

令和元年6月6日現在

機関番号：23903

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H05155

研究課題名(和文)ペリサイト消失による血液網膜関門の不可逆的破綻機構

研究課題名(英文) Mechanisms of irreversible breakdown of blood-retina barrier following pericyte deficiency

研究代表者

植村 明嘉 (Uemura, Akiyoshi)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：30373278

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,600,000円

研究成果の概要(和文)：網膜血管壁では、内皮細胞とペリサイトが血液網膜関門を構築し、神経組織の恒常性維持に寄与する。新生仔マウスに抗PDGFR抗体を投与して網膜のペリサイトを消失させると、血管壁周囲に浸潤したマクロファージがVEGFAを産生し、内皮細胞のVEGFR2を活性化する。マクロファージが分泌するVEGFAおよびPIGFは、オートクリンまたはパラクリン経路によりVEGFR1を活性化し、遊走運動を促進する。さらに内皮細胞が発現するangiopoietin-2は血管透過性亢進、血管新生、炎症を増強する。こうしたペリサイト消失を契機とする負の連鎖が、血液網膜関門を不可逆的に破綻させることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

糖尿病網膜症ではペリサイトの変性・脱落により血液網膜関門が破綻するが、高血糖モデル動物ではヒト網膜症を再現できないため、その病態進展機構は不明である。本研究では、高血糖を介さずにマウス網膜血管壁のペリサイトを消失させることにより、血液網膜関門が不可逆的に破綻する細胞・分子機構を解明した。本研究の成果は糖尿病網膜症に限らず、血液脳関門の破綻をきたす中枢神経系疾患の病態解明・治療法開発に資すると期待される。

研究成果の概要(英文)：The blood-retina barrier (BRB) comprising of endothelial cells (ECs) and pericytes contributes to maintaining the homeostasis of neural tissues. In pericyte-deficient retinas of neonatal mice injected with an anti-PDGFR antibody, infiltrating macrophages produced VEGFA, which activated VEGFR2 in ECs. Macrophage-derived VEGFA and PIGF further activated VEGFR1 in an autocrine or paracrine manner, thereby facilitating cell movements. Moreover, angiopoietin-2 secreted from ECs augmented hyperpermeability, angiogenesis, and inflammation. This EC-macrophage cycle initiated by pericyte deficiency led to irreversible BRB breakdown.

研究分野：血管生物学、眼科学

キーワード：血液網膜関門 ペリサイト 内皮細胞 マクロファージ 炎症 VEGF PIGF angiopoietin-2

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19(共通)

1. 研究開始当初の背景

糖尿病網膜症では、血管壁のペリサイトが変性・脱落して血液網膜関門が破綻することにより、浮腫・出血が生じて視力が低下する。しかし高血糖モデル動物の網膜ではペリサイト消失を再現できない。一方、新生仔マウスの網膜では、内皮細胞が分泌する血小板由来増殖因子 (PDGF)-B が、PDGF 受容体 (PDGFR) β を発現するペリサイトの増殖・遊走を促進するため、抗 PDGFR β 抗体を投与することによりペリサイトを消失させ、糖尿病網膜症と同様の血管異常を再現することができる (Uemura et al. J Clin Invest. 2002)。

2. 研究の目的

ペリサイト消失に伴って血液網膜関門が不可逆的に破綻する細胞・分子機構を解明することを目的に、本研究を実施した。

3. 研究の方法

野性型マウスおよび遺伝子組換えマウス (Tie2-GFP、CX3CR1-GFP、DSCR1-lacZ、VEGFR2-GFP、VEGFR1-DsRed、Flt1-TK⁺) の腹腔内に抗 PDGFR β 抗体 (クローン APB5) を単回投与して、網膜血管壁のペリサイトを消失させた。免疫組織化学染色、in situ hybridization、電子顕微鏡観察により、血管壁バリアの構造・機能の変化を経時的に解析した。共焦点レーザー顕微鏡を用いた ex vivo 網膜イメージング実験により、マクロファージの動態を観察した。qRT-PCR 法およびマイクロアレイ法により遺伝子発現を解析した。フローサイトメトリー法により網膜内に浸潤したマクロファージ亜集団を解析した。

4. 研究成果

ペリサイトを消失させた網膜血管壁では、内皮細胞における炎症性サイトカインや白血球接着分子の発現が上昇し、網膜内へのマクロファージ浸潤が亢進した。マクロファージは血管内皮細胞増殖因子 (VEGFA) を分泌して内皮細胞の VEGFR2 を活性化し、血管壁透過性亢進および血管新生を惹起するとともに、胎盤成長因子 (PlGF) を分泌してマクロファージの VEGFR1 を活性化し、炎症を増悪させることが明らかとなった。さらに、ペリサイトを消失した内皮細胞は angiopoietin (Angpt)-2 を分泌して Tie2 受容体を不活化し、転写因子 FOXO1 を活性化することにより、VEGFA の作用を増強することが明らかとなった。その結果、網膜におけるマクロファージ浸潤が遷延し、血管壁バリア機能が不可逆的に破綻した (図)。こうした状況で VEGFA、PlGF、Angpt2 を同時に阻害すると炎症が抑制され、網膜血管壁の構造・機能が正常化した。

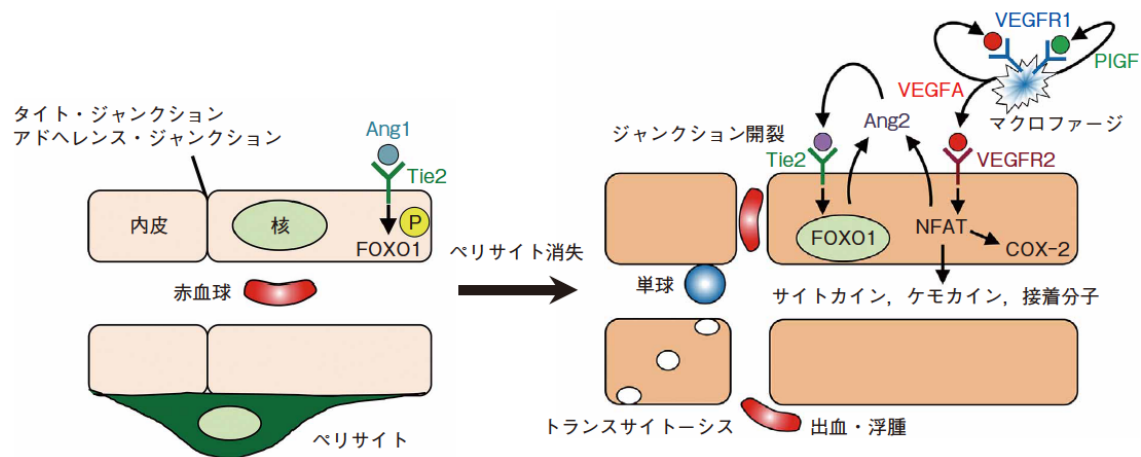


図. ペリサイト消失網膜におけるバリア破綻

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 8 件)

- ① 植村明嘉. 統合的アプローチによる糖尿病網膜症研究の新展開. 日本眼科学会雑誌. 123:312-336, 2019. 査読有
- ② Omori K, Nagata N, Kurata K, Fukushima Y, Sekihachi E, Fujii N, Namba-Hamano T, Takabatake Y, Fruttiger M, Nagasawa T, Uemura A, Murata T. Inhibition of stromal cell-derived factor-1 α /CXCR4 signaling restores the blood-retina barrier in pericyte-deficient mouse retinas. JCI Insight. 3:e120706, 2018. 査読有
DOI: 10.1172/jci.insight.120706
- ③ Ikeda W, Nakatani T, Uemura A. Cataract-preventing contact lens for in vivo imaging of mouse retina. Biotechniques. 65:101-104, 2018. 査読有

