

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 5 日現在

機関番号：10107

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24791828

研究課題名(和文) 新たな網膜循環調節因子と網膜症治療法の確立

研究課題名(英文) New regulating factor of retinal circulation and establishment of treatment of diabetic retinopathy

研究代表者

大前 恒明(Omae, Tsuneaki)

旭川医科大学・医学部・その他

研究者番号：30451470

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円、(間接経費) 690,000円

研究成果の概要(和文)：我々は、脂肪から産生されるアディポサイトカインの一つであるアディポネクチンが内皮依存性に網膜血管を拡張させることを示し、さらに2型の早期の糖尿病網膜症患者において、血中アディポネクチン濃度と網膜血流量が正の相関を示すことも明らかとした。以前の臨床研究で我々は、2型の早期の糖尿病網膜症の患者において、網膜血流量が低下しているという結果を得ていることから、血中の低下したアディポネクチンが網膜血流量を低下させ、網膜症の進展につながっているかもしれない。したがって、アディポネクチンの活動性を強めることが新しい治療法につながるかもしれない。

研究成果の概要(英文)：We showed that adiponectin, an important adipocytokine secreted by adipocytes, elicits mainly endothelium-dependent dilation of the retinal arterioles. Furthermore, there appears to be a positive relationship between plasma concentration of adiponectin and retinal blood flow in early-stage diabetic retinopathy in patients with type 2 diabetes mellitus. Because, our previous clinical study found that RBF is impaired in early-stage diabetic retinopathy in patients with type 2 diabetes mellitus, it is likely that a decreased serum adiponectin level may impair the RBF, resulting in development of retinopathy, in patients with type 2 diabetes mellitus. therapeutic interventions that enhance the actions of adiponectin may lead to a novel potential treatment.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：眼科学

キーワード：網膜循環

1. 研究開始当初の背景

糖尿病網膜症は、糖尿病慢性合併症の1つで、成人失明の主な原因であり、その糖尿病網膜症の治療確立が急務である。糖尿病の発症には、遺伝素因だけでなく、高脂肪食・運動不足などに代表される欧米型生活習慣病の環境因子も大きく関与している。そのため、エネルギー過剰に陥りやすい環境因子が原因で、脂肪が蓄積することにより、肥満症・高血糖・高血圧・脂質異常が重複するいわゆるメタボリックシンドロームの発症が問題となっている。このように脂肪の過剰蓄積が、糖尿病をはじめ、メタボリックシンドロームの発症基盤となっており、さらには糖尿病網膜症の発症の一因と考えられる。最近、われわれは、2型糖尿病患者の眼循環の臨床研究を行い、網膜症発症前・発症早期に網膜血流が低下していることを見出した (IOVS 2010)。このことから、脂肪組織が網膜血管機能に影響を及ぼし、網膜症の病態に早期から関わっていると推測され、脂肪組織による循環調節に早期に介入することで、網膜循環を改善させ、網膜症発症の予防につながることを期待される。脂肪組織は、余剰なエネルギーの貯蔵だけでなくTNF- α (tumor necrosis factor- α)やIL-6(Interleukin-6)等さまざまな炎症性サイトカインを分泌する内分泌器官としても知られている。しかし、一方で、脂肪細胞は、抗炎症・抗動脈硬化作用を有するアディポネクチンを放出する事も知られている。このアディポネクチンは、血管内皮や脂肪細胞等に発現しているアディポネクチン受容体を介し、抗炎症・抗動脈硬化作用等さまざまな生理作用を有することが注目されている。このアディポネクチンの血中濃度の低下が、肥満・糖尿病・心血管疾患においてみられることが、多くの臨床研究で示されている。さらに、2型糖尿病患者において、糖尿病網膜症の重症度とアディポネクチン血中濃度の低下と関連があると報告されており、加えて、血管内皮

