

令和 2 年 9 月 8 日現在

機関番号：32665

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11473

研究課題名(和文)糖尿病動物を用いた糖尿病網膜症発症における網膜循環動態の経時的検討

研究課題名(英文)Time course of retinal blood flow in diabetic pigs

研究代表者

長岡 泰司(NAGAOKA, Taiji)

日本大学・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) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：ブタ用に改良されたレーザースペckル血流計(LSFG)を用いて、全身麻酔下でブタ網膜血流を良好な再現性を持って定量的に測定可能であることが確認された。遺伝子改変糖尿病ブタを当大学実験施設で飼育し、生後3ヶ月までは安定した検査が施行でき、糖尿病網膜症様眼底所見の確認に加えて網膜循環障害も引き起こされている可能性が示唆された。糖尿病ブタ網膜の組織学的検討：生後3-12ヶ月で屠殺された糖尿病ブタの眼球を摘出し、網膜を組織学的に検討した。生後3ヶ月からすでに検眼鏡では明かではない網膜毛細血管の閉塞や微小血管構築の異常が引き起こされていることを確認しており、さらに頭数を増やして検討を進めている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、遺伝子改変糖尿病ブタを用いて、レーザースペckル血流計を用いて、糖尿病における網膜循環動態の経時的評価を試みた。さらにERGによる網膜神経活動、OCTによる網膜神経線維厚の経時的変化とともに、特に網膜神経-血管-グリアネットワークおよび血管内皮機能に着目した負荷試験による網膜血管機能評価を非侵襲的かつ定量的評価を試みた。今後、これらパラメータを指標にして治療介入による効果を定量的かつ非侵襲的に評価することにより、新規糖尿病網膜症治療薬の開発に繋げることが可能であると考えている。

研究成果の概要(英文)：We developed a Laser-Speckle Flowgraphy to measure ocular blood flow in pigs. This technique enables us to measure ocular blood flow with good reliability. We performed the longitudinal observation of transgenic diabetic pigs for 3-12months. We confirmed that the abnormal changes in retinal circulation has been apparent at 3 month of age whereas there is no obvious abnormalities in the retina by funduscopy. We have some problems with our experiment system, so we are working on the further study to resolve them and elucidate that the relation between ocular blood flow change and the pathophysiology of diabetic retinopathy.

研究分野：糖尿病網膜症と眼循環

キーワード：糖尿病網膜症 眼循環

1. 研究開始当初の背景

糖尿病網膜症における網膜循環動態の病期進行に伴う経時的变化については未解明であり、特に網膜症発症前後の網膜循環動態を解明することができれば、循環改善に着目した糖尿病網膜症の新規予防法の確立につながると考えられる。

2. 研究の目的

本研究では遺伝子改変糖尿病ブタを用い、眼血流計を用いて網膜循環を非侵襲的かつ経時的に評価し、特に網膜神経-血管-グリアネットワークに着目し、その指標であるフリッカー刺激に対する網膜血流増加反応を定量的に捉えることにより、糖尿病網膜症による網膜血管の病理学的変化と網膜循環動態の関連を検討することを目的とした。

3. 研究の方法

遺伝子改変糖尿病ブタを用いて、レーザースペックル血流計を用いて、糖尿病における網膜循環動態の経時的評価を試みた。さらにERGによる網膜神経活動、OCTによる網膜神経線維厚の経時的変化とともに、特に網膜神経-血管-グリアネットワークおよび血管内皮機能に着目した負荷試験による網膜血管機能評価を非侵襲的かつ定量的評価を試みた。

4. 研究成果

本研究の現時点で得られた実績を以下に示す。

- (1) ブタを用いた眼血流実験系の確立：ブタ用に改良されたレーザースペックル血流計 (LSFG) を用いて、全身麻酔下でブタ網膜血流を良好な再現性を持って定量的に測定可能であることが確認された。さらに低酸素負荷による網膜血流低下反応を非侵襲的かつ定量的に評価できることが確認された。
- (2) 遺伝子改変糖尿病ブタの長期経過観察：遺伝子改変糖尿病ブタを当大学実験施設で飼育し、定期的に上記項目について検査を施行した。生後3ヶ月までは安定した検査が施行でき、糖尿病網膜症様眼底所見の確認に加えて網膜循環障害も引き起こされている可能性が示唆された。一方、糖尿病による白内障が進行するためそれ以降の眼底観察は困難となり、白内障手術を施行して眼底透見性を確保しようとしたが、術後炎症が強く、それ以上の経過観察が現時点では完遂できていない。引き続き手術手技の改良に努め、当初の目標どおり、網膜循環動態を経時的に評価して網膜症発症への関与を明らかにすべく研究を継続している。
- (3) 糖尿病ブタ網膜の組織学的検討：生後3-12ヶ月で屠殺された糖尿病ブタの眼球を摘出し、網膜を組織学的に検討した。生後3ヶ月からすでに検眼鏡では明らかではない網膜毛細血管の閉塞や微小血管構築の異常が引き起こされていることを確認しており、さらに頭数を増

やして検討を進めている。

- (4) ブタ摘出網膜動脈を用いた検討では、生後3ヶ月の時点では血管機能には問題は無いが、生後7ヶ月ではブラジキニン投与による血管内皮依存性拡張作用が減弱している一方でSNPによる血管平滑筋依存性拡張は維持されていたことから、血管内皮機能が減弱していることが明らかとなった。今後は酸化ストレスマーカーであるDHE染色などでそのメカニズムを詳細に検討する予定である。
- (5) 遺伝子改変糖尿病ブタを用いて、高血糖が持続すること、組織学的にすでに網膜血管構築に以上を来すこと、そして網膜血管機能障害も引き起こされることなどが明らかとなった。今後はより詳細な組織学的検討を進めるとともに治療介入による網膜障害の予防が可能か検討したい。

図1. 正常ブタ（左）および糖尿病ブタ（右）の眼底写真（上）と蛍光眼底造影写真（下）

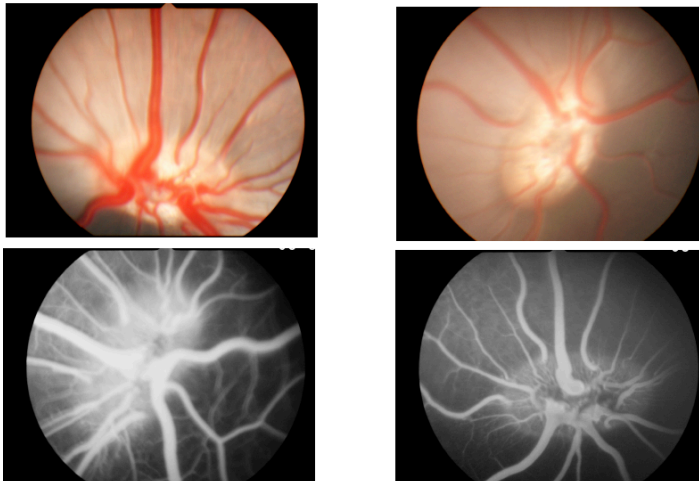
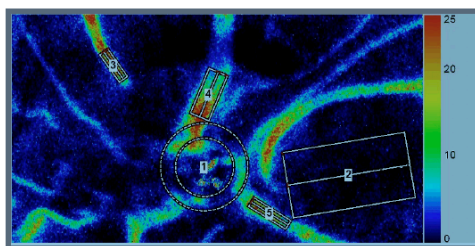


図2 LSFGEを用いた糖尿病ブタの血流検査



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Takahashi Kengo, Nagaoka Taiji, Ishibazawa Akihiro, Yoshida Akitoshi	4. 巻 256
2. 論文標題 Impaired vascular endothelial function in patients with diabetic macular edema	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology	6. 最初と最後の頁 439 ~ 440
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00417-017-3803-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kamiya Takayuki, Nagaoka Taiji, Omae Tsuneaki, Ono Shinji, Otani Shinichi, Yoshida Akitoshi	4. 巻 58
2. 論文標題 Benzo(e)pyrene Inhibits Endothelium-Dependent NO-Mediated Dilation of Retinal Arterioles via Superoxide Production and Endoplasmic Reticulum Stress	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Investigative Ophthalmology & Visual Science	6. 最初と最後の頁 5978 ~ 5978
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1167/iovs.17-21925	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Omae Tsuneaki, Nagaoka Taiji, Yoshida Akitoshi	4. 巻 58
2. 論文標題 Effect of Circulating Omentin-1 on the Retinal Circulation in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Investigative Ophthalmology & Visual Science	6. 最初と最後の頁 5086 ~ 5086
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1167/iovs.17-22030	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔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 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----