

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 19 日現在

機関番号：10107

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25670724

研究課題名(和文)ガス分子による新しい網膜循環調節機構の解明

研究課題名(英文)The role of gas molecules in the regulation of retinal blood flow

研究代表者

長岡 泰司(NAGAOKA, Taiji)

旭川医科大学・医学部・准教授

研究者番号：00333691

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、一酸化窒素(NO)、一酸化炭素(CO)、硫化水素(H₂S)など低分子ガスの網膜循環調節への役割について評価した。NOが非常に重要な調節因子であることが判明した反面、COおよびH₂Sの調節因子としての役割はそれほど大きくないことが示唆された。今後は、COおよびH₂Sのより効率のよいドナーを用いてさらに詳しい検討が必要であると考えられる。

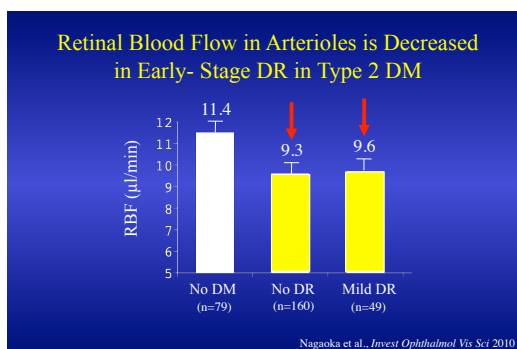
研究成果の概要(英文)：In this study, we examined the roles of NO, CO, and H₂S in the regulation of retinal blood flow. Our data demonstrate that NO plays an important role in the regulation of retinal blood flow. In contrast, we could not find that CO and H₂S have any influences on the regulation of retinal blood flow. Further study is needed to examine the detailed mechanisms of CO and H₂S in retinal blood flow using more powerful donors of CO and H₂S.

研究分野：眼科

キーワード：網膜循環 血管内皮 一酸化窒素

1. 研究開始当初の背景

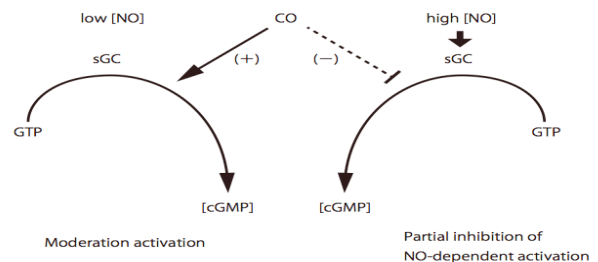
網膜循環は脳や冠循環と同じく血流の自己調節機構が存在し、組織の需要に応じて必要な血流を供給している。特に網膜は生体内で酸素消費量が最大の臓器であり、網膜循環の障害は組織低酸素に直結し、網膜機能障害を引き起こす。我々は2型糖尿病患者を対象とした臨床研究で、糖尿病網膜症では網膜症発症前からすでに網膜血流が低下していることを見いだした(2010, IOVS)。



このことから、網膜血流低下が糖尿病網膜症の発症に関与しており、その血流低下を改善することが網膜症発症予防につながると考え、脂質改善薬シンバスタチン(2007, IOVS)およびフェノフィブラート(2012, IOVS)、インスリン抵抗改善薬ピオグリタゾン(2011, IOVS)、さらには赤ワイン含有ポリフェノール・レスベラトロール(2008, IOVS)が網膜血管拡張作用を有し、網膜血流低下を改善させる効果が期待されることを明らかにした。これらの薬剤の網膜血管拡張には、すべて血管内皮細胞からの一酸化窒素(NO)の産生を介していることが明らかとなり、網膜循環調節には血管内皮から産生されるガス分子であるNOが重要な役割を果たすことが明らかとなった。

しかしながら、糖尿病や高血圧、動脈硬化などで血管障害が進行すると血管内皮機能が

障害され、NO産生能も低下する。前述の薬剤も、網膜血管障害が進行してすでに血管内皮機能が重度に障害されている場合には、網膜循環改善作用が有効ではない可能性があり、NO以外の血管拡張物質に着目した新たな治療法の開発が期待される。近年の研究成果より、生体高分子の間に浸透・結合し、その機能変化をもたらす重要な情報伝達物質としてのガス分子の生物作用のメカニズムが明らかにされつつある。NO以外にも、一酸化炭素(CO)や硫化水素(H₂S)といったガス分子が生体内で産生され、生体恒常性維持に重要な役割を担っていることが、脳循環や腸間膜循環などの研究から明らかとなっている。一方、網膜循環においては、我々研究成果より一酸化窒素(NO)が血管拡張物質として網膜循環調節に重要な役割を果たしていることが明らかとなったが、NO以外のガス分子であるCOやH₂Sの網膜循環への作用は検討されていない。また、これらのガス分子が生体において統合的にどのように網膜微小循環調節を行っているかのメカニズムも未解決である。



2. 研究の目的

これまでの我々の研究の中心であった重要な網膜血管拡張因子であるNOに加え、COおよびH₂Sなどのガス分子が網膜循環調節に関与するかどうかを検討し、新たな網膜硝子体疾患治療法の確立につなげたい。そのためには、世界でも我々

しか出来ないネコ in vivo 実験系と、国内で唯一稼働しているブタ ex vivo 摘出血管実験系を用い、ガス分子の微小循環研究で世界をリードする慶応大学医化学教室との共同研究によって、これまでの我々の研究の中心であった重要な網膜血管拡張因子である NO に加え、CO および H₂S の網膜循環における役割を、重要な網膜血管拡張因子である NO との相互作用に着目して解析し、糖尿病網膜症などの眼疾患の新しい治療法の開発に結びつけることである。

