

令和2年2月13日

## 糖尿病網膜症における網膜機能障害の解明 ～ 新たな治療戦略への挑戦 ～

名古屋大学大学院医学系研究科眼科学の鈴木 文那 大学院生、兼子 裕規 病院講師、寺崎 浩子 教授らの研究グループは、糖尿病網膜症における網膜機能障害<sup>\*1</sup>のメカニズムを解明し、網膜障害抑制のメカニズムとその効果を明らかにしました。

糖尿病の三大合併症の1つである糖尿病網膜症（DR）では、不可逆的な網膜機能障害（網膜内神経細胞の障害）が問題となるため早期からの神経保護治療が重要ですが、診断基準となる眼底異常の所見が出現する前から当障害は起きていると言われていています。本研究では、神経栄養因子の中でも糖尿病で低下すると言われてしているBDNF<sup>\*2</sup>に注目し、 $\omega$ 3脂肪酸の1つであるエイコサペンタエン酸（EPA）を内服することにより視床下部<sup>\*3</sup>でのBDNF産生が改善されるという報告を元に、EPA内服による眼内でのBDNF産生の改善と網膜機能改善の可能性を検討しました。

DRでBDNFを眼内で産生するMüller細胞<sup>\*4</sup>に障害が生じ、BDNFの産生が低下することで網膜内神経細胞であるAmacrine細胞の活性が低下するという一連のメカニズムに対して、EPAを内服することによってBDNF産生の改善と網膜電図<sup>\*5</sup>の所見が改善しました。また、EPAは体内で代謝された後、特に18-HEPE<sup>\*6</sup>という形で作用していることを発見しました。このことから、EPAの内服によりDR早期の網膜機能障害が抑制される可能性が示唆されました。

本研究は、2020年2月6日付け（日本時間正午）国際医学総合誌「Diabetes」（電子版）に公開されました。

本研究は、日本学術振興会科学研究費助成事業若手研究（B）（課題番号：H.K., 17K16963）、基盤研究（C）（課題番号：H.K., 19K09988）、若手研究（課題番号：N.N., 18K16922）、武田科学振興財団、高齢者眼疾患研究財団の助成を受けました。

## ポイント

- 糖尿病の三大合併症の1つである糖尿病網膜症（DR）では、不可逆的な網膜内神経細胞の障害が問題となるため、DR 罹患早期からの神経保護治療が重要である。
- DR における網膜機能障害には Müller 細胞から産生される神経栄養因子の BDNF の減少も関与しており、 $\omega$ 3 脂肪酸の1つであるエイコサペンタエン酸（EPA）の内服で網膜内 BDNF の発現が明らかに改善されることを示した。
- EPA の代謝産物のうち、特に 18-HEPE が特定の組織のみに作用し、BDNF 産生・網膜内神経細胞機能をそれぞれ改善することから、内服した EPA の DR における網膜神経障害に対する有用性とそのメカニズムが明らかになった。

## 1. 背景

糖尿病網膜症（DR）は糖尿病による三大合併症の1つであり、DR による失明を予防することは社会的損失の軽減に直結する重要な課題です。DR は不可逆的な網膜機能障害（網膜内神経細胞の障害）が問題となるため、DR 罹患早期からの神経保護治療が重要ですが、診断基準となる眼底異常の所見が出現する前から網膜機能障害は起きていると言われていています。DR は初期の段階から、“Neurovascular unit impairment”として神経変性と微小血管の障害が密接に関わっており、網膜内神経細胞が DR に大きく影響する新たな血管形成に関与しています。そこで、研究グループは神経栄養因子の1つである BDNF が DR 患者で低下していることに注目し、BDNF 発現を改善させ網膜機能障害抑制の可能性を検討することにしました。

これまでも BDNF の硝子体<sup>\*7</sup>注射や BDNF を産生する遺伝子組み換え細胞の網膜下移植等の方法が試みられてきましたが、いずれも侵襲性は低くはありませんでした。一方、 $\omega$ 3 脂肪酸の1つであるエイコサペンタエン酸（EPA）を内服することにより視床下部での BDNF 産生が改善されるという報告を元に、本研究では EPA 内服という、より低侵襲な方法による眼内での BDNF 産生の改善と網膜機能改善の可能性を検討すると共に、そのメカニズムを検証することにしました。

