

緑内障研究の最前線



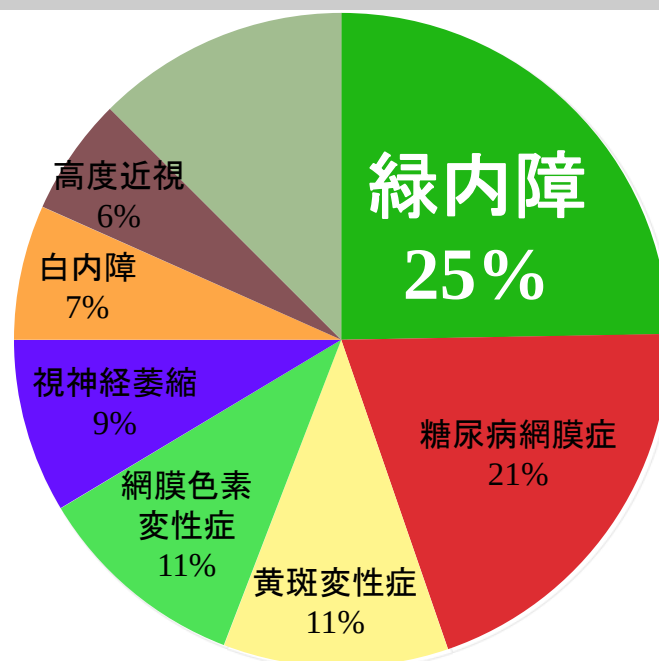
TMDU
東京医科歯科大学

東京医科歯科大学難治疾患研究所分子神経科学
田中光一

平成27年2月20日

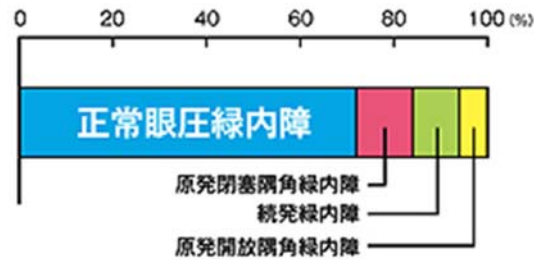
日本の失明原因の内訳

緑内障は失明原因の第1位

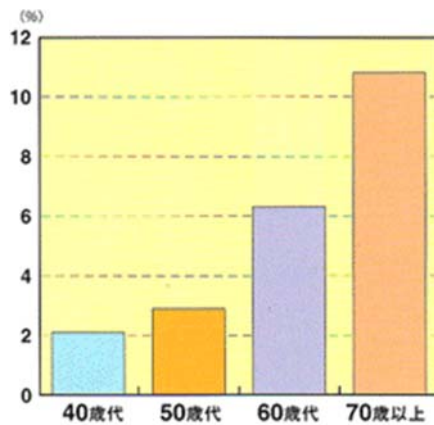


日本の視覚障害者 2004年版より

日本では緑内障の70%が正常眼圧緑内障である



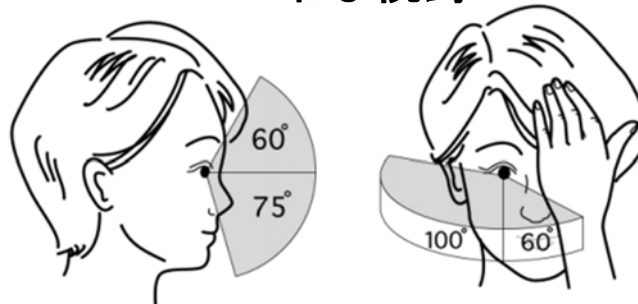
緑内障の有病率は加齢に伴い増加する



緑内障:

徐々に視野(ものが見える範囲)が狭くなる

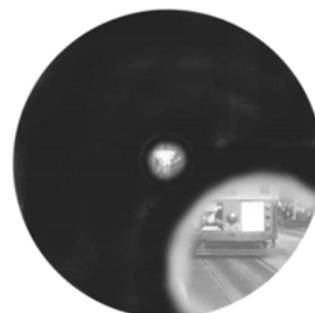
正常な視野



緑内障初期の視野欠損



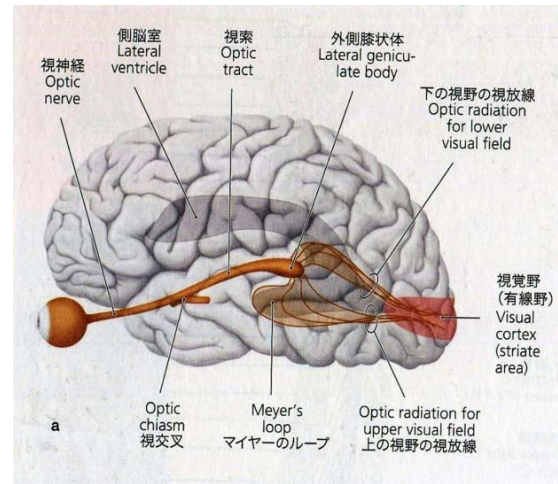
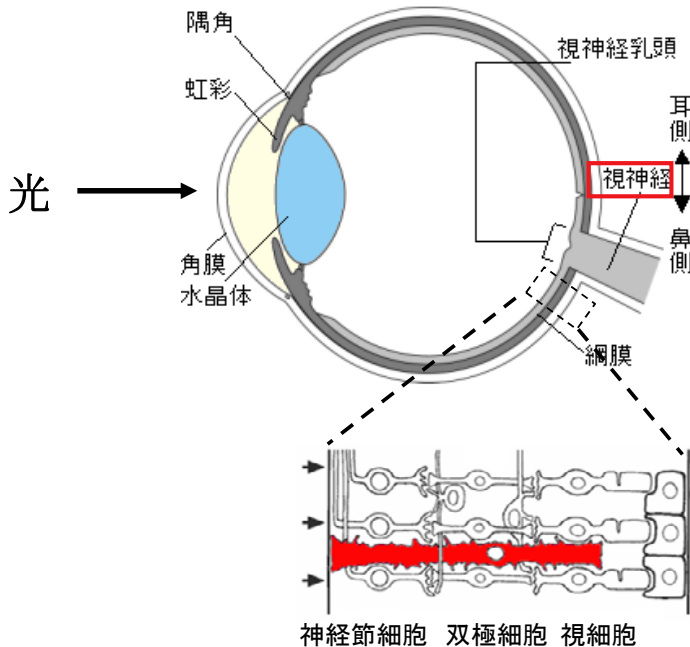
緑内障末期の視野欠損



緑内障:

網膜神経節細胞が障害され、視野が狭くなる病気

神経節細胞は眼に入った光の情報を脳に伝える細胞

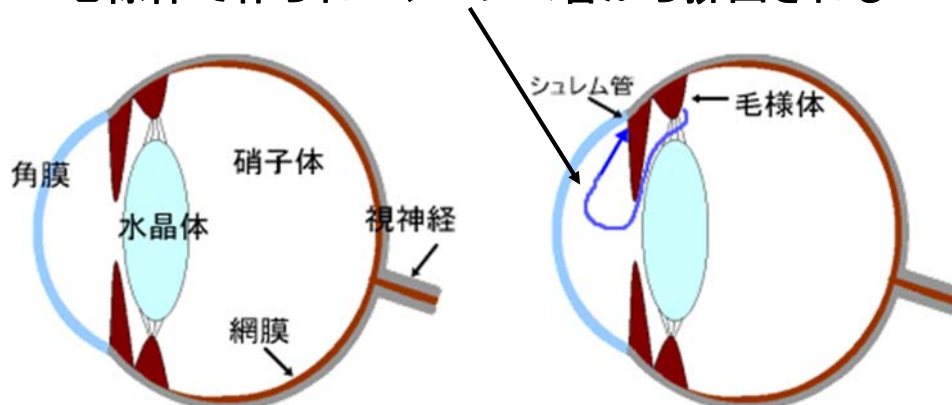


眼圧とは:

眼球内の内圧のことで、房水の量により規定される。正常値は10～21 mmHg

房水(眼の中の血液):

