

氏名(本籍) は せ がわ けい こ
長 谷 川 桂 子

学位の種類 医 学 博 士

学位記番号 医 第 6 5 8 号

学位授与年月日 昭 和 4 5 年 1 2 月 9 日

学位授与の要件 学位規則第 5 条第 2 項該当

最終学歴 昭 和 3 8 年 3 月
東北大学医学部卒業

学位論文題目 白内障の成因に関する実験的研究
— 水晶体蛋白質の加齢による変動についての研究 —
Ⅰ 水晶体皮質可溶性蛋白分画方法の検討
Ⅱ ネズミ水晶体皮質可溶性蛋白質の年齢による変動についての研究

(主 査)

論文審査委員 教授 桐 沢 長 徳 教授 菊 地 吾 郎

教授 吉 沢 善 作

論文内容要旨

I 水晶体皮質可溶性蛋白質分画本法の検討

白内障の成因の一端を究明するために、水晶体の老化に伴う蛋白質の変動を調べ、老化と白内障がどのように関連するか、ネズミ水晶体および老人性白内障水晶体を用いて実験観察した。

水晶体蛋白は、3種可溶性蛋白質即ち α 、 β 、 γ クリスタリンおよび不溶性蛋白質即ちアルブミンノイドよりなるが、その水晶体可溶性蛋白質における各分画の変動を調べるために、各分画の単離に最も適当な方法を知るためにその方法を検討した。

実験材料は、Wister系ネズミを用いその体重別に分類し、生後約10日目(体重10g)体重50g、150g、200g、250g、300g以上の各群について、体重50g以下のものは水晶体全部、体重150g以上のものは水晶体皮質について、実験を行い、その可溶性蛋白質の分画方法を種々試みた。その結果、

1. 古典的方法であるKrauseによる沈澱法によっては α クリスタリンのみ分離が可能であった。
2. DEAE-cellulose column chromatography (J. Papaconstantinou) によっては、Artifactが多く、蛋白質の分画は不可能であった。
3. DEAE-cellulose column chromatography (A. Spector) によっては、おおよその分画は可能であったが、stepwise溶出法であるために、 β クリスタリンと γ クリスタリンの純粋な分画は得られなかった。
4. CM-cellulose column chromatography (gradient溶出法) によっては、各クリスタリンの分画は不可能であった。
5. Sephadex G-100 Gel-permeation chromatography によっては4分画が得られ、M. TestaやJ. Francoisの実験との比較およびSeporaphore III 電気泳動によって、Fr. I = α クリスタリン分画、Fr. II + III = β 分画、Fr. IV = γ 分画であることが、確かめられた。しかし水晶体皮質可溶性蛋白質溶液作製過程における変性、 β クリスタリンの酸化による変性およびphosphate buffer を溶出液に使用したことによる変性が問題と考えられ、純粋な各分画の単離は可能であったが、各分画の定量にはなお問題があった。
6. ネズミ水晶体可溶性蛋白質の分画および定量には、Seporaphore III 電気泳動による分画方法が、変性の少い点および操作が簡単で短時間でできる点で最適の方法と思われた。

II ネズミ 水晶体皮質可溶性蛋白質の年齢による変動についての研究

Seporaphore III 電気泳動を用いてネズミ水晶体皮質可溶性蛋白質について各クリスタリンの加齢的変動を調べた。また老人性白内障水晶体皮質についても同様の実験を行い比較した。

ネズミの体重と水晶体の重さおよび可溶性蛋白質と不溶性蛋白質量を調べ、各クリスタリンの割合から、皮質における各クリスタリンの量を計算し、皮質における合成状態の変動を調べた。

その結果

1. α クリスタリンは、体重10g（閉瞼期）のものに約25%存在し、加齢的に増加しており、老化してもそのまま割合をあまり変えない。

2. β クリスタリンは、閉瞼期のものに約21%存在し、加齢的に増加し、成熟期を過ぎると再び減少する。易動度の差により β_{xf} 分画（易動度が速い）と β_s 分画（易動度が遅い）に大別され水晶体の白濁している閉瞼期には β_s のみ存在し、 β_f は存在しない。透明になるにつれて β_f が出現し、しだいに増加し、 $\beta_f > \beta_s$ となり、老化と共に再び $\beta_f < \beta_s$ となる。水晶体の透明性と β クリスタリンが大いに関係あるものと思われた。

