

令和4年4月11日

## 交感神経ノルアドレナリンが線維柱帯における 食作用抑制を介して眼圧概日リズムを制御する仕組みを解明 —緑内障の時間治療への応用に期待—

緑内障は視神経が傷害され失明につながる中途失明原因第1位の疾患ですが、確実な予防や根治の方法は見つかっていません。緑内障の主な原因は眼球内圧力（眼圧）異常と考えられています。眼圧には約24時間周期で日内変動する概日リズムがあり、眼圧リズムの乱れは緑内障発症に関与すると考えられています。眼圧リズムは概日時計中枢である脳視床下部の視交叉上核（SCN）によって制御され、主に副腎グルココルチコイド（GC）および交感神経ノルアドレナリン（ノルエピネフリン：NE）を介して生み出されることが知られています。しかし、その詳細な仕組みは不明なままでした。愛知医科大学医学部生理学講座の池上啓介講師と増淵悟教授の研究グループはNEが食作用を時刻依存的に抑制することで眼圧リズムを制御する巧みな仕組みを、ヒトの細胞とマウスを用いた実験で世界に先駆けて明らかにしました。本研究により、緑内障の時間治療や新規治療薬の開発が期待されます。本研究成果は、2022年4月8日に英国科学誌『*Communications Biology*』でオンライン公開されました。

### I. 研究の背景

緑内障は、日本における中途失明原因第一位の疾患で、有病率は40歳以上で5%とされています。緑内障発症の最大のリスク因子の1つとして「眼圧」がありますが、眼圧が上昇する事により、視神経が傷害されやすくなると考えられています。既に複数の眼圧を下げる点眼薬が用いられていますが、根治が難しく新たな治療法の開発が喫緊の課題になっています。

生物の多くの生理現象は約24時間周期の概日リズムを持っています。眼圧にも約24時間の概日リズムがあり、眼圧は昼行性夜行性動物ともに夜に上昇します。そのリズムは毛様体における「眼房水」の産生流入と、線維柱帯・シュレム管からの流出のバランスによって決まり(図)、SCNが制御していると考えられています。多くの末梢組織の概日時計は、SCNからのシグナルを受け取った副腎から分泌される副腎GCまたは交感神経NEによってリセットされますが、

## PRESS RELEASE

---

最近の我々の研究で眼圧リズムは副腎 GC と上頸神経節 NE の両因子により形成されることが分かりました。しかし、その詳しい分子制御機構は分かっていませんでした。

様々ある緑内障治療薬の内、眼房水排出責任部位である線維柱帯をターゲットにしたものは少なくメカニズムもはっきりしていません。また、眼圧制御では線維柱帯における眼房水排出抵抗の制御が鍵になり、細胞骨格再構成や線維化および眼房水中のごみの食作用などの制御機構が関与していることが知られていました。しかし、これらの機構や眼房水排出の日内変動は不明でした。そこで、今回我々は、まずどの機構が眼圧リズムに関与するかを検証し、時間シグナルである GC と NE による影響およびその分子制御機構を細胞およびマウスを用いて検証しました。

### II. 研究内容

池上博士は、まず薬理的にマウスの眼房水産生を抑制しましたが、眼圧リズムは完全に消失しませんでした。このことから眼房水排出も眼圧リズム形成に関与していることが示唆できたため、次にビーズのマウス眼球内投与により排出能を抑制することで、眼房水排出の概日リズム形成における関与を検証しました。昼と夜で眼圧を測定したところ、昼の眼圧のみが上昇していました。蛍光粒子の眼球内投与により眼房水排出能の日内変動も確認したところ、明期で亢進していました。これらから、眼房水排出能は明期で高く眼圧の昼間の低下に関与していることが判明しました。

次に、眼房水排出抵抗に関わる線維柱帯の細胞骨格の再構成と食作用が、昼間の眼圧低下に寄与しているかを検証しました。食作用阻害剤や食作用促進剤、アクチン重合阻害剤などをマウスに点眼し昼夜における眼圧変動への影響を解析したところ、アクチン重合阻害は時刻依存性なく眼圧を低下させ、食作用阻害剤は昼間のみ眼圧を上昇させることが判明し、眼圧の昼間の低下に食作用能の亢進による眼房水排出抵抗の低下が寄与していることが分かりました。

