

Dexamethasone の培養ヒト線維柱組織に 及ぼす影響

——形態学的ならびに画像解析的研究——

石原 淳

信州大学医学部眼科学教室

(主任: 瀬川 雄三教授)

The Effect of Dexamethasone on Organ-Cultured Human Trabecular Meshwork—Morphologic and Morphometric Study—

Atsushi ISHIHARA

Department of Ophthalmology, Shinshu University School of Medicine

(Director: Prof. Katsuzo SEGAWA)

The effect of dexamethasone on the cultured human trabecular meshwork was evaluated electron-microscopically. The tissues were obtained from 14 normal postmortem individual eyes, aged 64-89 years. Two explants were dissected from each of the eyes; one of them was cultured as a control specimen, the other was cultured with dexamethasone. Dexamethasone was added to the culture medium for 2 weeks at a concentration of 1.9×10^{-4} M. The cultured specimens were then processed for transmission electron microscopy. We evaluated the electron micrographs to determine the percentage areas occupied by the cells, the extracellular materials and the empty space in the endothelial meshwork using computer-assisted morphometry. In 5 individual specimens, a statistically significant increase in extracellular materials with trabecular cells containing numerous intracytoplasmic vacuoles was confirmed 2 weeks following the administration of dexamethasone. In addition, fusions of trabecular cells were usually observed in such dexamethasone-treated specimens. In the remaining 9 individual specimens, there were no significant morphologic and morphometric differences between control specimens and dexamethasone-treated specimens. These results suggest that dexamethasone may affect the trabecular meshwork metabolism to cause an accumulation of extracellular materials. *Shinshu Med. J.*, 40: 435-444, 1992

(Received for publication April 30, 1992)

Key words: human trabecular meshwork, electron microscopy, morphometry, organ-culture, steroid-induced glaucoma

ヒト線維柱組織, 電子顕微鏡的観察, 画像解析, 器官培養, ステロイド緑内障

I 緒 言

ステロイド点眼剤が登場して間もなくのこと, François¹⁾によって, この点眼剤を使用していると眼圧が上昇し開放隅角緑内障(現在この型の緑内障はス

テロイド緑内障と呼ばれている)が起こることが初めて報告されて以来, Armaly²⁾⁻⁵⁾, Becker⁶⁾, Becker と Mills⁷⁾⁸⁾, Rohen⁹⁾によって詳細に研究され, 正常眼圧者でもこの点眼剤を1ヵ月前後使用すると約36%の者が房水流出率が低下し眼圧上昇をきたし放置す

れば失明することが明らかにされてきた。

Rohenら⁹⁾は、ステロイド緑内障のSchlemm管内壁直下の内皮網内に基底膜様、細線維様物質の多量の蓄積を観察しそれが流出抵抗増大物質であると考えた。François¹⁰⁾、FrançoisとVictoria¹¹⁾は、このような物質の出現はステロイドのライソゾーム膜安定化作用のため酵素が細胞外に放出されなくなり蓄積するという説をたてた。ところが、近年の研究では、ステロイドは分解よりも合成に影響を与えるというデータが優位になってきている。Weinrebら¹²⁾⁻¹⁴⁾によると、線維柱細胞の核にはステロイドのリセプターが存在し、細胞の代謝や行動に幅広く影響を与えていることが判明している。またグリコサミノグリカンやプロテオグリカンの生化学的変化が動物眼やヒト眼の培養線維柱組織に認められているが、デキサメサゾンの影響に関しては結果が一定せず、今なおステロイド緑内障の病因は不明のまま残っている¹⁵⁾⁻²⁵⁾。

我々の教室では、正常ヒト線維柱組織を12週間以上器官培養することに成功しており²⁶⁾、さらにこの方法を用いて2週間培養した線維柱組織の内皮網に関して透過電子顕微鏡像の画像解析を行ったところ、同一眼から得られた組織試料では、どの部分でも細胞成分、細胞外成分、空白成分の占める面積百分率が同じであることが判明した²⁷⁾。そこでデキサメサゾンが内皮網の3要素にどのような影響を与えるかについてを14眼のそれぞれ2カ所から得た対の培養線維柱組織を用いて画像解析し36%に細胞外成分の有意の増加を確認したのでここに報告する。

II 材料と方法

死後12~36時間経過していた64~89歳(平均80歳)の正常屍体摘出眼14例14眼を使用した。これら14例の内訳は64歳男、64歳女、65歳男、78歳女、79歳男、79歳女、82歳女、83歳男、83歳女、84歳男、84歳女、87歳女、89歳男、89歳女の男6例女8例であった。これらの眼球はすべて角膜移植後に使用したもので提供時に家族の同意を得た。器官培養の方法は既報²⁶⁾²⁷⁾の通りで、大きさ約4×4mmの相接する線維柱組織を含む組織片をおのおのの眼球から2個ずつ切り出して、

