

令和 5 年 6 月 2 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K07184

研究課題名（和文）老眼発症機序の解明とTRPVチャネルを標的とした抗老眼薬創製の基盤研究

研究課題名（英文）Roles for the TRPVs channels in the lens in the initiation of presbyopia

研究代表者

中澤 洋介（Nakazawa, Yosuke）

慶應義塾大学・薬学部（芝共立）・講師

研究者番号：60411708

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、水晶体でのTRPVチャネルの機能解析と老視発症メカニズムについて検討を行った。これまでに水晶体のTRPVチャネルの局在を明らかにしており、本研究ではその局在に与える因子について検討を行った。その結果、外部温度や毛様体筋からの刺激圧変化によって局在が変化することを明らかにした。また、抗白内障候補化合物である $\alpha$ -グルコシルヘスペリジン自由水を飲ませるとマウス水晶体の弾性低下が抑制され、同時にTRPV4の局在が変化することを見出した。さらに、TRPV1のアゴニストを点眼するとある種の白内障発症が抑制されることを見出し報告した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

老視の世界人口は年々増加しており、2030年には人口の25%が老視に悩まされると推察されている。また我が国日本においても高齢者雇用安定法が改正・施行されたことから、高齢者の視機能はますます重要な課題となってくる。さらに“健康日本21プロジェクト”で掲げている健康寿命延命に向けても視機能の維持は欠かせない。本研究遂行により、水晶体のTRPVチャネルの役割が明らかとなりまた、老視モデル動物の基盤を作ることができた。2023年現在、日本で老視に適応可能な医薬品は存在しない。本研究が基盤となり、モデル動物が開発されれば、老視薬物治療開発が飛躍的に伸び、健康寿命の延伸に大きく貢献できると確信している。

研究成果の概要（英文）：In this study, we examined the function of TRPV channels in the lens and contribution for presbyopia onset. We have previously reported the localization of TRPV channels in the lens, and examined the factors that influence their localization in this study. As a result, we found that the localization was changed by changes in external temperature and stimulation pressure from the ciliary muscle. We also found that administration of the anti-cataract candidate compounds hesperetin and water-soluble hesperidin suppressed the decrease in elasticity of the mouse lens due to altering the localization of TRPV channels. Furthermore, we found that Capsaicin, which is TRPV1 agonist, eye drops suppressed the development of secondary cataracts. In the future, we will examine TRPV channels in human lens samples and create the basis for the development of anti-presbyopia drugs.

研究分野：創薬化学

キーワード：老視 老眼 aging 水晶体 TRPVチャネル

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

老眼（老視）は、一般的に 40 歳・50 歳から発症し、60 歳ではほぼ 100% の罹患率をもつ眼疾患である。近方視力が大きく低下するため、患者の QOL, QOV (Quality of Vision) を低下させる。しかしその原因はほとんどわかっておらず、また効率的な治療法や医薬品も開発されていないため、患者は老眼鏡やコンタクトレンズ装用で補っている。

老眼は水晶体硬化により近方調節力が低下することで発症する。しかし水晶体硬化のメカニズムは明らかにされていない。また、実験モデル動物も存在しないため、医薬品の開発には加齢動物を用いている。そのため時間がかかり、医薬品開発が大きく遅れている。

本研究では、老眼発症時の水晶体内での変化から老眼発症メカニズムを検討する。また老眼モデル動物の作成を目指し、抗老眼薬の創製基盤を作る。

### 2. 研究の目的

我々はこれまで、水晶体の加齢変化を検討し、その中で加齢とともに Na イオンや水が増加することをこれまでに見出していた。そこで本研究では Na イオンや水分増加に着目し、物質挙動の加齢変化が老視の発症原因である可能性に着目し研究を申請・遂行した。

水晶体の水動態は Na 濃度によって規定されており、それは Na/K ATPase によって制御されていることが知られている。水晶体では Na/K ATPase は TRPV1 と 4 によって調節されていることが推察されており、本研究は TRPV1 と 4 と老眼・白内障の関係を明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

本研究は、in vivo, in vitro を混ぜた以下の 3 つの実験系を並行しておこなった。

#### (1) 毛様体—チン小帯からの圧力変化による水晶体に対する影響

毛様体—チン小帯からの圧力を変えた状態で検討を行った。使用する医薬品は、トロピカミド（毛様体筋弛緩剤）でピロカルピン（毛様体筋収縮剤）で、点眼後、水晶体切片を作成し、TRPV チャンネルの局在を検討した。

#### (2) 加齢マウス水晶体における TRPV チャンネルの局在・活性への影響

加齢による影響を検討するため、6 週齢（若年期）、25 週齢（老眼発症期）、60 週齢（成熟老眼期）マウスを用い、TRPV1 および TRPV4 の局在・活性と水晶体硬度を測定した。

#### (3) TRPV チャンネル刺激剤投与による水晶体への影響

TRPV チャンネル活性化による影響を検討するため、TRPV1 チャンネルのアゴニストである Capsaicin で刺激した細胞を用いて下流分子への影響を検討した。また、Capsaicin 点眼による白内障抑制効果を in vivo で検討した。

### 4. 研究成果

#### (1) 毛様体—チン小帯からの圧力変化による水晶体変化

水晶体は、常に毛様体筋やチン小帯から圧力を受けており、その張力によって水晶体の厚さを変えて近方および遠方視力を維持している。また、TRPV チャンネルは機械受容チャンネルであるため、チン小帯付着の有無およびそこからの圧力によって、その局在や活性を変化させる可能性が推察された。そこで、チン小帯接着による TRPV チャンネルへの影響について検討した。その結果、チン小帯付着によって水晶体周辺部の TRPV4 チャンネルの局在が変化することを見出した (Fig. 1)。さらに毛様体からの圧力変化による TRPV チャンネルの発現と局在変動、および TRPV チャンネル活性を検討した。その結果、張力変化によって TRPV1 および TRPV4 の局在が変わることが明らかとなり、報告した (Nakazawa Y et al., Int J Mol Sci 2021) .

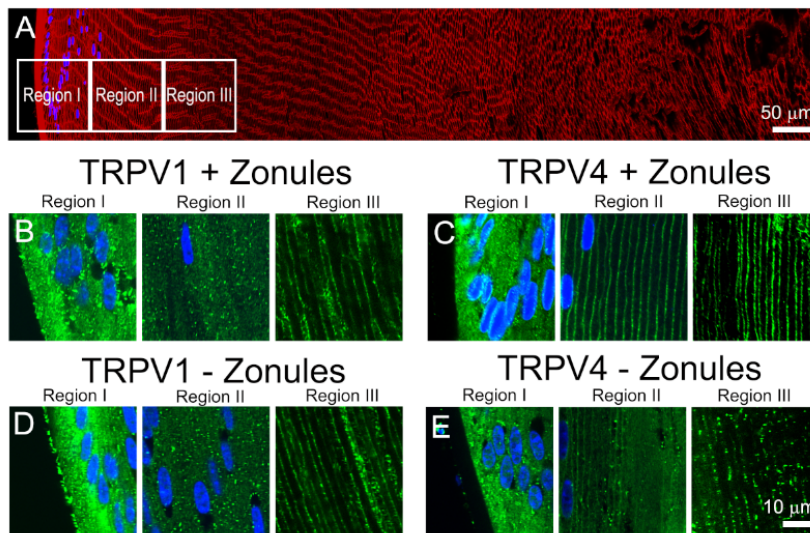


Fig. 1. マウス水晶体赤道部における TRPV1 および TRPV4 の細胞内局在に対するチン小帯の影響。(Nakazawa et al., 2021. IJSM より転載。)

・加齢マウス水晶体における TRPV チャンネルの局在・活性の変化測定

老齢マウスを用いて、加齢と TRPV チャンネル活性およびシグナルカスケードの変化を検討した。その結果、加齢に伴い、ヒトと同様に、マウス水晶体も弾性力が低下することがあり、老眼様の症状を示すことが明らかとなった。また、若年マウス水晶体の TRPV チャンネルは外部刺激により膜移行が認められ活性制御が行われていることが推察された。一方、老齢マウスでは部刺激による TRPV チャンネルの局在変化が認められなかった。さらに、これまで抗白内障効果が認められている $\alpha$ -グルコシルヘスペリジン<sup>1</sup>を長期に投与したマウス水晶体の水晶体弾性測定および TRPV チャンネルの局在・活性を検討した。その結果、加齢に伴う水晶体硬化は、 $\alpha$ -グルコシルヘスペリジン投与によって有意に抑制され、抗老眼効果を持つことが推察された。さらに赤道部の TRPV チャンネルの局在は $\alpha$ -グルコシルヘスペリジン投与群で TRPV4 が細胞膜に移行していることが明らかとなり、水晶体内の水の流動性改善を介して抗老眼効果を示すことが推察された (Nakazawa Y et al., Cells 2021.) (Fig. 2)。

