

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 22 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24791822

研究課題名(和文) B-crystallinによる脈絡膜血管新生の制御機構

研究課題名(英文) Regulation of choroidal angiogenesis by alphaB-crystallin

研究代表者

加瀬 諭 (Kase, Satoru)

北海道大学・医学(系)研究科(研究院)・客員研究員

研究者番号：60374394

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円、(間接経費) 990,000円

研究成果の概要(和文)：ヒトの脈絡膜新生血管膜を採取するのは困難であった。他方、ヒト増殖糖尿病網膜症の硝子体手術の際に、繊維血管増殖組織を採取した。この検体を用いて、代表的な血管新生因子であるVEGFの分子シャペロンB-クリスタリンの発現、およびそのリン酸化について検討したところ、増殖組織の新生血管にB-クリスタリンの発現がみられた。併せて、B-クリスタリンとVEGFの共発現も確認された。加えて、B-クリスタリンのセリンリン酸化とVEGFの関連が示唆された。

研究成果の概要(英文)：It was hard to collect human choroidal neovascular membranes. Instead, we have isolated human epiretinal proliferative membranes in patients with diabetic retinopathy during vitrectomy. Using these samples, we analyzed expression of molecular chaperone alphaB-crystallin, a VEGF chaperone, and its phosphorylations. Indeed, alphaB-crystallin was expressed in the neovessels of the epiretinal membrane. Moreover, co-localization with alphaB-crystallin and VEGF, as well as association between alphaB-crystallin serine phosphorylation and VEGF were confirmed.

研究分野：眼科学

科研費の分科・細目：眼病理学

キーワード：alpha-crystallin VEGF 新生血管

1. 研究開始当初の背景

加齢黄斑変性は、脈絡膜新生血管を伴い、失明へとつながる重大な疾患である。眼内血管新生には血管新生因子 VEGF が重要な役割を果たし、熱ショック蛋白である B-crystallin が分子シャペロンとして働くことを示した(Kase S, Blood 2010)。本研究では、ヒト組織および動物モデルを用いて、CNV の病態における B-crystallin と VEGF の関係を明らかにする。

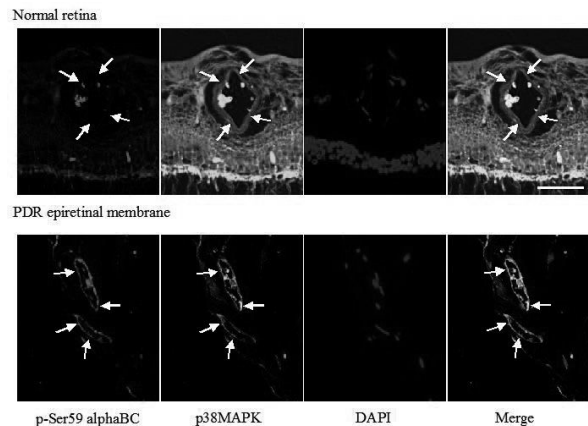
2. 研究の目的

CNVの形成において、網膜色素上皮(RPE)細胞におけるVEGFの発現、分泌が重要であることが知られている。一方、B-crystallinは水晶体構成蛋白として発見され、今日水晶体のみならず RPE細胞にも発現していることが確認されている。加えて、B-crystallinは、種々のストレスで発現は誘導され、細胞の増殖や分化に関与するのみならず、分子シャペロン機能を有しており、種々の蛋白質に結合して、標的蛋白の分解制御を行っていることが知られている。我々は、眼内血管新生の過程において、B-crystallinがVEGFと結合し、VEGFの分解を抑制していることを見出した(Kase S, et al. Blood 2010)。しかしながら、CNVの発達における B-crystallin の発現変化、発生病理への関与、および分子シャペロンと血管新生因子との関連は不明である。本研究は、CNVにおける B-crystallin とVEGFの関係について明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

ヒト脈絡膜血管膜組織における B-crystallin と VEGF の発現を病理学的に解析する予定であったが、近年他方加齢黄斑変性に対して抗 VEGF 薬や光線力学療法などの治療が優性となり、血管抜去術は行われなくなり、ヒト脈絡膜組織を入手することは容易

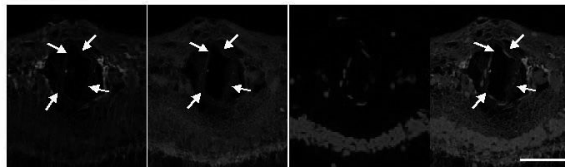
ではなかった。従い、硝子体手術時に採取された増殖糖尿病網膜症(PDR)患者の網膜前膜組織を用いて、B-クリスタリンと VEGF の発現を、免疫組織科学的に解析を行った。加えて、B-クリスタリンの分子シャペロン能は、そのリン酸化に相関する報告があり、B-クリスタリンのリン酸化についても解析した。さらに、p38MAPK は B-クリスタリンのリン酸化を誘導する報告があり(Clements RT, et al. 2011)、p38 と B-クリスタリンの発現の関連についても二重染色法にて検討した。



