

平成 20 年度日本眼科学会学術奨励賞 受賞論文総説

N-methyl-D-aspartate 型グルタミン酸受容体を介した
網膜神経細胞死の機序解明

中澤 徹

東北大学大学院医学系研究科感覚器病態学講座眼科

要 約

我々は本受賞論文にて、網膜虚血障害で神経細胞死に中心的に働く N-methyl-D-aspartate (NMDA) 型グルタミン酸受容体の白血球を介した新しい細胞死の機序を明らかにした。これまで、NMDA 受容体は神経細胞に直接カルシウムを流入させ、細胞内シグナル伝達を介して細胞死を誘導する機序が中心であると考えられていた。我々はその経路以外に、グリア細胞を介した網膜炎性サイトカインの増加、白血球遊走を介した細胞死の経路を発見した。白血球が血管内皮細胞に接着する際に不可欠な CD18 をノックアウトしたマウスの眼内に NMDA を投与して障害を誘導したところ、白血球の網膜内遊走は有意に抑制され、それに伴い NMDA による網膜神経細胞死が劇的に抑制されたことから、遊走した白血球

が網膜障害を引き起こしていることが明らかになった。また、高脂血症治療薬として臨床で使用されているスタチンは同様に NMDA による白血球遊走を抑制し、網膜神経節細胞死を抑制したことから、虚血による炎症の結果起こる白血球遊走を抑制する薬物治療として期待できる。本総説論文では、これまでに我々が研究した、NMDA 障害における網膜神経細胞死の機序にかかわる所見もあわせて紹介し総説とする。(日眼会誌 113 : 1060—1070, 2009)

キーワード：網膜興奮毒性、網膜神経節細胞、白血球、虚血、神経保護治療

A Review

Mechanism of N-methyl-D-aspartate-induced Retinal Ganglion Cell Death

Toru Nakazawa

Department of Ophthalmology, Tohoku University Graduate School of Medicine

Abstract

Excitotoxicity is a major cause of retinal ganglion cell (RGC) death during ischemic diseases such as vessel occlusion and diabetic retinopathy. However, the underlying mechanisms are not well understood. In this study, we found a novel and causative role for inflammatory leukocyte recruitment in NMDA-induced excitotoxicity. NMDA increased the expression of interleukin-1 β and TNF- α , and endothelial adhesion molecules, including ICAM-1, and induced leukocyte accumulation in the retinal vessels. Either systemic blockade of ICAM-1 in wild-type mice or the absence of CD18 in gene deficient (CD18^{-/-}) mice significantly suppressed NMDA-induced leukocyte

accumulation and RGC death. Furthermore, here we demonstrated the novel neuroprotective effect of statins against excitotoxicity-induced RGC death. Both statins and other anti-inflammatory agents may thus have therapeutic benefits in excitotoxicity-associated neurons. In this article, we demonstrate our previous data on NMDA-induced retinal damage and summarize the field of research on retinal excitotoxicity. Nippon Ganka Gakkai Zasshi (J Jpn Ophthalmol Soc 113 : 1060—1070, 2009)

Key words : Excitotoxicity, Retinal ganglion cell, Leukocyte, Ischemia, Neuroprotection

別刷請求先：980-8574 仙台市青葉区星陵町 1—1 東北大学病院眼科医局 中澤 徹

(平成 21 年 3 月 19 日受付, 平成 21 年 6 月 30 日改訂受理) E-mail : ntoru@oph.med.tohoku.ac.jp

Reprint requests to : Toru Nakazawa, M.D. Department of Ophthalmology, Tohoku University Graduate School of Medicine, 1-1 Seiryō-cho, Aoba-ku, Sendai-shi, Miyagi-ken 980-8574, Japan

(Received March 19, 2009 and accepted in revised form June 30, 2009)

I はじめに

失明につながる多くの眼疾患において、網膜神経細胞死は視力低下の直接的な原因として重要である。それ故、我々が究極的に目指すのは、その疾患における基本病態を解析し根本治療を行うことであり、それが難しい場合、病態の中での障害因子を同定し、対症療法として網膜神経細胞をその障害から保護する治療(神経保護治療)を行うことである。しかし現状では、臨床データからの完全な病態解明は困難であり、動物の病態モデルを作製し、その機序解明から臨床にフィードバックする必要がある。これまでのさまざまな基礎研究の成果から、網膜疾患の神経細胞死では、虚血、グルタミン酸障害、炎症、栄養因子の欠損、酸化ストレスなどが複雑に関与することが考えられている(図 1)。しかし、高眼圧障害における網膜神経節細胞死を例にとっても、これらの基本障害因子がどの程度組み合わさっているのかなど、詳細は不明な点が多い。一つ一つの基本障害因子に拮抗する薬剤を組み合わせ使用する神経保護治療の開発は、

多くの網膜疾患の治療に広く応用できる考え方である。早期の臨床応用を考えると、①既に眼科以外の分野で臨床応用されている薬剤で、その障害因子を抑制する効果を持つ薬剤の探索、②上記の基本障害因子のうち、我々が現状で用い得るツールの再確認も重要である。例えば、消炎治療に関しては非特異的な副腎皮質ステロイド治療、さらには tumor necrosis factor (TNF) α ¹⁾や interleukin (IL)-6²⁾などを分子標的にした抗体治療を手に入れ、抗血管新生治療では vascular endothelial growth factor (VEGF) に対して沢山の治療薬が登場している³⁾⁴⁾。また、グルタミン酸障害においては近年メマンチン [N-methyl-D-aspartate (NMDA) 型受容体アンタゴニスト] が海外で Alzheimer 病や Parkinson 病で病状を改善できる薬剤として使用できるようになっている⁵⁾。つまり網膜障害において NMDA 型受容体を介した細胞死が中心的疾患であれば、メマンチンにより神経保護治療が有効である可能性が高い。緑内障に対してメマンチンの大規模治験が行われたが、まだ最終結果の報告はなされていない。しかし、我々の軸索障害モデルでも

