

氏 名	すず ま いずみ 鈴 間 泉
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2711 号
学位授与の日付	平成 16 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 外 科 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Stretch-induced retinal vascular endothelial growth factor expression is mediated by phosphatidylinositol 3-kinase and protein kinase c (PKC)- ζ but not by stretch-induced ERK1/2, Akt, Ras, or classical/novel PKC pathways (網膜血管における機械的伸展による血管内皮増殖因子の発現はPI3キナーゼ PKC ζ 経路を介して起こり, ERK1/2, Akt, Ras, classical/novel PKC を介さない)
論文調査委員	(主 査) 教 授 成 宮 周 教 授 北 徹 教 授 鈴 木 茂 彦

論 文 内 容 の 要 旨

糖尿病網膜症は成人における失明の主要原因の1つである。糖尿病網膜症は著しい血管新生と血管透過性亢進に特徴づけられており、多数の研究者により血管内皮増殖因子 (VEGF) が網膜症の進行に重要な役割を果たしていることが示唆されている。一方、疫学的調査から全身高血圧症が糖尿病網膜症の増悪因子であることがよく知られている。血管壁は常に機械的刺激を受けており、高血圧状態は血管壁が過剰に伸展された状態ととらえることができる。すでに高血圧動物モデル網膜及び、培養ウシ網膜血管細胞に機械的伸展 (ストレッチ) を負荷することにより VEGF 発現が亢進することが報告されている。この VEGF 発現の亢進が全身高血圧症の合併により網膜症増悪において重要な働きをしていると考えられる。しかしながら、その誘導のメカニズムについては不明点が多い。今回私たちはストレッチにより網膜血管周皮細胞に誘導される VEGF 発現のメカニズムを主に細胞内シグナル伝達の視点から検討し、ストレッチにより ERK1/2, classic/novel PKCs, Akt, Ras, PI3-キナーゼと PKC- ζ を介して誘導されることを認めたので報告する。フレクセル細胞伸展装置を用いて、細胞が日常生活内で経験していると思われる、心拍動の波形を模倣した伸展度 $\sim$ 10%/60サイクル/分の周期的伸展を網膜血管周皮細胞に負荷した。ストレッチは、時間及び伸展度依存性に VEGF mRNA の発現を増加し、蛋白レベルでも発現増加が認められた。発現増加は mRNA 安定性の変化によるものではなかった。ストレッチは ERK1/2 リン酸化、PI3-キナーゼ活性化、Akt リン酸化、PKC- ζ 活性化を誘導した。シグナル伝達を各キナーゼ特異的阻害剤及び、アデノウイルスベクターを用いた細胞内強制発現を用いて検討したところ、ストレッチは classic/novel PKCs 及び Ras を介して ERK1/2 を活性化したが、この経路は伸展刺激が VEGF mRNA 発現を誘導する主要経路ではなく、PKC- α , PKC- δ , ERK1/2, Ras の各優性変異型の細胞内強制発現はストレッチによる VEGF 発現誘導に影響しなかった。一方 PI3-キナーゼを薬理的にもしくは優性変異型の強制発現により阻害したところ、ストレッチによる VEGF 発現誘導を有意に抑制した。PI3-キナーゼの活性化により Akt リン酸化と PKC- ζ 両方の活性化が誘導されたが、VEGF mRNA の発現は主に PKC- ζ に依存していた。また、PKC- ζ は今回の実験系では ERK1/2 をリン酸化する主要な上流キナーゼではなかった。これらの結果からストレッチによる VEGF 発現誘導は PI3-キナーゼ—PKC- ζ の経路が主要なシグナル伝達経路であることが示唆された。これらが明らかになったことで、臨床的に極めて良く知られた事実である全身高血圧症の合併が糖尿病網膜症における血管新生と血管透過性の増悪因子である分子生物学的 1 機序を示唆していると思われる。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

血管壁は常に伸展 (stretch) もしくはけずり応力 (shear) といった機械的刺激を受けており、高血圧は血管壁が過剰に伸展された状態と捉えられる。高血圧は著しい浸出物主体の網膜症を引き起こすとともに、黄斑部変性症や糖尿病網膜症等

の強い視力低下を引き起こす疾患の憎悪因子であることが知られている。これらの疾患はいずれも血管新生と血管透過性亢進に特徴づけられ、多くの研究により血管内皮増殖因子（VEGF）がその進行に重要な役割を果たしていることが示唆されてきた。申請者らは既に高血圧動物モデル網膜及び培養ウシ網膜血管細胞に伸展を負荷すると VEGF 発現が亢進しこれらの病態が増悪する可能性を示唆したが、その機序については不明な点を多く残していた。今回伸展により網膜血管周皮細胞に誘導される VEGF 発現に関わる細胞内シグナル伝達機序を検討した。フレクセル細胞伸展装置にて細胞が日常生体内で経験している心拍動波形を模倣した伸展度～10%/60cpm とアデノウイルスベクターによる細胞内強制発現を用いて検討した。伸展は時間及び伸展度依存性に VEGF mRNA の発現を増加し、ERK1/2 リン酸化と PI3-キナーゼ活性化を誘導した。ERK1/2 は classical/novel PKCs と Ras を介して活性化されたが伸展による VEGF 発現亢進に影響しなかった。一方 PI3-キナーゼ阻害は VEGF 発現誘導を有意に抑制した。PI3-キナーゼの活性化は Akt と PKC- ζ を活性化したが VEGF mRNA の発現は主に PKC- ζ に依存していた。

以上の研究は、全高血圧症の合併により血管新生や透過性亢進を主体とする眼疾患が憎悪するメカニズムの解明に貢献するとともに、血圧の是正がこれらの病態の進行を抑止する可能性を示唆し、新たな治療能の開拓に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成16年1月21日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。