

機関番号：12601  
 研究種目：基盤研究（B）  
 研究期間：2008～2010  
 課題番号：20390446  
 研究課題名（和文） 加齢黄斑変性の分子機構を標的としたナノテクノロジーによる創薬と新規治療法の開発  
 研究課題名（英文） Novel approach for management of age-related macular degeneration using nanotechnology  
 研究代表者  
 玉置 泰裕（TAMAKI YASUHIRO）  
 東京大学・医学部附属病院・准教授  
 研究者番号：20217178

研究成果の概要（和文）：A2E による血管新生因子の活性化がレチノイン酸受容体を直接に介した転写制御によるものであるか否かを明らかにした。VEGF 遺伝子ノックダウン効果が最も効率よく得られる高分子構造の検討を行い、siRNA キャリアとしての最適構造を明らかにした。サル網膜での *in situ* ハイブリダイゼーションを行い、黄斑部に強発現していた遺伝子群について、機能解析を行った。

研究成果の概要（英文）：We report that a major lipofuscin component, A2E (N-retinyleidin-N- retinylethanolamin), activates the retinoic acid receptor (RAR). We have also developed a ternary complex composed of a core containing DNA packaged with cationic peptides and enveloped in the anionic dendrimer phthalocyanine, which provides the photosensitizing action. This system, PCI-mediated gene delivery, can be potentially useful for the genen therapy of ophthalmic disease.

We performed a comparative gene expression analysis between the central and peripheral regions of the monkey retina using monkey (Rhesus Macaque) genome microarray chips. We then selected the clones which were expressed at significantly higher levels in the central region and confirmed their expression in the monkey retina by section *in situ* hybridization. This study sheds light on the mechanisms of fovea development and may lead to the development of regenerative medicine for cone photoreceptors.

#### 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	7,900,000	2,370,000	10,270,000
2009 年度	3,600,000	1,080,000	4,680,000
2010 年度	3,600,000	1,080,000	4,680,000
年度			
年度			
総計	15,100,000	4,530,000	19,630,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・眼科学

キーワード：ナノバイオ、移植・再生医療、マイクロアレイ、発生・分化、トランスレーショナル・リサーチ

#### 1. 研究開始当初の背景

脈絡膜新生血管（CNV）により惹起され、急激な中心視力の低下を来す加齢黄斑変性は、欧米では中途失明原因の第一位を占め、本邦においてもその患者数が急増している。しか

し、現存の治療法である光線力学療法や臨床試験中の薬物療法は、いずれも CNV に対する抗血管新生療法であるが、再発も多く、その血管新生抑制効果が十分でないこと、および CNV により障害された黄斑部の再生を目的と

した治療法として確立したものはないため、視力の維持を目的とするに留まり、視力の改善がほとんど期待できないという問題点を有し、より有効な新規治療法の開発は急務である。

## 2. 研究の目的

本研究では加齢黄斑変性に対する新規治療法の確立を目的として、1) 核内受容体をターゲットとしたCNVに対する新規の抗血管新生療法の確立、2) ナノテクノロジーを応用したCNVに対する遺伝子治療、および3) 黄斑形成に関わる遺伝子群の解析による黄斑の再生医療を目的とした研究を行なう。

## 3. 研究の方法

A2Eによる血管新生因子の活性化がレチノイン酸受容体を直接に介した転写制御によるものであるか否かを明らかにし、またこの血管新生因子の転写制御機構の検討のため、HIF1, VEGFのプロモーター領域を組み込んだレポーターを作成し、ルシフェラーゼアッセイにより、A2Eを介した血管新生因子群の転写活性増強の分子メカニズムを検討した。

VEGF遺伝子ノックダウン効果が最も効率よく得られる高分子構造の検討を行い、siRNAキャリアとしての最適構造を検討した。サル網膜でのin situ ハイブリダイゼーションを行い、黄斑部に強発現していた遺伝子群について、機能解析を行った。

