

木下明夫 論文内容の要旨

主論文

Trace elements in lenses of normal Wistar Kyoto rats

**Time of flight secondary ion mass spectrometry を用いた
正常ラット水晶体の微量元素分析**

掲載雑誌名

Applied Surface Science 203-204、 742-743 2003

木下明夫、宮華青、雨宮次生、戸津美矢子、高屋憲一、大橋善治

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

微量化学分析において、Time of flight secondary ion mass spectrometry (TOF-SIMS) は、これまでの元素分析と違い、弱イオンビームを照射することにより、元素だけではなくビタミン類や、脂肪酸などの有機化合物の検出を可能とした。今回我々はラット水晶体の加齢変化を微量元素および有機物の観点から分析を行うため TOF-SIMS 装置を用いて研究した。

対象と方法

正常 Wistar Kyoto ラット 4 か月齢 5 匹、正常 Wistar Kyoto ラット 15 か月齢 5 匹用い、ペントバルビタール麻酔を行った後、眼球を摘出した。眼球摘出後速やかに水晶体全体を液体窒素中へ浸漬し、 -20°C でクライオスタットマイクロームにて $55\ \mu\text{m}$ の水晶体切片を作成した後、O.C.T.compound(TISSUE, TEK, MILES)に包埋し、 $5\ \mu\text{m}$ 幅の連続切片を作成しシリコンウェハーに載せたのち空気乾燥を行った。作成した標本を TOF-SIMS 装置に挿入し、真空状態にしたのち、SIMS 装置付属の顕微鏡にて水晶体の赤道部及び核部を観察しながら、各部位へガリウムイオンを照射した。その条件は $100\ \mu\text{m} \times 100\ \mu\text{m}$ の範囲へ加速電圧 15KeV で 5 分間照射し、2 次イオンをカウントした。検出された 2 次イオンのうち Na、Mg、K、Ca、Fe、Cu、Zn、Vit.A、Vit.E について解析を行った。

結果

SIMS 装置付属の顕微鏡では水晶体の構造が明瞭に観察され、TOF-SIMS で分析する部位を決定するのが容易であった。TOF-SIMS における元素分析の結果では、赤道部で、4 か月齢に比し 15 か月齢で Mg と Vit.A が有意に低下していた。また Ca、Fe、Cu、Zn、VIT.E は多い傾向がみられ、Na は低下している傾向が認められたが、K は特に差を認めなかった。核部においては、4 か月齢に比し 15 か月齢で Zn は有意に低下していた。また Mg、K、Cu、Vit.E は低下している傾向がみられ、Na、Ca、Fe、VIT.A では多い傾向が見られた。

考察

我々は今回、TOF-SIMS を用いて正常ラット 4 か月齢、正常ラット 15 か月齢の水晶体を観察し、加齢による水晶体局所での微量元素量の変化を検討した。Mg はリボゾーム内に多く含まれており、リボゾーム RNA や蛋白と結合している。また Mg は遺伝情報を伝達する mRNA からポリペプチドを合成するリボゾーム機構の重要な構成要素である。Mg が赤道部で、4 か月齢に比し、15 か月齢で有意に低下していたことは、水晶体の核化を形成する線維細胞の脱核や DNA、RNA の分解が加齢により進行し、それに伴い Mg も減少してきたと考えられた。正常人の透明水晶体と、白内障水晶体の元素分析を行った Hou らの報告では、白内障水晶体で Ca、Fe の濃度が有意に高く、本報告でも、水晶体中の Ca、Fe は核部、赤道部とも 15 か月齢で増加しており、既報告と一致していた。Ca はクリスタリンと結合し凝集していきながら核化を形成していく。そのため結合した Ca が蓄積されていったものと考えられた。今回の研究では、15 か月齢の核部において Zn が有意に低下していた。Zn は Superoxide dismutase(SOD)などの金属酵素類に含まれている。水晶体において SOD は、光刺激などの酸化ストレスである Superoxide ion を不均化し、グルタチオンペルオキシダーゼやカタラーゼとともに酸化防御機構を担っている。上皮細胞層に近い皮質においてこれらの活性は高いが、長期にわたるストレスが、Superoxide ion を増加させ、SOD の活性を皮質で更に高める。そのため SOD が核部へ移行する前に皮質で代謝され、核部で含有される Zn は低下したと推測した。脂溶性の Vit.A はレチノイド結合蛋白と結合して細胞内および細胞外を移動している。またロドプシンは網膜視細胞外節に存在する光受容蛋白で、Vit.A を含んでおり、視覚サイクルで光を吸収すると光退色を起こし、一連の中間代謝産物を経てオプシンと全 trans-レチナールに分解される。これまでに、水晶体と Vit.A の関連を記した既報はなかったが、本報告では明らかに水晶体での Vit.A の存在を認めた。15 か月齢で Vit.A

が、赤道部で有意に低下し、さらに核部で増加傾向であったことは、水晶体内で何らかの作用が働いていると考えられた。TOF-SIMS により得られたこれらの変化は老人性白内障を形成していく過程での加齢性変化と考えられた。