

平成 30 年 6 月 14 日現在

機関番号：82609

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K20341

研究課題名(和文)網膜神経節細胞に対する神経保護研究

研究課題名(英文)protective effect for retinal ganglion cell

研究代表者

秋山 悟一 (AKIYAMA, Goichi)

公益財団法人東京都医学総合研究所・運動・感覚システム研究分野・研究員

研究者番号：00529547

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では網膜神経節細胞の変性モデル動物や、視神経挫滅モデル動物を用いて、神経保護効果を検討した。組織学的な解析に加えて、非侵襲的な光干渉断層計や電気生理学的手法を用いることにより、構造と機能の両面から、その効果を検討した。その結果、ヒトでの眼圧上昇における網膜細胞の反応(Akiyama et al. Sci Rep, 2016)、視神経挫滅モデルにおける既存薬剤の保護効果(Akiyama et al. IOVS, 2017)などの研究成果を精力的に報告した。

研究成果の概要(英文)：We investigated that intraocular injection of edaravone exerts neuroprotective effects in an ONI model. Sequential in vivo retinal imaging revealed that post-ONI treatment with edaravone was effective for maintaining the retinal structure. We also demonstrated that edaravone suppressed the production of ROS and stress-induced ASK1-p38 MAPK signaling, which leads to RGC survival following ONI (Akiyama et al. IOVS, 2017). We also investigated that the effect of ocular hypertension in human surgical procedure (Akiyama et al. Sci Rep, 2016).

研究分野：緑内障

キーワード：緑内障 神経保護 エダラボン

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 我が国における失明原因の多くは網膜および視神経の変性疾患で占められており、Quality of Life の観点からも大きな社会的問題となっている。日本における最大の失明原因は緑内障であり、40 歳以上の有病率は約 6% にのぼる。緑内障は眼圧上昇によって網膜神経節細胞 (RGC) 死とその軸索である視神経の変性が起きて、結果的に回復不能な視野障害に陥るものと考えられてきた。しかし本邦では眼圧が正常であるにもかかわらず緑内障症状を発症する「正常眼圧緑内障 (NTG)」が全体の約 7 割を占めることが判明している (Iwase et al. Ophthalmology, 2004)。近年では眼圧降下を目的とした複数の点眼薬が新たに発売され、中には神経保護効果を有するものも存在する。しかしこのような効果は限定的であることから、今後の緑内障治療においては眼圧以外の病態寄与因子の解明や新たな神経保護療法の開発が求められる状況にある。

(2) ヒトでの酸化ストレスの検証は倫理的な側面から非常に難しい。今回われわれは一般診療で行われている眼球圧迫に注目した。眼球圧迫時には眼圧が上昇し、一過性の虚血状態になる。この際に細胞に損傷が出ているかを検討出来れば、それを保護する目的での実験系の確立を検討することができると考えた。

## 2. 研究の目的

(1) 徐々に視野が狭くなり、それを脳が疑似的に補正するために気付きづらいという特性がある緑内障は、進行し視野狭窄に至れば、仕事や日常生活に支障を来したり、自動車運転では加害の危険性もあり、医学的にも社会的にも治療の意義は大きい。眼圧下降による治療薬はあるものの、今後の緑内障治療においては、眼圧以外の病態寄与因子の解明や新たな神経保護療法の開発が求められる状況にある。これを探求するのが研究の目的であ

る。NTG モデルを用いた治療研究によって、眼圧降下に依存しない RGC 保護薬や治療方法が見つければ、独創的な成果につながる可能性がある。特にそれが既存薬であった場合には、比較的スムーズに臨床応用可能なケースも想定される。

(2) 眼圧上昇の際には酸化ストレスが起きることは知られている。動物モデルのみならず、ヒトでの酸化ストレスの検証を視野に入れて、前段階としてヒトに眼圧上昇ストレスがあった際に網膜電図でどのような反応が起きるかを検討することを目的とした。

## 3. 研究の方法

(1) 当研究室では過去に既存薬を用いた治療研究として、これまでに spermidine、バルブ口酸による神経保護効果を報告しているが、今回急性期脳梗塞治療に使用されている抗酸化作用を持つフリーラジカルスカベンジャーであるエダラポンを用いた。動物モデルは視神経挫滅モデルマウスを使用した。視神経挫滅施行の直前にエダラポン (7.2mM) 2 $\mu$ l を硝子体内投与し、挫滅手術の 1 週間後における網膜神経節細胞数を Fluoro-Gold™ 陽性細胞数の計測によって評価した。エダラポンによる酸化ストレスの抑制効果の有無については、CellROX® を用いた活性酸素種 (Reactive Oxygen Species: ROS) の定量化によって判定した。

(2) 眼圧上昇の際には酸化ストレスが起きることは知られている。動物モデルのみならず、ヒトでの酸化ストレスの検証を視野に入れて、前段階としてヒトに眼圧上昇ストレスがあった際に網膜電図でどのような反応が起きるかを検討した。黄斑上膜や硝子体出血などで硝子体手術を施行した 7 例 7 眼において、硝子体切除後に還流を止めた状態と還流を入れた状態で、圧迫前、圧迫中、圧迫解除後に黄斑局所 ERG 記録を行った。また、3 眼においては硝子体腔圧測定を同時に行っ

た。

#### 4. 研究成果

(1) Fluoro-Gold™陽性細胞数は視神経挫滅後に有意に減少したが、エダラボン投与群では有意な網膜神経節細胞の保護効果が確認された(図1)。

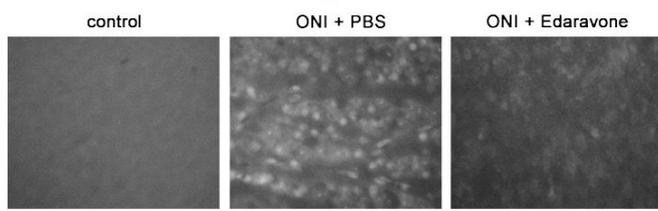


図1 CellROX®による視神経挫滅後の網膜における酸化ストレスの可視化。PBS投与群に比べて free radical scavenger である edaravone 投与群では、酸化ストレスが抑制されていることがわかる。

