

学位論文審査の要旨

申請者は、オーファン G タンパク質共役型受容体 APJ の内因性リガンドとして同定された生理活性ペプチドである apelin の虚血性網膜症における病態生理学的意義について、虚血性網膜症モデルマウス、培養細胞、及び虚血性網膜症患者の硝子体サンプルを用いて解析を行い、虚血性網膜症で生じる病的網膜血管形成に apelin-APJ system が深く関与することを明らかにした。さらに虚血性網膜症の新規治療薬として APJ 阻害薬が有用である可能性を示した。以下に本学位論文の審査結果を示す。

申請者は、まず虚血性網膜症で生じる病的網膜血管新生への apelin-APJ system の関与を明らかにするため、野生型マウス及び apelin 遺伝子欠損 (KO) マウスを用いて、虚血性網膜症モデルとして繁用されている oxygen-induced retinopathy (OIR) モデルを作製した。生後 7 日目の網膜血管形成途中のマウスを高酸素条件下で 5 日間飼育し、その後、通常酸素濃度下で数日間飼育することにより OIR モデルを作製した。本モデルマウスにおいて、高酸素飼育直後に網膜中心部分に広い無血管領域が出現し、その後の通常酸素濃度での飼育により、無血管領域に向かって多数の房状形態の異常血管が形成された。この OIR モデルマウスの網膜における apelin mRNA 及び APJ mRNA の発現が、網膜に異常血管新生が生じる時期に著明に上昇することを明らかにした。また、異常血管の内皮細胞と網膜から硝子体内に侵入する血管内皮細胞に強い APJ 陽性反応がみられることを明らかにした。一方、apelin-KO マウスを用いた OIR モデルでは異常な網膜血管はほとんど形成されなかったことから、虚血性網膜症で生じる病的網膜血管新生には、apelin-APJ system の著明な活性化により引き起こされる血管内皮細胞の過増殖が深く関与する可能性が示された。

次に申請者は、網膜の apelin-APJ system を阻害することにより異常血管新生を抑制できるか否かについて、培養細胞及び OIR モデルマウスを用いて検討を行った。マウス培養血管内皮細胞株 bEnd.3 細胞への apelin small interfering RNA (siRNA) の導入により apelin mRNA の著明な発現低下が起これ、血管壁細胞の遊走因子 monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) の発現が上昇することを明らかにした。また、この MCP-1 の発現誘導には、PI3K-Akt シグナルの低下による転写因子 Smad3 の活性化が関与することを明らかにした。さらに apelin siRNA を導入した bEnd.3 細胞の培養上清には、血管平滑筋細胞の遊走促進作用があることを

示した。OIR モデルマウスの硝子体内への apelin siRNA の投与により、網膜の apelin mRNA の発現抑制と MCP-1 mRNA の発現誘導が起こり、新生血管内皮細胞の周囲への周皮細胞の増加と異常血管の減少がみられることを示した。これらの結果から、apelin-APJ シグナルを抑制することにより、血管内皮細胞の過増殖の抑制による血管壁細胞の動員促進を介して成熟血管の形成を誘導できる可能性が示された。また、申請者は、増殖性糖尿病患者と未熟児網膜症患者の硝子体内の apelin 量を解析し、血管新生を伴わない眼疾患患者の硝子体には、ほとんど apelin が存在しなかったのに対し、増殖性糖尿病網膜症患者や未熟児網膜症患者の硝子体には、高濃度の apelin が存在することを明らかにし、病的網膜血管新生に伴う apelin の発現上昇がヒトでも起きていることが示された。

次に申請者は、虚血性網膜症の病的血管新生に対して APJ 阻害剤が抑制効果を示すか否かについて OIR モデルマウスを用いて検討を行った。OIR モデルマウスに APJ 阻害剤 ML221 を腹腔内投与すると、網膜の異常血管新生及び無血管領域の著明な減少が起こることを明らかにした。一方、血管内皮増殖因子 (VEGF) 受容体の阻害剤 SU1498 の腹腔内投与は、OIR モデルマウスの網膜の異常血管新生を抑制するが、無血管領域は減少させないことを示し、VEGF 受容体阻害剤が正常血管形成に対しても抑制作用を示すことを明らかにした。これらの結果から APJ 阻害剤が、VEGF 受容体阻害剤と比較して虚血性網膜症における網膜異常血管新生を選択的に抑制できる可能性が示され、虚血性網膜症の新規治療薬としての APJ 阻害剤の有用性が示された。

虚血性網膜症の治療としては、現在、レーザー光による網膜凝固術が行われているが、組織破壊による疼痛を伴うことや視力低下を招く危険性が指摘されている。また、VEGF の中和抗体の硝子体内投与も行われているが、効果が一過性であることや効果がみられない症例が報告されている。本研究で得られた結果より、APJ 阻害薬は、これら既存の治療法の問題点を解消できる新たな虚血性網膜症治療薬として期待できる。今後、本研究成果が、apelin-APJ system を標的とした新たな虚血性網膜症治療法の開発に役立つものと思われる。以上のことから、本論文は博士（薬学）の学位論文として相応しいものと認定した。