

平成22年4月30日現在

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2007～2009

課題番号：19390444

研究課題名(和文) 各種視神経変性モデルにおける網膜神経節細胞死と細胞外基質の関連の
解明研究課題名(英文) Elucidation of association between retinal ganglion cell death and
extracellular matrix in various models of optic nerve degeneration

研究代表者

根木 昭 (NEGI AKIRA)

神戸大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：00189359

研究成果の概要(和文)：糖尿病、視神経挫滅、緑内障の三つの視神経変性モデルにおいて、網膜神経節細胞のアポトーシスの量的・空間的分布・経時的変化に顕著な差が見られた。網膜神経節細胞と網膜および視神経内のグリア細胞における水チャンネル、アクアポリンの発現変化がこれら三つの視神経変性モデルでは明瞭な相違があった。またヒト緑内障眼における視神経変性は強膜の生物物理特性を反映している可能性を示した。

研究成果の概要(英文)：There was a substantial difference in magnitude, spatial distribution, and time course of apoptotic death of retinal ganglion cells among three models of optic nerve degeneration induced by diabetes, optic nerve crush, and glaucoma. The changes in aquaporin expression in the retinal ganglion cells and glia in the retina and optic nerve were significantly different among these three models. Besides, the possibility was also demonstrated that the optic nerve degeneration in human glaucoma eyes reflects the scleral biomechanics.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	5,500,000	1,650,000	7,150,000
2007年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2008年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
総計	9,100,000	2,730,000	11,830,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・眼科学

キーワード：緑内障、糖尿病網膜症、視神経変性

1. 研究開始当初の背景

緑内障は我が国の中途失明原因の第一位を占める。視神経乳頭部に初期の病変の首座があり、これが網膜神経節細胞死と視神経線

維の脱落を来たすと考えられているが、その機序はいまだ不明である。

2. 研究の目的

緑内障性視神経症に特異的な視神経乳頭部の病理変化と網膜神経節細胞死の様式があるか否かを解明するために、ヒトおよび実験的動物モデルにおいて、高眼圧、糖尿病、視神経挫滅によって誘導される視神経変性が引き起こす視神経乳頭部のグリア細胞の活性変化、細胞外基質の発現変化、および網膜神経節細胞のアポトーシスの様式変化を比較解析することが本研究の目的である。

3. 研究の方法

- (1) 上強膜静脈焼灼による慢性高眼圧モデル、視神経挫滅モデル、およびストレプトゾトシン誘発糖尿病モデルと自然発症糖尿病トリイラットを用いた。
- (2) 網膜神経節細胞のアポトーシスはTUNEL染色と活性型 caspase-3 免疫染色でカウントした。神経細胞死の定量はfluorogoldの逆行性軸索輸送染色で行った。
- (3) 網膜神経節細胞とグリア細胞の構造・活性変化はGFAP、アクアポリン(AQP)、GS、NF、PKC- α 等の免疫染色で評価した。
- (4) ヒト緑内障や各種視神経症の乳頭変化の評価はHRT IIで、網膜神経線維の菲薄化の評価はStratus OCTで行った。

4. 研究成果

- (1) 逆行性軸索輸送染色による網膜神経節細胞脱落の定量では、視神経挫滅では二週間後に約38%が、慢性高眼圧では六ヶ月後に34.5%が消失していたのに対して、糖尿病網膜では三ヶ月までは対照と差がなかった。
- (2) アポトーシスを来たす細胞は、挫滅モデルでは一週後に単位面積あたり約293個と急増し、慢性高眼圧では眼圧に依存性に増加するのに対して、糖尿病モデルでは対照の数倍に留まるものの、その率は終生変わらなかった。
- (3) 視神経は球後の有髄神経においてはAQP4とAQP9の二つの水チャンネルが発現していたが、視神経乳頭部ではAQP9しか発現していないことを発見した。
- (4) 糖尿病では網膜表層血管周囲のアストロサイトの発現する水チャンネルがAQP4からAQP1へ変化していた。一方、慢性高眼圧では、網膜神経節細胞と視神経のアストロサイトの発現するAQP9が眼圧依存性に減弱していた。
- (5) ヒト緑内障眼では、陥凹のみならず乳頭サイズを含めた視神経の各種パラメーターが、眼圧に比例して変動することを見出し、強膜の生物物理特性が深く関与している可能性を提示した。
- (6) 非緑内障性視神経症における網膜神経線

