

ヒト後発白内障における各種因子の免疫組織化学的検索

重光 利朗, 馬嶋 慶直, 清水 美仁

藤田保健衛生大学医学部眼科学教室

要 約

皮質白内障を有する剖検眼水晶体上皮, 皮質白内障手術時に採取した前囊切開片, 後発白内障切開片, 剖検偽水晶体眼後発白内障組織を対象に免疫組織細胞化学的手法を用いて各種の細胞増殖因子, サイトカイン関連因子, 生理活性物質, 細胞外マトリックス蛋白質, 細胞骨格蛋白質などについて, その存在の有無を検討するため本研究を行った。術前の水晶体上皮には上皮および線維芽細胞増殖因子とその受容体, インターロイキン(IL)1 受容体, 腫瘍壊死因子 α , プラスミノゲンアクチベータ(PA)インヒビター-1, ケラチン, ラミニンが存在していた。後発白内障線維性混濁部には以上の各種因子に加えて, 形質転

換増殖因子 β , インスリン様増殖因子 II, 血小板由来増殖因子, IL-6, プロスタグランジン E_2 , α 平滑筋アクチン, フィブロネクチン, I 型および III~VI 型膠原線維が発現していた。Elschnig の真珠では線維芽細胞増殖因子受容体, 腫瘍壊死因子 α , ラミニンが, Soemmerring 輪では上皮増殖因子, 線維芽細胞増殖因子とその受容体, IL-1 受容体, ケラチン, 組織 PA, PA インヒビター-1 が発現していた。(日眼会誌 102: 531-539, 1998)

キーワード: 細胞増殖因子, サイトカイン, 生理活性物質, 細胞外マトリックス, 細胞骨格蛋白質

Immunohistochemical Studies on Factors Involved in After Cataract

Toshiro Shigemitsu, Yoshinao Majima and Yoshito Shimizu

Department of Ophthalmology, Fujita Health University School of Medicine

Abstract

In this study, lenses of autopsy eyeballs, anterior capsules including lens epithelium taken during operation for cortical cataract, after cataract tissue obtained at the time of operation, and Elschnig's pearls and Soemmerring's ring from autopsy eyeballs were examined for a variety of factors, such as growth factors, cytokines, bioactive substance factors, cytoskeleton proteins and extracellular matrices by immunocytochemistry. Preoperative lens epithelium expressed epidermal growth factor (EGF), EGF-receptor (R), fibroblast growth factor (FGF), FGF-R, interleukin (IL)-1-RII, tumor necrosis factor- α (TNF- α), plasminogen activator inhibitor type-1 (PAI-1), keratin and laminine. In addition to the above factors, opacified fibrous capsule in after cataract expressed transforming growth factor- β (TGF- β), insulin-like growth factor-II (IGF-II), platelet derived growth factor-AB (PDGF-AB), IL-6, prostaglandin- E_2 (PG- E_2), α smooth muscle actin, fibronectin, and I and III to VI type collagen. Elschnig's pearls expressed FGF-R, TNF- α , and laminin. Soemmerring's ring expressed EGF, FGF, FGF-R, IL-1-RII, keratin, tissue-PA, and PAI-1. (J Jpn Ophthalmol Soc 102: 531-539, 1998)

Key words: Growth factor, Cytokine, Bioactive substance, Extracellular matrix, Cytoskeleton proteins

I 緒 言

白内障手術後の後発白内障の問題は, 本手術の残された大きな課題の一つとなっている。後発白内障の中でも線維性の混濁と Elschnig の真珠による混濁が現在最も注目されている。白内障手術の前囊切開を continuous circular または curvilinear capsulorhexis (CCC) で行い

後房レンズを挿入後, 前囊混濁や収縮が生じるが, この主体は線維性混濁である¹⁾。また, 後囊混濁は組織学的に線維性混濁と Elschnig の真珠と Soemmerring 輪であることは周知のことである²⁾。

これら後発白内障組織中の生理活性物質・生物活性因子(生理活性ペプチドやサイトカイン, 増殖因子および増殖抑制因子などの蛋白活性分子を含む)や細胞外マト

別刷請求先: 470-1192 愛知県豊明市杣掛町田楽ヶ窪 1-98 藤田保健衛生大学医学部眼科学教室 重光 利朗
(平成 9 年 11 月 26 日受付, 平成 10 年 3 月 16 日改訂受理)

Reprint requests to: Toshiro Shigemitsu, M.D. Department of Ophthalmology, Fujita Health University School of Medicine, 1-98, Dengakugakubo, Kutsukake-cho, Toyoake-Shi, Aichi-Ken 470-1192, Japan

(Received November 26, 1997 and accepted in revised form March 16, 1998)

リックス蛋白質(細胞接着関連蛋白質などを含む)ならびに細胞骨格蛋白質、水晶体上皮細胞などの検索は、線維芽細胞成長因子(b-FGF)の局在をモルモットの実験で検索した林ら³⁾の報告、b-FGF レセプターの局在をヒトの例で検索した高坂ら⁴⁾の報告、また、型別コラーゲンの局在をヒトで検索した重光ら⁵⁾の報告、並木ら⁶⁾の報告に始まって現在に至っているが、系統だった検索はまだなされていない。しかし、眼内レンズの有無や材質の違い、前囊切開法の相違などに関係なく、後発白内障組織における残留水晶体上皮細胞の偽化生や増生、線維化、水晶体皮質の増生が各症例によって程度の差はあるが、組織学的に存在することが明らかにされている¹⁾。

本研究の目的は、対象者の同意を生前や事前に得て検索に供した皮質白内障を有する剖検眼、皮質白内障手術時採取の前囊切開片、後発白内障前囊切開片、後発白内障後囊切開片、剖検偽水晶体眼後発白内障組織などを用いて、上述した各種因子や物質について各対象組織中の水晶体上皮や後発白内障組織中での存在の有無を確認することである。そして、これらの結果から考按される後発白内障の関与因子についても検討した。誌面の都合上、各種因子や物質の分布などについては次篇以降で報告する予定である。

II 実験方法

1. 材 料

後発白内障を有する剖検眼としては、計画的囊外摘出術による白内障手術ならびに後房眼内レンズ[光学部材質 polymethylmethacrylate (PMMA)、支持部材質ポリプロピレン]挿入術後1年3か月目で胃癌死された90歳女性の右眼球と、超音波乳化破碎吸引術による白内障手術ならびに後房眼内レンズ(光学部PMMA、支持部ポリプロピレン)挿入術後4年5か月目に心不全で死亡された80歳女性の右眼球を使用。皮質白内障を有する剖検眼としては、くも膜下出血で死亡された62歳男性の右眼球と、心筋梗塞で死亡された67歳女性の左眼球を検索に供した。また、未熟白内障の手術で前囊をCCCで切開時に採取した水晶体上皮細胞を伴った前囊切開片5例(このうち1例は糖尿病網膜症を有し、1例は網膜色素変性を有する)分を白内障手術時採取の前囊片として、超音波白内障手術(前囊切開はCCC)後に囊内にシリコン眼内レンズ(支持部はポリプロピレン)を挿入後、12週目と16週目(網膜色素変性を合併)ならびに40週目の前囊混濁部を観血的手術で採取した各前囊片、そして超音波白内障手術(前囊切開はCCC)後、囊内に眼内レンズ(光学部PMMA、支持部ポリプロピレン)を挿入後、18週目(糖尿病を合併)同様に眼内レンズ(光学部・支持部ともPMMA)挿入術後、10、48週目の前囊混濁部を手術で採取した各前囊片の合計6例分を後発白内障の前囊混濁部の切開片として検索に供した。また、後発白内障の後囊混

濁部の切開片としては超音波白内障手術後、囊内にPMMA ワンピース眼内レンズ挿入後、36週目と44週目に観血的手術により入手した2例分を検索に供した。

2. 免疫組織化学

免疫組織細胞化学的検索は、酵素抗体法の avidine-biotinylated peroxidase complex method (ABC 法)のかかえる立体障害の問題を解決したとされる avidin biotin affinity (ABA) 法⁶⁾⁷⁾で実施した。抗体は、10% リリー緩衝ホルマリン液固定でパラフィン包埋標本の薄切片片に使用できる以下の抗体を用いた。増殖因子および増殖抑制因子関連として、上皮増殖因子モノクローナル抗体(Chemicon International 社製)、上皮増殖因子受容体モノクローナル抗体(Signet Laboratories 社製)、塩基性線維芽細胞増殖因子モノクローナル抗体(Upstate Biotechnology 社製)、酸性・塩基性線維芽細胞増殖因子受容体・モノクローナル抗体(Upstate Biotechnology 社製)、形質転換増殖因子βモノクローナル抗体(Genzyme 社製)、インスリン様増殖因子IIモノクローナル抗体(Upstate Biotechnology 社製)、血小板由来増殖因子ポリクローナル抗体(Upstate Biotechnology 社製)を使用。また、サイトカイン関連因子として、インターロイキン6ポリクローナル抗体(Genzyme 社製)、インターロイキン1受容体タイプIIモノクローナル抗体(Genzyme 社製)、腫瘍壊死因子αモノクローナル抗体(Upstate Biotechnology 社製)を使用。生理活性物質などの関連として、組織プラスミノゲン・アクチベータ・モノクローナル抗体(Molecular Probes 社製)、プロスタグランジンE₂ポリクローナル抗体(Advanced Magnetics 社製)、プラスミノゲン・アクチベータ・インヒビター・タイプ1モノクローナル抗体(Biopol 社製)を使用。細胞骨格蛋白質関連として、α平滑筋アクチンモノクローナル抗体(Zymed Laboratories 社製)、汎ケラチン・モノクローナル抗体(Zymed Laboratories 社製)、ビメチン・モノクローナル抗体(Zymed Laboratories 社製)、ミオシン・モノクローナル抗体(Zymed Laboratories 社製)を使用。細胞外マトリックス蛋白質関連では、フィブロネクチン・ポリクローナル抗体(Zymed Laboratories 社製)、ラミニン・ポリクローナル抗体(LSL 社製)、I~VI型膠原線維は各々ポリクローナル抗体(Southern Biothechnology Associates 社製)を使用。ヒト水晶体上皮細胞モノクローナル抗体は藤田保健衛生大学総合医科学研究所・分子生物学研究部門製を使用した。免疫組織細胞化学用試薬はLipshaw 社製、ABA 法ユニバーサルキットOmni Tags[®]を用い、発色基質はDAKO 社製AEC(3-アミノ-9エチルカルバゾール)を使用。対照として陰性対照と陽性対照をおいた。

III 実験結果

各種増殖因子および増殖抑制因子、サイトカイン、生理

表4 免疫組織化学的検索結果

	剖 検 眼 後発白内障 Elschnig の真珠			剖 検 眼 後発白内障 Soemmerring 輪	
	真珠部	線維化部	水晶体囊	輪 部	水晶体囊
〔生理活性物質など〕					
組織プラスミノゲン・ アクチベータ	(-)	(+)	(-)	(±)	最外表のみ(+)
プロスタグランディン E ₂	(-)	(+)	(-)	(-)	最外表のみ(+)
プラスミノゲン・アクチ ベータ・インヒビター・1	(-)	(+)	最外表のみ(+)	(±)	最外表のみ(+)
〔細胞骨格蛋白質〕					
α 平滑筋アクチン	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)
ケラチン	(-)	(+)	(-)	(±)	(-)
ビメンチン	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
ミオシン	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