## 4. 研究成果

まず、A2Eによる血管新生因子の活性化がレチノイン酸受容体を直接に介した転写制御によるものであるか否かを明らかにした。この血管新生因子の転写制御機構の検討のため、HIF1, VEGFのプロモーター領域を組み込んだレポーターを作成し、ルシフェラーゼアッセイにより、A2Eを介した血管新生因子群の転写活性増強の分子メカニズムを明らかにした。さらに、リポフスチンの他の構成成分として現在までに同定されている数種類の物質を化学合成し、その細胞障害性をこれまでと同様の手法を用い解析した。VEGF遺伝子ノックダウン効果が最も効率よく得られる高分子構造の検討を行い、siRNAキャリアとしての最適構造を明らかにした。サル網膜でのin situ ハイブリダイゼーションを行い、黄斑部に強発現していた遺伝子群について、機能解析を行った。特に、SREBP2のドミナントネガティブ型を視細胞で発現するトランスジェニックマウスを作成し、発生期の視細胞におけるSREBP2の機能を明らかにした。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 23 件) すべて査読あり

1. Iriyama A, Obata R, Inoue Y, Takahashi H, Tamaki Y, Yanagi Y. Effect of posterior juxtasclear triamcinolone acetonide on the efficacy and choriocapillaris hypoperfusion of photodynamic therapy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 246:339-344, 2008.
2. Takahashi H, Ishizaki H, Tahara H, Tamaki Y, Yanagi Y. Suppression of choroidal neovascularization by vaccination with epitope peptide derived from human VEGF receptor 2 in an animal model. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 49:2143-2147, 2008.
3. Iriyama A, Fujiki R, Inoue Y, Takahashi H, Tamaki Y, Takezawa S, Takeyama K, Jang WD, Kato S, Yanagi Y. A2E, a pigment of the lipofuscin of retinal pigment epithelial cells, is an endogenous ligand for retinoic acid receptor. *J Biol Chem*. 283:11947-1153, 2008.
4. Ueta T, Iriyama A, Francis J, Takahashi H, Adachi T, Obata R, Inoue Y, Tamaki Y, Yanagi Y. Development of typical age-related macular degeneration and polypoidal choroidal vasculopathy in fellow eyes of Japanese patients with exudative age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol*. 146:96-101, 2008.
5. Kami J, Muranaka K, Yanagi Y, Obata R, Tamaki Y, Shibuya M. Inhibition of choroidal neovascularization by blocking vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinase. *Jpn J Ophthalmol*. 52:91-98, 2008.
6. Koseki N, Araie M, Tomidokoro A, Nagahara M, Hasegawa T, Tamaki Y, Yamamoto S. A placebo-controlled 3-year study of a calcium blocker on visual field and ocular circulation in glaucoma with low-normal pressure. *Ophthalmology* 115:2049-2057, 2008.
7. Iriyama A, Iriyama T, Tamaki Y, Yanagi Y. Effects of white light on beta-catenin signaling pathway in retinal pigment epithelium. *Biochem Biophys Res Commun*. 375:173-177, 2008.
8. Kadonosono K, Yamakawa T, Uchio E, Watanabe Y, Yanagi Y, Tamaki Y, Araie M. Fibrovascular membrane removal using a high-performance 25-gauge vitreous cutter. *Retina* 28:1533-1535, 2008.
9. Takahashi H, Tamaki Y, Ishii N, Oikawa

