

加齢に伴うラットガラクトース白内障の発症・進展の違いについて

池部 均*, 照林 宏文*, 堤 元信*, 森 和彦*
赤木 好男*, 川崎 ナナ**, 谷本 剛**

*京都府立医科大学眼科学教室, **国立衛生試験所

要 約

生後3, 6, 12, 24週齢のSD系雄ラットを50%濃度ガラクトース含有食餌で飼育し, 白内障水晶体における経時的ガラクトール量測定と形態学的所見との対比により, ラット成熟度による白内障進展様式の差異を明確にすることを本研究の目的とした。その結果以下のことがわかった。①同一強度のガラクトース負荷に対しては, ラット生後週齢の増加にもかかわらず同じ白内障発症・進展様式を示した。②ラットガラクトース白内障はラット生後週齢の増加とともに同程度の負荷強度に対して白内障を発症しにくくなる。このことより糖尿病性白内障は若年者において容易に発症するが, 高齢者では発症しにくい, もしくは修復されてしまう可能性があると思われる。(日眼会誌 95: 538-542, 1991)

キーワード: 幼弱ラット, 成熟ラット, ガラクトース白内障, 組織学, ガラクトール

The Influence of Aging on the Development of Rat Galactosemic Cataract

Hitoshi Ikebe*, Hirofumi Terubayashi*, Motonobu Tsutsumi*, Kazuhiko Mori*,
Yoshio Akagi*, Nana Kawasaki** and Tsuyoshi Tanimoto**

*Department of Ophthalmology, Kyoto Prefectural University of Medicine

**National Institute of Hygienic Science

Abstract

In order to investigate the effect of age on the rat galactosemic cataract, 3, 6, 12 and 24-week-old rats were fed with a 50% galactose diet. The cataractous lenses were observed by light microscopy, and the amount of galactitol measured. All rats fed with 50% galactose developed cataracts in the equatorial region. However the morphological and biochemical development of the galactose cataract in old rats was slower than in young rats. These results suggested that older diabetic patients are less likely to develop diabetic cataract than younger patients. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 95: 538-542, 1991)

Key words: Young rat, Old rat, Galactose cataract, Histology, Galactitol

別刷請求先: 602 京都市上京区河原町通広小路上ル 京都府立医科大学眼科学教室 池部 均
(平成2年8月17日受付, 平成2年11月14日改訂受理)

Reprint requests to: Hitoshi Ikebe, M.D. Department of Ophthalmology, Kyoto Prefectural University of Medicine.

Hirokojiagaru, Kawaramachidori, Kamigyo-ku, Kyoto 602, Japan

(Received August 17, 1990 and accepted in revised form November 14, 1990)

I 緒 言

ヒト糖尿病性白内障のモデルでありアルドース還元酵素の作用によって発症するとされているラットガラクトース白内障¹⁾²⁾は、投与するガラクトース含有濃度とラット生後週齢によって白内障発症部位・進展様式が異なる。

われわれはこれまで同一週齢ラットに濃度を変えたガラクトース食餌を与え、生じる線維膨化はその発症部位・進展様式が負荷の強弱によって変化することを報告した³⁾⁴⁾。つまりガラクトース濃度・アルドース還元酵素阻害剤濃度などの水晶体に及ぼす負荷を変えることにより、ラット糖白内障を形態学的に負荷の強い場合から順に以下の5型に分類できる⁴⁾。

1. 水晶体赤道部から前赤道部にかけての表層皮質に線維膨化・液化が初発する。そして前皮質、しだいに後皮質に線維膨化・液化が進展し、最終的に正常線維の新生を見ることなく全白内障へと進む。

2. 前囊下、ついで後囊下表層皮質に線維の膨化で初発する。やがて、線維の膨化・液化領域は正常再生線維により層間に閉じ込められた様に分布し、内部に閉じ込められた前・後囊下の膨化領域を互いに連絡させるような赤道部深層皮質線維の軽度の膨化が認められる。

3. 前囊下、ついで後囊下表層皮質に線維の膨化で初発する。やがて線維の膨化・液化領域は正常再生線維により層間に閉じ込められた様に分布する。赤道部皮質は正常に保たれている。

4. 後囊下皮質にのみ線維膨化が認められる。

5. 水晶体のどの部位にも線維膨化は認められない。

このように負荷が強クガラクトール蓄積が急速な時は赤道部、負荷が弱クその蓄積が緩徐な時は前後表層皮質線維が膨化する。さらに緩徐な時、白内障はラットの生後週齢により影響をうける。つまりラットの生後週齢増加とともに白内障進行が停止し、しかも修復治癒する。これらの事実は、ヒト糖尿病性白内障の発症と重要な関連をもつ。つまり、血糖異常が同程度と仮定すると、糖尿病性白内障は若年者において容易に発症するが、高齢者では発症しにくい、もしくは修復されてしまう可能性がある。本研究の目的はこの推論の是非を追求すべく、生後週齢を変えたラットを同一濃度ガラクトース食餌で飼育し、白内障水晶体における経時的ガラクトール量測定と形態学的所見との対比によりラット成熟度による白内障進展様式の差異を

明確にすることである。

II 実験方法

生後3, 6, 12, 24週齢のSD系雄ラットを50%濃度ガラクトース含有食餌で飼育した。観察期間は16週までで、眼球を各週毎に摘出し、一眼の水晶体は形態学的検索、他眼は生化学的測定用とした。組織学的観察には摘出眼球を直ちに4%パラホルムアルデヒドを含む0.1M 磷酸緩衝液(pH 7.4)に浸漬し、水晶体を取り出した。これを同緩衝液で4~5日間固定後、アルコール系列にて脱水した。ついで試料をメタクリル樹脂(JB-4, デュボン社)包埋し、トルイジン青で染色し光学顕微鏡にて観察した。ガラクトール測定には水晶体一個あたりにつき2mM 磷酸緩衝液(pH 7.0) 1mlをいれホモジネイトし、遠心分離して得た上清を適量用い、Dethyの方法⁵⁾にしたがい液体クロマトグラフィーにて分析した。

III 結 果

1. 組織学的観察

生後3週齢ラット水晶体では、赤道部から前赤道部に至る皮質の強い膨化から白内障が発症し、実験開始後1週目で赤道部最表層を除いた皮質が全周にわたり液化した。生後6, 12週齢ラット水晶体では、赤道部から前赤道部に至る皮質の膨化は実験開始後各々2週目、3週目に認められ、実験開始後各々4~6週目、10週目で赤道部最表層を除いた皮質全周にわたる液化へと進展した(図1)。生後24週齢ラットにおける白内障発症は実験開始後4~6週目であり、それは赤道部から前赤道部に至る皮質の軽度膨化で初発した。実験開始後16週目においても程度を強めた同部位の線維膨化・液化(図2)が認められただけで、このラットでは観察期間中、皮質全周にわたる液化あるいは再生正常線維による白内障修復像は見られなかった。

図3に50%ガラクトース負荷後の各生後週齢ラット水晶体に生じる白内障の経時的組織学的変化をまとめて図示した。

2. 生化学的測定結果

各群におけるガラクトール量測定結果を図4, 図5にまとめた。図4は水晶体蛋白あたり、図5は水晶体重量あたりのガラクトール量を示す。図6には水晶体重量あたりの水晶体蛋白量を示した。