表5 免疫組織化学的検索結果

	後発白内障 後囊線維性 混 濁 部		後発白内障 前囊線維性 混 濁 部		未熟皮質 白内障手術時 採取の前囊片		60 代剖検眼水晶体 (皮質白内障)	
	線維 化部	囊	線維 化部	前囊	水晶体 上皮細胞	前囊	水晶体 上皮細胞	囊
〔細胞外マトリックス蛋白質など〕								
フィブロネクチン	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)~(±)	(-)
ラミニン	(±)	(-)	(±)	(±)	(+)	(+)	(+)	(-)
I 型膠原線維	(+)	(-)	(±)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
II 型膠原線維	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
III 型膠原線維	(+)	(-)	(±)	(-)	(-)	(±)	(-)	(-)
IV 型膠原線維	(+)	(±)	(+)	(±)	(±)	(+)	(-)	(+)
V 型膠原線維	(+)	(±)	(±)	(-)	(-)	(±)	(-)	(-)~(±)
VI 型膠原線維	(+)	(±)	(+)	(±)	(-)	(±)	(-)	最外表のみ(+)
ヒト水晶体上皮細胞	(±)	(-)	(±)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)

表6 免疫組織化学的検索結果

	剖 検 眼 後発白内障 Elschnig の真珠			剖 検 眼 後発白内障 Soemmerring 輪	
	真珠部	線維化部	水晶体囊	輪 部	水晶体囊
〔細胞外マトリックス蛋白質など〕					
フィブロネクチン	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)
ラミニン	(±)	(±)	(-)	(-)	(-)
I 型膠原線維	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)
II 型膠原線維	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
III 型膠原線維	(-)	(+)	(±)	(-)	(±)
IV 型膠原線維	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)
V 型膠原線維	(-)	(±)	(±)~(-)	(-)	(±)~(-)
VI 型膠原線維	(-)	(+)	(±)	(-)	(+)
ヒト水晶体上皮細胞	(±)	(+)	(-)	(±)	(-)

活性物質,細胞外マトリックス蛋白質(細胞接着関連蛋白質を含む),細胞骨格蛋白質(細胞膜裏打ち蛋白質を含む),水晶体上皮細胞の各組織中での発現の有無を表1~

6に示す.分布などについては誌面の枚数制限のため本論文では割愛し,次篇以降に順次報告していく予定である.

IV 考 按

白内障手術後に発生する前囊の輪状混濁あるいは収縮,そして後囊混濁あるいは収縮は,術後の重要な問題として今日論議されている。綾木ら⁸⁾⁹⁾は家兎眼での実験結果から,創傷治癒機転としての後発白内障の形成をとらえ,永本ら¹⁰⁾¹¹⁾は培養実験から水晶体上皮細胞の水晶体囊内に挿入された眼内レンズ上への進展様式から,やはり創傷治癒機転としての後発白内障の形態を述べている。古くは Unakar ら¹²⁾が 1973 年に水晶体囊が破囊した場合に創傷治癒機転が働くことを家兎実験により報告している。

今回著者らは,後発白内障の病理を考えるに当たって,各種サイトカイン,増殖因子,細胞外マトリックス蛋白質(細胞接着関連蛋白質を含む),生理活性物質,細胞骨格蛋白質,水晶体上皮細胞などの各々の組織中における存在の有無を免疫組織細胞化学的に検索した。この検索手法を用いた理由は,パラフィン包埋やホルマリン固定されている標本を使用できること,また,検索対象の抗原物質の発現(expression),局在(localization),分布(distribution)を組織切片上で,すなわち *in situ* の状態で検討することができることである。このことは免疫組織化学の特徴であり,かつこの手法が必要とされている由縁である。一方,*in situ* ハイブリダイゼーションが近年,研究面のみならず臨床や病理の場でも広く応用されてきているが,プローブの改良や非放射性プローブの検出感度が上昇してきているといっても,なお微量の遺伝子の検出には限界があり,組織内の物質の存在の有無の検出には免疫組織化学が検出感度において優れている。また,最近,*in situ* ハイブリダイゼーションと polymerase chain reaction (PCR) 法を組み合わせ,組織切片ないし個々の細胞内で増幅して微量遺伝子を検出する方法として *in situ* PCR 法が考案されているが,未だ確立された方法とはいえないので,本研究では検索手段として採用しなかった。

ところで,1975 年に Hollenberg¹³⁾は,水晶体上皮には,上皮増殖因子,塩基性線維芽細胞増殖因子,インスリン様増殖因子に対する受容体が存在していて,これらの因子によって DNA 合成が促進され増殖することを報告している。また,McAvoy ら¹⁴⁾は 1989 年に塩基性線維芽細胞増殖因子は *in vitro* で水晶体上皮細胞の増殖や遊走を促進し,水晶体上皮細胞から線維細胞への分化にも関与していると報告している。一方,Bassas ら¹⁵⁾は 1987 年に水晶体上皮細胞にインスリンならびにインスリン様増殖因子の受容体の存在を報告し,ニワトリの胎児水晶体の発育の調節に関与していると述べている。

さらに,Beebe ら¹⁶⁾はインスリン様増殖因子 I および II は,leptin とともに水晶体線維形成を制御することを報告している。また,塩基性線維芽細胞増殖因子が前房

