

S 61  
I C  
Kam

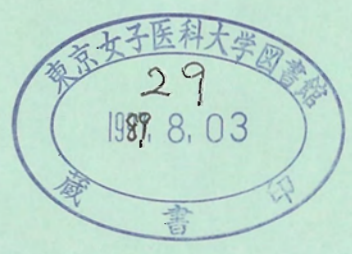
29

糖尿病性網膜症とトロンボキサン  $A_2$   
およびプロスタサイクリンの関係

研究課題番号 60570842

昭和61年度科学研究費補助金（一般研究C）研究成果報告書

昭和62年3月



研究代表者 亀山和子  
(東京女子医科大学糖尿病センター眼科)

# は し が き

## 研究組織

研究代表者：亀山和子（眼科学・助教授）

研究分担者：福田敏雅（眼科学・講師）

“ 大井いく子（ “ ・ “

“ 木戸口 裕（ “ ・助手）

## 研究経費

昭和 60 年度 140 千円

昭和 61 年度 30 千円

合 計 170 千円

## 研究発表

### ア. 学会誌

木戸口裕；糖尿病性網膜症におけるトロンボキサン $A_2$ ，プロスタサイクリンの変動，眼科臨床医報，81巻5号，昭和62年5月。

### イ. 口頭発表

木戸口裕，大井いく子，亀山和子，福田敏雅，野村武則；糖尿病性網膜症におけるトロンボキサン $A_2$ ，プロスタサイクリンの関係，第40回臨床眼科学会，昭和61年11月。

## 研究成果

今日の我国において，糖尿病性網膜症が進行し増殖性変化が重症化することによる失明者の数は年々増加の傾向にある。この増殖性網膜症の発生機序として網膜血管床の閉塞を基盤として新生血管を生ずることにより発症するものと考えられている。

血小板で生合成されるトロンボキサン $A_2$  ( $TXA_2$ ) は強力な血小板凝集作用および血管収縮作用を有し，また血管内皮で生合成されるプロスタサイクリン ( $PGI_2$ ) はそれに拮抗する作用を有している。 $PGI_2$  に対し  $TXA_2$  が優位な時に血栓傾向が生じ，網膜血管床閉塞が進行するものと考えられる。

網膜血管床の閉塞部位からは血管増殖因子が放出され新生血管の増殖がうながされると考えられている。したがってこの血管閉塞域を瘢痕萎縮させることにより酸素需要量の減少をはかるとともに血管増殖因子をも阻止することを目的として網膜光凝固術（光凝固）がなされる。また網膜症の発症，進行，治療効果には糖尿病の全身管理条件が重要な役割をなしている。

今回はその発症，および網膜症の stage と  $TXA_2$ ，および  $PGI_2$  がどのようなかわりを有するかについて検討した。治療効果および長期経過の観察については後に報告する予定である。

対象としたのは東京女子医大糖尿病センター眼科外来で受診した糖尿病患者

133名である。

TXA<sub>2</sub>, PGI<sub>2</sub>測定のための採血は早期空腹時に行ない、10mM インドメサシンを添加した Siliconized tube にヘパリンを加えた Syringe に注入混和後3000r.p.m. で10分間遠沈し血漿を1 ml採取し、2N.HClでPH3に調整した。

TXA<sub>2</sub>, PGI<sub>2</sub>の測定にはその安定代謝産物であるトロンボキサン B<sub>2</sub> (TXB<sub>2</sub>)および6-ケトプロスタグランディン F<sub>1α</sub> (6-keto PGF<sub>1α</sub>)を測定した。測定は表1に示した方法で行なった。solvent I . II . III は表中にその組成を示した。

表1 Extraction of TXB<sub>2</sub> and 6-Keto PGF<sub>1α</sub>.

