

令和 3 年 5 月 23 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K18830

研究課題名（和文）濾過胞癒痕化抑制薬の開発のための新規バイオマーカー及び創薬基盤の確立

研究課題名（英文）Establishment of novel biomarkers and drug discovery bases for the development of filter bleb scarring inhibitors

研究代表者

津田 聡（Satoru, Tsuda）

東北大学・大学病院・助教

研究者番号：60791093

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：緑内障の手術成績向上のために、本邦発の医療機器である前眼部偏光OCTを活用し、家兎線維柱帯切除術後の濾過胞の癒痕化を複屈折値として非侵襲的に定量化した。その後、摘出した濾過胞の組織学的所見との関連性を検討した。複屈折値と組織切片のコラーゲン密度には強い関連性を認めた。また既知の癒痕抑制薬を使用した家兎線維柱帯切除術では、眼圧下降作用が長期に継続し、前眼部偏光OCTによる複屈折値が術後低値であり、摘出組織切片のコラーゲン密度が減少していた。以上より前眼部偏光OCTによる濾過胞癒痕化の定量評価可能なバイオマーカーを確立し、癒痕抑制薬の薬効評価に活用可能であることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、本邦発の医療機器である前眼部偏光OCTを活用し、線維柱帯切除術後の濾過胞癒痕化のバイオマーカーを確立して癒痕化抑制薬の創薬研究の基盤を作成した。本成果は治療成績を向上させる革新的医薬品の開発促進に繋がることが期待される。

本邦は超高齢化に伴い緑内障患者は増加し、未だに中途失明原因の第1位である。本研究結果は、保存的治療では奏功しない難治性緑内障に対する標準的術式である線維柱帯切除術の治療成績を向上させ、緑内障による失明の減少に繋がり、緑内障患者のQOL及びADLの改善に寄与することから極めて社会的・経済的意義が大きい。

研究成果の概要（英文）：For improvement of the surgical results of glaucoma, the scarring of the filtration bleb after trabeculectomy in the rabbit is non-invasively quantified as a birefringence value with the anterior segment polarization sensitive OCT, which is a medical device originated from Japan. A strong relationship was found between the birefringence value and the collagen density of the tissue section. In addition, in rabbit trabeculectomy using a known scar suppressant, the intraocular pressure lowering effect continued for a long period of time, the birefringence value due to anterior segment PS-OCT was low after surgery, and collagen density in the excised tissue section was decreasing. Based on the above, we have established a biomarker that can quantitatively evaluate the scarring of the filtration bleb by the anterior segment PS-OCT, and clarified that it can be used to evaluate the efficacy of scar suppressants.

研究分野：眼科

キーワード：緑内障 線維柱帯切除術 手術 偏光OCT 創傷治療 癒痕抑制 手術成績

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

緑内障は中途失明原因第 1 位である。眼圧下降が不十分な難治性緑内障には線維柱帯切除術等の濾過手術が施行されるが、長期に良好な眼圧を維持できる症例は約半数であり、緑内障による失明患者数減少には、手術成績の向上が必須である。濾過手術は、濾過胞が癒痕化し眼圧の再上昇が起こる。術後癒痕化は長期的に生じ、濾過胞癒痕化を継続的に抑制し続ける治療方法はない。本研究では、濾過胞癒痕化の非侵襲的な定量評価のために開発し、医療機器承認を取得した前眼部偏光 OCT を活用し、家兎濾過手術モデルを用いて濾過胞癒痕化の非侵襲的なバイオマーカーを確立し、癒痕化抑制薬の創薬研究基盤の確立と癒痕抑制薬の開発を目的とする。

### 2. 研究の目的

緑内障は中途失明原因第 1 位である。眼圧下降が不十分な難治性緑内障には濾過手術が施行されるが、失明患者数減少には、手術成績の向上が必須である。濾過手術は、濾過胞が癒痕化し眼圧の再上昇が起こる。術後癒痕化は長期的に生じ、濾過胞癒痕化を継続的に抑制し続ける治療方法はない。本研究では、本邦発の医療機器である前眼部偏光 OCT を活用し、濾過胞癒痕化のバイオマーカーを確立して癒痕化抑制薬の創薬研究の基盤を作成し、治療成績を向上させる革新的医薬品を開発するために、前眼部偏光 OCT で家兎の濾過手術後の濾過胞の癒痕化を非侵襲的に定量評価した所見と、摘出濾過胞組織の組織学的所見との関連性を検討する。またマイトマイシン C (MMC) 併用濾過手術の成績改善作用が示唆される候補薬剤について、その作用機序を明らかにし、家兎濾過手術における癒痕抑制作用を前眼部偏光 OCT で評価し、その手術成績改善作用も評価し実用化に向けた非臨床 POC を取得する。