3. γ クリスタリンは閉瞼期の水晶体ほど多量に存在し、増加するが、ある年齢を経ると合成が減じ、線維と共に核に移行するために皮質には少くなるものと思われる。

4. 不溶性蛋白質の割合は、幼若な時には全蛋白質量の12%であるが、約1年を経ると40%に増加している。老化ネズミ水晶体の α 、 β 、 γ 、クリスタリンの量比は約40；40；20であった。

5. 老人性白内障水晶体皮質においては、老化水晶体の各クリスタリンの割合に比し、 α および β クリスタリンの減少が著明であった。

審査結果の要旨

著者は白内障の成因の一端を究明するために、水晶体の老化に伴う蛋白質の変動をしらべ、老化と白内障がどのように関連するかを、ネズミ水晶体および老人性白内障水晶体を用いて実験した。

まず、水晶体の可溶性蛋白質すなわち α 、 β 、 γ クリスタリンの加令的変動をしらべるために、各分画の単離に最も適当な方法を検討した。

実験材料は、Wister系ネズミを用い、体重別に分類し、体重50g以下のものは水晶体全部の可溶性蛋白質分画を、それ以上のものについては水晶体皮質のみを実験に用いた。

その結果、(1) 沈澱法(Krause)では、 α クリスタリンのみ分離が可能。

(2) DEAE-cellulose column chromatographyのうちPapaconstantinou法では蛋白質の分画が不可能。Spectro法ではおおよその分画は可能であったが β と γ の純粋な分画は得られなかった。

(3) CM-cellulose column chromatographyでは、分画は不可能。

(4) Sephadex G-100 gel permeation chromatography によつては4分画が得られ、各分画のSeporaphore III 電気泳動の結果から推して、Fr. I= α 、Fr. II+III= β 、Fr. IV= γ クリスタリン分画と考えられた。しかし、 β 分画の変性のため各分画の変動をしらべることは不可能であったので、水晶体可溶性蛋白質分画のSeporaphore III 電気泳動像を各分画の易動度を基準として区分し、定量することができた。

以上よりネズミ水晶体可溶性蛋白質の分画および定量には、変性が少なく材料が少量ですむSeporaphore III 電気泳動による方法が最適の方法と思われた。

次に、ネズミ水晶体皮質可溶性蛋白質の年齢による変動について研究を行なった。即ち、Seporaphore III 電気泳動を用い、ネズミ水晶体皮質可溶性蛋白質を分画して加令的変動をしらべ、老人性白内障水晶体皮質についても同様の実験を行ない、老化との関連を検討した。

即ち、ネズミ水晶体湿重量及び可溶性蛋白量、不溶性蛋白量を測定し、各クリスタリンの割合から皮質におけるその量を計算し、全成状態の変動を測定した。その結果、

(1) α クリスタリンは幼若なものには約25%存在し、加令により増加するが、老化してもその割合は変わらない。

(2) β クリスタリンは幼若なものに約21%存在し、加令的に増加するが、老化すると再び減少する。易動度の差により β_f 分画と β_s 分画とに大別され、水晶体の白濁している閉鎖期には β_s のみ存在し、透明になるにつれて β_f が出現し、 $\beta_f > \beta_s$ となり、老化と共に再び β_f が減少する。

(3) γ クリスタリンは幼若な水晶体ほど多量に存在し増加するが、ある年齢を経ると合成が減じ、線維と共に核に移行する。

(4) 不溶性蛋白分画の割合は、幼若な時期には12%であるが、約1年を経ると40%に増加する。

(5) 老人性白内障水晶体皮質の可溶性蛋白質では、ネズミ老化水晶体のそれに比し、 α および β クリスタリンの減少が著明であった。

以上の論文は学位に値するものと認められる。