

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2007～2008

課題番号：19689035

研究課題名(和文) 眼循環のトランスレーショナルリサーチによる糖尿病網膜症の新しい治療法の開発

研究課題名(英文) Translational research of ocular circulation for new treatment of diabetic retinopathy

研究代表者

長岡 泰司 (NAGAOKA TAIJI)

旭川医科大学・医学部・講師

研究者番号：00333691

研究成果の概要：

眼循環のトランスレーショナルリサーチを実践すべく基礎および臨床研究を行った。まず、旭川医科大学にブタ摘出血管を用いたin vitro実験系を国内で初めて構築し、網膜血管への薬物の直接作用とメカニズムについて検討した。また、ネコを用いたin vivo生体実験系では、非侵襲的に網膜血管内皮機能を評価できる可能性を示した。臨床研究では、2型糖尿病患者の眼循環動態についての詳しい検討を行った。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	8,100,000	2,430,000	10,530,000
2008年度	2,300,000	690,000	2,990,000
年度			
年度			
年度			
総計	10,400,000	3,120,000	13,520,000

研究分野：眼科学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・眼科学

キーワード：(1) 糖尿病網膜症 (2) 微小循環 (3) 血管内皮機能
(4) トランスレーショナルリサーチ (5) 一酸化窒素

1. 研究開始当初の背景

糖尿病網膜症や網膜静脈閉塞をはじめとする網膜血管障害疾患は成人中途失明の主因であり、その病態解明と発症予防、治療法の確立は急務である。これまで我々は非侵襲的な網膜循環測定法であるレーザードップラ眼底血流計を用いて患者を対象とした臨床研究を進め、糖尿病網膜症(2004 BJO; 2005 JJO)、

中心性漿液性網脈絡膜症(2004 BJO)、裂孔原性網膜剥離(2006 BJO)、インターフェロン網膜症(2007, IOVS)における眼循環動態の検討を行い、**網膜硝子体疾患の病態に眼循環障害が深く関わっていることを明らかにした。**さらに我々は、生体で唯一非侵襲的に細動脈の血流量の絶対値を計測できるレーザードップラ眼底血流計の特徴を生かして新しい解析法の開発を試み、細動脈レベルでの動脈硬

化の定量的評価が可能であること(2005 IOVS)を報告した。また近年循環調節における血管内皮細胞の重要性が注目されているが、この内皮細胞による循環調節において重要なパラメータであるズリ応力(シエアストレス)の測定法(2006 IOVS)を世界で初めて発表した。さらに最近、高脂血症治療薬スタチンの心血管保護作用に着目し、正常人ではスタチン内服により網膜血流が増加することを報告した(2006, Arch Ophthalmol)。これらの成果を踏まえ、現在旭川医大では糖尿病網膜症の病態解明を目標として、糖尿病患者の網膜循環動態の長期的な観察研究を行っている。

2. 研究の目的

これまでの研究成果より、「**眼循環障害が網膜硝子体疾患の病態に関与する**」ことが明らかとなった。我々は次のステップとして、「**眼循環障害や血管内皮異常を引き起こす危険因子の同定**」および「**それを改善させる治療法を開発し、疾患の発症・進展を抑制できるか**」を眼循環の観点から検討したいと考えている。将来的には、患者を対象にした臨床研究による検討を目標としているが、そのためには基礎実験にてこれらの仮説を検証し、エビデンスを積み重ねる必要がある。

近年医学領域では**トランスレーショナルリサーチ**、すなわち基礎研究の成果を臨床の場に応用し、効果的に応用・橋渡しをしていく研究が重要視されている。私もこのトランスレーショナルリサーチを実践すべく基礎および臨床研究を行ってきた。しかしながら我々がこれまで取り組んで来た人およびネコを対象とした生体in vivoにおける眼循環研究では、**血圧・酸素分圧をはじめとする様々な全身因子および神経細胞から放出させるホルモンや神経伝達物質など、数多くの因子が循環調節に関与するため、ターゲットとする薬剤や血管作動因子の網膜血管への直接作用を明らかにすることは容易ではない。**

摘出血管を用いたin vitroの実験系は、これら血管に作用する様々な全身および局所因子の影響を除去した状態で、網膜血管の反応性のメカニズムを細胞分子レベルで詳細に検討することができる。そこで今回我々は、これまで行ってきた眼循環の実験系に、この**in vitro実験系**を導入し、統一されたテーマで大局的かつ横断的に、in vitroからin vivo、そして臨床試験までを行う**眼循環のトランスレーショナルリサーチ**を行える研究体制を整えたいと考えている。

3. 研究の方法

- ・ **摘出血管を用いたin vitro実験**により、網

膜血管機能障害を引き起こす危険因子の同定と網膜循環や血管内皮機能の改善に有用と考えられる薬剤や血管作動性物質の効果と検討を行い、その詳細な血流調節のメカニズムを明らかにする。

- ・ **ネコを用いたin vivo実験**により、in vitro 実験系から得られた知見が生体でも再現できるか検討する。
- ・ **正常人を対象とした研究**により、人眼でも動物実験と同様の効果が認められるか確認する。
- ・ **糖尿病患者を対象とした臨床研究**により、網膜疾患を有する患者での効果を確認する。そして最大の目的である網膜症の発症・進展予防に結びつけられるかを確認する。

