

平成 30 年 6 月 11 日現在

機関番号：34428

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K07983

研究課題名(和文) 緑内障の新規治療薬としてのアペリンに関する研究 遺伝子改変動物を用いて

研究課題名(英文) A study on apelin as a new therapeutic target for glaucoma using apelin deficiency mouse

研究代表者

前田 定秋 (Maeda, Sadaaki)

摂南大学・薬学部・教授

研究者番号：00135732

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：緑内障は、網膜神経節細胞の脱落によって失明に至る進行性の眼疾患である。緑内障の病態進行には、眼圧上昇が関与することが知られているが、眼圧を降下させても、緑内障の症状が進行する症例が数多く存在する。したがって、緑内障の網膜神経節細胞死を抑制する新たな治療薬の開発が求められている。本研究において、生理活性ペプチドであるアペリンが緑内障モデルマウスで生じる網膜神経節細胞死を抑制することを見出したことから、アペリンが新規緑内障治療薬となる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Glaucoma is a progressive eye disease that causes blindness through loss of retinal ganglion cells. Although progression of glaucoma is associated with elevation in intraocular pressure, in many patients, glaucomatous damage occurs with intraocular pressure in the normal range. Therefore, it is necessary to develop a new drug that inhibits retinal ganglion cell death in glaucoma. In the present study, we found that apelin, a bioactive peptide, protected against the loss of retinal ganglion cells in a mouse model of glaucoma. This suggests that apelin may be a new candidate for treating glaucoma.

研究分野：薬物治療学

キーワード：アペリン APJ 緑内障 網膜神経節細胞

1. 研究開始当初の背景

緑内障は、視神経を構成する網膜神経節細胞の脱落を特徴とする進行性の眼疾患であり、その病態進行には、眼圧の上昇が関与することが知られている。しかし、眼圧降下剤の投与により、眼圧を十分に低下させても、緑内障の病態の進行を抑制できない症例が多数存在することから、眼圧以外の危険因子の解明、および網膜神経節細胞死を抑制する新たな治療薬の開発が求められている。

これまでに、研究代表者らは、薬物投与による緑内障モデルマウスを用いた検討から、野生型 (WT) マウスと比較して、生理活性ペプチドであるアペリンをコードする遺伝子を欠損させたアペリンノックアウト (KO) マウスにおいて、網膜神経節細胞死が起きやすいこと、およびアペリン受容体である APJ が網膜神経節細胞に発現することを見出した。これらのことから、アペリンが網膜神経節細胞の保護因子として機能している可能性が示唆され、アペリンが緑内障の新たな治療薬となる可能性が考えられる。

2. 研究の目的

緑内障モデルマウスを用いて、アペリンが網膜神経節細胞死を抑制できるか否かについて明らかにし、アペリンの新規緑内障治療薬としての有用性を見極めることを目的とする。

3. 研究の方法

硝子体内への N-methyl-D-aspartic acid (NMDA) (40 nmol) の投与、または前眼房への圧負荷による網膜虚血再灌流により実験的緑内障モデルマウスを作製した。緑内障モデルマウスでみられる網膜神経節細胞死に対するアペリンの保護作用の効果は、眼球切片を用いた組織学的解析および網膜電図測定装置を用いた電気生理学的解析により評価した。

4. 研究成果

(1) NMDA 誘発網膜神経節細胞死に対するアペリンの保護作用

アペリンが網膜神経節細胞死を抑制できるか否かを明らかにするため、アペリンと NMDA をマウスの硝子体内に同時投与した。これらのマウスの眼球切片を作製し組織解析を行った結果、NMDA を硝子体内投与したマウスの眼球では、著明な網膜神経節細胞死がみられ、この網膜神経節細胞死は、アペリンを同時投与することにより投与量依存的に抑制された (図 1)。

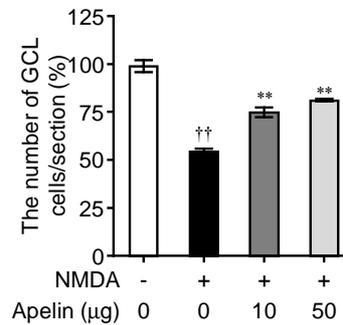


図 1 NMDA または NMDA+アペリンを硝子体内投与したマウスの眼球切片をヘマトキシリン-エオシン染色し、網膜神経節細胞層の細胞数を計測した。†† $p < 0.01$ vs. control, ** $p < 0.01$ vs. NMDA

網膜電図測定装置を用いて光刺激応答について解析を行った結果、NMDA を硝子体内投与したマウスの眼球では、光刺激応答が著しく低下したのに対して、アペリンと NMDA を同時投与したマウスでは、光刺激応答の低下が有意に抑制された (図 2)。

