



Title	角膜実質細胞の反応態度と酸性ムコ多糖の動態
Author(s)	岡本, 由史
Citation	大阪大学, 1970, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/30413
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)	おかもとよしふみ 岡本由史
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 2122 号
学位授与の日付	昭和45年9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	角膜実質細胞の反応態度と酸性ムコ多糖の動態
論文審査委員	(主査) 教授 水川 孝 (副査) 教授 清水 信夫 教授 坂本 幸哉

論文内容の要旨

〔目 的〕

結合組織としての角膜は、無血管性、透明組織という点で特異な組織である。その大半を占める実質は、ほとんど膠原線維と酸性ムコ多糖からなっている。透明性、無血管性という角膜の生理学的特性と、これらの主要構成成分の関係については、膠原線維に関しては規則正しい配列と、層状構造のためと考えられているが、酸性ムコ多糖に関しては、なお詳細不明である。そこで著者は、上記の角膜の生理学的特性を損うような諸種の刺激を与え、これら酸性ムコ多糖を合成する角膜実質細胞が、形態的にどのように反応し、またいかなる酸性ムコ多糖の変動を示すかについて、とくにchondroitin sulfateの動きに着目して検討した。

〔方法ならびに成績〕

実験Ⅰ、諸種創傷に対する角膜実質細胞の反応態度に関する組織学的観察

〈方法〉家兔角膜中央部に、穿孔性切創、ION NaOH腐蝕、-78℃凍結をおこない、3,6,24時間、3,5,7,14日目に眼球を摘出し、1% CPC formalin, Zenker, formalin固定、paraffin包埋、水平、垂直切片作製、HE染色により観察した。

〈結果〉1. 切創：まず創離開部はfibrin plugにより接合され、ついでその表面に上皮が伸びて上皮性癒合がおこり、同時にfibrin plug内に、創縁実質部より実質細胞性のhyertrophied keratocyte, fibroblastの浸潤が始まり、次第に増加してfibrin plugと置換した。変化は創附近に限局性であり、炎症性細胞の関与も少い。

2. アルカリ腐蝕：修復性変化と、傷害因子残存による傷害性変化が錯綜し、複雑な治療機転を示した。hypertrophied keratocyte, fibroblastに加えて炎症性細胞の浸潤が著明であり、変化は腐蝕部

のみか輪部にまでおよび、7日以降には、Descemet氏膜後面にretrocorneal membraneの形成がみられた。

3. 凍傷：凍結部実質は健常部と明瞭に境されて均等な変化を呈し、健常実質細胞の反応も凍結部附近に限局され、炎症性細胞はほとんどみとめられなかった。

実験Ⅱ．酸性ムコ多糖染色を対象とする組織化学的観察

〈方法〉a) alcian blue-PAS, b) colloidal iron-PAS, c) toluidine blue (ScottのC. E. C.法を応用) 染色をおこない観察した。

〈結果〉1. 切創：組織欠損部を埋めたfibrin plugには、24時間後酸性ムコ多糖染色陰性であるが、48時間後軽度陽性となり、4～5日後実質細胞の分裂、増殖が進行するにしたがい陽性所見が増加した。この多糖は、ScottのC. E. C.法の応用およびhyaluronidase消化法により、chondroitin sulfateと判断された。

2. アルカリ腐蝕：実質細胞性のhypertrophied keratocyte, fibroblastの周囲には、chondroitin sulfateと判断される酸性ムコ多糖がみとめられたが、炎症性細胞の周囲では、酸性ムコ多糖染色陰性であった。retrocorneal membraneは内皮性originとされるにもかかわらず、chondroitin sulfateと考えられる酸性ムコ多糖をみとめた。

3. 凍傷：凍結後24時間では、acellular zoneにおいて核に相当する部位に、keratan sulfateがみとめられた。hypertrophied keratocyteや、3日以後にみられる凍結部実質細胞の周囲に、chondroitin sulfateが染色されたが、7日以降この傾向は減少した。

実験Ⅲ．cellulose acetate電気泳動法による創傷角膜実質の酸性ムコ多糖の検討

〈方法〉0.05M veronal buffer (pH8.6)を溶媒とし、0.5mA/cm30分展開後toluidine blueにて染色した。

〈結果〉凍傷、切創ともにkeratan sulfate, chondroitin sulfate分画をみとめるのみで、hyaluronic acid分画は見出されなかった。

以上実験Ⅰ～Ⅲにより傷害方法が異っても組織学的に実質細胞の反応態度は同一であることが明らかになったので、実験Ⅳ．およびⅤについては、均等な変化を来たす凍傷に限って検討した。

実験Ⅳ．凍傷角膜実質における細胞分裂、増殖についての検討

〈方法〉 ^3H -thymidine 200 μCi を前房内に注入し、2時間後眼球摘出。1% CPC formalin固定、paraffin包埋、切片作製、脱パラのち、dipping法をおこない、3週間後現像、HE染色にて検鏡した。

〈結果〉 ^3H -thymidineのとりこみは、3日目最も旺盛となり、5日目以降漸減し、14日後にはほとんどみとめられなくなった。 ^3H -thymidineのとりこみと、酸性ムコ多糖の染色態度はほぼ平行の傾向を示した。

実験Ⅴ．凍傷角膜における酸性ムコ多糖の変動

〈方法〉凍結後、1,3,5,7,14日の角膜を試料とし、1N NaOH溶解後、6N HCl 4時間加水分解し、一部はDowex 50 $\times$ 8 column chromatographyによりglucosamine, galactosamineを分離後それぞれ定量、一部は直接total hexosamineを定量した。定量はElson-Morgan法Boas変法によった。

〈結果〉1. total hexosamineは凍結後減少するが、最低値は3日目であり、5日目すでに増加の傾向を示し、7～14日で正常値に回復した。

2. glucosamineは3日まで減少を続け、その後漸次回復し、7～14日で正常値に回復した。またgalactosamineは1日目すでに最高値となり、7日目より減少し14日目ほぼ正常値に低下した。

〔総括〕

1. 切創では、その局所にのみ主として実質細胞性の修復がおこる。アルカリ腐蝕では実質細胞および炎症性細胞を交えた複雑な治療機転を呈する。凍傷では傷害部に一様な実質細胞性治療機転がみとめられる。しかし実質細胞に関しては、本質的に同一の反応態度をとり、傷害をうけてreactive phaseとなると形態学的にはhyperophied kerato cyteの形態をとり、組織化学的にchondroitin aulfateの染色性が増加する。

2. 以上の機転にhyaluronic acidの関与はない。

3. 生化学的にも上記組織学的変化に一致して一過性のchondroitin sulfateの増加をみとめる。

4. cell originを異にするとと思われるretrocorneal membraneにおいても、reactive phaseでは同様の傾向をみとめた。

論文の審査結果の要旨

結合組織の病態生理の解明に、酸性ムコ多糖の動態に関する検討が重要視されている。角膜においても酸性ムコ多糖の生理学的意義が検討されつつあるが、本論文は角膜の創傷治癒過程において、実質細胞の形態学的変化と酸性ムコ多糖の動態の関連について検討したものである。その結果、実質細胞による創傷治癒機転について、細胞の幼若化にしたがい、chondroitin sulfate合成能が著しく増加することを、組織化学、生化学的に実証したもので、結合組織の反応の基本的所見を明らかにした有意義な研究と考える。