



人眼前房隅角の発達に関する研究：胎生期線維柱帯におけるグリコスアミノグリカンの検索

杉浦, 寅男

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

1992-03-31

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲1043

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1001043>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



氏名・(本籍)	すぎ 杉 浦 寅 男 (兵庫県)
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	博い第766号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与の日付	平成4年3月31日
学位論文題目	人眼前房隅角の発達に関する研究 —胎生期線維柱帯におけるグリコシアミノグリカンの検索—

審査委員	主査 教授 山 本 節
	教授 山 鳥 崇 教授 伊 東 宏

論文内容の要旨

I 緒言

房水流出抵抗は、主として Schlemm 管内壁直下の傍 Schlemm 管結合組織に存在すると考えられている。ヒアルロニダーゼ感受性のグリコシアミノグリカン(GAG)がこの抵抗を形成する重要な細胞外成分として注目されるようになり、正常成人眼および緑内障の房水流出系におけるGAGの組織化学的検索が行われてきた。

しかし、胎生期の線維柱帯におけるGAGの存在については知られておらず、また発育異常緑内障の発症に線維柱帯の発達の未熟性がGAGのレベルでどのように関与しているかは明確でない。

発達過程の房水流出系におけるGAGの局在を解明することは発育異常緑内障等の発症機序を考える上でも重要と思われる。今回、胎生期および生後の発達過程にある正常人眼を用いて前房隅角組織のルテニウム・レッド(RR)染色を行い、酵素消化によるGAGの電顕組織化学的検索を行った。

II 対象および方法

1. 対象

胎生26週、胎生36週および2歳の人眼を各1列1眼ずつ用いた。いずれの眼球も明らかな形態異常は認めなかった。

2. 方法

各摘出眼球を赤道部のやや前方で半切後、1%セチル・ビリミジニウム・クロライドを含む4%グルタール・アルデヒド、0.1Mカコジレイト緩衝液中に1時間保存し、同液中で実体顕微鏡下に前房隅角部の組織を眼球の子午線方向に厚さ約1mmのブロックとして切り出した。その後、以下の群に分

けて検討した。

1) ルテニウム・レッド (RR) 染色

1000ppmRR を含むグルタル・アルデヒド, 0.1Mカコジleit緩衝液で2時間室温にて固定および染色を行った。0.1Mカコジleit緩衝液で洗浄後, 1000ppmRR を含む1%オスミウム酸, 0.1Mカコジleit緩衝液で3時間後固定し, エタノール系列で脱水, アラルダイト包埋を行った。眼球の子午線方向に厚さ80-90nmの超薄切片を作製後, 電子染色を行わずに電子顕微鏡的に観察した。

2) 酵素消化によるGAGの成分検索

下記の酵素による消化実験を行った。

a) 放線菌ヒアルロニダーゼ: 隅角組織を0.1M磷酸緩衝液で洗浄後, 放線菌ヒアルロニダーゼ100T RU/mlを含む0.1M磷酸緩衝液で消化した。

b) コンドロイチナーゼAC: 隅角組織を0.05Mトリス塩酸緩衝液に24時間保存した後, 2.5 U/mlのコンドロイチナーゼACを含む0.05Mトリス塩酸緩衝液で消化した。

c) コンドロイチナーゼABC: 隅角組織を0.05Mトリス塩酸緩衝液に24時間保存した後, 2.5 U/mlのコンドロイチナーゼABCを含む0.05Mトリス塩酸緩衝液で消化した。

酵素による消化はすべて37℃で2時間行った。以上の処理後, 0.1Mカコジleit緩衝液で洗浄し,

1) に従ってルテニウム・レッド染色を行った。

III 結果

1) 通常のルテニウム・レッド (RR) 染色

胎生26週, 胎生36週の傍 Schlemm 管結合組織では, Schlemm 管内壁内皮細胞に沿った基底板の部位に, 断続的にRR陽性を示したが, 2歳の同部位では不明瞭であった。また各発達段階とも基底板様物質, 無定型物質, 膠原線維周囲に陽性を示した。

2) 酵素消化によるGAGの成分検索

a) 放線菌ヒアルロニダーゼ

各発達段階とも, 無定型物質の染色性は著明に低下, 基底板, 基底板様物質, 膠原線維周囲の染色性は軽度低下していた。

b) コンドロイチナーゼAC

各発達段階とも, 無定型物質, 膠原線維周囲の染色性は低下し, 基底板, 基底板様物質の染色性は消失していた。

c) コンドロイチナーゼABC

各細胞外成分の染色性は消失していた。

IV 考按

今回の検討で, 胎生期人眼の前房隅角組織をRRで染色し電顕的に観察したところ, 線維柱帯にRR陽性の細胞外成分を認め, これらは放線菌ヒアルロニダーゼ, コンドロイチナーゼAC, コンドロイチナーゼABCの各種酵素により消化された。従って, 胎生期の線維柱帯に既にGAGが存在することが示された。

放線菌ヒアルロニダーゼはヒアルロン酸を特異的に分解することが知られている。従ってヒアルロン酸は無定型物質、基底板、基底板様物質、膠原線維周囲に存在していると考えられる。

コンドロイチナーゼACは、ヒアルロン酸、コンドロイチン、コンドロイチン硫酸（4，6）を、分解することから、各細胞外成分にはコンドロイチン硫酸が含まれると考えられる。

コンドロイチナーゼABCは、ヒアルロン酸、コンドロイチン、コンドロイチン硫酸（4，6），さらにデルマタン硫酸を分解する。従って、無定型物質、膠原線維周囲にはデルマタン硫酸も含まれると考えられる。

今回の検討から、胎生26週には既にGAGが産生されており、これらのGAGは、成人眼の房水流出系におけると同様に、胎生期より房水流出抵抗を形成していることが強く示唆される。さらに、胎生期眼球の Schlemm 管内壁内皮細胞に沿った基底板は、断続的にRR陽性を示していたのに対し、生後の眼球の同部位では不明瞭であったこと等から、正常眼の発達に従って傍 Schlemm 管結合組織におけるGAGの分布が変化することが推察された。

発育異常緑内障では、線維柱帯細胞に分化障害があるために、胎生期のGAGの分布が正常の変化を遂げていない可能性がある。このために大きな房水流出抵抗を生じることが、発育異常緑内障の発症に関与している可能性があると考えられた。

V 結語

1. 胎生期および生後の発達過程における人眼前房隅角組織のRR染色を行い、GAGの電顕組織化学的検索を行った。
2. 胎生26週以降、傍 Schlemm 管結合組織における無定型物質、内皮細胞に沿った基底板、基底板様物質、および膠原線維周囲に染色物を認めた。
3. Schlemm 管内壁内皮細胞の基底板の染色性は発達とともに不明瞭となっていた。
4. 放線菌ヒアルロニダーゼ、コンドロイチナーゼAC、コンドロイチナーゼABCによる酵素消化の結果、各細胞外成分にヒアルロン酸、コンドロイチン硫酸およびデルマタン硫酸が含まれると考えられた。
5. 以上より、胎生期より既に線維柱帯にGAGが存在して房水流出抵抗を形成しており、発達に伴い各種GAGの分布が変化を遂げることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

審査の要旨

胎生期人眼の線維柱帯におけるグリコサミノグリカン（GAG）の存在については知られていない。発達過程の房水流出系におけるGAGの局在を解明することは発育異常緑内障等の発症機序を考える上でも重要である。本研究者は胎生期および生後の発達過程にある正常人眼を用いて前房隅角組織のルテニウム・レッド（RR）染色を行い、酵素消化によるGAGの電顕組織化学的検索を行った。

対象および方法

胎生26週、胎生36週および2歳の人眼を各1列1眼ずつ用いた。実体顕微鏡下に前房隅角部の組織を眼球の子午線方向に厚さ約1mmのブロックとして切り出した。1000ppmRRを含む4%グルタル・アルデヒド、0.1Mカコジleit緩衝液で固定および染色、1000ppmRRを含む1%オスミウム酸、0.1Mカコジleit緩衝液で後固定し、エタノール系列で脱水、アラルダイト包埋を行った。眼球の子午線方向に厚さ80-90nmの超薄切片を作製後、電子顕微鏡的に観察した。酵素消化によるGAGの成分検索では、放線菌ヒアルロニダーゼ、コンドロイチナーゼAC、コンドロイチナーゼABCで消化後、RR染色を行った。

結果

通常のRR染色では、胎生26週、36週においては Schlemm 管内壁内皮細胞に沿った基板の部位に、断続的にRR陽性を示し、傍 Schlemm 管結合組織の基板様物質、無定型物質、膠原線維周囲、Schlemm 管内壁内皮細胞の管腔側表面にRR陽性を認めた。2歳では、基板が不明瞭であり、RRの染色性も不明瞭であった。Schlemm 管内壁内皮細胞より離れて基板様物質が胎生期に比して多く認められた。放線菌ヒアルロニダーゼによる消化後、内壁内皮細胞に沿った基板、基板様物質、膠原線維周囲、無定型物質の染色性は低下 Schlemm 管内壁内皮細胞の管腔側表面に認められた染色物は消失していた。コンドロイチナーゼACによる消化後、無定型物質および膠原線維周囲の染色性は、放線菌ヒアルロニダーゼによる消化を行った場合よりも低下し、基板、基板様物質の染色性は消失していた。コンドロイチナーゼABCによる消化後、無定型物質、基板、基板様物質、膠原線維周囲の染色性は消失していた。従って各細胞外成分にヒアルロン酸が、内壁内皮細胞の管腔側表面以外にはコンドロイチン硫酸が、膠原線維周囲および無定型物質にデルマタン硫酸が含まれることが示された。

結論

胎生期人眼の線維柱帯におけるGAGの存在については知られていなかったが、今回本研究者が前房隅角組織のRR染色を行い、酵素消化によるGAGの電顕組織化学的検索を行ったことにより、胎生期より既に線維柱帯に各種GAGが存在して房水流出抵抗を形成していることが示され、また発達に伴い各種GAGの分布が変化を遂げることが示唆されたことは、臨床的側面からみても十分意義のあることと考える。今後も前房隅角の発達に関する研究は推進されなければならないが、今回の研究はその発展に寄与するものとして価値ある集積であると認める。よって本研究者は博士（医学）の学位を得る資格があると認める。