

令和 2 年 6 月 3 日現在

機関番号：10107

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2016～2019

課題番号：16K11311

研究課題名（和文）FGF21を標的とした新たな糖尿病網膜症治療の確立

研究課題名（英文）New establishment treatment of diabetic retinopathy of target of FGF21

研究代表者

大前 恒明（Omae, Tsuneaki）

旭川医科大学・医学部・助教

研究者番号：30451470

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：今回、我々は、脂肪組織から分泌されるサイトカインの一つであるFGF21の網膜循環への影響を検討した。in vitroとin vivo研究において、FGF21の網膜血管における有意な変化を確認できなかった。さらに、2型糖尿病患者においても、血中FGF21濃度と網膜循環パラメーターに有意な相関は認めなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回、FGF21の網膜循環への影響を認めることができなかった、ただ以前の我々の研究で、アディポネクチンなど他の脂肪から産生されるサイトカインによる網膜循環への影響を報告していることから、すべてのサイトカインが網膜循環へ影響を与えているわけではなく、臓器特異的なサイトカインの存在を強調できたことに学術的意義があると考えている。さらに、臓器特異性がわかれば、網膜循環が関与している網膜疾患への治療ターゲットが絞られ、治療薬の開発につながるという社会的意義も示せたと考えている。

研究成果の概要（英文）：In vitro and in vivo, we did not indicate that FGF21, adipocytokine, alter retinal vessel parameter. Moreover, there are no significant associations between serum FGF21 levels and retinal vessel parameters in patients with type 2 diabetes.

研究分野：医歯薬学

キーワード：網膜循環

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

研究の学術的背景

糖尿病網膜症は、糖尿病慢性合併症の1つで、成人失明の主な原因であり、その糖尿病網膜症の治療確立が急務である。糖尿病の発症には、高脂肪食・運動不足などに代表される欧米型生活習慣病の環境因子が大きく関与している。エネルギー過剰に陥りやすい環境因子が原因で、脂肪が蓄積することにより、肥満症・高血糖・高血圧・脂質異常が重複するいわゆるメタボリックシンドロームの発症が問題となっている。このように脂肪の過剰蓄積が、糖尿病をはじめ、メタボリックシンドロームの発症基盤となっており、さらには糖尿病網膜症の発症の一因と考えられる。さらに、我々は、2型糖尿病患者の眼循環の臨床研究を行い、網膜症発症前・発症早期に網膜血流が低下していることを見出した(研究業績19)。このことから、脂肪組織が網膜血管機能に影響を及ぼし、網膜症の病態に早期から関与していると推測され、**脂肪組織による循環調節に早期に介入することで、網膜循環を改善させ、網膜症発症の予防につながる**ことが期待される。

脂肪組織は、余剰なエネルギーの貯蔵だけでなく、様々な生理活性物質(アディポサイトカイン)を分泌する内分泌器官としても知られている。最近、FGF(fibroblast growth factor, 線維芽細胞増殖因子)ファミリーに属する分泌タンパク質である FGF21 が肝臓や骨格筋だけでなく、脂肪細胞からも分泌されることが同定された。この FGF21 は、脂質・糖代謝という重要な恒常性の維持に関与しており、実際、肥満や2型糖尿病患者において血清 FGF21 濃度が高く、さらに FGF21 投与により、血糖・脂質低下や体重減少させる(Coskun Endocrinology 2008)など、**FGF21 のメタボリックシンドローム関連疾患への関与が示唆されている**。また、糖尿病網膜症の重症度と血清 FGF21 濃度の関連が報告され、**脂肪細胞から産生される FGF21 が網膜症の発症・進展に関わっている可能性がある**。FGF21 は、血管内皮や脂肪細胞等に発現している FGF 受容体と FGF 受容体シグナル伝達に必要なタンパク質 klotho からなる受容体を介し、抗炎症・抗酸化作用等さまざまな生理作用を有している。加えて、血管内皮細胞の培養研究において、高血糖条件下で、低下した一酸化窒素(NO)産生が FGF21 投与により改善する(Wang XM Cell Physiol Biochem 2014)ことが知られている。この NO は強力な血管拡張物質の一つで、我々のこれまでの基礎研究でも NO が網膜循環の主要なメディエーターであることを示した(研究業績15)。つまり、**FGF21 が眼循環の調節因子の可能性**がある。さらに高血糖負荷によりマウスの臍島において klotho の発現低下(So Diabetes 2013)や、糖尿病モデルラットの腎組織において FGF 受容体の発現の低下が報告され(Cheng Horm Metab Res 2014)、**糖尿病患者において、FGF21 の感受性低下が網膜症の発症に関与している可能性がある**。一方で、FGF21 は、脂肪細胞でアディポネクチンの産生を促すこと(Lin Cell Metab 2013)も知られている。我々は、このアディポネクチンが新たな網膜循環調節因子であることも同定している(研究業績2, 7)。つまり、FGF21 のアディポネクチンを介する網膜循環因子としての作用も期待できる。さらに最近、FGF21 や FGF 受容体の発現を促進させる薬剤も報告(Yang PLoS One 2012)されており、これらの薬剤による眼循環の影響を検討するとともに、**FGF21 と FGF 受容体の眼循環調節因子としての可能性も検討することで、FGF21 や FGF 受容体を標的とした新しい網膜血管治療法の開発を目指している**。

