

令和 5 年 4 月 9 日現在

機関番号：32666

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K18859

研究課題名(和文) PPAR α アゴニスト点眼剤を用いた血管新生緑内障への治療応用の試み研究課題名(英文) Trial of the ophthalmic solution of PPAR α for clinical application

研究代表者

有馬 武志 (Takeshi, Arima)

日本医科大学・医学部・講師

研究者番号：00823113

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究にてPPAR α 以外のPPAR β / γ 、PPAR δ といったアゴニストにおいても同様に点眼剤化を行い、創傷治癒への影響を評価した。PPAR β / γ アゴニスト点眼剤は炎症を抑制する一方、血管新生は促進させた。正常角膜へPPAR β / γ アゴニスト点眼剤を投与した場合には血管新生は生じなかったため、炎症を起点とした血管新生促進作用があると考えられる。

PPAR β / γ アゴニスト点眼剤はPPAR α との合剤として使用することで作用が増強し、より線維化を抑制した。各PPARおよびPPAR合剤は血管新生緑内障や糖尿病網膜症などの難治性眼疾患における新たな治療戦略の候補となる可能性があり、今後も研究を進めていく。

研究成果の学術的意義や社会的意義

PPAR β / γ は角膜上皮細胞、網膜内顆粒層、血管内皮細胞に多く、PPAR α / δ は角膜上皮細胞、角膜内皮細胞に、そしてPPAR α は角膜上皮細胞、炎症浸潤細胞に多く発現を認めた。局在と役割には相関関係があり、網膜内顆粒層に発現の多いPPAR β / γ に関して、硝子体内注射による網膜血管新生病変への新規治療法となる可能性がある。PPAR β / γ アゴニストに関しては、角膜内皮細胞に発現が多くKi67の活性化を伴う細胞分裂能の促進を認める点から、角膜内皮細胞の再生治療薬候補となる可能性がある。PPAR α アゴニストは炎症を抑えるだけでなく創傷治癒を促すM2マクロファージの分化を促す点から消炎治療薬となる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：In this study, PPAR β / γ and PPAR α were similarly administered to eye drops, and their effects on wound healing were evaluated. PPAR β / γ agonist eye drops inhibited inflammation while promoting angiogenesis. When PPAR β / γ agonist eye drops were administered to the normal cornea, angiogenesis did not occur.

The PPAR β / γ agonist ophthalmic solution enhanced its action and suppressed fibrosis more when used as a combination drug with PPAR α . Each PPAR and PPAR combination drug has the potential to become a candidate for a new therapeutic strategy for intractable eye diseases such as neovascular glaucoma and diabetic retinopathy, and we will continue our research.

研究分野：角膜創傷治癒、網膜血管新生

キーワード：PPAR α PPAR β / γ PPAR δ

1. 研究開始当初の背景

血管新生緑内障や糖尿病網膜症に代表される眼内血管増殖疾患の病態は患者を失明に至らせる重大な原因であると同時にきわめて難治性である。これらの病態は血管新生によって惹起され、血管内皮増殖因子(VEGF)やアンジオポエチン(Ang)といった増殖因子が関与している。現在、血管新生緑内障に対する根本的な治療法はなく対症療法のみである。糖尿病網膜症に生じる新生血管に対しては抗 VEGF 阻害薬の硝子体投与が一定の効果を認めるものの、反復的に投与する必要がある上に薬剤が高価であり、医療費を圧迫することが問題であった。我々は、眼科診療において、血管新生緑内障への治療法や抗 VEGF 療法に変わる薬剤の開発が急務であると考えている。

