

血中の網膜特異的mRNA測定による 糖尿病網膜症の評価

Assessment of diabetic retinopathy
by measuring retina-specific mRNA in blood

A Butt, MS Ahmad, J Powrie & R Swaminathan
St. Thomas' Hospital, Chemical Pathology, London, UK

Butt A et al. *Expert Opin Biol Ther* 2012; 12(Suppl1): S79-84.



バイエル薬品株式会社

血中の網膜特異的mRNA測定による糖尿病網膜症の評価

Assessment of diabetic retinopathy by measuring retina-specific mRNA in blood

Butt A et al. *Expert Opin Biol Ther* 2012; 12(Suppl1): S79-84.

背景

糖尿病網膜症は糖尿病に合併する細小血管障害の一つであり、視力の低下を招き、失った視力を回復させる治療もなく、また失明に至る可能性があることから早期発見と早期治療が重要である。スクリーニングには眼底写真が有用であるが、撮影には高額な機器と専門スタッフを要し、さらに、定量的、客観的かつ信頼性をもって糖尿病網膜症の進行度を判定する方法は確立されていないという問題がある。糖尿病網膜症を検出するバイオマーカーは見いだされていないが、血液検査は専門スタッフを必要とせず経済的で、場所を選ばずに実施することができ、客観的かつ定量的な検査結果が得られることから、スクリーニングにおけるこれらの問題を克服する可能性がある。

目的

①糖尿病網膜症の進行に伴い循環血中のmRNAが上昇することが分かっているロドプシン(Rho)、②錐体に特異的に存在し、光伝達を担う酵素であるホスホジエステラーゼ6C(PDE6C)、③網膜の中でも特に網膜神経節細胞に特異的に発現するアミン酸化酵素である網膜アミノキシダーゼ(RAO)を、それぞれ網膜の杆体、錐体、網膜神経節細胞のマーカーとし、循環血中のこれらのmRNA量を測定することにより、糖尿病網膜症を診断し得るか検討する。

対象・方法

糖尿病患者および健康成人の末梢血を、PAXgene™ Blood RNA採血管(採血後のRNAを安定化させる)を用いて採血した。リアルタイムRT-PCR法により、循環血中のRho、PDE6C、およびRAOのmRNAを定量し、比較検討した。目的遺伝子のほかにハウスキープ遺伝子として、 β -アクチンも同様に定量し、目的遺伝子のmRNA量は β -アクチンmRNA量で補正した相対値により評価した。算出した目的遺伝子のmRNA量は、健康成人と糖尿病患者、さらに糖尿病患者は糖尿病網膜症の進行度に応じて、網膜症所見なし、背景糖尿病網膜症(単純糖尿病網膜症)、前増殖糖尿病網膜症、増殖糖尿病網膜症の4つに分類して比較した。

結果

- 108例(糖尿病患者89例、健康成人19例)が登録された。
- RhoとRAOのmRNAは、糖尿病患者および健康成人の全例で検出されたが、PDE6CのmRNAは全血液サンプルの60%でのみ検出された。
- RhoのmRNA^{*}は、糖尿病網膜症の進行とともに増加し(図1)、この結果は我々の既報告と一致した。
- PDE6CのmRNA濃度^{*}は、健康成人と糖尿病患者の間で有意差を認めなかった。背景糖尿病網膜症患者では、健康成人および網膜症を有さない糖尿病患者、増殖糖尿病網膜症患者よりも有意に低かった($p=0.053$, $p=0.015$, $p=0.039$, Mann-Whitney U-test)。また、前増殖糖尿病網膜症患者では、健康成人および網膜症を有さない糖尿病患者よりも有意に低かった($p=0.019$, $p=0.022$, 同)。前増殖糖尿病網膜症から増殖糖尿病網膜症に進行するとPDE6CのmRNAは有意に増加した($p=0.026$, 同)(図2)。
- RAOのmRNA濃度^{*}は、健康成人と糖尿病患者の間で有意な差を認めなかった。前増殖糖尿病網膜症患者では、網膜症を有さない糖尿病患者と増殖糖尿病網膜症患者よりも有意に低かった($p=0.035$, $p=0.038$, 同)(図3)。
- RhoのmRNAが、糖尿病網膜症を軽度(網膜症を有さない糖尿病と背景糖尿病網膜症)と重度(前増殖糖尿病網膜症と増殖糖尿病網膜症)に分類し得るかをROC曲線により検討したところ、曲線下面積(AUC)は0.756であった(図4)。糖尿病網膜症の進行とともにRhoのmRNAは増加し、一方でRAOのmRNAは減少することから、RhoとRAOの比を用いればこの診断能はさらに高まると考え、この濃度比(Rho mRNA / RAO mRNA)のROC曲線よりAUCを算出したところ0.823へと上昇した。
- これらの結果は、目的遺伝子のmRNAを β -アクチンmRNAで補正して検討したものだが、全RNAで補正しても同様の結果であった。

*: β -アクチンmRNAでの補正值

考察・結論

PDE6C mRNAが全血液サンプルの60%で検出されたことは、網膜に錐体細胞が僅かにしか存在しないことを考えると驚くべき結果である。PDE6C酵素は光伝達反応に直接関与しているため、常に一定の酵素量が必要になり、またそれは大量のmRNAが転写されることで達成される。その一部が循環血液中に放出され、検出されたと考えられる。さらに、光受容体の迅速なターンオーバーによって、PDE6CのmRNAが循環血中に放出されたと考え、健康成人でもPDE6CのmRNAが検出されたことの説明もつく。

糖尿病患者では、網膜症を有さない状態から前増殖糖尿病網膜症までの段階において、循環血中のPDE6CとRAOのmRNA濃度が、網膜症の進行に伴い低下することが明らかになった。今回テストしたマーカーのうち、糖尿病網膜症の進行に伴い最も大きく変化したのはRhoのmRNAであり、ROC解析において高いAUC値を示した。さらに、RhoとRAOのmRNA濃度比はより高いAUC値を示し、より良好な糖尿病網膜症の診断能を有することが明らかになった。網膜に特異的なRho、PDE6C、およびRAOのmRNAは、糖尿病網膜症のバイオマーカーになり得ると考えられる。

図1 Rhoの血中mRNA濃度

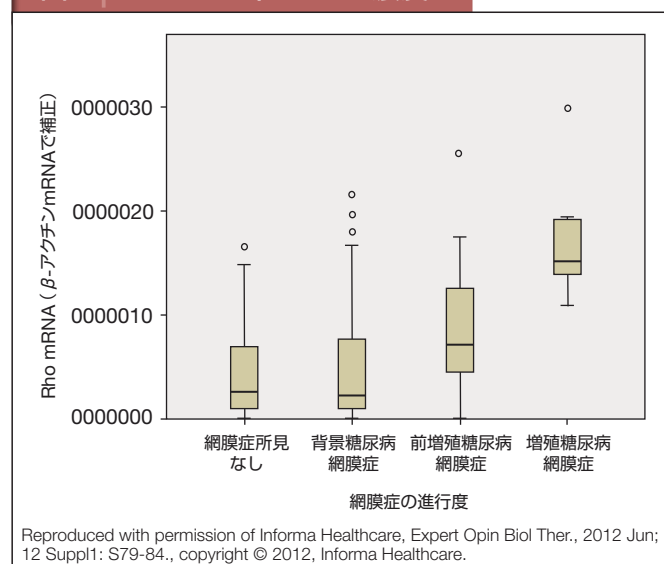


図2 PDE6Cの血中mRNA濃度

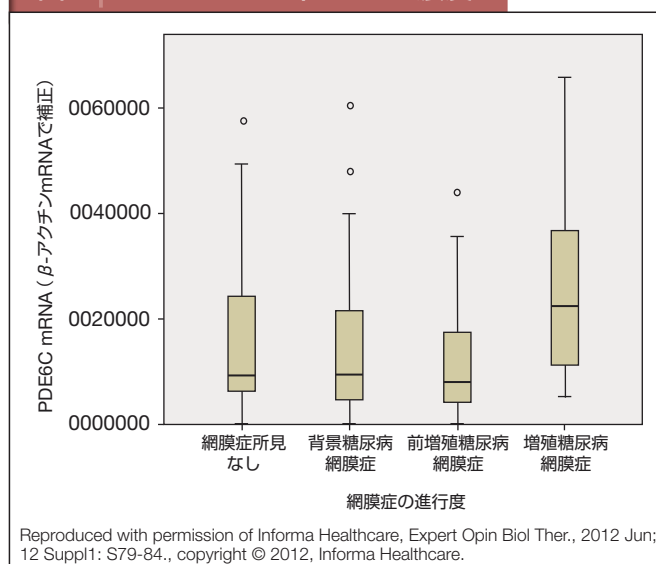


図3 RAOの血中mRNA濃度

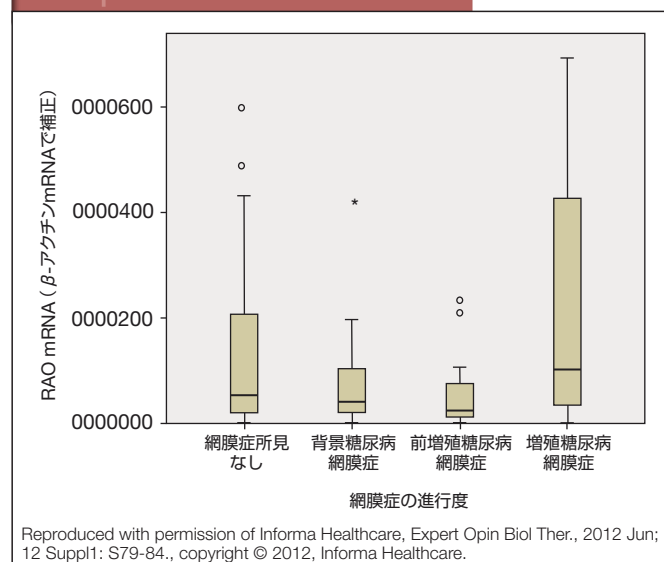
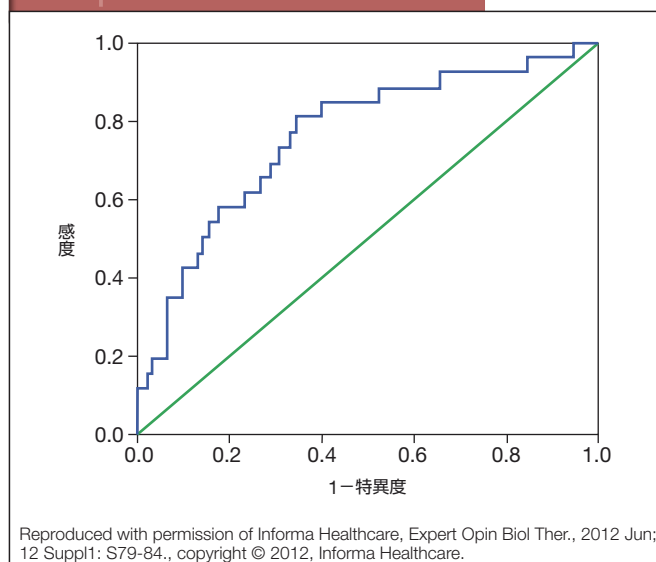


図4 Rho mRNAのROC曲線





バイエル薬品株式会社