

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

並木 真理¹⁾, 田上 勇作¹⁾, 山本 節²⁾, 山中 昭夫³⁾, 伊藤 美樹²⁾, 嘉納 雅文³⁾

¹⁾社会保険神戸中央病院眼科, ²⁾神戸大学医学部眼科学教室, ³⁾神戸海星病院眼科

要 約

白内障眼 38 眼, 白内障術後眼 15 眼を対象に, ヒト房水中のヒト上皮細胞成長因子 (hEGF)・塩基性線維芽細胞成長因子 (bFGF) をラジオイムノアッセイ法で定量した。先天白内障と合併症のない老人性白内障では hEGF・bFGF とともに測定限界以下であった。緑内障を合併した老人性白内障, 外傷性白内障では, bFGF が 0.4~0.8 ng/ml 検出されたが, hEGF は検出限界以下であった。心筋梗塞・脳梗塞を合併した白内障, 前嚢下白内障で, bFGF は 0.4~1.0 ng/ml 検出され, hEGF はそれらの一部で 1.0 ng/ml 検出された。また hEGF はぶどう膜炎による併発白内障, 網膜剥離を合併した白内障, 強膜内陷術あるいは硝子体手術後の白内障, 水晶体嚢外摘出術あるいは超音波乳化吸引術後の無水晶体症および偽水晶体症の症例の一部で 1.0 ng/ml 検出された。以上より, 房水中に hEGF・bFGF が 1 ng/ml 程度存在する病態があることが明らかになり, これらの成長因子により水晶体上皮細胞の増殖が促進され, 後発白内障, 前嚢混濁, 前嚢収縮が助長される可能性があると考えられた。(日眼会誌 96:652-656, 1992)

キーワード: hEGF, bFGF, ヒト房水, 水晶体上皮細胞, 前嚢収縮

Presence of Human Epidermal Growth Factor (hEGF), Basic Fibroblast Growth Factor (bFGF) in Human Aqueous

Mari Namiki¹⁾, Yusaku Tagami¹⁾, Misao Yamamoto²⁾,
Akio Yamanaka³⁾, Miki Itoh²⁾ and Masafumi Kanoh³⁾

¹⁾Eye Clinic, Shakai-hoken Kobe Central Hospital

²⁾Department of Ophthalmology, School of Medicine, Kobe University

³⁾Eye Clinic, Kobe Kaisei Hospital

Abstract

Thirty-eight cataract eyes and 15 artificial aphakic or pseudophakic eyes were enrolled in this study to determine levels of human epidermal growth factor (hEGF) and basic fibroblast growth factor (bFGF) in human aqueous, using a radioimmunoassay. Neither hEGF nor bFGF were detected in either congenital cataract eyes or senile cataract eyes without any complication. In cases of senile cataract complicated with glaucoma and traumatic cataract, bFGF range from 0.4 to 0.8 ng/ml whereas hEGF was not detected. In cases of senile cataract with myocardial or brain infarction and anterior subcapsular cataract, bFGF was detected ranging from 0.4 to 1.0 ng/ml and in some of the cases hEGF was detected at a level of 1.0 ng/ml. hEGF was detected at 1.0 ng/ml in some cases of

別刷請求先: 651-11 神戸市北区惣山町 2-1-1 社会保険神戸中央病院眼科 並木 真理
(平成 3 年 9 月 20 日受付, 平成 3 年 10 月 31 日改訂受理)

Reprint requests to: Mari Namiki, M.D. Eye Clinic, Shakai-hoken Kobe Central Hospital,
2-1-1, Sohyama-cho, Kita-ku, Kobe-city, 651-11, Japan

(Received September 20, 1991 and accepted in revised form October 31, 1991)

secondary cataract after uveitis, cataract complicated with retinal detachment, cataract after scleral buckling or vitrectomy, and aphakic or pseudophakic eyes after extracapsular cataract extraction or phacoemulsification. These results showed that hEGF and bFGF exist at a level of about 1 ng/ml in human aqueous in some pathological states and it seems possible that proliferation of lens epithelial cells is promoted by the growth factors, with the result that after cataract, anterior capsular opacities and shrinkage become severe. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 96 : 652-656, 1992)

Key words : hEGF, bFGF, Human aqueous, Lens epithelial cell, Anterior capsular shrinkage

I 緒 言

白内障手術後の水晶体上皮細胞の挙動の解明は、後発白内障や前囊混濁, continuous circular capsulotomy (CCC) 後の前囊収縮の発生機序を理解し、さらにそれらの合併症の防止策を考えるうえで重要である。

