

機関番号：16201

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20592078

研究課題名(和文) アンジオテンシン変換酵素阻害薬は正常眼圧緑内障患者を救えるか

研究課題名(英文) Potential role for angiotensin-converting enzyme inhibitors in the treatment of patients with normal-tension glaucoma

研究代表者

廣岡 一行 (HIROOKA KAZUYUKI)

香川大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：10325350

研究成果の概要(和文)：アンジオテンシン II タイプ 1 受容体拮抗薬であるカンデサルタンのラット緑内障モデルにおける効果について検討した。ラット緑内障モデルは、右眼の上強膜静脈を熱凝固することにより作成した。カンデサルタンを経口投与し、眼圧は手術前と術後は週に一度測定した。9 週後に fast blue を両側の上丘内に注入し、その 1 週後に網膜伸展標本作製し、標識された網膜神経節細胞を計測した。コントロール眼に比べ手術眼では 10 週間にわたって約 2.5 倍の眼圧上昇が得られた。無治療群の手術眼の生存網膜神経節細胞は正常眼圧である僚眼に比べ、46.5%であったのに対して、治療群では 84.2%であり、カンデサルタンはラット緑内障モデルにおける網膜神経節細胞死に対して神経保護効果があり、緑内障治療薬になりうる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We investigate the neuroprotective effect of candesartan, an angiotensin II type 1 receptor blocker, against the neurotoxicity of the retinal ganglion cells (RGCs) in an animal model of glaucoma. Cauterization of 3 episcleral vessels in rats was used to create chronically and elevated intraocular pressure (IOP) in one eye. Rats were then orally treated with candesartan (1 mg/kg/day). As compared to the contralateral control eyes, there was a consistently elevated IOP of approximately 2.5-fold during the experimental period. As compared to the contralateral control eyes that had normal IOPs, the RGC survival rate in the central retina of eyes with the chronic, elevated IOP was 46.5% in the untreated animals and 84.2% in the candesartan-treated animals. In the rat chronic glaucoma model, continuous pharmacological treatment using candesartan results in significant neuroprotection against RGC loss.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2009 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010 年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：緑内障

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・眼科学

キーワード：緑内障、神経保護、アンジオテンシン II タイプ 1 受容体拮抗薬、アンジオテンシン変換酵素阻害薬

1. 研究開始当初の背景

アメリカの大規模疫学調査のデータにもみられるように、30%の眼圧下降が得られても、なお進行する正常眼圧緑内障例が存在することは明らかである。このことから、正常眼圧緑内障における眼圧非依存因子の解明および神経保護治療の確立は非常に重要であると考えられる。以前より我々は正常眼圧緑内障における眼圧非依存因子の解明を積極的にこなっており、その1つとして正常眼圧緑内障患者では健常者に比べて内因性のブラジキニンが少ない可能性があることを報告した。また、正常眼圧緑内障の視野障害に対するアンジオテンシン変換酵素阻害薬の効果について、高血圧の既往のない正常眼圧緑内障患者、高血圧に罹患しておりアンジオテンシン変換酵素阻害薬を内服している正常眼圧緑内障患者、高血圧に罹患しておりアンジオテンシン変換酵素阻害薬以外の降圧薬を内服している正常眼圧緑内障患者の3群に分け retrospective に検討した結果、3群間で経過観察中の最高眼圧、最低眼圧、平均眼圧に差が見られないにもかかわらず、アンジオテンシン変換酵素阻害薬を内服している正常眼圧緑内障患者では、緑内障性視野障害の進行が他の2群に比べ緩やかであることを報告した。更にアンジオテンシン変換酵素阻害薬はアルツハイマー病の進行を抑制する可能性がある事が報告されている。

2. 研究の目的

(1) 網膜虚血再灌流モデルにおけるアンジオテンシン変換酵素阻害薬の神経保護効果、およびその作用経路を調べる。

(2) ラット緑内障モデルにおけるアンジオテンシン II タイプ 1 受容体拮抗薬の神経保護効果を調べる。

3. 研究の方法

(1) 眼圧を 130 mmHg まで上昇させることにより眼虚血を起こし、虚血時間は 4 5 分間とした。腹腔内にアンジオテンシン変換酵素阻害薬カプトプリル (10 mg/kg) を投与した群と蒸留水のみを投与した群とに分けた。神経節細胞の生存率、網膜内層厚を用いて薬剤の効果の判定した。薬剤は虚血開始 30 分前に腹腔内に投与した。更に作用経路を調べるためにカリクレイン・キニン系ではブラジキニン受容体拮抗薬であるイカチバント (1 mg/kg) 単独とカプトプリルとイカチバントの同時投与を、レニン・アンジオテンシン系ではアンジオテンシン II タイプ 1 受容体拮抗薬であるカンデサルタン (1 mg/kg) とア

ンジオテンシン II タイプ 2 受容体拮抗薬である PD123319 (5 mg/kg) を投与した (図 1)。免疫染色を用いて、アンジオテンシン II タイプ 1 受容体の局在を調べた。虚血開始 30 分前にジハイドロエチヂウムを投与することにより、活性酸素の産生を調べた。

