

平成 21 年 5 月 18 日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2007～2008

課題番号：19791279

研究課題名（和文） 糖尿病網膜症における腫瘍壊死因子（TNF- $\alpha$ ）の病態的意義の解明研究課題名（英文） Investigation into the role of TNF- $\alpha$  in diabetic retinopathy

研究代表者

松原 明久（MATSUBARA AKIHISA）

名古屋市立大学・大学院医学研究科・助教

研究者番号：80336685

研究成果の概要：

TNF- $\alpha$  産生阻害薬は糖尿病ラット網膜の白血球集積を抑制した。TNF- $\alpha$  産生阻害薬は糖尿病網膜症における白血球-血管内皮間の粘着能亢進を改善することが示唆された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,400,000	0	1,400,000
2008年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,500,000	330,000	2,830,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・眼科学

キーワード：眼科学

## 1. 研究開始当初の背景

糖尿病網膜症は腎症、神経症とともに糖尿病の三大合併症の一つで、成人中途失明の主

要な原因となっている。その基本病態は、高血糖に伴う代謝異常により網膜血管が障害を受け、血管の閉塞や血管透過性亢進が起きる

ことである。さらに網膜血管の閉塞が進むと網膜虚血により網膜や虹彩に新生血管を生じ、重篤な視力障害をきたす。これらの病態には網膜微小血管の内皮細胞やペリサイトの障害が基盤にあり、血管内皮増殖因子 (VEGF) あるいはアンジオポエチンといった増殖因子の関与が示唆されている。これまで我々は、糖尿病網膜症の初期において白血球—血管内皮相互作用の障害がその発生に強く関与しており、糖尿病ラットの網膜に白血球が集積することをアクリジンオレンジデジタルフルオログラフィーの手法を用いて報告した。また、ヒト網膜血管内皮細胞を用いた実験で、高血糖状態では内皮細胞への白血球粘着能が亢進することを証明してきた。これらのことから、糖尿病初期においては白血球の網膜微小循環への集積がその病態悪化に関与していることが分かってきた。さらに、糖尿病網膜症の硝子体サンプルにおいて様々な炎症性サイトカインが増加していることが報告され、白血球集積や白血球接着分子の発現亢進からも糖尿病網膜症が炎症であるとの考えるに至った。中でも、腫瘍壊死因子 (Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ ) (TNF- $\alpha$ ) は炎症における重要なサイトカインの一つで、リウマチ、クローン病、多発性硬化症などの炎症性疾患においてその血中濃度は高度となる。増殖糖尿病網膜症の硝子体中でも、TNF- $\alpha$ が増加していることが報告されている。以上のことから、糖尿病網膜症においてTNF- $\alpha$ が網脈絡膜微小循環にどのような影響を与えるのかを、白血球の循環動態を通して詳細に評価することがこの疾患の病態解明に必要であるという考えに至った。

## 2. 研究の目的

現在我々が行っているアクリジンオレンジを用いた網膜微小循環の観察法は眼球組織の

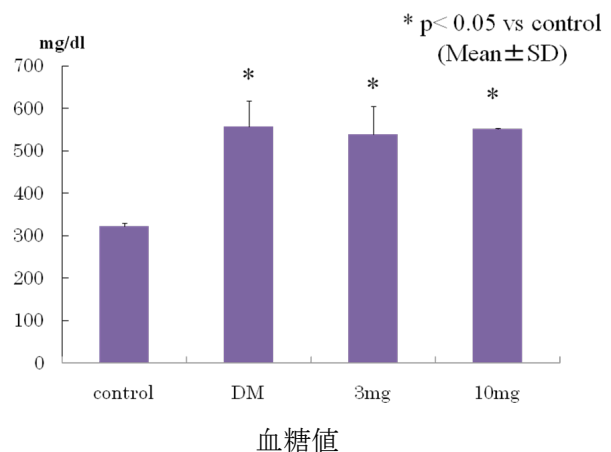
透明性という特徴と、レーザーテクノロジーの進歩による走査型レーザー検眼鏡の特性を組み合わせることにより初めて可能となる技術で、眼科以外の分野では行っていないものである。この手法を用いることにより生態組織における白血球動態を無侵襲で画像化することができ、正常あるいは病的状態での白血球を2次元のかつ、経時的に観察・評価することができる。この手法を利用し、TNF- $\alpha$  産生阻害薬を用いて、糖尿病ラット網膜における白血球—血管内皮相互作用に対するその抑制効果を検討した。

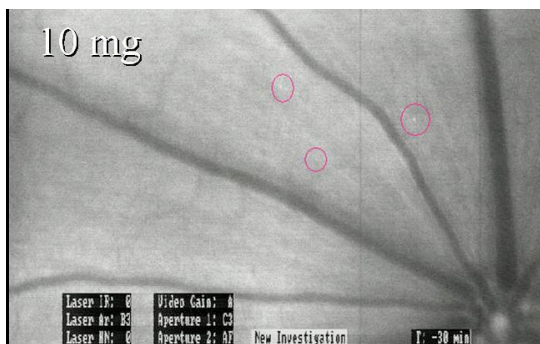
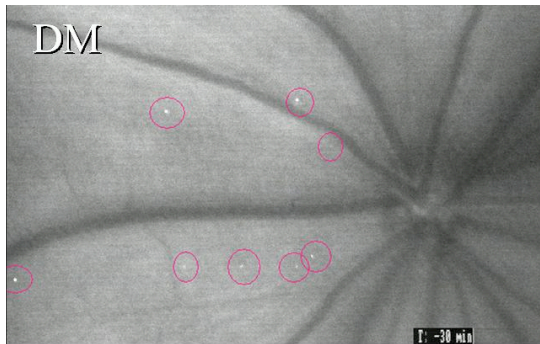
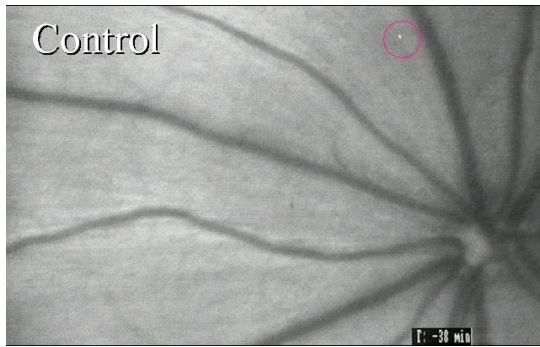
## 3. 研究の方法

