



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	マウスの眼球硝子体血管の特殊性に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	岸本, 亜由子
Description	配架番号 : 2424
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第13289号
Issue Date	2018-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/71882
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Ayuko_Kishimoto_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医 学） 氏 名 岸本亜由子

学 位 論 文 題 名

マウスの眼球硝子体血管の特殊性に関する研究
(Studies on characteristics of hyaloid vasculature in the eyes of murine neonates)

【背景と目的】

血液脳関門において本質的な役割を担う脳血管内皮は、血中からグルコースを取りこむためにグルコーストランスポーター (GLUT)-1 を発現する。一方で、新生子脳の血管内皮は GLUT1 よりもモノカルボン酸輸送体 (monocarboxylate transporter-1: MCT-1) を強く発現し、新生子がエネルギー源としてミルクに由来するケトン体や乳酸などのモノカルボン酸に大きく依存することに対応している。発達段階の眼の血管系は、のちに退行する硝子体血管系の存在を特徴とし、水晶体血管膜 (tunica vasculosa lentis: TVL) と固有硝子体血管 (vasa hyaloidea propria: VHP) からなる。眼組織の血管新生時期における GLUT と MCT の発現に関しては情報が不足しており、主な栄養素トランスポーターの発現様式や発育中のどの時期に成体型に切り替わるかについては謎のままである。第 1 章では、MCT1 および GLUT1 の発現様式から眼の血管新生を特徴づけるとともに、マウス発達段階の眼における血管構築の形態学的特徴を明らかにする。マウスでは生後まもなく VHP と TVL が消退を始め、生後 16 日ごろまでに完全に消失し、それと入れ代わるように網膜固有の血管が伸びだしてくる。第 2 章では、galectin-3 抗体を用いて新生子マウスの硝子体血管を染色したところ、硝子体血管の管腔内に galectin-3 陽性細胞が集積していることに気づいた。同様の細胞は網膜固有の血管内にはほとんど見られなかった。第 2 章の目的は硝子体血管内の galectin-3 陽性細胞の組織化学的性状を精査し、硝子体血管系の消退におけるそれらの関与を調べることである。

【材料と方法】

マウスの胎生期から離乳期までの眼を用いて、whole mount 標本を作製し、免疫組織化学的に染色した。galectin-3 ノックアウトマウスをも用いた。使用した主な抗体は、GLUT1、MCT1、CD31、galectin-3、デスミン、LYVE-1、F4/80、インテグリン、ラミニンに対する抗体であった。また、電顕レベルの免疫染色を金コロイド銀増感法にて行った。さらに、立体的観察のため、NaOH で浸軟させた組織を走査型電顕にて観察した。

【結果】

胎子と新生子の VHP および TVL の血管内皮は本質的に GLUT1 の免疫活性を示した。少数の MCT1 陽性細胞が GLUT1 陽性の血管内皮に混在しており、モザイク状の相補的な発現パターンを示した。一方、網膜では出芽領域の血管網は MCT1 も GLUT1 も発現しておらず、動脈—毛細血管—静脈という循環血管系つくるようになると、網膜血管はまず MCT1 を発現するようになった。MCT1 から GLUT1 への転換は脳血管と同じく離乳前後に起こった。内皮から放散する未知の突起 (ひげ状突起) は、出芽領域に見られる filopodia とは似ておらず、新生子期に限って出現した。同様の MCT1 陽性のひげ状突起は同時期の脳の毛細血管においても観察された。

第 2 章では、VHP の近傍に集まり、血管の退行を起こすマクロファージにまず注目した。galectin-3 抗体を用いて新生子マウスの硝子体血管を染色したところ、LYVE-1 陽性のマクロファージは galectin-3 を発現しなかったが、硝子体血管の管腔内に galectin-3 陽性細胞が

集積していた。一方、同様の細胞は網膜固有の血管内にはほとんど見られなかった。LYVE-1 陽性細胞は VHP と TVL の血管周囲に集まっており、それらはマクロファージの代表的なマーカー分子群を発現していた。インテグリンフィラメントが蜘蛛の糸のように LYVE-1 陽性細胞にからみつき、それらを血管に緩く結合していた。galectin-3 の免疫活性は VHP/TVL 血管内の小さく丸い細胞にのみ認められ、それらは CD68、CD11b、Ly-6G、CD44 の免疫反応を示し、ミエロペルオキシダーゼ陽性の顆粒を少数含んでいた。さらに、ラミニン、IV 型コラーゲンおよびインテグリンに関する免疫染色では、VHP および TVL の血管が厚い基底膜をもつことがわかった。また VHP には、活性型周皮細胞が密に分布していた。この時期の VHP と TVL では、赤血球が galectin-3 陽性細胞とともに血管内に詰まっているような像を示したが、こういった像は網膜固有の血管では決して見られなかった。galectin-3 ノックアウトマウスでは血管退行が進む野生型マウスのものと比較して、レンズの後面をおおう TVL 血管がかなりのボリュームで維持されていた。

【考察】

マウスの生後発達期の眼の血管系に注目し、以下のような知見を得て意義づけを行った。(1) 網膜内の血管内皮は脳の血管と同様に授乳期は MCT1 を強く発現し、離乳期以降では GLUT1 をより強く発現して成体型に変化する。この共通した変化は、網膜が神経組織の一部であることと矛盾しない。(2) ところが、生後に退行する硝子体血管系は、胎生期から生後にかけて主として GLUT1 を血管内皮が発現しており、これは硝子体血管に特有の性状である。MCT1 を発現する内皮細胞は、GLUT1 を発現する内皮シートに少数のものがモザイク状に混在していたにすぎない。(3) 網膜内の新生血管からは無数のひげ状突起がのびており、これは血管の発芽域にみられる filopodia とはまったく異なるもので、過去にこの構造物に関する報告はなかった。(4) galectin-3 を発現する血球が硝子体血管内に集積しており、このような血球の集積は網膜血管系には見られなかった。これらの galectin-3 発現細胞は、幼弱なあるいは特殊な好中球と同定された。(5) 硝子体血管、とくに VHP は厚い基底膜と密に配列する周皮細胞をもつことで、網膜内の血管とは異なっていた。また、基底膜成分であるインテグリンの細糸が細胞間に放散している珍しい像が観察された。(6) 硝子体血管系では、galectin-3 陽性の好中球が多数の赤血球とともに血管内でうっ滞している様子が観察された。galectin-3 欠損マウスでは、血管の退行が有意に抑制されていたので、galectin-3 を発現する血球はマクロファージによる血管退行において、少なくともそれを補佐する役割をもつと思われた。

【結論】

硝子体血管系は眼に特有の血管系で、マウスの場合生後に急速に退行する。マクロファージが退行過程に先導的な役割を演じていることは確かであるが、上に述べた硝子体血管系の特殊性も考慮すべきである。GLUT1 を生後から発現している硝子体血管は基底膜成分が非常に厚く、周皮細胞も密であった。この特殊性の中には、通常の血管には見られない性状があり、いずれも根底に深い生物学的意義が隠されていることが十分考えられる。この血管系の更なる解析は、血管の退行および新生過程の解明に役立つ新しい視点を与えることであろう。