### 3. 研究の方法

#### (1) 家兎での濾過胞癒痕化のバイオマーカーの確立

家兎に線維柱帯切除術を行い、前眼部偏光 OCT (TOMEY 社) を用いて経時的に撮影した濾過胞の複屈折値と摘出眼球における濾過胞の組織学的所見の関連性を評価し、前眼部偏光 OCT による濾過胞癒痕化の定量評価可能なバイオマーカーを確立するために、以下を実施した。

白色家兎に 0.04%MMC 併用 (術中塗布) または MMC 非併用で線維柱帯切除術を行い、術直後から前眼部偏光 OCT による複屈折値等の測定を経時的に行った。また眼圧測定も経時的に行った。4 週間の偏光 OCT での観察期間の終了後に、家兎を安楽死させた後に眼球を摘出し、濾過胞の組織切片を作成し、Elastica-Masson (EM) 染色などのコラーゲン染色を行い、画像解析ソフトにより定量化した。

最終的に前眼部偏光 OCT の複屈折値などの所見と組織学的所見の定量結果の関連性を評価し、前眼部偏光 OCT による複屈折の定量評価が濾過胞癒痕化のバイオマーカーとして適切であるか検討した。また、MMC 併用と MMC 非併用の線維柱帯切除術の濾過胞で生じる癒痕化の差異を前眼部偏光 OCT で評価可能であるか検討し、前眼部偏光 OCT が濾過胞の癒痕化抑制薬の薬効評価に有用であるか検討した。

#### (2) 家兎の線維柱帯切除術後の濾過胞の癒痕評価 (長期)

濾過胞癒痕化抑制薬が MMC 併用線維柱帯切除術後の濾過胞に長期的に生じる癒痕化を抑制し得るか評価するためには、MMC 併用線維柱帯切除術後の濾過胞で生じる癒痕化の経過を評価する必要がある。そこで、(1) で確立した濾過胞癒痕化の評価法を活用し、家兎で MMC 併用線維柱帯切除術後の濾過胞の癒痕化の経過を以下の様に長期的に観察した。

白色家兎に 0.04%MMC 併用 (術中塗布) で線維柱帯切除術を行い、術直後から前眼部偏光 OCT による複屈折値等の測定を経時的に行った。また眼圧測定も経時的に行った。12 週間の偏光 OCT での観察期間の終了後に、家兎を安楽死させた後に眼球を摘出し、濾過胞の組織切片を作成し、Elastica-Masson (EM) 染色などのコラーゲン染色を行った。

### 4. 研究成果

#### (1) 家兎での濾過胞癒痕化のバイオマーカーの確立

線維柱帯切除術後の眼圧及び複屈折値の経過を図 1 及び図 2 示す。眼圧は術直後より有意に

低下した。術後 3 日までは眼圧及び濾過胞複屈折値は MMC 併用群及び MMC 非併用群で有意な差を認めなかった。術後 7 日以降では、眼圧及び濾過胞複屈折値は MMC 非併用群で有意に上昇し、術後 28 日までその有意差は維持された。

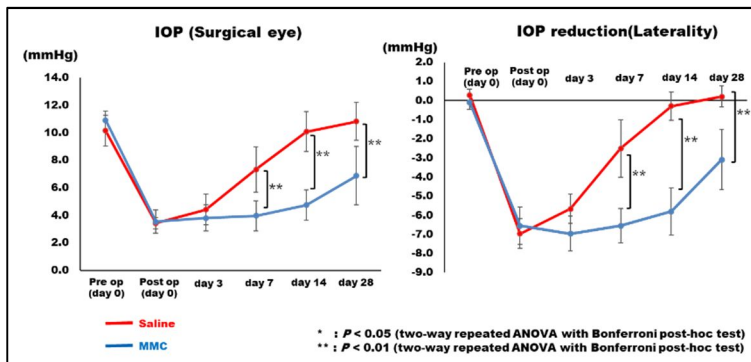


図 1 眼圧の推移

左図：眼圧の推移  
右図：眼圧の左右差の推移(片眼は手術眼、対眼は対象眼)

