糖尿病網膜症における血液網膜関門の破綻機構の解明

植村明嘉

名古屋市立大学大学院医学研究科 網膜血管生物学寄附講座

【研究の背景】

成人の主要な失明原因である糖尿病網膜症では、毛細血管壁のペリサイト消失に伴う血液網膜関門の破綻により、網膜 浮腫が生じ視力が低下する。しかし高血糖モデル動物では網膜ペリサイトの消失を再現できないため、血液網膜関門の破 綻に関与する細胞・分子機構については依然として不明な点が多い。一方、出生直後から血管発生が開始するマウス網膜 では、内皮細胞が分泌する血小板由来増殖因子(PDGF)-B が、PDGF 受容体(PDGFR)βを発現するペリサイトの増殖・遊 走を促進するため、PDGF-B/PDGFRβシグナルを阻害することにより網膜血管壁のペリサイトを消失させ、糖尿病網膜症と 同様の血管異常を再現することができる1)。

的】

本研究では、ペリサイト消失による血液網膜関門の破綻機構を解明することを目的に、新生仔マウスに抗 PDGFR β 抗体 を投与して網膜ペリサイトを消失させた上で、血管壁バリアの構造・機能の変化を経時的に解析した20。

【方 法】

野性型(C57BL/6 および ICR)マウス、Tie2-GFP マウス、CX3CR1-GFP マウス、DSCR1-lacZ マウス、VEGFR2-GFP マウ ス、VEGFR1-DsRed マウス、Flt1-TK^{-/-}マウスを用いた。生後 1 日マウスの腹腔内に抗 PDGFR β 抗体(クローン APB5)を単 回投与した。マウス眼内への薬物投与ではガラスキャピラリーを装着したマイクロインジェクターを用いた。マウス網膜の組織 学的解析では免疫染色法(ホールマウント標本および凍結切片標本)、ヘマトキシリン・エオジン染色法(パラフィン切片標 本)、in situ hybridization 法(ホールマウント標本)、走査型および透過型電子顕微鏡観察法を用いた。マウス網膜の遺伝子 発現解析では qRT-PCR 法およびマイクロアレイ法を用いた。生体マウス網膜のイメージングでは超広角走査レーザー検眼 鏡、光干渉断層計、共焦点レーザー顕微鏡を用いた。網膜器官培養のイメージングでは共焦点レーザー顕微鏡を用いた。 マウス視機能の評価では網膜電図を用いた。マウス網膜内の血球成分解析ではフローサイトメトリー法を用いた。マウス網膜 における Tie2 リン酸化の解析では共免疫沈降法およびウエスタンブロット法を用いた。

【結 果】

生後 1 日マウスに抗 PDGFR β 抗体を単回投与して、網膜血管壁へのペリサイト集積を阻害すると、内皮細胞における炎 症性サイトカインや白血球接着分子の発現が上昇し、生後 6 日より網膜内へのマクロファージ浸潤が亢進した。マクロファー ジは血管内皮細胞増殖因子(VEGF)を分泌して内皮細胞の VEGFR2 を活性化し、血管壁透過性を亢進させるとともに、胎 盤成長因子(PIGF)を分泌してマクロファージのVEGFR1を活性化し、炎症を増悪させることが明らかとなった。さらに、ペリサ イトを消失した内皮細胞は angiopoietin (Angpt)-2 を分泌して内皮細胞の Tie2 受容体を不活化し、VEGF の作用を増強する ことが明らかとなった。その結果、成体に至るまで網膜におけるマクロファージ浸潤が遷延し、血管壁バリア機能が不可逆的 に破綻した。こうした状況で VEGF、PIGF、Angpt2 を同時に阻害すると炎症が抑制され、網膜血管壁の構造・機能が正常化 した。

【考 察】

上記の結果から、マウス網膜血管ではペリサイト消失を契機として、内皮細胞とマクロファージが VEGF、PIGF、Angpt2 を介した悪循環経路を形成し、血管壁バリア機能を破綻させることが明らかとなった(図)。こうした現象と、ヒト糖尿病網膜症における血管壁からのペリサイト脱落との類似点・相違点については、今後さらに検証する必要がある。

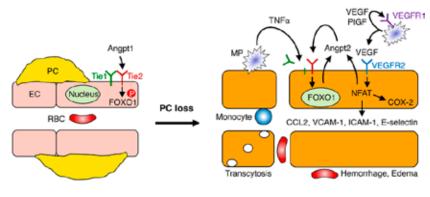


図. ペリサイト消失による血液網膜関門の破綻

ペリサイト(PC)に被覆された網膜血管壁ではAngpt1が内皮細胞(EC)のTie2受容体を活性化し、さらに転写因子FOXO1を不活化して、血管壁を安定化させる。ペリサイト消失に伴い内皮細胞における炎症反応が惹起され、網膜内に浸潤したマクロファージがVEGFおよびPIGFを分泌する。さらに内皮細胞がAngpt2を分泌してFOXO1を活性化する。こうした悪循環経路により、バリア機能が不可逆的に破綻する。(文献2より改変)

【臨床的意義・臨床への貢献度】

現在、糖尿病黄斑浮腫に対して施行されている抗VEGF療法では、高頻度の再発や、治療への不応性が問題となっている。本研究の成果から、抗Angpt2薬と抗VEGF薬を併用することにより、相乗効果を得られる可能性が期待される。

【参考・引用文献】

- 1. Uemura A, et al. Recombinant angiopoietin-1 restores higher-order architecture of growing blood vessels in mice in the absence of mural cells. *J Clin Invest*. 110:1619–1628, 2002.
- 2. Ogura S, et al. Sustained inflammation after pericyte depletion induces irreversible blood-retina barrier breakdown. JCI Insight. 2:e90905, 2017.