京都大学	博士（医学）	氏　名	岩間　大輔
論文題目	Neuroprotective effect of cilostazol against retinal ischemic damage via inhibition of leukocyte-endothelial cell interactions (抗血小板薬シロスタゾールの白血球、血管内皮相互反応の抑制を介した網膜虚血再灌流障害に対する保護効果)		

（論文内容の要旨）

【目的】虚血再灌流障害とは、虚血梗塞巣における血流再開、手術時の一時的な血行遮断の解除により、血液再灌流が起こることでさらに重篤な臓器障害が引き起こされる病態である。その機序として、白血球と血管内皮の相互作用と、それに続く組織への白血球浸潤や、活性酸素などのフリーラジカル、蛋白分解酵素の放出、血管透過性の亢進が関与しており、これはいわゆる激烈な炎症による現象と類似している。この虚血再灌流後の微小循環において、白血球が血管内皮との相互作用を介して様々な役割を果たしていることが報告されている。

一方、血小板は白血球-血管内皮相互反応を修飾、増強することで虚血再灌流障害の発症機序に深く関わっている可能性が示唆されている。

抗血小板薬であるシロスタゾールは血小板の PDE3 活性を抑制することで血小板活性を阻害し、脳梗塞再発抑制効果を持ち、他に血管拡張作用、血管内皮機能改善作用なども有しているとされている。抗血小板作用以外にシロスタゾールの白血球と血小板、血管内皮相互作用の減弱効果、接着分子の発現抑制効果が in vitro で報告されてきており、これらの効果を介して、脳梗塞後の再灌流障害を抑制しているのではないかと推察される。

そこで今回、生体において唯一直視下に血液循環動態が観察可能な中枢神経組織である網膜における虚血再灌流モデルにおいて、白血球-血管内皮相互反応、白血球の rolling に関与する細胞接着分子である P-Selectin と白血球と血管内壁との強固な接着に関与する細胞接着分子である intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1)の発現量および網膜形態学的検討を指標とし、シロスタゾールの効果を検討した。

【方法】Sprague-Dawley rat （7 週令、雄、180-200g）の視神経鞘を 6-0 ナイロン糸で 60 分間結紮しその後結紮糸を除去することで虚血再灌流モデルを作製した。白血球と血管内皮の相互反応は、再灌流 4、12、24、48 時間後に Acridine Orange Digital Fluorography により網膜での白血球の rolling、網膜血管径を観察、測定し、またその網膜を flat mount に展開して蛍光顕微鏡にて白血球の血管外への migration を観察した。白血球の血管壁への adhesion は concanavarin A の灌流により染色後、網膜を flat mount に展開して観察した。接着分子（P-Selectin,ICAM-1）の mRNA 発現量については real-time quantitative PCR を用いて測定し、また虚血作製後 14 日目の網膜厚を測定した。シロスタゾール(100mg/kg/day）は虚血作製直前に 0.5%CMC(carboxymethyl cellulose sodium salt)に溶解したものを強制経口投与、以降継続混餌投与した。対照群は同量の 0.5%CMC を投与し、シロスタゾール投与群と対照群で各指標を比較検討した。

【結果】網膜静脈は対照群で著明に拡張していたがシロスタゾール投与群では拡張が有意に抑制されていた。対照群では虚血再灌流後の網膜における白血球の rolling、adhesion および migration は著明に亢進し、 また P-Selectin および ICAM-1 の発現量が亢進していたが、シロスタゾール投与群ではそれらが有意に抑制されていた。形態学的検討においては対照群では著明な網膜厚の減少を認め強い組織障害が生じていたが、シロスタゾール投与群では組織障害が有意に抑制されていた。

【考察】抗血小板薬であるシロスタゾールは接着分子の発現抑制を介して、虚血再灌流後の網膜の白血球-血管内皮相互作用を抑制し、虚血再灌流に引き続く組織障害を抑制していた。この事からシロスタゾールは抗血小板作用に基づく脳梗塞再発抑制効果ばかりでなく、白血球-血管内皮相互反応抑制作用による中枢神経組織の虚血再灌流障害抑制作用も期待できることが示唆された。

（論文審査の結果の要旨）

申請者らは生体において唯一直視下に血液循環動態が観察可能な中枢神経組織である網膜における虚血再灌流モデルにおいて、白血球-血管内皮相互反応と関与する細胞接着因子の発現量および網膜形態学的検討を指標とし、抗血小板薬シロスタゾールの網膜虚血再灌流モデルでの効果を検討した。

ラットの虚血再灌流モデルを作製し、網膜血管での白血球のrolling、血管壁へのadhesion、血管外へのmigrationを観察した。接着分子のmRNA発現量についてはreal-time PCRを用いて測定し、また、虚血作製後14日目の網膜厚を測定した。シロスタゾールは虚血作製直前に投与、以降継続混餌投与し、対照群と比較検討した。

シロスタゾール投与群では網膜静脈の拡張が有意に抑制されていた。また投与群では虚血再灌流後の網膜における白血球のrolling、adhesionおよびmigrationの著明な亢進が抑制され、接着分子の発現の亢進も抑制されていた。形態学的検討においては組織障害が有意に抑制されていた。

抗血小板薬シロスタゾールは接着分子の発現抑制を介して、虚血再灌流後の網膜における白血球-血管内皮相互作用を抑制し、虚血再灌流に引き続く組織障害を抑制していた。以上の研究はシロスタゾールの抗血小板作用に基づく脳梗塞再発抑制効果ばかりでなく、白血球-血管内皮相互反応抑制作用による中枢神経組織の虚血再灌流障害抑制作用の機序の解明に貢献し、虚血性眼疾患の治療法開発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 21 年 1 月 6 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日：　　年　　月　　日　以降