

平成 26 年 4 月 16 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2013

課題番号：22791658

研究課題名(和文) 難治性視神経症に対する電気刺激治療の発展的研究

研究課題名(英文) Study of electrical stimulation therapy for optic neuropathies

研究代表者

森本 壮 (Morimoto, Takeshi)

大阪大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：00530198

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円、(間接経費) 900,000円

研究成果の概要(和文)：研究代表者は、網膜神経節細胞(RGC)に対して電気刺激が神経保護作用を有することを初めて見出した。以来、RGCが障害される難治性視神経症に対する新しい治療法として電気刺激治療の確立を目指してこれまで研究を続けてきた。難治性視神経症は眼科疾患のうち未だ治療法が確立されていない疾患の一つで中途失明原因の上位を占める。本研究ではこれまでの研究をさらに発展させ電気刺激治療の確立を目指した。本研究の結果、電気刺激によって網膜の血流に変化が生じた。また実際に多くの患者に対し電気刺激治療を行い、視力や視野が改善することを見出した。この成果は、難治性視神経症に対する電気刺激治療の確立につながると考える。

研究成果の概要(英文)：In the present study, I investigated the mechanism underlying electrical stimulation-induced neuroprotection of retinal ganglion cells and examined the effect of electrical stimulation on various optic neuropathies. I elucidated that retinal neurovascular coupling was activated by electrical stimulation to exert neuroprotection. And moreover I found that about 30% of patients improved their vision after electrical stimulation treatment. Finally I established the protocol of electrical stimulation therapy for various optic neuropathies.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：眼科学

キーワード：神経保護 電気刺激治療 網膜神経節細胞

1. 研究開始当初の背景

視神経は網膜からの視覚情報を大脳視覚中枢へ伝える役割のRGの軸索を中心に構成された組織であり、この視神経が障害される疾患は多く、特発性視神経炎、虚血性視神経症、遺伝性視神経症、外傷性視神経症、緑内障性視神経症などがある。これらの疾患は難治性視神経症と総称され、RGCが何らかの原因により細胞死に至り視力の低下や視野の欠損が起こる。RGCは中枢神経系の細胞で一度死んでしまうと二度と再生しないためこれらの疾患に罹患し視力の低下や視野が欠損するとほとんど回復することはできない。またこれらの疾患に対する治療法は確立されていないため難治性視神経症は中途失明の主要な原因の一つとなっている。この難治性視神経症による失明を防ぐためには、疾患の発症時にRGCの細胞死を抑制しより多くのRGCを生存させることが重要で、それによって患者の視機能の低下を抑え、視機能を維持させることが可能となる。このためRGCに対する神経保護治療の研究を進め確立させることが重要である。基礎医学の分野では、これまでさまざまな薬剤の投与や遺伝子導入などを用いたRGCの神経保護の研究が数多く行われてきた。神経栄養因子抗アポトーシス薬などの薬剤投与は有効であるにもかかわらず副作用の問題などがあっていまだそれらの薬剤を用いた治療は臨床応用に至っていない。これに対し、申請者らは神経細胞が発達期に細胞死を免れ、生存を維持していくためには電気的な賦活が重要であることに着目し、視神経に直接電気刺激を行うとRGCの生存が促進することをラットの視神経切断モデルを用いた実験で証明した (Morimoto T, et al. Neuroreport. 2002;13:227-30)。さらに臨床応用を可能にするため視神経電気刺激よりはるかに侵襲の低い方法である、眼球の表面すなわち角膜側からRGCへ電気刺激を行う方法 (経角膜電気刺激法) を開発しラットを用いた実験でRGCの生存を促進することを証明した (Morimoto T, et al. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2005;46:2147-55)。さらに申請者らはこの刺激方法を用いて、実際に虚血性視神経症や外傷性視神経症などの難治性視神経症の患者に臨床応用したところ視力や視野が改善する症例が多数みられ電気刺激が難治性視神経症に対して治療効果があることを証明した (Fujikado T, Morimoto T, et al. Jpn J Ophthalmol. 2006;50:266-73)。

2. 研究の目的

RGCに対する電気刺激治療を確立するためにいくつか解決すべき課題が残っている。I) 電気刺激治療を受けた患者の視力や視野の改善 (視覚再生) のメカニズムを解明する。II) 電気刺激の効果を増強させる目的で神経栄養因子などRGCに神経保護効果を有する

