

最後に、視野を Table 3 のようにセクター分けし、セクター毎の視野障害度と GDx パラメータの相関を検討したところ、superior para-arcuate area においては ECC のみで有意な相関がみられた。

Table 3. Correlation between the sectorized visual field damage and the corresponding retinal nerve fiber thickness evaluated with GDx with variable corneal compensation (VCC) and that with enhanced corneal compensation (ECC) in 58 open-angle glaucoma eyes.

Visual field area	VCC	ECC
Paracentral	0.01 (0.93)	0.17 (0.21)
Superior arcuate	0.50 (<0.001)*	0.57 (<0.001)*
Superior para-arcuate	0.30 (0.024)	0.46 (<0.001)*
Inferior arcuate	0.66 (<0.001)*	0.65 (<0.001)*
Inferior para-arcuate	0.55 (<0.001)*	0.54 (<0.001)*

Data are shown as Spearman's rank correlation coefficient with p-value in the parenthesis. Visual field areas are indicated in Figure 1a. * indicates significant correlation with p-value less than 0.05/5 (=0.01) which is determined according to the Bonferroni's correction for multiple tests.

(3) 後期緑内障の臨床像と予後に関連する因子の検討

多施設研究グループ（東京大、熊本大、神戸大、佐賀大、NTT 西日本九州病院、日本大、東京通信病院）を組織し、患者登録及び経過観察を進めている。平成 18 年度末までに約 140 名の患者がエントリーされた。以下に研究計画及びエントリー状況の中間まとめを示す。

<研究計画>

1. 目的

緑内障では、ある程度病期が進行してから自覚症状が現れ、末期に近い段階で初めて quality of life の

著明な低下が認められることも少なくない。したがって、後期から末期の緑内障患者の臨床像を理解することは緑内障臨床の上で非常に重要なことであるが、これまでの報告などは限られている。本研究は、国内の多施設において、後期以降の緑内障患者の現在の臨床像とこれまでの経過を retrospective に検討するとともに、臨床データ（視力、視野など）の経時的変化を prospective に集積することで、本邦の後期緑内障患者に関する基礎的データを得ることを目的とする。

2. 概要

後期緑内障患者に対し、ベースラインとなる視野などのデータを集めた後、決められたスケジュールでの経過観察を続ける（5年間）。

3. 参加施設

当初は以下の8施設で開始し、研究の進展状況をみながら追加を検討していく。東京大、熊本大、神戸大、佐賀医大、NTT西日本九州病院、日本大、東京通信病院

4. 調査期間

患者登録は各施設の倫理委員会の研究承認から1年間とし、登録後5年間の経過観察を行う。

5. 予定症例数

200例程度

6. 実施計画

①患者選択基準

- ・ 緑内障患者（病型問わず）
- ・ 緑内障以外の視野に影響を及ぼす眼疾患を持たない（偽水晶体眼は可）。
- ・ 信頼性のある視野測定（FL<20%, FP, FN<33%）がHFA 24-2が可能で、少なくとも一眼でMD-20 dB以下
- ・ 年齢20才から80才
- ・ 矯正視力 ≥ 0.5
- ・ 内眼手術の既往、全身疾患の有無は問わない。
- ・ インフォームドコンセントを得られたもの
- ・ 乳頭写真が撮影可能である

②エントリー時の収集データ

- ・ 患者背景：年齢、性別、病型、無治療時眼圧、診断時年齢、眼手術歴、全身疾患、全身疾患に対する内服薬、家族歴
- ・ 検査データ：現在の眼圧、使用中の抗緑内障薬、視力、屈折、角膜厚、視神経乳頭写真、視野HFA

24-2, 視野 HFA 10-2 (3ヶ月以内に2回)

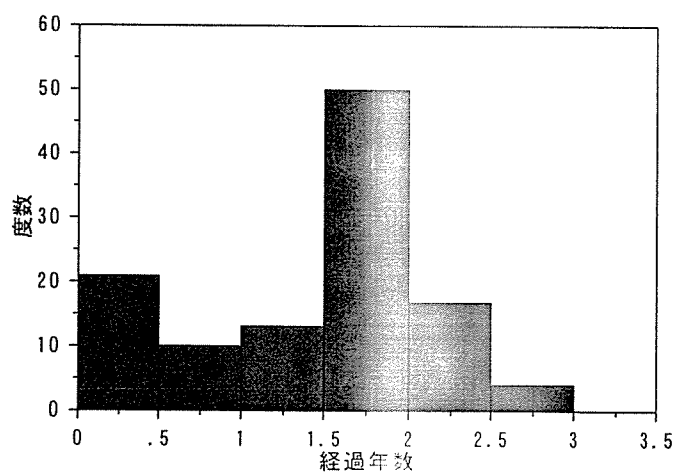
③経過観察

- ・HFA 10-2 (SITA standard, fovea on) 半年に1回
- ・HFA 24-2 (SITA standard, fovea on) エントリー時と終了時
- ・眼圧：少なくとも3ヶ月に1回
- ・視力：半年に1回
- ・血圧：1年に1回
- ・眼手術施行, 処方変更, 眼所見の変化などがあれば記載する
- ・経過観察期間中の治療(薬物, 手術)に関して, プロトコルとしての制限を設けない

<エントリー患者の状況(中間まとめ)>

1. エントリー患者数 133例

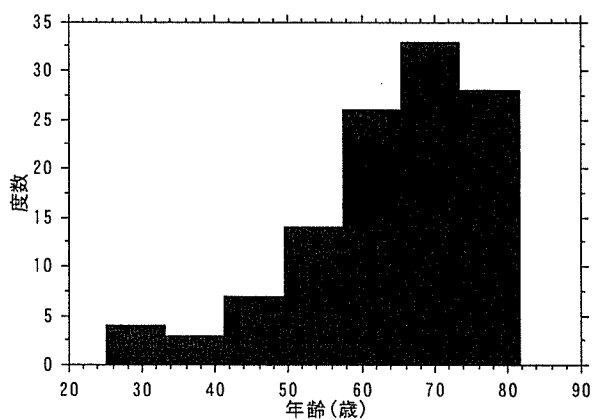
(東大62例、熊本大46例、神戸大15例、佐賀大10例)



2. エントリー患者基本データ (詳細未着の18例を除く)

