

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 10 日現在

機関番号：88612

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22591975

研究課題名（和文）ヒト小児眼球由来細胞を用いた新しい網膜細胞分化誘導法の確立

研究課題名（英文）Establishment of a novel method for retinal cell differentiation using human cells derived from child eyeballs

研究代表者

仁科 幸子 (NISHINA SACHIKO)

独立行政法人国立成育医療研究センター・感覚器・形態外科部 眼科・医師

研究者番号：40237954

研究成果の概要（和文）：網膜神経分化誘導を促進する低分子化合物の同定を目指した。その結果、1) ストレス応答 p38MAP キナーゼの阻害剤 SB203580 が中胚葉由来の心筋細胞分化を抑制し、外胚葉由来の神経細胞分化誘導を促進すること、2) p38MAP キナーゼ/MEF2C 転写因子/BMP2 のシグナル伝達が関与すること、また、3) ストレス応答 JNK MAP キナーゼ経路が神経伸長に必須の役割を果たすことを明らかにした。さらに4) 標的既知化合物約 1,600 種類をスクリーニングし、神経細胞分化を促進する低分子化合物を約 20 種類同定した。ヒト小児眼球由来細胞にも同様な薬効を示すか検討中である。

研究成果の概要（英文）：We aimed to identify small molecules that can induce neuronal cell differentiation. As the results, we show that 1) the p38 MAPK-specific inhibitor SB203580 blocks the spontaneous differentiation of ES cells into cardiomyocytes, and instead induces the differentiation of these ES cells into neurons 2) p38 regulates BMP2 gene expression through the transcription factor MEF2C, and 3) JNK signaling pathway regulates axon elongation. Furthermore, 4) we screened 1,600 well-characterized small molecule compounds and identified about 20 drugs that stimulate neuronal differentiation.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2012 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学

キーワード：視覚障害、先天性疾患、再生医療、ES 細胞、網膜芽細胞種、低分子量化合物、p38MAP キナーゼ、SB203580

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

1. 研究開始当初の背景

先天白内障、緑内障、重症網膜硝子体疾患など小児の視覚障害の半数以上を占める先天性眼異常の中には治療がなく、将来の再生医療が期待されている。

2. 研究の目的

眼形成関連遺伝子の導入による従来法とは異なり、簡便で、処理後は洗浄可能な安全性の高い網膜細胞分化誘導法の確立を目的とした。

3. 研究の方法

洗浄可能な低分子化合物を用いることを考えた。網膜神経分化誘導を可能にする低分子化合物を同定するため、未分化能の高いマウス ES 細胞を用いて、ハイスループットスクリーニング系の確立を行った。

4. 研究成果

マウス ES 細胞から神経細胞分化誘導系を確立し、1) ストレス応答 p38MAP キナーゼの阻害剤 SB203580 が中胚葉由来の心筋細胞分化を抑制し、外胚葉由来の神経細胞分化誘導を促進すること、2) p38MAP キナーゼ/MEF2C 転写因子/BMP2 のシグナル伝達が関与すること、また、3) ストレス応答 JNK MAP キナーゼ経路が神経伸長に必須の役割を果たすこと、さらに、4) 標的既知化合物約 1,600 種類をスクリーニングし、神経細胞分化を促進する低分子化合物を約 20 種類同定した。現在、これらがヒト小児眼球由来細胞にも同様の薬効を示すか検討中である。

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 10 件)

1. Takenouchi T, Nishina S, Kosaki R, Torii C, Furukawa R, Takahashi T, Kosaki K. Concurrent deletion of BMP4 and OTX2 genes, two master genes in ophthalmogenesis. *Eur J Med Genet*, 56: 50-53, 2013
2. Yokoi T, Toriyama N, Yamane T, Nakayama Y, Nishina S, Azuma N. Development of a premacular vitreous pocket. *JAMA Ophthalmol*, 2013 in press.
3. Nakayama Y, Yokoi T, Nishina S, Okuyama M, Azuma N.

