

眼と血管新生

石橋, 達朗
九州大学大学院医学研究院眼科学

<https://doi.org/10.15017/7236485>

出版情報：福岡醫學雑誌. 91 (11), pp.277-283, 2000-11-25. 福岡医学会
バージョン：
権利関係：



解 説

眼と血管新生

九州大学大学院医学研究院眼科学

石 橋 達 朗

はじめに

我々は外界から得る情報の大半を眼から得ている。眼の機能を維持するための最も重要な組織構築は、その透明性である。光が通過する角膜、前房、水晶体、硝子体には血管が存在しない。透明性を損なう代表的な病態が血管新生で、網膜や脈絡膜などに存在する既存の血管から新生血管を生じ、視機能が著しく障害される。現在、先進国における成人失明の原因疾患として、糖尿病網膜症と加齢黄斑変性が上位を占め、大きな社会問題となっている。前者は網膜血管からの血管新生であり、後者は網膜血管より深部にある脈絡膜血管に由来する血管新生である。これらの疾患では血管新生そのものが病勢を左右する因子となりうるため、血管新生を抑制することによって、それらの疾患の治療が可能となる。

眼の血管新生調節因子

眼内には多くの血管新生促進因子や抑制因子の存在する。このうち眼の血管新生に重要であると考えられているのは、血管内皮増殖因子 vascular endothelial growth factor (VEGF)、アンジオポエチン angiopoietin (Ang)、線維芽細胞増殖因子 fibroblast growth factor (FGF)、トランスフォーミング増殖因子- β transforming growth factor- β (TGF- β)、色素上皮由来因子 pigment epithelium-derived factor (PEDF) などである。これらの血管新生調節因子のいずれか一つが眼内血管新生の決定因子となるのではなく、いくつかの因子の相互作用により血管新生が起こると考えられるが、主役を演じているのは VEGF とその受容体システムである⁸⁾。

1. 血管内皮増殖因子 vascular endothelial growth factor (VEGF)

VEGF は血管透過性因子 vascular permeability factor (VPF) として発見されたが、この両者がクローニングの結果、同じ細胞増殖因子であることが判明した。VEGF は血管新生を促進させるばかりでなく、血管透過性も亢進させる。

ヒト VEGF の遺伝子は 8 個のエクソンからなり、スプライシングの違いにより少なくとも 5 種類のサブタイプ (VEGF₁₂₁, VEGF₁₄₅, VEGF₁₆₅, VEGF₁₈₉, VEGF₂₀₆) が報告されている。シグナルペプチドを持つため分泌されるのが特徴で、眼内に存在する主なアイソフォームは VEGF₁₆₅ と VEGF₁₂₁ である。これらは基本的にはパラクライン的に血管内皮細胞に作用する。

VEGF の大きな特徴はその活性が虚血により増強されることである。眼内で血管新生が生じる場合は、血管閉塞が先行していることが多く、虚血により VEGF の発現が促進される。網膜ではグリア細胞、神経節細胞、網膜色素上皮細胞などで産生される。

VEGF 受容体 (VEGFR) として、fms-like tyrosine kinase-1 (Flt-1) と kinase insert domain-containing receptor (KDR)/fetal liver kinase-1 (Flk-1) が知られ、Flt-1 を VEGFR-1, KDR/Flk-1 (KDR) を VEGFR-

Tatsuro ISHIBASHI

Department of Ophthalmology, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University, 3-1-1, Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka, 812-8582, Japan

2とも呼ぶ。いずれも典型的なチロシンキナーゼ型受容体であり構造的に類似している。これら2つの受容体のうち、網膜血管内皮細胞において VEGF の主要な伝達を担うのは KDR で、Flt-1 は調節的役割を果たすようである。従って、血管新生の場においては、VEGF の発現ばかりでなく内皮細胞における KDR の発現量も非常に重要である。網膜血管内皮細胞における KDR の発現量を決定する因子として、後述する線維芽細胞増殖因子 fibroblast growth factor (FGF)、細胞内シグナリングとしてプロテインキナーゼ C や mitogen-activated protein (MAP) キナーゼの活性化、転写因子としては Sp 1 が促進的、Sp 3 が抑制的に関与する⁴⁾⁵⁾。

また最近、VEGF₁₆₅ と特異的に結合する新たな受容体としてニューロピリン-1 neuropilin-1 の存在が明らかとなった。ニューロピリン-1 は VEGF₁₆₅ の KDR への結合を増強し、VEGF₁₆₅ が局所で効率よく機能するのに役立っている¹⁸⁾。

現在、眼内に存在する血管新生促進因子の中で、この VEGF とその受容体システムが眼の血管新生にもっとも関与していると考えられている。

2. アンジオポエチン angiopoietin (Ang)

近年、新しい血管調節因子としてアンジオポエチン-1 (Ang-1) とアンジオポエチン-2 (Ang-2)、そしてこれらの共通の受容体である tyrosine kinase with immunoglobulin and epidermal growth factor-2 (Tie-2) がクローニングされた。Tie-2 受容体は VEGF 受容体と同様受容体型チロシンキナーゼであり、その発現は血管内皮細胞に特異的であるが、内皮細胞の増殖は誘導しない。具体的なシグナリングはまだ十分には解明されていないが、Ang-1 は内皮細胞の発現する Tie-2 受容体を介して、内皮細胞による細胞外マトリックスの産生を促進したり、内皮細胞と周皮細胞との結合を増強することで血管構築を安定化させる。これに対し、Ang-1 と 50% の相同性を有する Ang-2 は、同じ Tie-2 受容体に結合してもシグナル伝達を誘導しない。従って、Ang-2 は Ang-1 の働きを拮抗的に阻害し、周皮細胞を毛細血管から遊離させることによって血管構築の脆弱化をもたらす。血管構築の脆弱化の際に、VEGF が十分量存在すれば血管新生の方向へ向かうのに対し、逆に VEGF の作用が不十分であれば、血管は退縮する²⁾と考えられている²⁾。網膜血管内皮細胞においても VEGF や低酸素によって Ang-2 の発現が亢進する¹³⁾。

この Ang/Tie-2 システムは VEGF とその受容体システムと密接に関連して、眼の血管新生に関与している。

3. 線維芽細胞増殖因子 fibroblast growth factor (FGF)

FGF ファミリーには現在、少なくとも 15 種類が報告されているが、眼内で重要視されていたのは塩基性 FGF (FGF-2) で、血管新生作用を持つ。しかし、FGF-2 は分泌型蛋白ではなく、正常の網膜にも多量の発現があり、また虚血網膜での発現が亢進しないことなどから、眼内血管新生の主役とは考えられていないが、最近 VEGF や VEGF 受容体の発現を促進することが明らかになった⁵⁾。このことは FGF-2 の存在下では VEGF の作用が増強される可能性を示している。

4. トランスフォーミング増殖因子-β transforming growth factor-β (TGF-β)

TGF-β ファミリーは哺乳類では TGF-β 1, 2, 3 の 3 種類が報告されている。網膜においては主に TGF-β 2 の発現が周皮細胞やグリア細胞に認められる。TGF-β の血管内皮細胞への直接作用は血管新生抑制である。TGF-β は、生体内で不活性の潜在型 TGF-β として分泌され、プラスミンによって活性型 TGF-β に変換される。この活性化は血管内皮細胞と周皮細胞がお互いに接触している状態で効率よくなされる¹⁶⁾。また TGF-β は細胞外マトリックスの産生を亢進し、眼内血管新生後期の線維性増殖に関与している。

5. 色素上皮由来因子 pigment epithelium-derived factor (PEDF)

内在性の血管新生抑制因子としてトロンボスポンジン-1 thrombospondin-1 (TSP-1)、XVIII 型コラーゲンの C 末端フラグメントであるエンドスタチン endostatin、プラスミノーゲンのフラグメントであるアンギオスタチン angiostatin などが知られているが、さらに網膜色素上皮細胞より色素上皮由来因子 pigment epithelium-derived factor (PEDF) が分離された。