(1) 性別 男性 78名、女性 36名

(2) 年齢 64.1 ± 12.7 歳 (25~81歳)



(3) 緑内障病型

原発開放隅角緑内障	48 例
正常眼圧緑内障	35 例
嚢性緑内障	7 例
原発閉塞隅角緑内障	10 例
続発緑内障	9 例
発達緑内障	6 例

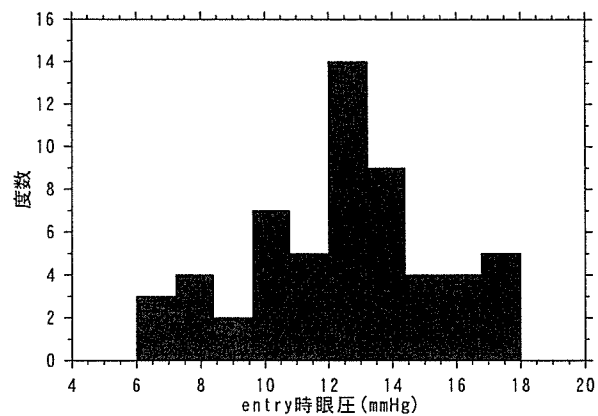
(4) 手術歴 (レーザー含)

0 回 : 33 例、1 回 : 44 例、2 回 : 20 例、3 回 : 6 例、4 回 : 4 例、5 回 : 3 例、6 回 : 1 例、7 回 : 1 例

(5) 眼圧

無治療時眼圧 25.0 ± 11.0 ($14-62$) mmHg (42 例不明)

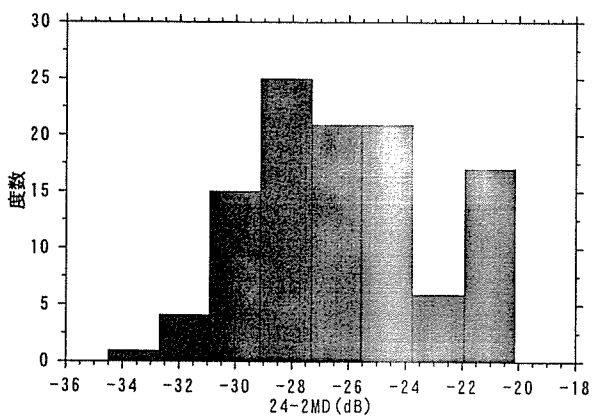
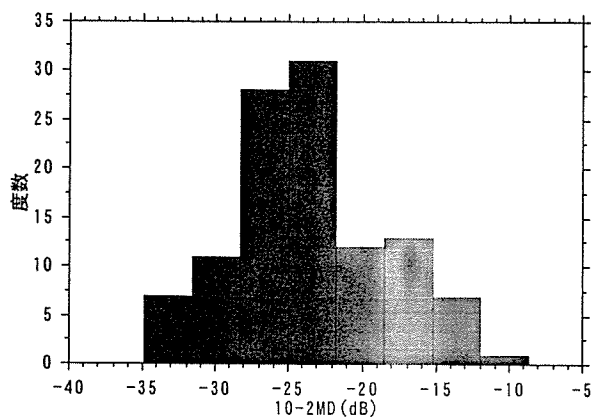
エントリー時眼圧 12.4 ± 3.0 (6-18) mmHg (東大分のみ)



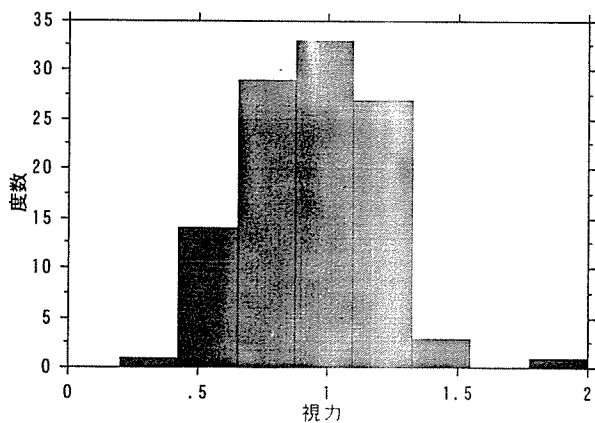
(6) 視野

ハンフリー 10-2 MD -23.41 ± 5.77 ($-34.92 - 8.65$) dB

24-2 MD -26.09 ± 3.55 ($-32.51 - 20.15$) dB



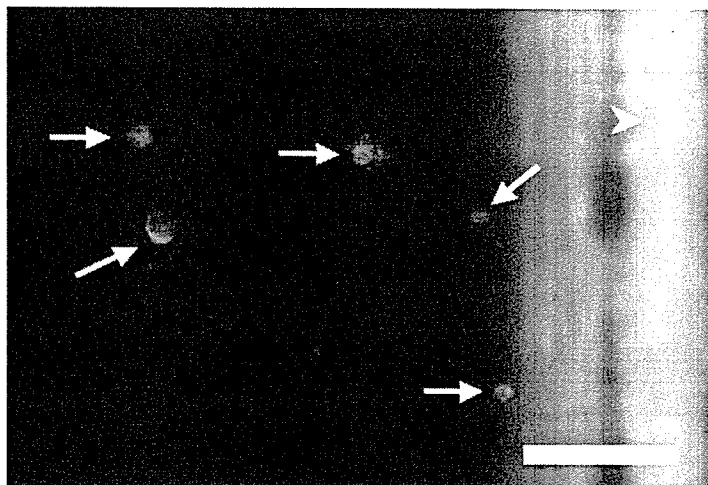
(7) 視力



(4) 緑内障動物モデルおよび分子生物学的研究

1. RGC初代培養系の確立

Fig 1



培養細胞がRGCであるかを検討するために、抗Thy1抗体で染色を行い確認を行ったところ、（緑：抗thy1抗体陽性細胞、赤：核染色）92.5%がRGCであった。従って、本実験系は極めて高いRGC初代培養系であるといえる。

2. 低酸素による細胞死のパターン（図2，3）

Fig 2

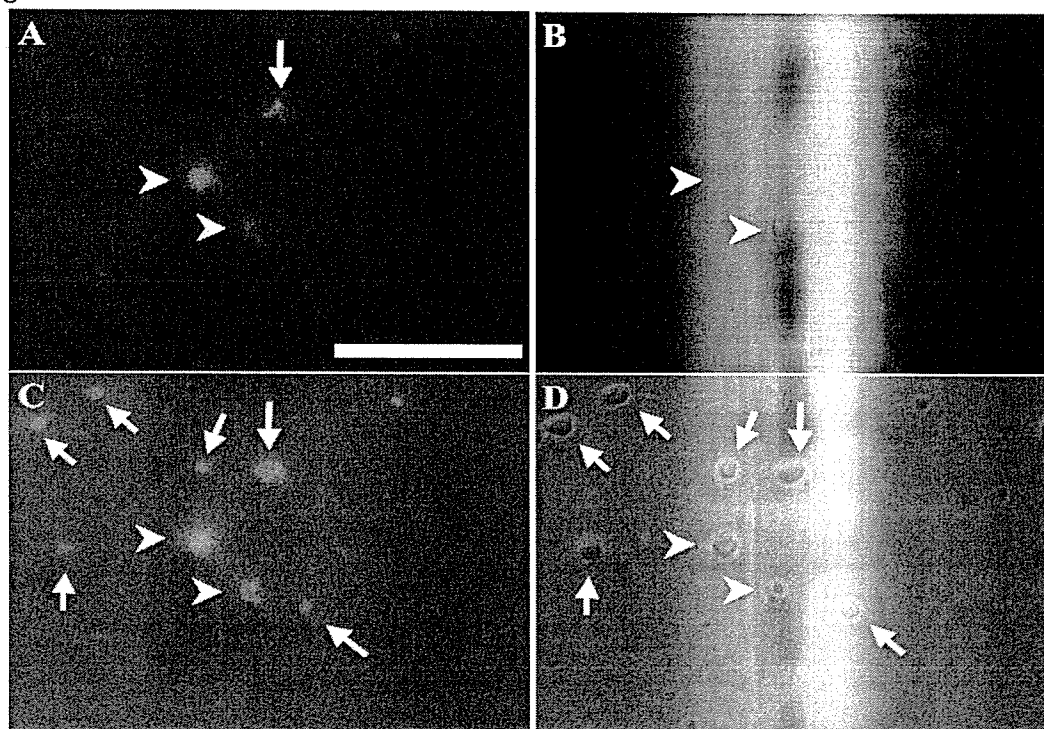
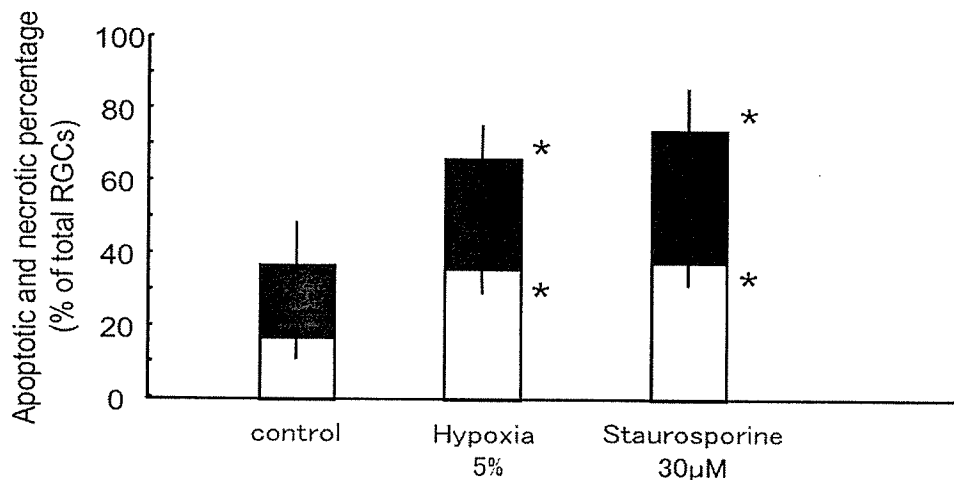


図2に培養RGCの低酸素2時間後の状態を示す。AはannexinVによりアポトーシス細胞およびネクローシス細胞が染色されている。Bはpropidium iodideにより細胞膜が破壊された細胞の細胞核が染色され、ネクロ

ーシス細胞が染色されている。CではHoechst33342により全細胞の核が染色されている。従って、白矢印がアポトーシス細胞、矢頭がネクローシス細胞、黄矢印が生存細胞を示す。この方法によりスタウロスポリンを細胞死惹起薬のコントロールとして細胞死を検討したのが図3である。

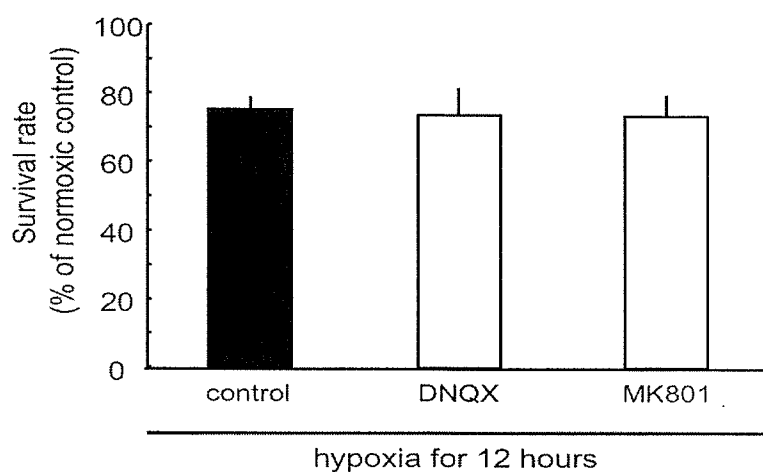
Fig 3



低酸素負荷により $23.0 \pm 8.2\%$ staurosporineにより $36.1 \pm 11.6\%$ がアポトーシスをおこし、コントロール $19.9 \pm 12.1\%$ より有意に増加した ($n=8$, $p < 0.05$ by Dunnet test)また、低酸素負荷により $36.1 \pm 11.6\%$ staurosporineにより $37.6 \pm 6.8\%$ がネクローシスをおこし、コントロール $16.8 \pm 6.1\%$ より有意に増加した ($n=8$, $p < 0.05$ by Dunnet test)。本低酸素負荷実験系では両方の細胞死が起こっていることが判明した。