Electroretinography and spectral-domain optical coherence tomography detection of retinal damage in shaken baby syndrome. *J AAPOS*, 2013 in press.

4. Azuma N, Ito M, Yokoi T, Nakayama Y, Nishina S. Vitreous outcomes after early vitreous surgery for aggressive posterior retinopathy of prematurity. *JAMA Ophthalmol*, 2013 in press.
5. Nishina S, Kosaki R, Yagihashi T, Azuma N, Okamoto N, Hatsukawa Y, Kurosawa K, Yamane T, Mizuno S, Tsuzuki K, Kosaki K. Ophthalmic features of CHARGE syndrome with CHD7 mutations. *Am J Med Genet A*, 158: 514-518, 2012
6. Nishina S, Kurosaka D, Nishida Y, Kondo H, Kobayashi Y, Azuma N. Survey of microphthalmia in Japan. *Jpn J Ophthalmol*, 56: 198-202, 2012
7. Hosono K, Ishigami C, Takahashi M, Park DH, Hirami Y, Nakanishi H, Ueno S, Yokoi T, Hikoya A, Fujita T, Zhao Y, Nishina S, Shin JP, Kim IT, Yamamoto S, Azuma N, Terasaki H, Sato M, Kondo M, Minoshim S, Hotta Y. Two novel mutations in the *EYS* Gene are possible major causes of autosomal recessive retinitis pigmentosa in the Japanese population. *PLoS ONE*, 7(2): e31036, 2012
8. Shigeyasu C, Yamada M, Mizuno Y, Yokoi T, Nishina S, Azuma N. Clinical features of anterior segment dysgenesis associated with congenital corneal opacities. *Cornea*, 31 (3): 293-298, 2012
9. Nishina S, Tanaka M, Yokoi T, Kobayashi Y, Azuma N. Stereopsis after early surgery for bilateral congenital cataracts. Update on Strabismology, Proceeding of the XIth ISA meeting, 282-286, 2012
10. Nishina S, Suzuki Y, Yokoi T, Kobayashi Y, Noda E, Azuma N. Clinical features of congenital retinal folds. *Am J Ophthalmol*, 153 : 81-87, 2012

[学会発表] (計 28 件)

1. 松下五佳、近藤寛之、石橋真吾、田原昭彦、緒方勤、仁科幸子、東範行. 真性小眼球における MFRP 遺伝子. 第 116 回日本眼科学会総会, 東京, 2012. 4

