The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Autoradiographyによる家兎角膜実質のcollagen合成に関する研究
Author(s)	曲直部, 恵造
Citation	大阪大学, 1967, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/29135
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

【36】

氏名・(本籍)	曲直部　恵造（まなべ　けいぞう）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 1171 号
学位授与の日付	昭和42年3月28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 による家兎角膜実質の collagen 合成に関する研究**
論文審査委員	(主査) 教授 水川　孝 (副査) 教授 清水　信夫　教授 浜　清

論文内容の要旨

〔目　的〕

角膜実質においては collagen が構成の大部分をしめておりこの collagen の変化は透明であるべき角膜の混濁に重要な関係を持っている。しかしながら正常角膜でも混濁した瘢痕角膜でも collagen 合成がどの程度おこなわれているか不明である。そこで ^{3}H-Proline を用い光顕的，および電顕的 Autoradiography をおこない家兎角膜実質の collagen 合成について検討する。

〔方　法〕

実験材料としては成熟家兎の ⓐ 正常角膜 ⓑ 正常角膜中央部に 5.5 mm 径トレパンで実質に達する深さ 0.3 mm の輪状創を加えたもの ⓒ 正常角膜中央部において円形（直径 8 mm）に 10 N NaOH 腐蝕を加え混濁させた角膜 ⓓ ⓒ の混濁した瘢痕角膜に前記輪状創を加えたものを用いた。

（1） 光顕的 Autoradiography: 上記の ⓐ～ⓓ の角膜を有する家兎眼球前房内に ^{3}H-Proline 200 μc/0.2 cc 注入し 3 時間後角膜を採取した。採取後ホルマリン固定をおこない型の如く 7 μ パラフィン切片を作成し，液体乳剤 SAKURA NR-M1 を用い dipping method により光顕的 Autoradiography をおこなった。その後約 3 週間露出し検鏡した。

（2） 電顕的 Autoradiography: ⓑ の術後 1 週間の角膜を有する家兎眼球前房内に ^{3}H-Proline 200 μc/0.2 cc 注入し，15分，30分，3 時間，7 時間，1 日後に角膜を採取した。採取後角膜創傷部位を中心とした角膜片を 1% O_sO_4 (phosphate buffer) で 2 時間固定しエタノール系列で脱水，Epon 812 で包埋をおこなった。次に超薄切片を作成し醋酸ウラン前染色後，液体乳剤 SAKURA NR-HIT を用い電顕的 Autoradiography をおこなった。その後約 1 カ月露出しゼラチン膜の除去，後染色をおこない検鏡した。

〔成　績〕

（1） 家兎正常角膜実質においては ^{3}H-Proline のとりこみはほとんどなかった。

（2） 家兎正常角膜実質に輪状創を加えたところ術後3日前後の角膜では創傷付近の実質には fibroblast の集合は著明でなく創傷付近の実質での ^{3}H-Proline のとりこみもあまりみとめられなかった。術後1週間～2週間の角膜では創傷付近の実質には fibroblast が集合しその部位での ^{3}H-Proline のとりこみは増加した。術後3週間の角膜では組織学的に1～2週間の角膜と著変ないが ^{3}H-Proline のとりこみはやや減少していた。

（3） 腐蝕後1カ月の角膜は強く混濁し瞳孔領透見不能で強い血管新生は存在するが炎症症状はなかった。組織学的所見としては混濁部の実質の肥厚，実質繊維層の走行のみだれ，fibroblast，浸潤細胞，血管新生が著明にみとめられた。また混濁部での ^{3}H-Proline のとりこみは強くみとめられた。しかし2カ月では混濁の程度は変化はないがとりこみはほとんどなかった。

（4） このように ^{3}H-Proline のとりこみのほとんどない腐蝕後2カ月の瘢痕角膜に輪状創を加えたところ術後3日前後，1～2週間，3週間いずれも創傷部に ^{3}H-Proline のとりこみの増加はほとんどみとめられなかった。

（5） 正常角膜に輪状創を加えて術後1週間の角膜を有する家兎眼球前房内に ^{3}H-Proline を注入しその後の実質における時間的とりこみの移動を電顕的 Autoradiography で観察した。前房内注入後15分では grain はほとんどみとめられなかった。30分でも grain はすくないが主に実質細胞内特に粗面小胞体にかなりみとめられ基質中にはすくなかった。3時間では grain は増加し30分同様主に実質細胞内に多く粗面小胞体にもみとめられたがゴルジ野，細胞質周辺部にもみとめられた。7時間では実質細胞内にも grain は存在するが基質中に多くみとめられた。 1日では grain は実質細胞中にはほとんどみられず基質中に多くみとめられた。

〔総　　括〕

^{3}H-Proine を家兎眼球前房内に注入し光顕的および電顕的 Autoradiography をおこない角膜実質における collagen 合成について検討し次の結果を得た。

① 正常角膜実質には ^{3}H-Proline のとりこみはほとんどみとめられない。

② 正常角膜実質に創傷を加えると術後1週間～2週間で創傷部位の近くの実質にとりこみが著明にみとめられ術後3週間ではとりこみはやや減少する。しかし瘢痕角膜に同様の創傷を与えてもとりこみは増加せず正常角膜より創傷治癒過程において collagen 合成能は低下していることを示唆している。

③ ^{3}H-Proline 前房内注入後の時間的なとりこみの局在性の変化を観察すると細胞内にとりこまれ基質へ移動するのにかなり長時間を要し家兎の角膜実質の collagen 合成過程は緩慢であると思われる。

論文の審査結果の要旨

〔研究目的〕

角膜創傷治癒に関する研究は数多いが，いずれも上皮，内皮に関するもので角膜組織の大部分を占め，かつ透明性に関連深い実質の創傷治癒については案外少ない。ことに形態的のみならず機能的に観察したものは実質細胞の DNA 合成に関するもののみであり実質の大部分を占める collagen の合成については種々の考え方があるが病態生理的に観察されたものはない。本論文では collagen でも透明性を必要とする点で他の組織の collagen とはことなった角膜実質のそれについて分泌，合成，細胞外への排泄，重合などがどうしておこるかを知る目的で光顕的および電顕的 Autoradiography をおこないその合成過程を検討している。

〔実験方法〕

家兎眼球前房内に ^{3}H-Proline を注入し光顕的および電顕的 Autoradiography をおこなっている。

〔実験成績〕

正常角膜においては collagen の合成はみとめず実質に達する創傷を加えた場合のみ1～2週間後に特に傷口附近の実質に collagen 合成が盛んであることをみとめている。またその際の collagen 合成過程をしめす ^{3}H-Proline のとりこみは15分では全然なく30分ではわずかながら実質細胞とくに粗面小胞体にみとめ3時間ではとりこみは増加しているが30分同様細胞内に多く粗面小胞体よりはむしろ Golgi 野，細胞質周辺にみとめている。7時間では細胞内より基質に多く1日ではほとんど基質中にみとめており細胞と基質とのとりこみの割合は3時間を境界に相対比している。またその実質の collagen 合成過程は時間的にみて他の組織よりは緩慢であると思われる。それに反し瘢痕角膜において ^{3}H-Proline のとりこみを正常角膜同様に調べているが collagen 合成能は非常に低下している。

以上この研究は角膜実質における特異な collagen 合成過程を明らかにしたもので実質の創傷治癒機序の病態機能面よりの解明に重要な知見を提供した有意な研究といえる。