

## 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 25 年 5 月 17 日現在

機関番号： 14101  
研究種目： 研究活動スタート支援  
研究期間： 2011 ～ 2012  
課題番号： 23890084  
研究課題名（和文） 妊娠糖尿病における網膜症の進行機序解明と治療・検査への応用  
研究課題名（英文） Mechanism of retinopathy associated with Gestational diabetes mellitus and its application for clinical diagnosis  
研究代表者  
杉本昌彦（SUGIMOTO MASAHIKO）  
三重大学・医学部附属病院・講師  
研究者番号： 00422874

研究成果の概要（和文）：妊娠糖尿病(Gestational diabetes mellitus, GDM) で併発した網膜症は、劇症化することがあり、通常と異なる機序が関与している。類似した病態である、血糖コントロールに伴う網膜症劇症化に Betacellulin (BTC) という蛋白質が関与し、これが、血管内皮増殖因子 (VEGF) とともに本疾患の原因となると考え、正常・妊婦・糖尿病・GDM 妊婦の血中濃度とマウスモデルの網膜における発現をしらべた。

血中の VEGF は GDM 群で低下していたが BTC は増加していた。マウス網膜でも同様の傾向であり、血管透過性亢進が GDM 群で認められた。以上から、GDM では VEGF でなく BTC が劇症化に関与する可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）： It is possible for patients with Gestational Diabetes Mellitus (GDM) to have a complication of Diabetic Retinopathy (GDM-DR). It can become a fulminant GDM-DR rapidly unlike the common retinopathy, and there is a different mechanism working. Betacellulin (BTC) is a pathology that is similar to GDM-DR. It is a protein that is involved in the blood glucose control associated with the fulminant GDM-DR. It is also possible for Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) to become the cause of GDM-DR along with BTC. Under the approval of the ethics committee, blood samples from healthy, pregnant, diabetic females and pregnant females with GDM were collected and analyzed. At the same time, mouse models were made and the protein expressions in the retina was studied.

In human blood, VEGF in the GDM group had decreased. And there was a tendency of BTC to increase. In the mouse models, similar trends were seen in the VEGF and BTC expressions increase of vasopermeability was seen in the GDM group. From these results, the possibility that VEGF is inhibited but BTC is increased in the GDM group and that it is involved with the increase of vasopermeability and onset of retinopathy were indicated.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2011年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2012年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,500,000	750,000	3,250,000

研究分野：医歯薬学 外科系臨床医学

科研費の分科・細目：眼科学

キーワード：妊娠糖尿病、Betacellulin、血管内皮増殖因子、糖尿病網膜症

1. 研究開始当初の背景

妊娠糖尿病(Gestational diabetes mellitus, GDM) は妊娠に合併して発症する糖尿病(Diabetes mellitus, DM)ならびに糖尿病患者の妊娠の総称である。妊娠に伴う全身状態のさまざまな変化は微小循環障害に結びつき、腎障害や網膜症(GDMに合併したDiabetic Retinopathy, GDM-DR)などの合併症を引き起こす。さまざまな因子がGDM-DR発症に関与するとされているが、通常のDRとは異なり、急速に重篤化することがあるため別個の機序が関与している可能性がある。

申請者らは、これまでにDR進行に関与するさまざまな分子に関する生化学的研究を行い、それらの網膜血管新生・血管透過性亢進に果たす役割を解明することに取り組んできた。特にEpidermal growth factor (EGF)ファミリーのひとつであるbetacellulin (BTC)の機能解析を進めてきた。BTCはマウス膵β-cell carcinoma細胞の培養上清から単離された32kDaの蛋白質であり、膵摘出後の残存膵におけるβ-cellの再生や、膵腫瘍の進展に関与するとされている。また妊娠初期に胎盤での発現増加があることや、BTC過剰発現マウスにおいては子宮・卵巣での発現増強がみられることなどから、妊娠にも関

与している可能性が明らかになってきている。

申請者らはこれまでに、以下のようにBTCがDR進展に果たす役割を明らかとしてきた。

- ① BTCは強い網膜血管透過性亢進作用を有し、DMモデルマウスやDM患者の網膜において発現が増強している(Apte et al., 2010)。
- ① ▪ BTCは網膜色素上皮細胞(Retinal pigment epithelium cells, RPE cells)に強く発現し、とくに細胞間接着装置であるTight junction (TJ)に局在していた(Sugimoto et al., 2012&2013)。
- ② ▪ 培養RPE cellsにおいて、インスリン刺激によるBTCの発現増強と同時に、TJの崩壊による透過性亢進が生じる(Sugimoto et al., 2012&2013)。
- ③ ▪ インスリン刺激によるこの変化は選択的EGFR阻害剤であるAG1478やBTC siRNAにより抑制された(Sugimoto et al., 2012&2013)。

特に、上記③・④はインスリンによる急激な血糖コントロールに伴うDRの進行、いわゆるEarly worsening (EW)発症にBTCが関与していること

を示唆するものである。EWの特徴としては 1)急激な進行を呈すること、2) 自然寛解がみられること などがあり、これは GDM-DR の特徴に類似している。しかしながら正常妊婦や GDM-DR 患者における BTC の挙動についての報告はない。

## 2. 研究の目的

申請者らは、これまでに DR 進行に関与するさまざまな分子に関する生化学的研究を行い、それらの網膜血管新生・血管透過性亢進に果たす役割を解明することに取り組んできた。今回、我々は GDM-DR 発症への BTC、ならびに血管新生に関与した他の蛋白質の果たす役割を明らかにする。

