

エピジェネティックな発現制御変化による糖尿病眼疾患の解析

研究代表者： 沖 昌也（工学系部門・教授）

共同研究者： 高村 佳弘（医学系部門・准教授）、稲谷 大（医学系部門・教授）、
松村 健大（医学系部門・助教）、三宅 誠司（医学系部門・助教）

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。白内障の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、糖尿病、白内障、角膜症、緑内障

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。糖尿病に代表される生活習慣病は DNA 配列非依存の「エピジェネティックな発現制御機構の変化」が原因の一つであることが近年明らかにされた。本研究チームは、「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眼科領域の疾患に注目した。昨年度までの研究により糖尿病合併症の中でも頻度の高い白内障において、エピジェネティックな発現状態を変化させる阻害剤を用い、白内障の進行阻害及び治療効果のある阻害剤を見出すことに成功した。この結果は、他の糖尿病の合併症として知られている眼疾患においてもエピジェネティックな発現制御の変化に関与する可能性を示唆した。そこで、本プロジェクトでは、糖尿病の合併症として知られているその他の眼疾患においても、エピジェネティックな発現制御との関与を明らかにし、分子レベルでのメ

カニズム解明を行うと同時に「点眼」による治療薬の開発を目指す。

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」と臨床の立場から実績を積んでいる「稲谷・高村・松村・三宅」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、昨年度までの研究成果により、候補となる阻害剤は既に分離しており、解析のノウハウも獲得しているためスクリーニングや様々な解析が短期間で行えることも特色の1つである。

今後、高齢化社会を迎える日本にとって、糖尿病との合併症による眼疾患は深刻な問題になることが予測できる。本プロジェクトにより、様々な眼疾患がエピジェネティックな発現制御を受けていることを明らかにし、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することにより、患者負担の少ない点眼を中心とした薬物治療を可能とする創薬を目指す。

研究の内容および成果

(1)白内障研究（沖、高村、三宅）：昨年度までの研究により、ラットから眼球を摘出し、シャーレ上でガラクトース含有培地を用いて培養し白内障を誘導するシステムを確立した。このシステムを用い、阻害剤の網羅的スクリーニングを行った結果、エピジェネティックな発現を制御することが知られている阻害剤 19 種類が有意に白内障の進行を抑制することを見出した。更にそのうち 10 種類

に関しては、白内障を治療する効果が見られた。次に、阻害剤有無の条件下でマイクロアレイ解析を行い、原因遺伝子を同定し、分子レベルでの発症メカニズムの解明を目指した。また、点眼実験により阻害剤の効果を検討した。

