

ライフサイエンスイノベーションセンター
「令和元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)

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 糖尿病網膜症に代表される網膜虚血性疾患は、虚血を原因とする血管新生により硝子体出血といった合併症を招き、やがて重篤な視力障害をきたす。当研究チームは、上記疾患においてほとんど報告のない「エピジェネティックな発現制御機構」に注目し、分子メカニズムの解明を目指している。 疾患のモデルとして、新生マウスの高酸素暴露により未熟児網膜症を模倣する OIR (oxygen induced retinopathy) モデルを用い、病的血管新生を誘導した OIR 群と、生理的血管新生が起きている正常群についてマイクロアレイ解析を行った。その結果、血管新生因子の発現量は「生理的」と「病的」状況において、転写レベルで大きく異なっていることが示された。網膜の虚血に対する後天的な転写制御のメカニズムを明らかにすることで、将来的に病的血管新生のみを抑える治療方法の実現が期待される。
関連キーワード	エピジェネティクス、網膜、虚血、血管新生

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、虚血領域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 を標的とした抗 VEGF 薬が治療の主軸を担っているものの、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、新生児に対する副作用の懸念など、多くの問題点が指摘されており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発現制御機構」に注目し、解析を行った。エピジェネティックな制御因子を治療標的とした場合、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」という既存の治療薬とは異なり、虚血状態の網膜における遺伝子発現の状態から正常網膜と同じ状態へ「戻す」というアプローチが可能となる。本研究では、特に「生理的血管新生」と「病的血管新生」の違いに着目することで、将来的に病的血管新生のみを抑える治療方法の実現を目指す。

研究の内容および成果

[1] OIR (oxygen induced retinopathy) モデル

網膜虚血性疾患のモデル生物として、新生児期に起こる「生理的血管新生」と、網膜血管網の形成後に虚血となることで誘導される「病的血管新

生」の比較が可能である点から、高酸素誘導マウスモデル (OIR) を採用した。このモデルでは、生後 7 日齢 (P7) の子供マウスを、母親とともに 5 日間、75%の高酸素条件下で生育した後、P12 の

時点で再び大気中に戻すことで病的血管新生を誘導する。ここで生じる新生血管は P17 を境に消退していき、P25 の時点で正常状態に回復する (図 1)。

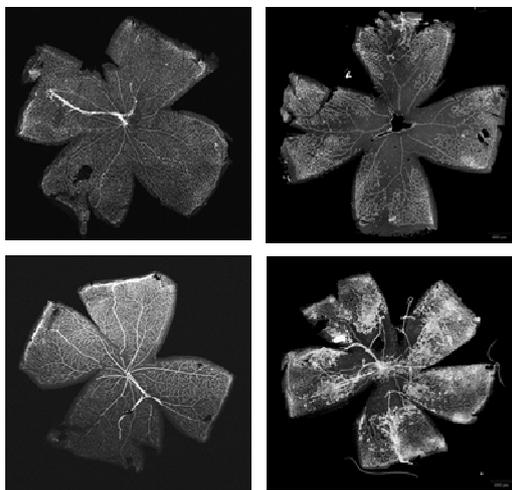


図 1 網膜血管の観察結果

(上 : P12 下 : P17、左 : 正常群 右 : 虚血群)

マウスの網膜血管は、生後一週間 (P0-8) の段階で、表層において視神経乳頭を中心として放射状に伸長していくことが知られているため、P7 を「生理的血管新生」のサンプル、P17 OIR を「病的血管新生」のサンプルと定義し、以降の解析を行った。

[2] マイクロアレイ解析

P7 を正常血管新生のサンプル、P17 OIR を病的血管新生のサンプル、また P17 Control、P25 Control および P25 OIR を網膜血管新生に関与しないサンプルと定義し、マイクロアレイ解析を行った。ここでは、低酸素状態にตอบสนองして発現が変動する遺伝子群 (図 2A) と、血管新生因子群 (図 2B) についてヒートマップを作成し、サンプル間の発現状況を比較した。この結果から、関連因子群の発現は「生理的」と「病的」状況において異なることが明らかとなった。

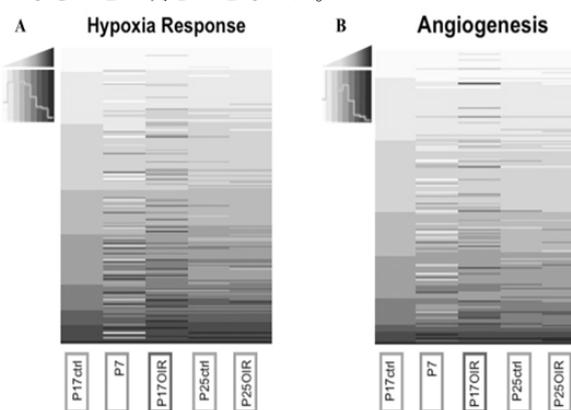


図 2 ヒートマップによる発現状況の比較

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. Histone acetyltransferase and Pololike kinase 3 inhibitors prevent rat galactose-induced cataract
Fumito Kanada, Yoshihiro Takamura, Seiji Miyake, Kazuma Kamata, Mayumi Inami, Masaru Inatani, Masaya Oki.
Sci Rep. (2019) 9:20085

2. Evaluation of intraocular gas using magnetic resonance imaging after pars plana vitrectomy with gas tamponade for rhegmatogenous retinal detachment.
Makoto Gozawa, Masayuki Kanamoto, Shota Ishida, Yoshihiro Takamura, Kentaro Iwasaki, Hirohiko Kimura, Masaru Inatani.
Sci Rep. (2020) 10 (1), 1521

3. Trabeculectomy followed by phacoemulsification versus trabeculectomy alone: the collaborative bleb-related infection incidence and treatment study.
Shogo Arimura, Kentaro Iwasaki, Makoto Gozawa, Yoshihiro Takamura, Masaru Inatani
PLos One. (2019) 14(10)

4. Prospective cohort study on refractive changes after trabeculectomy.
Kentaro Iwasaki, Yoshihiro Takamura, Shogo Arimura, Takahiro Tsuji, Takehiro Matsumura, Makoto Gozawa, Masaru Inatani
J Ophthalmol. (2019) 4731653

「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