

【助成 40-53】

緑内障治療に向けた微弱電流刺激による眼球の若返り

研究者 九州大学大学院農学研究院(前所属 愛知医科大学医学部) 准教授 池上啓介

〔研究の概要〕5～8行程度

本研究では加齢などに伴う眼の疾患の治療に役立てるため、マウス眼球や網膜を用いて微弱電流刺激により眼球機能が亢進し、眼球細胞が若返るかを検証することを目的とした。微弱電流刺激装置を改良し、マウス眼球や細胞、培養網膜を刺激できる評価系を開発した。眼球線維柱帯細胞への刺激で細胞増殖能の亢進傾向が確認されたが、単回刺激ではマウス眼圧を抑制する効果は確認できなかった。現在網羅的遺伝子発現解析により分子レベルでの若返りを検証中である。また、生体における長期的反応は全く分かっていないため眼圧制御や緑内障予防に向けて解明しなければいけない課題である。

〔研究経過および成果〕

“緑内障”は中途失明原因第一位の疾患で、世界では1億人近くが罹患しているといわれ、予防や根治の方法が未だ見つかっていない。網膜神経節細胞からなる視神経が傷害され、加齢に伴い増加する。眼球内の圧力(眼圧)が緑内障の主な原因で、近年増加しているといわれる高眼圧を伴わない正常眼圧緑内障も原因が不明なことが多く減圧抑制が主な対処療法となる。進行が遅く自覚症状が少ないため、気づいた時には悪化している場合が多く、高齢化に伴い新たな予防方法や検査方法の開発および治療法の開発が重要な課題になっている。

眼圧は毛様体からの眼房水の産生と線維柱帯からの排出のバランスで生み出されているが、加齢に伴いそれらの調節機能は低下し、眼圧が上昇しやすく、視神経も障害されやすくなる。これらから、我々は外的環境の調整で加齢に伴う眼圧リズムの乱れや視神経障害といった老化を抑制または若返り効果が期待できるのではないかと考えた。再生誘導や細胞活性化の外的刺激の一つに微弱電気刺激が知られてい

るが、微弱電流刺激は筋再生を加速させたり、神経の軸索伸長を促したりする(Liu et al. Alzheimer's Research & Therapy 2020)ことが知られているため、本研究ではマウス眼球や網膜組織、初代培養細胞を用いて微弱電流刺激により眼房水産生排出部位の機能が亢進し、眼圧リズムの乱れが改善され網膜神経節細胞(視神経)の細胞死が抑制または若返るかの検証を試みた。

1) 微弱電流刺激装置の開発と検証

本研究では、ヒト用の治療用 ESPURGE(伊藤超短波株式会社、図 1)の電極で眼球を直接挟み込み微弱電流刺激する方法と、その電極を白金線を介して細胞培養ディッシュ(6well)に繋ぎ、培養細胞さらに

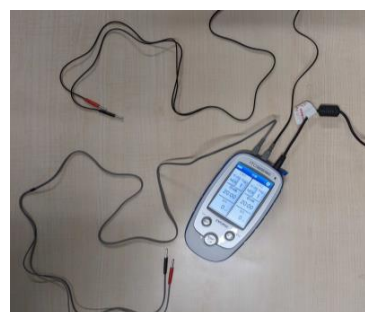


図1 ESPURGE

はそこに入れたカルチャーインサート上で培養するマウス組織を微弱電流刺激(10 μ A, 60 分)できる評価系を開発した。申請者の異動に伴い、検証が遅れており現在検証途中である。

2) 微弱電流刺激による眼球細胞への影響

加齢による眼圧上昇は眼房水排出部位である線維柱帯の線維化などの老化が原因ではないかと考えられる。そこで、申請者が保有する線維柱帯細胞の継代を繰り返し増殖効率が低下した老化細胞を作成する。そこに微弱電流刺激(10 μ A, 60 分刺激)を負荷し、その後の細胞増殖の変化を刺激後 24 時間後と 48 時間後に Cell counting kit-8 (Dojindo) を用いて測定した。その結果、現在 N = 1 であるが微弱電流刺激した方が細胞増殖効率が良いという傾向が観察できた。また、微弱電流刺激後 6 時間後に RNA シーケンシング (RNA-seq) により網羅的時系列解析 (シーケンス受託中) を行い、微弱電流への応答性の詳細を明らかにする予定である。

3) 微弱電流刺激によるマウス眼圧への影響

マウスやヒトは昼行性夜行性関係なく夜間(暗期)に眼圧が上昇し、高眼圧の緑内障患者でも夜間眼圧抑制治療が鍵となる。そこで、微弱電流を麻酔下の野生型 C57BL/6J マウスの眼球に明期に 1 時間刺激し、夜間の眼圧上昇を抑制できるかをポータブル眼圧測定器 TonoLab を用いて検証した。その結果、1 日一回の刺激では眼圧上昇抑制効果は見られなかった。刺激時間や頻度を変えた検証が必要であろう。

4) 微弱電流刺激による老齢緑内障眼球への影響

申請者の実験で網膜の概日時計遺伝子 Bmal1 が特異的に欠損したマウス (cBmal1KO) は加齢に伴い

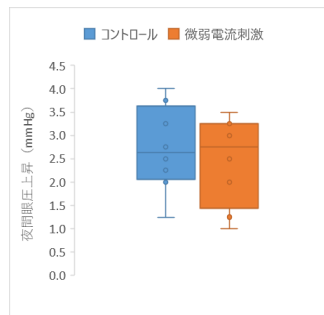


図1 マウスの夜間の眼圧上昇に微弱電流単回刺激が及ぼす影響。有意な差はなかった (t-test, $p < 0.05$)

網膜神経節細胞が減少することを発見した。視覚機能の低下を確認するため視覚機能テストを実施したところ有意に低下していた。

このマウスと、加齢に伴い緑内障様症状を呈す DBA/2J マウスおよび 1 年齢を超えると視神経が減少し始め緑内障様症状になる野生型マウスを用いて、眼球に若年期から微弱電流刺激を定期的に刺激し眼圧変動をモニタリングしながら視神経障害抑制効果を生体レベルで検証していく予定である。

5) 考察

本研究は世界に先駆けて微弱電流の眼球機能改善効果を細胞と実験動物を用いて検証するものであり、緑内障の予防・治療法の確立にも期待でき、将来的には微弱電流(または電子)を発生するようなコンタクトレンズ型緑内障治療の確立に繋げられる基盤研究を実施する。

微弱電流刺激を用いた緑内障治療予防法はこれまで確立されておらず、これまでは生活習慣の改善や、眼圧抑制剤の薬理的対処療法が主であったが、手術を伴わない微弱電流刺激により視神経障害を抑制、さらには視神経再生できるのであれば、失明による生活の質 (QOL) 低下を劇的に改善できる可能性があるため本研究は非常に意義がある。

[発表論文]

なし