

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 15 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2011

課題番号：22791686

研究課題名（和文） 抗炎症物質レスベラトロールによる糖尿病網膜症への治療効果の解析

研究課題名（英文） The Anti-inflammatory Effect of Resveratrol in Diabetic Retina

研究代表者

久保田 俊介 (KUBOTA SHUNSUKE)

慶應義塾大学・医学部・研究員（非常勤）

研究者番号：90406041

研究成果の概要（和文）：レスベラトロールはポリフェノールの一種として知られている。我々はレスベラトロールの糖尿病網膜症に対する効果を解析した。糖尿病モデルマウスに対しレスベラトロールを7日間経口投与施行し、網膜への白血球接着数と炎症関連分子を評価した。白血球接着数と炎症関連分子はレスベラトロール投与群において有意に減少が認められた。今回のデータはレスベラトロールの抗炎症作用による糖尿病網膜症の抑制の可能性を示唆している。

研究成果の概要（英文）：Resveratrol is known as one of antioxidant polyphenols. The purpose of the present study was to investigate the effect of resveratrol on the diabetic retina. The diabetic model mice were orally treated with resveratrol for seven days. Administration of resveratrol significantly reduced leukocyte adhesion to the retinal vessels of diabetic mice. In addition, the diabetic animals treated with resveratrol showed a significant decrease in retinal inflammatory molecules, which were upregulated following the induction of diabetes. The current data suggest the potential use of resveratrol as a therapeutic agent for diabetic retinopathy.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2011年度	1,300,000	390,000	1,690,000
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

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：眼細胞生物学、糖尿病網膜症

1. 研究開始当初の背景

糖尿病網膜症は現在日本での失明原因が第2位であり（中江公裕ほか 厚生労働省研究班平成17年度研究報告）非常に重要な視力障害の原因疾患である。細胞生物学的手法により近年その分子メカニズムが明らかになり、糖尿病網膜症の病態は炎症であるとされる。しかし、具体的な治療法はまだ確立されていない。米国ではミトコンドリア関連疾患の治療薬として認められ、ポリフェノールの一種でもあるレスベラトロールは抗炎症作

用を持つので、糖尿病網膜症に対する効果を持つ可能性があるが、その報告は未だ無い。

2. 研究の目的

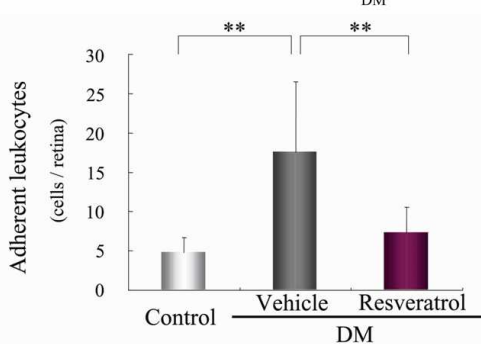
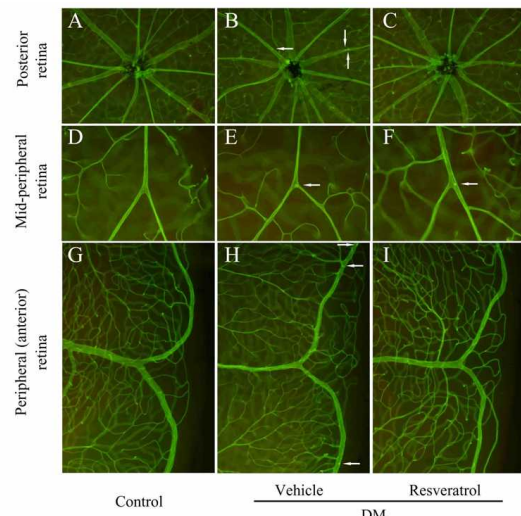
in vitro での糖付加刺激や in vivo 糖尿病網膜モデルにレスベラトロールを投与することにより、レスベラトロールの糖尿病網膜症における炎症病態に与える効果を解析する。

3. 研究の方法

6週齢のC57/B6マウスヘストレプトゾシン(STZ)を60mg/kg 5日間腹腔内投与施行し、1週間後に血糖値が250mg/ml以上のものを糖尿病マウスとした。13週齢のマウスに対しレスベラトロールを50mg/kg 7日間経口投与施行した。経口投与終了翌日に網膜への白血球接着をconcanavalin A lectin灌流法にて評価した。網膜におけるintercellular adhesion molecule (ICAM)-1とVEGFをELISA法にて評価した。網膜の成体内SIRT1活性をSIRT1の脱アセチル化能を測定する事により測定した。網膜のpNF kappaBはELISA法を用いて測定した。網膜のリン酸化AMPキナーゼ量をimmunoblot法にて定量し評価した。

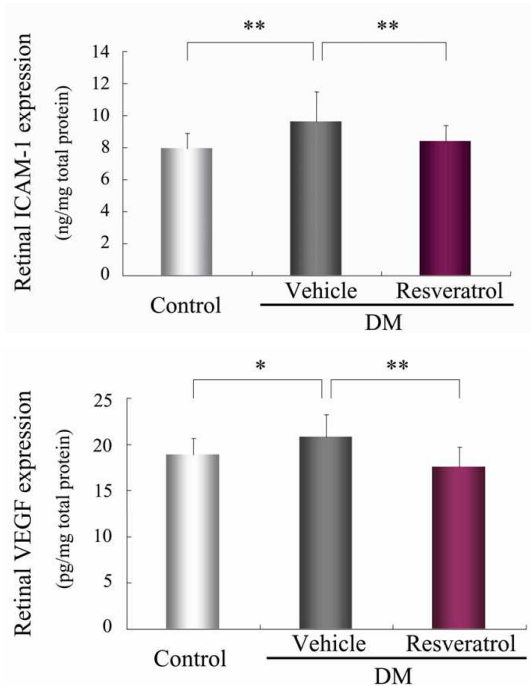
4. 研究成果

(1) マウスを2群に分け、レスベラトロール(50 mg/kg)とvehicleをそれぞれの群に7日間経口投与施行した。そして最終レスベラトロール投与後24時間での網膜血管への白血球接着数を測定した。測定にはFITC-ConA灌流法を用いた。その結果、白血球接着数は糖尿病-vehicle群に比べ糖尿病-レスベラトロール群は有意に抑制されていることがわかった。

