

令和 2 年 6 月 26 日現在

機関番号：17601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11425

研究課題名(和文) アドレノメデュリンの虚血性視神経症への有効性の検討

研究課題名(英文) Effect of adrenomedullin for the treatment of non-arteritic ischemic optic neuropathy

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) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：虚血性視神経症の責任血管であるとされる、白色家兔の単離短後毛様動脈に対するアドレノメデュリンの作用を、ミオグラフを用いて薬理的に検討した。高カリウム液や、アドレナリン投与により収縮させた単離短後毛様動脈にアドレノメデュリンを投与し、血管弛緩作用および、濃度依存性があるかどうか、その持続時間を検討した。アドレノメデュリンは単離短後毛様動脈を弛緩させた。アドレノメデュリン濃度を変化させたときの血管弛緩作用から、アドレノメデュリンは濃度依存的に血管を弛緩させることが分かった(n=9)。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アドレノメデュリンは、1993年に生体から発見された、体に働きかける物質である。血液循環の調整や抗酸化作用など、様々な作用が判明している。またヒト生体への安全性も確認されている。視神経を栄養している動脈血管を分離し、アドレノメデュリンの作用を薬理的に検討した。その結果、アドレノメデュリンはその動脈を弛緩させた。アドレノメデュリン濃度を変化させたときの血管弛緩作用から、アドレノメデュリンは濃度依存的に血管を弛緩させることが分かった。この結果から、視神経の虚血性疾患である虚血性視神経症に有効である可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Vascular ring segments were cut from the distal section of the ciliary artery, which is embedded in the connective tissue of the optic nerve. Segments were mounted in a double myograph system. The myograph system allowed direct determination of the vessel's isometric tension.

When specimens of ciliary arteries were mounted in the organ bath, the tissue relaxed to the steady state tone after 30 minutes of superfusion with Krebs solution. Adrenomedullin induced vascular relaxation in high-K contracted PCAs in a concentration-dependent manner. Carboxy-2-phenyl-4,4,5,5-tetramethyl-imidazole-1-oxyl-3-oxide (carboxy-PTIO, a NO scavenger) (1 mM) inhibited the adrenomedullin-induced relaxation in a concentration-dependent manner. NG-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME, a NO synthase inhibitor) (300 μM) inhibited the adrenomedullin-induced relaxation. After denudation of the endothelium, the dilatatory effect was still observed.

研究分野：神経眼科

キーワード：ラット虚血性視神経症(rNAION) アドレノメデュリン 短後毛様動脈 ミオグラフ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

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、無作為化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、小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、小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。

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。

アドレノメデュリンは、1993年に褐色細胞腫抽出液より単離同定された、強力な血管拡張作用を有する生理活性ペプチドである。循環調整ペプチドとしての役割だけでなく、抗酸化作用、抗アポトーシス作用など、様々な生理活性を有することが判明している。従って、視神経の虚血性疾患であるNAIONに有効である可能性がある。また、治療薬として臨床での実用化を目指した臨床研究も数多く推進されており、急性心筋梗塞や脳梗塞などの臨床応用も推進されつつある。それらの研究において、有効性だけでなく、ヒト生体への安全性も確認されている。アドレノメデュリンは中枢神経にも存在し、blood brain barrierの維持に関与していることが明らかにされてきている。また、最近では、炎症に対する有効性も示されてきている。NAIONは中枢神経のひとつ、視神経の血管病変であり、その発症機転、悪化要素の背景に炎症が関与しているとの報告も実験的、臨床的に報告されている。従って、アドレノメデュリンは、NAIONに効果的である可能性がある。

したがって、われわれは、アドレノメデュリンが虚血性視神経症に有用であることを明らかにするために、まずはrNAIONに投与してその視機能改善効果、神経保護効果があるかを検討することを一つの目的とする。また、二つ目の目的は、アドレノメデュリンが白色家兎から単離した、NAIONの責任血管であるとされる視神経の単離短後毛様動脈を弛緩させる作用があるか検討し、またその機序を明らかにすることとする。また、アドレノメデュリンがrNAIONに有効であることが確認できれば、ヒトのNAIONに投与して、その有効性を確認することを三つ目の目的とする。

2. 研究の目的

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。現在のところ効果的な治療法はない。申請者のグループは、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。アドレノメデュリンは、1993年に褐色細胞腫抽出液より単離同定された、強力な血管拡張作用を有する生理活性ペプチドである。循環調整ペプチドとしての役割だけでなく、抗酸化作用、抗アポトーシス作用など、様々な生理作用を有することが判明している。したがって、視神経の虚血性疾患であるNAIONに有効である可能性がある。したがって、われわれは、アドレノメデュリンがrNAIONおよびヒトの虚血性視神経症に有効であることを明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) アドレノメデュリンのrNAIONに対する有効性の検討

非動脈炎性虚血性視神経症の動物モデルを作成し、アドレノメデュリンまたは生理食塩水を経静脈的にrNAIONに投与する。急性期視神経乳頭浮腫の程度を、OCTを用いて、アドレノメデュリン群と生理食塩水との比較を行う。また、引き続きおこる網膜神経線維の菲薄化の程度をOCTにて比較し評価する。網膜神経節細胞(RGC)の機能を、STRを用いて評価する。また、フルオロゴールドを用いて生存のRGC数をカウントし、その有効性を比較検討する。

(2) アドレノメデュリンの白色家兎単離短後毛様動脈に対する作用とその機序

白色家兎の単離短後毛様動脈をミオグラフに固定する。高カリウム液や、アドレナリン投与により収縮させた単離短後毛様動脈にアドレノメデュリンを投与し、血管弛作用があるかどうか、また濃度依存性があるかどうか、その持続時間を検討する。弛緩作用が確認できれば、その弛緩作

用が NO 依存性であるかを確認するため、弛緩作用が carboxy-PTIO、L-NAME で抑制されるかどうかを検討する。

(3) アドレノメデュリンの、ヒトの NAION の視機能改善への有効性の検討

初診時に NAION と診断した症例に視力、瞳孔、対光反応、視野、色覚、前眼部の評価、眼底写真、OCT、乳頭網膜血流、VEP、PhNR を測定し、記録する。NAION 患者に対してアドレノメデュリン点滴加療を行い、加療は、動物実験で推測される有効な投与量と他施設で行われた臨床研究の方法に準ずる。治療 3 日後、7 日後、1 ヶ月、3 ヶ月、6 ヶ月、12 ヶ月、18 ヶ月、24 ヶ月に視力、瞳孔、対光反応、視野、色覚、前眼部の評価、眼底写真、OCT、乳頭網膜血流、VEP、PhNR を測定し、記録する。

治療効果を、視機能の評価として統計学的に評価する。

4 . 研究成果

(1) アドレノメデュリンがラット虚血性視神経症の視機能改善に有効であるか

ラット虚血性視神経症(rNAION)を作成した。介入操作として、まずローズベンガル(Rose Bengal , RB)液(2.5mM, 1ml/kg)をラットの尾静脈より静注し、その後 左眼のみに視神経乳頭に 514nm アルゴングリーンレーザーを 12 秒間照射した。レーザーを左眼に照射したため、モデルラットの右眼は RB のみ投与された眼(以下 RB 眼)で、左眼が RB にレーザーが照射された眼(以下 RB+レーザー照射眼)となる。コントロールラットの方は、RB を静注せず、レーザーを左眼のみに照射した。従って、右眼は何も介入していない眼(以下正常眼)で、左眼がレーザーのみ照射された眼(以下レーザー眼)となる。これらの眼について、NAION と一致性をみるために、視神経乳頭の検眼鏡的变化、蛍光眼底造影検査、視神経乳頭内の微小血管の観察、病理組織検査、電気生理学的検査を行った。特に、電気生理学的検査は VEP、ERG に加え、網膜神経節細胞の機能を評価できる ERG の scotopic threshold response (STR)コンポーネントを用いた。

(2) アドレノメデュリンの白色家兎単離短後毛様動脈に対する作用とその機序

虚血性視神経症の責任血管であるとされる、白色家兎の単離短後毛様動脈に対するアドレノメデュリンの作用を、ミオグラフを用いて薬理的に検討した。高カリウム液や、アドレナリン投与により収縮させた単離短後毛様動脈にアドレノメデュリンを投与し、血管弛緩作用および、濃度依存性があるかどうか、その持続時間を検討した。アドレノメデュリンは単離短後毛様動脈を弛緩させた。アドレノメデュリン濃度を変化させたときの血管弛緩作用から、アドレノメデュリンは 濃度依存的に血管を弛緩させることが分かった (n=9)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 0件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Alia Arianti, Hideki Chuman, Natsuki Kajihara, Natsuko Sakamoto, Nobuhisa Nao-i	4. 巻 6
2. 論文標題 Atypical Clinical and Neuroimaging Findings in Leber's Hereditary Optic Neuropathy: a Case Report	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 JOJ Ophthalmology	6. 最初と最後の頁 1-7
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.19080/JOJO.2018.06.555698	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Aung Tin, Ozaki Mineo, Lee Mei Chin, Sugimoto Takako, Chuman Hideki	4. 巻 49
2. 論文標題 Genetic association study of exfoliation syndrome identifies a protective rare variant at LOXL1 and five new susceptibility loci	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Nature Genetics	6. 最初と最後の頁 993 ~ 1004
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/ng.3875	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Takako Hidaka, Hideki Chuman, Nobuhisa Nao-i	4. 巻 255
2. 論文標題 Evaluation of optic nerve head blood flow in normal rats and a rodent model of non-arteritic ischemic optic neuropathy using laser speckle flowgraphy	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology	6. 最初と最後の頁 1973 ~ 1980
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00417-017-3753-3	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Chuman H, Hidaka T, Nao-i N	4. 巻 1
2. 論文標題 Evaluation of optic disc blood flow of intraconal orbital tumors using laser speckle flowgraphy	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Ophthalmol case rep	6. 最初と最後の頁 19-24
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Chuman Hideki, Sugimoto Takako, Nao-I Nobuhisa	4. 巻 255
2. 論文標題 Vasodilatory effect of L-arginine on isolated rabbit and human posterior ciliary arteries in vitro and increased optic disc blood flow in vivo	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology	6. 最初と最後の頁 2381 ~ 2388
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00417-017-3824-5	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計23件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 中馬秀樹
2. 発表標題 臨床神経眼科で学んだこと
3. 学会等名 第47回大阪医科大学眼科セミナープログラム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大久保陽子, 森真喜子, 中馬秀樹, 直井信久
2. 発表標題 うっ血乳頭を生じたMelnick-Needles syndromeの一例
3. 学会等名 第87回九州眼科学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 中馬秀樹
2. 発表標題 眼血流と緑内障
3. 学会等名 第87回九州眼科学会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 石川均, 毛塚剛司, 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, 山上明子, 田中恵子
2. 発表標題 難治性視神経炎全国調査-2017年度結果報告-
3. 学会等名 第55回日本神経眼科学会総会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計11件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	杉本 貴子 (Sugimoto Takako) (40381074)	宮崎大学・医学部・助教 (17601)	
研究分担者	直井 信久 (Nao-i Nobuhisa) (50211412)	宮崎大学・医学部・教授 (17601)	