

未熟児網膜症剖検眼の病理組織学的検討

—境界部付近を中心に—

向野 利寛¹⁾, 秋谷 忍²⁾, 向野 利彦³⁾¹⁾福岡大学医学部眼科学教室, ²⁾産業医科大学眼科学教室, ³⁾九州大学医学部眼科学教室

要 約

在胎 32 週, 出生時体重 1,255 g の男児で, 72 生日の眼底検査にて鼻側を除く赤道部に無血管野と隆起 (ridge) が観察され未熟児網膜症 I 型 3 期の中期 (国際分類 zone II, stage 3) と診断された症例で, 死後摘出した眼球を光学顕微鏡, 電子顕微鏡で観察した。境界線付近には周辺側に幼若な間葉系細胞の増殖 (vanguard) と後極側に glomeruloid tuft (rearguard) がみられ, その境から硝子体中へ未熟な間葉系細胞が伸展して, 網膜上に血管を伴う増殖組織が形成されていた。網膜上増殖組織は血管と幼若な間葉系細胞および小管腔をもつ内皮細胞から形成されており, グリア細胞はみられなかった。このことから未熟児網膜症における網膜外線維血管組織にはグリア細胞は関与しないと考えられた。また, 無血管野にみられる紡錘型細胞はその周囲にみられるグリア細胞とは異なっており, 間葉系細胞と考えられた。(日眼会誌 96:1026-1032, 1992)

キーワード: 未熟児網膜症, 光学顕微鏡, 電子顕微鏡, 間葉系細胞, 新生血管

Histopathological Study of Retinopathy of Prematurity

Toshihiro Kono¹⁾, Shinobu Akiya²⁾ and Toshihiko Kohno³⁾¹⁾Department of Ophthalmology, Faculty of Medicine, Fukuoka University²⁾Department of Ophthalmology, University of Occupational and Environmental Health³⁾Department of Ophthalmology, Faculty of Medicine, Kyushu University

Abstract

Using light and electron microscopy, we studied the histopathological findings of retinopathy of prematurity (zone II, stage 3). The infant was born at 32-week gestational period and the birth weight was 1,255 g. He suffered from intracranial hemorrhage and hydrocephalus, and died at 78 days old. The ophthalmoscopic findings of both eyes at 72 days after birth showed that the intermedia was clear. The optic disc and posterior pole showed normal findings. Ridge formation with non-vascularized retina was seen at the equator of all quadrants of the fundus except the nasal quadrant of retina. Light and electron microscopic studies showed the following; in the most periphery of the vascularized retina, endothelial cell proliferation with the capillary lumen of glomeruloid tufts (rearguard) were seen. There were the aggregation of immature mesenchymal cells (vanguard) near to the rearguard. The cytoplasmic organelles of spindle cells in the non-vascularized retina were different from those of surrounding glial cell. Therefore, they were thought to be mesenchymal cells in the non-vascularized retina. Between the vanguard and the rearguard, the proliferative tissues composed of immature

別刷請求先: 818 筑紫野市大字俗明院 377-1 福岡大学筑紫病院眼科 向野 利寛
(平成 3 年 10 月 15 日受付, 平成 4 年 3 月 18 日改訂受理)

Reprint requests to: Toshihiro Kono, M.D. Department of Ophthalmology, Fukuoka University Chikushi Hospital, 377-1 Ooaza Zokumyoin, Chikushino 818, Japan

(Received October 15, 1991 and accepted in revised form March 18, 1992)

endothelial cells and mesenchymal cells extended into the vitreous body through the inner limiting membranes, and they formed the fibrovascular membranes on the retina. It was concluded that fibrovascular proliferation on the retinal surface in the active case of retinopathy of prematurity was composed of immature endothelial cells with vascular lumen and mesenchymal cells. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 96: 1026-1032, 1992)

Key words: Retinopathy of prematurity, Light microscope, Electron microscope, Mesenchymal cell, Neovascularization