薬剤との相乗効果を検討する。III) 現在行っている電気刺激治療を継続し基礎研究の結果を生かすとともに治療効果のあった患者、なかった患者を比較検討しどのような患者に効果があるのか治療の適応を決定する。本研究では上記3項目の研究課題を行い、電気刺激治療を視神経疾患の有効な治療法として確立する。

3. 研究の方法

I) 電気刺激治療を受けた患者の視力や視野が改善した (視覚再生) メカニズムの検討。

a) 以前申請者らは電気刺激によって網膜のIGF-1 (インスリン様神経栄養因子) の発現が上昇することを見出した。しかしながら網膜内のIGF-1が網膜内で産生されたものか、血中のIGF-1が電気刺激によって血液網膜関門を通過して網膜内へ流入したのか不明であった。これを証明するためにラットを用いて検討した。8週齢のウイスターラットを用い、全身麻酔下でラットの左総頸動脈に recombinant human IGF-1 (hIGF-1) 100 μ g を投与し、直後に左眼に経角膜電気刺激 (150 μ A, 20Hz, 60min) を施行し、片眼には sham 刺激を行なった。直後に両眼球を摘出し網膜を取り出し、網膜を取り出し、処理した後に ELISA 法を用いて電気刺激眼の網膜と sham 刺激眼の網膜内の hIGF-1 のタンパク量を比較検討した。

b) 次に電気刺激による網膜神経応答と網膜血管の変化について検討した。方法はネコ眼に対し、眼底カメラを用いて近赤外光で眼底を撮影し、電気刺激前と電気刺激後の網膜内因性シグナルを測定し、電気刺激による網膜神経応答の変化を検討した。

II) 電気刺激の効果と神経栄養因子などRGCに神経保護効果を有する薬剤との相乗効果を検討。

神経栄養因子以外の神経保護薬として視神経損傷の際に生じる抗酸化ストレス作用のある Peroxiredoxin 6 (PRDX6) に着目し、PRDX6 に神経保護効果があるかどうか検討した。8週齢のウイスターラットの片眼の視神経を切断し、直後に 4%fluorogold を視神経断端に塗布し、逆行性にRGCを標識するとともに PRDX6 (8.0 μ l) を硝子体に注射する群と Mutant-PRDX6 注射群に分け、2週間後に生存しているRGCの細胞密度を比較検討した。

III) 電気刺激治療のプロトコールの確立および適応の決定とより長期の治療効果についての検討。

難治性視神経症の一つである外傷性視神経症患者 48 例 48 眼に対し、経角膜電気刺激治療を1ヶ月毎に3回施行し、治療開始1ヶ月後、3ヶ月後、6ヶ月後の視力について治療前の視力と比較検討した。また特発性視神経炎治療後の視機能改善不良の患者 14 例 16 眼に対しても同様に経角膜電気刺激を施行し治療開始1ヶ月後、3ヶ月後、6ヶ月後の視力について治療前の視力と比較検討した。

大阪大学医学部附属病院臨床研究倫理委員会 H22 年 12 月 24 日 認可 UMIN000005049

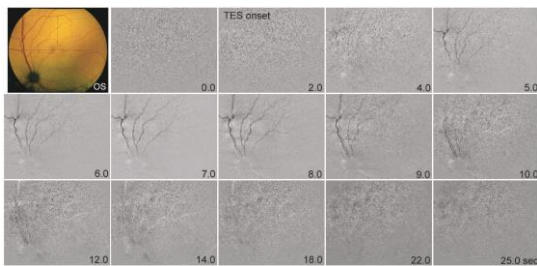
4. 研究成果

研究 I - a

ELISA 法で hIGF-1 のタンパク量を測定した。結果 電気刺激を行った網膜での hIGF-1 の網膜タンパク 1 μ g 当たりの発現量は平均 112pg で、sham 刺激を行った網膜の hIGF-1 の発現量は平均 10pg であった。この結果から、電気刺激によって血中の IGF-1 が血液網膜関門を通過して網膜内に流入することがわかった。