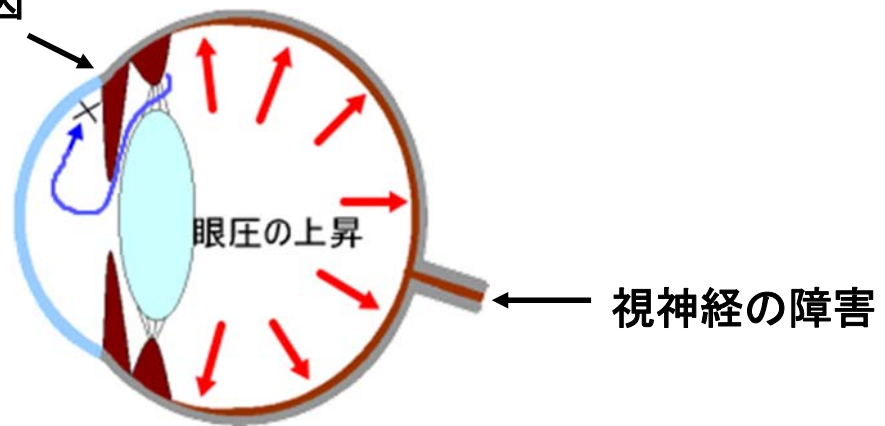
毛様体で作られ→シュレム管から排出される



高眼圧緑内障とは：

眼圧の上昇により神経節細胞・視神経が圧迫、
障害を受けて視機能障害を起こす疾患

房水の排出路の障害が
眼圧上昇の主な原因



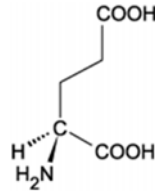
正常眼圧緑内障では、

眼圧が正常なのに何故神経節細胞が変性するのか？

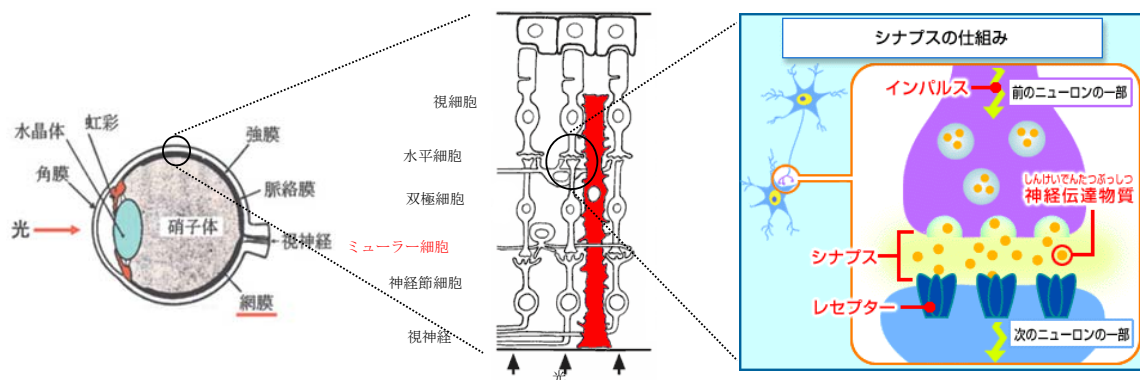
網膜における光の情報伝達

光の情報はグルタミン酸を介し、脳に伝えられる

グルタミン酸：



グルタミン酸は、網膜における
主要な神経伝達物質である



グルタミン酸の2面性

生理的濃度の細胞外グルタミン酸

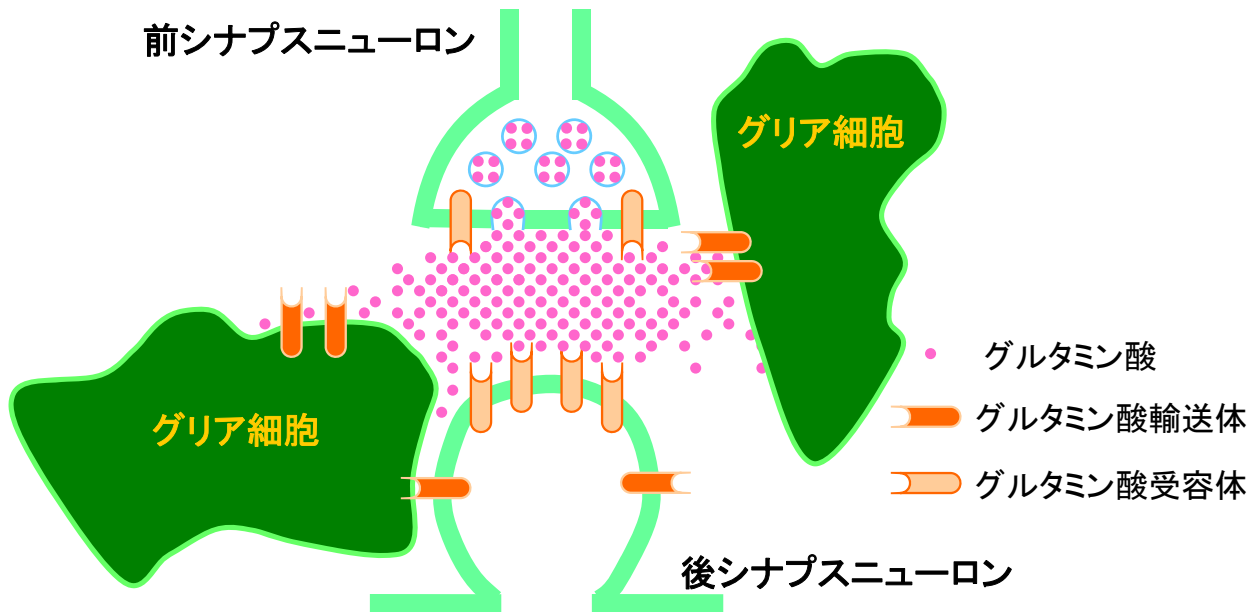
過剰な細胞外グルタミン酸

神経伝達物質

神経毒

細胞外グルタミン酸濃度は、
グルタミン酸輸送体により制御されている

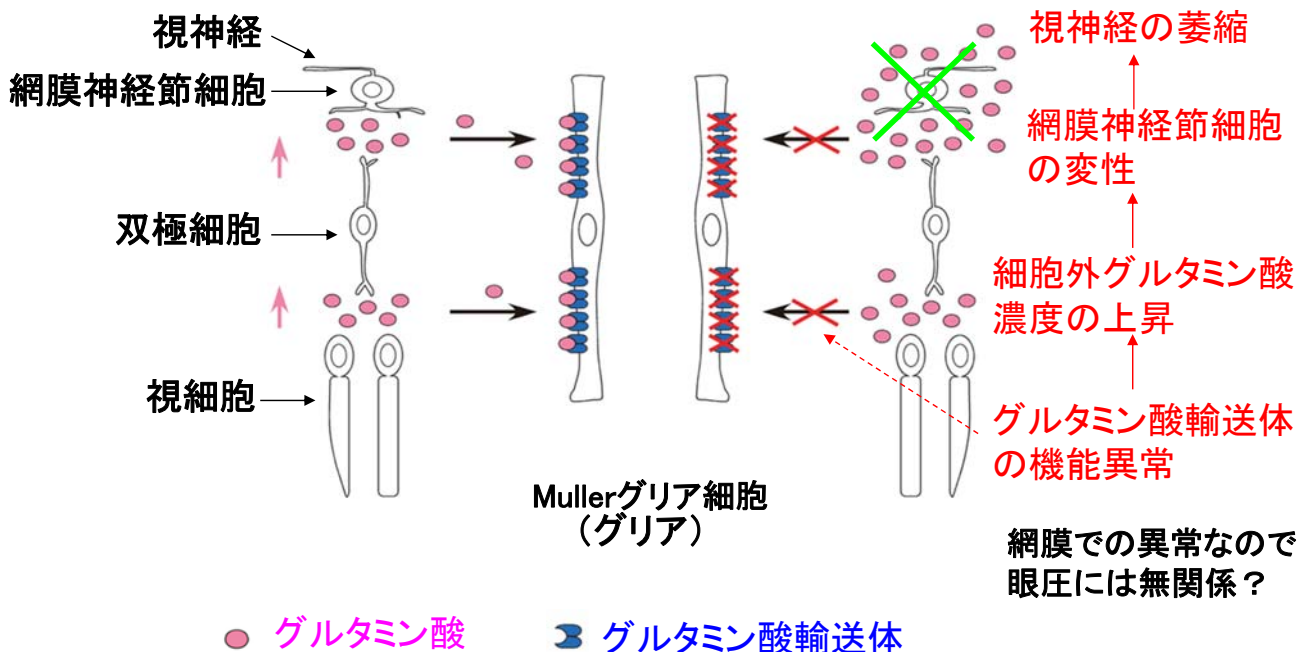
グルタミン酸輸送体の役割



グルタミン酸輸送体は、神経細胞から放出されたグルタミン酸を細胞内に回収し、細胞外グルタミン酸濃度を上昇しないようにする蛋白質である。

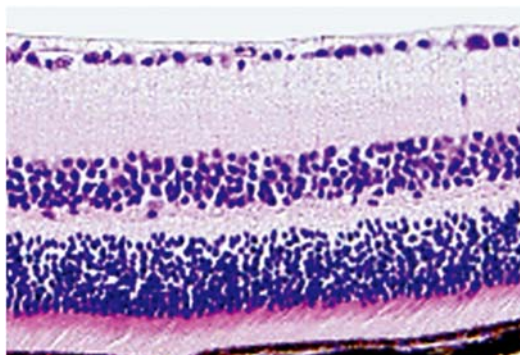
グルタミン酸輸送体の機能異常が 正常眼圧緑内障に関与？

グルタミン酸輸送体が正常に働いていると、細胞外グルタミン酸濃度は低く保たれる

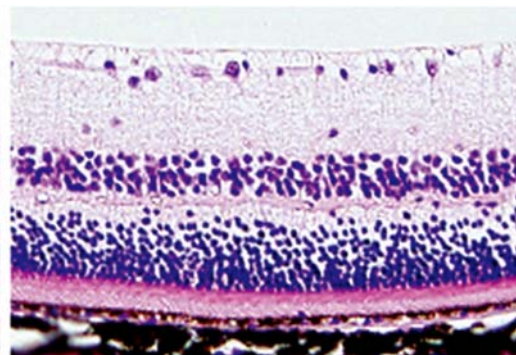


グルタミン酸輸送体 (GLAST) 欠損マウスで 観察された緑内障様の変化

正常マウスの網膜



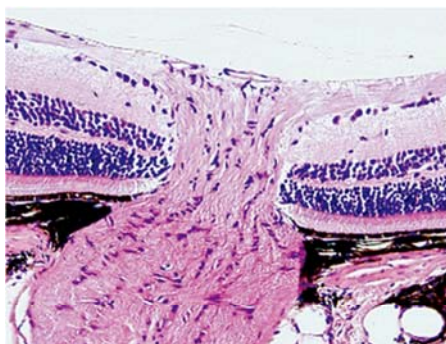
GLAST欠損マウスの網膜



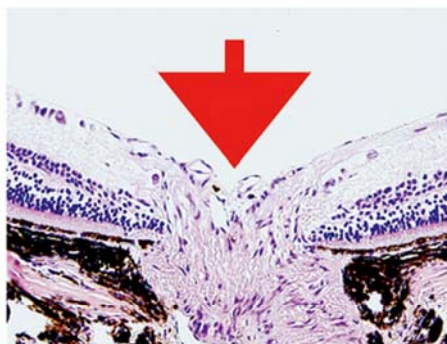
神経節細胞
の減少

グルタミン酸輸送体 (GLAST) 欠損マウスで 観察された緑内障様の変化

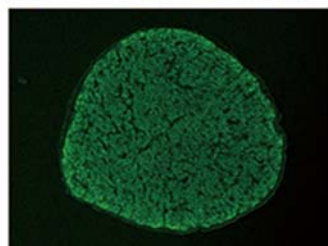
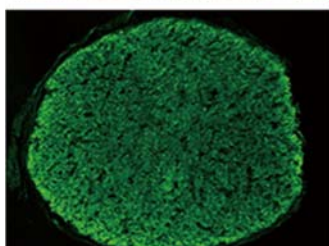
正常マウス