一方、近年種々の成長因子について基礎的研究がすすみ、それらが種々の組織に多様な生物作用を示し、発生・分化過程のみならず成熟期における細胞の維持や創傷治癒過程にも関与することが明らかになりつつある。そのなかで epidermal growth factor (EGF), basic fibroblast growth factor (bFGF) は、培養系において水晶体上皮細胞 (nonhuman studies) の有糸分裂を促進すると報告され、細胞増殖を促進するひとつの因子であると考えられている^{1)~7)}。またヒト後発

白内障組織に hEGF, bFGF を認めたことが報告され、水晶体上皮細胞の増殖にこれらの因子が関与していることが示唆された⁸⁾。しかしヒト房水中のこれらの因子の定量はほとんど行われておらず、実際に生体内でこれらの因子が細胞増殖に寄与しうる程度に存在する

表1 対象

白内障眼		
先天白内障	3眼	2.2±1.0歳
老人性白内障	27眼	73.5±6.3歳
前老人性(前囊下)白内障	1眼	47歳
ぶどう膜炎による併発白内障	3眼	62.3±7.1歳
外傷性白内障	4眼	45.2±18.5歳
白内障術後眼		
ICCE後の無水晶体眼	3眼	68.5±4.5歳
ECCEまたはphaco後の無水晶体眼	8眼	71.5±8.2歳
phaco+PCL後の偽水晶体眼	4眼	69.5±6.3歳

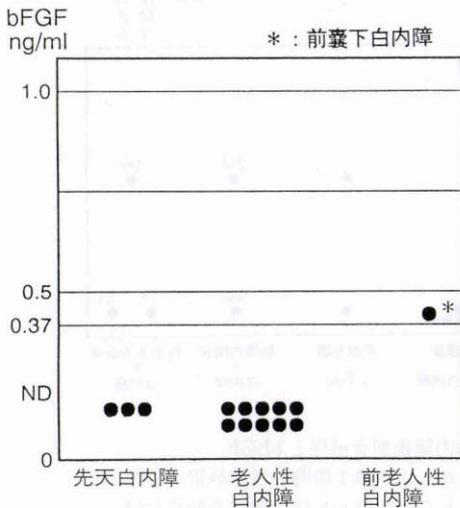


図 1

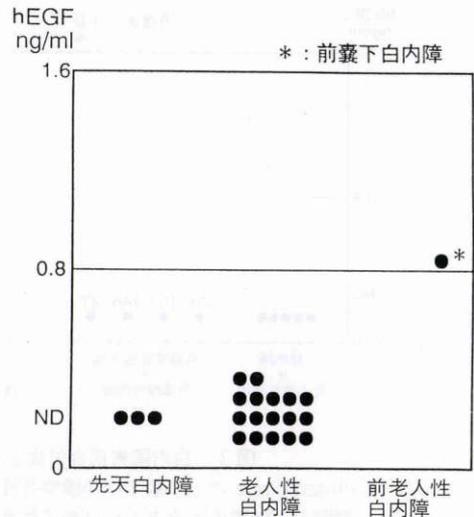


図 2

図1 白内障型と bFGF. 図2 白内障型と hEGF.

先天白内障, 合併症のない老人性白内障では bFGF, hEGF とともに測定限界以下 (ND) であった。*は47歳の前囊下白内障例で、bFGF, hEGF とともに検出された。

のかどうか不明である。

房水中の EGF は 10 週齢のマウスで 0.7~60 ng/ml 検出されているが、ヒトでは測定限界以下(白内障)であったとの報告や、0.6~1.4 ng/ml (白内障眼、角膜移植拒絶反応例) 検出されたとの報告がある^{8)~11)}が、白内障術後の定量はおこなわれていない。そこで、我々は先天白内障、外傷性白内障、白内障術後眼など

を含めて前房中の hEGF, bFGF の定量を行った。

II 対象および方法

対象は表 1 に示した 10 か月から 88 歳 (65.3±14.4 歳)の男性 25 眼、女性 28 眼で、白内障眼 38 眼、白内障術後眼 15 眼である。白内障術後眼は白内障の手術前には特記すべき合併症のなかった症例である。白内障術前あるいは眼内レンズの二次移植術、緑内障手術などの術前に角膜輪部からディスプレイの注射筒を取り付けた 27 G 針を前房内に穿刺し、0.2~0.5 ml の前房水を採取し-80℃で保存した。各検体の 0.1 ml をラジオイムノアッセイのサンプルとして用い、測定は 2 回行い平均値をその検体の成長因子の濃度とした。hEGF の測定を優先して行い、検体量が十分なものについては bFGF の測定を行った。ラジオイムノアッセイはアマシャム社製 hEGF ¹²⁵I-RIA system および bFGF ¹²⁵I-RIA system を用い、定量は calibration curve の直線性が良好である濃度領域で行い、定量可能な最小濃度を測定限界とした。今回の測定系での測定限界は hEGF が 0.8 ng/ml, bFGF が 0.37 ng/ml であった。

