

平成 21 年 5 月 22 日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19592019
 研究課題名（和文） 加齢黄斑変性の病態解明—視細胞における脂質酸化とマクロファージの役割
 研究課題名（英文） Pathogenesis of Age-related macular degeneration - lipid oxidation in photoreceptors and roles of macrophages
 研究代表者
 瓶井 資弘（KAMEI MOTOHIRO）
 大阪大学・医学系研究科・准教授
 研究者番号：40281125

研究成果の概要：

光照射により網膜におけるリン脂質酸化、MCP-1 発現誘導、マクロファージ集積が見られることを見出した。また、in vitro で酸化リン脂質が MCP-1 発現を誘導していることを確認した。さらに、網膜下に酸化リン脂質を投与したところ、加齢黄斑変性の特徴的病変である脈絡膜新生血管を誘導することに成功した。MCP-1 ノックアウトマウスへの投与では、脈絡膜新生血管は生じなかったことより、光ストレス→リン脂質酸化→MCP-1 発現→マクロファージ集積→脈絡膜新生血管誘導という機序が存在する可能性を示唆できた。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2008 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

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：加齢黄斑変性、視細胞、脂質酸化、マクロファージ、光ストレス、慢性炎症

1. 研究開始当初の背景

加齢黄斑変性は先進国における 60 歳以上の失明原因の第一位であり、本邦でも人口の高齢化、生活習慣の欧米化に伴い、急速に発症頻度が増加している疾患である。加齢黄斑変性を広義の炎症性疾患としてとらえる考え方は、研究の発展とともに世界的に受け入れられてきている。われわれはこれまで、網膜内の酸化リン脂質量が年齢とともに増加しており、加齢黄斑変性眼では年齢をマッチさせた正常眼に比べ有意な増加が見られる

こと、滲出型加齢黄斑変性に見られる脈絡膜新生血管に集積しているマクロファージが酸化リン脂質を認識するスカベンジャーレセプターを発現していることを報告した。

2. 研究の目的

これまでの研究を継続・発展させ、in vivo で網膜に酸化ストレスを負荷し、細胞レベル、および、分子レベルでの脂質酸化の変化や、MCP-1 をはじめとする起炎症分子やマクロフ

アージの集積に関し検討し、加齢黄斑変性の発症・進展機序における役割を明らかにする。

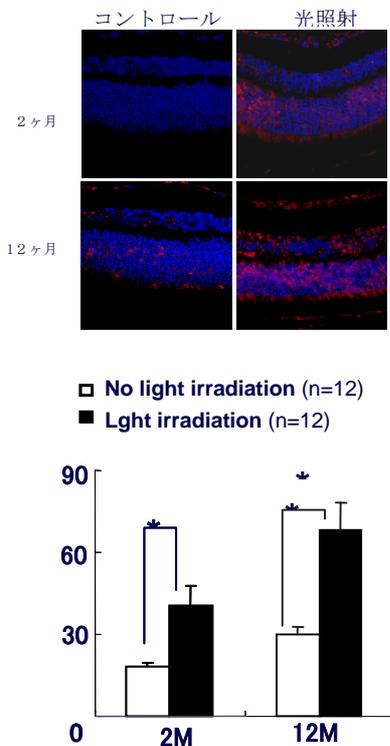
3. 研究の方法

- (1) 有色マウスを用いて、480nm の青色 LED 光照射により酸化ストレスを与える。
 - ① 酸化脂質の誘導・蓄積部位を免疫組織化学染色で同定する。
 - ② 酸化リン脂質量を、competitive ELISA 法を用いて定量する。
 - ③ 月齢の異なるマウスを用い、光照射による脂質酸化に違いがあるかを検討する。
 - ④ MCP-1 の発現誘導を real-time RT-PCR、ELISA、免疫染色を用いて検討する。
- (2) 培養網膜色素上皮細胞に合成酸化リン脂質を添加し、酸化ストレスを与える。MCP-1 が誘導されるかを real-time RT-PCR と ELISA を行ない検討する。
- (3) 合成酸化リン脂質を正常マウス網膜下に注入し、MCP-1 の上昇、ひいては、マクロファージの集積が得られるか否かを免疫染色、real-time RT-PCR、ELISA を用いて検討する。
- (4) *ccl-2* および *CCR2* ノックアウトマウスを用い、同様の実験を行い、加齢黄斑変性発症メカニズムにおける酸化リン脂質と MCP-1、マクロファージの役割を解析する。