GLAST欠損マウス

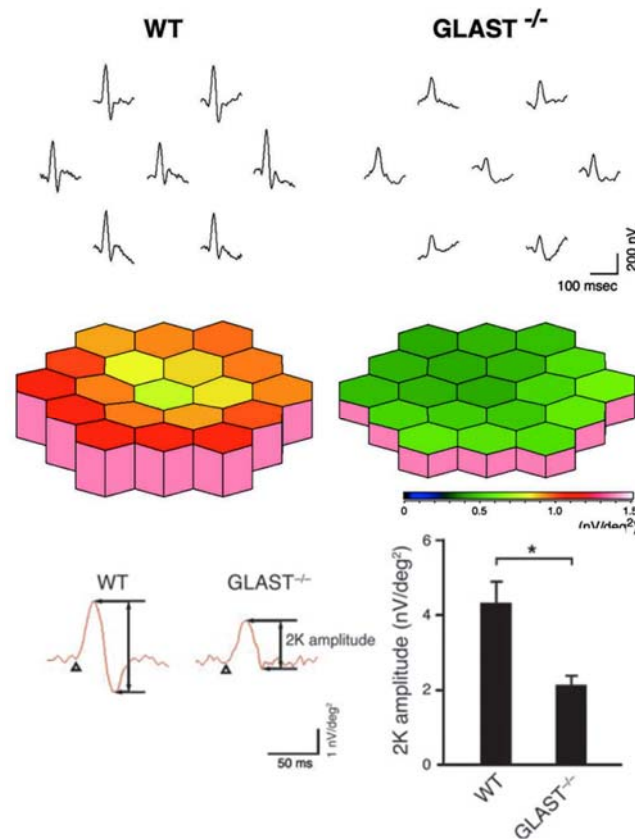


視神経乳頭陥凹
の拡大

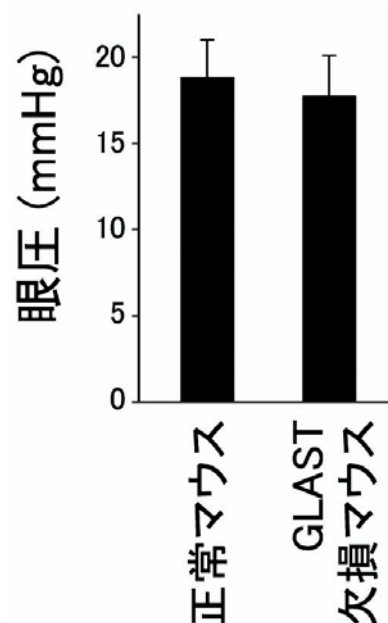


視神経萎縮
(断面積の減少)

グルタミン酸輸送体 (GLAST)欠損マウスの 視覚機能は障害されている

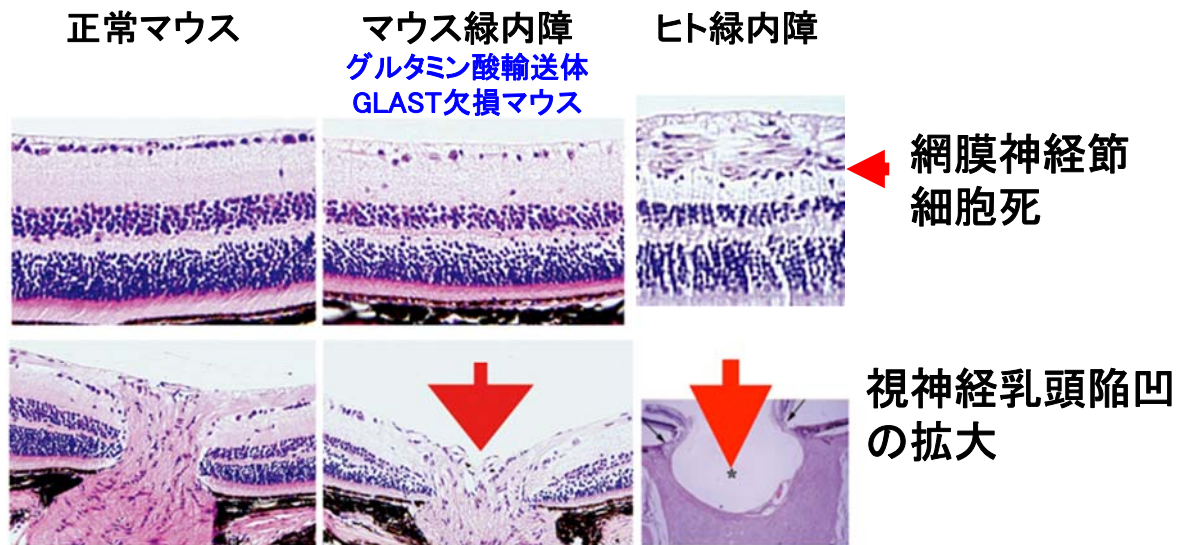


グルタミン酸輸送体(GLAST)欠損マウスの 眼圧は正常である



眼圧の正常値:
10～21ミリメートル水銀柱

世界初の正常眼圧緑内障モデル動物



正常眼圧緑内障モデル動物の確立

平成19年6月22日
読売新聞 朝刊1面

**アルツハイマー治療薬
緑内障の進行抑制**
東京医歯大
動物実験で

日本人の緑内障の予備を、病気のメカニズム解明や新しい治療薬の開発に役立つという。東京医科歯科大の田中光一教授（神経科学）らが成功した。正常眼圧緑内障では世界初のモデル動物で、病気のメカニズム解明や新しい治療薬の開発に役立つという。

緑内障は、視神経が死んで徐々に視野が欠けていく病気。国内では最多の失明原因で、40歳以上の約5%に発症し、患者数は約400万人と推定される。7割が正常眼圧緑内障で、眼球内の圧力が高くなる高眼圧緑内障に比べ治療法の開発が遅れている。

田中教授は「マウスは新薬の開発や評価にも有用だ」と話している。21日付の米医学誌で発表した。

【須田桃子】

緑内障のモデル動物

眼球内の圧力が正常でも発症する「正常眼圧緑内障」と同じ視覚障害があるマウスを作ることにより、東京医科歯科大の田中光一教授（神経科学）らが成功した。正常眼圧緑内障では世界初のモデル動物で、病気のメカニズム解明や新しい治療薬の開発に役立つという。

緑内障は、視神経が死んで徐々に視野が欠けていく病気。国内では最多の失明原因で、40歳以上の約5%に発症し、患者数は約400万人と推定される。7割が正常眼圧緑内障で、眼球内の圧力が高くなる高眼圧緑内障に比べ治療法の開発が遅れている。

田中教授と東京都神経科学総合研究所の原田高幸部門長（眼科学）らは、光の情報を脳に伝える「グルタミン酸」が細胞外で過剰に増えると、神経細胞を死なせる性質があることに着目。グルタミン酸を運んで細胞内に回収し、細胞外の濃度を制御するたんぱく質の機能異常が、緑内障に関係していると考えた。このたんぱく質を作る遺伝子を壊したマウスを調べると、加齢に伴って視覚機能が低下し視神経も萎縮（いしゅく）していたが、眼圧は正常だった。

田中教授は「マウスは新薬の開発や評価にも有用だ」と話している。21日付の米医学誌で発表した。

【須田桃子】

平成19年6月27日
毎日新聞 朝刊

緑内障を克服するには？

- 0.眼圧の低下 →既存の薬
- 1.神経保護薬の開発→網膜神経節細胞の保護薬
- 2. 再生医療 →網膜神経節細胞の再生
- 3. BMIの開発 →人工視覚システムの開発

緑内障を克服するには？

- 0.眼圧の低下 →既存の薬
- 1.神経保護薬の開発→網膜神経節細胞の保護薬
- 2. 再生医療 →網膜神経節細胞の再生
- 3. BMIの開発 →人工視覚システムの開発

エビデンスに基づいた確実な緑内障の治療法： 眼圧の低下

眼房水の産生抑制：

β遮断薬
炭酸脱水酵素阻害剤

眼房水の排出促進：

プロスタグランジン関連薬
交感神経刺激薬
α1遮断薬
副交感神経刺激薬
Rhoキナーゼ阻害薬

緑内障を克服するには？

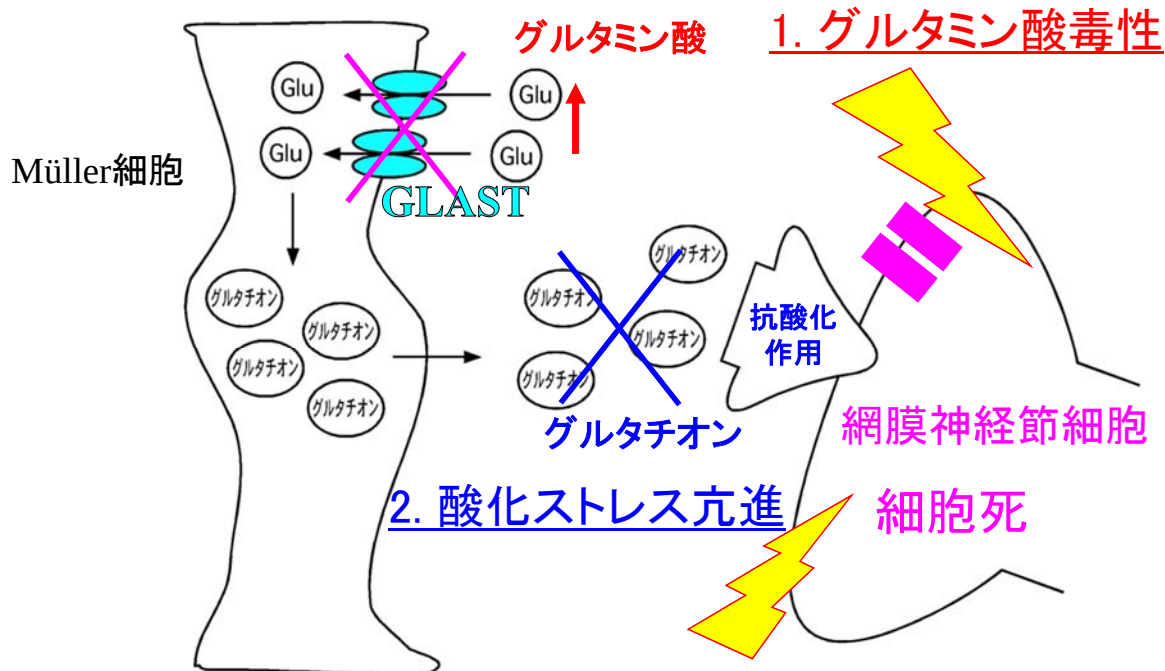
0. 眼圧の低下 → 既存の薬

1. 神経保護薬の開発 → 網膜神経節細胞の保護薬

2. 再生医療 → 網膜神経節細胞の再生

3. BMIの開発 → 人工視覚システムの開発

なぜGLAST欠損マウスで 正常眼圧緑内障が発症するのか？



ヒト緑内障におけるGLAST発現量と グルタチオン濃度の低下

Systemic Reduction in Glutathione Levels Occurs in Patients with Primary Open-Angle Glaucoma

Dotna Gbergel,^{1,2} Helen Rosemary Griffiths,¹ Emma Jane Hilton,^{1,2} Ian Andrew Cunliffe,² and Sarah Louise Hosking^{1,2}

PURPOSE. To assess the level of plasma glutathione in patients with untreated primary open-angle glaucoma.

METHODS. Twenty-one patients with newly diagnosed primary open-angle glaucoma and 34 age- and gender-matched control subjects were subjected to a blood analysis to detect the level of circulating glutathione in its reduced and oxidized forms. The effect of age, gender, and systemic blood pressure on circulating glutathione levels was also analyzed.

RESULTS. Age had a negative effect on the level of both reduced and total glutathione ($P = 0.002$, $r = -0.52$ and $P = 0.002$, $r = -0.52$, respectively) in control subjects but not in patients with glaucoma ($P > 0.05$, $r = 0.27$, and $P > 0.05$, $r = 0.22$, respectively). In the control group, men demonstrated higher levels of both reduced and total glutathione than did women ($P = 0.024$ and $P = 0.032$, respectively). After correction for age and gender influences on blood glutathione levels, patients with glaucoma exhibited significantly lower levels of reduced and total glutathione than did control subjects ($P = 0.010$, $F = 7.24$ and $P = 0.006$, $F = 8.38$, respectively). No differences between study groups were observed in either oxidized glutathione levels or redox index ($P > 0.05$, $F = 0.50$; and $P > 0.05$, $F = 0.30$, respectively).

CONCLUSIONS. Patients with glaucoma exhibit low levels of circulating glutathione, suggesting a general compromise of the antioxidative defense. (*Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2005;46:877-883) DOI:10.1167/iovs.04-0777

IOVS 46:877-883, 2005

Concurrent Downregulation of a Glutamate Transporter and Receptor in Glaucoma

Rita Naskar, Christian K. Vorwerk,¹ and Evan B. Dreyer

PURPOSE. Elevated levels of extracellular glutamate have been implicated in the pathophysiology of neuronal loss in both central nervous system and ocular disorders, including glaucoma. This increase in glutamate may result from a failure of glutamate transporters, which are molecules that ordinarily regulate extracellular glutamate. Elevated glutamate levels can also lead to a perturbation in glutamate receptors. The hypothesis for the current study was that glutamate transporters and/or receptors are altered in human glaucoma.

METHODS. Immunohistochemical analyses of human eyes with glaucoma and control eyes were performed to evaluate glutamate receptors and transporters. These molecules were also assayed in rat eyes injected with glial-derived neurotrophic factor (GDNF).

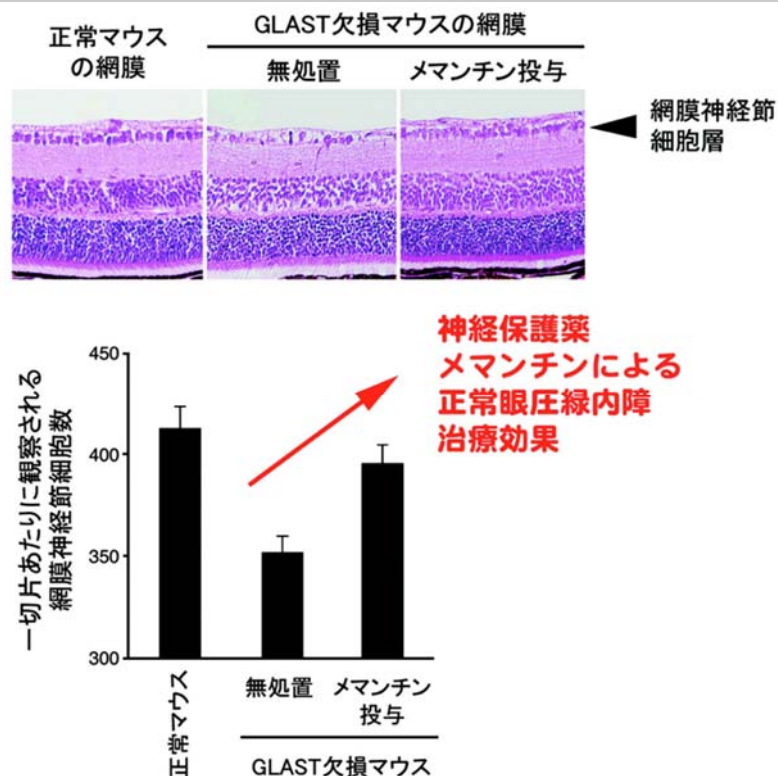
RESULTS. Glaucomatous eyes had decreased levels of both the glutamate transporter, excitatory amino acid transporter (EAAT)-1, and the glutamate receptor subunit N-methyl-D-aspartate (NMDA)-R1. Eyes treated with GDNF had elevated levels of both EAAT1 and NMDAR1.

CONCLUSIONS. The loss of EAAT1 in glaucoma may account for the elevated level of glutamate found in glaucomatous vitreous and lead to a compensatory downregulation of NMDAR1. Inasmuch as GDNF can increase levels of both EAAT1 and NMDAR1, it may be a useful therapeutic approach to restore homeostatic levels of these in glaucoma. (*Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2000;41:1940-1944)

IOVS 41:1940-1944, 2000

グルタミン酸興奮毒性からの保護 (1)

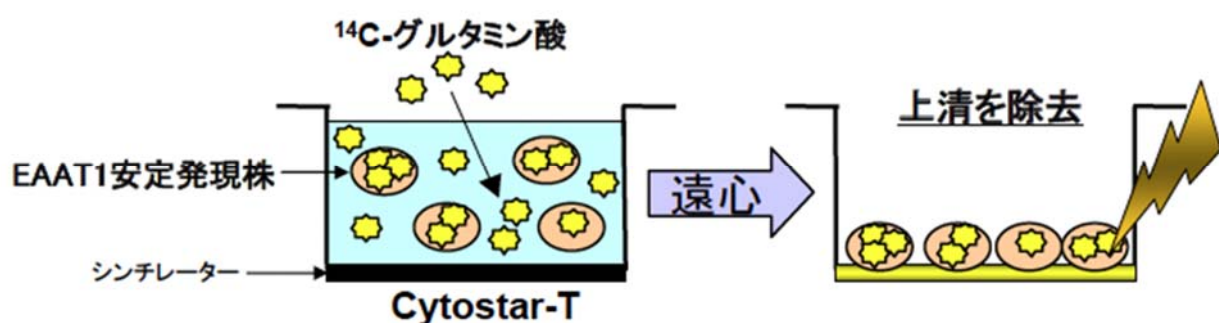
グルタミン酸受容体阻害薬の探索



グルタミン酸興奮毒性からの保護 (2)

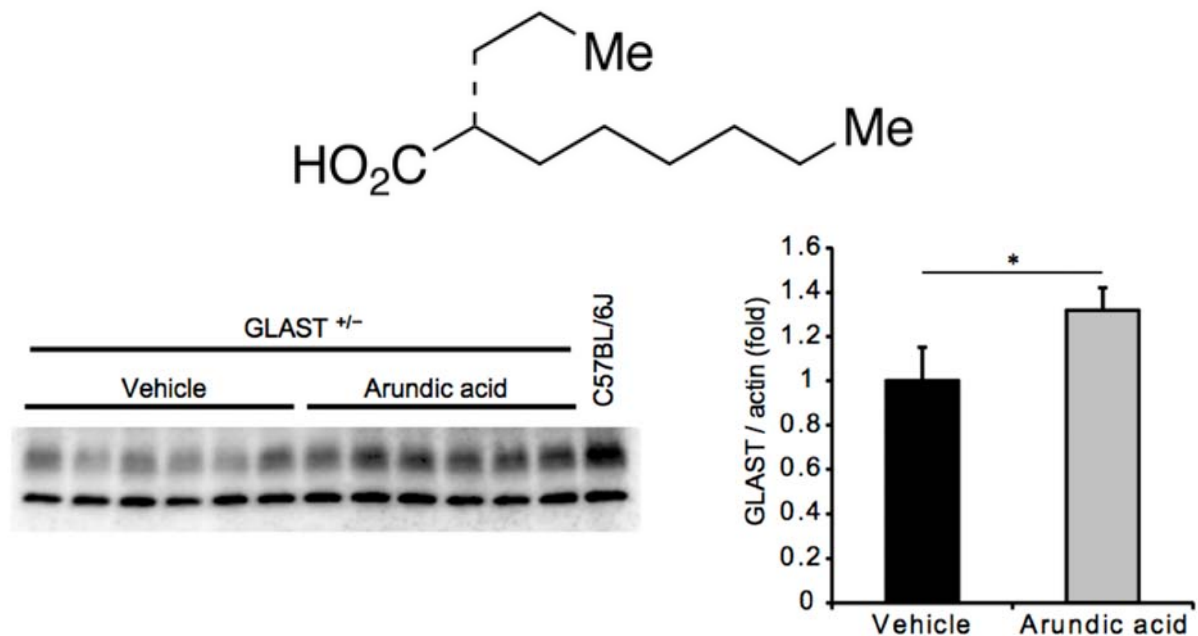
グルタミン酸輸送体GLAST活性化化合物の探索

1. ヒトGLASTを安定に発現している細胞株の作製
2. GLASTの活性を放射性標識グルタミン酸の取り込みで評価する系の構築

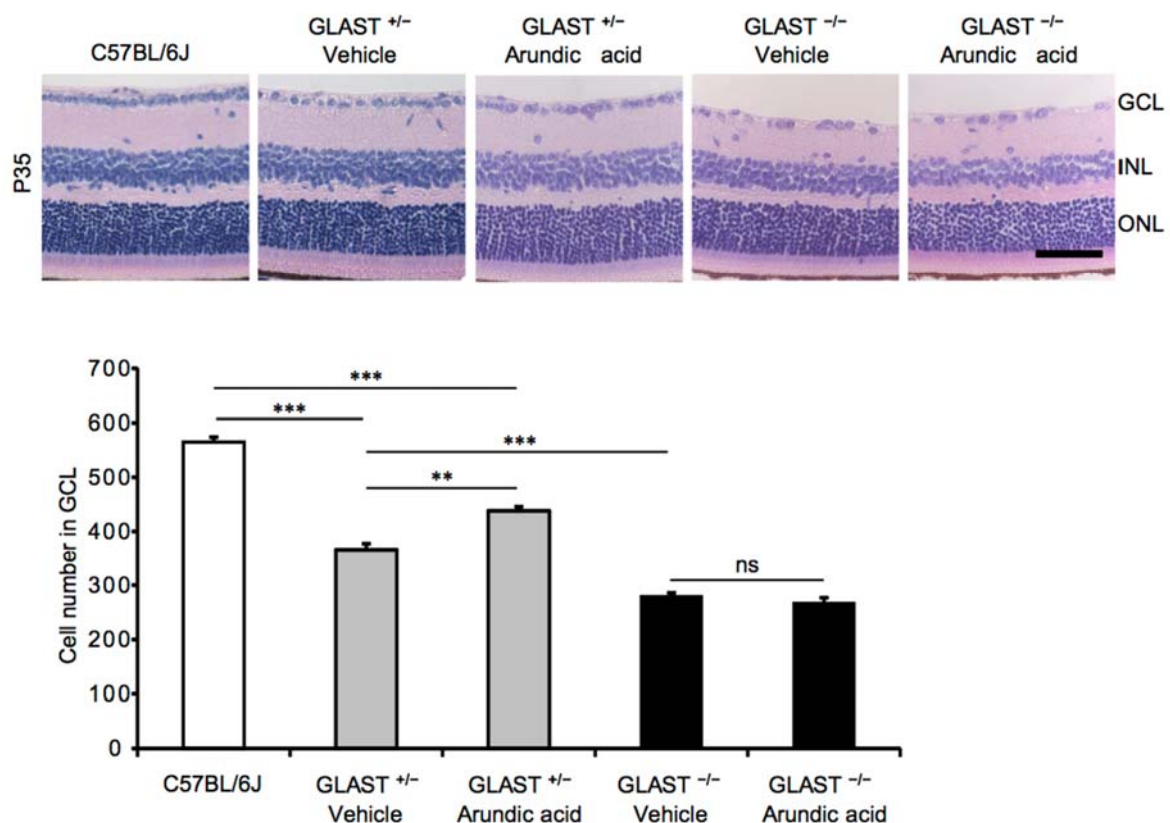


3. GLAST活性化化合物のスクリーニング
11万化合物を評価し、16化合物についてGLASTの活性化を確認した

Arundci acidは グルタミン酸輸送体GLASTの発現を増加させる



Arundic acidは網膜神経節細胞の変性を抑制する

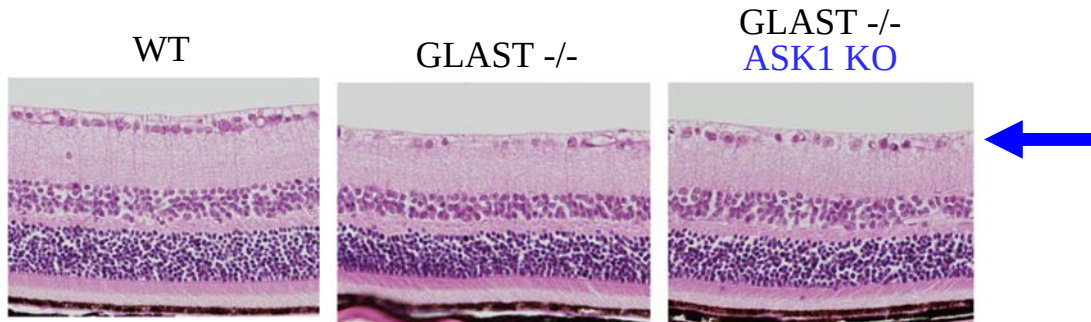


酸化ストレス亢進からの保護

酸化ストレスによる細胞死に関与する遺伝子:ASK1



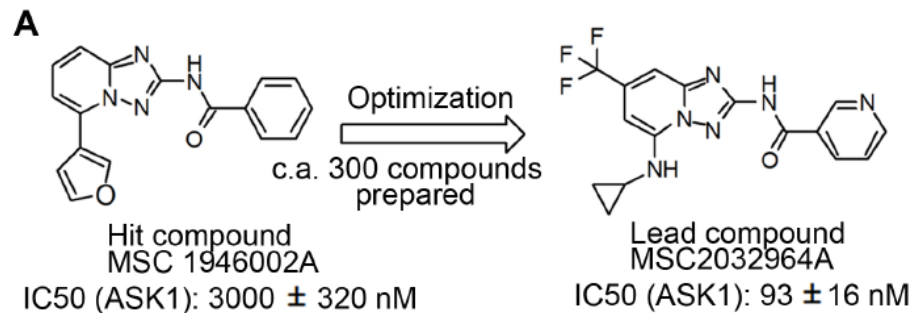
ASK1の阻害は網膜神経節細胞を保護するのでは



ASK1遺伝子の欠損は正常眼圧緑内障の進行を抑制

正常眼圧緑内障モデル動物を用いた 酸化ストレス亢進からの神経節細胞保護薬の研究

ASK1阻害薬

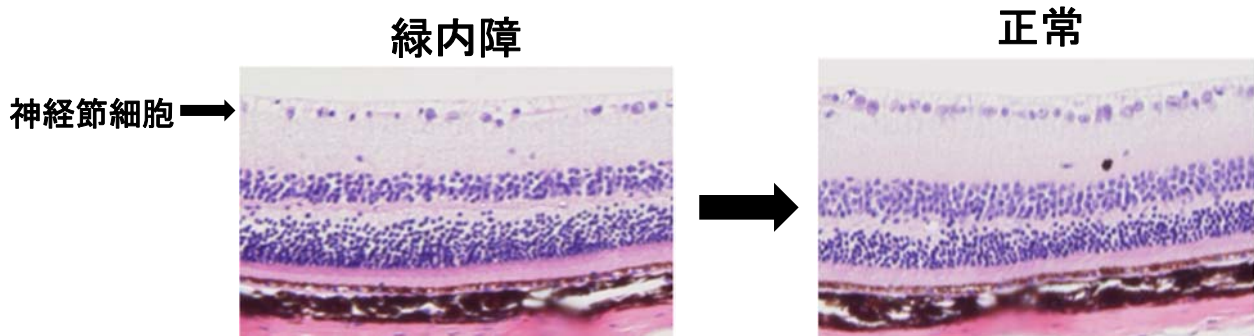


抗酸化食品(アスタキサンチン etc.)

緑内障を克服するには？

- 0. 眼圧の低下 → 既存の薬
- 1. 神経保護薬の開発 → 網膜神経節細胞の保護薬
- 2. 再生医療 → 網膜神経節細胞の再生
- 3. BMIの開発 → 人工視覚システムの開発

失われた網膜神経節細胞を移植によって補う



移植する神経節細胞はどのように作るのか？

網膜神経節細胞の産生に使用できる細胞は、

1. 胚性幹細胞

(ES細胞; Embryonic stem cell)

2. 人工多能性幹細胞

(iPS細胞; induced pluripotent stem cell)