III 結果

白内障型を先天白内障、老人性白内障、前老人性白

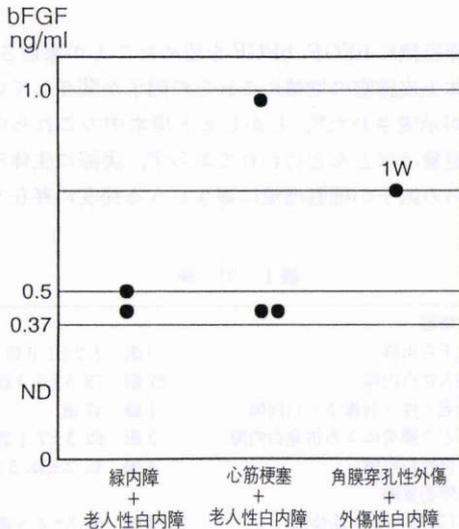


図 3

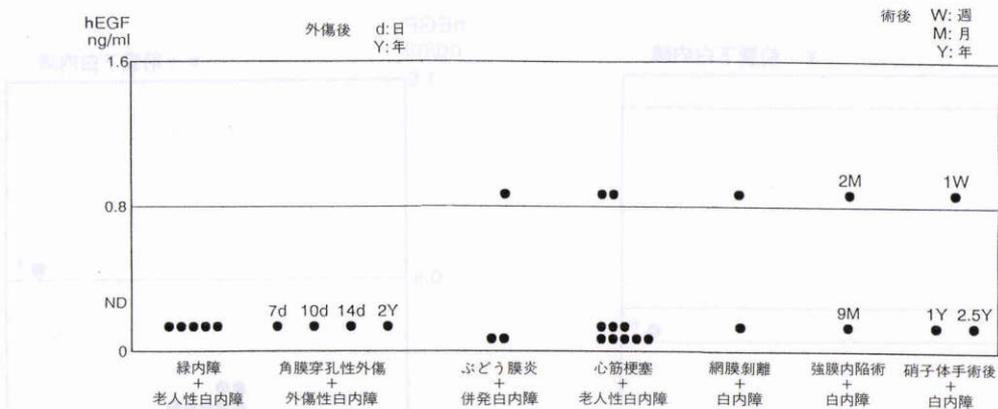


図 4

図 3 白内障術前合併症と bFGF. 図 4 白内障術前合併症と hEGF.

closed circle の上の数字は角膜穿孔性外傷例では外傷から白内障手術時の房水採取までの期間を、強膜内陥術あるいは硝子体手術施行例ではそれらの手術から白内障手術時における房水採取までの期間を示している。緑内障合併例、外傷性白内障では bFGF が検出されたが、hEGF は測定限界以下であった。心筋梗塞、脳梗塞合併例で bFGF, hEGF とともに検出される症例がみられた。ぶどう膜炎による併発白内障や網膜剥離合併例、あるいは強膜内陥術や硝子体手術後の白内障眼の一部で hEGF が検出された。

内障に分類して、房水中 bFGF, hEGF の定量結果を図 1, 2 に示した。老人性白内障は合併症のない症例のみを対象とした。先天白内障、合併症のない老人性白内障では、hEGF・bFGF は測定限界以下であった。図の*は 47 歳の前嚢下白内障例を示しており、hEGF が 1.0 ng/ml, bFGF が 0.4 ng/ml 検出された。

白内障術前合併症別の bFGF, hEGF の定量結果を図 3, 4 に示した。緑内障を合併した老人性白内障、外傷性白内障では、bFGF が 0.4~0.8 ng/ml 検出されたが、hEGF は検出限界以下であった。心筋梗塞・脳梗塞を合併した老人性白内障で、bFGF は 0.4~1.0 ng/ml 検出され、hEGF はそれらの一部で 1.0 ng/ml 検出された。また hEGF はぶどう膜炎による併発白内障、網膜剝離を合併した白内障の一部と、強膜内陷術あるいは硝子体手術後の白内障で剝離復位後の期間が 2 か月以下の症例では 1 ng/ml 検出された。

