The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	微量角膜多糖類の分離定量
Author(s)	鳥邊, 房子
Citation	大阪大学, 1966, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/29319
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

【51】

氏名・(本籍)	鳥邊房子（とりべふさこ）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 1036 号
学位授与の日付	昭和41年10月31日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	**微量角膜多糖類の分離定量**
論文審査委員	(主査) 教授 水川 孝 (副査) 教授 坂本 幸哉 教授 山村 雄一

論文内容の要旨

〔目　　的〕

角膜多糖類はその水分調節や透明性の保持に大いに関係すると考えられ，種々の生理的，病的状態での変化を知ることは重要なことである。しかし微量定量が困難であり，病的状態下での変化の研究は少なく，とくに人眼については行なわれていない。そこで角膜多糖類の定量法を一枚の人角膜でも測定できるように改良し，実際に人間の病的溷濁角膜における多糖類の変化をしらべ，さらに多糖類代謝に影響を与えるものとして，プレドニソロンをえらび，角膜多糖類にはどのように影響するかを検討する目的でこの実験を行なった。

〔実験方法〕

1）実験材料—正常人角膜，角膜移植時直径 6 mm のトレパンで取った病的溷濁角膜片，正常家兎角膜，プレドニソロン投与家兎角膜，

2）定量方法

a. 角膜多糖類の抽出—乾燥角膜を細切し，ペプシンおよびトリプシンにて消化後，エタノールで遠沈抽出した。

b. ECTEOLA cellulose column chromatography—Anseth A. の方法により，column size は 7 cm×1 cm. stepwise に 0.02M HCl 溶液，0.2MCl⁻溶液，0.3MCl⁻溶液，2MCl⁻溶液にて溶出し，第4の分画のみを Sephadex G25 column にかけて脱塩した。ただし人角膜の場合は材料が非常に微量であるので行なわなかった。家兎角膜の場合は左右二枚をもちいた。

c. glucosamine galactosamine の分離定量—上記各分画を加水分解後2分し，一方はそのまゝ全 hexosamine 量を Elson-Morgan 法に醋酸エチルで抽出する操作を加えた方法にて測定し，他方にはオリエンタル生酵母を作用させ，glucosamine を消失させ galactosamineのみを同じ方法で測定した。

3）定量法の検討—glucosamine, galactosamine の分離には従来より Dowex-50 イオン交換カラムによる方法が主に用いられているが，これは非常に時間と手間がかかる。そこでオリエンタル生酵母を用いて glucosamine と galactosamine の分離を考按した。オリエンタル酵母を glucosamine に 37°C で 2 時間作用させると完全に消失するが，galactosamineは全く影響をうけなかった。しかしhexosamine 定量の段階において酵母が残っていると定量できず発色が弱くなるので醋酸エチルにて抽出する操作を加え酵母を完全に除去することゝ，試料を濃縮することにより発色の感度をあげることができた。この醋酸エチルにて抽出する操作を加えることにより Elson-Morgan 原法の約 5 倍の感度をうることに成功した。

〔実 験 結 果〕

1）人病的溷濁角膜について

正常人角膜 4 例の平均値は乾燥角膜重量 100 mg につき glucosamine は 10.2μ moles, galactosamine は 4.8 μ moles であった。

軽度溷濁角膜10例と強度溷濁角膜23例について比較すると，溷濁の程度の強いほど多糖類の減少の仕方も大きかった。このさい galactosamine (Chondroitinsulfate) よりも glucosamine (Keratosulfate)の方が減少の程度が強かった。溷濁を起した原因疾患については，円錐角膜 4 例では減少は少なく，角膜実質炎 4 例では glucosamine, galactosamine ともに減少し，乳幼児期の全身疾患によって溷濁をきたしたもの，および細菌感染によって溷濁をきたしたものでは，glucosamine に著明な減少を認めた。

2）プレドニソロンの家兎角膜多糖類におよぼす影響について

全 hexosamine 量については，正常家兎 6 例の平均値が乾燥角膜重量 100 mg につき 4.81 μ moles であり，プレドニソロン投与家兎 (5 mg/Kg を隔日に 7 回筋注) では 4.17 μ moles で幾分減少の傾向はあったが大差はなかった。しかし ECTEOLA column chromatography の各分画については変化があり，とくに第 4 分画に著明で glucosamine では正常家兎に対してプレドニソロン投与家兎では70.8%に減少し，galactosamine でも正常家兎にたいし，プレドニソロン投与家兎では50.5%に減少していた。

〔総　　括〕

1）glucosamine, galactosamine の分離に酵母をもちい，さらに醋酸エチルで抽出することにより簡単な微量で行なえる角膜多糖類の分離定量法を考按した。

2）人間の病的溷濁角膜では溷濁原因にかかわらず多糖類が減少し（とくに keratosulfate）溷濁程度の強いほどその減少の程度も強い。溷濁をきたした原因疾患については，円錐角膜では減少が軽度であり，角膜実質炎，乳幼児期の全身疾患による溷濁では減少の程度が強い。

3）プレドニソロン投与家兎では，正常家兎にくらべて全体としての多糖類の減少はわずかであったが，ECTEOLA column chromatography による分画では第 4 の分画すなわち分子量の大きい keratosulfate, および S 含有量の高い chondroitinsulfate が有意に減少した。

論文の審査結果の要旨

角膜機能に重要な役割を演じる多糖類の変化を調べることは重要であるが微量定量が困難であるために人間の病的状態下での化学的研究はない。そこで日常臨床における二，三の問題点をひろい角膜多糖類についての定量的研究をこころみ，1）従来の定量法を改良して，グルコサミン，ガラクトスアミンの分離に酵母を用い，さらに酢酸エチルにて抽出する操作を加えることにより簡単に微量で行なえる分離定量法を確立している。2）その方法により角膜移植時えられた人間の溷濁角膜では多糖類とくにケラト硫酸の減少すること，溷濁原因疾患により多少の差はあるが溷濁度の強いほど，減少度も強いことを認めている。3）さらにプレドニソロンを投与した家兎角膜では全体としての多糖類量に著変はないが，分子量の大きいケラト硫酸，S 含有量の高いコンドロイチン硫酸が減少することを認め，これは溷濁角膜における多糖類の分布の前段階とも考えられる多糖類の分布であると推論しているなど角膜内多糖類の意義解明に役立つ諸事実を確証している。