一方、我々はペルオキシソーム増殖剤活性化受容体(PPAR) アゴニストが強力に血管新生を抑制することを報告した(Arima et al, *Sci Rep*, 2017)。PPAR は核内受容体の1つで糖や脂質の代謝に関与している。PPAR はその機能だけでなく炎症や酸化ストレスの抑制に関する役割が注目されており、眼領域でも抗炎症作用が報告されてきた。今回の報告では PPAR アゴニスト点眼剤を治療薬として作成し、ラットアルカリ外傷モデルを用いて抗新生血管作用を検討した。JG12 染色を用いて血管内皮細胞を観察したところ、PPAR アゴニスト点眼群では角膜実質部における新生血管の発現が抑制されていた。また傷害角膜実質から RNA を抽出し、VEGF、Ang-1、Ang-2 といった血管新生に関連する遺伝子発現を調べたところ、PPAR アゴニスト点眼群では VEGF だけでなく Ang-1 や Ang-2 の発現も有意に抑制していた。Ang-1 と Ang-2 は VEGF と相乗して新生血管を増長することがわかっており(Asahara et al, *Circ Res*, 1998)、特に Ang-2 は、血管壁におけるペリサイトと血管内皮細胞の遊離を促し血管新生のきっかけとなるため、Ang-2 の抑制は抗新生血管の治療戦略に重要である。従って、VEGF および Ang-2 の両方を抑制する PPAR アゴニスト点眼剤は新たな抗血管新生剤としての可能性がある。今後は日本医科大学付属病院薬物治験審査委員会に申請し、有効な治療法のない血管新生緑内障の患者を対象にした臨床研究を計画すると共に、点眼以外の投与方法(内服や硝子体投与)による治療効果も動物実験で検討する予定である。

2. 研究の目的

PPAR アゴニスト点眼剤の血管新生緑内障への効果を、臨床研究で検討する。
これまで我々は PPAR アゴニストの前眼部への抗新生血管作用を示した。新たな投与方法により、後眼部の新生血管へ効果があるか動物実験を行う。
また各 PPAR には組織における局在やその機能が違っていることがわかっており、PPAR 以外の PPAR / および PPAR に関しても動物実験を行って眼領域での性質を明らかにする。
さらに PPAR は組み合わせる合剤にすることでより効力を発揮する可能性があるため、一部の PPAR の合剤による点眼治療の効果を動物実験で検討する。

3. 研究の方法

PPAR 以外のアイソフォームである PPAR / 、PPAR およびその合剤の性質を調べるために角膜アルカリ外傷モデルを使用した。苦痛を伴う可能性があるため、傷害作成は全身麻酔下に行った。

動物種は Wistar 雄ラットにイソフルラン吸入麻酔を施行し、片眼角膜に対してアルカリ外傷を作成した。(傷害作成眼は片眼とし、非傷害眼は正常コントロールとして使用した)

PPAR agonist 点眼、PPAR / agonist 点眼、PPAR agonist 点眼、PPAR + 点眼の投与群と基剤点眼薬投与群に分け、傷害作成眼に 1 日 2 回の点眼を施行した。

エンドポイント到達時点のラットはイソフルラン吸入麻酔下に開腹・放血し安楽死させた。安楽死後、両眼球を摘出し、病理学的及び分子生物学的検査を行った。

エンドポイントを傷害後 6 時間、1、2、4、7、14 日の 6 箇所を設定し、各 PPAR 点眼群と基剤点眼群の 2 群を作成し組織観察用と PCR 用に 2 パターンを作り、それぞれ 10 匹ずつ検討した。

4 . 研究成果

本研究にてまずは PPAR 以外の PPAR / 、PPAR といったアゴニストにおいても同様に点眼剤化を行い、アルカリ 外傷モデルで創傷治癒への影響を評価した。我々の研究結果では PPAR / アゴニスト点眼剤は炎症を抑制する一方、血管新生は促進させた。正常角膜へ PPAR / アゴニスト点眼を投与した場合には血管 新生は生じなかったため、炎症を起点とした血管新生促進作用があると考えられる。分子生物学的精査では PPAR / アゴニスト点眼は Ki67 を発現亢進させ、細胞の分裂能を活性化することがわかった。

PPAR アゴニスト点眼剤は特に抗炎症的に働き、マクロファージの分化に関与し抗炎症的に働く M2 マクロファージの分化を促し、角膜創傷治癒に寄与した。興味深いことにこれらの PPAR の役割の違いは合剤として使用することで作用が増強し、PPAR アゴニストと PPAR アゴニストの合剤は単剤と比較して、より線維化を抑制していた。このように抗炎症、抗血管新生、抗線維化作用を持つ各 PPAR および PPAR 合剤は血管新生緑内障や糖尿病網膜症、瘢痕性角膜疾患などの難治性眼疾患における新たな治療 戦略の候補となる可能性があり、今後も研究を進めていく。

