

令和 4 年 6 月 9 日現在

機関番号：34417

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K18861

研究課題名（和文）弾性線維欠損マウス及び網膜光凝固術を用いたポリープ状脈絡膜血管症モデルの作成

研究課題名（英文）Polypoidal choroidal vasculopathy induced by elastic fiber-deficient mice and laser

研究代表者

盛 秀嗣（MORI, Hidetsugu）

関西医科大学・医学部・講師

研究者番号：50802948

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,000,000円

研究成果の概要（和文）：正常マウス、LTBP4ノックアウトマウスともに眼底に光凝固術を行い、脈絡膜新生血管の発生形態、発育速度、退縮過程に有意差はなかった。LTBP-4ノックアウトマウスはブルッフ膜弾性板の形成不全も呈したために、光凝固の出力パワーを弱めに行い、正常マウスでは同様の出力では脈絡膜新生血管が生じなかったが、LTBP-4ノックアウトマウスにおいては脈絡膜新生血管が生じた。以上の結果からブルッフ膜弾性板の脆弱化がより脈絡膜新生血管を生じやすいことがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

弾性線維の脆弱性が脈絡膜新生血管をより生じやすいことがわかった。弾性線維形成にはさまざまなタンパク質が関与し、中でもLTBP-4ノックアウトマウスでより脈絡膜新生血管をより生じやすいことから、既存の抗VEGF薬に新たな成分、弾性線維脆弱化促進する蛋白をブロックすることで、脈絡膜新生血管の発生・活動性を減弱させる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：There were no significant difference about the formation, progression, and speed of choroidal neovascularization (CNV), progression with regards to wild and LTBP-4 gene knocked out (KO) mice. However, less power of retinal photocoagulation led to the formation of CNV in LTBP-4 KO mice compared to wild mice because LTBP-4 KO mice had the weakness of elastic fiber in Bruch's membrane.

研究分野：眼科

キーワード：弾性線維 脈絡膜新生血管 fibrillin-1 LTBP-2 LTBP-4

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

加齢黄斑変性症 age-related macular degeneration(AMD)は高齢化により有病者が増加の一途をたどり、本邦では後天的視覚障害の原因として第4位に位置する。主病態は脈絡膜新生血管 choroidal neovascularization(CNV)である。AMDは以下のように分類される。網膜色素上皮細胞下に進展する型、感覚網膜下に進展する型CNV(この2種類を認めるタイプを典型AMDという)及び特殊型であるポリープ状脈絡膜血管症 polypoidal choroidal neovascuopathy(PCV)、網膜血管腫状増殖がある。

れまでに報告されているCNV動物モデルの圧倒的多数は型である。本邦の臨床で見られるAMDの30%以上は型CNV及び型CNVの特殊型であるPCVであるため病態と治療の解明は一層重要といえる。

PCVについての基礎研究はほとんどない。現在までPCV動物モデルの報告はわずか1報(Jones A, et al: PNAS108:14578-14583, 2011)存在するが以降は他施設で追加報告はなく、PCV発生機序解明と治療実験のために再現性の高いモデル動物の作成が熱望されている。

### 2. 研究の目的

弾性線維欠損マウスを用いてポリープ状脈絡膜血管症(PCV)のモデル動物を作成し、発症病態を解明する。

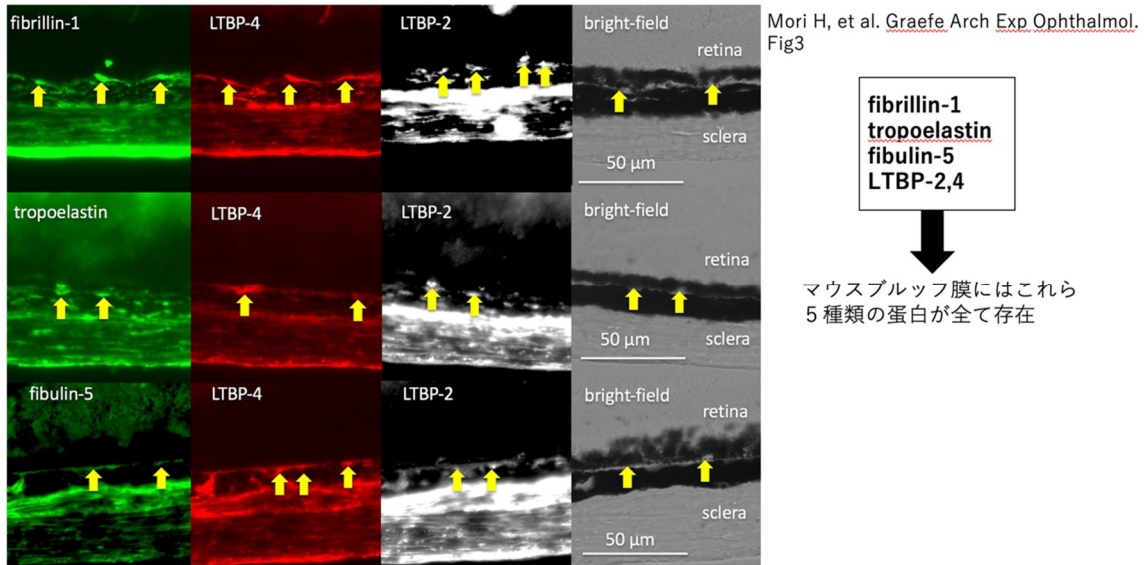
### 3. 研究の方法

- (1) 野生型マウスの眼の構造について、弾性線維が関与する部位、特に脈絡膜新生血管発生に関与するブルッフ膜弾性板に注目し、免疫染色にて弾性線維構成成分を解析する。
- (2) 電子顕微鏡を用いてwild type及び弾性線維欠損(Fibrillin1、Fibulin5、LTBP2/4ノックアウト)マウス(共にC57BL/6)のブルッフ膜を観察し、構造的差異を検討する。
- (3) wild type及び弾性線維欠損マウスを用いて、すでに確立されている網膜光凝固条件(ブルッフ膜を穿破する条件)により脈絡膜新生血管を発生させる。この条件では通常型CNVが発生するので、網膜光凝固条件を変更することで弾性線維欠損マウスを用いて電子顕微鏡を用いて脈絡膜新生血管壁の構造解析を行い、比較検討する。

### 4. 研究成果

正常マウスにおいて、ブルッフ膜弾性板には弾性線維形成に必須のタンパク質であるFibrillin1、Fibulin5、LTBP2/4があることは確認された(下図)。

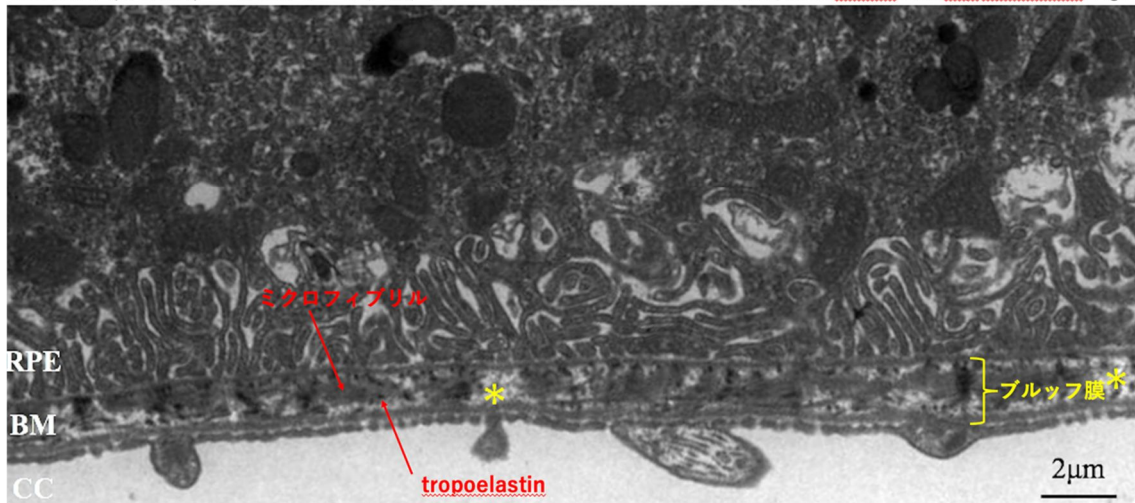
また、電子顕微鏡における観察で、ブルッフ膜弾性線維がfibrillin-1の主成分であるマイクロフィブリルとtropoelastinから構成されていることがわかった。



## Adultマウスの網膜色素上皮、ブルッフ膜

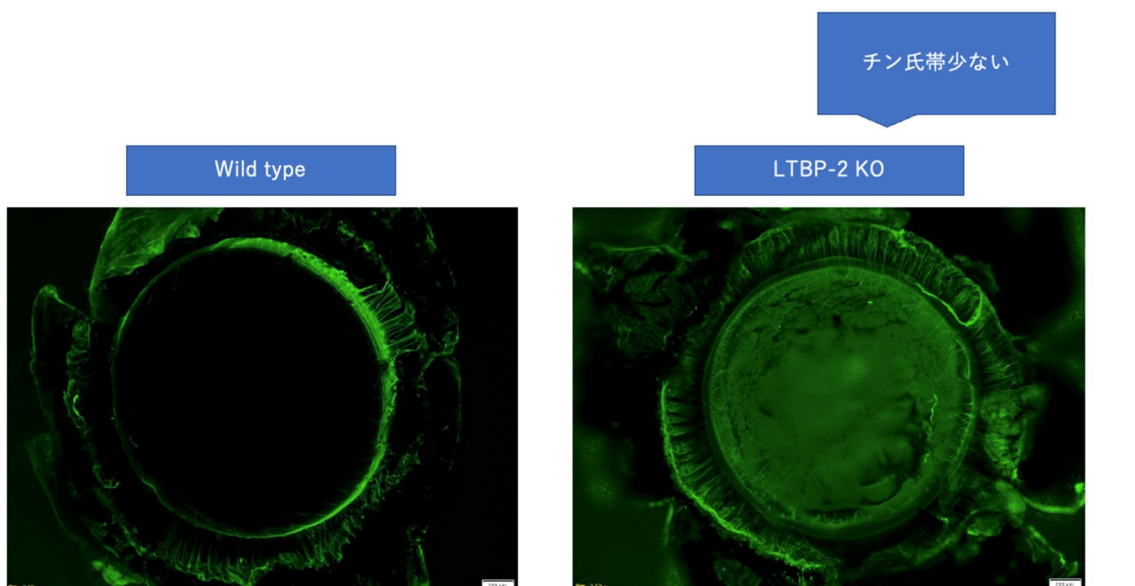
電子染色 (3重染色) : 酢酸ウラニル、鉛、タンニン酸染色

Mori H, et al. *Graefe Arch Exp Ophthalmol.* Fig7

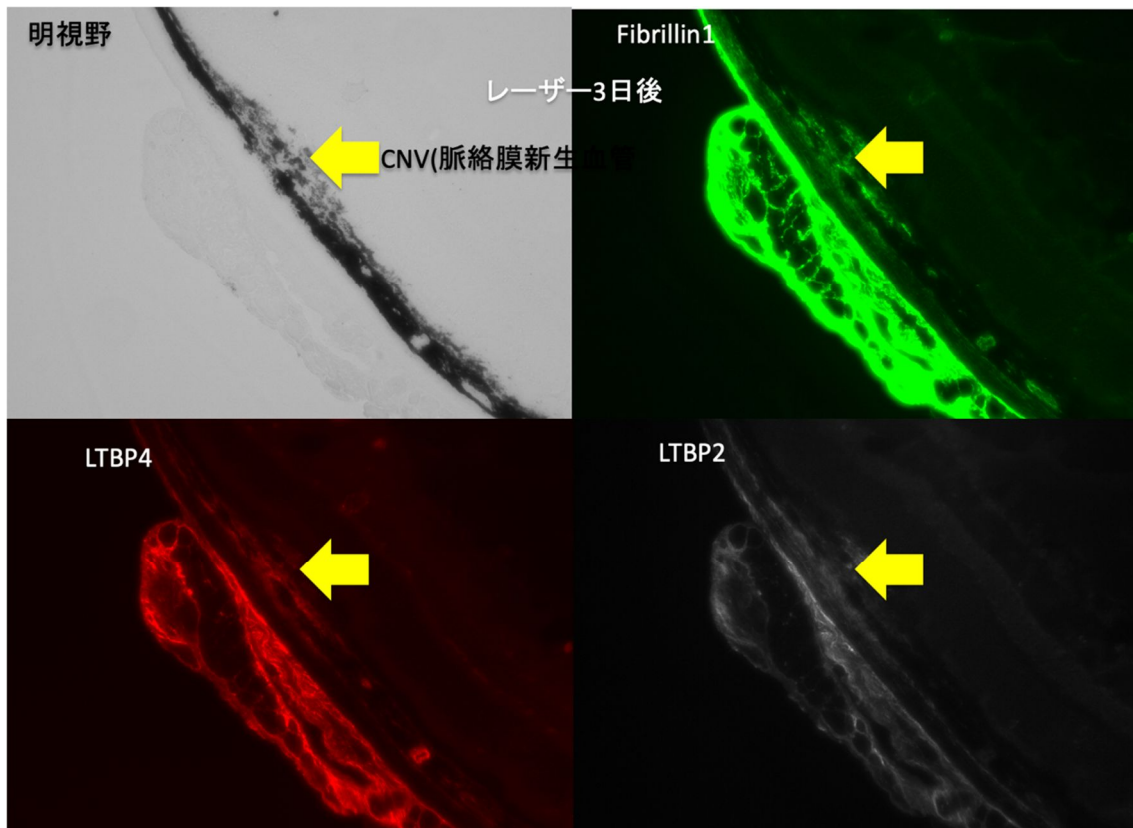


\*ただし、弾性線維を有するチン氏帯には LTBP-4 は存在していなかった。

LTBP-2 ノックアウトマウスのチン氏帯は野生型と比較して、非常に少なかった (下図)。



CNV 形成には免疫染色の結果から fibrillin-1、LTBP-2/4 の関与が示唆された（下図）。



残念ながら、さまざまな網膜光凝固の条件下で CNV の検討を行ったが、統計学的有意差を認める差異は認めなかった。

ただ、網膜光凝固のパワーが弱くても、LTBP-2 もしくは 4 遺伝子欠損マウスでは CNV を発生することがわかった。今後も検討を行っていく。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Mori H	4. 巻 257
2. 論文標題 opmental and age-related changes to the elastic lamina of Bruch's membrane in mice.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol	6. 最初と最後の頁 289-301
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00417-018-4184-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------