

Title	網膜毛細血管ペリサイトの網膜循環調節機序に関する研究
Author(s)	松木, 雄
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41095
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏 名	まつ 松 木 たけし 雄
博士の専攻分野の名称	博 士 (薬 学)
学 位 記 番 号	第 1 4 1 1 2 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 10 年 9 月 14 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学 位 論 文 名	網膜毛細血管ペリサイトの網膜循環調節機序に関する研究
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 馬 場 明 道 (副査) 教 授 真 弓 忠 範 教 授 山 元 弘 教 授 溝 口 正

論 文 内 容 の 要 旨

緑内障の発症機序は眼圧の上昇によって視神経が障害されるためと考えられてきたが、近年、高眼圧だけでなく網膜循環の障害も緑内障の危険因子であると認識されるようになった。網膜循環を担う網膜毛細血管は内皮細胞とペリサイトの2種類の細胞で構成される。ペリサイトは収縮タンパク、cyclic GMP 依存性プロテインキナーゼを有し、血管作動物質の刺激により収縮あるいは弛緩することから、網膜循環の調節（自動調節）に関与していると推測されている。

本研究では、緑内障の発症原因が網膜循環の障害であるという仮説に基づき、網膜毛細血管ペリサイトが網膜循環の調節に関与するかを明らかにするために、虚血時に変化する局所因子に対してペリサイトが反応するかを薬理的に検討し、さらに網膜循環が障害される機序について検討を加えた。

D'Amore の方法に準じて、ウシ眼球より網膜毛細血管ペリサイトを摘出し、培養した。培養細胞がペリサイトであることをペリサイトの特異的マーカーを認識する anti-ganglioside monoclonal antibody 3G5 を用いて確認した。また、培養細胞中に血管内皮細胞が混在しないことを acetylated-low density lipoprotein を取り込む細胞がないことで確認した。

培養ペリサイトの収縮および弛緩反応を評価するために、ペリサイトをシリコンコートした培養皿上に継代培養し、細胞によってシリコン上に形成されるリンクル（しわ）の総長を測定した。薬物適用前のリンクルの総長を L_0 、薬物適用後のそれを L とすると、ペリサイトの緊張の変化率は L/L_0 で表すことができ、この変化率が 1 以上を収縮反応、1 以下を弛緩反応と定義してペリサイトの緊張変化を定量的に評価できることがわかった。

本評価系を用いて、虚血時にその局所で濃度が上昇することが知られている adenosine および二酸化炭素 (CO_2) のペリサイトの収縮緊張に対する作用を検討した。Adenosine は $10^{-8} \sim 10^{-4}$ M でペリサイトを濃度依存的に弛緩させた。50%の弛緩反応を引き起こす濃度は約 3×10^{-7} M であった。これらの濃度で、弛緩反応は 1 分以内に起こり、5～10分で最大に達した後、少なくとも30分間持続した。Adenosine (3×10^{-7} M) による弛緩反応は非選択的 adenosine 受容体拮抗薬である 8-phenyltheophylline (10^{-5} M) および選択的 adenosine A_2 受容体拮抗薬である CP-66, 713 (10^{-7}

M)の前処置(10分間)によりほぼ完全に抑制されたが、選択的 adenosine A₁ 受容体拮抗薬である 8-cyclopentyl-1,3-dipropylxanthine (10⁻⁶ M) によっては抑制されなかった。いずれの adenosine 受容体拮抗薬も単独ではペリサイトの緊張に影響を与えなかった。

また、培養ペリサイトは pCO₂ の 5% から 20% への上昇に対しても弛緩した。本弛緩反応は可逆的であった。

Ang II は強力な血管収縮物質であり、Anderson らにより網膜循環の自動調節を抑制する可能性が報告されているが、ペリサイトにおける作用については明らかではない。そこで Ang II が網膜循環障害因子であるとの仮説を立て、ペリサイトにおける Ang II の作用を検討した。Ang II (10⁻⁸ M~10⁻⁵ M) は、sodium nitroprusside (3×10⁻⁷ M) の適用により予め約 50% 弛緩させたペリサイトにおいて、濃度依存的な収縮作用を示した。10⁻⁶ M Ang II の収縮作用は Ang II 受容体の拮抗薬である saralasin (10⁻⁶ M) の前処置により完全に抑制された。

pCO₂ を 5% から 20% に上昇させると、ペリサイトは最大 22.9±4.6% 弛緩した。しかし Ang II (10⁻⁶ M) を共存させた場合には 20% pCO₂ による弛緩反応は最大で 12.6±4.5% に止まった。この Ang II の抑制作用は saralasin (10⁻⁶ M) の前処置により完全に抑制された。Saralasin (10⁻⁶ M) は単独ではペリサイトの basal tone および 20% pCO₂ に対する弛緩反応には影響を与えなかった。

以上、本研究において、ウシ網膜からペリサイトを単離、培養する方法を確立し、ペリサイトをシリコン上に培養する手法を用いて、培養ペリサイトの緊張変化を定量的に評価できる系を確立した。

本評価系を用いて、培養ペリサイトが虚血時に濃度が上昇する adenosine および CO₂ に対して弛緩すること、および adenosine に対する反応は adenosine A₂ 受容体を介することを明らかにした。この結果よりペリサイトがこれらの局所因子に対して収縮緊張を変化させ、網膜循環の調節に関与することを示唆した。

培養ペリサイトは血管収縮物質である Ang II により、Ang II 受容体刺激を介して収縮することを明らかにし、Ang II も網膜循環調節因子の一つであることを示唆した。虚血時に上昇する CO₂ に対するペリサイトの弛緩反応は Ang II 存在下で抑制され、この抑制は Ang II 受容体拮抗薬の前処置で消失することを明らかにした。本結果から、Ang II のような収縮因子が共存するとペリサイトの虚血時に上昇する局所因子(血管弛緩物質)に対する弛緩反応が抑制され、その結果として網膜循環の自動調節能が障害されるという網膜循環障害機序の一仮説を導いた。

本研究の方法は網膜循環調節機序および網膜循環の障害機序を明らかにしてゆく上で有用であると考えられ、今後、新しい緑内障の薬物治療の開発に結びつくことが期待される。

論文審査の結果の要旨

本研究は、緑内障の発症原因が網膜循環の障害であるという仮説に基づき、網膜毛細血管ペリサイトが網膜循環の調節に関与するかを明らかにするために、虚血時に変化する局所因子に対するペリサイトの反応性を薬理的に検討し、さらに網膜循環が障害される機序について検討したものである。この中でペリサイトの収縮の測定系を確立し、その収縮・弛緩にかかわる種々の因子を明らかにした。

本研究は網膜循環調節機序および網膜循環の障害機序を明らかにしてゆく上で有用な知見を提供するものであり、薬学博士の授与に値すると判断する。