

令和 6 年 5 月 13 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09667

研究課題名(和文) 糖尿病網膜症病態におけるアクロレインの炎症誘導機構

研究課題名(英文) Inflammation-inducing mechanism of acrolein in the pathogenesis of diabetic retinopathy

研究代表者

村田 美幸 (Murata, Miyuki)

北海道大学・医学研究院・助教

研究者番号：50423752

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：糖尿病網膜症は重篤な視機能障害をきたすため、その病態の解明は眼科学における重要な課題である。我々は過去に、増殖糖尿病網膜症患者の線維血管組織において網膜グリア細胞に不飽和アルデヒドの一種であるアクロレインが結合した蛋白が蓄積していることを報告した。アクロレインは反応性が高く、神経変性疾患や悪性腫瘍など多様な疾患病態で注目されている分子である。本研究では糖尿病網膜症におけるアクロレインの炎症誘導機構について検討をおこない、アクロレインが網膜グリア細胞において分子Aを介してMCP-1の発現を誘導し、マクロファージの遊走を促進させることが明らかになり、糖尿病網膜症の新たな病態形成機序が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

糖尿病患者は全世界で急速に増加しており、その罹病期間と糖尿病網膜症の発症率は正の相関を有するため、高齢化の一途をたどる現代において糖尿病網膜症患者数が今後飛躍的に増加すると考えられる。その病態の解明は眼科学における重要な課題である。本研究により、糖尿病網膜症眼内で増加するアクロレインが分子Aを介してMCP-1を誘導し、マクロファージの遊走を促すことが明らかになった。本研究結果は糖尿病網膜症の新たな病態形成機序を示すものであり、アクロレインが新規治療標的なる可能性を示す重要な成果である。

研究成果の概要(英文)： Since diabetic retinopathy causes severe visual dysfunction, elucidation of its pathogenesis is an important issue in ophthalmology. We previously reported that acrolein, an unsaturated aldehyde-bound protein, accumulates in retinal glial cells in the fibrovascular tissue of patients with proliferative diabetic retinopathy. Acrolein is a highly reactive molecule that has been reported to be involved in a variety of disease states, including neurodegenerative diseases and malignant tumors. In this study, we investigated the mechanism by which acrolein induces inflammation in diabetic retinopathy, and found that acrolein induces MCP-1 expression via factor A in retinal glial cells and promotes macrophage migration. This study provides a new mechanism for the pathogenesis of diabetic retinopathy.

研究分野：網膜細胞生物学

キーワード：糖尿病網膜症 アクロレイン MCP-1

1. 研究開始当初の背景

糖尿病網膜症(diabetic retinopathy, DR)は重篤な視機能障害をきたすため、その病態の解明は眼科学における重要な課題である。DRの重要な病態に黄斑浮腫がある。糖尿病黄斑浮腫(diabetic macular edema、DME、図1)は網膜の中心部で視力を司る重要な部位である黄斑部に漏出性変化による浮腫が生じる病態である。DMEに

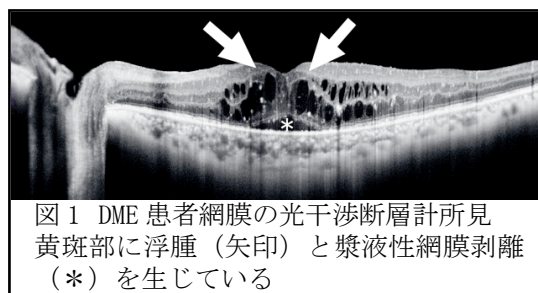


図1 DME患者網膜の光干渉断層計所見
黄斑部に浮腫(矢印)と漿液性網膜剥離(*)を生じている

対しては血管内皮増殖因子(vascular endothelial growth factor、VEGF)阻害薬の硝子体投与が行われているが、抗VEGF治療に抵抗性を示す症例も存在する(Wykoff C et al. *Ophthalmology*, 2016)。このことは、本病態へのVEGF以外の因子の関与を示唆している。

近年の研究および診断技術の進歩により、DRの病態背景に慢性炎症が存在することが明らかになってきている。DRの網脈絡膜組織においては、血管の拡張や炎症細胞の蓄積・浸潤など炎症を示す所見が観察され、DME患者の硝子体中では、MCP-1やinterleukin-6 (IL-6)、intercellular adhesion molecule-1(ICAM-1)などの炎症関連分子が増加し、黄斑浮腫の重症度と相関していることなどが報告されている(Funatsu H et al. *Ophthalmology*, 2009)。DRにおいてMCP-1は網膜組織へのマクロファージの遊走を促し、そのマクロファージが分泌するVEGFやサイトカインは血管新生や血管透過性亢進などDRの病態形成に深く関与する。しかし、この経路の最上流因子であるMCP-1の発現がDRにおいてどのように誘導されるのか、その機序の詳細は不明であった。

アクロレインは、煙草の煙などに含まれる不飽和アルデヒドである。反応性が高く、様々な蛋白のLys, Cys, Hisなどのアミノ酸残基に結合し、機能異常を惹起する。シクロホスファミドなどの抗がん剤の代謝物としても生じ、副作用である出血性膀胱炎の原因となっている。これまで、アクロレインは外因性に体内に取り込まれることで、肺癌などの発症に関与する物質と考えられていた。しかし近年、アクロレインは内因性にも産生

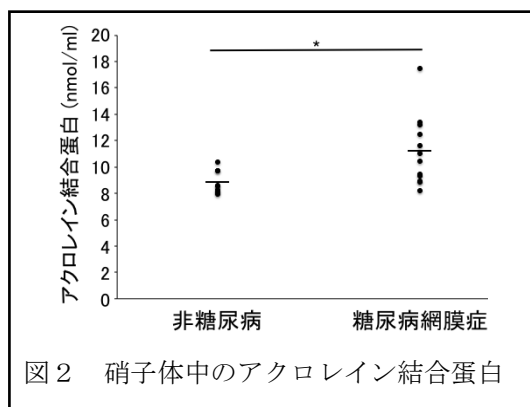


図2 硝子体中のアクロレイン結合蛋白

されることが明らかとなり、アルツハイマー病やパーキンソン病などの神経変性疾患を含む各種疾患の病態との関係が注目されるようになった。そこで、研究代表者は先行研究(基盤研究(C)17K11442)においてDRとアクロレインに関する検討をおこない、DR患者の硝子体内でアクロレイン結合蛋白が増加することを明らかとし(図2)、同じくDR患者の硝子体内で増加するvascular adhesion protein-1 (VAP-1)と呼ばれる分子がポリアミンの一種であるスペルミンを基質としてアクロレインを産生することを近年報告した(Murata M et al. *Curr Eye Res.* 2017)。

DRでは網膜グリア細胞が重要な役割を演じていることが知られている。網膜グリア細胞はDRにおいて遊走しVEGFや種々のサイトカインを分泌することで網膜血管新生および炎症増悪に関

与する。過去に研究代表者らは、増殖糖尿病網膜症 (PDR) 患者の線維血管組織において網膜グリア細胞にアクロレイン結合蛋白が局在すること (Dong Y, Murata M et al. *Curr Eye Res.* 2017)、アクロレインがC-X-C motif chemokine ligand 1(CXCL1) の発現誘導を介して同細胞の遊走能を亢進させること報告している (Murata M et al. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2019)。さらに最近の検討で、研究代表者らはアクロレインが培養網膜グリア細胞においてMCP-1の発現を増加させることを見出した (図3)。MCP-1

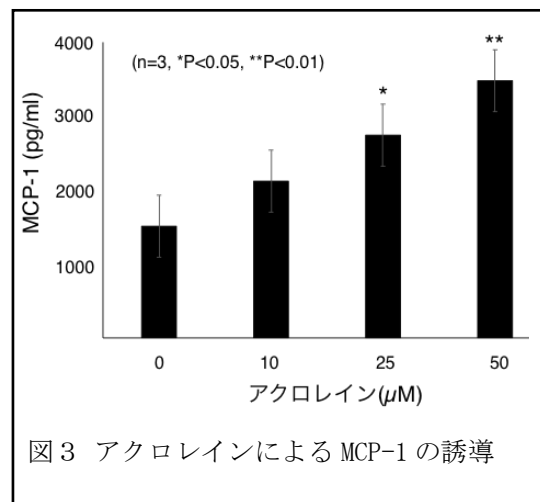


図3 アクロレインによる MCP-1 の誘導

は、受容体であるC-C motif chemokine receptor 2 (CCR2) への結合を介し炎症細胞の遊走を促す炎症メディエーターであり、DR眼内での増加と病態への関与が報告されている (Yoshida S et al. *Br J Ophthalmol*, 2015)。しかし、DRにおける炎症亢進にアクロレインがどのように関与するのかは不明であった。

