

論文の内容の要旨

論文提出者氏名	鳥山 佑一
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	Pathophysiological function of endogenous calcitonin gene-related peptide in ocular vascular diseases (眼内血管関連疾患における内因性カルシトニン遺伝子関連ペプチドの病態生理的作用)
(論文の内容の要旨)	<p>〔背景と目的〕</p> <p>カルシトニン遺伝子関連ペプチド (CGRP) は、カルシトニン遺伝子の alternative splicing によって作られる37個のアミノ酸残基からなるペプチドであり、神経系、消化器、血管などに発現がみられ、強力な血管拡張作用をはじめ多彩な生理活性を有する因子である。我々はこれまで、CGRPのファミリー因子であるアドレノメデュリンが、眼内病的血管新生に係わる事を報告してきた。近年、CGRPについても血管新生や免疫系への関与や、眼内での分布が報告されているが、眼内CGRPの病態生理学的意義の詳細は解明されていない。</p> <p>我々は、カルシトニン-CGRP 遺伝子配列のうち、CGRP に特異的なエクソン 5 のみを欠損させることで、カルシトニンは正常に保たれ、CGRP のみ欠損するノックアウトマウス (CGRP-/-マウス) を樹立した。本研究では、CGRP-/-マウスを用いて、眼内の生理的および病的血管新生における CGRP の役割を検討した。</p> <p>〔材料及び方法〕</p> <p>野生型 (WT) マウスと CGRP-/-マウスにおいて、生理的網膜血管新生、および、酸素誘導網膜症 (OIR) モデルとレーザー誘導脈絡膜新生血管 (CNV) モデルにおける病的血管新生について解析を行った。</p> <p>〔結果〕</p> <p>出生後の生理的網膜血管新生と OIR モデルにおける病的網膜血管新生において、CGRP-/-マウスと WT マウスに明らかな差はみられなかった。眼内における CGRP とその受容体の遺伝子発現を real time PCR で解析すると、受容体遺伝子は網膜よりも色素上皮・脈絡膜でより強い発現を認めた。眼内の CGRP は網膜より脈絡膜において病態生理学的意義を有すると考え、次に滲出型加齢黄斑変性症のモデルである、レーザー誘導 CNV モデルにおける脈絡膜血管新生の解析を行った。CNV モデルにおいて、レーザー瘢痕の面積は両者に差を認めなかったが、レーザー処置後 14 日における脈絡膜新生血管の面積は、WT マウスに比べ、CGRP-/-マウスの方が有意に大きかった。フルオレセイン蛍光眼底造影においても、CGRP-/-マウスでは WT マウスに比べ、脈絡膜新生血管からの漏出をより強く認めた。またレーザー後 7 日において CGRP-/-マウスではレーザー照射部により多数のマクロファージ浸潤を認めた。Real time PCR では野生型マウス、CGRP-/-マウスともにレーザー後に色素上皮・脈絡膜において TNF-α の発現上昇を認めたが、CGRP-/-マウスでより発現が強かった。CGRP による CNV 抑制の機構を明らかにするため、WT マウスからチオグリコレート誘導マクロファージを採取し、リポ多糖 (LPS) 刺激による TNF-α の産生を ELISA にて定量したところ、CGRP の前投与により、マクロファージからの TNF-α の産生が有意に抑制された。さらにヒト網膜色素上皮細胞に TNF-α を投与し、ZO-1 免疫染色にて細胞間 tight junction (TJ) を評価したところ、濃度依存性に TNF-α による TJ の破綻が認められた。CGRP の治療応用への検討のため、WT マウスの CNV モデルに対して CGRP または CGRP アンタゴニストの持続皮下投与を行ったところ、CGRP 投与による有意な CNV の抑制とアンタゴニスト投与による CNV の増大を認めた。さらに、CGRP-/-マウスの CNV 増大と TNF-α の関連を明らかにするため、TNF-α 産生抑制作用を有する lenalidomide を、WT マウスと CGRP-/-マウス各々に投与したところ、CGRP-/-マウスでは、WT マウスと同程度まで、CNV およびマクロファージ浸潤が抑制された。</p> <p>〔結論〕</p> <p>内因性 CGRP は TNF-α 産生を抑制し、網膜色素上皮を保護することで脈絡膜新生血管の進展を抑制していると考えられた。CGRP は滲出型加齢黄斑変性症における脈絡膜新生血管に対する新たな治療薬となる可能性が示唆された。</p>