

ライフサイエンスイノベーションセンター
「平成 30 年度重点プロジェクト研究および学内共同研究等研究費助成」

マウス未熟児網膜症モデルにおける エピジェネティクスによる制御機構の解明

研究代表者：後沢 誠（医学部医学科・感覚運動医学講座眼科学領域・医員）

共同研究者：沖 昌也（工学系部門・生物応用化学分野・教授）

高村 佳弘（医学部医学科・感覚運動医学講座眼科学領域・准教授）

稲谷 大（医学部医学科・感覚運動医学講座眼科学領域・教授）

三宅 誠司（医学部医学科・感覚運動医学講座眼科学領域・助教）

概 要	マウス未熟児網膜症モデルにおけるエピジェネティクスによる制御機構の解明
	糖尿病網膜症、網膜静脈閉塞症、未熟児網膜症などの網膜虚血疾患は黄斑浮腫、硝子体出血、黄斑浮腫、血管新生緑内障などの合併症を生じ、重篤な視力障害をきたす疾患である。 本研究チームは「エピジェネティックな発現制御機構」という視点からの報告がほとんどない上記疾患、特に未熟児網膜症に注目し、網膜虚血におけるエピジェネティックな発現状態変化との関連性を明らかにし、分子レベルでの発症メカニズムを解明し、網膜虚血に対する新たな治療薬の開発を目指した。
関連キーワード	エピジェネティクス、網膜、虚血、血管新生、VEGF

研究の背景および目的

未熟児網膜症や糖尿病網膜症に代表される網膜虚血性疾患は、虚血を原因とする病的な血管新生により、硝子体内出血や血管新生緑内障といった重篤な合併症を引き起こす。本疾患においてはこの血管新生を抑えることが治療方針とされており、硝子体注射による薬物療法や網膜虚血領域への光凝固術などが治療法として挙げられる。なかでも血管新生において中心的な役割を担うとされる VEGF（血管内皮細胞増殖因子）を標的とした抗 VEGF 薬が現在の治療の主軸を担っているが、高価かつ頻回投与が必要でありながら治療効果を示さないことも多いうえに副作用が多いという問題が指摘されており、抗 VEGF 薬に代わる新規治療薬の

開発が望まれている。

そういった背景に対し、我々は DNA のメチル化やヒストンタンパク質の翻訳後修飾によって制御される「エピジェネティックな遺伝子発現制御機構」に注目し、解析を行った。本疾患に関わるエピジェネティックな発現制御因子を特定することで、本来正常な血管形成にも不可欠である VEGF をタンパク質レベルで「阻害する」という既存の抗 VEGF 薬とは異なり、虚血状態の網膜における遺伝子発現の状態を正常な網膜と同じ状態へと「戻す」という発想の治療薬の開発が可能となるため、未熟児網膜症の患者に対して副作用の少ない効果的な治療法となることが期待される。

研究の内容および成果

はじめに、本疾患を再現するモデルとして我々は、高酸素暴露によって網膜の虚血を引き起こす OIR マウスモデルを採用し、条件の検討を行った。このモデルは生後 12 日目(P12)の時点で虚血

状態の子供マウスを大気中で生育することで病的な血管新生を引き起こす実験系である。血管の閉塞した生後 12 日目と、血管新生がピークを迎える生後 17 日目(P17)の網膜を図 1 に示した。

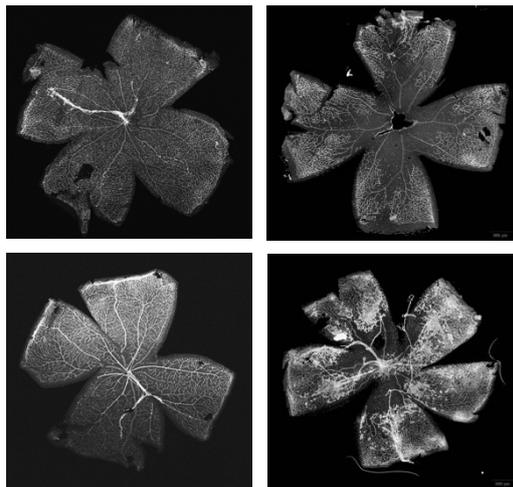


図1 網膜血管の観察結果
(上: P12 下: P17、左: 正常群 右: 虚血群)