2. 研究の目的

本研究の目的は、DRにおけるアクロレインの炎症誘導機構を明らかにすることである。現在、DRの治療としては網膜光凝固、抗VEGF薬の硝子体注射などがおこなわれている。しかしながら、これらの治療のみでは病勢のコントロールが不十分な症例も多く存在する。DRの病態がさらに明らかとなることで新規治療法が開発されることは、現在も我が国の失明原因の上位を占める本疾患に対するアンメットニーズである。

3. 研究の方法

ヒト眼内におけるアクロレインとMCP-1の関係を明らかにするため、DR患者の硝子体液におけるアクロレイン結合蛋白およびMCP-1の濃度をELISA法で測定し、両者の相関関係を解析した。続いて、アクロレインによるMCP-1の発現誘導機構を明らかにするため、ラット培養網膜グリア細胞株TR-MUL5を用いたin vitro実験をおこなった。分子Aは細胞核内に局在し、クロマチン構造の維持や転写制御に関わる分子である。また細胞へのストレス刺激に応じて核から細胞質、細胞外へと放出され、炎症性サイトカインの誘導などを引き起こすことが知られている。この分子AがDR患者の硝子体内での増加し、アクロレイン産生酵素であるVAP-1と正の相関を示すことが近年報告されていることから、同分子に着目しその阻害剤によってアクロレインによるMCP-1の誘導が抑制されるかについて検討をおこなった。

4. 研究成果

研究成果については現在論文投稿準備中であり、未発表のデータを含むため一定期間公表を差し控える。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2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 2件）

1. 著者名 Murata Miyuki, Noda Kousuke, Kase Satoru, Hase Keitaro, Wu Di, Ando Ryo, Ishida Susumu	4. 巻 298
2. 論文標題 Placental growth factor stabilizes VEGF receptor-2 protein in retinal pigment epithelial cells by downregulating glycogen synthase kinase 3 activity	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 102378 ~ 102378
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jbc.2022.102378	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Fukutsu Kanae, Murata Miyuki, Kikuchi Kasumi, Yoshida Shiho, Noda Kousuke, Ishida Susumu	4. 巻 8
2. 論文標題 ROCK1 Mediates Retinal Glial Cell Migration Promoted by Acrolein	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Medicine	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fmed.2021.717602	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件/うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Fukutsu K
2. 発表標題 ROCK1 Mediates Retinal Glial Cell Migration Promoted by Acrolein
3. 学会等名 2nd Asia Retina Congress（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kikuchi K, Murata M, Kageyama Y, Shinohara M, Sasase T, Noda K, Ishida S
2. 発表標題 Retinal capillary changes and cytokine expression in Spontaneously Diabetic Torii fatty rats
3. 学会等名 Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO) Annual Meeting（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 福津佳苗、村田美幸、菊地香澄、吉田志帆、野田航介、石田 晋
2. 発表標題 Muller細胞におけるアクロレインによる単球走化性因子の発現誘導
3. 学会等名 第126回日本眼科学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 福津佳苗、村田美幸、菊地香澄、野田航介、石田 晋
2. 発表標題 増殖糖尿病網膜症におけるマクロファージ遊走とアクロレイン
3. 学会等名 第25回眼科分子生物学研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 菊地香澄、野田航介、村田美幸、影山 靖、篠原雅巳、笹瀬智彦、石田 晋.
2. 発表標題 Spontaneously Diabetic Torii fatty ラットの網膜血管の解析
3. 学会等名 日本糖尿病眼科学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Fukutsu K, Murata M, Kikuchi K, Yoshida S, Noda K, Ishida S
2. 発表標題 Acrolein promotes Muller cell migration via ROCK1 pathway
3. 学会等名 The 14th Joint Meeting of Japan-China-Korea Ophthalmologists (国際学会)
4. 発表年 2021年

〔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
研究 分担 者	野田 航介 (Noda Kousuke) (90296666)	北海道大学・医学研究院・客員教授 (10101)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------