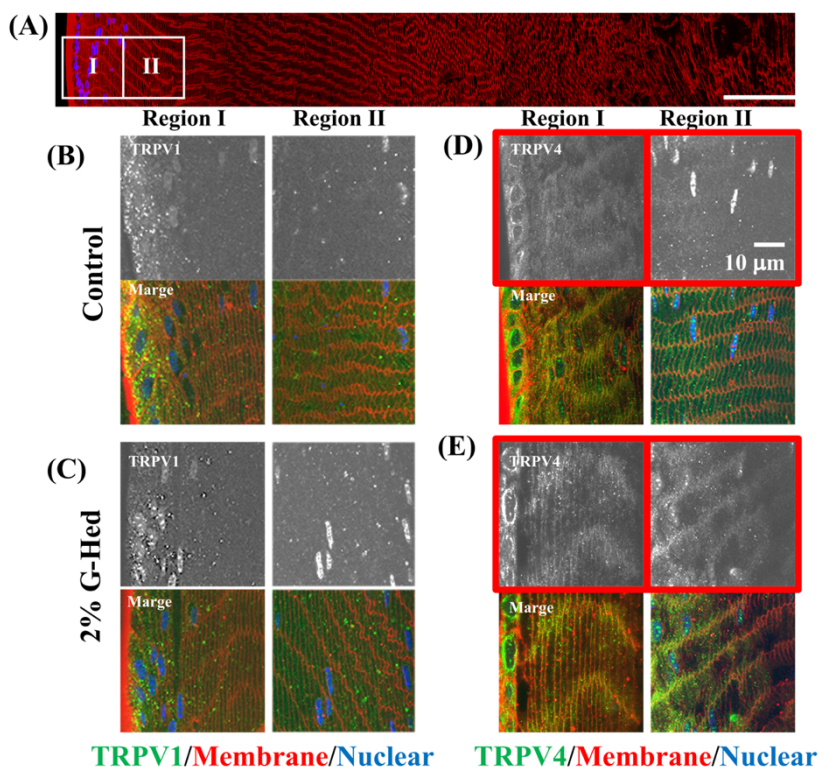


Fig. 2  $\alpha$ -グルコシルヘスペリジン投与によるマウス水晶体赤道部 TRPV1 および TRPV4 への影響。(Nakazawa et al., 2021. Cells より転載。)

### ・TRPV チャンネル刺激剤投与による水晶体への影響

水晶体での TRPV チャンネルの機能を検討するため、ヒト水晶体培養細胞株 (immortalized human lens epithelial cells: ihLECs) に Capsaicin (TRPV1 アゴニスト) で刺激した。その結果、Capsaicin は TGF $\beta$  誘導上皮間葉系移行に抑制的に働くことが明らかとなった。水晶体上皮細胞の上皮間葉系移行は、後発白内障の原因となることから、次に後発白内障抑制効果を *in vivo* で検討した。その結果、創傷誘導の後発白内障モデルに対し、Capsaicin 点眼で有意に白内障発症が抑制していることが明らかとなり、報告した (Sugiyama Y, Nakazawa Y, et al., Exp Eye Res 2021)。

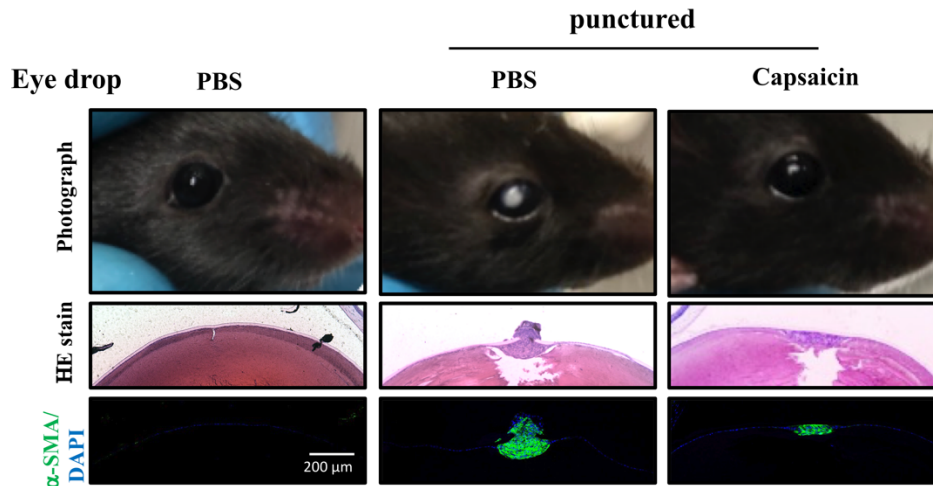


Fig. 3 後発白内障モデルを用いた TRPV1 アゴニスト (Capsaicin) 点眼の抗白内障効果の検討。(Sugiyama and Nakazawa et al., 2021. Exp Eye Res より転載。)

本研究により、水晶体での TRPV チャンネルの役割と老眼発症への寄与の一端を明らかにすることができた。今後、TRPV チャンネルを標的とした抗白内障薬や抗老眼薬が期待できる。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件 / うち国際共著 2件 / うちオープンアクセス 10件）

1. 著者名 Nagai Noriaki, Ogata Fumihiko, Ike Ayari, Shimomae Yurisa, Osako Hanano, Nakazawa Yosuke, Yamamoto Naoki, Kawasaki Naohito	4. 巻 14
2. 論文標題 Oral Formulation Based on Irbesartan Nanocrystals Improve Drug Solubility, Absorbability, and Efficacy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Pharmaceutics	6. 最初と最後の頁 387 ~ 387
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/pharmaceutics14020387	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 -
1. 著者名 Sumi Kazuya, Tago Kenji, Nakazawa Yosuke, Takahashi Kyoko, Ohe Tomoyuki, Mashino Tadahiko, Funakoshi-Tago Megumi	4. 巻 23
2. 論文標題 Novel Mechanism by a Bis-Pyridinium Fullerene Derivative to Induce Apoptosis by Enhancing the MEK-ERK Pathway in a Reactive Oxygen Species-Independent Manner in BCR-ABL-Positive Chronic Myeloid Leukemia-Derived K562 Cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 749 ~ 749
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms23020749	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 -
1. 著者名 Sumi Kazuya, Tago Kenji, Nakazawa Yosuke, Takahashi Kyoko, Ohe Tomoyuki, Mashino Tadahiko, Funakoshi-Tago Megumi	4. 巻 916
2. 論文標題 A bis-pyridinium fullerene derivative induces apoptosis through the generation of ROS in BCR-ABL-positive leukemia cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 European Journal of Pharmacology	6. 最初と最後の頁 174714 ~ 174714
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ejphar.2021.174714	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 -
1. 著者名 Sugiyama Yuki, Nakazawa Yosuke, Sakagami Toko, Kawata Sara, Nagai Noriaki, Yamamoto Naoki, Funakoshi-Tago Megumi, Tamura Hiroomi	4. 巻 213
2. 論文標題 Capsaicin attenuates TGF- $\beta$ 2-induced epithelial-mesenchymal-transition in lens epithelial cells in vivo and in vitro	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Experimental Eye Research	6. 最初と最後の頁 108840 ~ 108840
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.exer.2021.108840	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 -

1. 著者名 Nakazawa Yosuke, Petrova Rosica S., Sugiyama Yuki, Nagai Noriaki, Tamura Hiroomi, Donaldson Paul J.	4. 巻 22
2. 論文標題 Regulation of the Membrane Trafficking of the Mechanosensitive Ion Channels TRPV1 and TRPV4 by Zonular Tension, Osmotic Stress and Activators in the Mouse Lens	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 12658 ~ 12658
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms222312658	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 Vorontsova Irene, Hall James E., Schilling Thomas F., Nagai Noriaki, Nakazawa Yosuke	4. 巻 10
2. 論文標題 Differences in a Single Extracellular Residue Underlie Adhesive Functions of Two Zebrafish Aqp0s	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cells	6. 最初と最後の頁 2005 ~ 2005
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cells10082005	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 Deguchi Saori, Ogata Fumihiko, Isaka Takumi, Otake Hiroko, Nakazawa Yosuke, Kawasaki Naohito, Nagai Noriaki	4. 巻 13
2. 論文標題 Prevention of Postprandial Hyperglycemia by Ophthalmic Nanoparticles Based on Protamine Zinc Insulin in the Rabbit	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pharmaceutics	6. 最初と最後の頁 375 ~ 375
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/pharmaceutics13030375	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 -