I 緒 言

未熟児網膜症では網膜血管先端部で無血管帯との境に境界線が形成され、その後硝子体中へ血管新生が起こり、いわゆる隆起 (ridge) が形成される。病変がさらに進行するとこの隆起より網膜外線維血管性組織の増殖が強まり網膜に牽引が加わり網膜剝離を引き起こすことが知られている¹⁾。未熟児網膜症の本態は発達過程の網膜血管における血管病変とされ、病理組織学的には新生血管が硝子体中へと伸展した状態と考えられる¹⁾²⁾。

本邦においても摘出人眼での病理組織学的報告はみられる³⁾⁻⁶⁾が、その病態は光凝固などの治療により自然経過が変化したり、臨床経過の観察が十分でない場合が多く、臨床所見と対比できた例は少ない。Fooks⁷⁾⁸⁾は剖検で得られた眼球を検索して、網膜血管の先端部付近には幼若な間葉系細胞からなる vanguard (前衛) と未熟な内皮細胞からなりときに glomeruloid tuft 様の形態を呈する rearguard (後衛) が存在すること、未熟児網膜症が進行すると、vanguard と rearguard の境から血管が硝子体中へ伸展して ridge を形成することを述べている。この病理組織学的変化は臨床観察における病期の進展状態と類似している。

今回、私達は経過観察中に境界線を形成し、さらに硝子体中への血管の立ち上がりが見られ、最終診察後約1週で死亡した未熟児網膜症I型3期中の中期(国際分類 zone II, stage 3)の症例の摘出眼球の境界線部付近を中心に光学顕微鏡および電子顕微鏡にて観察を行い若干の知見を得たので報告する。

II 症例および方法

症例：生後78日の男児。

現病歴：1989年1月1日に胎32週、体重1,255gで出生した。重症仮死のために直ちに産科大学病院小児科に入院した。保育器にて fraction of inhaled

oxygen (FiO₂) 70% で治療開始、その日のうちに FiO₂ 45% になった。全身的には CT 検査で頭蓋内出血、水頭症を指摘されている。また、動脈管開存症もみられた。

1989年2月2日(生後33日目)に眼科を初診した。

眼科的所見および経過：初診時(生後33日目)、両眼とも中間透光体の混濁は軽度で、眼底の透見は良好であった。視神経乳頭を含めて後極部に著変はみられなかったが、網膜血管は赤道部までしか成育しておらず、全周に無血管帯が認められた。無血管帯の色調は蒼白で浮腫状であった。生後59日目には耳側に境界線が認められた。生後72日目には耳側に隆起(ridge)が認められ、この部で網膜面より立上がり硝子体腔へむかう増殖組織の形成がみられた。鼻側には境界線は明らかではなかった。その後、全身状態が悪化したために眼底検査は行えなかった。1989年3月19日(生後78日目)肺炎による呼吸不全のために死亡した。両親の同意を得て、死後14時間後に眼球摘出を行った。

方法：摘出眼球は直ちに3%グルタルアルデヒド・0.1M カコジル酸緩衝液に浸漬した。摘出36時間後に眼球を上下に半切した後、実体顕微鏡で観察した。上半分は10%ホルマリンに漬け、パラフィン包埋して切片を作成、HE染色を行って光学顕微鏡で観察した。下半分はさらに24時間3%グルタルアルデヒド・0.1M カコジル酸緩衝液に浸し、各部位毎に細切した。1%オスミウム酸で後固定した後、アルコール系列で脱水し、エポキシ樹脂に包埋して電子顕微鏡用試料とした。切片はポータープラム MTII 型超ミクロトームで作成し、厚めの切片はトルイジン青染色後、光学顕微鏡観察を行い、超薄切片は酢酸ウラニールとクエン酸鉛で2重染色を行った後、日本電子 MT 100 型電子顕微鏡にて観察した。

III 結 果

実体顕微鏡で観察すると、硝子体は白濁していたが、

詳細に観察すると、鼻側を除く全周の赤道部付近に肥厚した網膜上増殖組織がみられた。網膜剥離はみられなかった。

光学顕微鏡で観察すると、後極部では網膜は正常の層状構造を呈しており、網膜剥離はみられなかった(図1)。この部位の網膜血管には異常はみられなかった。

検眼鏡的に鼻側赤道部では境界線はみられなかったが、光学顕微鏡観察では網膜血管がみられなくなる無血管野との境界部で、網膜は局限在に肥厚して網膜内層に多数の紡錘型細胞がみられた。この境界領域では

網膜上に少数の血管を伴う増殖組織がみられることもあった(図2)。無血管野では網膜の肥厚はなく、網膜内層に多数の紡錘型細胞がみられた。網膜浮腫はみられなかった。

耳側赤道部の肥厚した網膜上増殖組織のある部では、網膜血管の形態は不明瞭となり、血管の最先端部付近に glomeruloid tuft が観察された (rearguard)。その周辺側には多数の紡錘型細胞が密に集合しており、網膜内層は肥厚していた (vanguard)。そして、

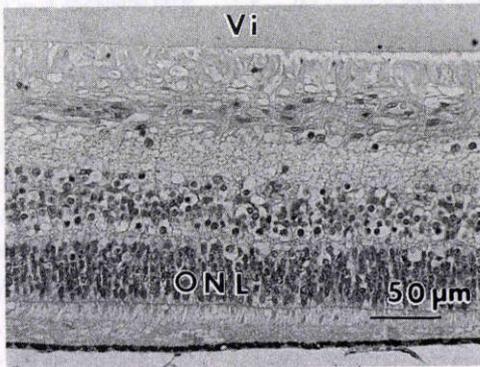


図1 左眼後極部網膜の光学顕微鏡写真。網膜は正常の構造を示し、異常を認めない。Vi：硝子体，ONL：外顆粒層(ヘマトキシリン，エオジン染色，×190)。

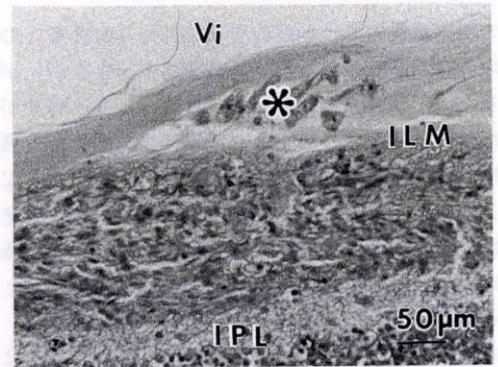


図2 左眼鼻側赤道部網膜の光学顕微鏡写真。網膜内層には多くの間葉系細胞がみられ、硝子体(Vi)中に新生血管(*)が形成されている。ILM：内境界膜，IPL：内網状層(ヘマトキシリン，エオジン染色，×130)。

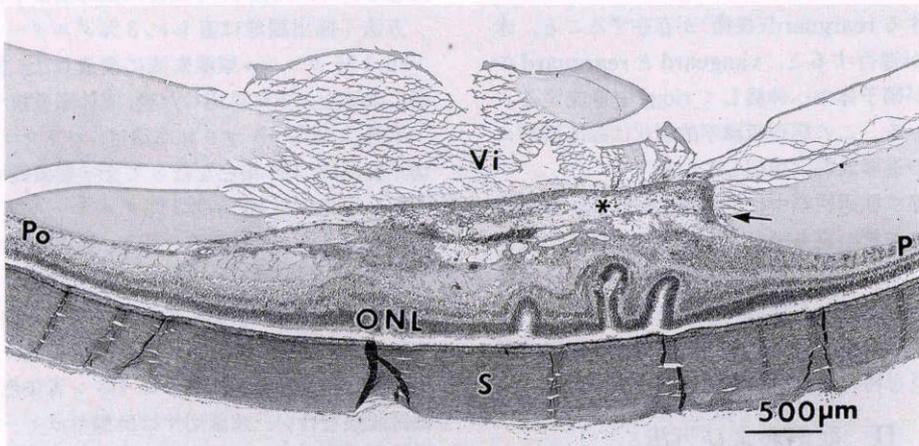


図3 左眼耳側赤道部の網膜上増殖組織の部の光学顕微鏡写真。網膜血管が追えなくなる所で増殖組織(*)が網膜表面に形成され、後極側へ伸びている。網膜外層には皺襞形成がみられる。Po：後極側，P：周辺側，Vi：硝子体，ONL：外顆粒層，S：強膜(ヘマトキシリン，エオジン染色，×20)。

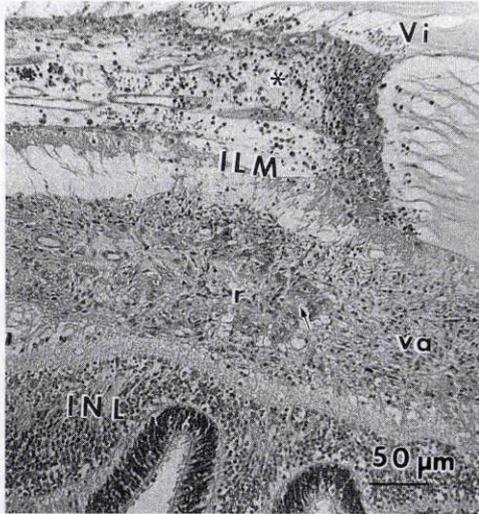


図4 図3矢印の部の拡大光学顕微鏡写真。
網膜内に glomeruloid tuft (矢印) がみられる rear-guard (r) とその周辺に vanguard (va) がみられ、その間より増殖組織 (*) が硝子体 (Vi) 中へ伸展している。
ILM: 内境界膜, INL: 内顆粒層 (ヘマトキシリン, エオジン染色, ×160)。

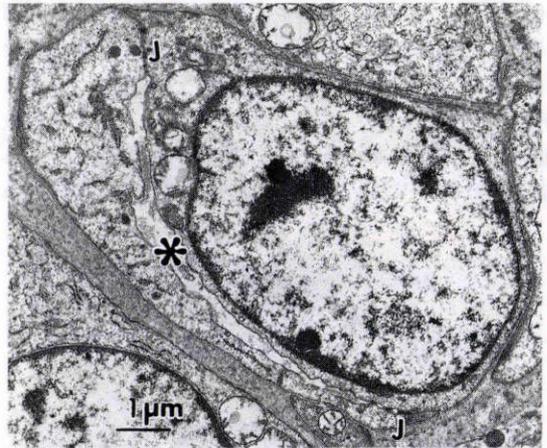


図6 図5の矢印の部の拡大電子顕微鏡写真。
大きな明るい核をもち、胞体内にミトコンドリアや粗面小胞体をもつ細胞が、接着装置 (J) をもち、その間に管腔 (*) を形成している。×7,200。

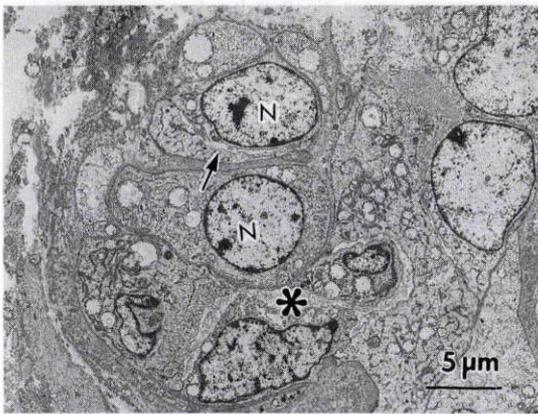


図5 図4の矢印の部位の電子顕微鏡写真。
やや肥厚した基底膜様物質の中に明るい核 (N) をもつ細胞がみられる。その間には、管腔様構造 (*) が観察される。×2,000。

