

学位論文内容の要旨

論文提出者氏名	論文審査担当者
福本雅格	主査 教授 朝 日 通 雄
	副査 教授 花 房 俊 昭
	副査 教授 林 秀 行
	副査 教授 北 浦 泰
<p>主論文題名</p> <p>Involvement of Angiotensin II-Dependent Vascular Endothelial Growth Factor Gene Expression via NADPH Oxidase in the Retina in a Type 2 Diabetic Rat Model</p> <p>(2型糖尿病ラットモデルの網膜における NADPH オキシダーゼを介したアンジオテンシン II 依存性の血管内皮増殖因子遺伝子発現の関与)</p>	
学位論文内容の要旨	
<p>《目的》</p> <p>糖尿病網膜症は、成人における中途失明の主要な原疾患である。</p> <p>アンジオテンシン II (A II) は、糖尿病網膜症の進行に深く関与しているとされる。また、酸化ストレスも糖尿病網膜症の進行に深く関与しているが、その詳細な機構は不明である。近年、糖尿病において、血管での NADPH オキシダーゼの活性化を介した酸化ストレスの増加が注目されている。また、虚血網膜において、NADPH オキシダーゼにより血管内皮増殖因子(VEGF)が誘導され、血管新生につながる事が知られている。A II が全身血管での NADPH オキシダーゼを活性化することは知られているが、網膜において、A II が NADPH オキシダーゼを介して VEGF 遺伝子の発現に関与するかについては不明であった。</p> <p>Sprague-Dawley (SD)ラットの1亜系である Spontaneously diabetic Torii (SDT)ラットは、ヒト増殖糖尿病網膜症類似の所見を呈する自然発症2型糖尿病モデルであり、増殖糖尿病網膜症の病態解明に有用である。</p> <p>今回の実験において、眼局所でのアンジオテンシン変換酵素(ACE)活性を、血漿及び大血管と比較した。次に、SDT ラットにおける、VEGF、NADPH オキシダーゼの構成因子の1つである p22^{phox} の遺伝子発現に対するアンジオテンシン II 受容体拮抗薬(ARB) の効果</p>	

を評価した。最後に、VEGF、p22^{phox} の遺伝子発現に対する A II 投与の影響を評価した。

《対象及び方法》

SDT ラットの体重、血糖値を測定した。全身及び、眼局所における A II 産生の経時変化を評価するため、15、30、50 週齢で、大動脈、眼球を摘出し、血漿とともに、ACE 活性を測定した。

VEGF、p22^{phox} の遺伝子発現に対する ARB の効果を評価するため、SDT ラットに対し、10 週齢から 40 週間、ARB (2.5 mg/kg/day candesartan) 及び placebo を経口投与した。対照群として SD ラットを用いた。50 週齢にて網膜を摘出し、RT-PCR 法にて VEGF、p22^{phox} の mRNA 量を測定した。

VEGF、p22^{phox} の遺伝子発現に対する A II 投与の影響を評価するため、23 週齢の SDT ラットに対し、A II (500 ng/kg/min) および生理食塩水を浸透圧ポンプにて 4 週間皮下持続投与した。対照群として同週齢の SD ラットを用いた。27 週齢において網膜を摘出し、RT-PCR 法にて VEGF、p22^{phox} の mRNA 発現量を測定した。

《結 果》

SDT ラットの体重は、20 週齢および 30 週齢において、15 週齢よりも有意に増加していたが、50 週齢では有意な差は無かった。血糖値は、20 週齢において、15 週齢よりも有意に増加しており、20 週齢以降も持続的に増加した。

15 週齢と 30 週齢において、大動脈、血漿、眼球の ACE 活性に有意な差は無かった。50 週齢における ACE 活性は、大動脈、血漿においては 15 週と 30 週と変化が無かったが、眼球では 30 週齢の 3.7 倍に増加していた。

50 週齢における網膜での VEGF の mRNA 発現量は、SD ラットに比較し、placebo を投与した SDT ラットにおいて有意に高値であったが、ARB の投与により有意に抑制された。同様に、p22^{phox} の mRNA 発現量においても VEGF と同様の結果が得られた。

27 週齢における網膜での VEGF の mRNA 発現量は、SD ラットと生食を投与した SDT ラットに有意な差は無かった。しかし、同週齢において、4 週間の A II を投与した SDT ラット網膜での VEGF の mRNA 発現量は、生食投与群と比較し有意に高値であった。p22^{phox} の mRNA 発現量においても VEGF と同様の結果が得られた。