白内障術後の房水中 hEGF の定量結果を術式別に図 5 に示した。房水採取は眼内レンズ二次移植あるいは続発緑内障などの手術時におこなった。水晶体囊外摘出術 (ECCE) あるいは超音波乳化吸引術 (phaco) 後の無水晶体症の 50% と、phaco 後眼内レンズ移植術

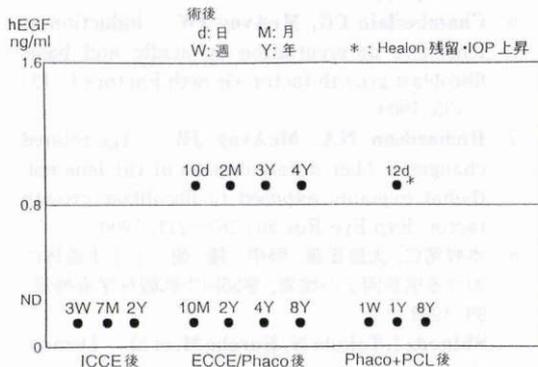


図 5 白内障術式と hEGF. 対象症例はすべて白内障術前には特記すべき合併症のなかった症例である。closed circle の上の数字は白内障手術から房水採取までの期間を示している。*は phaco 後、後房レンズ (PCL) 移植をおこない Healon® 残留により眼圧上昇をきたし 12 日目に Healon® の除去をおこなった症例である。ICCE 後の症例では hEGF は検出されなかったが、ECCE または phaco のみを行い眼内レンズ移植を施行していない症例の 50% と、phaco 後 PCL 移植を行った症例の 25% で hEGF は検出された。なお、ECCE あるいは phaco のみを行った症例では術後数年を経過した後も hEGF が検出されている。

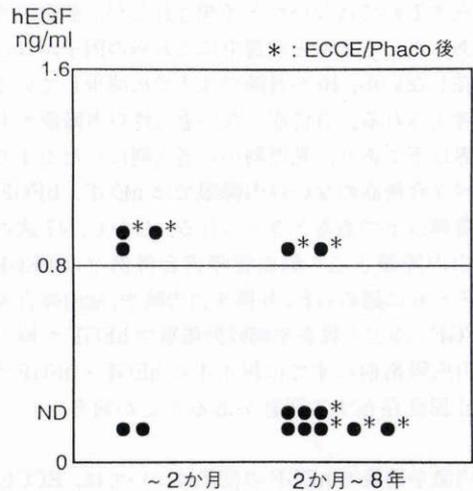


図 6 白内障術後期間と hEGF. 白内障術後 2 か月以内の症例の 60%, 2 か月以上の症例の 20% で hEGF が検出された。*は ECCE あるいは phaco のみをおこなった症例を示しており、これらの症例の 25% で白内障術後 2 か月以後も hEGF が検出された。

をおこなった症例の一部で 1.0 ng/ml 検出されたが、水晶体囊内摘出術 (ICCE) 症例では検出されなかった。

白内障手術からの術後経過期間を 2 か月以下とそれ以上に分けて、房水中 hEGF の定量結果を図 6 に示した。術後 2 か月以下の症例では、60% で hEGF が検出されたが、2 か月以上経過した症例では hEGF の検出率は 20% であった。また図の*は ECCE あるいは phaco 後、眼内レンズを移植していない症例を示しており、術後 2 か月以後も hEGF が検出された症例はすべて ECCE あるいは phaco のみを行い眼内レンズを移植していない症例であった。

IV 考 按

ヒト水晶体上皮細胞の増殖、分化あるいは化生による細胞形態や機能の変化、移動性などに影響を与える因子は単一ではないと考えられるが、EGF, bFGF といった成長因子が水晶体上皮細胞に対して増殖促進作用を示すことはこれまでの基礎的研究から確かなようである^{1)~7)}。しかし発育過程やなんらかの病的状態あるいは外傷や外科的侵襲をうけた状態で、実際に生体内で生理的に意味をもつ濃度で存在するのか、さらに実際に生理的作用を発現しているのかという疑問があった。

