

平成 21 年 5 月 1 日現在

研究種目：若手研究（B）  
研究期間：2007～2008  
課題番号：19791253  
研究課題名（和文） 悪性黒色腫随伴網膜症の分子病態の解析と臨床応用  
研究課題名（英文） Investigate of molecular pathology for the malignant associate Retinopathy and clinical application  
研究代表者 山崎 仁志  
（YAMAZAKI HITOSHI）  
弘前大学・医学部附属病院・講師  
研究者番号：00374835

悪性黒色腫随伴網膜症と同様に網膜変性を生じるモデル動物である RCS ラット (Royal College of Surgeons Rat) の概要：

College of Surgeons Rat) P23H ラットおよび S334ter ラットに対しアントシアニン 1 mg/kg/day を連日経口投与し、効果を検討したところ、アントシアニン投与群では組織学的には RCS ラットと P23H ラットの外顆粒層の厚さが有意に保たれていた。また、TaqMan PCR を用いた apoptosis pathway の諸因子の変化を転写レベルで検討したところ、RCS ラット においては cas8 の発現が control に比べて有意に減少していた。以上から、ある種の網膜変性に対してはアントシアニンは効果があると考えられた。

#### 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,700,000	0	1,700,000
2008 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	480,000	3,780,000

研究分野：外科系臨床医学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・眼科学

キーワード：(1) 悪性黒色腫 (2) 自己免疫 (3) 網膜自己抗原 (4) RCS ラット (5) P23H ラット

#### 1. 研究開始当初の背景

悪性黒色腫随伴網膜症は悪性黒色腫に随伴する網膜症であり、遺伝的に網膜変性を生じる網膜色素変性や機械的傷害で引き起こされる光傷害網膜変性と病態に類似性がみられる。そこで、同様に網膜変性を生じるモデル動物である RCS ラット (Royal College of Surgeons Rat) P23H ラットおよび S334ter ラットを用いて、基礎研究を行った。

#### 2. 研究の目的

RCS ラット、P23H ラット、S334ter ラットはヒト網膜色素変性をはじめとする遺伝性

網膜変性の分子病態および治療研究のモデルとして広く用いられている。また、植物ポリフェノールの一種であるアントシアニンはロドプシンの再生を促進することが知られている。アントシアニンとは植物中に含まれる赤色系色素で、その構造は3つの部分構造「アントシアニジン(母核)糖および有機酸それぞれが多種の構造をとる」で構成される。

カシスに含まれる4種類のアントシアニンには、毛様体筋の弛緩作用を示す成分とロドプシン再生促進作用を示す成分が含まれている。

そこで本研究では遺伝性網膜変性疾患モデル

ラット網膜変性に対するアントシアニンの影響を検討することを目的とした。

RCS ラットの網膜変性は Mertk 遺伝子異常によって発症し、網膜色素上皮細胞の視細胞外節 phagocytosis 不全により網膜変性が生じると考えられている。このモデル動物の網膜変性は生後 2 週から始まり、生後 2 カ月ではほぼ完成する。

P23H ラットはコドン 23 番目のプロリンがヒスチジンに変異した mutant であり、欧米の常染色体優性網膜色素変性でもっとも多い変異である。その変性は生後約 1 か月から始まり、約 3 か月で完成する。

S334ter ラットはコドン 334 セリンの位置で終始コドンに変異した mutant。ロドプシンリン酸化部位がすべて切断されている。その変性は生後約 3 週から始まり、約 3 か月で完成する。

以上を踏まえ、以下の方法で実験を行った。

### 3. 研究の方法

1) RCS ラットに対してカシスより抽出したアントシアニン 1 mg/kg/day を生後 3 週から 4 週まで連日経口投与し、生後 4 週目に網膜機能評価のため、網膜電位図 (ERG) を測定した。また、形態学的評価として、組織標本を作成し、網膜の厚さを測定した。さらに、網膜組織を採取し、TaqMan PCR を用いた apoptosis pathway の諸因子の変化を転写レベルで検討した。

2) P23H ラットに対して生後 4 週から 8 週まで同様に経口投与し、生後 6、8 週目に網膜機能評価のため、網膜電位図 (ERG) を測定した。また、形態学的評価として、組織標本を作成し、網膜の厚さを測定した。さらに、網膜組織を採取し、TaqMan PCR を用いた apoptosis pathway の諸因子の変化を転写レベルで検討した。

