

## Qスイッチ Nd-YAG レーザー照射による白内障モデル

### (2) 照射部位による白内障進展形式の差異

照林 宏文, 岡本庄之助, 池部 均, 赤木 好男

京都府立医科大学眼科学教室

#### 要 約

水晶体線維細胞は前極から後極まで伸びた細長い細胞である。この細胞の一部分や被膜の小さな障害をNd-YAG レーザーにより作成し、照射部位(前囊, 前囊下深部皮質, 後囊)による白内障進展形式の差異を検索した。前囊破壊群では、混濁した破囊部が上皮細胞増殖により被覆される以外に、後囊側の縫合離開と後囊下線維細胞末端部の膨化が認められた。前囊下深部皮質破壊群では、前囊下と後囊下皮質に膨化線維を認めた。後囊破壊群では、破壊された後囊より皮質部分が膨隆し修復は見られない。白内障については、後囊破損部周囲に線維膨化がまず認められ、やがて赤道部皮質の後囊側にも線維膨化が生じ、さらに進行すると前囊下皮質にも線維膨化を認めた。各々の水晶体線維細胞は被膜につつまれ一定の緊張状態でその透明性を維持している。この連続性が破壊されたり、線維細胞自体が障害を受けると、1個の線維細胞の障害部と反対の末端部に線維膨化を来とし、やがて水晶体の混濁(白内障)が生じる。(日眼会誌 96: 440—446, 1992)

キーワード: YAG レーザー, 水晶体囊, 水晶体線維膨化, 前囊下白内障, 後囊下白内障

## Differences in Cataractogenesis According to Neodymium-YAG Laser Injury Site

Hirofumi Terubayashi, Shonosuke Okamoto, Hitoshi Ikebe and Yoshio Akagi

Department of Ophthalmology, Kyoto Prefectural University of Medicine

#### Abstract

The author examined morphological changes of the lens induced by mechanical damage with a Q-switch Nd-YAG laser (anterior capsule, anterior subcapsular deep cortex, posterior capsule). In the ruptured anterior capsule group, epithelial cell proliferation covered the ruptured capsule, and separation of posterior subcapsular sutures and swelling of the posterior subcapsular end of lens fiber cells were observed. In the ruptured subcapsular deep cortex group, swollen lens fiber cells were observed in both the anterior subcapsular and the posterior subcapsular cortex. In the ruptured posterior capsule group, the ruptured cortex was not repaired. Swollen lens fiber cells were first recognized in areas surrounding the ruptured capsule, then at the posterior side of the equator, and finally at the anterior subcapsular cortex. The continuity of the lens capsule and lens fiber cells themselves is very important part to maintain lens clarity. The destruction of this feature induced swelling of fiber cells on the opposite side of the injury area. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 96: 440—446, 1992)

**Key words:** YAG laser, Lens capsule, Swelling of lens fiber cells, Anterior subcapsular cataract, Posterior subcapsular cataract

別刷請求先: 602 京都市上京区河原町通広小路 京都府立医科大学眼科学教室 照林 宏文

(平成3年8月19日受付, 平成3年10月14日改訂受理)

Reprint requests to: Hirofumi Terubayashi, M.D. Department of Ophthalmology, Kyoto Prefectural University of Medicine, Hirokojiagaru, Kawaramachidōri, Kamigyo-ku, Kyoto 602, Japan

(Received August 19, 1991 and accepted in revised form October 14, 1991)

## I 緒 言

白内障発生は生化学的に見ると構造タンパク質の集合凝集であり<sup>1)</sup>、秩序よい構造タンパク質の分子配列ならびに細胞配列が乱れ、水晶体の透明性が維持できない状態である。一般的には、白内障を形態学的に見ると水晶体線維細胞の膨化、崩壊とそれに続く液化現象であり、白内障の起こり方による差異はなく終末像は同じである<sup>2)</sup>。ただし大切なことは、白内障は水晶体内の局所変化であり赤道部、前囊下、後囊下など初発部位は様々で<sup>3)~5)</sup>、生化学的な観点より見た白内障とはかなり異なる。

白内障がなぜ局所的に発生するのかという間に適切な答を出すことは現在のところ困難である。事実として、ヒト糖尿病白内障やステロイド白内障は後囊下混濁、アトピー性白内障は前囊下混濁が初発部位としては頻度が高い<sup>2)</sup>。ラットのガラクトース白内障では、ラットの年齢（成熟度）と与えるガラクトース食餌濃度により赤道部が初発部位になったり、後囊下白内障が生じたりすることが分かっている。