研究 I - b

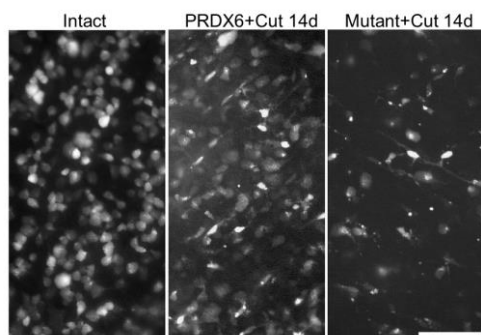
ネコ眼に対し、近赤外光を網膜に照射して網膜の反射を眼底カメラを用いて測定し、網膜内因性シグナルの変化を検討した結果、経角膜電気刺激によって網膜の内因性シグナルが変化し、特に網膜内の血管と視神経の内因性シグナルが変化することがわかった (図 1)。



研究 II

PRDX6 投与群と MutantPRDX6 投与群の比較では、視神経切断 2 週間後では、元の RGC の細胞密度の 16.7%まで減少し、MutantPRDX6 投与群では、元の 31.1%生存していた、さらに PRDX6 投与群では、濃度が高いほど生存 RGC の細胞密度が高くなり、最大で元の 58%の RGC が生存していた(図 2)。

Neuroprotective effect of PRDX6 on axotomized RGCs

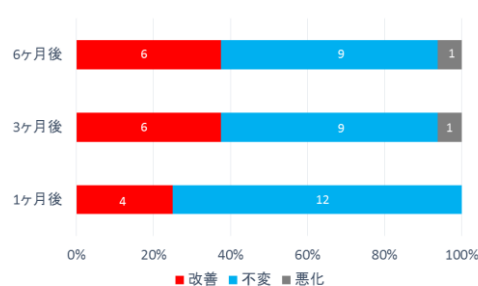


研究 III

難治性視神経症の一つである外傷性視神経症患者 48 例 48 眼に経角膜電気刺激治療を施行したところ、視力改善 (0.2logMAR 視力)は治療開始 1 か月後で 10 例(20.8%)、

治療 3 ヶ月後で 15 例 (31.3%)、治療 6 ヶ月後で 16 例 (33.3%) であった。また特発性視神経炎治療後の視機能改善不良の患者 14 例 16 眼に対し経角膜電気刺激を施行したところ、視力改善 (0.2logMAR 視力)は、1 か月後で 4 眼 (25%)、3 ヶ月後で 6 眼 (37.5%)、6 ヶ月後で 6 眼 (37.5%) であった (図 3)。

視力改善の割合 (0.2logMAR以上の改善)



このように経角膜電気刺激治療はこれまで治療法のなかった外傷性視神経症や視神経炎後の視機能改善不良例に対し一定の効果が診られることがわかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 15 件)

1. Morimoto T, 他 7 名. Characteristics of retinal reflectance changes induced by transcorneal electrical stimulation in cat eyes. PLoS One, 9:e92186, 2014.

2. 遠藤 高生, 森本 壮(3), 他 2 名: 内斜視術後患者における 3D 映像の立体感、臨床眼科 67:1489-1494, 2013.

3. 浅尾 和伸, 森本 壮(3), 他 2 名: 壮年期に発症した視神経乳頭近傍の網膜細動脈瘤破裂の 1 例、眼科臨床紀要 6:725-728, 2013.

4. Fujikado T, Morimoto T (5), 他 9 名. Feasibility of 2nd generation STS retinal prosthesis in dogs. Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc. 2013:3119-3121, 2013

5. Hirohara Y, Morimoto T (4), 他 5 名.

Optical imaging of retina in response to grating stimuli in cats. Exp Eye Res. 109:1-7, 2013.

6. 中村美紗子, 森本 壮(6), 他 5 名. Berkeley Rudimentary Vision Test (BRVT) を用いた超低視力の定量化の試み. 眼科臨床紀要 6:49-54, 2013.

7. Morimoto T. Role of Electrical Activity of Neurons for Neuroprotection. Int Rev Neurobiol. 105:19-38, 2012. Review

8. Morimoto T, 他 5 名. Transcorneal Electrical Stimulation Promotes Survival of Photoreceptors and Improves Retinal

Function in Rhodopsin P347L Transgenic Rabbits. Invest Ophthalmol Vis Sci.53:4254-4261, 2012.

9.Kanda H, Morimoto T (4), 他 4 名. Serial measurements of accommodation by open-field Hartmann-Shack wavefront aberrometer in eyes with accommodative spasm. Jpn J Ophthalmol.56:617-623, 2012.

10.Yamaguchi T, Morimoto T (5), 他 4 名. Adaptive optics dioptric scanning ophthalmoscope with a wider field of view similar to those of normal ophthalmoscopes. Opt Lett. 37:2496-2498, 2012

11.森本 壮.【神経眼科-診断から治療へ-】視神経疾患に対する電気刺激療法 神経眼科 29:276-285, 2012.

