

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 9 日現在

機関番号：17601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462642

研究課題名(和文)非動脈炎性虚血性視神経症の治療とステロイドの毛様動脈への弛緩作用の検討

研究課題名(英文) Trial of treatment for the rodent model of nonarteritic ischemic optic neuropathy and investigation of vasodilating effect of steroid for the posterior ciliary artery.

研究代表者

中馬 秀樹 (CHUMAN, HIDEKI)

宮崎大学・医学部・准教授

研究者番号：20244204

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：ラット非動脈炎性虚血性視神経症モデルを発症させた後、生理食塩水投与群、アルギニン投与群、ステロイド投与群に無作為割り付けを行い、3日間の投与を行った。ステロイド投与群が56日で最も有意に網膜神経節細胞(RGC)の維持効果が認められた。また角膜電気刺激のみではRGC機能維持に有意差は得られなかったが、アルギニンを同時投与させると、相乗効果で有意なRGC機能維持作用が得られた。メチルプレドニゾロンは濃度依存に短後毛様動脈を弛緩させることがわかった。また、内因性のNOを介さず、外因性のNOを放出することなしにNO非依存性に弛緩させていることがわかった。

研究成果の概要(英文)：After induction of rodent model of nonarteritic ischemic optic neuropathy, we randomized three kinds of drugs which include saline, arginine, and steroid and injected each of them to the model. A steroid treatment group showed the most retinal ganglion cell (RGC) survival effect at the 56days after the treatment. A transcorneal electric stimulation (TES) did not show the significant RGC survival effect and TES plus arginine injection showed the significant RGC survival effect. A methylprednisolone dilate the posterior ciliary artery in a dose dependent manner. In addition, they dilate these through nitric oxide independent mechanism.

研究分野：眼科学

キーワード：副腎皮質ステロイド L-アルギニン rNAION 角膜電気刺激 単離短後毛様動脈 血管弛緩作用

1. 研究開始当初の背景

非動脈炎性虚血性視神経症 (Non-arteritic ischemic optic neuropathy, NAION) は、急性片眼性発症の視神経疾患のひとつである。50 歳以上に多く、発症頻度は約 10 万人あたり 2 人から 10 人とされている。現時点で急性期の有効な治療法は確立されていない。自然経過では、視力は 13-42.7% で 3 段階以上の改善が得られるが、視野は改善しない。また、視神経乳頭は次第に萎縮していく。

NAION の急性期に対する治療は、さまざまなものが試みられてきた。それぞれの報告では治療結果は良好である。しかし、対象症例数が少なく、また、無作為抽出されていないため、真の有効性が確立されたとは判断できない。実際、1989 年に報告された視神経鞘切開術は、少数例では有効な治療法であると報告されたが、多数例を用いた多施設無作為抽出治療研究が施行され、視神経鞘切開術は逆に介入後の視機能に悪影響を及ぼすことが判明した。

この結果から、少数例の臨床研究では有効性を評価するには不十分であること、また、NAION の動物モデルを作成し、モデルに対する治療効果を確認してからヒトへ臨床応用すべきであるという考えが生じた。一方、Hayreh らは、約 600 例という多数例の NAION 症例にステロイド内服加療を行い、ステロイド内服群が無治療群より有意に早く乳頭浮腫が改善し、また視機能も有意に改善すると報告した。この報告に対しては、多数例を対象にしており、よく吟味された検討で、信頼できる情報源から出ていることより賛成するものと、無作為抽出されていないため、また、そもそもなぜステロイドが虚血性疾患に効果があるのかの機序が明らかにされていないため、反対するものに分かれている。

申請者のグループは、Bernstein らによって開発された NAION のラットモデル (rodent model of NAION, 以下 rNAION) を追試し、作成することに成功した。そして rNAION の早期の乳頭浮腫と引き続き起こる視神経萎縮を、光干渉断層計 (Optical Coherent Tomography, OCT) を用いて定量的かつ他覚的に評価する方法を確立した。また、電気生理学的検査、特に網膜内層の機能を評価する網膜電図 (electroretinogram, ERG) の Scotopic Threshold Response (STR) を rNAION で測定することに成功した。そして、rNAION に対して副腎皮質ステロイドを投与し、無治療群との比較を、OCT、STR、生存網膜神経節細胞数にて行った。その結果、副腎皮質ステロイドは、早期の乳頭浮腫をより早く改善させるが、最終的な視神経萎縮の程度、STR の振幅、生存網膜神経節細胞数の維持には効果がみられなかった。その機序のひとつとして、副腎皮質ステロイドは、白色家兎から単離した視神経の短後毛様動脈を弛緩させる作用があることを見出した。加えて、角膜電気刺激 (transcorneal electric stimulation, TES) により STR の振幅、生存網膜神経節細胞数の維持の効果がみられ