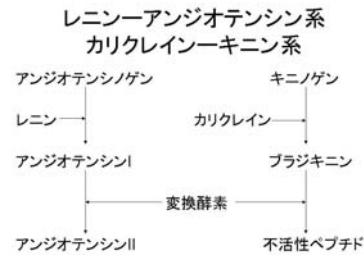


図 1

(2) ラット緑内障モデルは、右眼の上強膜静脈を熱凝固することにより作成した。左眼は無処置とした (コントロール)。治療群 (カンデサルタン経口投与) と蒸留水投与群にわけ、眼圧は手術前と術後は週に一度測定した。9 週後に fast blue を両側の上丘内に注入し、その 1 週後に網膜伸展標本を作製し、標識された網膜神経節細胞を計測した。またアンジオテンシン II タイプ 1 受容体の局在を調べるため免疫染色を行った。

4. 研究成果

(1) 網膜厚の減少率において蒸留水群 (56.8%) との比較ではカプトプリル群 (93.3%) とカプトプリルとイカチバントの同時投与群 (93.9%) のみに有意差を認めた。イカチバント群 (70.9%) や PD123319 群 (77.9%) では蒸留水群との間に有意差を認めなかったが、カンデサルタン群 (78.7%) と基剤群 (46.1%) の間には有意差を認めた。また神経節細胞の生存率は網膜中央部で蒸留水群 53.2%、カンデサルタン群 72.9%、カプトプリル群 71.9%であり、網膜周辺部でそれぞれ 54.2%、73.5%、75.2%であり、カンデサルタンやカプトプリルを投与することにより神経節細胞死は有意に抑制された (図 2)。

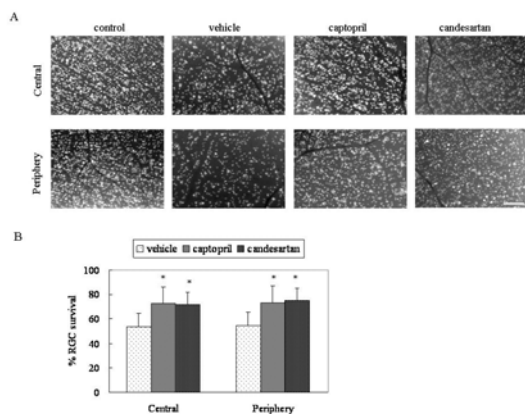


図 2

免疫染色では、正常の網膜では血管内皮細胞にのみアンジオテンシン II タイプ 1 受容体の発現がみられたが、虚血後は網膜の内層に多数のアンジオテンシン II タイプ 1 受容体の発現が認められた (図 3)。ELISA にてアンジオテンシン II タイプ 1 受容体の発現量を調べたところ、再灌流 12 時間後に最も多く認められた。

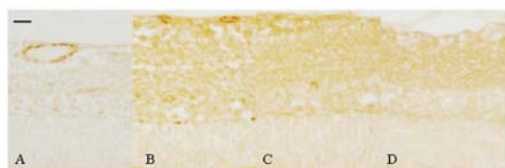


図 3 A : 正常網膜、B : 再灌流 6 時間後、C : 再灌流 12 時間後、D : 再灌流 24 時間後

活性酸素の産生は虚血後に多くみられたが、カプトプリルやカンデサルタンを投与することにより活性酸素の産生は抑制された (図 4, 5)。

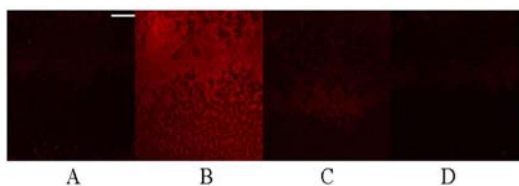


図 4 A : 正常網膜、B : 虚血網膜、C : 虚血網膜+カプトプリル、D : 虚血網膜+カンデサルタン

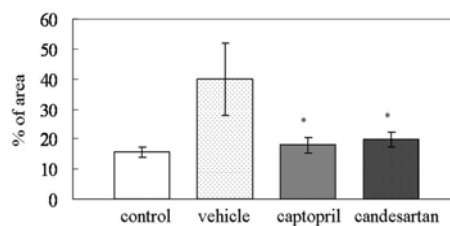


図 5

以上の結果よりレニン・アンジオテンシン系を阻害することにより、網膜虚血再灌流障害に対して神経保護効果が得られる可能性が示唆された。

(2) 右眼の眼圧は 10 週間にわたって 20~25 mmHg で推移し、アンジオテンシン II タイプ 1 受容体拮抗薬の 1 つであるカンデサルタン投与群と蒸留水投与群では眼圧に差はみられなかった。また無処置の左眼の眼圧は 10 mmHg 前後であった (図 6)。また少なくとも今回投与した 1 mg/kg のカンデサルタンは、10 週間にわたって血压には影響を与えなかった。