幹細胞は、

「無限の増殖能」と「全ての種類の細胞に分化できる能力」
を持っている

胚盤胞ができるまでの受精卵の発生



前核期受精卵



2細胞期胚



4細胞期胚



8細胞期胚



桑実胚

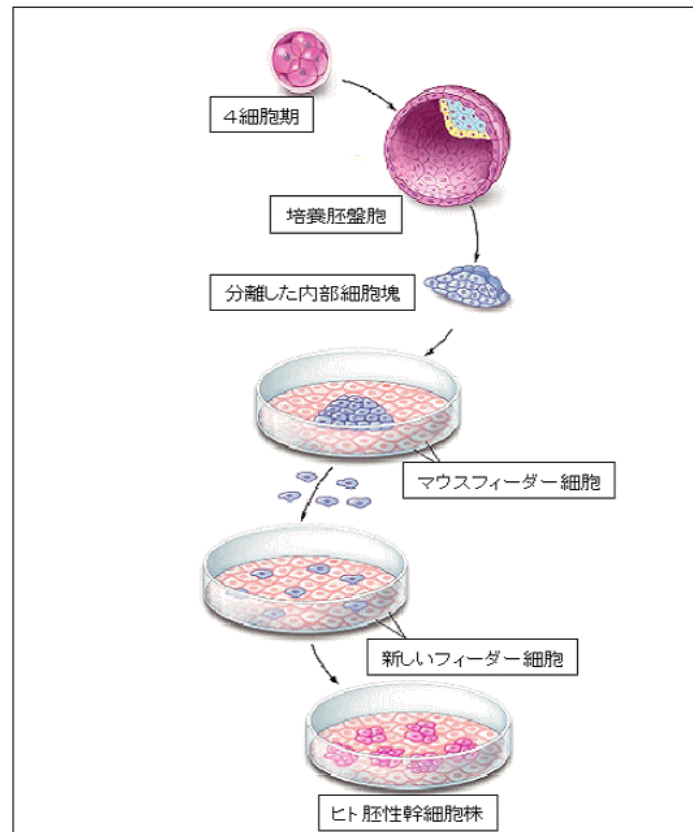


初期胚盤胞

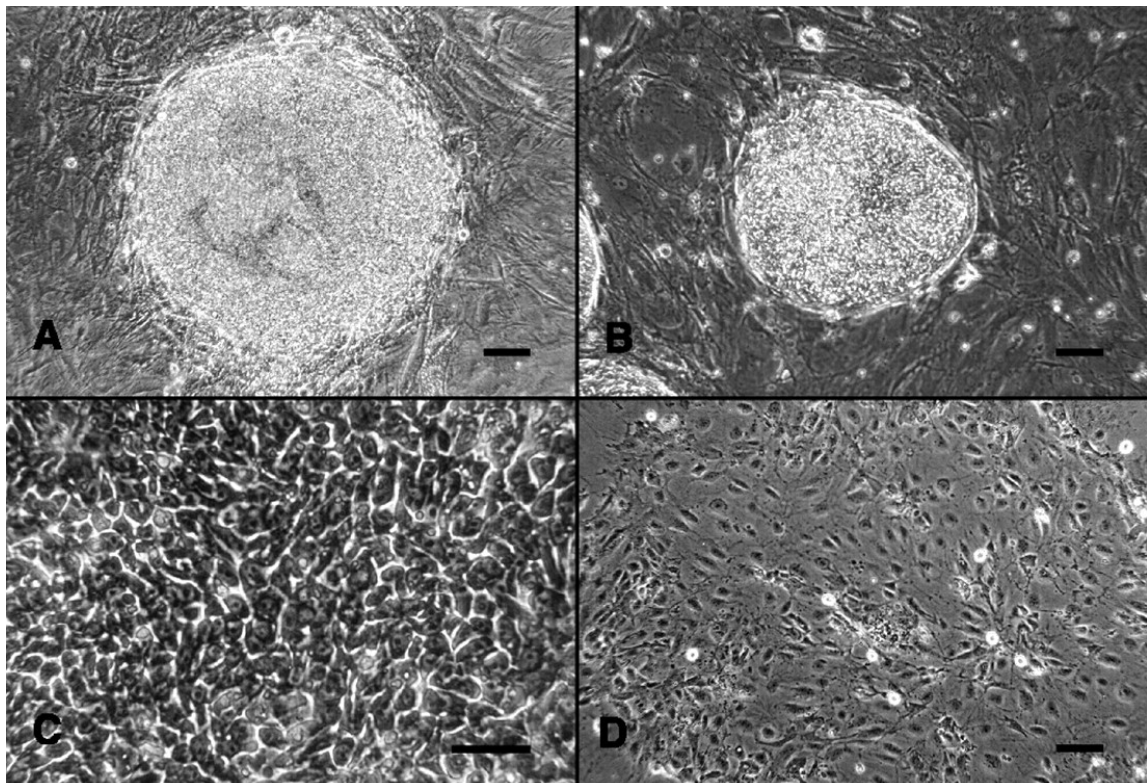


胚盤胞

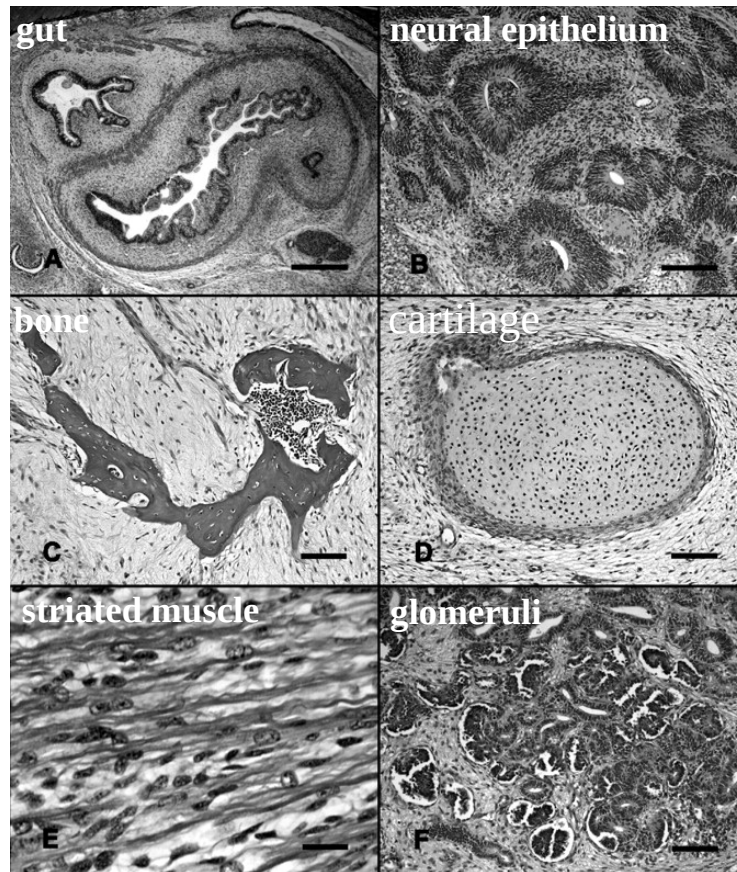
ES細胞の作成方法



ヒトES細胞



マウスES細胞由来の奇形種



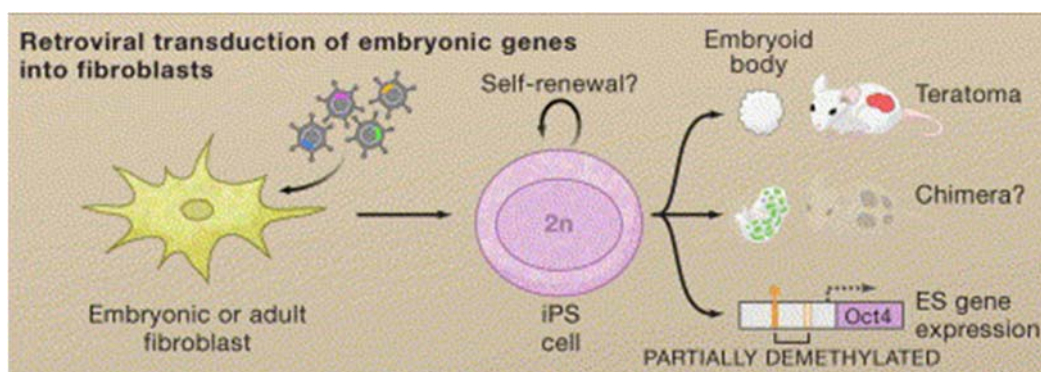
ES細胞の問題点

1. 倫理的側面
2. 免疫拒絶
3. 腫瘍化

iPS細胞の可能性 (induced pluripotent stem cell)

体細胞への遺伝子導入によるES様細胞の作成

iPS細胞の作製法



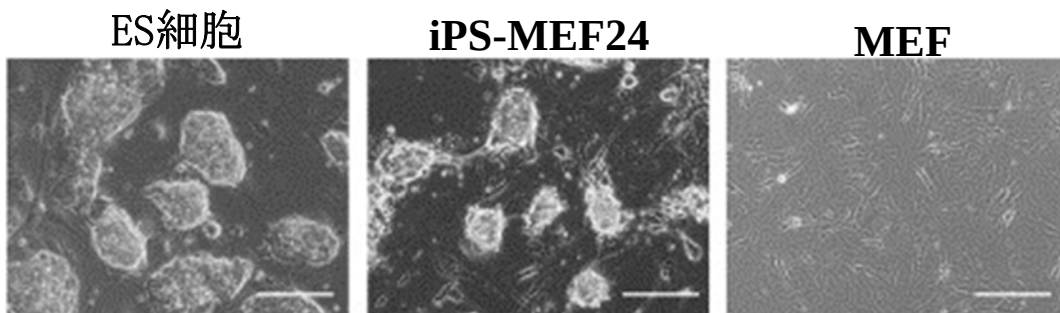
体細胞に4つの遺伝子 (Oct3/4, Sox2, Klf4, c-Myc) を導入すると、ES細胞に似た幹細胞ができる

iPS細胞の発見

ES細胞で多く発現している遺伝子24個を選ぶ

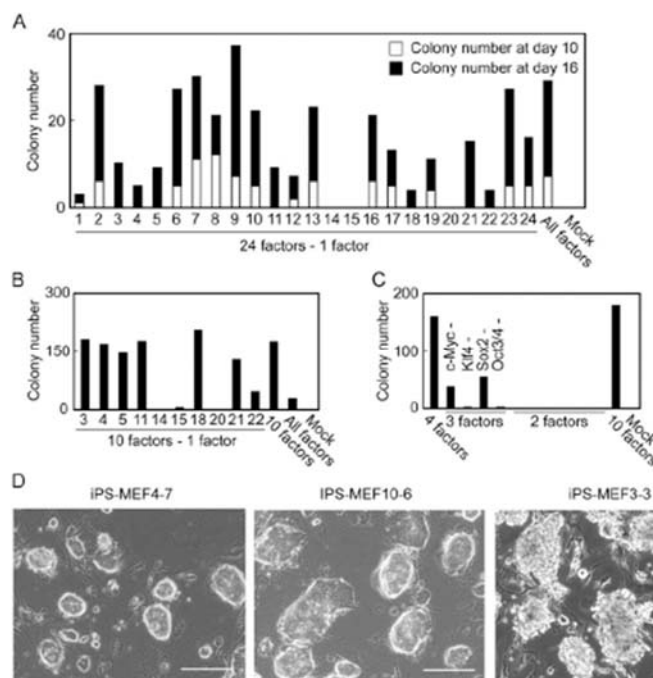


24個の遺伝子で体細胞がES細胞になるか？



24個の遺伝子から、最終的に4個の遺伝子に絞り込む

Oct3/4, Sox2, c-Myc, Klf4



ES細胞の問題点

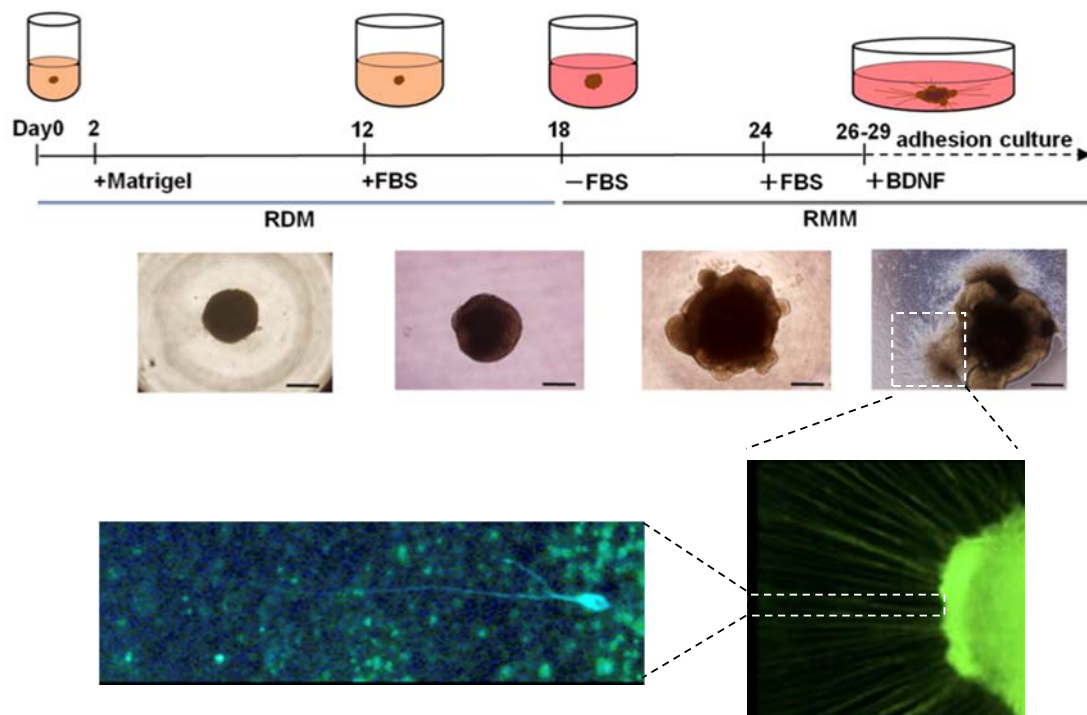
1. 倫理的側面

2. 免疫拒絶

3. 腫瘍化

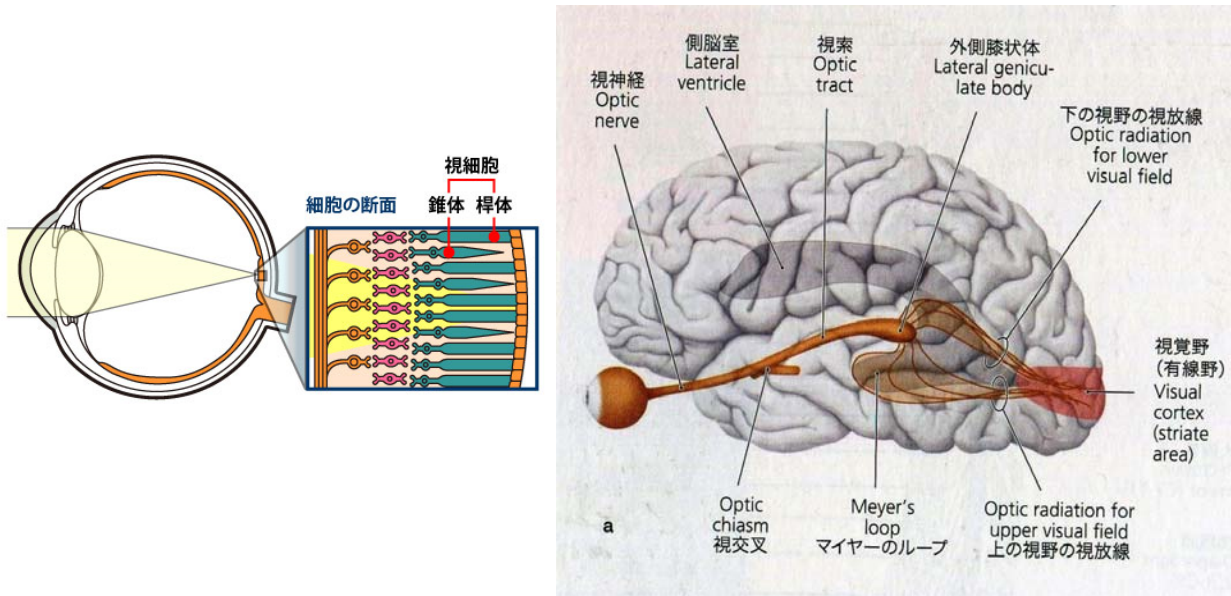
ヒトiPS細胞から網膜神経節細胞を分化させる方法

国立生育医療研究センター・東範行医長グループ



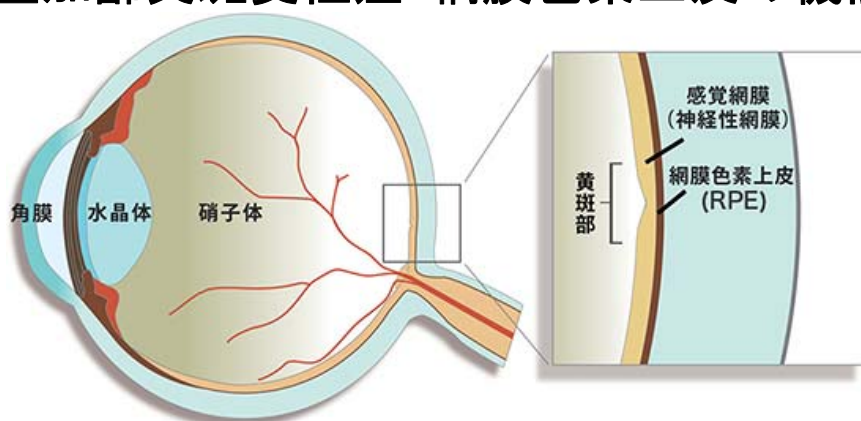
神経節細胞の再生は、視細胞の再生に比べ難しい

神経節細胞の再生は、細胞体を再生した後に軸索を脳までの長い距離を伸ばし、正しいシナプスを形成する必要がある

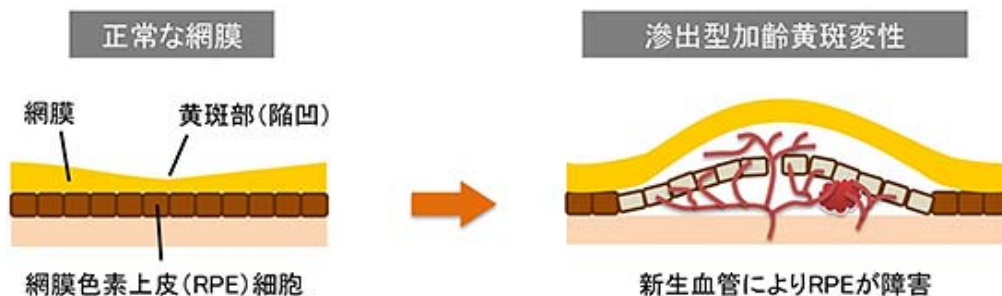


自家iPS細胞由来網膜色素上皮シートを用いた加齢黄斑変性の治療

滲出型加齢黄斑変性症：網膜色素上皮の機能障害

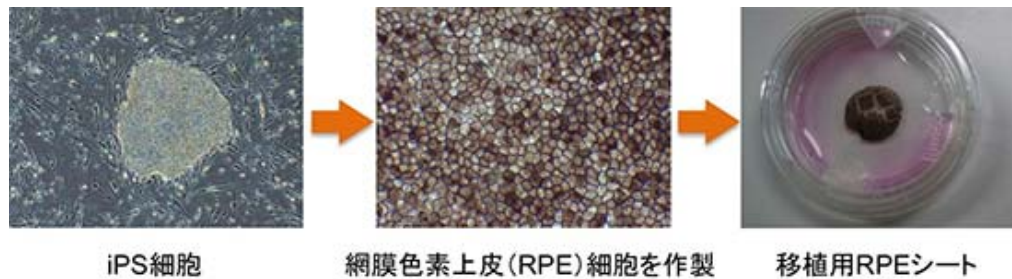


RPE: 網膜への栄養補給や老廃物の除去を担っている

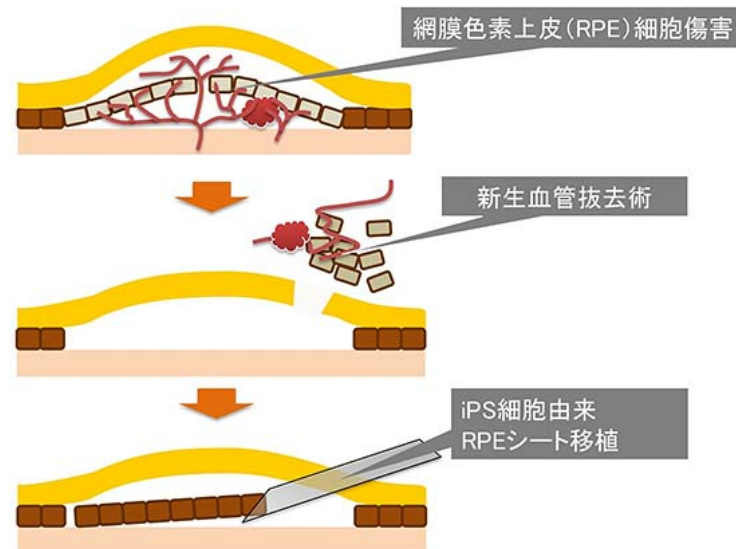


iPS細胞由来網膜色素上皮シートの作成と移植

作成



移植



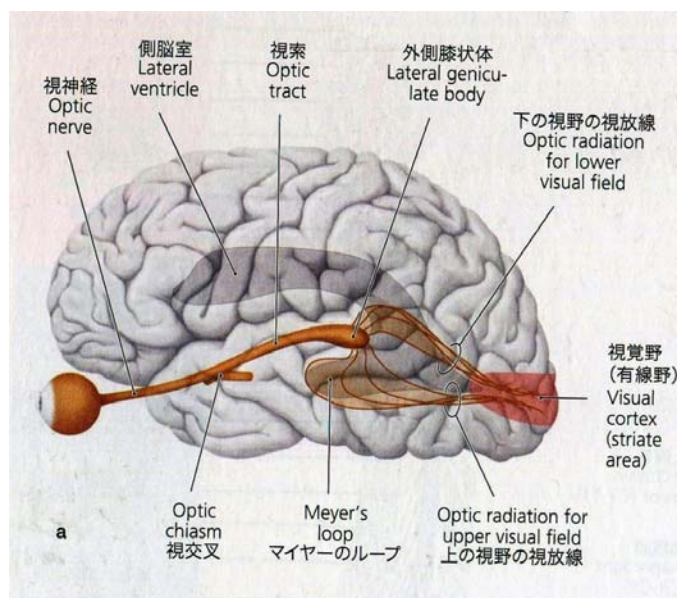
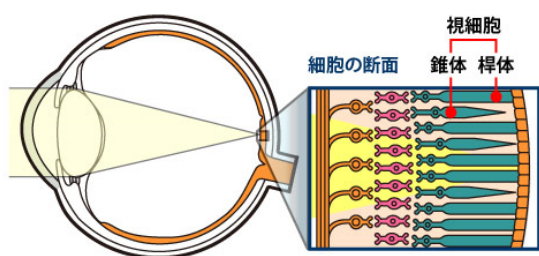
緑内障を克服するには？