た。

われわれは、L-アルギニンを白色家兎に静脈注射し、眼圧を下降させるとともに、眼内に NO が産生されることを見出した。また、ヒトに静脈注射し、眼圧を下降させ、副作用がみられなかったことを報告した。NAION は短後毛様動脈の閉塞、虚血によりおこり、安全な一酸化窒素 (NO) 供与体である L-アルギニンの血管平滑筋弛緩作用が NAION の治療に有効である可能性がある。申請者のグループは、rNAION に対して L-アルギニンを投与し、無治療群との比較を、OCT、STR、生存網膜神経節細胞数にて行った。その結果、L-アルギニンは、早期の乳頭浮腫をより早く改善させ、最終的な視神経萎縮の程度、STR の振幅、生存網膜神経節細胞数の維持には効果がみられることを見出した。

2. 研究の目的

したがって、次の段階として、これらの効果のあった治療法をランダム化し、コントロールと比較することでどの治療法が最も効果があるのかを検討することを一つの目的とする。また、二つ目の目的として、ステロイドと TES の組み合わせ、L-アルギニンと TES の組み合わせを行うことにより、より良好な視機能改善効果が得られるかどうかを検討する。

また、副腎皮質ステロイドは、早期の乳頭浮腫をより早く改善させる機序のひとつとして、副腎皮質ステロイドは、白色家兎から単離した視神経の短後毛様動脈を弛緩させる作用があることを見出した。そこで我々の目的は、副腎皮質ステロイドの単離短後毛様動脈弛緩作用のメカニズムを解明することである。

3. 研究の方法

1. 非動脈炎性虚血性視神経症の動物モデルの作成

白色家兎あるいはマウスを用いる。白色家兎の耳裏の静脈から 2.5mM ローゼンベンガル液 1ml/Kg を注入し、その後、アルゴングリーンレーザーにて 20 秒間照射し、NAION を生じさせる。乳頭腫脹と、引き続き生じる神経線維の菲薄化の自然経過を OCT を用いて定量的に評価する。STR にて網膜神経節細胞の機能を評価する。生存 RGC 数をカウントする。

2. 副腎皮質ステロイド、L-アルギニン、プラセボのランダム化試験

副腎皮質ステロイド、L-アルギニン、プラセボをランダム、盲検的に rNAION に投与し、急性期乳頭浮腫の程度の比較、引き続きおこる網膜神経線維の菲薄化の程度を OCT にて評価する。網膜神経節細胞の機能を、STR を用いて評価する。また、生存 RGC 数をカウントし、どの治療薬が最も有効かを検討する。

3. L-アルギニンと TES の組み合わせによる相乗効果の確認

L-アルギニンを rNAION に投与し、そ

の後何も行わない群と TES を行う群に分ける。TES 後は OCT が施行できないため、網膜神経節細胞の機能を、STR を用いて評価する。また、生存 RGC 数をカウントし、組み合わせによる相乗効果を検討する。

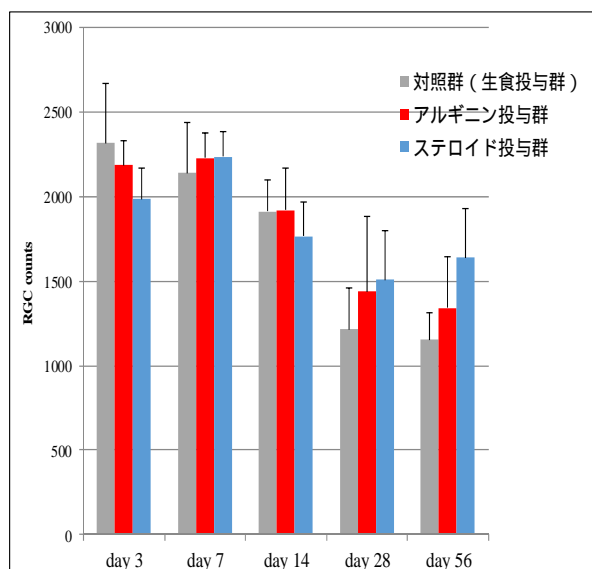
4. 副腎皮質ステロイドの単離短後毛様動脈弛緩作用のメカニズムの解明

白色家兎の単離した短後毛様動脈を、ダブルミオグラフィシステムに固定し、その中に薬剤を投与する。メチルプレドニゾロンを投与し、短後毛様動脈の弛緩反応をみる。弛緩反応がみられることが予想されるので、それが濃度依存性であるかを検討する。その後、carboxy-PTIO、L-NAME で抑制されるかどうかを検討する。EDHF がメチルプレドニゾロンの弛緩作用に参与しているかどうかを調べるため、L-NAME とインドメタシンを前投与した短後毛様動脈に投与し、弛緩反応が得られるかを検討する。

4. 研究成果

1. 副腎皮質ステロイド、L-アルギニン、ブラセボのランダム化試験

ラットモデル NAION を発症させた後、生理食塩水投与群、アルギニン投与(500mg/kg)群、ステロイド投与(20mg/kg)群に無作為割り付けを行い、3 日間の投与を行った。フルオロゴールドを用いて逆行性染色を行い、発症 3,7,14,28,56 日後の RGC 数をカウントし、比較を行った。その結果、アルギニン投与群では、発症 28,56 日において維持する傾向を認めたが有意差はみられなかった。ステロイド投与群では 56 日で有意に RGC の維持効果が認められた。



2. L-アルギニンと角膜電気刺激 (TES) の組み合わせによる相乗効果の確認

コンタクトレンズ電極を角膜側に陽性極、陰性極は口腔内に置いた。刺激機械のパルス幅は1ms、電流強度は100 μ A、20Hz、60分間の刺激とした。その結果、TESのみではRGCの機能維持に有意差は得られなかった。しかしこれにアルギニンを

同時投与させると、相乗効果で有意な神経節細胞機能維持作用が得られた。

3. 副腎皮質ステロイドの単離短後毛様動脈弛緩作用のメカニズムの解明

メチルプレドニゾロンは単離家兎後毛様動脈を弛緩させた。

メチルプレドニゾロン濃度を、0.1mg/ml、0.2mg/ml、0.4mg/ml、0.8mg/ml としたときの血管弛緩作用は、それぞれ 76.92 ± 4.16 、 61.44 ± 5.18 、 39.17 ± 5.59 、 23.45 ± 2.59 (平均 \pm 標準誤差%)となり濃度依存に血管を弛緩させることがわかった(n= 7)。

また、血管内皮細胞を障害させた後、血管弛緩作用をしらべた。メチルプレドニゾロン濃度を、0.1mg/ml、0.2mg/ml、0.4mg/ml、0.8mg/ml としたときの血管弛緩作用は、それぞれ 69.55 ± 1.98 、 58.66 ± 5.03 、 39.0 ± 5.60 、 28.8 ± 2.14 (平均 \pm 標準誤差%)(n=3-5)となり、血管内皮の障害の有無による血管弛緩作用には有意差がないということがわかった。(p>0.05)

また、メチルプレドニゾロンを投与したのち carboxy-PTIO(n=5)、L-NAME(n=5)をそれぞれ投与したが弛緩作用は抑制されなかった。したがって、メチルプレドニゾロンは、内因性のNOを介さず、外因性のNOを放出することなしにNO非依存性に弛緩させていることがわかった。

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7件)

Hideki Chuman : Clinical usefulness of laser speckle flowgraphy for the evaluation of optic nerve diseases . photomedicine and photobiology37 : 5-6(2015)[査読無]

Hidaka T. Chuman H. Nao-i N : Bilateral Rhegmatogenous Retinal Detachment during External Beam Radiotherapy. Case Reports in Ophthalmology 7(2) : 315-20 (2016)[査読有] DOI:10.1159/000446603

Aung T, Ozaki M, Mizoguchi T, Allingham RR, Li Z, Lischinsky I, Crowston JG, Coote M, Zhao B, Khor CC : Corrigendum: a common variant mapping to CACNA1A is associated with susceptibility to exfoliation syndrome. nature genetics47(6) : 689(2015)(著者 152 名・41 番目)[査読有]

