

## 自己評価報告書

平成 23 年 4 月 30 日現在

機関番号：13601

研究種目：基盤研究 (B)

研究期間：2008～2011

課題番号：20390447

研究課題名 (和文) 網膜浮腫をおこすノックアウトマウスを用いた糖尿病黄斑浮腫の新しい治療法の開発

研究課題名 (英文) To develop a new treatment modality for diabetic macular edema using a knockout mouse that shows retinal edema.

研究代表者 村田 敏規 (MURATA TOSHINORI)

信州大学・医学部・教授

研究者番号：50253406

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：糖尿病黄斑浮腫, アドレノメデュリン, ノックアウトマウス, RAMP-2

## 1. 研究計画の概要

日本人の社会的失明原因 (日常生活を行えなくなる視力低下) の首位は現在でも糖尿病網膜症で、特に糖尿病網膜 (黄斑) 浮腫が原因である。従来糖尿病網膜浮腫には再現性のある動物モデルがなかった。我々が作製したアドレノメデュリンのレセプターである Receptor-activity-modifying protein (RAMP)-2 のノックアウトマウスは全身に高度の浮腫を生じる。このマウスは我々が知る範囲で、世界で初めて作成された網膜にも高度の浮腫を起こしうるマウスである。これらのマウスの網膜浮腫を治療することで、糖尿病網膜症の網膜浮腫の新しい治療法を開発し、糖尿病患者を社会的失明から救うことが本研究の最終的な目標である。

## 2. 研究の進捗状況

(1) アドレノメデュリンが欠損すると血管の tight junction 破綻する事が証明された。アドレノメデュリンの機能をブロックした状態のマウスの血管を電子顕微鏡で観察すると、tight junction が破綻していて、血管内皮細胞の一部は基底膜から剥離している事が観察される。

(2) アドレノメデュリン欠損による網膜血管 tight junction 破綻が、電子顕微鏡的に検討されている。発生器のマウスでは網膜血管がまだ伸展していない。この段階では全身の臓器に浮腫があっても、網膜には明らかな浮腫が無いことから、やはり網膜浮腫は網膜血管の tight junction の破綻がその発生原因であると考えている。

(3) 網膜は脳の一部である。従って網膜の浮腫と黄斑浮腫は理論的には同時に同程

度生じることが予想された。我々は脳浮腫が存在する網膜で、網膜浮腫が存在するか。逆に網膜浮腫が存在するマウスで、脳浮腫が存在するかを検討した。脳浮腫は全身の臓器や皮膚に浮腫があっても生じにくく、網膜浮腫はさらに発生する確立が低かった。これは脳の血管内皮細胞には tight junction が発達していて (blood-brain barrier) 他の臓器よりも浮腫が起こりにくいためであると考えている。

(4) 網膜色素上皮細胞の細胞間の tight junction も網膜浮腫の原因となりうる。網膜血管所なり胎生早期から網膜色素上皮細胞は形成されるので、胎生期の網膜浮腫は網膜色素上皮細胞の tight junction の破綻が関与すると考えられる。現在同部位の ZO-1 や  $\beta$ -catenin、claudin、occludin の発現について免疫組織化学、real time PCR 法などで検討している。

## 3. 現在までの達成度

やや遅れている

本研究を開始するに当たりおこなったパイロット研究では、網膜浮腫が高率に RAMP-2 ノックアウトマウスに観察されたのだが、マウスの数を増やして研究を進めると、網膜浮腫の発生する確立は 5% 以下であると分かってきた。このため、網膜浮腫のメカニズムを解明するためには、非常に多数のマウスを検討することが必要であり、極めて時間がかかる作業となっている。今後、治療効果を検討する上では、さらに多数のマウスを検討しなければならない。以上のような理由から、研究が予定よりもやや遅れているが、比較的順調に経過している。

#### 4. 今後の研究の推進方策

上記のように研究にやや遅れが見られており、研究期間の延長を申請した。平成 23 年度研究から、本研究の延長が認められた。

#### 5. 代表的な研究成果

(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 6 件)

- ① 村田敏規 糖尿病網膜症の発症と進展特集 糖尿病の病態を「見える化」してみる-どこまでわかりやすくできるか。 Japanese Journal of Diabetes Master Clinician 8, v, 2010
- ② Takeda N, Shindo T, Nagai R (12人中7番目) Cardiac fibroblasts are essential for the adaptive response of the murine heart to pressure overload. 120, 254-265, 2010
- ③ Yasuda M, Ishibashi T(8人中8番目) Prevalence and systemic risk factors for retinal vein occlusion in a general Japanese population: the Hisayama Study 51, 3205-3209, 2010
- ④ Ikeda Y, Murata T, Ishibashi T Stable Retinal Gene Expression in Nonhuman Primates via Subretinal Injection of SIVagm-based Lentiviral Vectors Hum Gene Ther 20, 943-954, 2009
- ⑤ Mera K, Murata T Glutaraldehyde is an effective cross-linker for production of antibodies against advanced glycation end-products. J Immunol Methods 334, 82-90, 2008
- ⑥ Ichikawa-ShindoY, Shindo T GPCR modulator protein RAMP2 is essential for angiogenesis and vascular integrity. 118, 29-39, 2008

[学会発表] (計 1 件)

- ① 村田敏規 糖尿病網膜症合併血糖管理 不良患者の血糖コントロール：緩徐に行うべきか否か？第 53 回日本糖尿病学会年次学術集会 Debate Session 4 2009.5.28 岡山