そこで、GC と NE による線維柱帯食作用へ経時的な影響を、pH 感受性粒子を用いて不死化ヒト初代培養線維柱帯細胞で検証しました。食作用で取り込まれた粒子の蛍光シグナルをリアルタイムモニタリング解析したところ、食作用に概日リズムは見られませんでした。NE のみ一過的に食作用を抑制することを明らかにしました。また、薬理学的手法および RNA 干渉を用いた逆遺伝学的手法により食作用抑制を示すアドレナリン受容体 (AR) の種類を同定したところ、主に  $\beta$  1-AR が重要であることが判明しました。 $\beta$  1-AR は Gs 結合型の G タンパク質

---

## PRESS RELEASE

---

共役受容体なので、同様の手法でシグナル伝達経路を解析したところ、cAMP-PKA および-EPAC 経路が活性化されることを発見することができました。

ホスファチジルイノシトール三リン酸 (PIP3) は AKT や ERK1/2 のリン酸化を介して食作用を促すトリガーであり、実際、不死化ヒト初代培養線維柱帯細胞でも PIP3 阻害剤で食作用が抑制されました。また、SHIP1 や PTEN 酵素は PIP3 を分解し、減少させます。そこで、次に我々は cAMP-PKA および-EPAC 経路が、線維柱帯細胞中の PIP3 濃度や分解酵素に与える影響を解析したところ、EPAC 経路が分解酵素 SHIP1 をリン酸化して PIP3 を低下させることが示唆されました。さらに  $\beta$  1-AR 誘導性の食作用抑制が SHIP1 阻害剤で濃度依存的に回復しました。NE が免疫細胞の食作用を抑制することは減少として知られていましたが、その仕組みは長年不明であったため、我々の研究で  $\beta$  1-AR-EPAC-SHIP1 経路により PIP3 が減少し、食作用能が低下する仕組みを世界に先駆けて明らかにすることに成功しました。

さらにこの経路の重要性をマウス点眼実験で眼圧変動を検証したところ、 $\beta$  1-AR 刺激で昼間の眼圧が上昇し、それは  $\beta$  1-AR-EPAC-SHIP1 経路および食作用抑制を介していることを明らかにすることができました。さらに、夜間の眼圧上昇にもこの経路が寄与することが判明しました。眼房水排出抑制による眼圧概日リズムの制御機構を初めて明らかにしました。

これらの研究成果から、夜間に上昇した上頸神経節由来の NE が、昼間 PIP3 によって上昇していた食作用能を  $\beta$  1-AR-EPAC-SHIP1 経路を介して抑制し、眼房水排出を抑制することで夜間眼圧上昇を生み出す仕組みが示唆されました (図)。

### Ⅲ. 今後の展開

今回の研究成果から、NE による眼房水排出機構への時刻依存的制御が明らかになりましたが、GC の関与や細胞骨格への時刻依存的影響および眼房水産生機構の概日制御機構は不明のままなど、眼圧リズムを生み出すメカニズムを完全には解明できていません。今後は、眼圧リズムの制御機構の全容解明を目指します。また、本研究は NE が食作用を抑制する仕組みを世界で初めて明らかにした研究であり、時間生物学や眼科学以外だけでなく免疫学や感染症学に大きなインパクトを与えることが期待されます。さらに、本研究で確立したアッセイ系や明らかになったシグナル伝達経路は、緑内障の時間依存治療や新規治療薬の開発に役立つことが期待されます。

