

論 文 内 容 要 旨

題 目 Differential effects of N-acetylcysteine on retinal degeneration in two mouse models of normal tension glaucoma

(2 種類の正常眼圧緑内障モデルマウスに対する N-アセチルシステインの網膜変性抑制効果の違い)

著者 Hiroki Sano, Kazuhiko Namekata, Atsuko Kimura, Hiroshi Shitara, Xiaoli Guo, Chikako Harada, Yoshinori Mitamura, Takayuki Harada

平成 31 年 1 月 28 日発行 Cell Death & Disease 第 10 巻

article number : 75. doi:10.1038/s41419-019-1365-z に発表済

内容要旨

緑内障は網膜神経節細胞 (RGC) とその軸索である視神経の慢性進行性の変性を特徴とする。緑内障は通常、眼圧上昇と関連しているが、眼圧が正常であるにも関わらず緑内障症状を発症する正常眼圧緑内障 (NTG) というサブタイプがある。グルタミン酸トランスポーターである excitatory amino-acid carrier 1 (EAAC1) または glutamate/aspartate transporter (GLAST) を欠損させたマウス (EAAC1 KO マウス、GLAST KO マウス) は NTG 様の網膜変性を発症するが、その原因としてグルタミン酸毒性や酸化ストレスが関与すると考えられている。

N-アセチルシステイン (NAC) は、粘液溶解薬およびパラセタモールの過剰摂取に対する解毒剤として広く使用されている。NAC はシステインの前駆体として機能し、強力な抗酸化物質であるグルタチオン (GSH) の合成を刺激する。通常システインは EAAC1 によって細胞内に輸送されるが、NAC はこの能動輸送を介さずに細胞にシステインを提供できるため、効率よく GSH を産生できると考えられる。

本研究では EAAC1 KO マウスと GLAST KO マウスの NTG 様の網膜変性に対する NAC の効果を検討した。NAC (200mg/kg) を、EAAC1 KO マウス (5 週齢から 12 週齢まで) および GLAST KO マウス (3 週齢から 5 週齢まで) に 1 日 1 回、腹腔内投与した。対照群には同等量の Phosphate buffered saline を投与した。そして生後 5 週齢、8 週齢または 12 週齢の時点で RGC 数、網膜内層厚、多局所網膜電位、眼圧に加えて、GSH 発現量、酸化ストレスおよびオートファジーのマーカーを定量的に計測し、対照群との比較を行った。

様式(8)

EAAC1 KO マウスでは、NAC 投与によって RGC 数、網膜内層厚および多局所網膜電位が対照群と比較して有意に保たれていた。一方 GLAST KO マウスにおいては、EAAC1 KO マウスで確認されたような網膜神経保護および視機能維持効果はみられなかった。また、NAC 投与による眼圧の有意な変動は認めなかった。

2 種類の NTG モデルマウスにおける NAC の効果の違いを調べるために、GSH および酸化ストレスのマーカーである 4-hydroxy-2-nonenal (4-HNE) の組織免疫染色を行った。EAAC1 KO マウスでは神経節細胞層 (GCL) における GSH 発現量の減少がみられ、NAC 投与によって抑制された。一方 GLAST KO マウスでは、GSH 発現量の減少が GCL を含む網膜内層で広く観察され、NAC 投与によっても改善されなかった。また EAAC1 KO マウスおよび GLAST KO マウスの GCL では 4-HNE の発現量増加が観察され、NAC 投与によって EAAC1 KO マウスでは発現量が抑制されたが、GLAST KO マウスでは低下しなかった。

さらにオートファジーの主要な生化学マーカーの 1 つである microtubule-associated protein 1 light chain 3 beta (LC3B) の組織免疫染色を行った。EAAC1 KO マウスおよび GLAST KO マウスの GCL で LC3B の発現量増加が観察された。NAC 投与によって EAAC1 KO マウスにおける LC3B の発現量は抑制されたが、GLAST KO マウスでは減少しなかった。

EAAC1 KO マウスでは、NAC 投与により GSH 濃度が上昇し、酸化ストレスとオートファジーを抑制することで網膜神経保護効果が得られると考えられた。一方 GLAST KO マウスでは効果が見られず、グルタミン酸毒性等の別の要因が重要な可能性がある。本研究で得られた知見により、NAC の全身投与が酸化ストレスの増加に関連する緑内障の病態改善に有効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 1454 号	氏名	佐埜 弘樹
審査委員	主査 大森 哲郎 副査 高木 康志 副査 石澤 啓介		

題目 Differential effects of N-acetylcysteine on retinal degeneration in two mouse models of normal tension glaucoma (2種類の正常眼圧緑内障モデルマウスに対する N-アセチルシステインの網膜変性抑制効果の違い)

著者 Hiroki Sano, Kazuhiko Namekata, Atsuko Kimura, Hiroshi Shitara, Xiaoli Guo, Chikako Harada, Yoshinori Mitamura, Takayuki Harada

平成 31 年 1 月 28 日発行 Cell Death & Disease 第 10 巻
 article number : 75 に発表済

(主任教授 三田村 佳典)

要旨 緑内障は通常、眼圧の上昇により網膜神経節細胞 (RGC) とその軸索である視神経が慢性進行性に変性することで発症する。しかし、眼圧が正常で緑内障を発症する正常眼圧緑内障 (NTG) というサブタイプがあり、眼圧以外にも酸化ストレスやグルタミン酸毒性などが緑内障の発症に関与することがわかっている。そのため眼圧下降治療に加え新たな神経保護治療が求められている。

Excitatory amino-acid carrier 1 (EAAC1) を欠損させた EAAC1 欠損マウスおよび glutamate/aspartate transporter (GLAST) を欠損させた GLAST 欠損マウスは眼圧上昇を伴わずに RGC の変性を起こすことから、NTG モデルマウスとして注目されている。本研究ではグルタチオン (GSH) の前駆体として抗酸化作用のある N-アセチルシステイン (NAC) を、これらの 2 種類の NTG モデルマウスに投与しその効果について検討した。

得られた結果は以下のとおりである。

1) EAAC1 欠損マウスおよび GLAST 欠損マウスにおいて、NAC を投与しない対照群では RGC 数、網膜内層厚および多局所網膜電位の減少がみられた。NAC 投与によって EAAC1 欠損マウスでは、RGC 数、網膜内層厚および多局所網膜電位の減少が対照群と比較して有意に抑制されていた。一方、GLAST 欠損マウスにおいては、NAC を投与しても対照群と比べ差がみられなかった。

2) EAAC1 欠損マウスおよび GLAST 欠損マウスでは RGC において酸化ストレスの亢進がみられた。NAC 投与によって EAAC1 欠損マウスでは GSH 濃度が上昇し酸化ストレスが抑制されたが、GLAST 欠損マウスでは効果がみられなかった。

3) EAAC1 欠損マウスおよび GLAST 欠損マウスでは RGC においてオートファジーの亢進がみられた。NAC 投与によって EAAC1 欠損マウスではオートファジーが抑制されたが、GLAST 欠損マウスでは効果がみられなかった。

以上の結果から、EAAC1 欠損マウスでは NAC 投与により GSH 濃度が上昇し、酸化ストレスとオートファジーを抑制することで網膜神経保護効果がみられたと考えられた。一方、GLAST 欠損マウスでは効果が見られず、酸化ストレスよりもグルタミン酸毒性等の別の要因が優位である可能性が示唆された。本研究の結果は正常眼圧緑内障の治療法開発に有益な示唆を与えており、その臨床的意義は大きく学位授与に値すると判定した。