1%精製寒天ブロック培地上に静置し、これに10%牛胎仔血清(GIBCO, Grand Island, NY, USA), 90% Eagle's minimum essential medium (GIBCO)の液体培地を加えて培養した。同一眼から得られた対の組織片の一方は対照群として、残りの一方はステロイド投与群として2週間器官培養した。ステロイド投与群に対しては培養開始と同時にリン酸デキサメサゾンナトリウム(オルガドロン®、三共、東京)を 1.9×10^{-4} Mを加えた。培養2週目に各群の組織片を取り出し、pH7.3の0.1Mリン酸バッファーにて溶解した2.5%グルタルアルデヒド固定液にて24時間固定した後、同じバッファーにて溶解した1%四酸化オスmium固定液にて1時間後固定した。組織片は同じバッファーで洗浄しエタノール系列で型のごとく脱水した後エポキシ樹脂(Quetol 812, 日新EM, 東京)に包埋した。包埋試料は光顕的観察のために経線方向の薄切片(1μm)を作製し0.1%トルイジンブルーで染色した。透過電顕用経線超薄切片(90nm)は、LKBウルトラームIII(8800)とダイヤモンドナイフ(DuPont, Swiss)で作製し、単孔メッシュ(1 slot, EM資材, 東京)にのせ酢酸ウラニウムとクエン酸鉛にて染色し、日立HS-9透過型電子顕微鏡(加速電圧75kV)にて観察した。

観察した内皮網はSchlemm管内壁内皮細胞から角強膜線維柱層板の最外層の内皮細胞の間とした。

細胞外成分は、線維要素として弾性線維と膠原細線維束があり、無定形要素として基底膜、基底膜様物質、細線維様物質、微細顆粒様物質が含まれた。

各試料より、Schlemm管内壁中央部の内皮網を2,000倍にて5視野撮影した。この5視野はSchlemm管内壁の長さのほぼ4/5に相当する内皮網を含んでおり、おのおののネガフィルムは約1,000μm²に相当し、それから4,000倍の電顕写真を作製した。ここで、対照群とステロイド投与群との間で電顕像の対比検討を行った。続いて面積計測装置(サンコンタクト社製, CA-100型, 京都)を用いて、内皮網の構成要素である細胞成分、細胞外成分、空白成分を計測した。おのおのの試料の対照群ならびにステロイド投与群より得た5枚の電顕写真の計測値をt検定で比較し両者間に

図1 症例2, 64歳男, 対照群の内皮網 SC: シュレム管。×2,000

図2 症例2, 64歳男, ステロイド投与により反応を示した内皮網。

内皮網内の細胞外成分が、図1に比べて増加しており、細胞質内空胞を有する細胞が存在する。SC: シュレム管。矢印: 細胞質内空胞。×2,000

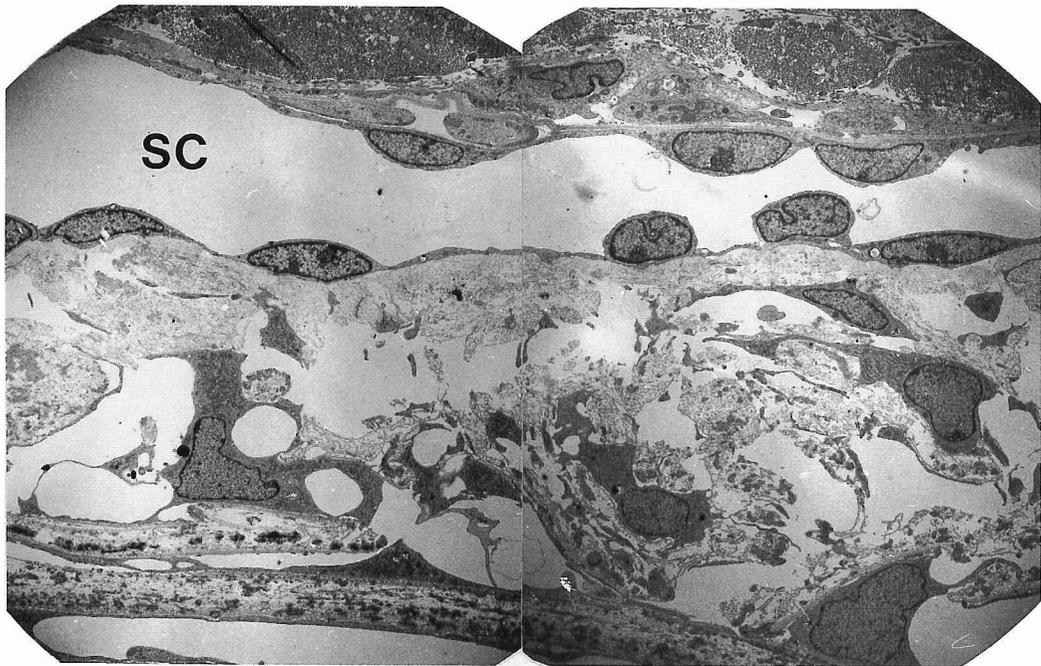


図 1

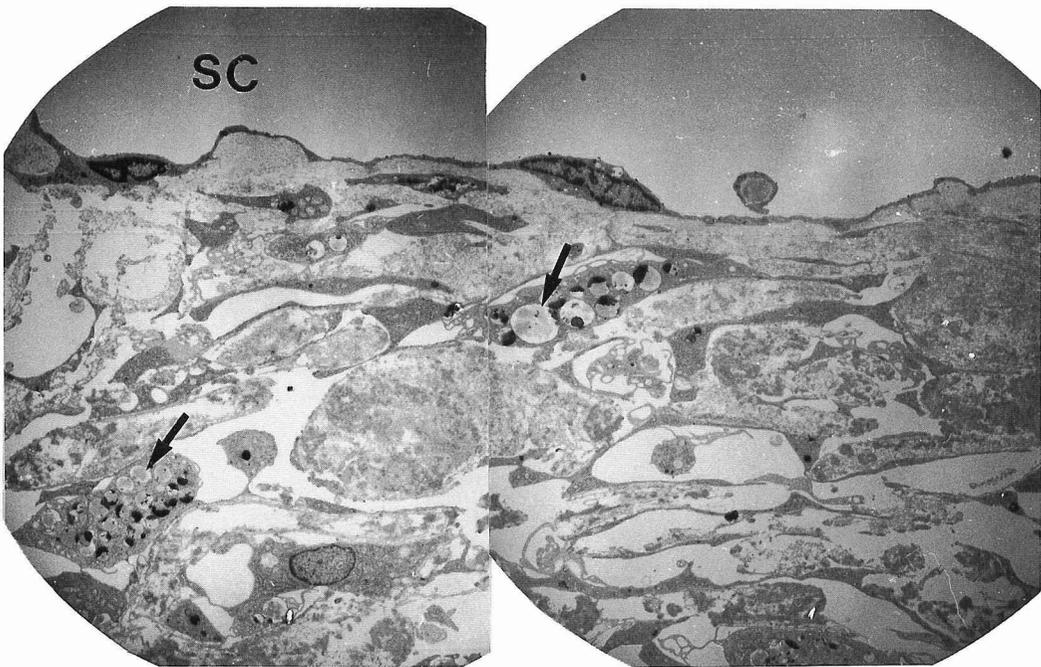


図 2

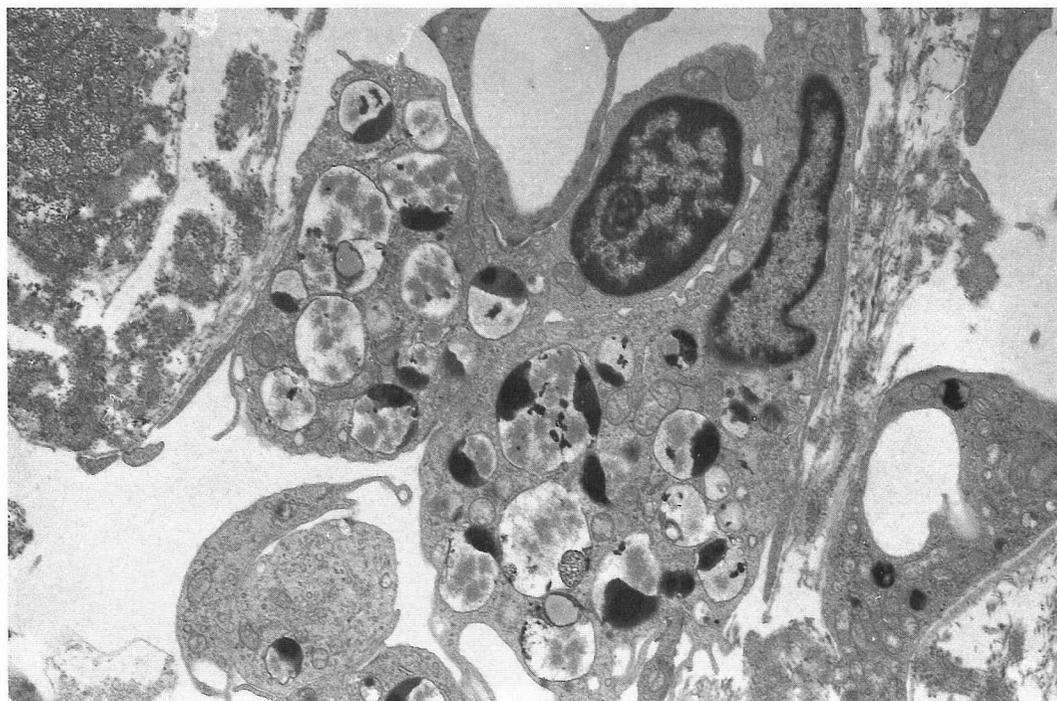


图 3

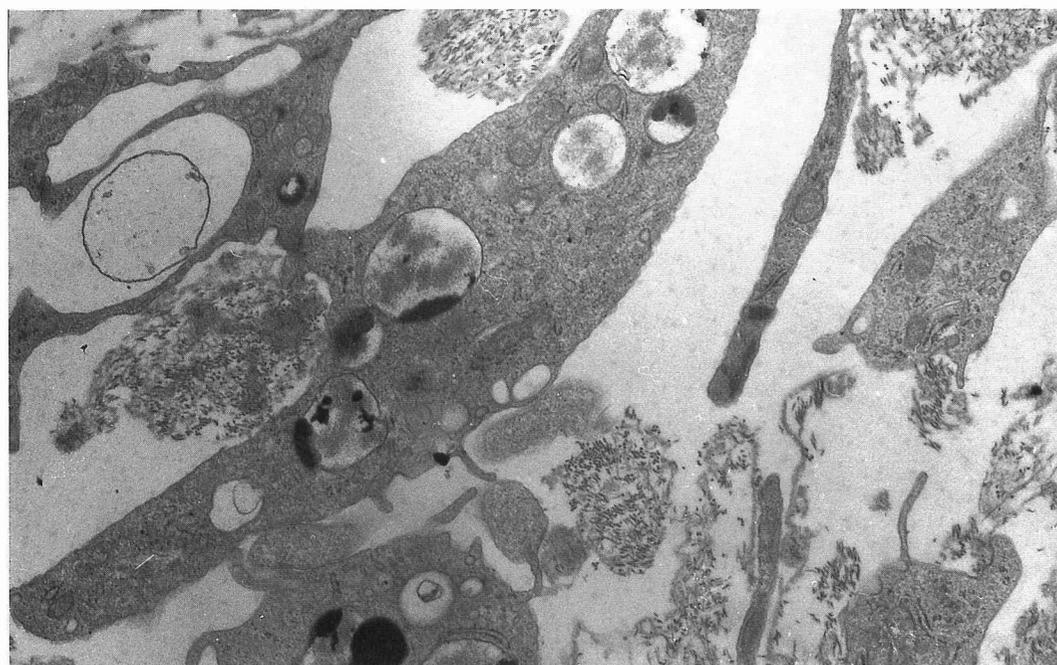


图 4

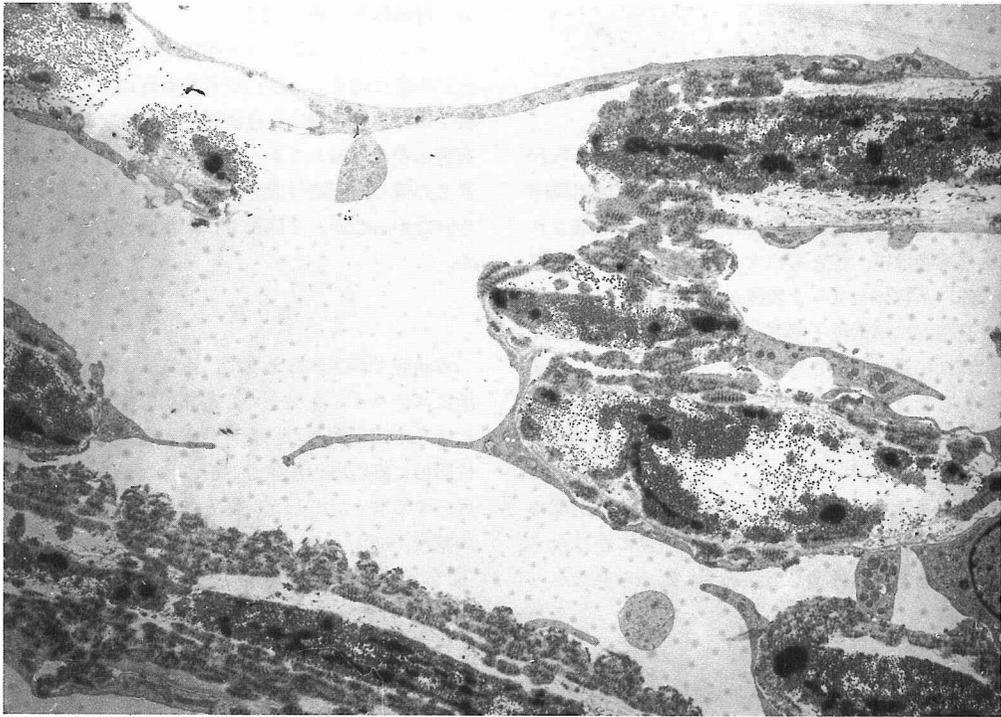


図 5

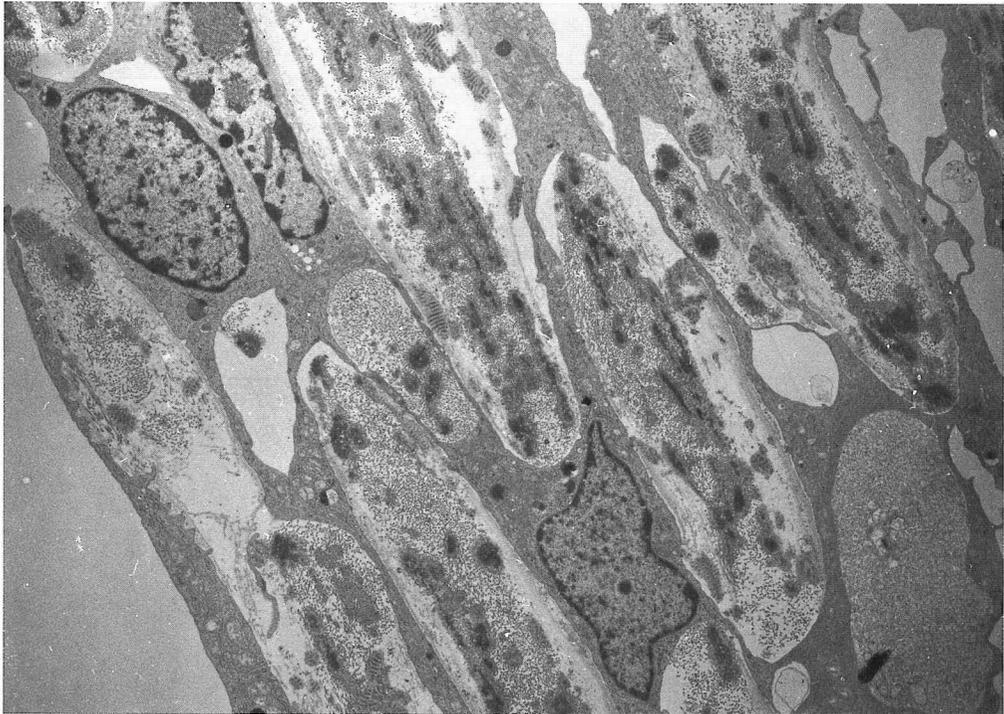


図 6

有意の差のあるものを求めた。

III 結 果

A 透過電子顕微鏡所見 (図1-6)

ステロイド投与により細胞外成分の増加が認められた5症例ではすべて内皮網内のみならず線維柱組織内の細胞にしばしば多数の空胞を有する細胞が観察された。この細胞は核、仁ともに大きく、リボゾーム、粗面小胞体、糸粒体やゴルジ装置がよく発達しており、多数の空胞内には低電子密度から高電子密度に至る比較的均質な物質が内包されており、細胞外にはこの細胞が産生したと思われる細胞外物質が散在していた。