

論 文 内 容 要 旨

題目 Renin-angiotensin system regulates neurodegeneration in a mouse model of normal tension glaucoma  
(レニン-アンジオテンシン系は正常眼圧緑内障モデルマウスにおける神経変性を制御する)

著者 K Semba, K Namekata, X Guo, C Harada, T Harada and Y Mitamura  
平成 26 年 7 月 17 日発行 Cell Death and Disease 第 5 巻  
e1333 に発表済

内容要旨

緑内障は世界の失明原因の第二位を占めており、本邦においては中途失明原因の第一位となっている。緑内障は進行性の網膜神経節細胞とその軸索の変性を特徴とする神経変性疾患であり、障害部位に対応した視野障害を生じる。これまでは高眼圧が主な要因と考えられていたが、近年行われた大規模疫学調査により本邦における 40 歳以上の緑内障有病率は約 5% であり、そのうちの約 70% は眼圧が正常範囲内にある正常眼圧緑内障であることが明らかになった。緑内障の治療は正常眼圧緑内障においても眼圧下降療法が中心であるが、眼圧下降に苦慮する例や十分な眼圧下降が得られても病期が進行する例も多く存在している。そのため眼圧以外の要因解明や、新たな神経保護治療の開発が求められている。

緑内障の要因の一つと考えられているものに軽度かつ慢性的なグルタミン酸濃度の上昇（グルタミン酸毒性）がある。グルタミン酸は網膜において光の情報量を脳に伝える重要な伝達物質であるが、過剰に存在すると神経細胞に傷害をもたらすことが知られている。したがって細胞外のグルタミン酸濃度はグルタミン酸輸送体により厳密に制御されている。グルタミン酸輸送体のうち、Müller グリア細胞に存在する glutamate/aspartate transporter (GLAST) や網膜神経節細胞に存在する excitatory amino acid carrier 1 (EAAC1) を欠損させたマウスは眼圧上昇を伴わずに網膜神経節細胞の変性を起こすことから、正常眼圧緑内障モデルマウスとして注目されている。また、その変性メカニズムとしてはグルタミン酸毒性と酸化ストレスの関与が確認されている。

我々は EAAC1 欠損マウスの網膜を調べる過程で、アンジオテンシン II タイプ 1 受容体 (AT1-R)、Toll-like receptor 4 (TLR4) および一酸化窒素 (NO) の

## 様式(8)

発現上昇が起きることを発見した。AT1-R はレニン-アンジオテンシン系 (RAS) における主要な受容体であり、TLR4 は免疫反応に関わる Toll 様受容体の一つであり Lipopolysaccharide (LPS) をリガンドとする。これらはともに緑内障患者において遺伝子多型が明らかになっており、緑内障病態に関与する可能性が指摘されている。両者の発現上昇は主に網膜神経節細胞と Müller 細胞で観察され、TLR4 と NO の発現上昇は AT1-R 拮抗薬である candesartan 投与により抑制された。そこで EAAC1 欠損マウスに candesartan を生後 5 週から経口投与して網膜変性に与える影響を検討した。Candesartan 投与群ではコントロール群と比較して網膜神経節細胞死が有意に抑制され、光干渉断層計による経時的な観察においても網膜内層の厚みが保たれていた。多局所網膜電図においては candesartan 投与群で有意に網膜電位が維持されていた。また観察期間を通して、眼圧の有意な変動は認めなかった。以上から candesartan は眼圧非依存性のメカニズムを介した網膜神経保護効果をもつ可能性が示された。

さらに培養 Müller 細胞にアンジオテンシン II (AngII) を投与したところ TLR4 の発現上昇を認めたが、candesartan 投与により抑制された。また、AngII を投与した培養 Müller 細胞ではコントロール群と比較して LPS 刺激による NO の発現上昇を認めたが、candesartan 投与により抑制された。以上の結果から EAAC1 欠損マウスにおいては RAS-TLR4 経路が亢進しており、candesartan はグリア細胞においてもこの経路を抑制することにより、間接的に神経保護効果を発揮する可能性があることが分かった。

## 論文審査の結果の要旨

報告番号	甲医第 <b>1240</b> 号	氏名	仙波 賢太郎
審査委員	主査 玉置 俊晃 副査 井本 逸勢 副査 石澤 啓介		

題目 Renin-angiotensin system regulates neurodegeneration in a mouse model of normal tension glaucoma  
 (レニン-アンジオテンシン系は正常眼圧緑内障モデルマウスにおける神経変性を制御する)

著者 K Semba, K Namekata, X Guo, C Harada, T Harada and Y Mitamura  
 平成 26 年 7 月 17 日発行 Cell Death and Disease 第 5 巻 e1333  
 に発表済  
 (主任教授 三田村 佳典)

要旨 日本における中途失明原因の第一位は緑内障である。40 歳以上の緑内障のうちの約 70%は眼圧が正常範囲内にある正常眼圧緑内障 (normal tension glaucoma : NTG) である。NTG のなかには眼圧下降が得られても病期が進行する例が多く、新たな神経保護療法が求められている。網膜神経節細胞に存在する excitatory amino acid carrier 1 (EAAC1) を欠損させたマウスは、NTG モデルマウスとして注目されている。申請者等は、EAAC1 欠損マウスの網膜機能を詳細に検討して以下の結果を得た。

1) アンジオテンシン II タイプ 1 受容体 (AT1-R)、Toll-like receptor 4 (TLR4) および lipopolysaccharide (LPS) 刺激による inducible nitric oxide synthase (iNOS) の発現上昇が EAAC1 欠損マウスの網膜でおきた。

2) AT1-R と TLR4 の発現上昇は主に網膜神経節細胞と Müller 細胞で観察され、TLR4 と iNOS の発現上昇は AT1-R 拮抗薬である candesartan 投与により抑制された。

3) EAAC1 欠損マウスに candesartan を経口投与すると、コントロール群と比較して網膜神経節細胞死が抑制され、光干渉断層計による経時的な観察において網膜内層厚が保たれていた。多局所網膜電図においては candesartan 投与群で有意に網膜電位が維持されていた。眼圧の有意な変動は認めなかった。

4) 培養 Müller 細胞にアンジオテンシン II (AngII) を投与したところ TLR4 の発現上昇を認めたが、candesartan 投与により抑制された。また、AngII を投与した培養 Müller 細胞では LPS 刺激による iNOS の発現上昇を認めたが、candesartan 投与により抑制された。

以上の結果は candesartan が眼圧非依存性のメカニズムを介した網膜神経保護効果をもつ可能性を示唆するとともに、EAAC1 欠損マウスにおいては renin angiotensin system-TLR4 経路が亢進しており、candesartan はグリア細胞においてもこの経路を抑制することにより、間接的に神経保護効果を発揮する可能性があることを示している。本研究は NTG の新規治療法開発を考える上で新たな知見であり、学位授与に値すると判定した。