

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 15 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2012

課題番号：23792003

研究課題名（和文）加齢黄斑変性における Angptl2 の関与

研究課題名（英文） Involvement of Angptl2 in pathogenesis of Age-related macular degeneration

研究代表者

平沢 学 (HIRASAWA MANABU)

慶應義塾大学・医学部・共同研究員

研究者番号：80365345

研究成果の概要（和文）：加齢黄斑変性は我が国における中途失明の主な原因となっており、病態メカニズムの早急な解明が望まれている。我々はこの度、アンギオポイエチン様タンパク-2(Angptl2)の加齢黄斑変性病態への関与について検討を行った。正常網膜において、Angptl2は網膜色素上皮に発現を認めていたが、CNV 形成時には病変周囲に強い発現を認め、マクロファージ遊走や脈絡膜新生血管形成に関与している可能性が考えられた。また、培養細胞を用いた検討では、いくつかの炎症性サイトカインによって Angptl2 の発現変化を認めており、Angptl2 が炎症シグナルに関与していることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：Age-related macular degeneration is the main cause of blindness in middle age in Japan, elucidation of the new molecular mechanism is desired.

We investigated the involvement of angiopoietin-like protein 2 (Angptl2) to age-related macular degeneration. In the normal murine retina, immunostaining of Angptl2 was observed mainly in retinal pigment epithelium (RPE). In the laser-induced CNV model, Angptl2 was localized in the RPE and macrophages. These data indicated Angptl2 might be involved in choroidal neovascularization and macrophage migration.

In vitro model, TNF- α and TGF- β caused expression change of Angptl2, indicating participation to the inflammatory signal.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,300,000	990,000	4,290,000

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：アンギオポイエチン様タンパク加齢黄斑変性

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本態とする、我が国において失明原因の上位を占める疾患である。2007 年に行われた調査（久山町研究）では、少なくとも 1 眼に加齢黄斑変性がみられる人は 50 歳以上で人口の 1.3% にみられ、そのうち滲出型加齢黄斑変性は 1.2% にみられていた。日本の人口に換算すると、推定患者数は 69 万人であり、1998 年の調査と比較し、9 年間で約 2 倍に急増していた。

近年分子生物学的なアプローチによって新たな治療法の糸口が模索されており、血管内皮細胞増殖因子 (VEGF) に対する治療はその一つとして一定の効果を挙げたが、完全に制御したとは言い切れず、加齢黄斑変性の新たな発症予防、早期治療へのアプローチは急務となっている。申請者らは、脂肪細胞から分泌されるアディポカインの一つで、Angiopoietin 様蛋白 2 (Angiopoietin-like protein2:Angptl2) に着目し、解析を進めた。

2. 研究の目的

Angptl2は慢性炎症やマクロファージ遊走能をもつことが報告されており、AMD病態形成とも関連している可能性が考えられるが、これまでにAngptl2とAMDとの関連を示す報告がないことから、本検討を試みた。

3. 研究の方法

まず、免疫組織化学によって、正常網膜におけるAngptl2の発現を確認した。また、マウス眼底にレーザー照射し、脈絡膜新生血管(CNV)を形成させるモデルを用いて、CNV形成への関与とその役割について検討した。更に、培養細胞を用いた検討を行い、炎症や血管形成に関与するサイトカインによるAngptl2の発現変化を検討した。

4. 研究成果

Angptl2は網膜色素上皮に局在を認め、タンパク・mRNAともに神経網膜に比べて高い発現を認めた(図2)。また、マウスレーザーCNVモデルでは、病変部および周辺にAngptl2の局在を認めており、CNV形成およびマクロファージ遊走に関与している可能性が示唆された。培養細胞を用いた検討では、網膜色素上皮およびマクロファージにAngptl2の発現を認めており、炎症性サイトカインであるTNF- α やTGF- β によって発現が変動することが明らかとなった(図3)。申請者らは、ノックアウトマウスやAngptl2添加実験を行い、AMD病態への関与を続けて解析している。

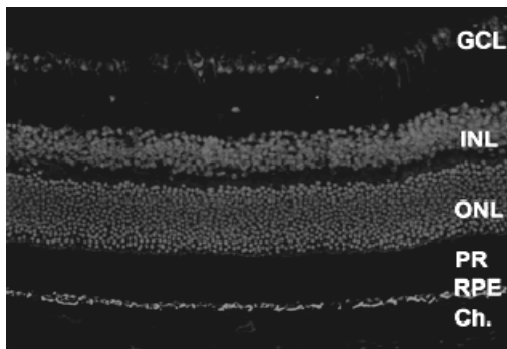
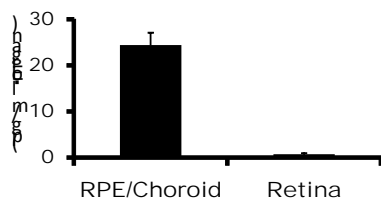


