

## 166. 糖尿病網膜症早期の慢性炎症による細胞傷害の解明

兼子 裕規

名古屋大学 医学部 眼科学教室

Key words : 糖尿病網膜症, 網膜傷害, 網膜電図,  $\omega$ -3系脂肪酸, 過活動膀胱

### 緒言

糖尿病網膜症は糖尿病に伴う三大合併症の一つとしてあげられる重要な疾患であり、本邦の失明原因としても第二位に挙げられる。糖尿病による網膜傷害は網膜電図(electroretinogram: ERG)で検出可能であり、律動様小波(oscillatory potential: OP)と呼ばれる波形成分が糖尿病早期に減弱する<sup>1)</sup>。このOP波は網膜内のAmacrine細胞もしくはMüller細胞の機能を表していると考えられている。

今回我々はラットにStreptozotocin (STZ)を投与することで糖尿病(DM)ラットを作製し、このDMラットに $\omega$ -3系脂肪酸の一つであるeicosapentaenoic acid(エイコサペンタエン酸:EPA)を投与することで糖尿病網膜症による網膜傷害が軽減されるかを検討した。また実験で用いるDMラットを効率よく研究に利用する目的で、同じく糖尿病による合併症である過活動膀胱が軽減されるかについても検討した。

### 方法

8週齢雌性SDラットを3群(control群、DM群、DM+EPA群)に分けた。DM群、DM+EPA群にはSTZ(65 mg/kg)を腹腔内に投与し、3日目の血糖値が350 mg/dL以上のratのみを使用した。DM+EPA群にはEPA(5%)を混餌投与し、control群、DM群には対象として同量のひまわり油を混餌投与した。8週間後に血糖値・HbA1c測定、ERG測定、膀胱微小循環測定を行い、膀胱組織中のmalondialdehyde濃度をELISA法にて定量化した。

統計学的解析法として、3群間でKruskal-Wallis Testを行い、P値が0.05未満の場合Steel-Dwass法で各群間のP値を検討した。

### 結果

8週間のSTZ投与後の血糖値は、control群 $157.5 \pm 29.9$  mg/dL (n = 4); STZ群 $322.9 \pm 27.9$  mg/dL (n = 11); STZ+EPA群 $325.8 \pm 48.8$  mg/dL (n = 9)であり、control群に対しSTZ群では有意に上昇していたが(P = 0.047)、STZ群とSTZ+EPA群の間には有意な差は確認されなかった(P = 0.70)。HbA1cは、control群 $0.83 \pm 0.03$  % (n = 4); STZ群 $2.07 \pm 0.18$  % (n = 11); STZ+EPA群 $1.80 \pm 0.20$  % (n = 9)であり、control群に対しSTZ群では有意に上昇していたが(P = 0.02)、STZ群とSTZ+EPA群の間には有意な差は確認されなかった(P = 0.24、図1)。

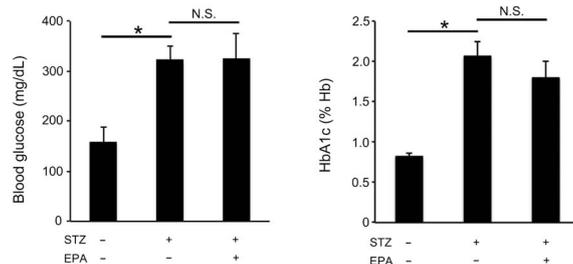


図1. STZ ラットの血糖値および HbA1c

STZ 投与 8 週後の血糖値および HbA1c において、control 群に対し STZ 群では有意に上昇していたが、STZ 群と STZ+EPA 群の間には有意な差は確認されなかった。

ERG の結果、網膜視細胞の機能を反映しているとされる a 波、双極細胞など網膜内層の機能を反映しているとされる b 波から、b/a 比を算出し検討した。その結果、b/a 比は control 群  $2.74 \pm 0.10$  (n = 12) ; STZ 群  $2.33 \pm 0.10$  (n = 13) ; STZ+EPA 群  $2.36 \pm 0.09$  (n = 13) であり、control 群に対し STZ 群では有意に減少していたが (P = 0.03)、STZ 群と STZ+EPA 群の間には有意な差は確認されなかった (P = 0.92)。一方、OP 波は control 群  $1208.1 \pm 73.6\mu\text{V}$  (n = 12) ; STZ 群  $441.2 \pm 50.2\mu\text{V}$  (n = 13) ; STZ+EPA 群  $639.0 \pm 50.4\mu\text{V}$  (n = 13) であり、control 群に対し STZ 群では有意に減少していたが (P = 0.0001)、STZ 群に比べて STZ+EPA 群では有意に回復していた (P = 0.04)。

