

平成21年 5月18日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2006 2008

課題番号：18591929

研究課題名（和文） 加齢黄斑変性の新しい治療評価系としての家兎眼実験モデルの開発

研究課題名（英文） Development of a New Rabbit Model of Age-Related Macular Degeneration

研究代表者

安川 力（YASUKAWA TSUTOMU）

名古屋市立大学・大学院医学研究科・准教授

研究者番号：00324632

研究成果の概要：加齢黄斑変性は成人失明の主要原因である。加齢現象を理解することは病態解明や疾患予防につながるものである。最初の加齢変化は網膜色素上皮細胞内へのリポフスチンと呼ばれる難溶性顆粒の蓄積であるが、本研究では、リポフスチンの成分である最終糖化産物の形成反応により人工的に作製したリポフスチン模擬微粒子を家兎の網膜下に移植することにより、リポフスチン蓄積モデルを作製した。本モデルは加齢黄斑変性の病態を再現しており加齢黄斑変性の病態解明に有用であると考えられた。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	1,300,000	0	1,300,000
2007年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2008年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	630,000	4,030,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・眼科学

キーワード：眼細胞生物学・加齢黄斑変性

## 1. 研究開始当初の背景

加齢黄斑変性は高齢者の失明の主要原因であり、有効な治療法の開発は高齢者の失明防止の観点から社会的意義も非常に大きい。加齢現象そのものが危険因子であることが統計上明らかであるが病態はよくわかっていない。したがって、加齢現象を考慮した加齢黄斑変性の動物モデルが開発できれば、病態解明や予防法も含めた新しい治療法の開発に有用である。

## 2. 研究の目的

眼内で起こる最初の加齢現象として、網膜色素上皮細胞内にリポフスチンと呼ばれる難溶性顆粒が蓄積するが、リポフスチンの主要成分である最終糖化産物の生成反応を利用して作製したリポフスチン模擬微粒子の網膜色素上皮細胞への影響を調査することと、家兎の網膜下にこの模擬顆粒を注入して加齢黄斑変性の病態を再現する新しい動物モデルを作製することを目的とした。

## 3. 研究の方法

(1) 最終糖化産物（リポフスチン模擬）微粒

子の作製：アルブミン水溶液にグリコールアルデヒド水溶液を添加後、エチルセルロース添加トルエン溶液に混合し、超音波プローブで Water in Oil エマルジョンを形成させ、そのまま4日間攪拌し続け、最終糖化産物形成反応によるアルブミンの架橋微粒子を得た。

(2) 培養網膜色素上皮細胞へのリポフスチン模擬微粒子の影響の検討：ドイツアイバンク協会より得たヒト眼球から単離した網膜色素上皮細胞を培養し、微粒子を培養液に混和して細胞に貪食させた後、細胞活性、接着能、増殖能等を検討した。

(3) 家兎加齢黄斑変性モデルの作製：麻酔による鎮静下で有色家兎の網膜下にリポフスチン模擬微粒子を注入した後、検眼鏡、生体顕微鏡検査、蛍光眼底造影などを行った。また、安楽死後に組織学的検討を行った。

#### 4. 研究成果

(1) リポフスチンと同サイズの直径約  $1\mu\text{m}$  の最終糖化産物微粒子を得た。

(2) 培養網膜色素上皮への影響を確認したところ、細胞数の100倍数の微粒子を培養液に混和した場合、全ての生存細胞が1個以上の微粒子を貪食していることが確認できた。この条件で、細胞の生存率は微粒子を与えていない対照群と有為差はなく、また細胞の接着能、増殖能にも影響は認めなかった。微粒子の一部は細胞外に排出されたが、一方で、難溶性で1ヶ月にわたって培養細胞内に留まっていることが確認できた。

(3) 家兎の網膜下に注入したリポフスチン模擬微粒子は網膜色素上皮細胞によって速やかに貪食されることにより、術後1週目には微粒子が網膜色素上皮細胞内に蓄積しており、ヒトの加齢眼におけるリポフスチン蓄積を模倣することができた。この家兎眼において、術後1ヶ月目にはドルーゼンと呼ばれる網膜色素上皮下の沈着物や異常眼底自発蛍光を認めた。また、術後3ヶ月には、脈絡膜新生血管を認め、加齢黄斑変性の病態に近似した所見が得られた。

#### 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9件)

① Sato R, Yasukawa T, Hirano Y, Ogura Y. Early-onset macular holes following ruptured retinal arterial macroaneurysms.

Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 246: 1779-1782, 2008, 査読有

② Takase A, Yasukawa T, Kato A, Ogura Y. Suppressive effect of short-interfering RNA on hyperglycemia-induced expression of intercellular adhesion molecule-1 on cultured vascular endothelial cells. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 246: 989-992, 2008, 査読有

③ Takayama K, Yasukawa T, Okada M, Sumida A, Watanabe N, Uchida S. Large blunt scleral rupture without retinal detachment. Ophthalmic Surg Lasers Imaging. 39: 242-245, 2008, 査読有

④ Yasukawa T, Wiedemann P, Hoffmann S, Kacza J, Eichler W, Wang YS, Nishiwaki A, Seeger J, Ogura Y. Glycooxidized particles mimic lipofuscin accumulation in aging eyes: a new age-related macular degeneration model in rabbits. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 245: 1475-1485, 2007, 査読有

⑤ Schastak S, Yafai Y, Yasukawa T, Wang YS, Hillrichs G, Wiedemann P. Flexible UV light guiding system for intraocular laser microsurgery. Lasers Surg Med. 39: 353-357, 2007, 査読有

⑥ Tokoro M, Yasukawa T, Okada M, Ogura Y, Uchida S. Copper foreign body in the lens without damage of iris and lens capsule. Int Ophthalmol. 27: 329-331, 2007, 査読有

⑦ Yasukawa T, Tabata Y, Kimura H, Kunou N, Ogura Y. Development of drug-delivery systems to the posterior segments of the eye. Expert Rev Ophthalmol. 2: 197-211, 2007, 査読有

⑧ Yasukawa T, Ogura Y, Kimura H, Sakurai E, Tabata Y. Drug delivery from ocular implants. Expert Opin Drug Deliv. 3:

261-273, 2006, 査読有

- ⑨ Thumann G, Hueber A, Dinslage S, Schaefer F, Yasukawa T, Kirchof B, Yafai Y, Eichler W, Bringmann A, Wiedemann P. Characteristics of iris and retinal pigment epithelial cells cultured on collagen type I membranes. *Curr Eye Res.* 31: 241-249, 2006, 査読有

[学会発表] (計7件)

- ① Yasukawa T, Wiedemann P, Hirata M, Takase A, Ogura Y. Fundus autofluorescence in a rabbit age-related macular degeneration model induced by simulation of lipofuscin accumulation. 26th meeting of the Club Jules Gonin, Sep. 10-13, 2008, St. Moritz, Switzerland
- ② Yasukawa T, Tokoro M, Sakurai E, Yoshida M, Ogura Y. Long-term outcome of radiation therapy for exudative age-related macular degeneration in Japanese patients. *World Ophthalmology Congress (WOC) 2008*, June 28-July 2, 2008, Hong Kong, China
- ③ Yasukawa T, Nishiwaki A, Wiedemann P, Takase A, Yafai Y, Eichler W, Bringmann A, Ogura Y. Three-dimensional spheroid culture system redifferentiates retinal pigment epithelial cells independent of number of passages. 2008 Annual Meeting of the Association for Research in Vision and Ophthalmology, May 1, 2008, Fort Lauderdale, USA
- ④ Yasukawa T, Wiedemann P, Hirata M, Takase A, Kunou N, Kimura E, Eichler W, Ogura Y. Fundus autofluorescence in a rabbit model of age-related macular degeneration induced by subretinal implantation of imitation lipofuscin. SOE The 16th congress of the European Society of Ophthalmology, June 9-12, 2007, Wien, Austria

- ⑤ Yasukawa T, Wiedemann P, Takase A, Nishiwaki A, Hirata M, Kacza J, Yafai Y, Eichler W, Seeger J, Ogura Y. Drusen formation in a three-dimensional culture system of retinal pigment epithelial cells. 2007 Annual Meeting of the Association for Research in Vision and Ophthalmology, May 7, 2007, Fort Lauderdale, USA
- ⑥ Yasukawa T, Wiedemann P, Kacza J, Yafai Y, Eichler W, Hoffmann S, Seeger J, Ogura Y. Drusen in aging eyes: a masterpiece of retinal pigment epithelium. 25th meeting of the Club Jules Gonin, Oct. 15-20, 2006, Cape Town, South Africa
- ⑦ Yasukawa T, Wiedemann P, Kacza J, Takase A, Seeger J, Ogura Y. In vitro observation system for basal functions of retinal pigment epithelium. 2006 Annual Meeting of the Association for Research in Vision and Ophthalmology, May 1, 2006, Fort Lauderdale, USA

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

[その他] なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

安川力 (YASUKAWA TSUTOMU)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・准教授

研究者番号: 00324632

### (2) 研究分担者

小椋祐一郎 (OGURA YUICHIRO)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号: 70191963

櫻井 英二 (SAKURAI EIJI)  
名古屋市立大学・大学院医学研究科・講師  
研究者番号：30305528

(3) 連携研究者  
なし