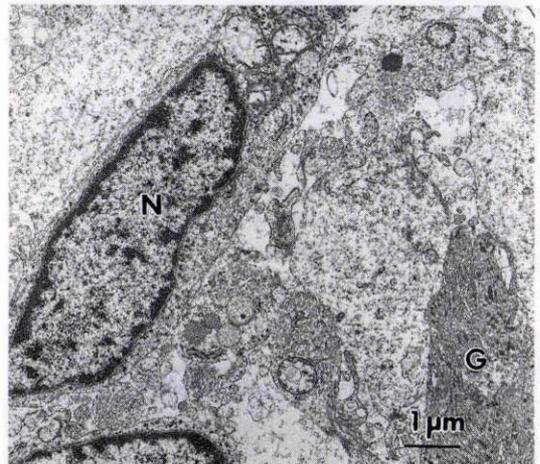


図7 Vanguardの部の電子顕微鏡写真。
紡錘形のややクロマチンに富む核 (N) と胞体内に粗面小胞体、リソソームをもつ細胞がみられる。その周囲には基底膜様物質があり、さらに、胞体内に多数のフィラメントや滑面小胞体をもつグリア細胞 (G) がみられる。×7,400。

rear-guard と vanguard の間から硝子体中へ多数の未熟な細胞が伸展して網膜上に増殖組織を形成していた (図3, 4)。この増殖組織は内境界膜を貫く部位より後極側へ向かって伸展しており、周辺側には増殖組織はみられなかった。増殖組織内の新生血管は時に網膜

内の拡張した血管と連絡していた。網膜は vanguard から後極側で硝子体側へ牽引されて網膜外層に皺襞形成がみられ、一部で網膜内層に著明な浮腫が認められた。しかし、網膜下には滲出液はなく、網膜剝離はみられなかった (図3)。Rear-guard を構成する細胞を、電子顕微鏡で観察すると、明るく大きな核をもつ数個の細胞がその周囲に基底膜様構造をもって円形に配列

していた。そして、その中に管腔構造がみられた(図5)。この管腔周囲の細胞は所々で細胞間に接着装置をもっており、未熟な内皮細胞が血管を形成しつつある所見と考えられた。また、空隙の周囲に互いに接着装置をもつ細胞がみられたが、未熟な内皮細胞と考えられた(図6)。Vanguardにみられる細胞は、楕円形の

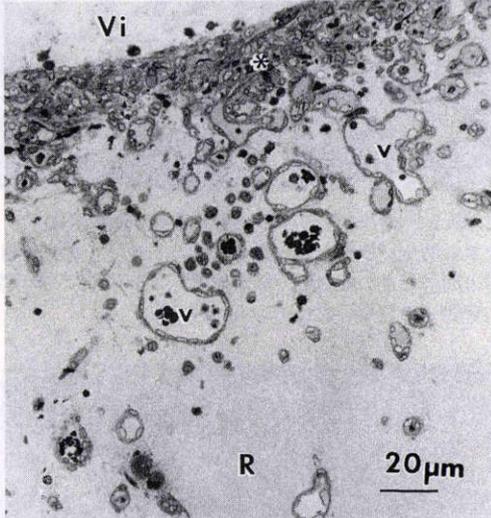


図8 網膜上増殖組織の拡大光学顕微鏡写真。硝子体(Vi)側には幼若な間葉系細胞(*)が存在している。網膜側(R)では明らかな血管(v)がみられるが、細胞成分はきわめて少ない。(トルイジン青染色, $\times 380$)。

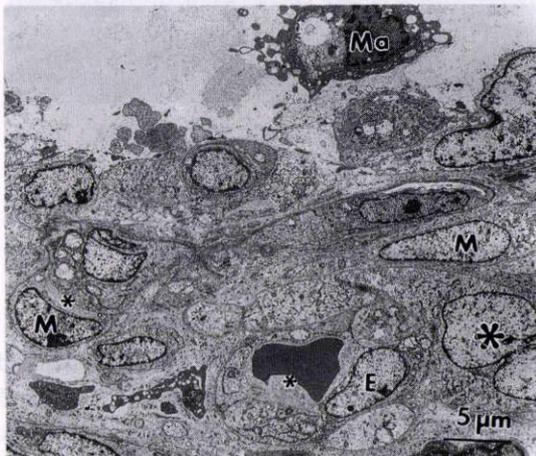


図9 図8の*の部位の電子顕微鏡写真。間葉系細胞(M)とともに、未発達な内皮細胞(E)と管腔(*)からなる毛細血管がみられる。硝子体内には食食細胞(Ma)が存在している。 $\times 2,000$ 。

クロマチンに富む核を持っていたが、細胞内小器官の形態はその周囲にみられるグリア細胞のそれとは、明らかに異なっており間葉系細胞と考えられた(図7)。

網膜上増殖組織の網膜側では疎な線維性組織の間に、はっきりした管腔とその周囲に一層のやや大きな円形の核を持つ内皮細胞をもつ血管から構成されていたが、周辺細胞は明らかでなかった。増殖組織の硝子

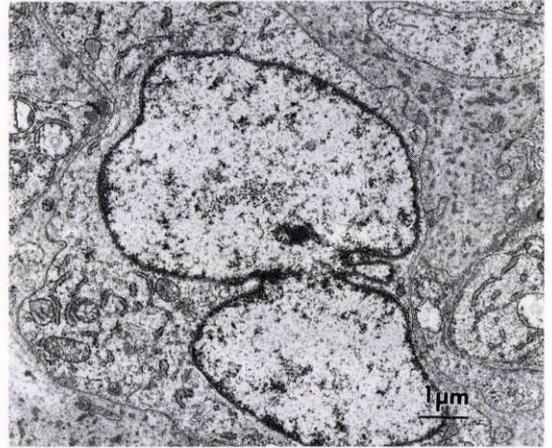


図10 図9の*印の部の拡大電子顕微鏡写真。明るく大きな核をもち、胞体内に多くの粗面小胞体をもち、幼若な間葉系細胞と考えられる。管腔はみられない。 $\times 7,200$ 。

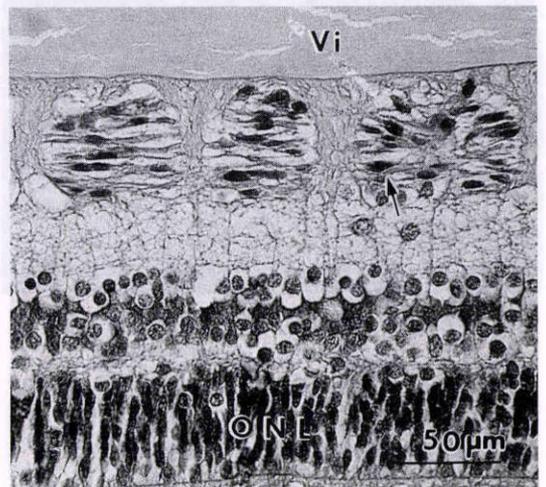


図11 左眼無血管帯の部の光学顕微鏡写真。境界線より周辺の網膜内層には紡錘型細胞(矢印)が多数認められる。網膜浮腫や網膜剥離はみられない。Vi:硝子体, ONL:外顆粒層(ヘマトキシリン, エオジン染色, $\times 300$)。

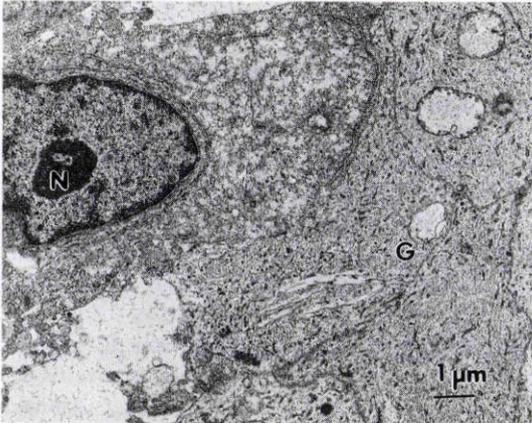


図12 図11の矢印の部位の電子顕微鏡写真。紡錘型細胞(N)の周囲に胞体内に多数のフィラメントや滑面小胞体、接着装置をもつグリア細胞(G)が存在している。紡錘型細胞とは明らかに細胞内小器官の構成が異なっている。×7,000。

体側では円形ないしは楕円形の大きな核を持つ未分化な細胞が集簇していた(図8)。電子顕微鏡で観察すると、マクロファージや血液由来細胞以外に、細胞間に管腔を有する未熟な内皮細胞もみられ、一部には管腔内に赤血球も認められた(図9)。管腔をもたない細胞は細胞内小器官として、ミトコンドリアや粗面小胞体、リボソームを有する間葉系細胞であった(図10)。