3) S334ter ラットに対して生後 10 日から 20 日まで同様に経口投与し生後 20 日に網膜機能評価のため、網膜電位図 (ERG) を測定した。また、形態学的評価として、組織標本を作成し、網膜の厚さを測定した。さらに、網膜組織を採取し、TaqMan PCR を用いた apoptosis pathway の諸因子の変化を転写レベルで検討した。

対照には基剤のみを投与したものをを用い、同様に計測した。

### 4. 研究成果

この結果、アントシアニン投与群では組織学的には RCS ラットと P23H ラットの外顆粒層の厚さが有意に保たれていたが、S334ter ラットでは効果が見られなかった。すなわち、形態学的保護効果は、RCS ラットと P23H ラットにおいてみられた。

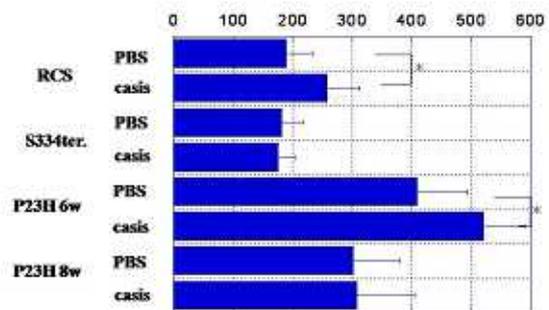
網膜電位図では、RCS ラットと P23H ラッ

トにおいて b 波の振幅の低下が抑制されていた。すなわち、機能的保護効果は、RCS ラットと P23H ラットにおいてみられた。

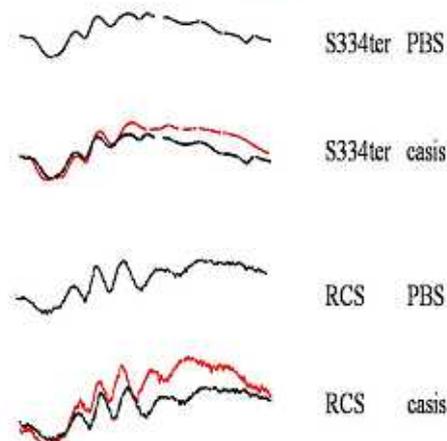
TaqMan PCR を用いた apoptosis pathway の諸因子の変化を転写レベルで検討したところ、RCS ラットにおいては cas8 の発現が control に比べて有意に減少していたが、その他の因子については変化はみられなかった。S334ter ラット、P23H ラットにおいてはいずれの因子も有意な変化はみられなかった。

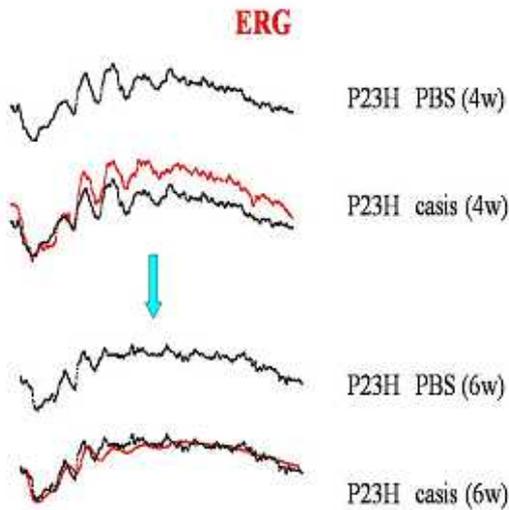
以上から、ある種の網膜変性に対しては効果があるものの、その病態は未だ不明であり、今後さらなる検討を有すると思われた。

ERG:b-wave

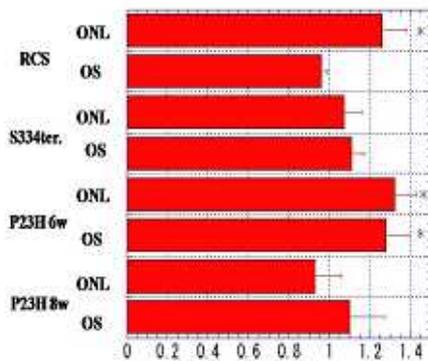


ERG





Rate of retinal thickness to control



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3件)

