

平成 30 年 5 月 10 日現在

機関番号：82626

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K16538

研究課題名(和文) 緑内障における酸化ストレス関与の科学的解明

研究課題名(英文) Scientific elucidation of oxidative stress involvement in glaucoma

研究代表者

梅野 彩 (UMENO, AYA)

国立研究開発法人産業技術総合研究所・生命工学領域・産総研特別研究員

研究者番号：20749098

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：緑内障と酸化ストレス関与を科学的に解明し、緑内障早期診断へ応用することを目的とする。生体内酸化によって生じる脂質由来のヒドロキシリノール酸(HODEs)はラジカル、一重項酸素、酵素に特異的に生成する6種の異性体を持つため、酸化メカニズムを理解することができる。広義原発開放隅角緑内障群(n=198)の血清中のHODEsは対照群(n=119)に比べて有意に高くなった。臨床に関する背景因子を補正して後も、未治療時眼圧とHODEsは高い相関性を示した。緑内障のリスク因子である高眼圧が酸化ストレスに影響していることが結論づけられ、血清データから「眼の病態」と「体の酸化障害」の関与が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Glaucoma (PG) is characterized as progressive glaucomatous optic neuropathy leading to visual field loss. It is a cause of irreversible blindness worldwide. We proposed totally assessed hydroxylinolesates (HODEs) from biological samples as biomarkers for investigations of pathogenesis, disease progression, and prognosis. HODEs consist of six isomers that are yielded by a radical, singlet oxygen and enzymes oxidation. In the present study, we investigated the involvement of oxidative stress in this disease by using our own proposed oxidative stress marker HODEs quantitatively. PG patients (n = 198) were recruited depending on intraocular pressure (IOP). In the PG group, serum levels of HODEs demonstrated higher levels than those in the cataract (CT) group. Furthermore, HODEs levels increased with the increase in IOP, suggesting that the systemic oxidation is involved in PG at least partially.

研究分野：酸化ストレス

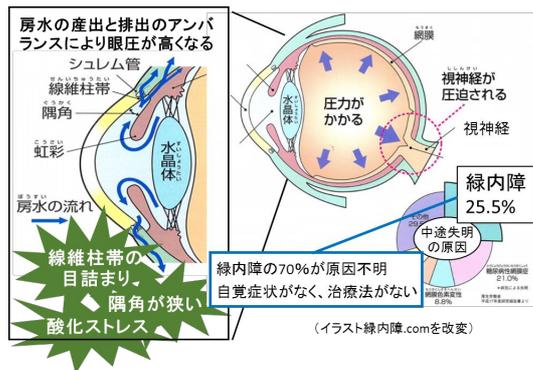
キーワード：一重項酸素 緑内障 ヒドロキシリノール酸 10-(Z,E)-HODE 12-(Z,E)-HODE 酸化ストレス

1. 研究開始当初の背景

緑内障は国内における失明原因の第一位(厚生労働省調書 H17)で、40 歳以上では 20 人に 1 人が罹患している(日本緑内障学会多治見スタディー)。加齢と共に有病率が高くなるが、7 割が原因不明で一度障害を受けた視神経は元に戻らない重篤な眼科疾患である。そこで早期診断が重要となるが、自覚症状が乏しい。また、緑内障の 70% を占める正常眼圧緑内障は健康診断で行われる眼圧検査だけでは発見されず、現在緑内障の有効で簡便な早期診断法は存在しない。早期診断には緑内障に特異的なマーカーが必須である。例えば、一重項酸素は紫外線照射によって発生することから、光暴露が多い眼科疾患への関与が示唆されている。しかしながら、未だ詳細な報告はない。

我々の研究グループは生活習慣病などの疾病の早期に反応するバイオマーカーを同定し、早期診断への応用を目指して研究を進めている。その結果、生体内酸化によって生じる脂質由来のヒドロキシリノール酸(HODE)が有効で、独自の手法によって高精度に定量する技術を開発している。HODE は一重項酸素、ラジカル、酵素によって特異的に生成する 6 種類の異性体をもつ^[1]。特に一重項酸素に特異的に生成する 10-,12-(Z,E)-HODE の生体内での定量については世界で初めて報告した^[2]。

このような背景のもと、HODE 異性体を用いて、緑内障に対する応答性から酸化ストレス関与の解明を提案するに至った。



[1 Yoshida Y, et al. *J Oleo Sci.* 2015]
 [2 Umeno A, et al. *PLoS One.* 2013]

