

## 平成 22 年度研究報告書

研究代表者

島根難病研究所老年医学研究部門

所属 島根大学医学部眼科学講座

氏名 大平明弘

### 1. 研究テーマ

加齢に伴う眼底疾患の早期診断法の確立

### 2. 研究者氏名

大平明弘<sup>1</sup>、谷戸正樹<sup>1</sup>、松岡陽太郎<sup>1</sup>

### 3. 研究概要

緑内障患者の全身酸化ストレス計測

(背景)

緑内障の組織・細胞傷害要因として種々の細胞活動や加齢に随伴する全身および眼局所の酸化ストレスが関与する可能性(線維柱帯組織の変性に続発する房水流出抵抗増大要因, 神経節細胞死・軸索変性の直接的, あるいは, 眼圧上昇に伴う機械的ストレス, 虚血ストレス, 興奮毒性, 炎症, 自己免疫反応, 神経栄養因子欠乏による組織傷害の下流エフェクター)となり得ることが実験的に推測されている。

蛋白質チオールを介した細胞機能制御(レドックス制御)に中心的な役割を持つチオレドキシンは, グルタチオンと並んで, 生体内の重要な抗酸化ストレス機構である。申請者らは, チオレドキシシステムが眼内の細胞防御機構として中心的な役割を有することを, ラットNMDA興奮毒性モデルにおけるチオレドキシシン蛋白の硝子体注射やチオレドキシシン高発現マウスを用いた基礎研究により明らかにしてきた。また, 申請者らが報告した, スルフォラファンやゲラニルゲラニルアセトンといった低分子化合物投与によるチオレドキシシン誘導療法が, 新規緑内障神経保護治療として注目されつつある。

高血圧・糖尿病・悪性新生物等の種々の疾患で, 疾患修飾因子として加齢や喫煙に伴う酸化ストレス要因が関与することが大規模疫学調査や多数例の臨床検体研究により指摘されている。緑内障の発症・進行には, 遺伝的要因, 解剖・形態学的要因に加えて, 上述の通り, 加齢に伴う全身的な酸化ストレス亢進やチオールレドックス状態の変化を含む, 複数の内的・外的要因が疾患修飾因子として関わる可能性があるが, 臨床報告に乏しく, 一定の見解は得られていない。

---

<sup>1</sup> 島根大学医学部眼科学講座

将来的に、抗酸化ストレス治療の緑内障眼圧外療法への応用を検討する場合、測定可能な酸化ストレス亢進が緑内障患者で確認されていることが重要な理論的背景となる。

#### (目的)

本研究課題では、複数の緑内障病型を含む、多数の緑内障症例について、血液中のチオレドキシシン発現量、血液酸化度・還元能を測定することで、酸化ストレス度合いと緑内障の発症・進行との関連について探索したい。本研究により、全身性酸化ストレス（眼局所酸化ストレスの上流イニシエーターとして、あるいは、眼局所酸化ストレスを推測するための疾患マーカーとして）と緑内障との関与について知見を得ることができる。また、チオールレドックス状態の変化が確認された緑内障病型では、将来的なチオール修飾療法のプライマリーターゲットとなり得る。

#### (方法)

島根大学附属病院眼科を受診する者のうち、眼科諸検査により、狭義原発開放隅角緑内障(POAG)、正常眼圧緑内障(NTG)、偽落屑症候群(EXS)、落屑緑内障(EXG)の診断が確定している者を対象とする。軽度の白内障（視力 0.7 以上）以外に眼疾患を有しない者を対照とする。本研究課題は、H21 年 12 月 21 日付で、島根大学医学部医の倫理委員会の審査・承認を得ている。POAG、NTG、EXS、EXG、対照群それぞれ 120 人以上、合計 600 人以上の測定を目標とする。

インフォームドコンセントを得た後、対象者から末梢静脈血採血を行い、血漿を分離保存する。採血時血圧、食後時間、喫煙歴、全身疾患（高血圧、脂質代謝異常、心疾患、脳血管疾患、肝疾患、腎疾患等）の既往歴について測定・聴取する。

血漿の酸化・還元度合いを、脂質過酸化物量(dROM テスト)、鉄還元能(BAP テスト)で、血漿の蛋白レドックス状態を、チオール抗酸化能(SH テスト)、チオレドキシシン発現量で評価する。dROM、BAP、SH テストは、採決後 72 時間以内に、冷所保存した血漿サンプルで、フリーラジカル分析装置 FREE(WisnerII 社)を用いて生化学的に測定する。チオレドキシシンは、凍結保存した血漿サンプルで、TRX ELISA キット(RBS 社)を用いて測定する。

血漿検査値と緑内障病型、緑内障進行度の関係について統計学的に検討する。解析にあたっては、多変量解析を行うことで、測定結果に影響しうる因子（年齢、性、食後時間、喫煙歴、血圧、糖尿病の有無他）の影響について調節する。

採血された対象のうち、内眼手術を行う者については、インフォームドコンセントを得た後、前房水を 0.2ml 採取し、チオレドキシシン発現量を測定する。前房水中のチオレドキシシン発現量と血漿中のチオレドキシシン発現量、dROM、BAP、SH テスト測定値を比較することで、眼局所のレドックス状態と全身酸化ストレス値の相関について検討する。

(結果)

昨年度採血分約200名に加えて、今年度は300名の血液試料を採取し、dROMテスト、BAPテスト、SHテストのデータを得た。中間集計について学会発表を行った。

(考察)

今年度までで、ほぼ目標症例数に達した。今後、データ解析の後、論文投稿の予定である。

## 緑内障における全身酸化ストレス

- POAGで血清脂質酸化物(MDA)↑ (Yildirim et al. 2005)
- 抗HSP自己抗体 (Tezel et al. 1998, Wax et al. 1998)
- 抗GST自己抗体 (Yang et al. 2001)
- 緑内障で血清グルタチオン還元型↓、酸化型↑:チオールレドックスサイクル変化? (Gherghel et al. 2005)

⇒ 慢性の全身性酸化ストレスが、緑内障の病態に関与する可能性

図1：緑内障における全身酸化ストレス計測についての既報

## 緑内障患者酸化ストレス測定；途中経過

\*65才以下の解析

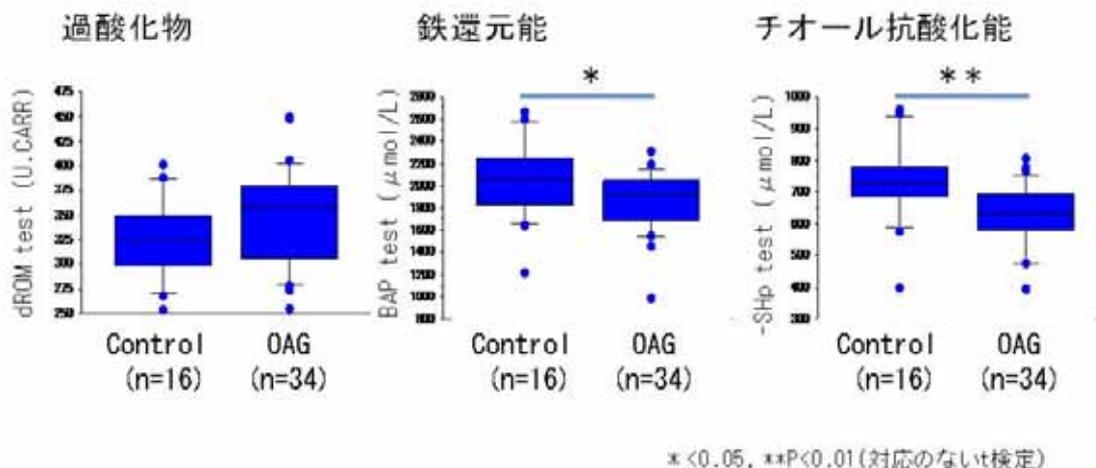


図2：緑内障患者における全身酸化ストレス計測途中集計結果

#### 4. 学会機関誌もしくは学会への関連論文（演題）発表状況

- (1) 谷戸正樹：シンポジウム7 緑内障 眼圧下降以外の治療法を探る！「抗酸化治療の可能性」 第114回日本眼科学会総会，名古屋(2010.4.15-18)