

ライフサイエンスイノベーションセンター
「平成28年度重点プロジェクト研究費助成」

エピジェネティックな発現制御による 糖尿病白内障予防薬の開発

研究代表者： 沖 昌也（工学系部門・准教授）
共同研究者： 稲谷 大（医学系部門・教授）、高村 佳弘（医学系部門・准教授）、
三宅 誠司（医学系部門・助教）、水谷 哲也（医学系部門・准教授）

概 要	
	糖尿病眼合併症の中でも頻度が高いのが白内障である。しかし、病態のメカニズムは解明されておらず、有効な治療としては外科的手術が行われるのみである。本研究では、「エピジェネティックな発現制御機構」という新たな視点からアプローチすることにより、発症のメカニズムの分子レベルでの解明を目指した。解析にはラットを用い、餌にガラクトースを混ぜることにより、約2週間で糖尿病白内障を発症することが知られている。ガラクトースの餌を与え、1週間後、2週間後、3週間後、4週間後、6週間後のラット水晶体から RNA を抽出し、マイクロアレイ解析を行い、発現量の変動する遺伝子を同定した。また、阻害剤の解析を行うためのシャーレ上で白内障を引き起こすシステムを確立した。
関連キーワード	エピジェネティクス、白内障、糖尿病

研究の背景および目的

糖尿病患者数は推定 700 万人以上と言われ、今後もその数は増加することが予想される。糖尿病眼合併症の中でも頻度が高いのが白内障である。糖尿病白内障は比較的若年から発症し、糖尿病網膜症の治療として光凝固を施行する際にも支障をきたす。特に糖尿病白内障に特徴的であるとされる後囊下混濁は、比較的短期間に進行し、著しい視力低下をもたらす点で臨床的に問題である。しかし病態のメカニズムは解明されておらず、有効な治療としては外科的手術が行われるのみである。本研究では、「エピジェネティックな発現制御機構」という新たな視点からアプローチすることにより、発症のメカニズムを分子レベルで解明する。

近年、DNA の変異ではなく、DNA 配列に依存しない「エピジェネティックな発現状態変化」が様々な疾患に関わることが報告されている。しかし、眼科領域の研究では、未だ「エピジェネティックな発現制御機構」という視点からの研究報告がほとんどないのが現状である。糖尿病患者の全てが白内障になるわけではないこと、左右の眼で白内障の症状に違いが見られること、発症年齢に違いが見られることなど、これらの事実を総合して考えるとエピジェネティックな発現制御が発症に関

わっていることが予測できる。既に、エピジェネティクスの研究分野で実績を積んでいる「沖・水谷」と臨床の立場から実績を積んでいるグループが共同で研究を進めることにより本研究の飛躍的な発展が期待できる。また、「沖」は既に酵母全遺伝子を用いたスクリーニングにより、エピジェネティックな発現制御を行う遺伝子を分離しており、ほとんどの遺伝子がヒトをはじめとする他の生物種に保存されていることから、酵母研究で得られた知見を直ぐに本研究に反映出来、効率良く研究を進めることが出来ることも特色の1つである。

糖尿病白内障の発生・進行に不良な血糖コントロールが有意な促進因子として関与していることは確かであるが、血糖管理が同程度であっても、個々の症例において、糖尿病白内障の病型や混濁の程度にバリエーションがあることも事実であり、その背景としてエピジェネティックな要素が関係していることが想定される。エピジェネティックな制御を受けていることを明らかにすることにより、その制御を阻害する薬剤等を用い発現状態をコントロールし、将来的には患者負担の少ない点眼を中心とした薬物治療を目指す。

