

[別紙 2]

審査の結果の要旨

氏名 上 順子 (旧姓 齋藤)

本研究は、加齢黄斑変性の重篤な視力障害の原因である脈絡膜新生血管 choroidal neovascularization (CNV)の発症機構について、動物モデルを用いて分子生物学的、細胞生物学的に検討している。特に、血管新生において中心的役割を占めると考えられている血管内皮細胞増殖因子 vascular endothelial growth factor-A (VEGF-A)と、その二つの VEGF-A 受容体系 fms-like tyrosine kinase (Flt-1)および kinase domain containing receptor/ fetal liver kinase (KDR/Flk-1)の CNV 形成への関与を解析した。また、VEGF-A 受容体系の阻害薬を用いた血管新生抑制療法の可能性につき検討したものであり、下記の結果を得ている。

1. 有色マウスおよびラットの眼底に半導体レーザーを照射することにより CNV モデルを作成した。CNV の発生を蛍光眼底造影検査による凝固部位の蛍光漏出(血管透過性の指標)と、血管内皮細胞特異的、抗 CD31 抗体を用いた免疫組織染色により解析した。蛍光眼底造影にて レーザー照射部位に蛍光漏出を認め、また免疫組織学的検討においても、同部位において血管と線維芽細胞様の細胞によって構成される新生血管膜の形成が見られた。これらの所見は、ヒトでの加齢黄斑変性に認められる CNV の変化と類似しており、モデル動物としての有用性が示唆された。

2. マウスおよびラット CNV モデルに対し、VEGF-A の2つの受容体特異的なチロシンキナーゼ阻害剤である SU5416 を投与したところ、蛍光眼底造影検査にお

ける凝固部位よりの蛍光漏出は 14~40%有意に抑制された。また、CNVM 内部に形成された血管内腔面積は 22.8%、血管密度は 23.0%小さかったことから、CNV の発生に VEGF-A が関与していることが示された。

3. Flt-1 のチロシンキナーゼ部位を欠損した Flt-1 TK(-/-)マウスに対し CNV モデルを作成したところ、対照群と比較して蛍光眼底造影における蛍光漏出は 22%低値であり、血管内腔面積は 15.2%有意に小さかった。Flt-1 TK(-/-)マウスに SU5416 を投与したところ、投与していない群と比較して 21~24%蛍光漏出が軽度であり、CNVM の断面積は 16.4%小さかった。以上より、本モデルにおける CNV 形成には Flt-1 および KDR/Flk-1 からの情報伝達が共同で関与していることが示唆された。

4. マウス CNV モデルに対し SU5416 を投与したところ、投与開始後 1 4 日目の照射部位の組織において、TUNEL 染色陽性のアポトーシスを起こしている血管内皮細胞が検出された。一方、対照群のマウスの CNV では殆どアポトーシスは見られなかった。以上より、VEGF-A が内皮細胞の survival factor としてアポトーシスを抑制し、CNV の発生のみならず、新生血管の維持にも関与していることが示唆された。

以上、本論文は CNV の形成に VEGF-A とその受容体である KDR/Flk-1 と Flt-1 のいずれもが関与していることを示した。VEGF-A は血管内皮細胞の survival factor としてアポトーシスを抑制しており、CNV の発生のみならず、新生血管の維持にも関与していることを明らかにした。また、VEGF-A—VEGF-A 受容体系を阻害することで CNV の発生を抑制することができ、その阻害薬である SU5416 を用いた加齢黄斑変性の新たな血管新生抑制療法の可能性が示唆された。本研究はこれまで解析が進んでいなかった CNV の発症機構の解明および治療に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。