

Title	遺伝子改変加齢黄斑変性モデルマウスを用いた青色光刺激による網膜機能・病態の解析
Sub Title	Analysis for function and pathology in retina stimulated by blue light using gene mutated age-related macular degeneration model mice
Author	小泉, 春菜(Koizumi, Haruna)
Publisher	
Publication year	2010
Jtitle	科学研究費補助金研究成果報告書 (2009.)
Abstract	網膜へ到達する可視光のうち青色光により視細胞が障害され加齢黄斑変性の発症が誘導される可能性があることがこれまで疫学調査およびin vitroで報告されてきた。白内障手術により水晶体を摘出することで、低波長領域の光が網膜へ到達しうるが、in vivoでの影響はよくわかっていない。我々は、本研究の中で、新規眼内レンズ挿入マウスモデルを開発し、このモデルを用いて紫外線領域に加え可視光のうち青色波長領域(400-500nm)を抑制すると光障害から網膜が保護されることをin vivoで明らかにした。
Notes	研究種目：若手研究(B) 研究期間：2008～2009 課題番号：20791270 研究分野：医歯薬学 科研費の分科・細目：外科系臨床医学・眼科学
Genre	Research Paper
URL	http://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_20791270seika

平成 22 年 6 月 16 日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2008～2009
 課題番号：20791270
 研究課題名（和文） 遺伝子改変加齢黄斑変性モデルマウスを用いた青色光刺激による網膜機能・病態の解析
 研究課題名（英文） Analysis for function and pathology in retina stimulated by blue light using gene mutated age-related macular degeneration model mice
 研究代表者
 小泉 春菜（KOIZUMI HARUNA）
 慶應義塾大学・医学部・研究員
 研究者番号：70465011

研究成果の概要（和文）：網膜へ到達する可視光のうち青色光により視細胞が障害され加齢黄斑変性の発症が誘導される可能性があることがこれまで疫学調査および *in vitro* で報告されてきた。白内障手術により水晶体を摘出することで、低波長領域の光が網膜へ到達しうるが、*in vivo* での影響はよくわかっていない。我々は、本研究の中で、新規眼内レンズ挿入マウスモデルを開発し、このモデルを用いて紫外線領域に加え可視光のうち青色波長領域（400-500nm）を抑制すると光障害から網膜が保護されることを *in vivo* で明らかにした。

研究成果の概要（英文）：Several epidemiological or *in vitro* studies have shown that blue light in visible light reaching retina may disturb photoreceptors and cause age-related macular degeneration. However, phototoxicity after cataract surgery is still unknown especially *in vivo*. In current study, we established a novel murine intraocular lens implantation model and revealed that suppression of blue light (400-500nm) in addition to ultra violet prevented light-induced retinal degeneration *in vivo*.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
20年度	1,900,000	570,000	2,470,000
21年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・眼科学

キーワード：網膜光障害・網膜電図・視細胞・酸化ストレス

1. 研究開始当初の背景

いくつかの疫学調査が光暴露と網膜疾患の関連を示していた。Chesapeake Bay Watermen Study (1985)は、光への暴露と黄斑変性症の発症に関連があると初めて報告した。南フランスでおこなわれた POLA study (1995-1997, Pathologies Oculaires Liees a l'Age study)によればサングラスの装用は黄斑変性の前駆段階のリスクを軽減させる。米国ウィスコンシン州で行われた Beaver Dam Eye Study (1988-1990)によると余暇時間を屋外で過ごすことと早期黄斑変性症に関連があるという。しかしながら日光暴露と黄斑変性の関連を否定する報告もあり、いまだ controversial である。

一方、白内障術後に黄斑変性の進行を認めた症例報告は多数あり、前述の Beaver Dam Eye Study にエントリーした参加者のうちの 3684 人の 5 年間の追跡調査や、オーストラリアで行われた Blue mountain eye study (1992-1994)の 2335 人の 5 年間の追跡調査、それらを統合した 6019 人の統計解析、さらに Blue mountain eye study の 1952 人の 10 年間の追跡、いずれにおいても白内障手術により黄斑変性症のリスクが上昇することが報告された。

