



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

Title	Neuroprotective effects of R(-)-1-(benzo[b]thiophen-5-yl)-2-[2-(N,N-diethylamino)ethoxy]ethanol hydrochloride(T-588)against retinal ganglion cell death induced by elevated intraocular pressure in rat.(内容の要旨(Summary))
Author(s)	KARIM, MD. ZAHIDUL
Report No.(Doctoral Degree)	博士（医学）甲 第527号
Issue Date	2003-03-25
Type	博士論文
Version	
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/14587

この資料の著作権は、各資料の著者・学協会・出版社等に帰属します。

氏名(本籍)	KARIM MD. ZAHIDUL (バングラデシュ)
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第 527号
学位授与日付	平成 15年 3月 25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	Neuroprotective effects of R(-)-1-(benzo[b]thiophen-5-yl)-2-[2-(N,N-diethylamino)ethoxy]ethanol hydrochloride(T-588)against retinal ganglion cell death induced by elevated intraocular pressure in rat.
審査委員	(主査) 教授 山本 哲也 (副査) 教授 中島 茂 教授 小澤 修

論文内容の要旨

あらゆる緑内障に共通の特徴は進行性の網膜神経節細胞死であり、眼圧上昇は緑内障性視神経障害の最も主要な危険因子とされている。緑内障の発症及び進行には眼圧以外の因子も関与していると推測されているものの、今日の緑内障治療は眼圧下降療法のみを頼っている。しかしながら、眼圧を正常化させても完全に緑内障性視野障害を停止させることは難しい。緑内障管理という観点から、そこに我々眼科医にとって眼圧下降療法以外の緑内障治療を模索する必要性が存在する。

T-588は、アルツハイマー型痴呆や脳血管障害後遺症を改善することが可能な治療薬である。この薬物は実験動物モデルにおいて、脳低酸素保護作用を有しており、また脳梗塞や前脳基底核破壊及び一時的な前脳虚血により誘導される学習、記憶障害を改善する。T-588は、大脳皮質や海馬において少なくとも部分的にはアセチルコリンやノルアドレナリンを介して薬理学的効果を発現すると考えられているが、その分子学的機序は解明されていない。また、現在ラットなどの高等生物の網膜におけるT-588の影響は知られていない。今回我々は実験動物としてラットを用い、眼圧上昇により生じる網膜神経節細胞死を抑制するT-588の効果について検討を試みた。

【対象と方法】

9週齢のウイスター系雄白色ラット40匹を用いた。右眼のみに眼圧上昇モデルを作製し、左眼は無処置、対照眼とした。前房内墨汁注入4日後、線維柱帯へのアルゴンレーザー照射により眼圧上昇を誘導した。ラットを無作為に4群に振り分け、レーザー照射24時間前に、対照液あるいは体重あたり10, 30, 100mgいずれかのT-588溶液を経口投与した。アルゴンレーザー照射5日後、生存網膜神経節細胞を逆行性標識する目的で、1.5 μ lの3% Fast blue溶液を両側上丘に注入した。同8日後生存網膜神経節細胞を評価するために、ラット両眼を摘出し、網膜伸展標本を作製した。経口色素により標識された網膜神経節細胞は蛍光顕微鏡及び蛍光フィルターを利用し観察した。ラット視神経乳頭より約1mm離れた4領域において、蛍光色素により標識された網膜神経節細胞をカウントした。また網膜神経節細胞標識率を同一個体において、アルゴンレーザー照射眼の網膜神経節細胞標識数/対照眼の同数 \times 100(%)として算出した。

【結果】

ラット線維柱帯へのアルゴンレーザー照射により、いずれの群においても処置眼における眼圧はベースラインと比較し統計学的に有意な上昇を示した($P < 0.0001$, paired t-test)。眼圧上昇レベルは対照群とT-588投与群で同様であり、T-588投与量にかかわらず有意差を認めなかった($P > 0.05$, ANOVA)。同様に、ベースライン眼圧にもコントロール群及びT-588投与群の間で有意な差は認めなかった。

コントロール群において、レーザー処置眼における生存網膜神経節細胞率は対照眼と比較し、 $78.0 \pm 11.6\%$ と著しく減少していた。一方体重あたり100mgのT-588を経口投与された群では蛍光顕微鏡下では標識網膜神経節細胞は左右同等に観察され、 $91.0 \pm 9.0\%$ と統計学的に多くの生存網膜神経節細胞を認めた($P = 0.0219$, Fisher's PLSD)。また、体重あたり10mg及び30mgのT-588溶液を投与された群においてはそれぞれ $78.7 \pm 12.9\%$, $79.1 \pm 13.0\%$ であり、コントロール眼と比較し不変であった。

【考按】

ラットを用いた本研究において、我々は眼圧上昇により誘導された網膜神経節細胞死がT-588投与により有意

に緩和されることを示した。本研究はT-588が眼圧上昇による網膜神経節細胞死抑制に作用することを示した最初の報告である。

Ikedaらは運動神経疾患の動物モデルを用い、神経筋接合部におけるT-588の神経保護効果について検討した。T-588投与は、wobblerマウスの前肢拘縮及び筋力低下抑制、上腕二頭筋の重量増加に働き、神経筋接合部機能障害の進行を遅らせた。薬動力学的実験から、経口投与されたT-588は大脳や脊髄への移行性がよいと報告されている。PC12培養系においてNGFの神経栄養因子の効果を増強し、ラット前頭前野皮質や海馬からのアセチルコリンの放出を促進し、種々の健忘モデルにおける記憶障害を改善する。T-588はin vitroにおいて、グルタミン酸毒性からラット小脳顆粒細胞を保護する効果も有する。また、甲殻類や哺乳類の神経筋接合部における促進を抑制するとされている。

ラット緑内障モデルにおけるT-588の作用機序はよくわかっていない。T-588は頸椎CAT活性やcAMPレベルを増加させるものの、運動神経疾患における大型運動神経細胞死を緩和しなかった。wobblerマウスは生後3、4週で発症し、初期病変としてアストロサイトが脊髄灰白質と置き換わる。T-588は培養ラットアストロサイトにおいて虚血再灌流により生じるアポトーシスを抑制し、これにはMAP Kinase pathwayが関与しているとされている。T-588が神経保護に作用する機序として、T-588は脊髄運動神経かグリアに直接的に作用する可能性がある。wobblerマウスの脊髄運動神経ではいくらかのニューロペプチドは変化し、SOD活性は減少しNO合成酵素レベルは上昇する。少なくともwobblerマウスにおいては、T-588は活性酸素や神経伝達物質の異常レベル調整に働くのかもしれない。

T-588の薬理作用は解明途中であるため、本研究における神経細胞保護作用発現に対し、T-588がいかなる機序により中心的役割を演じたか指摘することは難しい。しかしながら、T-588はフリーラジカル中和により神経細胞のインテグリティを安定化させ、神経細胞死を抑制するのではないかと推測される。最近T-588はカルシウム依存性神経伝達物質放出に不可欠なカルシウムイオンのエンドサイトーシスを減少させると報告されている。このことは、T-588がグルタミン酸放出を阻害し、カルシウムイオンの細胞内流入を抑制することを示唆している。興奮性アミノ酸による細胞毒性は、実際緑内障における網膜神経節細胞変性と関連する重要な因子である。電気生理学的研究においても、T-588は助長された伝達物質放出を減少させることが示されている。しかしながら、神経伝達物質抑制に働くGABAに関わる機序の否定はできない。グルタミン酸やGABAの他にも、アセチルコリン、アドレナリン、ドーパミンなどの機構の相互作用も関与しているのではないかと考えられる。

本研究において、我々はT-588経口投与による有意な眼圧下降を認めなかった。このことはT-588による神経保護作用が眼圧下降効果によるものではないことを示唆している。レーザー治療後眼圧上昇が有意に認められ、5日、8日における眼圧は治療群およびコントロール群の間で全く同様であった。網膜神経節細胞生存率はコントロール群とT-588を体重あたり10mg及び30mg投与群との間に統計学的有意差は認めなかったものの、コントロール群と比較しT-588を体重あたり100mg投与群では統計学的有意に生存網膜神経節細胞が多く認められた。今回の研究により、T-588はラット眼圧上昇モデルにおいて眼圧下降を介することなく、網膜神経節細胞保護効果を有することが示された。しかしながら、T-588の網膜神経節細胞生存を促進する機序、あるいは臨床応用に向けた最適投与量など多くの問題を解決するには、さらなる研究が必要である。

論文審査の結果の要旨

申請者 KARIM MD.ZAHIDULは、ラットの緑内障モデルを用いて、T-588の網膜神経節細胞の細胞死に対する神経保護作用を検討し、有意の神経保護作用を有することを示した。この知見は眼圧下降を介さない緑内障治療に道を開くものであり、緑内障治療学の進歩に少なからず寄与するものと思われる。

〔主論文公表誌〕

Neuroprotective effects of R(-)-1-(benzo[b]thiophen-5-yl)-2-[2-(N,N-diethylamino)ethoxy]ethanol hydrochloride(T-588)against retinal ganglion cell death induced by elevated intraocular pressure in rat.

Japanese Journal of Ophthalmology 46(6):621-626, 2002