続いて、既存の血管の消退による虚血、血管新生のピーク、正常な状態へ回復した後に注目し、網膜血管の変化に合わせた *Vegfa* の転写量を定量した結果を図2に示した。

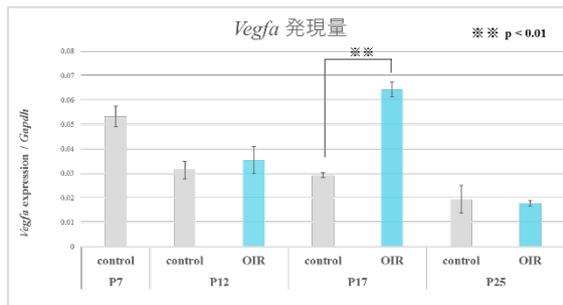


図2 *Vegfa* 発現量の定量結果

この結果から、虚血群において VEGF は血管新生が起きている生後 17 日目でのみ発現量が増加することが示されたため、次に血管新生の発生に関わる遺伝子を網羅的に解析することを目的としてマイクロアレイを行った。

生後 17 日目の正常群と虚血群を比較し、有意な発現量の変動が見られた 1,321 個のプロープの中から、DNA のメチル化およびヒストン修飾に関与するものについて抽出した結果、エピジェネティックな発現制御に関わるいくつかの遺伝子について本疾患への関係性を見出した。

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

「主な業績等」

1. Randomised Clinical Trial for Postoperative Complications after Ex-PRESS Implantation versus Trabeculectomy with 2-Year Follow-Up. Arimura S, Miyake S, Iwasaki K, Gozawa M, Matsumura T, Takamura Y, Inatani M. Sci Rep. 2018 Nov 1;8(1):16168.
2. Posterior subtenon infusion of triamcinolone acetonide as adjunctive treatment to panretinal photocoagulation using pattern scan laser for diabetic retinopathy. Yamada Y, Takamura Y, Matsumura T, Morioka M, Gozawa M, Inatani M. Jpn J Ophthalmol. 2018 Nov;62(6):686-692.
3. Flare levels after intravitreal injection of ranibizumab, aflibercept, or triamcinolone acetonide for diabetic macular edema. Morioka M, Takamura Y, Yamada Y, Matsumura T, Gozawa M, Inatani M. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2018 Dec;256(12):2301-2307.
4. Effect of 0.05% Difluprednate Ophthalmic Emulsion on Proinflammatory Cytokine Levels After Retinal Laser Photocoagulation in Rabbits. Kakimoto H, Takamura Y, Arimura S, Miyake S, Matsumura T, Gozawa M, Iwasaki K, Morioka M, Yamada Y, Inatani M. J Ocul Pharmacol Ther. 2018 Jun;34(5):410-415.
5. Direct Photocoagulation Guided by Merged Retinal Images for the Treatment of Focal Diabetic Macular Edema.

- Takamura Y, Matsumura T, Arimura S, Gozawa M, Morioka M, Yutaka Yamada, Inatani M. Int J Endocrinol. 2018 Mar 12;2018:2401094.
6. Effect of intravitreal triamcinolone acetonide injection at the end of vitrectomy for vitreous haemorrhage related to proliferative diabetic retinopathy. Takamura Y, Shimura M, Katome T, Someya H, Sugimoto M, Hirano T, Sakamoto T, Gozawa M, Matsumura T, Inatani M; writing committee of Japan-Clinical Retina Research Team (J-CREST). Br J Ophthalmol. 2018 Oct;102(10):1351-1357.

「競争的資金・研究助成への申請・獲得状況」

獲得状況

1. 稲谷 大：基盤研究(B) 緑内障視神経症の病態を断ち切る画期的な手術手技の確立
2. 稲谷 大：挑戦的研究(萌芽) 免疫学に基づいた緑内障手術の新たな臨床エビデンスの確立
3. 高村 佳弘：基盤研究(C) 糖尿病網膜症におけるエピジェネティックな制御機構の解明による新しい病態概念の確立
4. 松村 健大：若手研究 エピゲノム制御による糖尿病眼合併症に対する新たな治療戦略基盤の確立

申請状況

1. 稲谷 大：挑戦的研究(萌芽) 緑内障視神経症における軸索流変化を捉える画期的な眼底イメージング