

平成 21 年 6 月 1 日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2007 ～ 2008

課題番号：19791267

研究課題名（和文）アポトーシスによる網膜神経節細胞死と網膜グリア細胞の関連に関する研究

研究課題名（英文）Interaction between apoptosis of retinal ganglion cell and glial cell

研究代表者

金森 章泰 (AKIYASU KANAMORI)

神戸大学・医学部附属病院・助教

研究者番号:10444572

研究成果の概要：継体培養可能なミュラー細胞 (rMC-1) と網膜神経節細胞 (RGC-5) を共培養した系を確立した。その系において、緑内障の発症因子のひとつであるグルタミン酸負荷を RGC に行い、ミュラー細胞が保護的に働くことを証明した。さらに、阻害剤を用いた実験から、ミュラー細胞に存在するグルタミン酸トランスポーターである GLAST (EAAT-1) が関与していることが示唆された。免疫染色により GLAST が rMC-1 に発現していることを確認した。また、RGC-5 を用い、緑内障点眼剤として臨床使用されているラタノプロスト (LP)、ならびに治験中のタフルプロスト (TP) の神経保護効果作用について検討した。RGC-5 を用いた *in vitro*、視神経挫滅したラットを用いた *in vivo* の系で LP、TP とともに RGC 細胞死抑制効果をもつことが示唆された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,000,000	0	2,000,000
2008 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,000,000	300,000	3,300,000

研究分野：眼科学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・眼科学

キーワード：網膜神経節細胞, アポトーシス, 神経保護, グリア, 視神経

1. 研究開始当初の背景

緑内障は我が国の中途失明の上位に位置する重要な眼科疾患である。その病態は網膜神経節細胞 (RGC) のアポトーシスが主体である。緑内障に対する治療は眼圧下降治療しかなく、神経保護効果をもつ薬剤が求められている。網膜グリア細胞は RGC 保護効果をもつと言われている。

2. 研究の目的

網膜グリア細胞の神経保護効果について検討する。また、緑内障治療薬がもつ神経保護効果の可能性を検討する。緑内障治療薬でも最も広く使用されているラタノプロスト (LP) と新規開発されたタフルプロスト (TP) について検討する。

3. 研究の方法

継体培養可能なミュラー細胞 (rMC-1) と網膜神経節細胞 (RGC-5) の共培養系を作成した. 血清除去ないしはグルタミン酸負荷にて RGC-5 にアポトーシスを誘導した. In vivo の系としてラットにおいて視神経挫滅により RGC 死を誘導した.

4. 研究成果

グルタミン酸負荷された RGC-5 に対し rMC-1 は保護的に働いた. これはグルタミン酸トランスポーターである GLAST を介していた. rMC-1 の GLAST に対し, siRNA によるノックダウンを試みたが十分な導入効率を得ることができなかった. また, LP, TP ともに RGC-5 細胞死を抑制した. 阻害剤を用いた実験より LP では MAPK が, TP では PKG が関与していることが示唆された. また, グルタミン酸負荷による細胞内カルシウムの上昇を LP, TP ともに抑制することがわかった. さらに, 視神経挫滅したラットに対し, LP ないしは TP を毎日点眼し, 逆行性標識された RGC 細胞数と網膜伸展標本における TUNEL 染色陽性細胞を検討した. LP, TP ともに点眼による RGC 細胞抑制効果をもつことが示唆された. による RGC 死を LP, TP 点眼が抑制した.

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 8 件)

- ① 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. In press. 査読有
- ② Naka M, Kanamori A, Tatsumi Y, Fujioka M, Nagai-Kusuhara A, Yamada Y, Nakamura M, Negi A. Comparison of Mean Deviation with AGIS and CIGTS Scores in Association with Structural Parameters in Glaucomatous Eyes. J Glaucoma. In press. 査読有
- ③ Kanamori A, Naka M, Fukuda M, Nakamura M, Negi A. Latanoprost rescues retinal

neuro-glial cells from apoptosis by inhibiting caspase-3, which is mediated by p44/p42 mitogen-activated protein kinase. Exp Eye Res. 88:535-41. 2009, 査読有

- ④ 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. 127:105-7. 査読有2009,
- 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. 18:62-8. 2009;査読有
- ⑥ 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. 22:1154-60. 2008, 査読有
- ⑦ 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. 33:683-92. 2008, 査読有
- ⑧ 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. 126:1500-6. 2008, 査読有

〔学会発表〕(計4件)

(1) 金森章泰, 中真衣子, 楠原あづさ, 中村誠, 根木昭. RGC-5 に対する各種プロスタグランディン関連点眼薬の保護作用. 第19回日本緑内障学会. 2007. 9. 15 沖縄コンベンションセンター

(2) 金森章泰, 中真衣子, 辰巳康子, 藤岡美幸, 楠原あづさ, 田口浩司, 山田裕子, 中村誠, 根木昭. ハンプリー視野測定点の感度閾値と網膜神経線維層との相関. 第60回日本臨床眼科学会 2007. 10. 11 国立京都国際会館

(3) Akiyasu Kanamori, Maiko Naka, Miyuki Fujioka, Yasuko Tatsumi, Azusa Kusahara-Nagai, Yuko Yamada, Makoto Nakamura, Akira Negi. The Regional Relationship Between Retinal Nerve Fiber Layer Thickness and Corresponding Visual Field Sensitivity. 2007 Annual Meeting Academy of Ophthalmology. 2007. 11. 12 New Orleans, Louisiana.

(4) Maiko Naka, Akiyasu Kanamori, Miyuki Fujioka, Yasuko Tatsumi, Azusa Kusahara-Nagai, Yuko Yamada, Makoto Nakamura, Akira Negi. Structure/Function Relationship in Glaucoma Analyzed with Optical Coherence Tomography (OCT) and Heidelberg Retina Tomograph (HRT). 2007 Annual Meeting of Ophthalmology. 2007. 11. 12 New Orleans, Louisiana.

〔図書〕(計10件)

- ① 金森章泰. 文光堂. 眼科プラクティス 20. 小児眼科診療続発緑内障. 2008. 330
- ② 金森章泰. 文光堂. 眼科プラクティス 22. 抗加齢眼科学視神経の加齢変化. 2008. 238
- ③ 金森章泰. 文光堂. 眼科プラクティス 23. 眼科薬物治療 A to Z アルツハイマー治療薬 (メマンチン). 2008. 383
- ④ 金森章泰. 文光堂. 眼科薬物治療 A to Z 肥厚性硬膜炎. 2008. 673
- ⑤ 金森章泰. 文光堂. 眼科プラクティス 15. One Point Advice 半側空間無視 2007. 230-231
- ⑥ 金森章泰. 文光堂. 眼科プラクティス 15. Topics OCT解析と視野の相関 2007. 171-173
- ⑦ 金森章泰. 文光堂. 眼科プラクティス 15. Topics HfaFiles 2007. 158-159
- ⑧ 金森章泰. 文光堂. 眼科プラクティス 15. 緑内障管理と視野 視野から見た病期分類 AGISスコア. 2007. 132-133
- ⑨ 金森章泰. 文光堂. 眼科プラクティス 18. 球状水晶体. 2007. 397
- ⑩ 金森章泰. メディカ出版. 眼科ケア9. 【緑内障の患者説明 正しい知識を伝えるための3ステップ】 重要な関連用語を押さ

える!緑内障を理解するためのキーワード18. 2007. 118-129

6. 研究組織

(1) 研究代表者

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

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者