



Short wavelength light-induced retinal damage in rats

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-31 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 増田, 光司 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1650

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博論第 373号	学位授与年月日	平成15年 3月 7日
氏 名	増 田 光 司		
論文題目	Short wavelength light-induced retinal damage in rats (ラットにおける短波長光起因性網膜障害)		

博士(医学) 増田 光 司

論文題目

Short wavelength light-induced retinal damage in rats

(ラットにおける短波長光起因性網膜傷害)

論文の内容の要旨

〔はじめに〕

網膜光化学傷害には、比較的低照度の白色光を長時間照射する事により主に視細胞が傷害されるクラスⅠ傷害と、強い白色または短波長の光を短時間照射することにより主に網膜色素上皮(RPE)が傷害されるクラスⅡ傷害、いわゆる青色光傷害の2種類がある。

青色光傷害の研究は、狭いスペクトラム幅のスポット光による局所的網膜傷害をサル、ウサギ、ラットに作成して組織学および検眼鏡的に検討されているが、ラットで広範囲な青色光網膜傷害における網膜機能を網膜電図(ERG)c波を用いて評価した報告は今までにない。照射時間を変化させて短波長光を照射して ERGa、b 波振幅と c 波振幅が減弱するまでの時間を比較し、視細胞と RPE との傷害程度の違いを検討した。

〔材料ならびに方法〕

照射光は 500W キセノンランプ光に熱吸収フィルターと短波長光フィルターを重ねて前置して作成した 300-500nm の短波長光を用いた。

出生後 300lux の 12 時間明/12 時間暗周期光照明環境下で飼育されてきた DA 雄有色ラットを 9 週令の時点で使用した。

ケタミン/キシラジン 125:10mg/kg 混合液の腹腔内注射により麻酔し、点眼による散瞳下で片眼に 30 秒、1 分、3 分、10 分、20 分、60 分および 90 分間光照射を行い、反対眼は照射を行わずに対照眼とした。各照射時間群にそれぞれ 6 匹ずつ使用した。

完全暗室内で 48 時間飼育したのちに同様の麻酔を行い、点眼による散瞳下に、電気的シールドルーム内で室温 33-35℃ で 15 分間暗順応したのち ERG を記録した。

閃電極は cotton wick 電極を角膜上方輪部付近に接触させ、不閃電極は銀-塩化銀皿電極を前額部頭皮上に接着させた。光源は 500W キセノンランプを用いて a、b および c 波の記録を行った。

交流 ERG；刺激時間 0.005 秒、刺激間隔 50 秒で、high cut-off フィルターおよび時定数は 1 kHz および 0.3 秒に設定した。ブラウン管オシロスコープにて 10 回加算平均し、X-Y レコーダーで描出させ a および b 波を記録した。a 波は基線から陰性波の最低点まで、b 波は a 波の底から b 波の頂点までを各々の振幅とした。

直流 ERG；直流増幅器を用いて、刺激時間 5 秒、刺激間隔は 3 分、high cut-off フィルターは 3 kHz に設定し、5 回加算平均して c 波を記録した。振幅は基線から陽性波の頂点までを計測した。

対照眼と照射眼の a、b、c 波振幅を比較し、照射眼の振幅が対照眼のそれより有意に小さくなる最短の時間を閾値照射時間とした。

ERG 記録終了後、3 分と 60 分の照射眼を摘出し、光学顕微鏡により観察した。

〔結果〕

ERG ; a, b 波は照射時間の延長に伴い振幅が低下し、60分以上の照射で対照眼との間に有意差を認めた。一方、c 波は3分の照射ですでに有意な振幅の低下を認めた。

組織学的所見 ; 3分照射眼の後極部において、桿体外節内に RPE の不整な突出が認められた。60分照射眼では、3分照射眼の所見に加えて、桿体外節の空胞化と、外顆粒層および桿体外節の構造の乱れが認められた。

〔考察〕

角膜記録 ERG c 波は RPE 由来の陽性成分と視細胞由来の陰性成分との複合反応であり、c 波振幅の減弱がすなわち RPE 傷害を示すわけではない。照射眼の振幅が対照眼と比較して有意に減弱する閾値照射時間を求めることで、視細胞と RPE の傷害程度を比較してみた。その結果、c 波はわずか3分の照射で既に有意な減弱を認めているのに対し、a, b 波は60分までは有意な振幅の減弱を認めていないことから、この3分から60分までのc波振幅の減弱は視細胞機能低下を伴わずに RPE 機能が低下していることを表現しているものと考えた。

