

糖尿病網膜症における硝子体血管新生モデルの開発—硝子体表面の血管内皮細胞接着性の定量的評価—

○大木 啓太郎¹, 中村 嘉孝¹, 宮田 佳樹¹, 嶋田 新¹, 小佐野 博史¹(¹帝京大薬)

【目的】糖尿病網膜症では、硝子体上での新生血管の伸展が病態の進展に大きく関与している。そこで今回、まず鶏胚硝子体を用いて血管内皮細胞の接着性の違いについて検討し、更に糖尿病状態の1つとして硝子体に血清を作用させた後の接着性の変化について併せて検討した。【方法】マウス脳血管内皮細胞株 bEND.3 懸濁液を血清作用前後の鶏胚硝子体に一定時間作用させ、硝子体に接着した細胞を測定するため、硝子体を前部・後部に分けて HE 染色し、細胞数を計測した。また、血清を硝子体に作用させた際に硝子体に付着する血清由来因子を検索するため Western blot を行った。さらに硝子体と細胞の接着性の機序を解明するため、低分子 Heparin を用いて検討した。【結果】bEND.3 は硝子体前部には接着するが、後部にはほとんど接着しなかった。しかし、血清を作用させることによって、後部へも接着することが明らかとなった。このように硝子体を固定し、HE 染色することにより硝子体前部と後部の細胞接着性を定量的に解析することが可能となった。また、血清を作用させた硝子体の不溶性成分から fibronectin が検出され、血清作用後の硝子体に低分子 Heparin を作用させると硝子体後部への細胞接着性が抑制された。【考察】血清を作用させると硝子体後部に fibronectin が付着し、それを介して bEND.3 が接着するようになることが明らかとなった。本来血管内皮細胞が接着しない硝子体後部に血清を作用させると血管内皮細胞の接着が促進されることから、血清中の fibronectin は硝子体への血管新生を惹起する因子の1つと考えられた。本モデルは硝子体の細胞接着性の変化を定量的に評価することが可能であり、糖尿病網膜症治療薬のスクリーニングに応用できると思われる。