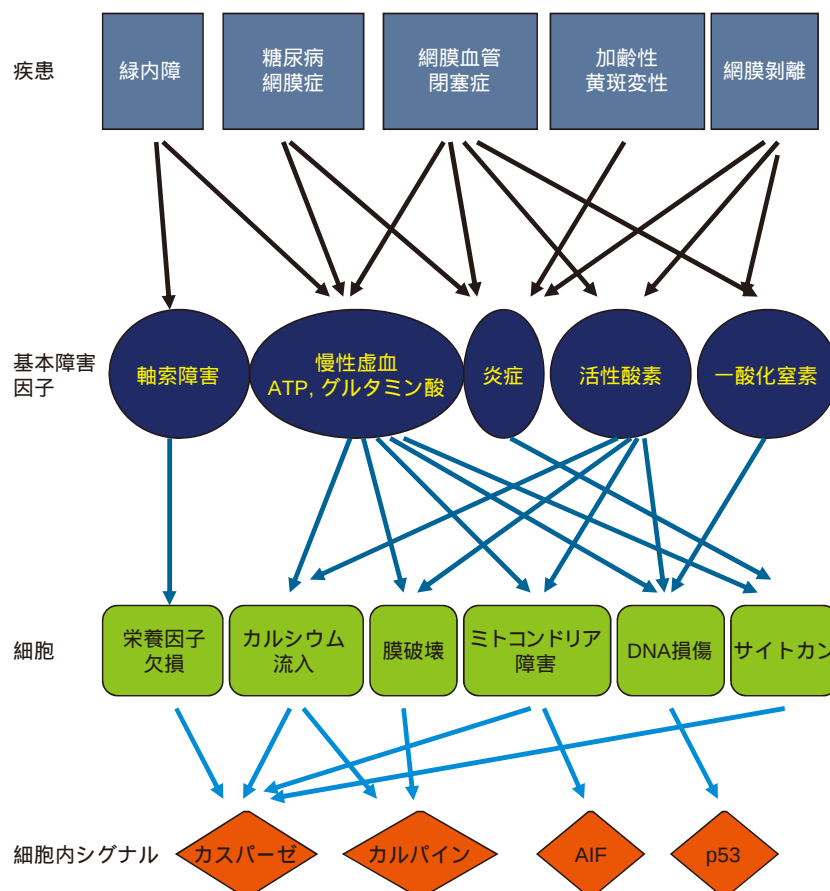


図 1 眼疾患の神経細胞死の原因。

網膜疾患による神経細胞死の原因には、その基本障害因子として、軸索障害、慢性虚血、炎症、活性酸素、一酸化窒素などがあり、その障害により細胞では栄養因子欠損、カルシウムの細胞内流入、膜破壊、ミトコンドリア障害、DNA 損傷、サイトカイン曝露が起こる。その結果細胞内では、カスパーゼやカルパインの活性化、AIF (apoptosis inducing factor) のミトコンドリアから細胞質への漏出、p53 の活性化が起こり細胞死が誘導される。

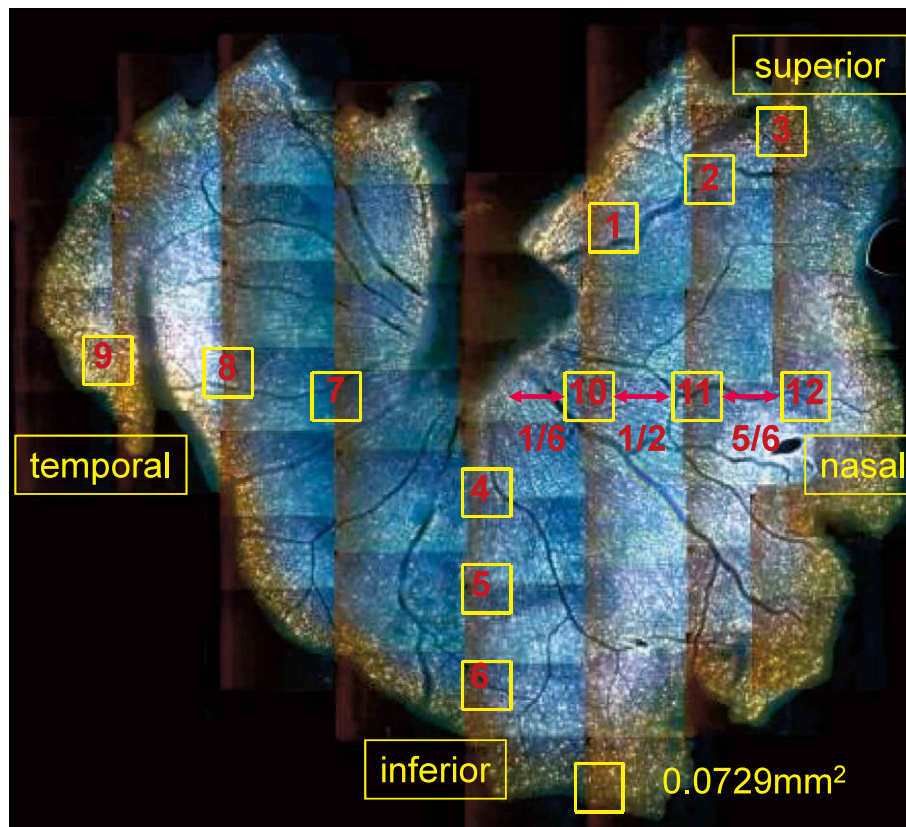


図 2 網膜伸展標本による網膜神経節細胞密度の計測.

蛍光色素で逆行性に染色した網膜神経節細胞 (RGCs) 密度を上 (superior), 下 (inferior), 耳側 (temporal), 鼻側 (nasal) の各象限 3 点, 合計 12 点の平均を求めた.

$$\text{Average RGCs}(/\text{mm}^2) = (N1 + \dots + N12) / 12 / 0.0729$$

N = Fluoro-Gold-labeled RGCs

NMDA 受容体の抑制は効果がなく, 軸索障害がメインとされる緑内障治療にどれほどの治療効果があるのかは不明である. むしろ NMDA 受容体の抑制治療は網膜の虚血性疾患にこそ有効であるというのが基礎研究からの成果であろう. この報告では, 網膜虚血障害における網膜神経細胞障害は主に NMDA 型グルタミン酸受容体を介している⁶⁾ことから, 動物の眼内に NMDA を投与することにより, 網膜神経細胞死を引き起こすシンプルな実験系を用いて, その障害の機序を詳細に調べ, 来るべきメマンチンの眼疾患応用に向け基本情報を得ることも目的の一つである. また, 既に臨床で高脂血症治療薬として使用されている, スタチンの消炎作用に注目しその神経保護作用を検討した.

II グルタミン酸受容体

グルタミン酸の受容体はイオン透過型, 非イオン透過型 (代謝型) に分類される⁷⁾. さらにイオン透過型は NMDA 型受容体と AMPA/Kinate 型受容体に分類される. NMDA 型受容体は, グルタミン酸と結合することにより, 2 価のイオン, 主にカルシウムイオン (Ca^{2+}) を細胞内に流入させる働きをしている. 一方 AMPA/Kinate

型は, ナトリウムイオン (Na^+) やポタシウムイオン (K^+) を透過させることにより, 細胞の膜電位が変化する. グルタミン酸は重要な神経伝達物質であり, 中枢の多くの部位にその受容体は広く分布し, 生理的に重要な働きをしている. 網膜においても, グルタミン酸は視細胞, 双極細胞, 網膜神経節細胞間の主要な神経伝達物質である. NMDA 型受容体が常時興奮しないように, マグネシウム分子が受容体を抑制している (マグネシウムブロック). AMPA/Kinate 型受容体を介した膜電位変化により, マグネシウムブロックが解除され, カルシウムイオンの細胞内流入をもたらす細胞死に関与すると報告されている⁸⁾. こうしてイオン透過型グルタミン酸受容体を介した細胞死は最終的に NMDA 型受容体を介して起こることから, この NMDA 受容体の特徴を調べることは虚血の神経保護研究において重要である.

