



Title	涙液におけるEGFの存在とその意義について
Author(s)	渡邊, 仁
Citation	大阪大学, 1989, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/36064
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)	わた 渡	なべ 邊	ひとし 仁
学位の種類	医	学	博 士
学位記番号	第	8 6 2 2	号
学位授与の日付	平 成 元 年	3 月	24 日
学位授与の要件	医学研究科外科系専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当		
学位論文題目	涙液における EGF の存在とその意義について		
論文審査委員	(主査) 教 授 真鍋 禮三		
	(副査) 教 授 吉川 邦彦 教 授 矢内原千鶴子		

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

Epidermal Growth Factor (EGF) は、1962年Cohenらによりマウス顎下腺より抽出された分子量約6000のポリペプチドで、その後ヒトにおいても種々の臓器、体液中に認められている。EGF の作用としては、細胞の分裂、増殖を促進する効果があり、眼科領域でも角膜上皮細胞および内皮細胞に対し同様の作用が認められている。これまで、眼組織における EGF の存在は不明であったが、最近、我々の研究により、ヒト涙液中に EGF が存在することが判明した。そこで、ラットを用い眼組織における EGF の分布および涙液中の EGF の起源について調査し、さらに、涙液中の EGF の存在意義について、角膜創傷治癒モデルを用いて検討した。

〔方法ならびに成績〕

1) Radioimmunoassay 系による眼組織における EGF の分布

対象は、生後7～8週齢の雄性のWistar系ラットを用い、眼組織における EGF の分布を Radioimmunoassay (RIA) 系により測定した。涙液は10μl の毛細管にて、前房水は27ゲージ1ml シリンジを前房へ穿刺することにより採取した。また、眼球を摘出後、結膜、角膜、強膜、虹彩・毛様体、水晶体、網脈絡膜・硝子体の各組織に分類し、また同様に眼窩外涙腺、眼窩内涙腺、ハーダー腺を採取した。各サンプルについて、¹²⁵I 標識 recombinant rat EGF およびウサギ抗ラット EGF 抗体を用いた RIA 系にて測定した。

ラットにおいても、涙液中には平均 25.5 ng/ml のレベルで存在したが、前房水中には EGF は認められなかった。眼組織においては、眼窩外涙腺では 6.73 ng/g、眼窩内涙腺では 2.80 ng/g、ハーダー腺

では 1.90 ng/g と高値で認められたが、結膜では 0.16 ng/g と低値であった。しかし、その他の眼組織には EGF は検出できなかった。

2) 免疫組織学的検討

眼球、眼窩外涙腺、眼窩内涙腺、ハーダー腺を摘出し、固定後厚さ 5 μ m の組織切片を作成した。組織切片は 1 次抗体として抗ラット EGF モノクローナル抗体を、2 次抗体にはパオキシデース標識ウサギ抗マウス免疫グロブリン抗体を用いて反応させた。更に、染色の特異性を確認するため、1 次抗体をあらかじめ recombinant rat EGF と反応させた吸収試験を併せて行なった。

眼窩外涙腺および眼窩内涙腺では、EGF は腺葉間および腺葉内の管細胞に局在していた。同部位の染色は吸収試験により消失し、反応の特異性を確認した。しかし、ハーダー腺および眼球の各組織には EGF の局在性は同定できなかった。

3) 涙液中の EGF の存在意義

涙液中に存在する EGF の存在意義を明らかにするため、in vivo の角膜創傷治癒モデルを用いて検討した。ラット角膜中央部に直径 3 mm で角膜上皮を搔剥し、フルオレッセインにて角膜上皮が完全に剥離されていることを確認した。角膜創傷面積をメディカルニッコールにて創傷直後より 8 時間毎に写真撮影し、ディジタイザーにて測定した。EGF の創傷治癒への効果を判定するため、A 群には、創傷直後より 1 時間毎に EGF (10 μ g/ml) を、B 群には、0.02 M リン酸緩衝液を点眼した。次に、抗 EGF 抗体の創傷治癒に対する影響をみるため、創傷直後より 30 分毎に、C 群には抗 EGF モノクローナル抗体 (1 mg/ml) を、D 群には C 群と同タンパク量のマウス Ig G (1 mg/ml) を、E 群には同じ抗 EGF モノクローナル抗体をあらかじめ EGF で吸収させた溶液を点眼した。各群における角膜創傷治癒速度は、A 群と B 群の間には有意差を認めなかったが、C 群では D 群に比べ、点眼開始後 40、48 時間後では、student-t test で 0.5 % 以下の危険率で有意に創傷治癒が遅延していた。さらに E 群では、D 群と同程度の治癒速度で、抗体の点眼により認められた創傷治癒速度の低下は EGF の添加により回復した。

〔総括〕

RIA 系の測定より、ラットでも EGF は前房水には認められなかったが、涙液には存在することが判明した。また、眼組織では EGF は眼窩外涙腺、眼窩内涙腺、ハーダー腺といった涙腺系の組織で高値に認められた。更に、免疫組織学的検討により、EGF は眼窩外涙腺および眼窩内涙腺の腺葉間あるいは腺葉内の管細胞に局在していることが判明した。これらより、涙液中に存在する EGF は主として涙腺の管細胞より供給されていると考えられた。さらに、in vivo の角膜創傷治癒モデルの結果より、涙液中の EGF は角膜創傷治癒を促進する効果をもつことが判明した。

論文の審査結果の要旨

本研究は、ラジオイムノアッセイ、免疫組織抗体法、さらに角膜創傷治癒実験などの手法を用いて眼組織における EGF の分布及び涙液中に存在する EGF の起源、さらに涙液中に存在する EGF の存在意義

について調べたものである。これまで、EGF は一部では臨床の場において試験的に用いられてはいたが、眼組織における EGF 分布のみならず存在すら不明であった。

著者は眼組織における EGF は主として涙腺系の組織にあることを示し、さらにそれら涙腺系の組織内では、その管細胞に局在していることを明らかにした。同時に涙液中に EGF が存在することを示し、涙液中の EGF が主として涙腺から供給されていることをつきとめた。さらに涙液中に存在する EGF の役割として角膜創傷治癒に関与していることも判明した。

以上の結果は、EGF を臨床応用する上で重要な基盤となり、また角膜の病態を理解し、治療する上で大きな助けとなるもので、学位授与に値する。