DOI: 10.2144/btn-2018-0040

- ④ Kusuhara S, Fukushima Y, Ogura S, Inoue N, Uemura A. Pathophysiology of Diabetic Retinopathy: The Old and the New. *Diabetes Metab J.* 42:364-376, 2018. 査読有
DOI: 10.4093/dmj.2018.0182
- ⑤ Uemura A. Pharmacologic management of diabetic retinopathy. *J Biochem.* 163:3-9, 2018. 査読有
DOI: 10.1093/jb/mvx057
- ⑥ Zhang Y, Nakano D, Guan Y, Hitomi H, Uemura A, Masaki T, Kobara H, Sugaya T, Nishiyama A. A sodium-glucose transporter 2 inhibitor attenuates renal capillary injury and fibrosis by a vascular endothelial growth factor-dependent pathway after renal injury in mice. *Kidney Int.* 94:524-535, 2018. 査読有
DOI: 10.1016/j.kint.2018.05.002
- ⑦ Sawada M, Ohno N, Kawaguchi M, Huang SH, Hikita T, Sakurai Y, Bang Nguyen H, Quynh Thai T, Ishido Y, Yoshida Y, Nakagawa H, Uemura A, Sawamoto K. PlexinD1 signaling controls morphological changes and migration termination in newborn neurons. *EMBO J.* 37:e97404, 2018. 査読有
DOI: 10.15252/embj.201797404
- ⑧ Ogura S, Kurata K, Hattori Y, Takase H, Ishiguro-Oonuma T, Hwang Y, Ahn S, Park I, Ikeda W, Kusuhara S, Fukushima Y, Nara H, Sakai H, Fujiwara T, Matsushita J, Ema M, Hirashima M, Minami T, Shibuya M, Takakura N, Kim P, Miyata T, Ogura Y, Uemura A. Sustained inflammation after pericyte depletion induces irreversible blood-retina barrier breakdown. *JCI Insight.* 2:e90905, 2017. 査読有
DOI: 10.1172/jci.insight.90905

〔学会発表〕（計 13 件）

- ① International Congress of Diabetes & Metabolism（韓国）2018年10月
Uemura A : Sustained inflammation and fibrosis in pericyte-deficient retina
- ② 18th EURETINA Congress（オーストリア）2018年9月
Uemura A : Live imaging of cell dynamics in pericyte-deficient retina
- ③ 第61回日本糖尿病学会年次学術集会（東京）2018年5月
植村明嘉 : Inflammation and fibrosis in pericyte-deficient retina
- ④ 第122回日本眼科学会総会（大阪）2018年4月
植村明嘉 : 統合的アプローチによる糖尿病網膜症研究の新展開
- ⑤ Asia-Australia Vascular Biology Meeting（大阪）2017年12月
Uemura A : Sustained inflammation and fibrosis in pericyte-deficient retinas
- ⑥ 生命科学系学会合同年次大会 ConBio2017（神戸）2017年12月
植村明嘉 : ペリサイト消失網膜における炎症と血管壁バリア破綻
- ⑦ 第32回日本糖尿病合併症学会（東京）2017年10月
植村明嘉 : 網膜症に対する薬物療法の現状と展望
- ⑧ 第24回日本血管生物医学会学術集会（長崎）2016年12月
植村明嘉 : Pericyte depletion induces sustained inflammation and irreversible blood-retinal barrier breakdown
- ⑨ 第39回日本分子生物学会年会（横浜）2016年11月
植村明嘉 : ペリサイトの一過性消失による血液網膜関門の不可逆的破綻
- ⑩ 第70回日本臨床眼科学会（京都）2016年11月
植村明嘉 : Blood-Retina Barrier Breakdown in Pericyte-Free Vessels
- ⑪ 第89回日本生化学会大会（仙台）2016年9月
植村明嘉 : ペリサイト消失による血液網膜関門の不可逆的破綻
- ⑫ 第59回日本糖尿病学会年次学術集会（京都）2016年5月
植村明嘉 : 糖尿病網膜症の病態・生理
- ⑬ 第120回日本眼科学会総会（仙台）2016年4月
植村明嘉 : ペリサイト消失による網膜血管バリア機能の破綻

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕

ホームページ等

<http://ncu-ganka.jp/endowed-chair>

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：福嶋 葉子

ローマ字氏名：FUKUSHIMA, yoko

所属研究機関名：大阪大学

部局名：医学系研究科

職名：助教

研究者番号：70647031

研究分担者氏名：西山 功一

ローマ字氏名：NISHIYAMA, koichi

所属研究機関名：熊本大学

部局名：国際先端医学研究機構

職名：准教授

研究者番号：80398221

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：村田 幸久

ローマ字氏名：MURATA, takahisa

研究協力者氏名：石黒（大沼） 俊名

ローマ字氏名：ISHIGURO (Onuma), toshina

研究協力者氏名：宮田 卓樹

ローマ字氏名：MIYATA, takaki

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。