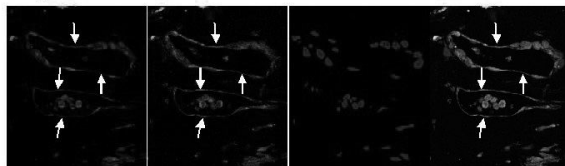
4. 研究成果

B-クリスタリンは、網膜前膜の新生血管に発現がみられ、VEGF との共発現も確認された。増殖膜に存在する新生血管の内皮細胞に、セリン45, 59のリン酸化がみられることを確認した。さらに、このセリンリン酸化が見られる内皮細胞の核に、p38 陽性を示すも確認した。以上より、ヒト網膜新生血管では、B-クリスタリンが VEGF の分子シャペロンとして機能していることが示唆され、B-クリスタリンのリン酸化に p38 が関与している。

Normal retina



PDR epiretinal membrane



p-Ser59 alphaBC

p-p38MAPK

DAPI

Merge

5. 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7件)

Kase S, Rao NA, Yoshikawa H, Fukuhara J, Noda K, Kanda A, Ishida S, Expression of vascular endothelial growth factor in eyes with Coats' disease, Invest Ophthalmol Vis Sci, 査読有, Vol. 54, 2013, 57-62,

DOI: 10.1167/iovs.12-10613

Dong Z, Kase S, Ando R, Fukuhara J, Kinoshita S, Dong Y, Takashina S, Kanda A, Noda M, Noda K, Ishida S, Expression of alphaB-crystallin and vascular endothelial growth factor in conjunctival squamous cell carcinoma, Anticancer Res, 査読有, Vol. 33, 2013, 3745-3751

Fukuhara J, Kase S, Ohashi T, Ando R, Dong Z, Noda K, Ohguchi T, Kanda A, Ishida S, Expression of vascular endothelial growth factor C in human pterygium, Histochem Cell Biol, 査読有, Vol. 139, 2013, 381-389,

DOI: 10.1007/s00418-012-1019-z

Kase S, Rao NA, Yoshikawa H, Fukuhara J, Noda K, Kanda A, Ishida S, Expression

of vascular endothelial growth factor in eyes with Coats disease, Invest Ophthalmol Vis Sci, 査読有, Vol. 54, 2013, 57-62,

DOI: 10.1167/iovs.12-10613

Saito W, Kase S, Fujiya A, Dong Z, Noda K, Ishida S, Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and intravitreal anti-VEGF therapy with bevacizumab in vasoproliferative retinal tumors, Retina, 査読有, Vol. 33, 2013, 1959-1967,

DOI: 10.1097/IAE.0b013e3182923490

Saito W, Kase S, Ohguro H, Ishida S, Autoimmune retinopathy associated with colonic adenoma, Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol, 査読有, Vol. 251, 2013, 1447-1449,

DOI: 10.1007/s00417-012-2131-4

Terasaki H, Kase S, Shirasawa M, Otsuka H, Sonoda S, Ishida S, Sakamoto T, TNF- decreases VEGF secretion in highly polarized RPE cells but increases it in non-polarized RPE cells related to crosstalk between JNK and NF- B pathways, PLoS One, 査読有, Vol. 8, 2013,

DOI: 10.1371/journal.pone.0069994

[学会発表](計5件)

Kitaichi N, Lennikov A, Kase S, Noda K, Horie Y, Ohno S, Ishida S, Induction of heat shock protein 70 ameliorates ultraviolet-induced photokeratitis in mice, ARVO (Association for Research in Vision and Ophthalmology) Annual Meeting, 2013年5月5日-9日 Seattle, USA

石嶋 漢、加瀬 諭、山本 哲平、野崎 真世、石田 晋、小児結膜母斑 4 症例の臨

床病理学的検討、第 31 回 日本眼腫瘍学会、2013 年高知市総合あんしんセンター（高知市）2013 年 9 月 14 日-15 日

加瀬 諭、吉川 洋、鈴木 康夫、中村 泰久、野田実香、石田 晋、眼付属器粘液腫の臨床病理学的検討、第 31 回 日本眼腫瘍学会、2013 年高知市総合あんしんセンター（高知市）2013 年 9 月 14 日-15 日

田川 義晃、南場 研一、水内 一臣、宇野 友絵、加瀬 諭、福原 崇子、両眼に多発性脈絡膜腫瘤を呈した NK 細胞リンパ腫の一例、第 31 回 日本眼腫瘍学会、2013 年高知市総合あんしんセンター（高知市）2013 年 9 月 14 日-15 日

福原淳一、加瀬 諭、野田実香、南場研一、畑中佳奈子、石田 晋、血管新生緑内障を合併した眼内悪性リンパ腫の 2 例、第 31 回 日本眼腫瘍学会、2013 年高知市総合あんしんセンター（高知市）2013 年 9 月 14 日-15 日

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究代表者

加瀬 諭 (KASE Satoru)

北海道大学・大学院医学研究科・客員研究員

研究者番号：60374394

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：