

氏 名	わた なべ だい すけ 渡 部 大 介
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2756 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	Transcription Factor Ets-1 mediates Ischemia- and VEGF-dependent Retinal Neovascularization (虚血および血管内皮増殖因子依存性網膜血管新生における転写因子 Ets-1 の 役割)
論文調査委員	(主 査) 教 授 中 尾 一 和 教 授 影 山 龍 一 郎 教 授 鈴 木 茂 彦

論 文 内 容 の 要 旨

病的血管の発生は増殖糖尿病網膜症、未熟児網膜症、加齢黄斑変性などの網膜血管増殖疾患に起こり、失明に至る原因となる。低酸素により誘導される血管内皮増殖因子 (VEGF) がこれらの眼内血管新生において最も重要な因子であることが、多数の研究者により示唆されている。一方、細胞増殖、分化、組織発生などに関与する転写因子群 Ets ファミリーの一つである Ets-1 は、血管新生の制御因子であることが示唆されている。Ets-1 の発現は血管内皮細胞において VEGF や塩基性線維芽細胞増殖因子 (bFGF) などの刺激によって亢進する。マトリックスメタロプロテアーゼ 1, 3, 9, ウロキナーゼ型プラスミノゲンアクチベーター, インテグリン $\beta 3$ などの血管新生関連因子の遺伝子発現を促進することによって血管新生を促進する。しかしながら、眼内血管新生における Ets-1 の役割はまだ明らかにされていない。今回私たちは虚血及び VEGF により誘導される網膜血管新生における Ets-1 の発現制御を培養ウシ網膜血管内皮細胞およびマウス網膜虚血モデルにおいて検討し、Ets-1 の作用を阻害することにより網膜血管新生を抑制することができたので報告する。培養ウシ網膜血管内皮細胞において、VEGF や低酸素刺激により Ets-1 mRNA の発現が亢進した。蛋白レベル、DNA 結合も VEGF により亢進した。シグナル伝達をキナーゼ特異的阻害剤を用いて検討したところ、VEGF による Ets-1 mRNA レベルの増加は、チロシンキナーゼ, classic/novel PKC, MEK の阻害剤によって抑制されたが、P13 キナーゼの阻害剤では抑制されなかった。VEGF による ERK のリン酸化は PKC の阻害剤によって抑制された。Ets-1 の血管新生における作用をアデノウイルスベクターを用いた優性変異型 Ets-1 を細胞内強制発現させることにより検討したところ、優性変異型 Ets-1 は VEGF によるアンジオポエチン 2 およびニューロピリン 1 の遺伝子誘導を抑制した。また、VEGF による細胞増殖および管腔形成を有意に抑制した。in vivo での検討においても、高酸素負荷によるマウス虚血網膜血管新生モデルで網膜の Ets-1 mRNA 発現亢進が認められた。このマウスモデルの硝子体中に優性変異型 Ets-1 を組み込んだアデノウイルスを注入したところ、網膜血管新生を有意に抑制することができた。以上の結果から、VEGF 及び低酸素は網膜血管内皮細胞において Ets-1 の発現を亢進し、VEGF による Ets-1 遺伝子の発現は PKC/ERK を介していることが示唆され、虚血性網膜血管新生において Ets-1 が重要な役割を担っていることが示唆された。このような研究成果により、Ets-1 の作用を抑制する事で VEGF の正常血管の発達や神経細胞への作用を損なうことなく虚血による血管新生を抑制することができる可能性が示唆され、増殖糖尿病網膜症などの虚血性網膜血管増殖疾患において、Ets-1 が治療の標的分子となることが推察された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

病的血管新生は増殖糖尿病網膜症などの網膜血管増殖疾患に起こり、失明に至る主要原因となる。血管内皮増殖因子 (VEGF) が眼内血管新生において最も重要な因子であることが示唆されている。細胞増殖、分化、組織発生などに関与する転写因子 Ets-1 は、血管新生の制御因子であることが示唆されているが、眼内血管新生における役割は不明である。今回虚血及び VEGF により誘導される網膜血管新生における Ets-1 の発現制御を、培養ウシ網膜血管内皮細胞およびマウス網膜

虚血モデルにおいて検討した。網膜血管内皮細胞において、VEGFや低酸素刺激により Ets-1 mRNA 発現が亢進し、蛋白発現、DNA 結合能も VEGF により亢進した。シグナル伝達を検討したところ、VEGF による Ets-1 mRNA の発現は classic/novel PKC, ERK を介していた。VEGF による ERK のリン酸化は PKC を介していた。アデノウイルスベクターを用いて優性変異型 Ets-1 を細胞内強制発現させることで、VEGF によるアンジオポエチン 2 およびニューロピリン 1 の mRNA 発現を抑制し、また VEGF による細胞増殖および管腔形成を有意に抑制した。in vivo での検討においても、マウス虚血網膜の Ets-1 mRNA 発現亢進が認められ、硝子体中に優性変異型 Ets-1 を組み込んだアデノウイルスを注入すると網膜血管新生を有意に抑制した。

以上の研究は、虚血によって惹起される網膜血管増殖疾患のメカニズムの解明に貢献するとともに、転写因子 Ets-1 の作用阻害が病態の進行を抑止する可能性を示唆し、新たな治療法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2月20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。