

令和元年6月24日現在

機関番号：10107

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K20297

研究課題名(和文) 後眼部血流と緑内障の病態の関連性の解明

研究課題名(英文) Involvement of posterior ocular blood flow in glaucoma

研究代表者

中林 征吾 (Nakabayashi, Seigo)

旭川医科大学・大学病院・助教

研究者番号：00451469

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,500,000円

研究成果の概要(和文)：当初、緑内障のモデル動物を作成して研究を行う予定だったが、モデル動物を作成できなかったため、網膜静脈閉塞症モデル動物での実験に切り替えた。静脈閉塞が起きた後の網膜動静脈の動的な変化および最終的な血流低下を明らかにした。さらに毛細血管から側副血管が形成される過程を経時的に観察することができた。このモデル動物は、網膜静脈閉塞症の病態解明に役立つ可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでの網膜静脈閉塞症のモデル動物は急性期の実験が全てである。今回は静脈閉塞の発症から経時的に網膜動静脈を観察することができた。今回のモデル動物は、今後の網膜静脈閉塞症の病態解明に役立つ可能性がある。

研究成果の概要(英文)：We tried to create a feline glaucoma model at first, but we could not create it. So, we created retinal vein occlusion (RVO) model and performed an experiment. We revealed that dynamic changes in arterial and venous retinal blood flow after RVO, and eventually decreasing blood flow in arteries and veins. Moreover, we showed that the collateral vessels were formed by dilation of originally existing capillaries. This feline RVO model may lead to further elucidation of the pathogenesis of RVO.

研究分野：緑内障

キーワード：網膜血流 網膜静脈閉塞症

1. 研究開始当初の背景

日本において緑内障は中途失明原因疾患の一位である。緑内障は多因子疾患であり、眼圧による圧障害、血管内皮機能障害、視神経乳頭の血流障害、軸索流障害、虚血再灌流による酸化ストレスなど、様々な因子によって網膜神経節細胞死が起こり、緑内障を発症すると考えられている。緑内障の治療法として、眼圧下降が現在のところ唯一エビデンスのある治療ではあるが、眼圧を十分に下降させても視野障害の進行を認める症例も少なくない。緑内障患者では正常人に比べて、視神経乳頭やその周囲の網膜細動脈の血流が低下しているという報告があるが、この血流低下の詳細な機序については未だ解明されていない。

これまで我々は、レーザードップラー眼底血流計を用いた臨床研究で、糖尿病や網膜静脈閉塞症などの疾患において、網膜循環の障害が深く関与することを明らかにしてきた。in vivo 実験系では、全身麻酔下のネコを用いて低酸素、高酸素、低二酸化炭素、低血圧、高血圧、高血糖、光刺激などの負荷を与えて網膜循環動態を評価し、そのメカニズムについても報告してきた。さらに近年我々は、新たな網膜血流計測機器として、ドップラー光干渉断層計(DOCT)血流計を開発し、網膜微小血管での血流計測を可能とした。今回、緑内障が発症する過程の視神経乳頭とその周囲の網膜の血流変化について、DOCTおよびOCTアンギオグラフィ(OCTA)を用いて測定し、後眼部血流変化と緑内障の発症との関連を検討したい。

2. 研究の目的

緑内障の発症、進行に対して、視神経乳頭とその周囲の網膜の血流障害は密接に関連していると考えられるが、その因果関係は未解明である。今回我々は、緑内障モデル動物を用いて緑内障の発症、進行と網膜血流低下との関連を調べることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 緑内障モデルネコの作成

2つの緑内障モデルを作成することとした。1つはグルタミン酸受容体の一つである N-メチル-D-アスパラギン酸(NMDA)を硝子体に局所投与して、網膜神経節細胞の傷害を惹起させる、比較的進行が早い正常眼圧緑内障モデルである。もう1つは、持続的にエンドセリン-1(ET-1)硝子体投与を行い、視神経乳頭血流低下を起こし、続いて視神経の軸索数減少、網膜神経節細胞層の菲薄化、視神経乳頭の陥凹乳頭径比の拡大が起こる正常眼圧緑内障モデルである。

しかしながら、本実験では緑内障病態モデルの作成を試みたが、うまく作成することができず大幅に時間を費やしてしまったため、緑内障モデルネコを作成することを断念した。

(2) 網膜静脈閉塞症モデルネコの作成

網膜静脈閉塞症は視力低下をきたす代表的な網膜循環障害疾患であるが、その詳細な病態は不明である。過去の網膜静脈閉塞症モデル動物の実験では、全て急性期の実験であり、網膜虚血や新生血管をきたすモデルはほとんどなく、網膜静脈閉塞症モデル動物での経時的な血流変化を観察した研究はない。今回我々は、ネコの網膜静脈にアルゴンレーザーを照射して網膜静脈閉塞症モデルネコを作成し、網膜血管障害を引き起こした際の網膜血流変化、OCTAによる網膜血管の形態変化を経時的に観察した。

(3) 実験動物

成ネコ6匹を用いた。ケタミン塩酸塩、塩酸メドミジン筋肉内注射し不動化した。実験中はカフ血圧計、パルスオキシメータにてバイタルをモニターし、iCare 眼圧計にて適宜眼圧測定を行い、保温マット付き体温計で体温を適温に維持した。

(4) 網膜血流の評価

DOCTを用いて、網膜血管径、網膜血流速度の絶対値を測定することで、網膜血流量を算出した。OCTAは閉塞部位を中心に12×12mmで撮影し、閉塞部付近では3×3mmで詳細に形態変化を観察した。

