

平成 29 年 5 月 25 日現在

機関番号：32713

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K20291

研究課題名(和文) PPAR を介する糖尿病網膜症抑制メカニズムの解明

研究課題名(英文) Examination of PPAR alpha dependent mechanism for diabetic retinopathy

研究代表者

塩野 陽 (shiono, akira)

聖マリアンナ医科大学・医学部・助教

研究者番号：20737598

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：マイクロアレイとChip-シーケンス法を用いたゲノムワイドな解析結果から、ヒト血管内皮細胞において、PPAR α リガンドを投与することにより、炎症関連遺伝子の発現が抑制されること、抗炎症作用を持つトロンボモジュリンの発現が亢進すること、トロンボモジュリンがPPAR α の直接のターゲット遺伝子であることがわかった。動物実験にて、PPAR α リガンドの内服により、糖尿病誘発ラットで亢進する炎症関連たんぱく質の発現が抑制され、血管への単球接着がトロンボモジュリン依存的に抑制されることがわかった。これらの事から、PPAR α 活性化による網膜の抗炎症作用は、トロンボモジュリンの発現亢進を介している事がわかった。

研究成果の概要(英文)：Genome-wide analysis using microarray and Chip-sequence showed that the PPAR α activation suppresses the inflammatory genes expression, and increases thrombomodulin expression in vascular endothelial cells. And we showed that thrombomodulin is PPAR α directed target gene by Chip-sequence. In vivo study, PPAR α ligands suppressed inflammatory genes expression in retina and monocyte adhesion in retinal vessels thrombomodulin dependent manner in streptozotocin induced diabetes mellitus rat. These results suggested the anti-inflammatory effect of PPAR α activation through the thrombomodulin expression in retina.

研究分野：眼科学

キーワード：PPAR トロンボモジュリン 糖尿病網膜症

1. 研究開始当初の背景

糖尿病網膜症は日本において中途失明原因第二位の疾患であり、病期に関わらず発症する黄斑症は失明には至らなくとも、重大な視力障害をきたす。また、失明原因の上位にある加齢黄斑変性や緑内障と比べ若い年齢で発症することも少なくないことから、社会的・経済的にも重要な疾患である。

糖尿病網膜症は血管障害によって生じる血管透過性亢進、血管閉塞、そして網膜虚血によって生じる血管増殖へと進行していく。視力障害の直接の原因は血管透過性亢進による黄斑症と、血管増殖の結果生じる出血、そして線維血管膜の牽引によって起こる網膜剥離であるが、その分子メカニズムとして VEGF が主要な役割をしていることがわかっており、現在 VEGF 阻害薬が実用化され臨床でも多く使用されている。しかしながらその効果は一時的であり、さらに VEGF 阻害薬の効かない症例も多く存在する。その原因として糖尿病網膜症はエリスロポイエチン (Wanatabe D, et al N Engl J Med 2005; 2005:353:782-92) やアンジオポエチン 2 (Oh H, et al J Biol Chem 1999; 274:15732-15793) などの様々な分子が関与する多因子疾患であることが考えられる。VEGF 阻害薬の作用が一時的であり、効果の得られない症例がある以上、VEGF 以外をターゲットとした治療法の開発が必要である。

2. 研究の目的

近年 FIELD 試験にて核内受容体 PPAR のリガンドであるフェノフィブラートに糖尿病網膜症の進行抑制効果があることが示された。これにより PPAR が糖尿病網膜症を抑制する分子を制御していることが予想された。本研究では、PPAR の新規リガンドである K-877 の糖尿病モデルマウスにおける作用を検討するとともに、血管内皮細胞を用いて、ゲノムワイドな解析方法を用いて、メカニズムの解析を行う。VEGF 阻害薬とは全く異なるメカニズムからのアプローチにより、新規治療法の開発を目指す。

3. 研究の方法

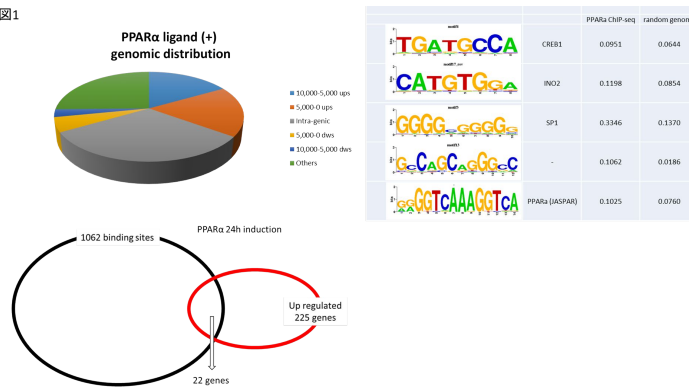
1) 糖尿病網膜症は血管が障害される疾患であることから、PPAR の血管への作用を解明するために、HUVEC (ヒト臍帯静脈血管内皮細胞) を用いて、マイクロアレイ、Chip-シーケンス法を用いてゲノムワイドな解析を行った。

