

氏名	つじ かわ あき たか 辻 川 明 孝
学位(専攻分野)	博士(医学)
学位記番号	医博第2390号
学位授与の日付	平成13年5月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	医学研究科外科系専攻
学位論文題目	In Vivo Evaluation of Leukocyte Dynamics in Retinal Ischemia Reperfusion Injury (網膜虚血再灌流障害における白血球動態の生体内での評価)
論文調査委員	(主査) 教授 井出千束 教授 橋本信夫 教授 本田孔士

### 論 文 内 容 の 要 旨

【目的】虚血再灌流時の組織障害は心臓、脳をはじめ多くの臓器において報告されている。更に白血球は虚血再灌流後、組織に集積し、虚血再灌流障害の主要な役割を果たしていると考えられている。近年、生体顕微鏡を用いた in vivo の研究から白血球が虚血後に組織に集積するためには白血球が血管内皮とインターアクションを持つことが必要であることが解明されてきた。更にそのインターアクションは種々の特異な接着分子を介して行われ、ローリング、接着、浸潤と多段階に及ぶものであることがわかってきている。網膜は中枢神経系に属し虚血に対して脆弱であるため網膜虚血再灌流障害の研究はさかに行われている。網膜は組織が透明性を有するため in vivo の観察に適した臓器でもあるが、虚血再灌流時の白血球循環動態について in vivo の詳細な検討はなされていない。そこで、ラット視神経結紮眼虚血再灌流モデルを用いて、網膜虚血再灌流障害時における白血球循環動態の観察を可能とする系を確立し、定量的評価を行うことを目的とした。

【方法】麻酔下に有色 Long-Evans ラットの結膜を切開し、視神経を露出した。6-0 ナイロン糸を用いて視神経鞘を結紮し眼虚血モデルを作成した。60分間の虚血後、視神経を解放し再灌流させた。様々な時間再灌流させた後、走査型レーザー検眼鏡を用いて眼底の精査を行った。更に、核染色色素であるアクリジンオレンジを静注し、アルゴンレーザーを励起光とし、フルオレセイン造影用のフィルターを用いて網膜白血球循環動態を観察した。得られた画像は S-VHS ビデオテープに録画し、コンピューターを用いて画像解析を行った。

【結果】非虚血眼と比較して、虚血眼の網膜動静脈径は再灌流後急速に減少し、4時間後に最小となった。その後、血管は大きく拡張し、12-24時間後に最大となった後、再び収縮した。蛍光色素の投与を始めるとすぐに網膜血管内を自由に流れる白血球が観察された。非虚血眼では網膜主幹静脈上において白血球ローリングは認められなかった。しかし、虚血眼では再灌流4時間後からローリング白血球は観察され始め、12時間後に最大(102±40/分)となった後、減少し、96時間後にはほぼ観察されなくなった。網膜主幹静脈上での白血球ローリング速度も再灌流12時間後に最小となった。網膜動脈上では白血球ローリングはいずれの時間においても観察されなかった。網膜微小循環に捕捉された白血球は非虚血眼ではごくわずかであった。しかし、虚血眼では再灌流4時間後より急速に増加し始め、24時間後に最大(931±178/mm<sup>2</sup>)となった。

【考察】ラット視神経結紮眼虚血再灌流モデルにおいて、網膜内白血球循環動態の定量的評価を行うことが可能となった。非虚血眼では白血球は網膜血管内皮とほとんどインターアクションを示さないが、虚血再灌流時には血管内皮との活発なインターアクションにより組織中に集積し、組織障害に関与すると考えられた。

### 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

近年、白血球が虚血再灌流後の組織に集積し、虚血再灌流障害の要因となっていることが報告され、注目を集めている。更に、生体顕微鏡を用いた in vivo の研究から、白血球が虚血後に組織に集積するためには白血球が血管内皮とインターアクションを持つことが必須であることが解明され、それに基づく治療の試みもなされている。本研究では、先ず、ラット視

神経結紮網膜虚血再灌流モデルを用い、網膜虚血再灌流時の白血球循環動態を *in vivo* で定量的に評価するための実験系を確立し、それを用いて、白血球 rolling 現象が白血球と血管内皮細胞との軽微なインターアクションであり、白血球が虚血後網膜に集積するために必須な最初の現象であることを証明した。更に、血管内皮上に発現された接着分子を block することにより、虚血再灌流後の網膜への白血球集積が抑制され、その結果、組織障害を抑制しうることを示した。以上の研究は網膜虚血再灌流障害時における白血球循環動態の解明に貢献し、白血球集積を抑制することによる網膜虚血再灌流障害の治療に寄与するところが多い。したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。なお、本学位授与申請者は、平成13年2月15日実施の論文内容とそれに関連した諮問を受け、合格と認められたものである。