

令和 4 年 6 月 8 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09958

研究課題名(和文) 抗炎症物質Gnetinによる糖尿病網膜症への新規治療介入の解析

研究課題名(英文) The effect of anti-inflammatory agent, Gnetin in diabetic retinopathy

研究代表者

久保田 俊介 (KUBOTA, Shunsuke)

慶應義塾大学・政策・メディア研究科(藤沢)・特任准教授

研究者番号：90406041

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：糖尿病モデルマウスに対しresveratrol とGnetinを内服投与させ、網膜血管炎症の評価のために、網膜血管接着白血球数をCon Aレクチンによる灌流ラベル法を施行した。接着白血球数を測定したところ、両者とも接着数は有意に減少したが、両群間に差を認めなかった。Gnetinに糖尿病網膜炎症を抑制する効果は認められたが、resveratrolとの効果に差を認めず、優位性を証明することができなかった。今後、Gnetinの投与量などを検討し優位性が有無につき検討を進めていく予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

resveratrolの二量体であるGnetinにはresveratrolより強い生理活性効果が多数報告されているが、いまだ眼に対する効果の報告は無い。本研究では、糖尿病モデルマウスにGnetinを投与して、Gnetinの糖尿病網膜に与える効果をresveratrolと比較し解析した。その結果、resveratrolに比べてGnetinは抗炎症作用において優位性は認めなかったものの非劣性であることは分かった。Gnetinもresveratrolのようにサプリメントとして眼疾患に対する効果が期待できる結果となった。

研究成果の概要(英文)：C57BL/6 mice with streptozotocin-induced diabetes were treated with resveratrol or Gnetin orally. After that, the retinal vasculature and adherent leukocytes were imaged by perfusion labeling with fluorescein-isothiocyanate FITC-coupled concanavalin A lectin (Vector, Burlingame, CA). The total number of adherent leukocytes per retina was no change between resveratrol-treated and Gnetin-treated in the diabetic mice. In the future study, we will analyze different amount of Gnetin-treat in the diabetic mice.

研究分野：網膜血管

キーワード：糖尿病網膜症 抗炎症作用 Gnetin

### 1. 研究開始当初の背景

糖尿病網膜症は近年の生活習慣病や食生活の変化に伴う糖尿病患者に比例して増加し、さらに高齢化による罹患期間の長期化に伴って重症患者が増加することが見込まれる。糖尿病網膜症における視力低下の主要な原因は血管透過性亢進によっておこる黄斑浮腫および線維血管増殖膜によっておこる牽引性網膜剥離であるが、細胞生物学的手法により近年その分子メカニズムが明らかになってきた。すなわち糖尿病網膜症の剖検眼では網膜血管での intercellular adhesion molecule-1(ICAM-1)の発現亢進と白血球浸潤がみられること (McLeod et al. Am J Pathol. 1995)、実験的糖尿病網膜では ICAM-1 依存的な白血球浸潤と血管透過性亢進が起こっており、それらは VEGF や Nuclear Factor B (NF- B)を介すること (Ishida et al. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2003)、ICAM-1、VEGF によって誘導された白血球が病理的血管新生を引き起こすことなどである (Ishida et al. J Exp Med. 2003)。これらの知見から、現在では糖尿病網膜症の病態メカニズムは ICAM-1、VEGF、NF- B などの炎症関連分子の活性化に伴う炎症であるという事が広く認識されている。従って炎症を制御すれば糖尿病網膜症の病態をコントロールできると考えられる。

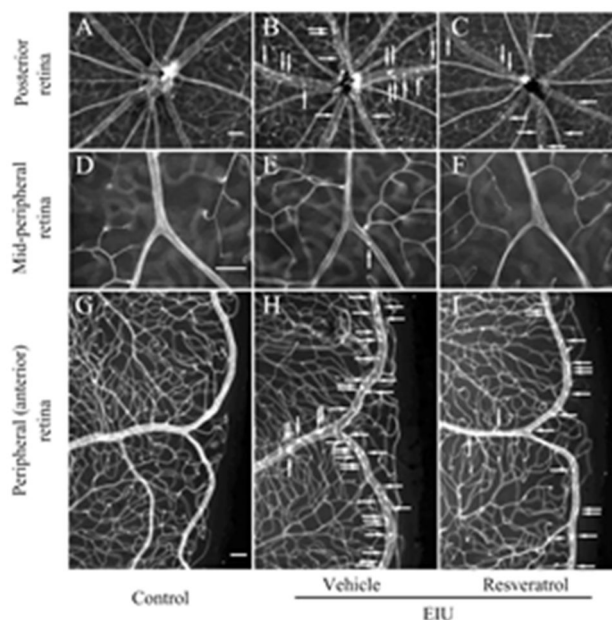
本研究で使用する Gnetin はポリフェノールに分類される resveratrol の二量体である。東南アジア(特にインドネシア)に自生するグネモン(メリンジョ)という植物の種子や実に多く含まれている。インドネシア全体の平均寿命は 66-69 歳であるのに対し、インドネシアのメリンジョを特に多く摂取する地域の平均寿命が 71-75 歳と高いことから注目された植物である。その後メリンジョの有効成分が Gnetin であることがわかり、多くの研究が行われた。その結果、Gnetin の生理活性として抗酸化作用(Kato et al. J Agric Food Chem 2009)、抗新生血管作用(Kunimasa et al. Mol Nutr Food Res 2009)、抗癌増殖作用(Espinoza et al. Cancer Letters 2017)、抗アミロイド 作用(Seino et al. Biomedical Research 2018)、抗メタボリックシンドローム作用(Ikuta et al. Biosci Biotechnol Biochem 2015)が報告された。これらの報告のうち、抗癌増殖作用、抗アミロイド 作用においては resveratrol との効果の比較を行っており、Gnetin の方が resveratrol に比べて有意に生理活性効果が高いことが報告された。これまでに申請者は、糖尿病モデルマウスを用いて、網膜炎に伴い誘導される網膜血管への白血球接着が、resveratrol 投与により抑制され、かつ糖尿病により上昇する ICAM-1、VEGF、NF- B が、resveratrol 投与により抑制されることも報告した (Kubota S et al. IOVS 2011)。炎症が病態の主因である糖尿病網膜症に対し、Gnetin は resveratrol よりも有意に病態をコントロールすることができると考えられた。

### 2. 研究の目的

resveratrol が糖尿病網膜症に対し有効であることはすでに我々が報告しているが(Kubota S et al. IOVS 2011)、Gnetin の糖尿病網膜症への効果はいまだ報告されていない。本研究は糖尿病モデルマウスに Gnetin を投与して Gnetin の糖尿病網膜に与える効果を resveratrol と比較し解析することにより Gnetin の糖尿病網膜症に対する効果を明らかにすることであり、Gnetin の生理活性効果を利用する糖尿病網膜症に対する新たな治療法の開発を目指すことを目的とした。

### 3. 研究の方法

糖尿病モデルマウスの作成を行った。マウスにストレプトゾトシン (STZ) を腹腔内注射すると、STZ が膵臓に取り込まれ膵β細胞を破壊するため高度の高血糖が誘導され、糖尿病網膜症でみられる網膜炎が誘導された。網膜血管炎症の評価のために、網膜血管接着白血球数を Con A レクチンによる灌流ラベル法を施行した。Con A レクチンは血管内皮細胞および白血球の細胞膜表面の糖鎖に結合するため、本法により血管系と血管内壁に接着した白血球の両者が同時に描出できた。撮像は蛍光顕微鏡 IX71TM (オリンパス)を用いた。糖尿病モデルマウスに対し resveratrol と Gnetin を内服投与させ、接着白血球数を測定した。(右図は別実験・同等の方法による結果)



#### 4．研究成果

本研究では、糖尿病モデルマウスに Gnetin を投与して、Gnetin の糖尿病網膜に与える効果を resveratrol と比較し解析した。その結果、resveratrol に比べて Gnetin は抗炎症作用において優位性は認めなかったものの非劣性であることは分かった。Gnetin も resveratrol のようにサプリメントとして眼疾患に対する効果が期待できる結果となった。今後、Gnetin の投与量などを検討し優位性の有無につき検討を進めていく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

|       | 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号)                        | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号)                         | 備考 |
|-------|--|---|----|
| 研究分担者 | 久保田 みゆき<br><br>(KUBOTA Miyuki)<br><br>(80468511) | 慶應義塾大学・政策・メディア研究科(藤沢)・特任講師<br><br><br>(32612) |    |
| 研究分担者 | 小澤 洋子<br><br>(OZAWA Yoko)<br><br>(90265885)      | 慶應義塾大学・医学部(信濃町)・特任准教授<br><br><br>(32612)      |    |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|         |         |