4. 研究成果

<平成19年度>

1) in vitro摘出血管

Texas A&M大学との共同研究により旭川医科大学にブタ摘出血管を用いたin vitro実験系を国内で初めて構築した。そして、高脂血症治療薬スタチンが、網膜血管内皮からの一酸化窒素(NO)の産生を介して網膜血管を容量依存性に拡張させることが明らかとなった。また、赤ワイン含有ポリフェノールであるレスベラトロールが網膜血管を容量依存性に拡張させ、これには血管内皮からのNOの産生と血管平滑筋のカリウムチャンネルが重要な働きをしていることを明らかにした。

2) 臨床研究

慢性C型肝炎患者を対象として、インターフェロン投与前後で網膜血流の変化をレーザードップラー眼底血流計を用いて評価し、糖尿病網膜症に類似する病態を有するインターフェロン網膜症の発症に網膜血管内皮機能障害が関与している可能性が示唆された。また、糖尿病網膜症患者において増加することを報告したレニン前駆物質プロレニンが未熟児網膜症患者の血清でも増加していることを明らかにした。

<平成20年度>

1) in vitro摘出血管

Texas A&M大学との共同研究により旭川医科大学にブタ摘出血管を用いたin vitro実験系を国内で初めて構築した。そして、炎症マーカーであるC反応性蛋白(CRP)が酸化ストレスを亢進させて網膜血管内皮からのNO産生能を低下させることを初めて明らかにした。また、高脂血症治療薬スタチン前投与によ

り、CRPによる血管内皮機能障害が予防できることも明らかにした。

2) in vivo生体実験系

ネコを用いたin vivo生体実験系では、高酸素負荷時の網膜血流低下反応に着目し、負荷終了後の血流回復反応にはETB受容体を介した血管内皮細胞からのNO産生が関与していることを初めて明らかにした。高酸素負荷時の網膜循環動態を評価することにより、非侵襲的に網膜血管内皮機能を評価できる可能性を示した。また、新しい緑内障治療薬7αプロストにより網膜血流が増加することを明らかにし、この治療法の網膜疾患への応用の可能性を示した。

3) 臨床研究

2型糖尿病患者の糖尿病網膜症に対する網膜光凝固の中心窩脈絡膜循環への影響を検討し、光凝固後は血流が改善することを明らかにし、光凝固後の重篤な合併症である黄斑浮腫に対して中心窩脈絡膜循環の障害が影響を及ぼす可能性が示された。

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 12 件) (すべて査読有)

*:corresponding author

1. Hein TW, Ren Y, Yuan Z, Xu W, Somvanshi S, Nagaoka T, Yoshida A, Kuo L Functional and Molecular Characterization of the Endothelin System in Retinal Arterioles. *Invest Ophthalmol Vis Sci* (in press)
2. Noma H, Funatsu H, Sakata K, Harino S, Nagaoka T, Mimura T, Sone T, Hori S. Macular Microcirculation and Macular Oedema in Branch Retinal Vein Occlusion. *Br J Ophthalmol*. (in press)
3. Nagaoka T*, Takahashi A, Sato E, Yokota A, Izumi N, Takahashi A, Yoshida A. Effect of Systemic Administration of Valsartan, an Angiotensin II Type 1 Receptor Blocker, on Retinal Circulation in healthy humans. *Eye*. (in press)
4. Takahashi A, Nagaoka T*, Sato E, Yoshida A. Effect of Panretinal Photocoagulation on Choroidal Circulation in the Foveal Region in Patients with Severe Diabetic Retinopathy. *Br J Ophthalmol* 2008;92:1369-73.
5. Izumi N, Nagaoka T*, Sato E, Sogawa K, Kagokawa H, Takahashi A, Kawahara A, Yoshida A. Role of Nitric Oxide in Regulation of Retinal Blood Flow in Response

to Hyperoxia in Cats. *Invest Ophthalmol Vis Sci*.; 2008. 49:4595-603.

6. Izumi N, Nagaoka T, Sato E, Mori F, Takahashi A, Sogawa K, Yoshida A. Short-term effects of topical tafluprost on retinal blood flow in cats. *Journal of Ocular Pharmacology & Therapeutics*. 2008. 24(5):521-526.
7. Yokota H, Takamiya A, Nagaoka T, Hikichi T, Ishida Y, Suzuki F, Yoshida A. Role of prorenin in the pathogenesis of retinal neovascularization. *Hokkaido Igaku Zasshi*. 2008 83(3):159-65.
8. Nagaoka T*, Kuo L, Yoshida A, Hein T. C-Reactive Protein Inhibits Endothelium-Dependent Nitric Oxide-Mediated Dilatation of Retinal Arterioles via Enhanced Superoxide Production. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008 ;49:2053-60.
9. Nagaoka T*, Hein T, Yoshida A, Kuo L. Resveratrol, a Component of Red Wine, Elicits Dilatation of Isolated Porcine Retinal Arterioles: Role of Nitric Oxide and Potassium Channels. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;2007 48(9): 4232-4239.
10. Yokota H, Nagaoka T, Mori F, Hikichi T, Hosokawa H, Tanaka H, Ishida Y, Suzuki F, Yoshida A. Prorenin levels in retinopathy of prematurity. *Am J Ophthalmol*. 2007 143(3):531-3.
11. Nagaoka T*, Hein T, Yoshida A, Kuo L. Simvastatin Elicits Dilatation of Isolated Porcine Retinal Arterioles: Role of Nitric Oxide and Mevalonate-Rho Kinase Pathway. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007; 48(5): 825-832.
12. Nagaoka T*, Sato E, Takahashi A, Yokohama S, Yoshida A. Retinal circulatory changes associated with interferon-induced retinopathy in patients with hepatitis C. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2007;48(1):368-375..

