

【 1 】

氏 名	伊 藤 栄
学位の種類	博士（医学）
学位記番号	甲第717号
学位授与の日付	平成31年3月6日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項 (眼科学)
学位論文題目	Reduced aqueous humour ascorbic-acid concentration in women with smaller anterior chamber depth (浅前房の女性における房水中アスコルビン酸濃度の低下)
論文審査委員	(主査) 教授 麻 生 好 正 (副査) 教授 杉 本 博 之 教授 藤 田 朋 恵

論 文 内 容 の 要 旨

【 背 景 】

ヒトの房水中アスコルビン酸濃度は血中の20倍以上高値であることが知られている。房水中のアスコルビン酸濃度が高い理由としては、紫外線フィルターとしての働きや、組織での細胞外マトリックスを調整していることなどが考えられている。加えて、アスコルビン酸は角膜や水晶体、その他の眼内組織を酸化ダメージから守っており、眼のradical scavengerとしての働きも考えられている。

白内障手術における超音波乳化吸引術ではフリーラジカルを生じることで、角膜内皮細胞を障害することが知られている。対照的に、眼内灌流液に抗酸化物質であるアスコルビン酸を加えると角膜内皮細胞への障害が減少することが報告されている。また、短眼軸の眼では超音波乳化吸引術後の角膜内皮細胞減少のリスクが高いことが報告されており、眼軸長と前房深度が強い正の相関を示すことから、短い前房深度が白内障術後の角膜内皮細胞減少のリスクとして検討されている。しかしながら、我々の知る限り、前房深度と房水中アスコルビン酸濃度について調べた報告はない。

【 目 的 】

白内障患者において、前房深度と房水中アスコルビン酸濃度の関係について調べた。

【 対象と方法 】

本研究はヘルシンキ宣言に従い、獨協医科大学の生命倫理委員会の承認 (I-15-51) を得て、指針に従い行った。

2017年4月～2018年1月に獨協医科大学及びその関連施設で小切開白内障手術を行った223人を対

象とした。遺伝性白内障、外傷性白内障、内眼手術の既往、レーザー手術の既往、先天性眼疾患、角膜疾患、急性感染症、ぶどう膜炎、緑内障、網膜疾患、落屑症候群、腎不全、摂食障害、認知症、全身性炎症疾患のある患者は本研究から除外した。また、浅前房により50 μ Lの房水を採取できない症例も除外した。最終的に、97人165眼を対象とした。

全ての臨床評価項目（裸眼視力、最高矯正視力、眼内圧、水晶体核硬化度、角膜内皮細胞密度、眼軸長、前房深度、中心角膜厚）は白内障手術前に評価した。房水検体は麻酔後、手術の初めに、30G針をつけたツベルクリンシリンジで角膜輪部から直接穿刺し採取した。房水検体、血液検体共に最終食事から5時間経過した時点で採取した。

アスコルビン酸は高速液体クロマトグラフィー電気化学的検出法を用いて測定した。10%メタリン酸で酸性処理した検体を35mM tris (2-carboxyethyl) phosphine hydrochlorideで2時間水上にて還元し、total AA (L-ascorbic acid + dehydroascorbic acid) として測定した。

データ分布の正規性はヒストグラムとShapiro-Wilk testを用いて調べた。カテゴリーデータはMann-Whitney U testを用い、連続変数はindependent Student's t-testsを用いて検討した。また正規分布に従ったデータはPearson's correlation coefficientを求め、正規分布に従わなかった場合はSpearman's rank correlation coefficientを求めた。前房深度と房水中アスコルビン酸濃度の関係は共変量（年齢と血中アスコルビン酸濃度）によって統計学的に調整し、部分相関係数を求めた。P < 0.05を有意とした。

【結 果】

対象には男性42人70眼、女性55人95眼を含んでおり、房水中アスコルビン酸濃度は男性で有意に低かった（ $1535 \pm 326 \mu\text{mol/L}$ vs. $1733 \pm 355 \mu\text{mol/L}$, P < 0.001）。女性では、房水中アスコルビン酸濃度は年齢(r = -0.206, P = 0.045)、前房深度(r = 0.339, P < 0.001)、血中アスコルビン酸濃度(r = 0.316, P = 0.002)と統計学的に有意に相関していた。男性では房水中アスコルビン酸濃度は血中アスコルビン酸濃度 (r = 0.420, P < 0.001) と統計学的有意に相関していた。男女共に眼軸長と房水中アスコルビン酸濃度に統計学的有意な相関は認められなかった。女性では共変量（年齢、血中アスコルビン酸濃度）で調整した後も、房水中アスコルビン酸濃度と前房深度に正の相関（partial.r = 0.275, P = 0.009）を認めた。

【考 察】

前房深度と房水中アスコルビン酸濃度の関係を調べた研究は今までにない。今回、女性では年齢、血中アスコルビン酸濃度の影響を加味した上でも、前房深度と、房水中アスコルビン酸濃度に正の相関を認めることが確認された。

白内障手術においてアスコルビン酸を添加すると、超音波により生じるフリーラジカルを直接スカベンジし、角膜内皮細胞へのダメージを減少することが報告されている。また、アスコルビン酸は角膜内皮細胞に吸収され、細胞内の酸化ストレスに対する防御因子としても働いており、角膜内皮細胞の治癒、移動、再生において重要な役割をしていることも考えられている。犬では、白内障手術後15日経っても房水中アスコルビン酸濃度の低下が認められており、房水中アスコルビン酸濃度が低い患

者では術後早期から中長期にかけて、酸化ダメージの影響を受けやすい可能性が考えられた。今回の研究からは、房水中アスコルビン酸濃度と角膜内皮細胞の直接の関係を調べることは出来ず、白内障術後の角膜内皮細胞減少における房水中アスコルビン酸濃度の影響を調べるためには、今後前向きな縦断研究が必要となる。

今回、女性では前房深度が短い程、房水中アスコルビン酸濃度が低かった。このことは、前房深度の短い女性では房水中にアスコルビン酸を輸送する能力が低いことが推察された。近年、ヒトの毛様体上皮でアスコルビン酸トランスポーターの発現が確認されている。また、房水中アスコルビン酸濃度が低くなるようなアスコルビン酸トランスポーターの遺伝子多型が確認されており、今回の結果を裏付けるためには、今後前房深度とアスコルビン酸トランスポーターの関係についても調べる必要があると考えられた。

【結 論】

本研究では、女性において前房深度と房水中アスコルビン酸濃度に正の相関があり、前房深度の浅い女性では房水中アスコルビン酸濃度がより少ないことを明らかにした。このことは、浅前房の女性では房水中の還元力が低く、より酸化ダメージを受けやすいことを示唆しているのかもしれない。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

【論文概要】

ヒトの房水中アスコルビン酸濃度は血中の20倍以上高値であり、アスコルビン酸は鋭敏な抗酸化物質であるため眼のradical scavengerとしての働きが考えられている。一方、角膜と水晶体に囲まれた空間である前房が浅くなると、白内障術後に角膜内皮細胞が大きく減少する可能性が議論されてきた。浅前房で白内障術後に角膜内皮細胞が減少し易くなる原因については未だ解明されていない。申請論文では、房水中アスコルビン酸濃度と眼の前房深度との関連性を明らかにすることを目的として、白内障手術を受けた患者97人165眼について検討している。結果、1) 平均の房水中アスコルビン酸濃度は女性と比較し男性で低かったこと、2) 女性では、房水中アスコルビン酸濃度は年齢 ($r = -0.206, P = 0.045$)、前房深度 ($r = 0.339, P < 0.001$)、血中アスコルビン酸濃度 ($r = 0.316, P = 0.002$) と相関し、男性では房水中アスコルビン酸濃度は血中アスコルビン酸濃度 ($r = 0.420, P < 0.001$) と相関していたこと、3) 女性では共変量 (年齢、血中アスコルビン酸濃度) で調整した後も、房水中アスコルビン酸濃度と前房深度に正の相関 (partial $r = 0.275, P = 0.009$) があることを明らかにしている。これらの結果から、前房深度の短い女性では房水中アスコルビン酸濃度が低い傾向にあり、房水中の還元力が低く、より酸化ダメージを受けやすい可能性があることと結論づけている。

【研究方法の妥当性】

申請論文では、房水中アスコルビン酸濃度に影響を与えうる疾患を除外した症例を用いて、標準的な実験方法である高速液体クロマトグラフィー電気化学的検出法によりアスコルビン酸濃度を測定している。サンプル採取の方法も統一しており、房水中アスコルビン酸濃度に対する食事摂取の影響を考慮するために、血中アスコルビン酸濃度を用いて統計学的に調整している。適切な対象群の設定と

客観的な統計解析を行っており、本研究方法は妥当なものである。

【研究結果の新奇性・独創性】

前房深度は白内障術後の角膜内皮細胞減少のリスクとして検討されたが、その病態形成における背景は明らかではない。申請論文では、豊富な症例を用いて、女性での房水中アスコルビン酸濃度と前房深度との相関を明らかにし、前房深度の短い女性において眼の酸化ストレスへの脆弱性がある可能性を初めて示した。この点において本研究は新奇性・独創性に優れた研究と評価できる。

【結論の妥当性】

申請論文では、多数の症例を、適切な対象群の設定の下、確立された実験手法と統計解析を用いて、房水中アスコルビン酸濃度と前房深度との関連性を検討している。そこから導き出された結論は、論理的に矛盾するものではなく、また、眼科学、統計学、生化学など関連領域における知見を踏まえても妥当なものである。

【当該分野における位置付け】

申請論文では、房水中の抗酸化物質であるアスコルビン酸の濃度と、眼の前房深度の距離との関係性を検討し、その結果、房水中アスコルビン酸濃度が前房深度の短い女性で低い傾向にあることを明らかにしている。これは、白内障手術時の抗酸化力の指標となるのみならず、他の前房深度が短いことにより生じる疾患（レーザー虹彩切開術後水疱性角膜症、閉塞隅角緑内障）の発症機序や疾患単位の研究の進歩にも大いに役立つ大変意義深い研究と評価できる。

【申請者の研究能力】

申請者は、臨床眼科学や生化学の理論を学び実践した上で、作業仮説を立て、実験計画を立案した後、適切に本研究を遂行し、貴重な知見を得ている。その研究成果は当該領域の国際誌への掲載が受理されており、申請者の研究能力は高いと評価できる。

【学位授与の可否】

本論文は独創的で質の高い研究内容を有しており、当該分野における貢献度も高い。よって、博士（医学）の学位授与に相応しいと判定した。

（主論文公表誌）

Scientific Reports

(9 : 372, 2019)