

|           |                                                                                                                                                                                                             |
|-----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 氏 名       | 菅 波 絵 理                                                                                                                                                                                                     |
| 学位(専攻分野)  | 博 士 (医 学)                                                                                                                                                                                                   |
| 学 位 記 番 号 | 医 博 第 2832 号                                                                                                                                                                                                |
| 学位授与の日付   | 平 成 17 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    | Leptin stimulates ischemia-induced retinal neovascularization : possible role of vascular endothelial growth factor expressed in retinal endothelial cells<br>(レプチンの虚血性網膜血管新生促進作用：網膜内皮細胞における血管内皮増殖因子関与の可能性) |
| 論文調査委員    | (主 査)<br>教 授 長 澤 丘 司      教 授 北 徹      教 授 伊 藤 壽 一                                                                                                                                                          |

### 論 文 内 容 の 要 旨

重篤な視力障害を引き起こす糖尿病網膜症、未熟児網膜症、加齢黄斑変性などにおいて、網膜血管新生は共通の病態基盤である。中でも糖尿病網膜症は成人の失明原因第一位であり、その病態進展の分子機構の解明と新しい治療法の開発は臨床医学上の急務である。一方、糖尿病、高血圧症、動脈硬化症など生活習慣病の病態基盤として、肥満の重要性が広く認識されている。脂肪細胞はエネルギー貯蔵のみならず、アディポサイトカインと総称される生理活性物質を分泌する生体内最大の内分泌臓器であり、代表的なアディポサイトカインであるレプチンは、強力な摂食抑制作用とエネルギー消費亢進作用により肥満の進展を制御するとともに血管新生促進作用を有することが報告されている。本研究では、網膜血管新生におけるレプチンの病態生理的意義を明らかにすることを目的として、レプチン欠損マウス (*ob/ob* マウス) とレプチン過剰発現マウス (*Lep Tg* マウス) 及び野生型マウスに高酸素負荷による虚血性網膜血管新生モデルを作製し、レプチンの慢性作用とその機序について検討した。

*Lep Tg* マウスは、マウスレプチン遺伝子を serum amyloid P component promoter を用いて肝臓過剰発現させ、重症肥満と同等のレプチン血中濃度を呈する line を使用した。虚血性網膜血管新生モデルは、生後7日の新生児マウスを5日間高酸素に暴露後、正常酸素濃度下でさらに5日間飼育して作製した。網膜血管造影、組織学的解析、遺伝子・蛋白発現の解析など個体レベルの解析を行うとともに、培養網膜血管内皮細胞を用いて細胞内シグナルの検討を行った。

網膜血管造影および組織学的解析の結果、虚血性網膜血管新生モデル作製後、野生型マウスでは著明な網膜血管新生を認めたが、*ob/ob* マウスでは有意に抑制されていた ( $-33\%$ )。これに対して、*Lep Tg* マウスでは野生型マウスよりもさらに著しい網膜血管新生を認めた ( $+57\%$ )。網膜組織における代表的な血管内皮増殖因子 vascular endothelial growth factor (VEGF) 遺伝子発現は、野生型マウスに比し *ob/ob* マウスでは約70%抑制されており、これに対して、*Lep Tg* マウスでは約2倍に増強していた。網膜組織の免疫染色および網膜由来培養細胞の Western blotting により、網膜血管内皮細胞、特に新生血管内皮細胞にレプチン受容体の発現を認めた。これらの結果より、レプチンが虚血性網膜血管新生の進展に重要であることが個体レベルで明らかとなった。次に、虚血性網膜血管新生におけるレプチンの作用機序を明らかにするために、培養網膜血管内皮細胞を用いて以下の検討を行った。レプチンは濃度依存性に VEGF 遺伝子発現を誘導し、この作用は低酸素条件下ではさらに増強した。レプチンの細胞内シグナルとしてはこれまでに JAK/STAT 系、PI3K/Akt 系、MAPK 系などが知られているが、優勢抑制型 STAT3 によりレプチン誘導性 VEGF 遺伝子発現が完全に遮断されたことから、この過程における細胞内シグナルとして STAT3 が重要な役割を果たすことが明らかとなった。

本研究により、レプチンが VEGF 誘導を介して虚血性網膜血管新生の進展に重要な役割を果たすことが証明された。最近、糖尿病網膜症患者において血中及び硝子体中レプチン濃度の上昇が報告されており、今後、増殖糖尿病網膜症など難治性網膜血管新生病の治療における新たな標的分子として臨床的意義が期待できると考えられた。

## 論文審査の結果の要旨

網膜血管新生は糖尿病網膜症など重篤な視力障害を引き起こす網膜疾患の主要病態であり、その分子機構の解明と新しい治療法の開発は臨床医学上の急務である。代表的なアディポサイトカインであるレプチンは、視床下部を介して個体のエネルギー代謝調節に働くが、最近、末梢組織に直接作用して血管新生を含む多彩な生物作用を示すことが明らかになってきた。本研究では、レプチン欠損マウス (*ob/ob*)、レプチン過剰発現マウス (*Lep Tg*) 及び野生型 C57BL/6J マウス (WT) を用いて高酸素負荷による虚血性網膜血管新生モデルを解析することにより、網膜血管新生におけるレプチンの病態生理的意義を解明することを目的とした。

モデル作製後、WT では著明な網膜血管新生を認めたが、*ob/ob* では有意に抑制されており、*Lep Tg* では WT よりもさらに著しい血管新生像を認めた。これと平行して、代表的な血管内皮増殖因子 VEGF の網膜組織における遺伝子発現は、WT と比較して *ob/ob* で抑制、*Lep Tg* で増強していた。レプチン受容体は網膜血管内皮細胞、特に新生血管内皮細胞に発現しており、優勢抑制型 STAT3 を用いた検討で、レプチンが STAT3 の活性化を介して VEGF 遺伝子発現を誘導することが明らかとなった。

以上の研究は、レプチンが VEGF 誘導を介して虚血性網膜血管新生の進展に重要な役割を果たすことを証明し、糖尿病網膜症などの難治性網膜血管新生病の病態理解の進歩と新しい治療法の開発に寄与するところが大きい。

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17年2月1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。