[学会発表] (計 10 件)

1. A. Takahashi, T. Nagaoka, E. Sato, A. Yoshida. Effect of Panretinal Photocoagulation on Pulsatile Ocular Blood Flow in Patients With Proliferative Diabetic Retinopathy *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008; E-Abstract 2740. 平成 20 年 4 月 28-30 日 **Annual meeting of the association of research in vision and Ophthalmology** (米国、フロリダ)
2. H. Yokota, T. Nagaoka, A. Takahashi, E. Sato, A. Yoshida. Reduced Compliance of the Retinal Arteriolar Circulation With Increased Serum Prorenin in Patients With Type 2 Diabetes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*

- 2008; E-Abstract 2741. 平成 20 年 4 月 28-30 日 **Annual meeting of the association of research in vision and Ophthalmology** (米国、フロリダ)
3. T. Nagaoka, A. Takahashi, H. Yokota, E. Sato, K. Sogawa, A. Yoshida. Change in Retinal Blood Flow Associated With Duration of Type 2 Diabetes Mellitus *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008; E-Abstract 3509. 平成 20 年 4 月 28-30 日 **Annual meeting of the association of research in vision and Ophthalmology** (米国、フロリダ)
 4. K. Sogawa, T. Nagaoka, E. Sato, A. Takahashi, N. Izumi, A. Yoshida. Acute Hyperglycemia Induces the Endothelial Dysfunction of Retinal Arteries *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008; E-Abstract 5364. 平成 20 年 4 月 28-30 日 **Annual meeting of the association of research in vision and Ophthalmology** (米国、フロリダ)
 5. Role of Nitric Oxide in Regulation of Retinal Blood Flow in Response to Hyperoxia in Cats N. Izumi, T. Nagaoka, E. Sato, K. Sogawa, H. Kagokawa, A. Takahashi, A. Kawahara, A. Yoshida. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007; E-Abstract 871. 平成 19 年 5 月 1-5 日 **Annual meeting of the association of research in vision and Ophthalmology** (米国、フロリダ)
 6. H.Yokota, T.Nagaoka, A.Takahashi, E.Sato, A.Yoshida. Relation Between Serum Levels of Prorenin and Retinal Circulation in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus Without Retinopathy *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007; E-Abstract 3765. 平成 19 年 5 月 1-5 日 **Annual meeting of the association of research in vision and Ophthalmology** (米国、フロリダ)
 7. A.Takahashi, E.Sato, T.Nagaoka, A.Yoshida. Effect of Topical Tafluprost on Retinal and Ocular Nerve Head Circulation in Normal Human Eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007; E-Abstract 2280. 平成 19 年 5 月 1-5 日 **Annual meeting of the association of research in vision and Ophthalmology** (米国、フロリダ)
 8. T.Nagaoka^{1,2}, L.Kuo¹, A.Yoshida², T.W. Hein¹. C-reactive Protein Inhibits Endothelium-Dependent Nitric Oxide-Mediated Dilatation of Isolated Porcine Retinal Arterioles. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007; E-Abstract 2271. 平成 19 年 5 月 1-5 日 **Annual meeting of the association of research in vision and Ophthalmology** (米国、フロリダ)
 9. E.Sato, A.Takahashi, M.Kawai, T.Nagaoka, A.Yoshida. Retinal Hemodynamics in

- Patients With Normal Tension Glaucoma *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007; E-Abstract 4396 平成 19 年 5 月 1-5 日 **Annual meeting of the association of research in vision and Ophthalmology** (米国、フロリダ)
10. Role of VEGFR2 in the Dilatation of Retinal Arterioles to Increased Luminal Flow R.H. Rosa, Jr., T.W. Hein, T.Nagaoka, W.Xu, Z.Yuan, L.Kuo. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007; E-Abstract 6041. 平成 19 年 5 月 1-5 日 **Annual meeting of the association of research in vision and Ophthalmology** (米国、フロリダ)

〔図書〕 (計 1 件)

1. 長岡泰司. 眼科臨床に必要な解剖生理, VI. 網膜・脈絡膜 4. 網膜の血流. 眼科ブ
ラクティス 6 213-219, 2007, 文光堂

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・講師

研究者番号 : 00333691

(2) 研究分担者

無し

(3) 連携研究者

無し