

学位論文内容の要旨

論文提出者氏名	論文審査担当者
田 聖 花	主 査 教 授 池 田 恒 彦 副 査 教 授 宮 崎 瑞 夫 副 査 教 授 清 水 章 副 査 教 授 大 槻 勝 紀 副 査 教 授 花 房 俊 昭
主論文題名 Efficacy of early systemic betamethasone or cyclosporin A after corneal alkali injury via inflammatory cytokine reduction (角膜アルカリ外傷後のベタメサゾンおよびシクロスポリン A の早期全身投与による炎症性サイトカインの抑制効果)	
学位論文内容の要旨	
<p>《研究目的》</p> <p>角膜アルカリ外傷では受傷直後から著明な炎症が生じ、眼組織は著しい傷害を受ける。急性期の炎症が強い症例ほど角膜は不可逆的に混濁し、癬痕性角結膜炎に至るため、受傷後の急性炎症をいかに抑制するかが視力予後を良好に保持するために重要である。ステロイドは強力な抗炎症作用を有するが、アルカリ外傷後の投与については、角膜実質融解や角膜上皮修復遅延、易感染性などの副作用が指摘され、賛否両論があり結論が出ていない。</p> <p>我々の臨床経験からは、受傷後早期にステロイドを短期に限って使用することが有用である。これまでにアルカリ外傷後の角膜では急性期に炎症性サイトカインの発現が著しく亢進しており、眼組織傷害の原因になっていることが指摘されているが、炎症性サイトカインの発現時期を考慮して抗炎症療法を行うことで、ステロイドの副作用を最小限にできる可能性が考えられる。</p> <p>以上のようなことから我々は、受傷後早期の短期的なステロイドの投与によって急性期の炎症性サイトカインを抑制することができるか、またそれによって組織傷害を軽減しうるかどうかについて、ラット角膜アルカリ外傷モデルを用いて検討した。また近年、免疫抑制剤であるシクロスポリンが炎症性疾患にも有効であるとの報告があるため、シクロスポリンについても同様の検討を行った。</p> <p>《材料と方法》</p> <p>65 匹のウィスターラット(10 週齢、雌)に対し、角膜中央に 1N の NaOH を染み込ませた直径 5mm の濾紙を 1 分間接触させて角膜アルカリ外傷を作成した。それらを①薬剤非投与群(n=22)(コントロール群)、②ベタメサゾン(0.1mg/kg/day 皮下注射)投与群(n=21)、③シクロスポリン A(5mg/kg/day 筋肉内注射)投与群(n=22)の 3 群に分け、以下のような検討を行った。薬剤は 1 日 1 回投与し、アルカリ外傷作成日から 7 日間継続した。</p> <p>1. サイトカインの測定:アルカリ外傷作成後 2、4、7 日にラットを屠殺し眼球を摘出した。角膜輪部に沿って切開を加え直径約 6mm の角膜片を得て、ただちに液体窒素で急速冷凍させて破砕し、PBS 中に回収したのち遠心分離を行い、上清を回収した。その上清中のインターロイキン(IL)-1α、-6 および -8 の濃度を ELISA 法によって測定した。なお、正常角膜中における各種サイトカイン量を知るために、アルカリ外傷を加えない 6 匹の健常ラット角膜に対し同様の方法でサイトカイン濃度を測定した。</p> <p>2. 角膜所見の記録:アルカリ外傷作成後 2、4、7 日に細隙灯顕微鏡下で角膜を観察し、角膜混濁、角膜内新生血管の侵入、角膜上皮欠損の範囲について以下のごとく半定量評価した。①角膜混濁:程度を 0~4 の 5 段階にスコアリングした。②新生血管:角膜内に侵入する長さ範囲でもって 0~4 の 5 段階にスコアリングした。③上皮欠損の範囲:上皮欠損はおおよそ楕円形を呈することが多いため、欠損範囲の長径と角膜直径の比で評価した。</p> <p>サイトカイン濃度および角膜所見に対して、薬剤非投与群とベタメサゾン群、あるいは薬剤非投与群とシクロスポリン投与群、の二群間比較を Mann-Whitney U test を用いて行った。P 値は 0.05 以下を</p>	

有意差ありとした。

《結果》

1. サイトカイン濃度

アルカリ外傷後薬剤非投与群では健常ラットに比べて、IL-1 α 、-6 および-8 はそれぞれ 2 日後、4 日後、2 日後に著しく増加した。それに対しベタメサゾン群では非投与群に比べて、IL-1 α は 4 日後、-6 は 4 日と 7 日後、-8 は 4 日後に有意に濃度が抑えられた。シクロスポリン群でも、IL-1 α は 4 日後、-8 は 4 日後に有意に濃度が抑えられた。IL-6 も 4 日後に濃度は抑えられたが、有意差は認められなかった。

2. 角膜所見

角膜混濁は、ベタメサゾン群およびシクロスポリン群の両群において、アルカリ外傷 4 日後に有意に軽減された。新生血管と上皮欠損の程度は、非投与群とくらべて有意な差は認められなかった。

《考察》

アルカリ外傷眼では外傷後7日以内の急性期に炎症性サイトカインである IL-1 α 、IL-6、IL-8 の著明な産生を認めたが、ベタメサゾンとシクロスポリンはともに、投与後早期の 4 日、7 日後にそれらのサイトカインの産生を抑制した。外傷後の角膜混濁が有意に軽減されたことは、炎症性サイトカインの発現抑制と強く関連すると考えられた。

組織傷害が発生したときに産生される種々の炎症性サイトカインは、複雑なネットワークを形成して組織修復に重要な働きをしているが、それぞれのサイトカインが過剰に発現しすぎると、サイトカイン産生に悪循環が生じ、組織傷害が増悪あるいは遷延することも考えられている。したがって、傷害受傷後できるだけ早い時期にサイトカインの産生を抑制することが、炎症のコントロールには重要である。今回の実験により、角膜アルカリ外傷後にステロイドを早期に短期的に使用することは有効な治療法であると考えられ、そのメカニズムには炎症性サイトカインの抑制が関与していることが示唆された。

また、シクロスポリンにも同様の有効な作用があることがわかった。臨床的には、ステロイドの持つ易感染性や緑内障、糖尿病といった副作用のために使用できない例に対して、シクロスポリンを代用しうる可能性が示唆された。

審査結果の要旨および担当者

報告番号	甲 第681号	氏名	田 聖花
論文審査担当者		主査 教授 池田 恒彦 副査 教授 宮崎 瑞夫 副査 教授 清水 章 副査 教授 大槻 勝紀 副査 教授 花房 俊昭	
主論文題名			
Efficacy of early systemic betamethasone or cyclosporin A after corneal alkali injury via inflammatory cytokine reduction (角膜アルカリ外傷後のベタメサゾンおよびシクロスポリン A の早期全身投与による炎症性サイトカインの抑制効果)			
論文審査結果の要旨			
<p>申請者は、ラット角膜アルカリ外傷モデルを用いて、アルカリ外傷後急性期のステロイドの投与による角膜での炎症性サイトカインの抑制効果と、それによる角膜傷害の軽減の有無について検討している。また、ステロイドの代用候補としてシクロスポリンについても同様の検討を行っている。</p> <p>まず、ラットアルカリ外傷角膜では、受傷後急性期に炎症性サイトカインであるインターロイキン(IL)-1α、-6、-8 の産生が著しく亢進していることが確認された。それに対し、アルカリ外傷作成直後から7日間ステロイドを投薬した群では、非投薬群に比べて、有意に IL-1α、-6、-8 の産生を抑制した。その効果は受傷後早期の 4 日、7 日に示された。また、シクロスポリン投与群でも IL-1α、-8 の産生が受傷4日後に有意に抑制された。ステロイド投与、シクロスポリン投与の両群において角膜所見では角膜混濁が受傷後4日に軽減され、サイトカインの抑制効果を反映していると考えられた。これらの投薬による上皮欠損の修復遅延などの副作用は認められなかった。</p> <p>本研究では、<i>in vivo</i>でのステロイドの効果が角膜所見の追跡によって示され、そのメカニズムに炎症性サイトカインの産生抑制が関与していることを示唆している。この結果は、アルカリ外傷後のステロイド投与の効果に関してひとつの確証を示しているものと考えられる。また、サイトカイン抑制が組織傷害を軽減する効果を示したことから、本研究の結果が将来の抗サイトカイン治療に応用できる可能性があると考えられた。</p> <p>以上により、本論文は本学大学院学則第9条に定めるところの博士(医学)学位を授与するに値するものと認める。</p> <p>(主論文公表誌) Acta Ophthalmologica Scandinavia 82: 195-199, 2004</p>			