

論 文 要 旨

Time course of collateral vessel formation after retinal vein occlusion visualized by OCTA and elucidation of factors in their formation
(OCTAにより可視化された網膜静脈閉塞後の側副血行路の経時的変化、およびそれらの形成における要因の解明)

関西医科大学眼科学講座
(指導：高橋寛二 教授)

高橋 元

【研究目的】

網膜静脈閉塞症（Retinal vein occlusion, 以下 RVO）では、主に網膜動静脈交差部に血栓が形成されて発症する。閉塞した静脈の内圧は上昇し、血管壁から血液や浸出液が網膜内に貯留して視力が低下する。血流のうっ滞により血流量が低下すれば、網膜は虚血・低酸素状態に陥り、病的血管新生の原因となる。しかし中には、自然に側副血行路が形成されて治療なしで改善する症例がある。従来 RVO の診断に用いられる蛍光眼底造影検査とは異なり、造影剤の体内投与なしで非侵襲的に網膜血管を描出できる機器である Optical Coherence Tomography Angiography（光干渉断層造影検査、以下 OCTA）が登場し、臨床診断における新たなブレイクスルーとなっている。この検査機器を用いれば、モデル動物の網膜血管を非侵襲的に繰り返し撮像可能となる。RVO における側副血行路形成要因は現時点で不明なことから、我々はマウス RVO モデルを作成し、側副血行路の形成過程をこの OCTA を用いて経時的に観察することとした。一方、脳や心臓など、他臓器において脳梗塞や心筋梗塞に伴う虚血時に側副血行路形成が起こることが知られている。その 1 つのメカニズムとして、血管内皮細胞上に存在する sphingosine 1-phosphate receptor-1（以下 S1PR1）に対し、shear stress が単独で agonist として働き、最終的に一酸化窒素が産生され血管が拡張し、側副血行路が生じると推察されている。我々は RVO においても他臓器と同様のメカニズムで側副血行路が形成される可能性があると考え、RVO における側副血行路の形成に関連する因子を生物学的手法を組み合わせて検討することとした。

【研究方法】

既報を参考に、光感受性物質であるローズベンガルを事前にマウスに注入し、マウス網膜血管にレーザー照射を行って血管を閉塞させ、マウス RVO モデルを作成した。モデル作成後、決まったタイムポイントで網膜血管を OCTA を用いて撮像した。またこのマウスにフルオレセイン色素を注入後網膜を摘出、網膜フラットマウント標本作製し、OCTA で得られた側副血行路が組織ではどうなっているかを確認した。また S1PR1 と RVO との関連性を検討するために、S1PR1 に対する agonist として SEW2871、inverse agonist として VPC23019 をそれぞれマウスに投与した上で RVO モデルの側副血行路がどう変化するか、通常のマウス RVO モデルとの側副血行路形成過程の差異を OCTA を用いて観察した。次に、マウス RVO モデルの網膜を摘出し、qRT-PCR によって S1PR1 の mRNA 量を測定し、血管閉塞後どの時点でどの程度発現しているかを検討した。最後に、マウス RVO モデルの網膜上での S1PR1 蛋白の様子を観察するために、網膜フラットマウント標本作成、免疫化学染色を行って観察した。

【結果】

我々はマウス RVO モデルにおける側副血管形成の経時的变化を OCTA を用いて観察することに初めて成功した。またマウス RVO モデルでは、網膜深層

内でのみ側副血行路が形成されることを、OCTA と組織の両方で確認し、人間の側副血行路と同様であることを確認した。S1PR1 agonist の投与に反応して側副血管の数は増加し、S1PR1 mRNA レベルが血管途絶後 6 時間でピークに達すること、免疫組織化学的染色で、S1PR1 は閉塞された血管にのみ発現していることを明らかにした。

【考察】

本研究により、RVO における側副血行路がどのように形成されていくかを OCTA を用いて明らかにできた。OCTA 画像から人間では側副血行路は網膜深層に形成されると言われていたが、これを組織学的にも証明した。RVO での側副血行路形成の要因の 1 つとして S1PR1 と shear stress の関連があることを証明した。現在の臨床で、RVO に対し抗 VEGF 療法を行っているが、人為的に側副血行路を形成させて病態を改善させる新たな治療法への基礎研究ができた。今後は人体への応用を目指して更に研究を進めていきたい。