

氏名（本籍）	笹岡正顕（千葉県）			
学位の種類	博士（獣医）			
学位記番号	獣医博乙第88号			
学位授与年月日	平成20年9月12日			
学位授与の要件	学位規則第3条第2項該当			
学位論文題目	動物病態モデルを用いた緑内障の病理発生に関する研究			
審査委員	主査	東京農工大学	教授	三森国敏
	副査	帯広畜産大学	教授	松井高峯
	副査	岩手大学	教授	岡田幸助
	副査	東京農工大学	教授	下田実
	副査	岐阜大学	教授	柵木利昭

論文の内容の要旨

緑内障は失明に至る重篤な視機能障害をもたらす眼疾患のひとつであり、我が国における最近の疫学調査では視覚障害及び失明原因の第1位であると報告されている。しかし、眼圧が21 mmHg以下の緑内障患者が開放隅角緑内障患者の約9割を占めていること、手術もしくは薬物治療により眼圧を3割以上低下させても、視野狭窄が進行する患者が存在していることから、緑内障の発症・進行には眼圧以外の因子、例えば循環障害や過剰な興奮性アミノ酸など関与も示唆されている。このように、緑内障は多因子性疾患であり、さらに視野障害と組織学的変化との関連性も未解明な点が多い疾患である。

そこで、筆者はまず眼循環に着目し、循環障害に関わる血管収縮ペプチドとして知られる endothelin-1 (ET-1) を用いて、眼循環不全と緑内障性視神経障害の関連について研究を行った。ウサギ硝子体に1週間に2回、5 pmol ET-1 を投与し、2, 4, 及び8週間後に視神経乳頭 (optic nerve head: ONH) 組織血流速度、網膜動脈血管径、網膜及び視神経の組織学的解析、及び軸索中の主要成分であるニューロフィラメント軽鎖 (neurofilament-light chain: NFL) の含有量を評価した。ONH 組織血流速度、並びに網膜動脈血管系は ET-1 投与8週間後までほぼ同程度に低下していた。ET-1 投与2週間後では組織学的変化は認められなかったが、4 及び8週間後では視神経中の NFL 含有量の有意な低下が認められた。さらに ET-1 投与8週間後においては有髄神経線維の減少とグリオシス、及び結合組織の増加が視神経に認められた。一方、視神経と同様に網膜動脈から血液を供給されている網膜神経節細胞 (retinal ganglion cell: RGC) を含む網膜構造全体にはいずれの観察期間においても明らかな変化を認めなかった。以上のことから、眼圧以外に緑内障との関連性が示唆されている ET-1 による眼循環不全は、第一に視神経障害を誘発し、二次的に RGC の脱落、及び視野欠損などの視機能異常を誘発する可能性があることが示唆された。

一方、緑内障における視野と組織学的変化の関連性には未解明の部分が多く、その解明も求められている。そこで、以後の研究では、サルを用いた視野と視覚系の変化についてその関連性を検討した。本章では、より正確で簡便なシステムである新しいサル視野測定システムを確立するため、またサルとヒト間の視野特性の類似点と相違点を明確にするため、以下

の実験を実施した。4頭のサルと3名のヒトを用い、中心24°の輝度コントラスト感度の測定を行った。その結果、輝度コントラスト感度は中心窩周辺で高く、離心率の増大とともに低下すること、及び盲点が耳側15°に明瞭に検出されることなど、視野の全般的特性においてはサルとヒト間で類似点が認められた。しかし、全体的な視感度はサルよりヒトで高いこと、周辺部での視感度はヒトよりサルでより急峻に低下することなど、両種間で異なる特徴が存在することも明らかとなった。本測定システムでは、サル頭部の保定の強化、眼球位置のリアルタイムでの測定、及び閾値算出方法を改良することで、既存システムに比べ正確な視野データを得ることができた。

次に、緑内障モデルとして最も一般的なサルレーザー誘発高眼圧モデルを用いて視野変化、RGC及び外側膝状体（lateral geniculate nucleus: LGN）細胞数、LGNでのグリア細胞線維性酸性蛋白質（glial fibrillary acidic protein: GFAP）の免疫組織化学的評価を実施した。その結果、視野感度、RGC数、及びLGNでの神経細胞密度は高眼圧によって全て減少した。また、RGC障害と視野感度の低下の関連性は、中心窩からの離心率に依存することが明らかとなった。さらに、LGNでのGFAP発現量は対側無処置眼からの神経入力を受けるLGN層に比べ、高眼圧眼からの神経入力を受けるLGN層で顕著に増大していた。この変化は、RGCのLGNに存在する軸索遠位のシナプス崩壊が、シナプス周囲のグリア細胞の反応性増殖を誘発していることを示唆させた。これらの結果から、緑内障は網膜だけでなく、視覚経路においても生体防御機構としてグリア細胞機能の変化を引き起こす可能性が示唆され、このような中枢神経系での変化が他の神経変性疾患と同様に緑内障における神経障害の特徴になる可能性が示された。

これらの知見は、緑内障病態における視神経やLGNでの神経変性の重要性を示すのみならず、緑内障における視神経やLGN、視覚野などにおける神経変性に対する治療法の開発が今後必要であることを強く示唆するものである。

審 査 結 果 の 要 旨

緑内障は、眼圧や循環障害、興奮性アミノ酸などが関与し、重篤な視機能障害をもたらす眼疾患のひとつである。しかし、その病因や視野障害と組織学的な変化の関連性については未解明な点が多く、基礎研究の蓄積が望まれている。本研究では、緑内障の病理発生の解明を目的として、眼循環不全と緑内障性視神経障害の関連についてウサギを用いた研究を行うとともに、視野と組織学的変化の関連性解明のためサルを用いた研究を試みた。

第一章では、血管収縮ペプチドである endothelin-1 (ET-1) による眼循環不全と緑内障性視神経障害の関連についてウサギを用いて研究を行った。その結果、ET-1による眼循環不全は、第一に視神経障害を誘発し、二次的に網膜神経節細胞（RGC）の脱落、及び視野欠損などの視機能異常を誘発する可能性が示唆された。

続く第二章と第三章では、サルを用い、視野と視覚系の変化についてその関連性を検討した。

第二章では、正確で簡便な新しいサル視野測定システムを確立した。本システムでは、頭部保定及び視線測定の厳密化などの改良により、既存システムに比べ正確な視野データを得ることができた。また、サルとヒトの視野を比較し

た結果、その全般的特性は類似していたものの、視感度が全体的にヒトで高いこと、周辺部での視感度はサルでより急峻に低下することなど、異なる特徴が存在することも明らかとなった。

第三章では、サルレーザー誘発高眼圧モデルを用いて視野変化、網膜及び外側膝状体 (LGN) での組織学的変化について関連性を検討した。その結果、RGC 障害と視野感度の低下の関連性は、中心窩からの離心率に依存することが明らかとなった。また、LGN でのグリア細胞線維性酸性蛋白質の発現量は高眼圧眼からの神経入力を受ける LGN 層で顕著に増大していた。これらの結果から、緑内障は網膜変化だけでなく、中枢神経系においても生体防御機構としてグリア細胞の機能変化を引き起こすことが示唆され、これが緑内障における神経障害の特徴になる可能性が示された。

以上の研究結果から、緑内障病態においては眼圧以外の視神経や LGN での神経変性が重要であることが改めて示され、視神経や LGN、視覚野などにおける神経変性に対する治療法の開発が必要であることが強く示唆された。

以上について、審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合獣医学研究科の学位論文として十分価値があると認めた。

基礎となる学術論文

- 1) 題 目 : Comparison between monkey and human visual fields using a personal computer system
著 者 名 : Sasaoka, M., Hara, H. and Nakamura, K.
学術雑誌名 : Behavioural Brain Research
巻・号・頁・発行年 : 161 (1) : 18-30, 2005
- 2) 題 目 : Intravitreal injection of endothelin-1 caused optic nerve damage following to ocular hypoperfusion in rabbits
著 者 名 : Sasaoka, M., Taniguchi, T., Shimazawa, M., Ishida, N., Shimazaki, A. and Hara, H.
学術雑誌名 : Experimental Eye Research
巻・号・頁・発行年 : 83 (3) : 629-637, 2006
- 3) 題 目 : Changes in visual fields and lateral geniculate nucleus in monkey laser-induced high intraocular pressure model
著 者 名 : Sasaoka, M., Nakamura, K., Shimazawa, M., Ito, Y., Araie, M. and Hara, H.
学術雑誌名 : Experimental Eye Research
巻・号・頁・発行年 : 86 (5) : 770-782, 2008

既発表学術論文

- 1) 題 目 : Selective effects of lomerizine, a novel diphenylmethylpiperazine Ca^{2+} channel blocker, on cerebral blood flow in rats and dogs
著 者 名 : Hara, H., Shimazawa, M., Sasaoka, M., Yamada, C., Iwakura, Y., Sakai, T., Maeda, Y., Yamaguchi, T., Sukamoto, T. and Hashimoto, M.
学術雑誌名 : Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology
巻・号・頁・発行年 : 26 (11) : 870-876, 1999

- 2) 題 目 : Effects of lomerizine, a novel Ca^{2+} channel blocker, on the normal and endothelin-1-disturbed circulation in the optic nerve head of rabbits
著 者 名 : Toriu, N., Sasaoka, M., Shimazawa, M., Sugiyama, T. and Hara, H.
学術雑誌名 : Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics
巻・号・頁・発行年 : 17 (2) 131-149, 2001
- 3) 題 目 : Optic cup enlargement followed by reduced optic nerve head circulation after optic nerve stimulation
著 者 名 : Sugiyama, T., Hara, H., Oku, H., Nakatsuji, S., Okuno, T., Sasaoka, M., Ota, T. and Ikeda, T.
学術雑誌名 : Investigative Ophthalmology and Visual Science
巻・号・頁・発行年 : 42 (12) : 2843-2848, 2001
- 4) 題 目 : Optic disc topographic parameters measured in the normal cynomolgus monkey by confocal scanning laser tomography
著 者 名 : Taniguchi, T., Shimazawa, M., Araie, M., Tomita, G., Sasaoka, M., Kitazawa, Y. and Hara, H.
学術雑誌名 : The British Journal of Ophthalmology
巻・号・頁・発行年 : 89 (8) : 1058-1062, 2005
- 5) 題 目 : Nerve fiber layer measurement using scanning laser polarimetry with fixed corneal compensator in normal cynomolgus monkey eyes
著 者 名 : Shimazawa, M., Taniguchi, T., Sasaoka, M. and Hara, H.
学術雑誌名 : Ophthalmic Research
巻・号・頁・発行年 : 38 (1) 1-7, 2006
- 6) 題 目 : Morphometric evaluation of changes with time in optic disc structure and thickness of retinal nerve fibre layer in chronic ocular hypertensive monkeys
著 者 名 : Shimazawa, M., Tomita, G., Taniguchi, T., Sasaoka, M., Hara, H., Kitazawa, Y. and Araie, M.
学術雑誌名 : Experimental Eye Research
巻・号・頁・発行年 : 82 (3) : 427-440, 2006
- 7) 題 目 : Endothelin-1 impairs retrograde axonal transport and leads to axonal injury in rat optic nerve
著 者 名 : Taniguchi, T., Shimazawa, M., Sasaoka, M., Shimazaki, A. and Hara, H.
学術雑誌名 : Current Neurovascular Research
巻・号・頁・発行年 : 3 (2) : 81-88, 2006
- 8) 題 目 : Stachybotrydial selectively enhances fibrin binding and activation of Glu-plasminogen
著 者 名 : Sasaoka, M., Wada, Y. and Hasumi, K.
学術雑誌名 : The Journal of Antibiotics
巻・号・頁・発行年 : 60 (11) : 674-681, 2007