

## サル実験緑内障の視神経乳頭部における形質転換増殖因子- $\beta$ , 血小板由来増殖因子の変化

福地 健郎<sup>1)</sup>, 上田 潤<sup>1)</sup>, 羽入 貴子<sup>1)</sup>, 阿部 春樹<sup>1)</sup>, 沢口 昭一<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>新潟大学医学部眼科学教室, <sup>2)</sup>琉球大学医学部眼科学教室

### 要 約

**目的:** 緑内障で乳頭陥凹を含む視神経障害が形成される際に, 篩状板の細胞外マトリックスが再構成されることが知られている。これに, 形質転換増殖因子(TGF)- $\beta$ と血小板由来増殖因子(PDGF)の変化が関与している可能性について, 免疫組織化学的に検討する。

**方法:** カニクイサル3匹3眼, ニホンサル2匹2眼を用い, アルゴンレーザーの隅角過剰照射で実験緑内障を作製した。3~5か月後に乳頭陥凹が形成された後に, 摘出眼の視神経乳頭部をTGF- $\beta$ 1, - $\beta$ 2, - $\beta$ 3, PDGF-A, -Bについて, 凍結切片とbiotin-ExtrAvidin-Alkali Phosphatase法で検討した。

**結果:** 正常サル眼の視神経乳頭部にはTGF- $\beta$ 1, - $\beta$ 2, - $\beta$ 3, PDGF-A, -Bのいずれもが検出され, 神経線維,

グリア細胞, 血管細胞のいずれの細胞にも発現していた。実験緑内障では篩状板付近で主にグリア細胞のTGF- $\beta$ 1, - $\beta$ 2の発現が明らかに増強していた。TGF- $\beta$ 3, PDGF-A, -Bについては, 正常眼とに明らかな差はなかった。

**結論:** 実験緑内障の視神経乳頭部では, 少なくともTGF- $\beta$ , 特にTGF- $\beta$ 1, - $\beta$ 2の発現が増強しており, 緑内障における篩状板の再構成, 特に細胞外マトリックスの産生系の促進に関与している可能性がある。(日眼会誌 103: 193-200, 1999)

**キーワード:** 緑内障, 視神経乳頭, 細胞成長因子, 形質転換増殖因子, 血小板由来増殖因子

## Changes in Transforming Growth Factor- $\beta$ and Platelet-derived Growth Factor in the Optic Nerve Head in Monkey Experimental Glaucoma

Takeo Fukuchi<sup>1)</sup>, Jun Ueda<sup>1)</sup>, Takako Hanyu<sup>1)</sup>, Haruki Abe<sup>1)</sup> and Shoichi Sawaguchi<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Ophthalmology, Niigata University School of Medicine

<sup>2)</sup>Department of Ophthalmology, Faculty of Medicine, Ryukyu University

### Abstract

**Purpose:** Remodeling of the extracellular matrix occurs in the lamina cribrosa in progressed glaucomatous optic nerve damage including disc cupping. We examined immunohistochemical changes in the transforming growth factor (TGF)- $\beta$  and platelet-derived growth factor (PDGF) in the optic nerve heads in experimentally induced glaucoma.

**Methods:** We used 3 cynomolgus and 2 Japanese monkey eyes. Glaucoma was induced by repeated argon laser photocoagulation of the chamber angle. Eyes were enucleated after disc cupping had formed 3 to 5 months after treatment. The optic nerve head was examined for expression of TGF  $\beta$  1,  $\beta$  2, and  $\beta$  3, and PDGF A and B in frozen sections and by the biotin-ExtrAvidin-Alkali Phosphatase method.

**Findings:** Normal monkey eyes showed TGF  $\beta$  1,  $\beta$  2, and  $\beta$  3, and PDGF A, and B in the optic nerve

head including the nerve fibers, glial cells, and vascular cells. Glaucomatous eyes showed stronger expression of TGF  $\beta$  1 and  $\beta$  2 in the glial cells around the lamina cribrosa. The staining intensities for TGF  $\beta$  3, PDGF A, and PDGF B were the same as in normal eyes.

**Conclusion:** Eyes with experimental glaucoma showed higher expressions of TGF  $\beta$  1 and  $\beta$  2 around the lamina cribrosa. This finding may show upregulation of extracellular matrix production as related to remodeling of the lamina cribrosa in glaucoma. (J Jpn Ophthalmol Soc 103: 193-200, 1999)

**Key words:** Glaucoma, Optic nerve head, Growth factor, Transforming growth factor (TGF)- $\beta$ , Platelet-derived growth factor (PDGF)

別刷請求先: 951-8510 新潟市旭町通1-757 新潟大学医学部眼科学教室 福地 健郎

(平成10年6月13日受付, 平成10年10月2日改訂受理)

Reprint requests to: Takeo Fukuchi, M.D. Department of Ophthalmology, Niigata University School of Medicine, 1-757 Asahi-machi, Niigata 951-8510, Japan

(Received June 13, 1998 and accepted in revised form October 2, 1998)