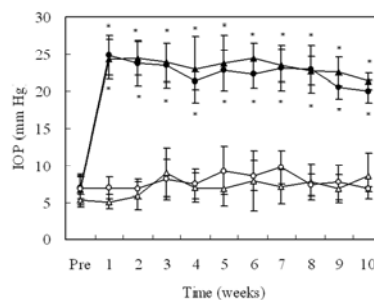


図 6

10 週後に網膜神経節細胞の数をカウントしたところ、網膜の神経節細胞の生存率は、カンデサルタンを投与することにより、網膜の中央部、周辺部ともに有意に多くなっていた (図 7)。

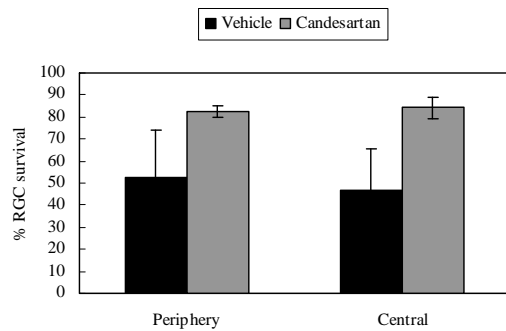


図 7

正常眼の網膜では、アンジオテンシン II タイプ 1 受容体は網膜血管にのみ認められた (図 8 A) のに対して、眼圧上昇 3 週後の蒸留水投与群及び眼圧上昇 10 週後の間でサルタン投与群では神経節細胞にアンジオテンシン II タイプ 1 受容体の陽性細胞が認められた (図 8 B)。これに対し、眼圧上昇 10 週後の蒸留水投与群ではアンジオテンシン II タイプ 1 受容体陽性細胞が減少していた (図 8 C)。しかし神経節細胞がほとんど死んでいないと思われる眼圧上昇 3 週後の無治療の網膜には、アンジオテンシン II タイプ 1 受容体陽性細胞が認められた (図 8 D)。このことは、蒸留水投与群のアンジオテンシン II タイプ 1 受容体の陽性細胞が死に至ったため、眼圧上昇 10 週後にはほとんど認められなかったものと推測される。

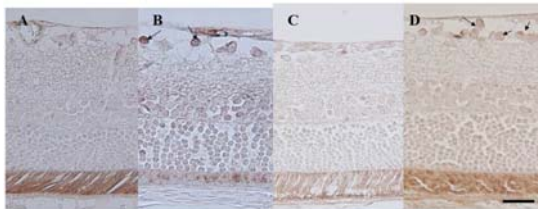


図 8 A : 正常網膜、B : 眼圧上昇 10 週後の網膜 (カンデサルタン投与)、C : 眼圧上昇 10 週後の網膜 (蒸留水投与)、D : 眼圧上昇 3 週後の網膜 (蒸留水投与) 矢印はアンジオテンシン II タイプ 1 受容体の陽性細胞を示す。

以上の結果から、レニン・アンジオテンシン系は網膜神経細胞死に関与している可能性があること、カンデサルタンはラット緑内障モデルにおける網膜神経節細胞死に対して神経保護効果があり、緑内障治療薬になりうる可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 (計 2 件)

- ① Kouki Fukuda, Kazuyuki Hirooka, Masanori Mizote, Takehiro Nakamura, Toshifumi Itano, Fumio Shiraga. Neuroprotection against retinal ischemia-reperfusion injury by blocking the angiotensin II type 1 receptor. Invest Ophthalmol Vis Sci 51, 2010, 3629-3638
- ② Hongwei Yang, Kazuyuki Hirooka, Kouki Fukuda, Fumio Shiraga. Neuroprotective effects of angiotensin II type 1 receptor blocker in a rat model of chronic glaucoma. Invest Ophthalmol Vis Sci 50, 2009, 5800-5804

〔学会発表〕 (計 3 件)

- ① 第 20 回日本緑内障学会
廣岡一行、楊宏偉、福田恒輝、白神史雄
ラット緑内障モデルにおけるアンジオテンシン II タイプ 1 受容体拮抗薬の神経保護効果 2009. 11. 13-15 沖縄
- ② World Glaucoma Congress 2009
Kazuyuki Hirooka, Hongwei Yang, Kouki Fukuda, Fumio Shiraga
Neuroprotective effects of angiotensin II type 1 receptor blocker in a rat model of glaucoma. 2009. 7. 8-11 Boston, USA
- ③ 第 113 回日本眼科学会総会
福田恒輝、廣岡一行、溝手雅宣、白神史雄
レニン・アンジオテンシン系阻害薬による網膜虚血再灌流モデルにおける神経保護効果 2008. 16-19 東京

6. 研究組織

(1) 研究代表者

廣岡 一行 (HIROOKA KAZUYUKI)
香川大学・医学部附属病院・講師
研究者番号 : 10325350

(2) 研究分担者 :

白神 史雄 (SHIRAGA FUMIO)
香川大学・医学部・教授
研究者番号 : 50187530

馬場 哲也 (BABA TETSUYA)
香川大学・医学部・准教授
研究者番号 : 20252968