

平成 30 年 5 月 31 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K20299

研究課題名(和文)酸化ストレスからアプローチした緑内障治療

研究課題名(英文)glaucoma treatment approach from oxidative stress

研究代表者

檜森 紀子(Himori, Noriko)

東北大学・大学病院・助教

研究者番号：20705230

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)：基礎研究だけでなく臨床においても緑内障における酸化ストレスの関連は指摘されている。我々は、正常眼圧緑内障患者に酸化ストレスマーカー(尿中8-OHdG値、皮膚AGE)と組織領域の視神経乳頭循環とが相関することを明らかにした(Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2016)。今年度は比較的若い男性緑内障患者において抗酸化力と緑内障が相関すること(Sci Rep. 2017.)、睡眠時無呼吸を有する緑内障患者において酸化ストレスが高く、それが視野進行の一因となっているのではないかとすることを明らかにした(Acta Ophthalmol. 2018)。

研究成果の概要(英文)：Some recent clinical and basic reports on oxidative stress in glaucoma. Oxidative stress is correlated with blood flow in all groups and is especially highly correlated in early NTG (Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2016). Our research focused on BAP and wrgc, specific measures of antioxidant potential and RGC survival, in OAG patients younger than 65 years (Sci Rep. 2017.). We also reveal that glaucoma patients with SAS had a steeper MD slope than patients without SAS, and that the incidence of SAS was highest in the glaucoma patients with the fastest progression (Acta Ophthalmol. 2018). These results suggested that anti-oxidant therapy might be more effective in glaucoma patients.

研究分野：緑内障

キーワード：緑内障 酸化ストレス 神経保護

1. 研究開始当初の背景

緑内障は、現在日本国内における失明原因第一位の疾患である。現状では唯一エビデンスのある眼圧下降治療により視野進行を遅らせることが緑内障治療の主流となっている。しかし治療により眼圧下降が十分得られても緑内障が進行する患者がおり、病態に即した新しい治療法の開発が望まれている。緑内障の基本病態は視神経乳頭陥凹に伴う網膜神経節細胞死であることから、私は神経保護治療に繋がる研究に着目した。

実際、視神経軸索挫滅(緑内障病態)モデルでは、酸化ストレスが組織障害によって生成され、神経節細胞死に関与すること

(Levkovitch-Verbin et al. *IOVS*. 2000)、緑内障患者の視神経乳頭にあるアストロサイトが酸化ストレスに対して Glutathione や抗酸化防御因子の放出を行うこと(Malone et al. *Exp Eye Res*. 2007)を明らかにしたことから、酸化ストレスに対する分子メカニズムを研究することは重要である。

基礎研究だけでなく臨床においても緑内障における酸化ストレスの関連は指摘されている。血液・尿は比較的得ることが容易であるため、近年緑内障患者における全身性の酸化ストレス指標の上昇、抗酸化力値の低下について報告されている(Tanito et al. *PLoS One*. 2012, 2015)。我々は、正常眼圧緑内障患者に酸化ストレスマーカー(尿中 8-OHdG 値、皮膚 AGE)と組織領域の視神経乳頭循環とが相関することを明らかにした(*Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2016)。

2. 研究の目的

緑内障の基本病態は多くの障害因子による視神経乳頭陥凹に伴う網膜神経節細胞死である。中でも酸化ストレスの関与が注目されている。

上述したように現在行われている眼圧下降治療は限界を迎えているため、酸化ストレスに対する抗酸化剤は緑内障治療や発症予防補助の候補となりえるか、介入可能な疾患の一つとして考えられるかを明らかにする。緑内障における網膜神経節細胞死について酸化ストレスを足掛かりにし、新規神経保護治療(緑内障治療補助)の開発を目的とする。

3. 研究の方法

< 基礎研究 >

Sulfide quinone reductase like (SQR) は硫化水素(H₂S)を細胞内で分解するミトコンドリア膜タンパク質である。H₂S は NO や CO に次ぐガス状生理活性物質として知られ、酸化ストレス障害に対する神経保護効果が報告されている(Kimura et al. *FASEB J*. 2004.)。H₂S から派生する HS⁻(硫化水素アニオン)が生体内で分子に SH 基を付加することで活性酸素シグナルを調節していることが明らかとなっている。加えて H₂S は Keap1 のシステイン残基を過硫化することで Keap1 の立体構造を変化させ Nrf2 を活性化することが知られている(Hourihan et al.

Antioxidant Redox Signaling. 2013.)。網膜での SQR 発現・役割、またミトコンドリア機能と Nrf2 の関係を明らかにした既報はないことから、酸化ストレスを介した緑内障病態を検証する上で重要性があると考えられる。野生型マウス網膜での SQR mRNA、タンパク発現量や局在を PCR、ウェスタンブロット、免疫染色等を用いて確認する。視神経軸索障害時に野生型マウスと SQR KO マウスにおける生存網膜神経節細胞数を比較、2 群に硫化水素(あるいはその前駆体である NaHS)を投与し、軸索障害時の SQR の働きや Nrf2 活性の有無を抗酸化酵素の発現を PCR や免疫染色で確認する。

< 臨床研究 >

当院緑内障外来通院中の緑内障患者、対象患者(白内障、網膜前膜)を対象として尿中の酸化ストレスマーカー(8-OHdG)、血中の酸化ストレスマーカー(抗酸化力;BAP test、酸化ストレス値;d-ROM test)、皮膚 AGE、レーザースペックルフローラフィーを用いて視神経乳頭血流(MBR)を測定する。これらを総合的に比較検討し、緑内障群と対象群における酸化ストレスマーカー値を比較検討する。

4. 研究成果

< 基礎研究 >

免疫染色にて野生型マウスの網膜の網膜神経節細胞層と視細胞内節に SQR タンパクが発現していることを確認した。

< 臨床研究 >

我々は、当院緑内障外来通院中の開放隅角緑内障患者の酸化ストレスマーカーである皮膚 AGE と緑内障重症度 MD 値とが負の相関を示す明らかになった。対象全例において緑内障重症度と皮膚 AGE は弱い相関を見られ、58 歳以下の比較的若年緑内障患者においてより強い負の相関を認めることが明らかになった。加えて多変量解析において、MD 値において皮膚 AGE は独立した寄与を認めることが明らかになった(*Br J Ophthalmol*. 2016)。そして今年度は比較的若い男性緑内障患者において抗酸化力と緑内障重症度が相関すること(*Sci Rep*. 2017.)、全身的な抗酸化治療は比較的若年の緑内障患者において視野維持に有効な治療法になることが考えられた。

睡眠時無呼吸を有する緑内障患者において酸化ストレスが高く、それが視野進行の一因となっているのではないかとすることを明らかにした(*Acta Ophthalmol*. 2018)。以上より酸化ストレスが眼圧非依存性因子の一つとして緑内障と関連することを強く示唆する結果を得ている。

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 14 件)

1. Yamada E, Himori H, Kunikata H, Omodaka K, Ogawa H, Ichinose M, Nakazawa T. The

- relationship between increased oxidative stress and visual field defect progression in glaucoma patients with sleep apnea syndrome. *Acta Ophthalmologica*. 2018 Mar 2. doi: 10.1111/aos.13693. 査読あり.
2. 臨床検体で科学する！緑内障・酸化ストレスバイオマーカー、檜森紀子、*Retina Medicine*, Vol. 7, No. 1, 44-48, 2018、査読なし。
 3. Akaishi T, Kaneko K, Himori N, Takeshita T, Takahashi T, Nakazawa T, Aoki M, Nakashima I. Subclinical retinal atrophy in the unaffected fellow eyes of multiple sclerosis and neuromyelitis optica. *J Neuroimmunol*. 2017 Dec 15; 313:10-15. 査読あり。
 4. Nakamura O, Moritoh S, Sato K, Maekawa S, Murayama N, Himori N, Omodaka K, Sogon T, Nakazawa T. Bilberry extract administration prevents retinal ganglion cell death in mice via the regulation of chaperone molecules under conditions of endoplasmic reticulum stress. *Clin Ophthalmol*. 2017 Oct 11; 11:1825-1834. doi: 10.2147/OPHTH.S145159. eCollection 2017. 査読あり。
 5. Asano Y, Himori N, Kunikata H, Yamazaki M, Shiga Y, Omodaka K, Takahashi H, and Nakazawa T. Age- and sex-dependency of the association between systemic antioxidant potential and glaucomatous damage. *Sci Rep*. 2017. Aug 14;7(1):8032. doi: 10.1038/s41598-017-08624-4. 査読あり。
 6. Kokubun T, Tsuda S, Kunikata H, Yasuda M, Himori N, Kunimatsu-Sanuki S, Maruyama K, Nakazawa T. Characteristic Profiles of Inflammatory Cytokines in the Aqueous Humor of Glaucomatous Eyes. *Ocul Immunol Inflamm*. 2017 Jun 16:1-12. doi: 10.1080/09273948.2017. 査読あり。
 7. Kikuchi A, Shiga Y, Takayama S, Arita R, Maekawa S, Kaneko S, Himori N, Ishii T, Nakazawa T. Traditional medicine as a potential treatment for Flammer syndrome. *EPMA J*. 2017 May 8;8(2):171-175. doi:10.1007/s13167-017-0091-9. eCollection 2017 Jun. 査読あり。
 8. Himori N, Kunikata H, Kawasaki R, Shiga Y, Omodaka K, Takahashi H, Miyata T, Nakazawa T. The association between skin autofluorescence and mean deviation in patients with open-angle glaucoma. *Br J Ophthalmol*. 2017 Feb;101(2):233-238. doi:10.1136/bjophthalmol-2016-309504. 査読あり。
 9. Himori N, Kunikata H, Inoue M, Takeshita T, Nishiguchi K, Nakazawa T. Optic nerve head microcirculation in autosomal dominant optic atrophy and normal-tension glaucoma. *Acta Ophthalmologica*. 2017 Jan 30. doi: 10.1111/aos.13353. 査読あり。
 10. Yamanari M, Tsuda S, Kokubun T, Shiga Y, Omodaka K, N Aizawa, Yokoyama Y, Himori N, Kunimatsu-Sanuki S, Maruyama K, Kunikata H, Nakazawa T. Erratum: Estimation of Jones matrix, birefringence and entropy using Cloude-Pottier decomposition in polarization-sensitive optical coherence tomography: erratum. *Biomed Opt Express*. 2016 Oct 18;7(11):4636-4638. eCollection 2016. 査読あり。
 11. Kokubun T, Kunikata H, Tsuda S, Himori N, Maruyama K, Nakazawa T. Quantification of the filtering bleb's structure with anterior segment optical coherence tomography. *Clin Exp Ophthalmol*. 2016 Aug;44(6):446-54. doi: 10.1111/ceo.12689. 査読あり。
 12. Omodaka K, Takahashi S, Matsumoto A, Maekawa S, Kikawa T, Himori N, Takahashi H, Maruyama K, Kunikata H, Akiba M, Nakazawa T. Clinical Factors Associated with Lamina Cribrosa Thickness in Patients with Glaucoma, as Measured with Swept Source Optical Coherence Tomography. *PLoS One*. 2016 Apr 21;11(4): e0153707. doi:10.1371/journal.pone.0153707. 査読あり。
 13. Inoue M, Himori N, Kunikata H, Takeshita T, Aizawa N, Shiga Y, Omodaka K, Nishiguchi KM, Takahashi H, Nakazawa T. The reduction of temporal optic nerve head microcirculation in autosomal dominant optic atrophy. *Acta Ophthalmol*. 2016 Nov; 94 (7): e580-e585. doi: 10.1111/aos.12999. 査読あり。
 14. エイジングからみた緑内障、檜森紀子、中澤徹、眼科、627-633、Vol.58, No.6, 2016、査読なし
- (学会発表) (計 6 件)
1. 第 71 回臨床眼科学会、フォーラム(東京)、2017 年 10 月 13 日、正常眼圧緑内障患者における皮膚 AGE と視神経乳頭網膜神経線

維層厚、檜森紀子、国分太貴、志賀由己浩、
面高宗子、國方彦志、中澤徹

2. 第 28 回緑内障学会、リーガロイヤルホテル
(広島)、2017 年 9 月 30 日
・一般演題: 複合サプリメント摂取による抗酸化力の変動、檜森紀子、佐藤孝太、中澤徹
3. 第 28 回緑内障学会、リーガロイヤルホテル
(広島)、2017 年 9 月 30 日
・イブニングセミナー: わかもと製薬、「酸化ストレスと緑内障」、檜森紀子
4. Seoul Joint conference、ソウル大学、ソウル
(韓国)、2017 年 9 月 1 日、檜森紀子、The
association between glaucoma and oxidative
stress
5. 第 70 回 日本臨床眼科学会、2016 年 11 月
4 日、京都国際会議場(京都)、緑内障患者
における酸化ストレスと視野、檜森紀子、國
方彦志、川崎良、志賀由己浩、面高宗子、
高木愛理、中澤徹
6. 第 69 回酸化ストレス学会、2016 年 8 月 30
日、国際会議場(仙台)、正常眼圧緑内障患
者における酸化ストレスマーカーと視神経乳
頭循環との関連、檜森紀子、志賀由己浩、
面高宗子、國方彦志、中澤徹

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

檜森 紀子(Himori, Noriko)

東北大学・大学病院・助教

研究者番号: 20705230