維の菲薄化と乳頭パラメーターの変化は、疾患によって異なることを呈示した。

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32件)

- (1) Naka M, Kanamori A, Negi A, Nakamura M. Elevated intraocular pressure reduces aquaporin-9 expression in rat optic nerve head and retina. Invest Ophthalmol Vis Sci. Epub ahead print, 2010. 査読有.
- (2) Kakutani Y, Nakamura M, Nagai-Kusuhara A, Kanamori A, Negi A. Marked cup reversal presumably associated with scleral biomechanics in a case of adult glaucoma. Arch Ophthalmol. 128: 139-141, 2010. 査読有
- (3) Fukuda M, Negi A, Nakamura M, et al. (5人省略。1, 7, 8番目) Altered expression of aquaporins 1 and 4 coincides with neurodegenerative events in retinas of spontaneously diabetic Torii rats. Exp Eye Res. 90: 17-25, 2010. 査読有
- (4) Kanamori A, Naka M, Fukuda M, Nakamura M, Negi A. Latanoprost protects rat retinal ganglion cells from apoptosis in vitro and in vivo. Exp Eye Res. 88: 535-541, 2009. 査読有
- (5) Nagai-Kusuhara A, Nakamura M, Kanamori A, Negi A. Association of optic disc configuration and clustered visual field sensitivity in glaucomatous eyes with hemifield visual field defects. J Glaucoma 18: 62-68, 2009. 査読有
- (6) 中村 誠、調 廣子、溝上國義、根木 昭. 早発型発達緑内障の弱視化要因. 日眼会誌 113:1145-1152, 2009. 査読有
- (7) Nakamura M, Kanamori A, Nagai-Kusuhara A, Kusuhara S, Yamada Y, Negi A. Serous macular detachment due to diabetic papillopathy detected using optical coherence tomography. Arch Ophthalmol 127: 105-107, 2009. 査読有
- (8) Naka M, Kanamori A, Tatsumi Y, Fujioka M, Nagai-Kusuhara A, Nakamura M, Negi A. Comparison of mean deviation with AGIS and CIGTS scores in association with structural parameters in glaucomatous eyes. J Glaucoma 18: 379-384, 2009. 査読有
- (9) Kanamori A, Naka M, Fukuda M, Nakamura M, Negi A. Tafluprost protects rat retinal ganglion cells from apoptosis in vitro and in vivo. Graefes Arch Clin