今回、先天白内障で hEGF, bFGF が成人より高濃度

に存在するのではないかと予想されたが、測定限界以下であった。もともと前房中にこれらの因子がほとんど存在しないか、10 か月齢ではすでに減少しているものと考えられる。合併症のない老人性白内障眼でも測定限界以下であり、乳児期から老人期にいたるまで特記すべき合併症のない白内障眼では hEGF, bFGF は測定限界以下であると考えられる。しかし、47 歳の前囊下白内障眼と心・脳血管障害合併例では hEGF・bFGF ともに認められ、外傷性白内障や、緑内障合併例で bFGF、ぶどう膜炎や網膜剝離眼で hEGF が検出され、白内障術前にすでに房水中に hEGF・bFGF が 1 ng/ml 程度存在する病態があることが明らかになった。

白内障手術後の hEGF の変動については、ECCE あるいは phaco をおこない眼内レンズを挿入していない症例の 50%、phaco 後眼内レンズ移植を行った症例の 25% に検出されたのに対し、ICCE 症例では全く検出されず、興味深い結果である。これらの症例は術前特記すべき合併症のなかった症例であるので、術前の hEGF レベルはおそらく検出限界以下であったと推測され、検出された hEGF は手術侵襲をうけたのちに、房水中に産生されたものと解釈される。さらに水晶体上皮細胞が残された術式では水晶体の創傷治癒の一環として、hEGF が近傍組織か水晶体上皮細胞自身から産生されるのではないかと考えられる。また、ECCE または phaco のみ行った症例の 25% で白内障手術後数年を経ても hEGF が検出されているが、眼内レンズを移植した症例では 2 か月以後は検出されておらず、水晶体上皮細胞の増殖する空間が十分に残された病態では術後長期間にわたって hEGF が産生され続けるのではないかと推測された。

一般に成長因子が生理活性を示す至適濃度は数 ng/ml といわれており、Reddan ら²⁾は 10~12 週齢のウサギの、生理的には増殖しないといわれている中央部の水晶体上皮細胞を無血清培地で培養した場合、EGF を 0.067 ng/ml 以上添加すると濃度依存性に有糸分裂が増加したと報告している。したがって、今回検出されたレベルの成長因子の存在で、水晶体上皮細胞の増殖が促進され、後発白内障や前囊混濁、前囊収縮が助長される可能性はあるのではないかと考えられる。

これらの成長因子は水晶体上皮細胞への影響のみならず、角膜内皮や線維柱帯など前眼部の他の組織にも

作用するとも考えられており¹¹⁾、創傷治癒や病態生理などの解明の観点から興味深い分野である。

文 献

- 1) **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.
- 2) **Reddan JR, Wilson-Dziedzic D**: Insulin growth factor and epidermal growth factor trigger mitosis in lenses cultured in a serum-free medium. Invest Ophthalmol Vis Sci 24: 409—416, 1983.
- 3) **Gospodarowicz D, Neufeld G, Schweigerer L**: Molecular and biological characterization of fibroblast growth factor: An angiogenic factor which also controls the proliferation and differentiation of mesoderm and neuroectoderm derived cells. Cell Differen 19: 1—17, 1986.
- 4) **Gospodarowicz D, Mescher AL, Brown KD, et al**: The role of fibroblast growth factor and epidermal growth factor in the proliferative response of the corneal and lens epithelium. Exp Eye Res 25: 631, 1977.
- 5) **Arruti C, Cirillo A, Courtois Y**: An eye-derived growth factor regulates epithelial cell proliferation in the culture lens. Differentiation 28: 286—290, 1985.
- 6) **Chamberlain CG, McAvoy JW**: Induction of lens fibre differentiation by acidic and basic fibroblast growth factor. Growth Factors 1: 125—135, 1989.
- 7) **Richardson NA, McAvoy JW**: Age-related changes in fiber differentiation of rat lens epithelial explants exposed to fibroblast growth factor. Exp Eye Res 50: 203—211, 1990.
- 8) **木村篤仁, 大里正彦, 野中 隆, 他**: ヒト水晶体における成長因子の検索. 第56回中部眼科学会抄録, 99, 1990.
- 9) **Shinoda I, Tokida N, Kurobe M, et al**: Demonstration of a considerable amount of mouse epidermal growth factor in aqueous humor. Biochem Int 17: 243—248, 1988.
- 10) **Ohashi Y, Matakura M, Kinoshita Y, et al**: Presence of epidermal growth factor in human tears. Invest Ophthalmol Vis Sci 30: 1879—1882, 1989.
- 11) **Parelsman JJ, Nicolson M, Pepose JS**: Epidermal growth factor in aqueous humor. Am J Ophthalmol 109: 603—604, 1990.