

令和 2 年 6 月 18 日現在

機関番号：82609

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11499

研究課題名(和文) マーモセットを用いた正常眼圧緑内障の病態解明と篩状板に注目した神経保護・再生治療

研究課題名(英文) Elucidation of pathophysiology of normal tension glaucoma using marmosets, neuroprotection and regenerative treatment focusing on lamina cribrosa

研究代表者

野呂 隆彦 (NORO, Takahiko)

公益財団法人東京都医学総合研究所・運動・感覚システム研究分野・研究員

研究者番号：00349606

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：緑内障は我が国で最大の失明原因であり、様々な研究が行われているが、マウスなどの小動物では眼球や視神経の構造がヒトとは大きく異なる。一方、マカクザルなどの大動物では緑内障が発症せず、適切なモデル動物が見つかっていなかった。そこで小型のサルであるマーモセットに注目して老齢個体の眼底写真、眼圧、光干渉断層計、網膜電図などを測定したところ、約10%に正常眼圧緑内障が発症していることを発見した。緑内障マーモセットでは篩状板の菲薄化、脳の視覚中枢の萎縮、脳脊髄圧の低下、脳脊髄液中の神経栄養因子の濃度低下が確認されるなど、緑内障患者との共通点が多数見つかリ、有用な疾患モデルになると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高齢化社会の到来とともに、緑内障患者数はさらに増加することが予想されている。そこで適切な緑内障疾患モデルを活用した薬剤や治療法の研究が、今後ますます求められる状況である。今回の発見はこうした治療法の発見等に大きく寄与することが期待される。

研究成果の概要(英文)：Since glaucoma is the most common cause of blindness in Japan, various studies have been conducted to develop effective therapies. However, in small animals such as mice, the structures of the eyeball and optic nerve differ from humans, and large animals such as macaques do not develop glaucoma. We did not have a suitable animal model. Therefore, focusing on marmosets, which are small monkeys, we measured fundus photographs, intraocular pressure, optical coherence tomography, and electroretinograms of aged individuals. We have found that about 10% of them presented with normal tension glaucoma. Glaucoma marmosets showed many similarities with glaucoma patients, including atrophy of the visual center of the brain, decreased cerebrospinal fluid pressure, decreased levels of neurotrophic factors in cerebrospinal fluid, and increased oxidative stress markers in the retina. Therefore, glaucoma marmosets are useful for advancing glaucoma research.

研究分野：眼科学

キーワード：正常眼圧緑内障 コモンマーモセット 網膜神経節細胞 神経保護 視覚高次中枢 非ヒト霊長類

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 緑内障は40歳以上の約6%に発症し、潜在患者数は500万人とも推定され、我が国における最大の失明原因である。本邦の緑内障は正常眼圧緑内障 (Normal Tension Glaucoma、以下 NTG) が全体の約7割を占めるが (引用文献①)、十分な眼圧降下を行っても進行する症例が散見され、直接的な神経保護薬の開発などが急務である (引用文献②)。一方で、NTGの原因遺伝子に異常を認める緑内障は全患者のわずか5%程度であり、NTGの発症や進行には複合的な要因が関与していることが予測される。眼圧以外の因子として、血流や脳脊髄圧の低下、酸化ストレスの亢進、神経栄養因子の産生低下などとの関係が注目されている。

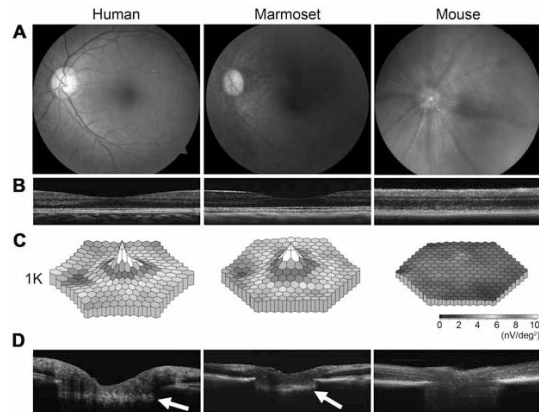


図1 ヒト、マーモセット、マウスの比較。(A)眼底写真(B)網膜OCT(C)多局所網膜電図(D)視神経乳頭。ヒト、マーモセットには篩状板(矢印)と黄斑が認められるが、マウスにはない。

(2) これまでに実験動物として主に使用されてきたのは遺伝子改変マウスなどが中心であるが、マウスの視神経乳頭には篩状板が存在せず、黄斑もないなど、解剖学的、生理学的な違いが多いことから、疾患モデルとしての問題が指摘されている。したがって、マウスよりもヒトに近い実験動物を用いた研究が必要と考えられている。

