

氏名	ミツ ハシ ジュン コ 三 橋 純 子
学位の種類	博士 (医学)
学位授与の番号	甲第 532 号
学位授与の日付	平成 24 年 3 月 16 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 (医学研究科専攻, 博士課程修了者)
学位論文題目	Intravitreal injection of erythropoietin protects retinal vascular regression at the early stage of diabetic retinopathy in streptozotocin-induced diabetic rats (ストレプトゾトシン誘発糖尿病ラットの糖尿病網膜症発症初期におけるエリスロポエチン硝子体注射の網膜血管退縮の抑制効果)
主論文公表誌	
論文審査委員	(主査) 教授 堀 貞夫 (副査) 教授 内潟 安子, 藤枝 弘樹

論文内容の要旨

〔目的〕

糖尿病網膜症 (網膜症) の基本病態は血管透過性亢進, 血管閉塞, 血管新生であり, その病態の形成には血管内皮増殖因子 (VEGF) をはじめ, 炎症に伴う様々な生理活性物質の関与が報告されている. 赤血球造血因子である erythropoietin (EPO) は, 増殖網膜症における血管新生に関与し, 網膜症の増悪因子となることが確認されている. 一方で, 単純網膜症においては, EPO の投与により網膜症の抑制が示されているが, 詳細な作用機序は明らかでない. 糖尿病ラットを用いて, EPO の作用機序の解明を目的として, 糖尿病の発症初期における網膜血管の形態変化を三次元イメージング法にて検索した.

〔方法〕

5 週齢の雄 Sprague-Dawley ラットに, streptozotocin (60mg/kg 体重) を腹腔投与した糖尿病群と非投与の対照群の 2 群に分けた. それぞれをさらに EPO (50ng/眼) またはリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) を硝子体内注入し 2 群に分け, 合計 4 群として以下の解析を行った. まず, 血管を描出するために経時的に FITC-トマトレクチンを尾静脈より注射し, 10 分後に 4% パラホルムアルデヒドで灌流固定し眼球を摘出した. さらに, 基底膜を IV 型コラーゲン, 周皮細胞を NG2, マクロファージを ED1, 細胞増殖を BrdU に対する特異抗体で多重免疫染色後, 共焦点レーザー顕微鏡を用いて, 各群の網膜全載伸展標本の 3 次元的形態解析を行った. また, real time PCR 法を用いて網膜内の EPO 受容体 (EPOR), VEGF, VEGF 受容体 (VEGFR) の半定量化を行い, 局所の環境変化との相関を検討した.

〔結果〕

糖尿病誘発後 4 週までの早期において, 糖尿病群と対照群の網膜厚, 網膜毛細血管における形態・数, 血管分岐, また周皮細胞の分布に有意差を認めなかった. 糖尿病群において, 新生血管や透過性亢進等は認められなかったが, 発症早期から網膜周辺部に, IV 型コラーゲンのみに陽性の線状の構造が増加していた. 糖尿病に EPO を投与した群では, 対照群同様にこの線状構造は認められなかった. そこで, EPOR, VEGF, VEGFR の網膜内 mRNA 量を検索してみると, 糖尿病群において, 4 週目にすべての値が有意に増加しており, 糖尿病に EPO を投与した群では増加はなく対照群と同等であった. この時, BrdU の染色は, 網膜の全領域で陰性であった.

〔考察〕

糖尿病発症後早期の段階において, IV 型コラーゲンのみに陽性の線状の構造は, 周囲に増殖を示唆する所見を認めないことから, 血管退縮の過程で内皮細胞と周皮細胞が消失し, それらの基底膜が残存した基底膜痕と考えられた. 一方, 対照群の網膜の視神経乳頭周囲にも同構造が認められ, 網膜の中心部では糖尿病とは無関係に血管退縮が盛んに行われていることが示唆された. IV 型コラーゲンのみに陽性の線状の構造は, 糖尿病網膜症発症

の初期段階を示唆する病態である可能性があり、EPO 硝子体内投与により、EPOR の down regulation が起こったこと、IV 型コラーゲンのみに陽性の線状の構造の増加を認めなかったことから、EPO が糖尿病網膜症の発症を抑制する可能性がある。

〔結論〕

EPO 硝子体内投与は、糖尿病網膜症における網膜毛細血管の一時的退縮を抑制し、結果として単純網膜症の発症を抑制する可能性が示唆された。

論文審査の要旨

本研究は、ラットのストレプトゾトシン誘発糖尿病モデルを用いて、糖尿病網膜症発症初期における網膜血管病変と、それに対するエリスロポエチン (EPO) 硝子体注射の影響を検討したものである。

5 週齢の正常 SD 系雄ラットにストレプトゾトシン (60mg/kg 体重) を腹腔投与した。炎症所見をはじめとする網膜血管自体の形態的・機能的異常所見は認められなかったものの、糖尿病発症極初期の 1 週目より視神経乳頭部周囲を除く網膜血管網に、内皮細胞と周皮細胞を欠如し、基底膜成分 (IV 型コラーゲン) のみで構成される線状構造が出現した。この構造およびその周囲に細胞増殖を認めないことから、血管退縮による基底膜遺残であることが示唆された。ところが、これに EPO (50ng/眼) を硝子体注射するとこの退縮変化が抑制され、ほぼ正常の網膜の血管構築が保たれることが明らかとなった。

本研究は糖尿病発症初期における網膜血管の退縮性変化を発見し、これに対する EPO 硝子体投与の抑制効果を明らかにした点で、今後の治療面への応用も期待できることから、学術的価値が高い研究であると評価できる。

58

氏名	シオ ヤマ クカ ヒロ 塩 山 高 広
学位の種類	博士 (医学)
学位授与の番号	甲第 533 号
学位授与の日付	平成 24 年 3 月 16 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 (医学研究科専攻, 博士課程修了者)
学位論文題目	Intraoperative flow cytometry analysis of glioma tissue for rapid determination of the tumor presence and its histopathological grade (神経膠腫の術中迅速解析のためのフローサイトメトリーによる腫瘍悪性度判定の検討)
主論文公表誌	Journal of Neuro-Oncology 投稿中
論文審査委員	(主査) 教授 村垣 善浩 (副査) 教授 岡田 芳和, 小田 秀明

論文内容の要旨

〔目的〕

手術中に腫瘍組織の悪性度・浸潤度を迅速に診断することは非常に重要であり、術前診断の情報と併せて摘出組織を診断した情報は、その後の手術方針決定のために必要な情報である。神経膠腫摘出術においては、浸潤性に広がる腫瘍の性質上、組織の凍結切片による診断により腫瘍摘出範囲が見極められているが、凍結切片であるために不完全な標本となることも少なくない。そこで本研究では、術中迅速診断と同等の時間で摘出組織の迅速解析を行うために、多数の細胞の同時定量解析が可能なフローサイトメトリーによる脳腫瘍組織迅速解析手法を確立することを目的とした。