

審査の結果の要旨

氏名 竹田 亮

本研究は糖尿病状態における血管障害に対して重要な役割を演じていると考えられる内因性サイトカインの影響を明らかにするため、2 型糖尿病モデル動物である **Obese Zucker** ラットに内因性サイトカイン産生抑制薬および **TNF- α** のシグナルを受容体レベルで遮断するアデノウイルスを用いて検討しており、最終的に以下の結果を得ている。

① **Obese Zucker** ラット (**OZ**) では **Lean Zucker** ラット (**LZ**) に比べて内臓脂肪および血管において炎症性サイトカインである **TNF- α** , **IL-1 β** , **IL-6** の濃度が上昇しており、**OZ** に内因性サイトカイン産生抑制薬を投与すると (**OZ/Sem**) それらの濃度は有意に低下していた。またそれぞれのラットの大腿動脈に **Cuff** を留置しておくで新生内膜が形成されたが **OZ** 群では **LZ** 群よりも新生内膜形成が増強しており、**Sem** 投与で新生内膜形成は抑制された。**PCNA** 染色による新生内膜内での細胞増殖の程度を検討しても同様の結果であった。この結果から糖尿病状態での新生内膜形成には内因性サイトカインが悪影響を及ぼしており、それを抑制することで血管障害が軽減されることが示された。

② また 3 群での **RAGE** およびそのリガンドである **S100/calgranulins** の発現を検討したところ両者とも血管内皮細胞を中心に **OZ** 群で **LZ** 群よりも発現が亢進しており、**Sem** 投与によってそれらの発現は抑制された。また接着因子の一つである **VCAM-1** およびマクロファージの浸潤を示す **ED-1** の発現も免疫染色で検討したが同様の結果となった。これによって内因性サイトカインは糖尿病状態で **AGEs-RAGE** 系を介して接着因子を活性化し、単球/マクロファージの遊走を引き起こして血管障害を誘発していることが示された。

③ 糖尿病性血管障害における **AGEs-RAGE** の関与を検討するため、アデノウイ

ルスを使用して **OZ** 群の大腿動脈に **AGEs** を捕捉する可溶性 **RAGE (soluble RAGE: sRAGE)**を、また **OZ/Sem** 群の大腿動脈に **RAGE** をそれぞれ強制発現させた。それによって **OZ** 群ではサイトカイン濃度が高いにもかかわらず新生内膜形成および **VCAM-1/ED-1** の発現が抑制され、**OZ/Sem** 群ではサイトカイン濃度が低いにもかかわらず新生内膜形成および **VCAM-1/ED-1** の発現が増強した。これによってサイトカイン濃度とは無関係に糖尿病性血管障害に対して **RAGE** 自身が関与している可能性が示された。

④ 内因性サイトカインの中でも特に **TNF- α** と血管障害の関連を検討するため 1 型 **TNF** 受容体の **dominant negative mutant** を作成して、**OZ** 群の大腿動脈に感染させて **Cuff** を留置した。その結果、**mutant** の感染によって **OZ** 群での新生内膜の形成は抑制され、**RAGE** の発現も抑制された。さらに **VCAM-1** および **ED-1** の発現も抑制された。したがって **TNF- α** は単独でも **AGEs-RAGE** 系を介して接着因子やマクロファージを活性化させ糖尿病状態での血管障害を引き起こすことが示された。

以上、本論文は 2 型糖尿病モデル動物である **Obese Zucker** ラットにおいて内因性サイトカイン産生抑制薬および **TNF- α** のシグナルを遮断する作用を有するアデノウイルスを用いた検討から、**TNF- α** をはじめとする内因性サイトカインが **AGEs-RAGE** 系を活性化し、さらに接着因子やマクロファージを誘導することで糖尿病での血管障害を引き起こすことを明らかにした。本研究は糖尿病において内因性サイトカインが **RAGE** の発現を誘導することによって新生内膜形成に重要な役割を果たしていることをはじめて見出した研究であり、学位の授与に値する論文であると考えられる。