

論 文 内 容 要 旨

題目 Edaravone suppresses retinal ganglion cell death in a mouse model of normal tension glaucoma

(Edaravone による正常眼圧緑内障モデルマウスの網膜神経節細胞死の抑制)

著者 Kei Akaiwa, Kazuhiko Namekata, Yuriko Azuchi, Xiaoli Guo, Atsuko Kimura, Chikako Harada, Yoshinori Mitamura, Tayuki Harada

平成 29 年 7 月 13 日発行

Cell Death and Disease 8 (7):e2934, 2017.

doi: 10.1038/cddis.2017.341. に発表済

内容要旨

背景

緑内障は本邦における中途失明原因の第 1 位であり、Quality of Life の観点からも大きな社会的問題となっている。緑内障は視神経及び網膜神経節細胞 (RGC) の進行性変性であり、特徴的な視神経乳頭変化と視野欠損を伴う。これら緑内障における神経変性は眼圧上昇によって引き起こされ、結果的に回復不能な視野障害に陥るものと考えられてきた。しかし本邦では眼圧が正常であるにもかかわらず緑内障症状を発症する正常眼圧緑内障 (NTG) が全体の約 7 割を占めることが判明している。緑内障に対する治療は眼圧下降療法が中心であるが、十分な眼圧下降が得られても病期進行する例も存在するため、眼圧以外の病態寄与因子の解明や新たな神経保護療法の開発が求められている。哺乳類の網膜では、グルタミン酸トランスポーターの一つである興奮性アミノ酸キャリア 1 (EAAC1) が RGC を含む神経細胞に発現している。EAAC1 は細胞内のグルタチオン合成に寄与しているため、EAAC1 欠損 (KO) マウスでは RGC の酸化ストレス耐性が低下し、NTG 様の眼圧非依存的な RGC 変性を引き起こす。一方、フリーラジカルスカベンジャーである Edaravone は酸化ストレスの原因となるフリーラジカルに電子を供与することにより不活化させる作用を持ち、本邦では急性脳梗塞及び筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の治療に使用されている。

様式 (8)

目的

Edaravone 投与により、EAAC1 KO マウスの RGC 変性が抑制されるか検討した。

方法

EAAC1 KO マウスに網膜変性が始まる生後 5 週齢から 12 週齢まで、Edaravone (3mg/kg) を 1 日 1 回腹腔内投与した。対照群には同容量の Phosphate buffered saline (PBS) を腹腔内投与した。そして生後 8 週齢または 12 週齢の時点において、ヘマトキシリン・エオジン染色で網膜神経節細胞層の細胞数と網膜内層厚について評価した。また Fluoro gold を視神経の到達する脳の上丘に注射し RGC を逆行性にラベリングすることによって RGC 数を計測した。さらに *in vivo* imaging として、光干渉断層画像診断法 (Optical Coherence Tomography; OCT) を用いた同一網膜の経時的観察を行い、ganglion cell complex (GCC) 厚を計測した。以上のような形態的評価に加えて、多局所網膜電位図による視機能評価、リバウンドトノメーターによる眼圧測定を行った。さらに酸化ストレスの評価法として、4-hydroxy-2-nonenal (4-HNE) を用いて網膜免疫染色を行い、PBS を投与した対照群との比較を行った。

結果

Edaravone 投与群では対照群と比較して、網膜神経節細胞層の細胞数と網膜内層厚が有意に増加していた。逆行性ラベリングでは RGC 数が投与群で有意に多く、OCT においても GCC 厚が有意に保たれていた。多局所網膜電位図の測定では投与群で網膜電位の振幅が有意に大きく、EAAC1 KO マウスの視覚障害が改善されていた。Edaravone 投与による有意な眼圧の変動は認めなかった。4-HNE の網膜免疫染色においては、投与群では対照群と比較して、網膜神経節細胞層における染色強度が低下していた。

結論

Edaravone は酸化ストレスを緩和することにより、眼圧非依存的に EAAC1 KO マウスにおける RGC 変性を抑制し、視機能異常を改善した。Edaravone は眼圧非依存的な神経保護効果を有すると考えられることから、緑内障治療に有用な可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

報告番号	甲医第 1360 号	氏名	赤岩 慶
審査委員	主査 梶 龍兒 副査 大森 哲郎 副査 勢井 宏義		

題目 Edaravone suppresses retinal ganglion cell death in a mouse model of normal tension glaucoma
(Edaravone による正常眼圧緑内障モデルマウスの網膜神経節細胞死の抑制)

著者 Kei Akaiwa, Kazuhiko Namekata, Yuriko Azuchi, Xiaoli Guo, Atsuko Kimura, Chikako Harada, Yoshinori Mitamura, Tayuki Harada
平成 29 年 7 月 13 日発行 Cell Death and Disease 第 8 巻 e2934 に発表済
(主任教授 三田村 佳典)

要旨 緑内障は本邦における中途失明原因の第 1 位であり、quality of life の観点からも大きな社会的問題となっている。緑内障に対する治療は眼圧下降療法が中心であるが、十分な眼圧下降が得られても病期が進行する例も存在するため、眼圧以外の病態寄与因子の解明や新たな神経保護療法の開発が求められている。哺乳類の網膜では、グルタミン酸トランスポーターの一つである興奮性アミノ酸キャリア 1(EAAC1)が網膜神経節細胞(RGC)を含む神経細胞に発現している。EAAC1 は細胞内のグルタチオン合成に寄与しているため、EAAC1 欠損(KO)マウスでは RGC の酸化ストレス耐性が低下し、眼圧非依存的な RGC の変性を引き起こすことから正常眼圧緑内障のモデルマウスとして注目されている。一方、フリーラジカルスカベンジャーである edaravone は酸化ストレスの原

因となるフリーラジカルに電子を供与することにより不活化させる作用を持ち、本邦では脳梗塞急性期及び筋萎縮性側索硬化症の治療に使用されている。そこで EAAC1 KO マウスに網膜変性が始まる5週齢から12週齢まで edaravone を腹腔内投与して網膜変性に与える影響を検討した。

得られた結果は以下のとおりである。

- 1) Edaravone 投与群では対照群と比較して、組織学的に神経節細胞層の細胞数と網膜内層厚が有意に増加していた。
- 2) Fluoro gold を用いた逆行性ラベリングでは RGC 数が投与群で有意に多かった。
- 3) 光干渉断層計において網膜神経節細胞複合体厚が投与群で有意に保たれていた。
- 4) 多局所網膜電位図の測定では投与群で網膜電位の振幅が有意に大きく、EAAC1 KO マウスの視覚障害が軽減されていた。
- 5) Edaravone 投与による有意な眼圧の変動は認めなかった。
- 6) 酸化ストレスの指標である 4-hydroxy-2-nonenal を用いた網膜免疫染色においては、投与群で対照群と比較して、網膜神経節細胞層における染色強度が低下しており、酸化ストレスが軽減されていた。

以上の結果より edaravone が酸化ストレス抑制作用によって眼圧非依存的に EAAC1 KO マウスにおいて網膜神経保護効果をもつ可能性が示された。

本研究は正常眼圧緑内障の新たな治療法の可能性を示唆しており、その医学的及び社会的意義は大きく学位授与に値すると判定した。