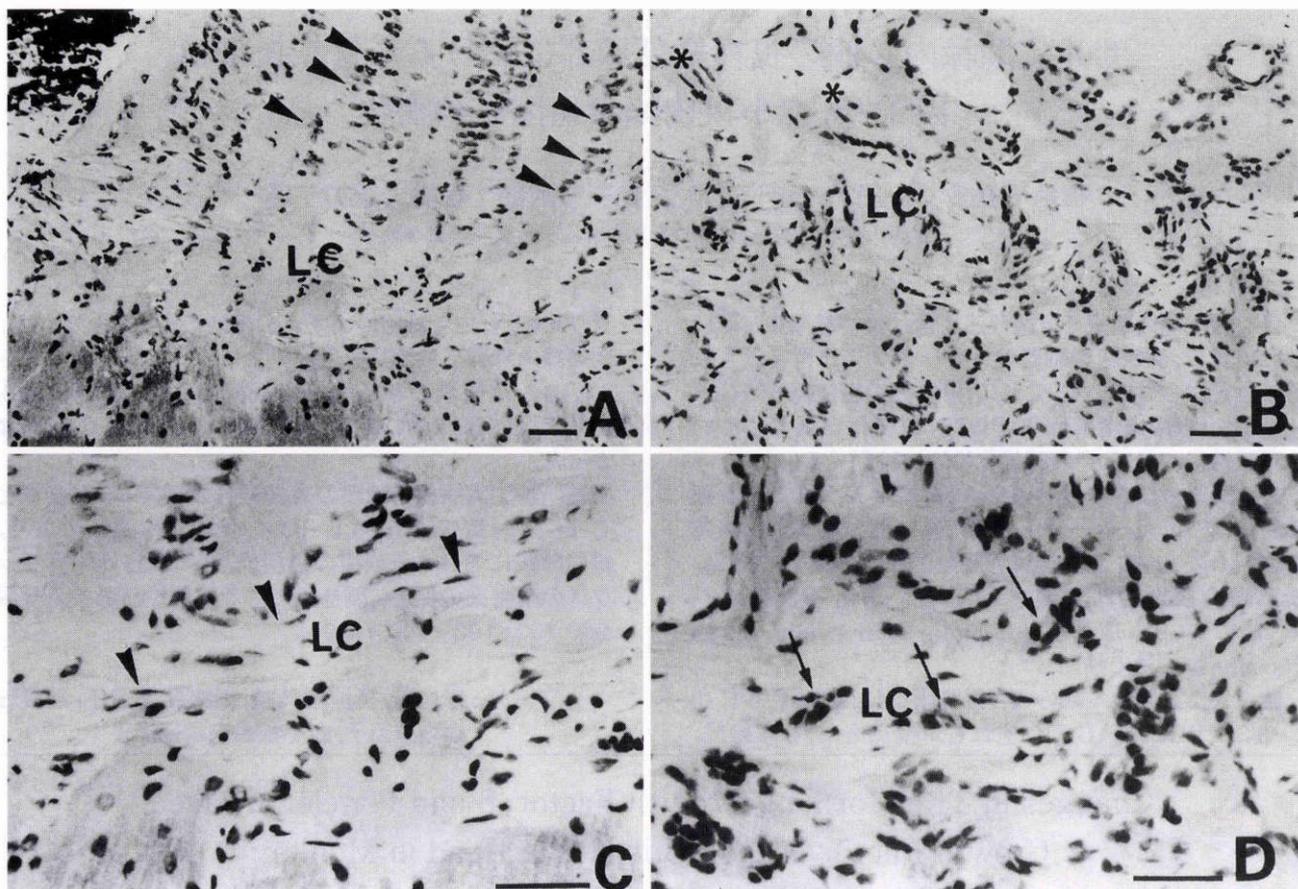


図1 サル正常眼(A), 実験緑内障眼(B)の視神経乳頭部。

ヘマトキシリンによる単染色。いずれもバーは100  $\mu$ m, LC: 篩状板

- A: 正常眼の視神経乳頭の前篩状板では, アストロサイトと考えられるグリア細胞が規則正しく配列し, グリア柱(矢じり)を形成している。篩状板は強膜に連続してあり, 視神経線維はここから有髄線維へと変わる。
- B: 実験緑内障眼では, 前篩状板のグリア細胞の配列が著しく乱れている。前篩状板部ではグリア細胞の密度は低下し(星), 篩状板部では逆に増加している。
- C: 正常篩状板を強拡大で観察すると強膜孔を横切るようにビームが配列し, その表面に扁平な, おそらくアストロサイトがみられる(矢じり)。
- D: 実験緑内障眼の篩状板は屈曲し, 肥厚している。篩状板付近のグリア細胞の密度は増加しその配列は乱れていた(矢印)。

## I 緒言

緑内障による視神経障害は視神経乳頭部, 特に篩状板部付近で初発していると考えられてきた<sup>1)2)</sup>。特に篩状板は一つの支持組織として, この部を通過する視神経線維を機械的, かつ機能的に保持していると考えられる<sup>3)4)</sup>。篩状板は結合組織性の構造で, これを構成する細胞外マトリックスに関する研究はこの約15年ほどの間に飛躍的に進歩し, 様々な事実が明らかにされた<sup>5)~21)</sup>。その一つとして, 視神経乳頭陥凹が形成されていく過程における篩状板の変化は, 一種の細胞外マトリックスの再構成(remodeling)として理解され<sup>5)10)13)~21)</sup>。篩状板は持続的な崩壊・再生を繰り返しながら後方へ向かって移動していくことが明らかになった。例えば, 実験緑内障眼の篩状板ではコラーゲン線維<sup>3)14)</sup>, 弾性線維<sup>14)~16)</sup> やプロテオグリカン<sup>10)</sup>の配列が崩壊し, 乱れていることが電子顕微鏡

レベルで示され, その反面, ヒト緑内障の視神経乳頭部ではコラーゲンやエラスチンの遺伝子発現が増強していること<sup>19)20)</sup>, また, 実験緑内障の視神経乳頭部ではマトロプロテイナーゼ(MMP)活性が増強していることなどが示されている<sup>21)</sup>。細胞外マトリックスの産生・分解の調節には, 上記のMMPを含めて様々な因子が働いていると考えられるが, その一つとしてサイトカイン・細胞増殖因子がある<sup>22)23)</sup>。細胞外マトリックスの調節に働く増殖因子の代表として, 形質転換増殖因子(TGF)- $\beta$ と血小板由来増殖因子(PDGF)があげられる<sup>22)24)25)</sup>。そこで, 緑内障における視神経障害および特徴的な視神経乳頭陥凹の形成や進行に, TGF- $\beta$ とPDGFが関与している可能性について検討するために, この研究ではサル実験緑内障の視神経乳頭部におけるこれらの細胞増殖因子の発現を免疫組織化学的に調べた。

