

Title	A role for endothelial cells in promoting maturation of astrocytes through the apelin/APJ system in mice
Author(s)	崎元, 晋
Citation	大阪大学, 2012, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/58920">https://hdl.handle.net/11094/58920</a>
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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a>〉</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	崎元晋
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 25132 号
学位授与年月日	平成 24 年 3 月 22 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科外科系臨床医学専攻
学位論文名	A role for endothelial cells in promoting maturation of astrocytes through the apelin/APJ system in mice (apelin/APJ 系は内皮細胞を介してアストロサイトの分化を促進する)
論文審査委員	(主査) 教授 西田 幸二 (副査) 教授 不二門 尚 教授 熊ノ郷 淳

## 論文内容の要旨

## 〔 目 的 〕

網膜血管の発達およびリモデリングに、アストロサイトと血管内皮細胞の相互作用は必須である。両者の間にはネガティブフィードバック機構が存在し、アストロサイトは血管内皮細胞増殖因子 (VEGF) を産生し内皮細胞の遊走・増殖を起こす一方、内皮細胞は白血球阻止因子 (LIF) または酸素の供給によりアストロサイトの分化を促し VEGF を抑制する。しかし、その内皮細胞によるアストロサイトの成熟化・LIF 産生の誘因メカニズムは知られていない。Angiopoietin1/tie2 シグナルの下流に位置する apelin およびその受容体 APJ は、網膜血管発生期の血管内皮細胞に強く発現し、オートクラインの経路で血管新生だけでなく血管成熟化・安定化に関わるとされる。本研究では、apelin/APJ シグナルが網膜アストロサイトの分化機構に関与するか、APJ ノックアウトマウスを用いて検討した。

## 〔 方法ならびに成績 〕

APJ ノックアウトマウス (以下 APJ<sup>-/-</sup>) 新生仔の網膜フラットマウント免疫染色 (以下 IHC) での解析では、抗 PECAM-1 抗体で染色された血管網は既報の通り、発達が遅延しており、網の中心部では血管密度は粗であった。その一方血管網の進展部位では、血管内皮細胞のひとつである tip 細胞の異常な増殖が認められた。網膜フラットマウント in situ hybridization では、APJ<sup>-/-</sup>で同部位に VEGF の発現亢進をしめし、フローサイトメトリーで単離された PDGFR $\alpha$  陽性アストロサイトでは、定量的 PCR において APJ<sup>-/-</sup>で VEGF の発現が上昇していた。また、VEGF を分泌するアストロサイトに関してもフラットマウント IHC で検討したところ、APJ<sup>-/-</sup>で血管の進展部位に PDGFR $\alpha$  陽性アストロサイトの過剰な増殖を示した。

この過剰な増殖および VEGF の発現上昇がアストロサイトの未分化性に起因するのではないかと

考え、APJ<sup>-/-</sup>網膜を IHC、定量的 PCR を用いて、出生後経日的にアストロサイトマーカーの発現を解析すると、APJ<sup>-/-</sup>のアストロサイトでは分化マーカーである GFAP の発現が弱く、未分化なアストロサイトが増殖していたと考えられた。また野生型マウスの硝子体に apelin を投与し、フラットマウント IHC および定量的 PCR で検討すると、apelin 投与群で GFAP の発現上昇を認めたため、apelin/APJ シグナルがアストロサイトの分化に関わると考えられた。

受容体 APJ の発現に関して、野生型マウスに対するフラットマウント IHC では、既報のとおり内皮細胞に強く発現し、アストロサイトでは認められなかった。また in vitro ではマウス血管内皮細胞株を用い、apelin で内皮細胞を刺激して得られた培養上清のみが、マウス新生仔由来培養網膜細胞において GFAP の発現を上昇させたことから、apelin/APJ 系によるアストロサイトの分化メカニズムは血管内皮細胞を介したものであると考えられた。

グリア細胞の分化に中心的な役割を果たす JAK-STAT 系に関わるサイトカインのうち、LIF の発現が定量的 PCR にて、APJ<sup>-/-</sup>の網膜血管内皮細胞で低下しており、in vitro でヒト培養血管内皮細胞を apelin で刺激し定量的 PCR で検討すると、LIF の発現が一過性に上昇した。最後に APJ<sup>-/-</sup>の眼内に LIF を投与すると、内皮細胞および未分化なアストロサイトの過増殖が抑制されたため、血管内皮細胞の APJ 活性化により内皮細胞での LIF の発現上昇がおり、アストロサイトの分化が誘導されるというメカニズムが考えられた。

## 〔 総 括 〕

網膜血管の成熟化プロセスでは、apelin/APJ シグナルは内皮細胞において LIF を発現させることにより、周囲の細胞の分化を促進しうる。引き続いておこる VEGF のダウンレギュレーションは、さらなる血管新生を抑制するため、血管成熟化因子による新たな安定化のメカニズムが存在すると考えられた。

## 論文審査の結果の要旨

本研究は、現在まで apelin/APJ シグナルが、血管径の拡大や透過性亢進の抑制などの血管成熟化に関与されるとされてきたが、それだけでなく網膜血管発達モデルにおいて、血管周囲の細胞であるアストロサイトの成熟化を介して血管新生の抑制とそれに引き続く血管成熟化に関与することが示した。つまり APJ<sup>-/-</sup>マウスを用いて示される血管内皮細胞の増生および未分化なアストロサイトの増加や、apelin や LIF などの眼内注入によっておこるアストロサイトの成熟化とそれに引き続く血管新生の抑制は、これを裏付けるもので眼科学および発生学に寄与する知見である。よって本論文は博士 (医学) の学位授与に値する。