- N, Mizuguchi E, Francis JH, Inoue Y, Iriyama A, Obata R, Yanagi Y. Identification of a novel vascular endothelial growth factor receptor 2 inhibitor and its effect for choroidal neovascularization in vivo. *Curr Eye Res.* 33:1002-1010, 2008.
10. Ueta T, Yanagi Y, Tamaki Y, Yamaguchi T. Cerebrovascular accidents in ranibizumab. *Ophthalmology* 116:362, 2009.
  11. Inoue Y, Kadonosono K, Yamakawa T, Uchio E, Watanabe Y, Yanagi Y, Tamaki Y, Araie M. Surgically-induced inflammation with 20-, 23-, and 25-gauge vitrectomy systems: an experimental study. *Retina* 29:477-480, 2009.
  12. Inoue M, Iriyama A, Kadonosono K, Tamaki Y, Yanagi Y. Effects of perfluorocarbon liquids and silicone oil on human retinal pigment epithelial cells and retinal ganglion cells. *Retina* 29:677-681, 2009.
  13. Iriyama A, Inoue Y, Takahashi H, Tamaki Y, Jang WD, Yanagi Y. A2E, a component of lipofuscin, is pro-angiogenic in vivo. *J Cell Physiol.* 220:469-475, 2009.
  14. Nakano T, Sugita N, Ueta T, Tamaki Y, Mitsuishi M. A parallel robot to assist vitreoretinal surgery. *Int J Comput Assist Radiol Surg.* 4:517-526, 2009.
  15. Ueta T, Yamaguchi Y, Shirakawa Y, Nakano T, Ideta R, Noda Y, Morita A, Mochizuki R, Sugita N, Mitsuishi M, Tamaki Y. Robot-assisted vitreoretinal surgery: development of a prototype and feasibility studies in animal model. *Ophthalmology* 116:1538-1543, 2009.
  16. Ueta T, Obata R, Inoue Y, Iriyama A, Yamaguchi T, Tamaki Y, Yanagi Y. Background comparison of typical age-related macular degeneration and polypoidal choroidal vasculopathy in Japanese patients. *Ophthalmology* 116:2400-2406, 2009.
  17. Nomura Y, Tamaki Y, Tsuji H, Kojima T, Kashiwagi H, Yanagi Y. A case of vasoproliferative retinal tumor treated by transpupillary thermotherapy. *Retinal Cases & Brief Reports* 3:358-360, 2009.
  18. Yuda K, Inoue Y, Tomidokoro A, Tamaki Y, Yanagi Y. Nerve fiber layer thickness in exudative age-related macular degeneration in Japanese patients. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol.* 248:353-359, 2010.
  19. Nomura Y, Tamaki Y, Yanagi Y. Vitreopapillary traction diagnosed by spectral domain optical coherence tomography. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging.* 41; Suppl:S74-76, 2010.
  20. Ueta T, Yanagi Y, Tamaki Y, Yamaguchi T. Ranibizumab and stroke. *Ophthalmology.* 117:1860; author reply 1860-1861, 2010.
  21. Nagahara M, Tamaki Y, Tomidokoro A, Araie M. In vivo measurement of blood velocity in human major retinal vessels using the laser speckle method. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 52:87-92, 2011.
  22. Nomura Y, Ueta T, Iriyama A, Inoue Y, Obata R, Tamaki Y, Yamaguchi T, Yanagi Y. Vitreomacular interface in typical exudative age-related macular degeneration and polypoidal choroidal vasculopathy. *Ophthalmology.* 118:853-859, 2011.
  23. Ueta T, Nakano T, Ida Y, Sugita N, Mitsuishi M, Tamaki Y. Comparison of robot-assisted and manual retinal vessel microcannulation in an animal model. *Br J Ophthalmol.* 95:731-734, 2011.
- [学会発表] (計6件)
1. 玉置泰裕: 黄斑変性の診断とマネジメント。第1回埼玉黄斑フォーラム(さいたま市) 特別講演。2008年2月9日。
  2. 玉置泰裕: 新しいSLO(F-10)の基礎と臨床。ランチョンセミナー「SLOのさらなる臨床活用事例」。第47回日本網膜硝子体学会総会、第25回日本眼循環学界合同学会(京都)。2008年11月28日。
  3. 玉置泰裕: 硝子体手術-現在と未来-。第3回Yokohama Retina Study Program(横浜市) 招待講演。2009年6月19日。
  4. 玉置泰裕: 網膜硝子体手術支援システムの開発。第10回硝子体手術クリニック(福岡市) 指名講演。2009年10月9日。
  5. 玉置泰裕: 緑内障治療と眼循環。ランチョンセミナー「先生ほどの時点で緑内障手術をされますか? -手術と薬物の狭間で迷うあなたに」。第33回日本眼科手術学会総会(東京)。2010年1月23日。
  6. Tamaki Y: Novel nanotechnology-based drug delivery in photodynamic therapy for age-related macular degeneration.