2. 仁科幸子. 乳児内斜視の治療戦略. 術前検査・治療. 第116回日本眼科学会総会, 東京, 2012.4
3. 仁科幸子. 乳幼児の眼疾患. 平成24年度東京都弱視教育研究会, 東京, 2012.4
4. Nishina S. A case with stereopsis following new surgical procedure for large-angle esotropia in Duane syndrome. Invited speaker of the symposium “Challenging cases in pediatric ophthalmology”, 27th APAO/SOE Congress, Busan, Korea, 2012.4
5. Matsushita I, Kondo H, Ishibashi S, Ogata T, Nishina S., Azuma N, Tawara A. Novel mutations in MFRP gene in Japanese patients with microphthalmos. ARVO, Fort Lauderdale, USA, 2012.5
6. 仁科幸子. 小児の斜視. 第9回青森視能訓練士の会, 青森, 2012.5
7. 仁科幸子. 乳幼児の斜視. 第6回四国eyeランドセミナー, 高松, 2012.5
8. 仁科幸子. 乳幼児の眼疾患と検査. 第45回道南眼科集談会, 函館, 2012.6
9. 仁科幸子, 伊藤牧子, 横井匡, 中山百合, 山根敬浩, 東範行, 松岡健太郎, 中澤温子. 急速に増大する嚢胞を伴った小眼球症の治療経験. 第37回日本小児眼科学会総会, 名古屋, 2012.6
10. 横井匡, 谷口紫, 伊藤牧子, 中山百合, 仁科幸子, 東範行, 千先園子, 矢内俊. ステロイドパルス療法が奏功した小児Stevens-Johnson症候群の2例. 第37回日本小児眼科学会総会, 名古屋, 2012
11. 仁科幸子. 3D映像と両眼視. 第68回日本弱視斜視学会シンポジウム“両眼視の発達と回復”, 名古屋, 2012.6
12. 仁科幸子. 先天眼疾患の診断と管理. 第24回大阪市眼科研究会, 大阪, 2012.7
13. 仁科幸子. 先天白内障・緑内障の治療. 第7回北九州眼科病診連携研究会, 小倉, 2012.7
14. Nakayama Y, Ito M, Yokoi T, Nishina S., Okuyama M, Azuma N. Electroretinography and spectral domain optical coherence tomography in shaken baby syndrome. 2nd WCPOS, Milan, Italy, 2012.9
15. 仁科幸子. 早発型発達緑内障の視機能管理. 第23回日本緑内障学会シンポジウム“小児緑内障”, 金沢, 2012.9
16. 仁科幸子. 小児の斜視. 練馬区眼科医会学術講演会, 練馬, 2012.9
17. 仁科幸子. 乳幼児の視力検査. 第1回小児眼科診療セミナー, 東京, 2012.9
18. 仁科幸子. 眼症状を伴うてんかんの眼科的管理について. 第46回日本てんかん学会シンポジウム“各診療科からみたてんかん”, 東京, 2012.10
19. 仁科幸子, 宇井-伊藤牧子, 東範行, 黒坂大次郎, 堀田喜裕, 西田保裕, 近藤寛之. 小眼球症の手術に関する全国調査. 第66回日本臨床眼科学会, 京都, 2012.10
20. 仁科幸子. 乳幼児の眼鏡処方. 第66回日本臨床眼科学会モーニングクルーズ“小児の眼鏡処方”, 京都, 2012.10
21. 仁科幸子. 小児の神経眼科. 第66回日本臨床眼科学会インストラクションコース“やさしい神経眼科”, 京都, 2012.10
22. Nishina S. Survey of microphthalmia in Japan. Pre-Academy IOPS Pediatric Ophthalmology and Strabismus Day, Chicago, USA, 2012.11
23. Nishina S., Yokoi T, Nakayama Y, Ui-Ito M, Yamane T, Noda E, Tanaka M, Azuma N. Analysis of retinal structure and function in eyes with optic nerve hypoplasia. 第51回日本網膜硝子体学会 Distinguished investigators' forum, 甲府, 2012.11
24. Yamane T, Ui-Ito M, Yokoi T, Nakayama Y, Nishina S., Azuma N. Surgical outcomes of tractional retinal detachment associated with familial exudative vitreoretinopathy. 第51回日本網膜硝子体学会 Distinguished investigators' forum, 甲府, 2012.
25. 仁科幸子. 斜視と弱視. 東京都眼科医会卒後研修会, 東京, 2012.11
26. 仁科幸子. 小児の斜視. 第95回富山大学眼科臨床カンファレンス, 富山, 2013.1
27. 仁科幸子. 診断のポイント. 第36回日本眼科手術学会 教育セミナー“未熟児網膜症の診断と治療”, 福岡, 2013.1
28. 仁科幸子. 小児眼科診療のポイント. 第3回高知県眼科女性医師の会, 高知, 2013.2

〔図書〕(計1件)

仁科幸子編集：眼科診療クオリファイ9 子どもの眼と疾患；中山書店（2012）

〔産業財産権〕

○出願状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

仁科 幸子 (NISHINA SACHIKO)

独立行政法人国立成育医療研究センター・感覚器・形態外科部 眼科・医師

研究者番号：40237954