

研究区分：重点研究（ユニット研究）

網膜色素上皮細胞とマクロファージによる悪循環の解析による

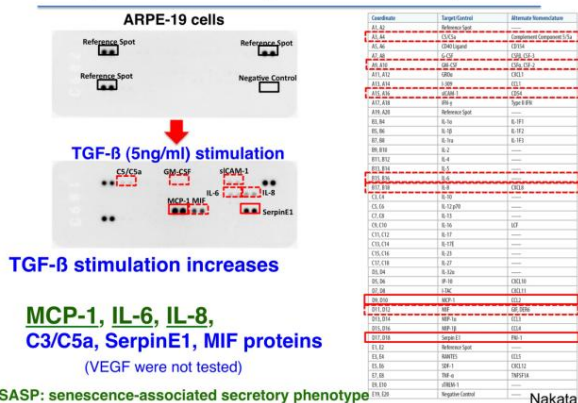
cell senescence、EMT (epithelial-mesenchymal transition)、線維化機序の解明

山田 潤、堀内稔子【所属】眼科ユニット

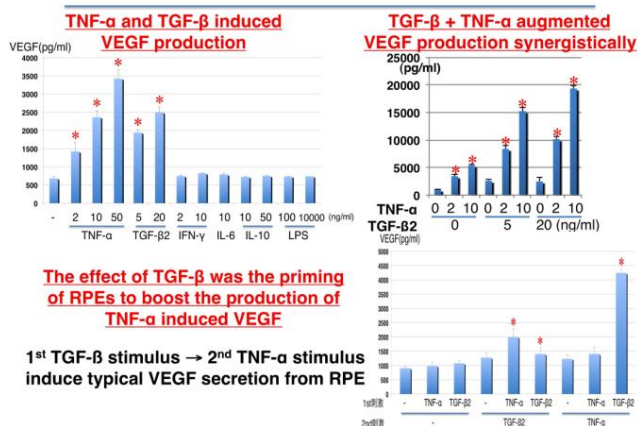
加齢黄斑変性 (AMD: age-related macular degeneration) 発症と増悪に関連する眼内微小環境について検討し、予防治療への礎を築き、さらなるメカニズム解明への手がかりをつかんだ。

1. 網膜色素上皮細胞 (RPE) から産生される蛋白を抗体アレイを用いて解析したところ、TGF- β 刺激による RPE からの MCP-1, IL-6, IL-8, C3/C5a, SerpinE1, and MIF proteins の発現が上昇した。

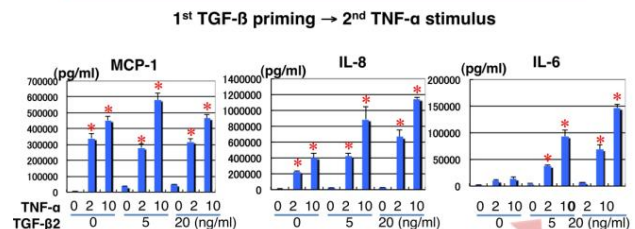
Comprehensive analysis of secreted proteins



2. 病的な VEGF を産生するサイトカイン刺激は TNF- α と TGF- β であり、TGF- β の 1st シグナルが TNF- α による相乗的な VEGF 産生につながる。VEGF は AMD における新生血管誘導、および、黄斑浮腫に対する治療のターゲットである。

VEGF production from RPEs and the effect of TGF- β 

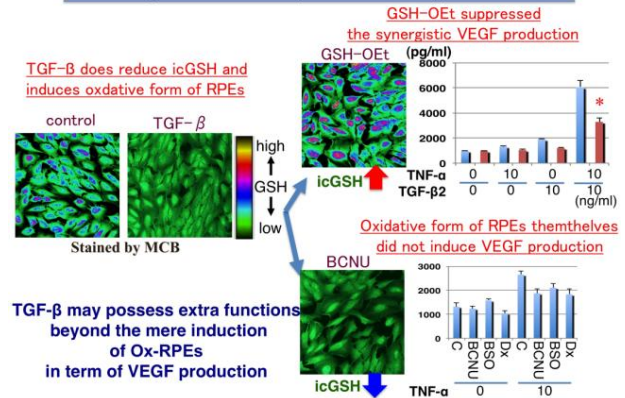
3. この TGF- β による priming は MCP-1, IL-8, IL-6 の産生をも相乗的に亢進させる。すなわち、眼内に大量に存在している TGF- β 2 が網膜におけるサイトカイン産生を増強させている。この産生を抑制する手法の開発が必要である。

TGF- β priming increased TNF- α induced MCP-1, IL-8, and IL-6 production

The synergy was most remarkable for IL-6 production

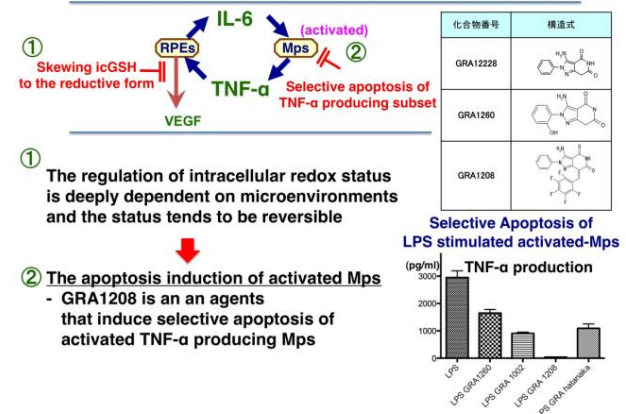
4. 一つにはチオールレドックス制御による細胞機能変換であり、還元型偏倚によって TNF- α 誘導性の VEGF 産生は抑制される。ちなみに、TGF- β は典型的な酸化型グルタチオン誘導剤である。

The intracellular glutathione (icGSH) regulates VEGF production by RPEs



5. 活性型マクロファージ選択的アポトーシス誘導剤の検討

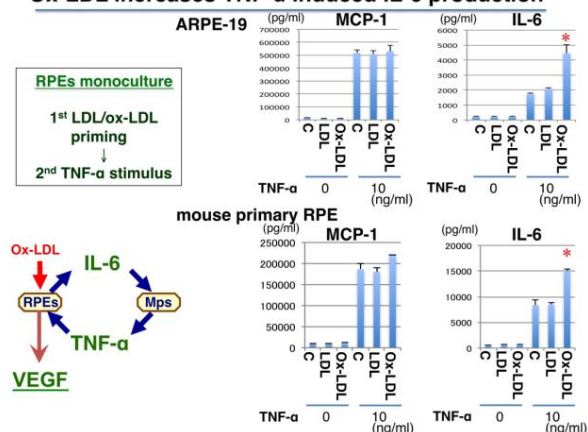
New approach for regulating vicious cycle



チオールレドックス偏倚は局所では困難である事と持続的に偏倚を行う事が困難である。そこで、還元型グルタチオン優位である還元型マクロファージを特異的にアポトーシスさせる薬剤について検討した。LPS 刺激による TNF- α 産生を完全に阻害出来た。今後、このような薬剤を AMD に応用出来るかどうかについて検討を行う。

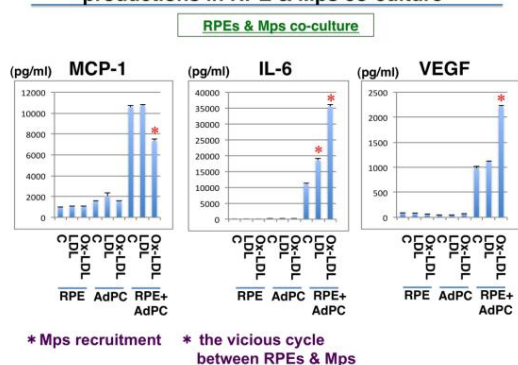
6. 生活習慣病に関連している酸化 LDL は VEGF や IL-6 産生を促進させる。また、RPE から産生された IL-6 とマクロファージから産生された TNF- α とで増悪サイクルを形成している事もわかった。

Ox-LDL increases TNF- α induced IL-6 production



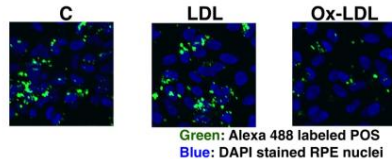
7. マクロファージと RPE との共培養系を作成し、酸化 LDL 刺激を行うと、IL-6, VEGF 産生が促進する事でも検証できた。また、酸化 LDL によって RPE が視細胞外節の食食を抑制する事も明らかとなった。

Ox-LDL decreases MCP-1, but increases IL-6 and VEGF productions in RPE & Mps co-culture



Vicious cycle and functional degeneration

Ox-LDL suppressed the phagocytosis of POS



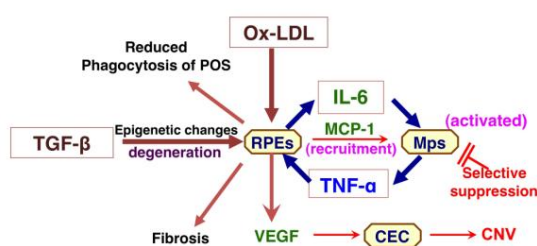
The distinction of receptors for LDL vs ox-LDL
The distinction of functional signaling for LDL vs ox-LDL

まとめ

病的となった RPE から MCP-1 が産生され、マクロファージが浸潤する。RPE からの IL-6 産生とマクロファージからの TNF- α 産生によって炎症増強が生じる。この増強は眼内の TGF- β 、そして、過酸化脂質によっても増強され、VEGF 産生増強につながり、AMD 病態の増悪につながる。チオールレドックス偏倚によるマクロファージ機能変換や RPE 機能変換で病態抑制は可能であるが、現実的には活性化マクロファージ選択的阻害剤などの臨床応用に期待が持てる。

Summary

The vicious cycle between RPEs and Mps



【論文及び学会発表】

1) Jun Yamada, Kenichi Kimura, Atsushi Mukai, Junji Hamuro, Shigeru Kinoshita: The role of IL-6 and TNF- α in generating the vicious inflammatory cycle between macrophages and retinal pigment epithelium in age-related macular degeneration. 86th Annual meeting of the ARVO (Association for Research in Vision and Ophthalmology). Orlando. FL. U.S.A. 2014.5

2) A.Mukai, K.Asada, M.toda, J.Yamada, H.Hatanaka, T. Yamagishi, K. Nagata, M.Ueno, J.Hamuro, S.Kinoshita: The role of cell to cell interaction through extracellular microvesicles, miRNA and exosome in deregulated functions of RPE and macrophages. 86th Annual meeting of the ARVO (Association for Research in Vision and Ophthalmology). Orlando. FL. U.S.A. 2014.5

3) K. Yoneda, A.Mukai, K. Shinomiya, J.Yamada, H.Hatanaka, T. Yamagishi, K. Nagata, K.Asada, M.Ueno, J.Hamuro, S.Kinoshita: The role of C1q/TNF-related proteins (CTRPs) CTRP6 and CD46, CD55, CD59 in the pathogenesis of age-related macular degeneration (AMD). 86th Annual meeting of the ARVO (Association for Research in Vision and Ophthalmology). Orlando. FL. U.S.A. 2014.5