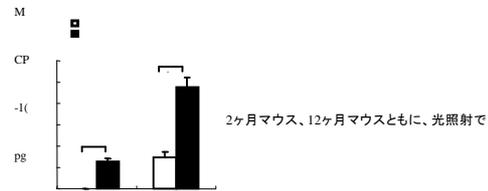
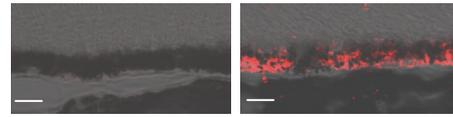
4. 研究成果

光照射によりリン脂質の酸化が網膜全層に誘導され、特に視細胞層での増加が著明であった。酸化リン脂質の定量を試みた

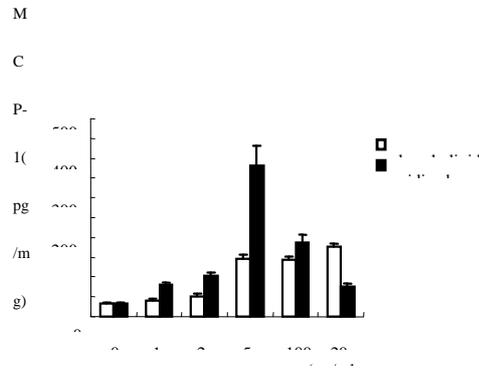
ところ、光照射により有意な増加が見られ、また、これらの反応が若年マウスに比べ加齢マウスで著明であるという結果を得た。光照射により、MCP-1 (monocyte chemoattra



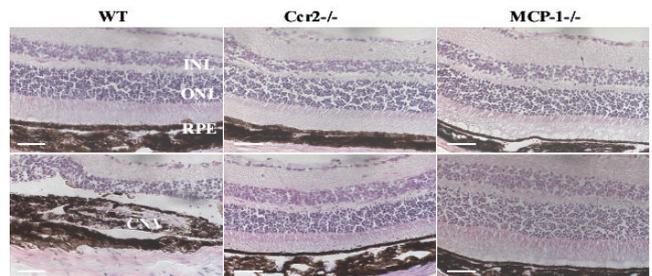
ctant protein-1) の発現誘導、マクロファージの集積が見られることも見出した。



また、*in vitro* で酸化リン脂質が MCP-1 発現を誘導していることを確認し、光ストレス→リン脂質酸化→炎症反応誘導と言う機序が存在する可能性を示した。



さらに、網膜下に酸化リン脂質を投与したところ、加齢黄斑変性の特徴的病変である脈絡膜新生血管を誘導することに成功した。酸化されていないリン脂質の投与や、MCP-1 あるいはそのレセプターである *CCR2* のノックアウトマウスへの投与では、脈絡膜新生血管は生じなかったことより、酸化リン脂質が MCP-1 の発現を介してマクロファージ集積、脈絡膜新生血管を誘導している可能性を示唆できた。



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 11 件)

- ① Kamei M, Tano Y. Tissue Plasminogen Activator-Assisted Vitrectomy: Surgical Drainage of Submacular Hemorrhage Developments in Ophthalmology, 2008 in press. 査読有
- ② Shima C, Sakaguchi H, Gomi F, Kamei M, Ikuno Y, Oshima Y, Sawa M, Tsujikawa M, Kusaka S, Tano Y. Complications in patients after intravitreal injection of bevacizumab. Acta Ophthalmol Scand 2008 ;86(4):372-6. 査読有
- ③ Wakabayashi T, Oshima Y, Sakaguchi H, Ikuno Y, Miki A, Gomi F, Otori Y, Kamei M, Kusaka S, Tano Y. Intravitreal bevacizumab to treat iris neovascularization and neovascular glaucoma secondary to ischemic retinal diseases in 41 consecutive cases. Ophthalmology 2008;115:1571-1580. 査読有
- ④ Gomi F, Sawa M, Sakaguchi H, Tsujikawa M, Oshima Y, Kamei M, Tano Y. Efficacy of Intravitreal bevacizumab for polypoidal choroidal vasculopathy. Br J Ophthalmol 2008;92:70-73. 査読有
- ⑤ Fang X, Sakaguchi H, Gomi F, Oshima Y, Sawa M, Tsujikawa M, Ikuno Y, Kamei M, Kusaka S, Tano Y. Efficacy and safety of one intravitreal injection of bevacizumab in diabetic macular oedema. Acta Ophthalmol 2008 Jun 11. [Epub ahead of print]. 査読有
- ⑥ Tano Y; Pegaptanib Sodium Multi-center Study Group. Pegaptanib sodium one-year treatment study for neovascular age-related macular degeneration. Nippon Ganka Gakkai Zasshi. 2008;112:590-600. 査読有
- ⑦ Gomi E, Ohji M, Sayanagi K, Sawa M, Sakaguchi H, Oshima Y, Ikuno Y, Tano Y. One-Year Outcomes of Photodynamic Therapy in Age-Related Macular Degeneration and Polypoidal Choroidal Vasculopathy in Japanese Patients. Ophthalmology. 2008;115:141-6. 査読有
- ⑧ Gomi F, Tano Y. Polypoidal choroidal vasculopathy and treatments. Curr Opin Ophthalmol. 2008;19(3):208-12. 査読有
- ⑨ Sakaguchi H, Ikuno Y, Gomi F, Kamei M, Sawa M, Tsujikawa M, Oshima Y, Kusaka S, Tano Y. Intravitreal injection of bevacizumab for choroidal neovascularization caused by pathological myopia. Br J Ophthalmol. 91: 161-5, 2007 査読有
- ⑩ Kamei M, Yoneda K, Kume N, Suzuki M, Itabe H, Matsuda K, Shimaoka T, et al:

Scavenger Receptors for Oxidized Lipoprotein in Age-related Macular Degeneration. Invest Ophthalmol Vis Sci, 48:1801-1807, 2007. 査読有

- ⑪ Suzuki M, Kamei M, Itabe H, Yoneda K, Bando H, Kume N, and Tano Y: Oxidized Phospholipids in the Macula Increased with Age and in Eyes with Age-related Macular Degeneration. Mol Vis, 13:772-778, 2007. 査読有

[学会発表] (計 4 件)

- ① Yasuo Tano Pathogenesis of Age-related Macular Degeneration. World Ophthalmology Congress 2008, 2008.7.1, Hong Kong
- ② Mihoko Suzuki, Motohiro Kamei, Hiroyuki Itabe, Zhao-Jiang Du, Koh-hei Sonoda, Motokazu Tsujikawa and Yasuo Tano. The pathogenic role of oxidized phospholipids in age-related macular degeneration. Association of Research for Vision and Ophthalmology 2008 Annual Meeting, 2008.5.1, Fort Lauderdale, FL, USA
- ③ 鈴木三保子、瓶井資弘、板部洋之、Zhao-Jiang Du、辻川元一、田野保雄 加齢黄斑変性への酸化リン脂質の関与, 日本眼科学会、2008.4.18、横浜
- ④ 瓶井資弘、鈴木三保子、板部洋之、Zhao-Jiang Du、辻川元一、田野保雄 加齢黄斑変性における酸化リン脂質の関与, 厚生労働省科学研究研究費補助金難治性疾患克服研究事業 網膜脈絡膜・視神経萎縮症に関する研究平成 19 年度班会議、2008.1.19、福岡

6. 研究組織

(1) 研究代表者

瓶井 資弘 (KAMEI MOTOHIRO)
大阪大学・医学系研究科・准教授
研究者番号：40281125

(2) 研究分担者

田野 保雄 (TANO YASUO)
大阪大学・医学系研究科・教授
研究者番号：80093433
五味 文 (GOMI FUMI)
大阪大学・医学系研究科・講師
研究者番号：80335364
辻川 元一 (TSUJIKAWA MOTOKAZU)
大阪大学・医学系研究科・講師
研究者番号：70419472

坂口 裕和 (SAKAGUCHI HIROKAZU)
大阪大学・医学系研究科・助教
研究者番号：80379172

(3) 連携研究者
なし