

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：16101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K20266

研究課題名(和文) 網膜神経節細胞の保護と軸索再生研究

研究課題名(英文) Neuroprotection and axon regeneration of retinal ganglion cell

研究代表者

仙波 賢太郎 (SEMBA, Kentaro)

徳島大学・病院・助教

研究者番号：10745748

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：緑内障は主要な失明原因の一つであり、網膜神経節細胞(RGC)とその軸索の変性を特徴とする。緑内障のrisk factorとして高眼圧があるが、日本人の場合は眼圧上昇がみられない正常眼圧緑内障(NTG)が全体の約7割を占める。グルタミン酸輸送体の一つであるEAAC1の遺伝子欠損マウスは、眼圧上昇なしにRGCの変性を来すことからNTGモデルとして用いられている。EAAC1欠損マウスを用いてフリーラジカルスカベンジャーの一つであるEdaravoneの効果を検討した。その結果、Edaravoneは酸化ストレスを抑制し、EAAC1欠損マウスのRGC変性を抑制することが分かった。

研究成果の概要(英文)：Glaucoma, one of the leading causes of irreversible blindness, is characterized by progressive degeneration of optic nerves and retinal ganglion cells (RGCs). In the mammalian retina, excitatory amino acid carrier 1 (EAAC1) is expressed in neural cells, including RGCs, and the loss of EAAC1 leads to RGC degeneration without elevated intraocular pressure. We found that edaravone, a free radical scavenger that is used for treatment of acute brain infarction and amyotrophic lateral sclerosis (ALS), reduces oxidative stress and prevents RGC death and thinning of the inner retinal layer in EAAC1-deficient (KO) mice. In addition, in vivo electrophysiological analyses demonstrated that visual impairment in EAAC1 KO mice was ameliorated with edaravone treatment, clearly establishing that edaravone beneficially affects both histological and functional aspects of the glaucomatous retina.

研究分野：眼科学

キーワード：正常眼圧緑内障 神経保護

1. 研究開始当初の背景

我が国における失明原因の多くは網膜および視神経の変性疾患で占められており、Quality of Life の観点からも大きな社会的問題となっている。日本における最大の失明原因は緑内障であり、40 歳以上の有病率は約 6% にのぼる。緑内障は眼圧上昇によって網膜神経節細胞 (RGC) 死とその軸索である視神経の変性が起きて、結果的に回復不能な視野障害に陥るものと考えられてきた。しかし本邦では眼圧が正常であるにもかかわらず緑内障症状を発症する「正常眼圧緑内障 (NTG)」が全体の約 7 割を占めるといふ、驚くべき事実が判明している (Iwase et al. *Ophthalmology*, 2004)。また NTG の中には十分な眼圧降下が得られても病期が進行する症例もあり、治療上の問題となっている。近年では眼圧降下を目的とした複数の点眼薬が新たに発売され、中には神経保護効果を有するものも存在する。例えば最近国内で発売された brimonidine 点眼薬では眼圧降下作用、RGC への直接的な効果に加えて、グリア細胞を介した間接的な神経保護効果が見られることを我々は報告した (Semba et al. *Cell Death and Disease*, 2014)。しかしこのような効果は限定的であることから、今後の緑内障治療においては眼圧以外の病態寄与因子の解明や新たな神経保護療法の開発が求められる状況にある。

2. 研究の目的

幸いにも近年では NTG の遺伝子改変マウスを研究に使用できるようになってきている。例えばグルタミン酸輸送体である EAAC1 または GLAST の欠損 (KO) マウスでは、慢性的なグルタミン酸毒性と酸化ストレスの亢進により、RGC 死と視神経変性が進行することが報告されている (Harada et al. *Journal of Clinical Investigation*, 2007; *Cell Death and Differentiation*, 2010)。研究代表者は EAAC1 KO マウスを利用して、高血圧薬である candesartan の内服が NTG 様症状の進行抑制に有用であることを見出した。そのメカニズムとして candesartan がアンジオテンシン受容体を介した酸化ストレスの産生を抑制することを報告している (Semba et al. *Cell Death and Disease*, 2014)。また解析法としては光干渉断層計 (OCT) による網膜イメージングと多局所網膜電位の測定 (VERIS) による視機能検査を組み合わせ、同一眼における非侵襲的かつ経時的観察を可能とした (図 1)。この手法は実験動物数の抑制にもつながることから、極めて有用である。そこで本研究では、以上の NTG モデルマウスと網膜観察法を組み合わせ、既存薬を含めた様々な神経保護薬の探索を行った。

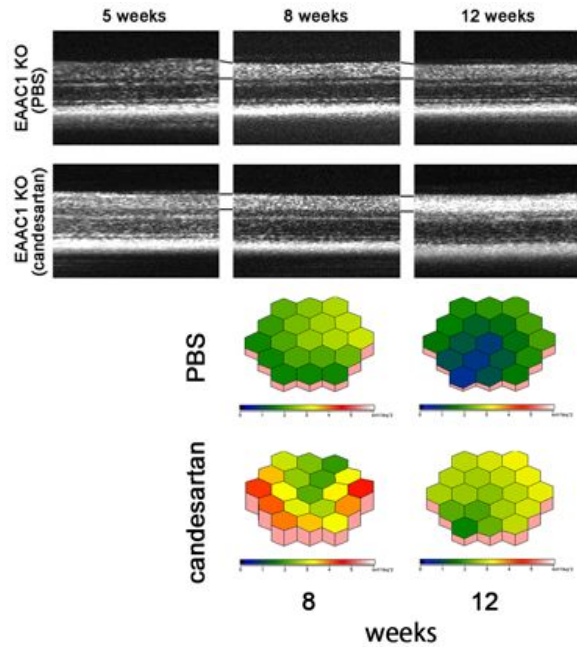


図 1 高血圧薬 candesartan による EAAC1 KO マウスの治療研究。(上) OCT による同一眼の追跡。(下) 多局所網膜電位。投与群では形態と視機能が共に維持された。

3. 研究の方法

本研究では NTG モデル動物を活用して、既存薬を含めた神経保護薬の探索と効果の検討を行った。投与後の網膜変性の状態を OCT や VERIS を利用して経時的に観察することにより、客観的なデータを取得した。

4. 研究成果

Edaravone (Radicut®) はフリーラジカルスカベンジャーの一つで強力な抗酸化作用を持ち、脳梗塞急性期及び ALS の治療に用いられている。これまで、Edaravone はマウスの NMDA 投与後の p38 及び JNK の活性化と、RGC 死を抑制したという報告やマウスの光刺激後の酸化ストレス (8-OHdG) を抑制したという報告がなされている。そこで Edaravone を EAAC1 KO マウスに投与してその神経保護効果を検討した。その結果、Edaravone を腹腔内投与した EAAC1 KO マウスでは PBS を投与したマウスよりも有意に神経節細胞死が抑制され、OCT にて網膜内層厚が保たれた。その神経保護効果は negative control である wild-type マウスと同程度にまで保護されていた。また、VERIS では振幅の減少が抑制された。この研究から NTG モデルマウスにおける Edaravone の神経保護効果を確認することができた。今回の結果は既存薬物である Edaravone が緑内障治療においても有用である可能性を示している。

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 12 件)

- 1) Nagasato D, Mitamura Y, Semba K, Akaiwa K, Nagasawa T, Yoshizumi Y, Tabuchi H, Kiuchi Y. Correlation between optic nerve head circulation and visual function before and after anti-VEGF therapy for central retinal vein occlusion. *BMC Ophthalmol* 16:36,2016. 査読有
- 2) Kinoshita T, Imaizumi H, Miyamoto H, Katome T, Semba K, Mitamura Y. Two-year results of metamorphopsia, visual acuity, and optical coherence tomographic parameters after epiretinal membrane surgery. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 254:1041-1049,2016. 査読有
- 3) Fujihara-Mino A, Mitamura Y, Inomoto N, Sano H, Akaiwa K, Semba K. Optical coherence tomographic parameters predictive of visual outcome after anti-vascular endothelial growth factor therapy for retinal vein occlusion. *Clin Ophthalmol* 10:1305-1313,2016. 査読有
- 4) Kinoshita T, Mitamura Y, Mori T, Akaiwa K, Semba K, Egawa M, Mori J, Sonoda S, Sakamoto T. Changes in choroidal structures in eyes with chronic central serous chorioretinopathy after half-dose photodynamic therapy. *PLoS ONE* 11:e0163104,2016. 査読有
- 5) Nishi T, Ueda T, Mizusawa Y, Shinomiya K, Semba K, Mitamura Y, Sonoda S, Uchino E, Sakamoto T, Ogata N. Choroidal structure in children with anisohypermetropic amblyopia determined by binarization of optical coherence tomographic images. *PLoS ONE* 11(10):e0164672,2016. 査読有
- 6) Egawa M, Mitamura Y, Akaiwa K, Semba K, Kinoshita T, Uchino E, Sonoda S, Sakamoto T. Changes of choroidal structure after corticosteroid treatment in eyes with Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Br J Ophthalmol* 100:1646-1650,2016. 査読有
- 7) Kinoshita T, Mori J, Okuda N, Imaizumi H, Iwasaki M, Shimizu M, Miyamoto H, Akaiwa K, Semba K, Sonoda S, Sakamoto T, Mitamura Y. Effects of exercise on the structure and circulation of choroid in normal eyes. *PLoS ONE* 11(12):e0168336,2016. 査読有
- 8) Katome T, Namekata K, Mitamura Y, Semba K, Egawa M, Naito T, Harada C, Harada T. Expression of intraocular peroxisome proliferator-activated receptor gamma in patients with proliferative diabetic retinopathy. *J Diabetes Complications* 29:275-281,2015. 査読有
- 9) Guo X, Namekata K, Kimura A, Noro T, Azuchi Y, Semba K, Harada C, Yoshida H, Mitamura Y, Harada T. Brimonidine suppresses loss of retinal neurons and visual function in a murine model of optic neuritis. *Neurosci Lett* 592:27-31,2015. 査読有
- 10) Iwata A, Mitamura Y, Niki M, Semba K, Egawa M, Katome T, Sonoda S, Sakamoto T. Binarization of enhanced depth imaging optical coherence tomographic images of an eye with Wyburn-Mason syndrome: a case report. *BMC Ophthalmol* 15:19,2015. 査読有

- 11) Mino A, Mitamura Y, Katome T, Semba K, Egawa M, Naito T. Case of adult-onset Coats' disease with epiretinal membrane treated with 25-gauge pars plana vitrectomy. *J Med Invest* 62:85-88,2015. 査読有
- 12) Egawa M, Mitamura Y, Sano H, Akaiwa K, Niki M, Semba K, Sonoda S, Sakamoto T. Changes of choroidal structure after treatment for primary intraocular lymphoma. retrospective observational case series. *BMC Ophthalmol* 15:136,2015. 査読有

〔学会発表〕(計 3 件)

Kentaro Semba Choroidal structure in healthy pediatric individuals determined by binarization of optical coherence tomographic images、AAO 2016、McCormick Place (America、Chicago)、2016年10月16日

仙波賢太郎 2階調化による正常小児眼の脈絡膜解析、第54回日本網膜硝子体学会総会・第32回日本眼循環学会合同学会、東京国際フォーラム(東京都・千代田区)、2015年12月4日

仙波賢太郎 プリモニジンは正常眼圧緑内障モデルマウスにおける神経変性を抑制する、第119回日本眼科学会総会、さっぽろ芸文館(北海道、札幌市)、2015年4月17日

6. 研究組織

(1)研究代表者

仙波 賢太郎 (SEMBA, Kentaro)

徳島大学・病院・助教

研究者番号：10745748