



# Higher Concentration of Transforming Growth Factor- $\beta$ in Aqueous Humor of Glaucomatous Eyes and Diabetic Eyes

落合, 優子

---

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2003-02-12

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

乙2664

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D2002664>

※ 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。



【 1 5 4 】

氏 名 ・ (本 籍) 落 合 優 子 ( 兵 庫 県 )

博士の専攻分野の名称 博士 (医学)

学 位 記 番 号 博ろ第1862号

学位授与の 要 件 学位規則第4条第2項該当

学位授与の 日 付 平成15年2月12日

【 学位論文題目 】

Higher Concentration of Transforming Growth Factor- $\beta$   
in Aqueous Humor of Glaucomatous Eyes and Diabetic Eyes  
(緑内障眼と糖尿病眼の前房水におけるTGF- $\beta$ 濃度)

審 査 委 員

主 査 教 授 根 木 昭

教 授 熊 谷 俊 一

教 授 久 野 高 義

TGF- $\beta$ は細胞の増殖、遊走、分化、アポトーシス、細胞外基質蓄積などの作用を持つサイトカインである。哺乳類では現在 TGF- $\beta$ 1、TGF- $\beta$ 2、TGF- $\beta$ 3 の3種類のアイソフォームが確認されているが、それぞれの生体内での作用は異なっているとされている。一方眼科臨床において、糖尿病網膜症と緑内障は後天性失明原因の上位を占める疾患であるが、糖尿病と緑内障（開放隅角緑内障、以下 POAG）を合併している症例も多い。この原因は不明であるが、TGF- $\beta$ をはじめとするサイトカインが何らかの関与をしている可能性が高いと考えられる。今回我々は緑内障例、糖尿病例、緑内障・糖尿病合併例について手術時に眼房水を採取し、TGF- $\beta$ 1 および TGF- $\beta$ 2 濃度を測定、比較検討した。

POAG 患者（以下 G 群）7 例 8 眼、糖尿病患者（以下 D 群）10 例 10 眼、POAG・糖尿病合併患者（以下 DG 群）7 例 10 眼、対照群（以下 N 群）として白内障患者 10 例 10 眼において、初回手術としての白内障手術あるいは白内障・緑内障同時手術施行時に眼房水を採取し、totalTGF- $\beta$ 1 および totalTGF- $\beta$ 2 濃度を測定した。同様に G 群 11 例 11 眼、D 群 12 例 12 眼、DG 群 8 例 8 眼、N 群 15 例 15 眼において眼房水を採取し matureTGF- $\beta$ 2 濃度を測定した。

眼房水は白内障手術あるいは白内障・緑内障同時手術の際に、手術に先立って 20 ゲージ V-lance knife にてサイドポートを作製し、27 ゲージトッブ注射針を装着したテルモシリンジにより採取した。採取した検体は速やかに冷凍し、測定直前まで -20°C で保存した。TGF- $\beta$ 1 および TGF- $\beta$ 2 は Quantikine ELISA Kit を用いて酵素免疫測定法にて定量し、各群の TGF- $\beta$  濃度の差については Bonferoni test program を用いて比較検討した。

TGF- $\beta$ 1 についてはどの群においても 0.1pg/ml 未満の値であり、各群の間に差は見られなかった。totalTGF- $\beta$ 2 濃度は N 群  $1001.4 \pm 444.1$ pg/ml に対して、G 群  $1699.4 \pm 346.3$ pg/ml、D 群  $1715.6 \pm 882.1$ pg/ml、DG 群  $1692.9 \pm 361.9$ pg/ml であり、D 群と DG 群はそれぞれ N 群に比べて有意に濃度が高かった。matureTGF- $\beta$ 2 濃度は N 群  $321.2 \pm 197.9$ pg/ml に対して、G 群  $822.5 \pm 484.4$ pg/ml、D 群  $564.2 \pm 324.5$ pg/ml、DG 群  $1058.9 \pm 648.4$ pg/ml であった。G 群は N 群の約 2.5 倍の値で有意に濃度が高かった。DG 群は N 群より有意に高い値で N 群の 3 倍以上となっていた。また DG 群は D 群に比べても有意に高値となっていた。

totalTGF- $\beta$ 2 と matureTGF- $\beta$ 2 のどちらの場合も年齢、性別、術前眼圧、視

野の程度、糖尿病網膜症の重症度と TGF- $\beta$ 2 値は相関していなかった。HbA1c の値が高い例で TGF- $\beta$ 2 値が高い傾向にあったが、有意な差は認められなかった。

