要　　約

報告番号	㊙ 乙 第　　号	氏　名	岡　部　圭　介

主 論 文 題 名

Neurons Limit Angiogenesis by Titrating VEGF in Retina
（網膜神経細胞はVEGF濃度を希釈して血管新生を制限する）

（内 容 の 要 旨）

網膜血管は、出生後に発芽による血管新生（sprouting angiogenesis）によって形成される。げっ歯類の場合、生後1週のうちに最内側の神経節細胞層に沿って血管が放射状に成長し浅部血管叢を形成するが、この段階ではより深部の神経網膜へ血管が進入することはない。以後、深部および中間部血管叢が段階的に形成され、生後3週までに3層の血管叢が完成する。今回、発生期網膜において、神経が血管内皮増殖因子受容体（vascular endothelial growth factor receptor；以下VEGFR）-2の細胞内取り込みを介して血管新生の方向を規定する新たなメカニズムを同定した。

出生後網膜におけるVEGFR2の局在を調べたところ、生後1週目は血管よりもむしろ網膜神経に豊富に存在し、以後発達に伴って減少し生後2週以降にはほとんど認められなくなることが分かった。そこで、神経特異的に*Vegfr2*を欠損するマウス（*Pax6α-Cre*$^{+}$*Vegfr2*$^{flox/flox}$マウス）の網膜血管新生を解析したところ、生後6日目の網膜において、既に血管の一部が垂直に深部へ伸長するという特徴的な表現型を呈していた。

神経特異的*Vegfr2*欠損マウスの網膜では、細胞外分画のVEGF-Aタンパク質が増加しており、また神経細胞内のエンドソームにVEGFが存在しないことから、本マウスではVEGFの神経細胞内への取り込みが低下することによって細胞外VEGF濃度が上昇していると考えられた。実際、神経特異的に*Vegfr2*および*Vegfa*を同時に欠損するマウス（*Pax6α-Cre*$^{+}$*Vegfr2*$^{flox/flox}$*Vegfa*$^{flox/flox}$マウス）においては上記の血管新生方向の異常が消失した。

VEGFR2のエンドサイトーシスが本表現型に関与することを明らかにするために、細胞のエンドサイトーシスに共同ではたらく重要な遺伝子として知られる*Dynamin1*および*Dynamin2*を神経特異的に欠損するマウス（*Pax6α-Cre*$^{+}$*Dnm1*$^{flox/flox}$*Dnm2*$^{flox/flox}$マウス）の解析を行った。予想通り、本マウスにおいては早期の垂直な血管新生が認められた。さらに、*Vegfa*を同時に欠損させることでこの表現型が認められなくなることを確認した。

本研究の結果から、網膜神経細胞がVEGFR2を強く発現し、盛んにVEGFを取り込むことで局所のVEGF濃度を希釈し、血管新生を制限するという機構の存在が明らかとなった。神経特異的にVEGFR2を欠損させると、VEGFの取り込みが行われなくなる結果、神経周囲のVEGF濃度が上昇し、神経の存在する網膜深部へ血管新生が起こることが示された。今後、加齢黄斑変性や糖尿病性網膜症などヒトの網膜血管新生を伴う疾患に関する新たな知見が得られるものと期待される。