

平成21年 4月13日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2007～2008

課題番号：19791255

研究課題名（和文） 緑内障の神経保護治療の開発

研究課題名（英文） Neuroprotective treatment for glaucoma

研究代表者

中澤 徹（NAKAZAWA TORU）

東北大学・病院・講師

研究者番号：30361075

研究成果の概要：

緑内障は中途失明疾患の第一位であり、現状では眼圧下降がもっとも重要な治療法であるが、眼圧低下治療以外の新規の神経保護治療の確立が必要である。TNF α は炎症を惹起する炎症性サイトカインで、多くの中枢神経疾患において、その神経毒性が報告されている。そこで本研究ではマウス眼圧上昇モデルを作製し、TNF α 抑制が新規の緑内障治療になり得るのかを検討した。こうして、TNF α の抑制およびマイクログリアの抑制は緑内障の新規神経保護治療の候補として重要である可能性が示唆された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,400,000	0	2,400,000
2008年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	270,000	3,570,000

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、炎症、マウス

1. 研究開始当初の背景

緑内障は中途失明疾患の第一位であり、失明予防の観点からその治療法の確立は重要である。現状では眼圧下降がもっとも重要な治療法であるが、臨床的には眼圧を目標値まで十分に低下させることができない症例も多く、眼圧低下治療以外の新規の神経保護治療の確立が必要である。

2. 研究の目的

マウス眼圧上昇モデルを作製し、TNF α 抑制が新規の緑内障治療になり得るのかを検討した。

3. 研究の方法

(1)マウス眼圧上昇モデルを作成するために、

隅角をレーザー光凝固を試行した。眼圧は圧センサーを改良し測定した。

(2)高眼圧障害により、網膜神経節細胞密度、視神経内のオリゴデンドロサイト数、神経線維を経時的に観察した。

(3)高眼圧障害により $TNF\alpha$ の発現変化が見られるかを RT-PCR および ELISA 方により定量した。

(4) $TNF\alpha$ に関するノックアウトマウス (KO) と $TNF\alpha$ の中和抗体を用い、 $TNF\alpha$ の抑制が治療的効果を有するのかを調べた。またその受容体である、 $TNFR1KO$ および $TNFR2KO$ に高眼圧負荷をかけ、網膜神経節細胞死の程度を野生型マウスと比較した。

(5)高眼圧障害により視神経のマイクログリアが活性化していることから、その役割を調べるために、マイクログリアを特異的に抑制する $CD11bKO$ に高眼圧を誘導した。

4. 研究成果

(1) 図 1 のようにレーザー光凝固による隅角閉塞により、眼圧を2ヶ月にわたり上昇させるモデルが作成出来た。



図1 レーザー光凝固による隅角閉塞

(2)高眼圧障害により、神経線維の空胞化、脱落 (図 2)、網膜神経節細胞密度の減少、特に3週目より有意にその密度が減少(図 3)、オリゴデンドロサイト数の減少 (図 4)、マイクログリアの活性化 (図 5) が認められた。

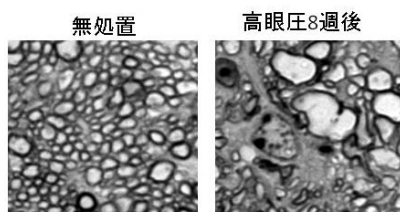


図2 視神経内の神経線維崩壊

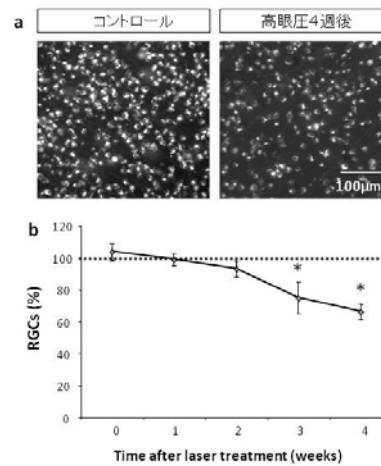


図3 高眼圧による網膜神経節細胞密度の減少

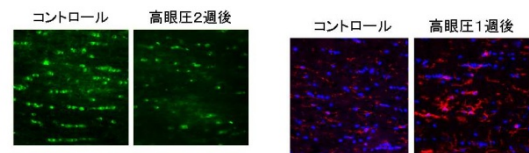


図4 高眼圧でオリゴデンドロサイトが減少する 図5 高眼圧でマイクログリアが活性化する

(3)高眼圧障害により $TNF\alpha$ の発現増加が3日目後より有意に見られた (図 6)。

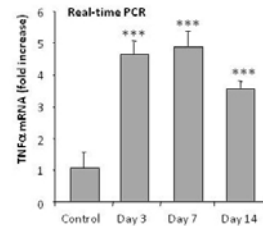


図6 高眼圧で $TNF\alpha$ が増加する

(4) $TNF\alpha KO$ 、 $TNFR1KO$ 、 $TNFR2KO$ と野生型マウスに高眼圧障害を誘導したところ、図 7 のように、 $TNF\alpha KO$ マウスでは、野生型マウスと比較して有意に高眼圧による網膜神経節細胞死が抑制された。一方 $TNFR2KO$ では同様に保護作用が見られたが、 $TNFR1KO$ では保護作用が見られなかった。 $TNF\alpha$ の中和抗体でも同様な保護作用が認められた。

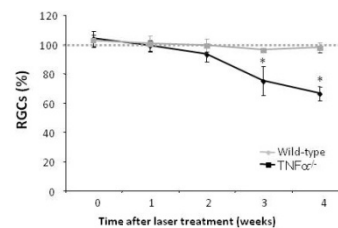


図7 高眼圧によるRGC死は $TNF\alpha$ 依存的

(5)高眼圧障害により視神経のマイクログリアが活性化していることから(図5)、その役割を調べるために、マイクログリアを特異的に抑制するCD11bKOに高眼圧を誘導し、野生型マウスと比較したところ、CD11bKOマウスは有意に障害が軽減していた。

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 10 件)

(1)Noda K, Miyahara S, Nakazawa T, 他 11 名: Inhibition of vascular adhesion protein-1 suppresses endotoxin-induced uveitis. *FASEB J.* 22: 1094-1103, 2008. 査読有.

②Nakazawa T, 他 6 名: Self-protective roles of Müller cells during NMDA-induced retinal damage through activation of ERK signaling pathway. *J Neurosci Res.* 86: 136-144, 2008. 査読有.

③She H, Nakazawa T, 他 7 名: Dexamethasone Reduces Photoreceptor Damage Caused by Photodynamic Therapy in a Rat Model of Choroidal Neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 49: 5008-5014, 2008. 査読有.

④Noda K, She H, Nakazawa T, 他 12 名: Vascular Adhesion Protein-1 Blockade Suppresses Choroidal Neovascularization. *FASEB J.* 22: 2928-2935, 2008. 査読有.

⑤Hisatomi T, Nakazawa T, 他 13 名: A Novel mechanism of HIV protease inhibitors for neuroprotection through inhibition of mitochondrial apoptosis. *J Clin Invest.* 118: 2025-2038, 2008. 査読有.

⑥Nakazawa T, 他 7 名: Calpain-mediated degradation of G-substrate plays a critical role in retinal excitotoxicity for amacrine cells. *J Neurosci Res.* 87: 1412-1423, 2008. 査読有.

⑦Nakazawa T, 他 7 名: Pitavastatin

Prevents NMDA-Induced Retinal Ganglion Cell Death By Suppressing Leukocyte Recruitment. *J Neurochem.* 100: 1018-1031, 2007. 査読有.

⑧Nakazawa T, 他 12 名: Monocytes Chemoattractant Protein-1 mediates retinal detachment-induced photoreceptor loss. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 104: 2425-2430, 2007. 査読有.

⑨She H, Nakazawa T, 他 5 名: Inhibition of nitric oxide synthetase reduces photoreceptor degeneration caused by photodynamic therapy in a model of choroidal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 48: 2268-2277, 2007. 査読有.

⑩Nakazawa T, 他 9 名: Attenuated glial reactions and photoreceptor degeneration after retinal detachment in mice deficient in glial fibrillary acidic protein and vimentin. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 48: 2760-2768, 2007. 査読有.

[学会発表] (計 7 件)

① 中澤 徹、マイクログリア機能と緑内障ー病因と治療ー、第 82 回日本薬理学会年会、2009 年 3 月 18 日、パシフィコ横浜

② 中澤 徹、正常眼圧緑内障の視神経乳頭形状と MD slope の相関、第 6 2 回日本臨床眼科学会、2008 年 10 月 24 日、東京国際フォーラム

③ 中澤 徹、緑内障治療の基礎と臨床、第 112 回日本緑内障学会、2008 年 9 月 13 日、大阪国際会議場

④ 中澤 徹、TNF α mediates oligodendrocyte death and delayed retinal ganglion cell loss in a mouse model of glaucoma, *Neuroscience* 2008, 2008 年 7 月 9 日、東京国際フォーラム

⑤ 中澤 徹、角膜輪部腫瘍性病変の外科的治療、第 112 回日本眼科学会総会、2008 年 4 月 20 日、パシフィコ横浜

⑥ 中澤 徹、網膜障害モデルにおけるミュラー細胞を介した神経保護作用、第 112

回日本眼科学会総会、2008年4月19日、
パシフィコ横浜

- ⑦ 中澤 徹、マウス高眼圧モデルにおける
TNF α を介したオリゴデンドロサイト細胞
死と網膜神経節細胞死、日本眼科学会、
2008年4月9日、東京国際フォーラム

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中澤 徹 (NAKAZAWA TORU)
東北大学・病院・講師
研究者番号：30361075

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし