

# 岸川泰宏論文内容の要旨

## 主論文

Elements and organic substances in epiretinal proliferative tissue excised during vitreous surgery: analysis by time-of-flight secondary-ion mass spectrometry

硝子体手術で採取した増殖組織内元素及び有機物質のイオン顕微鏡による分析

岸川泰宏<sup>1</sup>、宮華青<sup>1</sup>、北岡 隆<sup>1</sup>、雨宮次生<sup>1</sup>、高屋憲一<sup>2</sup>、戸津美矢子<sup>3</sup>、星 孝弘<sup>3</sup>、大橋善治<sup>3</sup>

<sup>1</sup>長崎大学眼科、<sup>2</sup>富山医科薬科大学第2解剖、<sup>3</sup>アルバック-ファイ株式会社

Journal of Electron Microscopy 52(3):349-354 (2003)

長崎大学大学院医学研究科外科系専攻：指導教授；北岡隆教授

**緒言：**従来、組織片内に分布する元素や有機物質の検出は難しく、特に試料が僅かでは不可能であった。組織化学的手法は検出できる物質の種類は限られており、また検出感度は必ずしも高くはない。エネルギー分散型エックス線分析は高い検出感度で元素を検出するが有機物質を検出することはできない。これに対し、イオン顕微鏡は元素や有機物質を高い検出感度で検出することで前2者を凌駕している。加齢性黄斑疾患において微量元素やビタミンの量の変化は増殖性変化を誘導すると言われている。今回我々は糖尿病網膜症組織や増殖硝子体網膜症組織中の元素、脂肪酸、ビタミンをイオン顕微鏡を用いて分析し、両疾患の病態について考察した。

**対象と方法：**4例の増殖糖尿病網膜症の線維血管膜と5例の増殖硝子体網膜症の増殖膜を硝子体手術中に採取し試料とした。採取された組織は術中Na、K、Ca、Mgなどのイオンを含む眼内灌流液に覆われており、これを取り除くため30秒間蒸留水で洗浄した後、シリコンウエハ上に載せ、液体窒素タンク内で凍結保存した。分析時には液体窒素から取り出し、空気乾燥した後分析に使用した。Na、Mg、K、Ca、Fe、Mn、Zn、Al、Cu、ビタミンAとE、各種飽和脂肪酸及び不飽和脂肪酸を分析対象とした。分析に先立ち、ビタミンA、E及びそれぞれの脂肪酸のイオンピークのm/z valueを標準試料を用いて測定した。分析の際は標本表面の一定領域に5分間Gaイオンビームを照射し、標本表面からイオンの形ではじきだされた元素・ビタミン・脂肪酸のそれぞれに3.2 KeVの加速をつけて質量分析器の計測にかけ、それぞれのイオンの数を記録した。大きい標本は複数の部位を測定し、全標本の測定部位総数は増殖糖尿病網膜症9、増殖硝子体網膜症7であった。測定後、(それぞれの物質のカウント数)/(全ての物質のカウント総数)の平均値を算出した。そしてそれぞれの物質の比について、増殖糖尿病網膜症標本と増殖硝子体網膜症標本との間で比較を行い、フィッシャー検定を用い有意水準を5%として検定した。

**結果:**標準試料を用いて測定した各有機物質のイオンピークのm/z valueはビタミンAが 184 amu 及び 224 amu、ビタミンEが 430 amu、パルミチン酸が 257 amu、マレイン酸が 117 amu、オレイン酸が 281 amu、ステアリン酸が 285 amu であった。増殖糖尿病網膜症及び増殖硝子体網膜症の標本の分析結果は、元素では Fe、Ca、Zn、Al、Cu が増殖糖尿病網膜症標本において増殖硝子体網膜症標本より有意に多かった (それぞれ  $p=0.0075$ 、 $0.0401$ 、 $0.0316$ 、 $0.0109$ 、 $0.0152$ )。ビタミンでは、ビタミン A が増殖糖尿病網膜症標本において増殖硝子体網膜症標本より有意に多かった ( $p=0.0419$ )。脂肪酸では、パルミチン酸が増殖糖尿病網膜症標本において増殖硝子体網膜症標本より有意に多かった ( $p=0.0057$ )。

**考察:**今回分析した有機物質はいずれも網膜内に存在し、網膜の視機能発現上及び構造維持上極めて重要な役目を持つ。ビタミン A はオプシンと結合して視覚発生に関連する。脂肪酸のパルミチン酸、マレイン酸、オレイン酸、ステアリン酸はビタミン A 及び E と結合して視細胞外節脂質膜を構成している。またビタミン A と E、とりわけビタミン E は 視細胞外節脂質膜の過酸化を防止する抗酸化剤としての役目も持つ。増殖糖尿病網膜症及び増殖硝子体網膜症の増殖組織が以上の有機物質をふくむことはこれらの組織が網膜、とりわけ深層網膜である視細胞や色素上皮細胞と関係を有することを示唆している。また元素 Cu 及び Zn も視細胞と色素上皮細胞内に含まれており、これらの元素が標本内に存在することも増殖糖尿病網膜症及び増殖硝子体網膜症の増殖組織が視細胞や色素上皮細胞と関係を有することを示唆している。ビタミン A と E 及び Zn には細胞増殖作用、とりわけ上皮細胞を増殖させる作用もある。以上よりビタミン A と E、脂肪酸及びいくつかの元素は細胞構成上また細胞増殖上重要な役割りを果たしていることが解るが、これらの物質が今回の標本で検出されたことは、増殖糖尿病網膜症及び増殖硝子体網膜症でもその増殖性維持に関係する可能性を示唆している。また Zn、Cu、ビタミン A 及びパルミチン酸が増殖糖尿病網膜症標本において増殖硝子体網膜症標本より有意に多かったことは、増殖糖尿病網膜症が潜在的に強い増殖性をもつ可能性を示唆するものと考えられた。