

氏 名	お じ ま と も な り 尾 島 知 成
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2938 号
学位授与の日付	平 成 18 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	EphrinA1 inhibits vascular endothelial growth factor - induced intracellular signaling and suppresses retinal neovascularization and blood-retinal barrier breakdown (ephrinA1 は VEGF 誘導性の細胞内シグナルを阻害し、網膜血管新生と血液網膜関門の障害を抑制する)
論文調査委員	(主 査) 教 授 開 祐 司 教 授 中 畑 龍 俊 教 授 野 田 亮

論 文 内 容 の 要 旨

Eph は受容体チロシンキナーゼであり、ephrin はそのリガンドである。VEGF とそのレセプターである VEGFR や angiopoietin とそのレセプターである Tie が胎生期の血管系の発達に重要な役割を担うことはよく知られているが、これらに加えて Eph/ephrin も血管系の形成に関与する可能性が近年示されている。

Eph, VEGFR, および Tie はすべて受容体チロシンキナーゼであるが、Eph はそのリガンドである ephrin が細胞膜表面に固定されているという点で他の 2 者と異なる。ephrin は構造上の違いから A と B のサブタイプに分けられ、ephrinA は GPI (glycosylphosphatidylinositol) アンカーにより、また ephrinB は細胞膜貫通ドメインにより、細胞膜に固定されている。また、Eph レセプターは ephrinA または B への親和性により、EphA と EphB のサブタイプに分けられる。

EphA2 とそのリガンドである ephrinA1 が種々の細胞種において細胞増殖を抑制し、これは増殖性細胞内シグナルタンパクである ERK と Ras の抑制と関わっていることがすでに報告されている。これらの作用の網膜血管新生の抑制への利用の可能性を探るべく、以下の実験を行った。まず、ノーザンブロットにてウシ網膜血管内皮細胞(BREC)に EphA2 の発現を認めた。この BREC 上の EphA2 が ephrinA1 のキメラタンパクである ephrinA1-Fc によってリン酸化されることを免疫沈降とウェスタンブロットにて確認した。

過去の報告と同様、BREC においても ephrinA1 刺激は BREC の VEGF 誘導性の Ras と ERK1/2 の活性化を抑制した ($46.5 \pm 15.0\%$, $P < 0.05$)。内皮細胞においては、Ras 経路のほかに protein kinase C (PKC) 経路も ERK の活性化に深く関与しているとされ、我々の結果では ephrinA1 は Ras-ERK 経路のほかに、PKC, Akt といった多彩な細胞内シグナル分子の活性化を抑制した (それぞれ $66.4 \pm 16.6\%$, $P < 0.01$, および $42.4 \pm 1.2\%$, $P < 0.05$)。さらに、VEGF の主要なレセプターである VEGFR2 のリン酸化抑制が見られたことから、ephrinA1 は VEGFR2 の活性化を抑制することにより、下流の多数のシグナル因子を抑制したと考えられた。ephrinA1 はまた、VEGF による BREC の増殖、遊走、および管腔形成を抑制した。

In vivo 動物モデルにおいては、ephrinA1 の硝子体腔内投与はマウスモデルにおいて虚血性網膜血管新生を濃度依存性に抑制した。また、ラットモデルにおいて、VEGF 誘導性の網膜血管透過性亢進を $46.0 \pm 10.0\%$ ($P < 0.05$) 抑制した。

以上のように、ephrinA1 は VEGFR2 受容体の活性化を抑制することにより、細胞増殖につながる下流のシグナル伝達分子を抑制することが示唆された。動物モデルで網膜血管新生と網膜血管透過性亢進を抑制したことから、虚血性網膜疾患の治療において今後有用である可能性がある。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

受容体チロシンキナーゼである Eph とそのリガンドである ephrin は血管系の形成に深く関与していることが明らかにな

ってきている。本研究においては、ephrinA1-Fcとその受容体であるEphA2が虚血性網膜血管新生および透過性亢進に与える影響を動物モデルを用いて調べるとともに、その分子メカニズムについて培養ウシ網膜血管内皮細胞(BREC)を用いて検討した。

ephrinA1-Fc刺激はBRECにおいてVEGFによるVEGFR2受容体のリン酸化を抑制し、その結果として下流のRas経路とPKC-ERK1/2経路、およびAktを抑制した。ephrinA1-Fcはまた、VEGF誘導性のBRECの増殖、運動性、および管腔形成を抑制した。

In vivo動物モデルにおいては、ephrinA1-Fcの硝子体腔内投与はマウスモデルにおいて虚血性網膜血管新生を濃度依存性に抑制した。また、ラットモデルにおいて、VEGF誘導性の網膜血管透過性亢進を抑制した。

以上の研究は、ephrinA1-Fc投与が動物モデルで網膜血管新生と網膜血管透過性亢進を抑制することを示すとともに、その分子メカニズムがVEGFR2受容体の活性化抑制であることを示唆しており、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のあるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成18年1月10日実施の論文内容とそれに関連した諮問を受け、合格と認められたものである。