エダラボンの眼内投与群では、PBS投与群に比べて、網膜変性の抑制により網膜厚が維持された(図2)。

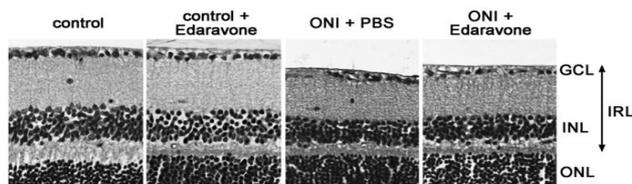


図2 視神経挫滅後の網膜における組織学的検討。Edaravoneの眼内投与群では、PBS投与群に比べて、網膜変性の抑制が確認された。

確認された ROS の発現量も、エダラボン投与群では非投与群と比較して有意に減少していた。脳梗塞等に対する既存薬であるエダラボンが、視神経外傷後の網膜神経節細胞保護にも有用な可能性が示唆された。

(2) 硝子体手術中の還流無しの状態では、圧迫中 b 波が 27%低下の所、PhNR は 70%低下を認めた(図3)。

振幅は総じて圧迫中低下、解放後基準値より増加した。還流有りの状態では、圧迫中の圧変動と、振幅の低下は軽度であった。

潜時は還流の有無にかかわらずほとんど変化しなかった。

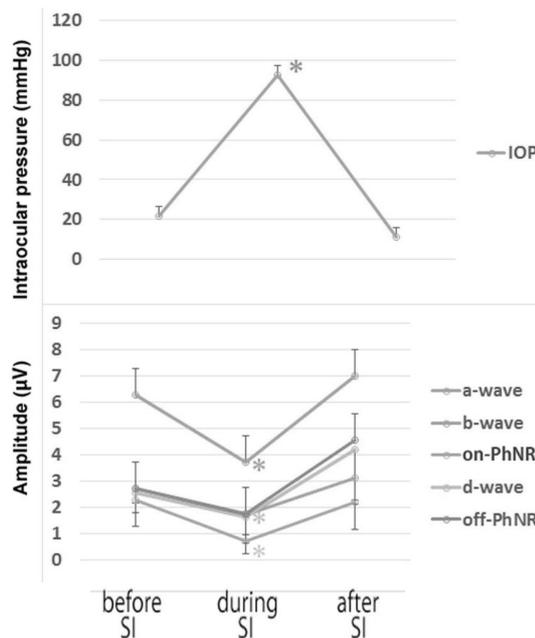


図3 強膜圧迫前・中・後における眼圧(上図)と振幅(下図)のグラフ。圧迫中に振幅は下がり、解放と同時に回復している。SI: scleral indentation.

眼球圧迫時の黄斑機能を黄斑局所網膜電図を用いて経時的に評価することができ、眼球周辺部圧迫時に黄斑機能は一時的に減弱するが可逆的である事がわかった。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計5件)すべて査読あり

1. Akiyama G, Azuchi Y, Guo X, Noro T, Kimura A, Harada C, Namekata K, Harada T. Edoxaban prevents retinal degeneration in adult mice following optic nerve injury. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 58(11): 4908-4914, 2017. doi: 10.1167/iovs.17-22250.
2. Azuchi Y, Kimura A, Guo X, Akiyama G, Noro T, Harada C, Nishigaki A, Namekata K, Harada T. Valproic acid and ASK1 deficiency ameliorate optic neuritis and neurodegeneration in an animal model of multiple sclerosis. *Neuroscience Letters* 639: 82-87, 2017. doi: 10.1016/j.neulet.2016.12.057.
3. Akiyama G, Matsumoto CS, Shinoda K, Terauchi G, Matsumoto H, Watanabe E, Iwata T, Mizota A, Miyake Y. Intraoperative electrophysiological evaluations of macular function during peripheral scleral indentation. *Scientific Reports* 6: 35164, 2016. doi: 10.1038/srep35164.
4. Guo X, Kimura A, Azuchi Y, Akiyama G, Noro T, Harada C, Namekata K, Harada T. Caloric restriction promotes cell survival in a mouse model of normal tension glaucoma. *Scientific Reports* 6: 33950, 2016. doi: 10.1038/srep33950.
5. Yagura K, Shinoda K, Matsumoto S, Terauchi G, Watanabe E, Matsumoto H, Akiyama G, Mizota A, Miyake Y. Intraoperative electroretinograms before and after core vitrectomy. *PLoS One* 11(3): e0152052, 2016. doi: 10.1371/journal.pone.0152052.

〔学会発表〕(計2件)

1. 秋山悟一、安土ゆり子、行方和彦、原田高幸.

視神経挫滅モデルマウスにおけるエドキサボンの神経保護効果

日本眼科学会総会

2017年

2. 秋山悟一、松本セルソ惣一、篠田啓、寺内岳、松本治恵、渡邊恵美子、溝田淳、三宅養三.

Intraoperative electrophysiological evaluations of macular function during peripheral scleral indentation

International Society for Clinical Electrophysiology of Vision

2016年

〔図書〕(計0件)

出願状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.igakuken.or.jp/retina/>

## 6. 研究組織

(1)研究代表者

秋山 悟一 (AKIYAMA, Goichi)

公益財団法人東京都医学総合研究所・

運動・感覚システム研究分野・協力研究員

研究者番号:00529547