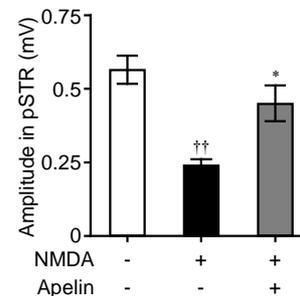


図 2 NMDA または NMDA+アペリンを硝子体内投与したマウスの眼球の光刺激応答を数値化した。†† $p < 0.01$ vs. control, * $p < 0.05$ vs. NMDA

アペリンの網膜神経節細胞死に対する保護作用機構を検討した結果、アペリンを硝子体内投与したマウスの網膜では、抗アポトーシスシグナルとして機能する Akt および ERK の活性化がみられた。また、これらのシグナル阻害剤の投与により、アペリンによる NMDA 誘発網膜神経節細胞死に対する保護作用は抑制された。

また、NMDA によって発現誘導され、NMDA 誘発網膜神経節細胞死を促進する TNF- α の発現をアペリンが抑制することを明らかにした。

これらのことから、アペリンは多面的な作用を介して NMDA 誘発網膜神経節細胞死を抑制する可能性が示唆された。

(2) 網膜虚血再灌流による網膜神経節細胞死に対するアペリンの保護作用

NMDA 投与以外の緑内障モデルでもアペリンが保護作用を示すか否かを明らかにするため、網膜虚血再灌流による緑内障モデルマウスを用いて検討を行った。アペリン KO マウスに網膜虚血再灌流を引き起こした結果、WT マウスと比較して、網膜神経節細胞死が増加することを見出した。

アペリンを硝子体内投与することにより、NMDA によって引き起こされる網膜神経節細胞死を抑制できることを明らかにしたが、本投与方法は侵襲的であり、眼底出血等の様々な合併症を引き起こす恐れがある。現在、この問題点を解消すべく、末梢からの投与によるアペリン受容体アゴニストの保護作用について検討しており、その保護効果について明らかにしつつある。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 2 件)

- ・ Ishimaru, Y., Sumino, A., Kajioka, D., Shibagaki, F., Yamamuro, A., Yoshioka, Y., Maeda, S. Apelin protects against NMDA-induced retinal neuronal death via an APJ receptor by activating Akt and ERK1/2, and suppressing TNF-alpha expression in mice *J Pharmacol Sci* 査読有 Vol. 133, 2017, pp.34-41 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28087150>
- ・ 石丸侑希, 住野彰英, 前田定秋 緑内障モデルマウスの網膜神経節細胞死に対する生理活性ペプチド apelin の保護作用 眼薬理 Vol.29, 2015, pp.41-43

[学会発表](計 18 件)

- ・ 石丸侑希, 住野彰英, 藤本真由美, 柴垣郁弥, 山室晶子, 吉岡靖啓, 前田定秋 網膜虚血再灌流による網膜神経節細胞死に対する apelin 受容体アゴニストの保護作用 日本薬学会第 138 年会 2018 年 3 月 25~28 日 金沢
- ・ Y. Ishimaru, A. Sumino, H. Konishi, M. Suzuki, A. Yamamuro, Y. Yoshioka, S. Maeda Neuroprotective effect of apelin against retinal ganglion cell death induced by retinal ischemia-reperfusion injury 2017 ISN-ESN meeting 2017 年 8 月 20~24 日 Paris
- ・ F. Shibagaki, Y. Ishimaru, A. Sumino, A. Yamamuro, Y. Yoshioka, S. Maeda Apelin inhibits N-methyl-D-aspartate

-induced retinal ganglion cell death by activating AKT and ERK via APJ receptor in mice 2017 ISN-ESN meeting 2017 年 8 月 20~24 日 Paris

- ・ 石丸侑希, 住野彰英, 小倉菜々美, 鈴木麻友, 山室晶子, 吉岡靖啓, 前田定秋 TNF- α 硝子体内投与による網膜のグルタミン酸受容体発現誘導に対するアペリンの抑制作用 日本薬学会第 137 年会 2017 年 3 月 24~27 日 仙台
- ・ 石丸侑希, 住野彰英, 小倉菜々美, 鈴木麻友, 山室晶子, 吉岡靖啓, 前田定秋 Apelin inhibits glutamate receptor expression induced by TNF- α in the retina 第 90 回日本薬理学会年会 2017 年 3 月 15~17 日 長崎
- ・ 住野彰英, 石丸侑希, 山本祐基, 藤本真由美, 山室晶子, 吉岡靖啓, 前田定秋 網膜虚血再灌流による網膜神経節細胞死に対する apelin の保護作用 第 130 回日本薬理学会近畿部会 2016 年 11 月 19 日 京都
- ・ 山本祐基, 住野彰英, 藤本真由美, 石丸侑希, 山室晶子, 吉岡靖啓, 前田定秋 内因性 apelin の網膜虚血再灌流による網膜神経節細胞死に対する保護作用 第 66 回日本薬学会近畿支部総会・大会 2016 年 10 月 15 日 大阪
- ・ 住野彰英, 石丸侑希, 山本祐基, 藤本真由美, 山室晶子, 吉岡靖啓, 前田定秋 網膜虚血再灌流による網膜神経節細胞死に対する apelin の保護作用 生体機能と創薬シンポジウム 2016 2016 年 8 月 26 日 仙台
- ・ 住野彰英, 石丸侑希, 山本祐基, 藤本真由美, 山室晶子, 吉岡靖啓, 前田定秋 網膜虚血再灌流による網膜神経節細胞死に対する apelin の保護作用 生体機能と創薬シンポジウム 2016 2016 年 8 月 25 日 仙台
- ・ 石丸侑希, 小倉菜々美, 住野彰英, 山室晶子, 吉岡靖啓, 前田定秋 網膜における TNF- α による NMDA 受容体の発現誘導とアペリンによる抑制 次世代を担う創薬・医療薬シンポジウム 2016 2016 年 8 月 24 日 仙台
- ・ 住野彰英, 石丸侑希, 山室晶子, 吉岡靖啓, 前田定秋 新規緑内障治療薬としてのアペリンの可能性 日本薬学会第 136 年会 2016 年 3 月 28 日 横浜
- ・ 石丸侑希, 森田匠, 住野彰英, 岩田侑子, 小倉菜々美, 山室晶子, 吉岡靖啓, 前田定秋 Apelin prevents NMDA-induced retinal ganglion cell death via the suppression of TNF-alpha expression in mice 第 89 回日本薬理学会年会 2016 年 3 月 10 日 横浜
- ・ 住野彰英, 石丸侑希, 柴垣郁弥, 山本祐基, 山室晶子, 吉岡靖啓, 前田定秋 Apelin protects against retinal

neuronal apoptosis in the retina of a mouse model of glaucoma via APJ receptors 第 89 回日本薬理学会年会 2016 年 3 月 9 日 横浜

- ・ 石丸侑希、森田匠、住野彰英、岩田侑子、山室晶子、吉岡靖啓、前田定秋 NMDA による TNF- α 発現上昇を介した網膜神経節細胞死に対するアペリンの保護作用 第 128 回日本薬理学会近畿部会 2015 年 11 月 20 日 大阪
- ・ 柴垣郁弥、石丸侑希、住野彰英、山本祐基、山室晶子、吉岡靖啓、前田定秋 Apelin の Akt および ERK の活性化を介した NMDA 誘発網膜神経細胞死に対する保護作用 第 65 回日本薬学会近畿支部総会・大会 2015 年 10 月 17 日 大阪
- ・ 森田匠、石丸侑希、住野彰英、岩田侑子、小倉菜々美、山室晶子、吉岡靖啓、前田定秋 TNF- α による NMDA 誘発網膜神経節細胞死の促進に対する apelin の保護作用 第 65 回日本薬学会近畿支部総会・大会 2015 年 10 月 17 日 大阪
- ・ 石丸侑希、森田匠、住野彰英、岩田侑子、山本祐基、山室晶子、吉岡靖啓、前田定秋 アペリンの NMDA 誘発網膜神経節細胞死に対する TNF- α 発現抑制を介した保護作用 生体機能と創薬シンポジウム 2015 2015 年 8 月 27 日 千葉
- ・ 住野彰英、石丸侑希、柴垣郁弥、山室晶子、吉岡靖啓、前田定秋 緑内障モデルマウスにおける網膜神経細胞死に対する apelin の Akt および ERK の活性化を介した保護作用 生体機能と創薬シンポジウム 2015 2015 年 8 月 27 日 千葉

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.setsunan.ac.jp/~p-yakuch/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

前田 定秋 (MAEDA, Sadaaki)

摂南大学・薬学部・教授

研究者番号：00135732

(2) 研究分担者

吉岡 靖啓 (YOSHIOKA, Yasuhiro)

摂南大学・薬学部・准教授

研究者番号：40330360

石丸 侑希 (ISHIMARU, Yuki)

摂南大学・薬学部・助教

研究者番号：80611607

山室 晶子 (YAMAMURO, Akiko)

摂南大学・薬学部・助手

研究者番号：20340862

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

住野 彰英 (SUMINO, Akihide)

摂南大学・薬学部・大学院生