

令和 2 年 7 月 14 日現在

機関番号：10101

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K19876

研究課題名(和文) Vav遺伝子欠損マウスを用いた抗酸化機能食品の緑内障予防効果の検討

研究課題名(英文) Examination of glaucoma preventive effect of antioxidant functional food using Vav gene deficient mouse

研究代表者

井上 馨(Inoue, Kaoru)

北海道大学・保健科学研究院・名誉教授

研究者番号：80133718

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：緑内障に関する網膜神経節細胞の細胞死に影響する因子として眼圧の日内変動と抗酸化作用のある食品の投与を考えた。その事を検証するために緑内障モデルマウスであるVav2遺伝子欠損マウスに抗酸化作用のある食品を投与し、7日間にわたり昼夜の眼圧を測定した。その結果、網膜神経節細胞の細胞死に抗酸化作用食品の影響は認められなかった。また眼圧の日内変動の影響も見られなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

第一の意義は、緑内障予防食品の開発の可能性をしめすことである。緑内障は早期発見と早期治療が必須である。多くの場合、発見されたときは病態の進行はかなり進んでおり、治療が困難で、欠損した視野は回復できない。そこで予防措置が重要となる。食品は身近に存在し、安価で摂取も簡単で、いつでも摂取可能である。フラノイド含有食品はすでに健康食品として親しまれていることが多く導入が容易である。本研究は多くの緑内障患者にとって福音となることが期待される。

研究成果の概要(英文)：We considered diurnal variation of intraocular pressure and the administration of foods with antioxidant activity as factors affecting cell death of retinal ganglion cells related to glaucoma. To verify this, foods with antioxidant activity were administered to Vav2 gene-deficient mouse, a glaucoma model mouse, and intraocular pressure was measured during the day and night for 7 days, which resulted in retinal ganglion cell death. No effect of administration of foods was observed. In addition, there was no effect of diurnal variation of intraocular pressure.

研究分野：解剖学

キーワード：緑内障 食品 眼圧

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

食品の機能解析：近年フラボノイドを含む食品が健康に良いという意識は広く知られており、視覚の維持にも効果があるといわれている。しかし、その科学的根拠は未だ乏しいといえる。その原因の一つとして考えられるのは、食品の効果を検証する評価系が不十分だということである。これまでは食品の成分分析をして効果が期待される成分を取りだし、細胞レベルで成分の効果を検証することが行われてきた。しかし、その結果が実際の生体において経口摂取から関係する器官にどのように達して、どのように働くかを統一的に評価することは困難である。この問題を解決するには *in vivo* で食品の機能を評価できる動物モデルの存在が最も有効な手段と思われる。我々はシグナル分子 Vav 遺伝子欠損マウス (Vav マウス) を開発し、それが高眼圧緑内障疾患モデルマウスであることを示してきた (Fujikawa PLoS ONE 2010)。本研究では Vav マウスを *in vivo* 評価系として用いることにより、これまでと異なる水準の食品の機能評価を計画している。

緑内障：日本人の失明原因の第 1 位は緑内障であり、40 歳以上の 20 人に 1 人の割合で発症する。眼圧の影響を受けて網膜上の網膜神経節細胞 (RGC) が損傷を受け細胞死にいたる。それにより視野欠損が起こり、病態は不可逆的に進行し最終的には失明に至る。そのため緑内障の治療には早期発見と疾病予防対策が求められている。

Vav マウス：我々は自ら開発した Vav2 遺伝子の欠損マウス (Vav マウス) の表現型に高眼圧が有ることを発見した。生後 6 週から眼圧が上昇し、10 週で正常マウスと比較して 20% 程度の上昇に達し、以降漸次減少する。これと平行して視神経乳頭の陥凹と網膜神経節細胞の脱落を認めた。これはヒト緑内障の病態に近似している。次に RGC が蛍光発色する CFP マウスと Vav マウスを交配し、CFP/Vav マウスを作成した。これによりマウス個体毎に眼圧と RGC 数を定量的に計測することが可能なマウスが作成された。

## 2. 研究の目的

フラボノイドを含む食品を緑内障モデルマウスである CFP/Vav マウスに給餌し、眼圧下降効果と RGC 数減少抑制効果を調査して、対象食品が緑内障の進行を抑制する効果があるか検証する

## 3. 研究の方法

最初に緑内障予防食品検討の候補となる食品を選定する。フラボノイド含有食品を候補とし、その抗酸化機能を検証し、候補食品を決定する。加えてこれまでの研究で初代培養細胞で高い RGC 保護効果があるルチンを含む食品も対象とする。次に対象とする食品を CFP/Vav マウスに離乳から成体までの期間給餌し、眼圧と RGC 数を計測する。CFP/Vav マウスの RGC 数が正常マウスと比較して減少の抑制が認められるかで、RGC 保護効果があるか検証する。次に眼圧と RGC 数の関連を求め、RGC 数の減少が眼圧に依存するかどうか検証する。依存しなければ、眼圧と関係の無い RGC 保護効果とし、関係が認められれば眼圧依存性の RGC 保護効果とする。

## 4. 研究成果

眼圧と RGC 数との平均値の関係：

9:00 の眼圧と RGC 数との間に有意な相関は認められなかった。また、21:00 の眼圧 RGC 数の間にも有意な相関は見られなかった。

抗酸化作用のある食品摂取と通常の給餌を行った動物の間に RGC 数の平均値に有意な差は認められなかった。

重回帰分析の結果：

マウス各個体の RGC 数を目的変数とし、9:00 眼圧、21:00 眼圧、遺伝子型、給餌の種類を説明変数とした重回帰分析の結果、その全ての偏回帰係数に有意なものは見られなかった。

考察：

本研究では眼圧の変動と RGC 数に関連は認められなかった。これは我々の以前の研究で Vav2 マウスにおいて日中眼圧と RGC 数の間に有意な相関が見られなかったことと結果が類似する。夜間の眼圧についても RGC 数とは関連が認められなかったことは Vav2 マウスが緑内障モデルマウスとしては RGC 数の減少量が少ない事が影響した事が考えられる。

給餌に抗酸化作用食品を混入させた資料を投与しても、RGC 数の結果には影響を与えな

ったことは、抗酸化作用のある食品としてアスパラガス擬葉ではなく、他の食品では効果がある可能性を否定はできない。また、アスパラガス擬葉の言高濃度が0.2%ではなく、異なった混合比なら効果が認められたのではと言う可能性も排除できない。

本研究で採用した実験条件では食品の影響は見いだせなかったが、食品全てに効果がなると結論できるものではない。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	鈴木 卓  (Suzuki Takasi)  (30196836)	北海道大学・農学研究院・准教授    (10101)	
研究分担者	藤川 恵子  (Fujikawa Keiko)  (70374246)	北海道大学・保健科学研究院・客員研究員    (10101)	
研究分担者	相原 一  (Aihara Makoto)  (80222462)	東京大学・医学部附属病院・教授    (12601)	