白内障の進展様式を知ることは白内障治療薬開発を目指す最初の基本的なアプローチ法であり、白内障治療現象を理解するためにも重要である。以前から種々の方法による外傷性白内障モデルを使用した白内障進展様式と水晶体上皮の細胞動態の研究が報告されている<sup>6)~8)</sup>。しかし、その多くは経角膜的に水晶体前囊を破壊したものであり眼内操作による影響を考慮する必要があった。本実験ではこれらの影響を最小限にとどめる目的でNd-YAGレーザーを用いた水晶体の機械的破壊を試み、各々の障害部位による白内障進展形式について経時的に観察をおこなった。

## II 実験方法

実験には生後7週齢（体重200g）のSprague-Dawley系雄ラットを36匹使用し、ペントバルビタールナトリウム麻酔後ミドリンP®にて両眼散瞳した。つづいて、QスイッチNd-YAGレーザー（YAG LASER 2000, Cooper Vision社製）を用いてラットの水晶体中央部に照射した（設定条件：約1.5mJ×1shot, 直径約0.5mm径の破壊になる）。次に破壊部位を細隙灯顕微鏡により、1) 前囊、2) 前囊下深部皮質、3) 後囊の3群（各群12匹）に分類し、その部位を確認し通常実験食餌にて飼育した。YAGレーザーによる破壊は再現性が高く、同程度の破壊部位が確認できた。

ラットは実験開始後1, 4, 7, 14日目にエーテル致死麻酔を施し、水晶体を摘出、実体顕微鏡を用いて観察、記録を行った。その後、4%paraformaldehydeを含む0.1M 磷酸緩衝液（phosphate buffer 液, PB）中で1週間固定した。次いで0.1MPBにて数回洗浄の後、エタノール系列で脱水処理を行い、メタクリル樹脂（JB-4 Embedding Media, Polyscience Inc. 製）に包埋、厚さ1~2μmの切片を作成し、トルイジン青染色後光学顕微鏡の観察をおこなった。

## III 結 果

### 1. 前囊破壊群

YAGレーザー照射直後から、破壊部に直径約0.5mmの混濁を認めた。1日目には破壊部から周囲に広がって層間に混濁を生じ、後囊側の縫合部にも離開と混濁が明瞭にみられた（図1a）。光顕的には前囊破壊部から著明に膨化した水晶体線維の噴出像と後囊下での水晶体線維間の隙隙とわずかな線維膨化をみた（図1b）。さらに経過とともに前極部の混濁の程度は増強し、後囊側の皮質混濁も拡大傾向を示した。7日目の光顕像では重層化した異型上皮細胞による前囊の破壊部に被覆化が認められた（図1c）。これらの上皮細胞は正常上皮細胞とは異なり紡錘型をとり線維芽細胞様の形態をとった。後囊下では縫合部に水晶体線維の膨化、空泡変性が認められた（図1d）。14日目にも同様の所見であった。ラット水晶体による差異はなく同じ経過を認めた。

### 2. 前囊下深部皮質破壊群

深部皮質に照射された水晶体では、上皮細胞層下の一定の深さの部位に泡状の破壊像をみた（図2a）。実体顕微鏡の観察では28日目まで拡大傾向を示さなかった（図2b）。光顕像では深層皮質の照射部周囲に異常所見はみられなかったが、表層の前囊下皮質に水晶体線維の膨化を認め、また後囊下皮質にも膨化線維がみられた（図3c, d）。すべての時期で前囊と後囊の破壊はみられなかった。

### 3. 後囊破壊群

後囊破壊の有無を実体顕微鏡下に確認した。一定の破壊部位の大きさ（約0.5mm径）を認めた。1日目には後囊破壊部から皮質が膨隆、脱出してきた。4日目には後囊破壊部周囲の皮質に泡粒状の線維膨化領域を実体顕微鏡で確認した（図3a）。さらに7日目では後囊側の赤道部皮質にも同様の膨化領域を認め（図3b）、光学顕微鏡観察においても線維膨化が見られた。