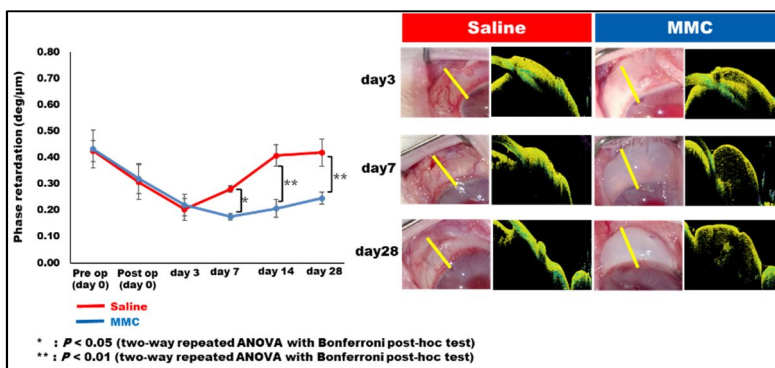


図 2 複屈折値の推移と複屈折画像

左図：複屈折値の推移  
右図：前眼部写真と前眼部偏光 OCT の複屈折画像

観察期間終了後に、摘出眼球より作成した濾過胞組織切片の Elastica-Masson (EM) 染色を行った。EM 染色画像と位相差顕微鏡と画像解析ソフトによりコラーゲン密度定量化した結果を図 3 に示す。MMC 非併用群では、濾過胞は平坦となり EM 染色ではコラーゲンが密に染色されていた。一方、MMC 併用眼では、濾過胞は大きく保たれており EM 染色でもコラーゲンは疎に染色された。コラーゲン密度は MMC 非併用眼で有意に上昇していた。またコラーゲン密度と複屈折値の相関性を検討したところ、コラーゲン密度と複屈折値は強い正の相関性を認めた。

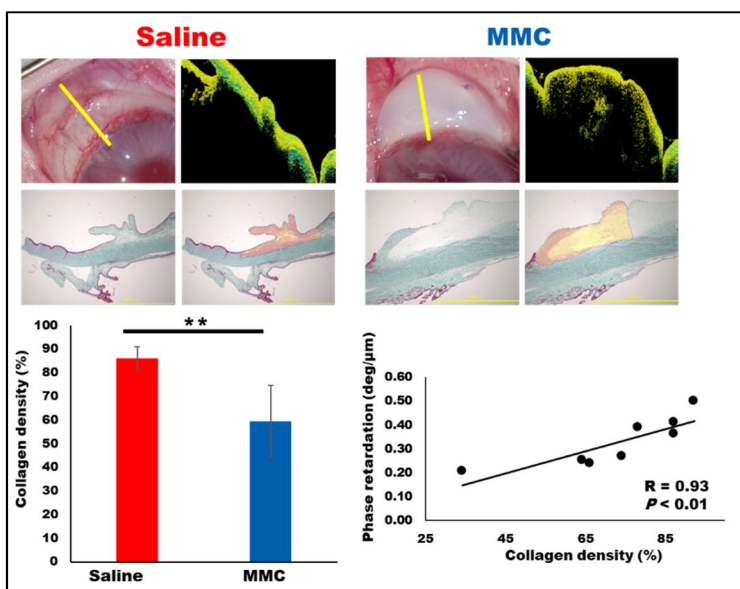


図 3 EM 染色とコラーゲン密度

上段は左上が前眼部写真、右上が複屈折画像、左下が EM 染色画像、右下がコラーゲン密度解析画像。

下段は左がコラーゲン密度の MMC 非併用群と MMC 併用群の比較、右はコラーゲン密度と複屈折値の相関性。

## (2) 家兔の線維柱帯切除術術後の濾過胞の癒着化の長期評価

MMC 併用眼では、(1)において術後 7 日以降に眼圧や複屈折値の上昇傾向を認めるものの、明確な変化が生じていないため、(1)と同様の家兔の線維柱帯切除術を MMC 併用及び MMC 非併用で行い、術後 90 日まで眼圧及び複屈折値を評価した。術後 28 日まででは MMC 併用群と MMC 非併用群で有意な差を認めたと、術後 90 日では MMC 併用群と MMC 非併用群で有意差を認めず、MMC 併用群でも癒着化が認められていることが明らかとなった。

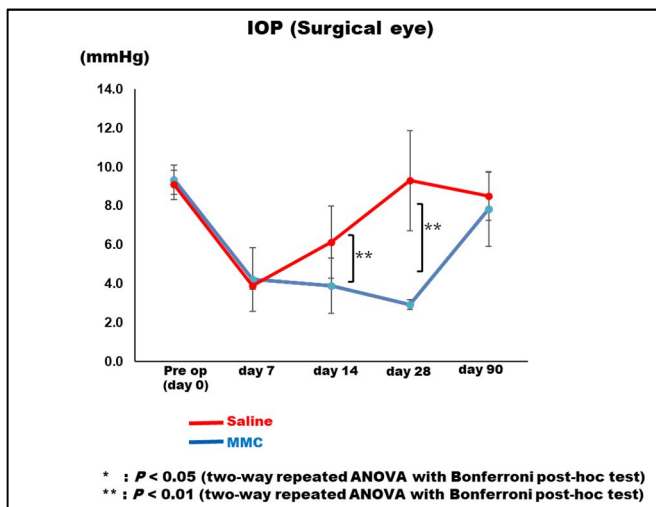


図 4 眼圧の長期推移

申請者らが開発・実用化した本邦発の医療機器である前眼部偏光 OCT を活用し、濾過胞癒痕化のバイオマーカー - を確立して癒痕化抑制薬の創薬研究の基盤を作成し、治療成績を向上させる革新的医薬品を開発するために、本年度では、前眼部偏光 OCT を用いて、家兎の濾過手術後の濾過胞の癒痕化を非侵襲的に定量評価した所見と、摘出した濾過胞組織の組織学的所見との関連性を検討した。また家兎に 0.04%MMC 併用（術中塗布）または MMC 非併用で線維柱帯切除術を行い、術直後から前眼部偏光 OCT による複屈折値等の測定を経時的に行った。眼圧測定及び濾過胞の写真撮影も経時的に行った。術後、眼球摘出し濾過胞組織切片を作成し、Elastica-Masson(EM)染色によるコラーゲン染色を行い、画像解析ソフトにより定量化した。その結果、前眼部偏光 OCT の複屈折値などの所見と組織学的所見の定量結果には強い相関が認められた。さらに家兎 MMC 併用線維柱帯切除術は MMC 非併用線維柱帯切除術と比較して眼圧下降作用がより長期に継続すること、前眼部偏光 OCT による複屈折値が術後低値であること、摘出組織切片の EM 染色ではコラーゲン線維が減少していることが明らかとなった。以上より前眼部偏光 OCT による濾過胞癒痕化の定量評価可能なバイオマーカーを確立した。また、MMC 併用線維柱帯切除術では術後 90 日で濾過胞機能が低下し眼圧下降効果が消失することが明らかとなった。

以上の成果は、緑内障の線維柱帯切除術の手術成績の向上に寄与することで、緑内障による失明を低減させ、QOL や ADL の維持に貢献することが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 國分 太貴, 津田 聡, 浅野 俊文, 鈴木 哲章, 前川 重人, 横山 悠, 佐藤 孝太, 中澤 徹
2. 発表標題 Association between quantitative evaluation of scarred tissue with anterior-segment polarization-sensitive OCT and histologic findings in glaucoma filtration surgery model
3. 学会等名 日本眼科学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 國分太貴, 津田 聡, 山成 正宏, 國方 彦志, 前川 重人, 横山 悠, 檜森 紀子, 面高 宗子, 中澤 徹
2. 発表標題 前眼部偏光OCTによる線維柱帯切除術後の濾過胞評価
3. 学会等名 日本緑内障学会（招待講演）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------