

平成 26 年 6 月 13 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2013

課題番号：22791657

研究課題名(和文)脈絡膜新生血管における樹状細胞の役割

研究課題名(英文)Dendritic Cells Augment Choroidal Neovascularization

研究代表者

中井 慶(nakai, kei)

大阪大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：30546883

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円、(間接経費) 900,000円

研究成果の概要(和文)：加齢性黄斑変性症はアメリカと西欧諸国において主要な失明原因のひとつに挙げられ、近年日本でも増加傾向にあるが、現在の治療法は、限られた効果でしかない。多くの場合、脈絡膜新生血管は黄斑部に生じ、血管内皮細胞、網膜色素上皮細胞、線維性組織、マクロファージを含んだ線維性血管性組織が形成され、大幅な視力低下をきたす。

樹状細胞は本来造血細胞由来の免疫担当細胞であり、獲得免疫反応に重要な役割を担っている。今までに樹状細胞はぶどう膜組織、炎症網膜、ドルーゼンに存在が確認されているが、今回我々は、樹状細胞が、脈絡膜新生血管に関与していることを報告した。

研究成果の概要(英文)：Age-related macular degeneration is the leading cause of irreversible vision loss among the elderly in most industrialized nations. Severe vision loss in ARMD is most commonly caused by choroidal neovascularization, wherein new vessels from the choroid invade the subretinal space through Bruch membrane. Dendritic cells are innate immune cells of hematopoietic origin that have a pivotal role in the initiation of the adaptive immune response. Although DCs have been detected in normal uvea, inflamed retina, and drusen deposits, to date there has been no reports of their presence in CNV. Aside from their role in immune function, DCs have recently been shown to support angiogenesis in tumors, endometriosis and lymph nodes. We showed that DCs may play a role in the pathogenesis of CNV similar to their role in tumor growth and endometriosis.

研究分野：免疫

科研費の分科・細目：免疫

キーワード：脈絡膜新生血管 樹状細胞

1. 研究開始当初の背景

加齢性黄斑変性症はアメリカと西欧諸国において主要な失明原因のひとつに挙げられ、アメリカでは400-1000万人の患者数と推定される。加齢性黄斑変性症は2つに分けられ、非滲出型が80%、脈絡膜新生血管を伴う滲出型は20%であるが、滲出型は視力0.1以下の患者の90%を占める。近年日本でも増加傾向にあり、重症な視力低下をきたす滲出型は、50歳以上の0.7%程度、30万人が罹患していると推定される。このように加齢性黄斑変性症において、脈絡膜新生血管の出現は大きな視力低下をもたらす。現在の治療法としては、止血剤の内服、光凝固法、最近では光線力学療法、抗体療法があげられるが、限られた効果でしかない。脈絡膜新生血管はブルフ膜や網膜色素上皮細胞の異常から生じるものであり、加齢性黄斑変性症や強度近視の患者において観察される。多くの場合、脈絡膜新生血管は黄斑部に生じ、血管内皮細胞、網膜色素上皮細胞、線維性組織、マクロファージを含んだ線維性血管性組織が形成される。そのような増殖性の組織に生じた脈絡膜新生血管からの出血や漏出は網膜の機能を障害する。脈絡膜新生血管について、分子学的、細胞学的機構については不明な点が多い。しかしなら、この疾患においてはマクロファージの侵入、サイトカインの分泌など炎症、免疫学的機構が活性化されると考えられ、これは腫瘍における病的新生血管と類似点が多い。樹状細胞は造血細胞由来の免疫担当細胞であり、獲得免疫反応に重要な役割

を担っている。樹状細胞はぶどう膜組織、炎症網膜、ドルーゼンに存在が確認されているが、現在に至るまで脈絡膜新生血管に存在するという報告はない。免疫的な機能に加えて、最近では腫瘍やリンパ節の拡大に関与するという報告がある。さらに、我々は樹状細胞が、新生血管が関与する子宮内膜症疾患において、新生血管を指示していることを報告した(Fainaru O, Nakai K, et al. 2008 FASEB J. 22: 522-9)。レーザー誘導型脈絡膜新生血管モデル動物は、人の脈絡膜新生血管発生の分子機構を研究する上で非常に有用である。我々は、腫瘍や子宮内膜症と同様に、脈絡膜新生血管の病態に樹状細胞が関与していると仮定し、脈絡膜新生血管における樹状細胞の存在について検討し、また樹状細胞をマウスに移入することによる脈絡膜新生血管への影響について検討した。その結果、樹状細胞が脈絡膜新生血管を増大させると報告した(Nakai K, et al. 2008 Invest Ophthalmol Vis Sci. 49: 3666-)。このように、申請者は樹状細胞の血管新生への関与について報告したが、今後は下記の実験を主に施行し、これまでの研究成果を発展させていきたいと考えている。1) 樹状細胞ノックアウト遺伝子改変マウスを用いて、レーザー照射による脈絡膜新生血管の大きさを正常マウスと比較する。この実験により樹状細胞の重要性を再確認する。2) 樹状細胞がレーザー照射部位に集積するメカニズムについて、樹状細胞に発現する受容体に注目して検討する。3) 樹状細胞の新生血管における役割

について、樹状細胞の分泌するサイトカインに着目して検討する。本研究では上記 3 項目の研究課題を中心に研究を進め、将来的には樹状細胞療法を臨床応用し、加齢性黄斑変性症の治療法として確立したい。

2. 研究の目的

研究は主に上記 3 項目の研究課題をすすめていく。今回の研究期間内では、樹状細胞の血管新生部位への集積のメカニズム、および樹状細胞が血管新生を増大する、そのメカニズムについて明らかにしたい。将来的には、樹状細胞を用いた抗新生血管療法の確立も視野に入れて研究を行いたい。研究の方法研究目的に記載したように、以下の 3 つの研究課題についてすすめていく。1) 樹状細胞ノックアウト遺伝子改変マウスを用いて、レーザー照射による脈絡膜新生血管の大きさを正常マウスと比較する。この実験により樹状細胞の重要性を再確認する。2) 樹状細胞がレーザー照射部位に集積するメカニズムについて、樹状細胞に発現する受容体に 着目して検討する。3) 樹状細胞の新生血管における役割について、樹状細胞の分泌するサイトカインに着目して検討する。

3. 研究成果

我々は、脈絡膜血管新生の病態における樹状細胞の重要性について報告し、今年度我々は下記の実験を施行した。樹状細胞ノックアウト遺伝子改変マウスを入手し、レーザー照射による脈絡膜新生血管

のサイズを正常マウスと比較検討したところ、樹状細胞が除去された DT 投与群においては、有意に脈絡膜新生血管サイズの縮小を認めた。また、体重減少については、DT 濃度を以前の報告の半分に希釈投与にて、樹状細胞が70%程度除去でき、血管新生に影響を与えるような 10%以上の体重減少を認めないよう設定した。新生血管 assay 法である角膜ポケット法、また、マウスの背部に fibronectin やコラーゲンとともに樹状細胞を埋植しての新生血管 assay 法にても、新生血管サイズの増大および fibronectin ゲルへの侵入を認めた。immature-DC が新生血管能が高く、mature-DC とのサイトカイン分泌能について VEGF、TNF-alpha、MCP-1 などについて検討し、MCP-1 に差を認めた。しかしマクロファージの眼内への流入数は両者に差をみとめず、この乖離については不明なままである。予め染色した DC をマウスに注入した上で、角膜ポケット法にて新生血管を観察したところ、血管壁にそって染色された DC が分布しているように観察されたことより、DC が血管内皮細胞へと分化したと考え、電子顕微鏡をもちいて画像解析を行ったが、うまく観察されなかった。ただ、DC が内皮細胞への分化に関しては既報があり、DC の内皮への分化誘導サイトカインについては、未同定であるが、現在あるデータをもちいて、論文を完成し投稿中である。

4. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計4件)

2013 Hara C, Kasai A, Gomi F, Satooka T, Sakimoto S, Nakai K, Yoshioka Y, Yamamuro A, Maeda S, Nishida K. Laser-induced choroidal neovascularization in mice attenuated by deficiency in the apelin-APJ system. Invest Ophthalmol Vis Sci.

2013 Kuroda S, Ikuno Y, Yasuno Y, Nakai K, Usui S, Sawa M, Tsujikawa M, Gomi F, Nishida K. Choroidal thickness in central serous chorioretinopathy. Retina

2012 Nakai K, Gomi F, Ikuno Y, Yasuno Y, Nouchi T, Ohguro N, Nishida K. Choroidal observations in Vogt-Koyanagi-Harada disease using high-penetration optical coherence tomography. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.

2010 Ofra Benny, Kei Nakai, Takeru Yoshimura, Lauren Bazinet, James Akula, Nakao Shintaro, Ali Hafezi-Moghadam, Dipak Panigrahy, Pouya Pakneshan, Robert J. D'Amato
Broad spectrum antiangiogenic treatment for ocular neovascular diseases. PLoS One.

[学会発表](計2件)

2011 第45回 日本眼炎症学会 日本眼炎症学会学術奨励賞 受賞
樹状細胞の脈絡膜新生血管への作用

2010 Nakai K, Ohguro N, Fainaru O, D'Amato R Dendritic cells augment choroidal angiogenesis. The annual Meeting of the Japanese Ophthalmological Society

[産業財産権]

なし

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

該当なし