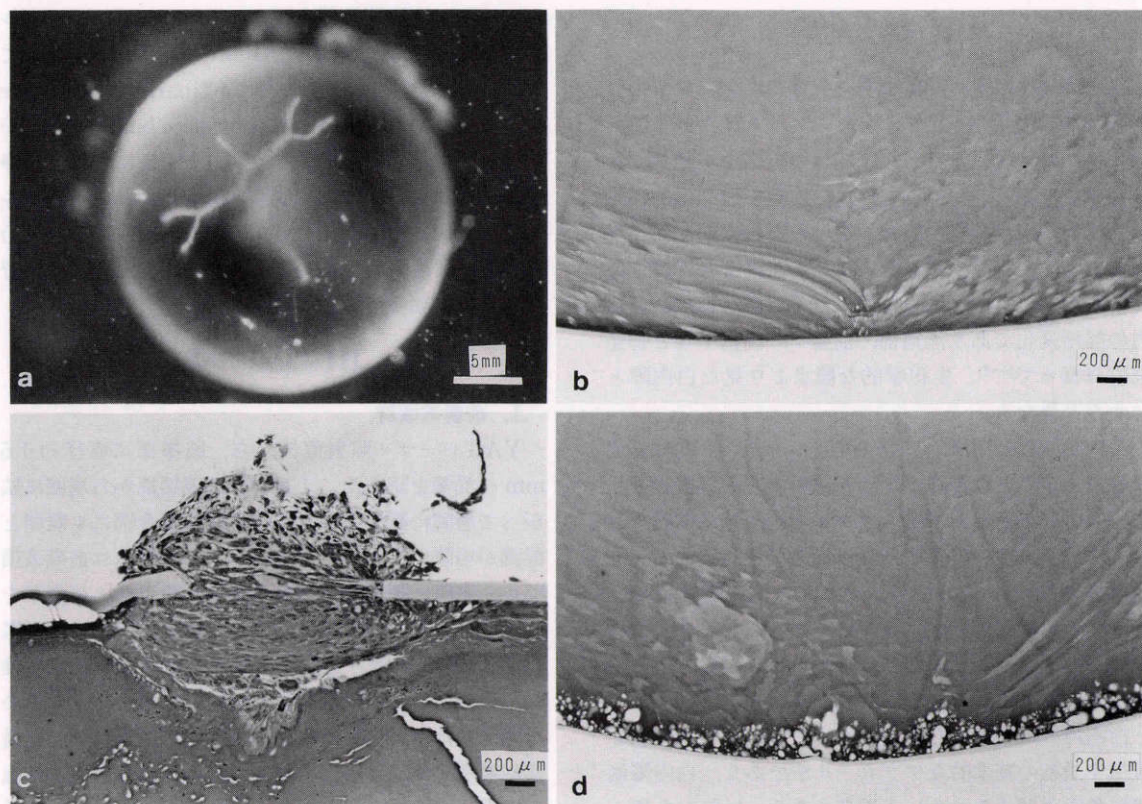


図1 前嚢破壊群：(a)照射後1日目の水晶体後嚢側の実体顕微鏡観察像、後嚢側の縫合部にも離開と混濁が明瞭にみられた、 $\times 8$  (b) 1日目の後嚢側の光学顕微鏡観察像、後嚢下での水晶体線維間の隙間とわずかな線維膨化をみた(トルイジン青染色  $\times 8$ )、(c) 7日目の前嚢側の光学顕微鏡観察像、重層化した異型上皮細胞による前嚢の破壊部に被覆がみられた(トルイジン青染色  $\times 8$ )、(d) 7日目の後嚢側の光学顕微鏡観察像、縫合部に水晶体線維の膨化、空泡変性が認められた(トルイジン青染色  $\times 8$ )、

(図3c)、14日目になると、前嚢下にも線維膨化の存在を確認した(図3d)、ラット水晶体による差異はなく同じ経過を認めた。

#### IV 考 按

Nd-YAG レーザーは従来の光凝固と異なりパルス波による光破裂作用を有し、照射部位の組織を破壊することが可能<sup>9)</sup>であり臨床的にも水晶体後嚢切開や硝子体索状物切開などに応用されている。Nd-YAG レーザー照射による実験の外傷性白内障は前房操作がなく非侵襲的に水晶体の局所破壊が可能であり<sup>10)</sup>、今回の実験では照射部位を前嚢・前嚢下深部皮質・後嚢の3部分に細分し、各々の白内障進展形成を検討した。

