

氏 名(本 籍)	曾 根 博 仁 (神奈川県)
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	博 乙 第 1,288 号
学位授与年月日	平成 9 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
審 査 研 究 科	医 学 研 究 科
学 位 論 文 題 目	糖尿病細小血管合併症の発症・進展における血管内皮増殖因子 (VEGF/VPF) の関与についての基礎的・臨床的研究
主 査	筑波大学教授 理学博士 坂 内 四 郎
副 査	筑波大学教授 医学博士 小 山 哲 夫
副 査	筑波大学教授 医学博士 田 中 直 見
副 査	筑波大学教授 医学博士 野 口 雅 之
副 査	筑波大学助教授 医学博士 能 勢 晴 美

## 論 文 の 内 容 の 要 旨

### (目的)

糖尿病細小血管障害のうち特に網膜症の中心的病態である血管増殖（血管新生）性病変の発症機序はまだ十分には解明されていない。血管内皮増殖因子（vascular endothelial growth factor ; VEGF）は、強力な血管新生促進作用、血管透過性亢進作用を合わせ持つサイトカインで、血管新生を伴う生理、病理現象において重要な役割を果たすことが示唆されている。本研究は、糖尿病症例、糖尿病モデル動物、および高グルコース下での培養細胞などについて VEGF を調べ、糖尿病細小血管合併症、特に網膜症における VEGF の関与を明らかにすることを目的とした。

### (対象と方法)

VEGF は高感度サンドイッチ ELISA 法により測定した。まず、各種進行度の網膜症、腎症を有する糖尿病患者の前房水、血清、尿検体中の VEGF 濃度を調べた。次に糖尿病モデルである GK ラットの眼、腎組織中 VEGF 濃度を測定し、対照のラットと比較した。特に眼組織では 6 / 12 / 18 / 28 週齢における VEGF 濃度を検討し、さらに免疫組織化学法で眼組織中 VEGF の分布を検討した。次に、ヒト網膜症と極めて類似した眼底所見を呈するガラクトース血症イヌの前房水中 VEGF 濃度を測定し、対照イヌと比較した。また、網膜血管新生モデルの高酸素負荷新生仔マウスに、抗 VEGF 抗体を皮下または硝子体内投与し、その新生血管抑制効果を検討した。次に網膜血管内皮細胞、同血管周皮細胞、同色素上皮細胞（RPE）の初代培養を行い、それらの VEGF 基礎産生量を測定した。さらに、臨床的に網膜症を増悪させる諸条件（慢性的高血糖、治療による急速な血糖コントロール改善、妊娠）の *in vitro* モデルとして、持続的高グルコース下での培養、培養液中グルコース濃度の急激な低下、胎盤性ホルモン添加などが RPE の VEGF 産生量に及ぼす影響を検討した。

### (結果と考察)

網膜症非合併糖尿病患者群に対し、増殖網膜症合併群の前房水中 VEGF 濃度は有意に高値を示し、特に糖尿病性血管新生緑内障合併群ではさらに高値を示すことが初めて明らかになり、VEGF が糖尿病増殖網膜症のみならず同血管新生緑内障の病態にも重要な役割を演じている可能性が強く示唆された。ただし血清、尿検体中の VEGF 濃度は、網膜症、腎症の進行度と相関を認めなかった。

GK ラットの眼、腎皮質組織中 VEGF 濃度は非糖尿病対照ラットより有意に高値であり、またその対照ラットでは 6 から 28 週齢にかけて眼組織中 VEGF 濃度が有意に低下するのに対し GK ラットではこの低下幅が小さく、28 週齢で両者に有意差が出現した。これにより、VEGF が生理的な網膜発達に関与していること、および糖尿病状態の *in vivo* において、眼 VEGF 濃度が網膜症発症以前からすでに上昇し始めていることが初めて示された。VEGF は網膜を中心に広汎な分布が認められたが、GK ラットの眼では特に神経線維層、網膜色素上皮細胞、脈絡膜に対照ラットより強い VEGF の局在が認められた。また、ガラクトース血症イヌ前房水中の VEGF 濃度は対照群と比して有意に高値であることが初めて明らかになり、糖尿病網膜症モデルとして長く用いられながら発症機序が不明であった本モデルの網膜病変にも、VEGF の関与が初めて示唆された。さらに高酸素負荷新生仔マウスに対する抗 VEGF 抗体投与実験では、硝子体内、皮下投与のいずれの群でも網膜新生血管細胞数が有意に抑制され、網膜血管増殖性病変に対する抗 VEGF 療法の有効性が明らかになった。

また、細胞培養実験では網膜血管内皮細胞や網膜血管周皮細胞に比べ、RPE が強い VEGF 産生能を有し、さらにその VEGF 産生は、持続的高グルコース曝露、生理的グルコース濃度から低グルコース濃度への急低下や、妊婦血中濃度相当のプロゲステロンの存在によりそれぞれ有意に上昇することが判明し、慢性的高血糖状態の他、血糖コントロール急速是正時や妊娠時にみられる糖尿病網膜症の増悪に VEGF が関与している可能性が初めて示唆された。

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

糖尿病細小血管障害において、VEGF が既知のサイトカインの中では最も深く関与するということは広く認識されつつあるところである。本論文では、高感度で VEGF を測定できる最新の技法を駆使して微量検体中の VEGF 測定を可能とし、いくつかの新知見を得ることに成功した。研究対象は臨床例からモデル動物、培養系でのモデルと多岐にわたっているが、結果はいずれも糖尿病およびそのモデルで VEGF が高まることが示されている。特に網膜症に焦点がしぼられており、抗 VEGF 抗体が防御的に作用することを示している。これらの成果は糖尿病細小血管障害の発症機序の解明に資すると共に、新しい治療法の可能性を示唆するものである。

よって、筆者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。