

加齢黄斑変性に対する分子標的治療法の開発

大阪大学大学院医学系研究科分子神経科学 助教 藤田 幸



【研究概要】

加齢黄斑変性は、加齢とともに網膜の中心部である黄斑が障害を受け、視力が低下する病態である。加齢黄斑変性は、欧米においては成人の失明原因の第1位で、日本でも近年増加傾向にあり、失明原因の第4位にあげられている。これまでにいくつかの治療法が開発されているが、これらの治療法が全く効果を示さない症例もあり、新たな治療法の開発が求められている。過去の報告から、加齢黄斑変性に対して、神経軸索ガイダンス因子であるNetrin4が治療効果を示すことが示唆されている。しかしながら、Netrin4単独では、動物モデルにおける血管新生を完全に抑制するには不十分であった。これまでに私は、Netrin4と同様の受容体に作用する神経軸索再生阻害因子RGMaに着目し、研究を進めてきた。本研究では、血管に対するRGMaの作用を解明する共に、加齢黄斑変性に対するRGMaの治療効果を明らかにすることを目指し、検証を行った。

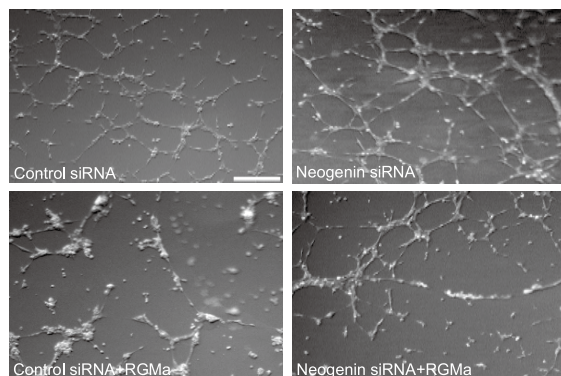
【研究成果】

本研究では、RGMaの受容体であるNeogeninを発現することが知られている血管内皮細胞human umbilical artery endothelial cells (HUAEC) を用いて実験を行った。血管内皮細胞増殖因子VEGFの存在下で培養したHUAECに対してRGMaを投与すると、細胞遊走が抑制された(図1)。この結果から、RGMaはNetrin4と同様に、血管新生を抑制するという仮説をたてて検証を行った。加齢黄斑変性では、新生血管が問題となるため、RGMa刺激により、新生血管を抑制できるか調べた。血管形成の指標となる、HUAECのチューブ形成能を検証した結果、RGMa存在下ではチューブ形成が抑制された。また、この作用はNeogeninの発現を阻害した場合には、この作用が減弱した。これらの結果から、RGMaはその受容体であるNeogeninを介して血管新生を抑制することが示唆された。また、*in vivo*でもRGMaが血管新生を抑制するか検証を行った。マウス皮下にマトリゲルを注入し、浸潤したヘモグロビン量を評価した。その結果、RGMa存在下ではヘモグロビン量が減少した(図2)。この結果から、RGMaは*in vivo*においても血管新生を抑制することが示唆された。さらに、RGMaが血管新生を抑制する分子機序の解明を試みた。細胞骨格の再構成を制御するfocal adhesion kinase (FAK) のリン酸化亢進は血管形成に寄与すると考えられている。HUAECをVEGF存在下で培養した場合、FAKのリン酸化レベルが亢進するが、RGMaの投与によって、リン酸化レベルが抑制されることがわかった(図3)。これらの結果から、RGMaはFAKのリン酸化抑制によって、血管新生を阻害することが示唆された。

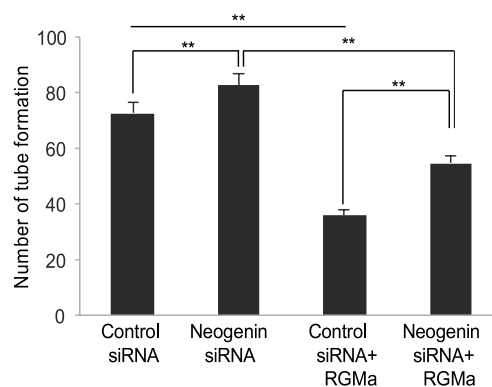
【謝 辞】

本研究にご支援を賜りました公益財団法人難病医学研究財団の皆様に深く御礼を申し上げます。

図1. RGMa による血管形成抑制作用

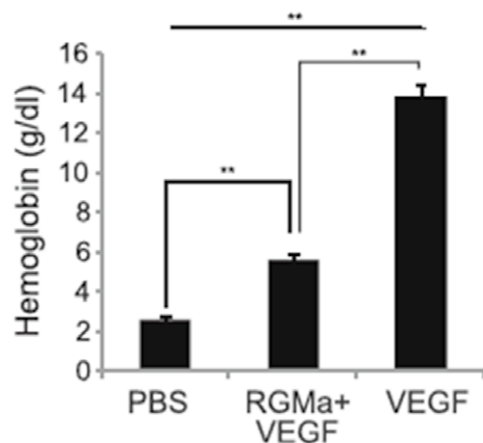


(A) HUAEC チューブ形成の代表写真。



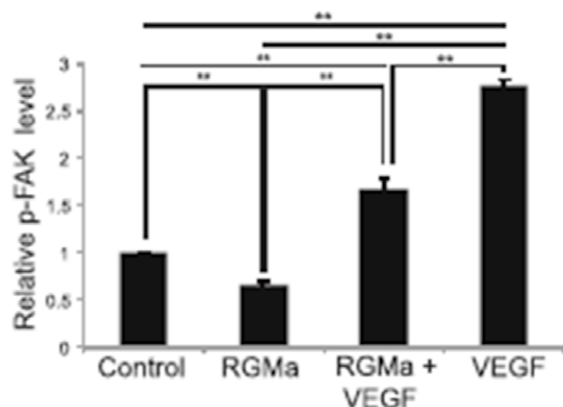
(B) RGMa 存在下では、チューブ形成が有意に減少した。** $P < 0.01$.

図2. *in vivo* での RGMa による血管形成抑制作用



マトリゲルに浸潤したヘモグロビン量を測定した。RGM 存在下でヘモグロビン量が減少した。
** $P < 0.01$.

図3. RGMa による FAK のリン酸化抑制作用



HUAEC での FAK のリン酸化レベルをウエスタンブロットで検証した。RGM 存在下では、FAK のリン酸化が抑制された。** $P < 0.01$.