

氏 名	にし わき ひろ かず 西 脇 弘 一
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	論 医 博 第 1704 号
学位授与の日付	平 成 12 年 1 月 24 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	Quantitative Evaluation of Leukocyte Dynamics in Retinal Microcirculation (網膜微小循環における白血球動態の定量的評価法)

論文調査委員	(主 査) 教 授 小 西 淳 二	教 授 内 山 卓	教 授 本 田 孔 士
--------	----------------------	-----------	-------------

論 文 内 容 の 要 旨

最近の研究から白血球は血球成分に占める割合が少ないにもかかわらず、微小循環において大きな役割を占めていることが明らかとなってきた。それは白血球の持つ特殊な性質（真性毛細血管よりも大きく、変形能が著しく低く、様々なサイトカインにより活性化され粘着性が変化する）により、血球成分が大きく影響する微小循環においては白血球の影響が大きくなることが関与していると思われる。網膜微小循環の白血球を生体観察した研究は過去にいくつか見られるが、侵襲が強すぎたり、個々の白血球を観察することができないなどの欠点があった。本報では走査型レーザー検眼鏡（SLO）と蛍光色素を用いることで侵襲が少ない白血球の網膜微小循環での評価法を開発し、それによって得られた知見を述べる。

方法は、麻酔したカンクイザルに核染色蛍光色素であるアクリジンオレンジ水溶液（0.1%）を静注（1 mg/kg）し、経瞳孔的に SLO を用いて眼底を観察する。得られた映像は NTSC 方式で 1 秒間に 30 フレームの割合で S-VHS テープに記録した後、AD コンバーターにてコンピューターに取り込み、画像解析ソフトである NIH Image や Photoshop を用いて解析を行った。またアクリジンオレンジの網膜毒性を調べるために、10 mg/kg のアクリジンオレンジを静注した後直ちに網膜電位図をとり、1 週間後に蛍光眼底撮影を行った。

個々の白血球が一個の蛍光点として網膜循環を流れるのを観察することが可能であった。中心窩近傍では白血球が細動脈から毛細血管を通り細静脈へ流れているのを連続的に観察できた。従来の蛍光眼底撮影に比べて脈絡膜からの背景蛍光も少なくコントラストの高い映像を得ることができた。

連続するフレームの差分をとりその距離を測定することで、白血球の網膜循環での速度の経過を解析することができた。中心窩近傍の毛細血管での白血球速度を測定すると（N = 50）その平均は 0.92 ± 0.32 mm/sec で、ヒトで青色内視現象を用いた白血球速度と近似した値であった。

中心窩近傍において 50 個の白血球で、細動脈から毛細血管を通り細静脈への流れを連続して観察した。68% の白血球は 1 フレーム（33 msec）以上停止することなく流れていたが、32% は 1 フレーム以上停止し流れていくことがわかった。1 フレーム以上停止していた白血球で 2 フレーム以上停止していたものは 12% であった。しかし 10 フレーム以上停止したものはなかった。

白血球が細静脈に流れていく過程で、白血球が血管の中心ではなく血管壁近くを流れていくのが観察することができた。

網膜毒性試験においては、アクリジンオレンジ投与前後で網膜電位図の振幅および潜時に変化はみられなかった。アクリジンオレンジ投与後一週間後の蛍光眼底撮影でも異常を認めなかった。

本報は表層組織を除く生体組織の微小循環において、観血的侵襲を加えることなく極めて生理的状态で個々の白血球の血行動態を初めて観察し、それを評価する方法を示した。走査型検眼鏡を用いることで、非常にコントラストが高く、十分に個々の白血球を観察できる倍率を持ち、1 秒間に 30 フレームという極めて詳細な白血球動態の観察を行えた。また生理的状态においても白血球は毛細血管内で一時的に停止していることを示した。今後本法を用いることで白血球の微小循環にお

る動態を更に明らかにすることが可能になると考えられる。

論文審査の結果の要旨

本論文では、新たに開発した網膜微小循環での白血球の生体観察法を示し、生理的状态およびインターフェロン投与下における白血球循環動態について述べている。

申請者はサルおよびラットに、核染色蛍光色素のアクリジンオレンジ水溶液を静注し、経瞳孔的に走査型レーザー検眼鏡を用いて眼底を観察し、得られた映像をテープに記録した後デジタル化し、コンピューターにて画像解析ソフトを用いて解析した。そして、白血球が一個の蛍光点として網膜循環系を流れるのを毛細血管にいたるまで観察し、その動態を解析することが可能であることを示した。サルにおいては中心窩近傍の白血球速度が、blue field 法によるヒトの白血球速度と近似した値を示し、また、白血球が毛細血管で一時的に止まる現象が起きていることがわかった。

ラットにおいては高屈折のため、サルよりも倍率の高い網膜観察が可能であった。また、白血球の分布は均一ではなく、preferential channel が存在することを示した。ラットにインターフェロン α を静注すると、白血球が網膜循環に捕捉されるのが観察され、その密度は濃度依存性であり、白血球および血管内皮細胞を非活性化する薬剤により白血球の捕捉密度が減少することがわかった。これによりインターフェロン網膜症の微小血管閉塞に白血球が関与することが示された。

以上の研究は、白血球の網膜微小循環における動態の解明に貢献し、これにより様々な網膜循環病態を理解するの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 11 年 11 月 19 日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認のための試問を受け、合格と認められたものである。