

# 学位論文抄録

低血糖による糖尿病網膜症の発症・進展に対する  
ミトコンドリア由来活性酸素種 (mtROS) と脂肪酸酸化の関与  
-糖尿病網膜症発症の新たなメカニズムの可能性-  
(Hypoglycemia induces mitochondrial reactive oxygen species production through increased  
fatty acid oxidation and promotes retinal vascular permeability in diabetic mice:  
novel mechanism of hypoglycemia-induced diabetic retinopathy)

吉 永 礼 香

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻代謝内科学

指導教員

荒木 栄一 教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻代謝内科学

## 学位論文抄録

**【目的】** 低血糖と糖尿病網膜症の関与を示唆する報告があるが、その機序は不明である。熊本大学大学院代謝内科学では糖尿病合併症発症仮説として、高血糖下における「ミトコンドリア由来活性酸素種 (mtROS) 過剰産生」説を提唱しているが、低血糖下においても mtROS が増加し、大血管内皮障害を引き起こすことを報告した。一方、糖尿病網膜症の初期病態の一因は血液網膜関門 (BRB) の破綻による血管透過性の亢進とされており、低血糖による  $\beta$  酸化亢進と mtROS の増加が血管透過性亢進を誘導するという仮説を立てた。低血糖による糖尿病網膜症の発症・進展機序を解明することを本研究の目的とした。

**【方法】** 細胞はヒト網膜毛細血管内皮細胞 (HRMECs) を用いた。mtROS 特異的除去酵素である manganese superoxide dismutase (MnSOD) とカルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ 1 阻害剤である etomoxir を使用し、5.5 mM (Normal 群)、2.5 mM (Low 群) の糖濃度にて培養した。①mtROS 産生への影響は還元型 Mitotracker Red を用いて、②血管透過性因子である vascular endothelial growth factor (VEGF) の mRNA 発現を RT-PCR 法により、③血管透過性への影響を血管透過性実験に検討した。④細胞間接着因子である VE-cadherin のリン酸化を Western blot 法にて、発現部位を細胞免疫染色法にて評価した。⑤野生型マウス (WT) と血管内皮特異的 MnSOD 発現マウス (eMnSOD-Tg) に対してストレプトゾトシンにより糖尿病 (DM) を導入し、DM2 週後より、インスリンにて低血糖刺激 (目標血糖 45 mg/dL、持続時間 60 分、計 6 回/2 週) を実施した。これらマウスの網膜における酸化ストレスを 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) 抗体、血管透過性を Albumin 抗体、VEGF 抗体を用いて蛍光免疫染色法により評価を行った。

**【結果】** ①Low 群では Normal 群に比し、mtROS 産生増加を認め、MnSOD 過剰発現細胞および etomoxir を添加した細胞では、低グルコース誘導 mtROS 増加の抑制を認めた。②-④Low 群では Normal 群に比し、VEGF の mRNA 発現増加、FITC 蛍光強度の増強および VE-cadherin のリン酸化の増強と細胞質内移動の亢進を認めた。MnSOD 過剰発現群や etomoxir 添加群においては、これら発現の増加は Normal 群と同程度に抑制された。⑤WT-DM-低血糖群では、WT-DM 群に比し網膜における 8-OHdG、Albumin、VEGF の染色増強を認めた。Tg-DM-低血糖群、WT-DM-低血糖+etomoxir 群では、これら染色増強の抑制を認めた。

**【考察】** 本研究より、低血糖時の網膜血管内皮細胞において脂肪酸酸化亢進を介して mtROS 産生増加が認められること、また、低血糖由来 mtROS が血管透過性因子の発現亢進を促し、BRB 破綻の一因になりうることを初めて示した。

**【結論】** ヒト網膜毛細血管内皮細胞および DM モデルマウス網膜において、低グルコース状態により、糖尿病網膜症の初期病態である血管透過性の亢進を認めた。低グルコース状態において、血管透過性亢進は脂肪酸酸化亢進を介した低グルコース誘導 mtROS が関与することを確認した。低血糖時に脂肪酸酸化を阻害し mtROS 産生を抑制することは、低血糖状態による糖尿病網膜症を抑制するための新たな治療ターゲットになりうると思われた。