Step (I)		XAD <sub>2</sub> Column extraction				Recoveries (%)	
		acidify plasma	1 ml				
		(pass through)					
		distilled water	3 ml				
		(pass through)					
		hexan	2 ml				
		(pass through)					
		methanol	3 ml				
		into siliconized glass tube					
		evaporation				76.8	72.6
Step (II)		Solvent III 200 μl and Solvent I 800 μl					
		into evaporation sample tube					
		(pass through)					
		Solvent II	2 ml			74.6	71.3
		(pass through)					
		Solvent III	3 ml			66.4	58.5
		into siliconized glass tube					
		evaporation					
		Radioimmunoassay					

Solvent		Benzene : Ethyl acetate : Methanol			
I	80	:	20	:	0
II	60	:	40	:	2
III	40	:	40	:	6

網膜症の stage とTXB<sub>2</sub> および6-keto PGF<sub>1α</sub>の測定値との関係を見るために網膜症の stage を以上のように分類した。

R-0: 網膜症のないもの

S-1: 毛細血管瘤, 点状出血, 少数の白斑のみられる単純網膜症。

S-2: 斑状, しみ状出血, 白斑の増加(主に硬性白斑)がみられる単純網膜症中期。

Pre: 軟性白斑, 細小血管拡張, 網膜浮腫が出現し螢光眼底撮影(FAG)にて細小血管新生, 網膜無血管帯のみられる前増殖期網膜症(光凝固未施行)。

P-1a: 網膜, 乳頭からの新生血管あるいは線維性血管膜がみられるが, 硝子体出血を生じたことのない増殖性網膜症(光凝固未施行)。

P-2a: 硝子体出血を生じてから6ヵ月未満の増殖性網膜症。光凝固の有無は問わず。

P-1i: Pre, あるいはP-1aに対し光凝固を施行し, 出血, 白斑, 網膜浮腫の減少, 新生血管の陳旧性狭窄化等により非活動性になっていると考えられるもの。

P-2i: 硝子体出血を生じてから6ヵ月以上再出血のないもの。

網膜血管床閉塞の程度をFAGにもとづいて以下のように分類した。

N: 無血管帯のみられないもの。

Mi: 無血管帯が散在するもの。

Mo: 比較的広範に無血管帯が存在するがRPC領域に異常のないもの。

S: 後極部, 特にRPC領域にも無血管帯がみられるかあるいは網膜全汎に無血管帯がみられるもの。

以上の分類を用いて網膜症とTXB<sub>2</sub>および6-keto PGF<sub>1α</sub>との関係を調べた結果を述べる。

## 1. 網膜症の stage との関係

### (1) TXB<sub>2</sub> との関係 (図1)

R-0 および S-1 群は S-2, Pre, P-1a に比べて有意に低値を示していた。また S-2, Pre, P-1a の各群は P-2a, P-1i, P-2i 群に対し有意に高値を示していた。

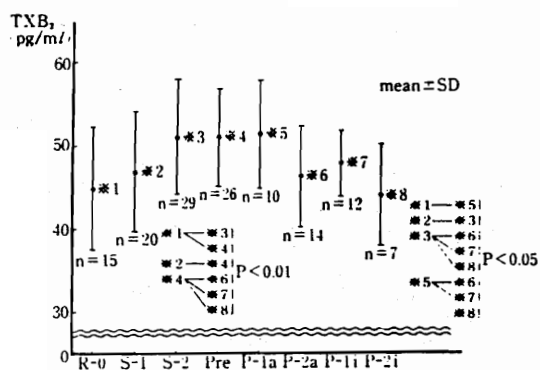


図1 網膜症の程度とTXB<sub>2</sub>値

(2) 6-ketoPGF<sub>1α</sub>との関係 (図2)

S-2群はP-1a群に比して有意に高値を示したが他の群間では有意差が得られなかった。

(3) TXB<sub>2</sub>/6-ketoPGF<sub>1α</sub> (両者の比)との関係 (図3)

P-1a群は他の病期のものに比し有意に高い値を示していた。また逆にP-1i, P-2i群はPre, P-1a群に比し有意に低値を示した。

2. FAGによる無血管帯の広さとの関係

(1) TXB<sub>2</sub>との関係 (図4)

S群ではMi, Mo, に比して有意に高値を示した。

(2) 6-ketoPGF<sub>1α</sub>との関係 (図5)

各群ともに有意差はみられなかった。

3. 血糖コントロールとTXB<sub>2</sub>, 6-ketoPGF<sub>1α</sub>との関係

過去1年間の全身管理すなわち血糖コントロールとの関係を調べた。コントロール状態を次の3段階に分類した。

G : HbA<sub>1</sub>値が常に10.0%以下のもの。

F : HbA<sub>1</sub>が10.01%~12.0%の間のもの。

P : HbA<sub>1</sub>が常に12.01%以上のもの。

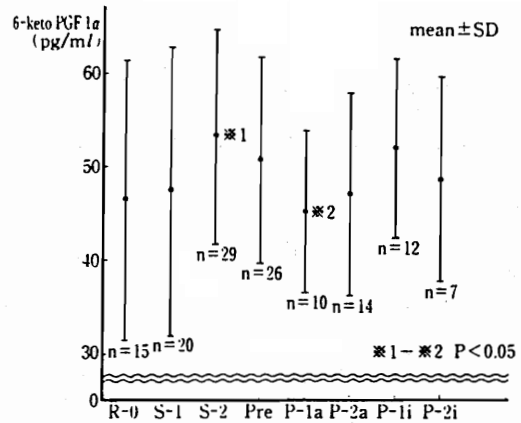


図2 網膜症の程度と6-keto PGF<sub>1α</sub>値

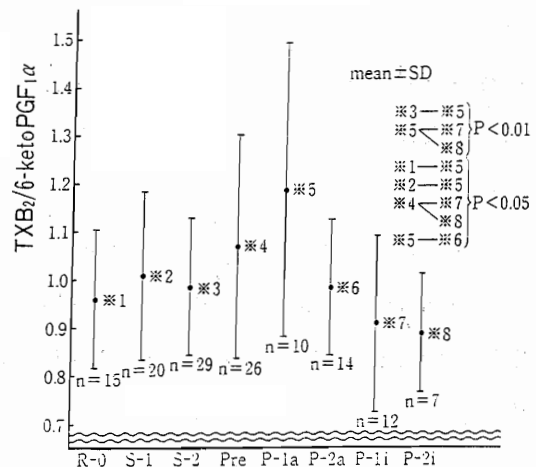


図3 網膜症の程度とTXB<sub>2</sub>/6-keto PGF<sub>1α</sub>比

(1) TXB<sub>2</sub>との関係(図6)

G群はF.P.群に比し有意に低値を示した。

(2) 6-ketoPGF<sub>1α</sub>との関係(図7)

G群はF.P群に比し有意に低値を示した。

また同日に調べたHbA<sub>1</sub>値においても図8,9に示すように両者とも有意な相関がみられた。

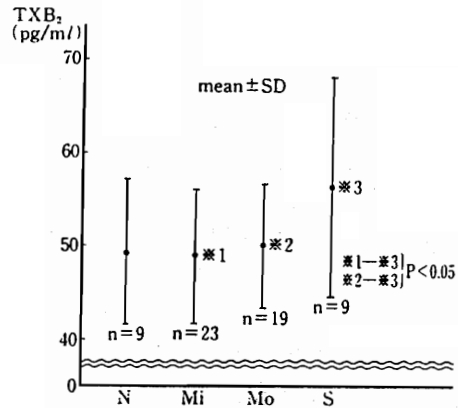


図4 無血管帯(蛍光眼底造影)とTXB<sub>2</sub>値

ThromboxanA<sub>2</sub>は1975年にHamberg, Samuelsson<sup>1)</sup>らにより化学構造が確かめられ命名されたものである。そして血小板に様々な刺激が加わることによりPhospholipase A<sub>2</sub>が活性化され細胞膜リン脂質に作用しアラキドン酸が遊離する。このアラキドン酸がミクロゾームに存在するCyclooxygenaseによってPGendoperoxide (PGG<sub>2</sub>, PGH<sub>2</sub>)に変換され、更にこれがトロンボキサン合成酵素の作用を受け血小板凝集促進作用および血管収縮作用を有するTXA<sub>2</sub>が生成される。<sup>2)</sup>