これまで眼房水中の TGF- $\beta$  濃度は TGF- $\beta$ 1 は測定限界以下で、TGF- $\beta$ 2 は測定可能であると報告されているが、今回の結果も TGF- $\beta$ 1 は 0.1pg/ml 未満となっており、TGF- $\beta$ 2 は測定可能であった。血液中は逆に TGF- $\beta$ 1 が多い。また porcine 眼の trabecular cells に TGF- $\beta$ 2 の mRNA が存在し、latentTGF- $\beta$ 2 を分泌しているという報告もあり、これらのことから血液由来の TGF- $\beta$  が眼内に入ってくるだけでなく、眼局所でも TGF- $\beta$  が産生されているといえる。そして、この TGF- $\beta$  の細胞外基質蓄積作用、血管新生促進作用が糖尿病網膜症や緑内障の病態に関与していると考えられる。

Tripathi らは POAG 眼の房水中の totalTGF- $\beta$ 2 および matureTGF- $\beta$ 2 濃度はどちらも対照群に比べて有意に高かったと報告している。我々の結果では POAG 眼では対照眼に比べて、totalTGF- $\beta$ 2 は有意な差ではないものの高い傾向にあり、matureTGF- $\beta$ 2 は約 2.5 倍と有意に高濃度になっていた。trabecular cells では TGF- $\beta$ 1 mRNA が発現しており、TGF- $\beta$  receptor を持ち、さらに TGF- $\beta$ 1 が trabecular cells の TGF- $\beta$ 1 mRNA の発現に positive に regulate するという報告もある。POAG 眼では何らかの要因により trabecular cells の latentTGF- $\beta$ 2 産生が亢進し、さらに正常眼とは違う要因が加わって matureTGF- $\beta$ 2 に変化しやすくなっていて、matureTGF- $\beta$ 2 が高濃度になっているとも考えられる。そして、高濃度の TGF- $\beta$ 2 の作用によって房水流出路の細胞外基質が増加し、房水流出抵抗が増大するのであろう。一方、前房内の高濃度の TGF- $\beta$ 2 により trabecular cells 自身の TGF- $\beta$ 2 産生がいつそう亢進し、それによってますます房水流出抵抗が増大していくのであろう。そしてこれが緑内障を進行させる一因となっているのであろう。

TGF- $\beta$ には生体内において血管新生促進作用があり、細胞外基質増加作用とともに、糖尿病網膜症の発症進行に関与していると思われる。今回の結果では DM 眼において対照眼に比べ totalTGF- $\beta$ 2 は有意に濃度が高く、matureTGF- $\beta$ 2 は高い値ではあったが有意な差ではなかった。硝子体についてはあるが、Hirase らは増殖型糖尿病網膜症例において手術時に採取した硝子体中には total および matureTGF- $\beta$ 2 が高濃度に含まれていたと報告している。proliferative vitreoretinopathy (PVR) の眼の硝子体中には PVR でない retinal detachment

の眼に比べ TGF- $\beta$ 2 が高濃度に含まれていたとの報告もある。preretinal proliferative membranes には、形成された初期に TGF- $\beta$ 1 型受容体発現細胞が多数見られ、proliferative membranes の形成には TGF- $\beta$  が関与していると考えられる。DM 眼では TGF- $\beta$ 2 が高濃度になることにより眼内に新生血管や増殖膜が生じやすい状態になっており、糖尿病網膜症が進行していく素因の 1 つになっていると思われる。糖尿病眼において TGF- $\beta$ 2 の分泌が亢進しているのは trabecular cells だけでなく網膜や毛様体上皮、糖尿病網膜症で生じる増殖膜などでも亢進していると思われ、POAG 眼とは異なる要因によって眼内の複数の個所で同時に TGF- $\beta$ 2 分泌が亢進されている可能性がある。

さらに糖尿病・POAG 合併例については、total TGF- $\beta$ 2 が対照群よりも有意に高濃度だっただけでなく、mature TGF- $\beta$ 2 は対照群の 3 倍以上の高濃度で、有意な差があった。また糖尿病のみの群に比べても有意に高い値であった。糖尿病眼において TGF- $\beta$ 2 産生と活性化をより強く亢進させる要因が働くとき trabecular cells でも TGF- $\beta$ 2 産生が亢進し、細胞外基質がより激しく産生され、線維柱帯の房水流出傾向がより増大するため POAG も合併するようになると思われる。糖尿病眼の中で TGF- $\beta$ 2 が特に高濃度になる原因については高血糖、HbA1c の高値、増殖型糖尿病網膜症の合併などが考えられるが、今回は特定できなかった。しかし有意な差は認められなかったものの、コントロール不良の高血糖の症例で TGF- $\beta$ 2 が高値になる傾向にあった。高血糖が TGF- $\beta$ 2 産生と活性化を増加させる 1 つの要因になっている可能性がある。

今後 TGF- $\beta$ 2 分泌を増加させる要因や、latent TGF- $\beta$ 2 を活性化させる要因を特定することができれば、POAG や糖尿病、POAG と糖尿病合併例の病態解明とその治療に大いに役立つであろう。TGF- $\beta$ 2 は糖尿病および POAG の病態とその治療法において大きな役割を果たしていることが示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

受付番号	乙 第 1864 号	氏 名	落 合 優 子
論 文 題 目	Higher Concentration of Transforming Growth Factor- $\beta$ in Aqueous Humor of Glaucomatous Eyes and Diabetic Eyes 緑内障と糖尿病眼の前房水における TGF- $\beta$ 濃度		
審 査 委 員	主 査 根 本 昭 夫 副 査 熊 谷 俊 一 副 査 久 野 高 義		
審査終了日	平成 15 年 / 月 29 日		

（要旨は 1,000 字～2,000 字程度）

糖尿病網膜症と緑内障は後天性失明原因一位、二位の疾患であり、眼科において重要な疾患である。また糖尿病と緑内障（開放隅角緑内障、以下 POAG）を合併している症例も多く見られる。しかしその病態及び病因は現在も不明な点が多い。現在では TGF- $\beta$  をはじめとするサイトカインが何らかの関与をしている可能性が高いと考えられている。本論文では緑内障例、糖尿病例、緑内障・糖尿病合併例について眼房水を採取し、TGF- $\beta$  1 および TGF- $\beta$  2 濃度を測定、検討し、病態を研究している。

POAG 患者（以下 G 群）、糖尿病患者（以下 D 群）、POAG・糖尿病合併患者（以下 DG 群）、対照群（以下 N 群）として白内障患者において手術施行時に眼房水を採取し、totalTGF- $\beta$  1 および totalTGF- $\beta$  2、matureTGF- $\beta$  2 濃度を Quantikine ELISA Kit を用いて酵素免疫測定法にて定量し、各群の TGF- $\beta$  濃度の差について Bonferoni test program を用いて比較検討した。

各群における測定結果は TGF- $\beta$  1 についてはどの群においても 0.1pg/ml 未満の値であり、totalTGF- $\beta$  2 濃度は D 群と DG 群で N 群に比べて有意に濃度が高かった。matureTGF- $\beta$  2 濃度は G 群と DG 群で N 群より有意に高い値であった。また DG 群は D 群に比べても有意に高値となっていた。

今回の実験から、POAG 眼では高濃度の TGF- $\beta$  2 の作用によって房水流出路の細胞外基質が増加し、房水流出抵抗が増大することで緑内障を進行させると考えられた。TGF- $\beta$  には生体内において血管新生促進作用があるが、DM 眼では TGF- $\beta$  2 が高濃度になることにより眼内に新生血管や増殖膜が生じやすい状態になっており、糖尿病網膜症が進行していく素因と思われた。さらに糖尿病・POAG 合併例については、totalTGF- $\beta$  2、matureTGF- $\beta$  2 共に非常に高濃度であり、糖尿病眼において TGF- $\beta$  2 産生と活性化をより強く亢進させる要因が働く場合 trabecular cells でも TGF- $\beta$  2 産生が亢進し、線維柱帯の房水流出抵抗が増大するため POAG も合併するようになると考えた。以上から、TGF- $\beta$  2 は糖尿病および POAG の病態とその治療法において大きな役割を果たしている

ことが示唆された。

これまで緑内障眼において眼房水中の TGF- $\beta$  1 および TGF- $\beta$  2 濃度を測定した研究はあったが、糖尿病眼、及び緑内障・糖尿病合併眼について測定した研究はない。緑内障・糖尿病合併眼に注目した点で本論文は今後これらの疾患の病態把握の一助になると思われる。

本研究は後天性失明原因の上位である緑内障と糖尿病について、その病態を研究したものであるが、従来ほとんど行われなかった眼房水中のサイトカイン（TGF- $\beta$ ）について重要な知見を得た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。