## 3. 研究の方法

倫理委員会の承認の元、正常女性・妊婦・糖尿病女性・GDM妊婦の血液検体を採取し、ELISAによる解析をおこなった。また、BL-6マウスを自然妊娠させることで妊娠モデルマウスを、またストレプトゾトシン投与により糖尿病モデルマウスを作成し、これを妊娠させることにより糖尿病合併妊娠モデルを作成した。加えて、1型糖尿病モデルであるアキタマウスを用いて、妊娠糖尿病モデルマウスを作成した。これらにおいて、網膜血管透過性の変化について検討した。続いて、網膜を採取し、網膜における各種蛋白の発現をしらべた。

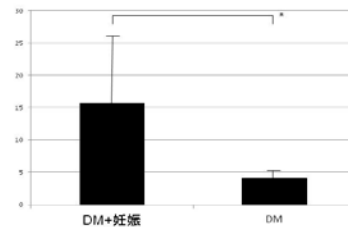
## 4. 研究成果

ヒト血液では、GDM群においてVEGFはDM群に比し低下していた。また、BTCはGDM群において増加する傾向が認められた。マウス網膜では血管透過性の上昇がGDM群で認められ、VEGFならびにBTC発現も同様の傾向がみとめられた。以上から、GDM群においてVEGFは抑制されるがBTCは増加し、血管透過性上昇と網膜症発

症に関与している可能性が示唆された。しかし、今回のヒトGDM群は血糖コントロールが良好であり、経過中に網膜症増悪を呈した症例は認めなかった。このことから、網膜症増悪を呈するGDM群についても今後症例を増やし、検討する必要があると考えられている。

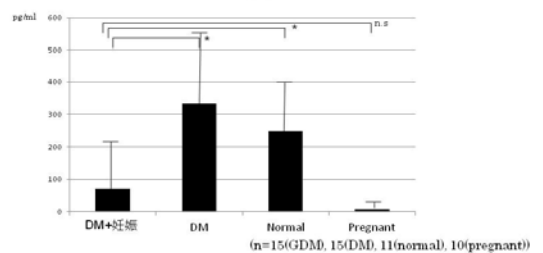
本研究内容は2013年に行なわれる日本糖尿病眼学会（8月、神戸）ならびに日本臨床眼科学会（10月、横浜）において発表予定である。

### 妊娠糖尿病モデルにおける網膜血管透過性

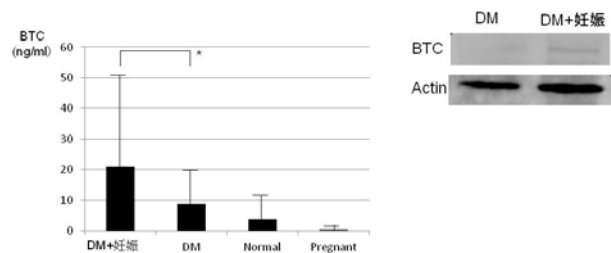


アキタマウスを用いたモデルにおいて、妊娠により網膜血管透過性は亢進した

### 血管内皮増殖因子(VEGF) —ヒト血清—



### ベタセルリン(BTC)



## 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 4 件)

1. Sugimoto M, Cutler A, Grossman G, Anand-Apte B (2013) Inhibition of EGF signaling protects the diabetic retina from insulin-induced vascular leakage. *Am J Pathol.* (in press) 査読あり
2. Sugimoto M, Kondo M, Horiguchi M (2013) Uniform suspension of the clustered triamcinolone acetonide particle. *J Ophthalmol.* 2013;2013:315658. doi: 10.1155/2013/315658. 査読あり
3. Nakaseko Y, Kamatani M, Kondo M, Uji Y, Sugimoto M (2012) Complications Following Inappropriate Intravitreal Triamcinolone Acetonide Injection *Open Journal of Ophthalmology*, 2012, 2, 114-115 doi:10.4236/ojoph.2012.24024 査読あり
4. Sugimoto M, Cutler A, Grossman G, Anand-Apte B (2012). Regulation of retinal vascular permeability by betacellulin. *Adv Exp Med Biol.* 723:293-8. 査読あり

[学会発表] (計 6 件)

- 1) 杉本昌彦. 糖尿病網膜症治療に関する最近の話題. 三重県眼科セミナー (招待講演). 2013年04月14日. 津.
- 2) 杉本昌彦. 妊娠糖尿病に伴う網膜症とVEGFの関係. 日本糖尿病眼科学会. 2013年08月23日～2013年08月25日. 神戸.

- 3) Masahiko Sugimoto. Uniform suspension of MaQaid®; new Triamcinolone Acetonide drug. ARVO 2012年05月06日～2012年05月09日 Fort Lauderdale, FL, USA.
- 4) 杉本昌彦. トリアムシノロンアセトニド製剤 (マキユエイドR) の新規懸濁方法による術中硝子体視認性の向上. 日本臨床眼科学会. 2012年10月25日～2012年10月28日. 京都.
- 5) 宮田良平, 杉本昌彦. ピオグリタゾン塩酸塩製剤 (アクトスR) による糖尿病黄斑浮腫に關与する因子の檢索. 日本網膜硝子体学会. 2012年11月29日～2012年12月02日. 甲府.
- 6) 杉本昌彦. 糖尿病黄斑症の最近の知見. 鈴鹿亀山眼科セミナー (招待講演). 2012年07月11日. 鈴鹿.

[図書] (計 1 件)

杉本昌彦. 「新しい眼底視野計, maia™の特徴について教えてください」. 専門医のための眼科診療クオリファイ 14 - 網膜機能検査 A to Z. 中山出版. 東京. 2012

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

杉本昌彦 (SUGIMOTO MASAHIKO)

三重大学・医学部附属病院・講師

研究者番号: 00422874