図2 マウス網膜における Angptl 2 の局在 (矢印):

(GCL: 神経節細胞層 INL: 内顆粒層 ONL: 外顆粒層
PR: 視細胞外節 RPE: 網膜色素細胞層 Ch.: 脈絡膜層)



眼組織あたりの単位質量あたりの Angptl2 タンパク量。網膜色素上皮/脈絡膜組織は神経網膜に比べて Angptl2 が多く発現していた。

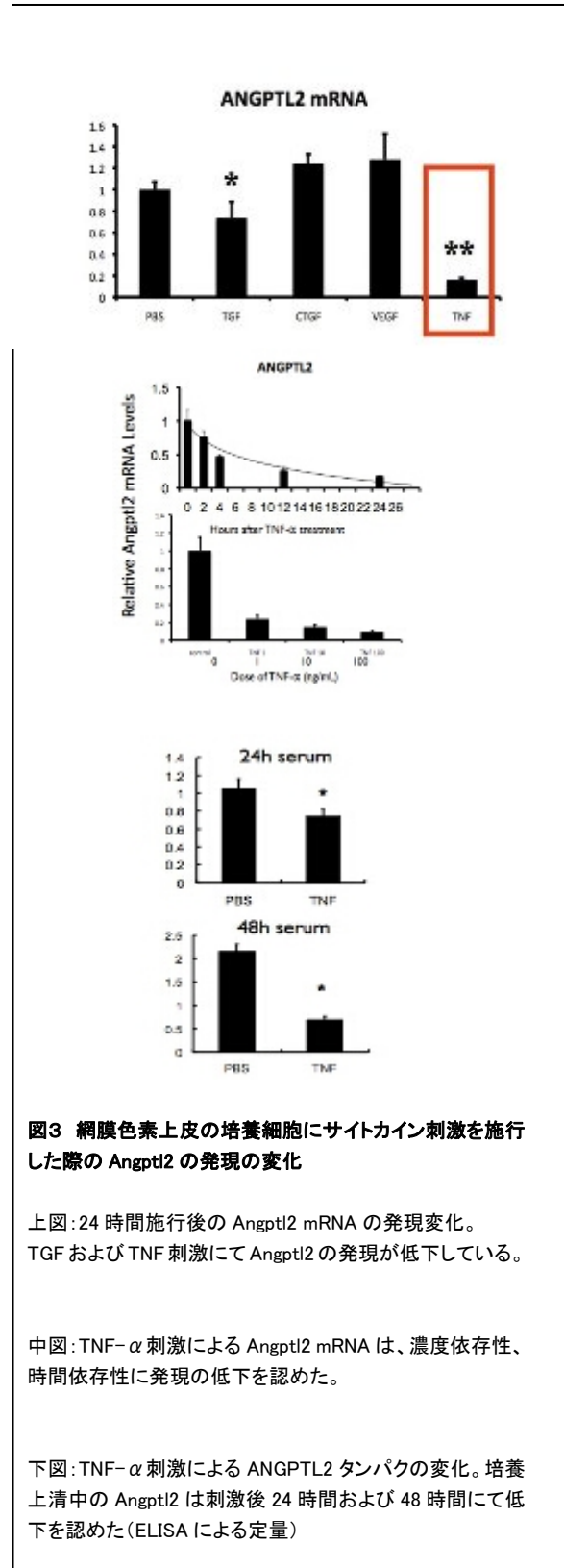


図3 網膜色素上皮の培養細胞にサイトカイン刺激を施行した際の Angptl2 の発現の変化

上図: 24 時間施行後の Angptl2 mRNA の発現変化。TGF および TNF 刺激にて Angptl2 の発現が低下している。

中図: TNF- α 刺激による Angptl2 mRNA は、濃度依存性、時間依存性に発現の低下を認めた。

下図: TNF- α 刺激による ANGPTL2 タンパクの変化。培養上清中の Angptl2 は刺激後 24 時間および 48 時間にて低下を認めた(ELISA による定量)

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 3 件)

① Neuroprotective response after photodynamic therapy: role of vascular endothelial growth factor. Misa Suzuki, Yoko Ozawa, Shunsuke Kubota, Manabu Hirasawa, Seiji Miyake, Kousuke Noda, Kazuo Tsubota, Kazuaki Kadonosono, Susumu Ishida.

Journal of Neuroinflammation 12/2011; 8:176. 査読有

② Cyclooxygenase inhibitor improved an exudative lesion of choroidal neovascularization in age-related macular degeneration. Misa Suzuki, Takayoshi Suzuki, Aoi Nagano, Manabu Hirasawa, Kenichi Sakuyama, Nobuhisa Mizuki.

European journal of ophthalmology 07/2011; 22(3):495-8. 査読有

③ 吉野真未、ビッセン宮島弘子、平沢学

フェムトセカンドレーザーによる角膜減張切開術の初期成績眼科手術 25 巻 176 2011 年 査読無し

[学会発表] (計 14 件)

① 第 66 回日本臨床眼科学会 京都 2012/10/25-28

平沢学, ビッセン宮島弘子, 吉野真未, 野中亮子, 大木伸一, 南慶一郎 Laser in situ keratomileusis 後眼における多焦点眼内レンズ挿入の臨床成績

② 第 27 回日本白内障屈折矯正手術学会 2012/6/15-17 東京

佐藤久美子, ビッセン宮島弘子, 吉野真未, 平沢学, 大木伸一, 大熊泉 当院における多焦点眼内レンズ挿入希望例の検討

③ 第 27 回日本白内障屈折矯正手術学会 2012/6/15-17 東京

大木伸一, ビッセン宮島弘子, 平沢学, 吉野真未 多焦点レンズ挿入後に単焦点眼内レンズに交換した 3 例

④ ARVO Annual Meeting Fort Lauderdale FL, USA 2012 5/6-9

Hirasawa M, Endo M, Miyake S, Narimatsu T, Kubota S, Suzuki M, Ishida S, Tsubota K, Oike Y, Ozawa Y. Association of Angiopoietin-like Protein 2 with

Inflammatory Signals in the Human Retinal Pigment Epithelium

⑤ ARVO Annual Meeting Fort Lauderdale FL, USA 2012 5/6-9

Kamoshita M, Yuki K, Kubota S, Hirasawa M, Narimatsu T, Nagai N, Tsubota K, Ozawa Y. The Protective Effect of AICAR on the Neural Retina during Inflammation in mice

⑥ ARVO Annual Meeting Fort Lauderdale FL, USA 2012 5/6-9

Suzuki M, Kubota S, Hirasawa M, Miyake S, Noda K, Tsubota K, Kadonosono K, Ishida S, Ozawa Y. Histological Changes After Photodynamic Therapy (PDT) Combined With Anti-vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) Therapy In The Mouse Retina

⑦ 第 116 回日本眼科学会総会 東京 2012/4/5-8 鈴木美砂, 久保田俊介, 平沢学, 三宅誠司, 野田航介, 門之園一明, 石田晋, 小沢洋子 光線力学的療法に伴う血管内皮増殖因子の発現亢進の生物学的意義

⑧ 第 35 回日本眼科手術学会総会 名古屋 2012/1/27-29 吉野真未, ビッセン宮島弘子, 平沢学, 大木伸一, 佐藤久美子, 南慶一郎. フェムトセカンドレーザーによる角膜減張切開術の初期成績

⑨ 第 65 回日本臨床眼科学会 東京 2011/10/7-10/10 平沢学, ビッセン宮島弘子,

野中亮子, 大木伸一, 南慶一郎 斜乱視例への回折型多焦点眼内レンズ挿入

⑩ 第 27 回日本眼科看護研究会 宮崎 2011/9/10-9/11 斎野泰代, 平沢学, ビッセン宮島弘子,

熊谷知子, 大木伸一, 吉野真未 東京歯科大学水道橋病院眼科における周術期の安全対策

⑪ 第 115 回日本眼科学会総会, 2011/5/12-15, 東京 結城賢哉, 小沢洋子, 吉田哲, 栗原俊英, 平沢学, 野田航介, 石田晋, 坪田一男 SOD1 ノックアウトマウスにおける網膜神経節細胞数の減少

⑫ ARVO Annual Meeting Fort Lauderdale FL, USA 2011/5/1-5

Hirasawa M, Noda K, Suzuki M, Ozawa Y, Tsubota K, Ishida S. Cytokine Regulation of Transcriptional Factor Snail in Human Retinal Pigment Epithelium.

⑬ARVO Annual Meeting Fort Lauderdale
FL, USA 2011/5/1-5

Narimatsu T, Kubota S, Miyake S,
Hirasawa M, Kurihara T, Ishida S,
Ozawa Y, Tsubota K.

Translocation of Beta-catenin In The
Retinal Pigment Epithelium After
Light-exposure

⑭ARVO Annual Meeting Fort Lauderdale
FL, USA 2011/5/1-5

Suzuki M, Ozawa Y, Kubota S, Hirasawa
M, Miyake S, Narimatsu T, Tsubota K,
Kadonosono K, Noda K, Ishida S.

Role of Vascular Endothelial Growth
Factor Induced by Photodynamic Therapy

〔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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

平沢 学 (HIRASAWA MANABU)

慶應義塾大学・医学部・共同研究員

研究者番号：80365345