前嚢破壊群では、処置後1日目に異常上皮細胞の出現があり、さらに4日から7日目には線維芽細胞様の

紡錘型の異型上皮細胞の出現により破壊部位が被覆化された<sup>10)</sup>、後嚢下には処置後1日目から縫合離れと線維膨化をみた、前嚢下に障害を受け、最も離れた後嚢下の皮質に白内障が生じる理由としては次の2点が考えられる。第1には、1個の水晶体線維細胞の中で障害の受け易い部位は前嚢下と後嚢下の線維細胞末端部であり、膨化・崩壊が起きる。第2には、水晶体嚢という一定の緊張を有する袋の中に透明な正常水晶体細胞がぎっしり詰まっている、この袋が破れると圧が抜け水晶体線維細胞が離開したり、水晶体自体のイオンバランスの乱れ浸透圧変化が生じ、最終的には水晶体線維細胞内に膨化、液体が生じる。もちろん第1の要因が加わりこれらの変化は前嚢下や後嚢下に生じ易い、水晶体が正常に保たれるには水晶体上皮細胞や線維細胞が細胞として正常に機能するだけではなく、こ

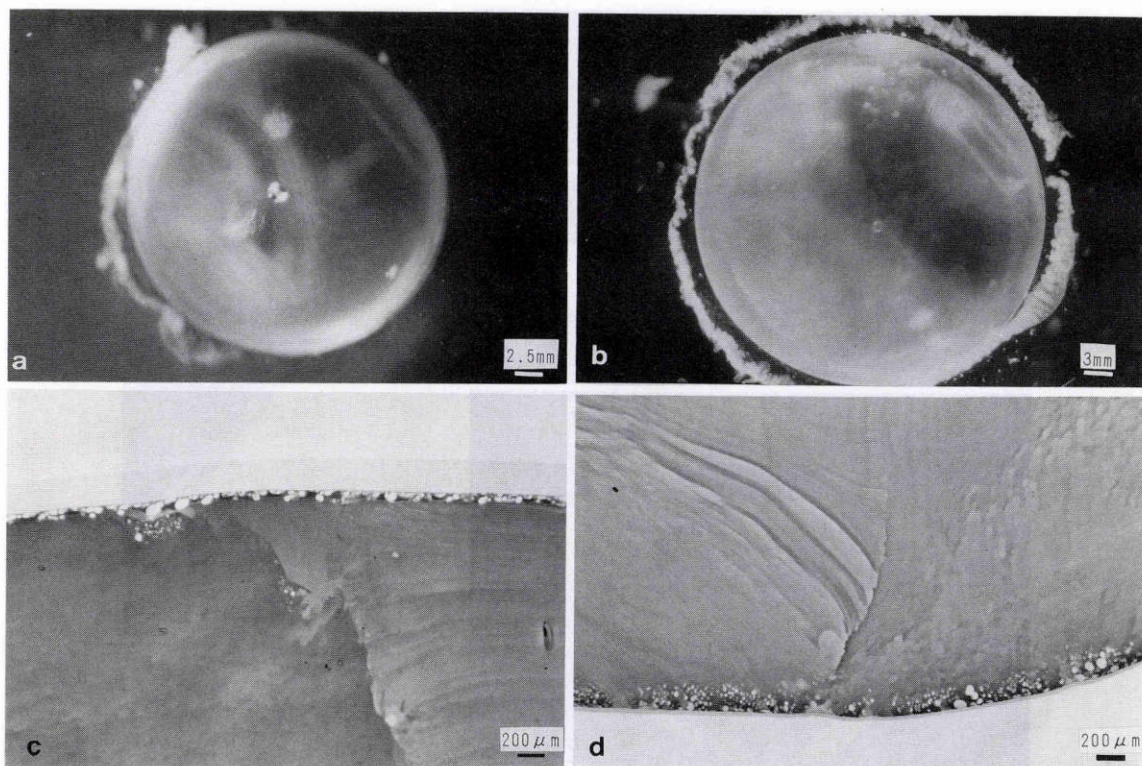


図2 前囊下深部皮質破壊群：(a) 照射後1日目の水晶体の実体顕微鏡観察像。照射部位の前囊下深部皮質に泡状の破壊像をみた。×8 (b) 照射後28日目の水晶体の実体顕微鏡観察像。泡状の破壊像の拡大傾向を示さなかった。×8 (c) 28日目の水晶体の光学顕微鏡観察像。表層の前囊下皮質に水晶体線維の膨化を認めた(トルイジン青染色 ×8)。 (D) 28日目の水晶体の光学顕微鏡観察像。後囊下皮質にも膨化線維がみられた(トルイジン青染色 ×8)。

これらの細胞間の関係が水晶体囊という袋の中で構造的にも正常に保たれている必要がある。

われわれはこれまで糖尿病白内障モデルとしてラット糖尿病白内障、ラットガラクトース白内障を形態学的に検討し、その発症形式や進展形式を明らかにしてきた。さらにアルドース還元酵素阻害剤の治療効果、予防効果についても報告してきた。その結果、糖負荷の強弱(食餌のガラクトース含有濃度、静注するストレプトゾトシンの量)やアルドース還元酵素阻害剤効力の強弱とラットの成熟度によって白内障の形態学的進展形式が様々に変化しうることが判明した<sup>3)~5)11)12)</sup>。つまり、生後7週齢ラットを50%ガラクトース含有食餌で飼育すると赤道部皮質に白内障は初発し、15%ガラクトース含有食餌で飼育すると後囊下表層皮質が白内障初発部位となる。同様にアルドース還元酵素阻害剤効力の強弱により白内障初発部位が赤道部皮質、前後囊下表層皮質と変化する<sup>11)</sup>。さらにラッ

トが老齢化するほど緩徐進行型の白内障となり前後囊下の表層皮質に好発する。

ラットガラクトース白内障には以上のように急速進行赤道部型と緩徐進行表層皮質型(前囊下、後囊下)の2型<sup>4)</sup>が存在するわけであるが、その理由として以下の説明が想定される。ガラクトチオールが一定以上蓄積しないと形態学的に線維膨化を認めない。しかもそのガラクトチオール蓄積が急速あるいは緩徐によって線維膨化部位が異なる。急速なものは赤道部皮質に膨化が初発したのに、緩徐なものは細胞末端である前囊下あるいは後囊下部位に初発する。ラット生後週齢が増すにつれ、アルドース還元酵素阻害剤の効力が強くなるにつれガラクトチオール蓄積、線維膨化は起こりにくくなり緩徐型の白内障が生じると考えられる。今回、この仮説の正当性を証明するためにラット外傷性白内障モデルを作製し白内障進展形式を検索した。つまり前囊を破壊すると後囊側皮質に白内障が生じ、逆に後

