

機関番号：15501
 研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2009 ～ 2010
 課題番号：21791684
 研究課題名（和文）強膜線維芽細胞を介したコラーゲングル収縮・分解へのプロスタグランジン誘導体の影響
 研究課題名（英文）Effect of prostaglandin analogues on contraction and degradation of collagen gel mediated by human scleral fibroblasts
 研究代表者
 鈴木 克佳（SUZUKI KATSUYOSHI）
 山口大学・医学部附属病院・講師
 研究者番号：90325217

研究成果の概要（和文）：緑内障薬物治療の第一選択薬であるプロスタグランジン関連薬は、ぶどう膜強膜流出路から房水流出促進作用によって眼圧を下降させるが、その作用機序やぶどう膜強膜流出路の生理については不明な部分が多い。今回の研究で、プロスタグランジン関連薬が強膜線維芽細胞細胞内の種々のリン酸化酵素の活性化とストレス線維の形成によって強膜中のコラーゲンを収縮させ、強膜の構造を変化させることにより、ぶどう膜強膜流出路からの房水流出を促進させる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：Prostaglandin analogues improve uveoscleral outflow, but its mechanism and physiology of uveoscleral outflow are still unknown. In this study, prostaglandin analogues induced collagen gel contraction mediated by human scleral fibroblasts. This action of prostaglandin analogues appeared to depend on the formation of stress fibers as well as the activation of mitogen-activated protein kinase, focal adhesion kinase, Rho-associated kinase in human scleral fibroblasts. Prostaglandin analogues might therefore influence scleral structure by affecting the contractility of scleral fibroblasts, resulting in improvement of uveoscleral outflow.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	2,300,000	690,000	2,990,000
2010 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度	0	0	0
年度	0	0	0
年度	0	0	0
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

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：強膜線維芽細胞、PG F2・、collagen gel

1. 研究開始当初の背景

緑内障はわが国の中途失明原因の第一位である。緑内障の主たる発症機序は、毛様体で産生された房水の眼外への流出障害により、眼内圧（眼圧）が上昇し、視神経乳頭部において神経節細胞の軸索が絞扼され細胞死に陥ることである。

房水の眼外への流出路には線維柱帯からシュレム管に流出する経路（主経路）と、毛様体筋から上脈絡膜腔、さらに強膜を貫流して眼外へ流出する経路（ぶどう膜強膜流出路）の2つがある。

以前より解剖学・生理学的見地から主経路が重要視されていたが、1990年代後半にぶどう膜強膜流出路からの房水流出量を増加させて眼圧下降効果を発揮するプロスタグランジン F2・誘導体の一つであるラタノプロストが開発されて緑内障薬物治療の第一選択薬として使用されるようになり、ぶどう膜強膜流出路は一躍注目されるようになった。

しかしながら、ぶどう膜強膜流出路は房水流出経路としての主経路におけるシュレム管のような管腔構造といった解剖学的特徴を認めておらず、その生理は不明な部分が多く、ぶどう膜強膜流出路の最終関門である強膜を房水が透過する機序については解明されていない。

2. 研究の目的

今回、我々はヒト培養強膜線維芽細胞をコラーゲンゲル中で培養し、そのコラーゲンゲルの収縮や分解に及ぼすプロスタグランジン F2・誘導体の影響を調べることにより、房水がぶどう膜強膜流出路のうちの強膜を透過する機序を明らかにする。

3. 研究の方法

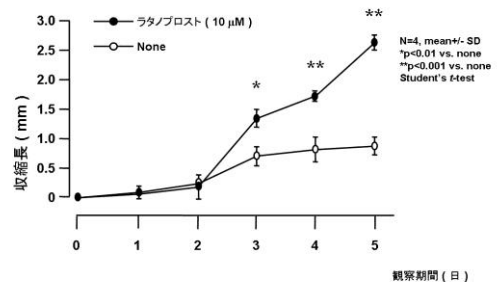
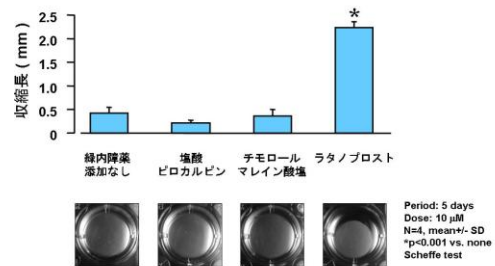
強膜線維芽細胞を Type I コラーゲンゲル中で3次元培養し、種々のプロスタグランジン F2・誘導体を添加して時間経過とともにコラーゲンゲルの直径を測定してコラーゲンゲル収縮能を評価した。

