

ラット角膜上皮移植における病理並びに免疫組織化学的研究

曾 根 隆一郎

東京医科大学眼科学教室

要 約

ラットを用いて角膜上皮移植を行い拒絶反応及び角膜上皮の再生について検討した。方法として Lewis ラットに機械的角膜上皮欠損を作製し、2片の lenticule (DA ラット) を強角膜輪部に移植し細隙灯顕微鏡で術後 21 日まで観察した。眼球を摘出し Hematoxylin-eosin (H-E), Periodic Acid Schiff (PAS) 染色を行い光学顕微鏡で観察し、また W 3/25, OX 8, OX 6 のモノクローナル抗体を用い Peroxidase-antiperoxidase (PAP) 法にて浸潤細胞を解析した。その結果、術後 6 日前後で上皮層の再生は終了した。術後 10 日、表層性角膜炎を認め、ヘルパー及び細胞障害性 T cell, Ia 抗原陽性細胞等が lenticule と再生上皮部に強く浸潤し拒絶反応が認められた。術後 21 日、lenticule とその再生上皮層にゴブレット細胞が観察された。同種同系移植を行ったコントロールでは lenticule 及び再生上皮層にはゴブレット細胞は観察されなかった。上皮移植の拒絶反応は、lenticule 側より発症し lenticule と再生上皮の双方が障害され、レシピエントの結膜上皮に置換されると思われた。(日眼会誌 96:34-44, 1992)

キーワード：角膜上皮移植, 上皮型拒絶反応, ゴブレット細胞, モノクローナル抗体

Pathological and Immunohistochemical Evaluation of Keratoepithelioplasty in Rats

Ryuichiro Sone

Department of Ophthalmology, Tokyo Medical College

Abstract

Keratoepithelioplasty was performed in the rat and epithelial rejection and epithelial regeneration were evaluated pathologically and immunohistochemically. A mechanical corneal epithelial defect was prepared in Lewis rats. Two lenticules, obtained from DA rats were grafted and postoperative observations were performed using a slitlamp microscope up to the 21st day. The same procedure was performed between Lewis rats only, as the control group (syngeneic model). Eyeballs were enucleated, and Hematoxylin-eosin (H-E) and Periodic Acid Schiff (PAS) staining were performed to allow observation by light microscopy. In addition, eyeballs were examined after staining by the Peroxidase-antiperoxidase (PAP) method using three kinds of monoclonal antibodies (W3/25, OX8 and OX6). Reepithelialization was completed by approximately postoperative day 6. Superficial keratitis occurred at postoperative day 10. Intense infiltration of helper T cells, cytotoxic T cells, Ia antigen positive cells, and neutrophils in the lenticules, regenerated epithelium, and beneath the regenerated epithelium was accompanied by rejection. On postoperative day 21, goblet cells were observed in the lenticules and its regenerated epithelial layer. There were no goblet cells in the

別刷請求先：160 新宿区西新宿 6-7-1 東京医科大学眼科学教室 曾根 隆一郎

(平成 2 年 11 月 16 日受付, 平成 3 年 5 月 22 日改訂受理)

Reprint requests to: Ryuichiro Sone, M.D. Department of Ophthalmology, Tokyo Medical College, 6-7-1 Nishishinjuku, Shinjuku-ku 160, Japan

(Received November 16, 1990 and accepted in revised form May 22, 1991)

lenticule and its regenerated epithelial layer of the control groups. Epithelial rejection began on the lenticular side, and rejected both the lenticules and the regenerated epithelium. The recovered corneal epithelium, migrated from the lenticules seemed to be replaced by regenerating conjunctival epithelium of the recipient. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 96 : 34-44, 1992)

Key words : Keratoepithelioplasty, Epithelial rejection, Goblet cell, Monoclonal antibody

I 緒言

重篤な熱や化学腐食などによる難治性角結膜疾患においては癒痕形成による線維芽細胞などの結合組織が欠損した角膜上皮に対して眼表面を覆いその正常な構築を失う。このような症例に対する角膜移植の予後は不良である¹⁾²⁾。1977年 Thoft³⁾は、片眼性の受傷眼に対し結膜由来の再生上皮により眼表面の再構築をはかる自己結膜移植手術の良好な治療成績を述べている。しかし角膜混濁の程度によっては術後角膜の透明性が不十分であったり血管侵入が著しく临床上十分満足の得られる結果とはいえなかった。また、外傷が両眼に及ぶ症例では適応とならないなどの問題があった。その後1984年 Thoft⁴⁾により角膜上皮移植 (Keratoepithelioplasty) の手術手技及び良好な臨床成績が報告された。本術式は本邦においても木下ら⁵⁾により報告され、ocular surface diseases に対しすぐれた術式として広く行われてきた。しかし本術式は臨床面で広く浸透しているにもかかわらず、頻発する拒絶反応の発症機転やそれに続く再生上皮層の変化などに対する基礎的な実験的研究が少なく⁶⁾⁷⁾、上皮型拒絶反応を免疫組織化学的に検討した報告は見られない。そこで今回、主要組織適合抗原の相異なる2種のラットを用いて角膜上皮移植を行い、拒絶反応並びにそれに伴う再生上皮の変化について病理並びに免疫組織化学的に検討した。

II 実験方法

1. 対象：実験動物として7週齢雄（体重200～250 kg）の Dark Agouti（以下 DA と略す）及び Lewis strain（以下 LEW と略す）ラットを用いた。この2種類のラット間では全層角膜移植において12日前後で拒絶反応が発症する⁸⁾ことが知られており、拒絶モデルとしてこの系を用い（DA → LEW 間）、コントロールとして同種同系移植（LEW → LEW 間）を行った。

2. 方法：拒絶モデル（同種異系移植）を以下の方法にて作製した。1) 塩酸ケタミン筋注にて安静を保った LEW ラットの角膜上皮を MQA[®]にて機械的に剝離

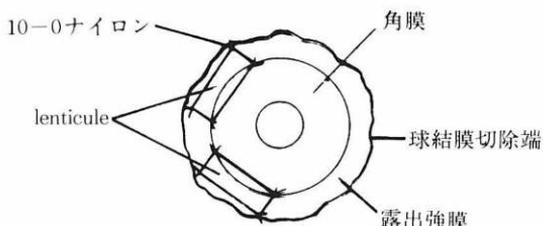


図1 角膜上皮を剝離し球結膜を輪部より全周切除し露出した強膜に lenticule を2片、10-0 ナイロン糸にて各々四端を結節縫合した。

しさらに輪部から約2 mm 幅の結膜を全周切除し切除端結膜をバクレンにて焼灼した。2) DA ラットの角膜に4 mm のトレパンにてマーキング後カミソリ刃にて半層切開をいれバックス剪刀にてわずかな実質を含む上皮移植片 (lenticule : 約2×3 mm) を2片作製した。3) 作製した lenticule を LEW ラットの輪部に2片隣接して置き、各々四端を10-0 ナイロン糸にて結節縫合し、部分的上皮移植モデルを作製した(図1)。コントロールとして同種同系移植モデルを同様の方法にて作製した。各々の移植モデルでは眼球を摘出するまで抗生物質とステロイド(リンデロン[®])の点眼を1日に3回施行した。術後細隙灯顕微鏡にて経時的に観察し、上皮再生過程の4日、上皮再生の終了した7日、臨床的に lenticule 及び再生上皮の混濁を来たした10日及び14日、そして混濁が軽快している21日にジエチルエーテルの全麻下において眼球を摘出した。病理組織学的検索は眼球をただちにホルマリンで固定し、H-E 及び PAS 染色を施した後、光学顕微鏡にて施行した。免疫組織化学的検索に用いた眼球はそのまま O.C.T. コンパウンド[®] (Lab-tek 社) に凍結包埋し、6 μm に薄切後、PAP 法にて染色を施し浸潤細胞の解析を行った(図2)。浸潤の程度は lenticule, lenticule 由来再生角膜上皮、結膜由来再生上皮の3カ所において、光学顕微鏡にて400倍の倍率下で観察し陽性細胞をかぞえた。モノクローナル抗体は OX 6 (Ia 抗原陽性細胞)、W 3/25 (ヘルパー、インデューサー T cell)、OX 8 (サ

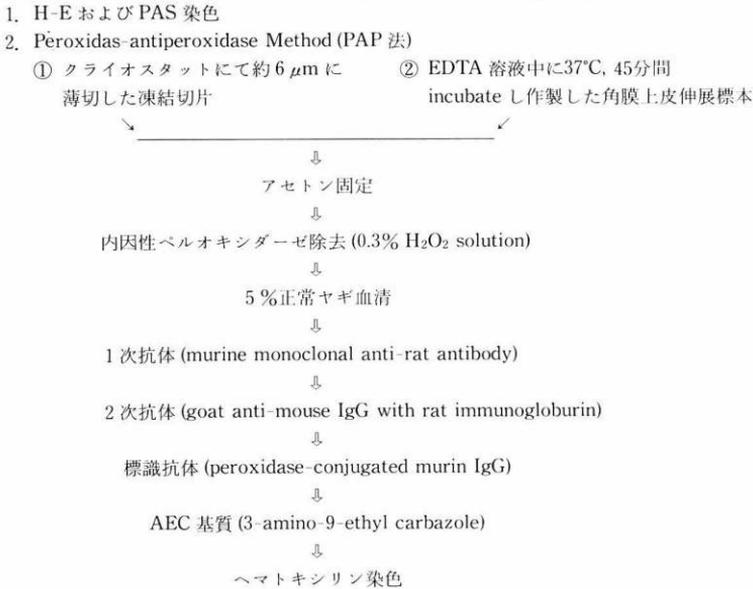


図2 染色法.

プレッサー, 細胞障害性 T cell) の 3 種 (オーソイムノステイニングシステム; ユニバーサルキット sera-lab 社) を用いた. 更に上皮層の Ia 抗原陽性細胞については, Juhlin ら⁹⁾の方法に準じて作製した角膜上皮の伸展標本からも観察した. 実験モデルは病理並びに免疫組織化学的検索には各摘出時期につき 4 眼ずつ作製した (拒絶モデル, コントロール群各々 n=40).

III 結 果

1. 術後細隙灯顕微鏡検査所見: 術後 1 日目 lenticule は透明性を維持しレンビエントとの接着は良く上皮の脱落も認められなかった. レンビエントの角膜上皮は全体に欠損しフルオレスセインに染色された (図 3-1 D). 術後 2 日目, 露出した角膜表面に lenticule 由来の再生角膜上皮がわずかに認められた (図 3-2 D). 術後 4 日目移植片よりの上皮の再生は勢いよく求心性に伸展しているが, 同時に対側からも結膜由来と思われる上皮再生が観察された (図 3-4 D). 術後 6 日前後で lenticule と結膜由来の再生上皮で角膜全体は被覆された. またこの時, 角膜周辺部には一部血管侵入を認めた (図 3-6 D). 術後 10 日目, lenticule は浮腫性混濁を呈し角膜上皮にはびまん性表層角膜炎を認め臨床上, 拒絶反応が出現した事を示唆する所見と思われた (図 4-10 D). 術後 14 日目では

角膜上皮の混濁は遷延していたが, 術後 21 日目には一部瞳孔領が透見できる程に lenticule 及び角膜の浮腫性混濁は軽減し lenticule は周囲の組織と一部判別不明瞭となった (図 4-14, 21 D).

2. 病理及び免疫組織化学的所見: 術後 4 日目, lenticule には細胞浸潤はなく角膜上皮欠損部には lenticule 由来の再生上皮と対側の自己結膜由来の再生上皮が見られるが, 完全には角膜表面は被覆されていなかった (図 5-4 D). 術後 7 日目, 角膜は全体に再生上皮で覆われ lenticule 由来再生角膜上皮は 1 層の比較的安定した基底細胞と 2~3 層の扁平上皮よりなっていた. lenticule 実質下レンビエントとの接合部には (図 5-7 D * 印) 新生血管と軽度細胞浸潤を認めたがコントロールとは差はなかった. 術後 10 日目, lenticule 実質には多数の血管侵入と強い細胞浸潤を認めた. また再生角膜上皮下実質にも同様に強い浸潤を認めたが, 対側の結膜由来再生上皮下には認められなかった (図 6). 浸潤細胞は小型リンパ球を主体に好中球から構成され lenticule と lenticule 由来再生角膜上皮は erosion を来たし一部変性していた (図 7). 術後 21 日, コントロールでは反対側の再生上皮にゴブレット細胞を認めるのみであるが, 拒絶モデルでは lenticule 並びにその再生上皮層にもゴブレット細胞が観察された (図 8). 術後薄切標本における W 3/25,

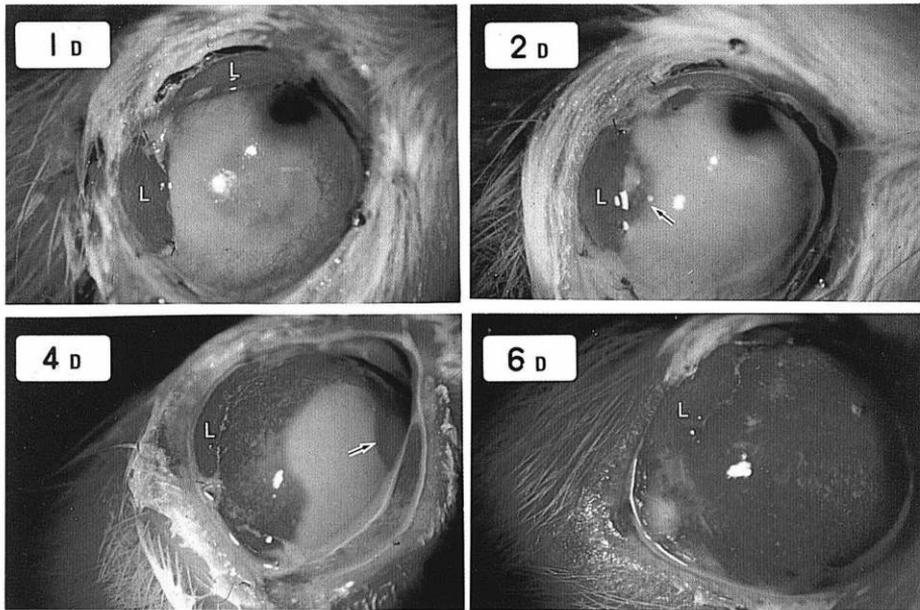


図3 術後外眼所見 (L; lenticule)。術後1日目 (1D) lenticule は透明性を維持し上皮の脱落は認められない。術後2日目 (2D) lenticule より上皮の再生が認められる (矢印)。術後4日目 (4D) lenticule 対側よりも上皮の再生を認める (矢印)。術後6日目 (6D) 角膜は全体に再生上皮で被覆される。

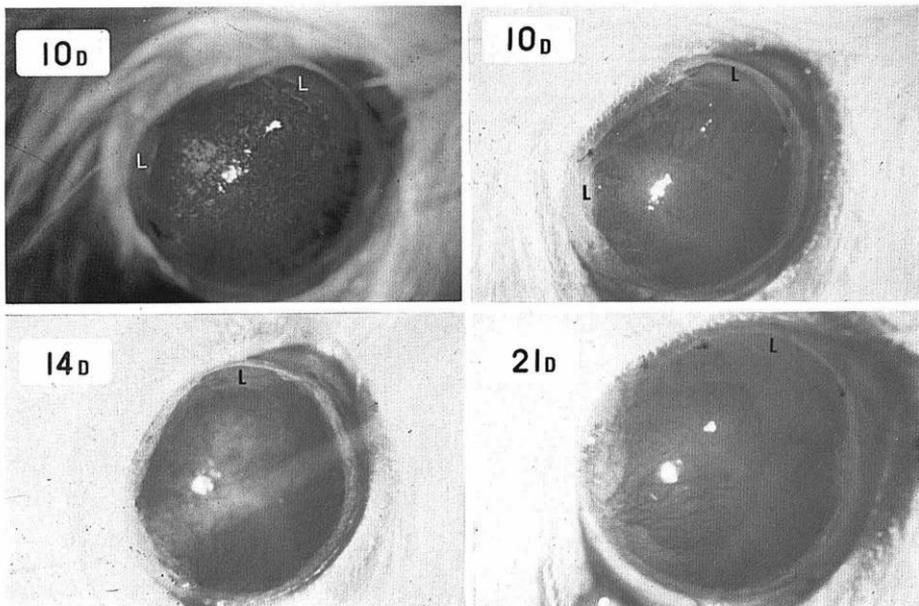


図4 術後10日目 (10D) 拒絶反応により lenticule は浮腫性混濁を呈し角膜上皮にはびまん性表層角膜炎を認める。術後14日目 (14D) 拒絶時。術後21日目 (21D) lenticule 及び角膜上皮の浮腫性混濁は軽減し lenticule は一部判別不明瞭となる。