- 0. 眼圧の低下 → 既存の薬
- 1. 神経保護薬の開発 → 網膜神経節細胞の保護薬
- 2. 再生医療 → 網膜神経節細胞の再生
- 3. BMIの開発 → 人工視覚システムの開発

人がものを見るということ

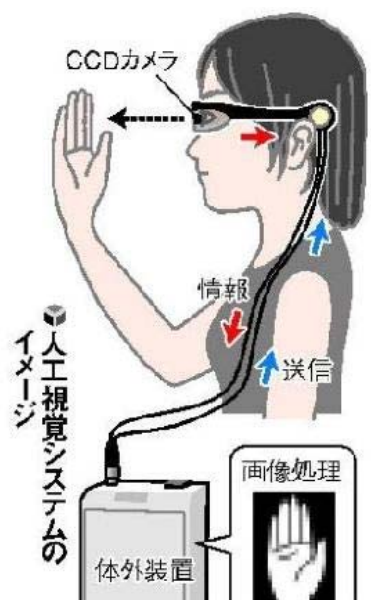
視細胞で光の情報は電気信号に変換

光の情報は脳に伝えられ認知される

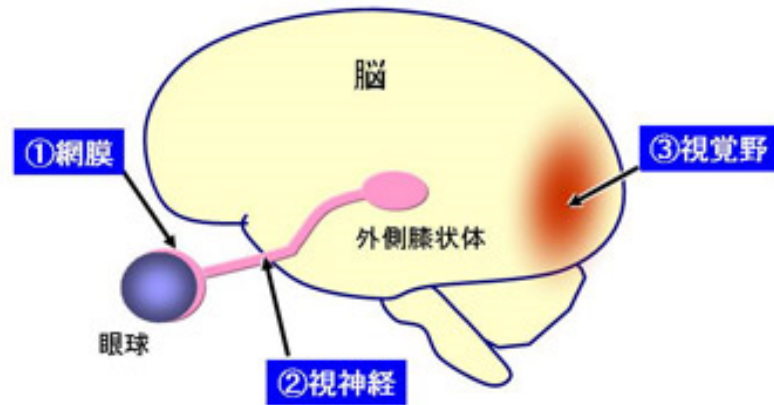


人工視覚システムとは？

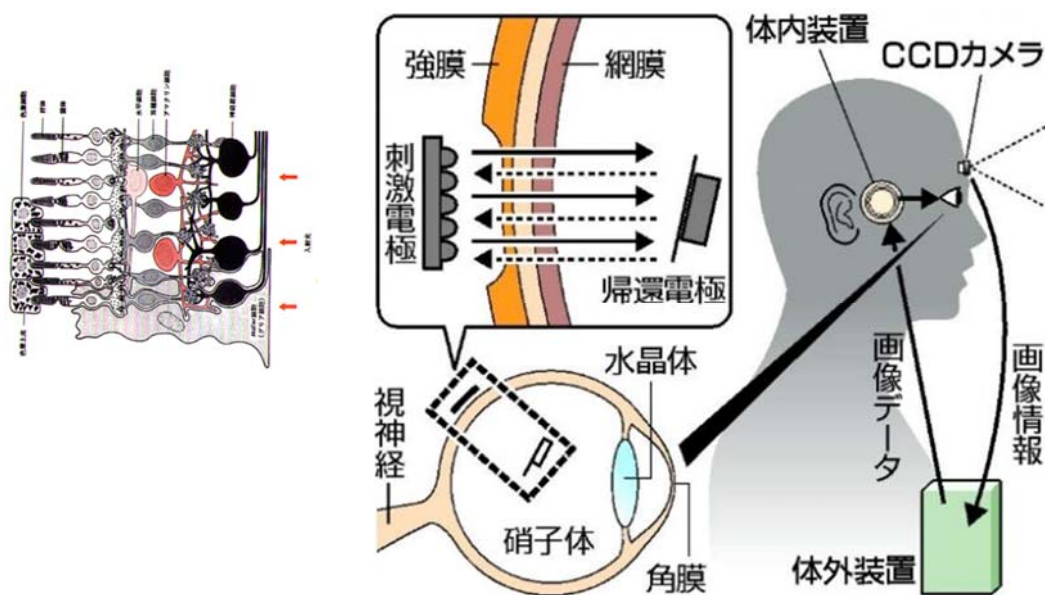
光刺激のかわりに、神経細胞を電気刺激することにより、
視覚を再建するシステム



人工視覚における電気刺激部位



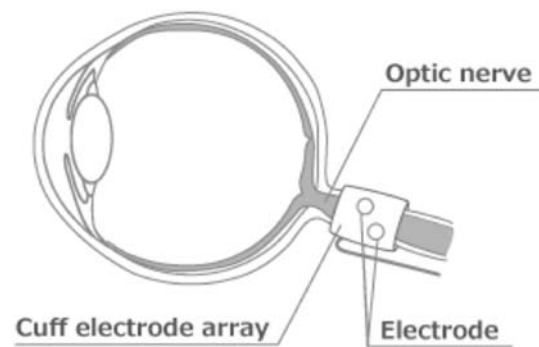
網膜刺激型人工視覚システム



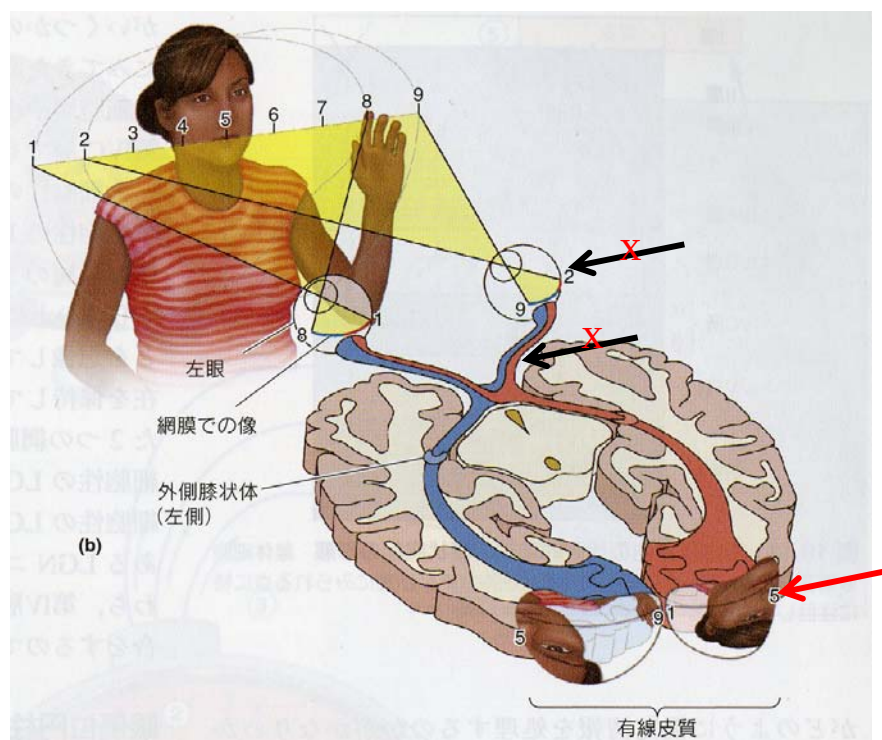
網膜色素変性症などの視細胞は死んでいるが、神経節細胞は生きている疾患には有効

網膜神経節細胞を直接刺激する ➡ 緑内障には使えない

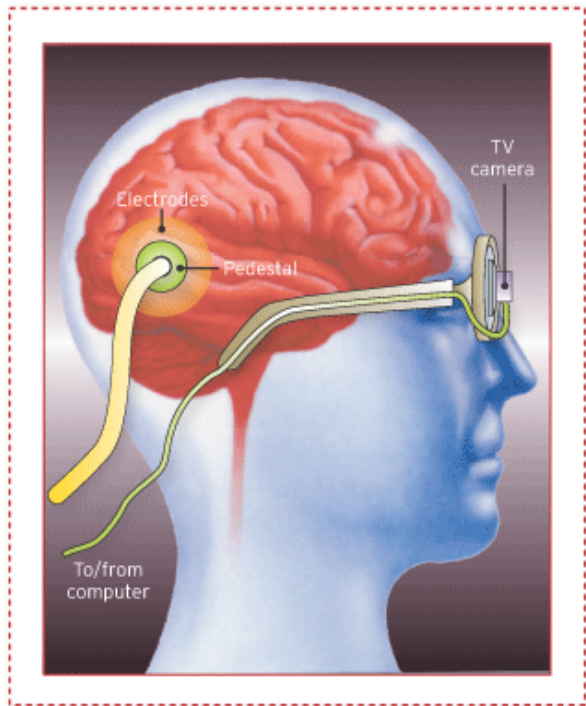
視神経刺激型



神経節細胞・視神経が死んでいる緑内障の治療には
脳刺激型人工視覚システムしかない



脳刺激型



緑内障を克服するには？

- 0. 眼圧の低下 → 既存の薬
- 1. 神経保護薬の開発 → 網膜神経節細胞の保護薬
- 2. 再生医療 → 網膜神経節細胞の再生
- 3. BMIの開発 → 人工視覚システムの開発

早期発見・早期治療 → 失明の時期を遅らせる