1. 著者名 Nakazawa Yosuke, Doki Yuri, Sugiyama Yuki, Kobayashi Ryota, Nagai Noriaki, Morisita Naoki, Endo Shin, Funakoshi-Tago Megumi, Tamura Hiroomi	4. 巻 10
2. 論文標題 Effect of Alpha-Glucosyl-Hesperidin Consumption on Lens Sclerosis and Presbyopia	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cells	6. 最初と最後の頁 382 ~ 382
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cells10020382	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 -

1. 著者名 Nakazawa Yosuke, Aoki Miki, Doki Yuri, Morishita Naoki, Endo Shin, Nagai Noriaki, Funakoshi-Tago Megumi, Tamura Hiroomi	4. 巻 25
2. 論文標題 Oral consumption of -glucosyl-hesperidin could prevent lens hardening, which causes presbyopia	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochemistry and Biophysics Reports	6. 最初と最後の頁 100885 ~ 100885
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrep.2020.100885	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 -

1. 著者名 Nakazawa Yosuke, Doki Yuri, Sugiyama Yuki, Kobayashi Ryota, Nagai Noriaki, Morisita Naoki, Endo Shin, Funakoshi-Tago Megumi, Tamura Hiroomi	4. 巻 10
2. 論文標題 Effect of Alpha-Glucosyl-Hesperidin Consumption on Lens Sclerosis and Presbyopia	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cells	6. 最初と最後の頁 382 ~ 382
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cells10020382	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 -

〔学会発表〕 計7件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 中澤洋介、杉山裕紀、阪上瞳子、河田沙良、長井紀章、山本直樹、多胡めぐみ、田村悦臣
2. 発表標題 TRPVチャネルの活性化は、後発白内障を抑制する
3. 学会等名 第60回日本白内障学会総会 / 第47回水晶体研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中澤洋介
2. 発表標題 イオンチャネルのDiscovery
3. 学会等名 第60回日本白内障学会総会 / 第47回水晶体研究会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 長井紀章、武田峻、出口粧央里、山本直樹、中澤洋介、高田匠、宮田佳樹、平松範子、永田万由美、久保江理、佐々木洋
2. 発表標題 温度の違いがヒト水晶体中ミトコンドリア機能へ及ぼす影響：高環境温度はエーティーピーの過剰産生を誘発する
3. 学会等名 第60回日本白内障学会総会/第47回水晶体研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 土岐 友理、中澤 洋介、森下 尚紀、遠藤 伸、多胡 めぐみ、田村 悦臣
2. 発表標題 水晶体タンパク質の糖化抑制を介したヘスペレチンの抗老視および抗白内障効果
3. 学会等名 第68回 日本食品科学工学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中澤 洋介、土岐 友理、杉山 裕紀、森下 尚紀、遠藤 伸、田村 悦臣、多胡 めぐみ
2. 発表標題 -グルコシルヘスペリジンの経口摂取は、老眼の発症を抑制する。
3. 学会等名 第68回 日本食品科学工学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 杉山 裕紀、河田 沙礼、阪上 瞳子、中澤 洋介、田村 悦臣、多胡 めぐみ
2. 発表標題 トウガラシ含有成分Capsaicinを介したTRPV1活性化による後発白内障への影響
3. 学会等名 第68回 日本食品科学工学会
4. 発表年 2021年



1. 発表者名 中澤洋介
2. 発表標題 alpha-glucosyl hesperidinの白内障予防効果の検討
3. 学会等名 第12回ヘスペリジン研究会（招待講演）
4. 発表年 2020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			
ニュージーランド	The University of Auckland			
米国	University of California, Irvine			