

平成 21 年 6 月 16 日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2008

課題番号：19592039

研究課題名（和文） ルテインの網膜、脈絡膜血管病態への関与

研究課題名（英文） Macular pigment lutein is antiinflammatory in preventing choroidal neovascularization

研究代表者

石田 晋（ISHIDA SUSUMU）

慶應義塾大学・医学部・准教授

研究者番号：10245558

研究成果の概要：

カロテノイドの一種であるルテイン/ゼアキサンチンの、加齢黄斑変性で認められる脈絡膜新生血管に対する効果をテーマに、黄斑色素を構成するルテインの作用を検討した。我々はマウスの眼底にレーザーを照射して脈絡膜新生血管を誘導するモデルを用いた研究により、ルテインが炎症性転写因子 NF- κ B 活性化を阻害し、脈絡膜新生血管形成に先行する炎症機序を抑制することで脈絡膜新生血管形成を抑制することを初めて明らかにした。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2008 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

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：脈絡膜新生血管、カロテノイド、ルテイン、炎症、NF- κ B、サイトカイン、接着分子、加齢黄斑変性

1. 研究開始当初の背景

加齢黄斑変性は欧米諸国における失明原因の首座を占め、網膜の中心に位置する黄斑に変性をきたす網脈絡膜疾患である。加齢黄斑変性は、黄斑部網膜と脈絡膜の加齢変化と酸化ストレスから慢性の炎症が惹起されて進行し、最終的に炎症性血管新生が誘導される。

ルテイン/ゼアキサンチンは、カロテノイドのキサントフィル類であり、緑黄色野菜に多

く含まれる。太陽光のうち主に青色光は網膜に到達し、活性酸素を多く発生させる。抗酸化作用があり、青色光に対してフィルター効果を持つルテインとゼアキサンチンは網膜内層に存在する黄斑色素の構成成分である。ルテイン/ゼアキサンチンが、フリーラジカルのダメージから黄斑を保護し、加齢黄斑変性を防ぐ働きを持つことを支持する研究結果が近年多く報告されている。そこで、ルテイン/ゼアキサンチンの内服によって黄斑

色素が増加すれば、黄斑の抗酸化作用が増強され、加齢黄斑変性の発症が予防できる可能性が示唆される。

2. 研究の目的

ルテイン/ゼアキサンチンが、フリーラジカルのダメージから黄斑を保護し、加齢黄斑変性を防ぐ働きを持つことを支持する研究結果が近年多く報告されている。今回我々はマウスレーザー脈絡膜新生血管(CNV)モデルを用い、ルテインの炎症性血管新生に対する効果とその分子・細胞メカニズムを検索した。

3. 研究の方法

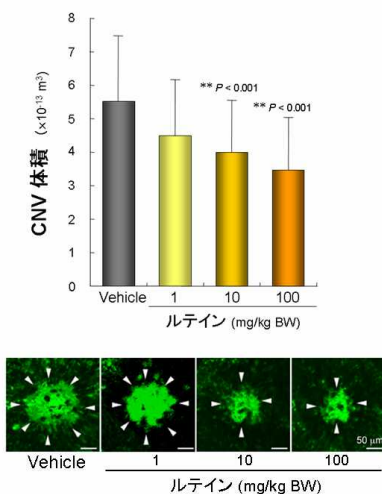
C57BL/6 マウスの眼底にレーザーを照射して CNV を誘導し、ルテインの経口投与による CNV 抑制効果を CNV 体積により評価した。また、CNV 誘導によるマクロファージ浸潤へのルテインの効果を調べた。また、脈絡膜における CNV 形成に關与する炎症関連分子である接着分子 intercellular adhesion molecule (ICAM)-1、白血球走化因子 monocyte chemotactic protein (MCP)-1、血管新生因子 vascular endothelial growth factor (VEGF)の発現を RT-PCR、ELISA 法により検討した。またルテインの転写因子 nuclear factor (NF)-κB 活性化への影響を検討した。更に、NF-κB 阻害剤を用い、CNV 形成に対する作用を検討した。

