




学位論文審査結果報告書

報告番号	北里大 乙 第 16 26 号	氏 名	浅野 大樹
論文審査担当者	<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div> <p>(主査) 教授 田辺 光男</p> <p>(副査) 教授 中原 努</p> <p>(副査) 教授 小林 義典</p> <p>(副査) 教授 奥脇 暢</p> </div> <div style="text-align: right;">    </div> </div>		
<p>〔論文題目〕</p> <p>網膜における神経－血管－グリア連関の破綻と再構築に関する研究 (Disruption and reorganization of the neuronal-vascular-glial interactions in the retina)</p> <p>〔論文審査結果の要旨〕</p> <p>網膜の恒常性は、神経細胞、血管構成細胞（内皮細胞／平滑筋／周皮細胞）及びグリア細胞（アストロサイト／ミクログリア／ミュラー細胞）間における情報交換により維持されており、これは「神経－血管－グリア連関」と呼ばれている。糖尿病網膜症や緑内障等の網膜疾患では、神経－血管－グリア連関の破綻と病態との関連が示唆されているが、その詳細は不明である。浅野氏の属する研究グループは、<i>N</i>-methyl-D-aspartic acid (NMDA) を硝子体内に投与したラットの網膜において、視神経節細胞の脱落に遅れてグリア細胞が活性化することで血管が脱落し、また神経と血管の相互依存度は幼若期（2 週齢）において強く、個体の成熟に伴い減弱することを明らかにしてきた。浅野氏は、本博士論文にける研究において、傷害性刺激に対してより脆弱である 1 週齢（7 日齢）の新生仔ラットを用いて視神経節細胞を脱落させ、その後に生じる網膜血管の変化と血管変化における神経及びグリアの意義について検討することで、網膜における神経－血管－グリア連関の破綻と再構築の詳細を明らかにし、網膜疾患の新規予防・治療戦略の礎を構築することを目的としている。</p> <p>まず、新生仔ラット（7 日齢）の硝子体内に NMDA を投与して視神経節細胞を脱落させた後に生じる血管の変化の過程について検討した。その結果、NMDA 投与 2 日後で著しい視神経節細胞の脱落及び内網状層（IPL）と内顆粒層（INL）の菲薄化が生じ、それ以降、ほぼ同様の組織構造を示すことが明らかになった。一方、NMDA 投与後の網膜では、深層血管の形成が抑制された後、表層部の毛細血管が脱落したが、その後に表層と深層の血管新生が生じ始め、投与 28 日後には正常と同様な網膜血管網が形成された。すなわち、新生仔ラット網膜において、視神経節細胞は 1 度脱落すると再生されないが、血管は 1 度脱落した後に再び形成され、最終的には正常と同様な血管網が形成されることがわかった。また、網膜血管形成において重要な視神経節細胞が傷害を受けると、別の細胞がその役割を補完し血管形成を</p>			

促す可能性も示唆された。

次に、網膜に豊富に存在する matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) に着目し、NMDA 投与後の血管傷害における MMP-9 の関与を検討した。NMDA 投与 2 日後に、MMP 阻害薬である CP101537 (100 nmol) 又は GM6001 (25 nmol) を硝子体内投与すると、毛細血管の脱落は顕著に抑制された。また、Western blot 法及び Gelatin zymography 法により、MMP-9 のタンパク質量及び活性は、NMDA 投与後速やかに上昇し、投与 2 日後まで上昇していることを明らかにした。さらに、浅野氏は *in situ* zymography 法を確立し、*in vivo* 状態の網膜組織中において、血管内皮細胞の外側で MMP-9 による基質分解が生じること、さらに免疫組織化学的な検討により、血管内外に集積している白血球の多くが MMP-9 の産生細胞として血管傷害に関与している可能性を示した。すなわち、網膜神経が傷害された後に血管内から網膜実質へ浸潤した白血球から産生・遊離した MMP-9 が、網膜血管の MMP-9 基質の分解を亢進して血管の脱落に関与している可能性が考えられた。

さらに、1 度脱落した血管が再び形成される機序の解明を試み、NMDA を硝子体内投与した新生仔ラットの網膜では、1) アストロサイトが活性化すること、2) 血管内皮細胞が脱落すると速やかに血管基底膜の成分として存在していたフィブロネクチンが消失すること、3) その後、アストロサイトがフィブロネクチンを産生し、網膜実質にアストロサイトのネットワークに沿ったフィブロネクチンネットワークを形成し、それを鋳型として既存血管から血管が伸長することを明らかにした。また、血管新生に寄与し、網膜では視神経節細胞及びグリア細胞であるアストロサイト並びにミュラー細胞に発現している vascular endothelial growth factor (VEGF) の血管再形成過程における意義について、VEGF 受容体チロシンキナーゼ阻害薬 KRN633 (10 mg/kg) を網膜血管が再び形成され始める NMDA 投与 14 日後に背部皮下に投与して検討したところ、血管新生がほぼ完全に抑制されたことから、視神経節細胞脱落后にはグリア細胞がその役割を補完して血管形成を促す可能性が示された。

本研究結果は、網膜の神経細胞の傷害は神経-血管連関を破綻させて血管に対し一時的な悪影響を及ぼすものの、グリア細胞がグリア-血管連関を構築して血管新生に関与し恒常性維持に働くことを示唆している。また、網膜神経細胞を脱落させた新生仔ラットは、網膜神経変性時の血管傷害と血管新生を系統的に解析することが可能となる新規網膜血管傷害／新生モデルとして有用であると期待される。これらの成果はいずれも網膜疾患の新規予防・治療戦略に大きく貢献するものと考えられる。従って、博士（薬科学）の学位に十分値するものと判断し、学位審査を合格と判定した。

以上