

(別紙様式第3号)

論 文 要 旨

論文題目

**Immunolocalization of Heat Shock Proteins in the Retina of Normal
Monkey Eyes and Monkey Eyes with Laser -induced Glaucoma**

(サル正常眼とレーザー照射による実験緑内障眼の網膜における
Heat Shock Proteins の発現)

氏 名 酒井美世子 (印)

論文要旨

背景： Heat shock protein (HSP) はストレス下において産生が誘導されるストレスタンパクである。HSPの機能はその分子量によって分類されるいくつかのfamilyにより異なるが、主な機能は他のタンパクの高次構造の維持であり細胞保護に働くと考えられている。中でも分子量90kDa (HSP90)、70kDa (HSP70)、60kDa

(HSP60)、27kDa (HSP27) はアポトーシスに関連して発現することが報告されている。

緑内障は眼内圧(眼圧)の上昇により網膜神経節細胞が障害され視野・視力に不可逆的な障害を来す疾患であるが、近年その発症に網膜神経節細胞障害のアポトーシスが関与していると指摘されている。

今回我々は、実験緑内障眼の網膜におけるHSP90、70、60、47、27の発現について免疫組織化学染色を用いて検討した。

方法：

1. サル実験緑内障モデルの作製

三頭のサルにケタラール筋注、点眼麻酔の上、片眼の隅角に複数回レーザー照射を行い実験緑内障のモデルを作製した。もう片眼は未処置の対照とした。実験緑内障眼の眼圧上昇および視神経乳頭陥凹の拡大を確認した後、屠殺抜眼し10%ホルマリン固定後パラフィン包埋した。

2. 免疫組織化学

免疫染色はストレプトアビジン・ビオチン標識法で行った。一次抗体はヤギポリクローナル抗ヒトHSP90、70、60、47、27抗体を800倍に希釈して用いた。二次抗体はビオチン標識されたウサギ抗ヤギ抗体を用いた。

3. 染色の評価




染色したスライドを、光学顕微鏡を用いてコンピュータに取り込み網膜の各層での光源の透過性を各々の切片について3か所で測定し、正常眼と緑内障眼での発現を検定した。結果：サル実験緑内障眼の網膜は網膜神経節細胞の減少および網膜内層の菲薄化がみられ

ヒト緑内障網膜の病理所見に一致していた。各 HSP は正常網膜においても染色が認められたが HSP90、60、27 は正常眼に比べて緑内障で染色性が増加していた。特に網膜内層の神経節細胞層での発現の亢進が顕著であった。HSP70 は正常網膜でも比較的濃く染色されたが緑内障では軽度の染色性の増加を認めた。HSP47 に関しては正常眼、緑内障で差がなかった。

結論：HSP は正常網膜に発現し網膜の恒常性の維持に寄与していると考えられる。緑内障モデルの網膜において発現が上昇していることから、緑内障における網膜神経節細胞の障害に伴い発現が上昇し網膜神経節細胞のアポトーシスに対して保護的に働く可能性が示唆された。

(別紙様式第7号)

論文審査結果の要旨

報告番号	課程博 * 論文博	第 号	氏名	酒井美世子
論文審査委員	平成14年10月21日			
	主査教授	野中董唯		
	副査教授	吉井興志彦		
	副査教授	荻谷研一		
(論文題目)				
Immunolocalization of Heat Shock Proteins in the Retina of Normal Monkey Eyes and Monkey Eyes with Laser-induced Glaucoma (サル正常眼とレーザー照射による実験緑内障の網膜におけるHeat Shock Proteinsの発現) (Japanese Journal of Ophthalmology)				
(論文審査結果の要旨)				
上記の論文に対し、その研究に至る背景、論文の内容とその学術的水準、研究の成果とその意義などを慎重に審査し、次のような審査結果を得た。				
1. 研究の背景と目的 Heat shock protein (HSP) はストレス下において産生が誘導されるストレスタンパクである。HSPの機能はその分子量によって分類されるいくつかのfamilyにより異なるが、主な機能は他のタンパクの高次構造の維持であり細胞保護に働くと考えられている。緑内障は眼内圧(眼圧)の上昇により網膜神経節細胞が障害され視野・視力に不可逆的な障害を来す疾患であるが、近年その発症に網膜神経節細胞障害のアポトーシスが関与していると指摘されている。著者らは、実験緑内障の網膜におけるHSP 90、70、60、47、27の発現について免疫組織化学染色を用いて検討した。				
2. 研究内容 方法は三頭のサルにケタラール筋注、点眼麻酔の上、片眼の隅角に複数回レーザー照射を行い実験緑内障のモデルを作製した。もう片眼は未処置の対照とした。屠殺抜眼し10%ホルマリン固定後パラフィン包埋した。免疫染色はストレプトアビジン・ビオチン標識法で行ない、一次抗体はヤギポリクローナル抗ヒトHSP90、70、60、47、27抗体を800倍に希釈して用いた。 結果：サル実験緑内障の網膜は網膜神経節細胞の減少および網膜内層の菲薄化がみられヒト緑内障網膜の病理所見に一致していた。各HSPは正常網膜においても染色が認められたがHSP90、60、27は正常眼に比べて緑内障で染色性が増加していた。特に網膜内層の神経節細胞層での発現の亢進が顕著であった。HSP70は正常網膜でも比較的濃く染色されたが緑内障では軽度の染色性の増加を認めた。HSP47に関しては正常眼、緑内障で差がなかった。				
研究成果の意義と学術的水準 本論文ではHSPは正常網膜に発現し網膜の恒常性の維持に寄与していると考えた。緑内障モデルの網膜において発現が上昇していることから、緑内障における網膜神経節細胞の障害に伴い発現が上昇し網膜神経節細胞のアポトーシスに対して保護的に働く可能性が示唆された。本論文は緑内障の発現にHSPが関わっていることを示した最初の論文である。				
以上により、本論文は学位授与に十分値する内容であると判断した。				

- 備考 1 用紙の規格は、A4とし縦にして左横書とすること。
2 要旨は800字～1200字以内にまとめること。
3 *印は記入しないこと。