III 神経興奮毒性 (グルタミン酸毒性) と疾患

これまでの研究から, Alzheimer 病や Parkinson 病, Huntington 舞踏病, 筋萎縮性側索硬化症など多くの神経変性疾患では, NMDA 受容体の過剰な反応により神経細胞死が起こることが示されている⁹⁾. しかし,

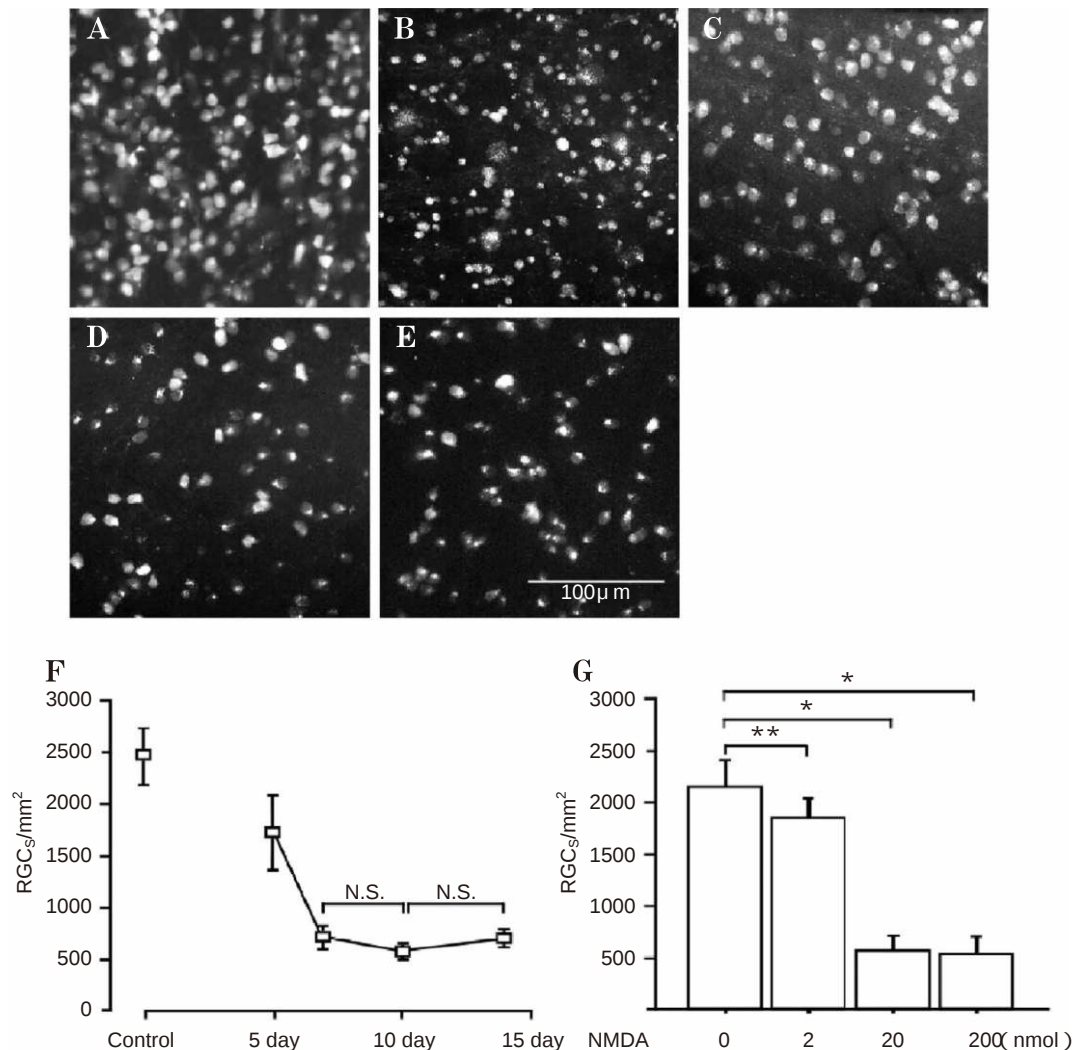


図 3 N-methyl-D-aspartate (NMDA) 眼内投与による網膜神経節細胞死の経時的変化と濃度依存性。A~E: 逆行性蛍光染色された網膜神経節細胞の代表的写真。A: 対照, B: NMDA 障害 5 日目, C: 7 日目, D: 10 日目, E: 14 日目。F: 生存網膜神経節細胞密度の経時的変化。7 日後まで急速に細胞死が進行するが、それ以降は密度の変化を認めない。G: 生存網膜神経節細胞密度における NMDA 濃度依存性。20 と 200 nmol では同等の障害を示す。*: $p < 0.0001$, **: $p < 0.0049$ 。

(文献 23, 図 1 より許可を得て転載)

NMDA 受容体は神経細胞の生理的機能、特に記憶に関係する細胞に発現するため、NMDA 受容体を強力に抑制することはてんかんなどの重篤な副作用を伴う。そのため、治療としては NMDA 受容体の過剰反応だけを抑え、生理的反応は抑制しないことが重要である。中枢神経系の一つである網膜においても、虚血が関与する糖尿病網膜症^{10)~12)}や網膜血管閉塞症¹³⁾、網膜剝離¹⁴⁾では眼内のグルタミン酸が増加していると言われている。一方、緑内障患者の眼内ではあらゆるアミノ酸が変化していないという報告もあり¹⁵⁾、現在のところ緑内障患者でグルタミン酸が上昇しているかどうかは疑問である。しかし、ここで一つ注意しておきたいことがある。NMDA 受容体は通常マグネシウムブロックにより抑制されており、培養細胞で NMDA を介した網膜神経節細胞死を誘導する際には、培養液からマグネシウムを除かないと細

胞死が誘導できない。つまり、このマグネシウムブロックを外す現象(膜電位の変化)が NMDA 障害を制御している可能性が示唆される。細胞が弱った状態で静止膜電位が上昇(生細胞の静止膜電位は -80 mV)すると、NMDA 受容体を介した障害が起きやすくなる。それ故、視神経乳頭部で軸索障害により弱った網膜神経節細胞が NMDA 受容体を介した細胞死を起こす際には、必ずしもグルタミン酸濃度が上昇する必要はなく、正常濃度でも細胞死は起こりうることになる。最近の興味ある知見では IL- 1β や TNF α が細胞の膜電位や NMDA 受容体の感受性を変化させることなどが示され¹⁶⁾、炎症とグルタミン酸障害のインターアクションも今後さらに研究していく必要があると考えられる。

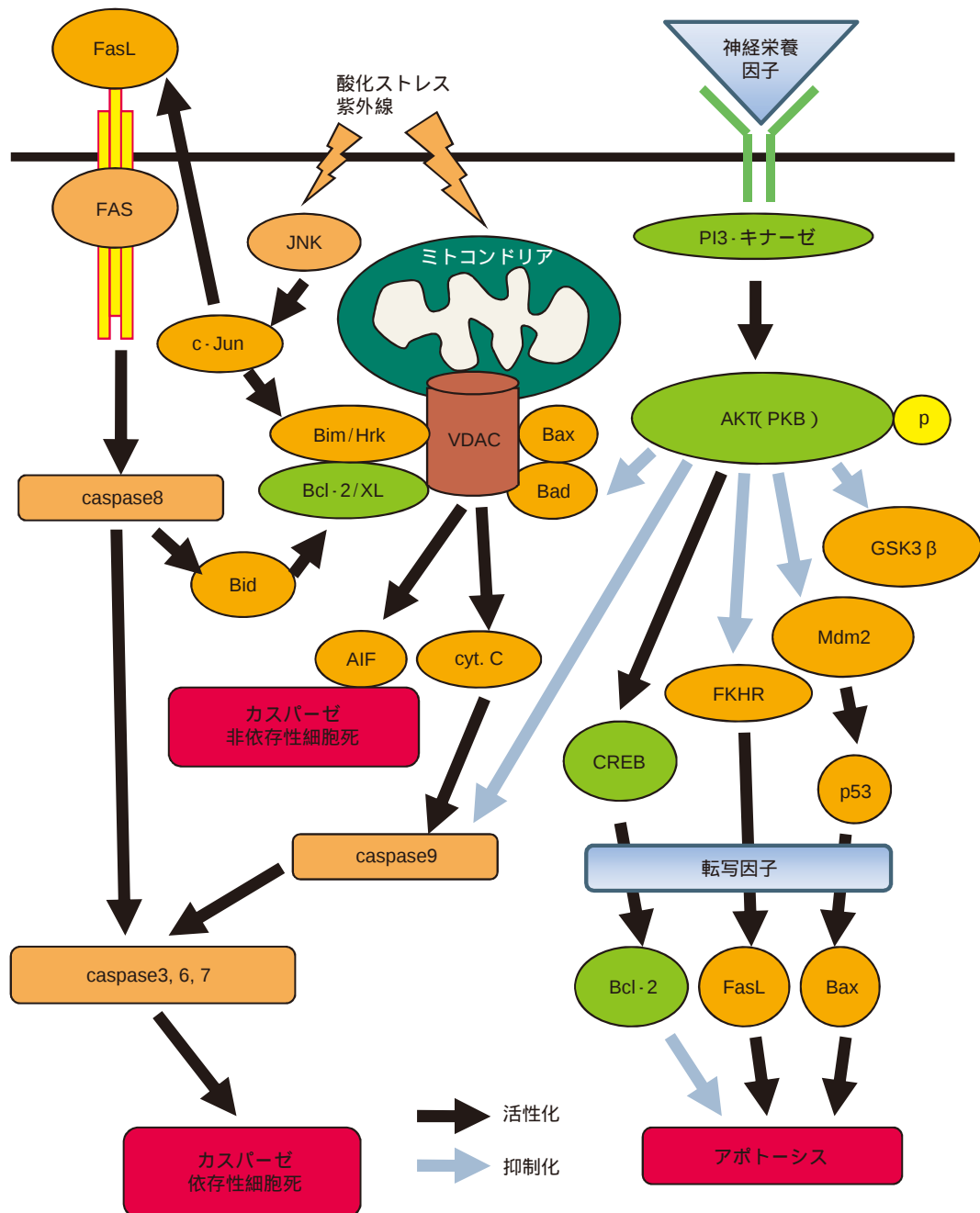


図 4 細胞死の経路とプロテインキナーゼ B (AKT) による細胞死抑制。

カスパーゼ依存性の細胞死には、FasL/FAS や tumor necrosis factor α (TNF α) により活性化される外因性の細胞死と、ミトコンドリアに由来する内因性の細胞死がある。視細胞死では AIF によるカスパーゼ非依存的な細胞死も重要である。AKT はリン酸化状態で細胞死を多段階で抑制している。

IV 網膜興奮毒性モデル

網膜興奮毒性動物モデルを作製するにあたり、単に眼内にグルタミン酸を投与するだけでは、Müller 細胞によって取り込まれグルタミンに解毒されてしまう。そこで網膜興奮毒性モデルとして多く用いられてきたのが、網膜虚血再灌流モデル(1 時間程度の完全虚血と再灌流)である。再灌流によりグルタミン酸が眼内に急上昇し、網膜内層(網膜神経節細胞とアマクリン細胞)の障害が起こる¹⁷⁾。その際、NMDA 型受容体の特異的インヒビ

ターである MK 801 を投与すると、その虚血再灌流による細胞死がほとんど抑制できることから、グルタミン酸毒性においては NMDA 型受容体を介して細胞死が起こると考えられている⁶⁾。そこで、我々はシンプルな網膜興奮毒性モデルとして NMDA を眼内に投与して障害を起こし、生き残った網膜神経節細胞を計測するモデルを確立した¹⁸⁾¹⁹⁾。NMDA を眼内に投与すると、6 時間後ぐらいから網膜神経節細胞とアマクリン細胞に TUNEL 染色陽性(DNA の断裂を検出する方法)細胞が認められ、24 時間後をピークに 48 時間後までみられる。Flu-

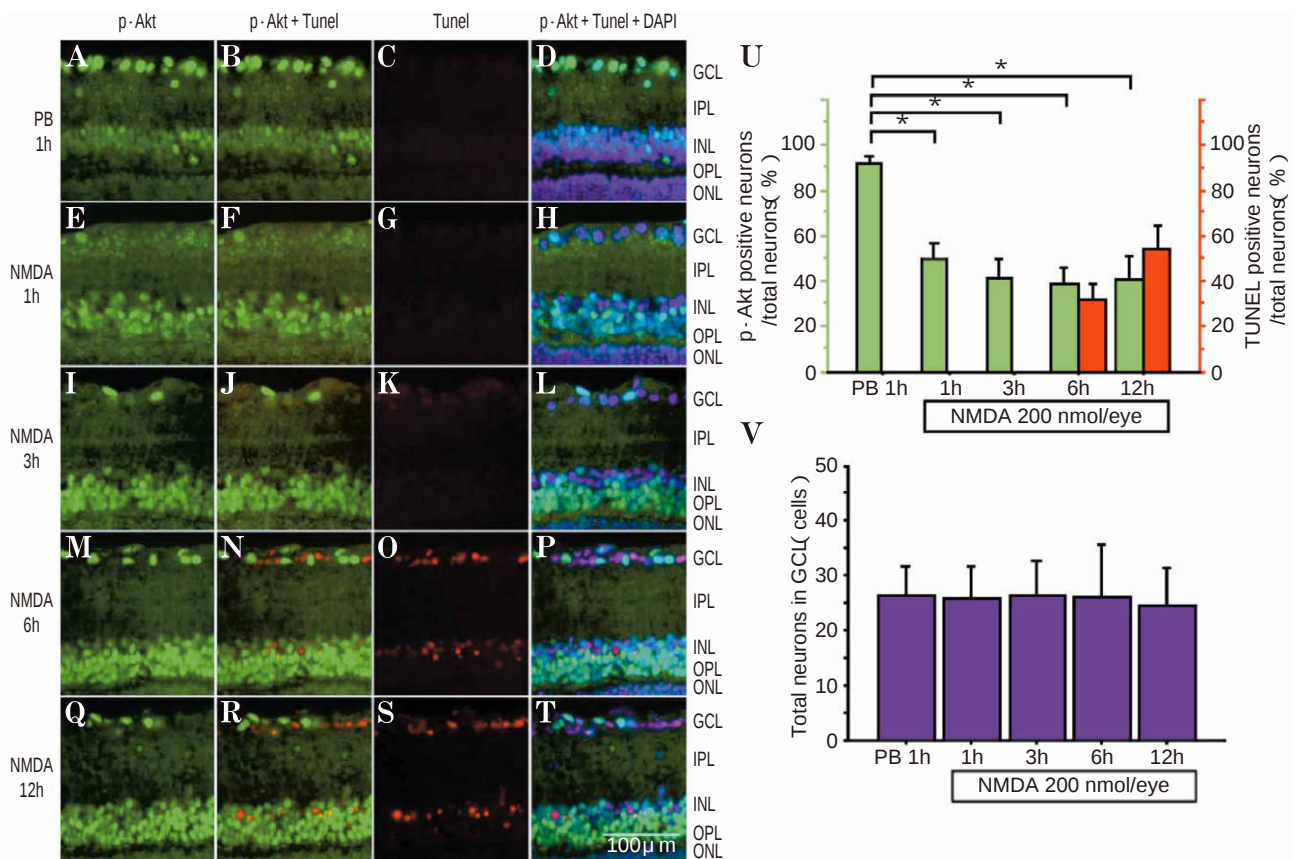


図 5 NMDA 障害における AKT の脱リン酸化と細胞死の関係。

A～D：リン酸緩衝液投与 1 時間後(対照)。E～H：NMDA 投与 1 時間後。I～L：3 時間後。M～P：6 時間後。Q～T：12 時間後。A, E, I, M, Q：リン酸化 AKT の免疫染色性。B, F, J, N, R：リン酸化 AKT (緑)と TUNEL 染色(赤)の二重染色像。C, G, K, O, S：TUNEL 染色。D, H, L, P, T：リン酸化 AKT (緑), TUNEL (赤), DAPI 核染色(青)による三重染色。NMDA 障害 1 時間後には、網膜神経節細胞層(GCL)と内顆粒層(INL)のより内層でリン酸化 AKT 陽性細胞が減少し、障害 6 時間後には TUNEL 陽性細胞が出現する。U：網膜神経節細胞層のリン酸化 AKT 陽性(緑), TUNEL 陽性(赤)細胞数の経時的変化。V：網膜神経節細胞層の全細胞数。12 時間以内では細胞数は変化を認めていない。

