

## 論文の内容の要旨

- 1 申請者  
防衛医科大学校 染谷 秀彬
- 2 論文題目  
オステオポンチンが糖尿病網膜症の血管透過性に及ぼす影響についての研究
- 3 論文の内容の要旨（博士：2,000 字程度）

### （1）目的

糖尿病網膜症は、先進国における主要な失明原因であり、血液網膜関門のバリア機能の低下による血管透過性亢進や網膜浮腫を引き起こすことが特徴とされる。血管内皮増殖因子（VEGF; Vascular endothelial growth factor）は、糖尿病網膜症に合併する糖尿病黄斑浮腫の主要なメディエーターであり、糖尿病黄斑浮腫の薬物治療は抗 VEGF 製剤が第一選択薬であるが、抗 VEGF 製剤に抵抗性を示す症例も少なくない。オステオポンチン（OPN; Osteopontin）は、多様な機能をもつリン酸化タンパク質であり、様々な細胞や組織に発現している。糖尿病網膜症患者の血漿や硝子体中において OPN 濃度が上昇していることが報告されているが、OPN が糖尿病網膜症の血管透過性亢進に関与しているかどうかは不明である。本研究では、糖尿病網膜症において OPN が網膜のバリア機能に寄与しているタイトジャンクションを障害し、血管の透過性を亢進するという仮説を立てた。この仮説をストレプトゾトシン（STZ; streptozotocin）誘発糖尿病マウス（STZ マウス）およびヒト網膜内皮細胞（HREC; human retinal endothelial cell）を用いて検証した。

### （2）対象並びに方法

#### ①動物実験

野生型マウスを対照群および STZ 群に分け、両群の (a) 血糖値および体重、(b) 網膜厚および無細胞毛細血管（アセルラーキャピラリー）数、(c) 血清中の OPN 濃度、網膜の OPN 遺伝子発現および OPN 濃度を比較した。さらに両群の硝子体内に抗 OPN 中和抗体を投与し、(d)

網膜の血管透過性、(e) タイトジャンクションを構成する claudin-5 と ZO-1 の遺伝子発現および組織学的所見、そして (f) 網膜の VEGF の遺伝子発現およびタンパク濃度を比較した。

## ②細胞実験

HREC をグルコース培地、OPN を添加したグルコース培地、高濃度のグルコース培地、あるいは高濃度のグルコースに OPN を添加した培地のいずれかで 48 時間培養後、経内皮電気抵抗値の測定と色素透過性を測定し、バリア機能を評価した (g)。また、免疫細胞染色によって HREC の claudin-5 と ZO-1 の局在 (h)、VEGF および VEGF 受容体-2 (VEGFR-2; VEGF receptor-2) の発現を評価した (i)。

## (3) 結果

### ①動物実験

- a. STZ 群において血糖の上昇および体重の減少がみられた。
- b. STZ 群において網膜厚の被薄化およびアセルラーキャピラリー数の増加がみられた。
- c. 対照群と比較して STZ 群の血清 OPN 濃度、網膜の OPN 遺伝子発現および OPN 濃度はいずれも上昇していた。
- d. STZ 群の網膜において血管透過性の亢進がみられたが、抗 OPN 中和抗体投与により血管透過性亢進は抑制された。
- e. STZ 群の網膜タイトジャンクションに以下の変化がみられたが、抗 OPN 中和抗体投与により抑制された。
  - ・ claudin-5 および ZO-1 の遺伝子発現の低下
  - ・ claudin-5 の染色パターンの点状分布化と細胞境界の不連続化
  - ・ ZO-1 の染色反応の減弱
- f. 対照群と比較して STZ 群の網膜における VEGF 遺伝子の発現は上昇していたが、抗 OPN 中和抗体投与による発現の変化はみられなかった。同様に抗 OPN 抗体中和抗体投与による STZ 群の VEGF 濃度の変化もみられなかった。

### ②細胞実験

- g. HREC のバリア機能は高濃度グルコース培地で低下していたが、OPN の添加によりさらに障害された。
- h. 高濃度グルコースまたは OPN に暴露された HREC では、細胞接合部の連続性が消失していた。

- i. OPN 曝露による HREC の VEGF および VEGFR-2 の遺伝子発現に変化はみられなかった。

#### (4) 考察

動物実験において、糖尿病状態下では OPN が網膜の血管バリア破綻および血管透過性亢進に関与していることが示された。

細胞実験において、OPN はタイトジャンクションを障害して血管透過性亢進を誘発することが確認された。

#### (5) 結論

糖尿病網膜症において増加している OPN はタイトジャンクションを障害して血管透過性亢進を誘発することが示され、OPN が糖尿病網膜症の新たな治療標的となり得る可能性が示唆された。

#### 4 キーワード (5 個程度)

「糖尿病網膜症」、「オステオポンチン」、「タイトジャンクション」、「血管透過性」、「血液網膜関門」、「高グルコース」