(5) 実験プロトコル

DOCT、OCTAでベースライン血流を測定した後、乳頭縁から1乳頭径以上末梢側の、動脈と静脈が離れた網膜静脈にアルゴンレーザーを照射して網膜静脈閉塞を作成した。レーザー照射直後、1日、4日、7日、14日目にそれぞれDOCT、OCTAでの網膜血流測定を行い、経時的な変化を観察した。

4. 研究成果

- (1) 全身状態および眼パラメーターの変化
実験中において、全身血圧、心拍数、眼圧、眼灌流圧、酸素飽和度に有意な変化はなかった。
- (2) DOCT での網膜血管主幹部の血流変化
網膜動脈血流はレーザー照射直後はわずかに減少した後、1 日目で有意に上昇し、その後はベースライン血流よりも低下した。網膜静脈血流はレーザー照射後著明に減少し、その後徐々に上昇するがベースライン血流には戻らなかった。
- (3) OCTA での側副血管形成の観察
レーザー照射直後から 1 日目にかけて網膜静脈の拡張が強まり、4 日目には側副血管が形成されはじめ、7 日目に側副血管はほぼ完成した。OCTA 3×3 mm の撮影によって、既存の毛細血管の拡張、蛇行が進展して、側副血管が形成されることが明らかとなった。

本研究の DOCT での血流変化について、網膜静脈閉塞症が起こると、閉塞部の中枢側の静脈では灌流量が減少するために主幹部の網膜静脈血流量は低下し、閉塞部の末梢側では血流がうっ滞することで網膜静脈圧の上昇、毛細血管網の血管圧も上昇し、さらには網膜動脈圧が低下したと推測される。網膜動脈血流が低下すると網膜虚血に陥り、一酸化窒素などの血管拡張物質の産生により、動脈血流が上昇するが、血流量の過剰な増加により網膜出血、網膜浮腫を引き起こし、そのダメージによって網膜への血流需要が低下し、最終的には網膜血流量は低下すると考えられた。

今回の研究では動的な血流変化の詳細なメカニズムは不明であり、さらなる研究を行うことが期待される。本研究で作成した網膜静脈閉塞症モデル動物は、網膜静脈閉塞症の病態解明に役立つ可能性があると考えられた。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 5 件)

- ① Kinouchi R, Ishiko S, Hanada K, Hayashi H, Mikami D, Tani T, Zenimaru T, Kawai M, Nakabayashi S, Kinouchi M, Yoshida A.
A low meat diet increases the risk of open-angle glaucoma in women-The results of population-based, cross-sectional study in Japan.
PLoS One. 2018. 2;13(10):e0204955. doi: 10.1371/journal.pone.0204955. eCollection 2018.
- ② Song Y, Nagaoka T, Yoshioka T, Ono S, Wada T, Nakabayashi S, Tani T, Yoshida A.
Glial Endothelin-1 Regulates Retinal Blood Flow During Hyperoxia in Cats.
Invest Ophthalmol Vis Sci. 1;57(11):4962-4969. 2016. doi: 10.1167/iovs.16-19599.
- ③ Kawai M, Kawai N, Nakabayashi S, Kinouchi R, Yoshida A.
Comparison of intraocular pressure variability in glaucoma measured by multiple clinicians with those by one clinician.
Int Ophthalmol. 2017 Feb;37(1):95-101. doi: 10.1007/s10792-016-0217-4. 2016.
- ④ Nagaoka T, Tani T, Song YS, Yoshioka T, Ishibazawa A, Nakabayashi S, Akiba M, Yoshida A.
Evaluation of Retinal Circulation Using Segmental-Scanning Doppler Optical Coherence Tomography in Anesthetized Cats.
Invest Ophthalmol Vis Sci. 57(7):2936-2941, 2016.
- ⑤ 横山 一弘, 高橋 淳士, 川井 基史, 中林 征吾, 長岡 泰司, 吉田 晃敏. 前眼部光干渉断層計が毛様体解離範囲の同定に有用であった低眼圧黄斑症の 1 例.
臨床眼科 70(9): 1455-1460, 2016.

[学会発表] (計 2 件)

- ① 神谷 隆行, 長岡 泰司, 川井 基史, 中林 征吾, 大前 恒明, 大野 晋治, ターナー 晶, 吉田 晃敏. リパスジル (K-115) は網膜細動脈を拡張させる -摘出網膜動脈での検討-. 第 121 回 日本眼科学会総会, 東京, 2017. 4. 6-9. 第 121 回 日本眼科学会総会, 東京, 2017. 4.
- ② 善岡 尊文, 川井 基史, 谷 智文, 神谷 隆行, 中林 征吾, 秋葉 正博, 吉田 晃敏. 半視野障害の緑内障における網膜血流. 第 121 回 日本眼科学会総会, 東京, 2017. 4. 6-9. 第 121 回 日本眼科学会総会, 東京, 2017. 4.

[図書] (計 2 件)

- ① 中林 征吾, 長岡 泰司. 近視の検査所見 - 網膜脈絡膜血流動態. 専門医のための眼科診療クオリファイ 28. 近視の病態とマネジメント, 中山書店, 98-104, 2016.
- ② 長岡 泰司, 中林 征吾, 石羽澤 明弘. 造影剤を使わない眼底 angiography - OCT angiography と laser speckle flowgraphy. 眼科 58(6): 651-664, 2016.

[その他]

ホームページ等

<http://www.asahikawa-med.ac.jp/dept/mc/ophtha/>

6. 研究組織

(1) 研究協力者

研究協力者氏名: 善岡 尊文

ローマ字氏名: (YOSHIOKA, Takafumi)

研究協力者氏名: 和田 剛成

ローマ字氏名: (WADA, Takanari)