2. 研究の目的

糖尿病網膜症は発症の背景に網膜血流の低下があり、その低下した血流の改善をターゲットとした新たな網膜症の治療が期待されている。近年、脂肪細胞が蓄積することで、肥満症・高血糖・高血圧・脂質異常が重複するメタボリックシンドロームの発症が問題となっている。また、脂肪細胞は、糖・脂質代謝の役割をしている FGF21 という生理活性物質を放出することが知られている。さらに、糖尿病網膜症の重症度と血中の FGF21 濃度が相関することから、網膜症の病態に FGF21 の関与が示唆され、FGF21 の網膜循環の調節因子としての可能性がある。本研究では FGF21 の網膜循環への影響を詳細に検討し、網膜症の原因となる網膜循環障害の改善につなげ、将来的には 2 型糖尿病患者における網膜症の発症・進展を予防する集学的治療法の確立を目指したい。

3. 研究の方法

平成 28 年度

研究 1) FGF21 の摘出血管への直接作用(in vitro 及び in vivo 実験系)

1. **ブタ網膜摘出血管の in vitro 実験系にて、FGF21 の網膜血管への拡張能の有無を確認する。**そこで網膜血管拡張が得られれば、血管内皮剥離モデル(研究業績 13)および各種阻害剤を用い、その拡張のメカニズムを詳しく解明していく。さらに、ヒト網膜血管内皮細胞の in vitro 実験系にて、FGF21 による NO の産生能を測定する。
2. **ネコを用いた in vivo の血流実験系にて、FGF21 を硝子体中に微量注入し、網膜循環への影響を測定する。**また、FGF21 の血中濃度の変化が、網膜循環にどのように影響するのか検討するため、糖尿病治療薬のメトホルミンが、血中 FGF21 濃度の増加作用も有している(Kim BioChem. Biophys. Res. Commun 2013)ことが報告されており、このメトホルミンを含んだ餌をネコに与え、**高 FGF21 血中濃度の状態での網膜循環を測定**する。さらに、我々が確立した高血糖負荷モデル(IOVS 2010)を使い、網膜血管内皮障害時での網膜循環への影響も確認する。

研究 2) FGF 受容体と klotho の網膜血管への作用

1. FGF21 だけでなく、その受容体である FGF21 受容体やその共受容体である klotho 自体の存在が重要とされているが、未だに網膜血管において確認されていなく、まず、今回、ブタ網膜摘出血管の in vitro 実験系にて、免疫染色を用い、**網膜血管における FGF 受容体や klotho の存在を確認する。**次に、ヒト網膜血管内皮細胞の in vitro 実験系にて、FGF 受容体や klotho に高血糖負荷を行い、FGF 受容体や klotho の発現が低下するか確認する。FGF 受容体や klotho の発現が低下すれば、高血糖負荷と同時に受容体発現低下の改善効果が報告されているインスリン抵抗性改善薬のピオグリタゾン投与し、発現の低下の回復効果を検討する。

研究 3) LY2405319(in vitro 及び in vivo 実験系)の検討

1. LY2405319 が FGF21 のアナログとして報告されており、まず、ブタ網膜摘出血管の in vitro 実験系にて、この LY2405319 の血管拡張作用を確認する。そこで網膜血管拡張が得られれば、血管内皮剥離モデル(研究業績 13)および各種阻害剤を用いその拡張のメカニズムを詳しく解明していく。
2. in vivo ネコ血流研究にて LY2405319 の網膜循環への影響を検討する。LY2405319 の

硝子体投与を行い、網膜循環への効果を確認する。さらに、研究2で高血糖負荷が FGF 受容体の発現を低下させれば、ネコに高血糖負荷を行い、受容体発現低下時の LY2405319 の効果を確認する。加えて、受容体発現低下の改善効果が報告されているインスリン改善薬のピオグリタゾンの網膜血管での受容体発現改善効果を確認するため、高血糖負荷時にピオグリタゾンを同時投与して、LY2405319 の網膜循環効果と同様の方法で測定する。さらに、LY2405319 にはアディポネクチン増加作用があり、LY2405319 を含んだ餌をネコに与え、高アディポネクチン血中濃度の状態での網膜循環を測定する。