Invited Lecture. 3rd International Conference on Drug Discovery and Therapy (Dubai, UAE). 2011年2月8日。

7.

〔図書〕(計7件)

1. 小畑 亮、玉置泰裕：根木 昭(編)：I疾患別治療戦略と処方の実際 7 網膜疾患 9) 増殖硝子体網膜症. 眼科プラクティス 23 巻 眼科薬物療法A to Z、文光堂、東京、216-218, 2008.
2. 小畑 亮、玉置泰裕：根木 昭(編)：I疾患別治療戦略と処方の実際 7 網膜疾患 10) 癌関連網膜症. 眼科プラクティス 23 巻 眼科薬物療法A to Z、文光堂、東京、219-220, 2008.
3. 小畑 亮、玉置泰裕：眼循環検査。水流忠彦(編)：看護のための最新医学講座 第2版 20 眼科疾患 中山書店、東京、62-69, 2008.
4. 小畑 亮、玉置泰裕：加齢黄斑変性に対するレーザー治療(光線力学療法、経瞳孔温熱療法等)。樋田哲夫、江口秀一郎(編)：眼科手術のコツと落とし穴vol.2 中山書店、東京、146-147, 2008.
5. 小畑 亮、玉置泰裕：加齢黄斑変性(新生血管黄斑症)に対する薬物療法(トリアムシノロン、抗VEGF薬など)。樋田哲夫、江口秀一郎(編)：眼科薬物療法のコツと落とし穴vol.2。中山書店、東京、110-111, 2008.
6. 玉置泰裕：加齢黄斑変性。山口 徹、北原光夫、福井次矢(編)：今日の治療指針 2009 年度版。医学書院、東京 1074-1075, 2009.
7. 小畑 亮、玉置泰裕：眼科疾患。和田 猛(編)：核酸医薬の最前線 シーエムシー出版、東京、196-206, 2009.

〔産業財産権〕

○出願状況(計1件)

名称：脈絡膜新生血管のワクチン療法  
発明者：玉置泰裕、田原秀晃  
権利者：玉置泰裕、田原秀晃  
種類：特許  
番号：PCT/JP2008/052487  
出願年月日：2008年2月15日  
国内外の別：国外

○取得状況(計1件)

名称：温度上昇効率測定装置、温熱治療装置、及び治療用レーザー光の制御方法  
発明者：玉置泰裕、小畑 亮  
権利者：玉置泰裕、小畑 亮  
種類：特許

番号：4101800

取得年月日：2008年3月28日

国内外の別：国内

〔その他〕

ホームページ等

<http://plaza.umin.ac.jp/oph/kyoshitsu/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

玉置 泰裕 (TAMAKI YASUHIRO)

東京大学・医学部附属病院・准教授

研究者番号：20217178

(2) 研究分担者

柳 靖雄 (YANAGI YASUO)

東京大学・医学部附属病院・特任講師

研究者番号：90376442

片岡 一則 (KATAOKA KAZUNORI)

東京大学・大学院工学系研究科・教授

研究者番号：00130245

西山 伸宏 (NISHIYAMA NOBUHIRO)

東京大学・大学院医学系研究科・准教授

研究者番号：10372385

古川 貴久 (FURUKAWA TAKAHISA)

大阪バイオサイエンス研究所・発生生物学

部門・研究部長

研究者番号：50260609

近藤 峰生 (KONDO MINEO)

名古屋大学・医学部附属病院・准教授

研究者番号：80303642

(3) 連携研究者

なし

