

論文の内容の要旨

論文提出者氏名	今 井 章
論文審査担当者	主 査 菅野 祐幸 副 査 田淵 克彦 多田 剛
論 文 題 目 Adrenomedullin suppresses VEGF-induced vascular hyperpermeability and inflammation in retinopathy (アドレノメデュリンは、網膜症において、VEGF により誘発される血管透過性亢進と炎症を抑制する)	
(論文の内容の要旨) <p>【背景と目的】アドレノメデュリン(AM)は様々な生理活性を有するペプチド因子である。AMには代表的な血管拡張作用の他にも、抗炎症作用、血管新生作用など様々な作用が報告されている。一方、眼内でもAMの高発現が認められる。AMの発現は低酸素で誘導されることから、我々はこれまで、低酸素誘導性眼内血管新生モデルである未熟児網膜症(OIR)モデルでの検討を行い、AMヘテロノックアウトマウス、あるいは抗AM抗体を硝子体内投与したマウスにおいて、病的血管新生が抑制されることを報告した。一方で、代表的な眼内血管病である糖尿病網膜症において、AMの病態生理学的意義は不明である。糖尿病網膜症の発症、進展においては、VEGFが重要な役割を果たすと考えられており、現在抗VEGF薬が治療に用いられている。我々は、糖尿病モデルマウスであるAkitaマウス、網膜においてヒト型VEGFを過剰発現するトランスジェニックマウス=Kimbaマウス、さらに両者を交配して得られたAkimbaマウス(Akita+/-・Kimba+/-)を用い、糖尿病網膜症、特にVEGF誘導性網膜症の病態におけるAMの病態生理学的意義を検討した。</p> <p>【材料および方法】網膜血管の所見を、TEFI(Topical Endoscopic Fundal Imaging)を用いた眼底撮影、走査型レーザー検眼鏡(Scanning Laser Ophthalmoscope:SLO)を用いたフルオレセイン蛍光眼底血管造影、アクリジンオレンジを用いた網膜生体染色、網膜展開標本、電顕標本により評価した。さらに網膜の炎症や酸化ストレスの変化を、リアルタイムPCRによる遺伝子発現、Western blottingによるタンパク発現により検討した。次にKimbaマウスに対し、AMを硝子体内あるいは全身投与し、網膜血管に与える影響を検討した。さらに培養血管内皮細胞を用いて、VEGF単独あるいはAMとの共投与を行い、血管透過性、電気抵抗、タイトジャンクション形成、炎症性サイトカイン発現、NF-κBシグナルに与える影響を検討した。最後に、KimbaマウスへのAM投与によって網膜に生じる変化を、包括的なリアルタイムPCRアレイ分析により検討した。</p> <p>【結果】Akitaマウスでは明らかな網膜症の所見は認められなかった。一方Akimbaマウスでは重症型の増殖性変化が顕著であり、網膜剥離が多発していた。これらに対し、Kimbaマウスでは網膜出血、漏出、病的血管新生、増殖性変化など、ヒトの糖尿病網膜症に類似した一連の所見が確認されたため、以後、糖尿病網膜症のモデルとして、主としてKimbaマウスを用いて解析した。Kimbaマウスでは、網膜毛細血管の脱落、血管漏出に加え、血管脆弱性や網膜内の白血球の停滞所見が認められ、網膜における炎症性サイトカインやNADPH oxidaseの発現の亢進、酸化ストレスレベルの上昇を認めた。Kimbaマウスに対し、AMの硝子体投与、あるいは浸透圧ポンプを用いた全身持続投与を行ったところ、網膜毛細血管の脱落、血管瘤の形成、血管漏出が改善された。培養網膜血管内皮細胞における経内皮電気抵抗およびFITC-デキストラン透過性アッセイにおいて、VEGF投与は血管透過性を増強したが、AMの投与により抑制され、血管内皮細胞のタイトジャンクション形成もAM投与により、強固となることが確認された。さらにVEGFの投与は、網膜血管内皮細胞におけるNF-κBシグナルを増強し、炎症性サイトカイン発現を亢進させたが、AMの投与により抑制された。実際にKimbaマウスへのAM投与によって、網膜のNF-κBシグナル関連因子の発現が網羅的に抑制された。</p> <p>【結論】AMは、網膜症において、VEGFによる炎症および血管透過性を抑制することから、糖尿病網膜症の病態、特に視力低下の原因となる黄斑浮腫などに対して、有用性が期待される。</p>	