

学位論文の要旨

学位の種類	博 士	氏 名	谷 智文
学 位 論 文 題 目			
Mechanisms of Autoregulation of Retinal blood flow in Response to Decreased Ocular Perfusion Pressure in Cats; Comparison of Increased Intraocular Pressure and Decreased Systemic Blood Pressure.			
(ネコの眼灌流圧低下による網膜微小循環の反応: 眼圧上昇と全身血圧低下での比較)			
共 著 者 名			
長岡 泰司、中林征吾、吉田 晃敏			
未 発 表			
研 究 目 的			
<p>眼灌流圧は眼動脈圧と眼圧により規定される¹⁾。眼灌流圧の低下は、緑内障に代表される眼圧の上昇、または眼虚血症候群に代表される眼動脈圧の低下により生じる。眼灌流圧の低下により網膜血流量の減少が引き起こされるが、網膜微小循環には眼灌流圧の変動に対して組織血流量を一定にして、組織の代謝活動を維持する網膜局所の自己調節能 (Autoregulation) が存在すると考えられている²⁾。しかし、眼灌流圧低下時における網膜循環調節メカニズムは解明されていなかった。眼灌流圧低下時における網膜循環調節因子を詳細に調べる事は、網膜血流量減少に起因する眼疾患の病態解明及び新たな治療戦略として有用であると考えられる。本研究では、我々の確立したネコ in vivo 実験系を用いて、網膜血管拡張因子である一酸化窒素(NO)に加え、代謝性の網膜循環調節因子であるアデノシンとグルタミン酸に着目し、眼圧上昇と全身血圧低下による眼灌流圧低下を誘発し、網膜微小循環の反応性を検討した。</p>			
材 料 ・ 方 法			
<p>1. 実験動物 実験には成ネコ 50 匹 (体重 2.2-3.6kg) を用いた。セボフルランで全身麻酔後、臭化パンクロニウムにて非動化し、人工呼吸下で実験を行った。平均血圧、心拍数を左大腿動脈へ挿入したカテーテルからモニターした。眼圧を前房内へ刺入した 26G 翼状針から継続的にモニターした。眼灌流圧は、平均血圧と眼圧の差から算出した。</p>			
<p>2. 網膜循環の評価 レーザードップラー眼底血流計を用い、網膜動脈第 1 分枝の血管径と絶対血流速度を同時に測定して絶対血流量を算出した。網膜血管抵抗は眼灌流圧と網膜血流量から算出し、測定部位以下の血管床全体の血管抵抗の指標とした。ベースライン測定は、眼灌流圧低下負荷開始前 10 分間、2 分間隔で測定し、各々の測定値の平均値を 100%とした。</p>			

3. 眼灌流圧低下負荷は、以下の2つの方法により誘発した。

①眼圧上昇群は、前房内と連結した灌流液ボトルを上昇させて誘発し、眼灌流圧は90 mmHg から40 mmHgへ10 mmHg毎に低下させ、各段階で2分間維持し網膜循環測定を行った。

②全身血圧低下群は、右大退動脈からカテーテルを挿入、胸部下行大動脈に留置し、シリンジポンプを用いて脱血することで誘発し、眼灌流圧を90 mmHgから40 mmHgまで連続的に低下させ網膜循環測定を行った。

4. 薬物の硝子体内微量注入

眼圧上昇群、全身血圧低下群ではそれぞれ、以下の①～③の薬剤を片眼の硝子体に50 μ l注入した。

①非選択的NOS阻害剤:NG-nitro-L-arginine-methylester (L-NAME) (100 mM)、

②非選択的アデノシン受容体阻害剤:8-(p-Sulfophenyl)theophylline hydrate (8SPT) (15 mM)、

③NMDA型グルタミン酸受容体阻害剤:DL-2-Amino-5-phosphonopentanoic acid (DL-APV) (5 mM)