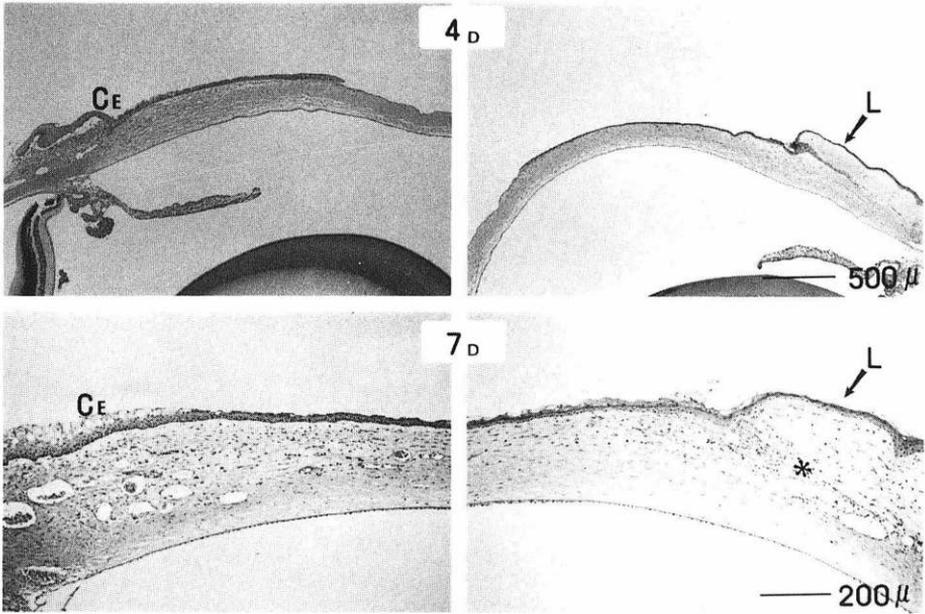


図5 術後4日(4D)及び7日(7D)の組織所見(H-E染色, $\times 40$, $\times 100$). 4日, lenticule 及び対側の結膜より上皮の再生が見られる. 7日, 角膜は全体に再生上皮で被覆され lenticule 実質下母角膜接合部には軽度血管侵入と細胞浸潤を認める(*印).
L; lenticule, CE: 結膜由来再生上皮

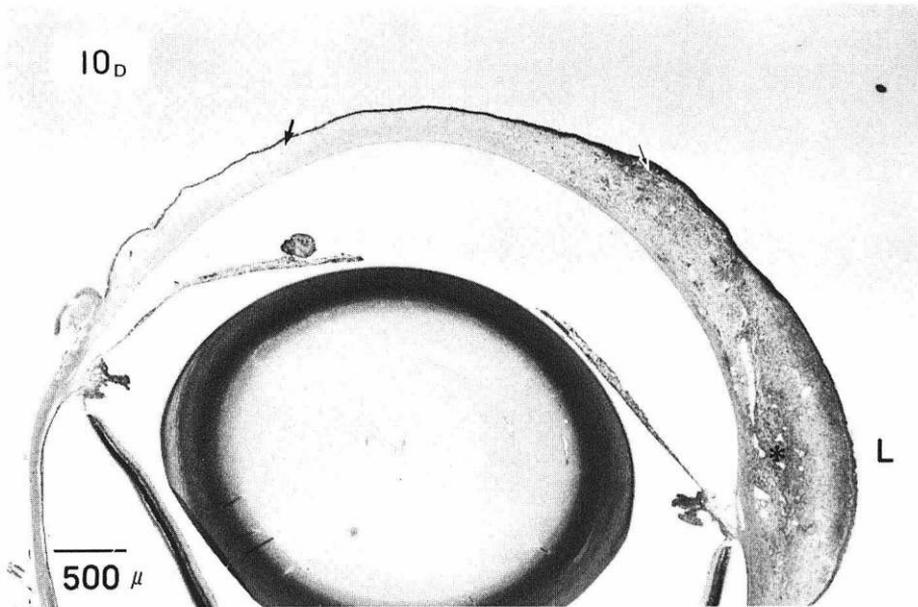


図6 術後10日(10D)(H-E染色, $\times 20$). lenticule 実質には多数の血管侵入と細胞浸潤を認め(*印) lenticule 由来再生上皮下にも強い細胞浸潤を見る(白矢印). 結膜由来再生上皮下には細胞浸潤は見られない(黒矢印).

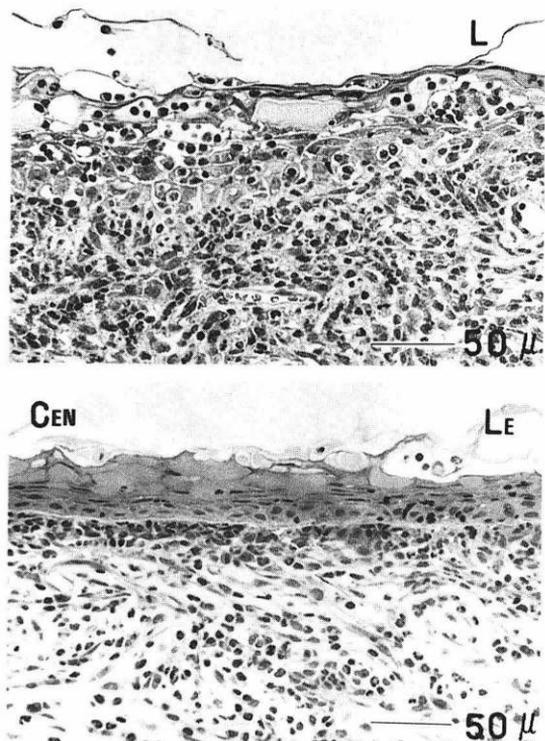


図7 術後14日 (H-E 染色, $\times 400$). lenticule, 上皮及び lenticule 由来再生上皮層にもリンパ球を主体とした細胞浸潤を見, lenticule 上皮は erosion, 一部変性を呈していた.