---

PRESS RELEASE

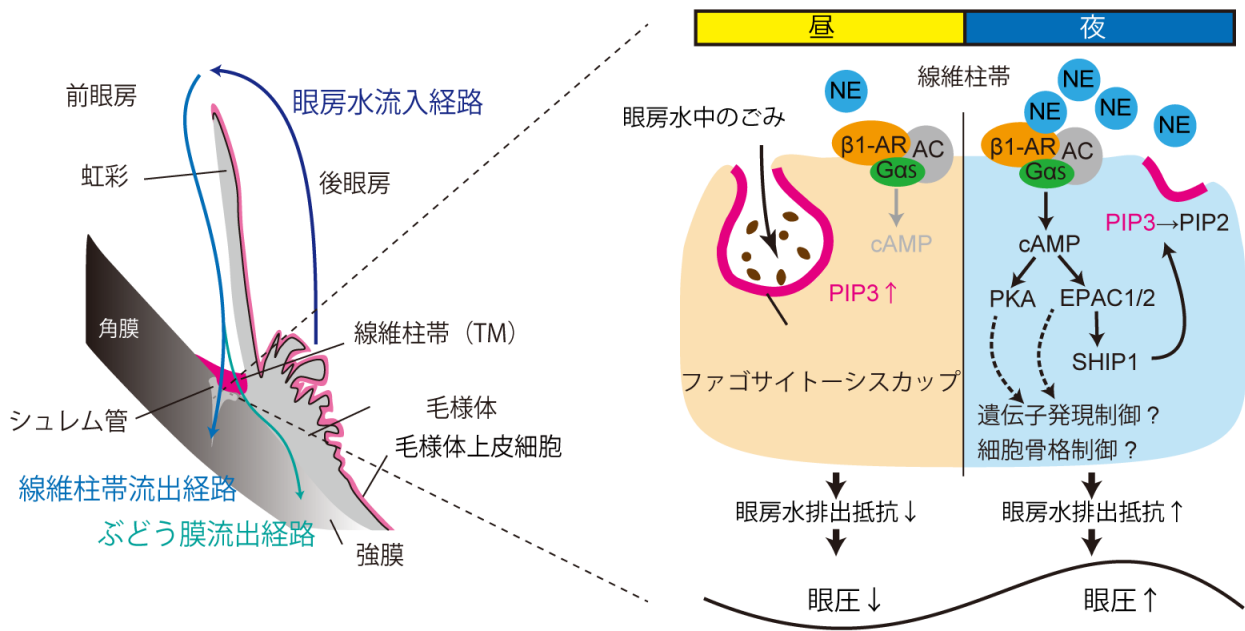


図 眼房水の流入流出経路と交感神経ノルアドレナリン (NE) による食作用抑制を介した眼圧リズムの時刻依存的分子制御機構。夜間の  $\beta$  1-AR-EPAC-SHIP1 経路の活性化が PIP3 を減少させ、食作用能が低下。

本研究は、日本学術振興会科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金；19K09962）、公益信託第 24 回日本医学会総会記念医学振興基金、公益財団法人テルモ生命科学研究振興財団、公益財団法人 武田科学振興財団、公益財団法人 鈴木謙三記念医科学応用研究財団、公益財団法人 加藤記念バイオサイエンス振興財団、公益財団法人 宇部興産学術振興財団、公益財団法人 豊秋奨励会の支援を受けました。

IV. 研究成果の公表

本研究成果は、令和 4 年 4 月 8 日（英国時間 10:00）、Communications Biology 誌オンライン版として掲載されました。

論文題名：

Suppression of trabecular meshwork phagocytosis by norepinephrine is associated with nocturnal increase in intraocular pressure in mice  
 (交感神経ノルアドレナリンによる線維柱帯食作用の抑制はマウスの夜間眼圧上昇に関与する)

DOI : 10.1038/s42003-022-03295-y

池上啓介 (Keisuke Ikegami) <sup>1\*</sup>, 増淵悟 (Satoru Masubuchi) <sup>1</sup>

<sup>1</sup> 愛知医科大学 医学部生理学講座

\*責任著者

## PRESS RELEASE

---

### 【本研究成果のポイント】

- 眼房水排出は昼間上昇して眼圧低下に役立ちます。
- 線維柱帯の食作用が眼房水排出の時刻依存性を生み出します。
- ノルアドレナリンが $\beta 1$  アドレナリン受容体を介して食作用を抑制します。
- $\beta 1$  アドレナリン受容体-EPAC-SHIP1 経路が PIP3 の減少を促し、食作用を抑制する仕組みを世界に先駆けて発見しました。
- この経路を介した食作用抑制はマウスの夜間眼圧上昇に寄与します。

### 本件に関するお問い合わせ先（研究内容）

愛知医科大学医学部 生理学講座（旧生理学第 1）

講師・池上啓介

TEL：0561-62-3311（内線 12259）

FAX：0561-63-1289

e-mail: ikegami.keisuke.910@mail.aichi-med-u.ac.jp

### （報道に関すること）

愛知医科大学 庶務課

Tel: 0561-61-5396, Fax: 0561-62-6690

e-mail: syomu@aichi-med-u.ac.jp

---