

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 17 日現在

機関番号：10107

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：23791955

研究課題名（和文）：プロレニンを標的とした糖尿病網膜症の新規治療薬の開発

研究課題名（英文）：The development of a new therapy for diabetic retinopathy targeting the receptor-associated prorenin system

研究代表者：

横田 陽匡（YOKOTA HARUMASA）

旭川医科大学・医学部・助教

研究者番号：60431417

研究成果の概要（和文）：今回我々は、糖尿病網膜症での組織低酸素によって生じる変化に着目して研究を開始した。網膜虚血再灌流では、組織低酸素と酸化ストレスが生じるが、プロレニン、（プロ）レニン受容体から構成される受容体随伴プロレニン系は亢進しなかった。改めて糖尿病、非糖尿病患者のデータを解析したところ、高血糖と高血圧が受容体随伴プロレニン系に深く関与していることを明らかにした。現在、我々プロレニンの網膜での役割を明らかにするために、ブタ摘出網膜血管を用いて新たな研究を進めている。

研究成果の概要（英文）：The present study for the first time demonstrated that reactive oxygen species derived from ischemia-reperfusion injury didn't activate the receptor-associated prorenin system in the retina. Moreover, the statistical analysis using the data from the patients with or without diabetes clearly demonstrated that the higher HbA1c and blood pressure were largely associated with the prorenin concentration in the blood. A further experiment is still being carried out using extracted porcine retinal arteriole in order to determine the role of prorenin in the regulation of retinal circulation.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：眼科学

キーワード：受容体随伴プロレニン系・糖尿病網膜症

## 1. 研究開始当初の背景

糖尿病網膜症は先進国における中途失明の主因で、今後も糖尿病患者の増加が見込まれることから、より有効な治療法の確立が待たれる。我々は、以前から受容体随伴プロレニン系に着目して研究を行ってきた。すなわち糖尿病網膜症が重症であるほど血中プロレニン値が高値を示すこと、さらに血中プロレ

ニン値が高値であれば、その後網膜症の発症や悪化を経験することを報告した。しかしながら受容体随伴プロレニン系を標的とした糖尿病網膜症の治療法は未だ確立されておらず、さらに受容体随伴プロレニン系が糖尿病網膜症の血管病変のみならず神経変性に関与しているかは明らかになっていない。

## 2. 研究の目的

そこで今回我々は、受容体随伴プロレニン系の網膜での役割を明らかにし、受容体随伴プロレニン系を標的とした糖尿病網膜症に対する新規治療薬の開発を目的として本研究を開始した。

## 3. 研究の方法

本研究では主に網膜虚血再灌流モデルを使用して研究を行った。糖尿病モデルを用いて網膜病変が観察されるまでには、数ヶ月を要することから、時間的な制約が生じる。このことから、同様の病変を1週間で観察する事ができる網膜虚血再灌流モデルを使用する事により研究の進展を促進することができる。網膜虚血再灌流モデルでの受容体随伴プロレニン系の変化を観察し、さらに siRNA で抑制する事により網膜保護効果を示すかを検討する。

## 4. 研究成果

### (1) 網膜虚血再灌流後に受容体随伴プロレニン系は変化しない。

これまでにも糖尿病では NFκB が核内に移行して、(プロ)レニン受容体の転写を行っていることが腎臓を用いた検討で明らかになっている。我々も以前に、網膜虚血再灌流では NFκB が活性化して、種々の炎症性サイトカインなどが放出して、結果として神経節細胞死を惹起することを報告した。まずは NFκB の活性化が確認できる網膜虚血再灌流6時間後と24時間後で、プロレニンと(プロ)レニン受容体の定量を行った。結果としてプロレニン、(プロ)レニン受容体のいずれも発現量に変化は確認できなかった。