角強膜網の線維柱層板には、対照群に比し顕著な細胞融合が認められた。

対照群とステロイド投与群との間で有意の差が認められなかった9症例では、両者の電顕所見に差はなく、多数の空胞を有する細胞も細胞融合も認められなかった。

B 計測所見 (表1, 2)

ステロイド投与群のほうが対照群に比して細胞外成分が有意に増加し、空白成分が有意に減少したものが、表1にみられる様に5症例認められた。細胞成分には有意の差はみられなかった。これら以外の9症例では、表2の様に、細胞外成分、空白成分とも有意の差はみられなかったが、2症例では細胞成分の増加がみられた。

IV 考 察

本研究で示されたように、正常ヒト線維柱組織を培地にステロイドを加えて2週間器官培養すると、対照に比して内皮網内の細胞外要素が有意に増加し、線維柱層板に細胞融合が生じる群、すなわちステロイドに反応する群と反応しない群とに分かれる。反応する群の割合が36%となったがこの割合は、報告された臨床例^(7,8)のステロイド反応群の割合ともよく一致している。本研究で示されたステロイドに対する反応性の有無と、

表1 内皮網における面積百分率 (%), ステロイドに反応した群

CASE No. (sex, age)		CS	ECM	ES
1 f. 83	Control 群	11.8± 3.8	33.1± 5.2	55.1± 2.7
	Dex. 投与群	13.1± 8.1	56.5± 7.3*	30.4± 8.0****
2 m. 64	Control 群	10.2± 3.7	23.3± 2.9	66.5± 4.6
	Dex. 投与群	10.9± 3.3	40.6± 3.8****	48.4± 3.1****
3 f. 79	Control 群	13.1± 3.8	21.7± 7.0	65.2±10.3
	Dex. 投与群	9.9± 3.0	39.6± 5.7***	50.5± 8.4*
4 m. 83	Control 群	14.1± 3.9	39.1± 5.2	46.8± 5.1
	Dex. 投与群	20.1± 5.8	48.5± 4.7**	31.4± 7.7***
5 f. 89	Control 群	21.8± 7.1	28.8± 5.6	49.4± 3.1
	Dex. 投与群	21.5± 6.7	40.3± 5.7***	38.2± 3.6****

n = 5. Mean ± SD., f.: female, m.: male, Dex.: デキサメサゾン,

CS: 細胞成分, ECM: 細胞外成分, ES: 空白成分.

*: p < 0.05. **: p < 0.02. ***: p < 0.01. ****: p < 0.001.

