

第 114 回 日本眼科学会総会 特別講演 II

緑内障：眼圧非依存障害因子への挑戦

—ネズミ・サル・そしてヒトへ—

新家 眞

東京大学大学院医学系研究科眼科学専攻

共同研究者

北澤 克明, 山本 哲也, 澤田 明(岐阜大学医学部眼科学教室)

岩瀬 愛子(たじみ岩瀬眼科)

山本精一郎(国立がん研究センター疫学・統計部)

吉村 健一(京都大学医学部附属病院探索医療センター)

原 英彰, 嶋澤 雅光, 伊藤 保志(岐阜薬科大学薬効解析学教室)

山嶋 哲盛(金沢大学医学部脳神経外科学教室)

今村 和幸(前橋工科大学生命工学科)

笹岡 正顕, 太田 貴史(参天製薬株式会社奈良研究所)

水野 憲, 川北 耕二(興和創薬株式会社東京研究所)

大橋 靖雄(東京大学医学部生物統計学教室)

白土 城照(四谷しらと眼科)

山崎 芳夫(日本大学医学部眼科学教室)

松本 長太(近畿大学医学部眼科学教室)

玉置 泰裕, 相原 一, 富所 敦男, 永原 幸, 山上 淳吉, 古関 信之, 石井 清
 高山 淳, 長谷川智之, 間山 千尋, 内田 彩子, 山田 秀之, 大橋 正明, Yi-Ning Chen
 佐伯忠賜朗, 重枝 崇史, 村田 博, Kelvin Lee, 鶴我 英和, Mao Nakayama, 山岸 麗子
 (東京大学医学部眼科学教室)

要 約

開放隅角緑内障の病因として眼圧依存障害因子の他に眼圧非依存障害因子のあることはよく知られている。我々は本邦における正常眼圧緑内障の有病率の高さより、眼圧非依存障害因子の加療法の確立が重要と考え、基礎的および臨床的研究を行い以下の所見を得た。①線維柱帯切除術後の正常眼圧緑内障の視野悪化速度(mean deviation 変化率)は約 -0.25 dB/年であり、それが眼圧非依存障害因子による視野悪化速度の推定値と考えられる。②単離培養網膜神経節細胞を使用した実験では、カルシウム拮抗薬、眼圧下降薬として点眼使用される交感神経 β 遮断薬のうちのあるものが $0.01 \mu\text{M}$ より神経保護作用を示す。③マウスでは網膜神経節細胞を障害すると視覚中枢である外側膝状体、中脳上丘の神経細胞が障害され、さらにそれに対する保護的なグリア系細胞反応が惹起される。メマンチン全身投与は、網膜神経節細胞の障害軽減を介することなく直接、外側膝状体、中脳上丘の神経細胞に対して神経保護作用を呈す

る。④緑内障モデルで同様実験を行うため、隅角部レーザー照射によるマウス緑内障モデルを確立し、マウスの眼圧非侵襲的測定におけるTonolab[®]の有用性を確認した。⑤実験緑内障サルにおいては、その視神経乳頭循環は血管収縮刺激に対しては反応が阻害されているが、血管拡張刺激に対しては反応が保存されている。⑥マウスにおける実験と同様、実験緑内障サルでも外側膝状体における神経細胞の障害とそれに対するグリア系細胞の反応がみられ、かつpositron emission tomographyにより生体でそれが観察できる。⑦サルの実験緑内障においては外側膝状体では早期にはM-細胞系が、中～後期にはM-およびP-細胞系双方が障害される。⑧カルシウム拮抗薬ニルバジピンの 4 mg/日 の投与で、正常眼圧緑内障患者の視神経乳頭および脈絡膜血流が改善され、かつ3年間の視野障害進行がplacebo群に比べ有意に遅延した。⑨抗緑内障交感神経 β 遮断薬であるニブラジロールおよびチモロールを正常眼圧緑内障患者に

別刷請求先：158-8531 東京都世田谷区上用賀6-25-1 公立学校関東中央病院 新家 眞

(平成22年12月2日受付, 平成22年12月8日改訂受理) E-mail: araie-ky@umin.net

Reprint request to: Makoto Araie, M.D., Ph.D. Kanto Central Hospital, The Mutual Aid Association of Public School Teachers, 6-25-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8531, Japan

(Received December 2, 2010 and accepted in revised form December 8, 2010)

対して3年間点眼投与し、視野障害の進行を前向きに検討したところ、mean deviationの平均悪化度はいずれの薬剤を点眼投与した群でも -0.1 dB/年より小さかった。その値は上記①の臨床研究の結果得られた -0.25 dB/年より明らかに小さく、点眼薬でも眼圧非依存障害因子の加療が可能である可能性が示された。

以上の基礎的および臨床的研究の結果、眼圧非依存障害因子加療のターゲットとしては網膜神経節細胞および

中枢神経内の視覚路の神経細胞の双方があり、前者は点眼薬および全身投与薬で、また後者は全身投与薬での加療が可能であり、その全身投与薬としてはカルシウム拮抗薬が候補となることが示唆された。(日眼会誌 115: 213-237, 2011)

キーワード：開放隅角緑内障、眼圧非依存障害因子、マウス、サル、臨床試験

A Review

Basic and Clinical Studies of Pressure-independent Damaging Factors of Open Angle Glaucoma

Makoto Araie

Department of Ophthalmology, The University of Tokyo Graduate School of Medicine

Abstract

Pathogenesis of open-angle glaucoma involves both pressure-dependent damaging factors and pressure-independent damaging factors. The high prevalence of open-angle glaucoma with normal pressure (normal-tension glaucoma) in Japan implies that treatment of pressure-independent damaging factors in Japanese open-angle glaucoma patients is of importance. In an attempt to investigate the roles of pressure-independent damaging factors in open-angle glaucoma, we carried out basic and clinical studies and obtained the following results.

1. The rate of deterioration of visual field after trabeculectomy in normal tension glaucoma patients with post-operative intraocular pressure (IOP) of 10 mmHg was found to be -0.25 dB/year of mean deviation (MD), suggesting that contribution of pressure-independent damaging factors to the deterioration of MD in open-angle glaucoma is around -0.25 dB/year of mean deviation (MD).
2. Experiments using isolated purified cultured retinal ganglion cells (RGCs) indicated that calcium-channel blockers and some of anti-glaucoma drugs showed neuroprotective effects on RGCs at concentrations of $0.01 \mu\text{M}$ or higher.
3. In mice, damage to RGCs resulted in secondary degeneration of neurons and activation of glial cells in the lateral geniculate nucleus (LGN) and superior colliculus, and these secondary changes in the central nervous system (CNS) due to RGC damage was partly ameliorated by systemic administration of memantine.
4. Mice experimental high IOP glaucoma models

could be established using laser irradiation of the limbal area, and the usefulness of Tonolab[®] in IOP measurements of mice eye was confirmed.

5. Monkey experimental high IOP glaucoma models revealed that in the glaucomatous optic nerve head vaso-constrictive reactions to an alpha-1 agonist was abolished, while vasodilative reaction to a prostaglandin FP receptor agonist was retained.
6. In monkeys with experimental high IOP glaucoma, secondary damage to neurons in the LGN and the glial reaction to it were also found, similar to the mice experiments. In living monkeys the glial reaction in the LGN could be observed by means of positron emission tomography.
7. In the LGN of monkeys with experimental high IOP glaucoma, the M-cell system was preferentially damaged in the early stage, while in the later stages both the M- and P-cell systems were damaged.
8. In a single-instituted prospective double-blinded clinical trial, oral administration of nilvadipine at 4 mg/day, a DHP calcium-channel blocker, was found to significantly retard the visual field progression in normal tension glaucoma patients over 3 years, while significantly increasing the choroidal and optic nerve blood flow by about 35%.
9. A multi-instituted prospective double-blinded clinical trial in normal tension glaucoma patients revealed that the rate of MD deterioration under monotherapy with either topical

nipradilol or timolol was around -0.05 dB/year, thought to be considerably slower than -0.25 dB/year, the commonly estimated rate of MD deterioration by pressure-independent damaging factors.

The current results indicate the possibility of treatment of pressure-independent damaging factors of open-angle glaucoma in Japanese open-angle

glaucoma patients with oral nilvadipine and topical anti-glaucoma agents.

Nippon Ganka Gakkai Zasshi (J Jpn Ophthalmol Soc 115 : 213—237, 2011)

Key words : Open angle glaucoma, Pressure-independent damaging factors, Mice, Monkeys, Clinical trials

緒 言

緑内障とは、視神経乳頭部および視野に特徴的変化(緑内障性変化)を有し、眼圧を下降させていることにより障害進行を抑制または遅延させうる眼疾患の一群と考えることができ、原発開放隅角緑内障(primary open angle glaucoma : POAG)はその代表的な病型である¹⁾。主要障害組織は眼では網膜神経節細胞とその軸索(視神経)であるが、外側膝状体(lateral geniculate nucleus : LGN)、視皮質に至る中枢視覚路全体に二次的障害が及ぶことが知られている^{2)~5)}。

緑内障の本邦における有病率は日本緑内障学会が岐阜県多治見市で 2000~2001 年に行った疫学的研究(多治見スタディ)により明らかにされており、40 歳以上成人中 5%、内眼圧が正常範囲にある正常眼圧緑内障(normal tension glaucoma : NTG)の有病率が最も高く 3.6% (全緑内障患者中の 7 割強)とされている⁶⁾。この NTG の有病率の高さが本邦における緑内障の一つの特徴となっている。本邦の中途失明原因(WHO 基準)としての緑内障の占める位置もまた前述の多治見スタディ⁷⁾、2005~2006 年に日本緑内障学会が沖縄県久米島を本邦における離島のモデルとして行った疫学的研究(久米島スタディ)⁸⁾の結果より明らかにされており、眼単位で考えると本邦の都市部の代表としての多治見市では強度近視性黄斑変性に次いで第 2 位、離島の代表としての久米島では白内障、眼外傷に次いで第 3 位とされている。ただし、白内障は手術により治療可能、外傷は予防可能、強度近視性黄斑変性は現時点では治療の対象とならない「変性の結果」と考えれば、加療法の確立が求められている眼疾患としては、緑内障は本邦では都市部、離島を問わず、中途失明原因疾患の第 1 位と考えることができる。

現在緑内障の治療は眼圧下降が唯一の手段であり、その効果は randomized controlled trial (RCT) でも確認されている^{9)~14)}。眼圧が正常範囲にある NTG にも眼圧下降の有効性は証明されているが¹⁰⁾¹³⁾、また同時に眼圧を下降させても一定の率で緑内障性障害は進行することも証明されており、これらの RCT は眼圧依存性治療の有効性と同時に眼圧非依存障害因子の存在を臨床レベルでも証明したものと考えてよい。

我々は、本邦における中途失明原因としての緑内障の

重要性および NTG の有病率の高さを考慮して、緑内障眼圧非依存障害因子の加療は本邦における緑内障治療に不可欠と考え、ネズミ、サルを用いた動物実験、および臨床的研究を行った。

I 眼圧非依存障害因子による視野障害進行度の推定

1. 緒 言

眼圧非依存障害因子の視野障害進行への関与度を直接計算することは困難であるが、眼圧が正常平均(14 mmHg)よりも低い NTG では非眼圧因子による影響がより強いであろうことは想像に難しくなく、またそのことは NTG の両眼間での眼圧差と障害進行度の差を比較した我々の研究でも示されている¹⁵⁾。外来での眼圧が 12 mmHg 台の NTG 患者でカルシウム拮抗薬ニルバジピンの効果を検討した我々の研究¹⁶⁾では、その placebo 群の視野障害進行速度は mean deviation (MD) の変化率として、約 -0.30 dB/年であった。また、進行性 NTG の線維柱帯切除術施行後 6 年間の MD 変化率は約 -0.40 dB/年であった¹⁷⁾¹⁸⁾。

NTG に線維柱帯切除術施行後の眼圧は約 10 mmHg となるため、この状態でもし MD がさらに悪化していけば、これはほとんど眼圧非依存障害因子によるものと考えることができよう。

我々は岐阜大学眼科学教室との共同研究として線維柱帯切除術の術前・術後に 3 年以上一定の間隔で信頼性のある視野結果が得られた NTG 例を集め、術前・術後の視野変化率を比較した。

2. 方法および対象

東京大学および岐阜大学附属病院眼科で、緑内障診療ガイドライン第 2 版¹⁾の診断基準で NTG と診断され線維柱帯切除術を受けた症例中、以下の条件を満たす例を採用した。

- 1) Humphrey 視野計全点閾値検査法 30-2 プログラムで術前・術後に少なくとも 1 年に 2 回以上、3 年以上にわたり信頼性のある視野結果が得られている。
- 2) 研究の対象となった期間において、白内障の明らかな進行がなく、矯正視力は 0.8 以上。
- 3) 術後 3 年以上、点眼未使用または使用下で眼圧が

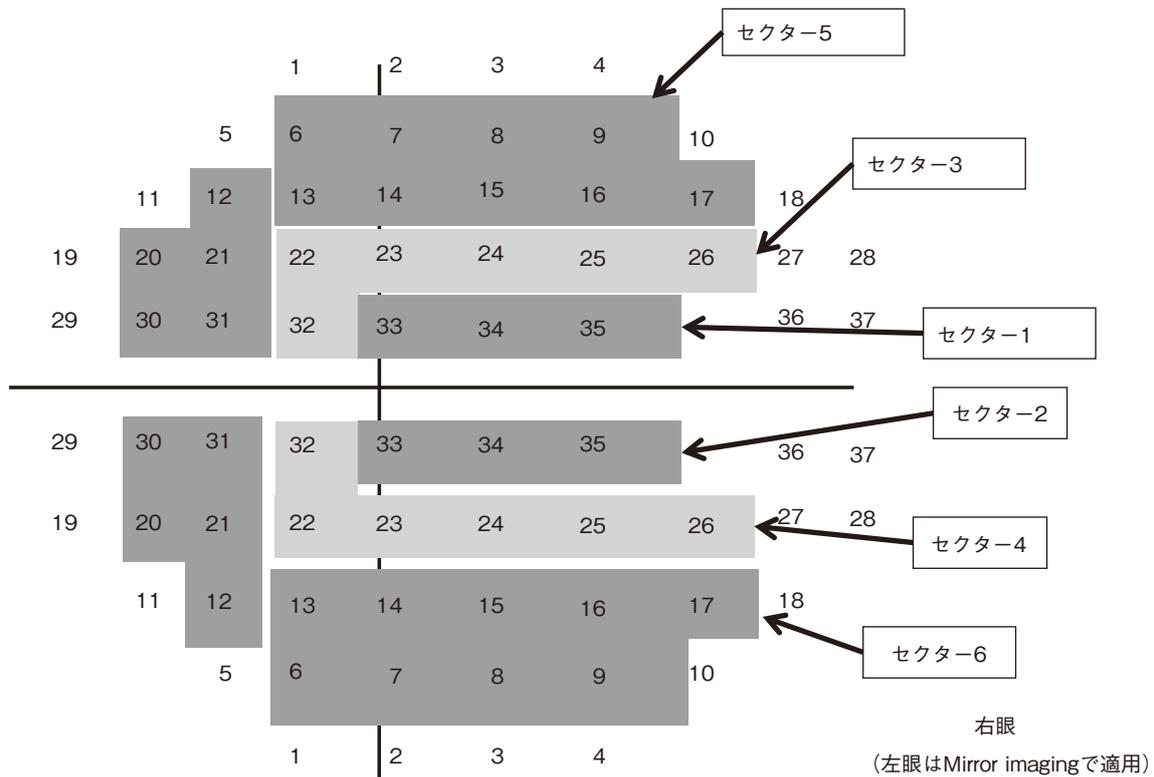


図 1 Humphrey 視野計全点閾値検査法 30-2 プログラムの検査点のセクター。

表 1 対象症例一覧

34 例	男性 12 例, 女性 22 例
手術時年齢	57.7±9.6 歳
術前観察期間	4.6±1.5 年
術後観察期間	5.7±1.2 年
術前眼圧	15.7±1.7 mmHg
術後眼圧	10.3±2.7 mmHg

(平均値±標準偏差)

12 mmHg 以下に保たれた。

4) 全身的に交感神経 β 遮断薬, またはカルシウム拮抗薬を使用していない。

鈴木ら¹⁹⁾の報告により視野を 6 分割にし, そのセクターごとの平均 TD (total deviation) 経時変化を linear mixed model²⁰⁾にて検討した(図 1)。実際に当てはめた式を下に記す。

$$\text{平均 TD}_{ij} = (\beta_0 + b_i) + \beta_{11} \times T_{ij} + (\beta_a \times \text{age}_i + \beta_r \times \text{ref}_i) + \varepsilon_{ij} \quad (T_{ij} < 0)$$

$$\text{平均 TD}_{ij} = (\beta_0 + b_i) + \beta_{12} \times T_{ij} + (\beta_a \times \text{age}_i + \beta_r \times \text{ref}_i) + \varepsilon_{ij} \quad (T_{ij} \geq 0)$$

T_{ij} : ある処置(手術, ある薬剤投与その他)時点からの時間(負が処置前, 正が処置後), age_i : 手術時の年齢, ref_i : 手術直前のレフ値, i : 各個人, j : 各時点, β : その集団における固定効果, b : 個人における変動効果, ε : 誤差, $(\beta_0 + b_i)$: 手術時点の視野障害, β_{11}, β_{12} : 処置前後の平均 TD 値の進行速度。

3. 結 果

症例の概要を表 1 に記す。術前は各セクターごとに進行速度は -0.27 ~ -1.32 dB/年と一定ではなかったが, いずれも有意に負 ($p < 0.05$) であった。一方, 術後はセクター 2 と 6 以外で, 有意に進行が遅くなった ($p < 0.05$) が, 術後のセクター間の差は -0.16 ~ -0.33 dB/年と有意差なく, 一方 MD の術後の変化率は -0.25 dB/年で有意に負であった ($p < 0.05$)。

4. 考 按

本研究の結果により, 眼圧非依存障害因子は NTG 例では約 -0.3 dB/年前後, かつ視野部位による差はほとんどなく一様と考えられた。また, この値は平均眼圧が 12 mmHg 台の NTG の placebo 下での進行速度¹⁶⁾とも一致していた。この変化率は初期例ではあまりさしあたっての問題とされない程度と考えられるが, 末期例では意味を持つと考えられる。特に下方中心盲点部視野(セクター 2)は末期まで残る部分であり²¹⁾²²⁾, その部分の変化率が, 術前・後で差がない, すなわち眼圧依存性ではなくむしろ非依存性であるということは, この眼圧非依存障害因子が末期例で問題となることを示唆する。

II 齧歯類(ネズミ)での研究

1. 緒 言

ネズミ目の動物, ラット, マウスは医学の研究でよく利用されており, 眼科もその例外ではない。特にマウスは系統分類が確立しており遺伝背景が明確である。さら

に全遺伝子は既に解読され遺伝子改変が容易であると同時に分子生物学的ツールも多量使用できるという利点がある²³⁾。網膜神経節細胞 (retinal ganglion cell: RGC) は緑内障病変の主座となる細胞である。生体(眼)における実験では、種々の薬物または処置が RGC 生存に対して好影響または悪影響を与えたことが観察されたとしても、それが果たして RGC に対する直接作用であったのか、血流に対する作用を介してのものか、または Müller 細胞など他の網膜の神経系細胞を介しての二次的効果によるのか、さらには炎症系の細胞による作用が介在しているのか判じ難い場合が多い。RGC を単離培養すれば眼圧を含む他のすべての二次的影響を除外した RGC 直接に対する作用を、単純化した系で検討できるため、RGC 単離培養系は種々薬物の緑内障治療、特に眼圧非依存の治療におけるポテンシャルをスクリーニングするために有用である^{24)~26)}。

マウスの隅角構造は、ヒトのそれと大きな差はなく、線維柱体および Schlemm 管の存在、ぶどう膜強膜流路の存在が報告されている^{27)~29)}。マウスの眼圧測定は 1997 年に John らにより、マイクロガラスニードルと圧トランスデューサーを用いて測定された³⁰⁾。Aihara らはさらにその原法を改良し、より精度良く測定できる方法を報告した³¹⁾。マウスの眼圧は大体 10 mmHg 台~20 mmHg 台前半であり、ヒトのそれとほぼ相似する³¹⁾³²⁾。性差・左右差はないが³²⁾³³⁾、日内変動が認められ日中に低く、夜間に高い^{32)~34)}。また、ヒトとマウスでは眼圧下降の薬理的相同性が種々の薬物で示されている³⁵⁾³⁶⁾。

このマウスで緑内障モデルを作製し種々の薬物の効果を *in vivo* で観察できれば、研究遂行上きわめて有用であろう。ラットなどの小動物の網膜神経節細胞 RGC 数評価方法とは、視神経の電子顕微鏡写真により軸索本数を計測する方法^{37)~39)}、上丘より逆行性に蛍光色素を注入し RCC 細胞体に取り込ませ、RGC を判別、計数する方法などがあるが⁴⁰⁾、いずれも手技が複雑である。最近ではマウスの網膜電図 (ERG) 測定により RGC 機能を測定する方法⁴¹⁾も開発されているが、間接的な方法であることは否めない。

いずれにせよマウスを用いて緑内障の実験を行うには緑内障モデルの作製が重要であることは言を待たないが、本邦で多い正常眼圧緑内障⁶⁾⁴²⁾のモデルとなりうるような緩徐な眼圧上昇と視神経萎縮を伴う緑内障モデルはマウス、サルを問わず現在未だ確立されておらず、明瞭なる高眼圧を伴うモデルしか存在していない。この系統モデルとしては自然発症モデルおよび人工的高眼圧作製モデルの 2 つがあり、前者の例としては、DBA2J 系統高眼圧マウスが有名である。DBA2J マウスは 1998 年 Jackson Laboratory のマウス系統の中から眼圧が高い系統のものとして報告されたもので⁴³⁾、虹彩実質萎縮と pigment dispersion を発症し、徐々に眼圧上昇、視神経

萎縮という経過をたどる続発緑内障モデルである⁴³⁾⁴⁴⁾。ただし後の研究により、本マウス系統は単なる続発緑内障ではなく、他の未知の遺伝子変異が背景として存在するため高眼圧による RGC 障害機序が修飾されている可能性があることが明らかとなったこと、前眼部の病変が強いため眼底の観察が困難で結局は屠殺後検査に頼らざるを得ないという欠点があること、自然発症であるため対照マウスが存在しないことなどにより⁴⁵⁾⁴⁶⁾、必ずしも緑内障モデルとしては理想的でないことが分かり、他のモデル確立の必要性があった。後者のモデルとしてはレーザーによる隅角閉塞を利用したモデルと上強膜静脈結紮法^{37)38)47)~49)}があり、対照マウスの設定は容易であるものの、眼圧上昇が一時的であり、かつ効果が一定しないなど、DBA2J マウスモデルに比べ一長一短であるのが現状である。

緑内障は眼病であり、その病変の主座は RGC 障害にあることは周知であるが、順行性に LGN や、さらには視皮質にまで変性を起こすことは知られた事実である^{2)~5)}。緑内障による中枢系二次性病変は紛れもなく眼圧非依存、すなわち、原因の如何を不問の RGC 障害に続発するものであり、その障害進行を遅延せしめることもまた有効な視機能保存であることは言を俟たない。緑内障による中枢障害の研究モデルとしてサルは多用されるが、安価な実験動物としてのマウスもまた有用である。本項では上記の諸点を考慮した主にマウスを用いての研究について述べる。

2. 単離培養 RGC を用いての研究

カルシウム拮抗薬は心血管系疾患、特に本態性高血圧の治療薬として長い臨床実績があり、その安全性も確立されている。本剤は脳外科領域での実験や網膜障害モデルでその神経保護作用は確立されており、さらに開放隅角緑内障、特に正常眼圧緑内障患者で視野保全効果があるとの臨床報告もいくつかあり、もし緑内障患者で眼圧非依存の神経保護加療を試みるならば有力な候補薬となりうる薬剤である⁵⁰⁾。

点眼薬は従来、薬理濃度で網膜に到達することはないと考えられていた^{51)~53)}。しかし、近年の研究では点眼された薬物は少なくともウサギ眼では局所の拡散により 10^{-8} M 程度後極部網膜に到達することが知られている^{54)~62)}。さらにヒトにおいても点眼された炭酸脱水酵素阻害薬ドルゾラミドが、網膜色素変性の患者では後極部網膜色素上皮に全身循環以外の経路、すなわち局所の拡散により薬理濃度で到達することを示唆する所見が報告されている⁶³⁾⁶⁴⁾。逆に考えれば、 10^{-8} M 程度に RGC に対して保護作用を示す緑内障点眼薬剤があれば、臨床的に眼圧下降効果のみならず、RGC 細胞体それ自体に対しても保護的に作用しうることとなる。これらの仮説を検討するため我々はカルシウム拮抗薬として dihydropyridine (DHP) 系のイガニジピンおよびニモディピン、

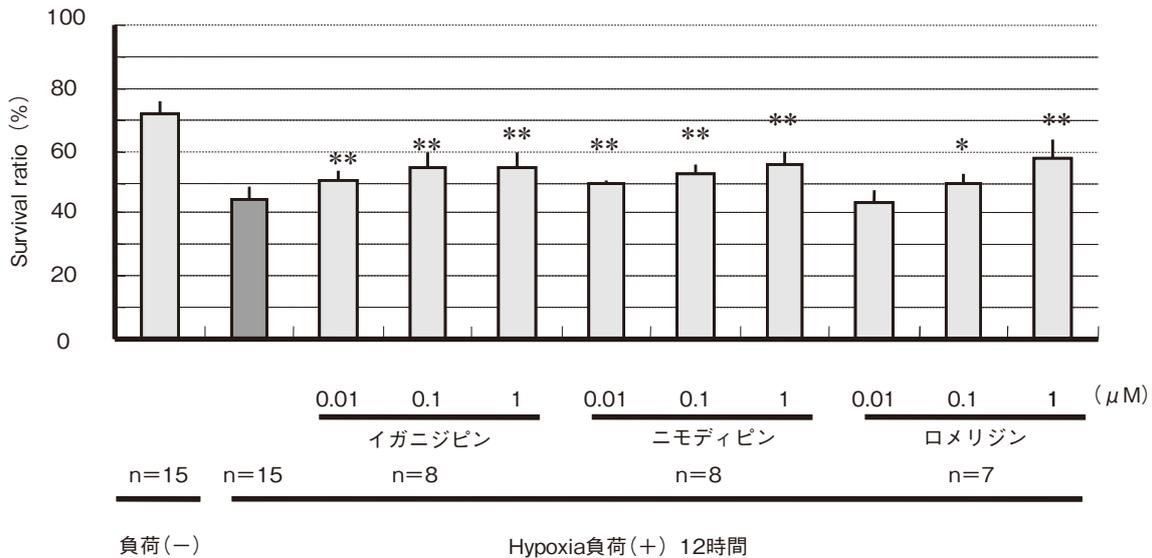


図 2 各種カルシウム拮抗薬の hypoxia 負荷下での神経保護効果。単離培養網膜神経節細胞(RGC)での結果。*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$ 。

piperazine 系のロメリジン, 緑内障点眼薬として種々交感神経 β 遮断薬, 交感神経 $\alpha 2$ 刺激薬プリモニジン, および PG 関連薬の単離培養 RGC に対する影響を検討した。

生後 8 日齢の Wistar rat より網膜を取得, 既に報告された two-step immunopanning 法²⁵⁾²⁶⁾で RGC を単離し, B-27 培地および 5% CO_2 + 95% air にて培養した。RGC は calcein-AM (1 μM) で染色し, 細胞体径の少なくとも 2 倍以上の長さの軸索突起²⁴⁾⁶⁵⁾を伸展させている細胞を生存 RGC と定義した。障害モデルとしては標準条件で 3 日間培養後, 12 時間 5% CO_2 + 5% O_2 + 90% N_2 に置換した hypoxia モデル²⁴⁾⁶⁵⁾, 同様に 3 日間標準条件培養後 24 時間 B-27 培地より抗酸化剤を除去して培養した酸化ストレスモデルを用い⁶⁶⁾, パラレル対照としてはいずれも 3 日間 + 12 (24) 時間標準条件で培養したものを常に用意した。Hypoxia では RGC は主に caspase-dependent, mitochondria-dependent, かつ glutamate 受容体-independent の apoptosis で障害され⁶⁵⁾, 酸化ストレスでは RGC は主に calpain-dependent, かつ mitochondria-independent の necrosis⁶⁶⁾ で障害されることは別実験で確認した。

DHP 系カルシウム拮抗薬は 10^{-8}M より保護効果を示し, いずれもその効果は RGC におけるカルシウムチャネル阻害作用と並行していることが示唆された²⁴⁾ (図 2, 図 3)。Hypoxia および酸化ストレス双方に対してニブラジロールは 10^{-8}M より, チモロールとベタキソロールは 10^{-7}M より神経保護効果を示したが, カルテオロールはそのいずれの条件下でも神経保護効果を示さなかった⁶⁵⁾⁶⁶⁾ (図 4, 図 5)。また, この交感神経 β 遮断薬の効果は, 交感神経 β 遮断薬が高濃度で有するとされるカルシウムチャネル阻害作用とは関係なく, またカル

テオロールの効果がないことから交感神経 β 遮断作用とも関係ないと考えられる⁶⁵⁾ (図 4, 図 5, 図 6)。

一方ニブラジロールの効果の一部は一酸化窒素 (NO)-scavenger の効果からみて, NO 供与作用によると考えられた (図 7) が, それ以外の未知のメカニズムも寄与していると考えられた⁶⁵⁾。またプリモニジンは hypoxia, 酸化ストレス, および glutamate による障害に対し交感神経 $\alpha 2$ 受容体を介して保護作用を 10^{-7}M より示し⁶⁷⁾。ラタノプロスト, タフルプロストも 10^{-7}M より保護効果があった (山岸ら, 未発表データ)。

緑内障発症および進行要因の 1 つに, 組織の虚血 (低灌流) あるいはそれに起因する hypoxia による RGC 障害があることは知られており⁶⁸⁾, ゆえにそれらによる障害下での保護効果を検討することは理に適っていると考えられる⁶⁵⁾⁶⁶⁾。カルシウム拮抗薬が, 脳虚血障害モデル⁵⁰⁾と同様, RGC に対してそのカルシウムチャネル阻害作用を介して効果を示したことは本剤の緑内障治療応用の可能性を支持するものと考えられる。カルテオロール以外の交感神経 β 遮断薬, プリモニジン, ラタノプロスト, タフルプロストなどが神経保護効果を $10^{-8} \sim 10^{-7}\text{M}$ で RGC に対して示したことは, 点眼薬による眼圧非依存因子加療の可能性を示し, 我々正常眼圧緑内障に悩む日本の眼科医にとって一つの夢を提供するものかもしれない。ただし, これらの緑内障点眼薬として利用されている薬物の RGC に対する作用機序は現在のところ, 未だ明らかになっていない。このメカニズムの分子薬理的な解明により RGC の生理がさらに明らかとなり, その結果が緑内障, 特に眼圧非依存因子の占める RGC 障害メカニズムの理解の発展につながっていくことが望まれる。

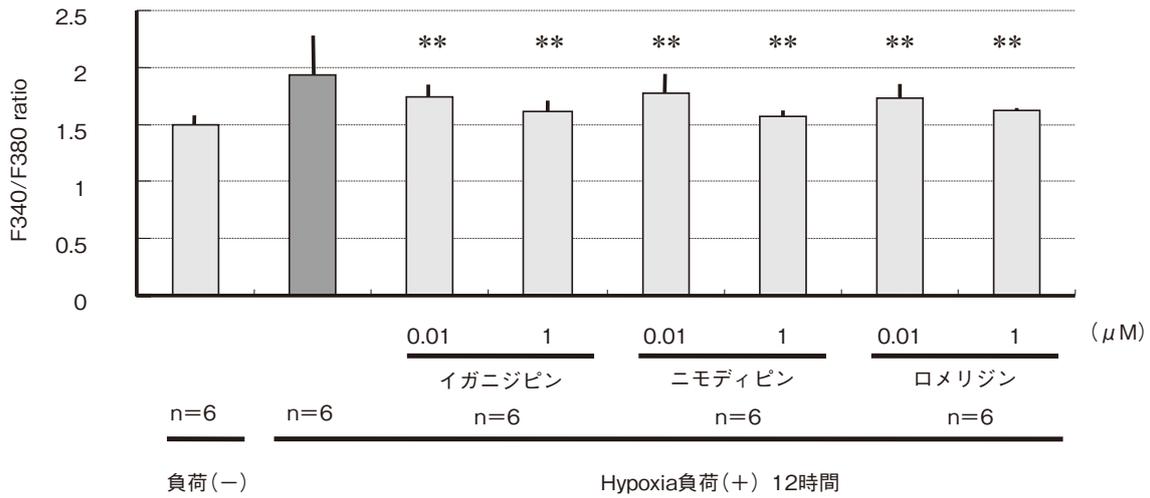


図 3 各種カルシウム拮抗薬の hypoxia 負荷下での細胞内 Ca²⁺濃度上昇に対する効果。単離培養 RGC での結果。 ** : p<0.01.

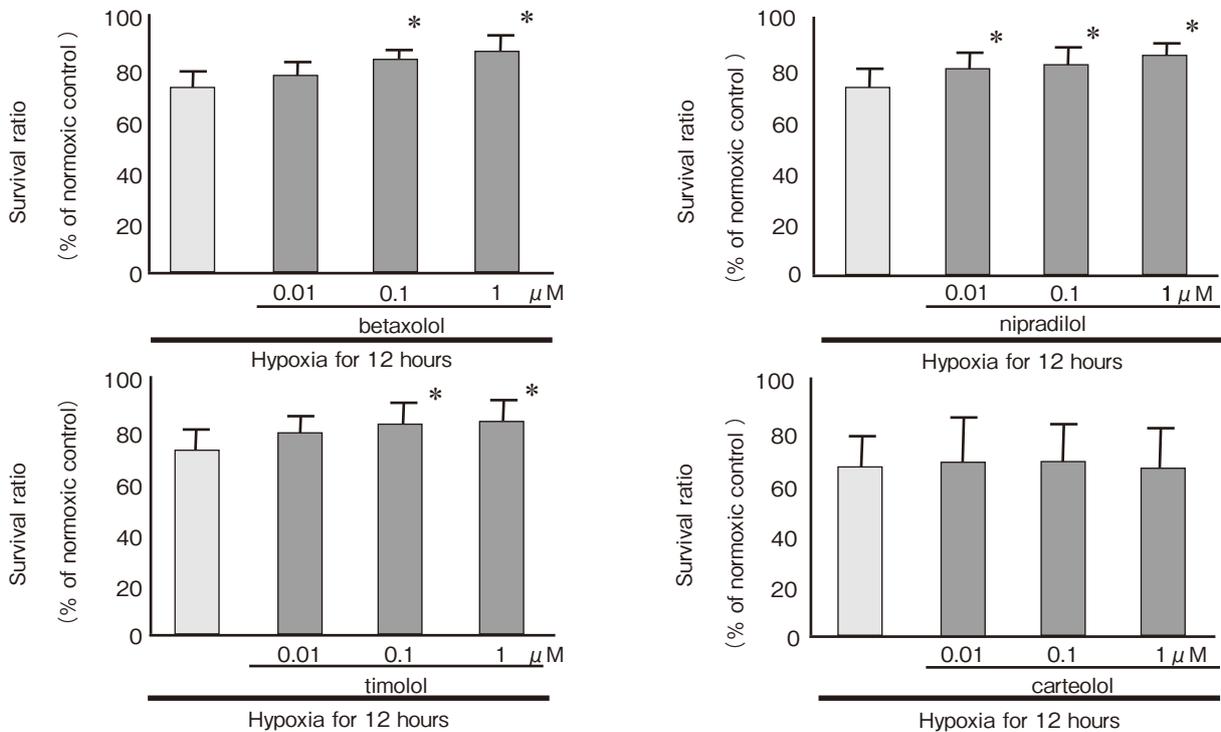


図 4 Hypoxia 負荷下における RGC 障害に対する交感神経 β 遮断薬の効果。単離培養 RGC での結果。 * : p<0.05.

(文献 65 より許可を得て転載)

3. マウスの眼圧測定, *in vivo* での RGC 観察および高眼圧緑内障モデル

既に述べた如く、現時点で最も正確にマウスの眼圧を測定できる方法はマイクロニードル法である¹³⁾³⁶⁾⁶⁹⁾⁷⁰⁾が、この方法は侵襲的であるため 1 眼につき 1 週間で 1 回くらいしか測定を行えない。より非侵襲的な測定方法として、反跳式眼圧計(Tonolab[®])⁷¹⁾が報告されているが、その方法をマイクロニードル法に対してキャリブレートし

ておく必要があり、まず Tonolab[®]をマイクロニードル法の補助として使用できるのか確認実験が必要と考えられた。

B6.Cg-TgN(Thy1-CFP)23Jrs(以下 CFP マウス)⁷²⁾は Thy 1 プロモーター領域を利用して Thy 1 発現細胞に蛍光色素である cyan fluorescein 蛋白質(CFP)を強制発現させた遺伝子改変マウスであり、RGC および一部アマクリン細胞に CFP が発現しているとされている。CFP

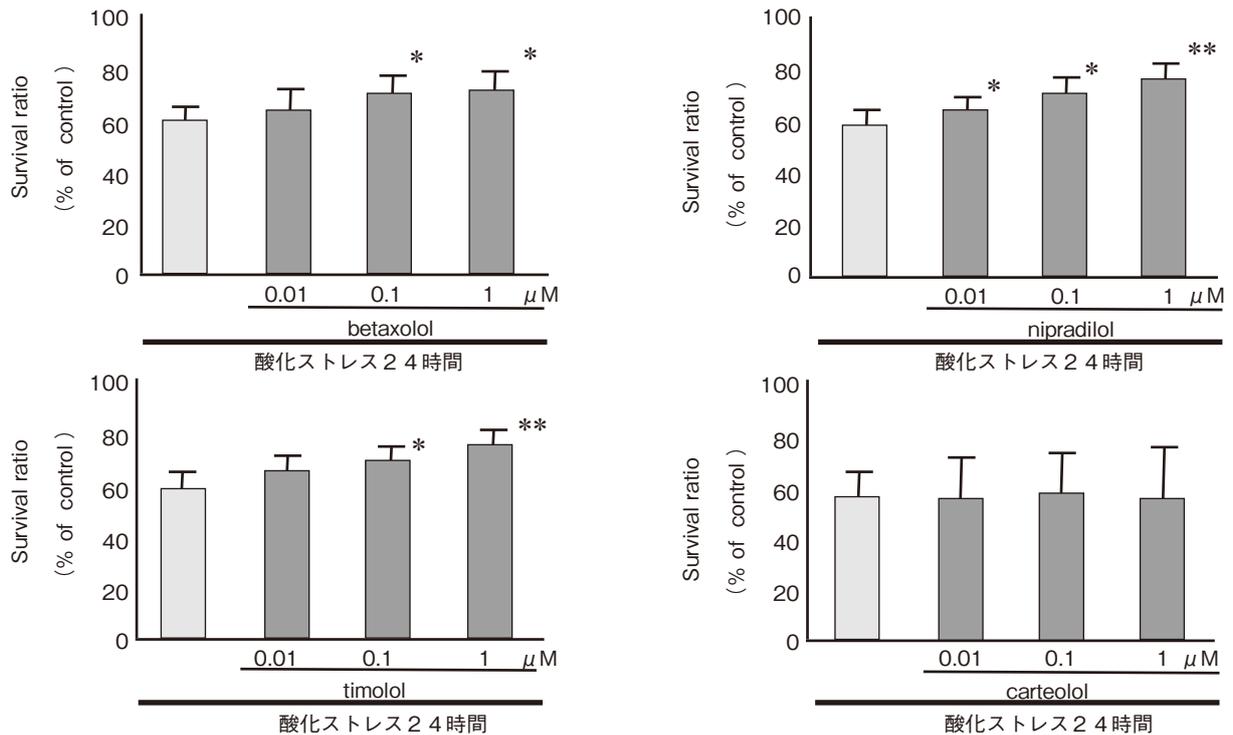


図 5 酸化ストレス負荷下における RGC 障害に対する交感神経 β 遮断薬の効果。
単離培養 RGC での結果. *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$.

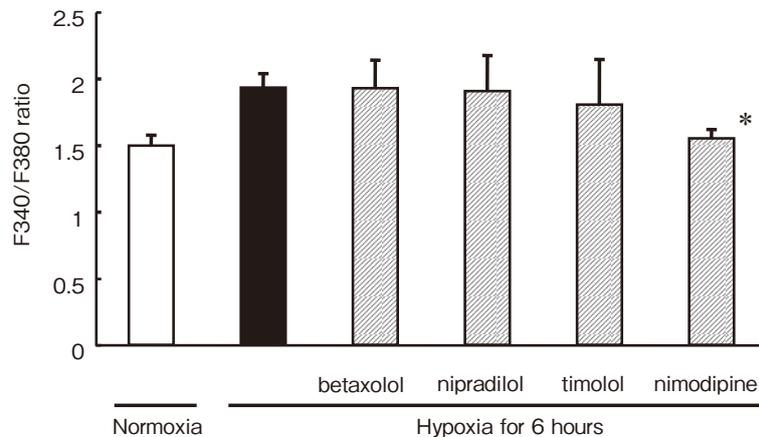


図 6 Hypoxia 負荷下における各種交感神経 β 遮断薬の細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇に対する効果。
単離培養 RGC での結果. *: $p < 0.05$.

(文献 65 より許可を得て転載)

マウスの眼底を *in vivo* で観測できれば組織標本を作ることなく、RGC の数をカウントすることができ、緑内障研究上大変に便利である。さらに CFP マウスに緑内障を惹起すれば、従来の RGC の細胞体を染色するために DiI などの蛍光色素を上丘に注射し、逆行性にそこに取り込まれた蛍光色素をマーカーとして測定したり⁴⁰⁾、組織学的に多くの細胞の中から RGC の細胞体を同定カウントするより遙かに効率的に RGC 数の計測が行えるはずである⁵⁹⁾。そして安定した高眼圧マウス緑内障モデルの作製は、一層研究を加速させると考えられる。

1) Tonolab[®]のマウス眼圧測定に関する有効性
雄性 C57BL/6 マウスを用い、マイクロニードル法、Tonolab[®]、Tonopen[®]により種々の条件下にて眼圧を測定した。またマンメトリー下で眼圧を調整しつつ、ブラインド下で Tonolab[®]、Tonopen[®]で眼圧を測定、マンメトリーで測定した実際の眼圧に対しての比較を行った。結果として Tonopen[®]はまったく正確にマウスの眼圧を測定できないこと、Tonolab[®]はマウスの眼圧をかなり正確に測定しており、また眼圧日内変動やラタノプロストによる眼圧下降効果を十分に検出できる精度であるこ

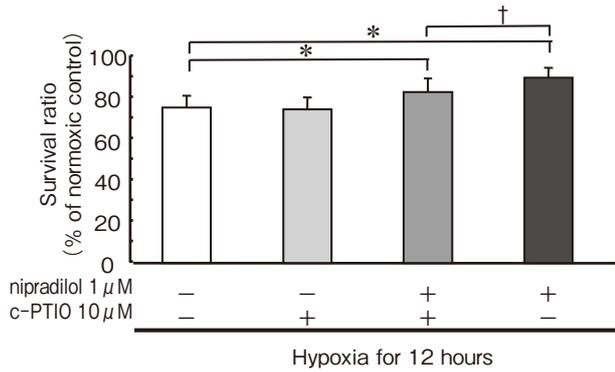


図 7 Hypoxia 負荷下におけるニプラジロールの神経保護効果に対する一酸化窒素 (NO)-scavenger (c-PTIO) の影響。単離培養 RGC での結果。* : $p < 0.05$, † : $p < 0.05$. (文献 65 より許可を得て転載)

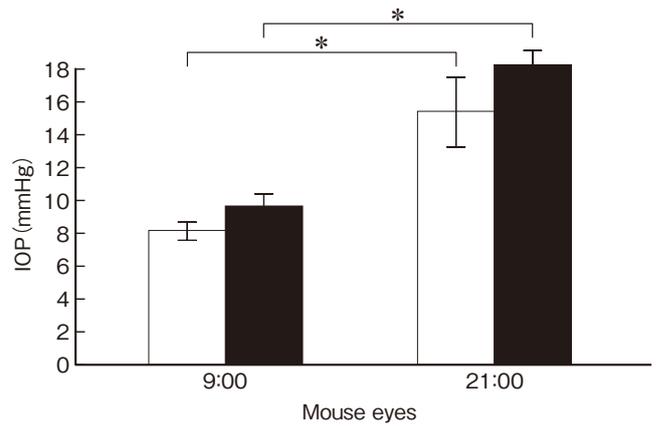


図 9 マウスにおける眼圧日内変動。Tonolab® とマイクロニードル法の比較。□ : Tonolab®, ■ : マイクロニードル法。* : $p < 0.05$. (文献 73 より許可を得て転載)

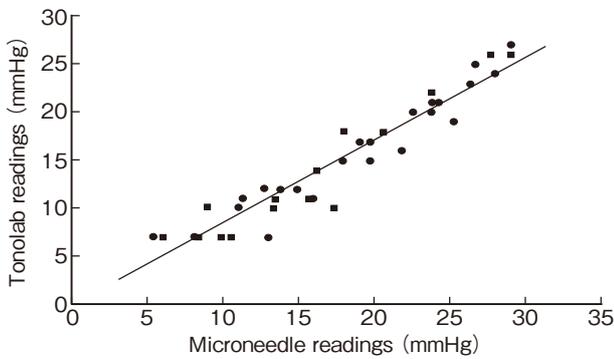


図 8 マウスにおける Tonolab® のキャリブレーション。 (文献 73 より許可を得て転載)

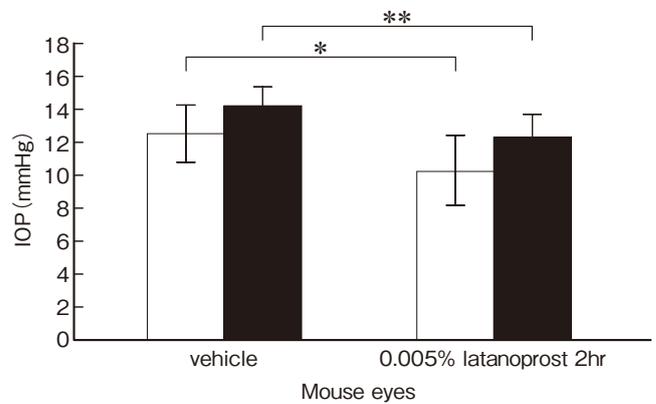


図 10 マウスにおけるラタノプロストの眼圧に対する効果。Tonolab® とマイクロニードル法の比較。□ : Tonolab®, ■ : マイクロニードル法。* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$. (文献 73 より許可を得て転載)

とが分かった⁷³⁾(図 8, 図 9, 図 10)。

2) RGC の生体眼内観察

CFP マウスの応用に関して従来の如く DiI を上丘に注射し、逆行性染色で RGC を同定すると同時に CFP 発現細胞をカウントしたところ、DiI 陽性(すなわち RGC)細胞中 73% に CFP が発現しており、逆に CFP 発現細胞中 97% は DiI 陽性であることが分かった。すなわち CFP 陽性細胞のほとんどは RGC であり、アマクリン細胞はせいぜい 3% に過ぎないことが分かった。さらに CFP 発現 RGC は細胞体全体が蛍光を発するが DiI を取り込んだ RGC は顆粒状に不均一な蛍光を発し、CFP 発現 RGC の方が遙かにカウントしやすい。また、組織切片でも CFP 発現細胞はほとんど網膜神経節細胞層に存在していることを確認した。一部内網状層にも発現しているのは当然アマクリン細胞と考えられている⁷⁴⁾。

次に *in vivo* での RGC 観察方法として、眼底撮影用カメラ TRV 50-IX (Topcon, 東京) を改造して CFP 用 band-pass filter, 対物レンズに 40 D の非球面レンズ (Volks) を追加装用し、IMAGEnet (Topcon) システムで画像を取り込み TIFF format で保存することとした。

マウスの瞳孔はミドリン®(参天製薬, 大阪)で散瞳し、角膜はミネラルオイルで乾燥から保護した。撮影された画像の1つを図 11 に示す。一度に 20% の画角で撮影できるが、解像度は 10° 画角撮影時の走査レーザー検眼鏡 (SLO) と同様である。さらに本生体眼 RGC 測定装置の有用性の確認のために、CFP マウス眼に虚血再灌流による障害を加え経時的に同一個体で眼底撮影を行った。RGC 数は 1 週間で対照の約 30%, 2 週間で約 25% にまで減少し、その後 4 週目まではほぼ一定の数が保たれることが示された⁷⁴⁾。この結果は従来の報告を確認するものではあるが、従来は各時点で動物を屠殺し組織学的に RGC 数を算出していたのに比べ、本法では 5 匹のマウスで全経過が追えることにより、実験の効率がきわめて良い。本 CFP マウスは次の高眼圧モデルにも使用した。

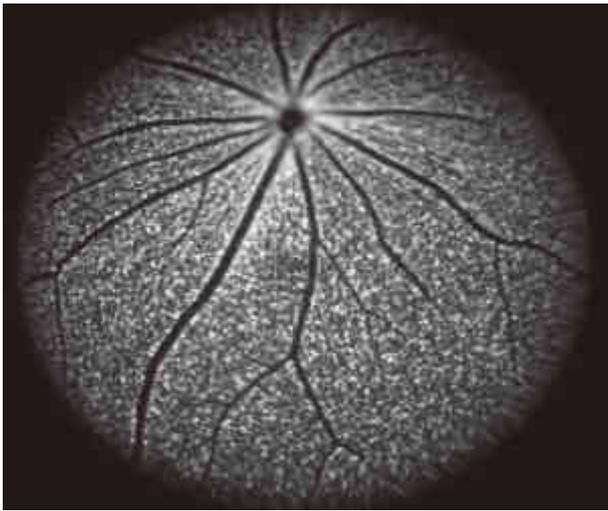


図 11 Cyan fluorescent 蛋白質発現マウス(CFP マウス)での網膜において蛍光を発する RGC.

表 2 高眼圧マウス緑内障モデルの作製効率

方法	成功率
レーザーによる隅角燃灼	80%
ラテックス粒子の前房内注入	10%
Ghost cell 前房内注入	0%
熱化ゲル基剤前房内注入	0%
上強膜静脈燃灼または結紮	0%
結膜前房内陥入 (epithelial downgrowth モデル)	0%

いずれも最低 10 匹での結果.