(文献 23, 図 3 より許可を得て転載)

oro-Gold を上丘に投与すると軸索末端から蛍光色素が取り込まれ逆行性に網膜神経節細胞を標識することができる。網膜の切片組織を用いて、網膜神経節細胞層にある細胞を計測することでも障害の程度を評価できるが、網膜神経節細胞層には網膜神経節細胞と異所性のアマクリン細胞が半数程度混在していることから、網膜神経節細胞だけを特異的に計測することは不可能である。我々の逆行性染色法を使用すると、網膜伸展標本中の生存している網膜神経節細胞密度をより正確に計測することが可能である(図 2)。NMDA の眼内投与 7 日後には、NMDA の濃度依存性に蛍光染色された網膜神経節細胞が有意に減少し、経時的には 3 日～7 日にかけて急速に網膜神経節細胞は減少するが、それ以降はさらなる細胞死は認められなかった(図 3)。

V 細胞死の検出方法

一般に、『網膜神経細胞死』と表現する際に、どの地

点を持って『細胞死』とするのか議論になるところである。図 4 に一般的な細胞死のカスケードを示した。主なものとしては、細胞外からの受容体(FasL/FAS)を介して caspase 8, caspase 3, 6, 7 を介する細胞死と、酸化ストレスや紫外線などが直接ミトコンドリアの膜電位(VDAC)を変化させ、ミトコンドリア内の cytochrom C (cyt. C)が細胞内に放出され、caspase 9, caspase 3, 6, 7 を介した細胞死の経路がある。また、それらは Bid を介してクロストークしている。最近では、ミトコンドリアの膜電位の変化により、apoptosis inducing factor (AIF)がミトコンドリア内から細胞質内に放出され、DNA が断片化されて細胞死を起こす、カスパーゼ非依存性細胞死が報告され、特に網膜剥離における視細胞の変性に重要であることが報告されている²⁰⁾。我々臨床医のレベルでは、どこまでが可逆性であり、治療可能であるのかをもって、細胞死を定義することが適切と考える。たとえば cytochrom C (cyt. C)がミトコンドリアか

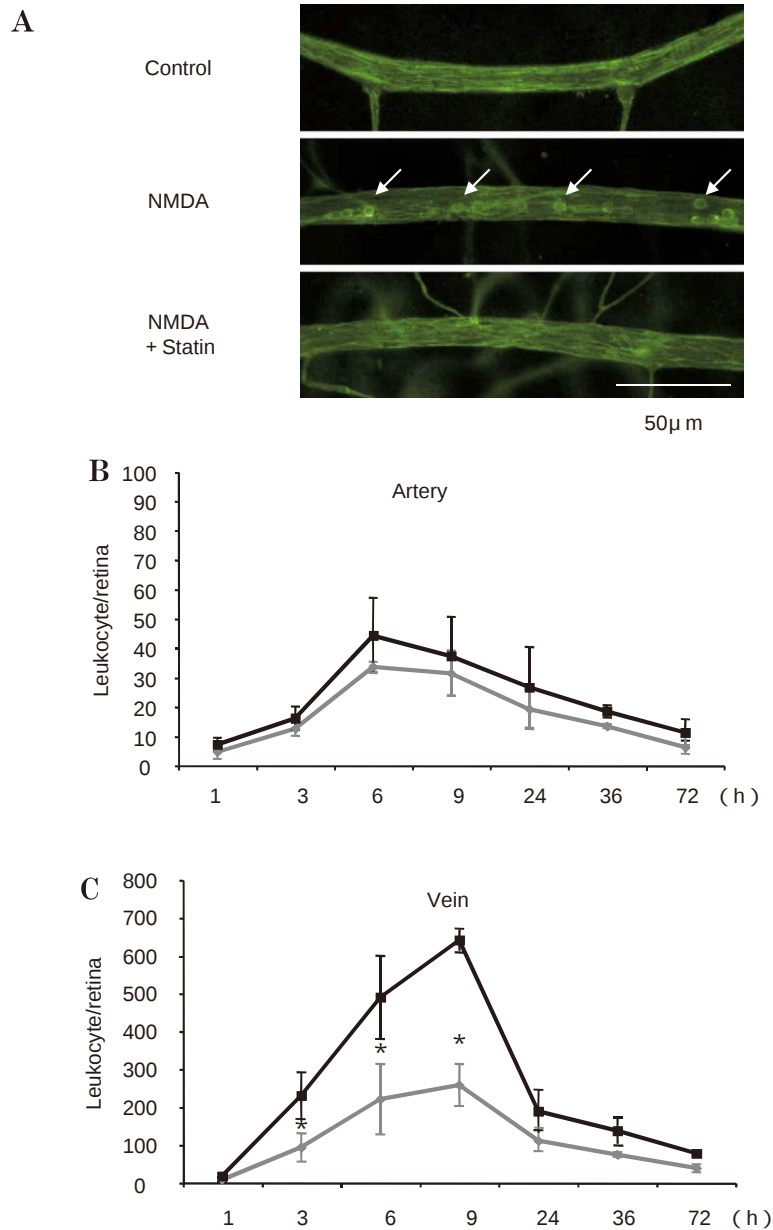


図 6 Pitavastatin 経口投与による白血球遊走阻害。

A: レクチン染色による血管に接着した白血球の代表的写真。上段: 対照。中段: NMDA 障害後, 血管内に接着した白血球を認める (白矢印)。下段: スタチン経口投与と NMDA 眼内投与。スタチン経口投与により血管内に接着した白血球が減少している。B: 動脈内の接着白血球数と経時的変化。■: CMC-NMDA, ●: Statin-NMDA。C: 静脈内の接着白血球数と経時的変化。NMDA 障害においては動脈より静脈に多く白血球が接着しており, そのピークは 9 時間である。スタチン経口投与により有意に接着が抑えられている。■: CMC-NMDA, ●: Statin-NMDA。*: $p < 0.05$

(文献 24, 図 3 より許可を得て転載)

ら細胞質に放出された後でも, その下流でヒートショックプロテイン 27 (HSP 27) がその機能を抑制することができ²¹⁾, この時点ではまだ可逆性の状態である。そこで, 我々が研究によく使用する細胞死のサインとして DNA の断片化を意味する TUNEL 陽性サインを用いている。また, 先に示した蛍光色素による逆行性染色で実際に網膜神経節細胞を蛍光色素で標識すると, その検査時点で生存している網膜神経節細胞を計測することが可能になる。そこで本研究では TUNEL と逆行性蛍光染

色法を使用した。

VI 神経細胞内シグナル伝達

神経細胞死の起こるプロセスについて細胞内シグナル伝達のレベルで詳細な検討を行った。プロテインキナーゼ B (AKT) は図 4 に示すようににさまざまなレベルで細胞死を抑制しており, その機能はリン酸化状態により制御されている。つまり AKT がリン酸化されていると視神経切断²²⁾や虚血再灌流障害¹⁹⁾による細胞死が抑制さ

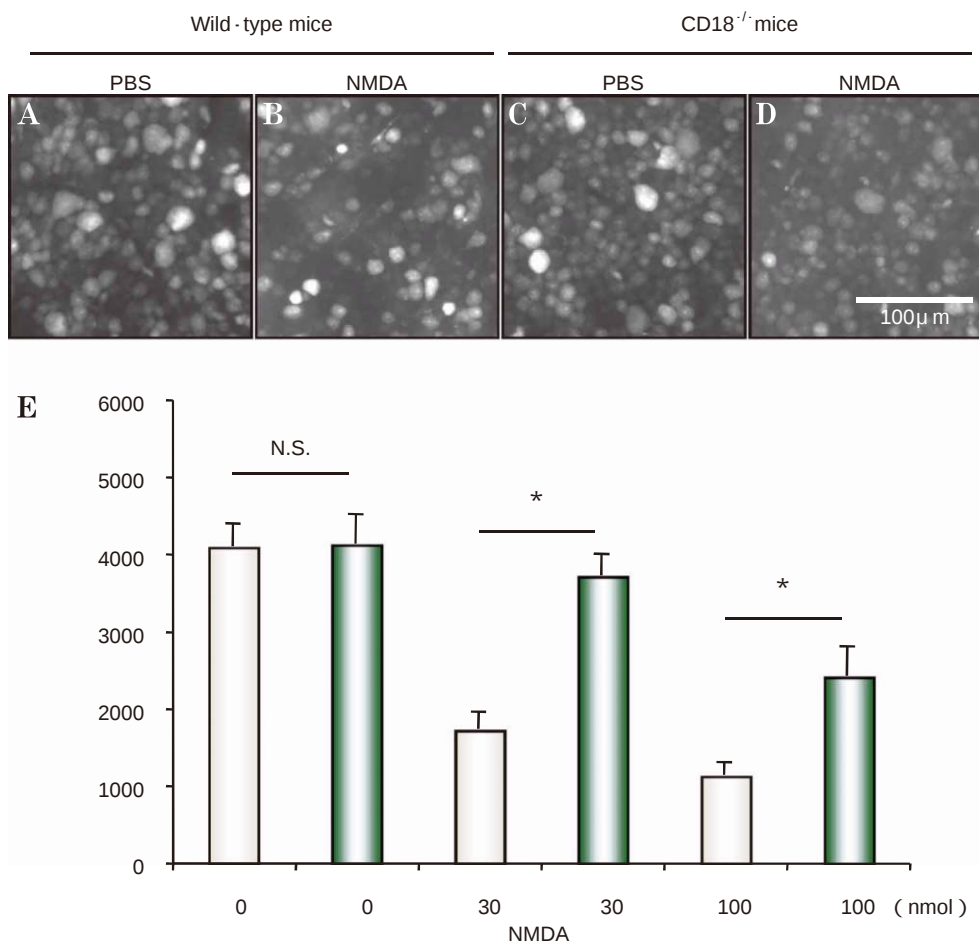


図 7 CD18 ノックアウトマウスと野生型マウスの NMDA 障害程度の比較.

A~D: 逆行性染色された網膜神経節細胞の代表的写真. A, B: 野生型マウス, C, D: CD18 ノックアウトマウス. A, C: PBS 眼内投与. B, D: NMDA 眼内投与. E: 野生型と CD18 ノックアウトマウスにおける NMDA 障害濃度依存性. 30, 100 nmol の NMDA 眼内投与により, 野生型では網膜神経節細胞密度は有意に減少しているが, CD18 ノックアウトマウスでは障害の程度が有意に弱い.

□: 野生型マウス, ■: CD18 ノックアウトマウス. *: $p < 0.05$

(文献 24, 図 8 より許可を得て転載)

れ, 脱リン酸化されると細胞死抑制機構が解除される. そこで我々は NMDA による網膜神経節細胞死にも AKT が重要な役割をしていると仮定し, NMDA による AKT のリン酸化状態を調べた. すると NMDA により AKT は 1 時間以内に脱リン酸化が起こることが証明された²³⁾(図 5). この AKT の脱リン酸化された細胞が TUNEL 陽性となるのに 6 時間を要することから, かなり早期の細胞死の変化と考えることができる. 一方, AKT を brain-derived neurotrophic factor (BDNF) などの神経栄養因子でリン酸化誘導すると, NMDA による網膜神経節細胞死は抑制されることから, AKT は NMDA による網膜神経節細胞死に中心的な役割を果たしていることが証明された. また, この変化はプロテインフォスファターゼ 2A 依存的に起こっていることも示された²³⁾.

VII NMDA 障害におけるグリア細胞の役割

これまで NMDA による細胞死の機序解明が主に神経細胞の培養細胞で行われていることから, 我々は生体の眼内ではもう少し複雑に制御されていると考えた. 網膜のグリア細胞として, 眼内にはアストロサイト, Müller 細胞, マイクログリア細胞が局在している. グリア細胞は神経細胞を栄養し, 障害から神経細胞を保護するが, 時に神経細胞を細胞死に至らしめることもある. NMDA 受容体は神経細胞だけでなく, アストロサイトや Müller 細胞にも認められることから, 我々は, 網膜グリア細胞が NMDA により反応し, 炎症性サイトカインを分泌することによって, 網膜神経節細胞死に関与しているのではないかと仮説を立てた. NMDA を介したグリア細胞による炎症惹起性を, 白血球の眼内遊走, 炎症性サイトカインのメッセンジャー RNA の発現上昇,

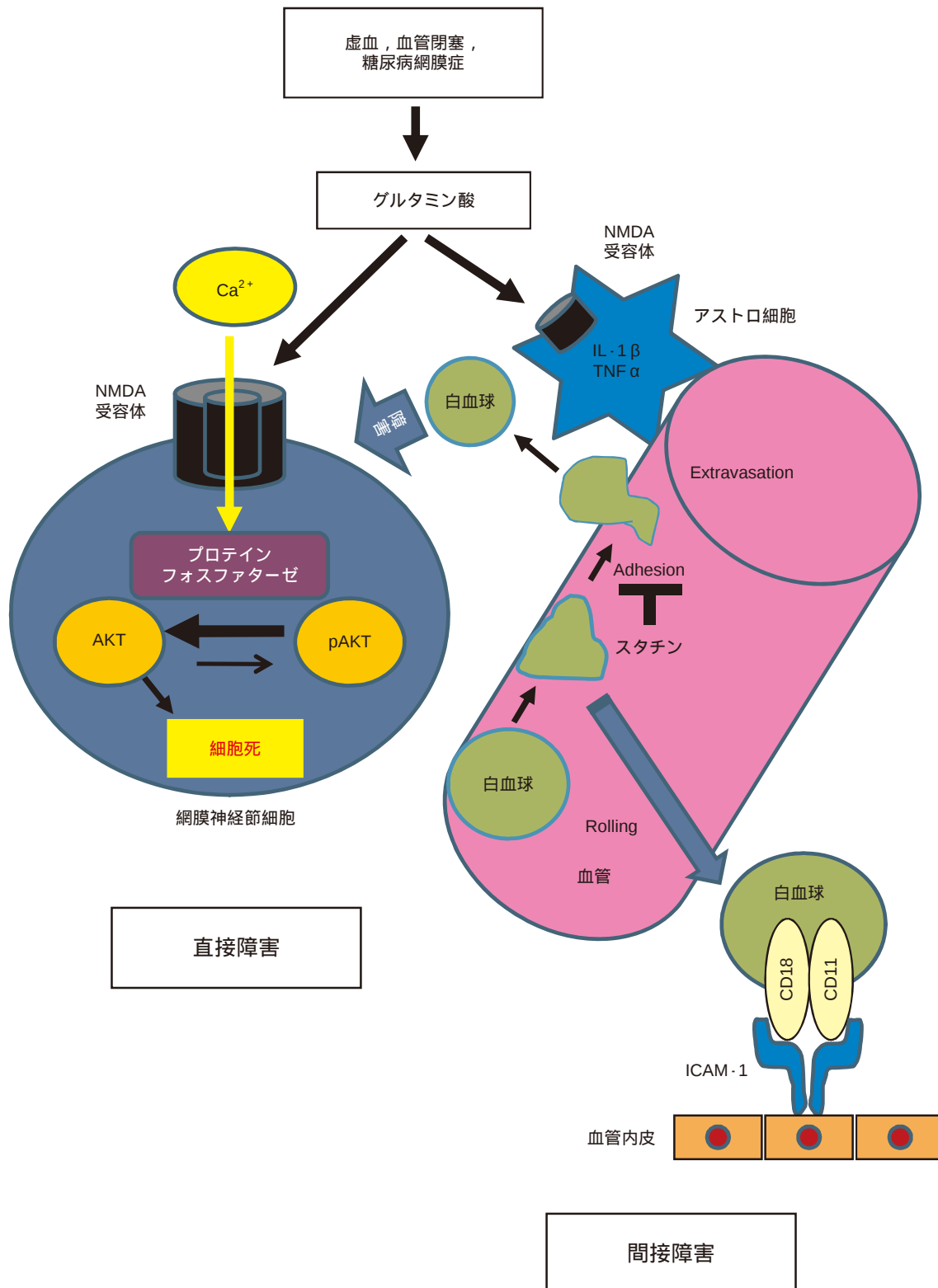


図 8 NMDA による網膜神経節細胞死の直接, 間接経路.

NMDA による網膜神経節細胞死の経路には, 神経細胞の NMDA 受容体を介した直接障害と, 炎症の結果起こる遊走白血球による間接障害を認める. NMDA 受容体はカルシウムイオンの細胞内流入を起こし, フォスファターゼが活性化し, AKT が脱リン酸化され, 細胞死が引き起こされる. 網膜グリア細胞に局在する NMDA 受容体を介して炎症性サイトカンが産生され, 白血球が血管内皮上でローリング(rolling), 接着し血管外に移動(extravasation)する. 白血球の眼内遊走の重要な段階として, 血管内皮細胞に発現する接着分子 ICAM-1 と, 白血球表面に発現する ICAM-1 の受容体 CD18 とが結合することが必要である. ICAM-1: intercellular adhesion molecule-1, pAKT: リン酸化 AKT.

また白血球と血管内皮の接着分子に着目し検討した。その結果 NMDA により、眼内では TNF α や IL-1 β の発現と、intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) などの接着分子、血管内皮には白血球の集積がみられ、NMDA により炎症が惹起されていることが明らかになった²⁴⁾。

VIII スタチンの持つ神経保護作用

スタチンは臨床で高脂血症治療薬として使用されているが、その広い薬理作用が証明されている。緑内障の有病率がスタチン内服で低下する報告や²⁵⁾、緑内障患者でスタチンを使用し、進行が抑制されたという報告もある²⁶⁾。我々はスタチンの抗高脂血症作用以外にどのような作用があるのかを検討した。スタチンを使用してもラットやマウスではコレステロールは低下しないと言われている。そこで、我々はスタチンの持つ抗炎症作用に注目し、その作用と神経保護作用との関係を調べた。本研究では、既に臨床で使用されている pitavastatin (リバロ[®]) を使用した。Pitavastatin はコレステロール低下作用がプラバスタチンより強く²⁷⁾、第二世代のスタチンに分類されている。脳血液柵を通過しにくい²⁸⁾、中枢神経系の副作用が少ないことが期待されている。スタチンを連日経口投与するとともに NMDA 障害を誘発したところ、7 日後の生存網膜神経節細胞は有意に増加し、また白血球、血管内皮接着分子の発現が有意に抑えられた。同時に NMDA により遊走した白血球数はスタチンの内服により有意に減少していた (図 6)。しかし、一方 NMDA により増加する炎症性サイトカインの発現はスタチン治療により変化なかった。こうしてスタチンは NMDA による白血球の遊走を抑制し、同時に神経保護作用を示していることが示された。この際、スタチンの投与方法は経口投与とした。我々が使用した pitavastatin はその特徴として脳血液柵を通過しにくいことが知られており、神経保護作用は血管内で起こっていることが推察された。次にその白血球遊走抑制が神経保護作用に直接的に関与しているかを調べるため、白血球の遊走阻害により NMDA 障害による細胞死がどのように変化するかを検討した。

白血球の網膜障害性を調べるために、NMDA による白血球遊走を選択的に阻害する方法を模索した。白血球の眼内遊走の重要な段階として、血管内皮細胞に発現する接着分子 ICAM-1 と、白血球表面に発現する ICAM-1 の受容体 CD 18 とが結合することが必要である。そこで、ICAM-1 は NMDA 障害時に眼内血管で発現が上昇するため、ICAM-1 の中和抗体を NMDA 障害と同時に血管内投与し、また、CD 18 ノックアウトマウスに NMDA 障害を誘導した。この方法により、遊走白血球の浸潤による細胞障害を特異的に抑制することが可能である。予想通り、ICAM-1 中和抗体投与、CD 18 ノックアウトマウスともに、NMDA による神経障害は有意に

軽減し、白血球遊走が NMDA 網膜障害の重要な要素であることが示された (図 7, 8)。

IX おわりに

これまでの我々の研究において NMDA の眼内投与による網膜神経節細胞死は神経細胞の NMDA 受容体を介した、AKT の脱リン酸化による直接的な細胞死の経路と、グリア細胞の NMDA 受容体を介した炎症に伴う、白血球遊走による間接的な細胞死の経路の 2 つの経路があることが示された (図 8)。NMDA 型グルタミン酸受容体のアンタゴニストであるメマンチンが Alzheimer 病や Parkinson 病に使用され成果を得ている。これも基礎研究からグルタミン酸障害と疾患のかかわりが紐解かれ、治療に結びついた例であろう。臨床では、生体反応における個人差が絡み、特に緑内障のような慢性変性疾患では全例にグルタミン酸障害がかかわっているかは分からない。しかし我々眼科医は日常臨床において、視神経乳頭陥凹の進展に伴い、乳頭を養っている毛細血管が萎縮する緑内障の症例や、糖尿病網膜症における網膜の無血管領域、また他の網膜疾患において蛍光眼底造影検査による明らかな蛍光色素の流入遅延などを認める症例に遭遇する。このような状態では少なからず神経細胞が虚血に晒されていると想定され、NMDA 受容体抑制による神経保護治療が奏功するのではないかと思われる。こうして、臨床による確かな問題点の抽出と基礎研究の進歩により、複雑な病態が明らかになり、メカニズムに依存した神経保護治療に大きなブレイクスルーが起こりうる可能性があると考えられる。

