

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 12 日現在

機関番号：13601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K20252

研究課題名(和文) 非侵襲的な眼球内終末糖化産物測定方法を用いた糖尿病黄斑浮腫治療効果予測方法の開発

研究課題名(英文) Noninvasive measurement of advanced glycation end product level to predict the curative effect of diabetic macular edema

研究代表者

平野 隆雄 (HIRANO, Takao)

信州大学・医学部附属病院・助教(特定雇用)

研究者番号：90735151

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,500,000円

研究成果の概要(和文)：糖尿病黄斑浮腫(DME)は社会的失明の原因となる。Ranibizumabは良好なDME治療効果をもたらすが、治療抵抗性症例も散見される。そのため、治療前に治療効果を予測できる因子の検討は非常に重要である。糖尿病患者の血中・硝子体中では終末糖化産物(AGEs)の蓄積が報告されている。近年、局所のAGEs蓄積を反映する自発蛍光値を測定可能な機器が開発された。本研究では自発蛍光値とRanibizumabによるDME治療効果について比較検討を行う。結果、自発蛍光値がDME治療効果を予測可能な因子である可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Diabetic macula edema (DME) causes social vision loss and it is difficult to treat DME patients. Patients with diabetes mellitus are known to have high levels of advanced glycation end products (AGEs) in the vitreous body and blood. Although Ranibizumab has good curative effect in DME treatment, several cases are difficult to treat. The examination about the factor which can foresee the curative effect is important. Recently, the devices which can measure spontaneous fluorescence of lens and skin were developed. This study aimed to examine the relationship of the spontaneous fluorescence which reflects AGE levels in DME patients and treatment-resistant to Ranibizumab. Our observations suggest that the spontaneous fluorescence which reflects AGE levels, may serve as a good indicator for treatment-resistant to Ranibizumab in DME patients

研究分野：網膜硝子体

キーワード：糖尿病網膜症 糖尿病黄斑浮腫 終末糖化産物 血管内皮増殖因子 自発蛍光 水晶体 皮膚 非侵襲

## 1. 研究開始当初の背景

糖尿病黄斑浮腫(DME)は網膜血管透過性亢進等によって引き起こされ、就労年齢層における社会的失明の原因として問題となる難治性の疾患である。抗血管内皮増殖因子(VEGF)薬の1つであるRanibizumabは良好なDME治療効果をもたらすが、治療抵抗性症例も散見される。抗VEGF薬硝子体注射による眼内炎・全身へのリスクが報告されており、不必要な硝子体注射は可能な限り避けることが望まれる。そのため、治療前に効果を見込める因子の検討は非常に重要である。

## 2. 研究の目的

終末糖化産物(AGEs)は蛋白質がグルコースなどの還元糖と非酵素的に反応するMaillard反応の結果形成される物質で、加齢に伴って蓄積されることが知られている。糖尿病患者では高血糖状態が持続することで正常血糖の場合よりも糖化が進み、AGEsが促進的に産生され蓄積した結果、血管障害をきたすことが知られている(Murata T, Diabetologia. 40:764-769, 1997)。糖尿病網膜症を含めた微小血管障害の評価において組織AGEs量の測定は有効であることが期待されたが、実際の臨床の場では皮膚生検等の侵襲的な検査は現実的ではなかった。しかし、皮膚中AGEs由来の自発蛍光を非侵襲で測定するAGE Reader™ (DiagnOptics社)が製品化され皮膚自発蛍光値(Skin AF)と血液・組織中のAGEs量が相関することが報告された(Meerwaldt R, Diabetologia. 47:1324-30, 2004)。我々のグループではAGE Reader™を用いSkin AFが糖尿病網膜症の病期と相関することを明らかにした(Hirano T, J Diabetes Complication. in press, 2014)。さらに近年では水晶体内のAGEs蓄積を評価する機器としてClearPath DS-120®(Freedom Meditech社)が開発されなど非侵襲的に局所のAGEsを測定する方法が多様化している。

以上をふまえ、AGE Reader™によるSkin AF、ClearPath DS-120®による水晶体自発蛍光値(Lens AF)とRanibizumab硝子体注射によるDME治療効果の関連について検討を行った。

## 3. 研究の方法

(1)ClearPath DS-120®を用い測定したLens AFが糖尿病患者の病態をどこまで反映するかについてまず検討をおこなった。

DM群48例と年齢をマッチさせた非DM群30例においてLens AFと糖尿病の有無と糖尿病網膜症の重症度について関連を検討した。

(2)続いて、ClearPath DS-120®を用いてLens AFが実際に水晶体に含有されているどのAGEsを最も反映しているか検討を行った。

白内障手術を施行した24眼(糖尿病13眼、非糖尿病11眼)において術前のSkin AFと手術時に採取した水晶体を液体クロマトグラフィー質量分析法(LC/MS)にて測定した各種AGEs含有量について統計学的検討を行った。

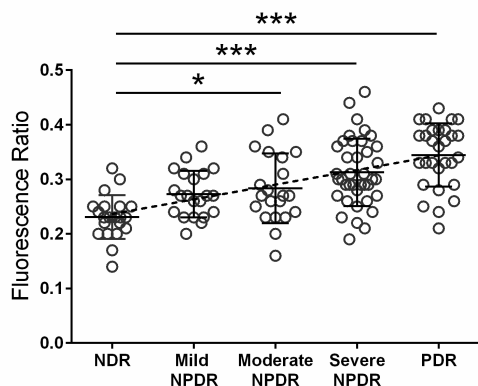
(3)さらに、前房水・血清VEGF濃度とLens AF・AGE Reader™を用いたSkin AF)の比較検討を行った。

## 4. 研究成果

(1)Lens AFはDM群( $0.31 \pm 0.06$ )が非DM群( $0.20 \pm 0.06$ )に比し有意に高かった( $p < 0.0001$ )。国際重症度分類でみるとLens AFは非DM群( $0.20 \pm 0.06$ )と比べno DR( $0.22 \pm 0.04$ )、mild NPDR( $0.27 \pm 0.05$ )では有意差は認めないがmoderate NPDR( $0.32 \pm 0.07$ )、severe NPDR( $0.32 \pm 0.06$ )、PDR( $0.36 \pm 0.05$ )では有意に高かった。(それぞれ $p > 0.9999$ 、 $= 0.4090$ 、 $= 0.0295$ 、 $< 0.0001$ 、 $< 0.0001$ ) (図1)。以上より水晶体内のAGEs含有量を反映するLens AFは糖尿病の有無と網膜症を評価する際に有効で

あることが示唆された。

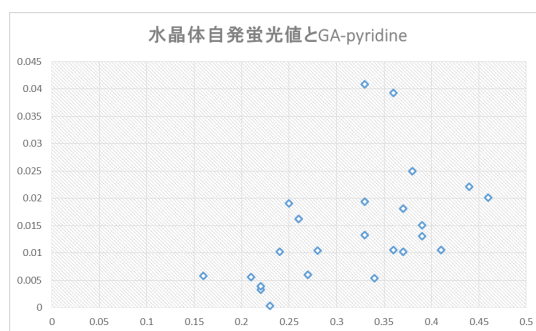
図 1 糖尿病国際重症度分類と水晶体自発蛍光値



(2) 白内障手術を施行した 24 眼 (糖尿病 13 眼、非糖尿病 11 眼) において術前の Skin AF と手術時に採取した水晶体を液体クロマトグラフィー質量分析法(LC/MS)にて測定した各種 AGEs 含有量について統計学的検討を行った。CML、CEL、MGH-1、CMA、CEA では統計学的に有意な相関関係を認めなかったが (  $r=0.3858$   $P=0.0626$ 、 $r=-0.2635$   $P=0.2135$ 、 $r=0.2835$   $P=0.1794$ 、 $r=-0.2237$   $P=0.2934$ 、 $r=0.003920$   $P=0.9855$ 、 $r=-0.08493$   $P=0.6932$  ) GA-pyridine とは中等度の相関( $r=0.593$   $P=0.0020$ )を認めた。GA-pyridine は蛍光性を持ち、かつ糖尿病との関連が報告されており過去の報告と矛盾しない結果と考えられた (図 2)。

(3) 糖尿病 13 眼の検討では血清 VEGF 濃度と Skin AF で統計学的に相関を認めなかったが ( $r=0.366$ 、 $P=0.135$ ) Skin AF が上昇すると血清 VEGF 濃度が上昇する傾向を認めており症例数を増加させての検討が必要と思われる。なお、前房水 VEGF 濃度については現在解析中である。細胞レベルで AGEs 発現の上昇により AGEs receptor を介し VEGF レベルが上昇することが報告されており糖尿病患者における局所 AGEs 含有量を非侵襲的に評価可能な Skin AF・Lens AF は病態を評価する際に有効と考えられた。さらに Skin AF が糖尿病黄斑浮腫の治療反応性

(Ranibizumab 硝子体注射の治療回数)に関連があるか検討を行った。13 眼の検討では Skin AF と Pro Re Nata 法で治療を行った Ranibizumab 硝子体注射の回数は統計学的に有意な相関は認めなかったが ( $r=0.516$ 、 $P=0.073$ ) Skin AF 値が高いと Ranibizumab 硝子体注射の回数は多くなる傾向を認めた。今後症例数を増加させての検討が必要だが、実臨床において Skin AF が糖尿病黄斑浮腫に対する Ranibizumab 硝子体注射の治療効果予測因子になる可能性が示唆された。



## 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)

[学会発表](計 4 件)

平野隆雄, 眼科領域における終末糖化産物含有量を反映する自発蛍光値の検討, 第 12 回レドックス・ライフイノベーションシンポジウム, 2016.8.19, 熊本  
Takao Hirano, Toriyama Yuichi, Motoharu Tokimitsu, Toshiyuki Kyoumoto, Dai Chiba, Toshinori Murata, Association of diabetic retinopathy severity with lens fluorescence ratio reflecting advanced glycation end product level, ARVO, 2016.5.4, Seattle USA

平野隆雄, 終末糖化産物含有量を反映する水晶体自発蛍光値と糖尿病網膜症重症度の関連について, 第 120 回日本眼科学会, 2016.4.8, 仙台

平野隆雄, 糖尿病網膜症の新たな客観的  
指標, 東海大学農学研究科・総合農学研  
究所合同セミナー, 2015.10.7, 熊本

## 6 . 研究組織

### (1)研究代表者

平野 隆雄 (HIRANO, Takao)  
信州大学・医学部附属病院・助教 (特定雇用)  
研究者番号 : 90735151

### (2)研究協力者

鳥山 佑一 (TORIYAMA, Yuich)  
信州大学・医学部・助教 (特定雇用)  
研究者番号 : 90757759

村田 敏規 (MURATA, Toshinori)  
信州大学・学術研究院医学系・教授  
研究者番号 : 50253406

永井 竜児 (NAGAI, Ryuji)  
東海大学・農学部・教授  
研究者番号 : 20315295