

## 博士学位論文

### 学位論文内容の要旨および審査結果の要旨

氏 名 久保 明

学位の種類 博士（獣医学）

学位授与の条件 酪農学園大学学位規程第3条第4項に該当

学位論文の題目 イヌの緑内障発生状況と視覚予後調査ならびに眼房水のタンパク質解析、眼組織における免疫組織化学的研究

### 審査委員

主査 教授 中出 哲也（画像診断学）  
副査 教授 廉澤 剛（獣医臨床腫瘍学）  
副査 准教授 松田 一哉（獣医病理学）  
副査 准教授 前原 誠也（獣医眼科学）

## 学位論文要旨

イヌの緑内障発生状況と視覚予後調査ならびに  
眼房水の蛋白質解析、眼組織における免疫組織学的研究

酪農学園大学大学院獣医学研究科

獣医学専攻

伴侶動物医療教育分野 久保 明

近年、ヒトの緑内障では診断技術や診断機器の進歩によって緑内障発症リスクの判定や早期診断が可能となってきている。いっぽう、動物、特にイヌの緑内障の診断は、ヒト医療で用いられる高度な診断技術や診断機器の応用は困難であり、未だに特徴的な臨床症状と眼圧測定に頼らざるを得ず、その結果として診断に至った時点では既に病勢が進行し、重度な視覚障害を生じている、またはすでに失明してことが多い。したがって、イヌの緑内障治療成績向上のためには、より早いステージでの診断が重要であると考えられ、そのためには臨床症状や眼圧測定以外の臨床応用可能で再現性のある客観的な診断パラメーターの作出が重要と考えられる。本研究では、イヌの緑内障診断と治療における課題を検討、確認するために、獣医眼科の二次診療施設におけるイヌの緑内障発生状況と緑内障治療による視覚予後要因について回顧的に調査するとともに、イヌの緑内障についての病態解析ならびに早期診断のための新たな診断パラメーターの作出を目的として、イヌの緑内障症例の眼房水における蛋白質の網羅的解析および眼組織の免疫組織化学的検索を実施した。

第 I 章のイヌの緑内障発生状況調査では、特に品種差や性差、続発緑内障における併発眼病変について欧米での調査とは異なる成績となった。いっぽうで、柴犬における原発緑内障の好発傾向については日本における以前の調査報告と一致する成績であった。欧米の調査成績との相違は調査が行われた地域のイヌの飼養状況の違いが影響していると推測された。また、初診時の視覚維持率は既報に比べると著しく低い成績であり、イヌの緑内障において良好な視覚予後を確保するには、より早期に適切な診断、治療を開始することが重要であると改めて確認された。緑内障治療による視覚予後調査では、AGV（アーメド緑内障バルブ）手術を併用した場合、内科的治療のみよりも視覚予後が良好であること、また、内科的治療の

みを行った場合、柴犬では他の犬種に比べて視覚予後が不良であることが統計学的に確認された。以上より適切な症例で長期の視覚維持を期待する場合は、AGV手術を行うべきであると考えられ、特に柴犬ではより積極的にAGV手術を検討する必要があると考えられた。

第II章では、イヌの緑内障症例における新たな診断パラメーター作出のための網羅的検索として、正常犬と緑内障症例の眼房水サンプルにおける2DE（二次元電気泳動）ならびに質量分析を用いた蛋白質解析を行った。正常犬と緑内障症例の眼房水サンプルの比較により、ON（オステオネクチン）を含む3種の蛋白質の出現レベルの変化を捉えることができた。これら眼房水中の蛋白質出現レベルの変化、特に緑内障症例におけるON出現レベルの顕著な低下については、イヌの緑内障における診断パラメーター作出を考える上で非常に興味深い変化であると考えられた。

