

## 論文内容の要旨

申請者氏名 柴垣 圭一

加齢黄斑変性(AMD; Age-related macular degeneration)は、先進諸国の高齢者に後天的視機能障害を引き起こす主要な眼疾患であり、平均寿命の伸びに伴い、その有病率は増えつつある。AMDには、萎縮型(dry type)と滲出型(wet type)の2つの病型が存在する。dry AMDでは、網膜を構成する網膜色素上皮細胞や視細胞の細胞死が本疾患の本質であり、これにより地図状萎縮(GA; Geographic atrophy)と呼ばれる特徴的な眼底所見を呈する。一方、wet AMDでは、脈絡膜から生じる新生血管(CNV; choroidal neovascularization)により網膜組織障害が引き起こされる。

本研究では、申請者は既存のドーパミン受容体作動薬である Pramipexole に着目し、dry AMD 動物モデルである網膜光障害モデルマウス、ならびに wet AMD 動物モデルであるレーザー誘発 CNV モデルラットを用い、本剤の両 type AMD に対する新規治療薬としての応用可能性検討を行った。

検討の結果、Pramipexole は網膜光障害モデルマウスの網膜機能障害を顕著に抑制することが、網膜電図(ERG; Electroretinogram)測定により明らかとなった。またこの時、視細胞内節/外節の損傷や、視細胞のアポトーシスを、Pramipexole が有意に減少させることも確認された。さらに、Pramipexole はレーザー誘発 CNV モデルラットに対し、CNV 形成抑制作用を発揮することも明らかとなった。

次に、申請者はこれら動物モデルでの病態形成、およびヒトでの AMD 発症原因の一つと考えられている「酸化ストレス」に着目し、Pramipexole の抗酸化作用評価を実施した。その結果、Pramipexole は  $H_2O_2$  処置に伴うヒト網膜色素上皮細胞株(ARPE-19)の細胞死への誘導、アポトーシスシグナルの伝達、ならびに活性酸素種(ROS: Reactive oxygen species)の細胞内蓄積を抑制することが確認された。さらに、Pramipexole は catalase や glutathione peroxidase といった  $H_2O_2$  消去酵素の活性には影響を与えない一方で、 $H_2O_2$  からフェントン反応により生じる、最も組織障害性の高い ROS; ヒドロキシラジカルに対し、直接的な除去機能を有することが確認された。

なお、Pramipexole と同様、ドーパミン受容体作動薬である Bromocriptine についても、網膜光障害モデルマウス、レーザー誘発 CNV モデルラット、ならびに  $H_2O_2$  誘発 ARPE-19 細胞死に対する効果を検討したが、何ら保護効果は認められなかった。

以上の結果より、Pramipexole が示した顕著な網膜保護効果は、本剤が有する抗酸化作用に基づくものである可能性が考えられ、これら検討結果は、Pramipexole が新規 AMD 治療薬となり得る可能性を示すものであると考えられた。

## 論文審査結果の要旨

申請者氏名 柴垣 圭一

近年、加齢黄斑変性(AMD; Age-related macular degeneration)は先進国において増加の一途をたどり、我が国においても視覚障害原因疾患の第4位に位置するまでになった。AMDには、網膜色素上皮細胞や視細胞の細胞死を特徴とする dry 型と、脈絡膜から派生した新生血管(CNV; Choroidal neovascularization)を伴う wet 型、2つの病型が存在する。現在のところ、wet AMD に対してはその治療薬として抗血管内皮増殖因子薬(抗 VEGF 薬; Anti-Vascular endothelial growth factor drug)が承認され、広く使用されている。一方で、dry AMD に対しては承認を受けた治療薬は存在しない。また、wet AMD 治療に使用される抗 VEGF 薬には、ある一定の割合で低反応例が存在することや、その薬剤自身が非常に高価であるといった課題も存在する。こういった背景より、dry AMD はもとより wet AMD に対しても新たな治療選択肢の提供は医療上の重要課題である。

そこで申請者は、すでにパーキンソン病治療薬として承認されているドーパミン受容体作動薬 : Pramipexole が中枢神経保護作用を発揮することに着目し、これの AMD 治療薬としての応用可能性について検討を行った。まず申請者は、Pramipexole が dry AMD 動物モデルである網膜光障害モデルマウスに対し、顕著な網膜保護作用を示すことを、電気生理学的ならびに病理組織学的検討により見出した。次に、wet AMD 動物モデルであるレーザー誘発 CNV モデルラットを用い、Pramipexole が CNV 発生抑制作用を有することも明らかにした。また Pramipexole は、ヒト網膜色素上皮細胞株 (ARPE-19)への  $H_2O_2$  処置に伴う細胞死、アポトーシス実行因子:Caspase-3/7 の活性化、ならびに活性酸素種(ROS: Reactive oxygen species)の細胞内蓄積を抑制することも明らかになった。さらに、Pramipexole は、ROS の中で最も反応性が高く、酸化力の強いヒドロキシラジカルに対する直接的除去能を有することも、申請者は明らかにした。

一方、Pramipexole と同じく、パーキンソン病治療薬として広く使用されているドーパミン受容体作動薬 : Bromocriptine についても、申請者は同様に評価したが、網膜光障害モデルマウス、レーザー誘発 CNV モデルラット、および  $H_2O_2$  誘発 ARPE-19 細胞死に対し、Bromocriptine はなんら保護効果を示さなかった。これらのことより、本論文で明らかにされた Pramipexole の網膜保護効果は、ドーパミン受容体を介したのではなく、抗酸化作用に基づくものである可能性が考えられた。

以上のように、本論文はすでに各国で承認されており、ヒトでの使用実績もある Pramipexole が、dry 型ならびに wet 型双方の AMD に対して有効である可能性を新たに見出した点で、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士(バイオサイエンス)の学位論文として価値あるものと認めた。