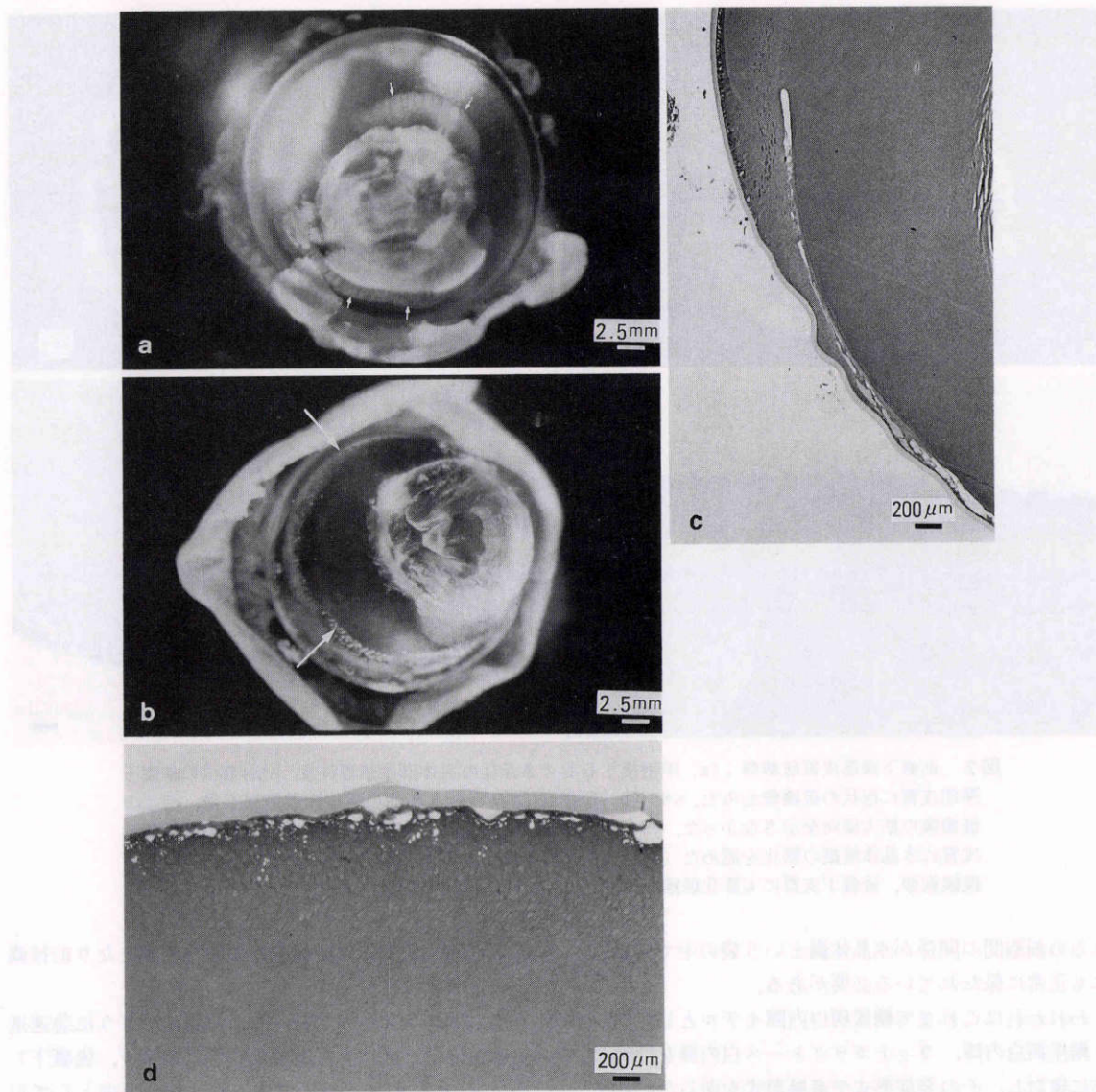


図3 後囊破壊群：(a) 照射後4日目の水晶体後囊側の実体顕微鏡観察像。後囊破壊部周囲の皮質に泡粒状の線維膨化領域(矢印)を確認した。 $\times 8$  (b) 7日目の水晶体後囊側の実体顕微鏡観察像。後囊側の赤道部皮質にも同様の膨化領域(矢印)をみた。 $\times 8$  (c) 7日目の水晶体赤道部の光学顕微鏡観察像。後囊側の赤道部皮質に線維膨化をみた(トルイジン青染色  $\times 8$ )。 (d) 14日目の水晶体前囊側の光学顕微鏡観察像。前囊下にも線維膨化の存在を確認した(トルイジン青染色  $\times 8$ )。

囊を破壊すると前囊側皮質に白内障変化が生じ、1個の水晶体線維細胞末端の変化が反対側末端に変化を与える現象と類似している。

前囊破壊による外傷性白内障の実験報告は過去に多く見られる。細針を用いて経角膜的に前囊破壊を行い、修復過程を観察したものである。マウス水晶体前囊破

壊部の修復過程については Rafferty<sup>7)</sup>, Uga<sup>8)</sup>が光学顕微鏡ならびに電子顕微鏡を駆使し詳細な観察がなされていて、本論文の結果と一致した。ラットと家兎水晶体において後囊下白内障の発生について Fagerholm<sup>13)14)</sup>が同じ手法により興味ある報告をしている。すなわち、ラット水晶体では外傷後1時間で微細



図4 各群の白内障進行様式を示す模式図。白内障の生じる部位を黒ドットで表す。大矢印はYAGレーザー照射部を示し、小矢印(後囊破壊)は白内障進行方向を示す。

な混濁を後極部に認め、1週間後には明確な後囊下白内障を確認し、組織学的にも後囊下皮質に膨化が見られたと記載している。家兎水晶体では後囊下白内障は生じ難く動物種差についても述べている。この事実は臨床的にもヒト外傷性白内障において後囊下混濁がしばしば観察される経験とも一致している。

Nd-YAG レーザーによる前囊破壊後の外傷性白内障の報告もラットと家兎についてされている<sup>15)16)</sup>。Gonaらは主に前囊部破壊の損傷治癒に注目しており、ガラクトース食餌飼育ラットではレーザー損傷が過大に生じ上皮細胞の反応もより強く生じることを報告している。Cangelosiら<sup>17)</sup>は家兎水晶体への強いエネルギーYAGレーザー照射によりヒト先天性白内障類似の白内障を永久的に作成しえる事を報告している。しかし両者とも白内障進展様式については記載が