3) CFP マウスにおける高眼圧モデル

高眼圧マウス緑内障モデルに関しては、既に述べた如くいくつかの方法が報告されている。表 2 に示す如く、いくつかの方法をマウスで試みたが、結局ある程度の確率を期待できるのはレーザー照射による隅角燃灼法のみであった(表 2)。

図 12 にレーザー眼および対側対照眼での眼圧経過の 1 例を記す。ほぼ 6 週間まで対照とあまり差がなくなるが、対側対照眼との眼圧の差を個々のマウスで時間により積分した値を圧障害係数とすると、眼圧が対側眼と差がなくなった時点における CFP 発現 RGC 数の対側対照眼に対する比と圧障害係数の間には有意の負の相関がみられ(図 13)、CFP マウスを用いた本モデルが緑内障に対する薬物加療効果の有用な判定モデルとなりうることを示された。

4) RGC 障害に起因する脳内視覚野の変性およびそれに対する加療の検討

最も確実な RGC 障害モデルとして Glutamate に対する N-methyl-D-aspartate (NMDA) 受容体のリガンドである NMDA 硝子体内注入法を用いた。C57BL/6J マウスに対して 40 nM/眼への NMDA 硝子体内注射後の RGC 数は 3 日で対照の約 40% に減少、その後 6 か月目

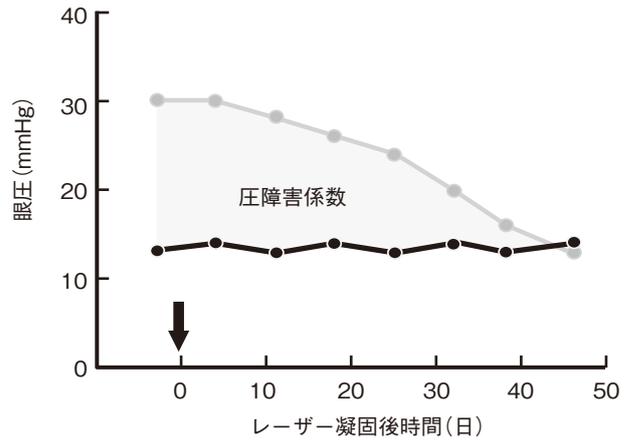


図 12 CFP マウスにレーザーで高眼圧を誘発した後の眼圧経過の一例。対側無処置眼との差の積分を圧障害係数と定義する。●：レーザー凝固眼，●：対照眼。

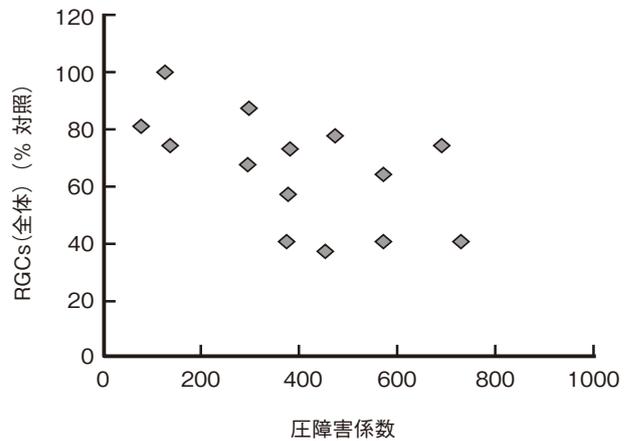


図 13 CFP マウスにおけるレーザー誘発高眼圧緑内障モデル眼における対側無処置眼との RGC 数の比を圧障害係数に対してプロットしたもの。

まで徐々に、約 25% まで減少した。NMDA 注射眼に対応する対側視索は 7 日目で萎縮がみられ、6 か月後では対照の 50% にまで萎縮した。

一方、同側視索(対照眼に対応)にはそのような変化はみられなかった。マウスの対側 LGN の中で、NMDA 注射眼からの線維を受ける dorsal LGN (dLGN) および ventral LGN-lateral (vLGN-l) では、neuron specific nuclear (Neu N) immunoprotein で染色される細胞が 90 日目より減少し、かつ glial fibrillary acidic protein (GFAP) 発現および brain-derived neurotrophic factor (BDNF) の発現が、それに先駆けて、対側 dLGN および vLGN-l で 7~30 または 30~90 日目が増加がみられ、下降性変性に対する反応が実際に LGN の神経細胞の脱落が観察される以前に起こっていることが確認された⁷⁵⁾。この神経細胞脱落に先駆けての GFAP や BDNF の発現増加は LGN における RGC 脱落に続発する変性から細胞

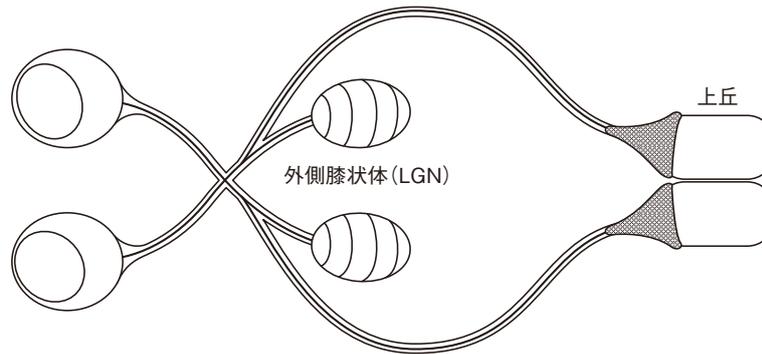


図 14 マウスの中枢視覚路の模式図.

を守ろうとする反応と考えられ、神経保護療法の一つの作用点となりうると考えられた。

メマンチン(1-amino-3,5-demethyladamantane)はNMDA受容体の阻害薬であり、いくつかの中枢神経疾患に対して効果が認められており、実際欧米ではAlzheimer病に対しても使用されているという実績のある薬である⁷⁶⁾⁷⁷⁾。さらにメマンチンはサルの実験緑内障におけるLGNの変性に対しても有効性が報告されている⁷⁸⁾。マウスでは網膜からの神経線維はLGNよりもむしろ上丘に投射される分が多いと考えられる(図14)。そこでメマンチンが前述の硝子体内NMDA注射によるRGC障害モデルにおけるLGNおよび上丘の二次性障害に対してRGCに対する作用と独立して保護効果を示しうるかを検討した。

C57BL/6Jマウスを4群に分け、第1群は左眼硝子体内にphosphate bufferのみ2 μ lの注射を受けたSham手術とし、第2群は先程と同様の手順で40nMのNMDAを左眼硝子体内注射され、かつメマンチン基剤のみ経口的にNMDA硝子体内注射直前より90日間受けた基剤群とした。第3群はNMDA40nMの硝子体内注射を左眼に受け、かつメマンチン30mgの腹腔内投与をNMDA硝子体内注射直前から90日間にわたり毎日受けた群(memantine-pretreatment群)。第4群は、第2群および第3群と同様にNMDA40nMを左眼硝子体内注射され、その後7日目より、90日目までメマンチン30mgの腹腔内注射を受けた群(memantine-post-treatment群)とした。全4群で90日目にマウスを屠殺、RGC数をヘマトキシリン・エオジン染色下でカウント、またLGN、上丘の神経細胞をcresyl violet染色下でカウントした。第2群、すなわちメマンチン基剤+NMDA硝子体内注射群ではRGC、LGNおよび上丘の神経細胞数ともに、第1群、すなわちSham手術群に比べて低下しており、NMDAのRGCに対する直接毒性およびそれによるLGN、上丘の二次変性を示していた。一方、第3群(memantine-pretreatment群)では第2群に比べRGC、LGN、上丘の神経細胞数とも減少が抑制され、メマンチンの神経保護効果が認められたが、

LGN、上丘での神経細胞脱落の抑制に関してはRGC数の減少が抑えられたことによる二次的効果とLGN、上丘の神経細胞に対するメマンチン直接の効果との判別が困難であった。第4群(memantine-post-treatment群)ではRGC数は第2群(基剤群)と変わらずメマンチンをNMDA硝子体内注射後7日目より連続投与してもRGCに対する保護効果はないことが分かった⁷⁹⁾。一方LGNと上丘の神経細胞は第2群、すなわち基剤群に比べて有意に多く、これはメマンチンがRGC数減少の抑制を介することなく、LGN、上丘の神経細胞に直接作用して、その二次変性を抑制した結果と解釈できる⁷⁹⁾。すなわち、RGC障害に続発する眼圧非依存性の中枢障害が中枢の神経細胞に直接薬理効果を加えることにより加療可能であることを示したものとして興味深い。

III 霊長類(サル)を用いた研究

1. 緒言

霊長類(サル)はヒトにきわめてよく類似した視神経乳頭構造(篩板、血管系)を持つ唯一の実験動物であり⁸⁰⁾、緑内障研究には不可欠な動物である。

眼圧非依存障害因子としては既に述べた如く、酸化ストレス、免疫学的異常、excitotoxicityなど、多くの因子が示唆、想定されているが、その中でも循環(局所および全身)は疫学的研究、前向き cohort 研究でもその存在が強く示唆されている唯一のものである。

すなわち、西インド諸島の Barbados⁸¹⁾、アメリカの Baltimore⁸²⁾や Hispanic を対象とした⁸³⁾、またはイタリア⁸⁴⁾で行われた緑内障の疫学研究では、低眼灌注圧(ocular perfusion pressure: OPP=平均(眼)動脈圧と眼圧の差)が特に拡張期で低ければ低いほど POAG の有病率が高いことが証明されており、また Early Manifest Glaucoma Trial (EMGT) では OPP が低いほど緑内障がより進行しやすいこと¹³⁾、前述の Barbados で行われた疫学研究対象者を経過観察した結果では OPP が低いほど、新たに POAG が発症しやすいこと⁸⁵⁾が証明されている。

サルの視神経乳頭の構造およびその血流支配がヒトのそれにきわめて類似していることを利用し、ヒトで実験

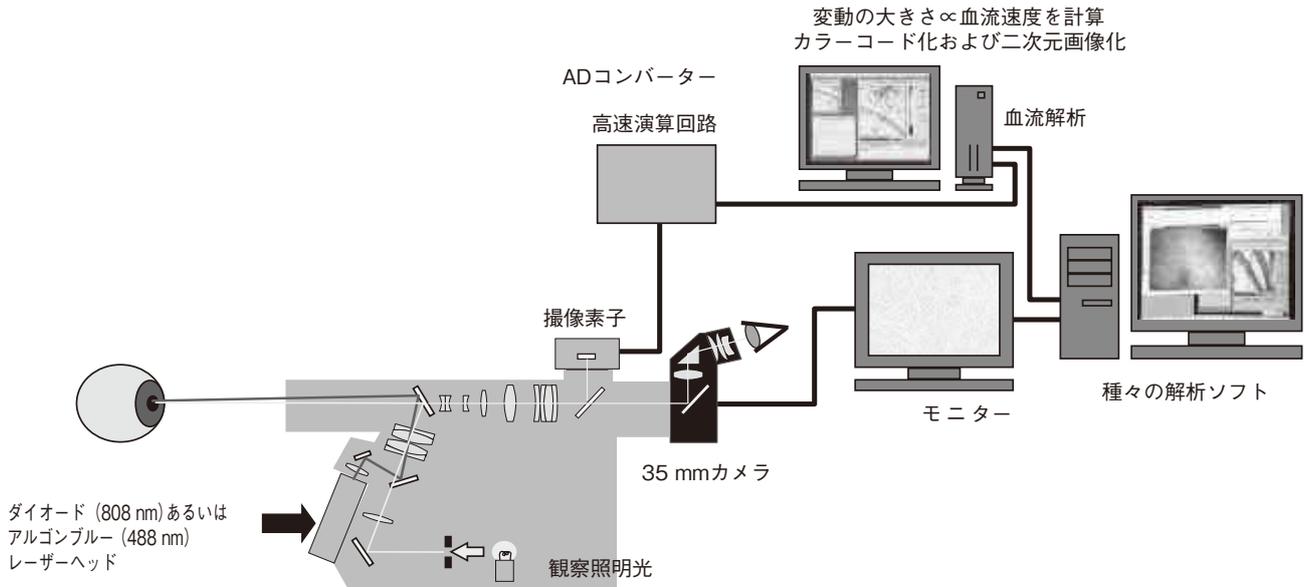


図 15 レーザースペックル法による眼血流測定装置模式図。

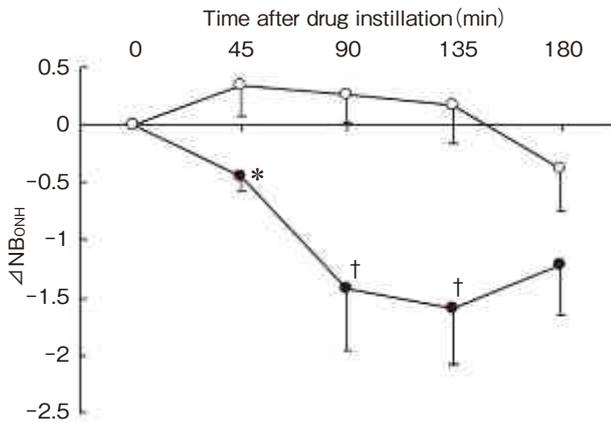


図 16 ヒトにおけるフェニレフリン 5% 点眼液 15 分ごと 3 回片眼点眼後の視神経乳頭血流変化。
 ○—○：対照，●—●：フェニレフリン。*：p<0.05, †：p<0.01.

(文献 96 より許可を得て転載)

が主に倫理的理由により困難である、緑内障性視神経乳頭における眼圧変化(すなわち OPP 変化)に対する血流を一定に保とうとする機構(autoregulation)がどのように正常状態に比べて変化しているのかを検討するのは意味のあることと考えられる。またいくつかの点眼薬で視神経乳頭の血流が変化することが知られているが⁸⁶⁾⁸⁷⁾、それが緑内障性の変化のある視神経乳頭ではどうなっているかを知ることも重要と考えられる。

緑内障で中枢視覚路に二次性の変化がもたらされることは既に述べたが、本邦ではヒトで病理解剖により生前の視野と死後の中枢系の組織変化を比較対照して検討することは現実上困難である。またヒトの場合たとえそのような病理解剖を行う幸運な機会を得たとしても、その中枢の変化は緑内障以外の死因となったさまざまな病

気、経年変化の影響が及んでいるはずであり、純粋に緑内障自体による二次性の中枢病変とは断言しがたい面があることは否めない事実であろう。その点、既に確立された我々の実験緑内障サルモデルを用いれば⁸⁸⁾、ヒトとの相同性を利用してより純粋な緑内障による二次性中枢病変と視神経乳頭所見、さらにサルで可能となっている視野検査⁸⁹⁾も組み合わせれば視野所見との対応も解析できると考えられる。本項では以上の観点より行ったサルを用いての実験結果を報告する。

2. 実験的サル緑内障における視神経乳頭血流測定と点眼薬のそれに対する影響

生体眼における視神経乳頭血流測定方法の実際と精度および適格性については既に何度か報告したレーザースペックル法を用いた^{86)90)~94)}(図 15)。本法を用いて測定された視神経乳頭血流は、種々条件下で同一家兎眼を同時に水素ガスクリアランス法で測定した血流量と並行することは、我々は既に確かめてある^{86)92)~94)}。

本法を用い、我々は既に正常カニクイザル眼ではラタノプロスト点眼により点眼側で視神経乳頭血流が増加すること⁹⁵⁾、また交感神経 α1 受容体作動薬フェニレフリンの点眼側で正常ヒトの視神経乳頭血流が減少することを確認した⁹⁶⁾。図 16 にフェニレフリン点眼のヒト眼の視神経乳頭血流への影響を示した⁹⁷⁾。非点眼側での測定結果(点眼前後で変化なし)と比較すると明らかな如く、点眼側における変化は全身吸収された被点眼薬によるものではなく、点眼後局所から同側の球後に拡散してそこに存在する視神経乳頭を栄養する血管系(毛短後毛様動脈系)に対して作用したものであると考えられる。実際我々はある種の交感神経 β 遮断薬で autoradiography 法によりそれがカニクイザル眼に点眼後、十分薬理作用を呈する濃度で球後組織に主にテノン囊を介する拡散によ

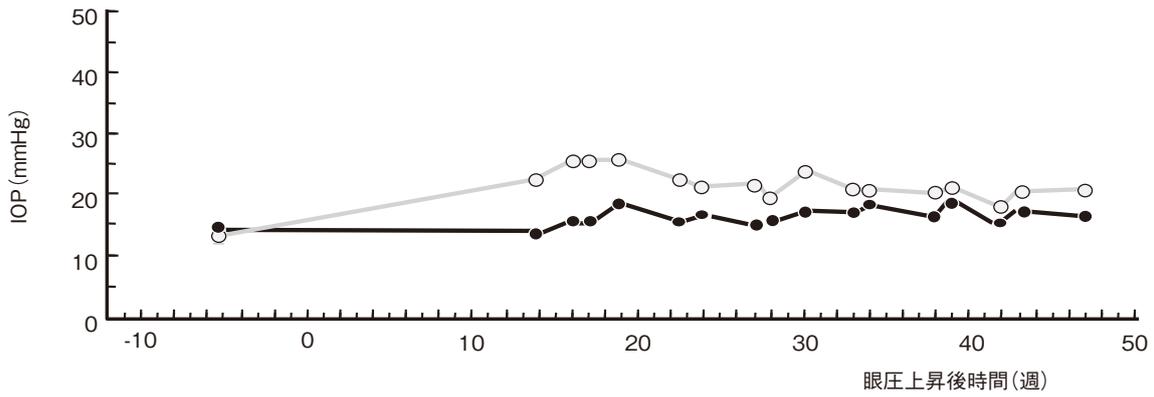


図 17 カニクイザルにおけるレーザー誘発高眼圧モデルの全身麻酔下で測定した眼圧経過の一例。全身麻酔下での pneumatic applanation tonometer による眼圧測定経過。○：レーザー眼，●：対側無処置眼。

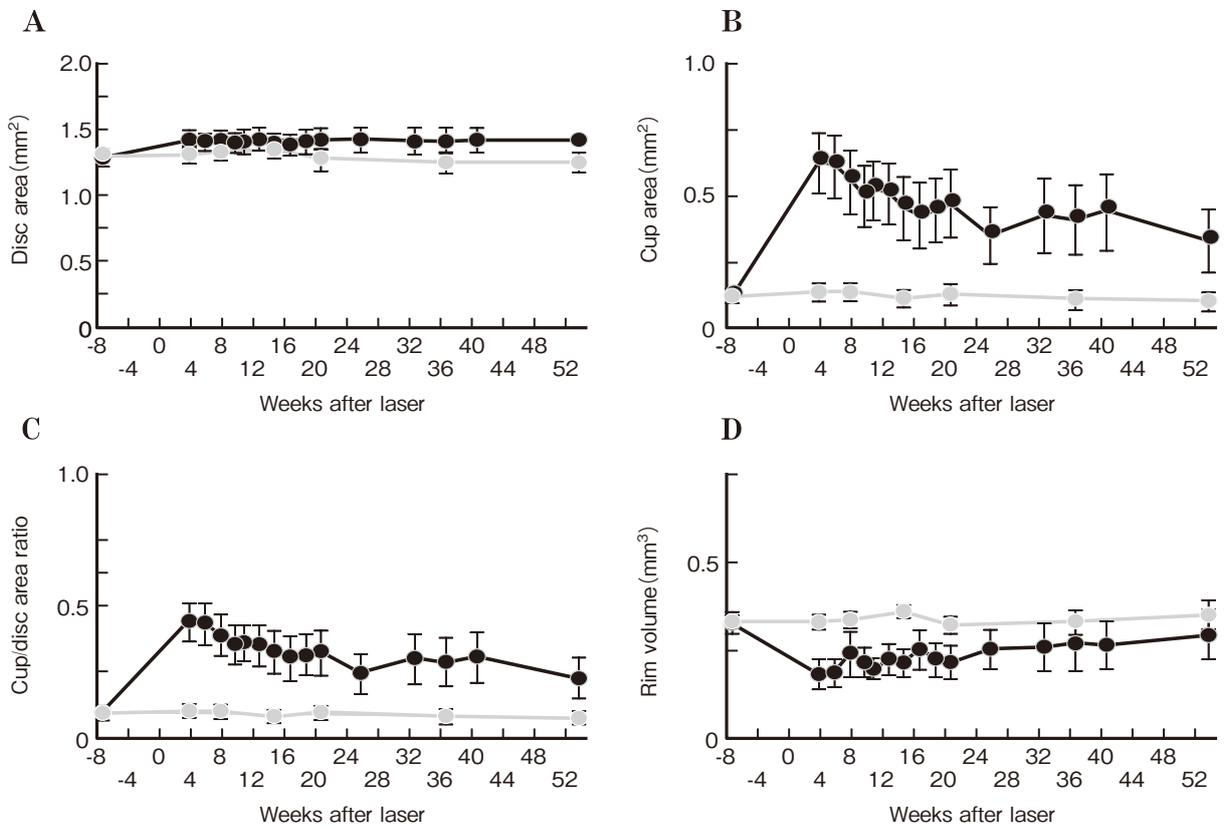


図 18 カニクイザルにおけるレーザー誘発高眼圧による視神経乳頭形態変化の測定結果。Heidelberg Retina Tomograph (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany) による。平均値 ± 標準誤差, n=8。A : disc area, B : cup area, C : cup/disc area ratio, D : rim volume。●：レーザー眼，○：対側無処置眼。

り到達することを確かめている⁶¹⁾。
 実験的サル緑内障モデル作製は既に我々により確立された方法によった⁸⁸⁾。すなわち片眼を無処置対照とし、全身麻酔下で他眼線維柱帯全周にアルゴンレーザー (1,000 mV, 0.2 sec, 100 発前後) を 2 週の間隔をおいて 2 回照射し、眼圧上昇の不十分な場合にはさらに 3~5 週後に 3 回目の照射を行った。照射直後の高眼圧期は

チモロール、ピロカルピン点眼で処置することにより 8 週後より、ほぼ一定した cupping の拡大を得ることができる。図 17 と図 18 に眼圧の経過と Heidelberg Retina Tomograph (HRT, Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany) にて記録した視神経乳頭形態の変化の例を記す。

視神経乳頭循環は緑内障に起因する組織の変化以外に

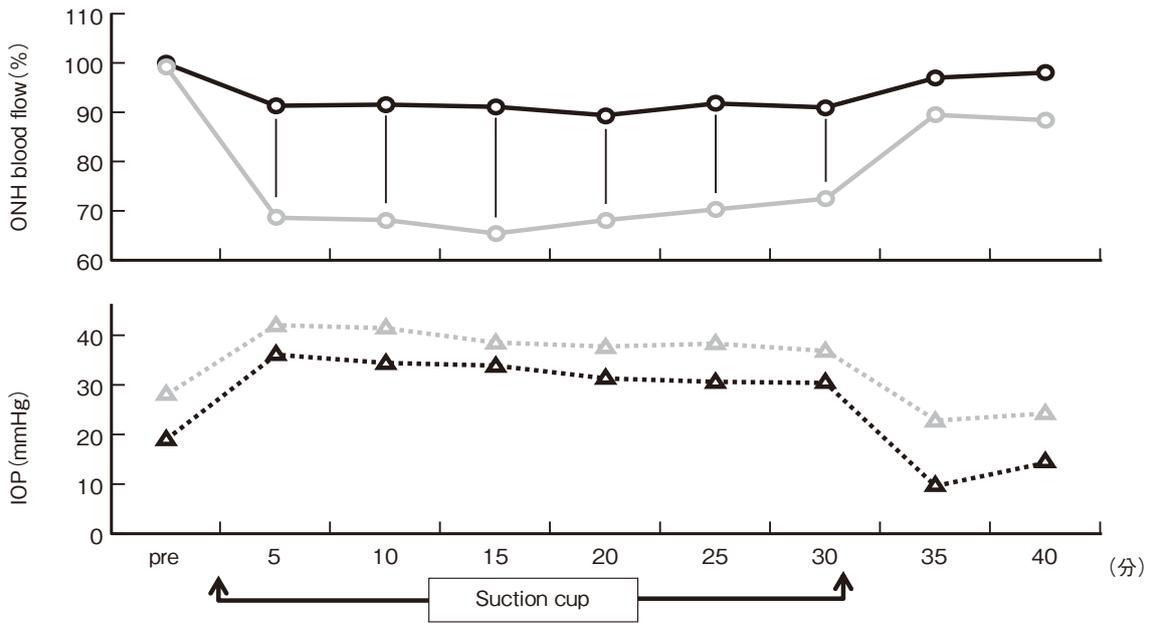


図 19 カニクイザルにおけるレーザー誘発高眼圧による緑内障および対側無処置眼における眼圧上昇とそれに対する視神経乳頭血流の autoregulation 機能の比較の一例。

○：血流緑内障眼，●：血流対側対照眼，△：IOP緑内障眼，▲：IOP対側対照眼。

も全身の血圧，眼動脈の老化(動脈硬化)度，全身の循環を修飾する種々の内因性ホルモンや血管作動性物質の濃度，交感または副交感神経緊張など，さまざまな因子の影響を受けるため，個体間すなわち緑内障患者と正常人有志者間で比較を行う場合，注意深い両群のマッチングが必要であり，またサンプルも多人数を要する。一方，片眼を緑内障とし，無処置他眼を対照とすればすべての全身の因子はマッチしているという利点がある⁹⁷⁾。

片眼に高眼圧による緑内障性変化を誘発後 suction cup 法により，両眼の眼圧を同様に上昇させ視神経乳頭血流の変化をレーザースペックル法でみたものが図 19 である。健常対側眼の視神経乳頭血流が眼圧上昇に対して一定に保たれているのに対して，緑内障眼ではその autoregulation 機能が失われる，または大幅に低下しているのが明らかとなった。

一方興味あることに，緑内障眼では交感神経 $\alpha 1$ 作動薬フェニレフリンの視神経乳頭血流低下作用は失われているが，FP 受容体作動薬による内因性プロスタグランジンを経た血流増加作用⁹⁵⁾は正常眼と同様に保たれていることが分かった。詳しい薬理学的メカニズムは不明であるが，緑内障眼の視神経乳頭循環は機能的に複雑な修飾を受けていること，および血管拡張薬に対してはその反応性が少なくとも内因性プロスタグランジンを経たものに関しては失われていないことが示唆され，実際に緑内障眼に点眼薬を処方する場合の参考にもなると考えられる⁹⁷⁾。

3. 実験緑内障サルにおける高位中枢障害

実験緑内障による中枢性障害の報告は多いが^{2)~5)}，そ

の障害度を同一サルで測定した視野と対比して検討したものはない。カニクイザルでの視野測定法を用い⁸⁹⁾，カニクイザルの視野とそれに対応する LGN の障害を検討したところ，視野障害状態としてはほぼ中期，mean deviation (Humphrey 24-2 SITA-standard program) にして -10 dB 程度の障害でも，緑内障眼からの投射のある対側 LGN 第 1, 4, 6 層，同側 LGN 第 2, 3, 5 層では正常無処置眼からの投射部位である同側(緑内障眼側の) LGN 第 1, 4, 6 層，対側第 2, 3, 5 層に比べ神経細胞の顕著な脱落と反応性グリア系細胞の増殖がみられ，NMDA 硝子体内注射により RGC を障害したマウスでの実験結果⁷⁵⁾と同じであることを見出した⁹⁸⁾。

そこでさらに詳しく実験緑内障サルにおける LGN の変化をカニクイザルよりは系統的に，よりヒトに近いとされているニホンザル⁹⁹⁾¹⁰⁰⁾を用いて，M-細胞系，P-細胞系に分けて経時的に検討することとした⁵⁾。

高眼圧による緑内障性変化に関しては，初期にはより M-細胞系の障害が優位であるという説もあるが^{101)~103)}，M および P-細胞が差別なく障害されているという説もあり^{3)104)~107)}一定しない。我々はより経時的に詳しく検証することにより，この点を再検討すると同時に，両眼無処置サルを対照として，無処置正常眼側からの LGN 内投射野が，隣接する緑内障眼からの投射野の変化を受けてどの程度変化するか併せて検討することとした。

カニクイザルと同様なプロトコールでニホンザルの片眼にレーザー誘発高眼圧緑内障モデル⁸⁸⁾を作製し，眼圧上昇後早期(2 週目)および中～後期(12 および 48 週目)に LGN を組織学的に検討したところ，LGN では第 2 週

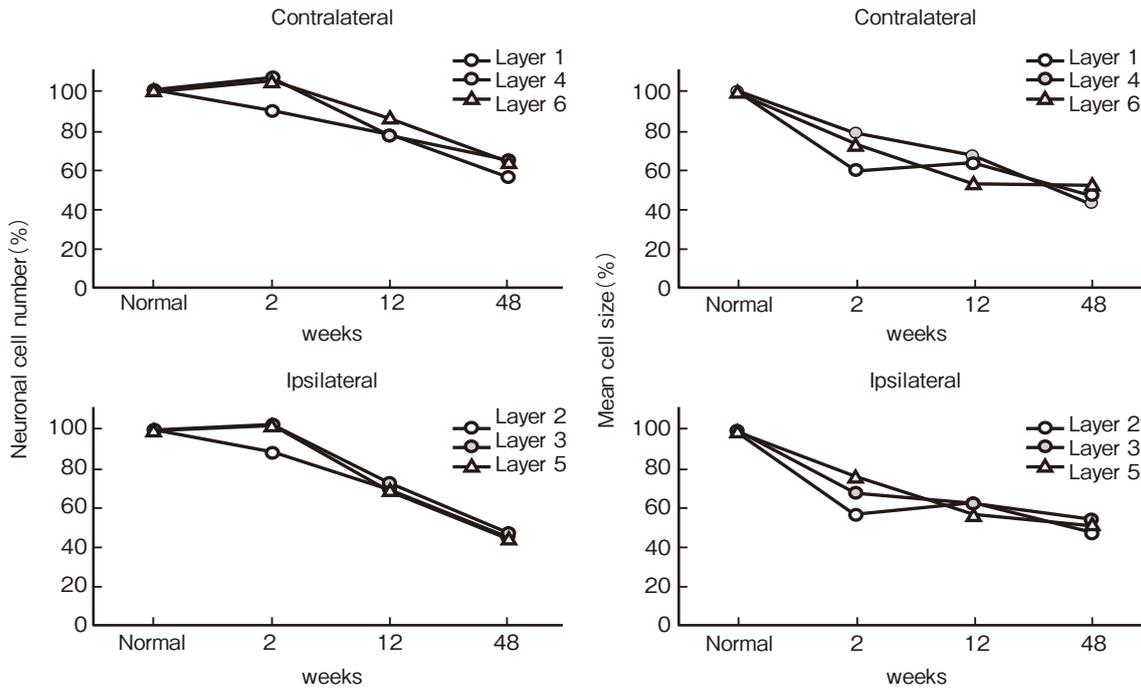


図 20 ニホンザルにおける外側膝状体各層における片眼レーザー誘発高眼圧モデルでの神経細胞カウント結果.

Contralateral は高眼圧眼対側(無処置眼側)の外側膝状体, Ipsilateral は高眼圧眼同側のそれを示す. 第 1 (layer 1) および 2 層 (layer 2) は M-細胞系, 第 3~6 層 (layer 3~6) は P-細胞系が主に投射する.

(文献 5 より許可を得て転載)

目には M-細胞系の投射する第 1 層(緑内障眼対側 LGN) および第 2 層(緑内障眼同側)の神経細胞の障害が数のうえでは優位であり, 第 12 および 48 週目には P-細胞系の投射する第 3, 4, 5, 6 層(第 3, 5 層は緑内障眼同側 LGN, 第 4, 6 層は緑内障眼対側 LGN)の視神経細胞の障害が, 同第 1, 2 層と数のうえでは同等となること, すなわち初期は M-細胞系障害優位, 後期は M および P-細胞系双方の障害という図式を取ることが明らかとなった(図 20).

無処置正常眼からの投射を受ける層(緑内障眼対側 LGN の第 2, 3, 5 層, 同側 LGN の第 1, 4, 6 層)の細胞数も量的には緑内障眼に対峙する投射野よりも少ないものの, 障害を受けることが明らかとなった(図 21). すなわち片眼性の緑内障(例えば続発緑内障)であっても, 実は中枢での障害は両眼性であることが明らかとなった.

以上の実験で, 実験緑内障モデルでは高位中枢 LGN に視野変化および視神経乳頭変化に匹敵する, またはそれ以上の変化が惹起されることが確認された. もし非侵襲的に LGN の変化をモニターすることができれば, 緑内障患者でも中枢病変の程度をモニターすることができることになる.

前述のマウス⁷⁵⁾およびカニクイザル⁹⁸⁾の実験で, 実験緑内障に続発する LGN 障害には, グリア系細胞の活性化が伴うことを確認したが, 末梢型 benzodiazepine 受

容体は活性化マイクログリア細胞に発現するので, その受容体リガンドである $[^{11}\text{C}]\text{PK11195}$ を投与することにより, また視皮質の代謝活性(糖代謝)は $2\text{-}[^{18}\text{F}]\text{fluoro-2-deoxyglucose}$ (18 FDG) を投与することにより, positron emission tomography (PET) で生体において観察することが可能である^{108)~110)}.

カニクイザルに前回同様のプロトコルで実験緑内障を誘発し, 第 40~48 週目に $[^{11}\text{C}]\text{PK11195}$, または 18 FDG を投与して MicroPET P4 (Concord Microsystem, USA) にて PET 画像を取得した¹¹¹⁾.

両側 LGN に $[^{11}\text{C}]\text{PK11195}$, すなわち活性化型マイクログリアの集積がみられ, それは組織学的にも確認された(図 22). また 18 FDG 投与後, 緑内障眼または対側無処置眼のみ開眼しての PET 画像を比較すると, 緑内障眼と同側の視皮質でより糖代謝の低下がみられることが分かった. 同側の視皮質には鼻側視野からの投射が, 対側の視皮質には耳側視野からの投射が行われている. 正常無処置眼は鼻側も耳側も視野は正常であるはずなので, この緑内障眼同側視皮質での代謝低下は, 緑内障眼でより鼻側視野の障害が強いことを示す. これは既に報告したカニクイザル実験緑内障での視野障害パターン⁹⁸⁾, およびよく知られたヒトでの緑内障性視野障害パターンと一致する所見であった.

以上, サルを用いた実験の結果, 緑内障における眼圧非依存障害因子としての視神経乳頭循環, および中枢性

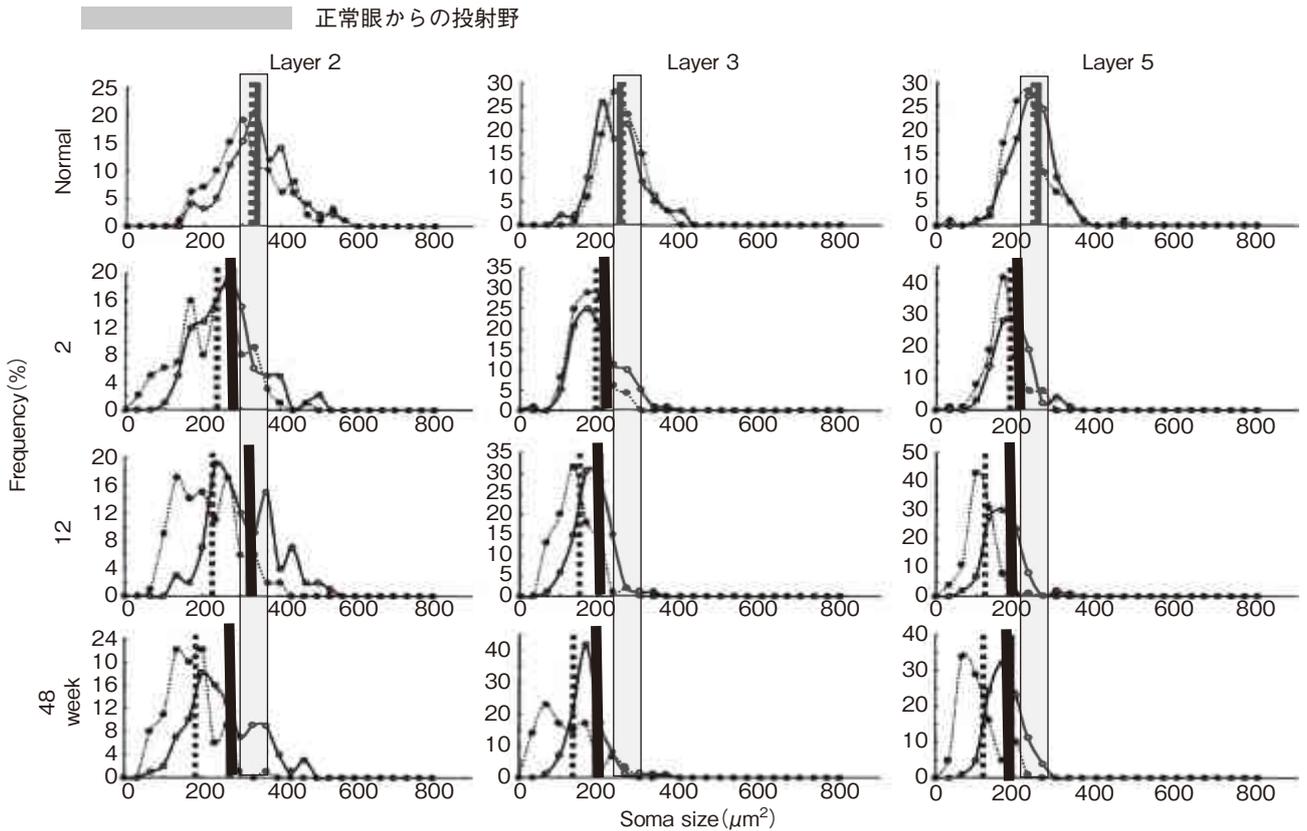


図 21 ニホンザルレーザー誘発高眼圧モデルにおける外側膝状体の第 2, 3 および 5 層における神経細胞のサイズの度数分布。
 対側無処置眼側からの投射野におけるものも同側高眼圧眼側からの投射野におけるものと同様に、程度は少ないものの障害されていることを示す。
 ○ : Contralateral, ● : Ipsilateral, — : Average of contralateral, : Average of ipsilateral.
 (文献 5 より許可を得て転載)

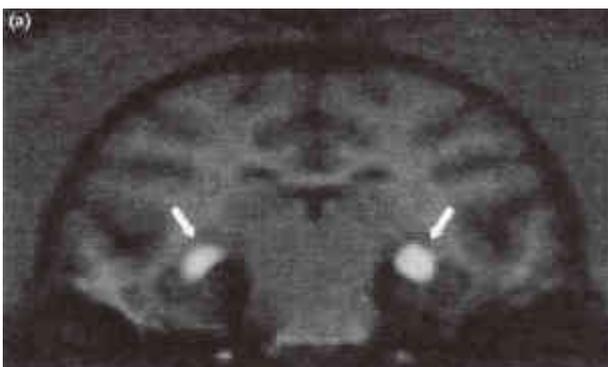


図 22 カニクイザルにおける片側レーザー誘発高眼圧モデルにおける外側膝状体の $[^{14}\text{C}]\text{PK 11195}$ 投与後の positron emission tomography. 同所においてマイクログリア系細胞の活性上昇を示す(矢印).
 (文献 111 より許可を得て転載)

障害の一端を明らかにすることができたと考えられる。
 さらに治療法としては、視神経乳頭血流増加作用を持つ点眼薬が緑内障でも当該部の血流を増加させること

(緑内障性変化により、血管拡張作用を失うことがない)から有利と考えられること、中枢性障害に対しては RGC 障害の軽減以外にも全身投与薬による神経保護療法が正当化されることが示された。

IV ヒトにおける臨床試験

1. 緒言

齧歯類、およびサルにおける実験結果より分かったことは、緑内障眼圧非依存障害因子の視機能に対する作用点は RGC(その軸索も含む)のみならず、中枢神経にもあること、治療薬としては視神経乳頭血流増加作用のあるものがより有利と推定されること、などであった。

また、単離培養 RGC を用いた実験の結果を第一段階スクリーニングとすると、カルシウム拮抗薬と、意外なことにいくつかの既に臨床で使用されている抗緑内障点眼薬でも眼圧下降による眼圧依存障害因子のみならず、同非依存障害因子に対する薬理作用をも期待できることが分かった。以上の所見に基づいて、カルシウム拮抗薬と交感神経 β 遮断点眼薬による臨床試験を行った。

表 3 プロピンカミン投与による正常眼圧緑内障の治療効果

	例数	MD 変化率 (dB/年)	CPSD 変化率 (dB/年)
プロピンカミン群	25	-0.07±0.20	0.00±0.02
無治療群	26	-0.78±0.18	0.03±0.02
群間差		p=0.0079	p=0.2180

MD：Humphrey 全点閾値検査法 30-2 プログラムを 4 か月に 1 度施行した結果を linear mixed model²⁰⁾で解析したもの。
CPSD：corrected pattern standard deviation.

表 4 ニルバジピンを試験薬とした単施設無作為二重盲検試験の対象

	ニルバジピン	placebo	群間差
人数	17	16	
年齢(歳)	52.9±11.9	57.5±7.5	有意差なし
男/女比	10/7	10/6	有意差なし
収縮期血圧(mmHg)	124±15	124±20	有意差なし
拡張期血圧(mmHg)	75±9	74±11	有意差なし
脈拍(1分)	74±12	79±18	有意差なし

MD の良い方の眼の比較

	ニルバジピン	placebo	群間差
眼球	17	16	
屈折(diopter)	3.2±2.7	-2.3±2.8	有意差なし
眼圧(mmHg)	13.5±1.1	12.8±1.9	有意差なし
MD(dB)	-5.5±5.3	-3.1±3.1	有意差なし
PSD(dB)	7.1±5.0	5.8±3.9	有意差なし

MD の悪い方の眼の比較

	ニルバジピン	placebo	群間差
眼球	17	16	
屈折(diopter)	3.6±3.4	-2.7±2.7	有意差なし
眼圧(mmHg)	13.5±1.2	12.6±2.0	有意差なし
MD(dB)	-10.0±6.6	-9.6±6.5	有意差なし
PSD(dB)	11.1±5.1	10.5±4.1	有意差なし

2. カルシウム拮抗薬による眼圧非依存障害因子治療の可能性

カルシウム拮抗薬は、既に述べた如く、心血管系疾患、特に本態性高血圧の治療薬として長くヒトに臨床使用されてきた実績のある薬剤⁵⁰⁾で、我々も単離培養 RGC に対して 10⁻⁸M のオーダーから神経保護作用を示すことを確認した²⁴⁾。事実、いくつかのカルシウム拮抗薬が POAG、特に NTG 患者または正常人の視機能に好効果を示すという報告がある^{112)~115)}。我々は弱いカルシウム拮抗作用を持つ脳循環改善薬プロピンカミンを眼圧が低めの NTG 患者に投与した群と無治療で経過をみた群で 2 年間の前向き試験を行ったところ、プロピンカミン投与で有意に進行速度が遅いことを見出していたが¹¹⁶⁾、この臨床試験は placebo を用意することができなかった、いわゆる single-blind 試験であったという欠点があった(表 3)。

ニルバジピンは DHP 系第 2 世代のカルシウム拮抗薬で我々の行った実験動物⁹⁴⁾¹¹⁷⁾または少数の NTG 患者での研究結果では安定して視神経乳頭血流量を増やすこと⁹⁴⁾、カルシウム拮抗薬の中では最も脂溶性が高いものの一つで blood-brain-barrier および blood-retinal-barrier を通過しやすく、かつ抗酸化作用も強いので神経保護作用がより期待できること⁵⁰⁾¹¹⁸⁾、既に単離培養 RGC における glutamate 毒性に対する神経保護作用が報告されていること¹¹⁹⁾、認知症への効果が報告されていると同時にそれを支持する動物実験結果も多いこと^{120~123)}などで、カルシウム拮抗薬としては最も効果が期待できるものの一つと考えられた。

そこでニルバジピンを試験薬として単施設無作為二重盲検試験を計画した¹⁶⁾。対象は、経過中の最高眼圧が 16 mmHg 以下の初期～中期の NTG 患者であり、年齢、屈折、視野障害の少ない方の眼の MD 値を最小化バランス法¹²⁴⁾でマッチさせて、ニルバジピン (4 mg/日) と placebo に割りつけた。3 か月ごとに Humphrey 全点閾値検査法 30-2 プログラムで視野を、6 か月ごとに前述のレーザースペックル法により視神経乳頭、黄斑部脈絡膜の血流を測定しつつ、3 年間 follow-up するデザイン

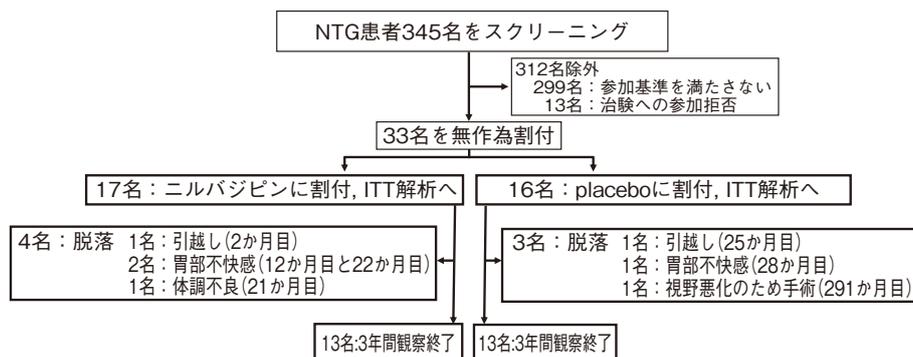


図 23 ニルバジピン試験の flow diagram.

表 5 ニルバジピン投与の有無と 3 年間の MD 変化率

	MD 変化率(db/年)		群間差
	ニルバジピン	placebo	
MD 良好眼 (主解析)	-0.01	-0.27	p=0.040
両眼	-0.02	-0.22	p=0.039

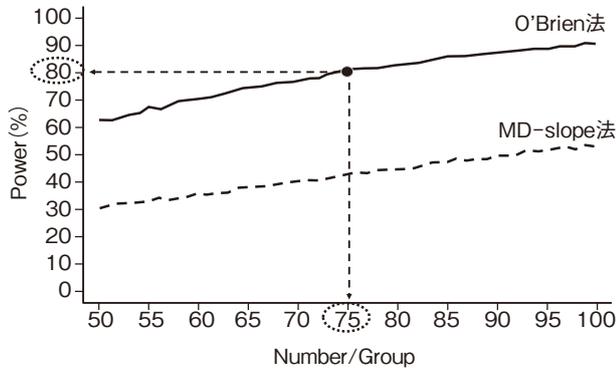


図 24 コンピュータシミュレーションにより算出した MD 変化率の差 0.25 dB を検出するのに必要な両群のサンプル数(一群あたり)と検出パワー。O'Brien 法が MD-slope 法に比べ検出力が優れる。MD-slope 法では Linear mixed model を使用。

とした。対象の詳細を表 4 に示し、臨床試験の概要を図 23 に示す。

解析対象は 1 例につき 1 眼、MD の良い方の眼とした。Key オープンの結果、FAS 解析でニルバジピン群と placebo 群間では 3 年の経過中、血圧、脈拍、眼圧はいずれも有意差がなかったが ($p > 0.1$, ANOVA)、視神経乳頭血流、黄斑部脈絡膜血流ともニルバジピン群で約平均 40% の増加が経過中を通して¹⁶⁾みられた ($p = 0.003 \sim 0.007$, ANOVA)。この眼血流の所見は、我々のニルバジピンを用いた NTG 患者での先行研究の結果とも、また実験動物での結果⁹⁴⁾¹¹⁷⁾¹²⁵⁾ともよく一致するものであり、カルシウム拮抗薬の眼血流に関する影響に関しては家兎眼での結果は十分ヒト眼の結果へ外挿できるものであることを示す。

プロピンカミンを用いた研究と同様に linear mixed model²⁰⁾により MD の 3 年間の経過観察中の変化率を計算したものを表 5 に記す。主解析目的対象である MD 良好眼での結果に加え、念のため両眼解析も行った結果をも記す。

例数は少ないながら、ニルバジピン投与は 3 年間の視野悪化を NTG で有意に遅延させたと考えられた。特に問題となる全身副作用もなく、かつ、眼圧も血圧も非本態性高血圧患者である今回の対象者では有意に下降させていないので、ニルバジピンの眼圧に依存しないこの視野効果は、その作用機序は血流増加を介するものか、RGC および中枢の神経細胞への直接効果かは現時点で

表 6 ニプラジロールまたはチモロール点眼による視野変化への影響を検討するための多施設無作為二重盲検試験の症例

	ニプラジロール	チモロール	群間差
例数(人)	72	74	有意差なし
男/女	35/37	24/50	有意差なし
年齢(歳)	47.1±8.2	48.1±8.0	有意差なし
眼圧(mmHg)	14.1±1.7	14.3±1.6	有意差なし
MD (dB)	-4.7±3.1	-4.4±2.9	有意差なし
CPSD (dB)	7.9±3.8	7.5±3.8	有意差なし
屈折(diopter)	-3.5±3.0	-3.5±2.8	有意差なし
中心角膜厚(mm)	0.54±0.3	0.53±0.3	有意差なし
収縮期血圧(mmHg)	122±12	125±19	有意差なし
拡張期血圧(mmHg)	78±10	78±11	有意差なし
脈拍(1分)	71±11	72±9	有意差なし

ニプラジロールおよびチモロール群間において 3 年間で眼圧は前値に比べ約 1 mmHg 低下したが、まったく両群間に差はなく、血圧も差がみられなかった。一方、脈拍はチモロール群でやや低下した ($p = 0.006$, ANCOVA)。

は不明であるが、十分多施設でさらに検証するに足るものと考えられた。

3. 点眼薬による眼圧非依存障害因子治療の可能性

家兎およびサル眼での後眼部移行の検討の結果^{58)~62)}、交感神経 β 遮断点眼薬はヒトでも後眼部網膜にも薬理濃度 ($= 10^{-8} M$) で移行していることが示唆され、同様の結論は網膜色素変性患者におけるドルゾラミド点眼でも示唆されている⁶³⁾。交感神経 β 遮断薬が、その詳しい作用機序は不明ながら、単離培養 RGC に対して神経保護作用を有し、また家兎眼に点眼した状態で、家兎眼網膜に対する神経保護作用を呈しうるのは既に我々のものも含めて、いくつか報告されている⁵⁹⁾¹²⁶⁾¹²⁷⁾。我々の検討では交感神経 α - β 遮断薬のニプラジロールの方が非選択性交感神経 β 遮断薬チモロールより *in vitro*⁶⁵⁾、*in vivo* (家兎眼)⁵⁹⁾とも神経保護効果が優れる傾向にあった。

そこで NTG 患者におけるニプラジロールまたはチモロール点眼下での視野変化の比較を多施設無作為二重盲検試験の下 3 年間で行った¹²⁸⁾。6 か月に 1 度 Humphrey 全点閾値検査法 30-2 プログラムで検査された視野進行度比較は従来の linear mixed model ではなく、局所性的変化を反映でき、かつ、検出力により優れた O'Brien 法¹²⁹⁾を用いることとした。両方法における 2 群間の視野進行速度差 (MD にして 0.25 dB/年の差) 検出に要する症例数をコンピュータシミュレーションにより計算した結果を図 24 に示す。

対象症例は全身的に特に問題ない 20~60 歳の NTG 症例で、かつ run-in 期間 (3 か月) 中の無治療下での最高眼圧が 18 mmHg 以下の初期~中期の NTG 患者であり、解析対象眼は 1 例につき 1 眼としニルバジピンの場合と同様 MD の良い方の眼とした。症例の内訳を表 6 に、試験の概要を図 25 に示す。

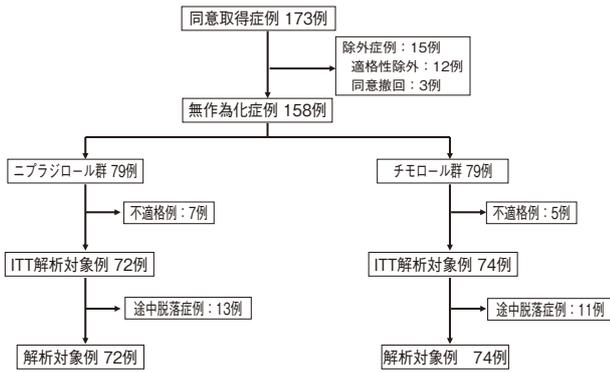


図 25 ニブラジロール-チモロール比較試験の flow diagram.

表 7 ニブラジロールまたはチモロール点眼による視野変化への影響を検討するための多施設無作為二重盲検試験の視野解析の結果

	ニブラジロール	チモロール	群間差
O'Brien Score	436 ± 186	428 ± 168	有意差なし
MD 変化率 (dB/年)	-0.03 ± 0.06	-0.05 ± 0.41	有意差なし
CPSD 変化率 (edB/年)	0.31 ± 0.06	0.23 ± 0.06	有意差なし

視野解析の結果を表 7 に記す。O'Brien score, MD および CPSD の変化率とも両群間に 3 年間ではまったく有意差はなく、また視神経乳頭写真(非ステレオ, 1 年に 1 度撮影)から判定した進行率および視神経乳頭出血の頻度も両群間で有意差はなく、ニブラジロールとチモロールは NTG の進行に関してはまったく同等の効果を持つと考えられた。ただし、注目するに値する結果として、前向きに 170 例超の NTG 患者の経過を国内で初めて一定のプロトコール下、かつ、ニブラジロールまたはチモロール点眼下で follow した結果、MD の変化率は両群併せて -0.04 dB/年と、ほとんど変化しなかった(0 と有意差なし)ことである。ただし、まったく視野障害進行が止まったわけではなく、CPSD(corrected pattern standard deviation)変化率は有意に正(p<0.001), すなわち視野は少しずつは局所的に変化していたことは事実である。

この MD 変化率 -0.04 dB/年という値は、前述ニルバジピン群での値(-0.01~-0.02 dB/年)に近く¹⁶⁾、さらに NTG 患者に線維柱帯切除術施行後、またはニルバジピン研究における placebo 群での MD 変化率 -0.25~0.30 dB/年よりは明らかに遅い¹⁶⁾。今回は placebo 群は用意しておらず、かつ、眼圧はわずかながらも 1 mmHg 下がっているため、この -0.04 dB/年と -0.25~-0.30 dB/年との差を、ニブラジロールまたはチモロールの眼圧非依存障害因子への効果と即結論することは困難であるが、その存在を十分疑わせるに足る結果であると考え

られた。

V 結 語

緑内障障害因子として、眼圧依存障害(機械的圧負荷)因子の存在は RCT の結果証明されているとあってよい。一方、眼圧非依存障害因子は長くその存在が疑われてきたものの、未だその存在の直接証明はされていない。

しかし、多くの間接的証拠はその存在を示しており、また、NTG が非常に多い本邦においてこそ⁶⁾眼圧非依存障害因子の研究のブレークスルーがなされるべきであると思われる。本研究では緑内障の臨床データから、マウス、サル、そして再びヒトでの臨床データに戻って、著者が行ってきた眼圧非依存障害因子に関する研究結果をまとめた。

最終的には多施設の RCT の結果によるしかないが、特に点眼薬による加療の可能性が決して低くないと思わせるに足るデータは提供できたのではないかと考えられる。

本論文は第 114 回日本眼科学会総会特別講演の内容に基づいて執筆しましたが、講演内容の一部は未だ投稿されていない内容も含まれており、割愛または preliminary な形でしか報告できていないことをお詫びします。

稿を終えるにあたり、この機会をお与えいただいた日本眼科学会、および、同第 114 回総会長の寺崎浩子名古屋大学教授、そして座長をお務めいただいた日本眼科学会理事長の根木 昭神戸大学教授にこの場を借りて心より御礼申し上げます。また、Nipradilol-Timolol Study Group の先生方にも厚く御礼申し上げますと同時に、眼科学の最初の教育をしていただいた故三島清一東京大学名誉教授、緑内障学の御指導を賜りました北澤克明岐阜大学名誉教授には心より感謝いたします。

本研究は文部科学省科学研究費補助金、厚生労働省科学研究補助金等により行われた。

利益相反：利益相反公表基準に該当なし

文 献

- 1) 日本緑内障学会緑内障診療ガイドライン作成委員会：緑内障診療ガイドライン(第 2 版). 日眼会誌 110 : 777-814, 2006.
- 2) Lam DY, Kaufman PL, Gabelt BT, To EC, Matsubara JA : Neurochemical correlates of cortical plasticity after unilateral elevated intraocular pressure in a primate model of glaucoma. Invest Ophthalmol Vis Sci 44 : 2573-2581, 2003.
- 3) Yücel YH, Zhang Q, Weinreb RN, Kaufman PL, Gupta N : Effects of retinal ganglion cell loss on magno-, parvo-, koniocellular pathways in the lateral geniculate nucleus and visual cortex in glaucoma. Prog Retin Eye Res 22 : 465-481, 2003.

