

氏 名 高 木 史 子  
 学位(専攻分野) 博 士 (医 学)  
 学位記番号 論 医 博 第 1686 号  
 学位授与の日付 平 成 11 年 3 月 23 日  
 学位授与の要件 学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当  
 学位論文題目 Regulation of Retinal Hemodynamics in Diabetic Rats by Increased Expression and Action of Endothelin-1.  
 (糖尿病性網膜血流障害におけるエンドセリンの制御に関する研究)  
 (主査)  
 論文調査委員 教 授 中 尾 一 和 教 授 清 野 裕 教 授 本 田 孔 士

### 論 文 内 容 の 要 旨

糖尿病網膜症は現在、成人失明の第一原因となっており、その発症・進展に網膜血流異常の関与が示唆されている。エンドセリン-1 (ET-1) は、内皮細胞由来のポリペプチドで持続的な血管収縮作用を有している。これまでに3つの受容体サブタイプが同定され血管収縮作用は主にET<sub>A</sub>受容体を介することが知られている。ET-1を硝子体内に投与すると、網膜血管の持続的な収縮と血流量の低下を認めるが、これまで内因性のET-1が網膜血流に及ぼす役割については検討されていなかった。本論文では、糖尿病での網膜血流障害と生理的な網膜血流制御における内因性ET-1の役割についての研究を報告する。

ラット網膜血流の測定は頸動脈に留置したカテーテルからフルオレセインを注入し蛍光眼底撮影を行った。得られたビデオ画像を用いて、dye dilution curve法により網膜血流量 (RBF) を算出した。Sprague-Dawleyラットに65mg/kgのストレプトゾトシンを腹腔内注射することにより糖尿病ラットを作成し2週間後に網膜血流を検討した。

まず生理的な網膜血流制御における内因性ET-1の役割を検討した。正常ラットでは、ET<sub>A</sub>受容体の選択的阻害剤 (BQ-123) の硝子体投与によりRBFは濃度 ( $EC_{50}=10^{-6}M$ )・時間依存性に増加し、5分後に最大 (44%) となり15分後には注入前のレベルにもどる比較的短時間の反応を示した。ET変換酵素阻害剤 (phosphoramidon) の硝子体投与も、同様にRBFは10分後に最大 (27%) となりその作用は30分間持続した。高酸素負荷したラットでは網膜血管の収縮、RBFの減少がみられるが、 $10^{-4}M$ のBQ-123は有意にこの反応を阻害した。内因性のETが網膜血流の定常状態や酸素分圧の変化に対する自己調節に寄与していることが示唆される。

次に糖尿病網膜血流障害におけるET-1の役割について検討した。糖尿病ラットのRBFは正常ラットに比較して33%低下していた。BQ-123の投与によりRBFは増加し正常化した。しかし正常ラットと異なり最大作用 (65%) に達するには25分かかり、持続時間は40分と長かった。 $EC_{50}$ も $10^{-5}M$ と正常ラットより10倍高濃度が必要であった。同様にphosphoramidonは糖尿病ラットでは、最大作用 (34%) に達するには30分かかり作用は60分間持続した。糖尿病と同様のRBFが得られるET-1 ( $10^{-8}M$ ) をあらかじめ硝子体内に注入しておきその後にBQ-123を注入してRBFを測定した。最大効果はBQ-123注入20から40分後に得られ、これは糖尿病ラットへのBQ-123単独注入で30分後に反応が延長する変化に類似していた。

以上の結果より糖尿病網膜血管において内因性ETが増加していることが示唆されたため、網膜におけるpreproET-1 mRNAの発現をCompetitive PCR法を用いて測定した。糖尿病ラットの網膜では、正常ラットに比し2倍のpreproET-1 mRNAの発現がみられた ( $P<0.01$ )。血清中のET-1はRIAを用いて測定し正常ラットとの間に有意差はみられなかった。糖尿病ラットにおいて網膜に特異的にET-1の増加が起り網膜血流低下の原因となっていることが示唆された。

以上により、ET-1が生理的な網膜血流制御に寄与するばかりでなく、糖尿病初期の網膜血流障害においても重要な役割を担っていることが示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

エンドセリン-1 (ET-1) は、内皮細胞由来のポリペプチドで、主にエンドセリンET<sub>A</sub>受容体に作用して持続的で強力な血管収縮を起こすことが知られている。本研究ではET<sub>A</sub>受容体阻害剤やET変換酵素阻害剤をラット硝子体に投与することにより網膜の内因性ET作用を阻害し、網膜血流に及ぼす影響を、蛍光眼底造影により検討している。まずET/ET<sub>A</sub>受容体による血流調節が、定常状態における血流維持や高酸素に対するauto-regulationにおいて主要な調節機構となっていることを示した。さらに糖尿病網膜症の発症・進展に網膜血流異常の関与が示唆されているが、このような病的な血流変化におけるET/ET<sub>A</sub>受容体の役割を明らかにした。すなわち初期網膜症患者や糖尿病ラットにおいて網膜血流減少がみられるが、この機序として網膜に発現増加したETがET<sub>A</sub>受容体を介して網膜血管抵抗を増加し網膜血流を減少させることを示した。

以上の研究は網膜血流制御におけるETの生理的意義ばかりでなく糖尿病血流障害の機序の解明に貢献し、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11年3月1日実施の論文内容とそれに関する試問を受け、合格と認められたものである。