

令和 6 年 5 月 7 日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09672

研究課題名（和文）マウスモデル確立によるpachychoroidの病態解明と新規治療法開発

研究課題名（英文）Establishment of mouse pachychoroid model: Pathophysiological understanding and development of novel therapeutic approaches

研究代表者

松本 英孝（Matsumoto, Hidetaka）

群馬大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：30420178

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：Pachychoroidは脈絡膜外層血管の拡張を伴う脈絡膜肥厚で、近年その存在が明らかとなり注目を集めている。しかし、様々な臨床研究をもってしても未だpachychoroidの病態解明には至っていない。現在考えられているpachychoroidの原因の一つが渦静脈のうっ滞であることから、本研究では、マウスとニホンザルを用いて渦静脈を眼外で結紮することによって渦静脈をうっ滞させてpachychoroidモデルを作製した。そして、脈絡膜肥厚、渦静脈拡張や吻合、脈絡毛細血管板の充盈遅延、渦静脈の拍動性血流などのpachychoroidに特徴的な所見を確認することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

マウスやサルに渦静脈をうっ滞させることで、脈絡膜肥厚、渦静脈拡張や吻合、脈絡毛細血管板の充盈遅延、渦静脈の拍動性血流などのpachychoroidに特徴的な所見を確認することができた。つまり、pachychoroidの病態に渦静脈うっ滞が関与することが基礎研究から証明されたことになる。よって、渦静脈うっ滞を解消させることで、アジア人に多いpachychoroid関連疾患の予防や治療につながる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：Pachychoroid, characterized by choroidal thickening with dilated outer choroidal vessels, has garnered attention in recent years. However, despite various clinical studies, the pathophysiology of pachychoroid remains elusive. One proposed cause of pachychoroid is vortex venous congestion, prompting this study to create a pachychoroid model by ligating the vortex veins at the scleral surface in mice and Macaca fuscata. Subsequently, characteristic features of pachychoroid such as choroidal thickening, dilation and anastomosis of the vortex veins, choriocapillaris filling delay, and pulsatile vortex venous flow were observed.

研究分野：眼科学

キーワード：Pachychoroid マウスモデル サルモデル 渦静脈うっ滞

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

加齢黄斑変性の表現型は欧米人とアジア人で異なることが知られている。欧米人と比較して、アジア人ではドルーゼン合併や萎縮型加齢黄斑変性の割合が低い一方、ポリープ状脈絡膜血管症や男性患者の割合が高い。アジア人の加齢黄斑変性では、pachychoroid と呼ばれる脈絡膜外層血管の拡張を伴う脈絡膜肥厚が多くみられ、表現型に關与することが示唆されている。また、滲出型加齢黄斑変性に対する治療は、欧米での大規模臨床試験の結果をもとに抗血管内皮増殖因子の硝子体内注射が第一選択とされてきたが、近年、pachychoroid 關連疾患に対する光線力学的療法の有効性が報告されている³。これらのことから、アジア人の加齢黄斑変性の病態を理解し、最適な治療を行うためには、pachychoroid の病態を解明する必要がある。Pachychoroid は、近年の光干渉断層計の飛躍的な機能向上で可能となった脈絡膜の観察から見出されたが、未だ pachychoroid の病態解明には至っていない。代表的な pachychoroid 關連疾患である中心性漿液性脈絡網膜症のインドシアニングリーン蛍光眼底造影で、膨大部まで拡張した渦静脈や脈絡膜毛細管板の充盈遅延が觀察されることなどから、pachychoroid の原因の一つとして渦静脈のうっ滞が挙げられている。

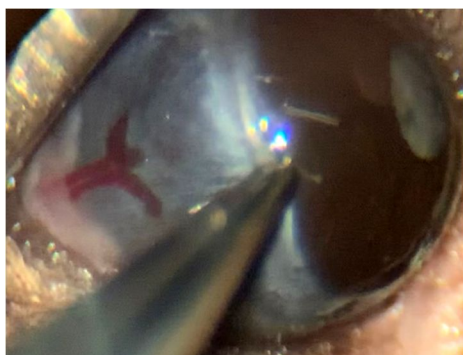
2. 研究の目的

本研究の主目的は、マウスの渦静脈をうっ滞させることによって、pachychoroid が形成されることを証明することである。最も一般的な哺乳類の実験動物である野生型マウスの渦静脈を眼外で結紮してうっ滞させることによってマウス pachychoroid モデルを作製する。また、この pachychoroid モデルにおいて、網膜色素上皮障害や漿液性網膜剥離、脈絡膜新生血管などの臨床で見られるような pachychoroid に關連する眼底変化が発生するかを評価する。このマウス pachychoroid モデルが確立すれば、渦静脈のうっ滞が pachychoroid の一因であることを証明できるとともに、pachychoroid 關連疾患の病態解明につながると思われる。

