

氏 名	石郷岡 岳
(ふりがな)	(いしごうおか がく)
学 位 の 種 類	博士 (医学)
学 位 授 与 番 号	甲 第 64 号
学 位 審 査 年 月 日	令和 6 年 1 月 31 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学 位 論 文 題 名	Effects of Angiotensin Receptor Blockers on Streptozotocin-Induced Diabetic Cataracts (ストレプトゾトシン誘発糖尿病白内障に対するアンジオテンシン受容体拮抗薬の効果)
(主)	教授 今川 彰久
論 文 審 査 委 員	教授 朝日 通雄
	教授 萩森 伸一

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

<背景>

糖尿病白内障は、日常臨床においてしばしば遭遇する糖尿病の眼合併症の一つで、加齢性白内障に比べ早期に発症し、進行が早く、視力低下をきたす。糖尿病患者の増加に伴い、標準療法である手術療法よりも低侵襲で簡便な治療法が望まれている。

糖尿病白内障の成因は、ポリオールの蓄積による浸透圧の上昇、酸化ストレス、終末糖化産物 (AGEs; advanced glycation end-products) の蓄積が関与しているといわれ、近年では酸化ストレスの抑制を通じた白内障予防効果が検討されている。糖尿病網膜症では、低酸素がアンジオテンシン変換酵素 (ACE; angiotensin-converting enzyme) 産生を誘導し、糖尿病ラットの NADPH (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate) オキシダーゼを介した酸化ストレス産生につながる。一方、水晶体は房水により栄養されている

が、房水にはレニン-アンジオテンシン系 (RAS; renin-angiotensin system) が存在することが示されている。局所 RAS は、アンジオテンシン II 誘発ラットにおける白内障形成に関与しているとの報告があり、ARB (angiotensin receptor blocker) は糖尿病白内障における酸化ストレスの抑制に有効だが、糖尿病白内障における RAS の酸化ストレス産生への関与については未だ不明である。そこで今回我々は、糖尿病白内障において同様に RAS が酸化ストレス産生に関与しているとの仮説のもとに、ARB による酸化ストレス産生抑制を通じた糖尿病白内障の進行抑制効果についてラットを用いて検討した。

<方法>

体重 190~220g、7 週齢で購入した雄性 Wistar ラットを一晩絶食させた後、10mM クエン酸ナトリウム緩衝液 (pH4.5) で溶解したストレプトゾトシン 40mg/kg を尾静脈より単回静脈注射を行うことにより、ストレプトゾトシン誘発糖尿病ラット (STZ ラット) を作製した。一方、対照群 (n=9) はクエン酸ナトリウム緩衝液のみを投与した。STZ ラットを ARB 群 (n=10) とプラセボ群 (n=9) に振り分け、カンデサルタン (2.5mg/kg/day) を混入した餌または通常の餌を 10 週齢時から 18 週齢まで経口投与した。経過中、白内障の進行を細隙灯検査により評価した。18 週齢時に安楽死させ、白内障の進行度を評価するとともに各種酸化ストレスおよび AGEs を水晶体の HE (hematoxylin and eosin) 染色・免疫組織化学染色および RT-PCR (reverse transcription polymerase chain reaction) にて評価した。

<結果>

STZ ラットの血糖値は安楽死の時に 416 ± 207 mg/dL であった。プラセボ群では 12 週目に水晶体皮質部に混濁が生じた。白内障の進行はプラセボ群と比較して ARB 群で有意に抑制された。HE 染色においてプラセボ群の水晶体では、水晶体上皮細胞の過形成や水晶体線維の空胞化などの変性病変が観察されたが、ARB 群ではこれらの所見が有意に抑制された。ACE 遺伝子発現は、対照群に比較してプラセボ群で有意に上昇した。酸化ストレス関連因子である NADPH oxidase-1 (NOX-1)、NOX-4、inducible nitric oxide synthase (iNOS) はプラセボ群で有意に上昇し、ARB 群でその上昇が有意に抑制された。また

ACE 遺伝子発現と酸化ストレス関連因子の間に正の相関、ACE と SOD (superoxide dismutase)の間に負の相関が認められた。水晶体の免疫組織染色では、プラセボ群の水晶体皮質で酸化ストレス関連因子と AGEs である CEL (carboxyethyl lysine)、CML (carboxymethyl lysine) の発現が認められた。さらに、眼内での局在を明らかにするため ACE の免疫染色を行い、全群の毛様体で発現を確認した。

<考察>

以前、我々の教室は、糖尿病網膜症において、低酸素が ACE 産生を誘導し RAS を介して、NADPH による酸化ストレス関連因子の増加が AGE 産生につながることを報告した。今回我々は、糖尿病白内障において、ACE の増加が房水循環を通じて局所 RAS を亢進させ、その結果、酸化ストレスが生じるのではないかと考え、研究を遂行した。

本研究では白内障の進行に対する ARB の抑制効果が示されたが、組織学的にも水晶体の皮質部における変性の抑制が確認され、ARB 経口投与による観察可能な効果が示唆された。しかし、HE 染色では変性が完全に抑制されたわけではないため、効果は進行抑制にとどまる可能性が考えられる。

RT-PCR の結果、STZ ラットの水晶体では ACE が増加し、プラセボ群においては NADPH oxidase1 (NOX-1)、NOX-4、iNOS が増加した。また ACE と NOX-1、iNOS、NOX-4 との間に正の相関が認められたことから、ACE による RAS の亢進が糖尿病白内障における NADPH を介した酸化ストレス産生の増加をもたらしたことが示唆された。酸化ストレスの過剰産生は AGEs の増加を引き起こす。糖尿病白内障では、AGEs の主要構造である CML と CEL の染色が水晶体の皮質部で観察され、細隙灯検査における皮質混濁は、AGEs の蓄積に起因する可能性が示唆された。

<結論>

本研究により、糖尿病白内障では水晶体中の ACE が増加し、アンジオテンシン II 作用が亢進する局所的な RAS の働きにより、NOX-1、NOX-4、iNOS などの酸化ストレス因子が増加することが示された。ARB の早期投与は糖尿病白内障の進行を遅らせる可能性が考えられる。

論文審査結果の要旨

本論文では、糖尿病白内障において局所 RAS (renin-angiotensin system) が水晶体における酸化ストレス産生の亢進に関与していることが示された。本研究の新規性は、糖尿病白内障における RAS の動態解析を行ったことにある。その結果、ACE (angiotensin-converting enzyme) の増加や酸化ストレス因子の異常亢進がみられ、ACE と酸化ストレス因子が有意に相関した。STZ ラットのプラセボ群において NADPH oxidase1 (NOX-1)、NOX-4、inducible nitric oxide synthase (iNOS) といった酸化ストレス関連因子が増加しており、また ACE と酸化ストレス関連因子に正の相関が認められた。RAS は酸化ストレスを誘導する糖尿病網膜症の重要な機構であるが、糖尿病白内障においても関与することを本研究が初めて示した。また免疫組織染色における検討では AGEs (advanced glycation end-products) である CEL (carboxyethyl lysine)、CML (carboxymethyl lysine) の水晶体皮質部での発現を認めたが、この所見は皮質混濁を特徴とする糖尿病白内障の病態解明に寄与するものと考えられる。また STZ ラットのプラセボ群においては、早期より糖尿病白内障の出現を認めたが、ARB 群では混濁の出現が抑制されていたことから、ARB の臨床応用の可能性が示唆された。

本研究の結果は、糖尿病患者の水晶体における酸化ストレス関連因子の動態を考える上で重要である。高血圧症に対し臨床的に広く使用されている ARB が、糖尿病白内障進行を遅らせることについても期待できる結果であり、今後の臨床への応用には重要な意義があると考えられる。

以上により、本論文は本学大学院学則第 13 条第 1 項に定めるところの博士（医学）の学位を授与するに値するものと認める。

(主論文公表誌)

Journal of Clinical Medicine, 2023, Oct 19;12(20):6627. doi: 10.3390/jcm12206627.