

令和 5 年 6 月 10 日現在

機関番号：15201
研究種目：若手研究
研究期間：2018～2022
課題番号：18K17951
研究課題名（和文）新規脂質酸化ストレスマーカーを指標とした生活習慣病を伴う緑内障の病態評価と予防法
研究課題名（英文）Novel lipid oxidative stress marker as an indicator for pathological evaluation and prevention of glaucoma associated with lifestyle-related diseases.
研究代表者
梅野 彩（UMENO, AYA）
島根大学・医学部・客員研究員
研究者番号：20749098
交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000円

研究成果の概要（和文）：緑内障の早期診断を構築するため、独自の脂質酸化生成物（異性体6種類, HODEs）を用いて、「眼の局所的障害」と考えられている緑内障の発症に、生活習慣に影響された「体全体の障害」がどの程度関与するのかを定量的に解明することを目的とする。緑内障患者を含む500名以上の血液、眼試料を用いて、脂質酸化生成物を測定した結果、フリーラジカルの酸化メカニズムが眼圧の上昇に関連していた。特に、原発開放隅角緑内障の病因には酵素酸化が、偽落屑緑内障群はラジカル酸化が関与している可能性が示唆された。独自の脂質酸化生成物は緑内障の病態を反映するバイオマーカーとしての有用性が期待できる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

緑内障は自覚症状が非常に乏しく視神経の障害は元に戻すことができないことから、早期発見、早期治療が非常に重要である。しかし、緑内障の確定診断には、網膜神経節細胞の脱落を確認する眼底検査や視野検査が必須で、健康診断で疾病を早期に検出することは極めて難しい。眼疾患の多くは眼の局所的病気と考えられ、日常生活での予防法はほとんど提案されていない。本研究において、眼圧の上昇、偽落屑緑内障の病因はフリーラジカルを介した酸化メカニズムに関与し、原発開放隅角緑内障の病態には酵素による酸化が関与している可能性を初めて報告した。独自の脂質酸化産物は、緑内障の病態を反映するバイオマーカーとして非常に有用と考えられる。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study is to construct an early diagnosis of glaucoma, that is to quantitatively elucidate, using six original lipid oxidation products, the extent to which "whole body damage" influenced by lifestyle is involved in the development of glaucoma, which is considered a "localized eye disorder". The research was conducted by measuring lipid oxidation products in blood and aqueous humor samples from more than 500 people, including glaucoma patients, and comprehensively analyzed together with clinical data.

A enzymatic oxidation may be involved, specifically, in the pathogenesis of primary open-angle glaucoma. We report of a dramatic increase in free radical-mediated oxidation products related to the pathogenesis of exfoliation syndrome, and our findings suggest that they can be one of the causes of deterioration. The lipid oxidation products are expected to be useful as biomarkers reflecting the pathogenesis of glaucoma.

研究分野：分子生物学、酸化ストレス学

キーワード：緑内障 脂質酸化物 酸化ストレス 不飽和脂肪酸 生活習慣病 前房水 一重項酸素 ラジカル酸化

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

緑内障は、自覚症状が非常に乏しく、視神経の障害は元に戻すことができないことから、早期発見、早期治療が非常に重要である。しかし、緑内障の確定診断には、網膜神経節細胞の脱落を確認する眼底検査や視野検査が必須で、健康診断で疾病を早期に検出することは極めて難しい。高眼圧のリスク要因として「生活習慣病」「加齢」の関与が示唆されている一方で、眼圧が正常であっても視神経障害を起こす「正常眼圧緑内障」は40歳台に急増している(日本人の50%以上が正常眼圧緑内障)。このような背景から、発症機序を解明し、緑内障のリスク因子を同定し、早期診断を可能とするバイオマーカーを実用化することが喫緊の課題である。眼疾患の多くは眼の局所的病気と考えられ、日常生活での予防法はほとんど提案されていない。生活習慣が起因して各臓器への発症原因となる疾病は多く、体全体の障害の結果、シグナルが眼に伝わり疾患の起因となる可能性もある。「生活習慣病」の観点から緑内障発症機序を解明することは、眼科学と健康医学をつなげた新学術領域とも考えられる。また、科学的に証明されたバイオマーカーは、健康診断への応用、生活習慣の改善提案、さらに、緑内障手術後の予後診断にも有用である。

2. 研究の目的

生活習慣病の観点から緑内障リスク因子の同定を行うことで、緑内障の早期診断を可能とするバイオマーカーを科学的に検証することを目的とする。特に、生活習慣病の発症要因である「酸化」に注目し、緑内障の酸化ストレス状態を反映するマーカー探索に注力する。

