: 991—995, 1986.
 - 44) 赤木好男, 田坂 宏, 茶本 薫, 他: Aldose reductase 阻害剤 (ICI, 128, 436), その 2. ラット糖尿病性白内障に対する効果. 眼紀 38: 217—221, 1987.
 - 45) 田坂 宏, 赤木好男, 吉川隆男, 他: アルドースリダクターゼ阻害剤 (ARI), その 4. 点眼によるガラクトース白内障発生抑制効果. 日眼会誌 91: 246—253, 1987.
 - 46) 萩野周三: 白内障の成因とその薬物治療. 日本医事新報 1731: 13—22, 1957.
 - 47) 鈴木 武, 松尾信彦, 水嶋 享, 他: カタリンによる老人性白内障の治療効果について. 眼臨 52: 869—870, 1958.
 - 48) 馬場賢一: 老人性白内障の薬物治療. 臨眼 12: 1119—1123, 1958.
 - 49) 樋田富雄: カタリンによる老人性白内障の治療効果について. 眼臨 53: 53—54, 1954.
 - 50) 浅山亮二, 白紙敏之, 天津 学: 白内障治療剤の使用経験. その 1. カタリン点眼薬. 臨眼 14: 789—794, 1960.
 - 51) 西村富士夫: カタリンの治療効果. 眼臨 54: 255—260, 1960.
 - 52) 古味敏彦, 内田幸子: 老人性白内障に対するカタリン点眼薬の効果について. 臨眼 16: 959—962, 1962.
 - 53) 落合俊輔: 老人性白内障に対する長期カタリン点眼効果の推計学的観察. 眼臨 60: 641—647, 1966.
 - 54) 村田忠彦, 原 敬三, 日隈陸太郎, 他: 老人性白内障に対する点眼治療薬の臨床効果についての検討. 眼紀 23: 836—842, 1972.
 - 55) 西崎敬四郎, 井上晃一: 高濃度カタリン点眼液の使用経験. 眼紀 26: 1087—1090, 1975.
 - 56) 林 博文, 渡辺千舟: 白内障に対する徹照写真診断法 (とくに白内障に対するカタリン点眼液の効果について). 眼紀 26: 1192—1200, 1975.
 - 57) 岡本孝夫: 老人性白内障に対するカタリン点眼液の効果 (徹照写真撮影による効果判定). 眼紀 26: 1524—1529, 1975.
 - 58) 中西亮朗, 松尾治亘: 老人性白内障に対するカタリン点眼液の臨床的效果とその推計学的考察. 眼臨 71: 67—71, 1977.
 - 59) 飯沼 剛, 石田恵吾, 井上洋一, 他: 老人性白内障の無治療眼とカタリン点眼液投与眼との視力変動に関する推計学的検討. 眼紀 28: 847—858, 1977.
 - 60) 山本寛次, 錦織敏治, 山本佑二郎: 老人性皮質白内障に対するカタリン点眼液投与群の視力変動の統計学的考察. 眼臨 72: 1124—1128, 1978.
 - 61) 藤永 豊, 魚谷 純, 玉井嗣彦, 他: 老人性初発白内障に対する薬物療法の比較. 眼臨 73: 171—174, 1979.

- 62) 林 博文, 西田哲夫: 老人性白内障に対するカタリン点眼液の効果, 眼紀 30: 585—598, 1979.
- 63) 村田忠彦: 老人性白内障に対するカタリン点眼液の効果に関する二重盲検法による臨床的研究, 眼紀 31: 1217—1222, 1980.
- 64) 弓削経夫, 竹田 仁, 小笹晃太郎: 老人性白内障の混濁型による進行とカタリン, あたらしい眼科 5: 1615—1618, 1988.
- 65) 藤永 豊, 松戸武夫, 富永咲子, 他: 実験的白内障に対する1-Hydroxy-5-oxo-5H-pyrido [3, 2-a] phenoxazine-3-carboxylic acid 結膜下注射の組織学的効果, 眼臨 73: 175—180, 1979.
- 66) 疋田光史: グルタチオンおよびその他の還元物質, 岩田修造 編, 水晶体その生化学的機構, 東京, メディカル葵, 130—144, 1986.
- 67) 岩田修造: 実験的白内障, 岩田修造 編, 水晶体その生化学的機構, 東京, メディカル葵, 311—360, 1986.
- 68) 竹鼻 眞: ヒト白内障, 岩田修造 編, 水晶体その生化学的機構, 東京, メディカル葵, 392—405, 1986.
- 69) Ostadaloba I, Babicky A, Obenberger J: Cataract induced by administration of a single dose of sodium serenite to suckling rats. *Experimentia* 34: 222—223, 1977.
- 70) Taniguchi N, Kinoshita N, Arai K, et al: Inactivation of erythrocyte Cu, Zn-superoxide dismutase through nonenzymatic glycosylation: Maillard reaction in aging, diabetes, and nutrition, New York, Alan R. Liss Inc., 277—290, 1989.
- 71) Sedlak J, Lindsay RH: Estimation of total protein bound and non protein-sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Ann Biochem* 25: 192—205, 1968.
- 72) Sander D, Cotlier E, Wyhinsky G, et al: Cataracts induced by surface active agents. *Exp Eye Res* 19: 35—42, 1974.
- 73) Iwata S, Kinoshita JH: Mechanism of development of hereditary cataract in mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 10: 504—512, 1971.
- 74) Bunce GE, Hess JL: Biochemical change associated with serenite induced cataract in the rat. *Exp Eye Res* 33: 505—514, 1988.
- 75) Okamoto K, Aoki H: Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. *Jpn Circ J* 27: 282—293, 1963.
- 76) Okamoto K, Yamori Y, Nagaoka A: Establishment of the stroke-prone spontaneously hypertensive rats (SHR). *Circ Res* 34: 143—153, 1974.
- 77) Yamori Y, Nagaoka A, Okamoto K: Importance of genetic factors in stroke: An evidence obtained by selective breeding of stroke-prone and -resistant SHR. *Jpn Circ J* 38: 1095—1100, 1974.
- 78) 入野田公穂, 高橋茂樹, 山野辺隆介: 高血圧自然発症ラットの眼底所見(第1報), 日本体質学誌 31: 234—238, 1968.
- 79) 高橋茂樹: Stroke-Prone SHR の眼底所見, 眼紀 29: 1950—1958, 1978.
- 80) Koch HR, Fischer A, Kaufmann H: Occurrence of cataracts in spontaneously hypertensive rats. *Ophthalmic Res* 9: 189—193, 1977.
- 81) Saito N, Matsubayashi K, Noda K: Retinal artery and cataract in SHR. *Jpn Heart J* 1989 (in press).
- 82) 野田幸作, 上野脩幸, 斉藤 昇, 他: Wistar-Kyoto ラット(WKY)および高血圧自然発症ラット(SHRSP, SHRSP)の白内障, あたらしい眼科 6: 1855—1858, 1989.
- 83) Yamori Y: Neural and non-neural mechanisms in spontaneous hypertension. *Clin Sci Mol Med* 51: 431—434, 1976.