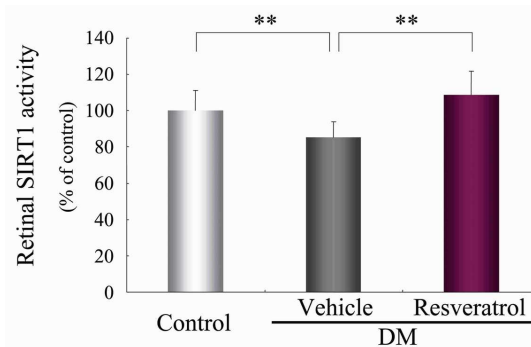


(2) レスベラトロールによる白血球接着数抑制のメカニズムを調べるために、前述の分

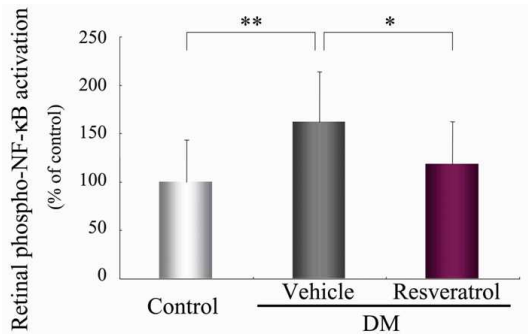
子であるICAM-1, VEGFをELISA法を用いて測定した。その結果、ICAM-1とVEGFの値は網膜において糖尿病-vehicle群で上昇を認め、糖尿病-レスベラトロール群で有意に抑制されていることがわかった。つまりレスベラトロールの投与により炎症関連分子であるICAM-1とVEGFが糖尿病網膜において抑制されることがわかった。



(3) SIRT1は生体内活性を測定した。網膜におけるSIRT1の生体内活性は糖尿病-vehicle群で抑制されていることを認め、糖尿病-レスベラトロール群でそれが有意に回復していることがわかった。



(4) 網膜のリン酸化NF kappaBをELISA法を用いて測定した。網膜のリン酸化NF kappaBはDM-vehicle群で上昇を認め、糖尿病-レスベラトロール群で有意に抑制されていることがわかった。



(5) リン酸化 AMP キナーゼの測定を Immunoblot 法を用いて行った。その結果、糖尿病-vehicle 群では control-vehicle 群に比べて有意にリン酸化 AMP キナーゼが減少していることがわかった。そして糖尿病-レスベラトロール群ではリン酸化 AMP キナーゼの量が有意に増加していた。

(6) これらの研究成果からレスベラトロールがまず AMP キナーゼの活性を活性化させ、その下流で SIRT1 の活性を回復するとともに NF-κB の活性を抑制し、その転写の下流にあたる ICAM-1 や VEGF の発現を抑制して網膜血管への白血球接着を抑制することにより、抗炎症効果を発揮したことを示した。今回のデータはレスベラトロールの抗炎症作用による糖尿病網膜症の抑制の可能性を示唆している。

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1件)

Kubota S, Ozawa Y, Kurihara T, Sasaki M, Yuki K, Miyake S, Noda K, Ishida S, Tsubota K
Roles of AMP-Activated Protein Kinase in Diabetes-Induced Retinal Inflammation
Invest Ophthalmol Vis Sci. 2011 Nov 25;52(12):9142-8. 査読有り

[学会発表](計5件)

第9回日本抗加齢医学会 東京
2011/05/27
久保田俊介、小沢洋子、栗原俊英、佐々木真理子、結城賢弥、三宅誠司、野田航介、石田晋、坪田一男
糖尿病網膜症における AMP キナーゼの役割

第115回日本眼科学会 東京
2011/05/13

久保田俊介、小沢洋子、栗原俊英、佐々木真理子、結城賢弥、三宅誠司、野田航介、石田晋、坪田一男
糖尿病網膜症における AMP キナーゼの役割について

Association for Research in Vision and Ophthalmology annual meeting at Florida, U.S.A., 2011/05/05

Kubota S, Ozawa Y, Kurihara T, Sasaki M, Yuki K, Miyake S, Noda K, Ishida S, Tsubota K.

Resveratrol Attenuates Diabetes-Induced Retinal Inflammation by Regulating an AMP-Activated Protein Kinase/Nuclear Factor-κB Axis

第31回日本炎症・再生医学会 東京
2010/08/05

久保田俊介、小沢洋子、石田晋、坪田一男
糖尿病網膜症に対する SIRT1 の抗炎症効果

Association for Research in Vision and Ophthalmology annual meeting at Florida, U.S.A., 2010/05/05

Kubota S, Kurihara T, Noda K, Ozawa Y, Oike Y, Ishida S, Tsubota K.

Resveratrol suppresses ocular inflammation in the Diabetic retina.

[図書](計0件)

[産業財産権]
出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

久保田 俊介 (KUBOTA SHUNSUKE)
慶應義塾大学・医学部・研究員(非常勤)
研究者番号：90406041