

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 19 日現在

機関番号：37104

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2010～2011

課題番号：22890230

研究課題名（和文）Rac1 と NADPH オキシダーゼ阻害による網膜色素変性モデルの視細胞保護効果

研究課題名（英文）Protection of photoreceptors by inhibiting Rac1 and NADPH oxidase in an animal model of retinitis pigmentosa

研究代表者

春田 雅俊（HARUTA MASATOSHI）

久留米大学・医学部・講師

研究者番号：90359802

研究成果の概要（和文）：

RCS ラットは網膜色素変性の動物モデルとしてよく研究されている。今回 4 週齢 RCS ラットの腹腔内に NADPH オキシダーゼ阻害剤であるアポシニン（50mg/kg）または溶媒のみを投与した。8 週齢、12 週齢において網膜切片を作成し、生存している視細胞数を外顆粒細胞層の厚さとして評価した。今回の実験条件下では、残念ながら NADPH オキシダーゼ阻害剤を投与した群と溶媒のみを投与した群の間で、外顆粒細胞層の厚さに有意差を検出することができなかった。

研究成果の概要（英文）：

The RCS rat is a widely studied animal model of retinitis pigmentosa. In this study, 4-week-old RCS rats were injected intraperitoneally either with NADPH oxidase inhibitor (apocynin, 50mg/kg) or vehicle only. Eyes from 8-week and 12-week-old RCS rats were used for histologic evaluation. Photoreceptor cell number was evaluated by measuring outer nuclear layer thickness on retinal sections. However, there was no statistical difference in outer nuclear layer thickness between apocynin-injected and sham-injected RCS rats.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,230,000	369,000	1,599,000
2011 年度	1,130,000	339,000	1,469,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,360,000	708,000	3,068,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：眼科学

 キーワード：(1) 網膜色素変性 (2) RCSラット (3) NADPHオキシダーゼ (4) 視細胞  
 (5) アポトーシス (6) 神経保護 (7) 光傷害 (8) Rac1

## 1. 研究開始当初の背景

網膜色素変性は両眼性、進行性、遺伝性の視細胞変性疾患である。現在のところ有効な根本的治療は確立されておらず、成長因子の投与、遺伝子治療、人工多能性幹細胞由来の網膜細胞移植、人工網膜など臨床応用にむけたさまざまな基礎研究がすすめられている。特に RPE65 遺伝子変異による劣性レーバー先天盲に対しては、アデノ随伴ウイルスによる遺伝子治療が動物モデルだけではなく、ヒトの患者でも治療効果があることが報告された。ただし近年の分子生物学的な検索により網膜色素変性の原因遺伝子はかなり多岐にわたることが明らかになりつつあり、網膜色素変性の患者それぞれが持つ変異に対してテーラーメイドの遺伝子治療を行うには問題も多いと思われる。

以前に我々は 8 週齢の野生型マウスに NADPH オキシダーゼ阻害剤を腹腔内に投与したところ、溶媒のみを投与したシャムと比べて、光傷害 1 週間後の視細胞を有意に保護する効果を報告した (Haruta M et al, Proc Natl Acad Sci U S A. 106:9397-9402, 2009)。このことから急性の視細胞変性を引き起こす光傷害モデルにおいては、NADPH オキシダーゼ阻害によって視細胞保護効果があることが示唆された。

## 2. 研究の目的

視細胞の細胞死は光傷害では急性に進行するのに対し網膜色素変性では慢性に進行するが、どちらの視細胞の細胞死も共通のメカニズムであるアポトーシスを介して行われている。今回、光傷害モデルだけではなく、網膜色素変性モデル動物においても NADPH オキシ

ダーゼが視細胞の細胞死に関与しているかを検討し、これらの経路の阻害により視細胞の神経保護効果が得られるかを確認することを本研究の目的とした。

## 3. 研究の方法

RCS ラットは *Mertk* 遺伝子の異常により 2-3 か月かけて徐々に視細胞変性を引き起こす網膜色素変性モデル動物として知られている。今回 4 週齢の RCS ラットに NADPH オキシダーゼ阻害剤または溶媒のみを腹腔内に投与し、投与後 4 週、8 週において生存している視細胞数を網膜切片における外顆粒細胞層の厚さとして評価した。

## 4. 研究成果

今回の実験条件下では、NADPH オキシダーゼ阻害剤を投与した群と溶媒のみを投与した群の間で、網膜切片における外顆粒細胞層の厚さに統計学的に有意な差を検出することができなかった。