3. 低酸素負荷による細胞死へのグルタミン酸受容体の関与

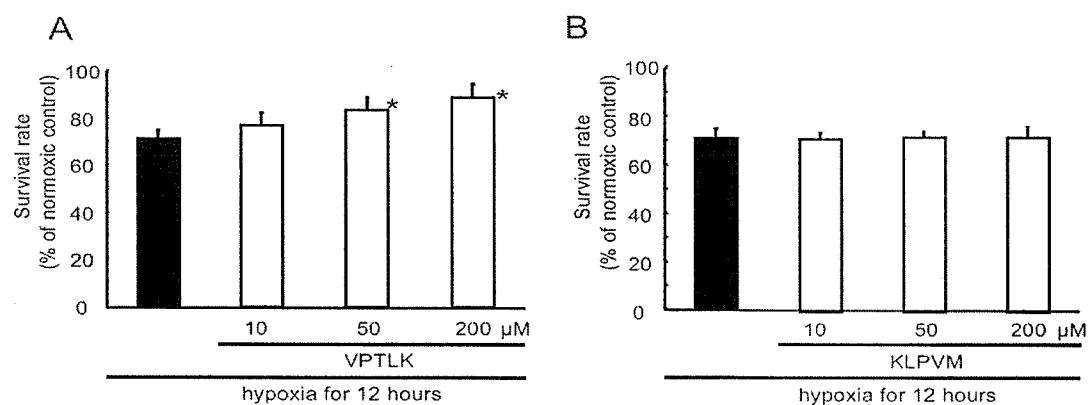
Fig 4



細胞死にはグルタミン酸受容体を介したカルシウムイオン流入の関与が示唆されているが、本実験系ではNMDAおよびAMPA/KAチャネル拮抗薬により細胞死の割合は変化がなかった。

4. BIPによる低酸素負荷による細胞死の抑制効果

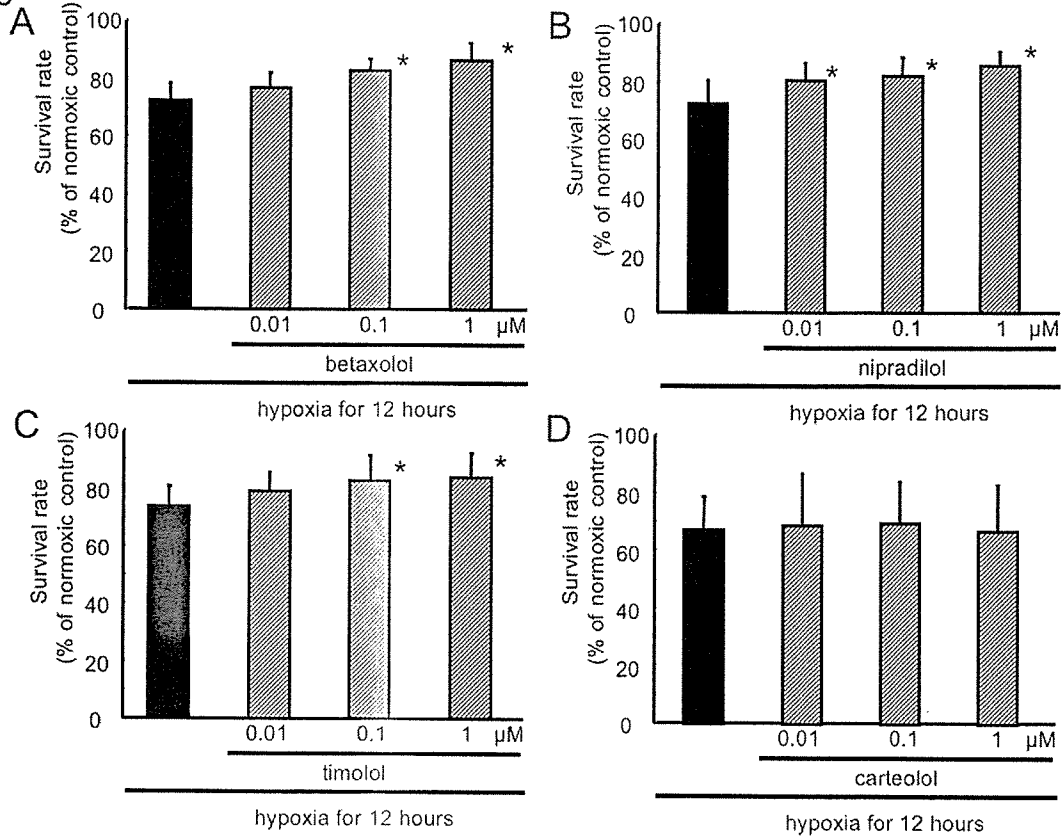
Fig 5



低酸素負荷に対しBIPのactive peptideであるVPTLKは濃度依存性の細胞死抑制効果を示したが、negative control peptideは効果がなかった。

