

# 論 文 要 旨

Developmental and age-related changes to the elastic lamina of Bruch's membrane in mice  
(マウスブルッフ膜弾性板の胎生期から老齡期に至る変化)

関西医科大学眼科学講座  
(指導：高橋 寛二 教授)

盛 秀 嗣

### 【研究目的】

加齢黄斑変性症の主病態である脈絡膜新生血管の発生には、過去の組織学的検討からブルッフ膜弾性板の断裂が大きく関与していることがわかっている。弾性線維はマイクロフィブリル線維に沿ってエラスチン蛋白が架橋されることで生成されるが、その過程に fibulin-5, Latent TGF- $\beta$  Binding Protein (LTBP)2/4 が関与するとされている。眼科領域においては、毛様小帯がマイクロフィブリル線維の主成分である fibrillin-1 と LTBP-2 によって構成されていることが報告されているが、ブルッフ膜弾性板についての報告はない。我々はブルッフ膜弾性板の弾性線維としての性状を検討することが脈絡膜新生血管の病態解明につながると考えた。そこでマウスを用いて、胎生期から老齢期までのブルッフ膜弾性板において fibrillin-1, tropoelastin (エラスチンの前駆体), fibulin-5, LTBP-2 および-4 の 5 種の蛋白質について定量的、定性的に評価を行った。

### 【研究方法】

胎生 12.5 日、15.5 日、18.5 日、生後 1 日、4 日、7 日、3 週、6 週、74 週齢の C57BL/6 マウスを対象とした。摘出眼球を用いて、免疫染色および電子顕微鏡による定性的評価を、リアルタイム PCR による量的評価を行った。なお、各実験について、各週齢それぞれ 8 匹 16 眼を用いた。

### 【結果】

免疫染色では、胎生 18.5 日において fibrillin-1 と LTBP-4 の陽性所見を認め、tropoelastin, fibulin-5, LTBP-2 は陽性も陰性もあった。生後はこれら 5 種の蛋白質全てが明瞭に陽性となった。fibrillin-1 は比較的長い線状構造として観察され、LTBP-2 および LTBP-4 が fibrillin-1 と、LTBP-2 が tropoelastin と共局在していた。電子顕微鏡で観察するとブルッフ膜中間層に、胎生 12.5 日では房状のマイクロフィブリル線維と架橋する点状の tropoelastin を認め、以降はマイクロフィブリル/tropoelastin 複合体同士が徐々に連結し、生後 3 週には長い線状構造として観察できた。さらに生後 74 週の老齢マウスでは、ブルッフ膜弾性板周囲にドルーゼン (加齢黄斑変性の発症因子の 1 つ) を認めた。リアルタイム PCR では、胎児期中期から生直後に各弾性線維蛋白の mRNA の急激な上昇を認め、生後 3~6 週になると減少に転じた。

### 【考察】

生後、マウスのブルッフ膜弾性板に fibrillin-1, tropoelastin, fibulin-5, LTBP-2 および 4 すべてが存在することが初めて証明された。マイクロフィブリル線維の主成分である fibrillin-1 は、生後のマウスにおいては免疫染色で長い線状構造物として観察され、電子顕微鏡の所見と一致した。これまでに fibrillin-1 と LTBP ファミリーに強い相関があるとされていたが、本研究によって LTBP-2 および 4 と fibrillin-1 が免疫染色で共局在していることが証明された。電子顕微鏡所見ではマイクロフィブリル/tropoelastin 複合体が生後 3 週以降に長い線維構造として観察され、一方、リアルタイム PCR で生後 3 週以降に mRNA の発現量が減少し始めることから、マウスブルッフ膜は生後 3~6 週に成熟すると考えられた。さらに老齢マウスにおいては電子顕

微鏡にて網膜色素上皮下にドルーゼンを認めたが、弾性線維の断裂はみられなかった。

**【結語】**

マウスブルッフ膜は生後 3～6 週に成熟し、老化により脈絡膜新生血管発生の前駆物質であるドルーゼンがブルッフ膜弾性板周囲に沈着することが明らかになった。今後、ブルッフ膜弾性板を調べることで脈絡膜新生血管の発生機序を検討する。