

平成 21 年 5 月 11 日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2007～2008

課題番号：19791258

研究課題名（和文）角膜血管新生におけるアンジオテンシン系の役割

研究課題名（英文）Roles of rennin-angiotensin system in corneal neovascularization

研究代表者

臼井 智彦（USUI TOMOHIKO）

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号 80282557

研究成果の概要：

本研究では角膜血管新生におけるレニンアンジオテンシン系の分子の発現を mRNA レベル、蛋白レベル、組織レベルで検討し、その関与を明らかにした。次にアンジオテンシンⅠ型受容体のアンタゴニスト (ARB) をマウス角膜血管新生モデルに投与することにより、角膜血管新生、角膜炎症が抑制され、様々な血管新生促進因子や炎症性サイトカインの発現が減弱した。以上から ARB は角膜血管新生という角膜の透明性を脅かす重篤な病態の新たな治療法になると考えられた。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,000,000	0	2,000,000
2008 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	360,000	3,560,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・眼科学

キーワード：角膜、血管新生、アンジオテンシン、炎症

1. 研究開始当初の背景

角膜は眼球最表層に位置する透明な組織であり、良好な視力や視機能を維持するためには、角膜が無血管であることが必須条件である。しかしさまざまな刺激や侵襲によって病的な血管が角膜内へ侵入してしまうことがある。このような角膜血管新生では炎症、免疫が関与した病態であることが解明されつつあるが、現在までに完全に角膜血管新生を抑え込む治療法が存在せず、新たな視点での治療法開発が望まれている。そこで今回我々は抗炎症作用を有する物質である、アンジオテンシンⅠ型受容体拮抗薬(ARB)に注目した。近年アンジオテンシンⅡは炎症性メディエーターであり、炎症の様々な過程において関与していることが報告されている。そのため病的な炎症性血管新生の分野での関与が示唆されている。しかし角膜血管新生においてレニンアンジオテンシン系(RAS)の分子の関与は、全く研究されていなかった。

2. 研究の目的

角膜血管新生におけるRASの関与を調べ、角膜血管新生の新たなメカニズムの解明と治療法の開発を検討する。

3. 研究の方法

まず角膜血管新生の過程におけるRAS分子の発現を検討した。これにはRT-PCR、免疫染色、in situ PCRで検討した。

血管新生はマウスの角膜血管新生モデルを用いた。これは麻酔後に手術用顕微鏡下で10-0nylon糸をマウス角膜実質内にかけることにより、角膜血管新生を誘導するモデルである。コントロール(糸をかけていないマウ

ス)術後1, 3, 7, 14日後の眼球から角膜を摘出した。摘出した角膜からIsogenを用いてmRNAを抽出、逆転写酵素によってcDNAを作製し、それを鋳型にアンジオテンシノーゲン、アンジオテンシンⅠ型受容体の特異的プライマーを用いてPCR、いわゆるRT-PCRを行った。

眼球の一部はOCT compoundやパラフィンに包埋して組織学的な検討を行った。OCT compoundに包埋した眼球は、Cryostadtで組織切片を作成し、角膜、結膜におけるアンジオテンシンⅡ、アンジオテンシンⅠ型受容体に対し免疫組織化学染色を行った。パラフィン包埋した眼球は切片を切り出し、RT-PCRで用いた特異的プライマーと反応させ、アンジオテンシノーゲン、アンジオテンシンⅠ型受容体に対するin situ PCRを行った。

次に同様のマウス角膜血管新生モデルにおけるアンジオテンシンⅠ型受容体拮抗薬(ARB)の効果を検討した。ARB投与群、基剤投与群、コントロール投与群における角膜血管新生領域を観察するために、血管内皮特異的レクチンであるIsolectin B4を用いた灌流染色を行い、角膜摘出後フラットマウントを作成し、蛍光顕微鏡で観察した。また浸潤白血球数や、炎症性サイトカイン、接着分子などの発現RT-PCRで検討した。

4. 研究成果

血管新生を誘導した角膜では正常角膜と比較してアンジオテンシノーゲンやその受容体であるアンジオテ

ンシンⅠ型受容体の mRNA レベルでの発現が亢進していた。RAS の最終産物であるアンジオテンシンⅡやアンジオテンシンⅠ型受容体は、正常角膜においてはほとんど発現していなかったが、血管新生を誘導した角膜においては角膜上皮細胞、浸潤白血球、血管内皮細胞、角膜実質細胞に発現していた。以上から角膜血管新生に RAS が関与していることが示された。

ARB を角膜血管新生モデルに投与すると、血管新生促進因子や炎症関連因子の発現が抑制され、角膜血管新生や角膜炎症も減弱した。

このことから角膜における RAS は血管新生促進、炎症促進に機能していると考えられ、RAS を抑制する ARB は今後角膜炎症抑制、血管新生抑制を可能にする、全く新たな治療ツールになると考えられた。

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 2 件)

1. Usui T, Ishida S, Amano S. Inflammatory corneal neovascularization and tissue rennin-angiotensin system Cornea 2009 in press.

2. Usui T, Sugisaki K, Iriyama A, Yokoo S, Yamagami S, Nagai N, Ishida S, Amano S. Inhibition of corneal neovascularization by blocking the angiotensin II type I receptor. Invest Ophthalmol Vis Sci 49; 4370-4378, 2008

〔学会発表〕(計 2 件)

1. Usui T. Inflammatory corneal neovascularization and tissue rennin-angiotensin system. Kyoto Cornea Club 2008/12/6 Kyoto.

2. Usui T. Inflammatory corneal neovascularization and tissue rennin-angiotensin system. Japan Korea Corneal Joint Meeting 2008/10/3 Seoul.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)
なし

取得状況(計 0 件)

なし

〔その他〕

6 . 研究組織
(1)研究代表者
臼井智彦(USUI TOMOHIKO)
東京大学・医学部附属病院・助教
研究者番号 ; 80282557

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし