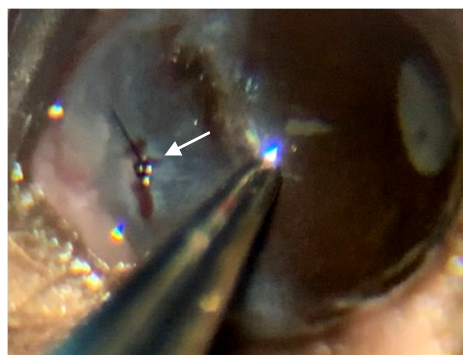
3. 研究の方法

ヒト眼球と同様にマウス眼球でも強膜面に 4 本の渦静脈を確認することができる。耳側の結膜切開後、上下の渦静脈を強膜面に露出させ、10-0 ナイロン糸で結紮することによってマウス pachychoroid モデルを作製する。マウス pachychoroid モデル作製後、day 1, 3, 7, 14, 28 で光干渉断層計とインドシアニンググリーン蛍光眼底造影を撮影し、pachychoroid と漿液性網膜剥離、脈絡膜新生血管の有無を確認する。また、同タイムコースで眼球の凍結切片を作製し、組織学的に pachychoroid と漿液性網膜剥離、脈絡膜新生血管の有無を確認するとともに、TUNEL 染色で視細胞死の有無を評価する。さらに、網膜色素上皮のフラットマウントを作製し、ZO-1 抗体を用いた免疫組織化学染色で網膜色素上皮細胞障害の有無を評価する。

マウス渦静脈 (結紮前)



マウス渦静脈 (結紮後)



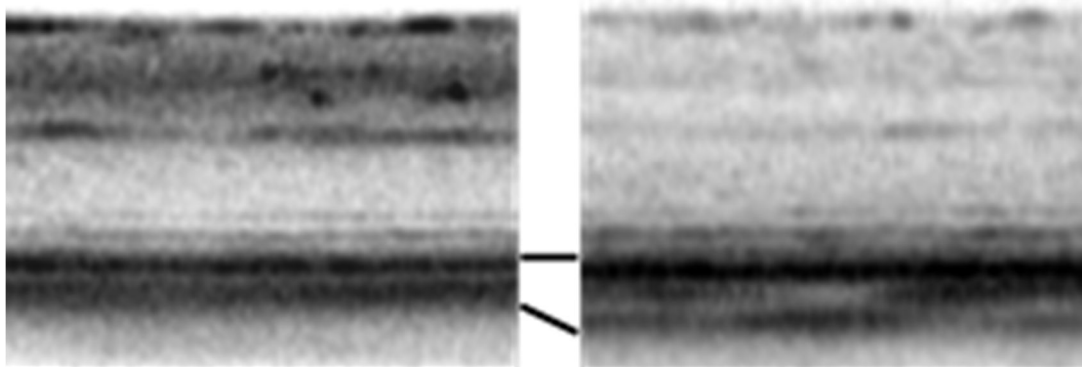
結膜を切開して渦静脈を露出させ、眼外で結紮すると渦静脈血流が遮断される (矢印)

4. 研究成果

マウス pachychoroid モデル作製後 1 週以内では、インドシアニングリーン蛍光造影で脈絡膜血管の拡張を確認することができた。また、光干渉断層計と凍結組織切片において脈絡膜の肥厚も確認することができた。近年の pachychoroid の臨床研究によって、脈絡膜分水嶺を跨ぐ渦静脈吻合が pachychoroid における重要な所見であることが明らかとなった。しかし、マウス眼には脈絡膜分水嶺が存在しないため渦静脈吻合の評価が行えない。そこで、我々は他の研究で使用しなかったニホンザルを用いてマウスと同様の pachychoroid モデルを作製した。耳側の 2 つの渦静脈を 10-0 ナイロン糸で結紮したところ、光干渉断層計やインドシアニンググリーン蛍光造影で脈絡膜肥厚や渦静脈拡張、分水嶺を跨ぐ渦静脈吻合を確認することができた。さらに、インドシアニンググリーン蛍光造影の早期動画で脈絡毛細血管板の充盈遅延や渦静脈の拍動性血流などの pachychoroid 関連疾患に特徴的な所見も確認することができた。以上より、渦静脈うっ滞が pachychoroid の病態に関与することが示唆された。しかし、これらの所見は全て急性期の変化であり、その後、長期経過観察を行ったが、マウス眼球、サル眼球ともに網膜色素上皮萎縮や漿液性網膜剥離、脈絡膜新生血管などの慢性期の変化を確認することができなかった。長期経過で渦静脈のうっ滞が解消されてしまった可能性がある。

マウス渦静脈結紮前

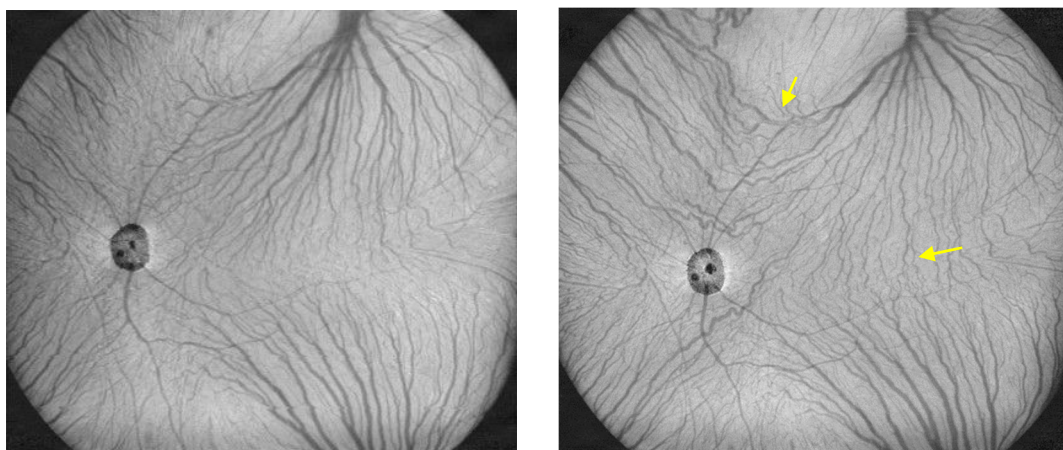
マウス渦静脈結紮後



光干渉断層計 (B モード) : 渦静脈結紮後には脈絡膜肥厚が確認される

サル渦静脈結紮前

サル渦静脈結紮後



光干渉断層計(en face) : サル渦静脈結紮後には分水嶺を跨ぐ渦静脈吻合が形成される(矢印)

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 1件）

1. 著者名 Matsumoto H, Mukai R, Saito K, Hoshino J, Kishi S, Akiyama H.	4. 巻 -
2. 論文標題 Vortex vein congestion in the monkey eye: A possible animal model of pachychoroid	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 PLoS One	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0274137.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 松本英孝、向井亮、斎藤千真、星野順紀、岸章治、秋山英雄
2. 発表標題 サルを用いたpachychoroidモデル作製の試み
3. 学会等名 日本眼循環学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Matsumoto H, Mukai R, Saito K, Hoshino J, Kishi S, Akiyama H.
2. 発表標題 Vortex vein congestion in the monkey eye: A possible animal model of pachychoroid
3. 学会等名 Asia-Pacific Vitreo-retina Society Congress（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Matsumoto H, Mukai R, Saito K, Hoshino J, Kishi S, Akiyama H.
2. 発表標題 Vortex vein congestion in the monkey eye: A possible animal model of pachychoroid
3. 学会等名 FujiRetina（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Matsumoto H, Mukai R, Saito K, Hoshino J, Kishi S, Akiyama H.
2. 発表標題 Vortex vein congestion in the monkey eye: A possible animal model of pachychoroid
3. 学会等名 The 47th Annual Macula Society Meeting (国際学会)
4. 発表年 2024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
研究分担者	柴崎 貢志 (Shibasaki Koji) (20399554)	長崎県立大学・看護栄養学部・教授 (27301)	
研究分担者	松崎 利行 (Matsuzaki Toshiyuki) (30334113)	群馬大学・大学院医学系研究科・教授 (12301)	
研究分担者	秋山 英雄 (Akiyama Hideo) (60359586)	群馬大学・大学院医学系研究科・教授 (12301)	

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
---------	---------