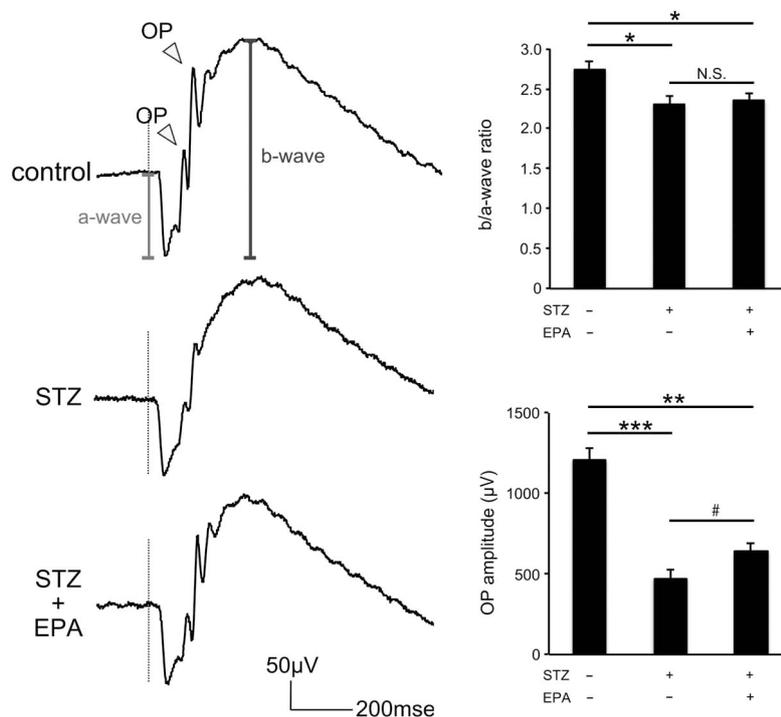


図2. STZ ラットの網膜電図 (ERG)

(A) Control 群、STZ 群、STZ+ERG 群の代表的な ERG 波形。(B) STZ 投与 8 週後の ERG において、a 波と b 波から得られる b/a 比では control 群に対し STZ 群では有意に低下し、STZ 群と STZ+EPA 群の間には有意な差は確認されなかった。(C) OP 波は、control 群に対し STZ 群では有意に低下していたが、STZ+EPA 群は STZ 群に比べて有意に増加した。

膀胱微小循環測定ではコントロール群に比べDM群では有意に血流が低下しており、DM + EPA群で血流の改善を認めた。

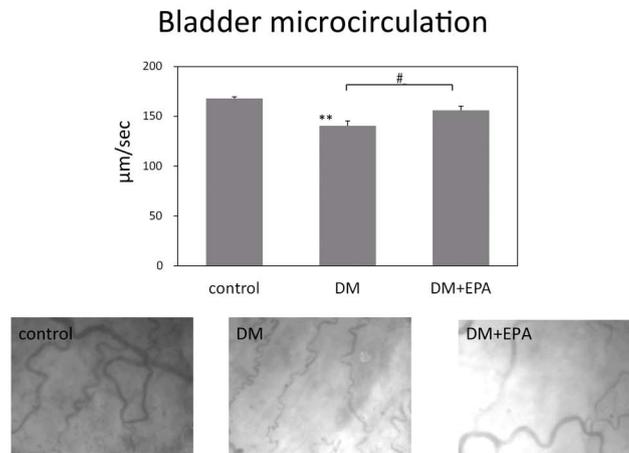


図3. STZ ラットの膀胱微小循環

膀胱微小循環測定では control 群に比べ STZ (DM) 群では有意に血流が低下していたが、STZ (DM) + EPA 群は STZ (DM) 群に比べて有意に血流の改善を認めた (P = 0.023)。

酸化ストレスマーカーである Malondialdehyde は DM 群で増加し DM+EPA 群では増加がみられなかった。膀胱内圧測定では排尿間隔は 3 群間に有意差を認めなかったが、非排尿膀胱収縮については DM 群でのみ有意に増加していた。

#### Malondialdehyde (oxidative stress marker)

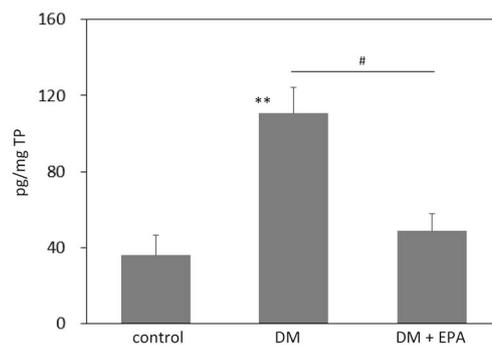


図4. STZ ラットの膀胱内 malondialdehyde 濃度

膀胱組織中の malondialdehyde (酸化ストレスマーカー) 濃度を測定したところ、STZ (DM) 群では control 群に比べ有意に malondialdehyde が増加していたが、STZ (DM) + EPA 群は STZ (DM) 群に比べて有意に malondialdehyde が減少した (P < 0.001)。

## 考 察

糖尿病ラットの早期に発症する網膜障害は、EPAの内服によって軽減することが可能であった。また糖尿病性排尿筋過活動ラットでは膀胱微小循環が障害されていた。EPAは膀胱の微小循環障害を改善し、排尿筋過活動を予防することが明らかとなった。

## 共同研究者

本研究の共同研究者は、名古屋大学大学院医学系研究科泌尿器科学教室の舟橋康人である。また本研究に御支援を賜りました上原記念生命科学財団に深く感謝申し上げます。

## 文 献

- 1) Kurihara T, Ozawa Y, Nagai N, Shinoda K, Noda K, Imamura Y, Tsubota K, Okano H, Oike Y, Ishida S. Angiotensin II type I receptor signaling contributes to synaptophysin degradation and neuronal dysfunction in the diabetic retina. *Diabetes*. 2008 Aug;57(8):2191-8. doi: 10.2337/db07-1281. Epub 2008 May 16. PMID: 18487452.