

平成 26 年 5 月 1 日現在

機関番号：32653

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2011～2013

課題番号：23689072

研究課題名（和文）上皮・実質・内皮幹細胞のエピジェネティク分化制御による革新的な三次元的角膜の再生

研究課題名（英文）Corneal regeneration using epithelial, stromal, and endothelial precursor cells based on epigenetical control.

## 研究代表者

三村 達哉 (Mimura, Tatsuya)

東京女子医科大学・医学部・講師

研究者番号：70463867

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 21,000,000 円、（間接経費） 6,300,000 円

研究成果の概要（和文）：老化した細胞や培養細胞ではDNAレベルの変化なしに遺伝子発現が変化するエピジェネティクス化が生じることが近年明らかになっているが角膜疾患については、まだ解明されていない。本研究では角膜組織幹細胞とエピジェネティクス変化を調べた。研究用ヒトドナー角膜の角膜上皮、実質、内皮の各層より細胞を採取し、培養した。また、選択的に未分化な細胞を採取するために、スフェア法という方法により、角膜上皮、実質、内皮の各層から組織幹細胞/前駆細胞を採取し、メチル化を調べた所、高齢者のドナー由来の角膜の方が、若年者のドナー角膜と比較してメチル化率が高かった。

研究成果の概要（英文）：We examined cellular aging and epigenetical alteration in corneal cells. We obtained corneal cells from endothelium, stoma, and epithelium of various aged donor corneas. Additionally, we obtained progenitor cells from each corneal cell layer by sphere-forming assay. By comparing the methylation among donor age, we found the ratio of methylation was higher in the cell from older donor cornea compared with younger donor corneas.

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：眼発生・再生医学 エピジェネティクス 角膜再生

# 様式 C - 19、F - 19、Z - 19、CK - 19(共通)

## 1. 研究開始当初の背景

老化した細胞や培養細胞ではDNAレベルの変化なしに遺伝子発現が変化するエピジェネティクス化が生じることが近年明らかになってきた。癌をはじめ、あらゆる疾患におけるエピジェネティクス異常が、病態に関与し、診断や治療の標的となることが明らかになりつつあるが、幹細胞、とくに感覚器における幹細胞とエピジェネティクスとの関わりについてはまったく知られていない。

## 2. 研究の目的

本研究では、角膜組織幹細胞とエピジェネティクス変化の関係に焦点をしぼり、幹細胞におけるDNA、ヒストン、クロマチンのメチル化異常を調べる。また特定の部位のメチレインを抑制し、質の良い組織幹細胞を採取し、角膜上皮・実質・内皮の各層より得られた幹細胞を用いて作成した各シートを組み合わせることにより、再生医療に応用することを目標とする。

## 3. 研究の方法

角膜上皮・実質・内皮より選択的に採取した前駆細胞と培養細胞を採取しエピジェネティクス変化を調べる。

スフェア法によりメチル化を生じていない組織幹細胞を角膜上皮・実質・内皮の各層より採取し、得られた幹細胞を用いて上皮、実質、内皮幹細胞シートを作成する。再生シートの透明性や機能を評価する。

再生シートを家兎に移植し、移植後の角膜透明性を評価する。

## 4. 研究成果

研究用ヒトドナー角膜の角膜上皮、実質、内皮の各層より細胞を採取し、培養した。また、選択的に未分化な細胞を採取するために、スフェア法という方法により、角膜上皮、実質、内皮の各層から組織幹細胞/前駆細胞を採取することに成功した。それぞれの前駆細胞は通常の培養細胞と比較してメチル化率が低かった。また高齢者由来の角膜細胞と比較して、若年者由来の細胞はメチル化率が低く、エピジェネティクスという観点から細胞自体が老化していないと考えられた。メチル化が低い、前駆細胞を用いて作成した角膜シートを家兎に移植することにより角膜透明性維持に働くことがわかった。

## 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〕英文 (計 69 件)

1. Mimura T, Yamagami S, Kamei Y, Goto M, Kondo A, Matsubara M. Measurement of Specific Tear IgE With ImmunoCAP Rapid. Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology in press.
2. Noma H, Mimura T, Masahara H, Shimada K. Pentraxin 3 and other inflammatory factors in central retinal vein occlusion and macular edema. Retina in press.
3. Mimura T, Noma H, Yamagami S. Conjunctival sensitization to hydrolyzed wheat protein in facial soap. J Investig Allergol Clin Immunol in press.
4. Noma H, Funatsu H, Mimura T, Shimada K. Role of inflammation in macular edema with branch retinal vein occlusion. Curr Eye Res in press
5. Noma H, Mimura T, Kuse M, Shimada K. Association of electroretinogram and morphological findings in central retinal vein occlusion with macular edema. Clin Ophthalmol in press
6. Noma H, Mimura T, Yasuda K, Shimura M. Vascular endothelial growth factor and its soluble receptors-1 and -2 in iris neovascularization and neovascular glaucoma. Ophthalmologica in press.
7. Mimura T, Yamagami S, Noma H, Kamei Y, Goto M, Kondo A, Matsubara M. Specific IgE for wheat in tear fluid of patients with allergic conjunctivitis. Cutan Ocul Toxicol. 2014 Mar 31.
8. Mimura T, Noma H, Funatsu H, Kondo A, Matsubara M. Retinal neuroprotective effect of Sirtuins. JSM Ophthalmol 2014;2(1): 1016
9. Mimura T, Usui T, Yamagami S, Miyai T, Amano S. Relationship between total tear IgE and specific serum IgE in autumnal allergic conjunctivitis. Cornea. 2013 Jan;32(1):14-9
10. Mimura T. Bilateral eyelid erythema associated with false eyelash glue. Cutaneous and Ocular Toxicology 2013 Mar;32(1):89-90
11. Noma H, Mimura T, Eguchi S. Association of inflammatory factors with macular edema in branch retinal vein occlusion. JAMA Ophthalmol. 2013 Feb 1;131(2):160-5.
12. Noma H, Mimura T, Shimada K. Retinal function and morphology in central retinal vein occlusion with macular oedema. Curr Eye Res. 2013 Jan;38(1):143-9.
13. Noma H, Funatsu H, Mimura T. Changes of inflammatory factors after intravitreal triamcinolone acetonide for macular edema with central retinal vein occlusion. J Ocul Pharmacol Ther. 2013 Apr;29(3):363-5
14. Noma H, Shimada K, Mimura T. Visual function after pars plana vitrectomy in macular edema with branch retinal vein occlusion. Int Ophthalmol. 2013 Jun;33(3):227-36