水中に存在していることを Tripathi ら¹⁷⁾が著し,Pareman ら¹⁸⁾はヒト房水中に,並木ら¹⁹⁾は白内障手術後の房水中に上皮細胞成長因子が存在することを明らかにしている。

さて,白内障手術は手術により炎症を惹起するが,一般に炎症の初期にはインターロイキン 1 や腫瘍壊死因子 α , インターロイキン 6 が形質転換増殖因子 β などとともに炎症局所で大きく関与するサイトカインといわれている²⁰⁾²¹⁾。また,膠原線維産生を促すサイトカインとして,インターロイキン 1, インターロイキン 6, 腫瘍壊死因子 α , 塩基性線維芽細胞増殖因子,血小板由来増殖因子,形質転換増殖因子 β , 上皮増殖因子などが知られている²²⁾。そして,インターロイキン 1 は上皮細胞に働きかけて IV 型膠原線維を産生させ,その 1α はアラキドン酸カスケードに働いてプロスタグランジン E_2 の産生を高めるといわれている²³⁾。また,インターロイキン 6 は免疫系以外に種々な炎症反応の場に検出され,炎症の重要なメディエーターと考えられていて,その産生の誘導にはインターロイキン 1, 腫瘍壊死因子,インターフェロン β などのサイトカイン類やリポ多糖体などのマイトゲンによる刺激が必要といわれている²⁴⁾。また,上皮増殖因子が作用するにはプロスタグランジン E_2 が必要とされている²⁵⁾。

ところで,西ら²⁶⁾²⁷⁾は 1992 年に白内障手術中に得られた前囊に付着した水晶体上皮の組織培養を行って培養液上清中に enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 法でインターロイキン 1α とインターロイキン 6 を検出,プロスタグランジン E_2 ²⁷⁾²⁸⁾, 塩基性線維芽細胞成長因子²⁹⁾³⁰⁾を検出し,PCR 法で培養液上清中から形質転換増殖因子 β , インターロイキン 8 のメッセンジャー RNA (mRNA) を検出している³¹⁾。また,福岡ら³²⁾は培養牛水晶体上皮細胞からは組織型プラスミノゲン・アクチベーターと 1 型プラスミノゲン・アクチベーター・インヒビターが産生放出されていると報告している。一方,Ishibashi ら³³⁾はヒト後発白内障の後囊混濁部にプロテオグリカン(結合組織の細胞外基質においてみられるムコ多糖類で接着分子として働き,このコア蛋白質の部分で細胞内骨格蛋白質や細胞外マトリックス,増殖因子などと結合するといわれている)³⁴⁾を検出している。形質転換増殖因子 β に関連して,Hales ら³⁵⁾は組織培養下の水晶体に β_2 を作用させると白内障を誘発せしめたことを,Kurosaka ら³⁶⁾は組織培養されたウシ水晶体上皮細胞の増殖がヒト白内障手術時に得られた眼房水中の形質転換増殖因子 β_2 により阻害されたことを報告している。Potts ら³⁷⁾は PCR 法によってニワトリのひなの水晶体に血小板由来増殖因子の α 受容体が発現していることを見出し,この因子が水晶体の成長に細胞分裂促進的に働いているのではないかと考えている。一方,Frezzotti ら³⁸⁾は後発白内障の線維性後囊混濁部に平滑筋 α アクチ

