

平成 30 年 6 月 13 日現在

機関番号：15201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10866

研究課題名(和文) 緑内障臨床検体ライブラリーを用いた全身及び局所酸化ストレス因子の網羅的解析

研究課題名(英文) Assessment of oxidative stress in samples from glaucoma patients

研究代表者

谷戸 正樹 (TANITO, MASAKI)

島根大学・医学部・客員研究員

研究者番号：30284037

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)：眼圧レベルと全身酸化ストレスマーカーとの関連について検討した。広義原発開放隅角緑内障、偽落屑症候群、非緑内障対照血清中の脂質過酸化物質、鉄還元能、チオール抗酸化能をフリーラジカル分析装置(FREE, WismerII社)を用いて、それぞれ、diacron reactive oxygen metabolites (dROM)テスト、biological antioxidant potential (BAP)テスト、sulfhydryl (SH)テストにより測定した。鉄還元能を指標として測定した全身の抗酸化能低値は、眼圧上昇を介して開放隅角緑内障の病態に関与する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：The involvement of local and systemic oxidative stress in intraocular pressure (IOP) elevation and optic nerve damage has been hypothesized in the pathogenesis of glaucoma. Here, we assessed the correlation between IOP and systemic levels of prooxidants and antioxidants by analyzing the blood biochemistry in patients with glaucoma. Peripheral blood samples were collected from Japanese patients with primary open-angle glaucoma (n=206), exfoliation syndrome (n=199), and controls (n=126). Serum levels of lipid peroxides, ferric-reducing activity, and thiol antioxidant activity were measured by diacron reactive oxygen metabolite (dROM), biological antioxidant potential (BAP), and sulfhydryl (SH) tests, respectively, using a free radical analyzer. Lower systemic antioxidant capacity measured by ferric-reducing activity is involved in the pathogenesis of open-angle glaucoma via its roles in IOP elevation.

研究分野：緑内障，酸化ストレス

キーワード：緑内障 酸化ストレス

## 1. 研究開始当初の背景

### 1) 全身酸化ストレスレベルと眼圧の関連

全身及び局所の酸化ストレス要因が緑内障性組織傷害や眼圧上昇に関与する可能性が主として実験的に報告されている。我々は、以前、全身の抗酸化能が開放隅角緑内障患者で低下していることを報告した。

### 2) 血液中ヒドロキシリノール酸の測定

緑内障は国内における失明原因の第一位(厚生労働省調査 H17)で、40 歳以上では 20 人に 1 人が罹患している(日本緑内障学会多治見スタディー)が、自覚症状が乏しく早期診断が難しい。一重項酸素は生体内で好中球から産生されるほかに、紫外線照射によっても発生することから、光暴露が多い眼科疾患への関与が示唆されている。一方、寿命が短く(反応性が高い)、直接に生体内外で測定することは難しいため、疾病への一重項酸素関与に関わる知見は少ない。

## 2. 研究の目的

### 1) 全身酸化ストレスレベルと眼圧の関連

今回、眼圧レベルと全身酸化ストレスマーカーとの関連について検討した。

### 2) 血液中ヒドロキシリノール酸の測定

我々は生体試料から生体内酸化によって生じる脂質由来のヒドロキシリノール酸(HODE)を独自の手法によって高精度に定量する技術を開発している。HODE は生体膜の構成成分であるリノール酸の酸化生成物で、一重項酸素、ラジカル、酵素によって特異的に生成する 6 種類の異性体をもつ。そこで本研究では、リノール酸由来酸化生成物 HODEs と

アラキドン酸由来酸化生成物の HETEes を用いて、緑内障を示す因子のうち、いずれの因子が酸化ストレスの影響を受けているかについて検討を行った。

## 3. 研究の方法

### 1) 全身酸化ストレスレベルと眼圧の関連

日本人の広義原発開放隅角緑内障(PG) (n=206)、偽落屑症候群(EX) (n=199)、非緑内障対照(n=126)から末梢血を採取した。血清中の脂質過酸化物質、鉄還元能、チオール抗酸化能をフリーラジカル分析装置(FREE, WismerII 社)を用いて、それぞれ、diacron reactive oxygen metabolites (dROM)テスト、biological antioxidant potential (BAP)テスト、sulfhydryl (SH)テストにより測定した。統計学的検討のために、対象を眼圧レベルに応じて 4 群(Q1, Q2, Q3, Q4; Q1 が最低眼圧群)に分類した。多変量ロジスティック回帰分析により、各種背景因子を調整した上に、各酸化ストレスマーカーの眼圧への寄与度を算出した。

### 2) 血液中ヒドロキシリノール酸の測定

広義原発開放隅角緑内障(PG, n=198)、非緑内障対照群(non-PG, n=119)の血清から HODE、ヒドロキシエイコサテトラエン酸(HETE)を測定した。多変量ロジスティック回帰分析により、緑内障病態の各種背景因子を調整したうえで、酸化ストレスの関与度を算出した。

## 4. 研究成果

### 1) 全身酸化ストレスレベルと眼圧の関連

dROM (p=0.6704)と SH (p=0.6376)は、4 群で有為な差がなかった。BAP は群間に差を認め

( $p=0.0115$ ), Q4 群 ( $1,932 \mu\text{mol/L}$ )と Q1 群 ( $2,023 \mu\text{mol/L}$ ,  $p=0.0042$ ), Q4 群と Q2 群 ( $2,003 \mu\text{mol/L}$ ,  $p=0.0302$ ), Q3 群 ( $1,948 \mu\text{mol/L}$ ) と Q1 群 ( $p=0.0174$ )に有意差を認めた。種々の背景因子を調整後も, BAP 低値は眼圧高値に有意な因子であった(Q3 群,  $p=0.0261$ ,  $OR=0.06/\text{range}$ ; Q4 群,  $p=0.0018$ ,  $OR=0.04/\text{range}$ )。鉄還元能を指標として測定した全身の抗酸化能低値は, 眼圧上昇を介して開放隅角緑内障の病態に関与する可能性が示唆された。

## 2) 血液中ヒドロキシリノール酸の測定

PG、non-PG の 2 群間において、性別、測定時眼圧、未治療時眼圧に有意差を認めた ( $P=0.0046$ ,  $P=0.0492$ ,  $P<0.0001$ )。PG 群は non-PG に比べて血漿中の HODEs、HETE s が有意に高くなった。背景因子を補正しても、緑内障のリスク因子は未治療時眼圧、9-(Z,E)-HODE, 13-(Z,E)-HODE, HETE s であり、酸化ストレスが高眼圧に大きく影響していることが結論づけられた。

## 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)

Tanito M, Kaidzu S, Takai Y, Ohira A: Association between systemic oxidative stress and visual field damage in open-angle glaucoma. Scientific Reports 6, 25792, 2016.

<https://www.nature.com/articles/srep257>

Taito M, Kaidzu S, Takai Y, Ohira A: Correlation between Systemic Oxidative Stress and Intraocular Pressure Level. PLoS One 10(7), e0133582, 2015.

<http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0133582>

[学会発表](計 5 件)

梅野彩, 谷戸正樹, 吉田康一: ヒドロキシリノール酸をバイオマーカーとした緑内障への酸化ストレスの関与解明 第 28 回眼科酸化ストレス研究会, 名古屋(2017.7.22)

梅野彩, 谷戸正樹, 吉田康一: ヒドロキシリノール酸による緑内障への酸化ストレスの関与 第 70 回日本酸化ストレス学会, つくば市(2017.6.28-29)

谷戸正樹, 梅野彩, 吉田康一, 海津幸子, 大平明弘: 緑内障患者血清における脂質酸化ストレスマーカー測定, 第 27 回眼科酸化ストレス研究会, 京都市(2016.7.23)

谷戸正樹, 海津幸子, 高井保幸, 大平明弘: 全身酸化ストレスと眼圧レベルの関連 第 26 回眼科酸化ストレス研究会, 宮崎市(2015.7.18)

梅野彩, 谷戸正樹, 吉田康一: ヒドロキシリノール酸をバイオマーカーとした緑内障と酸化ストレスとの関連 第 26 回眼科酸化ストレス研究会, 宮崎市(2015.7.18)

〔図書〕(計 1 件)

谷戸正樹 3 緑内障と酸化ストレス 特集  
「酸化ストレスと眼」Monthly Book OCULISTA  
2017.

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

谷戸 正樹 (TANITO, Masaki)

島根大学・医学部・客員研究員

研究者番号: 30284037

### (2) 研究分担者

大平 明弘 (OHIRA, Akihiro)

島根大学・医学部・名誉教授

研究者番号: 00169054

海津 幸子 (KAIDZU, Sachiko)

島根大学・医学部・助教

研究者番号: 00325052

### (3) 連携研究者

吉田 康一 (YOSHIDA, Yasukazu)

産業技術総合研究所・健康工学部門・部門

長

研究者番号: 90358333

### (4) 研究協力者

梅野 彩 (UMENO, Aya)

産業技術総合研究所・健康工学部門・特別研  
究員

研究者番号: 20749098