

# 博士論文要旨

網膜疾患における神経及び血管保護に関する研究

夫馬 慎一郎

緑内障治療薬であるプロスタグランジンアナログのラタノプロスト点眼薬、 $\beta$ 遮断薬のチモロールマレイン酸点眼薬、そして両者の配合剤は眼圧下降作用だけでなく、様々な薬理作用を介して神経や血管を保護する可能性がある。そこで本研究ではまずラタノプロスト、チモロール及びラタノプロスト/チモロールの配合剤の網膜神経細胞に対する保護作用について検討した。次に網膜血管疾患である網膜静脈閉塞症（RVO）に対する緑内障治療薬のドラッグリポジショニングの可能性を明らかにするために、まずはRVOのマウスモデルを構築した。最後に構築したマウスRVOモデルの網膜浮腫に対する、緑内障治療薬の薬効評価を実施した。

## 1. 緑内障治療薬配合剤の網膜神経保護作用に関する検討

様々なストレス負荷による網膜神経細胞障害に対するラタノプロスト、チモロール及びラタノプロスト/チモロール配合剤の保護作用について検討した。

各単剤及び配合剤は酸化ストレス、及び小胞体（ER）ストレスによる網膜神経細胞死を抑制した。血清除去ストレスによる網膜神経細胞死に対しては、チモロール及び配合剤は保護作用を示したが、ラタノプロストの保護効果は認められなかった。また血清除去ストレスに対して保護作用を示さない濃度のチモロールと、単剤では有効性を示さなかったラタノプロストを同時に処置すると、ラタノプロスト濃度依存的に血清除去ストレスによる網膜神経細胞死を抑制すること、またこの併用による保護効果がPI3K阻害剤によって阻害されることを明らかにした。

以上のことから、ラタノプロスト及びチモロールの配合剤は各種ストレスによる網膜神経細胞を保護すること、血清除去ストレスに対してはPI3Kを介して相加作用を有することを明らかにした。

## 2. RVOマウスモデルの構築

新規薬剤探索に活用できるマウスRVOモデルを構築するための検討を行った。マウスの網膜静脈に対してレーザーを照射することで、静脈を閉塞させた。静脈閉塞により、網膜浮腫、網膜出血、無灌流領域の形成といった臨床と類似した病態が観察された。また血管内皮増殖因子（VEGF）をはじめとするRVO患者でも変化が認められている遺伝子発現がマウスモデルにおいても同様に変化していることや視機能の低下も確認できた。抗VEGF抗体はRVO患者に対する治療薬として知られているが、抗VEGF抗体を血管閉塞直後に投与すると網膜浮腫や無灌流領域の形成を抑制した。一方で血管閉塞から7日後に抗VEGF抗体を投与すると、無灌流領域の面積は増大した。

以上より、臨床に類似した病態を有し、RVOの治療薬である抗VEGF抗体の治療効果も確認できる本モデルは新規薬剤探索に活用できるモデルであると考えられる。

## 3. RVOモデルにおける緑内障治療薬の薬効検討

マウスRVOモデルの網膜浮腫に対する緑内障治療薬であるチモロール及びラタノプロストの有効性について検討した。

マウスRVOモデルにチモロール及びラタノプロストを点眼投与すると、チモロールは網膜浮腫を改善した。一方でラタノプロストは網膜浮腫を改善する傾向を示すものの有意な差はなかった。またチモロールはRVOモデルにおいて増加しているVEGFやERストレスマーカーの一つであるATF4の発現を抑制すること、ヒト網膜毛細血管内皮細胞において低酸素ストレスによって増加したVEGFの発現を抑制することを明らかにした。次にERストレスの網膜浮腫形成への関与を明らかにするために、ERストレスを抑制することが知られているintegrated stress response inhibitor (ISRIB)の薬効評価を実施した。その結果、ISRIBは網膜浮腫やVEGFの発現を抑制した。

以上より、緑内障治療薬であるチモロールはVEGFの発現やERストレスを抑制することでRVOにおける網膜浮腫を抑制することが明らかとなった。

今回の一連の研究により、緑内障治療薬であるチモロール及びラタノプロストの配合剤が眼圧下降作用以外の機序で緑内障を改善する可能性があること、またチモロールが緑内障以外の網膜疾患であるRVOの病態も改善する可能性があることを明らかにした。これらの研究結果は網膜疾患の治療の発展に寄与するものと考えられる。

#### 【略語】

ER : endoplasmic reticulum  
ISRIB : integrated stress response inhibitor  
PI3K : phosphatidylinositol-3 kinase  
RVO : retinal vein occlusion  
VEGF : vascular endothelial growth factor

## 論文審査結果の要旨

氏名（本籍）	夫馬 慎一郎 ( 愛知県 )
学位の種類	博士（薬学）
学位記番号	乙 第 4 1 4 号
学位授与年月日	令和 6 年 3 月 1 0 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 2 項該当者
学位論文の題名	網膜疾患における神経及び血管保護に関する研究
論文審査委員	(主査) 原 宏和
	(副査) 檜井 栄一
	(副査) 松永 俊之

本論文は、網膜疾患である緑内障や網膜静脈閉塞症（RVO）における神経及び血管保護について検討したものである。初めに、緑内障治療薬のうち、プロスタグランジンアナログのラタノプロスト、 $\beta$ 遮断薬のチモロール及び両者の共処置による網膜神経保護作用について検討した。その結果、これらの緑内障治療薬が酸化ストレスなどによって誘発される網膜神経細胞死を抑制することを示した。次に、これらの緑内障治療薬の RVO に対する有効性を明らかにするために、RVO のマウスモデルを構築した。構築したモデルマウスでは網膜浮腫、無灌流領域の形成といった病態が再現されること、病態形成に関与する血管内皮増殖因子 (*Vegf*) が増加すること、そして抗 VEGF 抗体が病態を改善することを示した。最後に、構築した RVO モデルでラタノプロスト点眼薬及びチモロールマレイン酸点眼薬の評価を行った。その結果、チモロールマレイン酸点眼薬が *Vegf* や小胞体ストレスに関わる転写因子の一つである *Atf4* の発現低下を介して網膜浮腫を改善することを明らかにした。

以上より、本研究は緑内障治療薬であるチモロールが神経及び血管保護作用を有すること、さらに病態を反映した RVO モデルを構築し、RVO の新規治療薬候補となる可能性を見出したことから、博士（薬学）の論文として価値のあるものと認める。