

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 25 日現在

機関番号：16101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K20265

研究課題名(和文) 増殖糖尿病網膜症における転写因子PPAR $\gamma$  の関与と治療への応用

研究課題名(英文) The application to the treatment of intraocular peroxisome proliferator-activated receptor gamma in patients with proliferative diabetic retinopathy.

研究代表者

香留 崇 (KATOME, Takashi)

徳島大学・病院・講師

研究者番号：50464342

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：増殖糖尿病網膜症と特発性黄斑前膜の硝子体手術時に採取した前房水と硝子体液でのPPAR $\gamma$ 濃度を解析した結果、増殖糖尿病網膜症では眼内でのPPAR $\gamma$ 濃度が上昇していることが分かった。またその濃度はVEGF濃度と正の相関性があり、ともに増殖糖尿病網膜症の重症度に応じて高くなる傾向にあり、眼内のPPAR $\gamma$ を抑制することで治療に応用できる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：The PPAR $\gamma$  concentrations in the aqueous humor and vitreous fluid were significantly higher in PDR patients than in controls ( $P<0.0005$ ). There was a significant positive correlation between the PPAR $\gamma$  and VEGF concentrations ( $P<0.0005$ ). The level of PPAR $\gamma$  increased as the clinical stage advanced. The expressions of the mRNA and protein of PPAR $\gamma$  were higher in the membranes of PDR than those of controls. Anti-VEGF therapy significantly reduced the VEGF concentration ( $P<0.0001$ ) but not the PPAR $\gamma$  concentration. PPAR $\gamma$  may play an important role and a therapeutic target in the pathogenesis of PDR.

研究分野：網膜硝子体疾患

キーワード：糖尿病網膜症 VEGF PPAR

### 1. 研究開始当初の背景

糖尿病網膜症は成人の失明原因の大多数を占めており、現在の治療法は進行例には必ずしも十分とはいえないのが現状である。近年、増殖糖尿病網膜症の病因に種々のサイトカインやサイトカインの発現を制御している転写因子が関与していることをうかがわせる報告が多数なされている。そのなかでも血管内皮増殖因子 (VEGF: vascular endothelial growth factor) はもっとも注目されているサイトカインであり(1)、VEGFの抗体などは一部、臨床応用がなされている。また、VEGFの発現を制御している転写因子として activator protein-1 (AP-1) や hypoxia-induciblefactor 1 (HIF1-) などが知られており、我々はこれまでに増殖糖尿病網膜症の増殖膜においてAP-1 mRNAが有意に高頻度で発現していること、また増殖膜のグリア細胞においてAP-1の活性化がみられることを報告してきた(2,3)。さらに、HIF1- についても増殖膜における発現の亢進を確認している。

また、リガンド応答性の核内受容体型の転写因子である PPAR (peroxisome proliferator-activated receptor gamma) は同じく核内受容体型転写因子である RXR(retinoid X receptor) とヘテロダイマーを形成してDR-1(direct repeat-1)タイプの認識配列である PPRE(peroxisome proliferator response element) に結合する。PPAR/RXRヘテロダイマーにPPARもしくはRXRのアゴニストが結合すると、コリプレッサーの解離とCBPなどのコアクチベーターの会合が起こり、転写因子活性化能を有するようになる(4)。

PPARは脂肪細胞の分化に非常に重要な役割を担っており、インスリン抵抗性改善薬であるチアゾリジン誘導体の細胞内標的である。PPARヘテロ欠損マウスにおいては、高脂肪食でみられる脂肪細胞の肥大化・インスリン抵抗性の程度が野生型に比べて抑制されていたことからPPARは脂肪細胞の肥大化を媒介することが明らかとなった。また、PPARアンタゴニストを糖尿病モデルマウスに投与するとインスリン抵抗性が改善することが示されている。

近年の研究によってPPARがインスリン抵抗性という糖尿病の基礎的病態に重要な役割を担っているのみならず(5,6)、腫瘍の増殖などに伴う異常な血管新生に関わっていることが明らかになってきた(7,8)。

また、眼内にPPARの抑制剤であるチアゾリジンを投与すると脈絡膜新生血管が抑制されることが報告されている(9)。このことから、増殖糖尿病網膜症の増殖膜など血管新生が促進されている組織ではPPARの増加が予想される。また、PPARの発現を抑制することにより増殖糖尿病網膜症における血管新生を抑制できる可能性がある。

### 2. 研究の目的

近年、PPARが腫瘍増殖などに伴う異常な血管新生に関わっていることが明らかになってきた。また、眼内にPPARの抑制剤を投与すると脈絡膜新生血管が抑制されることが報告されており、増殖糖尿病網膜症など血管新生が促進されている状況ではPPARの増加が予想される。今回、硝子体手術に得られる増殖膜と硝子体液を用いてPPARの発現をmRNAレベル、蛋白レベルで検索し、増殖糖尿病網膜症においてPPAR発現の亢進がないかを確認する。さらに、ラットの培養グリア細胞やヒト血管内皮細胞をAGEや高濃度のグルコース下で培養することによって、転写因子PPARの発現亢進をもたらすかどうか、またマウスの網膜新生血管モデルにPPARのリガンドを投与することにより血管新生の抑制が可能かを検索する。

