

氏 名（本籍）	菅 野 俊 雄 <small>かん の とし お</small>
学 位 の 種 類	博 士（医 学）
学 位 記 番 号	医 第 2 8 7 6 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 8 年 3 月 8 日
学 位 授 与 の 条 件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
最 終 学 歴	平 成 元 年 3 月 24 日 東 北 大 学 医 学 部 医 学 科 卒 業
学 位 論 文 題 目	実 験 的 網 膜 色 素 上 皮 障 害 モ デ ル に よ る 神 經 網 膜 の 変 化 と 網 膜 色 素 上 皮 細 胞 移 植 の 影 響

(主 査)

論 文 審 査 委 員	教 授 玉 井 信 教 授 名 倉 宏
	教 授 高 橋 徹

論 文 内 容 要 旨

網膜色素上皮障害を主座とする疾患の一つである加齢黄斑変性は、加齢変化を背景とする病的な網膜色素上皮が原因と考えられている。重症例では、網膜下の病巣を摘出するが、その場合、網膜色素上皮の欠損を生じることが指摘されている。網膜色素上皮の欠損によって神経網膜はどのような影響を受けるのか、また、欠損を補う方法として網膜色素上皮移植はどのような効果を持つかを、家兎眼を用いて実験的網膜色素上皮障害及び網膜色素上皮移植を施行し、以前より遺伝的網膜変性動物において報告されていた神経網膜の apoptosis に着目し、apoptosis の検出に有効とされる TUNEL 法を用いて検討した。白色家兎を用いて、硝子体切除後、網膜剥離を作製し、意図的裂孔を片眼に行った群、さらに網膜色素上皮搔爬を加えた群、さらに加えて、有色家兎から採取した網膜色素上皮細胞を網膜下に移植した群の三群を作製した。いずれの群とも網膜剥離は復位したが、剥離作製部位の神経線維層に空胞形成が見られ、術後 1 週間でも確認された。どの群でも、術後 3 日までは、意図的裂孔部に TUNEL 陽性細胞を認めたが、術後 1 週間では確認されなかった。網膜色素上皮搔爬群、網膜色素上皮移植群では、術後 2 日と 3 日で、網膜色素上皮搔爬部位に限局して外顆粒層に TUNEL 陽性細胞を認めた。電顕による色素上皮搔爬群の術後 3 日の搔爬部位の神経網膜の観察では、外顆粒層に散在する視細胞の apoptosis と思われる像を認めた。視細胞の生存に網膜色素上皮との相互作用が重要であることが考えられた。術後 3 日では、検出された細胞数は有意に減少 ($p < 0.002$) し、1 週間ではほとんど検出されなかった。組織切片上で外顆粒層の内層から外層までの核数を計測し、剥離作製部位において網膜色素上皮搔爬の有無で比較すると、搔爬した部位の核数が少ない傾向があり、非搔爬部位との核数の差は術後 2 日、3 日と拡大していた。apoptosis による核の減少は、術後 2 日までにピークがあり、結果として 3 日目では搔爬部位の視細胞がより減少した可能性が考えられた。色素上皮搔爬群と色素上皮移植群では、検出された TUNEL 陽性細胞数や外顆粒層の核数において、いずれも有意な差は認めなかったが、組織切片上、移植された細胞に隣接する外顆粒層には、TUNEL 陽性細胞が検出されにくい傾向が見られた。本研究で用いた網膜色素上皮障害眼においては、網膜色素上皮と視細胞の相互作用が、視細胞の生存に重要であり、網膜色素上皮細胞移植は術後早期の局所的な視細胞障害抑制効果を持つ可能性が示唆された。本実験モデルは、今後、視細胞に対する網膜色素上皮の影響を検討し、種々の因子の影響を比較することで網膜色素上皮を主座とする疾患の治療に役立つと考えられた。

審 査 結 果 の 要 旨

近年黄斑部疾患特に加齢性黄斑変性症における外科的療法の発達によってその病態が明らかになった。それは黄斑部網膜色素上皮細胞の機能失調が疾患の本態であり、それにとっもなって脈絡膜から血管新生が網膜下に発生進展するというものである。この疾患を外科的に治療すると必然的に網膜色素上皮細胞が欠損してしまう。この場合の本質的な治療法として考えられたのが網膜色素上皮細胞移植である。現在のところまだ、実験段階を出ないが将来は臨床応用も十分予想されている方法である。

本研究は、色素上皮細胞移植の基礎的な研究として家兎における実験的網膜色素上皮障害モデルで視細胞層およびそれを含めた神経網膜に色素上皮細胞が除去された場合どの様な現象が見られるか（研究1）、およびこの実験モデルで同種色素細胞を移植した場合、どの様な変化が見られるかを研究したものである（研究2）。

研究1では色素上皮細胞を除去した場合、剥離した網膜は直後から復位することが可能であるがその組織をタンネル法（TUNEL法）染色してみると、裂孔作成部位のみならず、色素上皮を搔爬した部位の視細胞層にTUNEL陽性細胞を認めた。細胞数は術後2日目が最大で3日目には減少し、1週間後には検出されなかった。これは色素上皮細胞が存在しない場合、programed cell death（アポトーシス）のメカニズムが働き、一部の細胞は急激に死滅していくことを示す発見である。

研究ではすでに採取しておいた同種色素上皮細胞を除去部位に移植した場合、はっきり有意差をもっては現在のところ示されていないがアポトーシスを示す陽性細胞が少ない傾向を示した。これらの結果は色素上皮細胞が存在することが視細胞生存のために不可欠であることを確認したことはもちろん、それがprogramed cell deathのメカニズムで脱落していくことを示している。さらに同種細胞の移植によっても移植細胞がなんらかのメカニズムで視細胞を保持することに有効に働くことの可能性のあることを示唆している。移植細胞の効果についてはその手技的な困難さもあって、今後の発展に期待するところ大である。しかし、臨床的に網膜剥離や色素上皮裂孔およびその剥離の病態を考えるとときに視細胞層にprogramed cell deathのメカニズムが早期に働いていることを強く示唆する所見を得たことは博士論文に値するものと思われる。