盛泰子、石川太、山崎仁志、伊藤忠、竹内侯雄、木村智美、中澤満  
強膜弁無縫合改良非穿孔トラベキュlectミーの手術成績  
あたらしい眼科、査読有  
25巻、2008年、1443-1446

工藤孝志、鈴木幸彦、鈴木香、山崎仁志、中澤満  
硝子体出血を生じたため硝子体手術を行った加齢黄斑変性の視力転帰  
臨床眼科、査読有  
62巻、2008年、1723-1726

鈴木香、鈴木幸彦、目時智美、山崎仁志、中村秀世、中澤満  
健全な若年男性に生じた原因不明の黄斑部網膜下滲出性病変  
臨床眼科、査読有  
62巻、2008年、1901-1905

〔学会発表〕(計0件)

〔図書〕(計0件)

〔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 山崎 仁志  
(YAMAZAKI HITOSHI)  
弘前大学・医学部附属病院・講師  
研究者番号：00374835

(2)研究分担者  
( )

研究者番号：

(3)連携研究者  
( )

研究者番号：

様式 C-19 (記入例)  
 科学研究費補助金研究成果報告書

平成 年 月 日現在

研究種目：基盤研究 (A)  
 研究期間：2004 ~ 2007  
 課題番号：16000000  
 研究課題名 (和文) に関する研究  
 研究課題名 (英文) AAAAAAAAAA  
 研究代表者  
 学振 太郎 (GAKUSHIN TARO)  
 大学・大学院理工学研究科・教授  
 研究者番号：

研究成果の概要：

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2004年度	10,000,000	3,000,000	13,000,000
2005年度	10,000,000	3,000,000	13,000,000
2006年度	10,000,000	3,000,000	13,000,000
2007年度	10,000,000	3,000,000	13,000,000
年度			
総計	40,000,000	12,000,000	52,000,000

研究分野：  
 科研費の分科・細目：  
 キーワード：

1. 研究開始当初の背景  
 (1)

(2)

(2)

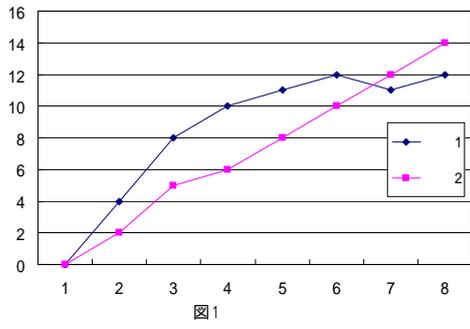
3. 研究の方法  
 (1)

2. 研究の目的  
 (1)

(2)

#### 4. 研究成果

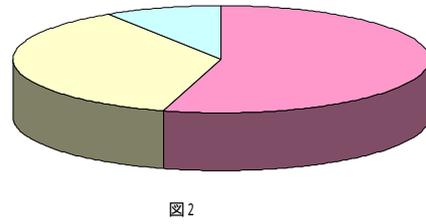
(1)



(2)

(4)

(5)



(3)

(6)

(7)

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10件)  
学振太郎、半蔵門一郎、学振花子、論文名、  
掲載誌名、巻、最初と最後の頁、発表年(西  
暦)、査読の有無

学振太郎、論文名、掲載誌名、巻、最初  
と最後の頁、発表年(西暦)、査読の有無

学振花子、論文名、掲載誌名、巻、最初  
と最後の頁、発表年(西暦)、査読の有無

〔学会発表〕(計5件)

〔図書〕(計2件)

〔産業財産権〕  
出願状況(計 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 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  
http://

6. 研究組織

(1)研究代表者

学振 太郎 (GAKUSHIN TARO)  
大学・大学院理工学研究科・教授  
研究者番号：

(2)研究分担者

学振 花子 (GAKUSHIN HANAKO)  
大学・大学院理工学研究科・教授  
研究者番号：

学振 次郎 (GAKUSHIN JIRO)

大学・大学院理工学研究科・教授  
研究者番号：

学振 三郎 (GAKUSHIN SABURO)

大学・大学院理工学研究科・教授  
研究者番号：

(3)連携研究者

学振 四郎 (GAKUSHIN SHIRO)

大学・大学院理工学研究科・教授  
研究者番号：