### (2) レーザー誘導網膜静脈閉塞症でも、受容体随伴プロレニン系は変化しない。

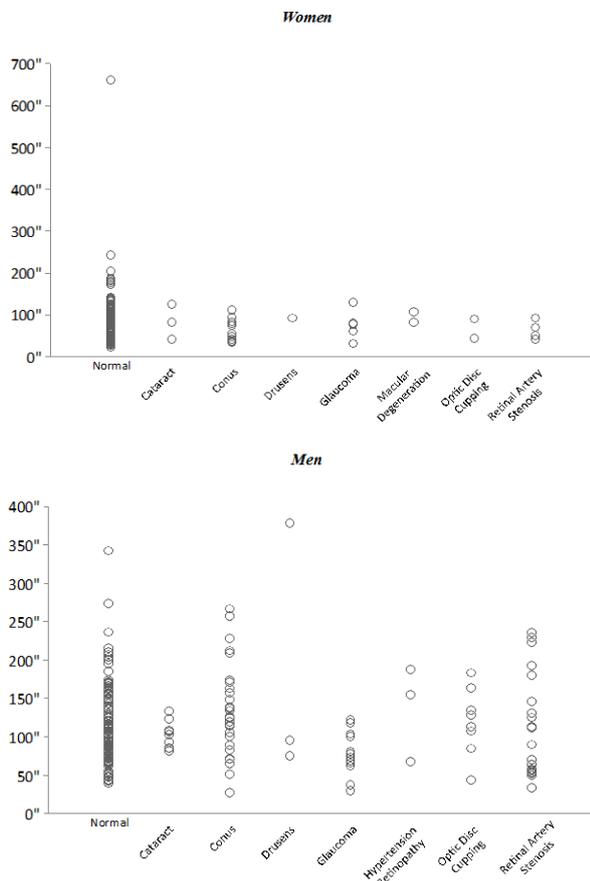
次に、レーザーで網膜静脈閉塞症(糖尿病網膜症と同じように、眼科で代表的な網膜虚血疾患)を作成して、プロレニンと(プロ)レニン受容体の発現を確認した。(1)と同様にウェスタンブロットを用いて検討した。結果としてプロレニンと(プロ)レニン受容体の発現に変化は見られなかった。

**小活1. 糖尿病網膜症の発症に酸化ストレスが強く関与していることは広く知られており、網膜虚血再灌流モデルは一時的に強い酸化ストレスを発生させる事により、糖尿病網膜症と同様の網膜病変を形成することが報告されている。しかし、今回の結果から単なる酸化ストレスの上昇によって受容体随伴プロレニン系は変化しないことが明らかになったので、本研究では siRNA を用いた検討を行わなかった。そこで我々は、糖尿病と非糖尿病患者の採血データを解析して、受容体随伴プロレニン系の眼疾患での重要性を改めて検討した。**

### (3) 成人では受容体随伴プロレニン系は、糖尿病網膜症以外の眼疾患とは強い関連はない(論文投稿予定)。

そこで我々は、まず非糖尿病患者における血清プロレニン値と眼疾患の関連性を検討した。糖尿病に罹患していない成人751名(男性:402名、女性:349名)を対象とした。結果を以下に示す。検出された眼科的異常は白内障(13名)、コーヌス(41名)、ドルーゼン(4名)、緑内障(17名)、高血圧性眼底(3名)、黄斑変性(2名)、視神経乳頭陥凹(10名)網膜動脈硬化(26名)であった。全く眼所見が観察されなかった群(control)と血清プロレニン値を比較したところ、全く有意差が確認されなかった。以前に我々が行った糖尿病患者での検討と異なるものであ

った。糖尿病患者では、非糖尿病患者に比べて血清プロレニン値が高値になり、さらに糖尿病網膜症が重症になるほど、血清プロレニン値が高値を示した。したがって、これらの検討をまとめると、血糖が血清プロレニン値に大きく影響していると考えられる。



