

遺伝子改変糖尿病ブタを用いた 糖尿病網膜症および腎症の経時的変化の検討

長岡泰司¹⁾, 横田陽匡¹⁾, 渡部昌久¹⁾, 小熊秀隆²⁾, 丸山高史²⁾, 阿部雅紀²⁾

The Longitudinal Evaluation of diabetic retinopathy and nephropathy in the transgenic pigs

Taiji NAGAOKA¹⁾, Harumasa YOKOTA¹⁾, Masahisa WATANABE¹⁾,
Hidetaka OGUMA²⁾, Takashi MARUYAMA²⁾, Masanori ABE²⁾

要旨

最近開発された遺伝子改変糖尿病ブタを用いて網膜と腎臓における異常所見を経時的に評価した。高血糖は生後1ヶ月より認め、経過観察期間中持続していた。網膜動脈における血管機能障害は7ヶ月で認められた一方で、網膜毛細血管密度は生後1ヶ月から中間層、その後深層、浅層の順に障害されていた。腎臓も早期から結節性病変を認めた。このモデル動物はヒトにおける2型糖尿病と類似した病態を呈するため、新規診断法および治療法開発に役立つ有益な動物モデルになり得ると考えられた。

1. はじめに

糖尿病細小血管合併症である網膜症・神経症・腎症はそれぞれ失明や人工透析、下肢切断などの重篤な機能障害を引き起こすため、その予防法と治療法の確立は急務である。糖尿病腎症の発症に先行して網膜症が発症すると考えられている。しかし、同じ細小血管障害であるが、これまでの研究は腎症と網膜症は独立してなされており、その発症時期およびその関連については詳細な検討はなされていない。さらに、糖尿病網膜症における網膜循環動態の病期進行に伴う経時的変化については未解明であり、特に網膜症発症前後の網膜循環動態を解明することができれば、循環改善に着目した糖尿病網膜症の新規予防法の確立につながると考えられる。腎症に関しては、腎生検は侵襲的な検査であるがゆえ、高血糖発症からの経時的な病理組織学的変化が十分に解明されていない。網膜循環動態と糸球体病変の関連が明らかになれば網膜病変から腎症の病期および予後予測することが可能になると考えられる。

2. 対象及び方法

対象動物として遺伝子改変糖尿病ブタを用いた¹⁾。レーザースペックル血流計を用いて、網膜循環動態と網膜血管構築の経時的に評価し、同時に腎生検、採血採尿を行った。網膜電位図(Electroretinography: ERG)による網膜神経活動、OCTによる網膜神経線維厚の経時的変化とともに、特に網膜神経—血管—グリアネットワークおよび血管内皮機能に着目した負荷試験による網膜血管機能評価を非侵襲的かつ定量的に評価した。

3. 結果

3-1 網膜の解析

遺伝子改変糖尿病ブタは生後1月齢から随時血糖が300-600mg/dlと高血糖を呈しており、経過観察中は無治療で飼育した。摘出網膜血管の血管拡張作用を観察したところ、4月齢の遺伝子改変糖尿病ブタでは正常ブタと比べて有意な差はなかったが、7月齢の遺伝子改変糖尿病ブタではブラジキニンによ

1) 日本大学医学部視覚科学系眼科学分野

2) 日本大学医学部内科学系腎臓高血圧内分泌内科学分野

長岡泰司: nagaoka.taiji@nihon-u.ac.jp

る血管内皮由来一酸化窒素（NO）依存性の血管拡張作用が低下していた。次に共焦点レーザー顕微鏡による層別の網膜血管の全長を算出したところ、遺伝子改変糖尿病ブタでは1月齢において中間毛細血管網の全長が有意に低下し、その後4月齢、7月齢ではさらに顕著になっていた。さらに網膜深層と表層毛細血管網の全長も有意に低下していた。

3-2 腎臓の解析

エコーガイド下針生検で得られた腎組織の観察では、正常ブタと比較し、遺伝子改変糖尿病ブタの糸球体において、結節性病変、滲出性病変、びまん性変化といった糖尿病性腎症に矛盾しない変化を認めた。

時系列的な変化に関しては、明らかではなく、数ヶ月での組織的变化は有意に認めなかった。また、血液検査において、正常ブタと比較し、遺伝子改変糖尿病ブタのクレアチニン値は有意に低値であった。また蛋白尿については糖尿病ブタの方が有意に高値であった。

4. 考 察

今回我々は遺伝子改変糖尿病ブタを用いた長期経過観察を行い、以下の知見が得られた。

- 1) 網膜血管内皮機能は7月齢で減弱した
- 2) 網膜毛細血管は生後1ヶ月で中間層、4ヶ月で深層、そして7ヶ月では浅層も血管密度が低下した
- 3) 腎臓では早期から結節性病変、滲出性病変、びまん性変化といった糖尿病性腎症に矛盾しない病理学的変化を認めた。糖尿病ブタでは尿蛋白が有意に増えて、血清クレアチニン値は有意に低下していた。

1) に関しては、薬剤誘導1型糖尿病モデルブタで我々と同様の実験方法で検討した結果では、糖尿病発症後2週から12週までブラジキニンによる血管拡張反応は減弱していた²⁾。我々の用いた遺伝子改変糖尿病モデルブタは2型糖尿病モデルであり¹⁾、これはモデル動物の違いによる可能性がある。2) に関しては、糖尿病のない病期からすでに中間層および深層の毛細血管密度は低下していることが光干渉断層計（OCT）アンギオグラフィーを用いた臨床研究からも多数報告されており、その結果と一致している。3) に関しては、これまでの2型糖尿病モデル動

物における腎所見と比較して、結節性病変などなど糖尿病性腎症に典型的な所見が早期から見られるのが特徴である。また採血採尿結果はヒトの糖尿病性腎症の極早期でみられる過剰濾過の状態を呈していると考えた。

以上より、今回用いた遺伝子改変糖尿病ブタは2型糖尿病モデル動物としての特徴を多く有しており、網膜症や腎症など糖尿病細小血管合併症の特徴を呈すると考えられた。

5. 結 語

これまで糖尿病研究は主にマウスやラットなどの小動物が用いられてきたが、遺伝子改変糖尿病ブタを用いて臨床に近い基礎研究を行うことによって、臨床試験の前段階まで新規糖尿病合併症予防薬の開発を進めることが可能と考えられた。

なお、現在投稿中、投稿準備中のデータが多く含まれているため、一部データの提出を割愛させていただきますことをお断り致します。

文 献

- 1) Umeyama K, Nakajima M, Yokoo T, Nagaya M, Nagashima H. Diabetic phenotype of transgenic pigs introduced by dominant-negative mutant hepatocyte nuclear factor 1alpha. *J Diabetes Complications* 2017;31:796-803.
- 2) Hein TW, Potts LB, Xu W, Yuen JZ, Kuo L. Temporal development of retinal arteriolar endothelial dysfunction in porcine type 1 diabetes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53:7943-7949.