《考 察》

今回の実験により、長期糖尿病モデルにおいて、大動脈や血漿とは異なり、眼局所では A II 産生機構が特異的に活性化されていることが示された。

以前に、我々は糖尿病網膜症患者における硝子体中の ACE 活性及び VEGF 濃度が、非糖尿病網膜症患者に比較し高値であることを示した。また、糖尿病網膜症の発症と進行には VEGF が重要な役割を担っている。in vitro において、A II は血管内皮の NADPH オキシダーゼを強力に誘導し、結果的に VEGF の遺伝子発現増加につながることを示されている。今回の実験において、50 週齢で眼球での ACE 活性は上昇しており、VEGF および p22^{phox} の発現量は同週齢の SD ラットに比較し有意に高値であった。一方、SDT ラットにおいて、ARB である candesartan は VEGF とともに p22^{phox} の発現量も抑制した。これらより、慢性期の糖尿病状態の眼球では、A II により NADPH オキシダーゼが誘導され、VEGF の遺伝子発現につながると考えられた。

今回の実験において、SDT ラットに対する 23 週齢から 4 週間の A II の投与により、VEGF および p22^{phox} の発現量が増加することが分かった。また、投与中止時点の 27 週齢においては、生食を投与した SDT ラットと SD ラットの VEGF および p22^{phox} の発現量に差は無かった。これらより、この糖尿病モデルの網膜において、A II は NADPH オキシダーゼを介した VEGF の遺伝子発現に関与する可能性が示された。

今回の実験により、2 型糖尿病モデルラットの網膜において、A II が NADPH オキシダーゼを介して VEGF の遺伝子発現を誘導し、これは ARB により抑制される可能性が示された。今回の結果から、ARB の投与が糖尿病網膜症の新たな治療戦略になる可能性が示唆された。

審査結果の要旨および担当者

報告番号	甲第	号	氏名	福本雅格
論文審査担当者			主査教授 朝日 通雄	
			副査教授 花房 俊昭	
			副査教授 林 秀行	
			副査教授 北浦 泰	
主論文題名				
<p>Involvement of Angiotensin II-Dependent Vascular Endothelial Growth Factor Gene Expression via NADPH Oxidase in the Retina in a Type 2 Diabetic Rat Model</p> <p>(2型糖尿病ラットモデルの網膜における NADPH オキシダーゼを介したアンジオテンシン II 依存性の血管内皮増殖因子遺伝子発現の関与)</p>				
論文審査結果の要旨				
<p>糖尿病網膜症は、成人における中途失明の主要な原疾患であり、アンジオテンシン II (A II) および酸化ストレスは、その進行に深く関与しているとされる。近年、糖尿病において、血管での NADPH オキシダーゼの活性化を介した酸化ストレスの増加が注目されている。また、虚血網膜において、NADPH オキシダーゼにより血管内皮増殖因子(VEGF)が誘導され、血管新生につながる事が知られている。しかし、糖尿病網膜症において、A II が NADPH オキシダーゼを介して VEGF 遺伝子の発現に関与するかについては不明であった。</p> <p>申請者は、ヒト増殖糖尿病網膜症類似の所見を呈する自然発症2型糖尿病モデルとして知られる Spontaneously diabetic Torii (SDT)ラットを用いて、眼局所でのアンジオテンシン変換酵素(ACE)活性を血漿および大血管のそれと比較した。また、SDT ラットにおける VEGF、p22^{phox} の遺伝子発現に対するアンジオテンシン II 受容体拮抗薬(ARB)の効果の評価した。最後に、VEGF、p22^{phox} の遺伝子発現に対する A II 投与の影響を解析した。</p>				

血糖値は、50 週齢まで持続的に増加した。50 週齢における大動脈、血漿の ACE 活性は、15 週齢や 30 週齢と差が無かったが、眼球では有意に高値であった。SDT ラットにおける網膜での VEGF および p22^{phox} の mRNA 発現増加は、ARB の投与により有意に抑制された。4 週間の A II 投与により、SDT ラット網膜での VEGF および p22^{phox} の mRNA 発現量は有意に増加した。

今回の結果より、2 型糖尿病モデルラットの網膜において、A II が NADPH オキシダーゼを介して VEGF の遺伝子発現を誘導し、これは ARB により抑制される可能性が示された。

今回の結果から、ARB の投与が糖尿病網膜症の新たな治療戦略になる可能性が示唆された。

以上により、本論文は本学大学院学則第11 条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)

Current eye research 33(10): 885-891, 2008