第III章では、第II章で認められた緑内障症例における眼房水中ON出現レベルの顕著な低下について着目し、眼組織内でも同様な変化が生じているかについて免疫組織化学的検索を行った。第II章で認められた眼房水中の変化と同様に、緑内障症例の眼球組織（眼表面ならびに眼内組織）ではON発現の顕著な低下が認められた。また、原発緑内障症例のみに特異的に認められた眼瞼や外眼筋などの眼球外組織におけるON発現低下は原発緑内障の発症関連因子を考える上で非常に興味深い所見であり、イヌの緑内障原因の鑑別を行う際の補助診断となる可能性が示唆された。

第IV章では、第II章および第III章にて認められた緑内障症例におけるONの定性的な変化を定量解析により確認することを目的として、ELISA法を用いて正常犬と緑内障症例の眼房水中ON濃度の測定を行った。眼房水中ON濃度は正常犬と緑内障症例の間では有意差は認められず、緑内障の診断という意味では統計学的な有意性は認められなかった。しかしながら、検査の感度と特異度から考慮すると、眼房水中ON濃度の測定は有用なイヌの緑内障補助診断法となる可能性が考えられた。原発緑内障と続発緑内障の鑑別については、眼房水中の平均ON濃度や診断性評価で統計学的な有意性が認められ、応用可能な緑内障原因の鑑別方法であることが示唆された。

本研究におけるイヌの緑内障発生状況と視覚予後調査は、イヌの緑内障管理に有益な情報を提供するものであり、また眼房水や眼組織におけるONの定性・定量解析はイヌの緑内障の病態解析や客観的な補助診断パラメーターとして応用可能である有用な検査手法であると考えられた。

# 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

イヌの緑内障発生状況は、欧米での調査とは異なる成績であった。緑内障治療による視覚予後調査では、アーメド緑内障バルブ (AGV) 手術を併用した場合、内科的治療のみよりも視覚予後が良好であることから AGV 手術が推奨された。正常犬と緑内障症例の眼房水サンプルにおける二次元電気泳動ならびに質量分析ではオステオネクチン (ON) を含む3種の蛋白質の出現レベルの変化が認められた。緑内障症例の眼球組織 (眼表面ならびに眼内組織) では ON 発現の顕著な低下がみられた。また、原発緑内障症例のみに特異的に認められた眼瞼や外眼筋などの眼球外組織における ON 発現低下はイヌの緑内障原因の鑑別を行う際の補助診断となる可能性が示唆された。ELISA 法を用いた正常犬と緑内障症例の眼房水中 ON 濃度の有意差は認められず、緑内障の診断では統計学的な有意性はみられなかった。原発緑内障と続発緑内障の鑑別については、眼房水中の平均 ON 濃度や診断性評価で統計学的な有意性が認められ、応用可能な緑内障原因の鑑別方法であることが示唆された。

### 研究の背景と目的

近年、ヒトの緑内障では診断技術や診断機器の進歩によって緑内障発症リスクの判定や早期診断が可能となってきた。いっぽう、動物、特にイヌの緑内障の診断は、ヒト医療で用いられる高度な診断技術や診断機器の応用は困難であり、未だに特徴的な臨床症状と眼圧測定に頼らざるを得ず、その結果として診断に至った時点では既に病勢が進行し、重度な視覚障害を生じている、またはすでに失明してことが多い。

したがって、イヌの緑内障治療成績向上のためには、より早いステージでの診断が重要であると考えられ、そのためには臨床症状や眼圧測定以外の臨床応用可能で再現性のある客観的な診断パラメーターの作出が重要と考えられる。本研究では、イヌの緑内障診断と治療における課題を検討、確認するために、獣医眼科の二次診療施設におけるイヌの緑内障発生状況と緑内障治療による視覚予後要因について回顧的に調査するとともに、イヌの緑内障の病態解析ならびに早期診断のための新たな診断パラメーターの作出を目的とした。