一方、加齢黄斑変性の発症メカニズムが細胞レベル、分子レベルで解明される中で、視サイクルの代謝産物 A2E 注目されている。A2E は、網膜色素上皮(RPE)細胞の加齢変化として観察できるリポフスチンの主要な構成成分である。視細胞外節に存在する視物質ロドプシンは光を吸収するとオプシンと all-trans レチナールに分解される。RPE 細胞は all-trans レチナールが含まれる脱落した視細胞外節を貪食し、ロドプシンの構成成分である 11-cis-レチナールを再生する。この生理的なロドプシンの代謝は視サイクルと呼ばれる。この過程で all-trans-レチナールとリン脂質が反応することにより A2E が生合成される。加齢とともに RPE の機能が低下すると貪食した視細胞外節を消化しきれず残渣としてリポフスチンが蓄積する。リポフスチンの主成分 A2E は光刺激(特にエネルギーの高い青色光)依存性に高度に酸化され、多量の活性酸素を発生させることが *in vitro* でわかっている。

日本の白内障診療ガイドラインによると、白内障は初期混濁を含めた有所見率は加齢に伴って増加し、50 歳代で 37~54%、60 歳代で 66~83%、70 歳代 84~97%、80 歳以上で 100% である。白内障の唯一の根本治療は手術加療であるが、日本では毎年

90 万件前後の白内障手術が行われており、高齢者人口の推移によってはさらに増加する可能性がある。水晶体を除去する白内障手術後に網膜を障害しうる紫外線および青色光が網膜に到達するようになる。現在市販され、白内障手術で用いられている IOL (intraocular lens; 眼内レンズ)はすべて紫外線がカットされるようデザインされている。紫外線がカットされても網膜に到達する青色光により網膜が障害される可能性がある。しかしながら、*in vivo* での青色光の影響はいまだよくわかっていなかった。

2. 研究の目的

In vivo における青色光による網膜障害について解析する。

3. 研究の方法

(1) 申請者の所属する研究室では、最近新たに、遺伝子異常により視細胞が脱落する動物 (*SOD-1^{-/-} mice*) を発見し、報告した (Hashizume et al. *Am J Pathol* 2008, 図 1)。申請者が知る限りにおいては、これまで遺伝子改変網膜変性モデル動物を用いた、刺激波長光の違いによる表現型解析はない。そこで、可視光のうち青色光付近の低波長光ではより酸化ストレスがより亢進し、*SOD-1^{-/-} mice* で見られる表現型が亢進するという仮説を立て、分光透過率の異なるフィルターを通してこの動物を刺激し、その表現型を解析する。

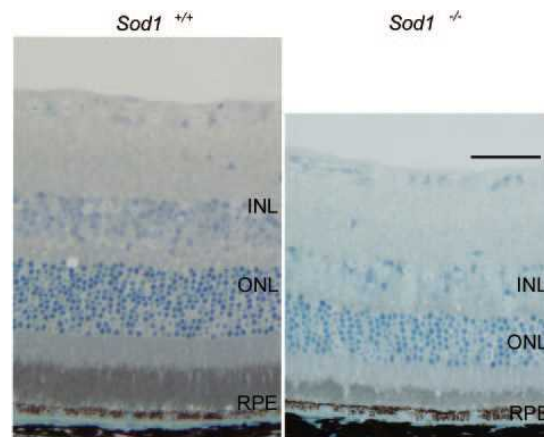


図 1 .SOD-1 ノックアウトマウス(15 カ月令)ではコントロールと比べ視細胞の脱落が見られる (Hashizume et al. *Am J Pathol* 2008)。

(2) 80 歳以上で 100%罹患する白内障の唯一の根本治療は手術加療であるが、水晶体を除去する白内障手術後に網膜を障害しうる

紫外線および青色光が網膜に到達するようになる。現在白内障手術で用いられている IOL (intraocular lens; 眼内レンズ) はすべて紫外線がカットされるようデザインされている。紫外線がカットされても網膜に到達する青色光により網膜が障害される可能性がある。マウス IOL 挿入モデルを新たに開発し、挿入する IOL の分光透過率の違いにより青色光の網膜障害を解析する。

