

Title	ラット角膜における輸送機構に関する微細構造とATP-aseについて
Author(s)	前田, 一美
Citation	大阪大学, 1967, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/29324">https://hdl.handle.net/11094/29324</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名・(本籍)	前 田 一 美 まえ だ かづ み
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 1074 号
学位授与の日付	昭 和 42 年 1 月 25 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	ラット角膜における輸送機構に関する微細構造と ATP-ase について
論文審査委員	(主査) 教授 水川 孝 (副査) 教授 小浜 基次 教授 清水 信夫

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 〔目 的〕

角膜は常に一定の含水量を保つことによってその透明性を維持している。また角膜には水がたえず侵入していることが知られているので、角膜は積極的にエネルギーを消費して水を汲み出し一定の含水量を保っていると考えられている。そこで角膜の transport mechanism に関係深いと思われる微細構造を観察し、それらと ATP ase の活性部位との関係を調べることは、角膜の水の汲み出し機構に関する研究にとって一つの基礎的知見を提供するものと思われる。

#### 〔実験方法〕

ラット眼球を断頭後摘出、角膜を採取し、1% OsO<sub>4</sub> (veronal acetate buffer) で2時間固定、エタノール系列で脱水、Epon 812 に包埋した。ついで同様に採取した角膜を3% glutalaldehyde で40分間固定、4°C、24時間0.2 M tris buffer で洗浄のち50μの凍結切片を作成し、Wachstein-Meisel 改良液で37°C、30分間反応せしめた。反応後再び tris buffer で洗浄し、1% OsO<sub>4</sub> で1時間後固定を施し型の如く Epon 812 に包埋した。観察はすべて central cornea に限った。

#### 〔成 績〕

I. 微細構造 A, 上皮 (i) 円柱細胞基底面細胞膜は平滑で half desmosome が存在し、vesicle が附着あるいは接近する。相隣の円柱細胞と接する(側面)細胞膜の下部は複雑に蛇行し、細胞間隙の中は不均一で desmosome は少ない。上方になるに従い多くの desmosome が存在し、間隙の中は下部ほど不規則でない。細胞膜に接近附着する vesicle が多数存在する。翼細胞と接する面も強く嵌合するが間隙の中はより一定してくる。(ii) 翼細胞円柱細胞、翼細胞、扁平細胞のいずれと接する面も複雑に屈曲嵌合し、desmosome は多数存在し、間隙の中はほぼ一定している。(iii) 扁平細胞中層、表層と上になるに従い、細胞間隙は開放的部分と閉鎖的部分とが目立ち、前者における細胞膜はゆるやかな波

状に屈曲し、後者ではより直線的となり間隙をせばめる。涙液面に開く細胞間隙は何らかの形で閉ざされているが一定の型をとらない。最表層細胞内に vesicle は少ない。B, 内皮 相隣る細胞膜はほぼ一定巾の細胞間隙をはさんで複雑に蛇行し、房水腔に開く部分は terminal bar で閉され、それよりやや離れて再び tight junction がしばしば存在する以外は特別な接着構造はみられない。vesicle は基底面、側面、房水面のいずれにも多数みられる。

II. ATP ase 活性 A, 上皮 (i) 円柱細胞基底面細胞膜は陰性、側面細胞膜下部の間隙不規則部分は活性弱く、上部には強く、燐酸鉛は不連続的に間隙をうずめる。vesicle は上部細胞膜に附着あるいは接近するものに活性をもつものがみられるが、下部および基底面のものには活性はほとんどみられない。円柱細胞と翼細胞と接する面の活性はもっとも強い。(ii) 翼細胞 翼細胞膜の活性は非常に強く、燐酸鉛は desmosome を除き不連続的に細胞間隙をうずめる。vesicle は一部のもののみ活性がみられる。(iii) 扁平細胞 中、表層の活性は深部に比し急激に低下するが、間隙の開放的部分も閉鎖的な部分も同様の活性がみられる。涙液面には全く活性はみられない。vesicle のほとんどは活性を示さない。B, 内皮 デスマ膜面及び房腔面には ATP ase 活性は全くみられない。相隣る細胞膜は tight junction を除き強度陽性を示す。vesicle は相隣る細胞膜に関係するものだけが強度陽性である。C, Na 除去, ouabain ( $3 \times 10^{-5}$  M) 添加は全体に鉛の沈着を弱めるが、上皮翼細胞膜、および内皮の相隣る細胞膜はより大きく影響される。

〔総括〕

ラット角膜の微細構造と ATP ase 活性部位との関係を調べ形態学的に ion transport あるいは水の汲み出し機構について考察した。

1. 上皮の細胞間隙の状態は層によって異なり、円柱細胞側面下部の間隙巾は不規則で、翼細胞膜は複雑に屈曲嵌合し間隙巾はほぼ一定、中、表層扁平細胞膜には間隙の開放的な屈曲部分と閉鎖的な直線部分とが観察される。

一方 ATP ase 活性は円柱細胞側面下部の間隙不規則部は弱く、翼細胞膜には非常に強く、扁平細胞膜は表層ほど活性は弱く、涙液面は活性を示さないが、屈曲部にも直線部にもほぼ同様の活性がみられる。

2. 内皮の相隣る細胞膜は強く屈曲嵌合し均一な細胞間隙を有し、強い ATP ase 活性が存在する。デスマ膜面、房腔面細胞膜には活性はみられない。vesicle は相隣る細胞膜に関係するもののみ強い活性を示す。

3. 上皮内皮とも細胞間隙が通路路としての意義をもつこと、および上皮内通過の抵抗は細胞層によってかなり異なることが予想される。また内皮の水の汲み出し機構は相隣る細胞膜と強く関係するものと思われる。

## 論文の審査結果の要旨

角膜は常に積極的にエネルギーを消費して水を汲み出し一定の含水量を保つことによってその透明性を維持しているものとされ、角膜にとってその輸送機構は重要な意義をもっているものと考えられる。そこで著者はラット角膜を用い本機構に関係深いと思われる ATP ase の局在と微細構造の関連性を電顕的に観察した。

ラット角膜 ATP ase 活性は、上皮、内皮とも細胞間隙に面する細胞膜にみられ、活性を示す磷酸鉛は膜外面に附着する。上皮の細胞間隙の状態は層によって異なり、円柱細胞側面下部の間隙は不規則で ATP ase 活性は弱く翼細胞膜は複雑に屈曲嵌合し間隙はほぼ一定で活性は非常に強い。中層、表層扁平細胞膜には間隙の開放的な屈曲部分と閉鎖的な直線部分とが観察されるが、活性はほぼ同様で表層ほど活性は弱く、扁平細胞涙液面および円柱細胞基底面には活性はみられない。内皮の相隣る細胞膜は強く屈曲嵌合し、均一な細胞間隙を有し、強い ATP ase 活性が存在する。デスメ膜面、房腔面細胞膜には活性はみられない。vesicle は相隣る細胞膜に関係するもののみ強い活性を示すなどの事実を認めている。

本研究は角膜の輸送機構の一端を解明するのに役立つものと思う。