5. 4種のβ遮断薬による低酸素負荷に対する細胞死の抑制効果

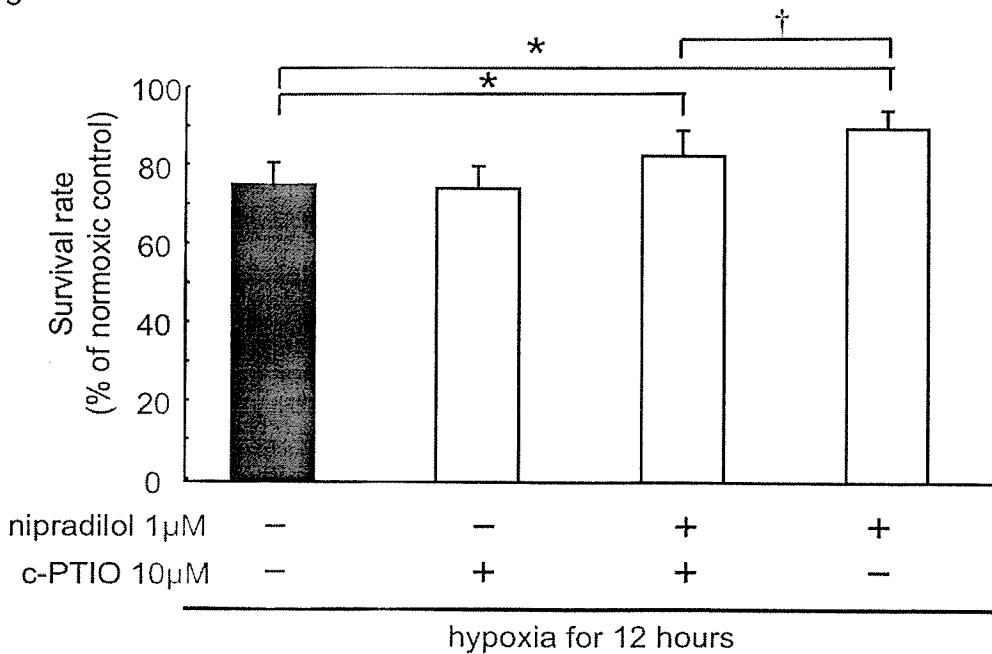
Fig 6



ベタキソロール、ニプラジロール、チモロールは濃度依存性に0.01μMの濃度から細胞死の抑制効果を示した。しかしカルテオロールは細胞死の抑制効果を示さなかった。

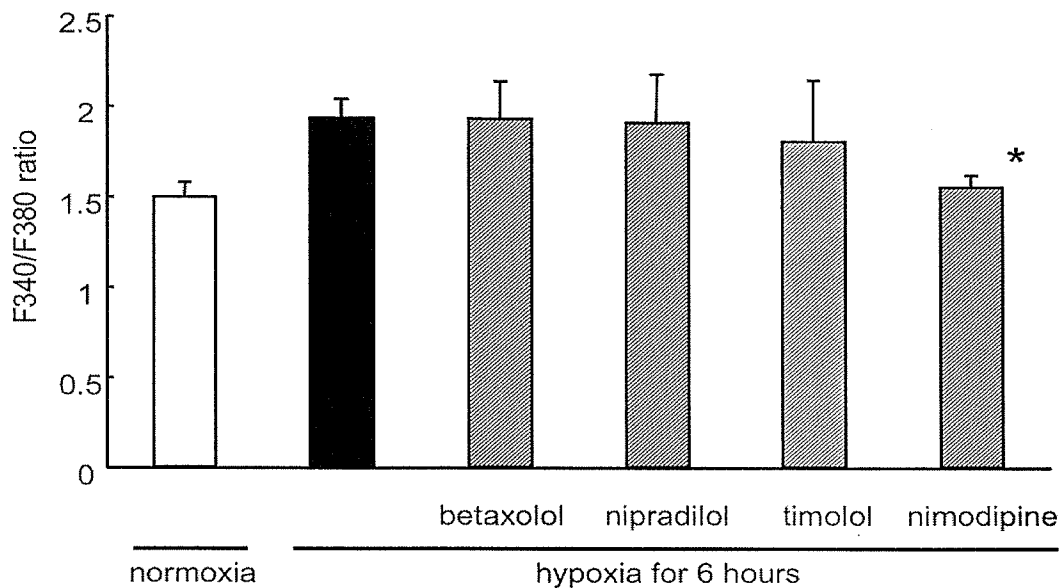
さらに、ニプラジロールはNOドナーであることからNO阻害薬のcPTIOの添加効果を検討したところ (図7) ニプラジロールの細胞死の抑制効果を部分的に減少させた。

Fig 7



また、これらβ拮抗薬はカルシウムイオン流入を抑制する効果もあるといわれていることから、細胞内カルシウム濃度を検討した（図8）。

Fig 8



しかし、細胞死の抑制効果のある3種薬剤はいずれも有意な細胞内カルシウム濃度抑制効果がなかった。一方コントロールとして用いたカルシウムチャンネル拮抗薬のニモジピンでは有意に細胞内カルシウム濃度上昇抑制効果を示した。

D. 考察

(4) 緑内障動物モデルおよび分子生物学的研究

低酸素による細胞死には、アポトーシスとネクローシスの双方の細胞死が関与しているが、グルタミン酸受容体は関与がなく、主にアポトーシスの主経路であるミトコンドリア経路が働いていることが、BIPペプチドにより初めて検討された。臨床的に眼圧下降薬としてしようされているベタキソロールは弱いカルシウムチャンネル拮抗作用があり、またニプラジロールはNO放出により、神経保護作用を呈する可能性があるが、今回チモロールも含め各薬剤低酸素負荷に対し同等の神経保護作用を呈した。しかし、その作用はカルシウムイオン流入の抑制効果や、NOの放出だけでは十分に説明できず、直接的なβブロッカーの神経保護作用が存在すると考えられたが、現在のところ判明せず今後の検討を要する。点眼により十分量が後眼部に到達することが判明すれば、眼圧下降作用以外の神経保護作用も期待できることが示唆された。

E. 結論

(4) 緑内障動物モデルおよび分子生物学的研究

今回検討した4種類の交感神経作動眼圧下降薬のうち、3種は低酸素負荷に対するラット網膜神経節細胞死を軽減させた。交感神経作動性眼圧下降薬は眼圧下降効果以外に網膜神経節細胞に直接作用し低酸素によ

る細胞死を抑制する可能性が示された。従って眼圧下降以外にも臨床投与の際に付加価値が存在すると思われる。また、低酸素による細胞死のシグナルとしてミトコンドリア経路のBaxを介した経路が強く働いていることから、将来的に細胞死のシグナルを直接抑制する薬剤の開発も視野に入れるべきであると考えた。

F. 健康危険情報

(分担研究報告書には記入せずに、総括研究報告書にまとめて記入)

G. 研究発表

1. 論文発表

Yi-Ning Chen, Hideyuki Yamada, Wei Mao, Shigemi Matsuyama, Makoto Aihara, Makoto Araie. Hypoxia-Induced Retinal Ganglion Cell Death and the Neuroprotective Effects of Beta-adrenergic Antagonists Brain Research 2007 in press.