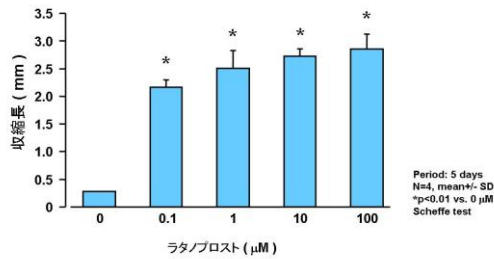
細胞内シグナル伝達経路の調節因子の活性化を評価し、それらの阻害薬を添加して、コラーゲンゲル収縮への影響を検討した。

コラーゲンの分解に関与する matrix metalloproteinase (MMP) の発現やコラーゲンの分解量を測定してコラーゲン分解作用を評価した。

4. 研究成果

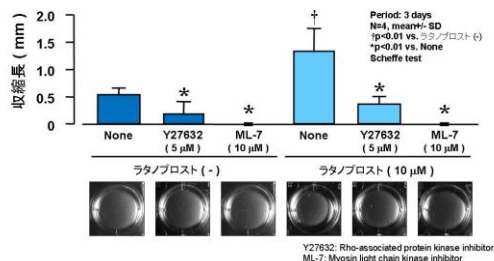
プロスタグランジン F2・誘導体の一つであるラタノプロストは、その他の種類の緑内障薬と比較して強膜線維芽細胞を介したコラーゲンゲル収縮作用を示し、濃度依存的・時間依存的にコラーゲンゲル収縮が促進した。





タフルプロスト、トラボプロスト、ビマトプロストなどのその他のプロスタグランジン F2・誘導體もコラーゲン収縮作用を認め、プロスタグランジン FP 受容体の拮抗薬 AL1880 を添加するとコラーゲン収縮作用が抑制されたことから、FP 受容体を介した強膜線維芽細胞による影響が示唆された。

ラタノプロストの濃度依存的に mitogen-activated protein kinase (MAPKs) のうち extracellular signal-regulated kinase (ERK), p38, c-Jun NH2-terminal kinase (JNK) のリン酸化を認め、focal adhesion kinase (FAK) のリン酸化を認め、MAPKs, Rho-associated kinase の阻害薬を添加するとラタノプロスト存在下でのコラーゲンゲルの収縮が抑制されたことから、強膜線維芽細胞を介したコラーゲンゲル収縮機序の一つとして、MAPKs や Rho-associated kinase を介した FAK の活性化が関与していることが示唆された。



したがって、プロスタグランジン F2・誘導

体は、強膜の収縮に伴う構造変化を起こし、強膜からの水分の透過を促進させる可能性が示唆された。

また、様々な濃度のラタノプロストをコラーゲンゲルの培養液中に添加しての培養上清中の MMP-1 の発現量を western blotting 法で評価したところ、ラタノプロストの濃度依存的に MMP-1 の発現量が促進されることが確認された。



したがって、プロスタグランジン F2・誘導體は、コラーゲンゲル中の強膜線維芽細胞に対して、コラーゲンゲル収縮とは別の作用として MMP-1 を介したコラーゲンの分解を促進し、強膜の水分透過性を増加させている可能性が示唆された。

これまでプロスタグランジン F2・誘導體は、毛様体筋の筋間のコラーゲンを初めとする細胞外マトリックスの代謝を促進し水分の透過性を亢進させることで眼圧下降作用を発揮することが分かっている。今回の研究によって、プロスタグランジン F2・誘導體は、ぶどう膜強膜流出路の最終関門である強膜自体の構造を変化させて眼圧下降作用を発揮している可能性が示唆された。これらの結果は、今後強膜構造や代謝に影響を及ぼす機序を標的とした緑内障新薬の開発や緑内障の病態解明の一助となることが期待される。

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 0 件)

[学会発表] (計 0 件)

[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]

ホームページ等

<http://ds.cc.yamaguchi-u.ac.jp/~eye/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鈴木 克佳 (SUZUKI KATSUYOSHI)

山口大学・医学部附属病院・講師

研究者番号: 903205217

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし