

審査の結果の要旨

氏名福永 久子

本研究は、視力予後や生命予後が不良である疾患も含まれるぶどう膜炎疾患の病態解明を目的に、病態の異なるぶどう膜炎 4 疾患の硝子体液に含まれるサイトカインの病態特異性の検討と、さらに特に感染性ぶどう膜炎で濃度上昇を認めたサイトカインを複合的にヒト網膜毛細血管内皮細胞 (Human Retinal Microvascular Endothelial cells : HRMEC) に作用させた際のサイトカインによる網膜血管への影響を検討したものであり、下記の結果を得ている。

1. まずは、ぶどう膜炎 4 疾患 (眼内リンパ腫 13 眼、サルコイドーシス 15 眼、急性網膜壊死 13 眼、細菌性眼内炎 16 眼) と正常群 (特発性黄斑前膜 15 眼) の硝子体液に含まれる炎症性サイトカインやケモカインなど全 33 項目の濃度を測定し、統計学的に有意差を認める疾患マーカーを検索した。また、ヒートマップやクラスターリング解析を用いて各疾患とサイトカイン分布の特徴を検討した。統計学的解析からは、正常群を含めた 5 疾患比較で急性網膜壊死の IFN- α 2、細菌性眼内炎の interleukin (IL)-6、IL-17A、granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) が有意に高値を示した。また眼内リンパ腫、急性網膜壊死、細菌性眼内炎の 3 疾患比較では眼内リンパ腫の IL-10、急性網膜壊死の RANTES、細菌性眼内炎の IL-22 がさらに有意に高値を示し、病態形成に関与していることが示唆された。また各サイトカイン濃度のカットオフ値は、眼内リンパ腫の IL-10 は 124.9 pg/ml、急性網膜壊死の IFN- α 2 は 3.135 pg/ml、RANTES は 157.9 pg/ml、細菌性眼内炎の IL-6 は 228.0 pg/ml、IL-17A は 15.90 pg/ml、G-CSF は 441.8 pg/ml、IL-22 は 12.26 pg/ml であった。これらのサイトカインは各疾患の免疫特性に関与し、ぶどう膜炎疾患患者の診断マーカーとして有用である可能性が示された。
2. 次に感染性ぶどう膜炎の発症早期に特に濃度上昇を認めたサイトカインである TNF α 、IFN γ 、IL-1 β で HRMEC を刺激し、遺伝子発現を RNA-sequencing により網羅的に解析した。その結果からサイトカイン 3 種の複合刺激下で発現が亢進する遺伝子チミジンホスホリラーゼ (Thymidine Phosphorylase : TYMP) に着目した。ELISA でぶどう膜炎 3 疾患 (サルコイドーシス 18 眼、急性網膜壊死 18 眼、細菌性眼内炎 22 眼) と正常群 (特発性黄斑前膜 13 眼) の硝子体液に含まれる TYMP 濃度を測定したところ、正常群と各ぶどう膜炎疾患の 2 群比較において急性網膜壊死と細菌性眼内炎で有意に高値を示した。プラスミドベクターを用いて HRMEC 内で TYMP を過剰発現させたところ、HRMEC の細胞遊走能、管腔形成能が有意に亢進されることを明らかにし

た。眼内で $\text{TNF } \alpha$ 、 $\text{IFN } \gamma$ 、 $\text{IL-1 } \beta$ のサイトカイン濃度が増加する疾患の場合、TYMP が誘導されることにより網膜血管新生を促進させる可能性が推測され、新規治療標的となりうることが示唆された。

以上、本論文はぶどう膜炎疾患の病態解明を目的に、まずぶどう膜炎患者の硝子体液中サイトカイン濃度を用いて、ヒートマップやクラスタリング解析と統計学的解析を行い、各疾患におけるサイトカイン分布の特徴の検討と疾患特異的に高値となるサイトカインを明らかにし、各々のカットオフ値を算出することにより診断マーカーとしての有用性を検討した。次にヒト網膜毛細血管内皮細胞 (Human Retinal Microvascular Endothelial cells : HRMEC) を感染性ぶどう膜炎の発症早期に硝子体液中の濃度上昇を認めた $\text{TNF } \alpha$ 、 $\text{IFN } \gamma$ 、 $\text{IL-1 } \beta$ で複合刺激することにより誘導される遺伝子チミジンホスホリラーゼ (*Thymidine Phosphorylase : TYMP*) が、HRMEC の細胞遊走能、管腔形成能を有意に亢進させることを明らかにした。この結果から眼内で $\text{TNF } \alpha$ 、 $\text{IFN } \gamma$ 、 $\text{IL-1 } \beta$ のサイトカイン濃度が増加する疾患の場合、遺伝子 TYMP が誘導され網膜血管新生を促進させる可能性が示され、眼科領域において新規治療標的となりうることが示唆された。

よって本論文は博士 (医学) の学位請求論文として合格と認められる。