

氏 名	細 木 安 希 子
(ふりがな)	(ほそき あきこ)
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第 号
学位審査年月日	平成28年12月21日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題名	Changes in expression of nestin, CD44, vascular endothelial growth factor, and glutamine synthetase by mature müller cells after dedifferentiation (ミュラー細胞脱分化時におけるネスチン、CD44、VEGF、グルタミン合成酵素の発現)
論文審査委員	(主) 教授 高 井 真 司 教授 菅 澤 淳 教授 朝 日 通 雄

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

<<緒 言>>

感覚網膜に存在するグリア細胞にはミュラー細胞、アストロサイト、ミクログリアがある。このうちミュラー細胞は、網膜のほぼ全域に存在し、内境界膜から視細胞領域までの広範囲をカバーする大型の細胞で、網膜の主要なグリア細胞である。ミュラー細胞は支持組織として存在するだけでなく、様々な神経伝達物質受容体が存在しており、神経伝達物質の代謝にも関与している。グルタミン酸などの神経伝達物質を取り込み、長時間シナプスに留まるのを防ぎ、glutamine 合成酵素などで適切な物質に代謝している。網膜虚血時にも神経細胞から多くのグルタミン酸が放出されたり、ミュラー細胞での代謝機能が傷害を受けると、細胞外のグルタミン酸濃度が上昇する結果、神経細胞死に至ると考えられて

いる。また、網膜が障害されると、ミュラー細胞は nestin 陽性の網膜前駆細胞に脱分化し、様々な網膜のニューロンへと分化する多能性があることがわかっている。

ヒアルロン酸は、細胞外マトリクスの主要な構成成分であるが、シグナル分子としての機能も担っている。ヒアルロン酸の集積は浮腫を引き起こし、神経の変性に至る。ヒアルロン酸の受容体である CD44 は関節リウマチなどの炎症性疾患に関与しており、眼科領域ではぶどう膜炎や網膜変性、脈絡膜新生血管や増殖性網膜症などで発現が亢進している。

今回我々は、網膜障害時にみられる脱分化した未熟なミュラー細胞において、成熟ミュラー細胞と生理機能が異なることが、炎症性浮腫や網膜神経細胞死などの病態に関与していると考えた。

<<目 的>>

ミュラー細胞の脱分化時にみられる nestin の発現亢進とヒアルロン酸受容体である CD44、vascular endothelial growth factor (VEGF) および glutamine 合成酵素の発現量の関連を明らかにすることで、網膜障害時にみられるミュラー細胞を介した炎症性浮腫や網膜神経細胞死との関連を考える。

<<方 法>>

ミュラー細胞株である TR-MUL5 細胞、およびラット網膜の培養ミュラー細胞に対して、basic fibroblast growth factor (bFGF)をそれぞれ 1.0、10、100 ng/ml の濃度で添加し、さらにインスリン 5 μ M を添加して、48 時間暴露させて脱分化を試みた。脱分化の前後で、nestin、CD44、VEGF および glutamine 合成酵素の発現量の変化を、免疫染色と western blot で検討した。

<<結 果>>

ミュラー細胞の株細胞である TR-MUL5 細胞に bFGF を 1.0、10、100 ng/ml の各濃度で作用させたところ、10 ng/ml の濃度で nestin の発現量を最も増加させた。さらにインス

リン 5 μM を添加することでさらに nestin の発現量が亢進した。CD44 の発現量も有意に増加した。同様に培養ミューラー細胞に bFGF 10 ng/ml とインスリン 5 μM を作用させると、nestin と CD44 および VEGF の発現量は対照に比較して有意に亢進した。glutamine 合成酵素の発現量は対照に比較して有意な減少がみられた。

<<結 論>>

ミューラー細胞を生化学的に脱分化させると、CD44 と VEGF の発現が亢進し、glutamine 合成酵素は発現が低下することが示された。nestin 陽性の脱分化したミューラー細胞では、CD44 および VEGF の発現が亢進しており、浮腫、炎症や血管新生に関与していると考えられる。一方で、glutamine 合成酵素の発現は低下し、グルタミン酸を処理する能力が十分備わっておらず、神経細胞死を妨げる能力には乏しいと考えられた。

論文審査結果の要旨

網膜に幅広く存在するミュラー細胞は、グリア細胞としても機能だけでなく、様々な生理機能を有しており、傷害を受けると脱分化し、多能性をもつことが知られている。脱分化したミュラー細胞の網膜疾患への関与を明らかにするために行われた研究である。

本研究で、申請者は、生化学的にミュラー細胞を脱分化させ、nestin、CD44、VEGF および glutamine 合成酵素の発現を成熟ミュラー細胞と比較した。nestin 陽性の脱分化したミュラー細胞では、CD44 と VEGF の発現が亢進し、glutamine 合成酵素は発現が低下することを示した。CD44 や VEGF は炎症や浮腫と関与しており、脱分化したミュラー細胞でその発現が亢進しているということは、網膜障害により脱分化した未熟なミュラー細胞が炎症性浮腫に関与していることを示唆している。しかし、glutamine 合成酵素は成熟ミュラー細胞と比較して発現が減少していることが示されたため、神経細胞死を妨げる機能までは持たないことも推察される。

これらのことより、本研究は糖尿病網膜症や黄斑浮腫など、幅広い網膜の炎症性疾患の病態解明の一助となると考えられる。

以上により、本論文は本学大学院学則第 11 条第 1 項に定めるところの博士（医学）の学位を授与するに値するものと認める。

(主論文公表誌)

Journal of ocular pharmacology and therapeutics 31(8): 476-481, 2015