2. 学会発表

2006 ARVO meeting, Hypoxia-Induced Retinal Ganglion Cell Death and the Neuroprotective Effects of Beta-adrenergic Antagonists

ラット網膜神経細胞障害モデルに対するBax Inhibitory Peptideの神経保護効果、大橋正明(東京都老人医療センター), 齋藤慎一郎, 陳逸寧, 相原一, 新家眞, 日本眼科学会雑誌(0029-0203)110巻臨増 Page142(2006.03)

低酸素誘発ラット網膜神経節細胞死に対するKu70ペプチドの神経保護効果、陳逸寧(東京大学), 相原一, 新家眞, 松山茂実, 日本眼科学会雑誌(0029-0203)109巻臨増 Page146(2005.02)

低酸素負荷ラット網膜神経節細胞死に対する緑内障点眼薬の影響、陳逸寧(東京大学), 山田秀之, 相原一, 新家眞, 日本眼科学会雑誌(0029-0203)108巻臨増 Page292(2004.03)

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

特になし

厚生労働科学研究費補助金（感覚器障害研究事業）分担研究報告書

COX-2ノックアウトマウス・Thy1-EGFPトランスジェニックマウスを用いた網膜神経節細胞

死の検討

分担研究者 阿部春樹 新潟大学教授

研究要旨

昨今、基本的な生命現象のみならず疾患における病態の解明においても遺伝子改変動物の存在が多く貢献している。我々は緑内障による網膜神経細胞死のメカニズムを探求するにあたり、生体下での評価に有用であると思われる網膜神経節細胞蛍光蛋白発現マウスの作製を行った。さらにこれと他の既存の遺伝子改変マウスとの交配を行い、新たなマウス系統を確立し、目的遺伝子の網膜神経節細胞死のメカニズムへの関与を検討する。

1. COX-2ノックアウトマウス・Thy1-EGFPトランスジェニックマウスを用いた網膜神経節細胞死の検討

A. 研究目的

緑内障は視野欠損を主症候とする慢性進行性疾患であり、組織学的には網膜神経節細胞死に伴う視神経脱落が認められる。緑内障の原因解明には網膜神経節細胞死の生ずるアポトーシスメカニズムの解明が必要である。この点において、動物実験による網膜神経節細胞死の評価が必要となるが、従来の評価方法では同一個体での経時的変化が追えず、定量性が低いと考えられ、より良いモデルマウス作製が必要と考えた。このような背景から、我々は網膜神経節細胞膜表面抗原であるThy-1に蛍光物質を遺伝子導入し、生体下で同一個体の網膜神経節細胞死を評価できる新たなモデルマウスの作製をすでに行った。この網膜神経節細胞蛍光発光トランスジェニックマウス（Thy1-EGFPトランスジェニックマウス）と、プロスタグランジン生合成の律速酵素であるCOX-2のノックアウトマウスを掛け合わせて新たなマウス系統を確立し、網膜虚血負荷時のCOX-2の動態と網膜神経節細胞死の関係を検討することを目的とした。

B. 研究方法

虚血網膜でのCOX-2の発現量を評価するため、ラットを用いて虚血再灌流モデルを作成し、虚血網膜でのCOX-2mRNA・蛋白量を各々RT-PCR法、Western blot法により測定した。次にすでに作成したThy1-EGFPトラン

スジェニックマウスの腹腔内に選択的COX-2阻害剤であるCelecoxibを腹腔内投与後に虚血再灌流モデルを作成し、7日後に網膜進展標本を作製して網膜神経節細胞数を計測し、Celecoxib非注射群と比較した。また、Thy1-EGFPトランスジェニックマウスとCOX-2ノックアウトマウスを交配させ、生まれた仔の尻尾よりDNAを抽出してPCR法によって遺伝子型を確認し、両者の特徴を併せ持つ配合マウスを作製した。

(倫理面への配慮)

動物実験に際しては、Association of Research of Vision and Ophthalmology (ARVO) 決議を順守し十分な倫理的配慮を加えた。

C. 研究結果

ラットの虚血網膜において、虚血負荷1時間後、6時間後といった早期にCOX-2 mRNA・蛋白量の増加が認められ、虚血網膜では早期にCOX-2が誘導されることが示された。またマウス網膜伸展標本での網膜神経節細胞数の計測では、虚血負荷後7日の時点で、Celecoxib投与マウス群では約65%の網膜神経節細胞の損失が認められた。他方Celecoxib投与群では、約38%の損失にとどまり、Celecoxib投与群では非投与群に比して虚血後の網膜神経節細胞死が明らかに抑制されていることが確認された。

また、Thy1-EGFPトランスジェニックマウスとCOX-2ノックアウトマウスを交配させ、生まれた仔の遺伝子型をPCR法によりチェックし、この両者の特徴を併せ持つマウス、つまり網膜神経節細胞が蛍光発光し、さらに遺伝的にCOX-2が欠失したマウスを作製することに成功した。

D. 考察

脳組織において、一過性虚血後や外傷後、アルツハイマー病でCOX-2の発現が上昇して神経細胞死に関与し、COX-2阻害剤の投与により神経細胞死が抑制されることがすでに多数報告されている。網膜においても、脳と同様に一過性虚血後にCOX-2の発現が上昇し、COX-2阻害剤 (Celecoxib) の投与により網膜神経節細胞死が抑制されることが、これまでの実験結果より明らかになった。今後は、現在作製しているThy1-EGFPトランスジェニック・COX-2ノックアウト配合マウスを実験に用いることで、薬理的なCOX-2の阻害のみならず、遺伝的にCOX-2が欠失した動物でも同様に網膜虚血状態での網膜神経節細胞死の程度が抑制されるのか、という点についてさらに研究を行っていく予定である。さらに、網膜神経節細胞が蛍光発色するというこのマウスの利点を生かして、同一個体で経時的に網膜神経節細胞死の程度の観察を行う予定である。

E. 結論

一過性虚血後早期に網膜ではCOX-2が誘導され、網膜神経節細胞死を促進する機構に関与する可能性が示

唆された。今後COX-2遺伝子が欠失したマウスを用いて、さらにこの可能性について検討を加える予定である。また、同様の手法を用いてThy1-EGFPトランスジェニックマウスと既存の種々のノックアウトマウスを掛け合わせ、緑内障モデルを作製することは、標的物質と緑内障を初めとした網膜神経節細胞死に関わる病態との関連を明らかにする上で有用な手法であると考えられる。

G. 研究発表

1.論文発表

なし

2.学会発表

平成18年4月 第110回日本眼科学会総会

COX-2ノックアウトマウス・Thy1-EGFPトランスジェニックマウス配合マウスを用いた網膜神経節細胞死の検討
(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1.特許取得

なし

2.実用新案登録

なし

3.その他

なし

疫学データに基づく狭隅角眼の眼球構造の解析とリスクファクターの検討

分担研究者 澤口昭一 琉球大学教授

研究要旨

閉塞隅角緑内障は欧米に比べアジア諸国で有意に有病率が高いことが知られ、またひとたび急性発作が発症し、適切な処置が遅れば重篤な不可逆的視機能障害に直結する重要な眼疾患のひとつである。沖縄県ではこれまでも閉塞隅角緑内障が多いことが経験的に語られていたが、系統だった疫学調査はこれまでに行われておらず、閉塞隅角緑内障を含む緑内障の有病率やそれによる視機能障害の頻度は不明のままであった。今回、沖縄県久米島町において40歳以上の全住民を対象に緑内障を中心とした眼疾患に関する疫学調査を実施した。平成18年度中に現地調査はほぼ終了し、今後、得られた結果の解析を行っていく。

A. 研究目的

沖縄県では緑内障の病型のうち閉塞隅角緑内障の頻度が高いことを報告した。沖縄県を代表する有人離島である久米島町において40歳以上の全住民を対象に緑内障を中心に失明につながる眼疾患の有病率について検討する。また緑内障については最新の眼科検査機器を用いてその病因についても検討する。

B. 研究方法

検診を始める前に、法律専門家を含めて久米島町住民の代表と個人情報保護、プライバシーの保護などを話し合い、これらを遵守することで了解を得て合意文書を作成した。本研究の遂行に久米島町役場の協力と沖縄県離島医療組合の協力が得られることを確認した。また検診は本人の自由意思で参加すること、また検診の際には文章で同意を得ることを確認した。

眼科一般検査、緑内障診断に必要な検査、特殊検査を行った。検診はスクリーニングの1次検診と、診断確定のための2次検診が行われた。

検診で得られた超音波生体顕微鏡による前眼部断層像の定量的解析のためのオリジナルソフトウェアを新規開発した。

（倫理面への配慮）

上記のように、検診開始前に法律専門家を含めて久米島町住民の代表と個人情報保護、プライバシーの保護などを話し合い、これらを遵守することで了解を得て合意文書を作成した。本研究の遂行に久米島町役場の協力と沖縄県離島医療組合の協力が得られることを確認した。また検診に際し、受診者全員から文章によ

る同意を得て研究を遂行した。

C. 研究結果

1. 受診率：81.23%
2. 全緑内障有病率：約10%
3. 閉塞隅角緑内障：約3%
4. 急性閉塞隅角緑内障：0.6%
5. 開放隅角緑内障有病率 約4%（正常眼圧緑内障 約3%強）
6. その他の緑内障 3%。
7. 閉塞隅角緑内障予備軍の頻度

現在最終診断の確定のための検討を行っている。

D. 考察

日本本土で2000年~2001年に行われた多治見スタデーにおける緑内障有病率は40歳以上の成人人口の約5%であった。本研究では約10%であり、2倍の有病率であった。また多治見スタデーでは正常眼圧緑内障の有病率が3.7%であり、本邦における緑内障病型としては非常に頻度の高いことが報告された。一方、沖縄県ではこの正常眼圧緑内障の有病率は多治見スタデーに比べ若干少ないものの、ほぼ同程度であり、諸外国に比べその有病率は非常に高いことが確認された。多治見スタデーでは閉塞隅角緑内障有病率は0.6%であったが、今回の久米島スタデーでは3%強であり、正常眼圧緑内障に若干及ばないものこれまでの多治見スタデーを含めた諸外国の報告に較べきわめて高いことが証明された。

E. 結論

緑内障の2大病型として開放隅角緑内障と閉塞隅角緑内障が知られている。沖縄県では閉塞隅角緑内障の有病率が本邦および諸外国に比べ非常に高いことを証明できた。閉塞隅角緑内障はレーザー治療、早期の白内障手術で治癒させることが可能であり、適切なスクリーニング方法の開発と臨床応用が求められる。

現在、そのスクリーニング方法として今回の検診で行った超音波生態顕微鏡(UBM)と走査型前房検査装置(SPAC)の解析と検討を行っているところであり、その結果についても今後報告の予定である。

G. 研究発表

1.論文発表

なし

2.学会発表

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

シンポジウム「閉塞隅角緑内障のあたらしい動き」澤口昭一：久米島検診で見えてきた閉塞隅角緑内障、第17回日本緑内障学会 16巻 73ページ 2006年：発表内容は閉塞隅角緑内障の発症予備軍（危険

群)の頻度である。もっとも単純な細隙灯顕微鏡検査による閉塞隅角緑内障予備軍の頻度は多治見スタデーでは5.3%であったが久米島スタデーでは約28%であり6倍の頻度であった。性差と加齢による変化についても報告した。

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1.特許取得

超音波生体顕微鏡の定量的解析法について特許申請予定。

2.実用新案登録

なし。

3.その他

なし。

網膜神経細胞死における小胞体ストレスの関与

分担研究者 原 英彰 岐阜薬科大学教授

研究要旨

近年、アルツハイマー病などの神経変性疾患において、小胞体ストレスと神経細胞死との関連性が指摘され、神経変性疾患における小胞体ストレスの関与が注目されている。一方、緑内障をはじめとする網膜神経細胞死における小胞体ストレスの関与についてはほとんど明らかにされていない。マウス硝子体内にNMDAを投与すると網膜障害に先行して小胞体ストレスが誘導された。さらに、tunicamycinの硝子体投与により小胞体ストレスを誘導することにより網膜神経細胞死が観察された。以上、網膜神経細胞死に小胞体ストレスが関与していることが示唆された。

A. 研究目的

近年、アルツハイマー病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症(ALS)などの神経変性疾患において、小胞体ストレスと神経細胞死との関連性が指摘され、神経変性疾患における小胞体ストレスの関与が注目されている¹⁾。一方、緑内障をはじめとする網膜神経細胞死における小胞体ストレスの関与についてはほとんど明らかにされていない。

B. 研究方法

小胞体ストレス条件下においてスプライシングを受けるX-box binding protein-1 (XBP-1)遺伝子の下流に蛍光蛋白質VENUS遺伝子を結合させた遺伝子(XBP-1-VENUS fusion gene)を組み込んだ遺伝子改変(Tg)マウス(Endoplasmic Reticulum Stress Activated Indicator mouse; ERAI Tgマウス)²⁾を用いて網膜障害時における小胞体ストレスの可視化について検討した。すなわち、本マウスは小胞体ストレスにより蛍光蛋白質を発現し、生体のどの細胞に小胞体ストレスが誘導されているかをビジュアルに検出することができる。