L; lenticule, CEN: 中央部, LE; lenticule 由来再生上皮

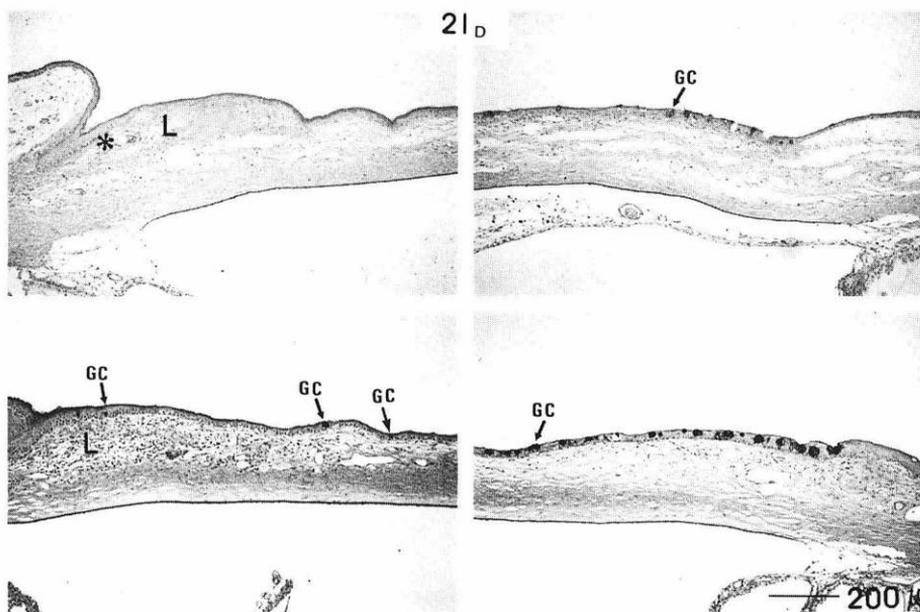


図8 術後21日(21D) (H-E 染色, $\times 100$). コントロールモデル(上段)では lenticule 対側にゴブレット細胞を見るのみだが, 下段, 拒絶モデルでは lenticule や lenticule 由来再生上皮にもゴブレット細胞を認める.

L; lenticule, GC; ゴブレット細胞, *印; 縫合糸

表1 拒絶モデルにおける細胞浸潤の程度

拒絶モデル		4日	7日	10日	14日	21日
W3/25 (helper/in ducer T cells)	lenticule	±~+	+	≠	≠	≠~≠
	再生角膜上皮部	-	+	+~≠	≠	+~≠
	対側結膜上皮部	±~+	±~+	+	+	±~+
OX8 (suppressor/ cytotoxic T cells)	lenticule	±~+	+	≠	≠	+~≠
	再生角膜上皮部	-	+	≠	≠~≠	+
	対側結膜上皮部	±	±	+	±~+	-
OX6 (Ia positive cells)	lenticule	+	+~≠	≠~≠	≠~≠	≠~≠
	再生角膜上皮部	-~±	+	≠	≠~≠	+~≠
	対側結膜上皮部	+	±~+	+~≠	≠	+

表2 コントロール群における細胞浸潤の程度

コントロール群		4日	7日	10日	14日	21日
W3/25	lenticule	±	+	+~≠	+	±~+
	再生角膜上皮部	-	+	+	±~+	±
	対側結膜上皮部	±	+	±~+	±~+	±
OX8	lenticule	±	±	±	-~±	-
	再生角膜上皮部	-	±	-	-	-
	対側結膜上皮部	±	±	-	-	-
OX6	lenticule	±	+~≠	+~≠	+	+
	再生角膜上皮部	-	±~+	+	+	±~+
	対側結膜上皮部	±	+	+	+	-~±

- : 細胞浸潤を認めない

± : 5未満

+

≠ : 10~20未満

≠ : 20~30未満

≠ : それ以上 (光学顕微鏡400倍下にて観察された細胞数)

OX 8, 及び OX 6 陽性細胞についてその浸潤の程度を表1及び表2に示した。コントロール群では、各陽性細胞の浸潤は7日~10日をピークにその後次第に減少していた。OX 8は各抗体の中では最も軽い浸潤像を示した。術後7日 lenticule 実質に明らかな浸潤を認めたがその後すみやかに減少し W 3/25 が常に優位に認められた。OX 6 は最も強い浸潤を示し術後21日でも lenticule 実質を中心に軽度遷延する陽性像を認めた。拒絶モデルでは W 3/25 は、術後4日 lenticule 実質より軽度浸潤が見られたが、拒絶以前ではコントロールとの間に差は認められなかった。拒絶反応の発

症した10日~14日では lenticule 全体並びに再生角膜上皮層及び上皮下に著しく強い浸潤を認めた。この様な所見は OX 8 においても同様であり、拒絶時には OX 8 が W 3/25 より軽度優位に認められた。一方、lenticule 対側においてはこれらの陽性細胞はわずかに散見するのみであった(図9, 図10)。術後21日になると OX 8 は W 3/25 に比べ各部で著しく減少していた。OX 6 は lenticule 実質を中心に再生角膜上皮及び上皮下実質にびまん性に早期より最も強い浸潤を呈し、術後21日でも他の抗体と比べて遷延する陽性所見を示した(図11)。拒絶時の凍結切片における OX 6 陽

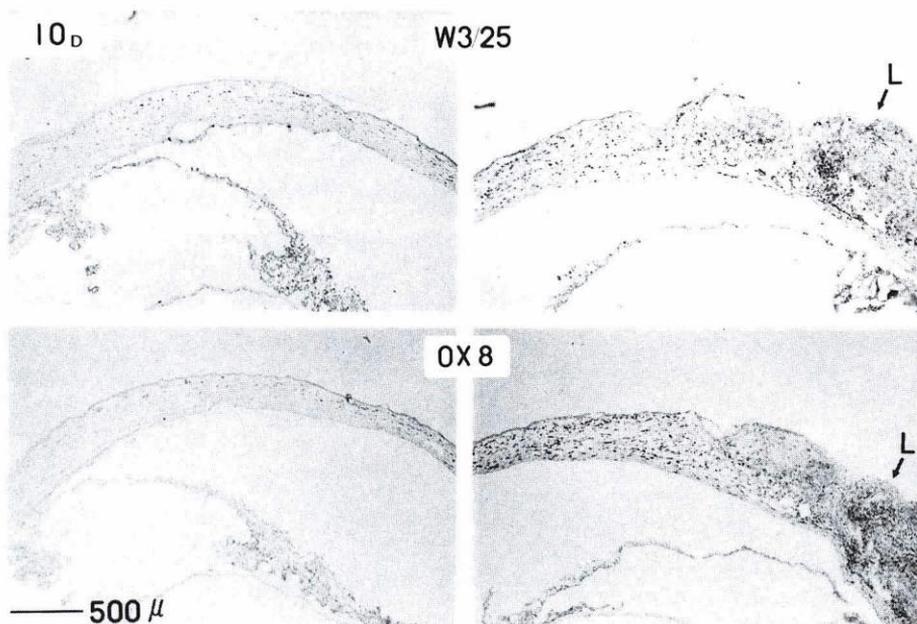


図9 術後10日(10D) W3/25, OX/8陽性細胞(PAP法, ×40). lenticule実質とそれに続く再生角膜上皮下に強い浸潤を認める。
L; lenticule