急性に視細胞変性が進行する光傷害モデルでは視細胞の細胞死はロドプシンに依存するのに対し、慢性に進行する RCS ラットではロドプシンには依存しないことが報告されている。今回 NADPH オキシダーゼ阻害によっても RCS ラットの視細胞保護効果が確認できなかった一因としては、これらの細胞内シグナル経路の相違がまず考えられる。また今回の検討では慢性に視細胞変性が進行する網膜色素変性モデルに対して NADPH 阻害剤を 1 回のみ腹腔内に投与しており、投与回数や投与方法が不十分であった可能性も否定できないと考えられる。

## 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7件)

- ① 岩田健作、春田雅俊、上原浩嗣、越山健、鶴秀敏、山川良治. 眼内レンズの有無によるシリコンオイルタンポナーデ時の眼圧、角膜内皮への影響. 日本眼科学会雑誌、査読あり、117巻、2013年、95-101ページ、DOIなし
- ② 春田雅俊. スペクトラルドメイン光干渉断層計による脈絡膜骨腫の観察. 福岡県眼科医会報、査読なし、219巻、2012年、3-6ページ、DOIなし
- ③ Haruta M, Kamada R, Umeno Y, Yamakawa R. Vitrectomy for optic disc pit-associated maculopathy with or without preoperative posterior vitreous detachment. Clin Ophthalmol、査読あり、6巻、2012年、1361-1364ページ、DOI: 10.2147/OPTH.S34962
- ④ Oono Y, Uehara K, Haruta M, Yamakawa R. Characteristics and surgical outcomes of pediatric rhegmatogenous retinal detachment. Clin Ophthalmol、査読あり、6巻、2012年、939-943ページ、DOI: 10.2147/OPTH.S31765
- ⑤ Haruta M, Hangai M, Taguchi C, Yamakawa R. Spectral-domain optical coherence tomography of the choroid in choroidal osteoma. Ophthalmic Surg Lasers Imaging、査読あり、42巻、2011年、e118-e121ページ、DOI: 10.3928/15428877-20111201-04
- ⑥ 春田 雅俊. マウス視細胞での Rac1 の発現抑制は、視細胞の形態や機能に影響を与えることなく、光傷害による酸化ストレスから視細胞を保護する. 福岡県眼科医会報、査読

なし、215巻、2011年、5-10ページ、DOIなし

- ⑦ Haruta M, Mukuno H, Nishijima K, Takagi H, Kita M. Sympathetic ophthalmia after 23-gauge transconjunctival sutureless vitrectomy. Clin Ophthalmol、査読あり、4巻、2010年、1347-1349ページ、DOI: 10.2147/OPTH.S14948

[学会発表] (計6件)

- ① M. Haruta, R. Kamada, Y. Umeno, R. Yamakawa. Vitrectomy for optic disc pit-associated maculopathy with or without preoperative posterior vitreous detachment. The 28<sup>th</sup> Asia-Pacific Academy of Ophthalmology Congress, January 17-20, 2013, Hyderabad, India
- ② 春田 雅俊. シンポジウム「最近増加しつつある眼科手術」最近の裂孔原性網膜剥離とその手術術式の移り変わり. 第82回九州眼科学会、2012年5月26日、九州大学医学部百年講演(沖縄県)
- ③ 春田 雅俊、鎌田 理佳、梅野 有美、山川 良治. 術前の後部硝子体剥離の有無による乳頭小窩黄斑症候群に対する硝子体手術の成績の検討. 第65回日本臨床眼科学会、2011年10月9日、東京国際フォーラム(東京都)
- ④ 春田 雅俊. ナーシングプログラム「ナースが知っておくべき白内障・屈折手術のすべて」白内障手術：インフォームドコンセントと術前後のケア. 第50回日本白内障学会総会・第26回日本白内障屈折矯正手術学会総会、2011年6月18日、福岡国際会議場、福岡サンパレス(福岡県)

⑤春田 雅俊、田口 千香子、山川 良治、板谷 正紀. スペクトラルドメイン光干渉断層計による脈絡膜骨腫の観察. 第81回九州眼科学会、2011年5月28日、沖縄県市町村自治会館（沖縄県）

⑥春田 雅俊、R. Bush、P. Sieving. マウス視細胞での Rac1 の発現抑制は、光障害による酸化ストレスから視細胞を保護する. 第114回日本眼科学会総会、2010年4月16日、名古屋国際会議場（愛知県）

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

春田 雅俊 (HARUTA MASATOSHI)

久留米大学・医学部・講師

研究者番号：90359802