一方Moncada<sup>3)4)</sup>らは1976年に血管壁においてプロスタグランディン代謝過程からPGH<sub>2</sub>にミクロゾームを作用させるとProstacyclin (PGI<sub>2</sub>)の産生されることを発見し、命名した。<sup>5)</sup> このPGI<sub>2</sub>は血管壁を弛緩し、TXA<sub>2</sub>による血小板凝集を阻

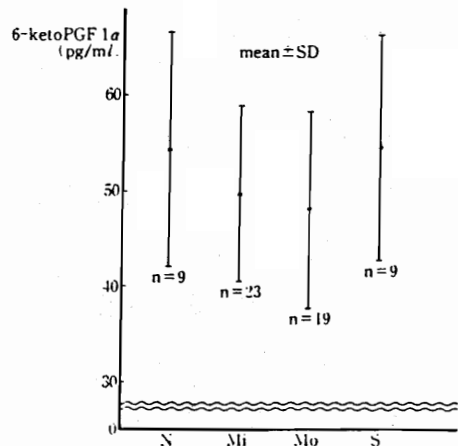


図5 無血管帯(蛍光眼底造影)と6-ketoPGF<sub>1α</sub>値

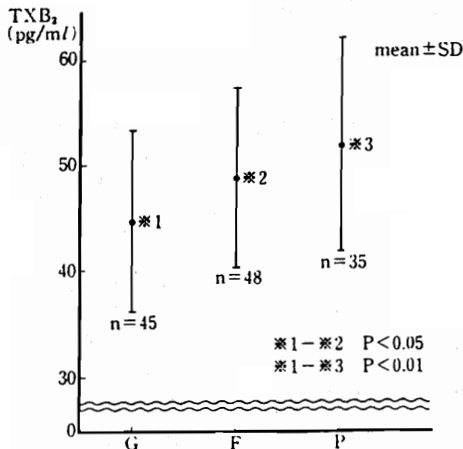


図6 血糖コントロール（最近1年間）とTXB<sub>2</sub>値

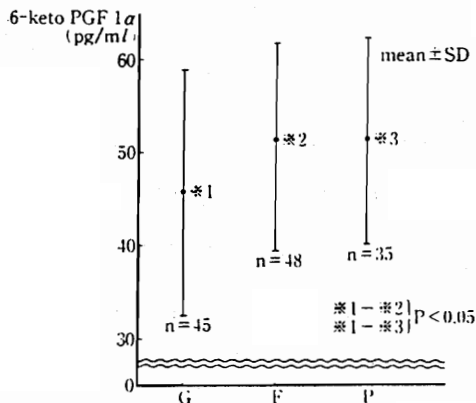


図7 血糖コントロール（最近1年間）と6-keto PGF<sub>1α</sub>値

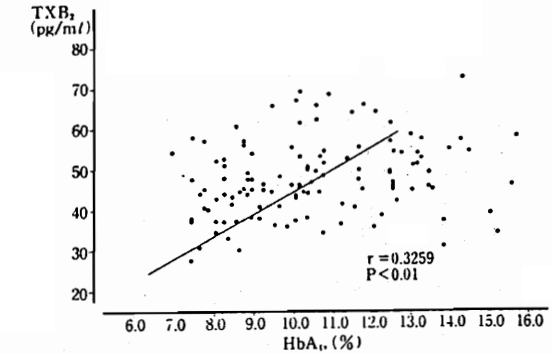


図8 HbA<sub>1c</sub>とTXB<sub>2</sub>の関係

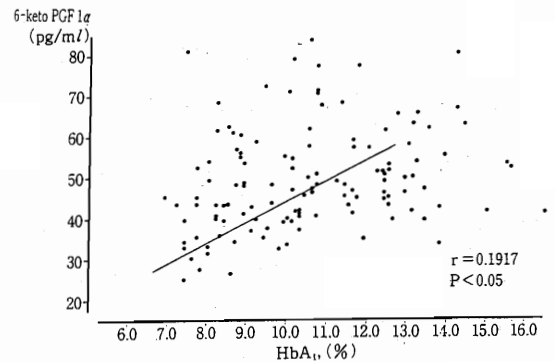


図9 HbA<sub>1c</sub>と6-keto PGF<sub>1α</sub>の関係

止する作用を有しており両者は拮抗し、これが均衡を保つことにより homeostatic balance が維持されていることが考えられる。<sup>6)</sup>

糖尿病で特に血管合併症を有するものではTXB<sub>2</sub>値は高いと云われている。<sup>7)</sup>網膜症との関係においては文献上では単純網膜症、増殖網膜症ともに高値を示すとも云われ必ずしも一定していない。

今回は網膜症をその病期により細かく分類することによりTXB<sub>2</sub>、6-ketoPGF<sub>1α</sub>との関係を見たところ、S-2, Pre, P-1の群でTXB<sub>2</sub>値が高く、すなわち中等度の単純型から前増殖期を含めて活動性の高い網膜症のstageでTXB<sub>2</sub>が高い値を示し



ていた。同じ増殖性網膜症であっても硝子体出血を生じた病期や、光凝固により新生血管が非活動性になったものでは低値であった。

初回の硝子体出血後6ヵ月以内のものは6ヵ月以上経たものに比べTXB<sub>2</sub>値は高いという報告があるが、今回の研究では6ヵ月未満、以降にかかわらず硝子体出血例のTXB<sub>2</sub>値は低かった。これは、一度硝子体出血による急激な視力低下を経験するとそれまでは病識の乏しかった患者が、失明のおそれから全身的なコントロールを良好に保つ努力をするものが多いためと思われる。したがって網膜症は重症であっても血糖値が良好に保たれているためTXB<sub>2</sub>値も低くなっているものと考えられる。一方いかにコントロールを良好に保っても一度生じた増殖性病変は消退することなく血管の索引のため硝子体出血をくり返すことが多い。今回は硝子体出血後6ヵ月で分類したため、6ヵ月の間に代謝状態は改善されていたものであろう。

6-keto PGF<sub>1α</sub>は糖尿病患者では低値<sup>9)10)</sup>、高値<sup>7)11)</sup>の両方の報告があるが、網膜症との関係は、網膜症を有するものでは低下<sup>12)</sup>しており、特に増殖性網膜症ではより低値である<sup>9)</sup>と云われている。今回の結果ではS-2群で6-keto PGF<sub>1α</sub>が最も高値を示した。これはこの時期にTXA<sub>2</sub>の上昇に対して代償的にPGI<sub>2</sub>も増加したためであろう。しかし活動性のつよい増殖性網膜症、すなわちPre、P-1a、群となるにしたがって6-keto PGF<sub>1α</sub>は低下してくる。同時期のTXB<sub>2</sub>は高値であることから代償不全に陥ることによりTXB<sub>2</sub>が優位となり血管床閉塞傾向が最も著明となるものと考えられる。図3に示したようにP-1a群が最もTXB<sub>2</sub>優位であることがわかる。

血管閉塞の初期像としては細小血管内の血栓形成であることが動物実験で確認されており<sup>13)</sup>、血小板凝集能の亢進が網膜循環障害<sup>14)</sup>、毛細血管閉塞<sup>15)</sup>に大きく関与していると思われる。今回の結果においてもFAGによる網膜の無血管帯の広範なS群においてTXB<sub>2</sub>は最も高値を示し、TXB<sub>2</sub>上昇による血小板凝集能亢進、血管収縮、網膜血管床閉塞という病変の生ずることが推定された。しかし6-keto PGF<sub>1α</sub>は一定の傾向を示さなかった。

全身管理状態とTXB<sub>2</sub>値との間には有意な相関があり、血糖コントロールの不良

なものほどTXB<sub>2</sub>値は高く、これは、血小板のプロスタグランジン合成系が活性化され、TXA<sub>2</sub>が増加するものと考えられる。また6-ketoPGF<sub>1α</sub>も血糖コントロールの状態と相関がみられた。これは他の報告と同様TXB<sub>2</sub>値と6-ketoPGF<sub>1α</sub>との間に正の相関があるためである。血糖のコントロールが不良になると、TXA<sub>2</sub>が増加するがこれを代償するように、PGI<sub>2</sub>も増加するものと考えられる。

