

令和 元年 6 月 12 日現在

機関番号：32651

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K16988

研究課題名（和文）糖尿病黄斑浮腫におけるミネラルコルチコイド受容体の役割の解明と新規治療の確立

研究課題名（英文）Elucidation of the role of mineralocorticoid receptor in diabetic macular edema and establishment of new treatment

研究代表者

林 毅（HAYASHI, TAKESHI）

東京慈恵会医科大学・医学部・助教

研究者番号：00534546

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000 円

研究成果の概要（和文）：近年、糖尿病の腎臓合併症では生体内の塩分保持機構に大切な働きをもつミネラルコルチコイド受容体（以下MR）という蛋白質の働きが病的に作用が増強し、腎臓障害の一因となっていることが判明してきた。糖尿病の網膜合併症の一つである黄斑浮腫でも、このMRの作用が増強し原因の一因となっている可能性を疑い、高血糖状態における網膜細胞のMRの増強の有無を確認した。

網膜の細胞を高濃度のブドウ糖濃度に処置すると、MRの作用の増強が確認され、仮説に一致した結果が得られた。MRを抑制する治療薬は腎臓障害の予防だけでなく、視力の低下の予防にも効果的かもしれない。

研究成果の学術的意義や社会的意義

糖尿病ではミネラルコルチコイド受容体（以下MR）の作用が増強していることが腎臓障害の一因となっているが、他の合併症にも関わっている可能性があった。糖尿病黄斑浮腫という網膜に水が貯まってしまう合併症は、糖尿病患者の視力低下の大きな要因であるが、この病態にMRが関わっていることを証明することで、MRの拮抗薬による予防という治療が可能となる。今回、世界で初めて糖尿病黄斑浮腫をモデルとした細胞実験で、MRの作用が高まっており、MRの拮抗薬により改善することが示された。

研究成果の概要（英文）：In recent years, in renal complications of diabetes, the function of the protein called mineralocorticoid receptor (hereinafter referred to as MR), which plays an important role in the salt retention mechanism in the body, has a pathologically enhanced action and contributes to kidney damage. It has been found. Even macular edema, which is one of the retinal complications of diabetes, was suspected of enhancing the effect of this MR and contributing to the cause, and confirmed the presence or absence of MR enhancement of retinal cells in hyperglycemic state.

Treatment of retinal cells with high concentrations of glucose confirmed the potentiation of the effects of MR, yielding hypothesized results. Therapeutics that suppress MR may be effective not only in preventing kidney damage but also in preventing vision loss.

研究分野：内分泌疾患 糖尿病

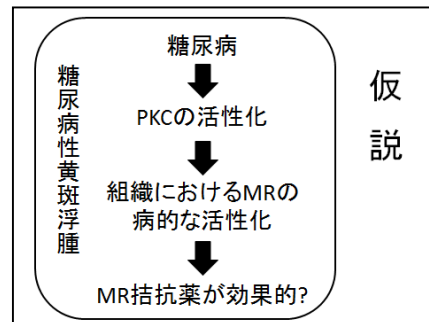
キーワード：黄斑浮腫 糖尿病 ミネラルコルチコイド受容体

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

アルドステロンの受容体であるミネラルコルチコイド受容体(以下、MR)が網膜に存在し、網膜における水分バランスに大きく寄与していることが近年報告された。特に中心性漿液性網脈絡膜症(CSC)ではMR拮抗薬が著効することが報告されている(Zhao M, JCI. 2012)。糖尿病では、MR拮抗薬が著明な降圧効果を来すことや腎保護効果を示すことから、その病態には組織におけるMRの病的な活性化が関与していると考えられているが、糖尿病網膜症、特に糖尿病黄斑浮腫(DME)を来した網膜でも、組織におけるMRの病的な活性化の存在が示唆される。

これまでに本研究者は、糖尿病腎症におけるPKCの活性化が、MR蛋白の病的活性化を引き起こすことを研究してきた(T. Hayashi, International Heart J. 2017)。またPKCは糖尿病網膜症の進行にも深く関わっていることがこれまで多く報告されている(Geraldes P. Circ Res. 2010)。そこで本研究者は、糖尿病によって引き起こされた網膜におけるPKCの活性化が、MRの活性化を引き起こし、網膜におけるNa貯留を来し浮腫が形成されるという仮説をたてた。すなわち本研究では、糖尿病黄斑浮腫におけるMR作用の活性化機序を解明する為、網膜細胞における高血糖によるMRの活性化の機序を明らかにすることを目的とした。



この研究の成果は、視力低下の大きな原因となっている黄斑浮腫が、内服による安価な治療ができるかもしれないという、極めて重要な位置づけにあると考えた。これまでの糖尿病黄斑浮腫に対する治療は、ステロイドや抗VEGF(Vascular Endothelial Growth Factor)薬の投与が行なわれているが、ステロイド投与は十分なエビデンスがなく、抗VEGF薬は効果的だが非常に高価である。ここでMR拮抗薬が効果的であることを示し、臨床で用いることができれば非常に有効な治療手段となることができる。

2. 研究の目的

糖尿病黄斑浮腫における網膜のミネラルコルチコイド受容体の働きを解明し、その治療におけるMR拮抗薬の有効性を証明する。

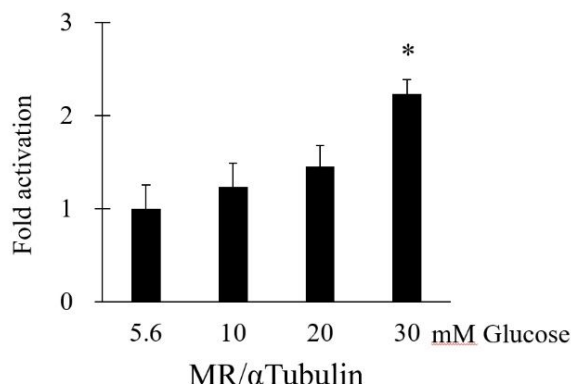
3. 研究の方法

ヒト網膜のミュラーグリア細胞由来の自然発生不死化株であるMIO-M1細胞を用いたin vitro実験をおこなった。高血糖環境の再現として、培地のグルコース濃度を540mg/dlとした。各蛋白の発現量の確認として、Western blot法を用いた。MR及びMR応答mRNAの検出に定量RT-PCR法を用いた。MR転写活性の評価として、MR結合配列に蛍光蛋白レポーターを導入したレポーターアッセイを用いた。MR拮抗薬として、エプレレノンを用いた。細胞面積の評価として、細胞蛍光顕微鏡(KEYENCE BZ-X800)を用いた。

4. 研究成果

本研究の成果は今後投稿となるため、部分的な記載に留める。

MIO-M1細胞を下記の濃度で高Glucose刺激した場合のMRタンパク量をウエスタンブロット法で検出した結果、濃度依存性にMR蛋白は増加していた。



高 Glucose 刺激による MR 転写活性は増加し、MR 拮抗薬で抑制された。
高 Glucose 刺激により MR 応答性の mRNA は増加し、MR 拮抗薬により抑制された。
高 Glucose 刺激によりミュラー細胞の腫脹し、MR 拮抗薬により抑制された。
VEGF 刺激による MR タンパクおよび mRNA の変化は見られなかった。

以上に結果より、DME に病態においても、MR の働きが浮腫の形成に関わっている可能性が考えられた。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)
なし

〔学会発表〕(計 3 件)
大橋謙之亮, 林 毅, 宇都宮一典.
High glucose stimulates mineralocorticoid receptor activity of retinal Muller glia cell.
20th European Congress of Endocrinology (国際学会). 2018 年.

大橋謙之亮, 林 毅, 宇都宮一典.
糖尿病黄斑浮腫における網膜ミュラー細胞の Mineralocorticoid Receptor の役割.
第 61 回 日本糖尿病学会年次学術集会. 2018 年.

大橋謙之亮, 林 毅, 宇都宮一典.
高血糖は網膜ミュラー細胞の Mineralocorticoid Receptor シグナルを活性化する.
第 24 回 日本糖尿病眼学会総会. 2018 年.

〔図書〕(計 0 件)

〔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 :
国内外の別 :

取得状況 (計 0 件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
取得年 :
国内外の別 :

〔その他〕
ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究分担者
研究分担者氏名 : なし
ローマ字氏名 :
所属研究機関名 :
部局名 :
職名 :

研究者番号（８桁）:

(2)研究協力者

研究協力者氏名：大橋 謙之亮

ローマ字氏名：Ohashi Kennosuke

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。