形態的には、3分照射群では桿体外節および外顆粒層の変化は軽度であるにもかかわらず、RPE が桿体外節へ不規則に突出している所見がみられた。これは a, b 波がほぼ正常であるのに c 波が減弱していることに反映されている。一方、60分照射群では、RPE 変化に加えて桿体外節と外顆粒層の変化もより強く、それをうけて a, b, c 波全てが著明に減弱していると考えられる。

〔結論〕

今回の実験により、300-500nm の短波長光により RPE が視細胞より傷害されやすい可能性を示した。しかし、視細胞傷害が短波長光照射による一時的な傷害なのか、RPE 傷害に引き続く二次的傷害なのかははっきりしない。RPE 内の光感受性物質の青色光や長波長紫外線に対する感受性や、その他の複雑な因子が、視細胞と RPE の短波長光傷害の違いを生じさせているものと推測される。

論文審査の結果の要旨

網膜の光傷害は、電気生理学的、形態学的、生化学的研究など広範囲な研究方法により研究されている。これまで短波長光による網膜傷害は、網膜電図(ERG)の中でも、視細胞、双極細胞の機能を示す a 波、b 波に関する研究のものが多く、網膜色素上皮細胞(RPE)の機能を示す c 波を指標とした研究は少なかった。本研究では、短波長による網膜への影響を、a 波、b 波振幅と c 波振幅への影響を比較して調べ、視細胞と網膜色素上皮細胞との傷害程度の違いを検討した。なお、本論文の説明に先立って、申請者が以前に行ったアスコルビン酸やビタミン E の全身投与、ミッドカインの硝子体投与による網膜光傷害の抑制効果の研究についての説明も行われた。

実験動物には9週令の有色 DA 雄ラットを用いて、1眼を光照射の実験に供し、他眼を対照眼とした。短波長(300-500nm)は、キセノンランプ光に熱吸収フィルターと短波長フィルターを前置して作成した。ケタミン/キシラジン腹腔内注射による麻酔下で、30秒、1分、3分、10分、20分、60分および90分間の光照射を行った。光照射後、15分間の暗順応した後に ERG の記録を行った。対照眼と照射眼との a, b, c 波振幅を比較し、照射眼の振幅が対照眼のものよりも有意に小さくなる最短の時間を閾値照射時間

とした。

ERG 記録の終了後、3 分と 60 分の照射眼を摘出して形態学的検索も行った。

ERG の結果では、c 波は 3 分の照射で振幅の有意の減少を認めたが、a 波、b 波は 60 分以下の光照射では有意の振幅の減少を認めなかった。このことから 3 分から 60 分までの c 波振幅の減弱は視細胞機能低下を伴わずに網膜色素上皮機能が低下していることを示していると考えられた。形態学的にもこれを裏付ける所見が得られた。短波長光の短時間照射で視細胞よりも網膜色素上皮の方が傷害を受けやすいことは、網膜色素上皮細胞内の光感受性物質の存在の関与などが考えられたとしている。また視細胞傷害が短波長照射による一次的傷害なのか、網膜色素上皮細胞の傷害に引き続く二次的傷害なのかは不明であるとしている。

本研究は、従来の網膜光傷害の研究では、あまり検討されなかった短波長光の網膜色素上皮細胞への影響を ERG の c 波を検討することで明らかにしたものであり、この点が論文審査委員会で評価された。

審査の過程において、審査委員会は次のような質問を行った。

- 1) 成長因子が網膜の光傷害に効果があった理由は
- 2) 短波長光の網膜の光傷害を白色光によるものと比較して差異があったか
- 3) 短波長の光が網膜色素上皮細胞に傷害を与えた理由は
- 4) ラット水晶体の光吸収スペクトルは
- 5) 網膜光傷害は、持続光と断続光とでは違いがあるか
- 6) 網膜光傷害を抑制する抗酸化剤は
- 7) 本研究の結果は光傷害における活性酸素の観点からどのように説明がつくか
- 8) 可視光による網膜光傷害の機序は
- 9) 本研究での網膜光傷害で、可逆性と不可逆性とはどの照射時間で分かれるか
- 10) 本研究は臨床的にどのように結びつくか
- 11) 網膜光傷害モデルのアスコルビン酸の変動はあるか
- 12) ラット網膜の視細胞外節の turn over の時間は

これらの質問に対し申請者の解答は適切であり、問題点も十分理解しており、博士(医学)の学位論文にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者	主査	平 光 忠 久	
	副査	浦 野 哲 盟	副査 岩 崎 聡