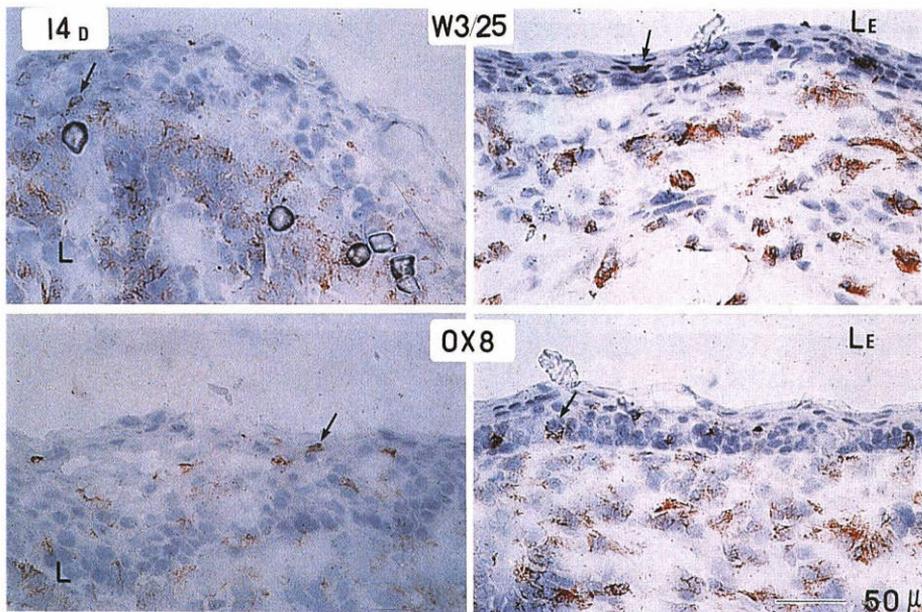


図10 術後14日(14D) lenticule上皮及びlenticule由来再生角膜上皮におけるW3/25, OX/8陽性細胞(PAP法, ×400). 矢印で示す如く褐色に染色された陽性細胞を上皮層に認める。
L; lenticule, LE; lenticule由来再生角膜上皮

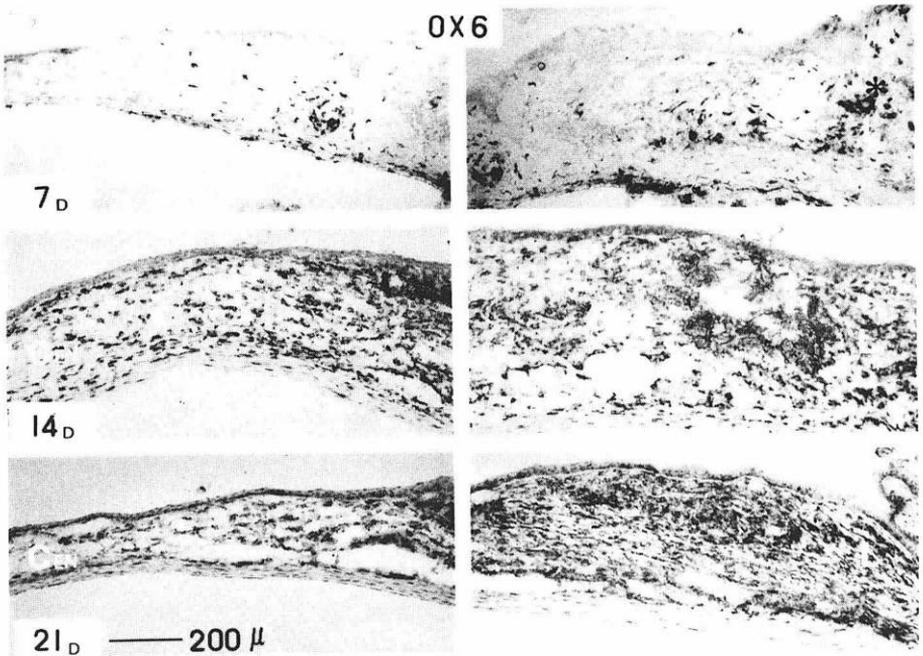


図11 術後7日(7D) 14日(14D) 21日(21D)におけるOX6陽性細胞. 術後7日 lenticule とレンビェント接合部に浸潤した陽性細胞は術後14日 lenticule と再生上皮下に強い浸潤を認め術後21日でも遷延する陽性所見を認めた(PAP法, $\times 100$).

L; lenticule, CEN; 中央部, *印; 縫合糸

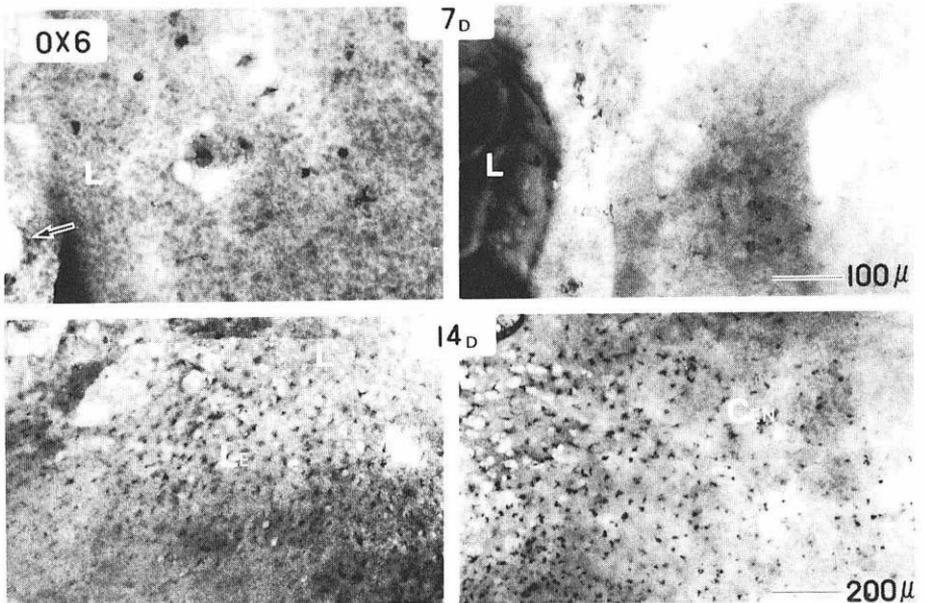


図12 角膜上皮伸展標本におけるOX6陽性細胞(PAP法, $\times 200$, $\times 100$). OX6陽性細胞は術後7日 lenticule や縫合糸近傍に散見されるのみであるが術後14日角膜中央部に向かう lenticule 由来再生角膜上皮にも多数陽性細胞を見る.

L; lenticule, CEN; 中央部, LE; lenticule 由来再生上皮, 矢印; 縫合部

性細胞の観察では、褐色の陽性染色が強いため上皮層で浸潤細胞を判別するのは困難であった。そのため上皮層の伸展標本を作製しOX6陽性細胞を検討した。術後7日目 lenticule 上皮並びに lenticule 近傍縫合糸付近に散見されたが、術後14日では lenticule 上皮のみでなく角膜中央部に向かう lenticule 由来再生角膜上皮部にも多数陽性細胞を認めた(図12)。

IV 考 按

角膜上皮移植は臨床上、高頻度で上皮型拒絶反応を発症するが、Thoftは術後上皮型拒絶反応についてステロイドの使用により免疫反応を抑制し、移植上皮は恒久的に存続すると推察した。上皮の拒絶反応はこれまで全層移植の一部変化として、更には実質に植えた上皮に対する反応としてPolack¹⁰⁾やKhodadoust¹¹⁾により報告されているが、角膜上皮移植のように上皮のみが再生増殖していく過程における拒絶反応やそれに伴う上皮の変化については、十分に解明されておらず基礎的研究も極めて少ない。また免疫組織学的に検討した報告はない。

今回の実験結果より角膜上皮移植における上皮型拒絶反応の特徴は、lenticule 自体とそこから再生してくる角膜上皮の双方に対して発症することが示された。そしてこの時の浸潤細胞は、抗原となる上皮を取り囲む輪部全周より出現するのではなく、移植片の輪部側から再生上皮の先端に向かって浸潤してくる事が示された。拒絶反応の発症に、上皮移植の特徴から、移植後の再生上皮の分裂増殖に伴う抗原量の増加という量的な因子が関与するのか、感作される時間的な因子が関与しているのか興味深い。大塚ら⁸⁾は著者の実験と同様の2種のラットを用いて全層角膜移植の研究を行っているが、拒絶反応は術後12±2日で全例に発症を観察している。著者の結果では9±1日で発症を見ている。本術式のような部分的移植であってもこのように拒絶反応が早期から発症してくることは、上皮抗原の量的な関与というよりも、血管の存在する輪部強膜に抗原を置くことにより上皮移植片は早期から感作され拒絶をおこすものと考えられる。

今回、通常の凍結切片では拒絶時の上皮層のOX6は高度に染色されるため、その陽性所見を判定するのは困難であり、そのため、角膜上皮の伸展標本においても解析を加えた。正常な眼表面におけるHLA-DR(class II)抗原を有する細胞は輪部角膜上皮ではランゲルハンス細胞が存在し免疫現象に関与していること

はよく知られている^{12)~14)}。正常ラットの角膜中央部にはランゲルハンス細胞などのIa抗原陽性細胞は認められない。しかしある種の条件下では角膜上皮がIa抗原を発現するという報告もある。Peposeら¹⁵⁾は拒絶反応を起こした角膜移植片の上皮基底細胞にclass II抗原の発現をみたとしている。一方Kusudaら¹⁶⁾は、Interferon Gamma (INF γ)のマウスの腹腔内投与による眼組織のIa抗原の発現を報告し、その中では角膜上皮細胞には発現は見られなかったと述べている。角膜上皮層のIa抗原陽性細胞には、角膜上皮細胞の発現とランゲルハンス細胞やIa抗原陽性のマクロファージが考慮される。しかし拒絶反応発症前 lenticule 上皮及びその縫合糸近傍にすでに散在性ではあるが陽性所見を認め、拒絶時には lenticule のみならず lenticule 由来再生角膜上皮にも著しい陽性所見がみられ、また経時的に輪部から中央部に向かって散在性にみられる陽性細胞の増加は、マクロファージを含むランゲルハンス細胞の浸潤を示唆するものと思われた。これら陽性細胞が同種異系及び同種同系移植モデルの両者に拒絶反応発症前から早期に浸潤していたことは縫合糸の影響によるものと思われた。縫合糸のような刺激においても角膜上皮中央部にランゲルハンス細胞やIa抗原陽性細胞の浸潤を認めた報告がある¹⁷⁾¹⁸⁾。しかし拒絶後の浸潤細胞の程度は同種同系移植モデルに比較して拒絶モデルでは著しく浸潤しており、上皮層に浸潤しているIa抗原陽性細胞は免疫応答の開始にあたり、抗原提示細胞として上皮型拒絶反応を発症させるメカニズムに重要な役割を演じているものと思われた。術後、浸潤した細胞には免疫組織化学的にIa抗原陽性細胞とともにヘルパーT cell、細胞障害性T cellが観察された。拒絶反応発症前、早期からのIa抗原陽性細胞の浸潤や、拒絶時にはヘルパーおよび細胞障害性T cellが著しく増加し、その後細胞障害性T cellが減少していた所見は、臓器移植¹⁹⁾中でも角膜移植⁸⁾における拒絶反応時の移植片における変化と同じであり典型的な移植拒絶反応を示す所見と思われた。

