

【別紙 1】

論文の内容の要旨

論文題目 フェレット緑内障モデルの確立と高眼圧による高次視覚中枢神経障害の検討

氏名 藤代貴志

緑内障視神経症(GON)は、組織学的には眼圧が視神経乳頭篩板の変形を来たすことに伴い、網膜神経節細胞(RGC)の軸索である視神経に障害を来し、機能的に視野障害ひいては視力低下を来し失明に至る疾患である。GON は RGC の軸索障害に留まらず視覚路にも影響を及ぼすことが判明しており、ヒトでは視覚中枢である外側膝状体(LGN)や視皮質(V1)の二次的損傷が病理学的に証明されている。したがって、緑内障の治療標的は、RGCとLGN、V1 に焦点を当てて考える必要がある。しかしながら、GONに伴うLGNやV1の障害の時間的および空間的パターンのメカニズムはこれまでのところ完全には解明されていない。サルに匹敵する高度なLGNやV1の分化をもち、両眼視を持つ動物において高眼圧モデルの開発が強く必要とされている。フェレットはヒトのような両眼視を持つ比較的小さな哺乳類であり、今回の実験に用いた。

研究1では、培養した結膜線維芽細胞を前房に注入して隅角からの房水流出を閉塞することにより、眼圧を上昇させる新しい方法を世界で初めて開発した。組織学的な解析で培養された結膜細胞は正常に増殖して隅角を閉塞していた。眼圧は注射後13週間にわ

たり持続的に上昇した。また、眼球の直径は眼圧上昇期間が長くなるにつれ徐々に拡大した。高眼圧の眼の視神経乳頭陥凹拡大とその投射を受けた LGN の障害は、Cholera Toxin B(CTB)による順行性標識によって明瞭に描出することができた。フェレットは、LGN を含む視覚中枢神経系の二次変性を解析するのに有用な実験動物であると考えられた。

次に研究 2 では、高眼圧フェレットモデルで LGN の神経細胞の障害とグリア細胞系の反応を解析した。10 匹のフェレットを用いて、研究 1 と同様にして、高眼圧を誘導した。CTB による順行性軸索の標識を行い、高眼圧眼からの投射を受ける LGN の各層で神経軸索障害を確認した。次に、neuronal nuclei (NeuN)、glial fibrillary acidic protein(GFAP)、および ionized calcium binding adapter molecule 1(Iba-1) に対する抗体を用いて LGN における neuron、astrocyte、microglia を target として免疫染色を行った。高眼圧眼からの投射を受けている LGN の各層において、NeuN 陽性細胞が減少し、一部の層で GFAP および Iba-1 陽性細胞が増加した。

これらの結果から高眼圧フェレットモデルは緑内障の RGC から LGN までの神経系、およびグリア細胞の障害の解析を行うために有用であると考えられ、これまでマウスやラットでは行うことができなかった GON による視覚中枢の解析を行うことができるようになった。当モデルを用いることで、将来的には、眼から脳までを統合的な緑内障の病態を解明し、眼圧下降を

主体とした従来の治療法ではなく、神経の保護を目的としたこれまでに開発されていない神経保護治療の開発につなげて行きたい。