12. Morimoto T, 他 11 名. Chronic implantation of newly developed suprachoroidal-transretinal stimulation (STS) prosthesis in dogs. Invest Ophthalmol Vis Sci.52:6785-6792, 2011

13.Fujikado T, Morimoto T(5), 他 11 名. Testing of Semi-chronically Implanted Retinal Prosthesis by Suprachoroidal-Transretinal Stimulation in Patients with Retinitis Pigmentosa. Invest Ophthalmol Vis Sci. 52:4726-4733, 2011.

14. 山本定徳、森本 壮 (2)、他 4 名. 本態性眼瞼痙攣診断例におけるドライアイ合併の割合. 眼科臨床紀要 4 : 738-741、2011.

15. 川口佳菜、森本 壮(3)、他 6 名. 若年成人におけるピレンゼピン点眼薬の瞳孔および調節に与える影響 眼科臨床紀要 5 : 21-26、2011.

〔学会発表〕(計 14 件)

1. 遠藤 高生、森本 壮(2)、他 3 名 ; GPA(Granulomatosis with Polyangiitis)が疑われた鼻性視神経症の 1 例、第 51 回日本神経眼科学会 (秋田 2013 年 11 月)

2.Kanda H, Morimoto T(2) 他 3 名
Evaluating the Relationship between Retinal Damage and Electrical Stimulation Intensity with

Suprachoroidal-Transretinal Stimulation. 3rd International Conference on medicalbionics Engineering Solutinos for Neural Disorders, Silverwater Resort, Phillip Island, Australia, Nov 2013

3.Fujiakdo T, Kamei M, Sakaguchi H, Kanda H, Morimoto T(5), 他 7 名:
Feasibility of 2nd Generation STS Retinal Prosthesis in dogs. Artificial Vision 2013: The International Symposium on Visual Prosthetics, Aachen, Germany,

4.Morimoto T 他 5 名: Intraocular Pressure and Retinal Vascular Changes during Transient Exposure to Microgravity in

Adult Rats. 34th Annual Meeting International Gravitational Physiology, Toyohashi Japan, Jun 2013

5.Endo T, Morimoto T(4) 他 4 名:
Evaluation of localization test under simulated very low vision conditions. ARVO2013 Seattle, USA, May 2013

6.Morimoto T, 他 7 名:In situ monitoring cytochrome c in dying RGC-5 cells by Raman microscopy. ARVO2013 Seattle, USA, May 2013

7.Kanda H, Morimoto T(2) 他 4 名:
Evaluation of safety of porous surface electrodes for STS Retinal prosthesis. ARVO2013 Seattle, USA, May 2013

8. 神田 寛行, 森本 壮(2), 他 4 名: 多孔化処理を施した人工網膜用刺激電極の安全性評価、第 117 回日本眼科学会 (東京 2013 年 4 月)

9.遠藤 高生,森本 壮(4), 他 4 名: 超低視力者における到達運動の Localization test による評価、第 117 回日本眼科学会 (東京 2013 年 4 月)

10.森本 壮, 他 8 名: 軸索切断された網膜神経節細胞に対する Peroxiredoxin6 の酸化ストレス防御と神経保護、第 117 回日本眼科学会 (東京 2013 年 4 月)

11. (招待講演)
森本 壮, 網膜色素変性に対する電気刺激治療. 第 61 回日本臨床視覚電気生理学会. 10 月、大阪、2013.

12. (招待講演)
森本 壮, 難治性視神経疾患の病態と治療. 第 26 回大阪市大眼科研究会. 7 月、大阪、2013.

13. (招待講演)
日本神経眼科学会 50 周年記念講演会シンポジウム 森本 壮、難治性視神経疾患に対する治療戦略. 11 月、京都、2012

14. (招待講演)

Morimoto T, Feasibility of chronically implanted retinal prosthesis by suprachoroidal-transretinal stimulation in patients with advanced retinitis pigmentosa. 2nd Korea-Japan SCEV joint meeting, Seoul, Korea, 19th Nov, 2011.

〔図書〕(計 件)

なし

〔産業財産権〕

なし

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.med.osaka-u.ac.jp/pub/sensory/www/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

森本 壮

大阪大学大学院医学系研究科准教授

研究者番号 : 00530198