生後3週齢ラット水晶体ガラクトール量は実量開始後急速に増加し、1週間後には最高値に達し、以後

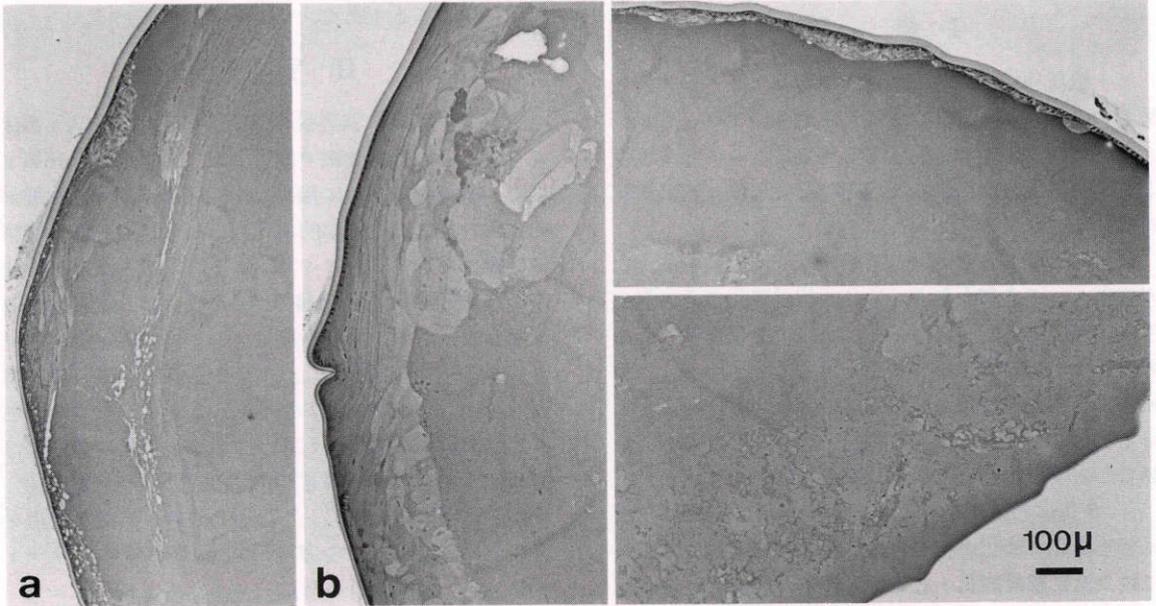


図1 生後6週齢ラットにおける50%濃度ガラクトース白内障顕像。(a) 実験開始1~2週後、赤道部から前赤道部皮質の膨化・液化で初発し、膨化部位は前・後皮質に向かって拡大、(b) 実験開始4~6週後では全周の皮質が液化している。(b) 左、右上、右下図は各々赤道部、前部、後部を示す。(トルイジン青染色、 $\times 90$)

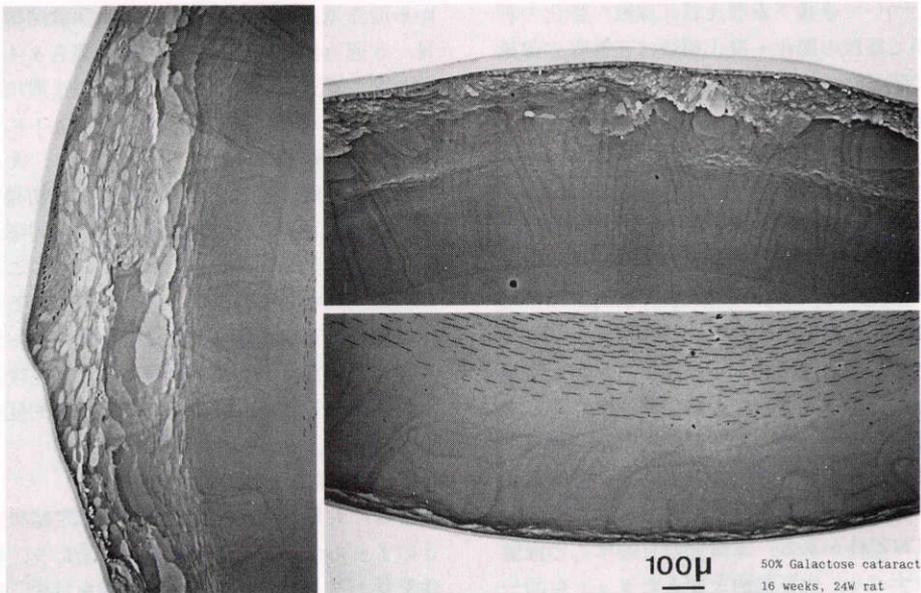


図2 生後24週齢ラット水晶体50%濃度ガラクトース食餌16週後顕像。赤道部から前赤道部に至る皮質の線維膨化・液化を認める。左、右上、右下図は各々水晶体赤道部、前極、後極部を示す。(トルイジン青染色、 $\times 70$)

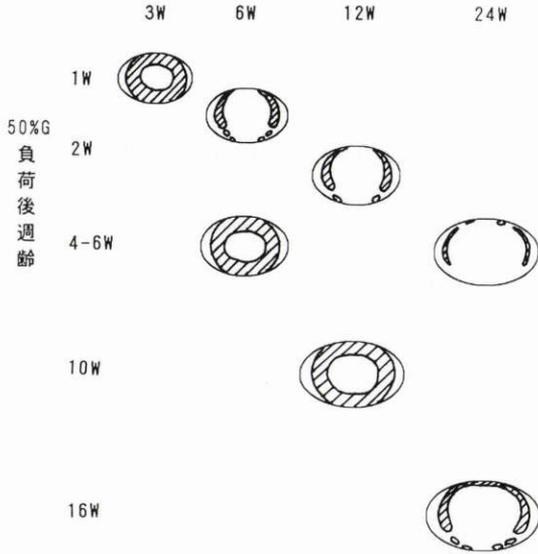


図3 50%濃度ガラクトース食餌飼育後の各生後週齢ラット水晶体に生じる白内障の経時的組織学的変化の模式図。

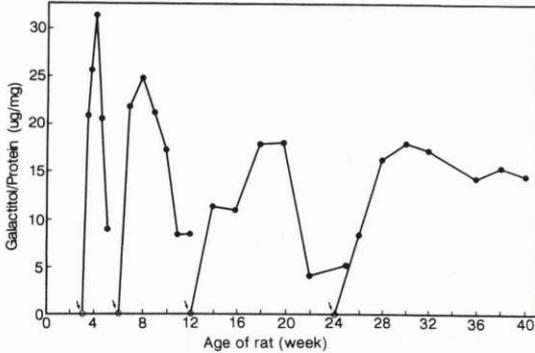


図4 各生後週齢ラットガラクトース白内障の水晶体蛋白あたりのガラクトール量経時的変化。横軸はラット生後週数, 縦軸はガラクトール量を示す。○印および矢印は各生後週齢ラットの実験開始日を示す。

急速に減少した。生後6, 12週齢ラット水晶体ガラクトール量も生後3週齢ラット水晶体のそれと同様の变化をし, 最高値に達したのち急速に減少した。しかし, その最高値に達するまでの経過および減少の経過は生後3週齢ラットに比べ, 順次緩やかであった。さらに生後24週齢ラット水晶体ではガラクトール量蓄積は最も緩徐で, 最高値に達したのちも急速に減少することはなかった。

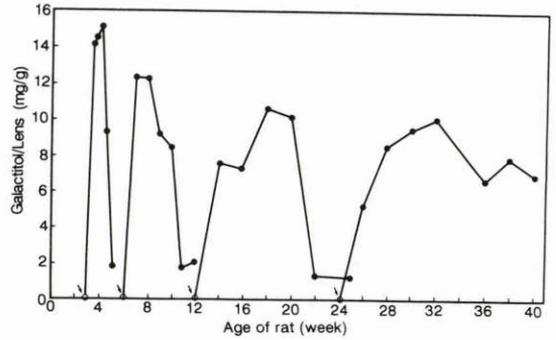


図5 各生後週齢ラットガラクトース白内障の水晶体湿重量あたりのガラクトール量経時的変化。横軸はラット生後週数, 縦軸はガラクトール量を示す。○印および矢印は各生後週齢ラットの実験開始日を示す。

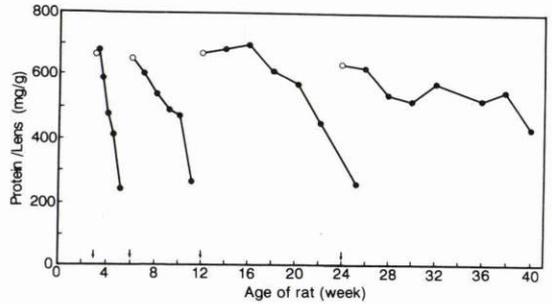


図6 各生後週齢ラットガラクトース白内障の水晶体湿重量あたりの蛋白質量経時的変化。横軸はラット生後週数, 縦軸は蛋白質量を示す。○印および矢印は各生後週齢ラットの実験開始日を示す。

IV 考 按

白内障発症様式におよぼす生後週齢の影響を検討する。結果的には, 今回の研究で用いたいずれの生後週齢のラット水晶体も, 50%濃度ガラクトース食餌に対し同じ白内障発症様式を示した(図3)。いずれの水晶体も赤道部から前赤道部にかけての表皮層質に線維膨化・液化が初発し, 前皮質, したいでに後皮質に線維膨化・液化が進展していった。つまり生後24週齢までのラット水晶体では, 50%濃度ガラクトース食餌下において, 生後週齢が白内障発症様式を変えるほどの影響(負の負荷)を及ぼさなかったと考えられる。一方, 25%濃度ガラクトース食餌で飼育された生後3週齢ラット水晶体⁶⁾と生後6週齢ラット水晶体³⁾とでは白内障発症様式が異なる。前者では白内障は赤道部から前赤道

部にかけての表層皮質の線維膨化・液化で発症するのに対し、後者では前囊下、ついで後囊下表層皮質に線維の膨化で初発する。つまり25%濃度ガラクトース食餌下では生後週齢が白内障発症様式を変え得る負の負荷になる。50%濃度ガラクトース食餌という負荷は、生後24週齢までは、生後週齢による負の負荷よりはるかに強力であったと言える。生後24週齢以上のラットではどうなるのか確かめる必要があると思われる。