糖尿病ラットはストレプトゾトシン (STZ) 45mg/kg を経静脈的に投与して作成した。被験薬物は1%メチルセルロース (MC) に溶解し、STZ 投与日より 3mg/kg/day の用量で3週間経口投与したものを薬物投与群とした。STZ 投与後1%MC のみを投与したものを糖尿病群、未処置のものをコントロール群とした。網膜内の白血球集積はアクリジンオレンジデジタルフルオログラフィーを用いて検討した。

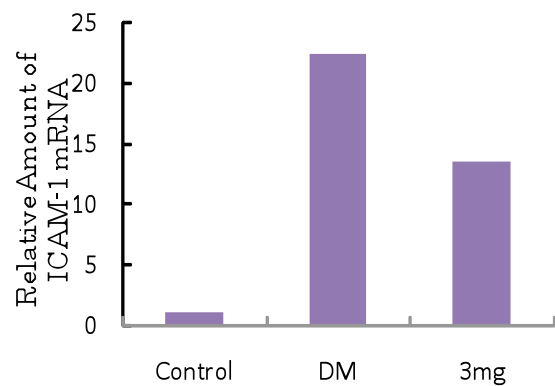
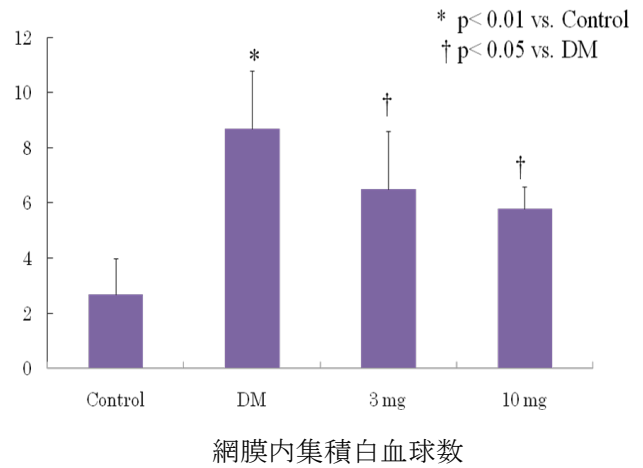
## 4. 研究成果

血糖値は糖尿病を誘発した群において、有意に上昇した。





アクリジンオレンジによる網膜内白血球集積数は、糖尿病群ではコントロール群に比較して網膜内白血球集積が有意に増加した。TNF $\alpha$ 産生阻害薬投与群では糖尿病群に比較して白血球集積が有意に減少した。



TNF- $\alpha$ 産生阻害薬は網膜におけるICAM-1の発現を抑制した。

TNF- $\alpha$ 産生阻害薬はICAM-1の発現を抑制することによって、網膜内白血球集積を抑制していると考えられた。

糖尿病の網膜微小循環において、TNF- $\alpha$ 産生阻害薬は血糖非依存的な白血球粘着能抑制作用を有することが示唆された。

TNF- $\alpha$ 産生阻害薬は糖尿病網膜症における白血球-血管内皮間の粘着能亢進を改善することが示唆された。

## 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 2 件)

① Miyaki K, Matsubara A, Nishiwaki A, Tomida K, Morita H, Yoshida M, Ogura Y. Pitavastatin attenuates leukocyte-endothelial interactions induced by ischemia-reperfusion injury in the rat retina. Curr Eye Res. 2009; 34 (1) :10-17. 査読有

② Mizuno D, Matsubara A, Ogura Y. Effect of posterior sub-tenon administration of triamcinolone acetonide on leukocyte dynamics in rat retinal microcirculation after panretinal photocoagulation. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2008 May;49:2127-2133. 査読有

[学会発表] (計 3 件)

① Hattori T, Matsubara A, Taniguchi K, Ogura Y: Aldose reductase inhibitor attenuates leukocyte-endothelial interaction in experimental diabetic retina in vivo. Annual Meeting of the Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO)、平成20年 4月27日～ 5月1日 (フォートローダーデール、米国)

② 服部知明、松原明久、谷口香織、小椋祐一郎：糖尿病ラットにおける網膜白血球集積に対するアルドース還元酵素阻害薬の抑制効果、第112 回日本眼科学会総会、平成20年 4月17日～20日 (横浜)

③ 服部知明、松原明久、小椋祐一郎：糖尿病ラットにおける網膜白血球集積に対する

腫瘍壊死因子 (TNF- $\alpha$ ) 阻害薬の抑制効果、第111 回日本眼科学会総会、平成19年 4月19日～22日 (大阪)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

松原 明久 (MATSUBARA AKIHISA)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・助教

研究者番号：80336685

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

なし