

氏 名	うえ 植 村 あき よし 嘉
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2582 号
学位授与の日付	平 成 15 年 3 月 24 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	Recombinant angiopoietin-1 restores higher-order architecture of growing blood vessels in mice in the absence of mural cells (マウス血管発生において合成 angiopoietin-1は壁細胞消失に伴う血管構築の乱れを回復する)
論文調査委員	(主 査) 教 授 塩 田 浩 平 教 授 清 野 裕 教 授 本 田 孔 士

論 文 内 容 の 要 旨

胎生期の血管発生において、内皮細胞により形成される原始血管叢は、やがてより階層的な血管網に再構築される（血管リモデリング）。こうした過程に関わる多くの分子が血管内皮・壁細胞間の相互作用に関与していることが近年明らかとなった。これらの分子のうち、血小板由来増殖因子-B (PDGF-B) およびアンジオポエチン-1 (Ang1) が内皮・壁細胞間のシグナルループを形成する増殖因子として同定されている。血管内皮より分泌される PDGF-B は、PDGFβ レセプター (PDGFR-β) を発現する壁細胞に対して強力な走化性・増殖性因子として働き、血管壁への壁細胞の集積に重要である。一方、Ang1 は壁細胞より分泌され、内皮細胞上のチロシンキナーゼ型レセプター Tie2 に結合することによって内皮細胞のさまざまな活性を制御する。ノックアウトマウスの解析から、Ang1-Tie2 シグナルが血管リモデリングの過程で重要な役割をもつと考えられている。しかしノックアウトマウスでは、他の様々な分子を介した壁細胞・内皮細胞間相互作用により、Ang1欠失の表現型が修飾されている可能性があり、Ang1 の機能を純粋に評価するには限界があった。この問題を解決するには、壁細胞非存在下で内皮細胞のみからなる血管網を形成し、これに Ang1 を投与した際の血管形成の解析が必要であると考えられた。

こうした目的のため、本研究では血管発生のモデルとして新生児マウス網膜を用いた。マウス網膜では出生直後より血管発生が開始されるうえ、外部からの眼球内環境の操作が容易だからである。網膜血管発生における壁細胞の分布に関しては、従来より「動脈壁から壁細胞集積が始まり、静脈・毛細血管壁はしばらくの間は壁細胞に被覆されない」と考えられていたが、本研究により、すべての血管壁が発生当初より壁細胞により被覆されていることが明らかとなった。これはまた、血管リモデリングにおける壁細胞の役割についての従来の仮説を再検証する必要があることを示唆した。そこで、抗 PDGFR-β モノクローナル抗体 (APB5) を新生児マウスに連日腹腔内投与し、網膜血管から壁細胞を完全に消失させる実験系を確立した。内皮細胞のみから構築される網膜血管では、血管リモデリングに著しい異常をきたし、また血管壁の破綻による網膜浮腫・出血を認めた。

つぎに血管発生における Ang1-Tie2シグナルの役割を解析するため、新生児マウス眼球内に Ang1および Tie2-Fc キメラ蛋白を投与し、網膜血管発生を観察した。その結果、Ang1-Tie2 が血管リモデリング、特に血管径の調節に重要であると考えられた。そこで、APB5 を連日腹腔内投与した新生児マウス眼球に Ang1 を加えたところ、血管リモデリングの異常は大幅に是正され、また網膜浮腫・出血も抑制された。しかし壁細胞集積は全く認められなかったことから、こうした効果は、内皮細胞に対する Ang1 の直接的作用によるものであると考えられた。ただし、正常網膜血管と比較した場合、Ang1 のみによるリモデリングの是正は完全ではなく、血管網形成の微細な調整には、Ang1 以外の要素も必要であると考えられた。

以上の結果から、壁細胞による血管リモデリングの制御において Ang1 が主要な役割を有していることは明らかである。本研究は、こうした血管発生における機構の解明に加えて、糖尿病性網膜症における病態を理解する上でも非常に有用であ

ると考えられる。糖尿病性網膜症における初期血管病変としての壁細胞消失は以前より知られていたが、理想的な実験モデルが確立しておらず、網膜出血・浮腫などとの因果関係は永らく不明瞭であった。今回の実験モデルは、壁細胞消失が網膜出血・浮腫などを直接惹起することを示し、さらに Ang1 がこうした病態の改善に有効である可能性を示唆すると考えられた。

論文審査の結果の要旨

近年、血管発生や病的血管新生に関する研究が進むにつれ、成熟血管網の構築および血管壁恒常性の維持に、増殖因子や細胞接着を介した血管内皮・壁細胞間相互作用が不可欠であると考えられるようになったが、その詳細な機序については未だ明らかではない。

本論文では、新生仔マウス網膜をモデルとして、まず血管発生における壁細胞の時間的・空間的分布を明らかにした。つぎに網膜血管発生における壁細胞の役割を明らかにするため、抗 Platelet-derived Growth Factor β レセプター抗体を投与して網膜における壁細胞を消失させたところ、内皮細胞のみで形成される網膜血管網は明らかに異常な構造を示し、血管透過性の亢進により急速に網膜浮腫・出血をきたした。これらの変化は糖尿病網膜症における血管病変に類似し、その病態を理解する上で非常に有用であると考えられる。

さらに、壁細胞の存在しないこうした血管系は、壁細胞に由来する増殖因子の作用を評価するうえで理想的な実験系であることを利用して、本来壁細胞から分泌される Angiopoietin-1 を眼内に投与したところ、壁細胞非存在下で内皮細胞に直接作用し、網膜血管の構造異常・透過性亢進を劇的に改善することを示した。

以上の研究は網膜血管発生に関する機構の解明に貢献するのみならず、糖尿病網膜症の病態解明・治療法の発展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15年2月5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。