## ま と め

TXB<sub>2</sub>値および6-ketoPGF<sub>1α</sub>値とから糖尿病性網膜症をみた時、活動性の網膜症において両者とも高値を示し、FAGにおける網膜の無血管帯の広いものほどTXB<sub>2</sub>値が高かった。これらのことからTXB<sub>2</sub>値が高値を示すものほど網膜症の進行、増悪の危険があることが推察された。したがって、たとえ網膜症が非増殖性であっても全身コントロールが不良でなおかつTXB<sub>2</sub>値が高値を示すものは早晚増殖性網膜症へと進展することを考え、早期に光凝固を施行することがのぞましいと考える。

## 今後の目標

今回は光凝固の効果の評価とTXA<sub>2</sub>およびPGI<sub>2</sub>との関係については充分検討出来なかったため結論を得るにいたらなかった。今後ひきつづき検討する予定である。

長期間未治療のまま放置された糖尿病患者で網膜血管床の閉塞の広範な増殖性網膜症を有するものにおいてTXA<sub>2</sub>およびPGI<sub>2</sub>値の変動が網膜症の進行あるいは治療効果にいかなる影響をおよぼすかを検討したい。

## 参 考 文 献

- 1) Hamberg M., et al:Thromboxanes, A new group of biologically active compounds derived from prostaglandin endoperoxides, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 72:2994-2998, 1975.
- 2) Needleman P., et al:Identitication of an enzyme in platelet microsomes which generates thromboxane A<sub>2</sub> from prostaglandin endoperoxides, Nature 261:558-560 1976.
- 3) Moncada S., et al:An enzyme isolated from arteries transforms prostaglandin endoperoxides to an unstable substance that inhibits platelet aggregation, Nature, 263:663-665 1976.
- 4) Gryglewski R., et al:Arterial walls are Protected against deposition of platelet thrombi by a substance (Prostaglandin X) which they make from prostaglandin endoperoxides.  
prostaglandin 12:685-713,1976.
- 5) Moncada S., et al:Human arterial and Venous tissues generate prostacyclin (prostaglandin X) a potent inhibitor of platelet aggregation, Lancet I:18-20, 1977.
- 6) 岡部紘明他:血清脂質中のアラキドン酸およびエイコサペンタエン酸濃度に及ぼす加齢の影響, 日本老年医学会雑誌, 19:279-283, 1982.
- 7) 上原総一郎他:糖尿病における Thromboxan B<sub>2</sub>の検討, 糖尿病 27:376 1984.
- 8) 百都 健他:糖尿病性網膜症の繰り返す硝子体出血への Prostaglandins (PGI<sub>2</sub>および TXA<sub>2</sub>)の関与, 糖尿病 26:226, 1983.
- 9) Dollery C.T. et al:Circulating prostacyclin may be reduced in diabetes, Lancet (II):1365, 1979.
- 10) Johnson M. et al:Vascular prostacyclin may be reduced in diabetes

in man, Lancet (I): 325-326, 1979.

- 11) 二木むつ他：糖尿病性網膜症とプロスタグランディン。——トロンボキサン  $A_2$ ，プロスタサイクリンについて，臨眼 37:511-515, 1983.
- 12) 鴨井久司他：血中 6-keto  $PGF_{1\alpha}$  濃度と糖尿病合併症の関係，糖尿病 25:356, 1982.
- 13) 石橋達朗他：糖尿病性網膜症における血栓形成の機序とその意義に関する実験的研究，日眼 84:878-889, 1980.
- 14) 内村 功他：糖尿病と血小板凝集能，糖尿病 22:150-152, 1979.
- 15) 大塚 裕他：血液凝固系から網膜循環障害へのアプローチ（その2）——特に糖尿病性網膜症の retinal ischemia と血小板凝集能，過酸化脂質について——，臨眼 32:261-269, 1978.