2) ストレプトゾトシン誘発糖尿病ラットを用いて、PPAR リガンド内服によって網膜における抗炎症作用がみられるか、ウエスタンブロット、単球接着 assay を用いて検討を行った。

4. 研究成果

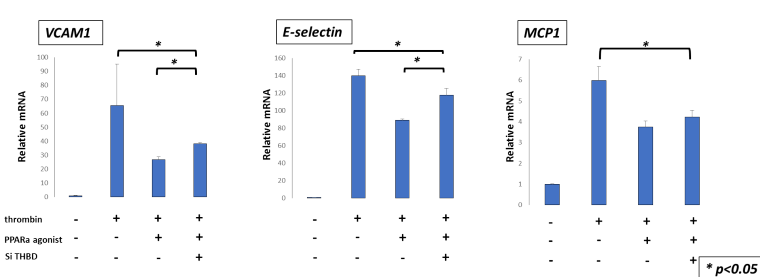
1) マイクロアレイ、Chip-シーケンス (図 1) を用いたゲノムワイドな解析から、PPAR が活性化されることにより、血管内皮細胞において炎症関連遺伝子が抑制されることがわかった。また、抗炎症作用をもつトロンボ

図1



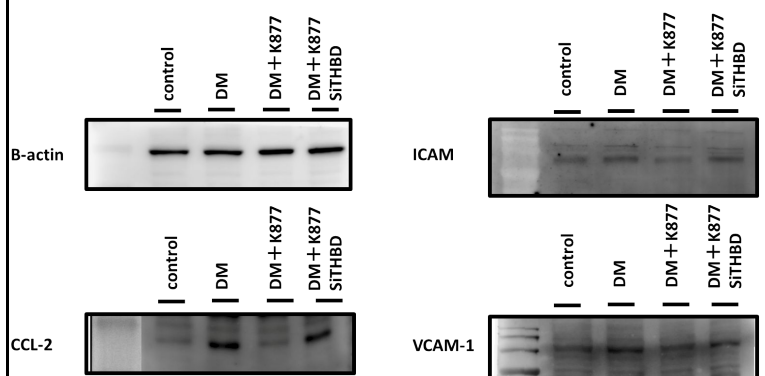
ジュリンが PPAR の直接の標的遺伝子であり、PPAR 活性化によって発現が亢進することがわかった。SiRNA を用いた実験により、PPAR 活性化による抗炎症作用にトロンボモジュリンの発現亢進が関与していることがわかった (図 2)。

図2



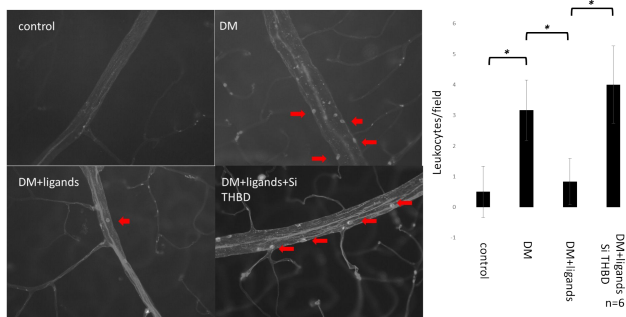
2) ストレプトゾトシン誘発糖尿病ラットに PPAR リガンドを内服させることにより、網膜における炎症関連蛋白の発現が抑制され、トロンボモジュリンの SiRNA を投与することにより、それらの蛋白発現抑制がキャンセルされたことから、PPAR の抗炎症作用にトロンボモジュリンが関与している事がわかった (図 3)。

図3



また、糖尿病誘発ラットにて亢進した、血管への単球接着が、PPAR リガンド内服により抑制され、トロンボモジュリンの SiRNA を投与することによって、亢進したことから、in vivo においても、PPAR がトロンボモジュリンの発現を介して、抗炎症作用を示す事がわかった (図 4)。

図4



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4件)

Sasaki H, Shiono A, Kogo J, Yomoda R, Munemasa Y, Syoda M, Otake H, Kurihara H, Kitaoka Y, Takagi H.

Inverted internal limiting membrane flap technique as a useful procedure for macular hole-associated retinal detachment in highly myopic eyes. Eye (Lond). 2017 Apr;31(4):545-550.

Mitsui K, Kogo J, Takeda H, Shiono A, Sasaki H, Munemasa Y, Kitaoka Y, Takagi H.

Comparative study of 27-gauge vs 25-gauge vitrectomy for epiretinal membrane. Eye. 2016;30:538-544.

三井一央, 塩野 陽, 向後二郎, 宮本純輔, 佐々木寛季, 四方田 涼, 高木 均.

糖尿病黄斑浮腫への硝子体手術適応の検討. 聖マリアンナ医科大学雑誌 2015;43:163-170

Abe Y, Rozqie R, Matsumura Y, Kawamura T, Nakaki R, Tsurutani Y, Tanimura-Inagaki K, Shiono A, Magoori K, Nakamura K, Ogi S, Kajimura S, Kimura H, Tanaka T, Fukami K, Osborne TF, Kodama T, Aburatani H, Inagaki T, Sakai J.

JMJD1A is a signal-sensing scaffold that regulates acute chromatin dynamics via SWI/SNF association for thermogenesis. Nat Commun. 2015 May 7;6:7052

[学会発表](計14件)

塩野 陽

網膜外層評価による網膜循環障害の治療予測. シンポジウム 2 基礎から極める網膜血管機能解析, (オーガナイザー 高木 均, 門之園 一明) 第121回日本眼科学会総会, 2017.4.6. 東京都

Yomoda R, Shiono A, Kogo J, Takagi H. Comparison of Inverted Internal Limiting Membrane Flap Technique With

Internal Limiting Membrane Peeling for Macular Morphology in Patients With Large Macular Hole. American Academy of Ophthalmology, 2016.10.17. シカゴ

Kogo J, Shiono A, Takagi H.

Swept-source OCT images of sclerotomy site of 27-gauge vitrectomy. 2016 annual meeting of The Association for Research in Vision and Ophthalmology, 2016.5.3. Seattle

Shiono A, Sasaki H, Kogo J, Takagi H. Evaluation of inverted internal limiting membrane flap technique in the treatment for macular hole-associated retinal detachment in high myopia. 2016 annual meeting of The Association for Research in Vision and Ophthalmology, 2016.5.3. Seattle

塩野 陽, 四方田 涼, 向後二郎, 高木 均

網膜静脈分枝閉塞症に対するラニビズマブ硝子体投与における網膜外層評価の有用性, 第120回日本眼科学会総会, 2016年4月7日, 仙台

宗正泰成, 佐瀬佳奈, 塩野 陽, 小島 香, 向後二郎, 徳田直人, 北岡康史, 高木 均

急性閉塞隅角症におけるHis toneH2Bと網膜神経節細胞死, 第120回日本眼科学会総会, 2016年4月7日, 仙台

四方田 涼, 塩野 陽, 向後二郎, 高木 均.

円孔底径>800µm黄斑円孔硝子体手術における術後黄斑形態, 第120回日本眼科学会総会, 2016年4月8日, 仙台

三井一央, 四方田 涼, 塩野 陽, 向後二郎, 高木 均.

網膜形態から検討した糖尿黄斑浮腫に対する硝子体手術の適応. 第48回神奈川県眼科臨床談話会, 2016年1月11日, 川崎

塩野 陽, 向後二郎, 四方田 涼, 高木 均.

前眼部OCTを用いたアルコン27G+システムにおける創口の検討, 第54回日本網膜硝子体学会総会, 2015年12月5日, 東京

塩野 陽

OCTを用いた糖尿病黄斑浮腫に対する硝子体手術適応症例の検討, 第21回日本糖尿病眼科学会総会, 2015年11月27日, 名古屋.

塩野 陽, 四方田 涼, 向後二郎, 高木 均

OCTによる網膜静脈閉塞症に対するラニビズマブの投与回数と視力予測因子の検討. 第69回日本臨床眼科学会, 2015年10月22日, 名古屋

宗正泰成, 畑 真由美, 佐瀬佳奈, 三井一央, 塩野 陽, 徳田直人, 北岡康史, 高木

均

急性原発閉塞隅角症における眼圧上昇
と硝子体内 histoneH2B の濃度の関係.
第 69 回日本臨床眼科学会, 2015 年 10 月
22 日, 名古屋

四方田 涼, 塩野 陽, 佐々木寛季, 向後
二郎, 高木 均.

増殖糖尿病網膜症における再手術リス
クファクターの検討. 第 7 回神奈川眼
科学会, 2015 年 5 月 24 日, 横浜

塩野 陽, 佐々木寛季, 向後二郎, 高木
均.

増殖糖尿病網膜症に対する内境界膜剥
離の有用性. 第 119 回日本眼科学会総
会, 2015 年 4 月 17 日, 札幌.

〔図書〕(計 2 件)

塩野 陽, 高木 均, 医学書院,
網膜中心静脈閉塞症 今日の眼疾患治
療指針 第 3 版, 2016, 492-494.

塩野 陽, 高木 均, 医学書院,
網膜静脈分枝閉塞症 今日の眼疾患治
療指針 第 3 版, 2016, 494-496.

ホームページ等

<http://www.marianna-u.ac.jp/opht./index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

塩野 陽 (SHIONO, Akira)

聖マリアンナ医科大学・医学部・助教

研究者番号: 20737598