細胞の培養研究において、アディポネクチン投与により一酸化窒素(NO)が産生されることも知られている(Cheng Diabetes 2007)。このNOは強力な血管拡張物質の一つで、われわれのこれまでの基礎研究でもNOが網膜循環の主要なメディエーターであることを示した(IOVS 2002, 2003)。つまり、血中アディポネクチン濃度の低下がNO放出を減少させ、眼循環に影響を与え、網膜症の発症に関与している可能性がある。また、2型糖尿病のモデルマウスの骨格筋や脂肪細胞において、アディポネクチン受容体の発現量の低下がみられ(Tsuchida J Biol Chem, 2004)、アディポネクチン受容体がアディポネクチン感受性制御に重要な役割を果たしている可能性も示唆されるが、アディポネクチンとアディポネクチン受容体が眼循環を調節しているかは不明である。さらに最近、低下した血中アディポネクチン濃度やアディポネクチン受容体の発現を回復させる薬剤が多数報告(Iwaki Diabetes 2003)されており、これらの薬剤による眼循環の影響を検討するとともに、アディポネクチンとアディポネクチン受容体の眼循環調節因子としての可能性も検討することで、アディポネクチンやアディポネクチン受容体を標的とした新しい網膜血管治療法の開発を目指している。本研究では、我々が確立した眼循環のin vitroおよびin vivo実験系を用いて以下の課題に対して検討を行いたい。

2. 研究の目的

糖尿病網膜症は発症の背景に網膜血流の低下があり、その低下した血流の改善をターゲットとした新たな網膜症の治療が期待されている。近年、脂肪細胞は、多くの悪玉のサイトカインだけでなく、抗炎症・抗動脈硬化作用を有するアディポネクチンという善玉のサイトカインも分泌する事が知られている。さらに、網膜症の病態にアディポネクチン血中濃度低下の関与が示唆されており、アディポネ

クチンが網膜循環の調節因子の可能性がある。本研究ではアディポネクチンの網膜循環への影響を詳細に検討し、網膜症の原因となる網膜循環障害の改善につなげ、将来的には2型糖尿病患者における網膜症の発症進展を予防する集学的治療法の確立を目指したい。

3. 研究の方法

平成24年度の研究実施計画

アディポネクチンの網膜血管への作用として、ブタ網膜摘出血管とヒト網膜血管内皮細胞のin vitro実験系にて、アディポネクチンの網膜血管への拡張能の有無とその拡張のメカニズムの解明と、ネコを用いたin vivoの血流実験系にて、アディポネクチンを硝子体中に注入し、網膜循環への影響を測定する。また、アディポネクチン血中濃度の変化が、網膜循環にどのように影響するのか検討するため、血中アディポネクチン濃度の増加作用が報告されているインスリン抵抗性改善薬であるピオグリタゾンを含んだ餌をネコに与え、高アディポネクチン血中濃度の状態での網膜循環を測定する。さらに、高血糖負荷による網膜血管内皮障害時での網膜循環への影響も確認する。アディポネクチン受容体自体の存在が重要とされているが、未だに網膜血管において確認されていなく、免疫染色を用い、ブタ網膜摘出血管におけるアディポネクチン受容体の存在を確認する。次に、ヒト網膜血管内皮細胞のin vitro実験系にて、高血糖負荷を行い、アディポネクチン受容体の発現が低下するか確認する。アディポネクチン受容体が低下すれば、高血糖負荷と同時に受容体発現低下の改善効果が報告されている脂質改善薬のフェノフィブラートを投与し、発現の低下の回復効果を検討する。Osmotinがアディポネクチン受容体作動薬として報告されており、ブタ網膜摘出血管のin vitro実験系にて、このOsmotinの血管拡張作用の有無とその拡張のメカニズムを解明していく。さらに、in vivoネコ血流研究にてOsmotinの硝子体投与を行い網膜循

環への影響を検討する。さらに、ヒト網膜血管内皮細胞のin vitro実験系にて、高血糖負荷がアディポネクチン受容体の発現を低下させれば、高血糖負荷による、受容体発現低下時のOsmotinの効果を確認する。加えて、受容体発現低下の改善効果が報告されているフェノフィブラートの網膜血管での受容体発現改善効果を確認するため、高血糖負荷時にフェノフィブラートを同時投与して、Osmotinの網膜循環効果を同様の方法で測定する。

平成25年度の研究実施計画

平成24年度の基礎研究の結果を重ねることでアディポネクチンの眼循環に対する知識を深め、平成25年度では、主に、臨床研究を行い、血中及び硝子体中のアディポネクチン濃度と網膜循環の関連性を検討したい。2型糖尿病患者における血中および硝子体中アディポネクチン濃度測定と網膜循環との関連性について網膜症患者では、血中のアディポネクチン濃度と重症度が関連しているとの報告があり、アディポネクチンが網膜症の発症・進展に関与している可能性がある。そこで、2型糖尿病患者における網膜循環と血中および硝子体中のアディポネクチン濃度の関連を検討する。網膜循環の評価には、レーザードップラー眼底血流計を用い、同時に血中の濃度も測定し関連を調べる。さらに、増殖糖尿病網膜症や糖尿病黄斑浮腫を有し、硝子体手術の適応となった患者を対象に、術中に硝子体液を一部採取し、硝子体内のアディポネクチン濃度を測定し、網膜循環との関連を調べる。血中アディポネクチン濃度を増加させる薬剤が多数報告されているなかで、その薬剤のひとつであるインスリン抵抗性改善薬ピオグリタゾンの網膜血管拡張作用をブタ網膜摘出血管のin vitro実験系にて、われわれは報告した(IOVS 2011)。また、網膜症発症の背景に網膜血流量の低下の関与が示唆されていることから、2型糖尿病患者において、ピオグリ

タゾンの内服により、網膜循環改善効果と網膜症の発症進展の抑制効果の関連を検討する。さらに、このピオグリタゾンがアディポネクチン濃度を増加させることが知られており、このピオグリタゾンによるアディポネクチン血中濃度増加が網膜循環に与える影響も検討するため、2型糖尿病患者を対象に、ピオグリタゾン内服前後の血中のアディポネクチン濃度の変化を測定し、同時に網膜循環の変化も測定する。この網膜循環の評価には、レーザードップラー眼底血流計を用いる。

4. 研究成果

平成24年度の研究により、以下の成果を得た。

1) 脂肪細胞から分泌されるサイトカインであるアディポネクチンの血中濃度の低下と糖尿病網膜症の重症度と関連があるという報告があるが、アディポネクチンの網膜血管の直接作用について、詳しく検討されていなかった。そこで今回われわれは、ブタの網膜摘出血管を用いたin vitro実験により、アディポネクチンが濃度依存性に血管拡張作用させることを確認できた。さらにこの血管拡張は、一酸化窒素(NO)合成阻害薬や血管内皮剥離により有意に同程度抑制されたことから、この血管拡張は、内皮から産生されたNOが関与していることが考えられた。

2) アディポネクチンは、アディポネクチン受容体を介し、さまざまな生理作用を有する事から、アディポネクチンだけでなくアディポネクチン受容体も網膜症の病態に関与しているものと考えられる。しかし、網膜血管においてアディポネクチン受容体の存在が確認されていなく、今回、免疫染色にてブタ網膜血管の内皮にアディポネクチン受容体が存在することを確認した。上記1)2)について論文を発表した。

平成25年度の研究により、以下の成果を得た。

網膜症患者において、血中のアディポネクチン濃度と相関するという報告があり、また、網膜症早期に網膜血流量が低下している報告(IOVS 2010)から、アディポネクチンが網膜症発症・進展に関与している可能性がある。そこで2型糖尿病患者における網膜循環と血中のアディポネクチン濃度を検討し、網膜血流量とアディポネクチン濃度が有意に正の相関を示した。今後この内容は、学会発表予定。また硝子体のアディポネクチン濃度は濃度が低すぎるのか検出できず。

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. Adiponectin-Induced Dilation of Isolated Porcine Retinal Arterioles via Production of Nitric Oxide from Endothelial Cells.
Invest Ophthalmol Vis Sci. Jul 10;54(7):4586-94, 2013.

Omae T, Nagaoka T, Tanano I, Yoshida A.

2. Homocysteine inhibition of endothelium-dependent nitric oxide-mediated dilation of porcine retinal arterioles via enhanced superoxide production.
Invest Ophthalmol Vis Sci. Mar 28;54(3):2288-95, 2013.

Omae T, Nagaoka T, Tanano I, Yoshida A.

[学会発表](計 件)

[図書](計 件)

[産業財産権]
出願状況(計 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 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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大前 恒明 (Omae Tsuneaki)
旭川医科大学 医学部 助教
研究者番号：30451470

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：