



Title	Autoradiographyによる角膜上皮再生の研究
Author(s)	原, 二郎
Citation	大阪大学, 1963, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/28472
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名・(本籍)	原	二	郎
	はら	じ	ろう
学 位 の 種 類	医	学	博 士
学 位 記 番 号	第	401	号
学位授与の日付	昭 和 38 年 3 月 25 日		
学位授与の要件	医 学 研 究 科 外 科 系 学位規則第5条第1項該当		
学 位 論 文 題 目	Autoradiography による角膜上皮再生の研究		
	(主 査)	(副 査)	
論 文 審 査 委 員	教 授 水 川	孝	教 授 釜 洞 醇 太 郎 教 授 清 水 信 夫

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

角膜上皮再生の機構に関しては、従来は mitosis 像のみを手がかりとして論ぜざるをえなかったため、未だ決定的な結論がえられていない。本研究では mitosis 像に依存せず mitosis に先行する DNA 合成を ^3H -thymidine を用いて autoradiography によって知り、角膜上皮再生における細胞分裂の関与と上皮再生の状態を明らかにしようとした。

〔方法並びに成績〕

実験材料及び方法：

1) in vivo の実験 体重 2kg 前後の白色雄性家兎を用い角膜中央部に種々の創傷を与え、以後経時的に ^3H -thymidine (specific activity 1.41C/mM) の $10\mu\text{C}/0.1\text{ml}$ を前房内に注入し、2 時間後に眼球を摘出し Carnoy 氏液固定後、 5μ paraffin 切片を作製し冷 perchloric acid 処理後、stripping film (London Kodak, AR 10) を用い autoradiography を行なった。なお前房水の ^3H -thymidine の測定には Packard's Tri-Carb Liquid Scintillation Spectrometer を用いた。

2) in vitro の実験 白色雄性家兎角膜上皮の初代組織培養を行ない、 ^3H -thymidine を含む培養液中で培養後 autoradiography を行なった。

実験成績：

A. ^3H -thymidine の投与方法についての実験： 先ず各投与方法で次のことが認められている。

1) 結膜下注射では角膜上皮細胞には incorporation は認められない。点眼、前房内注射では incorporation が認められたが前房内注射が最も確実である。

2) 前房内に注入した ^3H -thymidine は、15分後にはすでに角膜上皮細胞に incorporation されている。

- 3) 前房内に注入した ^3H -thymidine は、2 時間後には注入後の濃度の約 $1/5000$ に減少する。
- 4) 前房内に注入した ^3H -thymidine により、食道、皮膚および反対側の眼球には incorporation はみとめられない。また反対側の前房水にも ^3H -thymidine は証明されない。
- 5) いかなる投与方法を行なった場合にも、正常角膜では実質細胞、内皮細胞は label されず、上皮の基底細胞のみが label される。labeled basal cell/total basal cell は約 $1/100$ である。

B. 創傷別による実験： 上皮、実質にそれぞれ異なった形で創傷を与えたときの上皮再生の機構を比較観察して次のようなことを認めている。

1) 径6mm円形上皮剝離創では、初期にのびる再生細胞は全く label されないが、1 日後には再生細胞に labeled cell がみられる。2 日後には上皮欠損はなくなるが剝離部にのびた再生細胞には labeled cell が多い。4 日以後には正常に近い状態にもどる。創傷1日後に label された基底細胞は細胞分裂を行なって6日後には上皮表層に達する。

2) Trepan で実質まで輪状創を与えた径6mm 円形上皮剝離創では、2 日以後においては創縁周辺部において labeled cell の増加が明らかである。

3) 深さ 0.4mm 径 6mm 円形の上皮および実質剝離創では、実質欠損部にのびた細胞には labeled cell はほとんどみられず、2 日以後には創縁周辺部に labeled cell が多く実質細胞も label される。

4) 上皮線状創、穿孔創では創縁周辺部に labeled cell が多くみられる。

5) 正常及び上皮剝離角膜において点眼および前房内注入を行なった場合、角膜輪部に labeled cell が特に多くみられることはない。

C. 培養上皮についての実験：

1) 角膜上皮初代培養では、Outgrowth の小さいものでは labeled cell は少ないが、大きいものでは labeled cell が多くみられる。また組織片と増殖先端部の中間に labeled cell の特に多い部分が帯状にみられる。

〔総 括〕

角膜の上皮再生において、上皮のみの剝離創では初期には再生した上皮には DNA 合成細胞は認められず、1 日後には DNA 合成細胞がみとめられる。このことは上皮剝離創では上皮の再生は、はじめは migration によるが後には mitosis がはじまり、再生細胞は日を経ると上皮表層に達して上皮剝離部が修復されることを示している。

ところが上皮のみならず実質に達する剝離創では、DNA 合成細胞は実質欠損部に再生した上皮にはほとんど認められず創縁周辺部にのみ多くみられるので、実質剝離創では上皮のみの剝離創とは上皮再生の状態に差があり、創縁周辺部において mitosis が行なわれ実質欠損部の上皮は主に migration によって修復されるものであることがわかる。

さらに実質剝離創や線状創、穿孔創などの実験で DNA 合成細胞が創縁周辺部に多いことがわかり、また組織培養でも帯状 DNA 合成細胞が多くみられたことは、Harding らが水晶体上皮再生において創縁周辺部に DNA 合成細胞帯を認めたと同じように角膜上皮再生においても創縁周辺部において DNA 合成細胞帯として反応することを示唆するものと思われる。

すなわち無血管組織である角膜においても上皮再生の機構はかなり複雑で創傷の程度により異なるが、上皮再生の際の DNA 合成細胞の部位やその細胞の動きから上皮再生機構を知り得た。

論文の審査結果の要旨

〔研究目的〕

角膜上皮再生の機構に関しては、従来は mitosis 像のみを手がかりとして論ぜざるを得なかったため未だ決定的な結論が得られていなかったもので、mitosis 像に依存せず mitosis に先行する DNA 合成を ^3H -thymidine を用いて autoradiography によって知り角膜上皮再生における細胞分裂の関与と上皮再生の機構を明らかにしようとしている。

〔研究方法〕

1) in vivo の実験 白色雄性家兎を用い角膜中央部に種々の創傷を与え、以後経時的に ^3H -thymidine ($10\mu\text{c}/0.1\text{ml}$) を前房内に注入し 2 時間後に眼球を摘出し paraffin 切片作製後、stripping film (London Kodak, AR10) を用い autoradiography を行なった。なお前房水の ^3H -thymidine の測定には Packard's Tri-Carb Liquid Scintillation Spectrometer を用いた。

2) in vitro の実験 家兎角膜上皮初代組織培養を行ない、 ^3H -thymidine を含む培養液中で培養後 autoradiography を行なった。

〔研究結果〕

1) 前房内に注入した ^3H -thymidine は 15 分後には注入後の濃度の約 1/1000 となり、また 15 分後には角膜上皮細胞に incorporate されていた。

2) 径 6mm 上皮剝離創では初期にのびる再生細胞は全く label されないが、1 日後には再生細胞に labeled cell がみられた。5 日後には labeled cell の数および分布は正常に近かった。創傷 1 日後に label された基底細胞は細胞分裂を行なって 6 日後には上皮表層に達していた。

3) Trepan で実質まで輪状創を与えた上皮剝離創では、2 日以後に創縁周辺部に labeled cell の増加が明らかであった。

4) 上皮および実質剝離創では実質欠損部にのびた上皮には labeled cell はほとんどみられず、3 日後には創縁周辺部に labeled cell が多くみられた。創傷 4 日後に創縁周辺部で label された細胞は、さらに 4 日後には実質欠損部の上皮に migration しているのがみられた。

5) 上皮線状創、穿孔創においても創縁周辺部に labeled cell が多くみられた。

6) 正常および上皮剝離角膜において角膜輪部に labeled cell が特に多くみられることはなかった。

7) 角膜上皮初代培養では、組織片と増殖先端部の中間に labeled cell の特に多い部分が帯状にみられた。

〔むすび〕

以上を総括すると角膜の上皮再生は、はじめは創縁の細胞の migration によるが後には mitosis がは

じまり，また再生上皮は基底層より上皮表層に達して上皮層を修復することを明らかにした。上皮のみならず実質に達する剝離創では周縁周辺部においてDNA合成が行なわれ実質欠損部の上皮は主に migration により修復されることを示した。さらに創縁周辺部に DNA 合成細胞が多く角膜の上皮再生には創縁周辺部が重要であることを明確にした。すなわち角膜においての上皮再生の機構はかなり複雑で創傷の程度により異なるが，上皮再生の際の DNA 合成細胞の部位やその細胞の動きから上皮再生の機構を知りえた。