- 4) **Gupta N, Ly T, Zhang Q, Kaufman PL, Weinreb RN, Yücel YH** : Chronic ocular hypertension induces dendrite pathology in the lateral geniculate nucleus of the brain. *Exp Eye Res* 84 : 176—184, 2007.
- 5) **Ito Y, Shimazawa M, Chen YN, Tsuruma K, Yamashita T, Araie M, et al** : Morphological changes in the visual pathway induced by experimental glaucoma in Japanese monkeys. *Exp Eye Res* 89 : 246—255, 2009.
- 6) **Iwase A, Suzuki Y, Araie M, Yamamoto T, Abe H, Shirato S, et al** : The prevalence of primary open-angle glaucoma in Japanese : the Tajimi Study. *Ophthalmology* 111 : 1641—1648, 2004.
- 7) **Iwase A, Araie M, Tomidokoro A, Yamamoto T, Shimizu H, Kitazawa Y, Tajimi Study Group** : Prevalence and causes of low vision and blindness in a Japanese adult population. *Ophthalmology* 113 : 1354—1362, 2006.
- 8) **Nakamura T, Tomidokoro A, Sawaguchi S, Sakai H, Iwase A, Araie M** : Prevalence and causes of low vision and blindness in a rural southwest island of Japan The Kujima Study. *Ophthalmology* 117 : 2315—2121, 2010.
- 9) **Collaborative Normal-tension Glaucoma Study Group** : Comparison of glaucoma and patients with therapeutically reduced intraocular pressures. *Am J Ophthalmol* 126 : 487—497, 1998.
- 10) **Collaborative Normal-tension Glaucoma Study Group** : The effectiveness of intraocular pressure reduction in the treatment of normal tension glaucoma. *Am J Ophthalmol* 126 : 498—505, 1998.
- 11) **The AGIS investigators** : The Advanced Glaucoma Intervention Study (AIGS) : 7. The relationship between control of intraocular pressure and visual field deterioration. *Am J Ophthalmol* 130 : 429—440, 2000.
- 12) **Heijl A, Leske MC, Bengtsson B, Hyman L, Hussein M, for the Early Manifest Glaucoma Trial Group** : Reduction of intraocular pressure and glaucoma progression. Results from the early manifest glaucoma trial. *Arch Ophthalmol* 120 : 1268—1279, 2002.
- 13) **Leske MC, Heijl A, Hyman L, Bengtsson B, Dong L-M, Yang Z, EMGT Group** : Predictors of long-term progression in the early manifest glaucoma trial. *Ophthalmology* 114 : 1965—1972, 2007.
- 14) **Musch DC, Gillespie BW, Lichter PR, Niziol LM, Janz NK, CIGTS study Investigators** : Visual field progression in the Collaborative Initial Glaucoma Treatment Study the impact of treatment and other baseline factors. *Ophthalmology* 116 : 200—207, 2009.
- 15) **山上淳吉, 白土城照, 新家 眞** : 低眼圧緑内障における視野障害と眼圧の関係. *日眼会誌* 94 : 514—518, 1990.
- 16) **Koseki N, Araie M, Tomidokoro A, Nagahara M, Hasegawa T, Tamaki Y, et al** : A placebo controlled 3-year study of a calcium blocker on visual field and ocular circulation in glaucoma with low-normal pressure. *Ophthalmology* 115 : 2049—2057, 2008.
- 17) **Koseki N, Araie M, Shirato S, Yamamoto S** : Effect of trabeculectomy on visual field performance in central 30 degrees field in progressive normal-tension glaucoma. *Ophthalmology* 104 : 197—201, 1997.
- 18) **Shigeeda T, Tomidokoro A, Araie M, Koseki N, Yamamoto S** : Long-term follow-up of visual field progression after trabeculectomy in progressive normal-tension glaucoma. *Ophthalmology* 109 : 766—770, 2002.
- 19) **Suzuki Y, Araie M, Ohashi Y** : Sectorization of the central 30° visual field in glaucoma. *Ophthalmology* 100 : 69—75, 1993.
- 20) **Laird NM, Ware JH** : Random-effects models for longitudinal data. *Biometrics* 38 : 963—974, 1982.
- 21) **Weber J, Schultze T, Ulrich H** : The visual field in advanced glaucoma. *Int Ophthalmol* 13 : 47—50, 1989.
- 22) **Mayama C, Suzuki Y, Araie M, Ishida K, Akira T, Tamamoto T, et al** : Myopia and advanced-stage open-angle glaucoma. *Ophthalmology* 109 : 2072—2077, 2002.
- 23) **相原 一** : 緑内障研究へのマウスの応用—眼圧および網膜神経節細胞障害機序の解明を目指して—*日眼会誌* 114 : 217—247, 2010.
- 24) **Yamada H, Chen YN, Aihara M** : Neuroprotective effect of calcium channel blocker against retinal ganglion cell damage under hypoxia. *Brain Res* 1071 : 75—80, 2006.
- 25) **Uchida S, Suzuki Y, Araie M, Kashiwagi K, Otori Y, Sakuragawa N** : Factors secreted by human amniotic epithelial cells promote the survival of rat retinal ganglion cells. *Neurosci Lett* 341 : 1—4, 2003.
- 26) **Otori Y, Wei JY, Barnstable CJ** : Neurotoxic effects of low doses of glutamate on purified rat retinal ganglion cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 39 : 972—981, 1998.
- 27) **Lindsey JD, Weinreb RN** : Identification of the mouse uveoscleral outflow pathway using fluorescent dextran. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 43 : 2201—2205, 2002.
- 28) **Smith RS, Zabaleta A, Savinova OV, John SW** : The mouse anterior chamber angle and trabecular meshwork develop without cell death. *BMC Dev Biol* 1 : 3, 2001.
- 29) **Tamm ER** : Myocilin and glaucoma : facts and ideas. *Prog Retin Eye Res* 21 : 395—428, 2002.
- 30) **John SW, Hagaman JR, MacTaggart TE, Peng L, Smithes O** : Intraocular pressure in inbred mouse strains. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 38 : 249—253, 1997.

- 31) **Aihara M, Lindsey JD, Weinreb RN** : Reduction of intraocular pressure in mouse eyes treated with latanoprost. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 43 : 146—150, 2002.
- 32) **Savinova OV, Sugiyama F, Martin JE, Tomarev SI, Paigen BJ, Smith RS, et al** : Intraocular pressure in genetically distinct mice : an update and strain survey. *BMC Genet* 2 : 12, 2001.
- 33) **Aihara M, Lindsey JD, Weinreb RN** : Twenty four-hour pattern of mouse intraocular pressure. *Exp Eye Res* 77 : 681—686, 2003.
- 34) **Sugimoto E, Aihara M, Ota T, Araie M** : Effect of light cycle on 24-hour pattern of mouse intraocular pressure. *J Glaucoma* 15 : 505—511, 2006.
- 35) **Aihara M, Lindsey JD, Weinreb RN** : Effect on diurnal intraocular pressure variation of eliminating the α -2 adrenergic receptor subtypes in the mouse. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 49 : 929—933, 2008.
- 36) **Ota T, Murata H, Sugimoto E, Aihara M, Araie M** : Prostaglandin analogues and mouse intraocular pressure : effects of tafluprost, latanoprost, travoprost, and unoprostone, considering 24-hour variation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 46 : 2006—2011, 2005.
- 37) **Mabuchi F, Aihara M, Mackey MR, Lindsey JD, Weinreb RN** : Regional optic nerve damage in experimental mouse glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 45 : 4352—4358, 2004.
- 38) **Mabuchi F, Aihara M, Mackey MR, Lindsey JD, Weinreb RN** : Optic nerve damage in experimental mouse ocular hypertension. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 44 : 4321—4330, 2003.
- 39) **Mabuchi F, Lindsey JD, Aihara M, Mackey MR, Weinreb RN** : Optic nerve damage in mice with a targeted type I collagen mutation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 45 : 1841—1845, 2004.
- 40) **Simon P, Thanos S** : Combined methods of retrograde staining, layer-separation and viscoelastic cell stabilization to isolate retinal ganglion cells in adult rats. *J Neurosci Methods* 83 : 113—124, 1998.
- 41) **Porciatti V, Saleh M, Nagaraju M** : The pattern electroretinogram as a tool to monitor progressive retinal ganglion cell dysfunction in the DBA/2J mouse model of glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 48 : 745—751, 2007.
- 42) **Shiose Y, Kitazawa Y, Tsukahara S, Akamatsu T, Mizokami K, Futa R, et al** : Epidemiology of glaucoma in Japan—a nationwide glaucoma survey. *Jpn J Ophthalmol* 35 : 133—155, 1991.
- 43) **John SW, Smith RS, Savinova OV, Hawes NL, Chang B, Turnbull D, et al** : Essential iris atrophy, pigment dispersion, and glaucoma in DBA/2J mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 39 : 951—962, 1998.
- 44) **Anderson MG, Smith RS, Hawes NL, Zabaleta A, Chang B, Wiggs JL, et al** : Mutations in genes encoding melanosomal proteins cause pigmentary glaucoma in DBA/2J mice. *Nat Genet* 30 : 81—85, 2002.
- 45) **Zhou X, Li F, Kong L, Tomita H, Li C, Cao W** : Involvement of inflammation, degradation, and apoptosis in a mouse model of glaucoma. *J Biol Chem* 280 : 31240—31248, 2005.
- 46) **Scholz M, Buder T, Seeber S, Adamek E, Becker CM, Lütjen-Drecoll E** : Dependency of intraocular pressure elevation and glaucomatous changes in DBA/2J and DBA/2J-Rj mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 49 : 613—621, 2008.
- 47) **Aihara M, Lindsey JD, Weinreb RN** : Experimental mouse ocular hypertension : establishment of the model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 44 : 4314—4320, 2003.
- 48) **Grozdanic SD, Betts DM, Sakaguchi DS, Allbaugh RA, Kwon YH, Kardon RH** : Laser-induced mouse model of chronic ocular hypertension. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 44 : 4337—4346, 2003.
- 49) **Ruiz-Ederra J, Berkaman AS** : Mouse model of sustained elevation in intraocular pressure produced by episcleral vein occlusion. *Exp Eye Res* 82 : 879—884, 2006.
- 50) **Araie M, Mayama C** : Use of calcium channel blockers for glaucoma. *Prog Retin Eye Res* 30 : 54—71, 2011.
- 51) **Jarvinen K, Jarvinen T, Urtti A** : Ocular absorption following topical delivery. *Adv Drug Deliv Rev* 16 : 3—19, 1995.
- 52) **Conroy CW** : Sulfonamides do not reach the retina in therapeutic amounts after topical application to the cornea. *J Ocul Pharmacol Ther* 13 : 465—472, 1997.
- 53) **Maurice DM** : Drug delivery to the posterior segment from drops. *Surv Ophthalmol* 47 (suppl 1) : S 41—S 52, 2002.
- 54) **Acheampong AA, Shackleton M, John B, Burke J, Wheeler L, Tang-Liu D** : Distribution of brimonidine into anterior and posterior tissues of monkey, rabbit, and rat eyes. *Drug Metab Dispos* 30 : 421—429, 2002.
- 55) **Hughes PM, Olejnik O, Chang-Lin JE, Wilson CG** : Topical and systemic drug delivery to the posterior segments. *Adv Drug Deliv Rev* 57 : 2010—2032, 2005.
- 56) **Kent AR, Nussdorf JD, David R, Tyson F, Small D, Fellow D** : Vitreous concentration of topically applied brimonidine tartrate 0.2%. *Ophthalmology* 108 : 784—787, 2001.
- 57) **Osborne NN, DeSantis L, Bae JH, Ugarte M, Wood JP, Nash MS, et al** : Topically applied betaxolol attenuates NMDA-induced toxicity to ganglion cells and the effects of ischemia to the retina. *Exp Eye Res* 69 : 331—342, 1999.

- 58) **Mizuno K, Koide T, Shimada S, Mori J, Sawanobori K, Araie M** : Route of penetration of topically instilled nipradilol into the ipsilateral posterior retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 50 : 2839—2847, 2009.
- 59) **Misuno K, Koide T, Yoshimura M, Araie M** : Neuroprotective effect and intraocular penetration of nipradilol, a β -blocker with nitric oxide donative action. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 42 : 688—694, 2001.
- 60) **Ishii K, Matsuo H, Fukaya Y, Tanaka S, Sakaki H, Waki M, et al** : Iganidipine, a new water-soluble Ca^{2+} antagonist : ocular and periocular penetration after instillation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 44 : 1169—1177, 2003.
- 61) **Mizuno K, Koide T, Saito N, Fujii M, Nagahara M, Tomidokoro A, et al** : Topical nipradilol : effects on optic nerve head circulation in humans and periocular distribution in monkeys. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 43 : 3243—3250, 2002.
- 62) **Ichikawa M, Okada Y, Asai Y, Hara H, Ishii K, Araie M** : Effect of topically instilled bunazosin, an α_1 -adrenoceptor antagonist, on constrictions induced by phenylephrine and ET-1 in rabbit retinal arteries. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 45 : 4041—4048, 2004.
- 63) **Grover S, Apushkin MA, Fishman GA** : Topical dorzolamide for the treatment of cystoid macular edema in patients with retinitis pigmentosa. *Am J Ophthalmol* 141 : 850—858, 2006.
- 64) **Maren TH, Conroy CW, Wynns GC, Levy NS** : Ocular absorption, blood levels, and excretion of dorzolamide, a topically active carbonic anhydrase inhibitor. *J Ocul Pharmacol Ther* 13 : 23—59, 1997.
- 65) **Chen YN, Yamada H, Mao W, Matsuyama S, Aihara M, Araie M** : Hypoxia-induced retinal ganglion cell death and the neuroprotective effects of β -adrenergic antagonists. *Brain Res* 1148 : 28—38, 2007.
- 66) **Yu ZK, Chen YN, Aihara M, Mao W, Uchida S, Araie M** : Effects of β -adrenergic receptor antagonists on oxidative stress in purified rat retinal ganglion cells. *Mol Vis* 13 : 833—839, 2007.
- 67) **Lee KY, Nakayama M, Aihara M, Chen YN, Araie M** : Brimonidine is neuroprotective against glutamate-induced neurotoxicity, oxidative stress, and hypoxia in purified rat retinal ganglion cells. *Mol Vis* 16 : 246—251, 2010.
- 68) **Flammer J, Orgül S, Costa VP, Orzalesi N, Krieglstein GK, Serra LM, et al** : The impact of ocular blood flow in aged brain. *Prog Retin Eye Res* 21 : 359—393, 2002.
- 69) **Ota T, Aihara M, Narumiya S, Araie M** : The effects of prostaglandin analogues on IOP in prostanoid FP-receptor-deficient mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 46 : 4159—4163, 2005.
- 70) **Ota T, Aihara M, Saeki T, Narumiya S, Araie M** : The IOP-lowering effects and mechanism of action of tafluprost in prostanoid receptor-deficient mice. *Br J Ophthalmol* 91 : 673—676, 2007.
- 71) **Danias J, Kontiola AI, Filippopoulos T, Mittag T** : Method for the noninvasive measurement of intraocular pressure in mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 44 : 5168—5173, 2003.
- 72) **Feng G, Mellor RH, Bernstein M, Keller-Peck C, Nguyen QT, Wallace M, et al** : Imaging neuronal subsets in transgenic mice expressing multiple spectral variants of GFP. *Neuron* 28 : 41—51, 2000.
- 73) **Saeki T, Aihara M, Ohashi M, Araie M** : The efficacy of TonoLab in detecting physiological and pharmacological changes of mouse intraocular pressure-comparison with TonoPen and microneedle manometry. *Curr Eye Res* 33 : 247—252, 2008.
- 74) **Murata H, Aihara M, Chen YN, Ota T, Munaga J, Araie M** : Imaging mouse retinal ganglion cells and their loss *in vivo* by a fundus camera in the normal and ischemia-reperfusion model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 49 : 5546—5552, 2008.
- 75) **Ito Y, Shimazawa M, Inokuchi Y, Fukumitsu H, Furukawa S, Araie M, et al** : Degenerative alterations in the visual pathway after NMDA-induced retinal damage in mice. *Brain Res* 1212 : 89—101, 2008.
- 76) **Parsong CG, Danysz W, Quack G** : Memantine is a clinically well tolerated N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor antagonist-review of preclinical data. *Neuropharmacol* 38 : 735—767, 1999.
- 77) **Reisberg B, Doody R, Stöffler A, Schmitt F, Ferris S, Möbius HJ** : Memantine in moderate-to-severe Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 348 : 1333—1341, 2003.
- 78) **Hare WA, WoldeMussie E, Weinreb RN, Ton H, Ruiz G, Wijono M, et al** : Efficacy and safety of memantine treatment for reduction of changes associated with experimental glaucoma in monkey. II : Structural measures. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 45 : 2640—2651, 2004.
- 79) **Ito Y, Nakamura S, Tanaka H, Shimazawa M, Araie M, Hara H** : Memantine protects against secondary neuronal degeneration in lateral geniculate nucleus and superior colliculus after retinal damage in mice. *CNS Neurosci Ther* 14 : 192—202, 2008.
- 80) **Sugiyama K, Cioffi GA, Bacon DR, Van Buskirk EM** : Optic nerve and peripapillary choroidal microvasculature in the primate. *J Glaucoma* 3 : S 45—S 54, 1994.
- 81) **Leske MC, Connell AM, Wu SY, Hyman LG, Schachat AP** : Risk factors for open-angle glaucoma. The Barbados Eye Study. *Arch Ophthalmol* 113 : 918—924, 1995.
- 82) **Tielsch JM, Katz J, Sommer A, Quigley HA, Javitt JC** : Hypertension, perfusion pressure, and primary open-angle glaucoma. A population-based