4. 研究成果

(1) ルテインによる CNV の抑制

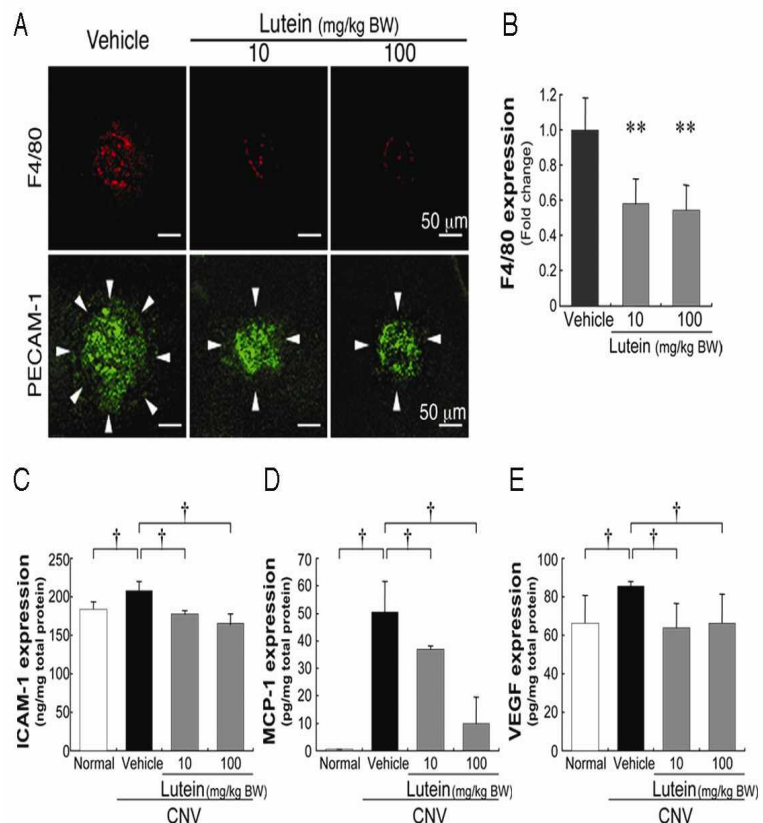
レーザー照射により誘導されたマウスの CNV 体積は vehicle 投与群に比し、ルテイン投与群で有意に抑制され、この抑制効果はルテイン濃度依存的であった。

ルテインによる脈絡膜新生血管の抑制(マウスレーザー誘導脈絡膜新生血管モデル)

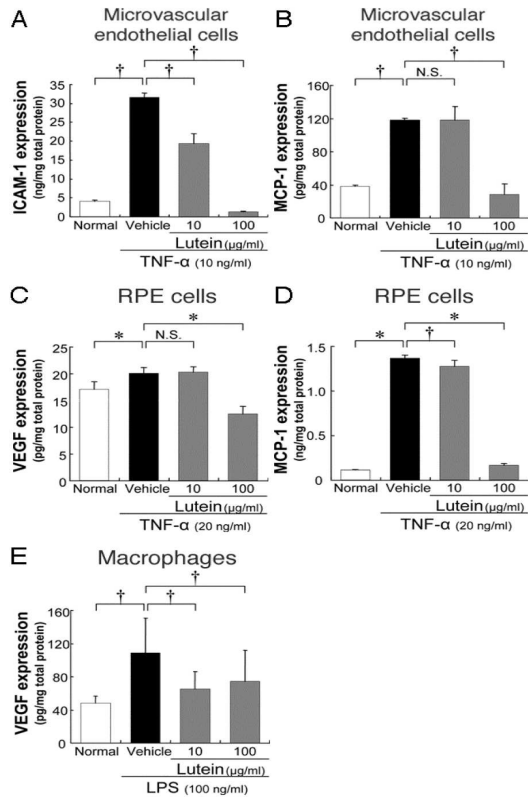


(2) ルテインによるマクロファージ浸潤及び炎症関連分子の発現の抑制

CNV を誘導することにより認められるマクロファージの CNV への浸潤は、ルテインを投与することにより有意に抑制された。また、CNV を誘導すると増加するマウス脈絡膜の各炎症関連分子 ICAM-1, MCP-1, VEGF の発現もルテインの投与により有意に抑制された。