- Exp Ophthalmol. 247: 1353-1360, 2009. 査読有
- (10) Nakamura J, Nakamura M, Negi A, et al. (25 名略. 11, 12 番目) Association of toll-like receptor 2 gene polymorphisms with normal tension glaucoma. Mol Vis 15: 2905-2910, 2009. 査読有
- (11) Kanamori A, Naka M, Nagai-Kusuhara A, Yamada Y, Nakamura M, Negi A. Regional relationship between retinal nerve fiber layer thickness and corresponding visual field sensitivity in glaucomatous eyes. Arch Ophthalmol. 126:1500-1506, 2008. 査読有
- (12) Akiyama M, Nakamura M, Negi A, et al. (16 名略. 10, 11 番目) Microsatellite analysis of the GLC1B locus on chromosome 2 points to NCK2 as a new candidate gene for normal tension glaucoma. Br J Ophthalmol. 92:1293-1296, 2008. 査読有
- (13) Tatsumi Y, Kanamori A, Nagai-Kusuhara A, Nakanishi Y, Agarwal N, Negi A, Nakamura M. Nipradilol protects rat retinal ganglion cells from apoptosis induced by serum deprivation in vitro and by diabetes in vivo. Curr Eye Res. 33:683-692, 2008. 査読有
- (14) Nagai-Kusuhara A, Nakamura M, Tatsumi Y, Nakanishi Y, Negi A. Disagreement between Heidelberg Retina Tomograph and optical coherence tomography in assessing optic nerve head configuration of eyes with band atrophy and normal eyes. Br J Ophthalmol. 92:1382-1386, 2008. 査読有
- (15) Shibuya E, Nakamura M, Negi A, et al. (24 名略. 9, 10 番目) Association of Toll-like receptor 4 gene polymorphisms with normal tension glaucoma. Invest Ophthalmol Vis Sci. 49:4453-4457, 2008. 査読有
- (16) Nagai-Kusuhara A, Nakamura M, Fujioka M, Negi A. Long-term results of amniotic membrane transplantation-assisted bleb revision for leaking blebs. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 246:567-571, 2008. 査読有
- (17) Nagai-Kusuhara A, Nakamura M, Fujioka M, Tatsumi Y, Negi A. Association of retinal nerve fiber layer thickness measured by confocal scanning laser ophthalmoscopy and optical coherence tomography with disc size and axial length. Br J Ophthalmol 92: 186-190, 2008. 査読有
- (18) Nagai-Kusuhara A, Nakamura M, Kanamori A, Nakanishi Y, Kusuhara S, Negi A. Evaluation of optic nerve head configuration in various types of optic neuropathy with Heidelberg Retina Tomograph. Eye. 22:1154-1160, 2008. 査読有
- (19) Tatsumi Y, Nakamura M, Fujioka M, Nakanishi Y, Kusuhara A, Maeda H, Negi A. Quantification of retinal nerve fiber layer thickness reduction associated with a relative afferent pupillary defect in asymmetric glaucoma. Br J Ophthalmol 91:633-7, 2007. 査読有
- (20) Fujioka M, Nakamura M, Tatsumi Y, Kusuhara A, Maeda H, Negi A. Comparison of Pentacam Scheimpflug camera with ultrasound pachymetry and noncontact specular microscopy in measuring central corneal thickness. Curr Eye Res 32:89-94, 2007. 査読有
- (21) Nagai-Kusuhara A, Nakamura M, Mukuno H, Kanamori A, Negi A, Seigel GM. cAMP-responsive element binding protein mediates a cGMP/protein kinase G-dependent anti-apoptotic signal induced by nitric oxide in retinal neuro-glial progenitor cells. Exp Eye Res. 84:152-62, 2007. 査読有
- [学会発表] (計 19 件)
- (1) 溝上淳二、中村 誠、根木 昭. NTGとPOAGにおける体位変換時の眼圧変動と視野進行の関係. 第 20 回日本緑内障学会. 沖縄. 2009 年 11 月 14 日.
- (2) 根木 昭. 小児緑内障の診断と治療. 第 19 回日本緑内障学会. 大阪. 2008 年 9 月 14 日.
- (3) Nakamura M, Kanamori A, Nagai-Kusuhara A, Kusuhara S, Yamada Y, Negi A. Optical coherence tomographic findings of macular lesions associated with diabetic papillopathy. 世界眼会議. 香港 2008 年 6 月 28 日
- (4) Nakamura M, Tatsumi Y, Kanamori A, Naka M, Agarwal N, Negi A. Nipradilol protects rat retinal ganglion cells from apoptosis induced by serum deprivation in vitro and by diabetes in vivo. 世界眼会議. 香港 2008 年 6 月 29 日
- (5) Naka M, Kanamori A, Nakamura M, Negi A. Structure/function relationship in

glaucoma analyzed with optical coherence tomography and Heidelberg retina tomograph. 米国眼アカデミー 2007年11月10-13日、New Orleans.

- (6) Kanamori A, Naka M, Fujioka M, Nakamura M, Negi A. The regional relationship between retinal nerve fiber layer thickness and corresponding visual field sensitivity. 米国眼アカデミー 2007年11月10-13日、New Orleans.
- (7) Nakamura M, Kanamori A, Nagai-Kusuhara A, Tatsumi Y, Nakanishi Y, Negi A. Agreement between HRT and OCT in assessing optic nerve head configuration. アジアオセアニア緑内障会議. タイ(バンコク)、2007年12月2日
- (8) Nakamura M, Kanamori A, Nagai-Kusuhara A, Tatsumi Y, Nakanishi Y, Negi A. Potential anti-apoptotic mechanisms of latanoprost and nipradilol. アジアオセアニア緑内障会議. タイ(バンコク)、2007年12月3日

[図書] (計0件)

[その他]

ホームページ等

<http://www.med.kobe-u.ac.jp/ophthal/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

根木 昭 (NEGI AKIRA)

神戸大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：00189359

(2) 研究分担者

中村 誠 (NAKAMURA MAKOTO)

神戸大学・大学院医学研究科・講師

研究者番号：80273788

金森 章泰 (KANAMORI AKIYASU)

神戸大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：10444572