OUKA
Osaka University Knowledge Archive

Title	Light－Induced Crystallization of Germanium Diselenide Glass and Its Medium Range Structures.
Author(s)	松田, 理
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45498
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	松田（まつだ） 理（さとし）
博士の専攻分野の名称	博士（医学）
学位記番号	第 19337 号
学位授与年月日	平成17年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科臓器制御医学専攻
学位論文名	Vascular Endothelial Growth Factor Reduced and Connective Tissue Growth Factor Induced by Triamcinolone in ARPE19 Cells under Oxidative Stress. （酸化ストレス負荷したARPR19細胞においてトリアムシノロンによりVascular Endothelial Growth Factorは発現が抑制され、Connective Tissue Growth Factorは発現が促進される。）
論文審査委員	（主査） 教授 田野 保雄 （副査） 教授 不二門 尚　教授 谷口 直之

論文内容の要旨

〔 目　　的 〕

加齢黄斑変性（Age-related macular degeneration、AMD）は日本で高齢者の失明原因の第一位に挙げられる疾患であるが、現在まだ有効な治療法が定まっていない。最近になりAMDに対し、糖質コルチコイド作用を主とする作用持続性のトリアムシノロン誘導体であるトリアムシノロンアセトニド（Triamcinolone Acetonide、TA）の硝子体内注射、テノン嚢下注射が有効であるとの報告が多くなされている。その場合、AMDの病変である脈絡膜新生血管（Choroidal Neovascularization、CNV）の縮小、またしばしばCNVの線維化も認められる。しかし、まだCNVに対するTAの作用機序は分かっていない。今回我々は、AMDの原因の一つである網膜色素上皮（Retinal Pigment Epithelium、RPE）細胞へ酸化ストレスを与える系を用いてTAにより変化する因子を検討した。

〔 方法ならびに成績 〕

まず、様々な濃度のTAに対するRPEへの影響を調べるため、10 nM、1μM、100μMのTAを含んだメディウムでヒトRPE cell lineであるARPE19細胞を4日間培養した。すると10 nM、1μMではARPE19細胞は増殖が促進されたのに対し、100μMでは逆に増殖が抑制され、100μMでは細胞毒性がある可能性が示唆された。

次にARPE19細胞に酸化ストレスを与える系を用いてTAがどのような影響を与えるかについて血管新生作用のあるVascular Endothelial Growth Factor（VEGF）、主に線維化を誘導する因子であるConnective Tissue Growth Factor（CTGF）の発現変化をそれぞれリアルタイムRT-PCR、ウエスタンブロッティングを用いて検討した。ARPE19細胞に酸化ストレスを与える系には、短期的に酸化ストレスを与える低酸素－再酸素化刺激（24時間低酸素、その後通常の酸素濃度で培養）、持続的に酸化ストレスを与えるパラコート刺激（300μMのパラコートを含んだメディウムで5日間培養）の2種類を用いた。これらの刺激によりHeme Oxygenase-1（HO-1）mRNAの発現が上昇し、酸化ストレスが誘導されていることをリアルタイムRT-PCRにより確認した後、VEGF、CTGFのmRNAの発現変化

を調べたところ、両者とも発現上昇が認められた。次にメディウムに TA を付加して同様の刺激を加えたところ、VEGF は上昇した発現が濃度依存的に抑制され、逆に CTGF は上昇した発現がさらに増加した。これらの結果が最も顕著に表れた TA の濃度は 1μM であった。1μM の TA でウエスタンブロッティングを用いて蛋白レベルでの発現状態を調べたところ、同様に VEGF は発現上昇が抑えられ、CTGF は逆にさらに発現が上昇した。2つの因子が TA に対し、逆の発現変化を示しているので、両因子のシグナルの上流にある Transforming Growth Factor-β（TGF-β）の発現変化を同様に検討した。リアルタイム RT-PCR、ウエスタンブロッティングにて、TGF-β は酸化ストレスで上昇した発現が TA 濃度依存的に抑制されていた。以上の結果より、TA による CTGF の発現抑制は TGF-β を介さない可能性が示唆された。

最後に TA による血管新生の影響をヒト臍帯静脈内皮細胞（Human Umbilical Vein Endothelial Cells、HUVECs）を用いて検討した。ARPE19 細胞に酸化ストレスを加えたメディウムとメディウムに TA を添加して同様の刺激を加えたメディウムを用いて HUVEC の管腔形成について検討したところ、TA を添加したメディウムでは添加していないメディウムと比べ、有意に管腔形成が抑制された。

〔 総　　括 〕

酸化ストレスを受けた RPE 細胞においては TA により VEGF、TGF-β の発現が抑制され、CTGF の発現がさらに上昇することが示された。VEGF は強力な血管新生因子であり、これが TA により発現が抑制されることにより CNV の退縮に寄与し、また、線維化を誘導する因子である CTGF が TA により発現上昇することで CNV の線維化に関与することが示唆された。当然、TA はその他の因子にも影響を及ぼすことは確実であり、今後さらに検討を加えることで CNV に対する TA の効果がさらに解明されるものと思われる。

論文審査の結果の要旨

近年、加齢黄斑変性（AMD）の病変である脈絡膜新生血管（CNV）に対し、トリアムシノロンアセトニド（TA）の注入が試みられてきている。この際、CNV は縮小し、線維化が認められることがある。そこで AMD の主要な原因である網膜色素上皮（RPE）への酸化ストレスの系を用いて TA によって発現が変化する因子を検討した。培養 RPE 細胞に酸化ストレスを加えると強力な血管新生因子である Vascular Endothelial Growth Factor（VEGF）、線維化の因子である Connective Tisse Growth Factor（CTGF）ともに発現上昇が認められた。この系に TA を付加したところ、VEGF は濃度依存的に発現が減少するのに対し、CTGF は逆に発現がさらに上昇した。そこで両因子の inducer である Transforming Growth Factor-β（TGF-β）の発現変化を調べたところ、TA 付加により TGF-β は発現減少が認められた。よって TA による CTGF の発現上昇は TA 直接または TGF-β を介さない経路によることが示唆された。以上の結果より、VEGF の減少により CNV が縮小し、CTGF の上昇により線維化が引き起こされる可能性が示唆された。

以上の研究は医学の進歩に寄与すると考えられ、本研究は博士（医学）の学位授与に値するものと認める。