最後に拒絶後の再生上皮層についてだが、機械的あるいは化学的に角膜上皮を広範囲に損傷させたあとにみられる眼表面の再生上皮について、球結膜由来の再生上皮にはゴブレット細胞が出現することが示された²⁰⁾。拒絶反応が認められない同種同系移植のコントロール群では、術後 lenticule 側再生角膜上皮にはゴブレット細胞は観察されず、拒絶が発症しなければ角膜上皮と結膜由来再生上皮は角膜面上で接合した後、共

存して角膜上皮層を構成することが示された。一方拒絶により lenticule 由来再生角膜上皮が障害されると、まだ障害のおよんでいない再生角膜上皮が分裂増殖してその部位を再被覆することも考えられるが、拒絶後に lenticule の上皮及びその再生上皮部にゴブレット細胞が観察されたことから、障害された再生角膜上皮はレシピエントの結膜上皮によって置換されるものと思われた。Ohkoshi⁶⁾はウサギを用いた角膜上皮移植で、術後3カ月、lenticule 上の結膜上皮の存在を報告した。結膜由来の上皮細胞は後に角膜上皮様に形態学上変化することが報告されており²¹⁾、今後さらに置換された結膜由来上皮層の長期にわたる組織学的変化をとらえる必要がある。角膜上皮移植は、高度な角膜混濁例などには表層並びに全層角膜移植との合併手術が行われることがある。このような時、上皮型拒絶反応が早期に移植片に生じ混濁することが危惧される。今後このような合併手術についても検討を重ねる必要がある。

本論文の要旨は、第94回日本眼科学会総会で発表した。稿を終えるにあたり、御校閲頂きました松尾治亘教授、臼井正彦教授に深謝致します。また直接、御指導頂きました村松隆次助教授に感謝いたします。

文 献

- 1) McCulley JP, Moore TE: Chemical injuries of the eye. in Leibowitz HM (ed): Corneal disorders, Philadelphia, WB Saunders, 471—498, 1984.
- 2) 岩下正美, 村松隆次, 阿部映一: 全層角膜移植手術成績に関する統計的検討. 日眼会誌 92: 1122—1129, 1988.
- 3) Thoft RA: Conjunctival transplantation. Arch Ophthalmol 95: 1425—1427, 1977.
- 4) Thoft RA: Keratoepithelioplasty. Am J Ophthalmol 97: 1—6, 1984.
- 5) 木下 茂: Keratoepithelioplasty. 眼科手術 1: 235—242, 1988.
- 6) Ohkoshi K, Yamaguchi T, Ishii Y, et al: Histological study of keratoepithelioplasty in rabbits. Invest Ophthalmol Vis Sci 30(Suppl): 41, 1989.
- 7) Ohkoshi K, Yamaguchi T, Ishii Y, et al: Histological study of keratoepithelioplasty in alkali-burned rabbit corneas. Invest Ophthalmol Vis Sci 31(Suppl): 481, 1990.
- 8) Otsuka H, Muramatsu R, Usui M: Immunohistochemical study of corneal allograft rejection in inbred rats. IPE (the 5th Abstract): 111, 1990.
- 9) Juhlin L, Shelley WB: New staining techniques for the Langerhans cell. Acta Dermatovener Stockholm 57: 289—296, 1977.
- 10) Polack FM: Scanning electron microscopy of corneal graft rejection: Epithelial rejection, endothelial rejection, and formation of posterior graft membranes. Invest Ophthalmol 11: 1—14, 1972.
- 11) Khodadoust AA, Silverstein AM: Transplantation and rejection of individual cell layers of the cornea. Invest Ophthalmol 8: 180—195, 1969.
- 12) Whitsett CF, Stulting RD: The distribution of HLA antigens on human corneal tissue. Invest Ophthalmol Vis Sci 25: 519—524, 1984.
- 13) Pels E, van der Gaag R: HLA-A, B, C and HLA-DR antigens and dendritic cells in fresh and organ culture preserved corneas. Cornea 3: 231—239, 1984/1985.
- 14) 田川義継, 竹内 勉, 松田英彦: 角膜結膜上皮層におけるランゲルハンス細胞の分布とその免疫学的検討. 日眼会誌 85: 1053—1059, 1981.
- 15) Pepose JS, Gardner KM, Nestor MS, et al: Detection of HLA class I and II antigens in rejected human corneal allografts. Ophthalmology 92: 1480—1484, 1985.
- 16) Kusuda M, Gaspari AA, Chan CC, et al: Expression of Ia antigen by ocular tissues of mice treated with interferon gamma. Invest Ophthalmol Vis Sci 30: 764—768, 1989.
- 17) Kelley JG, Ohashi Y, Friedlaender MH: Langerhans cell alterations in the guinea pig cornea. Invest Ophthalmol Vis Sci 26: 1293—1296, 1985.
- 18) 茂沢克己: ラット角膜に対する縫合糸の影響について(免疫酵素抗体法による浸潤細胞の定量的検討). 日眼会誌 92(抄録): 193, 1988.
- 19) Claesson K, Forsum U, Klareskog L, et al: Tissue distribution of T-lymphocytes and Ia-expressing cells in rat kidney grafts. Scand J Immunol 22: 273—278, 1985.
- 20) Kinoshita S, Kiorpes TC, Friend J, et al: Limbal epithelium in ocular surface wound healing. Invest Ophthalmol Vis Sci 23: 73—80, 1982.
- 21) Shapiro MS, Friend J, Thoft RA: Corneal re-epithelialization from the conjunctiva. Invest Ophthalmol Vis Sci 21: 135—142, 1981.