図3 症例2, 64歳男, ステロイド投与群の内皮網の空胞を有する細胞の拡大像
空胞内には種々の電子密度の物質が存在する。×6,000

図4 症例2, 64歳男, ステロイド投与群の内皮網の空胞を有する細胞の強拡大像
細胞の近傍に細胞外成分が散在している。×10,000

図5 症例2, 64歳男, 対照群の線維柱層板 ×4,000

図6 症例2, 64歳男, ステロイド投与群の線維柱層板
図5と異なり, 層板が互いに癒合している。×4,000

表2 内皮網における面積百分率(%), ステロイドに反応しなかった群

CASE No. (sex, age)		CS	ECM	ES
6 m. 89	Control 群	18.7± 8.0	35.5± 5.2	45.7± 9.6
	Dex. 投与群	22.1± 8.1	38.9± 3.8	39.0±11.4
7 m. 65	Control 群	23.6± 4.9	28.1± 8.8	48.3±10.3
	Dex. 投与群	22.1± 5.4	31.0± 3.9	46.9± 6.4
8 m. 84	Control 群	12.0± 4.3	38.3±10.2	53.6± 8.8
	Dex. 投与群	19.7± 3.0**	38.0± 8.0	41.9± 9.7
9 f. 87	Control 群	12.3± 3.2	33.0± 4.4	54.9± 3.0
	Dex. 投与群	11.8± 7.3	26.0± 7.1	62.2±12.5
10 m. 79	Control 群	14.5± 2.9	37.9±10.8	47.7±13.2
	Dex. 投与群	19.3± 3.8*	36.5±11.5	44.1±12.0
11 f. 82	Control 群	11.0± 3.7	33.6± 4.4	55.5± 7.8
	Dex. 投与群	14.3± 4.8	35.1± 6.4	50.5±10.1
12 f. 84	Control 群	16.3± 5.9	24.6± 3.4	59.2± 7.7
	Dex. 投与群	16.8± 7.0	20.3± 3.3	62.9± 6.0
13 f. 64	Control 群	16.3± 5.1	24.6± 5.1	59.1± 8.6
	Dex. 投与群	14.8± 2.0	26.7± 6.8	58.5± 6.0
14 f. 78	Control 群	16.7± 3.8	29.5± 3.1	53.8± 5.0
	Dex. 投与群	16.7± 4.5	31.9± 4.8	51.3± 6.5

n=5. Mean ± SD, m.: male, f.: female, Dex.: デキサメサゾン,

CS: 細胞成分, ECM: 細胞外成分, ES: 空白成分.

*: P<0.05. **: P<0.02. ***: P<0.01. ****: P<0.001.

症例の性別, 年齢との相関は今回は症例数が少なく検討できなかったが, 細胞外成分の増加はステロイドによって引き起こされたものと思われ, その所見と一致して線維柱細胞の活性化と種々の電子密度の内容物質を含んだ多数の空胞の出現があげられる。同様な所見は, サル線維柱組織を器官培養した Jung²⁴⁾の研究でも認められ, 器官培養された人眼の線維柱組織にヒドロコルチゾンを加えた Tripathi ら²⁸⁾の研究でも報告されている。内皮網の細胞外成分は線維要素と無定型要素から構成されているが, 前者は弾性線維と膠原細線維であり, 後者は基本的には基底膜様無定型物質と微細顆粒様無定型物質から構成されている。基底膜様無定型物質は Rohen ら²⁹⁾のいう Type I plaque に相当し微細顆粒様無定型物質は Type III plaque に相当する。基底膜様無定型物質には, グリコサミノグリカン³⁰⁾³¹⁾, プロテオグリカン³²⁾, IV型コラーゲン³³⁾, ラミニン³³⁾の存在が明らかにされており, 微細顆粒様無定型物質にはラミニン³³⁾の存在が知られている。ま

た線維要素は, 加齢とともに無定型要素にとって代わられることも明らかにされている³⁴⁾。教室での追加研究(未発表)によると, ステロイドで有意に増加する細胞外成分は微細顆粒様無定型物質ではなくて基底膜様無定型物質であることが確かめられている。前述のごとくこの基底膜様無定型物質には種々の物質が含まれているが, 最初に考えられるのがグリコサミノグリカンの増加である。教室での結果(第56回日本中部眼科学会, 1990年11月, 神戸)によると, ステロイドの投与によってグリコサミノグリカンの合成が抑制されるというデータが出ている。Johnson ら³⁵⁾によると, 培養ヒト線維柱組織にステロイドを加えると, コンドロイチン硫酸, デルマタン硫酸の合成が低下し, その代わりに³⁵S-メチオニンでラベルされるタンパクが出現するという。Partridge ら³⁶⁾, Polansky ら³⁷⁾³⁸⁾によると, ³⁵S-メチオニンでラベルされる36, 65, 70 kDの細胞タンパクと40, 90, 100kDのタンパクが細胞外に分泌されたり, 54-56kDならびに64-68kDの

タンパクが出現するという。教室の研究（第96回日本眼科学会総会，1992年5月，横浜）では³⁸S-メチオニンが線維柱細胞の空胞内ならびに細胞外要素に存在することが確認されているので，ステロイドで増加した無定形物質には線維柱細胞で合成され分泌された，Polanskyら³⁷⁾³⁸⁾のいうタンパク質が含まれているものと思われる。Tripathiら²⁸⁾はステロイドを加えるとシアル酸を含有する糖タンパクが増加するとし，ブタでも56kDのシアル酸を含有する糖タンパクの出現を報告している³⁹⁾。本研究で認められた無定形物質もこれらと同質のものと思われるがその本体の解明には今後の生化学的研究が必要である。最近の研究によると，流出抵抗はグリコサミノグリカンよりはむしろタンパクによって起こるといわれているので⁴⁰⁾，この無定形物質の増加が流出抵抗増大を引き起こすものと思われる。

本研究の線維柱層板にみられた細胞融合はシアル酸含有の糖タンパク質が増加することによると考えられる。

本研究では36%に無定形物質の増加が認められたが，最近行われたClarkら⁴¹⁾のヒト全眼の器官培養を用いた研究では，24眼中10眼すなわち42%に眼圧の上昇が起こり，ステロイドに反応した例での線維柱組織には層板の肥厚，細胞融合，細胞の活性化，細胞外要素の増加が認められたとしている。培養方法が異なり本研究結果との直接的な比較はやや困難ではあるが χ^2 検定によると，Clarkら⁴¹⁾のステロイドに反応した例の

出現率と本研究結果とは統計学的に有意差は認められなかった。以上から我々の器官培養法は眼圧は測定できないものの，種々の薬剤の線維柱組織に与える影響を検討するにはきわめて有用な実験モデルということができる。

V 結 語

正常人（64～89歳）14例より摘出した14眼よりおのおの1対の線維柱組織片を切り出し，一方には培地にステロイドを加え他方は対照として，いずれも2週間器官培養を行った後，透過電子顕微鏡試料を作製し，形態学的変化を比較検討し，内皮網の①細胞成分，②細胞外成分，③空白成分の面積百分率を画像解析にて求め次の結論を得た。

5症例では，内皮網に細胞外成分の増加と多数の空胞を有する細胞の出現が認められ，線維柱層板では細胞融合がしばしば観察された。

その他の9症例では対照群とステロイド投与群との間には有意の変化は認められなかった。これらの結果より，細胞外成分の増加が流出抵抗増大をきたし眼圧上昇をきたすものと推測された。

本論文の要旨は第93回日本眼科学会総会（1989年5月，京都）で発表した。

稿を終えるにあたり，御指導と御校閲を賜った恩師，瀬川雄三教授に深く謝意を表します。

文 献

- 1) François, J.: Cortisone et tension oculaire. *Annls Oculist*, 187: 805-816, 1954
- 2) Armaly, M. F.: Effect of corticosteroids on intraocular pressure and fluid dynamics. I. The effect of dexamethasone in the normal eye. *Arch Ophthalmol*, 70: 482-491, 1963
- 3) Armaly, M. F.: Effect of corticosteroids on intraocular pressure and fluid dynamics. II. The effect of dexamethasone in glaucomatous eye. *Arch Ophthalmol*, 70: 492-499, 1963
- 4) Armaly, M. F.: Effect of corticosteroids on intraocular pressure and fluid dynamics. Changes in visual function and pupil size during topical dexamethasone application. *Arch Ophthalmol*, 71: 636-644, 1964
- 5) Armaly, M. F.: Statistical attributes of the steroid hypertensive response in the clinically normal eye. *Invest Ophthalmol*, 4: 187-197, 1965
- 6) Becker, B.: Intraocular pressure response to topical corticosteroid. *Invest Ophthalmol*, 4: 198-205, 1965
- 7) Becker, B. and Mills, D. W.: Corticosteroids and intraocular pressure. *Arch Ophthalmol*, 70: 500-507, 1963
- 8) Becker, B. and Mills, D.W.: Elevated intraocular pressure following corticosteroid eye drops. *JAMA*, 185: 170-172, 1963
- 9) Rohen, J.W., Linner, R. and Witmer, R.: Electron microscopic studies on the trabecular meshwork in two

- cases of corticosteroid-glaucoma. *Exp Eye Res*, 17: 19-31, 1973
- 10) François, J.: The importance of the mucopolysaccharides in intraocular pressure regulation. *Invest Ophthalmol*, 14: 173-176, 1975
 - 11) François, J. and Victoria, V.V.: Corticosteroid glaucoma. *Ophthalmologica*, 174: 195-209, 1977
 - 12) Weinreb, R.N., O'Donnell, J.J., Lan, N., Alvarado, J., Baxter, J. and Polansky, J.: Specific nuclear steroid binding in cultured human trabecular cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 19[Suppl]: 207-208, 1978
 - 13) Weinreb, R.N., Bloom, E., Baxter, J.D., Alvarado, J.J., Lan, N., O'Donnell, J.J. and Polansky, J.R.: Detection of glucocorticoid receptors in cultured human trabecular cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 21: 403-407, 1981
 - 14) Weinreb, R.N., Mitchell, M.D. and Polansky, J.R.: Prostaglandin production by human trabecular cells. In vitro inhibition by dexamethasone. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 24: 1541-1545, 1983
 - 15) Knepper, P.A., Breen, M., Weinstein, H.G. and Blacik, L.J.: Intraocular pressure and glycosaminoglycan distribution in the rabbit eye: effect of age and dexamethasone. *Exp Eye Res*, 27: 567-575, 1978
 - 16) Richardson, T.M.: The effect of topical steroids on the synthesis of glycosaminoglycans in the trabecular meshwork. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 20[Suppl]: 30, 1981
 - 17) Hernandez, M.R., Weinstein, B.I., Wenk, E.J., Gordon, G.G., Dunn, M.W. and Southren, A.L.: The effect of dexamethasone on the in vitro incorporation of precursors of extracellular matrix components in the outflow pathway region of the rabbit eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 24: 704-709, 1983
 - 18) Knepper, P.A., Collins, J.A. and Frederick, R.: Effect of dexamethasone, progesterone, and testosterone on IOP and GAGs in the rabbit eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 26: 1093-1100, 1985
 - 19) Goossens, W., Fowell, S., Collins, J. and Knepper, P.A.: Localization of trabecular meshwork glycosaminoglycans in steroid treated rabbit eyes by computer-aided microspectrophotometry. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 26[Suppl]: 111, 1985
 - 20) Sossi, N., Hajek, A. and Palmberg, P.: Dexamethasone phosphate causes increased accumulation of hyaluronic acid in the cell layer of cultured human trabecular endothelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 22[Suppl]: 192, 1982
 - 21) Nobis, C., Polansky, J., Acott, T., Van Buskirk, E.M. and Alvarado, J.: Evaluation of proteoglycans and glycoproteins from cultured human trabecular cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 27[Suppl]: 164, 1986
 - 22) Hajek, A., Sossi, N., Sossi, G. and Palmberg, P.: Glucocorticoids cause human trabecular endothelial cells in culture to accumulate hyaluronic acid, even at confluency. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 25[Suppl]: 100, 1984
 - 23) Hajek, A.S., Palmberg, P., Sossi, G. and Ocon, M.: Dexamethasone-induced accumulation of glycosaminoglycans in human trabecular endothelial cultures is dependent on serum. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 26[Suppl]: 111, 1985
 - 24) Jung, Y.: Organ culture study of the effect of dexamethasone on trabecular meshwork. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 22[Suppl]: 191, 1982
 - 25) Rohen, J.W., Schachtschabel, D.O. and Berghoff, K.: Histoautoradiographic and biochemical studies on human and monkey trabecular meshwork and ciliary body in short-term explant culture. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 221: 199-206, 1984
 - 26) Urakawa, Y., Miyazaki, M., Ishihara, A., Segawa, K., Watanabe, S. and Shimizu, Y.: Human trabecular meshwork organ culture. *Jpn J Ophthalmol*, 32: 401-411, 1988
 - 27) Urakawa, Y.: Extracellular materials in the endothelial meshwork of organ-cultured human trabecular meshwork-morphologic and morphometric study -. *Ophthalmologica*, 202: 161-168, 1991
 - 28) Tripathi, B.J., Tripathi, R.C. and Swift, H.H.: Hydrocortisone-induced DNA endoreplication in human

- trabecular cells in vitro. *Exp Eye Res*, 49: 259-270, 1989
- 29) Rohen, J.W., Futa, R. and Lütjen-Drecoll, E. : The fine structure of the cribriform meshwork in normal and glaucomatous eyes as seen in tangential sections. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 22: 574-585, 1981
 - 30) Segawa, K. : Localization of acid mucopolysaccharides in the human trabecular meshwork. *Jpn J Clin Ophthalmol*, 24: 363-367, 1970
 - 31) Grierson, I. and Lee, W.R. : Acid mucopolysaccharides in the outflow apparatus. *Exp Eye Res*, 21: 417-431, 1975
 - 32) Tawara, A., Varner, H.H. and Hollyfield, J.G. : Distribution and characterization of sulfated proteoglycans in the human trabecular tissue. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 30: 2215-2231, 1989
 - 33) Marshall, G.E., Konstas, A.G. and Lee, W.R. : Immunogold localization of type IV collagen and laminin in the aging human outflow system. *Exp Eye Res*, 51: 691-699, 1990
 - 34) McMenamin, P.G. and Lee, W.R. : Age related changes in extracellular materials in the inner wall of Schlemm's canal. *Albrecht von Graefe's Arch Klin Exp Ophthalmol*, 212: 159-172, 1980
 - 35) Johnson, D.H., Bradley, J.M., Acott, T.S., Fauss, D.J. and Polansky, J.R. : The effect of steroids on human trabecular meshwork in perfusion organ culture. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 30[Suppl]: 223, 1989
 - 36) Partridge, C.A., Weinstein, B.I., Southren, A.L. and Gerritsen, M.E. : Dexamethasone induces specific proteins in human trabecular meshwork cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 30: 1843-1847, 1989
 - 37) Polansky, J.R., Kurtz, R.M., Nguyen, T.D., Huang, W.D. and Alvarado, J.A. : In vitro model for steroid effects on IOP: Characterization of HTM protein/glycoprotein changes and molecular cloning approaches. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 31[Suppl]: 377, 1990
 - 38) Polansky, J.R., Kurz, R.M., Fauss, D.J., Kim, R.Y. and Bloom, E. : In vitro correlates of glucocorticoid effects on intraocular pressure. In : Krieglstein, G.K.(ed.), *Glaucoma update IV*, pp.20-29, Springer-Verlag, Berlin, 1991
 - 39) Tripathi, B.J., Millard, C.B. and Tripathi, R.C. : Corticosteroids induce a sialated glycoprotein (cort-GP) in trabecular cells in vitro. *Exp Eye Res*, 51: 735-737, 1990
 - 40) Johnson, M., Kim, A., Kamm, R.D., Epstein, D.L. and Cong, H. : Extracellular proteins and the 'wash-out' effect. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 31[Suppl]: 376, 1990
 - 41) Clark, A.F., Wilson, K., de Kater, A.W. and Allingham, R.R. : Dexamethasone induced ocular hypertension in perfusion cultured human eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 32[Suppl]: 789, 1991

(4. 4. 30 受稿)