Vanguardの周辺側では血管はみられず、網膜内層に数層の紡錘型細胞がみられるのみで、網膜内に浮腫や層構造の乱れは観察されなかった(図11)。この紡錘型細胞を電子顕微鏡で観察すると、全体に無構造で、細胞内小器官に乏しく、わずかに粗面小胞体のみみられた。その周囲に存在するグリア細胞は、細胞内小器官として多数の滑面小胞体を有しており、明瞭に構造が異なっており(図12)、無血管野にみられる紡錘型細胞はむしろ幼若な間葉系細胞と考えられた。

IV 考 按

網膜血管の発生は視神経乳頭から血管が網膜内を伸びて周辺部に達して形成されることが知られている⁹⁾。その際、伸びて行く網膜血管の先端では間葉系細胞が増殖してglomeruloid tuftとして観察される部位や多数の未熟な間葉系細胞がある部位がみられる。この所見は生理的状态と考えられ、未熟児網膜症の発症はこれら未熟な間葉系細胞が硝子体中へ伸展した時期とするのがよいとされている²⁾。今回の症例では生前、

検眼鏡的に境界線の後極側から硝子体中へ線維血管性組織の立ち上がりが見られた。光学顕微鏡および電子顕微鏡観察では、耳側赤道部の網膜血管の形態が不明瞭になる部位で、glomeruloid tuftがみられ、その周辺側に多数の紡錘型細胞が存在していた。そして、vanguardとrearguardの境から硝子体中へ未熟な間葉系細胞が伸展していた。臨床的に観察できる新生血管の立ち上がりから隆起(ridge)形成へいたる所見と一致した組織像であった。境界線が何から形成されるかは意見の分かれるところであるが、今回の観察ではvanguardにおける間葉系細胞の網膜内での増殖が境界線を形成すると考えられた。

網膜上にみられた増殖組織は臨床観察で明らかのように境界線のすぐ後極側から硝子体中へ伸展していた。臨床的に隆起(ridge)と呼ばれる変化と考えられる。この網膜上増殖組織の硝子体側では網膜内と同様に円形ないしは楕円形の核を持つ幼若な間葉系細胞とともに大きな円形の核を持つ未熟な内皮細胞が管腔を持ち、血管を形成している所見がみられた。しかし、増殖組織内の網膜側では間葉系細胞はほとんどなく、ほぼ成熟した一層の内皮細胞からなる新生血管が主体であった。網膜血管が正常の発育をしていく場合、血管の先端部には常に幼若な間葉系細胞がみられる¹⁰⁾。境界線上にみられる増殖組織は網膜周辺部に向って伸びなかった血管形成細胞が硝子体側へ伸びて形成されたと考えられた。

今回の観察では、硝子体腔内へ伸びた増殖組織内にはグリア細胞は観察できなかった。de Juan¹¹⁾は未熟児網膜症に対する硝子体手術中に採取した増殖組織を観察し、臨床的に非活動性症例では増殖組織中にグリア細胞がみられたが、活動性症例ではグリア細胞は観察されなかったと述べており、今回の観察と一致する。また、植村¹²⁾も未熟児網膜症3期で死亡した症例の眼球を病理組織学的に再検討して、網膜外線維血管性組織にはグリア細胞はほとんど関与していないと報告している。少なくとも活動期の未熟児網膜症ではグリア細胞は関与しないものと考えられる。

未熟児網膜症における他の興味は無血管野にみられる多数の紡錘型細胞である。この細胞はグリア細胞説⁹⁾¹³⁾と間葉系細胞説²⁾⁶⁾⁷⁾がある。今回の観察では紡錘型細胞とグリア細胞は細胞内小器官の相違から容易に区別できた。無血管野にみられる紡錘型細胞はグリア細胞ではなく、間葉系細胞と考えられた。

稿を終えるにあたり、福岡大学大島健司教授のご校閲に