(2)角膜症研究（沖、松村、三宅）：糖尿病で角膜症になると回復が遅いことが知られている。糖尿病になったラットの角膜に傷を付け、阻害剤を点

眼し、回復速度、回復状況に違いがあるか検討した。その結果、ヒストンの脱アセチル化阻害剤で、回復の促進効果が見られた (図1参照)。

(3)網膜症研究 (沖、高村、三宅) : 糖尿病になったラットに阻害剤を点眼し、網膜症の進行に影響を及ぼすか解析するシステムの確立を検討した。

(4)緑内障研究 (沖、稲谷、三宅) : 糖尿病になったラットに阻害剤を点眼し、緑内障の進行に影響を及ぼすか解析するシステムの確立を検討した。

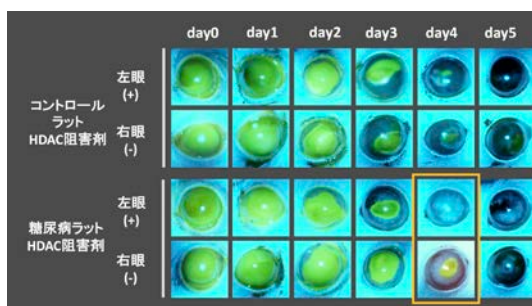


図1 : 角膜症における HDAC 阻害剤の効果の検討

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. Yokota S, Takihara Y, **Takamura Y, Inatani M**. BMC Ophthalmol. 2017, 26;17(1):57.
2. Gozawa M, **Takamura Y, Miyake S**, Iwasaki K, Arimura S, Takihara Y, **Inatani M**. Acta Ophthalmol. 2017, 19.
3. **Takamura Y**, Arimura S, **Miyake S, Matsumura T**, Gozawa M, Iwasaki K, **Inatani M**. J Ophthalmol. 2017;2017:8530261.
4. Iwasaki K, Kanamoto M, Takihara Y, Arimura S, **Takamura Y**, Kimura H, **Inatani M**. Sci Rep. 2017, 12;7(1):11345.
5. **Miyake S**, Takihara Y, Yokota S, **Takamura Y, Inatani M**. Curr Eye Res. 2017, 22:1-7.
6. Hirano T, Toriyama Y, Iesato Y, Imai A, Hirabayashi K, Nagaoka T, **Takamura Y**, Sugimoto M, Murata T. Jpn J Ophthalmol. 2017;61(1):51-60.
7. Gozawa M, **Takamura Y, Miyake S, Matsumura T**, Morioka M, Yamada Y, **Inatani M**. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2017, 1;58(13):5946-5953.
8. Yokota S, Takihara Y, **Takamura Y, Inatani M**. BMC Ophthalmol. 2017, 26;17(1):57.
9. Gozawa M, **Takamura Y, Miyake S**, Iwasaki K, Arimura S, Takihara Y, **Inatani M**. Acta Ophthalmol. 2017, 19.
10. **Takamura Y**, Arimura S, Miyake S, **Matsumura T**, Gozawa M, Iwasaki K, **Inatani M**. J Ophthalmol. 2017;2017:8530261.
11. Iwasaki K, Kanamoto M, Takihara Y, Arimura S, **Takamura Y**, Kimura H, **Inatani M**. Sci Rep. 2017, 12;7(1):11345.
12. **Miyake S**, Takihara Y, Yokota S, **Takamura Y, Inatani M**. Curr Eye Res. 2017, 22:1-7.
13. Hirano T, Toriyama Y, Iesato Y, Imai A, Hirabayashi K, Nagaoka T, **Takamura Y**, Sugimoto M, Murata T. Jpn J Ophthalmol. 2017;61(1):51-60.
14. Gozawa M, **Takamura Y, Miyake S, Matsumura T**, Morioka M, Yamada Y, **Inatani M**. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2017, 1;58(13):5946-5953.
15. Okamoto Y, Morikawa S, Okamoto F, Mitamura Y, Ishikawa H, Ueda T, Sakamoto T, Sugitani K, Sawada O, Mori J, **Takamura Y**, Oshika T. Retina. 2017, 15.
16. **Takamura Y**, Shimura M, Katome T, Someya H, Sugimoto M, Hirano T, Sakamoto T, Gozawa M, Matsumura T, **Inatani M**. Br J Ophthalmol. 2018, 17.
17. Morikawa S, Okamoto F, Okamoto Y, Inomoto N, Ishikawa H, Ueda T, Sakamoto T, Hirano Y, Sawada O, Mori J, **Takamura Y**, Oshika T. Acta Ophthalmol. 2018, 27.
18. Kobayashi W, Onishi A, Tu HY, Takihara Y, Matsumura M, Tsujimoto K, **Inatani M**, Nakazawa T, Takahashi M. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2018, 1;59(2):776-787.

「特記事項」

(申請済み特許)

1. 発明者：**沖昌也**、金田文人、**高村佳弘**、**三宅誠司**、**稲谷大**、内田博之
発明の名称：白内障の予防剤および治療剤、

並びに、これらを製造するための、DNA 損傷に応答するシグナル伝達経路を阻害する阻害剤の使用

出願番号：2017-108523

2. 発明者：**沖昌也**、金田文人、**高村佳弘**、**三宅誠司**、**稲谷大**、内田博之

発明の名称：白内障の誘導方法、白内障のモデル生物、白内障の予防剤ならびに治療剤のスクリーニング方法、および、白内障誘導剤

出願番号：2017-119108

3. 発明者：**沖昌也**、金田文人、**高村佳弘**、**三宅誠司**、**稲谷大**、内田博之

発明の名称：白内障の予防剤および治療剤、ならびに、これらを製造するための、HIF 経路阻害剤の使用

出願番号：2017-181717

4. 発明者：**沖昌也**、金田文人、**高村佳弘**、**三宅誠司**、**稲谷大**、内田博之

発明の名称：白内障の予防剤および治療剤、並びに、これらを製造するための、P P A R 活性化剤の使用

出願番号：2017-254614

(共同研究)

本助成による研究成果により、創薬を目指し参天製薬と共同研究契約を締結した。

「競争的資金・研究助成への申請・獲得状況」

(採択課題のみ記載)

1. 日本医療開発機構 (AMED) (橋渡し研究支援プログラム、シーズ A)
研究代表者：沖昌也
分担者：高村佳弘
2. 文部科学省科学研究費補助金 (基盤 B)
研究代表者：稲谷大
分担者：高村佳弘、三宅誠司
3. 文部科学省科学研究費補助金 (挑戦的萌芽)
研究代表者：稲谷大
4. 文部科学省科学研究費補助金 (基盤 C)
研究代表者：高村佳弘
分担者：稲谷大、沖昌也
5. 文部科学省科学研究費補助金 (若手 B)
研究代表者：三宅誠司