- assessment. *Arch Ophthalmol* 113 : 216—221, 1995.
- 83) **Quigley HA, West SK, Rodriguez J, Munoz B, Klein R, Snyder R** : The prevalence of glaucoma in a population-based study of Hispanic subjects : Proyecto VER. *Arch Ophthalmol* 119 : 1819—1826, 2001.
- 84) **Bonomi L, Marchini G, Marraffa M, Bernardi P, Morbio R, Varotto A** : Vascular risk factors for primary open angle glaucoma : the Egnaneu-market study. *Ophthalmology* 107 : 1287—1293, 2000.
- 85) **Leske MC, Wu SY, Hennis A, Honkanen R, Nemesure B, BESs Study Group** : Risk factors for incident open-angle glaucoma : the Barbados Eye Studies. *Ophthalmology* 115 : 85—93, 2008.
- 86) **Sugiyama T, Araie M, Riva CE, Schmetterer L, Orgul S** : Use of laser speckle flowgraphy in ocular blood flow research. *Acta Ophthalmol* 88 : 723—729, 2010.
- 87) **Araie M, Crowston J, Iwase A, Tomidokoro A, Leung C, Zeitz O**, et al : Clinical relevance of ocular blood flow (OBF) measurements including effects of general medications or specific glaucoma treatment. In : Weinreb R, et al (eds.) : *Ocular Blood Flow in Glaucoma*. Kulger Publications, Amsterdam, 59—128, 2009.
- 88) **Shimazawa M, Tomita G, Taniguchi T, Sasaoka M, Hara H, Kitazawa Y**, et al : Morphometric evaluation of changes with time in optic disc structure and thickness of retinal nerve fibre layer in chronic ocular hypertensive monkeys. *Exp Eye Res* 82 : 427—440, 2006.
- 89) **Sasaoka M, Hara H, Nakamura K** : Comparison between monkey and human visual fields using a personal computer system. *Behav Brain Res* 161 : 18—30, 2005.
- 90) **Tamaki Y, Araie M, Kawamoto E, Fujii H** : Non-contact, two-dimensional measurement of retinal microcirculation using laser speckle phenomenon. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 35 : 3825—3834, 1994.
- 91) **Tamaki Y, Araie M, Kawamoto E, Eguchi S, Fujii H** : Non-contact two-dimensional measurement of tissue circulation in choroid and optic nerve head using laser speckle phenomenon. *Exp Eye Res* 60 : 373—384, 1995.
- 92) **Takayama J, Tomidokoro A, Ishii K, Tamaki Y, Fukaya Y, Hosokawa T**, et al : Time-course of the change in optic nerve head circulation after an acute increase in intraocular pressure. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 44 : 3977—3985, 2003.
- 93) **Tamaki Y, Araie M, Fukaya Y, Nagahara M, Imamura A, Honda M**, et al : Effects of lomerizine, a calcium channel antagonist, on retinal and optic nerve head circulation in rabbits and humans. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 44 : 4864—4871, 2003.
- 94) **Tomita K, Araie M, Tamaki Y, Nagahara M, Sugiyama T** : Effects of nilvadipine, a calcium antagonist, on rabbit ocular circulation and optic nerve head circulation in NTG subjects. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 40 : 1144—1151, 1999.
- 95) **Ishii K, Tomidokoro A, Nagahara M, Tamaki Y, Kanno M, Fukaya Y**, et al : Effects of topical latanoprost on optic nerve head circulation in rabbits, monkeys and humans. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 42 : 2957—2963, 2001.
- 96) **Takayama J, Mayama C, Mishima A, Nagahara M, Tomidokoro A, Araie M** : Topical phenylephrine decreases blood velocity in the optic nerve head and increases resistive index in the retinal arteries. *Eye* 23 : 827—834, 2009.
- 97) **Mayama C, Ishii K, Saeki T, Ota T, Tomidokoro A, Araie M** : Effects of topical phenylephrine and tafluprost on optic nerve head circulation in monkeys with unilateral experimental glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 51 : 4117—4124, 2010.
- 98) **Sasaoka M, Nakamura K, Shimazawa M, Ito Y, Araie M, Hara H** : Changes in visual fields and lateral geniculate nucleus in monkey laser-induced high intraocular pressure model. *Exp Eye Res* 86 : 770—782, 2008.
- 99) **Iriki A, Sakura O** : The neuroscience of primate intellectual evolution : natural selection and passive and intentional niche construction. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 363 : 2229—2241, 2008.
- 100) **Sato M, Henson MM, Smith DW** : Synaptic specializations associated with the outer hair cells of the Japanese macaque. *Hear Res* 108 : 46—54, 1997.
- 101) **Quigley HA, Sanchez RM, Dunkelberger GR, L'Hernault NL, Baginski TA** : Chronic glaucoma selectively damages large optic nerve fibers. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 28 : 913—920, 1987.
- 102) **Glovinsky Y, Quigley HA, Dunkelberger GR** : Retinal ganglion cell loss is size dependent in experimental glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 32 : 484—491, 1991.
- 103) **Chaturvedi N, Hedley-Whyte ET, Dreyer EB** : Lateral geniculate nucleus in glaucoma. *Am J Ophthalmol* 116 : 182—188, 1993.
- 104) **Vickers JC, Hof PR, Schumer RA, Wang RF, Podos SM, Morrison JH** : Magnocellular and parvocellular visual pathways are both affected in a macaque monkey model of glaucoma. *Aust N Z J Ophthalmol* 25 : 239—243, 1997.
- 105) **Morgan JE, Uchida H, Caprioli J** : Retinal ganglion cell death in experimental glaucoma. *Br J Ophthalmol* 84 : 303—310, 2000.
- 106) **Yücel YH, Zhang Q, Gupta N, Kaufman PL, Weinreb RN** : Loss of neurons in magnocellular and parvocellular layers of the lateral geniculate nucleus in glaucoma. *Arch Ophthalmol* 118 : 378—

- 384, 2000.
- 107) **Yücel YH, Zhang Q, Weinreb RN, Kaufman PL, Gupta N** : Atrophy of relay neurons in mango-and parvocellular layers in the lateral beniculate nucleus in experimental glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 42 : 3216—3222, 2001.
 - 108) **Cagnin A, Brooks DJ, Kennedy AM, Gunn RN, Myers R, Turkheimer FE, et al** : *In-vivo* measurement of activated microglia in dementia. *Lancet* 358 : 461—467, 2001.
 - 109) **Matsumura A, Mizokawa S, Tanaka M, Wada Y, Nozaki S, Nakamura F, et al** : Assessment of microPET performance in analyzing the rat brain under different types of anesthesia : comparison between quantitative data obtained with microPET and *ex vivo* autoradiography. *Neuroimage* 20 : 2040—2050, 2003.
 - 110) **Hosoi R, Matsumura A, Mizokawa S, Tanaka M, Nakamura F, Kobayashi K, et al** : MicroPET detection of enhanced F-FDG utilization by PKA inhibitorin awake rat brain. *Brain Res* 1039 : 199—202, 2005.
 - 111) **Imamura K, Onoe H, Shimazawa M, Nozaki S, Wada Y, Kato K, et al** : Molecular imaging reveals unique degenerative changes in experimental glaucoma. *Neuroreport* 20 : 139—144, 2009.
 - 112) **Kitazawa Y, Shirai H, Go FJ** : The effect of Ca^{2+} -antagonist on visual field in low-tension glaucoma. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 227 : 408—412, 1989.
 - 113) **Sawada A, Kitazawa Y, Yamamoto T, Okabe I, Ichien K** : Prevention of visual field defect progression with brovincamine in eyes with normal-tension glaucoma. *Ophthalmology* 103 : 283—288, 1996.
 - 114) **Netland PA, Chaturvedi N, Dreyer EB** : Calcium channel blockers in the management of low-tension and open-angle glaucoma. *Am J Ophthalmol* 115 : 608—613, 1993.
 - 115) **Bose S, Piltz JR, Breton ME** : Nimodipine, a centrally active calcium antagonist, exerts a beneficial effect on contrast sensitivity in patients with normal-tension glaucoma and control subjects. *Ophthalmology* 102 : 1236—1241, 1995.
 - 116) **Koseki N, Araie M, Yamagami J, Shirato S, Yamamoto S** : Effects of oral brovincamine on visual field damage in patients with normal-tension glaucoma with low-normal intraocular pressure. *J Glaucoma* 8 : 117—123, 1999.
 - 117) **Shimazawa M, Sugiyama T, Azuma I, Araie M, Iwakura Y, Watari M, et al** : Effect of lomerizine, a new Ca^{2+} channel blocker, on the microcirculation in the optic nerve head in conscious rabbits : a study using a laser speckle technique. *Exp Eye Res* 69 : 185—193, 1999.
 - 118) **Sugawara H, Tobise K, Kikuchi K** : Antioxidant effects of calcium antagonists on rat myocardial membrane lipid peroxidation. *Hypertens Res* 19 : 223—228, 1996.
 - 119) **Otori Y, Kusaka S, Kawasaki A, Morimura H, Miki A, Tano Y** : Protective effect of nilvadipine against glutamate neurotoxicity in purified retinal ganglion cells. *Brain Res* 961 : 213—219, 2003.
 - 120) **Iwasaki K, Egashira N, Takagaki Y, Yoshimitsu Y, Hatip-Al Khatib I, Mishima K, et al** : Nilvadipine prevents the impairment of spatial memory induced by cerebral ischemia combined with β -amyloid in rats. *Biol Pharm Bull* 30 : 698—701, 2007.
 - 121) **Paris D, Quadros A, Humphrey J, Patel N, Crescentini R, Crawford F, et al** : Nilvadipine antagonizes both Abeta vasoactivity in isolated arteries, and the reduced cerebral blood flow in APPsw transgenic mice. *Brain Res* 999 : 53—61, 2004.
 - 122) **Hanyu H, Hirao K, Shimizu S, Iwamoto T, Koizumi K, Abe K** : Favourable effects of nilvadipine on cognitive function and regional cerebral blood flow on SPECT in hypertensive patients with mild cognitive impairment. *Nucl Med Commun* 28 : 281—287, 2007.
 - 123) **Hanyu H, Hirao K, Shimizu S, Sato T, Kiuchi A, Iwamoto T** : Nilvadipine prevents cognitive decline in patients with mild cognitive impairment [letter]. *Intl J Geriatr Psychiatry* 22 : 1264—1266, 2007.
 - 124) **Piantadosi S** : Clinical trials : a methodologic perspective, 2nd ed. Wiley-Interscience, Hoboken, NJ, 341—342, 2005.
 - 125) **Yamamoto T, Niwa Y, Kawakami H, Kitazawa Y** : The effect of nilvadipine, a calcium-channel blocker, on the hemodynamics of retrobulbar vessels in normal-tension glaucoma. *J Glaucoma* 7 : 301—305, 1998.
 - 126) **Osborne NN, DeSantis L, Bae LH, Ugarte M, Wood JPM, Nash MS, et al** : Topically applied betaxolol attenuates NMDA-induced toxicity to ganglion cells and the effects of ischaemia to the retina. *Exp Eye Res* 69 : 331—342, 1999.
 - 127) **Osborne NN, Casson RJ, Wood JP, Chidlow G, Graham M, Melena J** : Retinal ischemia : mechanisms of damage and potential therapeutic strategies. *Prog Retin Eye Res* 23 : 91—147, 2004.
 - 128) **Araie M, Shirato S, Yamazaki Y, Kitazawa Y, Ohashi Y, the Nipradilol-Timolol Study Group Study Group** : Clinical efficacy of topical nipradilol and timolol on visual field performance in normal-tension glaucoma : a multicenter, randomized, double-masked comparative study. *Jpn J Ophthalmol* 52 : 255—264, 2008.
 - 129) **O'Brien PC** : Procedures for comparing samples with multiple endpoints. *Biometrics* 40 : 1079—1087, 1984.

Comment : 岩田 和雄

既に 150 年も前に、von Gräfe は眼圧上昇のない緑内障の存在に気付いていたが、実証できないままに 100 年後になっても市民権を得ず、偽緑内障との関係もうやむやのうちに過ぎていた。日本では昭和 13 年(1938 年)の日本眼科学会総会の特別講演で、既に新潟大学の熊谷直樹教授が、眼圧上昇がまったくない緑内障と思われる数例を挙げ、その存在は否定できないことを初めて強調している。だが明確な決め手のないままにさらに三十数年経過してしまった。やがて精密検査による経過観察が可能となり「低眼圧緑内障」の呼び名で存在が認められるようになり、さらに国際的にも市民権を得て、新たに「正常眼圧緑内障 normal tension glaucoma」, 略して NTG と呼ばれるようになった。それまでは緑内障学が未発達だったとはいえ、大半の NTG は誤診または放置され、失明あるいはそれに近い状況にさせてしまっていたわけで、深く反省すべきことである。

最近 NTG が実は途方もなく多く存在することを明らかにし、世界を仰天せしめたのは「多治見スタディ」の成果である。通常診ている緑内障患者の大半が正常眼圧とすると、眼圧上昇が視神経障害の原因とするクラシックの概念が通用しなくなり、眼圧以外に原因を求めねばならなくなる。さらに不思議なことは、眼圧上昇を来す原発開放隅角緑内障(POAG)も、眼圧を正常レベルに下げてもなお進行悪化するものが多く、POAG も NTG もその視神経障害機構は共通している可能性があり、緑内障とは何か? というあらたな、しかも本態論にかかわる大問題が立ちはだかることになった。

その後、内外の研究で、NTG といえども、30% 以上の眼圧下降で、進行が緩くなることが実証され、現在エビデンスのある NTG の唯一の治療法となっている。薬剤の開発が NTG の予後を改善したが、眼圧が十分に下降してもなお 20% 以上の例では進行を止めないし、より長期でみたら緑内障はすべて慢性進行性疾患と結論せざるを得ない状況が明らかとなり世界の共通認識となった。眼圧に非依存性の持続的な病因が根底にあるからだ。

新家 眞氏の研究はこの眼圧非依存性の問題に果敢に挑戦したものである。氏の NTG に対する基本概念は、「緑内障は眼病であり、その主座は網膜神経節細胞(RGC)にあること」であり、それによりさらに上流の外側膝状体(LGN)や視皮質にまで眼圧非依存性の変性を来すという事実をベースにして、それを実証し、治療に役立てようというものである。氏の基本概念には賛同でき難い面もあるが、仮説をたてて実証に全力を注ぐ姿勢に敬意を表したい。以下にどんなことが明らかにされたのか、簡潔にまとめてみよう。

眼圧に依存しないで自発的に進行する視野の悪化速度は約 -0.25 dB/年と推定(減圧手術後の低眼圧症例からの推定)、この値を治療薬の評価に応用したこと、*in vitro* の実験でカルシウム拮抗薬や β ブロッカーのなかには、網膜神経節細胞(RGC)の保護効果を示すものがあること、実験的 RGC 障害マウスでは LGN、中枢上丘神経細胞の障害が起こることを実証、メマンチンが保護作用を呈したこと、サルの実験緑内障でも LGN の神経細胞障害がみられ、それはさらに LGN の視野障害対応層にみられること、M と P 細胞では時間的障害パターンの異なること、それらは PET (陽電子放出断層装置)の応用で生体内で観察ができること、サル実験緑内障の乳頭循環は、緑内障に伴う自己調整能(autoregulation)を消失したものでなお血管拡張剤には反応すること、人の緑内障乳頭でも点眼薬で血管拡張しうること、NTG にカルシウム拮抗薬 3 年間内服で有意な進行遅延に成功したこと、 β ブロッカーの 3 年間点眼で NTG の進行が MD 値で年間 -0.1 dB より小さく、これは眼圧非依存性の進行 -0.25 dB/年よりはるかに小さいから、点眼薬といえども眼圧非依存障害因子の加療の可能性が期待できること、などが示された。なお、マウスで眼圧上昇による緑内障モデル作製とその正確な眼圧測定を可能にし、この方面の研究発展のための明確な基礎が与えられた。

以上の広範な研究により眼圧非依存因子が、すべてではないとしても、ある程度まで質的、量的に解明され、それは視覚中枢にも及び、あらたな NTG の進行予防ならびに治療応用の道が開かれたものといえよう。