

氏 名	宮 本 和 明
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2227 号
学位授与の日付	平成 12 年 3 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 system for ocular disorders by using retinal leukocyte dynamics as an index (網膜白血球動態を指標とした眼疾患の生体内評価システム)

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

最近の研究によると白血球は、その形態学的特殊性（大容積、低変形能）及び活性酸素や蛋白分解酵素産生能に基づく細胞毒性などにより、様々な疾患の病態形成に関与していることが指摘されている。しかしながら、眼疾患の病態形成における白血球の役割についての研究は非常に少なく、まして生体眼での研究はほとんどなかった。本研究の目的は、生体眼の網膜循環において白血球を可視化し、その動態を詳細に検討することによって種々の眼疾患を評価することである。

方法は、核染色蛍光色素であるアクリジンオレンジで生体下にて白血球を標識し、その網膜循環動態を、時間的・空間的に高解像度の眼底像が得られる走査型レーザー検眼鏡で観察することによって行った。病態に応じて、フルオレセインナトリウムによる蛍光眼底造影も同時に行った。得られた眼底像は 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 コンバーターにて画像をデジタル化し、コンピュータ上で画像解析を行った。対象とした疾患は、後天的失明原因として重要なぶどう膜炎と糖尿病網膜症である。

1. ぶどう膜炎

ぶどう膜炎はラットの足蹠にエンドトキシンを皮下注射することで誘発した。ぶどう膜炎誘発後、網膜の白血球動態の経時変化を上記システムにて評価した。評価したパラメーターは、網膜主幹動静脈径、網膜主幹血管壁をローリングする白血球数とその速度、硝子体浸潤白血球数である。網膜主幹動静脈径はぶどう膜炎誘発後 3 時間後から軽度拡張がみられ、4.5 時間後には有意となった。この拡張は 48 時間後まで持続し、静脈において著明であった。ぶどう膜炎誘発後 4.5 時間後から主幹静脈壁をローリングする白血球が観察され始め、その数は 12 時間後に最高に達した後漸減し、120 時間後にはほとんどみられなくなった。白血球ローリングは主幹動脈では生じなかった。ローリング速度は 6 時間後が有意に遅く、12, 24, 48 時間後間に有意差はなかった。白血球の硝子体浸潤は 24 時間後からみられ、48 時間後には最高に達し、120 時間後においても存続した。前眼部炎症との比較のため前房中蛋白濃度と浸潤白血球数を測定すると、それらは 24 時間後に最高値を示し、後眼部炎症のピークはそれに 24 時間遅れることが分かった。またこの後眼部炎症のパターンは、網膜における炎症性サイトカインの発現パターンと一致していた。このモデルは従来前眼部炎症モデルとして考えられてきたが、後眼部炎症モデルとしても有用であることが示された。

2. 糖尿病網膜症

1 型糖尿病モデルとしてストレプトゾトシン誘発糖尿病ラット、2 型糖尿病モデルとして Otsuka Long Evans Tokushima Fatty ラットを用いた。評価したパラメーターは、網膜毛細血管内白血球速度と網膜毛細血管床に捕捉された白血球数である。糖尿病発症後 4～6 週後に白血球動態を検討したところ、毛細血管内白血球速度は両モデルとも糖尿病群と対照群との間に有意差はなかったが、毛細血管床に捕捉された白血球数は両モデルとも糖尿病群で有意に増加していた。この所見は、組織学的方法で証明されるよりもかなり早期の段階で生じていることが確認された。同時に蛍光眼底造影を行ったと

ころ、毛細血管内に捕捉された白血球が、それよりも下流の血流を障害している所見が得られた。

以上のように白血球動態を指標として、ぶどう膜炎及び糖尿病網膜症の病態を評価することができた。この評価システムは、各種眼疾患の病態形成メカニズムの解明や疾患に対する治療薬の効果判定などを行う上で有用な手段になり得ると考えられる。

論文審査の結果の要旨

本研究では、網膜微小循環における白血球動態を指標として、生体下において眼疾患を評価するシステムについて述べている。白血球を核染色蛍光色素であるアクリジンオレンジで生体下にて標識し、その網膜循環動態を経瞳孔的に走査型レーザー検眼鏡で観察、得られた画像をコンピューターで解析することによって、ぶどう膜炎と糖尿病網膜症の病態を評価した。ぶどう膜炎では、エンドトキシン誘発ぶどう膜炎の網膜主幹動静脈径、網膜主幹血管壁をローリングする白血球数とその速度、硝子体浸潤白血球数の経時変化を観察し、従来前眼部炎症モデルとして考えられてきたこのモデルが、後眼部炎症モデルとしても有用であることを示した。また、副腎皮質ステロイドの投与や炎症初期に白血球ローリングを司るP-セレクトインの機能抑制を行うと炎症が軽減されることを示し、この評価システムが薬物の効果判定に利用できることを明らかにした。糖尿病網膜症では、1型及び2型糖尿病モデルにおいて、網膜毛細血管床に捕捉される白血球数が対照群に比較して有意に増加していることを示し、捕捉白血球が毛細血管血流障害を生じる可能性を指摘した。また、糖尿病網膜で細胞間接着分子-1(ICAM-1)の発現が亢進していることを示し、ICAM-1の機能抑制が網膜捕捉白血球数を減少させたことから、白血球捕捉メカニズムの一部にICAM-1が関与していることを示唆した。

以上の研究は、生体における微小循環の関係する眼疾患の評価法の確立に貢献し、疾患の病態形成メカニズムの解明や治療薬の効果判定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12年2月9日実施の論文内容とそれに関連した研究分野の試問を受け、合格と認められたものである。