3. 研究の方法

1) ex vivo 摘出血管実験にて、網膜血管拡張作用を有する薬剤として、プロスタサイクリン誘導体ベラプロストの網膜血管への作用を検討した。さらに NO 合成酵素阻害剤の投与により拡張作用が減弱するかどうかを検討する。

2) CO および H₂S 供与体である CORM-2 と NaHS の網膜血管への直接作用を検討する。

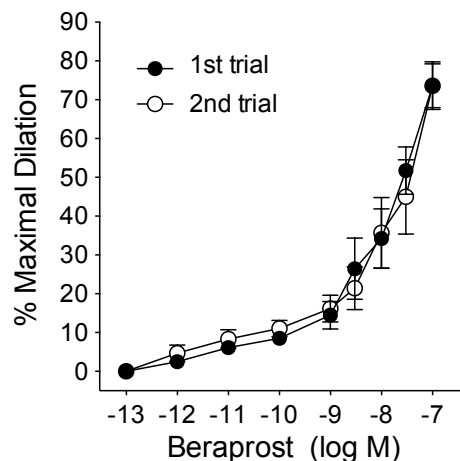
4. 研究成果

1) プロスタサイクリン誘導体ベラプロストの網膜血管への作用を検討した。ベラプロストは容量依存性 (0.1 pM-0.1 μM) に摘出網膜動脈を拡張させた (図1)。この拡張反応はプロスタサイクリン受容体 (IP 受容体) 阻害剤で完全に抑制された。また、血管内皮剥離により拡張反応は半減した。さらに、NO 合成酵素阻害剤 L-NAME を投与すると同様に拡張反応は半減した。また、カリウムチャネル阻害剤 TEA と ATP 依存性カリウムチャネル抑制剤グリベクラミド投与によってもさらに拡張反応は減弱した。

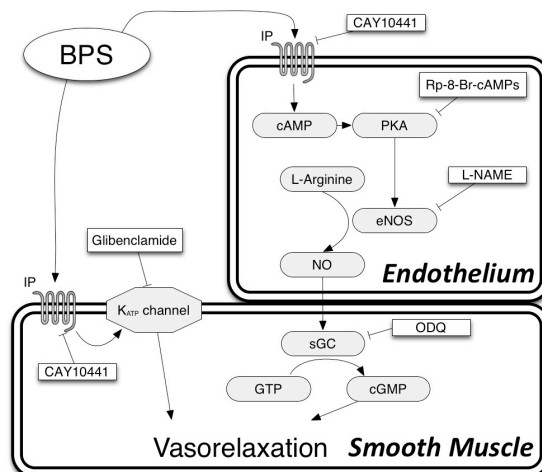
以上の結果から、ベラプロストは NO 依存性

に網膜血管を拡張させることが明らかとなった。図2に詳細な検討結果を示す。ベラプロストはすでに臨床で用いられている薬剤であり、眼科領域への応用が期待される。

< 図 1 >



< 図 2 >



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2件)

1. Ono S, Nagaoka T*, Omae T, Tanano I, Kamiya T, Otani S, Ishibazawa A, Yoshida A. Beraprost sodium, a stable prostacyclin analogue, elicits dilation of isolated porcine retinal arterioles: roles of eNOS and potassium channels. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 55:5752-5759, 2014. doi:

10.1167/iov.14-14902.

2. Kamiya T, Nagaoka T*, Omae T, Yoshioka T, Ono S, Tanano I, Yoshida A. Role of Ca^{2+} -Dependent and Ca^{2+} -Sensitive Mechanisms in Sphingosine 1-Phosphate-Induced Constriction of Isolated Porcine Retinal Arterioles in Vitro. *Exp Eye Res.* 121:94-101, 2014. doi: 10.1016/j.exer.2014.01.011.

[学会発表] (計 4 件)

1. Kamiya T, Nagaoka T, Omae T, Ono S, Otani S, Yoshida A. Benzo(e)pyrene, a toxic element in cigarette smoke, inhibits endothelial-dependent nitric oxide-mediated dilation of porcine retinal arterioles via enhanced superoxide production. 2014.
2. Nagaoka T, Tani T, Ishibazawa A, Sogawa K, Nakabayashi S, Omae T, Yoshida A. Evaluation of Retinal Blood Flow Velocity Profiles Using a Newly Developed Doppler Fourier-Domain Optical Coherence Tomography Instruments in elder subjects. 2014.
3. Omae T, Nagaoka T, Yoshida A. Retinal reperfusion following panretinal photocoagulation for diabetic retinopathy. 2014.
4. Ono S, Nagaoka T, Omae T, Kamiya T, Otani S, Yoshida A. Dipeptidyl peptidase-4 impairs endothelial-dependent relaxation of porcine retinal arterioles. 2014.

いずれも、ARVO meeting (2014. 5 月、アメリカ)

国内外の別： 国外

[その他]

ホームページ等

http://www.asahikawa-med.ac.jp/dept/mc/ophta/member/nagaoka_t.html

6. 研究組織

(1)研究代表者

長岡泰司 (NAGAOKA, Taiji)

旭川医科大学・医学部・准教授

研究者番号：00333691

(2)研究分担者

大野晋治 (ONO, Shinji)

旭川医科大学・大学病院・医員

研究者番号：50571890

善岡尊文 (YOSHIOKA, Takafumi)

旭川医科大学・大学病院・医員

研究者番号：20548854

大谷真一 (OTANI, Shinichi)

旭川医科大学・大学病院・医員

研究者番号：70548841