眼組織における各 PPAR の局在にも違いがあり、PPAR は角膜上皮細胞、網膜内顆粒層、血管内皮細胞に多く、PPAR / は角膜上皮細胞、角膜内皮細胞に、そして PPAR は角膜上皮細胞、炎症浸潤細胞に多く発現を認めた。局在と役割には相関関係があり、網膜内顆粒層や血管内皮細胞に発現の多い PPAR に関して、PPAR アゴニストの硝子体内注射による網膜血管新生病変への新規治療法となる可能性がある。現在の硝子体注射の標準的治療である抗 VEGF 療法の薬剤は高価であるのに対し、PPAR は安価で治療効果が見込める可能性があり医療財政事情の逼迫にも貢献できる可能性がある。また近年、海外の報告で PPAR アゴニストが後部強膜理モデルリングに寄与していることがわかり、近視抑制に関与していることもわかっている。我々は現在、ラット近視モデルを作成し PPAR アゴニストの点眼投与による、新たな近視治療薬候補としての可能性も調査中である。PPAR / アゴニストに関しては、角膜内皮細胞に発現が多い点、発現亢進により Ki67 の活性化を伴う細胞分裂能の促進を認める点から、角膜内皮細胞の再生治療薬候補として前房内投与を用いた動物実験を今後進める予定である。一方で血管新生を促す側面もあるため PPAR / アゴニストの点眼治療や 硝子体内投与に関しては慎重に検討が

必要であると思われる。PPAR α アゴニストは炎症を抑えるだけでなく創傷治癒を促す M2 マクロファージの分化を促す点から新たな消炎治療薬候補として広く普及する可能性がある。各アゴニストを角膜アルカリ外傷後に点眼したところ全てのサブタイプで創傷治癒を促進することがわかったが、各 PPAR アゴニストの抗炎症機序には違いがあった。炎症のマスターレギュレーションである NF- κ B との関係において PPAR α や PPAR γ は NF- κ B を競合阻害する Kappa light polypeptide gene enhancer in the B-cell inhibitor, alpha (I- κ B) を活性化することで炎症を抑制したが、PPAR β に関しては NF- κ B の発現そのものを抑制することで炎症を抑え込むことがわかった。今後、より強力な作用を示す PPAR α アゴニストと PPAR β アゴニストの合剤点眼剤の可能性に関しても更なる研究が必要であると考えられる。

欧文原著：

1. Yutaro Tobita, Takeshi Arima, et al. Effects of selective peroxisome proliferator activated receptor agonists on corneal wound healing. *Pharmaceuticals*. ;14(2):88, 2021.
2. Takeshi Arima, et al. Observation of corneal wound healing and angiogenesis using low-vacuum scanning electron microscopy, *Trans Vis Sci Tech*. 2020;9(6):14.
3. Yuji Nakano, Takeshi Arima, et al. Combination of Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) alpha and gamma agonists prevents corneal inflammation and neovascularization in a rat alkali burn model, *Int J Mol Sci*. 2020;21(14):5093.
4. Yutaro Tobita, Takeshi Arima, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor beta/delta agonist suppresses inflammation and promotes neovascularization, *Int J Mol Sci*. 2020;21(15):E5296.
5. Yuichiro Nakano, Takeshi Arima, et al. PPAR α agonist suppresses inflammation after corneal alkali burn by suppressing proinflammatory cytokines, MCP-1, and nuclear translocation of NF- κ B, *Molecules*. 2018;24(1):114.

和文総説：

1. 有馬武志, PPAR 眼局在と役割 (あたらしい眼科 Vol.39 NO.02)
2. 有馬武志, PPAR α アゴニスト点眼剤は VEGF と Ang-2 発現の減弱により新生血管を抑制する (日本眼科学会雑誌 第 122 巻 第 8 号)

国際学会：

1. Takeshi Arima, A new observation method using low-vacuum scanning electron microscopy in corneal wound healing, APAO 2019
2. Yuji Nakano, Takeshi Arima, Peroxisome proliferator-activated receptor alpha agonist suppresses neovascularization by reducing both vascular endothelial growth factor and angiopoietin-2, APAO 2019

