The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	A role for endothelial cells in promoting maturation of astrocytes through the apelin/APJ system in mice
Author(s)	﨑元, 晋
Citation	大阪大学, 2012, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/58920
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。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【86】

氏　　名	崎　元　　晋（さき　もと　　すすむ）
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、内皮細胞は白血病阻止因子（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-/-）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-/-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PDGFRα陽性アストロサイトでは、定量的PCRにおいてAPJ-/-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-/-で血管の進展部位にPDGFRα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-/-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-/-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-/-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-/-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の発現上昇がおこり、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いたが、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APJKO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。