

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 14 日現在

機関番号：13401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26861440

研究課題名(和文) サイトカインをバイオマーカーにした新たな糖尿病黄斑浮腫評価法の創出と治療戦略

研究課題名(英文) Creation of a novel evaluating system with diabetic macular edema using cytokines as biomarker, and treatment strategy

研究代表者

松村 健大 (MATSUMURA, Takehiro)

福井大学・学術研究院医学系部門・助教

研究者番号：40529369

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：糖尿病黄斑浮腫など糖尿病眼合併症の病態には、炎症など種々のサイトカインが重要な役割を果たしているが、これらの発現レベルを評価するには前房水や硝子体液を侵襲的に採取するしかなかった。本研究では非侵襲かつ容易に採取できる涙液を用いてサイトカイン量を計測することで、病勢のモニタリングを行うことができる可能性に着目し検討を行った。その結果、糖尿病黄斑浮腫の患者涙液中で数種の炎症性サイトカイン濃度が上昇していることを見出した。また増殖糖尿病網膜症患者の涙液で、MMP濃度が高いことが明らかとなった。さらに硝子体術後の涙液中MMP-10値が高いことが、硝子体術後の角膜上皮障害に関連していることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Various kinds of cytokines are playing important roles in the pathogenesis of diabetes related eye complications including diabetic macular edema. However, to evaluate these cytokines expression levels, we have to collect aqueous humor and vitreous body invasively. In this study, we evaluated that the diabetes patients' tears had the possibility, which we could monitor the condition of patients by measuring cytokines in the tears. As the result, several kinds of inflammatory cytokines levels increased in the patient' tears with diabetic macular edema. In addition, it was found that the MMPs levels were high in the tears of patients with proliferative diabetic retinopathy after vitrectomy. Furthermore, it was suggested that aberrant levels of MMP-10 in tears may cause corneal epithelial disorders after vitrectomy.

研究分野：眼科学

キーワード：糖尿病眼合併症 涙液 糖尿病角膜症 サイトカイン

## 1. 研究開始当初の背景

糖尿病黄斑浮腫など糖尿病眼合併症の病態には、炎症など種々のサイトカインが重要な役割を果たしているが、これらの発現レベルを評価するには前房水や硝子体液を侵襲的に採取するしかなかった。我々は、糖尿病患者の涙液中において種々のサイトカインが上昇していることを見いだした。これは涙液に眼環境を反映するバイオマーカーとして利用可能なデータが多数含まれていることを示唆している。

現在、実際の臨床においてこのようなサイトカインを標的とした薬物の投与を決定する事項は、検眼鏡による評価や画像解析が主であるが、これらの検査はいずれも種々のサイトカインが引き起こした結果を評価しているに過ぎず、原因となっているサイトカインの眼内レベルを測定することはできない。そのため、現在の検査法では治療の遅れにより生じる不可逆的な視力低下を防ぐことはできない。この問題を解決するには、原因となるサイトカインの量を正確に計測する必要があるが、現時点では前房水や硝子体を試料とするしか方法がなく、患者に対する侵襲やリスクが高いため、モニタリングとしては有効な方法とはいえない。そこで我々は、非侵襲かつ容易に採取できる涙液を用いてサイトカイン量を計測することで、病勢のモニタリングを行うことができる可能性に着目し、検討を行うこととした。

## 2. 研究の目的

本研究では、非侵襲的に採取が可能な涙液を試料としてサイトカイン濃度を測定、モニタリングすることで、糖尿病眼合併症の新たな病態解析、治療戦略の確立を試みる。本研究を通して、涙液のサイトカインが病態を反映していることが明らかにされれば、涙液を用いた非侵襲的な眼内サイトカイン発現レベルのモニタリングという画期的なシステ

ムが確立されることとなる。

## 3. 研究の方法

糖尿病黄斑浮腫など糖尿病眼合併症と関連性のあるサイトカインを明らかにするために、糖尿病網膜症を有する患者の涙液を採取し、過去の報告で炎症や血管新生に関連するとされるサイトカインの測定を網羅的に行う。解析には、患者の患眼および健常者の健常眼から採取した涙液をサンプルとして用いる。涙液中のサイトカインは multiplex bead analysis にて定量し、健常者から採取した涙液をコントロールとして、糖尿病患者のものと比較検討を行う。

疾患特異性の高いサイトカインを見いだした後に、その発現量と病勢の程度との相関性について評価を行う。これにより、どのサイトカインがどのような病態と関連性が高く、臨床的に実用性があるかを明らかにする。

## 4. 研究成果

糖尿病網膜症患者の涙液を採取し、涙液中のサイトカイン濃度を測定したところ、糖尿病黄斑浮腫を有する患者涙液中で、硝子体液や前房水で上昇することが報告されている数種の炎症性サイトカイン濃度が上昇していることを見いだした。特に増殖糖尿病網膜症患者の涙液中では、マトリックスメタロプロテアーゼ (MMP) の濃度が、健常者と比較して高値であることが明らかとなった。

MMP は角膜上皮および実質において細胞外マトリックス分解などの作用をもち、角膜創傷治癒に関与していることが知られている。一方、糖尿病患者の角膜では特に MMP-10 の発現が亢進している事が報告されている。増殖糖尿病網膜症に対する硝子体手術後には、しばしば角膜上皮障害が問題となることがあり、本研究ではさらに硝子体手術前後で涙液中に含まれる MMP-2、-9、-10 を定量し、経時的な変化と術後の角膜上皮障害との関

連について検討を行った。その結果、硝子体手術の翌日にはこれらの値が一過性に上昇し、糖尿病患者群では健常者群と比較して有意に高いことが明らかとなった。中でも MMP-10 のみ手術 1 週間後においても、糖尿病患者群の方で有意に高値であった。

また硝子体手術後の角膜上皮障害は糖尿病患者群でのみ観察され、それらの症例では角膜上皮障害がなかった例と比較して涙液中 MMP-10 の値が有意に高値であった。これらの結果から、術後の涙液中 MMP-10 値が高いことが、硝子体術後の角膜上皮障害に関連していることが示唆された。

## 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 12 件)

Matsumura T, Takamura Y, Tomomatsu T, Arimura S, Gozawa M, Kobori A, Inatani M.: Comparison of the inverted internal limiting membrane flap technique and the internal limiting membrane peeling for macular hole with retinal detachment. PLoS One 11(10):e0165068, 2016. 査読有. DOI: 10.1371/journal.pone.0165068.

Arimura S, Takamura Y, Miyake S, Gozawa M, Iwasaki K, Tomomatsu T, Matsumura T, Inatani M.: The effect of triamcinolone acetonide or bevacizumab on the levels of proinflammatory cytokines after retinal laser photocoagulation in pigmented rabbits. Exp. Eye Res. 149:1-7, 2016. 査読有. DOI: 10.1016/j.exer.2016.06.004.

Arimura S, Takihara Y, Miyake S, Iwasaki K, Gozawa M, Matsumura T, Tomomatsu T, Takamura Y, Inatani M.: Randomized clinical trial for early postoperative complications of

Ex-PRESS implantation versus trabeculectomy: Complications Postoperatively of Ex-PRESS versus Trabeculectomy Study (CPETS). Sci. Rep. 6:26080, 2016. 査読有. DOI: 10.1038/srep26080.

Matsumura T, Takamura Y, Tomomatsu T, Arimura S, Gozawa M, Takihara Y, Inatani M.: Changes in matrix metalloproteinases in diabetes patients' tears after vitrectomy and the relationship with corneal epithelial disorder. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 56(6):3559-3564, 2015. 査読有. DOI: 10.1167/iovs.15-16489.

Takamura Y, Tomomatsu T, Matsumura T, Takihara Y, Kozai S, Arimura S, Yokota S, Inatani M.: Vitreous and aqueous concentrations of brimonidine following topical application of brimonidine tartrate 0.1% ophthalmic solution in humans. J. Ocul. Pharmacol. Ther. 31(5):282-285, 2015. 査読有. doi: 10.1089/jop.2015.0003.

Takamura Y, Tomomatsu T, Matsumura T, Arimura S, Gozawa M, Takihara Y, Inatani M.: Correlation between central retinal thickness after successful macular hole surgery and visual outcome. Jpn. J. Ophthalmol. 59(6):394-400, 2015. 査読有. DOI: 10.1007/s10384-015-0406-0.

Arimura S, Takamura Y, Takihara Y, Matsumura T, Tomomatsu T, Inatani M.: Determinants of anterior chamber angle narrowing after mydriasis in the patients with cataract. Graefes. Arch. Clin. Exp. Ophthalmol. 253(2):307-312, 2015. 査読有. DOI:

10.1007/s00417-014-2817-x.  
Takamura Y, Tomomatsu T, Yokota S, Matsumura T, Takihara Y, Inatani M.: Large capsulorhexis with implantation of a 7.0 mm optic intraocular lens during cataract surgery in patients with diabetes mellitus. J. Cataract Refract. Surg. 40(11):1850-1856, 2014. 査読有. DOI:  
10.1016/j.jcrs.2014.02.039.  
Takamura Y, Tomomatsu T, Matsumura T, Arimura S, Gozawa M, Takihara Y, Inatani M.: The effect of photocoagulation in ischemic areas to prevent recurrence of diabetic macular edema after intravitreal bevacizumab injection. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 55(8):4741-4746, 2014. 査読有. DOI:  
10.1167/iovs.14-14682.  
Kanno M, Yazawa T, Kawabe S, Imamichi Y, Usami Y, Ju Y, Matsumura T, Mizutani T, Fujieda S, Miyamoto K.: Sex-determining region Y-box 2 and GA-binding proteins regulate the transcription of liver receptor homolog-1 in early embryonic cells. Biochim. Biophys. Acta. 1839(5):406-414, 2014. 査読有. DOI:  
10.1016/j.bbagr.2014.03.016.  
Mizutani T, Ju Y, Imamichi Y, Osaki T, Yazawa T, Kawabe S, Ishikane S, Matsumura T, Kanno M, Kamiki Y, Kimura K, Minamino N, Miyamoto K.: C/EBP (CCAAT/enhancer-binding protein ) mediates progesterone production through transcriptional regulation in co-operation with SF-1 (steroidogenic factor-1). Biochem. J. 460(3):459-471, 2014. 査読有. DOI:

10.1042/BJ20131522.  
Imamichi Y, Mizutani T, Ju Y, Matsumura T, Kawabe S, Kanno M, Yazawa T, Miyamoto K.: Transcriptional regulation of human ferredoxin reductase through an intronic enhancer in steroidogenic cells. Biochim. Biophys. Acta. 1839(1):33-42, 2014. 査読有. DOI:  
10.1016/j.bbagr.2013.11.005.

〔学会発表〕(計 22 件)

Matsumura T, Takamura Y, Tomomatsu T, Takihara Y, Inatani M.: Changes of matrix metalloproteinases in tears of patients with diabetes after vitrectomy, and relationship with corneal epithelial disorder. The Annual Meeting of the Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO) Denver, CO, USA, May 3-7, 2015  
松村健大, 高村佳弘, 友松威, 瀧原祐史, 稲谷大: 硝子体手術後の涙液中マトリックスメタロプロテアーゼの変化と角膜上皮障害の検討. 第 20 回日本糖尿病眼学会総会. 2015 年 3 月 6-8 日, ソラシティカンファレンスセンター(東京都千代田区)  
松村健大: 網膜シンポジウム. 糖尿病と硝子体術後角膜障害. 第 60 回福井県眼科集談会. 2015 年 2 月 7 日, 福井商工会議所(福井県福井市)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

松村 健大 (MATSUMURA, Takehiro)  
福井大学・学術研究院医学系部門・助教  
研究者番号: 4 0 5 2 9 3 6 9