### 3. 研究の方法

増殖糖尿病網膜症および、対照として特発性黄斑上膜などの血管新生を伴わない疾患の増殖膜と硝子体液、前房水を採取し、PPARの発現をmRNAレベル、蛋白レベルで検索し、増殖糖尿病網膜症の増殖膜や硝子体液においてPPAR発現の亢進がないかを確認する。さらに、ラットから分離したグリア細胞やヒト血管内皮細胞をAGEや高濃度のグルコース下で培養することによって、転写因子PPARの発現亢進をもたらすかどうかを検証するとともに、マウスの網膜新生血管モデルにPPARのリガンドを投与することにより血管新生の抑制が惹起されないかを検索する。

### 4. 研究成果

増殖糖尿病網膜症と特発性黄斑上膜の硝子体手術時に採取した前房水と硝子体液でのPPAR濃度を解析した結果、増殖糖尿病網膜症では眼内でのPPAR濃度が上昇していることが分かった。またその濃度はVEGF濃度と正の相関関係にあり、共に増殖糖尿病網膜症の重症度に応じて高くなる傾向にあった。今後PPARは治療目的での応用が期待できる。

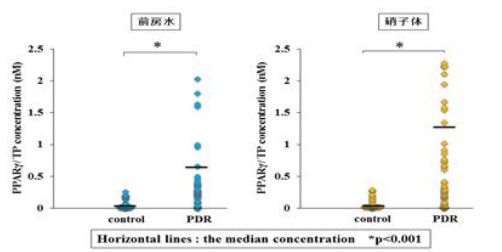


図 1. 前房水と硝子体内での PPAR 濃度 PDR (糖尿病網膜症患者)において眼内の PPAR 濃度が上昇している。

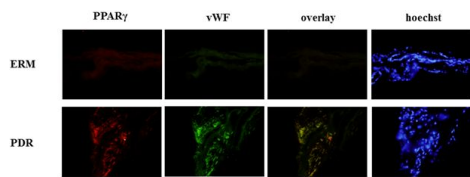


図 2. ERM (黄斑上膜)と PDR (増殖糖尿病網膜症患者の増殖膜)の免疫染色 PDR (増殖糖尿病網膜症患者の増殖膜)にて PPAR の発現が増加していることが確認できる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 6 件)

1. Expression of intraocular peroxisome proliferator-activated receptor gamma in patients with proliferative diabetic retinopathy. Katome T, Namekata K, Mitamura Y, Semba K, Egawa M, Naito T, Harada C, Harada T. Diabetes Complications. 2015 Mar;29(2):275-281. 査読あり
2. Inhibition of stress-responsive signaling pathway prevents neural cell death following optic nerve injury. Katome T. Nippon Ganka Gakkai Zasshi. 2014 Nov;118(11):907-915. 査読あり
3. Changes in metamorphopsia in daily life after successful epiretinal membrane surgery and correlation with M-CHARTS score. Kinoshita T, Imaizumi H, Miyamoto H, Okushiba U, Hayashi Y, Katome T, Mitamura Y. Clin Ophthalmol. 2015 Feb 4;9:225-233. 査読あり
4. Optical Coherence Tomography Reveals New Insights into the Accommodation Mechanism. Farouk MM, Naito T, Shinomiya K, Eguchi H, Sayed KM,

Nagasawa T, Katome T, Mitamura Y. J Ophthalmol. 2015;2015:510459. 査読あり

5. Two-year results of metamorphopsia, visual acuity, and optical coherence tomographic parameters after epiretinal membrane surgery. Kinoshita T, Imaizumi H, Miyamoto H, Katome T, Semba K, Mitamura Y. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2016 Jun;254(6):1041-1049. 査読あり
6. DETECTION OF CHOROIDAL FOLDS IN PATIENTS WITH VOGT-KOYANAGI-HARADA DISEASE BY RETROMODE SCANNING LASER OPHTHALMOSCOPY. Kinoshita T, Imaizumi H, Miyamoto H, Katome T, Mitamura Y. Retin Cases Brief Rep. 2016 Spring;10(2):160-164. 査読あり

〔図書〕(計 4 件)

1. 香留 崇、三田村 佳典：第 章 序論 (手術の前に) 3.手術準備 1)術前検査 b.視野、電気生理 イラスト眼科・巻 135 (24-33)、2014.
2. 香留 崇：眼科医のための先端医療 ストレスシグナル制御による神経保護治療の可能性 あたらしい眼科 31 巻 7 号 927-1080 (1007-1009)、2014.
3. 香留 崇：再生医療とコンピュータサイエンス 加齢黄斑性に対する再生医療 四国医学雑誌 70 巻 1-2 50(3-6)、2014.
4. 香留 崇、三田村 佳典：何がわかる? 何がわかる? OCT IS/OS に注目してみよう 網膜色素変性 臨床眼科 68 巻 4 号 417-602 (438-442)、2014.

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：

取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

6．研究組織

(1)研究代表者

香留 崇 (KATOME, Takashi)  
徳島大学・病院・講師

研究者番号：50464342