## 2. 研究成果

DR 患者の硝子体中の活性酸素濃度が明らかに高いことと、DR 発症に酸化ストレス<sup>\*8</sup>が関与していることから、細胞実験では酸化ストレスとして過酸化水素を細胞に投与することで DR モデルとしました。BDNF を産生する Müller 細胞として MIO-M1 細胞を網膜内神経細胞である Amacrine 細胞として PC12D 細胞を用い、それぞれに対して過酸化水素を投与したところそれぞれの細胞増殖の機能は低下し、MIO-M1 細胞の BDNF 産生機能も低下しました。一方、PC12D 細胞に対して BDNF を投与したところ、その軸索<sup>\*9</sup>の長さが短くなる変化が抑えられ、酸化ストレス下の PC12D 細胞でも投与する BDNF の濃度が高いほど、細胞増殖の機能は改善しました。

次に、動物実験ではストレプトゾシン（STZ）という薬剤をラットの腹腔内に注射して糖尿病モデルラットとしました。これをコントロール群・STZ 群・EPA 群の3グループに分け、EPA 群には5%EPAを含む餌を与え、コントロール群と STZ 群に対しては $\omega$ 3 脂肪酸を含まず、かつ5%ひまわり油を含む餌を与えました。8週間これらの餌をそれぞれ与えた後、全身状態の評価と網膜電図、網脈絡膜<sup>\*10</sup>サンプルの解析を行いました。実験開始から8週間後、STZ 群と EPA 群では

コントロール群と比較して体重の減少・血糖値が上昇し、ケトosis<sup>\*11</sup>にもなっていました。これら2群間には明らかな差はありませんでした。一方、網膜電図にて Amacrine 細胞由来と言われている律動様小波（OP 波）をそれぞれ比較したところ、STZ 群で低くなっていた OP 波の振幅は EPA 群で明らかに改善しました（図 1）。また、網脈絡膜サンプルの解析により、STZ 群で上昇した酸化ストレスマーカーは EPA 群で低下し、STZ 群で低下した BDNF 産生量は EPA 群で明らかに改善しました。以上より、EPA の内服により全身状態の改善はなかったものの網膜内の酸化ストレスの改善とともに BDNF 産生は改善し、DR により低下した Amacrine 細胞の機能も EPA の内服で改善することがわかりました。一方、網脈絡膜サンプルを脂質質量解析したところ、EPA 群で EPA の代謝産物がいくつか検出されました。

これらを MIO-M1 細胞に投与したところ、18-HEPE のみが BDNF 産生を改善させたので、この作用を動物実験でも確認してみることにしました。その結果、18-HEPE と同量の PBS を硝子体注射すると、18-HEPE 投与眼において OP 波の改善と BDNF 産生改善を確認できました。

以上の結果から、高血糖下で産生された酸化ストレスにより Müller 細胞が障害され、その BDNF 産生が低下することで Amacrine 細胞の活性が低下するという一連のメカニズムに対して、EPA の内服により BDNF 産生の改善と Amacrine 細胞障害が抑制されることが確認でき、さらに、内服した EPA は体内で 18-HEPE に代謝されて特定の網膜にのみ作用していることがわかりました（図 2）。

図 1

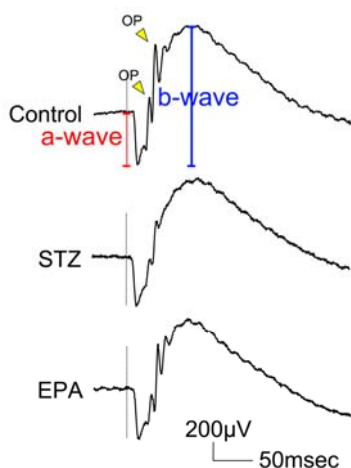
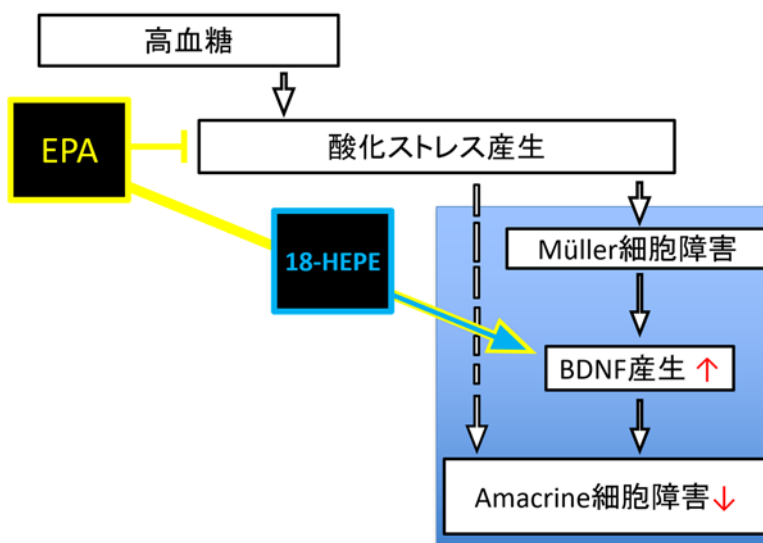