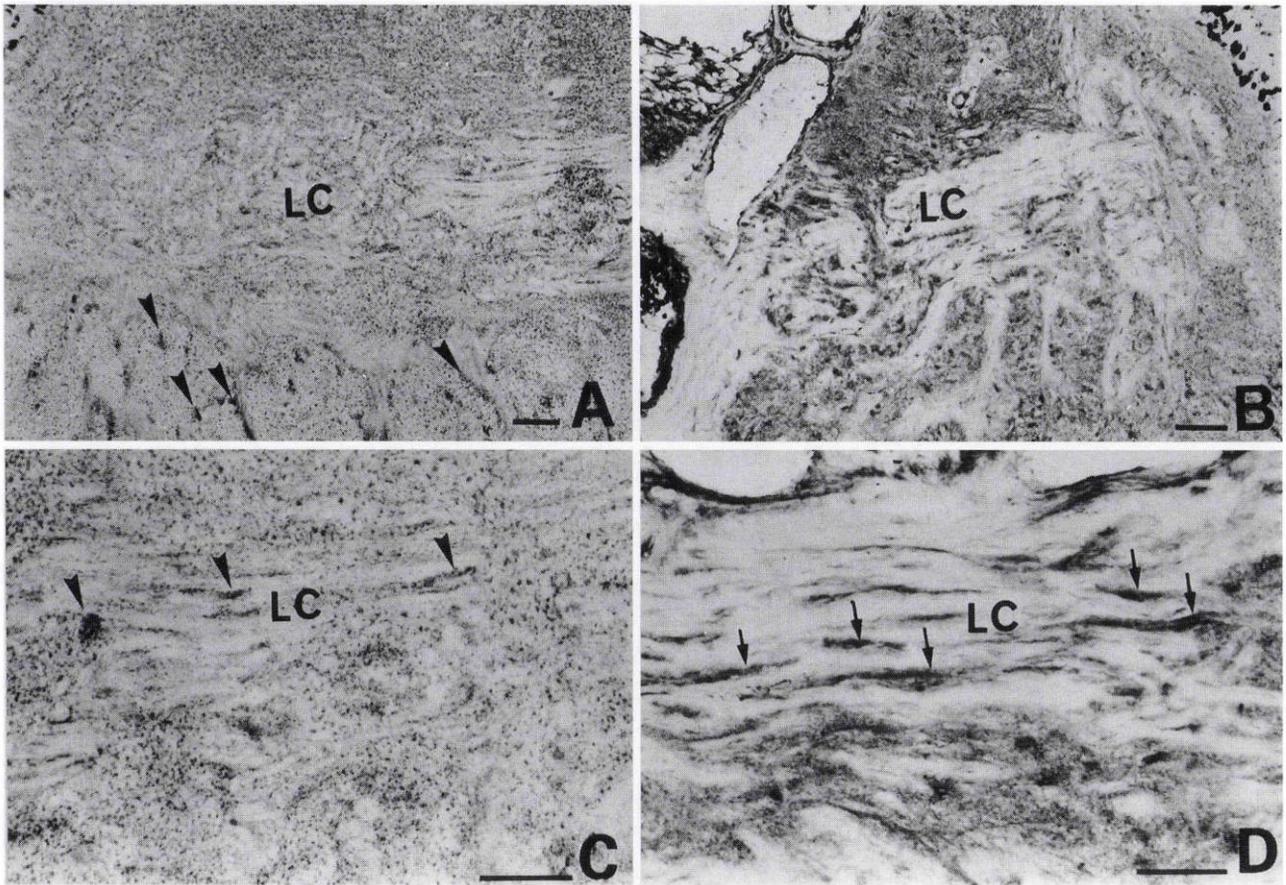


図2 サル正常眼(A, C), 実験緑内障眼(B, D)の視神経乳頭における TGF- $\beta$ 1 の免疫組織化学染色。  
いずれもバーは 100  $\mu$ m, LC: 篩状板

A: 正常眼の視神経乳頭に, TGF: 形質転換増殖因子(TGF)- $\beta$ 1 は視神経線維, グリア細胞にびまん性に発現していた。グリア細胞としては後篩状板部の細胞により強く染色された細胞があった(矢じり)。

B: 実験緑内障では, 視神経乳頭全体に, TGF- $\beta$ 1 の発現が強くなっていた。特に篩状板周囲で強かった。

C: 正常篩状板を強拡大で観察すると視神経線維がびまん性に染色されたのに加えて, 篩状板内などに強く TGF- $\beta$ 1 を発現する細胞(矢じり)があった。

D: 実験緑内障の篩状板部では, 篩状板内の TGF- $\beta$ 1 を発現する細胞は数が増加し, 発現がより強くなっていた(矢印)。

## II 対象と方法

実験にはカニクイサル3匹3眼, ニホンサル2匹2眼を用いた。実験緑内障は型のごとくアルゴンレーザーの隅角過剰照射によって作製した<sup>8)10)14)</sup>。カニクイサルについては推定年齢はいずれも3歳で, ニホンサルに関しては不明である。片眼に実験的に緑内障を作製したが, その方法は既報に従い, アルゴンレーザーの隅角過剰照射によって作製した。眼圧上昇後, 3~5か月の時点で乳頭陥凹が形成されたのを確認した後に, 過剰量のベントバルビタール(ネンプタール<sup>®</sup>)および塩酸ケタミン(ケタラール<sup>®</sup>)によって安楽的に屠殺し, 速やかに眼球を摘出した。これらは4℃の0.1Mリン酸緩衝液(PBS)で洗浄し, 球後約1mmの部位で視神経を切断し, さらに視神経乳頭部のみを切り出して, 今回の実験に用いた。組織は未固定のまま OCT compound とともに凍結包埋し, 厚さ8  $\mu$ m の切片を作製した。切片は免疫組織化学染色までの