我々は、生活習慣病に起因する様々な疾病に注目し、独自の分析法による脂質酸化物(網羅的ヒドロキシリノール酸, HODEs)の異性体分布を測定することによって疾病の発症機序解明を推進してきた。図1に示す通り、生体中の酸化生成物として、9-, 13-(Z,E)(E,E)-HODEと10および12-(Z,E)-HODEが上げられる。とりわけ、10-, 12-(Z,E)-HODEは一重項酸素に特異的な酸化生成物であり、糖尿病に至る初期の段階(生活習慣病の症状)において、血漿中で高値を示すことを報告している(Umeno A., et al PloS One. 8, e63542, 2013, J. Clin. Biochem. Nutr. in press 2017)。これまでに緑内障における酸化ストレスの関与(Free Radic Res, 51, 413-427, 2017)を考察するとともに、緑内障患者を含む500名以上の血清分析の結果、10および12-(Z,E)-HODEが眼圧に極めて有意に相関することを示し、「眼の病態」と「体の酸化障害」の関与が示唆された。本研究は緑内障患者を対象に、血液、眼組織および房水のHODEs測定と体の酸化ストレスデータ、臨床データから、緑内障に関与する酸化メカニズムを解明し、新規バイオマーカーの科学的有用性の証明を目的とする。

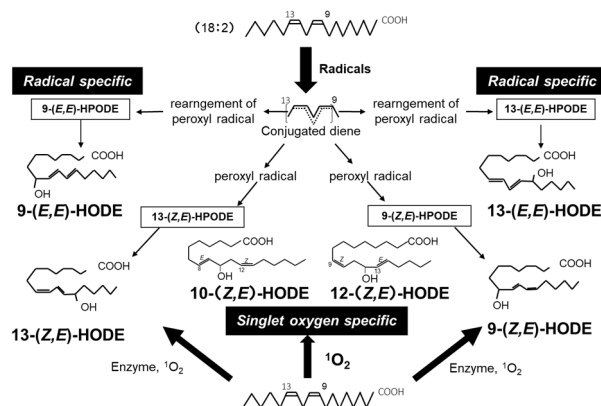
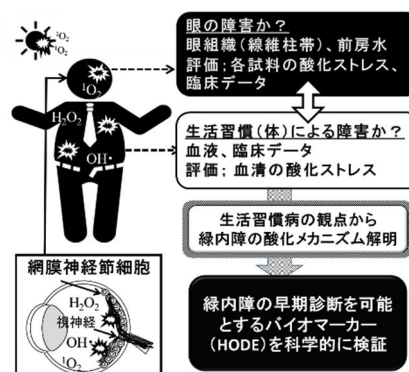


図1: リノール酸由来の酸化生成物(HODEs)

3. 研究の方法

広義原発開放隅角緑内障、偽落屑緑内障と非緑内障対照群を含む500名程度とした。緑内障の病態である眼圧の変化には、眼の表面を流れる房水と流入が深く関わっている。通常診療において、房水や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「眼の病態」のサンプルとして房水、「体の酸化障害」のサンプルとして血清や眼組織を用いて脂質酸化物を測定し、得られたデータから活性酸素種として一重項酸素酸化、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。これらの網羅的解析によって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明らかにする。

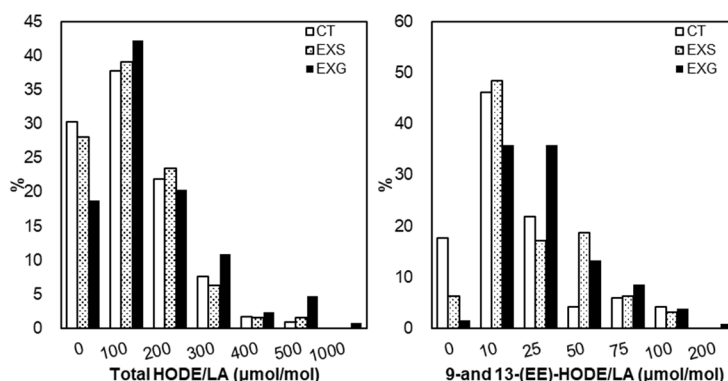


4. 研究成果

これまでに血清中の 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(対照群)に比べて HODE 異性体の総合値(total-HODE)が有意に高くなること、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すことを報告して

いる (15K1653)。

本研究では、緑内障の中でも続発緑内障の原因となる偽落屑緑内障 (EX) の病態を調べるために、EX 患者 (n=192) および非緑内障対照者 (n=119) からなる合計 311 人を対象とし、EX 患者は、眼圧に応じて緑内障を伴う EXG と緑内障を伴わない EXS (各 n=128 と n=64)。血清中の total-HODEs は、EX 群が対照群より有意 (p=0.0426) に高値だった。HODE 異性体のうち、フリーラジカルを介して生成



される 9-, 13- (E,E)-HODE (p < 0.0001) は、EX および EXG 群で対照群より高かったが、EXS と対照群の間には有意差は認められなかった。多変量解析によっても、9-, 13-(E,E)-HODEs と EX との関連性が確認された。これは、EX の病態に関連するフリーラジカルを介した酸化生成物の劇的な増加に関する初めての報告であり (Umeno A., Free Radic Biol Med. 2020) 体の酸化障害を反映する血清サンプルによる結果から、フリーラジカルを介した酸化が EX の悪化の原因の 1 つとなり得ることが示唆された。

原発性開放隅角緑内障 (POAG) または白内障を有する 63 眼の房水サンプルにおいて、房水中の HODEs と眼圧等の背景パラメータとの相関を解析した。網羅的解析を行った結果、13-(Z,E)-HODE (p=0.0040) および t-HODE (p=0.040) が高いほど緑内障と関連していた。13-(E,E)-HODE/LA (p=0.042) 13-(Z,E)-HODE (p=0.0054) 13-(E,E)-HODE (p=0.027) は眼圧上昇と関連した。フリーラジカルによる酸化機構は眼圧上昇に関連し、特に POAG の病態には酵素による酸化が関与している可能性がある (Umeno A., et al., Molecules, 2022)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Umeno Aya, Yoshida Yasukazu, Kaidzu Sachiko, Tanito Masaki	4. 巻 27
2. 論文標題 Positive Association between Aqueous Humor Hydroxylinoleate Levels and Intraocular Pressure	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Molecules	6. 最初と最後の頁 2215 ~ 2215
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/molecules27072215	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 Umeno Aya, Tanito Masaki, Kaidzu Sachiko, Takai Yasuyuki, Yoshida Yasukazu	4. 巻 147
2. 論文標題 Involvement of free radical-mediated oxidation in the pathogenesis of pseudoexfoliation syndrome detected based on specific hydroxylinoleate isomers	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Free Radical Biology and Medicine	6. 最初と最後の頁 61 ~ 68
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.freeradbiomed.2019.12.011	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 該当する
1. 著者名 Umeno Aya, Tanito Masaki, Kaidzu Sachiko, Takai Yasuyuki, Yoshida Yasukazu	4. 巻 147
2. 論文標題 Involvement of free radical-mediated oxidation in the pathogenesis of pseudoexfoliation syndrome detected based on specific hydroxylinoleate isomers	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Free Radical Biology and Medicine	6. 最初と最後の頁 61 ~ 68
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.freeradbiomed.2019.12.011	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 該当する
1. 著者名 Umeno Aya, Yoshida Yasukazu	4. 巻 65
2. 論文標題 Utility of hemoglobin A1c in detecting risk of type 2 diabetes: comparison of hemoglobin A1c with other biomarkers	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition	6. 最初と最後の頁 59 ~ 64
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3164/jcfn.19-16	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 Umeno Aya, Tanito Masaki, Kaidzu Sachiko, Takai Yasuyuki, Horie Masanori, Yoshida Yasukazu	4. 巻 9
2. 論文標題 Comprehensive measurements of hydroxylinoleate and hydroxyarachidonate isomers in blood samples from primary open-angle glaucoma patients and controls	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-018-36952-6	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 Umeno Aya, Yoshida Yasukazu	4. 巻 64
2. 論文標題 Utility of hemoglobin A1c in detecting risk of type 2 diabetes: comparison of hemoglobin A1c with other biomarkers	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition	6. 最初と最後の頁 1-6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3164/jcfn.19-16	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2件(うち招待講演 1件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 梅野 彩
2. 発表標題 緑内障患者における脂質酸化ストレスマーカー・ヒドロキシリノール酸の網羅的測定
3. 学会等名 第75回日本臨床眼科学会(招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 梅野彩、吉田康一、谷戸正樹
2. 発表標題 緑内障疾患における眼圧と血液;中の脂質酸化物バイオマーカーとの関連
3. 学会等名 第73回日本酸化ストレス学会、第20回日本N0学会 合同学術集会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 日本ビタミン学会	4. 発行年 2021年
2. 出版社 朝倉書店	5. 総ページ数 672
3. 書名 ビタミン・バイオフィクター総合事典	

〔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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------