

学位論文内容の要旨

論文提出者氏名	論文審査担当者
柴田真帆	主査 教授 花房 俊昭 副査 教授 黒岩 敏彦 副査 教授 大槻 勝紀 副査 教授 窪田 隆裕
主論文題名 Disruption of gap junctions may be involved in impairment of autoregulation in optic nerve head blood flow of diabetic rabbits (糖尿病家兎の視神経乳頭血流自動調節能障害にはギャップ結合の遮断が関与している)	
学位論文内容の要旨	
《目的》 視神経乳頭、網膜には、眼灌流圧の変化に対し血流量を一定に保つ自動調節能が存在する。すなわち、自律神経支配はないが組織の代謝状態を反映して血流調節がなされている。この自動調節能のメカニズムについては、これまで代謝性調節や筋原性調節、血管作動性因子の関与などが報告されているが、まだ十分に解明されていない。網膜血管と神経組織は血液網膜関門で遮断されているため、組織の代謝状態を反映して血管運動を制御するには、血管周囲グリア細胞と網膜血管周囲の細胞間のギャップ結合を介した機能的連絡が重要であると考えられる。網膜血管の周囲はグリア細胞の突起がこれを囲み、ギャップ結合の機能蛋白であるコネキシン 43 の発現がみられるが、糖尿病眼では網膜血管周囲でコネキシン 43 の発現の低下、グリア細胞の変化、また網膜循環自動調節能の障害が報告されている。 我々は、糖尿病眼における視神経乳頭循環においても自動調節能の破綻がみられると仮定し、糖尿病家兎において眼灌流圧の低下に伴う視神経乳頭血流の変化を測	

定した。また、ギャップ結合遮断薬の投与下でも同様に視神経乳頭循環自動調節能の破綻がみられるかどうかを調べることで、視神経乳頭循環自動調節能におけるギャップ結合の関与について検討した。

《方法》

まず糖尿病家兎における視神経乳頭循環自動調節能を検討するため、アロキサン誘発糖尿病家兎と対照として健常家兎を用い、眼圧を 20mmHg から 50、70mmHg と上昇させ、それぞれの眼圧レベルを 30 分間持続した。各眼圧レベルでの視神経乳頭血流を、レーザースペックルフローグラフィで経時的に 10 分ごとに測定した。血流測定は視神経乳頭同一部位とし、血流値の変化を対照群と糖尿病群で比較した。実験中は、家兎前足につけた自動血圧計で血流測定時の血圧と脈拍数を記録した。眼灌流圧は、平均血圧・眼圧・腹臥位での家兎毛様動脈圧 14mmHg から算出し、各血流測定時に得られた眼灌流圧と血流値との相関について、対照群と糖尿病群とで比較した。

さらに、ギャップ結合遮断薬であるオクタノール (1.0mM、3.0mM、10mM)、gap27 (10 μ M)、対照として眼灌流液を硝子体注射した健常家兎についても上記同様に眼圧上昇時の視神経乳頭血流を測定し、血流値の変化を対照群とそれぞれのギャップ結合遮断薬投与群とで比較した。同様に、眼灌流圧と血流値の相関について対照群とギャップ結合遮断薬投与群とで比較した。また、ギャップ結合遮断薬による視機能への影響をみるため、投与前後の網膜電図と視覚誘発電位を記録し比較した。

《結果》

糖尿病家兎において、眼圧を 20mmHg から 50 もしくは 70mmHg へ上昇させ眼灌流圧を減少させると、視神経乳頭血流は対照群と比較して有意に低下した。

また対照群では眼圧 70mmHg まで視神経乳頭血流が維持された。対照群では眼灌流圧の低下と血流値に相関を認めなかったが、糖尿病家兎では眼灌流圧の低下とともに血流値の低下を認め、両者に正の相関を認めた。

ギャップ結合遮断薬であるオクタノール、gap27 を硝子体投与された健常家兎においても同様に、眼圧を上昇させ眼灌流圧を減少させると、視神経乳頭血流は対照群と比較して有意に低下した。オクタノール、gap27 投与眼ともに眼灌流圧と血流値に正の相関を認め、オクタノールにおいては濃度依存性に相関係数が増加した。また、それぞれのギャップ結合遮断薬の硝子体投与前後で網膜電図と視覚誘発電位に有意な変化を認めなかった。