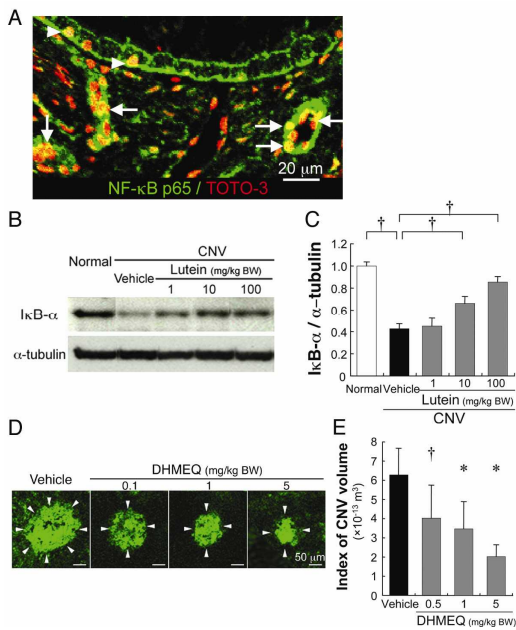


また、*in vitro* においても、血管内皮細胞である b-END3 細胞、網膜色素上皮細胞である ARPE-19 細胞に TNF- α を添加し増強する炎症関連分子 ICAM-1, MCP-1, VEGF の発現、マウスマクロファージ細胞である RAW264.7 細胞に LPS を添加し増強する VEGF の発現はルテインの添加により mRNA レベル、タンパクレベル共に抑制された。

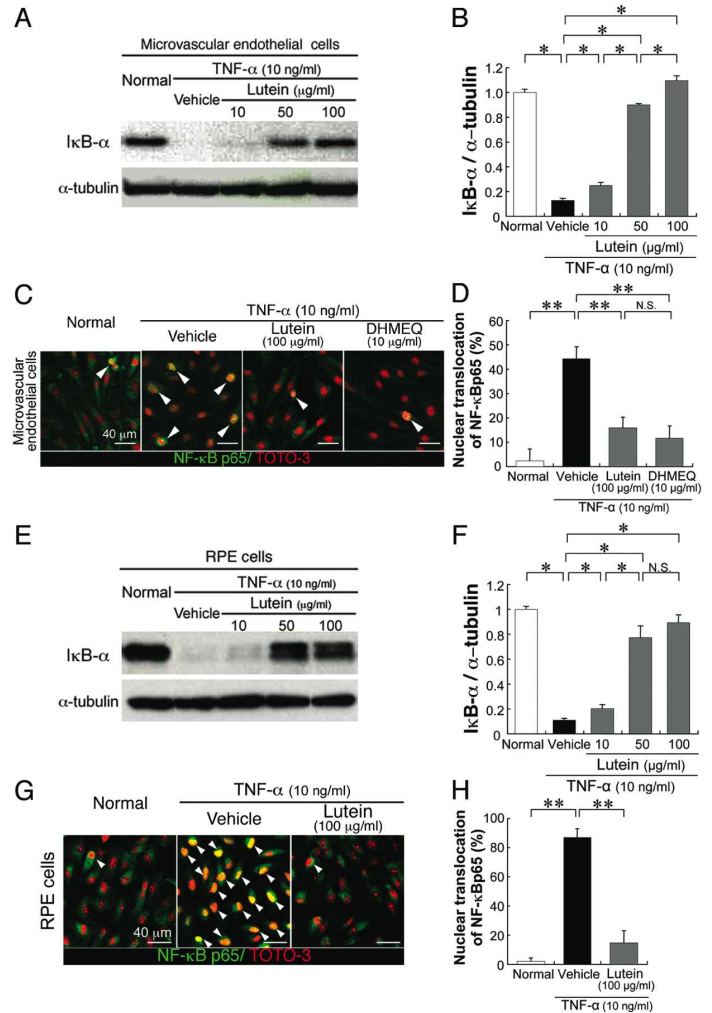


(3) ルテインによる NF-κB の活性化抑制作用

レーザーにより CNV を誘導すると NF-κB の活性化 (脈絡膜血管内皮細胞、網膜色素上皮細胞における p65 の核内移行) がみとめられた。またこの NF-κB の活性化はルテイン投与により抑制され、NF-κB 阻害剤をマウスに投与すると CNV は抑制された。



また、*in vitro* においても、血管内皮細胞である b-END3 細胞、網膜色素上皮細胞である ARPE-19 細胞に TNF-α を添加して誘導される NF-κB の活性化は、ルテインの添加により抑制された。この NF-κB の活性化は、NF-κB 阻害剤を各細胞に添加すると抑制された。



以上の結果よりルテインは、NF-κB の活性化と、引き続いて起こる炎症関連分子の発現上昇、マクロファージ浸潤を含む脈絡膜炎を抑制することにより、CNV 形成を抑制することが明らかとなった。

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 4 件)

Izumi-Nagai K, Nagai N, Ohgami K, Ozawa Y, Tsubota K, Ohno S, Oike Y, Ishida S. Inhibition of choroidal neovascularization with an anti-inflammatory carotenoid astaxanthin. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 49: 1679-1685, 2008. 査読有
石田晋. 食品因子による加齢黄斑変性へのアンチエイジング医学的介入, アンチエイジング医学, 4 巻, 550, 2008, 査読無

永井香奈子、石田晋. 黄斑変性に対する抗加齢医学の応用. 加齢のサイエンスと抗加齢医学. 「抗加齢眼科学」, 眼科プラクティス 22 巻, 192-196, 2008, 査読無

Izumi-Nagai K, Nagai N, Ohgami K, Satofuka S, Ozawa Y, Tsubota K, Umezawa K, Ohno S, Oike Y, Ishida S. Macular pigment lutein is anti-inflammatory in preventing choroidal neovascularization. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 27: 2555-2562. 2007. 査読有

[学会発表](計 2 件)

Izumi-Nagai K, Nagai N, Ohgami K, Ozawa Y, Tsubota K, Ohno S, Oike Y, Ishida S. Inhibition of choroidal neovascularization with an anti-inflammatory carotenoid astaxanthin. *Association for Research in Vision and Ophthalmology Annual Meeting*. 2008/4/27-5/1. 米国フォートローダーデール

Izumi K, Nagai N, Satofuka S, Koto T, Mochimaru H, Tsubota K, O

hgami K, Ohno S, Ishida S. Lutein inhibits choroidal neovascularization in mice. *Association for Research in Vision and Ophthalmology Annual Meeting*. 2007/5/6-5/10. 米国フォートローダーデール

[図書](計 0 件)

[産業財産権]
出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

[その他]

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石田 晋 (ISHIDA SUSUMU)
慶應義塾大学・医学部・准教授
研究者番号: 10245558

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者

永井香奈子 (NAGAI KANAKO)
慶應義塾大学・医学部・助教
研究者番号: 60407103

永井紀博 (NAGAI NORIHIRO)
慶應義塾大学・医学部・助教
研究者番号: 10327611

大野重昭 (OHNO SHIGEAKI)
北海道大学大学院・医学研究科・特任教授
研究者番号: 50002382

大神一浩 (OHGAMI KAZUHIRO)
北海道大学大学院・医学研究科・客員研究員
研究者番号: 80443977