研究の内容および成果

(1) ラットを用いた原因候補遺伝子の同定：
ラットは餌にガラクトースを混ぜることにより、約2週間で糖尿病白内障を発症することが知られ

ている。患者のサンプルは貴重であり、様々な解析を行うための十分な量を集めることは困難であるため、最初にラットの解析により原因候補遺伝

子を同定した。ガラクトースの餌を与え、1週間後、2週間後、3週間後、4週間後、6週間後のラット水晶体から RNA を抽出し、マイクロアレイ解析を行い、発現量の変動する遺伝子を同定した。その結果、エピジェネティックな発現制御に関わる遺伝子、シグナル伝達に関わる遺伝子、G タンパク質に関わる遺伝子、ストレス応答に変わる遺伝子、核-細胞質間物質輸送に関わる遺伝子、細胞接着に関わる遺伝子等の発現量にも変化が見られ機能別に 10 個のカテゴリーに分類した。更に、変動した遺伝子に関して、リアルタイム PCR を用い、定量的な解析を行うことにより、変動率を定量的に明らかにした。

(2)シャーレ培養による白内障誘導システムの確立：

阻害剤による白内障誘導の影響を確認するため、シャーレ上でレンズを培養し、白内障を誘導するシステムの確立を目指した。その結果、30mM のガラクトースを加え、シャーレ上で培養することにより、2日目から徐々に白内障が引き起こされることが明らかとなった(図1)。また、現在、白内障の進行状況をより定量的に解析するためレンズ切片を作製し、細胞染色を行うことにより、正確に白内障の進行状況を定量するシステムの確立を行っている。

(3)シャーレ培養による白内障誘導システムを用いた阻害剤の解析：

シャーレ培養による白内障誘導システムが確立出来たため、候補となる阻害剤を培養液中に加え白内障の進行が抑制できるか解析を行った。



図1：シャーレ培養における白内障の誘導
(左図) コントロール：培養0日のレンズ (右図) 培養6日の白内障を引き起こしたレンズ

本助成による主な発表論文等、特記事項および競争的資金・研究助成への申請・獲得状況

「主な発表論文等」

1. Aihara, H., Nakagawa, T., Muzusaki, H., Yoneda, M., Kato, M.,**Oki, M.**, et al., (2016) *Mol Cell.* 64(1), 176-188.
2. Kamata, K., Shinmyozu, K., Nakayama, JI., Hatashita, M., Uchida, H., **Oki, M***(2016) *Genes Cells.* 21(10), 1125-1136.
3. Mitsumori, R., Ohashi, T., Kugo, K., Ichino, A., Taniguchi, K., Ohta, K., Uchida, H., **Oki, M***(2016) *J. Biochem.* 160(1), 11-17.
4. Mitsumori, R., Shinmyozu, K., Nakayama, J., Uchida, H., **Oki, M***(2016) *Genes Genet. Syst.* 91(3), 151-159.
5. Kawabe, S., **Mizutani, T***, Ishikane, S., Martinez, M. E., Kiyono, Y., Miura, K., Hosoda, H., Imamichi, Y., Kangawa, K., Miyamoto, K., Yoshida, Y.. (2015) *Cancer Lett.* 366, 182-190.
6. **Mizutani, T***, Kawabe, S., Ishikane, S., Imamichi Y., Umezawa, A., Miyamoto, K. (2015) *Mol. Cell. Endocrinol.* 408, 133-137.
7. **Mizutani, T***, Ishikane, S., Kawabe, S., Umezawa, A., Miyamoto, K. (2015) *Endocr.J.* 62, 757-763.

「特記事項」

(特許出願)
発明の名称：白内障の予防剤、治療剤、およびこれらを製造するための HAT 阻害剤の使用
発明者：沖昌也、金田文人、高村佳弘、三宅誠司、内田博之
特許出願日：2016年10月24日
出願番号：2016-208121
(国際学会招待講演)

1. **Oki, M.**, 8th International Symposium on Nanomedicine, December 4, 2014.
2. **Mizutani, T.**, Miyamoto, K. ADRENAL 2014 The XVth Conference on the Adrenal Cortex. June 17-20, 2014.

「競争的資金・研究助成への申請・獲得状況」

1. 参天製薬研究助成金 (採択)
代表：高村佳弘、分担：沖昌也
「糖尿病白内障のエピジェネティックな発現制御機構の解明と創薬」
2. ノバルティス科学振興財団
研究奨励金 (採択) 代表：沖昌也
「DNA 損傷時にエピジェネティックに発現誘導される *DDI2/3* の発現機構の解明」