間, -70℃のフリーザー中で保存した。

免疫組織化学染色は以下の手順で行った。まず, 切片は4℃の4%パラフォルムアルデヒド/0.01M PBSで15分間固定した。0.01M PBSで十分に洗浄した後, 非特異的結合のプロッキングのために10%正常ヤギ血清で30分間, 処理した。以下, 洗浄は0.01M PBSで3回ずつ行った。一次抗体はウサギ・抗ヒト TGF- $\beta$ 1 抗体, 抗 TGF- $\beta$ 2 抗体, 抗 TGF- $\beta$ 3 抗体, 抗 PDGF-A 抗体, 抗 PDGF-B 抗体で, いずれも Santa Cruz 社(Santa Cruz, 米国)から購入した IgG 分画のポリクロナール抗体である。抗体の特異性はいずれもウエスタンブロッティングによって確認されている。一次抗体はいずれも 1:100 で希釈し, 4℃で16時間作用させた。陰性対照として非免疫ウサギ IgG を蛋白濃度で, 一次抗体と同濃度に希釈して同様に反応させた。二次抗体としてビオチン化抗ウサギ IgG 抗体(Sigma 社, St Louis, 米国)を 1:50 で3時間作用させた。さらに, ExtrAvidin-Alkaline Phosphatase

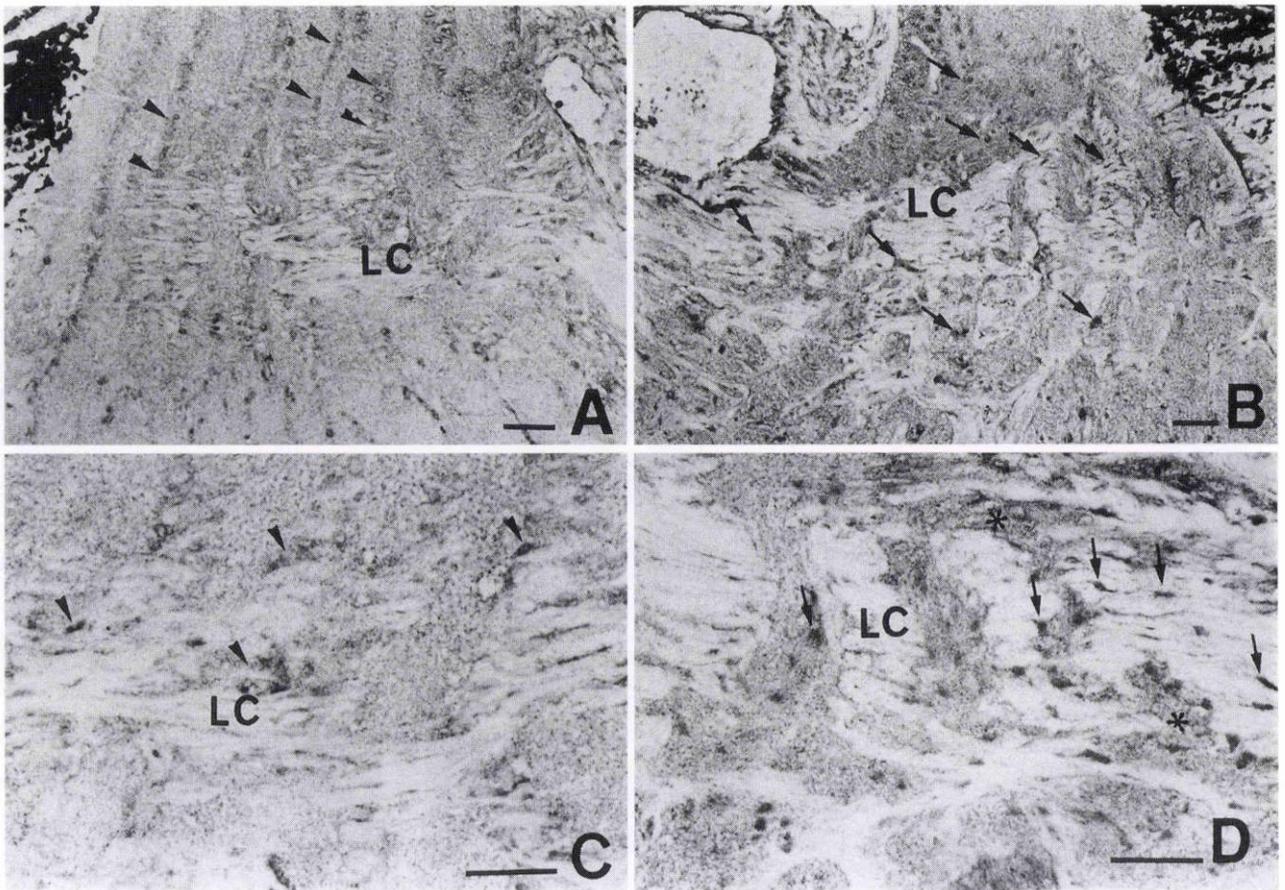


図3 サル正常眼(A, C), 実験緑内障(B, D)の視神経乳頭における TGF- $\beta$ 2 の免疫組織化学染色。  
いずれもバーは 100  $\mu$ m, LC: 篩状板

- A: 正常眼の視神経乳頭に TGF- $\beta$ 2 は, 視神経線維, グリア細胞にびまん性に発現していた。TGF- $\beta$ 1 に比較するとグリア細胞, 特に前篩状板部, 篩状板部のアストロサイトへの発現がより優位であった(矢じり)。
- B: 実験緑内障では篩状板の形態変化が著明で, それを取り巻くように TGF- $\beta$ 2 の発現が強くなっていた。前篩状板部から後篩状板部まで広い範囲にわたって, TGF- $\beta$ 2 の発現が強くなったグリア細胞が多数みられた(矢印)。
- C: 正常篩状板を強拡大で観察すると視神経線維がびまん性に染色されただけでなく, 篩状板内, 篩状板周囲にグリア細胞と考えられる細胞(矢じり)がより強く染色されていた。
- D: 実験緑内障の篩状板部では, 視神経線維に対するびまん性の染色も強くなっていた(\*印)。さらに, 篩状板周囲のグリア細胞と考えられる細胞は数が増加し, TGF- $\beta$ 2 の発現がより強くなっていた(矢印)。

(Sigma 社)を同様に 1:50 で 3 時間作用させた。最後に 10 mM Tris-HCl 緩衝液 (pH 7.4) で洗浄し, Fast Red TR/Naphthol AS-MX (Sigma 社) で 5~20 分間発色した。非特異的アルカリフォスファターゼ反応を抑制するために, 発色液の Tris 緩衝液中にレバミゾール (Vector 社, Burlingum, 米国) を付加した。切片は水溶性封入剤 (Crystal Mount, Biomedica 社, Foster City, 米国) で封入し, 光学顕微鏡で観察した。また, 別の切片にマイヤー・ヘマトキシリンで核染色を施し, 視神経乳頭部の形態変化を観察した。

### III 結 果

正常眼, 実験緑内障の視神経乳頭部のいずれの切片も, TGF- $\beta$ 1, - $\beta$ 2, - $\beta$ 3, PDGF-A, -B の 5 種の抗体に対して有意に染色された。陰性対照では後篩状板部から球

後視神経部の微小血管にのみ, ごく僅かに非特異反応と考えられる染色がみられた。

y 正常サル眼の視神経乳頭部で, TGF- $\beta$ 1, - $\beta$ 2, - $\beta$ 3 のいずれも前篩状板部の網膜神経線維層からの無髄神経線維やグリア柱, 篩状板周囲のアストロサイト, 後篩状板部のグリア細胞, さらに血管に伴って染色がみられた。実験緑内障では篩状板の肥厚や配列の乱れ, グリア柱の崩れ, 前篩状板部組織の喪失などの形態変化を生じていた (図 1)。

正常眼の視神経乳頭で, TGF- $\beta$ 1 は視神経線維, グリア細胞にびまん性に発現していた。グリア細胞としては, 後篩状板部により強く染色される細胞があった (図 2 A, C)。正常篩状板を強拡大で観察すると, 視神経線維へのびまん性の染色に加えて, 特に篩状板内に強く TGF- $\beta$ 1 を発現する細胞があった (図 2 C)。実験緑内障では視

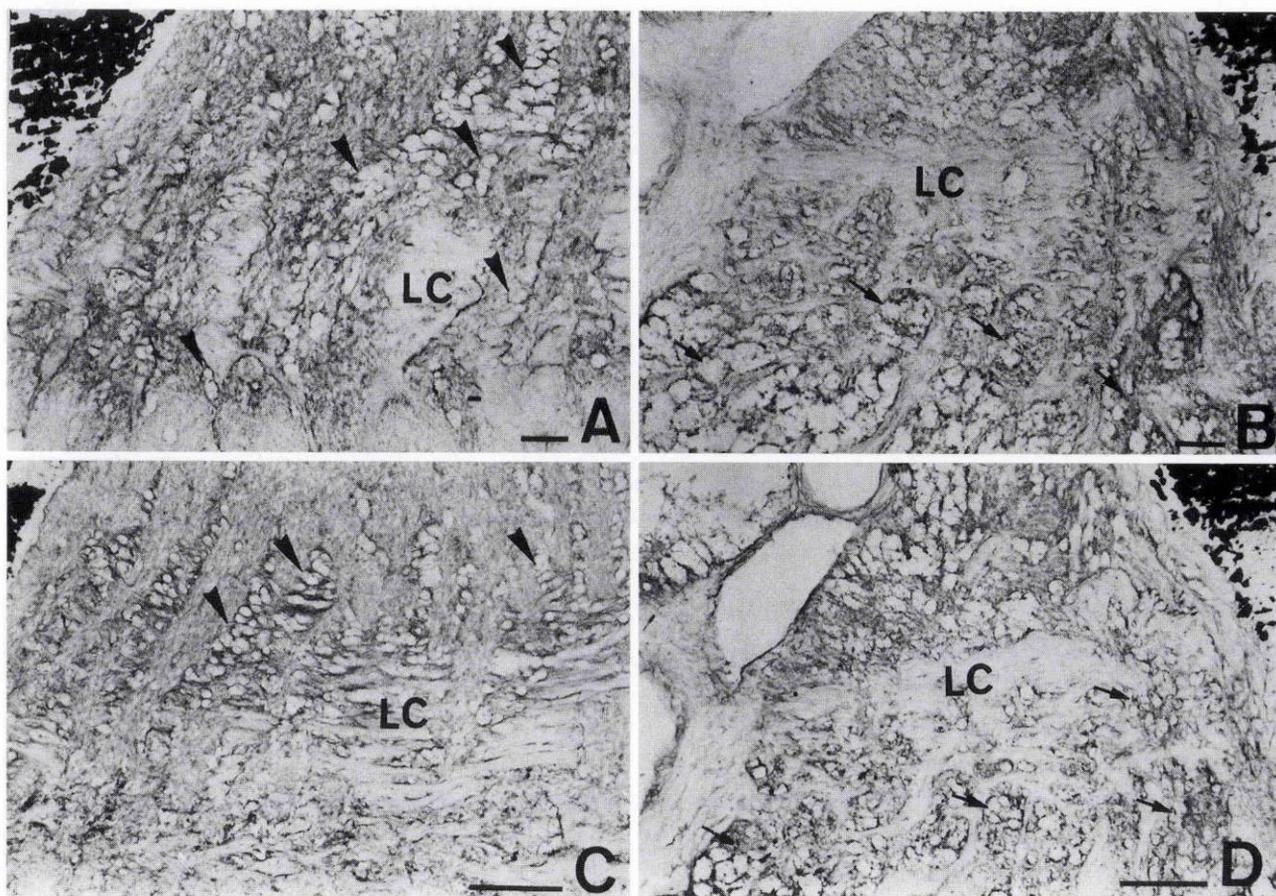


図4 サル正常眼(A, C), 実験緑内障眼(B, D)の視神経乳頭における PDGF-A(A, B), PDGF-B(C, D)の免疫組織化学染色。

いずれもバーは 100  $\mu$ m, LC: 篩状板, PDGF: 血小板由来増殖因子

A: 正常眼の視神経乳頭部で, PDGF-A は視神経線維, グリア細胞に分布・発現していた。グリア細胞への染色(矢じり)はリング状を呈し, 細胞膜付近に分布するパターンを反映していた。

B: 実験緑内障眼の視神経乳頭部でも PDGF-A はびまん性に分布していた。篩状板の形態変化は著明で, 後篩状板部を中心にしてグリア細胞が増殖していたが(矢印), 全体として発現の程度に正常眼との差はみられなかったが, 前篩状板部では正常眼に比較して染色が弱い傾向があった。

C: 正常眼, D: 実験緑内障眼の視神経乳頭部に PDGF-B も分布・発現していたが, その分布は PDGF-A とほぼ同様で, 正常眼と実験眼で発現に明らかな差がない点でも PDGF-A と同様だった。

神経乳頭部全体に TGF- $\beta$ 1 の発現が増強していた。特に篩状板周囲で強かった(図2B, D)。実験緑内障眼の篩状板部では, 篩状板内の TGF- $\beta$ 1 を発現する細胞は数が増加し, より強く発現していた(図2D)。TGF- $\beta$ 2 は正常視神経乳頭の視神経線維, グリア細胞にびまん性に発現していた(図3A, C)。TGF- $\beta$ 1 に比較するとグリア細胞, 特に前篩状板部, 篩状板部のアストロサイトへの発現がより優位であった(図3A)。強拡大で観察すると視神経線維へのびまん性の染色に加えて, 篩状板内, 篩状板周囲にグリア細胞と考えられる組織に強く発現していた(図3C)。実験緑内障眼では篩状板の形態変化が著明で, その周囲などで TGF- $\beta$ 2 の発現が強くなっていた。前篩状板部から後篩状板部まで広い範囲にわたって, TGF- $\beta$ 2 の発現が増強したグリア細胞が多数あった(図3B)。実験緑内障眼の篩状板部では, 視神経線維に対するびまん性の染色も強くなっただけでなく, 篩状板周囲のグリ

ア細胞と考えられる細胞は数が増加し, 一般に TGF- $\beta$ 2 をより強く発現していた(図3D)。TGF- $\beta$ 3の正常眼での分布は, TGF- $\beta$ 2により類似し, アストロサイトへの分布がより著明であった。しかし, 実験緑内障眼では, いずれの部位でも正常眼と明らかな染色程度の差はなかった。

PDGF-A, -B(図4)に関しては, 正常眼の視神経乳頭部において, 網膜神経線維層からの無髄視神経線維やグリア柱, 篩状板周囲のアストロサイトへの染色が著明であった。後篩状板部から後方の有髄視神経線維では染色は軽度であった。特にグリア柱から篩状板周囲にみられるアストロサイトへの染色が特に明らかであった。グリア細胞への染色は細胞膜付近への分布を反映し, リング状に染色されていた。PDGF-A(図4A, B), PDGF-B(図4C, D)はともに正常眼, 実験緑内障眼のいずれでも視神経乳頭部で同じようなパターンで分布していた。形態変化に伴って, 篩状板部から後方には増殖・肥大したグリ

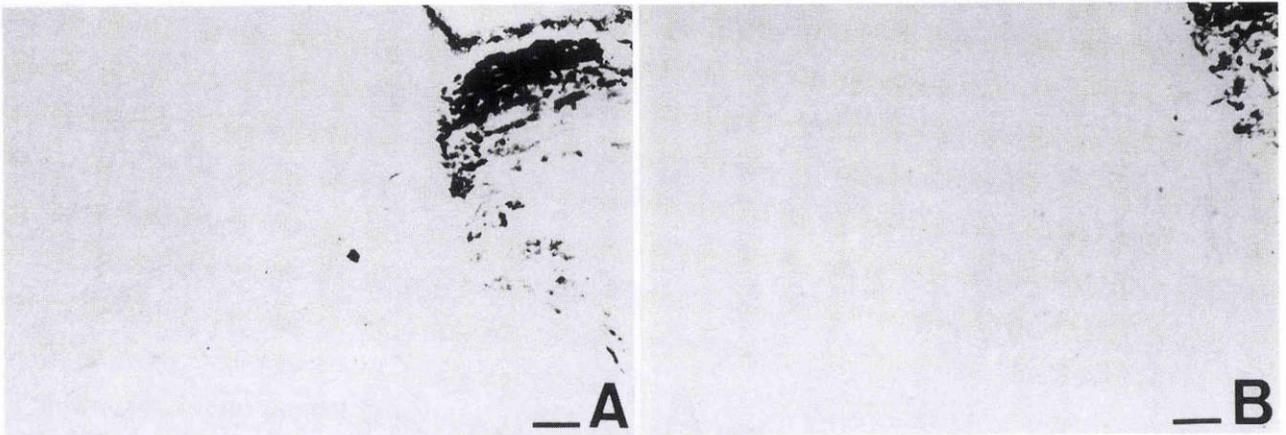


図5 陰性対照の結果.

A: サル正常眼, B: 実験緑内障眼の視神経乳頭部の切片に非免疫ウサギ IgG を作用させたが, ごくわずかなバックグラウンド染色が認められるのみで, 有意な染色はなかった. いずれもバーは 100  $\mu$ m.

ア細胞と考えられる細胞が多数みられるなどの変化があったが, 染色濃度の点では正常眼との間に明らかな変化はなかった. 前篩状板部では神経線維への染色は, むしろ緑内障で低下している傾向であった.

TGF- $\beta$ , PDGF のいずれについても血管に伴うと考えられる染色がみられたが, 正常対照眼に比べて, 緑内障眼に一定の傾向はみられなかった. また, 5 眼の緑内障眼で形態差, 染色程度の差はあったが, 以上に述べた染色結果の傾向はほぼ同じだった.

#### IV 考 按

この研究では, 緑内障の篩状板における細胞外マトリックスの変化に関与している可能性のある TGF- $\beta$  と PDGF の変化を免疫組織学レベルで調べた. 今回の結果, TGF- $\beta$  は実験緑内障の視神経乳頭部で, 免疫組織化学的に少なくとも TGF- $\beta$  1, - $\beta$  2 の発現が強くなっていた. TGF- $\beta$  3 は明らかな変化がなかった. PDGF は-A, -B とも明らかな変化はなく, むしろ前篩状板部を中心に低下している傾向があった.

TGF- $\beta$ <sup>22)~26)</sup> は分子量 25 kD の 2 量体タンパク質で, 極めて多彩な機能を持っているが, 中でも細胞外マトリックスに対する作用が重要である. つまり, コラーゲン, フィブロネクチン, プロテオグリカン, さらにその受容体であるインテグリンなどの転写促進, MMP などの放出抑制などを介して, 全体としてマトリックスの産生・蓄積を亢進させる. 哺乳類では TGF- $\beta$  1, - $\beta$  2, - $\beta$  3 のアイソフォームが知られている. 一方, PDGF<sup>22)23)27)28)</sup> は TGF- $\beta$  同様に様々な機能が知られているが, 特に細胞増殖, 遊走作用が著明で, 細胞外マトリックスに対しては細胞増殖促進作用を介して産生系を増加させる. PDGF は PDGF-A と PDGF-B の組み合わせによる 2 量体として存在し, PDGF-AA, PDGF-AB, PDGF-BB の 3 種のアイソフォームがある. また, 特に神経系ではグリア細胞の分

化調節作用がよく知られている. 視神経乳頭部における増殖因子の発現や, 緑内障における変化を検討した研究はこれまでごく僅かだがみられる. Tripathi ら<sup>29)</sup> はヒト緑内障の視神経乳頭部での TGF- $\beta$ ,  $\gamma$ -インターフェロン (IFN) の発現を免疫組織化学的に観察し, 両者の upregulation を報告した. Taylor ら<sup>30)</sup> は生化学的にヒト眼の培養視神経乳頭部由来細胞が TGF- $\beta$  2, PDGF-AA を産生していることを示した. また, Lambert ら<sup>31)</sup> は reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) 法を用いて, 培養ヒト篩状板由来細胞が TGF- $\beta$  2, - $\beta$  3 とともに, 受容体である TGF- $\beta$  1, -RI, -RII を発現していることを示した. 今回の実験で得られた新たな所見として, TGF- $\beta$  1, - $\beta$  2, - $\beta$  3 の 3 つのアイソフォームがいずれもほぼ同様のパターンで視神経乳頭部に広く分布していること, 緑内障では TGF- $\beta$  2 だけでなく TGF- $\beta$  1 の増加している可能性があることがある. また, 緑内障での変化は明らかにはできなかったが, PDGF-A, -B とも視神経乳頭部に広く分布していることがわかった.

篩状板は緑内障の進行過程で, 単純に後方へ圧排され陥凹を形成しているのではなく, 崩壊・再生を繰り返すことによって後方へ移動していき, 特徴的な陥凹を形成していく. これは緑内障の前篩状板部にみられる著明な基底膜構造の遺残<sup>10)14)</sup> や免疫組織化学的に認められる IV 型コラーゲンの集積<sup>8)11)12)</sup> が示しており, したがって, この部位で起こっている変化は一種のいわゆる remodeling (再構成)<sup>23)</sup> といえる. Remodeling は主に組織損傷修復の後期の変化であるが, 一般に組織損傷は初期には炎症性の反応を伴う. 緑内障の視神経乳頭部に生じている変化は細胞浸潤を伴う炎症性反応がないこと, 視神経乳頭表層部においてアストロサイトによるグリオシスが極めて弱いことなどが一般の組織損傷との決定的な差としてあげられている<sup>11)32)</sup>. おそらく, この点は緑内障眼に典型的な乳頭陥凹が生ずるメカニズムであるばかり

でなく、緑内障による視神経障害の発症・進展のメカニズムそのものに関与する問題と考えられるが、その理由は未だ明らかにされていない。増殖因子、サイトカインなどは様々な生理活性を持ち、さらにそれぞれが複雑に影響し合って生体内の諸現象を微妙に調節している。組織損傷や炎症反応においても、これらの因子は組織における反応の主体を成していると考えられ、様々な疾患においても重要な役割を果たしていることが知られている。今回の結果をみる限り、TGF- $\beta$  の増加、PDGF の不変もしくは低下という所見は、緑内障にみられる篩状板への細胞外マトリックスの産生・蓄積、前篩状板部におけるグリオーシスの抑制などの点とよく一致している。これらの増殖因子は二面性(bifunctionality)など複雑な機能発現を示し、また、それぞれの増殖因子が互いに影響を及ぼしながら複雑に調節されている。したがって、短絡的な結論は避けるべきであるが、少なくとも緑内障に特徴的な乳頭陥凹の形成に、これらの増殖因子の動態が重要な要素として関わっている可能性が高いと考えるべきである。これらの増殖因子の視神経乳頭部での産生細胞としては、グリア細胞、特に前篩状板部、および篩状板のアストロサイトが重要と推測されるが、これら細胞の動態は視神経乳頭陥凹の形成、さらには緑内障性視神経障害の進行の鍵を握っている可能性が高い<sup>33)</sup>。

本研究は平成 8 年度新潟県成人病等治療研究事業のための助成、および厚生省科学研究費、文部省科学研究費の援助を受けた。

## 文 献

- 1) **Quigley HA, Addicks W, Green R, Maumenee AE**: Optic nerve damage in human glaucoma. II: The site of injury and susceptibility of damage. *Arch Ophthalmol* 99: 653—659, 1981.
- 2) **Quigley HA, Hohman RM, Addicks W, Massof RW, Green WR**: Changes in the lamina cribrosa correlated with neural loss in open-angle glaucoma. *Am J Ophthalmol* 95: 673—691, 1983.
- 3) **Anderson D, Francisco S**: Ultrastructure of human and monkey lamina cribrosa and optic nerve head. *Arch Ophthalmol* 82: 800—814, 1969.
- 4) **Hogan MJ, Alvarado J, Weddell JE**: Histology of the Human Eye. WB Sanders, Philadelphia, 532—606, 1971.
- 5) **Hernandez MR, Pena JDO**: The optic nerve head in glaucomatous optic neuropathy. *Arch Ophthalmol* 115: 389—395, 1997.
- 6) **Hernandez MR, Luo XX, Igoe F, Neufeld AH**: Extracellular matrix of the human lamina cribrosa. *Am J Ophthalmol* 104: 567—576, 1987.
- 7) **Morrison JC, Jerden JA, L'Hernaut NL, Quigley HA**: The extracellular composition of the monkey optic nerve head. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 29: 1141—1150, 1988.
- 8) **Fukuchi T, Sawaguchi S, Hara H, Shirakashi M, Iwata K**: Extracellular matrix changes of the optic nerve lamina cribrosa in monkey eyes with experimentally chronic glaucoma. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 230: 421—427, 1992.
- 9) **Sawaguchi S, Yue BYJT, Fukuchi T, Iwata K, Kaiya T**: Sulfated proteoglycans in the human lamina cribrosa. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 33: 2388—2398, 1992.
- 10) **Fukuchi T, Sawaguchi S, Yue BYJT, Iwata K, Hara H, Kaiya T**: Sulfated proteoglycans in the lamina cribrosa of normal monkey eyes and monkey eyes with laser-induced glaucoma. *Exp Eye Res* 58: 231—244, 1994.
- 11) **Hernandez MR, Andrzejewska W, Neufeld AH**: Changes in the extracellular matrix of the human optic nerve head in primary open-angle glaucoma. *Am J Ophthalmol* 109: 180—188, 1990.
- 12) **Morrison JC, Dorman ME, Quigley HA**: Optic nerve head extracellular matrix in primary optic atrophy and experimental glaucoma. *Arch Ophthalmol* 108: 1020—1024, 1990.
- 13) **Quigley HA, Dorman-Pease ME, Brown AE**: Quantitative study of collagen and elastin of the optic nerve head and sclera in human and experimental monkey glaucoma. *Curr Eye Res* 9: 877—888, 1991.
- 14) **福地健郎, 沢口昭一, 原 浩昭, 岩田和雄, 阿部春樹, 海谷忠良**: サル実験緑内障の篩状板における微細構造変化. *日眼会誌* 99: 1222—1229, 1995.
- 15) **Quigley HA, Brown A, Dorman-Pease ME**: Alteration in elastin of the optic nerve head in human and experimental glaucoma. *Br J Ophthalmol* 75: 552—557, 1991.
- 16) **Hernandez MR**: Ultrastructural immunocytochemical analysis of elastin in the human lamina cribrosa. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 33: 2891—2903, 1992.
- 17) **Fukuchi T, Sawaguchi S, Yue B, Zhou L, Ueda J, Hanyu T, et al**: Expression of glycoproteins in the optic nerve head of human and monkey glaucomatous eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 38: S 159, 1997.
- 18) **Gong H, Ye W, Freddo TF, Hernandez MR**: Hyaluronic acid in the normal and glaucomatous optic nerve. *Exp Eye Res* 64: 587—595, 1997.
- 19) **Hernandez MR, Yang J, Ye H**: Activation of elastin mRNA expression in human optic nerve heads with primary open-angle glaucoma. *J Glaucoma* 3: 214—225, 1994.
- 20) **Hernandez MR, Ye H, Roy S**: Collagen type VI gene expression in human optic nerve heads with primary open angle glaucoma. *Exp Eye Res* 59: 41—52, 1994.
- 21) **Emi K, Sawaguchi S, Yue B, Hara H, Fukuchi T,**

- Iwata K** : Increased levels of matrix metalloproteinase in the optic nerve head of monkey eyes with laser-induced glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 35 : S1283, 1994.
- 22) **村脇義和, 川崎寛中** : 合成系と分解系, その制御機構. 渡辺明治, 他(編) : 細胞外マトリックス, 臨床医学への応用. メディカルレビュー社, 東京, 53—62, 1996.
- 23) **Raghow R** : The role of extracellular matrix in postinflammatory wound healing and fibrosis. *FASEB J* 8 : 823—831, 1994.
- 24) **Border WA, Noble NA** : Transforming growth factor  $\beta$  in tissue fibrosis. *N Engl J Med* 331 : 1286—1292, 1994.
- 25) **Dallas SL, Miyazono K, Skerry TM, Mundy GR, Bonewald LF** : Dual role for the latent transforming growth factor- $\beta$  binding protein in storage of latent TGF- $\beta$  in the extracellular matrix and as a structural protein. *J Cell Biol* 131 : 539—549, 1994.
- 26) **Logan A, Berry M** : Transforming growth factor- $\beta$ 1 and basic fibroblast growth factor in the injured CNS. *TIPS* 14 : 337—343, 1993.
- 27) **Heldin CH** : Structural and functional studies on platelet-derived growth factor. *EMBO J* 11 : 4251—4259, 1992.
- 28) **松井利充** : PDGF および PDGF 受容体の個体における役割と病気とのかかわり. 門脇 孝(編) : 細胞増殖因子の最前線. 羊土社, 東京, 83—98, 1993.
- 29) **Tripathi BJ, Li J, Chalam KV, Tripathi RC** : Upregulated expression of gamma-interferon and transforming growth factor- $\beta$  1 in the optic nerve head of glaucomatous eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 37 : S411, 1996.
- 30) **Taylor AW, Pena JDO, Hernandez MR** : Cytokines produced by explanted human optic nerve heads of normal and glaucomatous eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 36 : S607, 1995.
- 31) **Lambert W, Agarwal R, Clark AF, Wordinger RJ** : Expression of TGF- $\beta$  isoforms and their receptors mRNA's in cultured human lamina cribrosa cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 38 : S162, 1997.
- 32) **Radius RL** : Anatomy of the optic nerve head and glaucomatous optic neuropathy. *Surv Ophthalmol* 32 : 35—44, 1987.
- 33) **Hernandez MR, Varela HJ** : Astrocyte responses in optic nerve heads with primary open angle glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 38 : S 160, 1997.