白内障進展経過は、組織学的観察(図3)および生化学的測定結果(図4, 5)におけるガラクトチオール量蓄積速度・最大蓄積量が示すように、実験開始時の生後週齢が増すに従い緩徐となった。生後3, 6, 12週齢ラット水晶体では、観察期間中に全周皮質の液化にまで白内障は進展し(図1)、著明なタンパク質の漏出(図6)と共にガラクトチオール量は急激に減少した。しかし、生後24週齢ラット水晶体における白内障進展は極めて緩徐で、実験開始16週後においても、赤道部から前赤道部にかけての表層皮質の線維膨化・液化という白内障初期像を認めるだけであった(図2)。もちろんガラクトチオール量は緩やかに上昇し、最大蓄積量も他群に比べ低値であった。蓄積したガラクトチオールは他群とは全く異なり急激に減少することはなく、組織学的観察における極めて緩徐な白内障進展をうらづける。この現象は、生後週齢の違いによるラット水晶体上皮細胞の増殖能の差異により説明され得る。実際、生後24週齢ラットの水晶体上皮細胞の増殖帯における増殖能は、生後3週齢ラットのそれに比べると約1/6に低下していると報告されている⁷⁾。ラット水晶体は、赤道部での上皮細胞の増殖、線維細胞への変換、線維としての成長と生涯絶え間なく成長し続け、白内障はこのような環境の中で起こる線維崩壊であると考えられる。したがって、加齢による水晶体上皮細胞の増殖能の低下は新生水晶体線維の減少、ひいては線維崩壊の減少、緩徐なガラクトース白内障進展をもたらす。さらにアルドース還元酵素(AR)活性のラット生後週齢による変化を生化学的に調べた報告⁸⁾によると、水晶体単位蛋白質あたりのAR活性は生後週齢と反比例して減少する。この報告では生後10週齢までしかAR活性測定が行われていないが、生後週齢とともにさらにその活性は減少していくと思われる。つまり、水晶体上皮細胞の増殖能の低下とともに、水晶体単位蛋白質あたりのAR活性の低下が、加齢における緩徐なガ

ラクトース白内障進展をもたらしたといえる。生後24週齢ラット水晶体のガラクトース食餌飼育16週以降の白内障がどのようになるのか興味深い。徐々に全周皮質の線維膨化・液化へと進展していくかもしれないが、正常新生線維により白内障が修復され、水晶体の透明化へと向かう可能性も上記の2つの要素から大いにあると推測される。つまり、加齢による水晶体上皮細胞の増殖能の低下と水晶体単位蛋白質あたりのAR活性の減少との天秤の關係に依存すると考えられる。AR活性が極めて減少していれば水晶体はゆっくりでも透明化に向い、その反対であれば白内障はゆっくり進展していく。

本研究により、ラットガラクトース白内障は、ラット生後週齢の増加とともに同程度の負荷強度に対して白内障を発症しにくくなることが明らかになった。このことより糖尿病性白内障は若年者においては容易に発症するが、高齢者では発症しにくい、もしくは修復されてしまう可能性があると思われる。

本論文の要旨は第94回日本眼科学会にて発表した。

文 献

- 1) Kinoshita JH: Cataracts in galactosemia. Invest Ophthalmol 4: 786-799, 1965.
- 2) Kinoshita JH: Mechanism initiating cataract formation. Invest Ophthalmol 13: 713-724, 1974.
- 3) 赤木好男, 照林宏文, 池部 均, 他: ラットガラクトース白内障の発症・進展について. 眼紀 40: 1985-1991, 1989.
- 4) 赤木好男, 池部 均, 照林宏文, 他: アルドース還元酵素阻害剤(ARI)の白内障抑制効果形態学的判定基準について. 日眼会誌 93: 494-500, 1989.
- 5) Dethy J-M, Callaert-Deveen B: Determination of sorbitol and galactitol at the nanogram level in biological samples by high performance liquid chromatography. Analytical Biochemistry 143: 119-124, 1984.
- 6) 辻 俊明, 松本康宏, 森 和彦, 他: 新しいアルドース還元酵素阻害剤(FR74366)のラットガラクトース白内障に対する効果. 日眼会誌 94: 120-127, 1990.
- 7) 照林宏文, 茨木信博, 辻 俊明, 他: 全伸展標本による水晶体上皮細胞増殖能の検討。(1)正常ラット水晶体の老齢化による変化. 日眼会誌 95: 222-227, 1991.
- 8) 赤木好男: ラット糖白内障とアルドース還元酵素阻害剤(ARI). 日本白内障学会誌 2: 1-13, 1990.