国内学会：

1. 高橋 慶, 有馬 武志, LV-SEM で観察した角膜アルカリ外傷モデルでの PPAR α , 合剤点眼の抗線維化作用, 第 126 回日本眼科学会総会, 一般口演, 2022
2. 中野 優治, 有馬 武志, 角膜アルカリ外傷モデルにおける PPAR α , 合剤点眼の線維化抑制作用の検討, 第 125 回日本眼科学会総会, 学術展示, 2021
3. 飛田 悠太郎, 有馬 武志, PPAR β / α アゴニスト点眼の抗炎症効果及び血管新生促進作用, 第 125 回日本眼科学会総会, 学術展示, 2021

4. 笠松 桃子, 有馬 武志, 低真空走査型走査型電子顕微鏡を用いた網膜新生血管の形態観察, 第 125 回日本眼科学会総会, 学術展示, 2021
5. 加藤 修太郎, 有馬 武志, Peroxisome proliferator activated receptor / の血管新生への関与, 第 45 回日本角膜学会総会, 一般口演, 2021
6. 大久保 浩平, 有馬 武志, 角膜アルカリ外傷モデルでの PPAR , とその合剤点眼による抗炎症作用の検討, 第 45 回日本角膜学会総会, 一般口演, 2021
7. 飛田 悠太郎, 有馬 武志, peroxisome proliferator activated receptor beta/delta (PPAR /) 点眼剤の抗炎症効果および血管新生促進作用, 第 88 回日本医科大学医学会総会, 2020
8. 有馬 武志, 角膜アルカリ外傷モデルにおける PPAR 点眼剤の NF- κ B、I- κ B への関与, 第 124 回日本眼科学会総会, 一般口演, 2020
9. 中野 優治, 有馬 武志, 低真空走査型電子顕微鏡を用いた角膜創傷治癒の観察, 第 124 回日本眼科学会総会, 学術展示, 2020
10. 飛田 悠太郎, 有馬 武志, peroxisome proliferator activated receptor(PPAR) 、 、 点眼の角膜上皮創傷治癒への影響, 第 124 回日本眼科学会総会, 学術展示, 2020
11. 高橋 慶, 有馬 武志, 低真空走査型電子顕微鏡 (LV-SEM) を用いたコラーゲンの観察, 第 44 回日本角膜学会総会, 学術展示, 2020
12. 杉本 識央, 有馬 武志, Peroxisome proliferator activated receptor alpha および gamma の nuclear factor kappa B への影響, 第 44 回日本角膜学会総会, 学術展示, 2020
13. 後藤 均, 有馬 武志, peroxisome proliferator activated receptor alpha および gamma の角膜上皮細胞創傷治癒への影響, 第 44 回日本角膜学会総会, 一般口演, 2020
14. Takeshi Arima, PPAR agonist suppresses neovascularization by reducing not only VEGF but also angiopoietin-2, 2019 年 Kyoto Cornea Club Annual Meeting
15. 有馬 武志, 低真空走査型電子顕微鏡を用いた新しい角膜と新生血管の観察法, 第 123 回日本眼科学会総会, 一般口演, 2019
16. 中野 優治, 有馬 武志, PPAR 点眼剤と PPAR 点眼剤の特性の比較, 第 123 回日本眼科学会総会, 一般口演, 2019
17. 有馬 武志, peroxisome proliferator activated receptor alpha 点眼剤の抗炎症・抗新生血管作用, 第 87 回日本医科大学医学会総会, 学術展示, 2019
18. 矢野 風, 有馬 武志, 低真空走査型電子顕微鏡を用いた角膜新生血管の経時変化の観察, 第 43 回日本角膜学会総会, 学術展示, 2019
19. 有馬 武志, peroxisome proliferator activated receptor alpha 点眼剤の治療効果, 第 122 回日本眼科学会総会, 一般口演, 2018
20. 中野 優治, 有馬 武志, peroxisome proliferator activated receptor alpha の angiopoietin-2 を介した抗血管新生, 第 42 回日本角膜学会総会, 一般口演, 2018
21. 山本 真里奈, 有馬 武志, 低真空走査型電子顕微鏡を用いた新しい角膜観察法, 第 42 回日本角膜学会総会, 学術展示, 2018
22. 仲野 裕一郎, 有馬 武志, アルカリ熱傷惹起後ラット角膜の peroxisome proliferator-activated receptor 局在と炎症細胞浸潤, 第 106 回日本病理学会総会, 学術展示, 2018

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Tobita Yutaro, Arima Takeshi, Nakano Yuji, Uchiyama Masaaki, Shimizu Akira, Takahashi Hiroshi	4. 巻 14
2. 論文標題 Effects of Selective Peroxisome Proliferator Activated Receptor Agonists on Corneal Epithelial Wound Healing	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pharmaceuticals	6. 最初と最後の頁 88 ~ 88
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ph14020088	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 Yuji Nakano	4. 巻 21
2. 論文標題 Combination of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor (PPAR) Alpha and Gamma Agonists Prevents Corneal Inflammation and Neovascularization in a Rat Alkali Burn Model	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci	6. 最初と最後の頁 5093
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms21145093.	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 -

1. 著者名 Yutaro Tobita	4. 巻 21
2. 論文標題 Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Beta/Delta Agonist Suppresses Inflammation and Promotes Neovascularization	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci	6. 最初と最後の頁 5296
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms21155296.	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 -

1. 著者名 Yutaro Tobita	4. 巻 14
2. 論文標題 Effects of Selective Peroxisome Proliferator Activated Receptor Agonists on Corneal Epithelial Wound Healing	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pharmaceuticals	6. 最初と最後の頁 88
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ph14020088.	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14件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 4件）

1. 発表者名 中野優治
2. 発表標題 角膜アルカリ外傷モデルにおけるPPAR α 、 β 合剤点眼の線維化抑制作用の検討
3. 学会等名 第125回日本眼科学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 飛田悠太郎
2. 発表標題 PPAR γ / アゴニスト点眼の抗炎症効果及び血管新生促進作用
3. 学会等名 第125回日本眼科学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 有馬武志
2. 発表標題 角膜アルカリ外傷モデルにおけるPPAR α 点眼剤のNF- κ B、I κ Bへの関与
3. 学会等名 日本眼科学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 飛田悠太郎
2. 発表標題 peroxisome proliferator activated receptor (PPAR α)、 β 、 γ 点眼の角膜上皮創傷治癒への影響
3. 学会等名 日本眼科学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 有馬武志
2. 発表標題 低真空走査型電子顕微鏡を用いた新しい角膜と新生血管の観察法
3. 学会等名 日本眼科学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中野優治
2. 発表標題 PPAR 点眼剤とPPAR 点眼剤の特性の比較
3. 学会等名 日本眼科学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 飛田悠太郎
2. 発表標題 水素水点眼の直接的および間接的な抗酸化作用効果
3. 学会等名 日本眼科学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 有馬武志
2. 発表標題 A new observation method using low-vacuum scanning electron microscopy in the corneal wound healing
3. 学会等名 Asia-Pacific Academy of Ophthalmology (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 飛田悠太郎
2. 発表標題 Hydrogen promotes M2 macrophage polarization through activation of Cu, Zn superoxide dismutase enzyme
3. 学会等名 Asia-Pacific Academy of Ophthalmology (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中野優治
2. 発表標題 Peroxisome proliferator-activated receptor alpha agonist suppresses neovascularization by reducing both vascular endothelial growth factor and angiopoietin-2
3. 学会等名 Asia-Pacific Academy of Ophthalmology (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 有馬武志
2. 発表標題 peroxisome proliferator activated receptor alpha 点眼剤の抗炎症・抗新生血管作用
3. 学会等名 日本医科大学医学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 有馬武志
2. 発表標題 Peroxisome proliferator-activated receptor alpha agonist suppresses neovascularization by reducing both vascular endothelial growth factor and angiopoietin-2 in corneal alkali burn
3. 学会等名 Kyoto Cornea Club (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 矢野風
2. 発表標題 低真空走査型電子顕微鏡を用いた角膜新生血管の経時変化の観察
3. 学会等名 角膜カンファレンス
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 木村彩香
2. 発表標題 水素水点眼による角膜上皮細胞におけるSOD1活性の上昇
3. 学会等名 角膜カンファレンス
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔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