なく、本論文がその最初と思われる。

前囊破壊と後囊破壊の白内障進展様式の差は破壊部が上皮細胞増殖により修復されるかどうかによると想像できる。つまり前囊破壊群では、YAG レーザー照射破壊後早期(7日目)に上皮細胞増殖による損傷治癒が行われ、赤道部皮質には白内障が生じない。後囊破壊群では破壊部より皮質線維が露出しており14日目まで全く損傷治癒が行われない。そして破壊部周囲皮質から赤道部皮質、前囊下へと白内障は進展する(図4)。

前囊下深部皮質破壊では泡状の破壊像を認め、28日目まで拡大傾向を示さなかった。しかし表層の前囊下皮質に水晶体線維の膨化を認め、また後囊下皮質にも膨化線維がみられた。この事実は1個の水晶体線維細胞の中で障害の受け易い部位は前囊下と後囊下の線維細胞末端部であるという仮説を支持すると思われた。

透明な水晶体構造を維持するには、1個の細長い水晶体線維細胞がその透明性を一生維持しなければならぬ。水晶体囊の中で一定の規律のもとにそれらは配列している。局所的な破壊である白内障の進展様式を、YAG レーザー照射による微小な外傷性白内障を作成し検討することは、今後の白内障治療薬開発を考える上で重要と思われる。

本論文の要旨は第95回日本眼科学会総会(平成3年、京都)にて発表した。なお本研究は、文部省科学研究費補助金(01440074)の補助を受けた。

#### 文 献

- 1) 岩田修造：水晶体，その生化学的機構，東京，メディカル葦出版，3—5，1986。
- 2) 赤木好男，照林宏文：10，糖尿病のコントロールと白内障との関連性，全身病よりみた眼疾患，眼科30：1119—1125，1988。
- 3) 赤木好男，田坂 宏，田辺稔邦，他：幼若および成熟ラットガラクトース白内障発症様式，眼紀 37：803—808，1986。
- 4) 赤木好男，田坂 宏，田辺稔邦，他：緩徐発症型ラット糖白内障，日眼会誌 91：122—126，1987。
- 5) 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。
- 6) Harding CV, Donn A, Doblisrinivasan B: Incorporation of thymidine by injured lens epithelium. Exp Cell Res 18: 582—585, 1959.
- 7) Rafferty NS: Experimental cataract and wound healing in mouse lens. Invest Ophthalmol 12: 156—160, 1973.
- 8) Uga S: Wound healing in the mouse lens. Exp

Eye Res 32: 175—186, 1981.

- 9) **Campbell CJ, Ritter MC**: Ocular effects produced by experimental lasers. III. Neodymium laser. *Am J Ophthalmol* 66: 614—632, 1968.
- 10) 岡本庄之助, 照林宏文, 堤 元信, 他: Nd-YAG レーザー照射による白内障モデル(1). 照射条件による上皮細胞増殖能の変化. *眼紀* 42: 1863—1868, 1991.
- 11) 池部 均, 照林宏文, 辻 俊明, 他: アルドース還元酵素阻害剤の白内障抑制効果. 形態学的判定基準について. *臨眼* 44: 514—515, 1990.
- 12) 岡本庄之助, 照林宏文, 赤木好男, 他: アルドース還元酵素阻害剤による糖尿病性白内障の治療(1). 糖尿病性白内障モデルの作成. *日眼会誌* 92: 161—165, 1988.
- 13) **Fagerholm PP, Philipson BT**: Experimental traumatic cataract. I. A quantitative micro-radiographic study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 18: 1151—1159, 1979.
- 14) **Fagerholm PP, Philipson BT**: Experimental traumatic cataract. II. A transmission electron microscopy and extracellular tract study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 18: 1160—1171, 1979.
- 15) **Gona P, White JH, Obenauer L**: Wound healing by the rat lens after neodymium-YAG laser injury. *Exp Eye Res* 40: 251—261, 1985.
- 16) **Gona P, White JH**: Response of the lens of the galactose-fed rat to YAG laser-induced injury. *Exp Eye Res* 42: 117—130, 1986.
- 17) **Cangelosi G, McDonald MB, Morgan KS**: Cataract induction in rabbits with the Nd-YAG laser. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 26: 1037—1040, 1985.



図 1