4. 研究成果

(1) Hashizume 論文で使用した SOD-1^{-/-} マウスは C57B6/J background であるが、有色素マウスである C57B6/J は光刺激による視細胞死、A2E 産生に対して耐性であることが知られている (Wenzel et al. J Neurosci 2001, Kim et al. Proc Natl Acad Sci U S A 2004)。よって白色マウスである耐性のない ICR マウスと back cross を行い、ICR background の SOD-1^{-/-} マウスの作成に成功した。現在この ICR background のマウスを用いて、野生型マウスと SOD-1^{-/-} マウスの表現型の比較、および照射する波長の違いによる表現型の変化を解析中である。

(2) 我々は、これまで報告されたことのない新規マウス IOL 挿入マウスモデルの開発に成功した (図 2)。

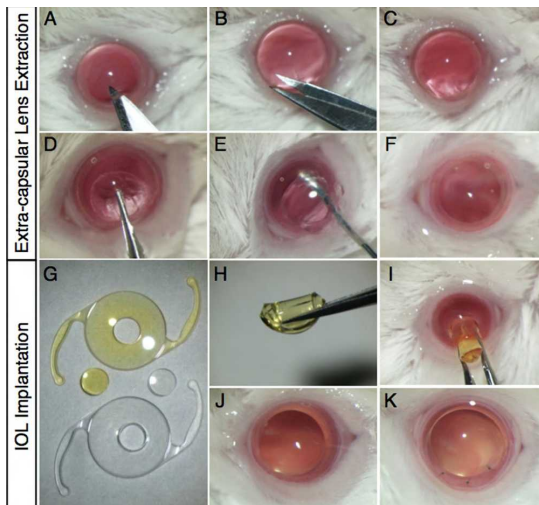


図 2. 新規マウス眼内レンズ移植モデルの作成 (Kurihara et al. Mol Vis 2009)

これを用いて挿入する IOL の分光透過率の違いによる網膜光障害への影響を検討した。青色光付近の波長 400-500nm を 90% 近く透過する Clear lens に比べ、青色光を最大 71% 抑制する Yellow Lens を挿入した眼では、光照射による TUNEL 陽性細胞数の増加を抑制し (図 3)、視細胞層の減少を抑制し、網膜電図の a 波、b 波の振幅低下を抑制した。

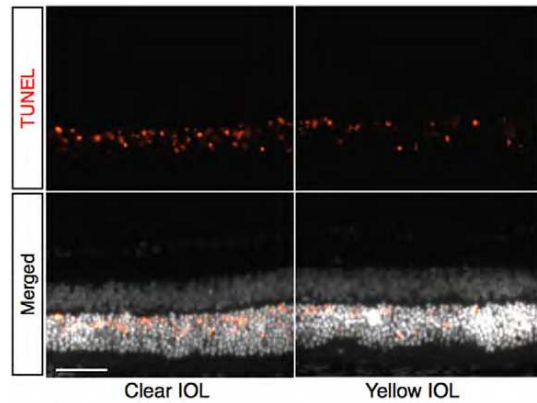


図 3. 青色波長をカットするレンズ (Yellow IOL) はコントロールと比べ、光照射による視細胞のアポトーシス (TUNEL 陽性細胞) を減少させる (Kurihara et al. Mol Vis 2009)。

網膜を保護している水晶体を摘出する白内障手術は、挿入する IOL の分光透過率の違いにより網膜障害を抑制しうることを今回初めて臨床と同様の手技による *in vivo* の実験で明らかにした。網膜障害を考慮すれば、白内障手術では 400-500nm の青色光付近の透過率も抑制した IOL を用いたほうが安全である可能性があることがわかり、臨床に直結する本研究結果は意義深いと考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Kurihara T, Omoto M, Noda K, Ebinuma M, Kubota S, Koizumi H, Yoshida S, Ozawa Y, Shimmura S, Ishida S, and Tsubota K.

Retinal phototoxicity in a novel murine model of intraocular lens implantation.

Mol Vis. 2009 Dec 12;15:2751-61.

(査読有)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別：

取得状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等
なし

6．研究組織

(1)研究代表者

小泉 春菜 (KOIZUMI HARUNA)
慶應義塾大学・医学部・研究員
研究者番号：70465011

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし