

氏 名	西 麗 子 にし れい と
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	医 博 第 502 号
学位授与の日付	昭 和 53 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 病 理 系 専 攻
学位論文題目	眼球内酵素の組織化学的研究 白色家兎, マウス, ラット眼球における炭酸脱水酵素の検討 およびステロイド緑内障家兎の酵素組織化学的検討

論文調査委員 (主査) 教授 濱島義博 教授 安平公夫 教授 翠川 修

論 文 内 容 の 要 旨

炭酸脱水酵素 (CA) は赤血球, 腎尿細管上皮, 消化管粘膜などに多く存在していることが知られているが同時に眼球にも CA 活性は強く認められ, 房水の産生に関係しているものとみなされている。しかし本酵素の眼球内局在に関しては現在なお一定の結論が得られていない。その理由として第一に CA の組織化学的証明法の非特異性をあげることができる。著者は(1) CA の組織化学的証明法について検討を加え, (2) CA の免疫化学的証明法についても研究を行い, CA の眼球内局在に関して, 両者の所見の比較検討を行った。ついで(3)副腎皮質ホルモン長期投与による実験的緑内障家兎眼球について, CA, acid phosphatase (Ac-Pase), alkaline phosphatase (Al-Pase), esterase, β -glucuronidase, 5'-nucleotidase, adenosine triphosphatase (ATPase), phosphorylase, succinic acid dehydrogenase (SDH), glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD), hexokinase & glucokinase (HK & GK), glucose-6-phosphatase (G6Pase), NADH diaphorase, NADPH diaphorase の酵素組織化学的研究を行い, ステロイド緑内障の発生機序について考察を加えた。それらの結果を総括すると次の通りである。1) まずヒト, 白色ウサギ, マウス (A/J系), ラット (S-D系) の眼球について CA の酵素組織化学を行った。クリオスタットによる新鮮凍結切片を作成して millipore filter 上にのせ12時間凍結乾燥した後, Hansson 法によって染色を行った。その結果, 動物種族間に酵素活性の局在の差異は認められず, 毛様体では色素上皮に強い活性が認められるが, 無色素上皮には CA 活性が若干弱いことを見出した。また網膜では色素上皮をはじめ境界膜, 網状層, 神経線維層等に強い活性が認められた。反応基質液中に Diamox を $10^{-4}M$ 加えた場合, 着色反応が全く認められないことから, Hansson 改良法による CA の組織化学はかなり特異性の高いものと思われた。2) ついで CA の免疫組織化学を試みた。抗原として牛赤血球 CA, ヒト赤血球 CA・BおよびCを選び, これらをそれぞれ, Freund の complete Adjuvant 懸濁液の形でウサギに免疫した。1ヶ月後より追加免疫を静注法で行い, 適当な抗体価を示した時点で全採血し, 45%硫酸塩析法で粗 γ グロブリン分画をえた。牛 CA ヒト CA・B に対しては, 抗体価の高い抗血清がえられたが, ヒト

CA・Cに対する抗血清は抗体価がやや低かった。これら抗体は Ouchterlony 免疫拡散法で各抗原と一本の明瞭な沈降線を形成した。またCA・Bに対する抗血清はヒトのみならずラット、マウスの hemolysate (溶血液)との間に交叉反応性が認められた。このCA 蛍光抗体法はヒト、牛、ラット、マウスの眼球を用い、主に間接法によって検索を行ったが、一部直接法も併用した。その結果、眼球では毛様体、網膜いずれも上述の Hansson法による酵素組織化学所見に一致する特異蛍光の局在を認めたが、ただ反応の強さにおいて若干の相違のみられることが注目された。以上の結果からも Hansson 法によるCAの組織化学的証明法はかなり信憑性の高いものと思われた。3) 実験的ステロイド緑内障は生後1~2ヶ月令、体重1kg前後の幼若白色ウサギの片眼球結膜下にデカドロン (0.2cc) を週2回9ヶ月以上注射して発生させた。これらの実験群では対照 (無処置群) に比較して体重の増加が悪く、死亡しやすい傾向が認められた。また眼注開始後1ヶ月前後より非処置眼に比較して処置眼に有意の眼圧上昇が認められた。長期間経過すると処置眼では非処置眼に比較して CA, Ac-Pase, Al-Pase, phosphorylase, SDH, HK & GK, G6Pase 等の活性が組織化学的にも明らかに増強しているのが認められた。そしてこのような酵素活性の上昇は処置眼のみに認められ、非処置眼では対照群のそれに比較して差異は認められない。したがってステロイド長期投与の際の酵素の変動は、副腎皮質ホルモンの局所的影響及び眼圧亢進と関係があるものと考えられ、CA, Ac-Pase, Al-Pase, phosphorylase, SDH, G6Pase 等は房水産生にかなり大きな役割を演じているものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

炭酸脱水酵素 (CA) の局在を、ヒト、ウシ、白色家兎、ラット、マウスの眼球において、Hansson 法により組織化学的に検索した。ついで、ヒトCA・BおよびウシCAを抗原として白色家兎に免疫し、えられた抗血清 (粗 γ -globulin) を用いて、蛍光抗体法を施行した。その結果眼球で、Hansson 法所見に一致する特異蛍光の局在を認めた。この事実から、Hansson 法はかなりCAの証明法として特異性は高いものとみなされる。さらに白色家兎に9ヶ月以上副腎皮質ホルモンを片眼球結膜下に注射して、ステロイド緑内障を発生させ、CAをはじめの十数種の酵素活性の変動を検索した。その結果、処置眼毛様体上皮では非処置眼に比較して、CA, Ac-pate, Al-Pase, phosphoglase, SDH, G6 Pase 等の活性が明らかに増強しており、非処置眼では対照と有意の差は認められなかった。このような酵素活性の変動は副腎皮質ホルモンの影響ならびに眼圧亢進と密接に関係があるものと考えられ、これら酵素は房水産性に大きな役割を演じているものと考えられる。

この研究は Hansson CA 組織化学的証明法の信憑性を確めたことになり、同時にステロイド緑内障の発生機序の解明について、貢献するところが大きい。

よって、本論文は医学博士の学位論文として価値あるものと認める。