15. Mimura T, Yamagami S, Amano S. Corneal Endothelial Regeneration and Tissue Engineering. *Prog Retin Eye Res.* 2013 Jul;35:1-17.
16. Noma H, Mimura T, Shimada K. Changes of macular sensitivity and morphology after pars plana vitrectomy for macular edema with central retinal vein occlusion: a case series. *BMC Ophthalmol.* 2013 Feb 5;13(1):2.
17. Mimura T, Noma H, Funatsu H. Epigenetic regulation of retinal stem cells. *International Journal of Stem Cell Research and Transplantation (IJST)* 2013 Mar; 103:1-2
18. Mimura T, Yamagami S, Kamei Y, Goto M, Matsubara M. Influence of axial length on conjunctivochalasis. *Cornea.* 2013 Aug;32(8):1126-30.
19. Noma H, Funatsu H, Shimada K, Mimura T. Influence of pars plana vitrectomy on macular sensitivity and morphology in patients with branch retinal vein occlusion and serous retinal detachment. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina.* 2013 Mar 1;44(2):160-7.
20. Noma H, Shimada K, Mimura T. Influence of retinal ischemia on macular function after pars plana vitrectomy for macular edema with branch retinal vein occlusion. *Int Ophthalmol.* 2013 Mar 29. [Epub ahead of print]
21. Noma H, Shimizu H, Mimura T. Unilateral macular edema with central retinal vein occlusion in systemic lupus erythematosus: a case report. *Clin Ophthalmol* 2013;7:865-867.
22. Mimura T, Yamagami S, Kamei Y, Goto M, Matsubara M. Specific IgE in tear fluid and features of allergic conjunctivitis. *Curr Eye Res.* 2013 Sep;38(9):917-25
23. Mimura T, Noma H, Funatsu H, Yamagami S. Next-generation sequencers: what can we learn? *J Bioanal Biomed* 2013;5(2):1-3
24. Mimura T, Kaji Y, Noma H, Funatsu H, Okamoto S. The role of SIRT1 in ocular aging. *Exp Eye Res.* 2013 Jul 26;116C:17-26.
25. Noma H, Mimura T. Aqueous soluble vascular endothelial growth factor receptor-2 in macular edema with branch retinal vein occlusion. *Curr Eye Res.* 2013 Aug 23.
26. Noma H, Mimura T, Tatsugawa M, Shimada K. Aqueous flare and inflammatory factors in macular edema with central retinal vein occlusion: a case series. *BMC Ophthalmol.* 2013 Dec 11;13(1):78.
27. Noma H, Funatsu H, Mimura T. Vascular endothelial growth factor and Interleukin-6 are correlated with serous retinal detachment in central retinal vein occlusion. *Curr Eye Res.* 2012 Jan;37(1):62-7
28. Noma H, Funatsu H, Mimura T, Shimada K. Visual function and serous retinal detachment in patients with branch retinal vein occlusion and macular edema: a case series. *BMC Ophthalmol.* 2011 Sep 26;11(1):29.
29. Mimura T, Nakashizuka T, Mori M. Recent advances and history of vitreous surgery. *Journal of Healthcare Engineering,* 2011 Nov;2(4):447-458.
30. Noma H, Funatsu H, Mimura T, Eguchi S, Shimada K. Influence of vitreous factors after vitrectomy for macular edema in patients with central retinal vein occlusion. *Int Ophthalmol.* 2011 Oct;31(5):393-402.
31. Mimura T, Yamagami S, Yokoo S, Usui T, Amano S. Prospects for Descemet stripping automated endothelial keratoplasty using cultured human corneal endothelial cells. *J Transplant Technol Res* S2-001, 2011
32. Noma H, Funatsu H, Mimura T, Eguchi S. Vitreous inflammatory factors and serous retinal detachment in central retinal vein occlusion: a case control series. *J Inflamm (Lond).* 2011 Dec 12;8(1):38.
33. Funatsu H, Noma H, Mimura T, Eguchi S. Vitreous inflammatory factors and macular oedema. *Br J Ophthalmol.* 2012 Feb;96(2):302-4
34. Mimura T, Mori M, Obata H, Usui T, Yamagami S, Funatsu H, Noma H, Amano S. Conjunctivochalasis: associations with pinguecula in a hospital-based study. *Acta Ophthalmol.* 2012 Dec;90(8):773-782.
35. Mimura T, Obata H, Usui T, Mori M, Yamagami S, Funatsu H, Noma H, Amano S. Pinguecula and diabetes mellitus. *Cornea.* 2012 Mar;31(3):264-8.
36. Noma H, Funatsu H, Mimura T, Tatsugawa M, Shimada K, Eguchi S. Vitreous Inflammatory Factors and Serous Macular Detachment in Branch Retinal Vein Occlusion. *Retina.* 2012 Jan;32(1):86-91.
37. Noma H, Funatsu H, Mimura T, Eguchi S, Shimada K. Inflammatory factors in major and macular branch retinal vein occlusion. *Ophthalmologica.*

- 2012;227(3):146-52
38. Noma H, Funatsu H, Mimura T, Eguchi S. Vascular endothelial growth factor receptor-2 in macular oedema with retinal vein occlusion. *Ophthalmic Res.* 2012 Mar 9;48(1):56-58.
39. Mimura T, Nakashizuka T, Kami J, Kohmura M, Sato S, Dou K, Mori M. Bilateral choroidal detachment after cord blood stem cell transplantation in an adult patient with acute myeloid leukemia. *Int Ophthalmol.* 2012 Aug;32(4):379-81.
40. Noma H, Funatsu H, Mimura T, Shimada K. Functional-morphological changes after intravitreal injection of triamcinolone acetonide for macular edema with branch retinal vein occlusion. *J Ocul Pharmacol Ther.* 2012 Jun;28(3):231-6.
41. Mimura T, Usui T, Yamagami S, Miyai T, Amano S. Relation between Total Tear IgE and Severity of Acute Seasonal Allergic Conjunctivitis. *Curr Eye Res.* 2012 Oct;37(10):864-70.
42. Noma H, Funatsu H, Mimura T. Pigment epithelium-derived factor is related to macular microcirculation in patients with macular edema and branch retinal vein occlusion. *Int Ophthalmol.* 2012 Oct;32(5):485-9.
43. Noma H, Funatsu H, Mimura T, Shimada K. Macular sensitivity and morphology after intravitreal injection of triamcinolone acetonide for macular edema with branch retinal vein occlusion. *Retina.* 2012 Oct;32(9):1844-52.
44. Noma H, Funatsu H, Mimura T, Shimada K. Perifoveal Microcirculation in Macular Oedema with Retinal Vein Occlusion. *Open Ophthalmol J.* 2012;6:63-64.
45. Noma H, Funatsu H, Mimura T, Shimada K. Comparison of the efficacy of intravitreal triamcinolone acetonide for cystoid macular edema with versus without serous retinal detachment in branch retinal vein occlusion: influence on macular sensitivity and morphology. *BMC Ophthalmol.* 2012 Aug 9;12(1):39.
46. Noma H, Funatsu H, Mimura T. Association of electroretinographic parameters and inflammatory factors in branch retinal vein occlusion with macular oedema. *Br J Ophthalmol.* 2012 Dec;96(12):1489-93.
47. Mimura T, Noma H, Funatsu H. Development of surgical treatment for vitreous disease. *Surgical Science* 2012 Nov;3(11):507-513
48. Mimura T, Yokoo S, Yamagami S. Tissue engineering of corneal endothelium. *J. Funct. Biomater.* 2012, 3(4), 726-744
49. Mimura T, Yamazaki K. Use of the femtosecond laser for cataract surgery with intraocular lens implantation. *J Transplant Technol Res* 2012, 2:e116
50. Noma H, Mimura T. Macular sensitivity and morphology after intravitreal injection of triamcinolone acetonide for macular edema secondary to central retinal vein occlusion. *Clin Ophthalmol.* 2012;6:1901-6.
51. Noma H, Shimada K, Mimura T. Foveal Sensitivity and Morphology in Major and Macular Branch Retinal Vein Occlusion. *Open Ophthalmol J.* 2012;6:104-9.
52. Mimura T, Noma H, Yamagami S. Visual Accommodation and Advances in Management of Presbyopia. *Biol Syst* 2012, 2: 107
53. Honda N, Mimura T, Hotehama A, Usui T, Sugisaki K, Fukuoka S, Amano S. Laser treatment of giant iris cyst with nanophthalmos. *Int Ophthalmol.* 2011;31(1):17-20.
54. Mimura T, Usui T, Mori M, Funatsu H, Noma H, Yamamoto H, Aixinjueluo W, Amano S. Relationship between total tear and serum IgE in allergic conjunctivitis. *Int Arch Allergy Immunol.* 2011;154(4):349-52.
55. Mimura T, Usui T, Mori M, Funatsu H, Noma H, Amano S. Rapid immunochromatographic measurement of specific tear IgE in moderate to severe cases of allergic conjunctivitis with immfast check J1 in the spring. *Cornea.* 2011 May;30(5):524-7.
56. Noma H, Funatsu H, Mimura T, Eguchi S, Shimada K, Hori S. Vitreous levels of pigment epithelium-derived factor and vascular endothelial growth factor in macular edema with central retinal vein occlusion. *Curr Eye Res.* 2011 Mar;36(3):256-63.
57. Mimura T, Usui T, Obata H, Yamagami S, Mori M, Funatsu H, Noma H, Dou K, Amano S. Severity and determinants of pinguecula in a hospital-based population. *Eye Contact Lens.* 2011 Jan;37(1):31-35.
58. Hotehama A, Mimura T, Usui T, Kawashima H, Amano S. Sudden onset of amantadine-induced reversible

- bilateral corneal edema in an elderly patient: Case report and literature review. *Jpn J Ophthalmol.* 2011 Jan;55(1):71-74. Epub 2011 Feb 18. No abstract available.
59. Mimura T, Usui T, Mori M, Funatsu H, Noma H, Yamamoto H, Aixinjueluo W, Amano S. Relation between total tear IgE and specific serum IgE in seasonal allergic conjunctivitis. *Cornea.* 2011 Jul;30(7):790-5.
60. Noma H, Funatsu H, Mimura T, Eguchi S, Shimada K. Role of soluble vascular endothelial growth factor receptor-2 in macular oedema with central retinal vein occlusion. *Br J Ophthalmol.* 2011 Jun;95(6):788-92.
61. Noma H, Funatsu H, Mimura T, Eguchi S, Shimada K. Visual prognosis and vitreous molecules after vitrectomy for macular edema with branch retinal vein occlusion. *Clin Ophthalmol.* 2011;5:223-9.
62. Mimura T, Usui T, Yamagami S, Funatsu H, Noma H, Toyono T, Mori M, Amano S. Relationship between conjunctivochalasis and refractive error. *Eye Contact Lens.* 2011 Mar;37(2):71-8.
63. Mimura T, Usui T, Mori M, Funatsu H, Noma H, Amano S. Specific tear IgE in patients with moderate-to-severe autumnal allergic conjunctivitis. *Int Arch Allergy Immunol.* 2011 Aug 9;156(4):381-386.
64. Noma H, Funatsu H, Mimura T, Harino S, Shimada K. Functional-morphological correlates in patients with branch retinal vein occlusion and macular edema. *Retina.* 2011 Nov;31(10):2102-8.
65. Fukuoka S, Amano S, Honda N, Mimura T, Usui T, Araie M. Effect of trabeculectomy on ocular and corneal higher order aberrations. *Jpn J Ophthalmol.* 2011 Sep;55(5):460-6.
66. Noma H, Funatsu H, Mimura T, Eguchi S, Hori S. Soluble vascular endothelial growth factor receptor-2 and inflammatory factors in macular edema with branch retinal vein occlusion. *Am J Ophthalmol.* 2011 Oct;152(4):669-677.e1
67. Mimura T, Nakashizuka T, Kami J, Kohmura M, Sato S, Dou K, Mori M. Asymptomatic subconjunctival entrapment of a cilium. *Int Ophthalmol.* 2011 Aug;31(4):325-6.
68. Noma H, Funatsu H, Mimura T, Shimada K. Influence of ischemia on visual function in patients with branch retinal vein occlusion and macular edema. *Clin Ophthalmol.* 2011;5:679-685.
69. Noma H, Funatsu H, Harino S, Sugawara T, Mimura T, Shimada K. Association of electroretinogram and morphological findings in branch retinal vein occlusion with macular edema. *Doc Ophthalmol.* 2011 Oct;123(2):83-91.
- [学会発表](計30件)  
紙面の都合上、代表的なもの2件を記載する。
1. 三村達哉、中川卓、山上聰、天野史郎 ヒト角膜内皮細胞の全ゲノム解析によるDNAメチル化プロファイル 角膜カンファランス2013 第29回日本角膜移植学会 南紀白浜2013年2月14日
  2. 三村達哉 角膜内皮の老化と再生 第80回東京女子医大 東医療センター 眼科医局講演会 特別講演 東京2013年10月12日
- [図書] 英文図書(計2件)
1. Mimura T, Tabata Y, Amano S. Transplantation of corneal stroma reconstructed with gelatin and multipotent precursor cells from corneal stroma. In: Daniel Eberli, editor. *Regenerative Medicine and Tissue Engineering; From Cells to Organs / Book 2 page 347-362 (ISBN 978-953-307-688-1),* Publisher: InTech, August 2011
  2. Mimura T, Yokoo S, Yamagami S. Corneal endothelial tissue bioengineering using cultured human corneal endothelial precursor cells. In: Jose A. Andrades, editor. Chapter 18, *Regenerative Medicine and Tissue Engineering; / Book page 429-451 (ISBN 978-953-51-1108-5),* Publisher: InTech.
- [産業財産権]  
出願状況(計0件)  
取得状況(計0件)
- [その他]  
ホームページ等なし
- ## 6. 研究組織
- (1)研究代表者  
三村達哉 (Mimura, Tatsuya)  
東京女子医科大学・医学部・講師  
研究者番号 : 70463867
- (2)研究分担者 なし
- (3)連携研究者 なし