

研究助成 2015—生活習慣病領域—

研究成果報告書(最終) <概要>

所 属	信州大学大学院医学系研究科 循環病態学講座
氏 名	鳥山 佑一
研究テーマ	血管の恒常性制御に基づく、加齢性眼内血管新生病の新規治療戦略

- ・ 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- ・ 概要の構成は自由とするが、研究目的、手法、成果など、一般の方にもわかりやすくすること。
- ・ 枚数は1ページにまとめること。(図表、写真などの添付を含む)

【研究目的】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。

【手法】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。

【成果】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。

【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。

様式 4-2②

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> ・ 発表年順(新しいものから)に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。 ・ 発表学会名、発表者名、演題を記入する。 ・ 国内外を問わない。 ・ 欄が足りない場合は、増やして記入すること。 		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2015年	The Association for Research in Vision and Ophthalmology 2015 Adrenomedullin reduces VEGF-induced retinal vascular hyperpermeability. Akira Imai, <u>Yuichi Toriyama</u> , Yasuhiro Iesato, Takayuki Sakurai, Akiko Kamiyoshi, Yuka Ichikawa-Shindo, Hisaka Kawate, Takayuki Shindo, Toshinori Murata
2	2015年	第79回日本循環器学会 Pathophysiological function of endogenous calcitonin gene-related peptide in ocular vascular diseases. <u>Yuichi Toriyama</u> , Yasuhiro Iesato, Akira Imai, Takayuki Sakurai, Akiko Kamiyoshi, Yuka Ichikawa-Shindo, Hisaka Kawate, Akihiro Yamauchi, Kyoko Igarashi, Megumu Tanaka, Tian Liu, Xian Xian, Liuyu Zhai, Shinji Owa, Toshinori Murata, Takayuki Shindo
3	2015年	第119回日本眼科学会 網膜血管透過性亢進に対するアドレノメデュリンの抑制作用 今井章、 <u>鳥山佑一</u> 、家里康弘、桜井敬之、神吉昭子、新藤優佳、河手久香、新藤隆行、村田敏規
3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1		
2		
3		
4		