

[課程-2]

審査の結果の要旨

氏名 ムリロ フェリックス ロジヤ
Murilo Felix Roggia

本研究は重要な失明原因である加齢黄斑変性の病態に関連して、網膜色素上皮細胞における peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator-1 α (PGC-1 α)の発現調節と保護的効果についてのメカニズム、また抗酸化酵素 glutathione peroxidase 4 (GPx4)の保護効果を滲出型加齢黄斑変性マウスモデルを用いて明らかにしようとしたもので、下記の結果を得ている。

1. 視細胞外節を培養網膜色素上皮細胞に与えることで PGC-1 α の発現が上昇することを ARPE-19 細胞と *ex vivo* 網膜色素上皮細胞にて確認した。視細胞外節の貪食のステップ (binding, internalization, degradation) のうち、binding に重要な $\alpha\beta 5$ integrin に対する siRNA の transfection を行った時のみ PGC-1 α の発現上昇が抑制された。一方 internalization に重要な CD36 や Mer tyrosine kinase (MerTK) に対する siRNA transfection やブロッキング抗体処理を行った ARPE-19 細胞では PGC-1 α の発現上昇は抑制されず、むしろさらに増大した。また、 $\alpha\beta 5$ integrin の細胞内シグナル伝達に重要な focal adhesion kinase (FAK) に対する特異的な阻害剤で前処置をした ARPE-19 細胞でも PGC-1 α の発現上昇が抑制されたことから、視細胞外節貪食による網膜色素上皮細胞での PGC-1 α の発現上昇には binding のステップ ($\alpha\beta 5$ integrin, FAK) が重要であることが示された。
2. ARPE-19 細胞において、視細胞外節は抗酸化酵素の発現上昇と PGC-1 α を介した酸化ストレスレベルの低下、ミトコンドリア生合成、senescence-associated β galactosidase activity の低下、lysosomal activity の上昇 (transcription factor EB の核内発現上昇と target genes の誘導、

cathepsin D activity の上昇、細胞内酸化脂質の減少) をもたらすことを明らかにした。これらの結果によって視細胞外節貪食による PGC-1 α を介した網膜色素上皮細胞への保護効果が示された。

3. PGC-1 α ノックアウトマウスにおいて、網膜色素上皮におけるリポフチンの蓄積、ブルッフ膜の肥厚、萎縮した脈絡膜毛細血管の所見が確認された。
4. GPx4^{+/+}、GPx4^{+/+}, GPx4 transgenic マウスにおいてレーザー眼底照射を行い、脈絡膜新生血管を誘導した (滲出型加齢黄斑変性モデル)。レーザー照射前の網膜色素上皮・脈絡膜組織では GPx 4 の発現上昇とともに VEGF 蛋白レベルが上昇していた。一方、レーザー照射後の新生血管を有する網膜色素上皮・脈絡膜組織では GPx4 の発現上昇とともに VEGF 蛋白レベルが低下し、脈絡膜新生血管サイズも縮小していた。

以上、本論文は網膜色素上皮細胞における α v β 5 integrin/FAK/PGC-1 α のシグナルの存在とその保護的効果について初めて明らかにした。また、GPx4 の発現が滲出型加齢黄斑変性マウスモデルにおいて脈絡膜新生血管を抑制する効果を有することを明らかとした。本研究は網膜色素上皮細胞の加齢のメカニズム解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。