一方、古くから研究に用いられているマカク属のサル類は大型で、広い飼育スペースが必要だけでなく、取り扱いに熟練を要し、人獣共通感染症があるなど、多くの問題点がある。また、ヒト以外の霊長類ではNTGを自然発症しないとされており、病態解明や治療法の開発に大きな障害となっていた。そこで研究代表者は、このような問題を解決する実験動物として、ヒトに近縁な霊長類でありながら小型で飼育スペースが少なくすみ、人獣共通感染症も少ないコモンマーモセット(以下マーモセット)に注目した。

(3) マーモセットには篩状板が存在することから(図1Dの矢印)、マウスでは検討できない病因探索が可能となる。緑内障の発症に重要な篩状板は加齢と共に柔軟性が失われ、ヒト緑内障では菲薄化することが知られている。したがって篩状板の性状と機能に注目した治療法が望まれるものの、現在のところ篩状板をターゲットとした治療法は存在しない。また篩状板の変形原因として、篩状板を挟む圧勾配が関与するとの報告が散見される。眼圧上昇による篩状板変形はよく知られているが、NTGでは眼圧が低くても乳頭陥凹が進行することが問題となっている。

脳脊髄圧は篩状板後方の代表的な圧力で、加齢と共に減少するが、NTGの有病率が高まる70歳代で著明に減少することから、NTG発症との関連が強く示唆されている。しかし脳脊髄圧の測定や脳脊髄液の詳細な検討は、検査侵襲の問題からヒトで広く行うことは難しい。

2. 研究の目的

(1) 本研究ではマーモセットにNTGが自然発症するか、網膜、視神経、高次中枢の観察法を確立する。緑内障の観察と治療効果の判定には、非侵襲的かつ経時的な観察を行う必要がある。しかしマーモセットの眼に関する解析は遅れており、網膜や視神経の定量的評価方法の確立が求められる。一方、ヒト緑内障においては、網膜神経節細胞だけでなく、高次中枢である外側膝状体や一次視覚野も変性を起こすといわれている。そこで脳の発達したマーモセットをモデルとして、画像解析を用いた評価法の確立を目指す。

(2) 緑内障の神経変性は視野異常の認められる数年以上前から始まっており、不可逆的に進行することがわかっているが、ヒト以外に自然発症するNTG動物が存在しないため、NTGを発症前に予測し診断するマーカー等の検索は現実的に不可能であった。そこで、マーモセットがNTGを自然発症する場合には、網膜神経節細胞の軸索や外側膝状体、脳脊髄液の組成レベルでの変化を早期に捉えることで、発症前診断の確立を目指す。

3. 研究の方法

イメージングの手法として、眼底写真、多局所網膜電図による網膜機能の他覚的評価、マーモセット用に光学系を調節したOCTを用いた隅角・乳頭・黄斑部の撮影、超音波ドップラー法による眼動脈の撮像と血管抵抗の定量を行う。マーモセットのOCTを用いた視神経乳頭や前眼部の定量評価、多局所網膜電図、眼動脈の超音波ドップラー法は世界で初めての報告となる。

4. 研究成果

(1) 約1000匹のマーモセットの眼底スクリーニングを行ったところ、高齢個体の約10%に緑内障が自然発症することを見出した。またその全てはNTGであった(図2)。この結果を、霊長類の緑内障に精通し、世界的にも著名な Wisconsin 大学の Paul L. Kaufman 教授に問い合わせたところ、驚くべき重要な発見であることが確認された。つまり NTG の自然発症は、ヒト以外の霊長類で初の報告となる(引用文献③)。

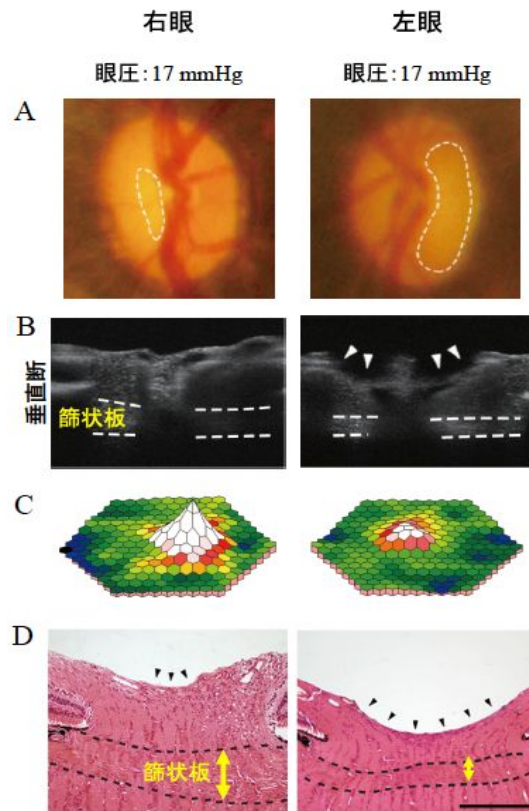


図2 左眼だけ緑内障を発症したマーモセットの1例。

A: 眼底写真, B: 光干渉断層計, C: 多局所網膜電図の3Dイメージ, D: 視神経乳頭部の組織切片。

両眼とも正常範囲の眼圧だが、左眼では拡大した視神経乳頭陥凹(Aの点線, BとDの矢頭)と菲薄化した篩状板(BとDの点線)など、緑内障患者と同様の変化が観察された。また視機能の低下も確認された(C)。

(2) マーモセットの脳脊髄圧を確認したところ、ヒトとは異なり加齢による大きな変化は認められなかったが、NTG 個体では低い傾向が認められた(図3)。また脳脊髄液に含まれる神経栄養因子(BDNF等)の濃度が低下していた(図3)。

(3) NTG マーモセットの脳を組織学的に検討したところ、外側膝状体や視覚野にも変性が認められた(図4)。さらに高齢個体の頭部MRIを施行したところ、第一次視覚野における体積の減少が確認された。

以上から、マーモセットでは視覚中枢の変性も含めて、ヒト緑内障患者との共通点が確認されたことから、今後の疾患に有用なモデルとなり得ることが期待される(引用文献④)。

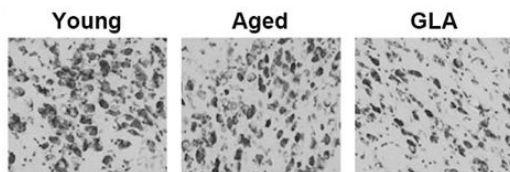


図4 マーモセットの外側膝状体 M 細胞層. NTG 個体(GLA)で強い変性が認められる。

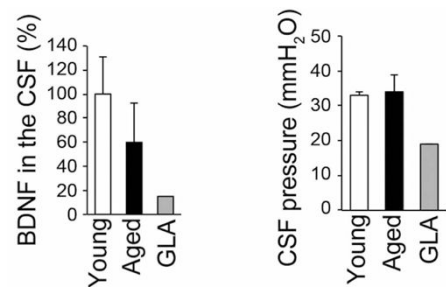


図3 マーモセット脳脊髄液中のBDNFと脳脊髄圧。BDNFは加齢により低下するが、NTG 個体(GLA)では更に低い。NTG 個体では脳脊髄圧の低下も認められた。

<引用文献>

- Iwase A, Suzuki Y, Araie M, Yamamoto T, Abe H, Shirato S, Kuwayama Y, Mishima HK, Shimizu H, Tomita G, Inoue Y, Kitazawa Y; Tajimi Study Group, Japan Glaucoma Society. *Ophthalmology* 111(9), 1641-1648, 2004.
- Harada C, Kimura A, Guo X, Namekata K, Harada T. Recent advances in genetically modified animal models of glaucoma and their roles in drug repositioning. *British Journal of Ophthalmology* 103(2), 161-166, 2019.
- Noro T, Namekata K, Kimura A, Azuchi Y, Hashimoto N, Moriya-Ito K, Komaki Y, Lee CY, Okahara N, Guo X, Harada C, Kim E, Nakano T, Tsuneoka H, Inoue T, Sasaki E, Tokuno H, Harada T. Normal tension glaucoma-like degeneration of the visual system in aged marmosets. *Scientific Reports* 9, 14852, 2019.

Kimura A, Noro T, Harada T. Role of animal models in glaucoma research. *Neural Regeneration Research* 15(7), 1257-1258, 2020.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Akiyama Goichi, Azuchi Yuriko, Guo Xiaoli, Noro Takahiko, Kimura Atsuko, Harada Chikako, Namekata Kazuhiko, Harada Takayuki	4. 巻 58
2. 論文標題 Edaravone Prevents Retinal Degeneration in Adult Mice Following Optic Nerve Injury	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Investigative Ophthalmology & Visual Science	6. 最初と最後の頁 4908 ~ 4908
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1167/iovs.17-22250	査読の有無 有
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 Kimura Atsuko, Namekata Kazuhiko, Guo Xiaoli, Noro Takahiko, Harada Chikako, Harada Takayuki	4. 巻 2017
2. 論文標題 Targeting Oxidative Stress for Treatment of Glaucoma and Optic Neuritis	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Oxidative Medicine and Cellular Longevity	6. 最初と最後の頁 1 ~ 8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1155/2017/2817252	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 秋山悟一、安土ゆり子、郭 暁麗、野呂隆彦、木村敦子、原田知加子、行方和彦、原田高幸	4. 巻 122
2. 論文標題 エダラボンは視神経外傷後の網膜神経節細胞死を抑制する	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 日本眼科学会雑誌	6. 最初と最後の頁 63
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 野呂隆彦	4. 巻 34
2. 論文標題 正常眼圧緑内障モデルマウスを用いた神経保護治療研究	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 あたらしい眼科	6. 最初と最後の頁 1579-1580
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 有
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 野呂隆彦	4. 巻 34
2. 論文標題 網膜神経節細胞保護と軸索再生	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 あたらしい眼科	6. 最初と最後の頁 1283-1284
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 Noro Takahiko, Namekata Kazuhiko, Kimura Atsuko, Azuchi Yuriko, Hashimoto Nanako, Moriya-Ito Keiko, Komaki Yuji, Lee Chia-Ying, Okahara Norio, Guo Xiaoli, Harada Chikako, Kim Euido, Nakano Tadashi, Tsuneoka Hiroshi, Inoue Takashi, Sasaki Erika, Tokuno Hironobu, Harada Takayuki	4. 巻 9
2. 論文標題 Normal tension glaucoma-like degeneration of the visual system in aged marmosets	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 14852
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1038/s41598-019-51281-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kimura Atsuko, Noro Takahiko, Harada Takayuki	4. 巻 15
2. 論文標題 Role of animal models in glaucoma research	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neural Regeneration Research	6. 最初と最後の頁 1257 ~ 1258
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.4103/1673-5374.272578	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 野呂隆彦、原田高幸	4. 巻 91
2. 論文標題 視神経と再生医療	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本の眼科	6. 最初と最後の頁 24 ~ 28
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 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Harada T, Noro T, Namekata K, Kimura A, Hashimoto N, Moriya-Ito K, Guo X, Harada C, Nakano T, Inoue T, Sasaki E.
2. 発表標題 Spontaneous normal tension glaucoma in aged marmosets.
3. 学会等名 8th World Glaucoma Congress (WGC) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Guo X, Namekata K, Azuchi Y, Kimura A, Noro T, Harada C, Harada T
2. 発表標題 Dock10 deficiency reduces neuroinflammation in optic neuritis
3. 学会等名 ARVO Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 野呂隆彦、行方和彦、木村敦子、中野匡、常岡寛、原田高幸.
2. 発表標題 コモン・マーモセットを用いた緑内障研究
3. 学会等名 第121回 日本眼科学会総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 郭 曉麗、木村 敦子、安土 ゆり子、秋山 悟一、野呂 隆彦、原田 知加子、行方 和彦、原田 高幸.
2. 発表標題 カロリー制限による正常眼圧緑内障モデルにおける網膜神経節細胞及び視機能の保護
3. 学会等名 第121回 日本眼科学会総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 李佳穎、野呂隆彦、石場彩乃、井上貴史、峰重隆幸、岡原則夫、橋本菜名子、原田高幸、佐々木えりか。
2. 発表標題 超音波診断装置による高齢コモンマーモセット動脈血管抵抗の評価。
3. 学会等名 第64回日本実験動物学会総会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>日本人に多い「正常眼圧緑内障」を発症する、ヒトに近い緑内障モデルを発見 http://www.igakuken.or.jp/topics/2019/1016.html 公益財団法人 東京都医学総合研究所 視覚病態プロジェクト http://www.igakuken.or.jp/retina/index.html 東京都医学総合研究所 視覚病態プロジェクト http://www.igakuken.or.jp/retina/</p>
--

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
連携研究者	原田 高幸 (HARADA Takayuki) (90345306)	公益財団法人東京都医学総合研究所・運動・感覚システム研究分野・分野長 (82609)	
連携研究者	行方 和彦 (NAMEKATA Kazuhiko) (70392355)	公益財団法人東京都医学総合研究所・運動・感覚システム研究分野・副参事研究員 (82609)	