

論 文 要 旨

Stromal cell-derived factor-1 is essential for photoreceptor cell protection in retinal detachment

Stromal cell derived factor-1 は網膜剥離における
視細胞保護に重要である

大塚 寛樹

【序論および目的】

Stromal cell-derived factor-1 (SDF-1)は血球の新生などに重要な因子であり、SDF-1 やその受容体である CXCR4 が欠損したマウスでは心臓、脳、大血管、骨髄などに異常をきたし胎生致死に至る。SDF-1 は骨髄で造血幹細胞の保持や増殖、生存に関与するばかりでなく、心臓や肝臓、眼内の血管新生や組織修復の場において骨髄由来細胞の集積を行っている。眼疾患では、増殖糖尿病網膜症 (PDR)や未熟児網膜症といった虚血を生じる血管新生性疾患で硝子体中の SDF-1 が高値であることが知られている。近年では内眼炎における CD4 陽性 T 細胞の集積や増殖硝子体網膜症の増殖膜形成に関与することも報告されており、SDF-1 の持つ血管新生以外の作用についても注目されている。一般的に血管新生を生じることの少ない疾患である網膜剥離における SDF-1 の関与について検討した。

【材料および方法】

倫理委員会の承認を得て採取された患者硝子体を用いて、硝子体中の SDF-1 濃度と血管内皮増殖因子 (VEGF)濃度を ELISA で、その他の炎症性サイトカイン/ケモカイン濃度を CBA にて測定し、統計学的解析を行った。また動物実験委員会の承認を得て、ラット網膜剥離モデルを作成し、網膜剥離作成後 3 日目の網膜を採取し、SDF-1 の発現をウエスタンブロットおよび免疫組織学的に検討した。網膜剥離時の SDF-1 の関与を検討するため、硝子体中に抗 SDF-1 抗体を投与し、剥離 3 日後および 7 日後の網膜の外顆粒層厚の測定を行い、視細胞数の変化の評価を行った。剥離 3 日後の網膜に対して TUNEL 染色を行いアポトーシスの評価を行い、抗 ED1 抗体による染色もを行い網膜下の浸潤細胞の評価も行った。網膜前駆細胞株 R28 を用いて、リコンビナント SDF-1 が無血清培養で誘導される細胞死に与える影響を検討するため、trypan blue dye exclusion assay を行った。また TUNEL 染色もを行い、アポトーシスに与える影響についても評価を行った。同様に R28 を用いて scratch wound healing assay をを行い、リコンビナント SDF-1 が創部修復に与える影響も評価した。また R28 の生存に関連するシグナル蛋白として extracellular signal-regulated kinase (ERK)のリン酸化および Bcl-2 の発現をウエスタンブロットで評価した。

【結 果】

裂孔原性網膜剥離 (RRD)の患者硝子体では黄斑上膜よりも有意に硝子体中 SDF-1 濃度が高値であった ($P<0.05$ Mann-Whitney U 検定)。血管新生性疾患である PDR では硝子体中の VEGF 濃度と SDF-1 濃度がともに高値であったのに対し、RRD ではほぼ測定限界以下であった。また RRD の硝子体中 SDF-1 濃度は罹病期間、剥離した範囲とそれぞれ正の相関を認めた ($P<0.01$ 、 $P<0.05$ 単回帰分析、 $P<0.05$ 、 $P<0.05$ Spearman 順位相関係数)。また炎症性サイトカイン/ケモカインである Interleukin (IL)-6、IL-8 とも正の相関を認めた ($P<0.01$ 、 $P<0.01$ Spearman 順位相関係数)。ラット網膜剥離モデルではウェスタンブロットにおいて剥離した網膜で著明に SDF-1 の発現を認め、免疫染色では GFAP 陽性のグリア細胞に一致して発現の亢進を認めた。硝子体中に抗 SDF-1 抗体を投与すると剥離 7 日後では抗体を投与した群で外顆粒層厚の菲薄化を認めた ($P<0.05$ Student's T 検定)。剥離 3 日後の網膜に TUNEL 染色を行うと、抗体を投与した群で外顆粒層のアポトーシスが増加し ($P<0.05$ Student's T 検定)、抗 ED-1 抗体陽性のマクロファージの浸潤が増加していた ($P<0.05$ Student's T 検定)。R28 を無血清で培養し細胞死を誘導すると、リコンビナント SDF-1 により細胞の生存が促進されアポトーシスが減少した ($P<0.05$ Student's T 検定)。また scratch wound healing assay では SDF-1 により、創部の修復が促進された ($P<0.01$ Student's T 検定)。SDF-1 が ERK のリン酸化を誘導し、その阻害剤である U0126 により Bcl-2 の発現が抑制されていることから、R28 に対する作用は ERK を介し、Bcl-2 の発現調節によって行われると考えられた。

【結論及び考察】

眼内において SDF-1 は PDR のような血管新生性疾患において注目されており、VEGF と共同して血管新生に関与すると考えられていた。しかし RRD では硝子体中の SDF-1 濃度が増加しており、病態や炎症性サイトカイン/ケモカインと相関しているにも関わらず、VEGF は明らかな増加を認めなかったため、血管新生以外の作用をもっていることが示唆された。ラット網膜剥離モデルにおいて硝子体中の SDF-1 をブロックすると剥離 7 日後の視細胞が減少することから、網膜剥離において視細胞保護的に作用していることが考えられる。現在眼科の臨床で使用されている抗 VEGF 剤では、ターゲット以外の SDF-1 も影響を受けることが報告されており、網膜剥離を伴う病態での安易な治療による予想外の影響も懸念される。今後さらに検討することで、より安全な治療につながる可能性がある。