平成29年度

研究1) 2型糖尿病患者における血中および硝子体中 FGF21 濃度測定と網膜循環との関連性について

網膜症患者では、血中の FGF21 濃度と重症度が関連しているとの報告があり、FGF21 が網膜症の発症・進展に關与している可能性がある。そこで、2型糖尿病患者における**網膜循環と血中および硝子体中の FGF21 濃度の関連**を検討する。網膜循環の評価には、レーザードップラー眼底血流計を用い、同時に血中の濃度も測定し関連を調べる。さらに、増殖糖尿病網膜症や糖尿病黄斑浮腫を有し、硝子体手術の適応となった患者を対象に、術中に硝子体液を一部採取し、硝子体内の FGF21 濃度を測定し、網膜循環との関連を調べる。

研究2) メトホルミンによる網膜症発症・進行の抑制効果における FGF21 の役割

FGF21 産生を促す薬剤は多数報告されているが、糖尿病患者で血中 FGF21 濃度を増加させる薬剤は、現在のところ、糖尿病薬の1つであるメトホルミンが報告されている。FGF21 血中濃度増加が網膜循環に与える影響を検討するため、2型糖尿病患者を対象に、メトホルミン内服前後の血中の FGF21 濃度の変化を測定し、同時に網膜循環の変化も測定する。さらに、FGF21 は脂肪細胞より、**アディポネクチンの産生を促すことが知られ、このアディポネクチンの網膜血管拡張作用**をブタ網膜摘出血管 in vitro 実験系にて、われわれは報告した(研究業績7)。また、網膜症発症の背景に網膜血流量の低下の關与が示唆されていることから、2型糖尿病患者において、産生された FGF21 により血中アディポネクチンが増加することにより、網膜循環改善効果と網膜症の発症・進展の抑制効果の関連を検討する。網膜循環の評価には、レーザードップラー眼底血流計を用いる。

平成30年度

2型糖尿病患者における FGF 受容体測定と網膜循環の関連について

糖尿病薬の GLP-1 作動薬の**リラグルチドがマウスの肝細胞において FGF 受容体 mRNA 発現を増やす**ことが報告されている。しかし、人の生体内の受容体の変化を知る事は難しい。最近、人の全血サンプルを遠心分離し、末梢血単核球細胞を用い受容体の mRNA 量を測定できるようになった。FGF 受容体の増加が網膜循環に与える影響を検討するため、2型糖尿病患者を対象に、リラグルチド内服前後の末梢血単核球細胞の FGF 受容体 mRNA の変化を測定し、同時に網膜循環の変化も測定する。この網膜循環の評価には、レーザードップラー眼底血流計を用いる。

4 . 研究成果

平成 28 年度

豚網膜血管の in vitro 実験系を用いて FGF21 の網膜血管への影響を確認したが、摘出血管に FGF21 を投与したが、FGF21 の有意な血管の拡張を認めなかった。また、ネコを用いた in vivo の実験系では、眼内に微量な FGF21 を投与したが、網膜循環に有意な変化を認めなかった。さらに、血中 FGF21 濃度を上昇させることが報告されているメトホルミンを含んだ餌をネコに与え、高血清 FGF21 濃度の状態での網膜循環を測定する予定だったが、メトホルミンを含んだ餌を食べず、FGF21 の濃度を上げた状態を作ることができなかった。

平成 29 年度以降

2 型糖尿病患者の血清 FGF21 濃度を測定し、さらにレーザードップラー血流計を用いて、網膜循環を測定した。血清の FGF21 濃度は、血管径はじめ血流速度、血流量どのパラメーターとも関連を認めなかった。硝子体手術の時に、硝子体サンプル採取して、FGF21 濃度を測定する研究をしていたが、十分な数の硝子体サンプルが期間内に集まらず、今後さらに検討を続けていく。

メトホルミン内服により、血中 FGF21 濃度の上昇が報告されているが、すでにメトホルミンを内服している患者は、眼科にも眼底検査などで、多くの患者が通院されていたが、新たにメトホルミンを内服する患者は、多くなく、メトホルミン前後での網膜循環の研究が十分にできなかった。ただ 2 型糖尿病患者で、メトホルミンを内服している群と内服していない群での網膜循環での比較はしたが、両群間に有意な差は認めなかった。

リラグルチド内服前後の末梢血単核球細胞の FGF 受容体 mRNA の変化を測定する予定であったが、新たにリラグルチド内服開始する患者もほとんどいなく、さらにリラグルチド内服している患者もあまりいなく、リラグルチド内服前後の受容体の変化を測定することができなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Omae T, Nagaoka T, Yoshida A	4. 巻 58
2. 論文標題 Effect of Circulating Omentin-1 on the Retinal Circulation in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Invest Ophthalmol Vis Sci	6. 最初と最後の頁 5086-5092
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1167	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 大前 恒明
2. 発表標題 Doppler OCT flowmeterで測定した健常人の網膜血流量
3. 学会等名 日本網膜硝子体学会総会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
研究 分 担 者	長岡 泰司 (Nagaoka Taiji) (00333691)	旭川医科大学・医学部・准教授 (10107)	