Aung T, Ozaki M, Mizoguchi T, Allingham RR, Li Z, Lischinsky I, Khor CC : A common variant mapping to CACNA1A is associated with susceptibility to exfoliation syndrome . nature genetics . 47(4) : 387-392

(2015)(著者 161 名・49 番目)[査読有]

中馬秀樹: Therapeutics あなたもできる神経眼科疾患の治療 眼運動神経麻痺. 眼科グラフィック 4(6): 591-598(2015)[査読無]

日高貴子, 中馬秀樹, 杉田直大, 直井信久: 脳動脈瘤クリッピング手術後に眼窩先端症候群を呈した 1 例. 眼科臨床紀要 7(4): 271-275(2014)[査読有]

中馬秀樹, 前久保知行, 河野尚子, 杉本貴子, 小澤摩記, 石合理崇, 大迫貴子, 児玉悠, 小溝崇史, 中山恵介, 森真喜子, 直井信久: 非動脈炎性虚血性視神経症の動物モデルを用いた治療の試み. 日本眼科学会雑誌 118(4): 331-361(2014)[査読無]

[学会発表](計 18 件)

毛塚剛司, 石川均, 後関利明, 三村治, 吉富健志, 敷島敬悟, 平岡美紀, 中馬秀樹, 中村誠, 田中恵子: 難治性視神経炎全国調査 - 計画および導入について - . 第 54 回日本神経眼科学会総会(2016.11.26)宮崎市民プラザ(宮崎県宮崎市)

後関利明, 石川均, 毛塚剛司, 三村治, 吉富健志, 敷島敬悟, 平岡美紀, 中馬秀樹, 中村誠, 田中恵子: 難治性視神経炎全国調査 - 中間結果報告 - . 第 54 回日本神経眼科学会総会(2016.11.26)宮崎市民プラザ(宮崎県宮崎市)

貝田智子, 宮田和典, 中馬秀樹, 武井潤, 大窪隆一, 佐藤誠一, 加藤貴保子, 末原雅人: 変動する眼球運動障害、片眼性視神経乳頭浮腫で発症した成人 T 細胞白血病リンパ腫の 1 例. 第 54 回日本神経眼科学会総会(2016.11.25)宮崎市民プラザ(宮崎県宮崎市)

中馬秀樹: 虚血性視神経症 (Ischemic optic neuropathy, ION) の診断・治療に対する最近の考え方. 第 70 回日本臨床眼科学会(2016.11.5)グランドプリンスホテル京都(京都府京都市)

茂谷翼, 中馬秀樹, 樋渡翔吾, 高田真知, 時任亜寿沙, 町田知哉, 田中さおり, 馬渡剛, 直井信久: 両耳側半盲で神経線維の非薄化前に Photopic Negative Response(PhNR)が低下した一例. 第 57 回日本視能矯正学会(2016.10.15)グランキューブ大阪(大阪府大阪市)

Takako Hidaka, Hideki Chuman, Nobuhisa Nao-I: The focal photopic negative response (PhNR) in patients with various optic nerve diseases. 54rd

ISCEV Symposium(2016.8.15)
Singapore(Singapore)

茂谷翼, 日高貴子, 中馬秀樹: 正常眼と様々な視神経疾患における局所 Photopic Negative Response(PhNR)の検討. 第 33 回九州視機能研究会(2016.7.10)パピヨン 24 ガスホール(福岡県福岡市)

Takako Hidaka, H.Chuman, N.Nao-i: Evaluation of optic nerve head blood flow in normal rats and in a rodent model of non-arteritic ischemic optic neuropathy using laser speckle flowgraphy. ARVO2016(2016.5.4) Seattle(USA)

Takako Sugimoto, H.Chuman, N.Nao-i: Vasodilating effect of Ripasudil Hydrochloride Hydrate on isolated rabbit posterior ciliary arteries. ARVO2016(2016.5.4) Seattle(USA)

河野尚子, 中馬秀樹, 塩見一剛, 直井信久: 片頭痛に関連したと思われる片眼性虚血性眼疾患の 2 例. 第 53 回日本神経眼科学会総会(2015.11.6)大宮ソニックシティ(埼玉県さいたま市)

日高貴子, 中馬秀樹, 茂谷翼, 直井信久: 正常眼における局所 photopic negative response(PhNR)の検討. 第 53 回日本神経眼科学会総会(2015.11.6)大宮ソニックシティ(埼玉県さいたま市)

田村弘一郎, 中馬秀樹, 直井信久, 久保田敏昭: ステロイド投与前後における視神経乳頭血流の変化. 第 53 回日本神経眼科学会総会(2015.11.6)大宮ソニックシティ(埼玉県さいたま市)

日高貴子, 中馬秀樹, 直井信久: 2 つの刺激方法を用いた暗所閾値電位の比較検討. 第 63 回日本臨床視覚電気生理学学会(2015.8.29)名古屋・ミッドスクエア(愛知県名古屋市)

中馬秀樹: レーザースペックル法の視神経疾患への応用. 第 37 回日本光医学・光生物学会(2015.7.18)フェニックス・シーガイア・リゾート(宮崎県宮崎市)

Takako Hidaka, Hideki Chuman, Nobuhisa Nao-I: Comparison of waveforms of the scotopic threshold response elicited by different methods of stimulation. 53rd ISCEV Symposium(2015.6.25) Ljubljana(Slovenia)

中馬秀樹: 腫脹した視神経乳頭のみかた、考え方. 平成 27 年度九州ブロック眼科

講習会(2015.5.31) 鹿児島県医師会館
(鹿児島県鹿児島市)

田村弘一郎, 中馬秀樹, 中田麻裕, 直井
信久: 自然発症緑内障白色家兔眼と正常
白色家兔眼の単離短後毛様動脈の薬理
学的反応. 第 119 回日本眼科学会総会
(2015.4.16) ロイトン札幌(北海道札幌
市)

中馬秀樹: 教育セミナー7 ここまで見
える神経眼科疾患 視神経疾患とレー
ザースペックル法. WOC2014
Tokyo(2014.4.5)東京国際フォーラム(東
京都千代田区)

〔図書〕(計 9 件)

中馬秀樹: 視神経疾患 3 虚血性視
神経症. 眼底疾患パーフェクトアトラス.
飯田知弘・近藤峰生・石龍鉄樹編集. 文
光堂: 307-309(2017)

中馬秀樹: 眼球突出の検査と診断. 眼科
診療マイスター. 診察と検査. 飯田
知弘・中澤徹・堀裕一編集. メジカルビ
ュー社: 274-277(2016)

中馬秀樹: 虚血性視神経症. 今日の眼疾
患治療方針 第 3 版. 大路正人・後藤浩・
山田昌和・野田徹編集. 医学書院:
644-645(2016)

中馬秀樹: 鼻性視神経症. 今日の眼疾患
治療方針 第 3 版. 大路正人・後藤浩・
山田昌和・野田徹編集. 医学書院:
645-646(2016)

中馬秀樹: 中毒性視神経症. 今日の眼疾
患治療方針 第 3 版. 大路正人・後藤浩・
山田昌和・野田徹編集. 医学書院:
646-647(2016)

中馬秀樹: エタンブトール. 今日の眼疾
患治療方針 第 3 版. 大路正人・後藤浩・
山田昌和・野田徹編集. 医学書院:
806(2016)

中馬秀樹: シンナー. 今日の眼疾患治療
方針 第 3 版. 大路正人・後藤浩・山田
昌和・野田徹編集. 医学書院: 808(2016)

中馬秀樹: タバコ・アルコール弱視. 今日
の眼疾患治療方針 第 3 版. 大路正
人・後藤浩・山田昌和・野田徹編集. 医
学書院: 808-809(2016)

中馬秀樹: 特集 視神経炎と視神経症:
全身と眼の架け橋 現在の非動脈炎性
虚血性視神経症のみかた、考え方. あた
らしい眼科第 33(5)山村隆・園田康平編
集. メディカル 葵出版, (39)663

-669(2016)

〔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

中馬 秀樹 (CHUMAN HIDEKI)
宮崎大学・医学部・准教授
研究者番号: 20244204

(2) 研究分担者

杉本 貴子 (SUGIMOTO TAKAKO)
宮崎大学・医学部・助教
研究者番号: 40381074

直井 信久 (NOBUHISA NAOI)
宮崎大学・医学部・教授
研究者番号: 50211412

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

なし