ERAI Tgマウス及び野生型マウス(C57BL/6)をイソフルレン麻酔下でN-methyl-d-aspartate (NMDA; 40 nmo l) またはtunicamycin (0.1及び1 μ g)を硝子体内に投与した。硝子体内投与24または72時間後に眼球を摘出し、網膜伸展標本または薄切標本を作製し蛍光顕微鏡下に観察した。

C. 研究結果

ERAI TgマウスにNMDAを硝子体内投与することにより、24及び72時間後にXBP-1-venusの発現による蛍光が

網膜において観察され、とくに網膜内層(網膜神経節細胞層及び内網状層)において強い蛍光が認められた。すなわち、NMDA投与により組織学的な形態変化が認められるより早期に小胞体ストレスが誘導された(図1A及びB)。つぎに小胞体ストレスを誘導するtunicamycinを硝子体内投与し、網膜を観察したところ、強い蛍光の発現が認められた(図1C)。

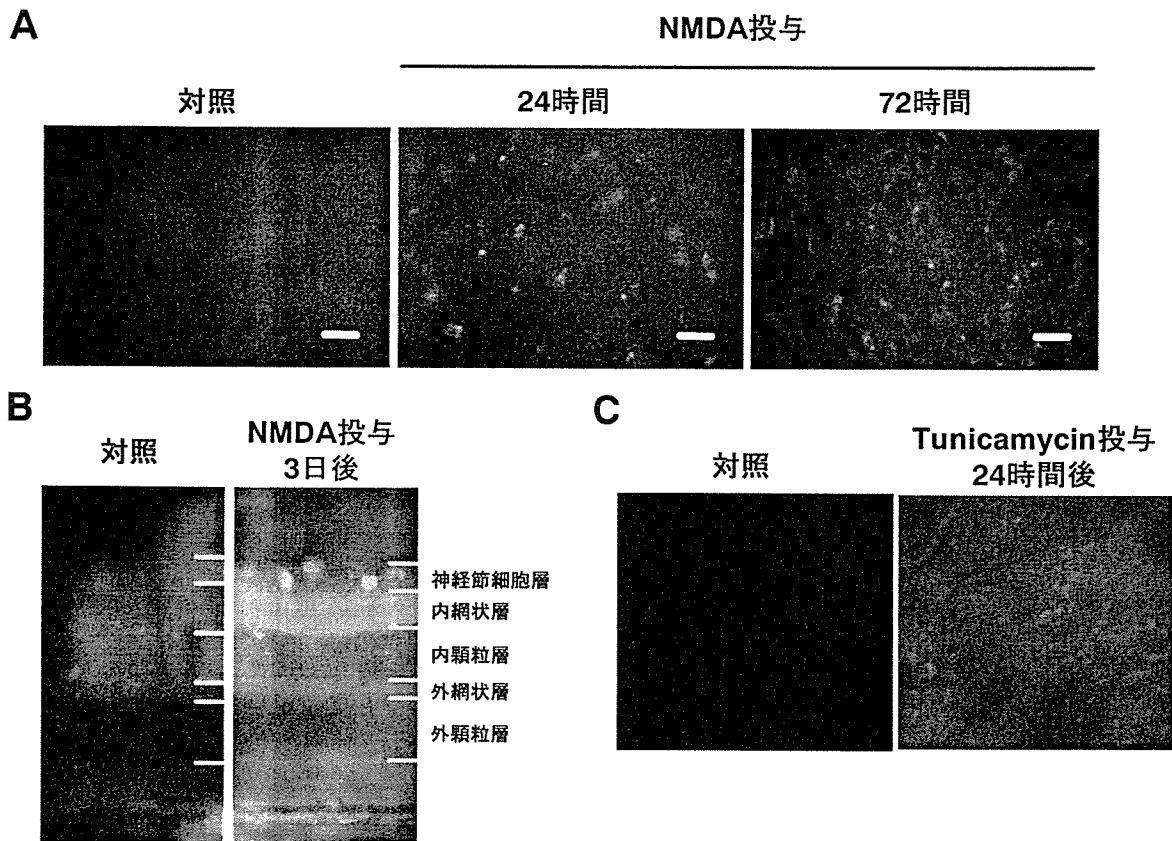


図1 ERAIマウス網膜におけるNMDA及びtunicamycin投与による小胞体ストレスの可視化。

NMDA硝子体内投与24及び72時間後の網膜伸展標本(A) 及び網膜薄切(B)の蛍光像及びtunicamycin (0.1 μ g/ml)硝子体内投与24時間後の網膜伸展標本の蛍光像(C)。NMDA投与24及び72時間、tunicamycin投与24時間後に網膜神経節細胞層中の細胞及び内網状層に強い蛍光の発現が認められた。

D. 考察

マウス硝子体内にNMDAを投与すると網膜障害に先行して小胞体ストレスが誘導された。さらに、tunicamycinの硝子体投与により小胞体ストレスを誘導することにより網膜神経細胞死が観察された。

E. 結論

以上、網膜神経細胞死に小胞体ストレスが関与していることが示唆された。

引用文献

Aridor, M., and Balch, W.E. Nat Med (1999) 5, 745-751.

Iwawaki, T., Akai, R., Kohno, K., and Miura, M. Nat Med (2004)10, 98-102.

G. 研究発表

1. 論文発表

投稿中

2. 学会発表

Masamitsu Shimazawa, Yuta Inokuchi, Yasushi Ito, Hiroshi Murata, Makoto Aihara, Masayuki Miura, Makoto Araie, and Hideaki Hara. Inhibiting a double strand RNA-dependent protein kinase protect s cells against endoplasmic reticulum stress-induced neuronal damage. Neuroscience 2006, Atlanta.

Masamitsu Shimazawa, Yuta Inokuchi, Yasushi Ito, Masayuki Miura, and Hideaki Hara. Endoplasmic reticulum stress participates in retinal cell death. 第49回日本神経化学会大会(2006), 名古屋.

原 英彰、嶋澤雅光、井口勇太、伊藤保志、村田博史、相原一、三浦正幸、新家眞 シンポジウムI 網膜神経細胞死における小胞体ストレスの関与. 第26回日本眼薬理学会(2006), 福井.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし