

## 原 竜平 氏の学位論文審査の要旨

### 論文題目

マウス実験的脈絡膜新生血管における N-アセチルシステインの効果  
(Effect of N-Acetyl-Cysteine in mouse model of Choroidal Neovascularization)

脈絡膜新生血管 (CNV) に起因する加齢黄斑変性症 (AMD) の治療として光線力学療法や抗 VEGF 抗体の硝子体内注入などが行なわれているが、治療効果は十分とはいえない。CNV の病態には酸化ストレス、補体系、炎症反応の関与が知られている。従来から、抗酸化物質 Thioredoxin や抗酸化作用を有する Pitavastatin による CNV 抑制効果、酸化 LDL スカベンジャー受容体の CNV 形成への関与の検討により、CNV 形成に酸化ストレスが関与する事が明らかにされてきた。本論文では、細胞/組織内でチオールを増加させ酸化ストレスから組織保護に働く作用のある N-Acetyl-cysteine (NAC) を用い、CNV の抑制効果とその作用機序の解明を目的とした。

C57BL/6 マウスを用いてレーザー網膜光凝固 (PC) にて実験的 CNV モデルマウスを作製した。モデルマウスには NAC または vehicle を一日一回腹腔内投与した。酸化ストレスのバイオマーカーである 4-Hydroxy-2-nonenal (4-HNE) を用い、酸化ストレスの発現経過を確認した。また、核内への Nuclear factor-kappa B (NF- $\kappa$ B) の取り込みを確認した。更に CNV に深く関与する Vascular endothelial growth factor (VEGF) の発現、好中球/マクロファージの CNV 周囲への浸潤を確認した。Vehicle 群と CNV サイズを比較し、NAC による CNV 抑制効果を比較した。

4-HNE がレーザー光凝固 1-3 時間後に上昇し、NAC により酸化ストレスが抑制された。また、NAC 投与群では核内への NF- $\kappa$ B の取込みが抑制された。NAC にて好中球/マクロファージ浸潤に関与するサイトカイン (CXCL-1, MCP-1) や VEGF、VEGFR-1 が抑制された。NAC 投与群では PC 後 3 日後の好中球/マクロファージの浸潤が抑制される事を免疫染色法にて確認した。レーザー光凝固 7 日後において NAC 投与群では CNV の抑制が認められた ( $p = 0.027$ )。

酸化ストレスがかかると、細胞内で活性酸素種が発生し、細胞内の NF- $\kappa$ B が I $\kappa$ B より外れ、核内に移行し転写を活性化させる。これにより IL-1, 2, 6, 8, MCP-1 等のサイトカインや ICAM-1 等の接着因子、VEGF 濃度が上昇し血管新生をきたす。NAC は細胞内で還元型グルタチオンに代謝され、細胞内の還元型グルタチオン濃度を上昇させる事により、NF- $\kappa$ B の活性化を抑制すると考えられる。そのため NAC 投与によりサイトカインの分泌を抑制し、VEGF 濃度を低下させた事により CNV 形成が抑制されたことが示唆された。

審査において、①AMD の疫学、②VEGF121 と 165 の AMD 病変形成における役割の違い、③NF- $\kappa$ B 上昇が AMD の病変進展に与える影響、④慢性経過をたどる AMD の病態解明における急性モデル作製の意義、⑤臨床応用に向けての方策、⑥早期診断法、⑦薬剤投与方法、⑧従来の治療と NAC 投与を併用した場合の治療効果、⑨AMD の慢性動物モデルの作製、などについて質疑応答がなされ、発表者から適切な回答が得られた。

本論文は、NAC 投与により、酸化ストレスを介した NF- $\kappa$ B の核内移行が抑制され、マウスにおける実験的脈絡膜新生血管の発生を抑制できることをあきらかにしたものであり、AMD の病態を明らかにして治療成績の向上に向けて臨床応用の可能性を開いた研究として高く評価できる。

審査委員長 頭頸部感覚病態学担当教授

湯本 英二

印

# 審査結果

学位申請者名：原 竜平

分野名：視機能病態学

学位論文題名：

マウス実験的脈絡膜新生血管におけるN-アセチルシステインの効果

(Effect of N-Acetyl-Cysteine in mouse model of Choroidal Neovascularization)

指導： 谷原 秀信 教授

判定結果：

可

不可

不可の場合：本学位論文名での再審査

可

不可

平成22年2月 2 日

審査委員長 頭頸部感覚病態学担当教授

湯本 英二

印

審査委員 代謝内科学担当教授

荒木 栄一

印

審査委員 幹細胞誘導学担当教授

江良 根実

印

審査委員 神経精神科学担当教授

池田 学

印