

|          |  |
|----------|--|
| 氏 名 (本籍) | よし だ あき こ<br>吉 田 晶 子   |
| 学位の種類    | 博 士 (医学)   |
| 学位記番号    | 医 第 2439 号   |
| 学位授与年月日  | 平成 4 年 2 月 26 日  |
| 学位授与の条件  | 学位規則第 4 条第 2 項該当   |
| 最終学歴     | 昭和 60 年 3 月 20 日<br>富山医科薬科大学医学部医学科卒業                               |
| 学位論文題目   | 水晶体一硝子体切除術後の家兎網膜ミュラー細胞における glial fibrillary acidic protein の発現について |
| 論文審査委員   | (主 査)<br>教授 玉 井 信 教授 名 倉 宏<br>教授 近 藤 尚 武                           |

# 論文内容要旨

## 【はじめに】

硝子体は、前方では水晶体後面に、後方では網膜の内境界膜に接して存在するゲル状の組織で、網膜の栄養代謝や支持の役割をはたしている。硝子体切除術は、増殖性糖尿病性網膜症や増殖性硝子体網膜症に対し、しばしば行われている重要な手術手技である。しかし、硝子体切除術が網膜に及ぼす影響については、不明な点が多い。形態的には、視細胞外節の破壊が観察されている。また、網膜電位図のb-波の低下、網膜のミュラー細胞に特異的な酵素活性の一過性の上昇等を認めた報告がある。これらの報告から網膜が、硝子体切除及び水晶体切除という侵襲によりなんらかの影響を受けていることが推測される。水晶体-硝子体切除術後の網膜の反応や影響を評価するために、我々はミュラー細胞における Glial fibrillary acidic protein (GFAP) の発現を調べた。網膜のミュラー細胞は種々の病的状態で GFAP を発現する。この病的状態には、緑内障や網膜の外傷、網膜剥離、視細胞の変性などが含まれる。ミュラー細胞における GFAP の発現は、網膜の病的状態を評価するうえでよい指標となると考えられる。この研究では、免疫組織化学、western blotting、enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) を用いて GFAP の発現を調べ、水晶体-硝子体切除術が網膜に及ぼす影響について報告する。

## 【方法と結果】

水晶体-硝子体切除を施行後、0時間、4時間、3日、7日、14日、6カ月の網膜を免疫組織化学で調べた。3日後の網膜では、周辺部のみ新しい GFAP の免疫反応性を認めた。ところが、7日、14日、6ヶ月後では、周辺部網膜ばかりではなく、後極部網膜においても GFAP を認めた。次に western blotting の手技を用いて、手術後7日目の周辺部網膜から抗 GFAP 抗体により 51,000 Da の蛋白質が特異的に検出されることを確かめた。さらに以上の結果を確かめるために、周辺部網膜における相対的な GFAP 量をサンドイッチ法によって測定した。手術を施行していない網膜、及び手術直後の網膜では、ほとんど GFAP は検出されなかったが、3日後から GFAP が検出されるようになった。3日以降は GFAP の増加が観察され、1ヶ月後にはほぼ定常状態となった。

## 【考案】

水晶体-硝子体切除術を施行した家兎網膜のミュラー細胞において、新たに GFAP が発現、増加し定常状態になることが確かめられた。これまでは、免疫組織化学、western blotting によ

り病的状態の網膜における GFAP の発現を示す報告のみであった。我々の研究により、網膜へ加えられた侵襲によって GFAP が進行性に増加することを初めて定量的に示すことができた。Durlu らによれば、水晶体-硝子体切除術後の網膜における、電子顕微鏡を用いた観察では、網膜の形態的な異常はとらえられなかった。このため、GFAP の発現は形態的にとらえることのできないミュラー細胞の反応をとらえていると考えられる。これまでの当教室における Durlu, 水戸, 土屋, 星らの報告によると水晶体-硝子体切除術後から、3 日以内に網膜ミュラー細胞、毛様体および血液-眼柵に関与する細胞群が反応していることがわかっている。我々の実験では、手術後 3 日ではじめて GFAP が検出され、手術に対する反応の発現時期は、ほぼ一致している。しかし、反応の時間的な経過はそれぞれの細胞群で異なることがわかった。特にミュラー細胞では GFAP を定量することにより、これまでにとらえられていない進行性の反応を認めたことが他の細胞群と異なっている。ミュラー細胞における GFAP の増加が、水晶体-硝子体切除を施行した網膜でどのような意義を持っているかは推測の域をでない。Erickson らは GFAP を含んだ filament が、ミュラー細胞における核の再移動や分裂に関与しているのではと推定している。また、Kerns によると中枢神経系においては、反応性のアストロサイトで GFAP filament の数の増加がおり、glial scar が形成されるという。ミュラー細胞における GFAP の増加は、水晶体-硝子体切除術により引き起こされた、増殖又は瘢痕形成過程の一部として説明できるかもしれない。

この研究から、水晶体-硝子体切除術により、網膜において進行性のミュラー細胞の反応がおり、虹彩-毛様体、硝子体だけでなく網膜においても手術による微小環境の変化が生じていることが示唆された。

## 審査結果の要旨

現在、眼科臨床で多数の症例に行われている硝子体切除術は増殖性糖尿病網膜症や増殖性硝子体網膜症の治療に不可欠となった。しかし硝子体切除術が眼内を覆う網膜に対してどのような影響を及ぼすかはいまだほとんど明らかにされていない。本論文は、硝子体切除術後の網膜の反応や障害を知るために網膜を構造的かつ機能的に支えている神経膠細胞の一種であるミュラー細胞におけるグリアフィブラリーアセティックプロテイン（GFAP）の発現を研究したものである。その結果、免疫組織学的な検索では硝子体手術3日後から眼球周辺部網膜のミュラー細胞にGFAPが発現された。そして時間と共にGFAPは後極側のミュラー細胞にも発現され、14日後には周辺部と同様の免疫反応を示した。ひとたび発現したGFAPは術後6ヶ月を経ても強く認められた。更に生化学的にウェスタンブロッティングとモノクロナル抗GFAP抗体を用いた免疫染色の手法により51キログルトンの単一蛋白がその本体であることを明らかにした。そして更に産生されるGFAP量は硝子体切除の術式により激しい手術侵襲が加えられるほどその産生量は多く侵襲によって影響されることが明らかとなった。本研究は現在無視されがちな網膜の眼内手術による影響について世界で初めて手術侵襲により網膜も大きな影響を受けていることを明らかにしたものである。特に手術後6ヶ月を経てもその侵襲が消失していないこと、かつ手術侵襲の程度によって強い影響を受けていることを明らかにしたものであり、今後の眼科手術に対する示唆にとんだ研究で博士論文として優れたものであると考えられる。