



Title	Laser-Induced Choroidal Neovascularization in Mice Attenuated by Deficiency in the Apelin-APJ System
Author(s)	原, 千佳子
Citation	大阪大学, 2014, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/34218
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

〔論文題名 : Thesis Title〕 Laser-Induced Choroidal Neovascularization in Mice Attenuated by Deficiency in the Apelin-APJ System (Apelin-APJ経路阻害によりレーザー誘発性脈絡膜新生血管は抑制される)

専攻名 : 外科系臨床医学 眼科学
Division

学位申請者 : 原 千佳子
Name

〔目的(Purpose)〕

加齢黄斑変性は、欧米先進国において中途失明の主要な原因となっており、日本でも急速な高齢化や食生活の欧米化により患者数が増加している。現在抗血管内皮増殖因子 (VEGF) 抗体が治療の中心となっているが、問題点もあり、新たな治療薬の開発が期待される。Apelinはオーファン受容体であったAPJのリガンドとして同定された因子であり、血管内皮細胞に発現して血管新生に関与することがこれまでに報告されている。今回、apelin-APJ経路の脈絡膜新生血管 (CNV) の発生における関与を検討する。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

C57BL/6マウス (8週齢オス) にレーザー誘発性脈絡膜新生血管を作製し、滲出型加齢黄斑変性モデルとした。野生型 (WT) マウスの眼において、レーザー照射後のapelinおよびAPJの遺伝子発現をリアルタイムPCRで確認したところ、どちらも有意に上昇が見られた。また、CNVの免疫染色にて、APJは血管内皮マーカーであるPECAM-1抗体と同部位に発現が確認できた。

また、WTマウスおよびapelin-ノックアウト (KO) マウス、APJ-KOマウスにCNVを作製し、フラットマウントをisolectin-B4で染色し、そのサイズの比較を行ったところ、WTマウスと比較してapelin-KOマウスでは $62.9 \pm 14.3\%$ ($P < 0.05$)、APJ-KOマウスでは $48.1\% \pm 7.1\%$ ($P < 0.001$)に縮小していた。このメカニズムをさらに検討するため、WTマウスとapelin-KOマウスでVEGF、VEGFR2、MCP-1、TNF- α の発現量の比較を行ったがこれらには差がなかった。また、CNV発生時に集積するマクロファージ量をフローサイトメトリーにて解析したが、これらにも差は認めなかった。そのため、これら因子とapelin-APJの関連を調べるために、ヒト臍帯静脈血管内皮細胞 (HUVEC) を用いて実験を行った。HUVECに対し、VEGFで刺激を行ったところ、apelinおよびAPJはどちらも有意に発現上昇を認めたが、LPSによる刺激では変化を認めなかった。また、apelinによる刺激ではVEGF、およびMCP-1、TNF- α の発現はいずれも変化を認めなかった。このことから、apelin-APJ経路はVEGFによっては上昇を認めるが、炎症性因子とは直接関連を認めないことが明らかとなった。次に、VEGF経路とapelin-APJ経路の血管新生における関連をより詳しく調べるため、HUVECによる増殖実験を行った。増殖実験の評価はalar blue assayを用いて行った。HUVECにapelinをノックダウンした場合、コントロールに比べ増殖は $85.1 \pm 2.3\%$ 、VEGFR阻害薬 (SU1498) のみでは $30.4 \pm 1.4\%$ であったが、両方を併用することで $18.5 \pm 1.2\%$ まで低下した。また、apelinノックダウンHUVECに対しVEGF刺激を行った場合では、コントロールと比較して $156.9 \pm 1.9\%$ から $130.0 \pm 0.8\%$ に低下を認めた。このことから、apelin-APJ経路は、VEGFとは独立して血管内皮細胞の増殖に関与していることが示唆された。

〔総括(Conclusion)〕

Apelin-APJ経路を阻害することで、レーザー誘発性CNVは縮小を認めた。この経路は、VEGFと関連を認めるが、血管内皮細胞の増殖について一部独立的に関与しており、これがCNV縮小につながったと考えられた。Apelin-APJ経路は、抗VEGF薬で不十分な加齢黄斑変性症例の治療の新たなターゲットとなりうる可能性がある。

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 原 千佳子	
論文審査担当者	(職) 氏 名
	主 査 大阪大学教授 西田幸二
	副 査 大阪大学教授 不二門 尚
	副 査 大阪大学教授 高倉 伊年

論文審査の結果の要旨

加齢黄斑変性は、わが国での中途失明の主な原因で、現在抗血管内皮増殖因子（VEGF）抗体が治療の中心となっているが、問題点もあり、新たな治療薬の開発が期待される。今回は、最近新たな血管新生に関与する経路として注目されているApelin-APJ経路が、加齢黄斑変性の原因となっている脈絡膜新生血管の発生に関与しているかを研究した。マウスの脈絡膜新生血管モデルにおいて、血管形成時にApelin、APJは発現上昇を認め、Apelin-APJ経路を阻害することで、新生血管は縮小した。この経路は、VEGFと関連を認めたが、血管内皮細胞の増殖について一部独立的に関与していることが明らかとなり、これが、新生血管の縮小につながったと考えられた。Apelin-APJ経路は、抗VEGF抗体薬で不十分な加齢黄斑変性症例の治療の新たなターゲットとなりうる可能性があることを明らかにした。よって、この研究は、新たな治療の発展につながり、博士（医学）の学位授与に値すると考える。