

主論文の要旨

Biological Characteristics of Subs silicone
Oil Fluid and Differences
With Other Ocular Humors

〔 シリコーン下液の生物学的な特徴と他の眼内の液体との違い 〕

名古屋大学大学院医学系研究科 総合医学専攻
頭頸部・感覚器外科学講座 眼科学分野

(指導：寺崎 浩子 教授)

清水 英幸

【緒言】

難治性の網膜疾患は数多くあるがその中でも代表的な疾患は、網膜剥離 (retinal detachment : RD)、増殖硝子体網膜症 (proliferative vitreoretinopathy : PVR)、増殖糖尿病網膜症 (proliferative diabetic retinopathy : PDR) である。これらの疾患に対する主な治療法として硝子体手術があげられる。硝子体手術では、網膜が剥離していた場合ガスを眼内に注入して網膜の復位を目指す。ガスでの復位が難しい場合にはシリコーンオイル (SO) を使用する。SO はポリジメチルシロキサンという成分で高い表面張力があり、ガスと違い眼内から消失しないので長期間のタンポナーデ効果がある。SO は 1960 年代に初めて硝子体手術の眼内充填剤として使用され、その後は大規模な臨床研究がなされ SO の功罪が明らかになってきている。SO 充填中や抜去後の緑内障や原因不明の視力障害を引き起こすことが報告されている。また網膜下への SO 迷入といった合併症も報告されている。一方これらの合併症とは異なり、SO を使用したい症例にのみ稀に見られる原因不明の視力低下を生じることが近年報告されており、これらは SO-related vision loss (SORVL) と呼ばれている。

以前我々の研究では SO 注入眼で網膜と SO の間のスペースに眼内液が溜まることに着目し、その液体をシリコーンオイル下液 (SOF) と名付けた。SOF は網膜に直接接するため、我々はこの SOF に関する何らかの因子が SORVL の原因となっているという仮説を立てた。そして PVR の SOF は RD に比べて有意に interleukin (IL) -10、IL-12p40、IL-6、monocyte chemoattractant protein (MCP) -1、vascular endothelial growth factor (VEGF) の濃度が高値であること、重症 PDR の SOF は単純な PDR に比べて有意に fibroblast growth factors (FGF) -2、IL-10、IL-12p40、IL-8、VEGF の濃度が高値であること、重症 PVR の SOF は単純な PVR に比べて有意に IL-6、TNF- α が高値であることを報告したが新たな課題も生じた。

そこで我々は SOF の生物学的な特徴や機能をさらに詳しく検討するため、前房液、硝子体液の炎症性サイトカイン、電解質、SOF を培地に添加した場合のヒトミュラー細胞の細胞生存率を測定した。

【対象及び方法】

RD、PVR、PDR 計 57 眼の SOF、前房液 22 眼、黄斑円孔 (macular hole : MH) の硝子体液 11 眼を用いた (Table 1)。前房液と SOF 中のサイトカイン (FGF-2、IL-10、IL-12p40、interferon[IFN]- γ 、IL-6、IL-8、MCP-1、tumor necrosis factor[TNF]- α 、VEGF、IL-1 β) ならびに硝子体液と SOF 中の電解質 (Na、K、Cl、Ca、Fe、Mg、Zn) を測定した。前房液は有水晶体眼 (13 眼) と人工レンズ挿入眼 (9 眼) に分けて分析した。

SO 注入後 1 か月と SO 抜去直前の網膜の厚みを計測した。計測した網膜の厚みは中心窩を中心とした 1000 μ m の範囲で、early treatment diabetic retinopathy study (ETDRS) に従って 5 区画に分画してそれぞれ計測し、平均の厚みも算出した。網膜の厚みの変化率と SOF のサイトカインの関係を解析した。

ヒトミュラー細胞に対する SOF の影響を調べるために、MIO-M1 細胞培地中に RD、

PVR、PDR、MH の SOF (50% v/v) を投与して細胞生存率を WST-1 法を用いて評価した。

得られた数値は means ± standard error (SE ; n = number of samples) で表記した。前房液、硝子体液、SOF のサイトカイン濃度の比較には、クラスカル=ウォリス検定を用いて P 値が 0.05 より小さい場合、シェッフエの多重比較検定を適応して更に解析した。網膜の厚みの変化率と SOF のサイトカインの関係をスピアマンの順位相関係数を用いて分析した。すべての解析において P 値は 0.05 より小さい場合を有意差があるとした。

【結果】

SOF は前房液に比べて MCP-1 (8526 ± 1092 vs 5559 ± 607 pg/mL)、IL-8 (85.72 ± 8.94 vs 61.89 ± 5.89 pg/mL) 濃度が有意に高かった (Table 2)。有水晶体眼でも人工レンズ挿入眼でも同様の結果が得られた (Figure 1)。

SOF と硝子体液のサイトカイン濃度に有意な差はなかった (Table 3)。

PDR と RD の中心窩と網膜の平均の厚み (ETDRS の 5 範囲) は SO 注入後厚くなっていた。反対に PVR のそれは SO 注入後薄くなっていた。PVR、PDR、RD の網膜の厚みの変化に有意な差は認められなかった (Table 4)。

RD、PVR、PDR の中心窩と網膜の平均の厚みの変化量に有意な正の相関が認められた ($r=0.66$ 、 0.94 、 0.69 ; $P<0.05$ 、 0.01 、 0.01)。PDR の眼では SO の充填期間と SOF 中の IL-6 ($r=0.66$ 、 $P<0.05$)、IL-8 ($r=-0.45$ 、 $P<0.01$) に正と負の相関が認められた。SO を充填している期間の網膜の厚みの変化量はサイトカインの濃度と有意な相関はなかった (Table 5)。

SOF は硝子体液に比べて有意に Fe 濃度が低値であった (1.07 vs 4.00 mmol/mL)。Na、K、Cl、Ca、Mg、Zn の SOF 中の濃度は 146.90 、 4.23 、 117.80 、 1.21 、 1.21 、 1.70 mmol/mL であり、硝子体液中の濃度は 145.90 、 4.38 、 120.60 、 1.47 、 1.52 、 1.58 mmol/mL であった。これらの電解質は SOF と硝子体液で有意な差はなかった (Figure 2)。

WST-1 法では MH の硝子体液混和培地 (1.00 ± 0.04) に比べ、の RD、PVR、PDR の SOF 混和培地の細胞生存率 (RD 1.20 ± 0.04 、PVR 1.09 ± 0.04 、PDR 1.23 ± 0.03) は有意に高値だった (Figure 3)。

【考察】

硝子体手術時の SO 眼内充填はよく行われてきたが、SORVL が認識されてきたのは最近である。今回 SOF が SORVL への重要な役割を果たしているのではないかと仮定して炎症性サイトカインと電解質を解析した。

SOF は前房液より IL-8 と MCP-1 の濃度が有意に高く、両者は炎症性サイトカイン濃度において同一ではないことがわかった。加えて有水晶体眼、人工レンズ挿入眼どちらでも同様の結果であったことから、炎症性サイトカイン濃度の違いはレンズの状態に依存していなこともわかった。

硝子体液と SOF のサイトカイン濃度に有意な差が認められなかったのは、硝子体液を採取する硝子体手術時の疾患の重症度によってサイトカイン濃度がかなり異なって

いたからかもしれない。例えば重症の PDR の場合、手術前に抗 VEGF の硝子体注射やレーザー光凝固が眼内のサイトカインの濃度に影響を与えている。

網膜は糖尿病黄斑症や嚢胞状浮腫の場合厚くなるが、PDR などの疾患では網膜の菲薄化が問題となっていることもある。網膜の厚みは網膜疾患の病勢を反映している可能性がある。網膜の厚みとサイトカインの濃度に関係性が認められなかったのはこのためだと考えられる。

PDR の眼で SO タンポナーデ期間と IL-6 に正、IL-8 に負の相関があることがわかった。IL-6 は炎症誘発性サイトカインであり、IL-8 は眼内の炎症や血管新生に重要な働きをするという報告がある。PDR は慢性的な炎症の疾患でありこれらのサイトカインが網膜に影響を与えている可能性が示唆された。

硝子体手術の際には網膜の最内層である内境界膜 (ILM) を剥離する。ILM はミュラー細胞の基底膜と考えられている。ミュラー細胞は SOF から大きな影響を受ける細胞の 1 つとして捉え、ヒト網膜ミュラー細胞株である MIO-M1 細胞を用いて MTT アッセイを行った。炎症疾患ではない MH の硝子体液に比べて PVR、PDR、RD の SOF を添加した時の細胞生存率は有意に高かった。ミュラー細胞は複数の栄養因子を分泌しているので、SOF 中のサイトカインがミュラー細胞に影響を与えて SO 注入眼の生物学的な変化をもたらしている可能性が示唆された。ただ他にも網膜には網膜神経節細胞といった視機能に関して重要な働きをする細胞もあるので更なる検討が必要である。

SOF は硝子体液より有意に Fe 濃度が低下していることがわかった。過去の方角では K が網膜毒性を有しているという報告があったが、K の濃度に有意な差はなかった。この低 Fe 濃度が何を意味しているのか、今後さらなる検討が必要である。

【結語】

SO を充填している期間に網膜の厚みと炎症性サイトカインの濃度は有意な差はなかった。一方で SOF は炎症性サイトカイン濃度が高く、Fe の濃度が低いことが確認された。この低 Fe 濃度が前房液や硝子体液と生物学的な違いを生んでいる可能性があると考えられた。