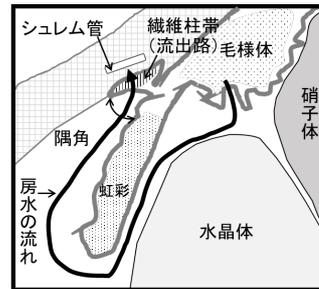
2. 研究の目的

本研究は、眼疾患の中でも重篤な緑内障の進行に伴う酸化ストレスの関与を科学的に解明し、緑内障早期診断・予後診断へ応用することを目的とする。具体的には緑内障に対する 10-,12-(Z,E)-HODE を含む HODE 異性体の有用性と特異性、および、HODE 異性体分布から緑内障発症、進行に関与する酸化メカニズムを明らかにする。

3. 研究の方法

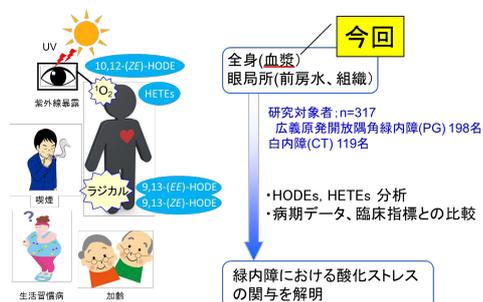
研究対象者は広義原発開放隅角緑内障(PG, n=198)と非緑内障対照群(non-PG, n=119)とした。

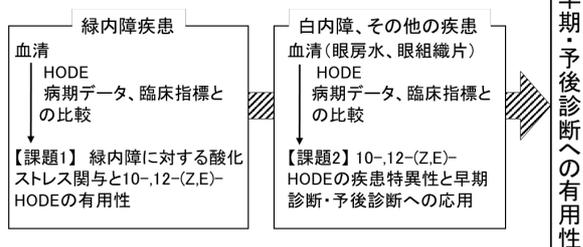
緑内障は眼圧が何らかの形で関係し、視神経の死によって視覚障害となる病気である。眼圧の変化には、眼の表面を流れる房水(眼内液)の産出と流入が深く関わっている。しかしながら、通常診療において、眼内液や眼組織の採取は困難であり、採取量も限られていることから早期診断の試料としては十分ではない。



そこで健康診断時での早期診断を想定し、本研究は血清を用いた。

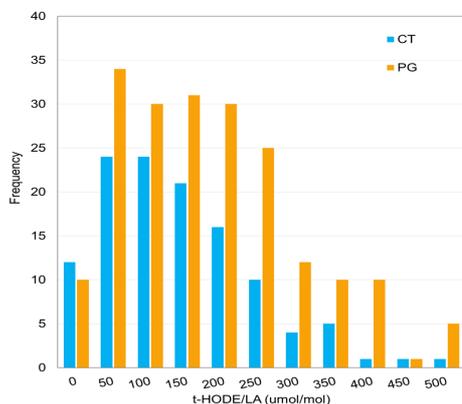
緑内障の発症や進行に一重項酸素が関与している可能性が高いことから、一重項酸素に特異的な酸化生成物である 10-,12-(Z,E)-HODE に注目した。加えて光暴露以外の要因も考えられることから、他の HODE 異性体も測定した。広義原発開放隅角緑内障の血清中に含まれる 10-,12-(Z,E)-HODE を含む、HODE 異性体分析を行った。得られたデータから、一重項酸素酸化、ラジカル酸化、酵素酸化の関与について精査した。さらに、臨床データと組み合わせ、緑内障に対する酸化ストレス関与について評価した。ついで、詳細に緑内障と 10-,12-(Z,E)-HODE の疾患特異性、及び、酸化ストレスの関与を解明するため、非緑内障(対照群)について HODE 異性体の分析を行った。得られたデータを総合し、有用バイオマーカーの確定、臨床データと組み合わせた発症リスク予測、緑内障の要因に関与する酸化種の同定を試みた。





4. 研究成果

広義原発開放隅角緑内障 (n=198)、非緑内障対照群(n=119)の2群間における背景因子は、性別、測定時眼圧、未治療時眼圧に有意差を認めた (P=0.0046、P=0.0492、P<0.0001)。また、有意差はないが、危険要因としては、収縮期血圧、拡張期血圧、糖尿病であった。一方、年齢、脈拍、食後時間、喫煙は群間差がなかった。



血清中の HODE 異性体を測定したところ、広義原発開放隅角緑内障群は非緑内障対照群に比べて HODE 異性体の総合値 (total-HODE) が有意に高くなった。特に各酸化種や酵素の酸化によって生成する 9-(Z,E)-HODE、13-(Z,E)-HODE、一重項酸素特異的に生成する 10-(Z,E)-HODE、12-(Z,E)-HODE は、広義原発開放隅角緑内障群で高値を示した。一方、ラジカル特異的に生成する 9-(E,E)-HODE、13-(E,E)-HODE は群間差がなかった。

広義原発開放隅角緑内障群と非緑内障対照群において群間差が確認された背景因子 (年齢、性別、拡張期血圧、糖尿病の有無、測定時眼圧、未治療時最高眼圧) を補正した後、HODE 異性体データと臨床データを用いて、多変量ロジスティック回帰分析により緑内障病態の各種背景因子を調整したうえで、酸化ストレスの関与度を算出した。その結果、未治療時眼圧、HODE 異性体の一部において、高い相関が認められた。緑内障のリスク要因である眼圧と酸化ストレスは緑内障の重要な因子であることが示唆された。

血清の解析から、「眼の病態」と「体の酸化障害」の関与が示唆された。今後、

HODE 異性体分布の解析や一重項酸素との関連など、詳細な検討は必要であるが、脂質酸化ストレスマーカーである HODE 異性体は、眼の酸化指標として期待できる。

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6件)

- (1) Umeno A, Nagai H, Hagihara Y, Yoshida Y. Demand for the Early Detection of Diabetic Risk at Annual Health Examinations and A Probable Solution. *J Diabetes Metab.* 2015, 6-8
- (2) Umeno A, Yoshino K, Hashimoto Y, Shichiri M, Kataoka M, Yoshida Y. Multi-Biomarkers for Early Detection of Type 2 Diabetes, Including 10- and 12-(Z,E)-Hydroxyoctadecadienoic Acids, Insulin, Leptin, and Adiponectin. *PLoS One.* 2015, e0130971
- (3) Umeno A, Horie M, Murotomi K, Nakajima Y, Yoshida Y. Antioxidative and Antidiabetic Effects of Natural Polyphenols and Isoflavones. *Molecules.* 2016. E708
- (4) Umeno A, Biju V, Yoshida Y. In vivo ROS production and use of oxidative stress-derived biomarkers to detect the onset of diseases such as Alzheimer's disease, Parkinson's disease, and diabetes. *Free Radical Res.* 2017. 413-427.
- (5) Umeno A, Morita M, Yoshida Y, Naito Y, Niki E. Isomer distribution of hydroxyoctadecadienoates (HODE) and hydroxyeicosatetraenoates (HETE) produced in the plasma oxidation mediated by peroxy radical, peroxyxynitrite, hypochlorite, 15-lipoxygenase, and singlet oxygen. *Arch Biochem Biophys.* 2017. 96-101.
- (6) Umeno A, Fukui T, Hashimoto Y, Kataoka M, Hagihara Y, Nagai H, Horie M, Shichiri M, Yoshino K, Yoshida Y. Early diagnosis of type 2 diabetes based on multiple biomarkers and non-invasive indices. *J Clin Biochem Nutr.* 2018. 187-194

[学会発表](計5件)

- (1) 梅野彩, 谷戸正樹, 吉田康一. ヒドロキシリノール酸をバイオマーカーとした緑内障と酸化ストレスとの関連. 第26回眼科酸化ストレス学会. 2015.07.18

- (2) Umeno A, Horie M, Yoshida Y. Antioxidant Potential of An Olive leaf Extract Component, Oleuropein, and its preventive effect on Type 2 diabetes. American Oil Chemicals Society 2016. 05.01-04
- (3) 谷戸正樹、梅野彩、吉田康一、海津幸子、大平明弘. 緑内障血清における脂質酸化ストレスマーカーの測定. 第27回眼科酸化ストレス学会. 2016.07.23
- (4) 梅野彩、谷戸正樹、吉田康一. ヒドロキシリノール酸による緑内障への酸化ストレスの関与. 第70回日本酸化ストレス学会. 2017.06.28-29
- (5) 梅野彩、谷戸正樹、吉田康一. ヒドロキシリノール酸をバイオマーカーとした緑内障と酸化ストレスの関与解明. 第28回眼科酸化ストレス学会. 2017.07.22

6. 研究組織

(1) 研究代表者

梅野彩(UMENO AYA)

国立研究開発法人産業技術総合研究所健康工学研究部門特別研究員

研究者番号：20749098

(2) 研究分担者

該当者なし

(3) 連携研究者

該当者なし

(4) 研究協力者

該当者なし