稿を終えるにあたり、受賞講演の機会を与えてくださいました学術奨励賞選考委員会委員各位、日本眼科学会理事長新家 眞先生に深謝いたします。また、研究のご指導と本論文のご高閲を賜りました東北大学眼科学教室西田幸二教授、および研究をお手伝いいただいた高橋秀肇先生をはじめとする東北大学眼科学教室の先生方に心より御礼申し上げます。

文 献

- 1) Jap A, Chee SP : Immunosuppressive therapy for ocular diseases. *Curr Opin Ophthalmol* 19 : 535—540, 2008.
- 2) Nishimoto N, Kishimoto T : Humanized anti-human IL-6 receptor antibody, tocilizumab. *Handb Exp Pharmacol* 181 : 151—160, 2008.
- 3) Gragoudas ES, Adamis AP, Cunningham ET, Jr., Feinsod M, Guyer DR : Pegaptanib for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med* 351 : 2805—2816, 2004.
- 4) 石田 晋, 山城健児, 臼井智彦, 天野史郎, 小椋祐一郎, 樋田哲夫, 他 : 網膜浮腫・虚血・血管新生を制御する白血球の重要性について. *日眼会誌* 108 :

- 193—201, 2004.
- 5) **Koch HJ, Uyanik G, Fischer-Barnicol D** : Memantine : a therapeutic approach in treating Alzheimer's and vascular dementia. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord* 4 : 499—506, 2005.
 - 6) **Lam TT, Siew E, Chu R, Tso MO** : Ameliorative effect of MK-801 on retinal ischemia. *J Ocul Pharmacol Ther* 13 : 129—137, 1997.
 - 7) **Nakanishi S** : Molecular diversity of the glutamate receptors. *Clin Neuropharmacol* 15 Suppl 1 Pt A : 4A—5A, 1992.
 - 8) **Sucher NJ, Aizenman E, Lipton SA** : N-methyl-D-aspartate antagonists prevent kainate neurotoxicity in rat retinal ganglion cells *in vitro*. *J Neurosci* 11 : 966—971, 1991.
 - 9) **Tzschentke TM** : Glutamatergic mechanisms in different disease states : overview and therapeutic implications—an introduction. *Amino Acids* 23 : 147—152, 2002.
 - 10) **Ambati J, Chalam KV, Chawla DK, D'Angio CT, Guillet EG, Rose SJ, et al** : Elevated gamma-aminobutyric acid, glutamate, and vascular endothelial growth factor levels in the vitreous of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Arch Ophthalmol* 115 : 1161—1166, 1997.
 - 11) **Deng J, Wu DZ, Gao R** : Detection of glutamate and gamma-aminobutyric acid in vitreous of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Yan Ke Xue Bao* 16 : 199—202, 2000.
 - 12) **Lu MJ, Pulido JS, McCannel CA, Pulido JE, Hatfield RM, Dundervill RF, 3rd, et al** : Detection of elevated signaling amino acids in human diabetic vitreous by rapid capillary electrophoresis. *Exp Diabetes Res* 2007 : 39765, 2007.
 - 13) **Wakabayashi Y, Yagihashi T, Kezuka J, Muramatsu D, Usui M, Iwasaki T** : Glutamate levels in aqueous humor of patients with retinal artery occlusion. *Retina* 26 : 432—436, 2006.
 - 14) **Bertram KM, Bula DV, Pulido JS, Shipsey SA, Gautam S, Lu MJ, et al** : Amino-acid levels in subretinal and vitreous fluid of patients with retinal detachment. *Eye* 22 : 582—589, 2008.
 - 15) **Honkanen RA, Baruah S, Zimmerman MB, Khanna CL, Weaver YK, Narkiewicz J, et al** : Vitreous amino acid concentrations in patients with glaucoma undergoing vitrectomy. *Arch Ophthalmol* 121 : 183—188, 2003.
 - 16) **Kawasaki Y, Zhang L, Cheng JK, Ji RR** : Cytokine mechanisms of central sensitization : distinct and overlapping role of interleukin-1 β , interleukin-6, and tumor necrosis factor- α in regulating synaptic and neuronal activity in the superficial spinal cord. *J Neurosci* 28 : 5189—5194, 2008.
 - 17) **Adachi K, Kashii S, Masai H, Ueda M, Morizane C, Kaneda K, et al** : Mechanism of the pathogenesis of glutamate neurotoxicity in retinal ischemia. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 236 : 766—774, 1998.
 - 18) **Kudo H, Nakazawa T, Shimura M, Takahashi H, Fuse N, Kashiwagi K, et al** : Neuroprotective effect of latanoprost on rat retinal ganglion cells. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 244 : 1003—1009, 2006.
 - 19) **Nakazawa T, Shimura M, Tomita H, Akiyama H, Yoshioka Y, Kudou H, et al** : Intrinsic activation of PI3K/Akt signaling pathway and its neuroprotective effect against retinal injury. *Curr Eye Res* 26 : 55—63, 2003.
 - 20) **Hisatomi T, Nakazawa T, Noda K, Almulki L, Miyahara S, Nakao S, et al** : HIV protease inhibitors provide neuroprotection through inhibition of mitochondrial apoptosis in mice. *J Clin Invest* 118 : 2025—2038, 2008.
 - 21) **Arya R, Mallik M, Lakhotia SC** : Heat shock genes-integrating cell survival and death. *J Biosci* 32 : 595—610, 2007.
 - 22) **Nakazawa T, Tamai M, Mori N** : Brain-derived neurotrophic factor prevents axotomized retinal ganglion cell death through MAPK and PI3K signaling pathways. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 43 : 3319—3326, 2002.
 - 23) **Nakazawa T, Shimura M, Endo S, Takahashi H, Mori N, Tamai M** : N-Methyl-D-Aspartic acid suppresses Akt activity through protein phosphatase in retinal ganglion cells. *Mol Vis* 11 : 1173—1182, 2005.
 - 24) **Nakazawa T, Takahashi H, Nishijima K, Shimura M, Fuse N, Tamai M, et al** : Pitavastatin prevents NMDA-induced retinal ganglion cell death by suppressing leukocyte recruitment. *J Neurochem* 100 : 1018—1031, 2007.
 - 25) **McGwin G, Jr., McNeal S, Owsley C, Girkin C, Epstein D, Lee PP** : Statins and other cholesterol-lowering medications and the presence of glaucoma. *Arch Ophthalmol* 122 : 822—826, 2004.
 - 26) **De Castro DK, Punjabi OS, Bostrom AG, Stamper RL, Lietman TM, Ray K, et al** : Effect of statin drugs and aspirin on progression in open-angle glaucoma suspects using confocal scanning laser ophthalmoscopy. *Clin Experiment Ophthalmol* 35 : 506—513, 2007.
 - 27) 齋藤 康, 寺本 民, 山田 信, 板倉 弘, 秦 葎, 中谷 矩, 他 : 高脂血症に対する新規 HMG-CoA 還元酵素阻害薬 NK-104 (ビタバスタチン) の臨床効果. *Retina* 26 : 432—436, 2001.
 - 28) **Fujino H, Tsunenari Y, Koide T, Yonemitsu M, Yanagawa Y, Kimata H** : Studies on the metabolic fate of NK-104, a new inhibitor of HMG-CoA reductase (2) : Absorption, distribution, metabolism, excretion and accumulation following repeated oral administration of 14 C-NK-104 in rats. *薬物動態* 13 : 499—507, 1998.