全ての薬剤はPhosphate-buffered saline (PBS)に溶解し、基剤のみ硝子体投与したものをそれぞれの対照群とした。

5. 統計学的処理

2群間の比較には、Student's paired t-testを行った。同一群の比較には反復分散分析(one-way ANOVA for repeated measurements)後、Dunnett testを行った。薬物投与群と対照群との比較では、二元配置分散分析(two-way ANOVA)後、Bonferroni multiple range testを行った。危険率5%未満を統計学的有意とした。

成 績

1. 眼灌流圧低下負荷時の全身状態の変化

①眼圧上昇においては、いずれの群においても平均血圧、心拍数、動脈血pH、PaO₂、PaCO₂の変化に有意差はなかった。

②全身血圧低下においては、いずれの群においても負荷後pHが増加したが、それ以外の眼圧、心拍数、動脈血PaO₂、PaCO₂の変化に有意差はなかった。

2. 眼圧上昇による眼灌流圧低下に関する網膜循環動態の変化

対照群(n=8)では、眼灌流圧低下に伴い、血流速度は、眼灌流圧が80 mmHg以下で有意に減少した。血管径は徐々に増加し、眼灌流圧が60 mmHg以下で有意に増加した。血流量は眼灌流圧が70 mmHgまで維持され、眼灌流圧が60 mmHg以下で有意に減少した。血管抵抗は眼灌流圧低下に伴って減少し、眼灌流圧が70 mmHg以下で有意に減少した。

① L-NAMEによる影響

L-NAME投与群(n=5)では対照群と比べ、血流速度の減少反応がさらに増強された。血管径は対照群でみられた増加反応とは逆に、有意な減少を示し対照群との有意差を認めた。血流量は、眼灌流圧が80 mmHg以下から有意に減少し、眼灌流圧低下による血流量の減少反応が、対照群よりもさらに増強された。血管抵抗は対照群でみられた減少反応とは逆に、有意な増加を示し対照群との有意差を認めた。

② 8SPTによる影響

8SPT投与群(n=6)では、血流速度の減少反応は対照群と同様であった。血管径の増加反応は消失したため、血流量の減少反応が対照群よりもさらに増強された。血管抵抗は、対照群でみられた減少反応が消失し、対照群と比較して有意差を認めた。

③ DL-APVによる影響

DL-APV投与群(n=6)では、血流速度の減少反応は対照群と同様であった。しかし血管径の増加反応は対照群よりも有意に減弱されたため、血流量の減少反応は対照群よりもさらに増強された。血管抵抗は対照群でみられた減少反応が消失した。

3. 全身血圧低下による眼灌流圧低下に関する網膜循環動態の変化

対照群(n=7)では、眼灌流圧低下に伴い、血流速度は、眼灌流圧が 80 mmHg 以下で有意に減少した。血管径は徐々に増加し、眼灌流圧が 40mmHg で有意に増加した。血流量は眼灌流圧が 70 mmHg まで維持され、眼灌流圧が 60mmHg 以下で有意に減少した。血管抵抗は眼灌流圧低下に伴って減少し、眼灌流圧が 60mmHg 以下で有意に減少した。

① L-NAME による影響

L-NAME 投与群(n=6)では、血流速度の減少反応が対照群と同様であった。血管径は対照群でみられた増加反応とは逆に、有意な減少を示し、対照群との有意差を認めたものの、血流量の減少反応は対照群と同様であった。血管抵抗の減少反応は対照群と同様であった。

② 8SPT による影響

8SPT 投与群(n=6)では、血流速度の減少反応は対照群と同様であった。しかし血管径の増加反応は消失したため、血流量の減少反応が対照群よりも増強された。血管抵抗は対照群でみられた減少反応とは逆に、有意な増加を示し対照群との有意差を認めた。

③ NMDA 受容体阻害の影響

DL-APV 投与群(n=6)では、血流速度の減少反応が対照群と同様であった。血管径は対照群でみられた増加反応が消失し、眼灌流圧が 60 mmHg で有意に減少し対照群との有意差を認めた。血流量の減少反応は対照群と同様であった。血管抵抗は対照群と同様であった。

考 案

本研究では、眼圧上昇及び全身血圧低下によって眼灌流圧を低下させると、眼灌流圧が 70 mmHg までは網膜血流量が保たれることが明らかとなった。さらに眼灌流圧低下時の血流量維持に共通する代謝性の網膜循環調節因子がアデノシンであること、また眼圧上昇ではアデノシンに加えて NO、グルタミン酸も血流量維持に関与することを初めて明らかになった。

眼圧上昇及び全身血圧低下では、眼灌流圧の低下に伴って血流速度が減少する一方で、それを代償しようとする血管拡張が起こり、血流量は眼灌流圧が 70mmHg まで維持されていた。また、血管抵抗は眼灌流圧の低下と共に減少していた。このことから、眼灌流圧低下による血流量減少を代償するために、測定部位以下に存在する末梢血管も拡張している事が推測された。

眼圧上昇では、L-NAME 投与によって血流速度の減少反応がさらに増強され、血管径は拡張せずにむしろ収縮し、血流量の減少反応がさらに増強された。また、血管抵抗も増加していたことから、眼圧上昇時には、NO が測定部位のみならず末梢血管も拡張させ、血流量を維持している事が推測された。8SPT、DL-APV 投与は血流速度の減少反応は変化なかったが、血管拡張反応が減弱したため、血流量の減少反応はさらに増強された。また、血管抵抗も対照群でみられた減少反応が消失したことから、眼圧上昇時には、NOに加えてアデノシン、グルタミン酸が測定部位のみならず末梢血管も拡張させ、網膜血流量維持に関与している可能性が推測された。

全身血圧低下では、8SPT 投与により、血流速度の減少反応は増強されなかったが、血管径の拡張反応が消失したため、血流量の減少反応はさらに増強された。また、血管抵抗も減少せずにむしろ増加していた。このことから、全身血圧低下時には、アデノシンが測定部位のみならず末梢血管も拡張させ、眼灌流圧低下による血流量減少を代償している事が推測された。

以上の結果から、眼圧上昇と全身血圧低下に共通する「眼灌流圧低下」という条件に対しては、アデノシンによる血流量調節が重要と考えられた。一方「眼圧上昇」という条件に対しては、NO、グルタミン酸による血流量調節が重要と考えられた。これらのことより、同じ程度の眼灌流圧の低下であっても、眼圧上昇による要因によって、網膜血流量を維持する代謝性の網膜循環調節因子が異なる可能性が示唆された。従って、眼灌流圧低下に対する網膜微小循環調節には、眼圧上昇と全身血圧低下の2つの因子に分けて考慮することが重要と考えられた。

結 論

1. ネコを用いて眼灌流圧を低下させると、網膜血流量は、眼灌流圧が 70 mmHg まで維持された。
2. 眼圧上昇、全身血圧低下のいずれにおいても、アデノシン受容体阻害剤の硝子体内微量注入により血流量の減少反応がさらに増強されたことから、アデノシンは眼灌流圧低下時において、網膜血流量維持に関与している事が示唆された。
3. 眼圧上昇では、NO 合成酵素阻害剤、および NMDA 型グルタミン酸受容体阻害剤の硝子体内微量注入により、血流量の減少反応がさらに増強されたことから、NO 及びグルタミン酸は眼圧上昇時の網膜血流量維持に関与している事が示唆された。
4. 以上の結果から、眼灌流圧低下に対する網膜微小循環調節には、眼圧上昇と全身血圧低下の 2 つの因子に分けて考慮することが重要と考えられた。

引 用 文 献

1. Feke GT, Goger DG, Tagawa H, Delori FC. Laser Doppler technique for absolute measurement of blood speed in retinal vessels. *IEEE Trans Biomed Eng* 1987;34:673-680.
2. Robinson F, Riva CE, Grunwald JE, Petrig BL, Sinclair SH. Retinal blood flow autoregulation in response to an acute increase in blood pressure. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1986;27:722-726.