### 研究の成果

第 I 章のイヌの緑内障発生状況調査では、特に品種差や性差、続発緑内障における併発眼病変について欧米での調査とは異なる成績となった。いっぽう、柴犬における原発緑内障の好発傾向については日本における以前の調査報告と一致していた。欧米の調査成績との相違は、調査が行われた地域のイヌの飼養状況の違いが影響していると推測された。また、初診時の視覚維持率は既報に比べると著しく低く、イヌの緑内障において良好な視覚

予後を確保するには、より早期に適切な診断、治療を開始することが重要である事が改めて確認された。緑内障治療による視覚予後調査では、AGV（アーメド緑内障バルブ）手術を併用した場合、内科的治療のみよりも視覚予後が良好であること、また、内科的治療のみを行った場合、柴犬では他の犬種に比べて視覚予後が不良であることが統計学的に確認された。以上より適切な症例で長期の視覚維持を期待する場合は、AGV 手術を行うべきであると考えられ、特に柴犬においては AGV 手術実施をより積極的に検討する必要があると思われた。

第Ⅱ章では、イヌの緑内障症例における新たな診断パラメーター作出のための網羅的検索として、正常犬と緑内障症例の眼房水サンプルにおける 2DE（二次元電気泳動）ならびに質量分析を用いた蛋白質解析を行った。正常犬と緑内障症例の眼房水サンプルの比較により、ON（オステオネクチン）を含む 3 種の蛋白質の出現レベルの変化を明らかにすることができた。これら眼房水中の蛋白質出現レベルの変化、特に緑内障症例における ON 出現レベルの顕著な低下については、イヌの緑内障における診断パラメーター作出を考える上で非常に興味深い変化であると考えられた。

第Ⅲ章では、第Ⅱ章で認められた緑内障症例における眼房水中 ON 出現レベルの顕著な低下について着目し、眼組織内でも同様な変化が生じているかについて免疫組織化学的検索を行った。第Ⅱ章で認められた眼房水中の変化と同様に、緑内障症例の眼球組織（眼表面ならびに眼内組織）では ON 発現の顕著な低下が認められた。また、原発緑内障症例のみに特異的に認められた眼瞼や外眼筋などの眼球外組織における ON 発現低下は原発緑内障の発症関連因子を考える上で非常に興味深い所見であり、イヌの緑内障原因の鑑別を行う際の補助診断となる可能性が示唆された。

第Ⅳ章では、第Ⅱおよび第Ⅲ章にて認められた緑内障症例における ON の定性的な変化を定量解析により確認することを目的として、ELISA 法を用いて正常犬と緑内障症例の眼房水中 ON 濃度の測定を行った。眼房水中 ON 濃度は正常犬と緑内障症例の間では有意差は認められず、緑内障の診断では統計学的な有意性は認められなかった。しかしながら、検査の感度と特異度から考慮すると、眼房水中 ON 濃度の測定は有用なイヌの緑内障補助診断法となる可能性が考えられた。原発緑内障と続発緑内障の鑑別については、眼房水中の平均 ON 濃度や診断性評価で統計学的な有意性が認められ、応用可能な緑内障原因の鑑別方法であることが示唆された。

## 研究の評価

本研究におけるイヌの緑内障発生状況と視覚予後調査は、イヌの緑内障管理に有益な情報を提供するものであり、また眼房水や眼組織における ON の定性・定量解析はイヌの緑内障の病態解析や客観的な補助診断パラメーターとして応用可能である有用な検査手法であると考えられた。

以上より本研究は獣医臨床眼科の場で遭遇する機会が多い緑内障に関する発生状況や治療および病態解明に関与し、今後の獣医眼科学の発展に寄与する内容であると評価した。

## 学位論文の一部を公表した論文

Japanese Journal of Veterinary Research vol.67. 2019. (in press)

以上のことから、久保 明 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4名が最終試験を行った結果、合格と認める。

2019年 2月13日

### 審査委員

副査 教授 中出 哲也

副査 教授 廉澤 剛

副査 准教授 松田 一哉

副査 准教授 前原 誠也