

## 論文審査の要旨および結果

### 1 論文審査の要旨および結果

審査は、1)体裁を整え、新規性があり、明確に十分な根拠があるか、2)科学および獣医学の発展に寄与する内容であるかの2点を重点に行われた。

#### 論文の概要について

眼球はその発生学上、早期に他の体組織から分離され、解剖学的ならびに免疫学的に閉ざされた特有の世界を有する。本論文は動物の眼球疾患の病態理解の向上を目的として、眼球内の免疫を司る抗原提示細胞（マクロファージ；Mφ）ならびに硝子体細胞の形態学的知見を得る事を目的としたものである。ウマの眼球をモデルに組織学的ならびに免疫組織化学的に検索を行い、これらの細胞を主体に形態学的特徴ならびに眼球組織内における分布を明らかにした。また、得られた知見を活用して、腫瘍免疫にかかわるMφの役割を、イヌの眼球ならびに口腔粘膜に発生する黒色腫(MT)の生物学的性状の解明を試みた。その結果、両腫瘍の悪性度とMφ浸潤を指標にした腫瘍微小環境との間には明確な関連性があり、両腫瘍の生物学的性状にMφが重要な役割を果たしている可能性を明らかにした。

#### 研究の背景と目的

動物の眼球には多岐に渡る病態が報告されている。これらの病態を理解する上で、健常眼球組織における組織学的および免疫組織化学的基礎知識の集積が必要不可欠であるが、その知見は乏しい。本研究では、ウマの眼球をモデルとして、これらの基礎的知見の一端を得ようとするものである。眼は、視覚器として他の体組織とは異なり独特の発生過程を踏む。また、免疫特権と呼ばれる免疫学的特性を持つ。近年、腫瘍免疫にかかわるMφの研究が進み、腫瘍細胞の分化や悪制度の評価に活用する研究が進んできている。本研究では、ウマ眼球のぶどう膜在住CD163陽性細胞とMHC II陽性細胞の分布、さらに硝子体細胞の組織形態学ならびに免疫組織化学的特徴とその分布を明らかにする事を目的としている。さらに、腫瘍におけるMφの役割を検討するために、イヌの眼球と口腔粘膜に発生するMTを用いて比較免疫組織化学的検索を行った研究である。

#### 研究の成果

第1章. ウマ眼球の構成各組織の組織学的特徴を検索し、さらに抗 vimentin, pan-cytokeratin, desmin, glial fibrillary acidic protein, neurofilament, CK 8, CK 18,  $\alpha$ -smooth muscle actin, neuron specific enolase, synaptophysin, chromogranin A, S100 protein 抗体を用いて、各組織における免疫組織化学的特徴を検索した。組織

学的検索では過去に報告されているウマ眼球が有する特徴とほぼ一致した。また、免疫組織化学的検索では、角膜内皮細胞と毛様体色素上皮細胞における **cytokeratin** の発現が特徴的であった。その他、ウマの各眼球組織とヒトを含めた他の動物との各組織での各抗体の発現性における相違性が明らかとなり、それぞれの動物で構成する細胞の免疫組織化学的特性に違いがあることが明らかになった。

第2章. ぶどう膜組織における抗原提示細胞 (MHC II 陽性細胞, CD163 陽性細胞, CD20 陽性細胞) の分布を検索した。その結果, 多型性に富んだ MHC II 陽性細胞および CD163 陽性細胞の分布が認められ, 毛様体が両陽性細胞の最大分布組織であることが判明した。さらに MHC II 陽性細胞と CD163 陽性細胞の形態と分布領域の比較により, MHC II 陽性樹状細胞の分布が明らかになったが, CD20 陽性細胞は認められなかった。これらのことより, ウマのぶどう膜における MHC II 陽性細胞と組織マクロファージの分布が明らかになり, さらに樹状細胞の分布が示唆された。

第3章. ウマ眼球における硝子体細胞の組織学的ならび免疫組織化学的特徴およびその分布について検索した。ウマ硝子体細胞は, 胎仔期から出生後にかけて増加し, 組織学的に4型に分類される多型であり, 毛様体硝子体皮質領域に分布する細胞であった。さらに, ウマ硝子体細胞は CD163 と MHC II に陽性である免疫組織化学的特徴を有していることから, ウマの硝子体細胞は, 多型性に富む組織マクロファージで MHC II 抗原保有細胞であることが明らかになった。

第4章. イヌの眼球および口腔に発生した MT を用いて, 組織学および免疫組織化学的悪性度と CD163 陽性マクロファージ浸潤の関連性について検索した。眼球 MT では, 組織学的に良性と悪性に分類された中で, 組織学的悪性度に相関する CD163 陽性マクロファージの浸潤増加が認められた。口腔 MT では, 組織学的に全て悪性である3組織型に分類された中で, 眼球 MT と優位差のある CD163 陽性マクロファージ浸潤が認められた。さらに, 眼球と口腔 MT における腫瘍増殖活性指数と CD163 陽性マクロファージ浸潤に正の相関性が認められた。

本研究は, ウマ眼球において毛様体がウマ眼球の免疫恒常性機構や眼球炎症および免疫介在性疾患の起爆や波及に, その中心的役割を担う組織である可能性を明らかにした。また, ウマ硝子体細胞のその分布と免疫組織化学的特徴より, ウマ硝子体細胞は眼球疾患, 特に後房内における眼球疾患の病態に関与する可能性を有する細胞であると考えられた。イヌの眼球と口腔に発生する MT における悪性度に CD163 陽性マクロファージ浸潤が関連し, それらの腫瘍進行に重要な役割を果たし, 眼球と口腔粘膜の MT の発生部位で異なる腫瘍の生物学的性状に関与していることを明らかにした。

## 研究の評価

本研究論文は規定の体裁を整え, 各章の研究ではそれぞれ, 十分の科学的根拠を元にした新規性を有しており, 獣医学とくに眼科病理学分野のみならず眼科臨床分野にも大

きく貢献するものと考えられる。

以上のことから、佐野悠人氏は博士（獣医学）の学位を授与されるに十分な資格を有すると審査員一同は認めた。

## 2 最終試験の結果

審査委員3名が最終試験を行った結果、合格と認める。

2016年 2月17日

### 審査委員

|    |    |    |    |
|----|----|----|----|
| 主査 | 教授 | 谷山 | 弘行 |
| 副査 | 教授 | 竹花 | 一成 |
| 副査 | 教授 | 横田 | 博  |