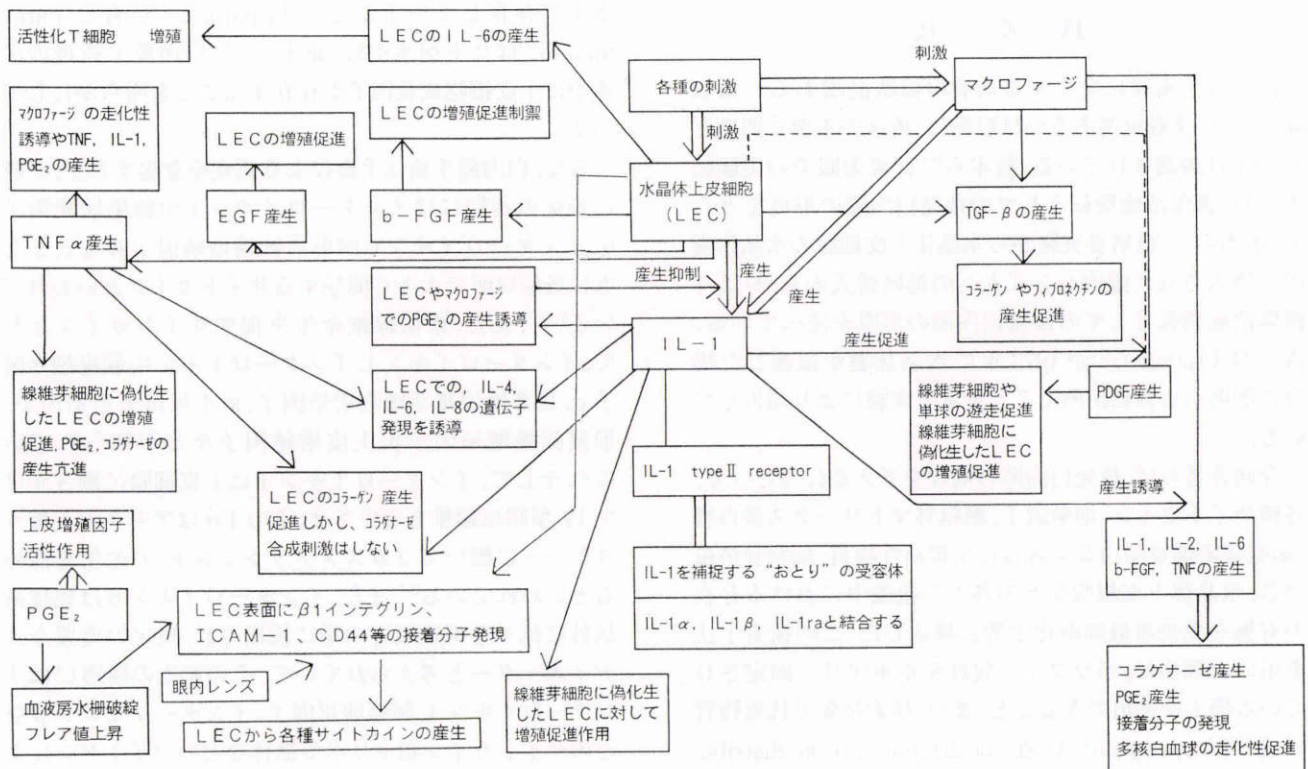


図1 後発白内障と各種因子.

各種の刺激：手術侵襲や水晶体上皮細胞(LEC)の眼房水への曝露や眼内レンズなどからの刺激。

TNF: tumor necrosis factor, IL: interleukin, EGF: epidermal growth factor, FGF: fibroblast growth factor, PGE: prostaglandin E, PDGF: platelet derived growth factor, ICAM: intercellular adhesion molecule

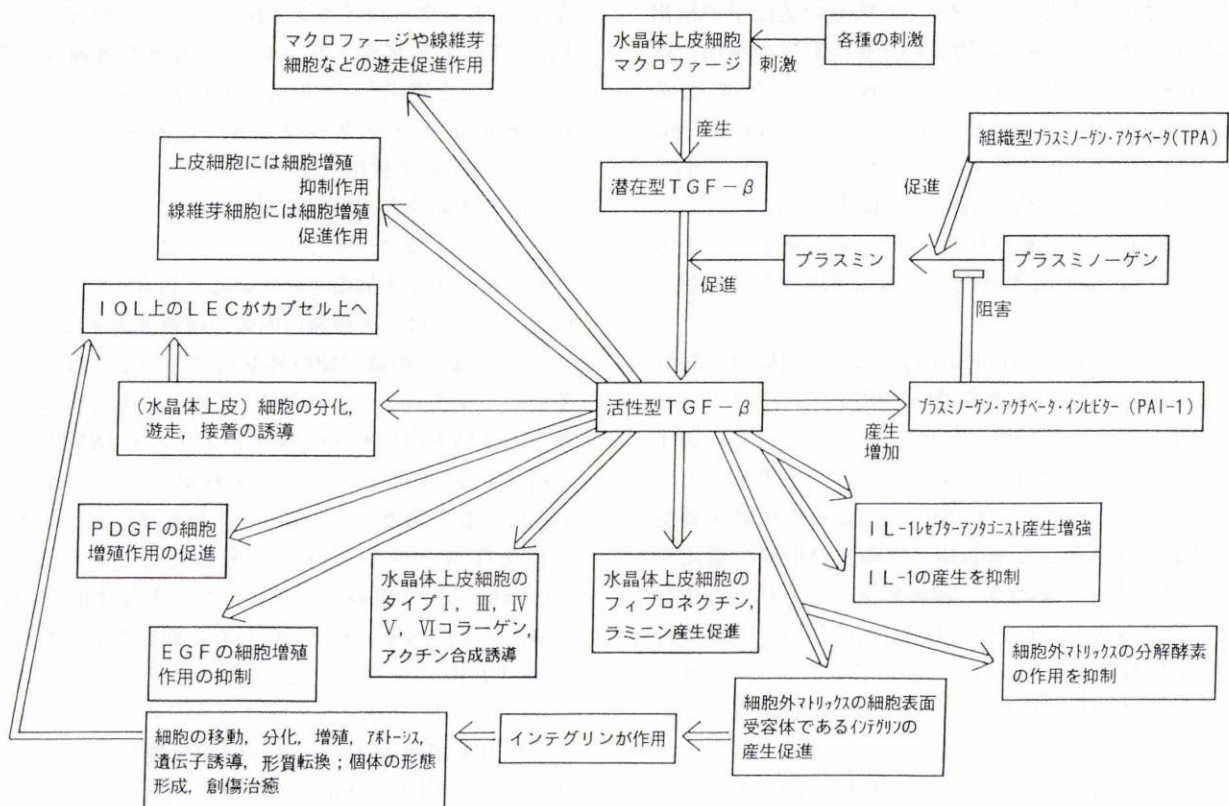


図2 Transforming growth factor(TGF-β)と各種因子と後発白内障.

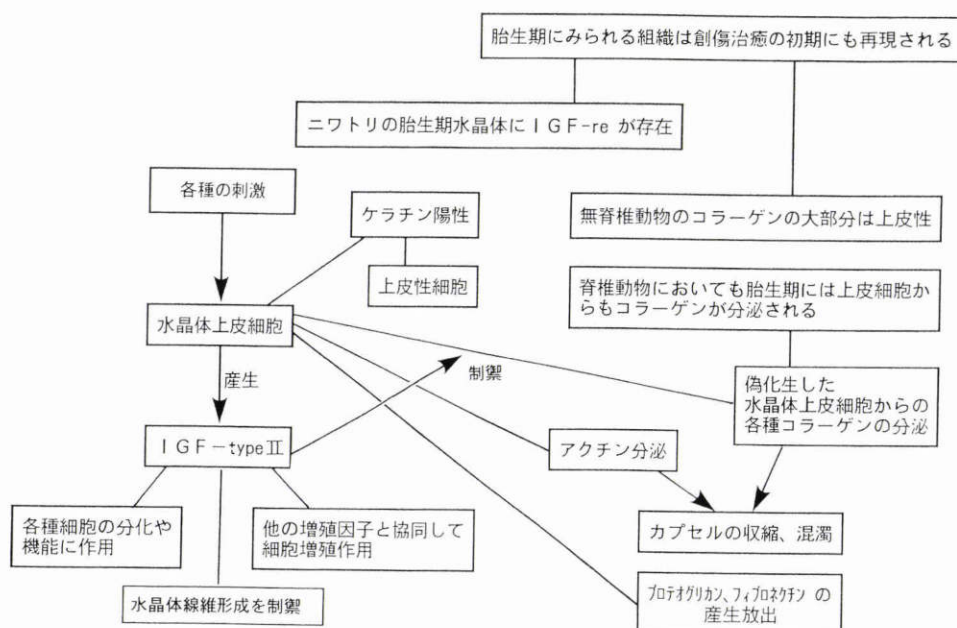


図 3 Insulin like growth factor と後発白内障.

IGF: インスリン様増殖因子

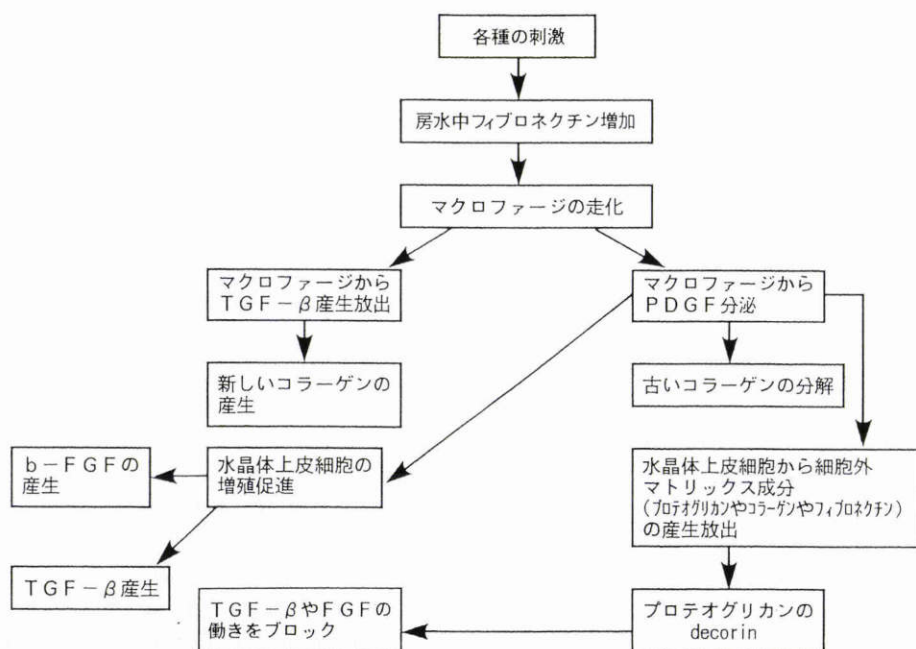


図 4 マクロファージと TGF-β, platelet derived growth factor.

ンが存在することを 1 症例で免疫組織化学的に証明している。また, Budo ら³⁰⁾は前囊混濁とケラチンの関係について述べている。

以上のような背景から本研究に使用できる抗体を選定した結果, 26 個の多数の抗体を使用することになった。それらの免疫組織細胞化学的検索結果は表 1~6 に示すごとくである。後発白内障には前囊切開縁の周辺に形成される前囊混濁部(前囊切開が CCC の場合は, 組織学的には線維性混濁部)¹⁾²⁾と後囊混濁部と赤道部の混濁部に

分けられる。赤道部の混濁は, Soemmerring 輪と線維性混濁が多くみられ, 後囊混濁部は Elschnig 真珠と線維性混濁が主体となっている²⁾。これら後発白内障の組織別の各種因子の発現の差は表のごとく存在したが, 症例別の差や眼内レンズ(高分子材料)の材質の相異による差ならびに手術後の経過期間の相異による差はなかった。

切開や切除という外科的侵襲を加えることによって, また, 組織が眼房水や眼内レンズという高分子材料に触れることによって, 各種因子が組織中に発現する可能性

があり、その前後の状態に近い標本を検索する必要があったため、今回の標本群を採用した。

後発白内障組織に存在する因子、物質は、それらが後発白内障に関わっていることは明白である。さらに、後発白内障組織に存在しているものが、白内障手術前の白内障水晶体組織には存在していない場合は、そのものが後発白内障に対して深く関与している可能性が大となる。

今回の検索結果から、後発白内障に関与する因子を考察した結果は以下のごとくである。後発白内障の線維性混濁に関与する因子としては、上皮増殖因子、線維芽細胞増殖因子、インターロイキン 1、腫瘍壊死因子 α 、プラスミノゲン・アクチベータ・インヒビター 1、ラミニン、ケラチン、ファイブロネクチンなどの白内障手術前から水晶体上皮に存在していた各種因子とともに、線維性混濁部に新たに発現したインターロイキン 6、形質転換増殖因子 β 、インスリン様増殖因子 (IGF) タイプ II、血小板由来増殖因子 (PDGF)、プロスタグランジン E_2 の各因子が深く関与していると考えた。アクチンと I 型膠原線維、III~VI 型膠原線維は線維性混濁の骨格を形成していることが判明した。前囊片や後囊の収縮には、特にアクチンの関与があると考えた。後発白内障の Elschnig 真珠混濁に関与する因子としては、ラミニン、腫瘍壊死因子 α ならびに線維芽細胞増殖因子などを考えた。また、Soemmerring 輪混濁については、上皮増殖因子、塩基性線維芽細胞増殖因子、インターロイキン 1、組織プラスミノゲン・アクチベータ、プラスミノゲン・アクチベータ・インヒビター 1 ならびにケラチンなどが関与すると考えた。ただし、インターロイキン 1 に関しては、今回使用した受容体抗体が 1α と 1β の両者の受容体であるため、どちらが関与しているか不明である。ところで、Elschnig 真珠形成に関しては、前後囊癒着が白内障術後に強く起こりやすいウサギ⁴⁰⁾では真珠形成がみられない⁴¹⁾ことから、水晶体上皮細胞の後囊への移動が生じ難い条件下では真珠形成がなされにくいと考えられるため、解剖学的な要因も考えなければならない。

さて、これら検出された各種因子がお互いにどんな相互作用を後発白内障に対して及ぼしているかについて、前述した内容と既報告を併せて考察した結果を、後発白内障と各種因子の関係 (図 1)、TGF- β と各種因子と後発白内障の関連 (図 2)、IGF と後発白内障 (図 3)、マクロファージと TGF- β 、PDGF と水晶体上皮細胞 (図 4) として相関関係を図式にまとめてみたが、非常に複雑に絡みあっている。

サイトカインや増殖因子などの蛋白活性分子や生理活性物質は分泌蛋白質であるので、その局在が必ずしも合成された場所とは一致しないことがある。今回の検索対象では、眼房水や硝子体などからの吸着も考えられることを最後に付け加えたい。もし、*in situ* ハイブリダイゼーション法を行えば、この技法でわかる mRNA の局

在は、まさに蛋白質が合成された部位を示していることになる⁴²⁾。しかし、mRNA の量が少なく、検出限界以下である場合は、検索対象が存在していたとしてもその物質の局在は検出できない⁴²⁾。しかしながら、今後はこの技法や *in situ* PCR 法なども改良が加えられていくと思われるので、これらを駆使して蛋白質の合成された場所の局在も調査していく予定である。

文 献

- 1) 重光利朗, 馬嶋慶直, 石黒圭司, 湯 欣: ヒト眼内レンズ移植後の囊混濁および収縮についての組織学的検討. 臨眼 46: 502—503, 1992.
- 2) 重光利朗: 後発白内障. 沖坂重邦 (編): 眼科診療プラクティス 14 眼病理組織像の読み方. 文光堂, 東京, 246—247, 1994.
- 3) 林 信人, 加藤 整, 清澤崇晃, 林 英之, 大島健司, 山岡万寿夫: 水晶体囊外摘出術による水晶体囊周囲の塩基性線維芽細胞成長因子 (b-FGF) の局在の変化. 日眼会誌 95: 621—624, 1991.
- 4) 高坂昌志, 馬嶋清如, 重光利朗: 白内障術後の前囊下混濁部位における b-FGF リセプターに関する免疫組織化学的検索. 臨眼 47: 1084—1085, 1993.
- 5) 並木真理, 田上勇作, 森野以知朗, 嘉納雅文, 杉浦寅男: 眼内レンズ移植後の高度の前囊収縮・混濁についての毛様体鏡所見と前囊組織所見. 日眼会誌 97: 716—720, 1993.
- 6) Falini B, Taylor CR: New developments in immunoperoxidase techniques and their application. Arch Pathol Lab Med 107: 105—117, 1983.
- 7) Giorno R: A comparison of two Immunoperoxidase staining methods based on the avidin-biotin interaction. Diagn Immuno 2: 161—166, 1984.
- 8) 綾木雅彦, 邱 信男: 眼内レンズ挿入家兎眼にみられる後発白内障の病理組織学的研究 I. 眼内レンズ囊外固定例. 日眼会誌 94: 553—558, 1990.
- 9) 綾木雅彦, 邱 信男: 眼内レンズ挿入家兎眼にみられる後発白内障の病理組織学的研究 II. 眼内レンズ囊内固定例. 日眼会誌 94: 559—565, 1990.
- 10) 永本敏之, 三木恵美子: 水晶体上皮細胞の IOL 上への進展様式. 眼科手術 5: 611—616, 1992.
- 11) 永本敏之: 後発白内障と水晶体上皮細胞. 日白内障会誌 6: 1—16, 1994.
- 12) Unakar NJ, Harding CV, Reddan JR, Shapiro RA: Characterization of wound healing in the rabbit lens. I. Light and electron microscopic observations. J Microsc 16: 309—320, 1973.
- 13) Hollenberg MD: Receptors for insulin and epidermal growth factor: Relation to synthesis of DNA in cultured rabbit lens epithelium. Arch Biochem Biophys 171: 371—377, 1975.
- 14) McAvoy JW, Chamberlain CG: Fibroblast growth factor induces different responses in lens epithelial cells depending on its concentration. Development 107: 221—228, 1989.
- 15) Bassas L, Zelenka PS, Serrano J, Pablo FD: Insulin and IGF receptors are developmentally regu-

- lated in the chick embryo eye lens. *Exp Cell Res* 168:561—566, 1987.
- 16) Beebe DC, Silver MH, Belcher KS, Van Wyk JJ, Svoboda ME, Zelenka PS: Lentin, a protein that controls lens formation, is related functionally and immunologically to the insulin-like growth factors. *Dev Biol* 84:2327—2330, 1987.
- 17) Tripathi RC, Millard CB, Tripathi BJ, Reddy V: A molecule resembling fibroblast growth factor in aqueous humor. *Am J Ophthalmol* 106:230—231, 1988.
- 18) Parelman JJ, Nicolson M, Pepose JS: Epidermal growth factor in human aqueous humor. *Am J Ophthalmol* 109:603—604, 1990.
- 19) 並木真理, 田上勇作, 山本 節, 山中昭夫, 伊藤美樹, 嘉納雅文: ヒト房水中ヒト上皮細胞成長因子 (hEGF), 塩基性線維芽細胞成長因子 (bFGF) の存在. *日眼会誌* 96:652—656, 1992.
- 20) Wahl SM, McCartney-Francis N, Mergenhagen SE: Inflammatory and immunomodulatory roles of TGF- β . *Immunol Today* 10:258—261, 1989.
- 21) Le J, Vilcek J: Tumor necrosis factor and Interleukin 1: Cytokines with multiple overlapping biological activities. *Lab Invest* 56:234—248, 1987.
- 22) Koracs EJ: Fibrogenic cytokines: The role of immune mediators in the development of scar tissue. *Immunol Today* 12:17—23, 1991.
- 23) Oppenheim JJ, Ruscetti FW, Faltinek C: Cytokines. In: Stites DP, et al (Eds): *Basic Human Immunology*. Appleton & Lange, East Norwalk 78—100, 1991.
- 24) May LT, Torna C, Cozzolino F: Interleukin-6 gene expression in human endothelial cells: RNA start sites, multiple IL-6 proteins and inhibition of proliferation. *Biochem Biophys Res Commun* 159:991—998, 1989.
- 25) Nolan RD, Danilowicz RM, Eling TE: Role of arachidonic acid metabolism in the mitogenic response of BALB/c 3 T 3 fibroblasts to epidermal growth factor. *Mol Pharmacol* 33:650—656, 1988.
- 26) 西 佳代, 西 起史, 大本安一: 人眼水晶体上皮細胞によるサイトカインの産生—インターロイキン 1 (IL-1), 腫瘍壊死因子 (TNF), インターロイキン 6 (IL-6), 上皮細胞成長因子 (EGF) について. *日眼会誌* 96:715—720, 1992.
- 27) Nishi O, Nishi K, Imanishi M: Synthesis of interleukin-1 and prostaglandin E_2 by lens epithelial cells of human cataracts. *Br J Ophthalmol* 76:338—341, 1992.
- 28) 西 佳代, 西 興史, 今西政仁: ヒト水晶体上皮細胞によるプロスタグランディン E_2 の産生. *あたらしい眼科* 7:1389—1392, 1990.
- 29) 西 佳代, 西 起史: ヒト白内障水晶体上皮細胞による塩基性線維芽細胞成長因子 (b-FGF) の産生—ELISA 法による検出—. *あたらしい眼科* 11:143—145, 1994.
- 30) Nishi O, Nishi K, Omoto Y: Synthesis of interleukin-1, interleukin-6, and basic fibroblast growth factor by human cataract lens epithelial cells. *J Cataract Refract Surg* 22:852—858, 1996.
- 31) 西 佳代, 西 起史, 片田圭宣, 田中敏郎: ヒト白内障水晶体上皮細胞におけるトランスフォーミング成長因子 β , インターロイキン 8 mRNA の発現. *眼紀* 45:935—938, 1994.
- 32) 福嶋正博, 石橋達朗, 猪俣 孟, 居石克夫: 培養牛水晶体上皮細胞のフィブリン溶解系における役割. *日眼会誌* 95:543—547, 1991.
- 33) Ishibashi T, Araki H, Sugai S, Tawara A, Inomata H: Detection of proteoglycans in human posterior capsule opacification. *Ophthalmic Res* 27:208—213, 1995.
- 34) 大平敦彦: プロテオグリカン概論. 宮坂昌之, 他 (編): *Bio Science 用語ライブラリー 細胞接着*, 羊土社, 東京, 43—44, 1996.
- 35) Hales AM, Chamberlain CG, McAvoy JW: Cataract induction in lenses cultured with transforming growth factor- β . *Invest Ophthalmol Vis Sci* 36:1709—1713, 1995.
- 36) Kurosaka D, Nagamoto T: Inhibitory effect of TGF- β_2 in human aqueous humor on bovine lens epithelial cell proliferation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 35:3408—3412, 1994.
- 37) Potts JD, Bassnett S, Kornacker S, Beebe D: Expression of platelet-derived growth factor receptors in the developing chicken lens. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 35:3413—3421, 1994.
- 38) Frezzotti R, Caporossi A, Mastrangelo D, Hadjililianou T, Tosi P, Cintonio M, et al: Pathogenesis of posterior capsular opacification Part II: Histopathological and *in vitro* culture findings. *J Cataract Refract Surg* 16:353—360, 1990.
- 39) Budo C, Montanus F, Goffinet G, Goossens G, Gaill F: Cytokeratin in lens epithelial cells and its effect on anterior lens capsule opacification. *J Cataract Refract Surg* 19:339—343, 1993.
- 40) Kappelhof JP, Vrensen GFJM, de Jong PTVM: The ring of Soemmerring in man: An ultrastructural study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 225:77—83, 1987.
- 41) 綾木雅彦, 邱 信男, 鈴木 純: 超音波乳化吸引術後の水晶体上皮細胞の動態. *あたらしい眼科* 5:1651—1653, 1988.
- 42) 松尾俊彦: *In situ* hybridization 組織学. *眼紀* 44:241—246, 1993.