《考 察》

今回の実験により、糖尿病家兎において視神経乳頭循環自動調節能が障害されていることが明らかとなった。ギャップ結合遮断薬投与家兎においても同様に視神経乳頭循環自動調節能の破綻がみられ、自動調節能のメカニズムにギャップ結合が関与する可能性のあることが示唆された。血管内皮細胞は血管内皮由来過分極因子を分泌し、ギャップ結合を介して血管平滑筋や周皮細胞を弛緩させ、血管を拡張させる。すなわちこれらはギャップ結合を介し機能的に一つのユニットを構成し、組織の代謝状態を反映した血管運動制御に重要な役割をしているとされる。糖尿病眼において網膜血管周囲のギャップ結合や構成蛋白の減少と内皮細胞のアポトーシスが報告されており、糖尿病眼ではギャップ結合を介した細胞間連絡の破綻により視神経乳頭・網膜血管の機能的・形態的異常、さらには血管運動制御の障害が引き起こされる可能性があると考えられた。中枢神経系においてアストロサイトは、ニューロンの代謝状態を反映して血流を制御する **neurovascular coupling** に関与するといわれ、視神経乳頭・網膜においても同様の報告がみられる。視神経乳頭における主なグリア細胞はアストロサイトであり、網膜において

はアストロサイト・ミュラー細胞が主なグリア細胞であるが、異種・同種グリア細胞間にギャップ結合を介した細胞間連絡の存在が報告されている。今回、ギャップ結合遮断薬投与家兎で視神経乳頭循環自動調節能の破綻がみられたことから、視神経乳頭循環におけるギャップ結合を介した細胞間連絡の関与が示唆された。糖尿病と前部虚血性視神経症、または緑内障の病期進行との関連が示唆される中で、本研究は眼循環障害の病態解明への新たなアプローチであると考えられた。

審査結果の要旨および担当者

報告番号	甲第	号	氏名	柴田真帆
論文審査担当者			主査教授 花房 俊昭	
			副査教授 黒岩 敏彦	
			副査教授 大槻 勝紀	
			副査教授 窪田 隆裕	
主論文題名				
<p>Disruption of gap junctions may be involved in impairment of autoregulation in optic nerve head blood flow of diabetic rabbits</p> <p>(糖尿病家兎の視神経乳頭血流自動調節能障害にはギャップ結合の遮断が関与している)</p>				
論文審査結果の要旨				
<p>視神経乳頭、網膜には、眼灌流圧の変化に対し血流量を一定に保つ自動調節能が存在する。この自動調節能のメカニズムについては、まだ十分に解明されていない。組織の代謝状態を反映して血管運動を制御するには、血管周囲グリア細胞と網膜血管周囲の細胞間のギャップ結合を介した機能的連絡が重要であると考えられる。糖尿病眼では網膜血管周囲でギャップ結合構成蛋白の発現低下が報告されており、申請者は糖尿病家兎またはギャップ結合遮断薬硝子体投与下において眼灌流圧の低下に伴う視神経乳頭血流の変化をレーザースペックルフローグラフィで測定し、視神経乳頭循環自動調節能におけるギャップ結合の関与について検討した。</p> <p>その結果、糖尿病家兎において眼圧を上昇させ眼灌流圧を減少させると、視神経乳頭血流は対照群と比較して有意に低下し、糖尿病家兎において視神経乳頭循環自動調節能が障害されていることが明らかとなった。また、ギャップ結合遮断薬であるオクタノール、gap27 を硝子体投与された健常家兎においても同様に、眼圧を上昇させ眼灌流圧を減少させると、視神経乳頭血流は対照群と比較して有意に低下し</p>				

た。以上のことより、視神経乳頭循環自動調節能のメカニズムにおいてギャップ結合を介した細胞間連絡の関与が示唆された。糖尿病眼において網膜血管周囲のギャップ結合や構成蛋白の減少と内皮細胞のアポトーシスが報告されており、糖尿病眼ではギャップ結合を介した細胞間連絡の破綻により視神経乳頭・網膜血管の機能的・形態的異常、さらには血管運動制御の障害が引き起こされる可能性があると考えられた。糖尿病と前部虚血性視神経症、緑内障の病期進行との関連が示唆される中で、本研究は眼循環障害の病態解明への新たなアプローチであると考えられた。

以上により、本論文は本学大学院学則第11条に定めるところの博士（医学）の学位を授与するに値するものと認める。

(主論文公表誌)

Investigative Ophthalmology and Visual Science

52(5): 2153-2159, 2011