PEDF は 1991 年、神経細胞の分化誘導因子として網膜色素上皮細胞の培養上清より分離され²⁰⁾、Steele らによ

てクローニングされた分子量約 50 kDa の分泌型蛋白である¹⁹⁾。その後、神経保護作用を有すること、さらには血管内皮細胞に対して特異的に増殖抑制作用を示し、血管新生抑制作用を有することが明らかにされた¹⁾。これまで、無血管組織である角膜や硝子体中には血管新生を抑制する物質の存在が示唆されていたが、PEDF の中和抗体によって、角膜や硝子体からの抽出物による血管新生抑制作用が減弱する。つまり、角膜や硝子体を無血管組織に維持しているのは少なからず PEDF の作用によることが示唆されている。PEDF の内皮細胞に対する作用は、TSP-1、エンドスタチン、アンギオスタチンの何れよりも強く、さらに VEGF や FGF-2 依存性の内皮細胞増殖に対しても阻害作用を有する。PEDF の発現は酸素分圧と正相関し、低酸素によってその発現が低下する。そのような環境では VEGF や FGF-2 の作用が増強されるものと考えられる。

眼内血管新生病

1. 糖尿病網膜症 diabetic retinopathy (DR)

a) 疾患概念

糖尿病による高血糖状態が持続するために、網膜血管に異常をきたし、網膜や硝子体に多彩な病変を形成する疾患である。特に失明につながる増殖糖尿病網膜症 proliferative diabetic retinopathy (PDR) の発生進展には、血管新生が第一義的な役割を果たす。

b) 臨床所見

眼底には毛細血管瘤、網膜出血、網膜浮腫、硬性および軟性白斑、新生血管、増殖組織、網膜剥離など多彩な所見がみられるが、その基本病態は網膜血管の透過性亢進、内腔閉塞、血管新生の3つに分けることができる。このなかでも血管新生は失明に直接結びつく病態で、透過性亢進や内腔閉塞を基盤にして生じる(図1)。

c) 病態

高血糖の持続により、ポリオール代謝経路の活性亢進、蛋白質の非酵素的糖化、ジアシルグリセロールの産生亢進によるプロテインキナーゼ C の活性化、活性酸素や過酸化脂質の産生亢進、細胞内レドックス状態の変化、アラキドン酸カスケードの活性化などの代謝異常が出現する。これらの代謝異常は互いにネットワークを形成し、網膜血管壁細胞に対して、直接あるいは種々のサイトカインの発現を介して作用し、網膜症の病変を形成する。新生血管は網膜血管から生じ、網膜と硝子体の境界面に沿って進展する(図2)。

現在、網膜症の病態形成にもっとも強く関わっているサイトカインは VEGF と考えられている。VEGF とその受容体システムは網膜症発生以前から網膜症末期の増殖期まで幅広く関与し、3つの基本病態の形成に深く関わっている⁸⁾。

網膜血管の透過性亢進による血液網膜関門の破綻や血管閉塞による網膜虚血が生じると、VEGF の発現が亢進す

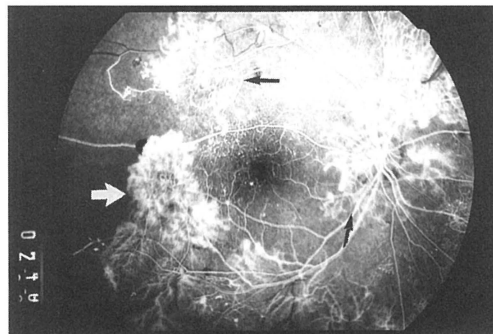


図1 増殖糖尿病網膜症の蛍光眼底写真
新生血管を含んだ増殖組織が眼底後極部にみられる(矢印)。

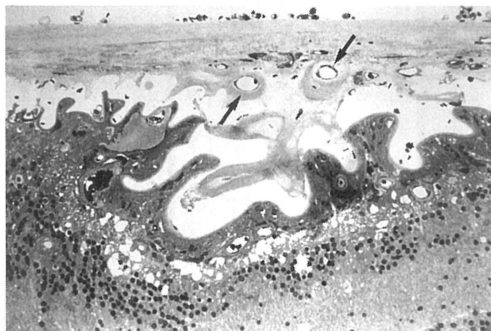


図2 新生血管（増殖糖尿病網膜症）の光学顕微鏡写真
網膜面上の増殖組織中に新生血管がみられる（矢印）。

る。糖尿病網膜では VEGF 蛋白質ならびに mRNA の局在は主に網膜血管周囲のグリア細胞に認められる。また培養網膜グリア細胞は VEGF を発現し、内皮細胞の増殖、in vitro 血管新生を促進する。そして、その発現は低酸素条件下で亢進する。従って、内皮細胞とグリア細胞の相互作用が PDR の血管新生に関与している可能性がある⁹⁾。

また最近では明らかな虚血が起こる前でも VEGF の発現亢進が報告されている。この時期では糖尿病の代謝異常そのものが VEGF 発現亢進の要因となっている可能性があり、その一つに蛋白質の非酵素的糖化により形成される後期グリケーション終末産物 advanced glycation end products (AGEs) がある。In vitro で AGEs が VEGF の発現を亢進させ、また in vivo においても、AGEs の網膜血管壁や血管周囲のグリア細胞への沈着と VEGF の発現には相関がみられる¹¹⁾。さらに AGEs を硝子体に入れると、グリア細胞を主体に VEGF の発現が亢進する¹⁰⁾。

また AGEs は、糖尿病網膜で周皮細胞の変性、消失をもたらす一因にもなっている。このことは周皮細胞による TGF- β を介した内皮細胞の増殖抑制機構がなくなることを意味する。加えて低酸素や VEGF による Ang 2 の発現亢進も、毛細血管の脆弱化機構として注目される。

さらに、血管新生抑制因子である TSP-1 は網膜血管内皮細胞からも産生されるが、その発現は高グルコース条件で阻害される。糖尿病眼の硝子体における TSP-1 の濃度は正常眼と比較して低下していることも明らかにされた¹⁷⁾。

2. 加齢黄斑変性 age-related macular degeneration (AMD)

a) 疾患概念

AMD は脈絡膜血管からの血管新生病の代表である。AMD は滲出型と萎縮型に分けられ、血管新生が関与するのは前者である。AMD 滲出型とは高齢者の黄斑に脈絡膜から新生血管が発生し、網膜色素上皮下あるいは網膜下に出血や滲出性病変を生じ、ついには瘢痕組織を形成する疾患である。後天性失明の原因疾患として増加しており、米国では年間失明者数が既に糖尿病網膜症によるものを上まわっている。

b) 臨床所見

AMD は黄斑を障害するため、急激な視力低下、中心暗点をきたすことが多い。黄斑に漿液性網膜剝離、漿液性網膜色素上皮剝離、網膜下出血、網膜下結合組織増殖などを生じる。蛍光眼底造影では網目状の脈絡膜新生血管が証明される（図3）。

c) 病態

基本となる病態は脈絡膜血管新生である（図4）。原因として黄斑の網膜色素上皮細胞、ブルッフ膜、脈絡膜血管の加齢変化を基盤にして発症する。脈絡膜新生血管の発生においても VEGF の関与が指摘されている⁹⁾。主な VEGF 産生細胞は網膜色素上皮細胞と浸潤してくるマクロファージである。網膜血管新生では網膜虚血が VEGF

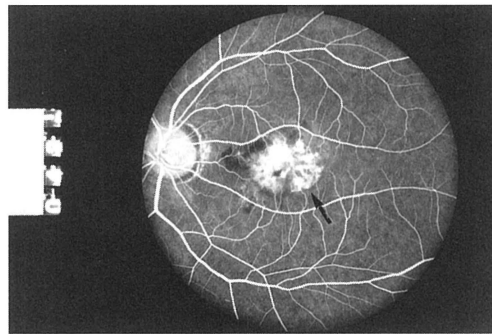


図3 加齢黄斑変性の蛍光眼底写真
黄斑に脈絡膜から新生血管が認められる
(矢印)。

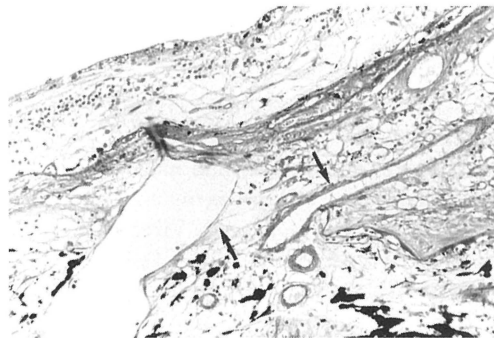


図4 新生血管(加齢黄斑変性)の光学顕微鏡写真
脈絡膜から網膜下に新生血管がみられる
(矢印)。

の発現に重要であるが、AMDにおける脈絡膜虚血は明らかではない。虚血以外の要因として最近 AGEs の関与が指摘されている⁷⁾。AGEs は *in vitro*, *in vivo* で網膜色素上皮細胞に作用して VEGF を発現させる。また AGEs は脈絡膜血管内皮細胞にも直接作用して VEGF を発現させる。高齢者の眼球ではドルーゼンや basal laminar/linear deposits (BLDs) と呼ばれる脈絡膜新生血管発生の前駆病変に AGEs の沈着が認められる。さらに脈絡膜新生血管の内皮細胞には AGEs に対するレセプター、RAGE もみられる。ドルーゼンや BLDs における AGEs などの蓄積はマクロファージの浸潤をきたし、このマクロファージも脈絡膜新生血管の発生に重要な役割を果たす。マクロファージは RAGE を持ち、AGEs を貪食すると活性化され VEGF、インターロイキン-1 interleukin-1 (IL-1)、腫瘍壊死因子- α tumor necrosis factor- α (TNF- α) などの種々のサイトカインを産生する。IL-1, TNF- α などの炎症性のサイトカインは網膜色素上皮細胞など周囲の細胞を刺激して、さらに VEGF を産生させることにより新生血管の発生進展を促す。また AGEs は TGF- β や platelet-derived growth factor (PDGF) などを介して線維化を促進するので、脈絡膜新生血管膜の線維化にも関与している可能性がある。

また脈絡膜新生血管膜には Ang-2 および Tie-2 の発現がみられ、VEGF と共に新生血管の発生、進展に関与している¹⁴⁾。さらに加齢に伴う色素上皮細胞からの PEDF 発現低下も AMD の病態形成に関与していることが推測され、今後の検討が注目される。

眼内血管新生病の治療

現在、眼内血管新生病に対する主な治療法は光凝固療法や硝子体手術といった外科的治療で、ある程度病期が進行した症例に対して行う対症療法という側面も強く、しばしば失明も避けられない。

近年の血管新生調節因子に関する目覚ましい研究の進歩によって、血管新生のメカニズムの全容が解明されつつある。眼内血管新生病に対して、失明を防止する観点から、より良好な視機能を確保することへ治療目標がレベルアップしてきている。それには血管新生調節因子を標的とした、組織浸襲の少ない治療法の開発・臨床応用が急務である。

上述したように眼内血管新生病の病態形成には VEGF を中心としたサイトカインが幅広く関与していることが明らかである。VEGF をターゲットとして、その産生阻害薬、受容体拮抗薬、シグナル伝達阻害薬など、より有効な網膜症の治療法を模索して動物実験、あるいは臨床試験が行われている。さらに、VEGF とその受容体システム、および Ang/Tie-2 システムを遺伝子治療的手法を用いて制御することによって、眼内血管新生病の治療に応用しようとする概念もあり、その成果が期待される⁶⁾¹²⁾¹⁵⁾。

文 献

- 1) Dawson DW, Volpert OV, Gillis P et al.: Pigment epithelium-derived factor: a potent inhibitor of angiogenesis. *Science* 285: 245-248, 1999.
- 2) Hanahan D: Signaling vascular morphogenesis and maintenance. *Science* 277: 48-50, 1997.
- 3) Hata Y, Nakagawa K, Ishibashi T et al.: Hypoxia-induced expression of vascular endothelial growth factor by retinal glial cells promotes in vitro angiogenesis. *Virchow Arch* 426: 479-486, 1995.
- 4) Hata Y, Due E, Zhang K et al.: Transcription factors Sp1 and Sp3 alter vascular endothelial growth factor receptor expression through a novel recognition sequence. *J Biol Chem* 273: 19294-19303, 1998.
- 5) Hata Y, Rook SL and Aiello LP: Basic fibroblast growth factor induces expression of VEGF receptor KDR through a protein kinase C and p44/p42 mitogen-activated protein kinase-dependent pathway. *Diabetes* 48: 1145-1155, 1999.
- 6) Honda M, Sakamoto T, Ishibashi T et al.: Experimental subretinal neovascularization is inhibited by adenovirus-mediated soluble VEGF/fil-1 receptor gene transfection: a role of VEGF and possible treatment for SRN in age-related macular degeneration. *Gene Therapy* 7: 978-985, 2000.
- 7) Ishibashi T, Murata T, Hangai M et al.: Advanced glycation end products in age-related macular degeneration. *Arch Ophthalmol* 116: 1629-1632, 1998.
- 8) 石橋達朗: 眼内循環。眼内血管病変の細胞生物学。日眼会誌 103: 923-947, 1999.
- 9) Lopez PF, Sippy BD, Lambert HM et al.: Transdifferentiated retinal pigment epithelial cells are immunoreactive for vascular endothelial growth factor in surgically excised age-related macular degeneration-related choroidal neovascular membranes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 37: 855-868, 1996.
- 10) Lu M, Kuroki M, Amano S et al.: Advanced glycation end products increases retinal vascular endothelial growth factor expression. *J Clin Invest* 101: 1219-1224, 1998.
- 11) Murata T, Nagai R, Ishibashi T et al.: The relationship between accumulation of advanced glycation end products and expression of vascular endothelial growth factor in human diabetic retinas. *Diabetologia* 49: 764-769, 1997.
- 12) Murata T, Hoffmann S, Ishibashi T et al.: Retrovirus-mediated gene transfer targeted to retinal photocoagulation sites. *Diabetologia* 41: 500-506, 1998.
- 13) Oh H, Takagi H, Suzuma K et al.: Hypoxia and vascular endothelial growth factor selectively upregulate angiopoietin-2 in bovine microvascular endothelial cells. *J Biol Chem* 274: 15732-15739, 1999.
- 14) Otani A, Takagi H, Oh H et al.: Expressions of angiopoietins and Tie2 in human choroidal neovascular membranes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 40: 1912-1920, 1999.
- 15) Sakamoto T, Ueno H, Goto Y et al.: A vitrectomy improves the transfection efficiency of adenoviral vector-mediated gene transfer to Muller cells. *Gene Therapy* 5: 1088-1097, 1998.

- 16) Sato Y and Rifkin DB : Inhibition of endothelial cell movement by pericytes and smooth muscle cells : activation of a latent transforming growth factor- β 1-like molecule by plasmin during co-culture. J Cell Biol 109 : 309-315, 1989.
- 17) Sheibani N, Sorenson CM, Cornelius LA et al. : Thrombospondin-1, a natural inhibitor of angiogenesis, is present in vitreous and aqueous humor and is modulated by hyperglycemia. Biochem Biophys Res Commun 267 : 257-261, 2000.
- 18) Soker S, Takashima S, Miao HQ et al. : Neuropilin-1 is expressed by endothelial and tumor cells as an isoform-specific receptor for vascular endothelial growth factor. Cell 92 : 735-745, 1998.
- 19) Steele FR, Chader GJ, Johnson LV et al. : Pigment epithelium-derived factor (PEDF) : neurotrophic activity and identification as a unique member of the serine protease inhibitor (SERPIN) gene family. Proc Natl Acad Sci USA 90 : 1526-1530, 1993.
- 20) Tombran-Tink J, Chader GJ and Johnson LV : PEDF : a pigment epithelium-driven factor with potent neuronal differentiative activity. Exp Eye Res 53 : 411-414, 1991.