

グラントNo. : L S I 2 0 1 0 2

ライフサイエンスイノベーションセンター
「令和2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」

未熟児網膜症における血管新生の エピジェネティックな制御機構の解明

研究代表者： 後沢 誠 (医学部医学科・助教)

共同研究者： 沖 昌也 (工学系部門・教授)、高村 佳弘 (医学部医学科・准教授)

稲谷 大 (医学部医学科・教授)

概 要	
	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。現在、本疾患の治療薬としては、血管新生に不可欠な血管内皮細胞増殖因子 (VEGF: V ascular E ndothelial G rowth F actor) を標的とした抗 VEGF 薬が一般的である。しかしながら、生理作用に必須な VEGF を阻害することから、副作用については未だに不明な点も多く、頻回投与を前提とした治療は患者への負担が大きい点が問題とされている。以上の現状を鑑み、本研究では VEGF に代わる新規治療標的を選定することを目的とし、眼科領域において基礎研究の知見がほとんど報告されていない「エピジェネティックな遺伝子発現制御」の視点から病態の解明を目指した。
関連キーワード	エピジェネティクス、網膜、虚血、血管新生、低酸素刺激

研究の背景および目的

網膜における血管系の役割は、組織に栄養や酸素を供給することであり、視力を維持する上で不可欠である。そのため、血管網の構築過程、すなわち血管新生は厳密に制御されている。網膜における血管新生は、胎児期の血管形成過程にあたる「生理的」状況と、糖尿病などの疾患を原因とする「病的」状況に分けられ、どちらの状況においても網膜の低酸素刺激をきっかけとして誘導される。また、血管の伸長方向は、組織内の低酸素領域における低酸素誘導因子 (HIF: Hypoxia Inducible Factor) の活性化に伴って発現・分泌される血管内皮増殖因子 (VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor) の濃度勾配に従うという原則がある。しかしながら、生理的な状況とは異なり、病的な状況では、もろく無秩序な走行の異常血管が発生し、硝子体出血や黄斑浮腫といった重篤な視力障害を招く。どちらの状況も、同じ原則に基づく現象でありながら、なぜ「生理的」「病的」状況で血管の形態が違うのかは明らかにされていない。

これまでの研究結果から、発生初期に網膜血管が構築される「生理的状況」と、一度、血管がつけられた後の「病的状況」で、血管新生に関連する遺伝子群の転写状況が異なることが分かってきた。つまり、各状況における低酸素応答性の違いに、

DNA 配列の変化に依存しない後天的な遺伝子発現制御の機構である、エピジェネティックな発現制御機構の関与が想定される。以上の理由から、本研究では、網膜血管新生に対してエピジェネティクスという機構がどのように関わるのか、分子メカニズムの解明を目指している。

各状況を再現する実験系として、マウス高酸素誘導網膜症 (OIR: Oxygen Induced Retinopathy) モデルを採用した (Fig.1)。齧歯類の網膜血管はヒトと異なり、生後に形成されることから、生理的血管新生の観察が容易である。

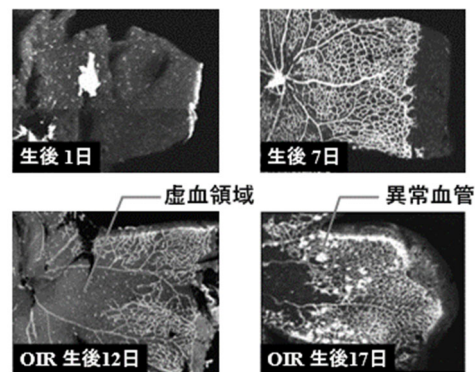


Fig. 1 生理的血管新生(上)と病的血管新生(下)

研究の内容および成果

①生理的と病的虚血は遺伝子発現レベルで異なる

はじめに、「生理的」と「病的」状況における遺伝子発現を比較するため、OIR モデルを対象としたマイクロアレイ解析を行った (Fig.2)。血管形成後のサンプルを血管新生に関与しない基準に設定し、生後日数の異なる3群 (Fig.2 ctrl 1,2,3) をコントロールとした。生理的血管新生 (Fig.2 生理的) と病的血管新生 (Fig.2 病的) での発現量を階層的クラスタリングにより比較したところ、低酸素応答、および血管新生関連の遺伝子群の発現状況が異なることを見出した。この結果から、生理的状況で経験する低酸素刺激と、虚血を原因とする後天的な低酸素刺激の状況では、網膜で起こる転写応答が異なることが示された。

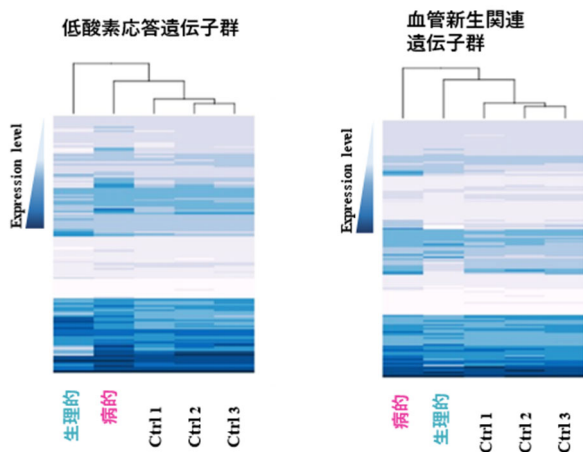
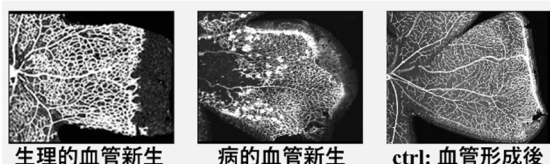


Fig.2 関連遺伝子群の発現量比較

②生理的と病的虚血の違いに

エピジェネティックな遺伝子発現制御が関わる

前述の通り、生理的状況と病的状況では低酸素刺激に対する転写応答が異なる。つまり、網膜血管網の形成あるいは神経系の成熟に伴う、後天的な転写応答の変化が起きていることが想定される。従って、クロマチン修飾によるエピジェネティックな制御が関与していると考え、各状況で特異的に機能しているヒストン修飾因子の探索を行った。ここでは、MsigDB (Molecular Signatures DataBase) に登録されている、「ヒストン修飾酵素標的遺伝子」の情報をもとに、「生理的」「病的」状況での遺伝子発現を比較した。

興味深いことに、特定のエピジェネティック修飾酵素 (以降、エピジェネティック修飾因子 X と表記) の標的遺伝子の発現量が病的な状況でのみ増加傾向を示すことが明らかとなった (Fig.3)。詳細な解析の結果、エピジェネティック修飾因子 X の標的遺伝子の中には、血管新生の制御に関わる遺伝子も存在することが明らかとなった。

エピジェネティック修飾酵素X標的遺伝子

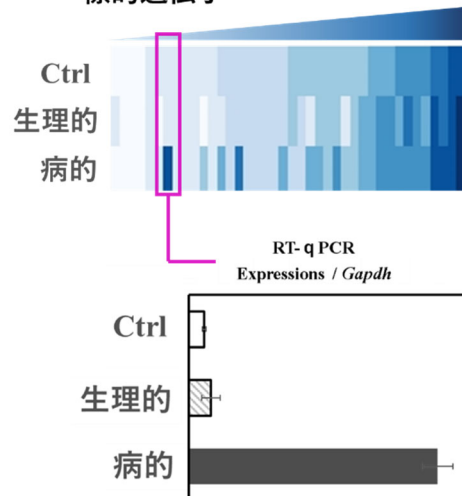


Fig.3 関連遺伝子群の発現量比較

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

「主な発表論文等」

Neo T., [Gozawa M.](#), [Takamura Y.](#), [Inatani M.](#), [Oki M.](#), Gene expression profile analysis of the rabbit retinal vein occlusion model, PLOS ONE, July 31, 2020

[Gozawa M.](#), [Takamura Y.](#), Iwasaki K., Arimura S., [Inatani M.](#), BMC Ophthalmol. 2020 Jun 19;20(1):244.

[Gozawa M.](#), [Takamura Y.](#), Aoki T., Iwasaki K., [Inatani M.](#), Sci Rep. 2021 Mar 2;11(1):4937

「競争的資金・研究助成への申請・獲得状況」

助成組織・助成制度・種目・期間・研究課題・代表/分担・採否・採択金額など
AMED 橋渡し研究異分野融合型研究シーズ・2021年度～2022年度・エピジェネティックな発現制御を標的とした網膜虚血性疾患に対する新規治療薬の開発代表 (沖昌也)、分担 (高村佳弘) 採択