**(4) 血清プロレニン値に影響を与える血糖以外の因子の検索 (論文投稿中)。**

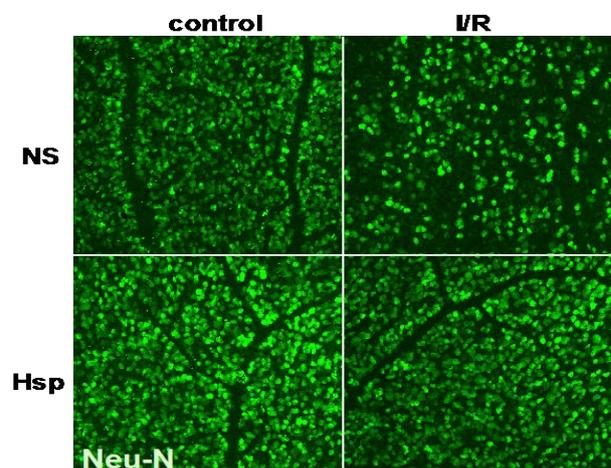
糖尿病網膜症の発症や悪化に関して、血糖コントロールが重要であることは周知の事実である。血糖コントロール以外に高血圧は糖尿病網膜症発症の危険因子であるが、受容体随伴プロレニン系との関連は報告されていない。そこで今回我々は、糖尿病患者で、高血圧を合併している患者 (DM+HT) と合併していない患者 (DM) とで血清プロレニン値を測定し、網膜循環パラメーター (網膜血流量 (RBF)、血流速度 (V)、血管径 (D)) との関

連性を検討した。DM 群では、血清プロレニン値と網膜循環パラメーターに有意な相関が観察されなかったが、DM+HT 群では血清プロレニン値と血流速度 (V) とで有意な相関が観察された ( $r=-0.29, p<0.01$ )。

**小活 2.** 成人では、受容体随伴プロレニン系は糖尿病網膜症以外の眼疾患とは有意な関連性がなかった。また糖尿病網膜症の発症リスクである高血圧は、受容体随伴プロレニン系の網膜循環に対する影響を増大させることが明らかになった。現在、受容体随伴プロレニン系の網膜循環での役割を明らかにするために、摘出ブタ網膜血管を用いた検討を行っている。

**(5) 分散ヘスペレチンは網膜神経節細胞を抑制する (論文投稿予定)。**

我々は受容体随伴プロレニン系の研究と同時に、強力な抗酸化ストレス作用を有するフラボノイドに着目して研究も行ってきた。分散ヘスペレチン (HSP) は、難水溶性であるヘスペレチンを体内に吸収しやすくするために開発されたフラボノイドの一種である。これを網膜虚血再灌流モデル (I/R) に投与したところ、生理食塩水 (NS) 投与群と比較して HSP 投与群では神経節細胞死が抑制された (下図参照. 神経節細胞が緑色に染色している)。今後はその機序と臨床応用に向けた研究を行っていく予定である。



まとめ. 網膜虚血再灌流モデルとレーザー網膜静脈閉塞症モデルを用いて、受容体随伴プロレニン系の網膜病変への関与を検討した。しかしプロレニンと（プロ）レニン受容体の発現に変化は見られなかった。また非糖尿病患者では網膜疾患と血清プロレニン値に関連性はなかった。以前の検討と併せると、受容体随伴プロレニン系は糖尿病網膜症に特異的に関連していることが明らかになった。また高血糖のみならず、高血圧も受容体随伴プロレニン系を亢進させている可能性が示唆された。また強力な抗酸化作用を示す分散ヘスペレチンは網膜の神経保護に有効であり、糖尿病網膜症の治療への応用に向けて研究を行っていく予定である。受容体随伴プロレニン系を標的とした糖尿病網膜症の新規治療薬の開発には、網膜での受容体随伴プロレニン系の役割をより詳細に明らかにする必要があると思われた。我々は、摘出ブタ網膜血管を用いた検討を行っている。

#### 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0件)

[学会発表] (計4件)

- ① 非糖尿病患者における血中プロレニン値に関係する因子
- ② The serum levels of prorenin in Non-Diabetic Subjects
- ③ 分散ヘスペレチンは虚血性網膜症の神経節細胞死を抑制する
- ④ Water-dispersible hespertin prevents ganglion cell loss in the retinal ischemia reperfusion injury

[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]  
ホームページ等

#### 6. 研究組織

(1) 研究代表者

横田 陽匡 (YOKOTA HARUMASA)  
旭川医科大学・医学部・助教  
研究者番号：60431417

(2) 研究分担者 なし  
( )

研究者番号：

(3) 連携研究者 なし  
( )

研究者番号：