参 考 論 文

1. Yokota H, Nagaoka T, Tani T, et al. Higher levels of prorenin predict development of diabetic retinopathy in patients with type 2 diabetes. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst* 2011;12:290-294.

Mechanisms of Autoregulation of Retinal blood flow in Response to Decreased Ocular Perfusion Pressure in Cats; Comparison of Increased Intraocular Pressure and Decreased Systemic Blood Pressure.

Tomofumi Tani, MD, Taiji Nagaoka, MD, PhD, Seigo Nakabayashi, MD, and Akitoshi Yoshida, MD, PhD

From the Department of Ophthalmology, Asahikawa Medical University, Asahikawa, Japan.

Running title: Autoregulation of Retinal Blood Flow in Response to Decreased OPP

Corresponding author: Taiji Nagaoka, MD, PhD, Department of Ophthalmology, Asahikawa Medical University, Midorigaoka Higashi 2-1-1-1, Asahikawa, 078-8510, Japan (phone: +81-166-68-2543; fax: +81-166-68-2549; e-mail: nagaoka@asahikawa-med.ac.jp).




Supported by a Grant-in-Aid for Scientific Research from the Ministry of Education, Science, and Culture, Tokyo, Japan (A) 19689035 (to T. Nagaoka).

Disclosures: None

Word count: 3992 words; figures: 4; tables: 2

Abstract word count: 262

学位論文の審査結果の要旨

報告番号	第 号		
学位の種類	博士(医学)	氏 名	谷 智文
審査委員長 柏柳 誠  審査委員 高井 章  審査委員 廣川 博之 			
学 位 論 文 題 目 Mechanisms of Autoregulation of Retinal blood flow in Response to Decreased Ocular Perfusion Pressure in Cats; Comparison of Increased Intraocular Pressure and Decreased Systemic Blood Pressure (ネコの眼灌流圧低下による網膜微小循環の反応: 眼圧上昇と全身血圧低下での比較)			
<p>緑内障による眼圧の上昇あるいは眼虚血症候群による眼動脈圧の低下は、網膜血流量の減少を引き起こす。ただし、網膜微小循環系には眼灌流圧の変動に対して組織血流量を一定にして、組織の代謝活動を維持する網膜局所の自己調節能が存在すると考えられている。しかしながら、眼灌流圧低下時における網膜循環調節メカニズムは解明されていなかった。申請者は、眼圧上昇および全身血圧低下により眼灌流圧を低下させたときの、網膜血管拡張因子である一酸化窒素(NO)、代謝性の網膜循環調節因子であるアデノシンとグルタミン酸の役割を検討した。</p> <p>実験には、レーザードップラー眼底血流計を用い、ネコ網膜微小循環の変化を評価した。非選択的アデノシン受容体阻害剤(8SPT)は、眼圧上昇および全身血圧の低下に起因する眼灌流圧低下による網膜循環動態の変化に同様の効果を示した。一方、非選択的 NOS 阻害剤(L-NAME)および NMDA 型グルタミン酸受容体阻害剤(DL-APV)は、眼圧上昇に起因する網膜循環動</p>			

態には有意な変化を引き起こしたが、全身血圧の低下に起因する網膜循環動態には顕著な変化を引き起こさなかった。本研究は、眼圧上昇および全身血圧低下の際には、アデノシンが共通する代謝性の網膜循環調節因子として網膜血流量の維持に関与することを初めて示した。また、眼圧上昇時にはアデノシンに加えてNOとグルタミン酸も網膜血流量維持に関与することを明らかにした。

本論文は、眼灌流圧低下時における網膜循環調節因子を明らかにし、網膜血流量減少に起因する眼疾患の病態解明に寄与することにより、新たな治療戦略の構築に有用であると考えられる。論文内容と関連領域についての各審査委員による試問に対しても適切な回答が得られ、提出者はこの領域において十分な知識を有することが示された。以上の審査結果から、本審査委員会は、本論文が博士（医学）の学位に値するものであると判定した。