図 2



### 3. 今後の展開

今回の研究で、DR で観察される網膜機能障害には Amacrine 細胞への直接的な障害だけでなく Müller 細胞から産生される BDNF の減少が関与することが示唆されました。また、EPA 内服後の代謝産物である 18-HEPE の特定の作用によって BDNF 産生・網膜内神経細胞機能が改善されることがわかりました。したがって、EPA 内服には神経栄養因子を介して DR 早期の網膜障害を改善する可能性があり、新たな治療戦略になると考えられます。

#### 4. 用語説明

- ※ 1 網膜機能障害：入ってきた光を電気エネルギーに変換して脳へと情報を送るといった網膜の機能が正常に働かなくなること。
- ※ 2 BDNF：神経細胞の成長、維持や再生を促進するタンパク質。
- ※ 3 視床下部：脳の一部で、内分泌や自律神経の働きを調節する組織。
- ※ 4 Müller 細胞：網膜を構成する細胞の一種。網膜を物理的に支える柱のような働きの他にも、網膜内の他の細胞機能維持にも関与している。
- ※ 5 網膜電図：網膜に強い光を当てて発生した電位の変化を記録することで、網膜の機能を調べる検査機器。その波形は Amacrine 細胞含め網膜内の細胞に由来しており、振幅の大きさなどでそれぞれの細胞の機能を評価できる。
- ※ 6 18-HEPE：魚油などに含まれる EPA（エイコサペンタエン酸）が代謝されてできる物質。
- ※ 7 硝子体：眼の内腔を埋めるゼリー状の組織。
- ※ 8 酸化ストレス：酸化反応により引き起こされる、生体にとって有害な作用。
- ※ 9 軸索：神経細胞の持つ突起で、他の細胞へ情報を出力する際に働く部分。
- ※ 10 網脈絡膜：眼球内組織のうち、網膜と脈絡膜の総称。
- ※ 11 ケトーシス：糖質の代謝障害により、体内のケトン体が異常に増量した状態。

#### 5. 発表雑誌

掲雑誌名：Diabetes（日本時間 2020 年 2 月 6 日付の電子版）

論文タイトル：Omega-3 Fatty Acid and its Metabolite 18-HEPE Ameliorate Retinal Neuronal Cell Dysfunction by Enhancing Müller BDNF in Diabetic Retinopathy

著者：Ayana Suzumura<sup>1</sup>, Hiroki Kaneko<sup>1</sup>, Yasuhito Funahashi<sup>2</sup>, Kei Takayama<sup>3</sup>, Masatoshi Nagaya<sup>1</sup>, Seina Ito<sup>1</sup>, Toshiaki Okuno<sup>4</sup>, Toshiaki Hirakata<sup>4,5</sup>, Norie Nonobe<sup>1</sup>, Keiko Kataoka<sup>1</sup>, Hideyuki Shimizu<sup>1</sup>, Rina Namba<sup>1</sup>, Kazuhisa Yamada<sup>1</sup>, Fuxiang Ye<sup>6</sup>, Yoko Ozawa<sup>7</sup>, Takehiko Yokomizo<sup>4</sup>, Hiroko Terasaki<sup>1</sup>

所属：<sup>1</sup>Department of Ophthalmology, Nagoya University Graduate School of Medicine, Nagoya, Japan

<sup>2</sup>Department of Urology, Nagoya University Graduate School of Medicine, Nagoya, Japan

<sup>3</sup>Department of Ophthalmology, National Defense Medical College, Japan

<sup>4</sup>Department of Biochemistry, Juntendo University School of Medicine, Tokyo, Japan

<sup>5</sup>Department of Ophthalmology, Juntendo University Graduate School of Medicine, Tokyo, Japan

<sup>6</sup>Department of Ophthalmology, Department of Ophthalmology, Shanghai First People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai, China

<sup>7</sup>Department of Ophthalmology, Keio University School of Medicine, Tokyo, Japan

DOI：10.2337/db19-0550

English ver.

[https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical\\_E/research/pdf/Dia\\_200213en.pdf](https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical_E/research/pdf/Dia_200213en.pdf)