

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 8 日現在

機関番号：82612

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462767

研究課題名(和文) ヒト小児眼球由来細胞と低分子化合物を用いた新規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 pediatric eye ball and small compound

研究代表者

仁科 幸子 (Nishina, Sachiko)

国立研究開発法人国立成育医療研究センター・感覚器・形態外科部・眼科・医員

研究者番号：40237954

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、「網膜神経細胞を含む神経細胞の分化誘導法の確立を目的」に実験を行った。その結果、1) iPS細胞から培養皿の中で長い軸索を持つ視神経細胞(網膜神経節細胞)を作製することに成功した。また、2) マウスES細胞に1,600種類の臨床薬剤を添加して、複数の化合物が神経細胞分化誘導を促進することを見出した。このうちスタチンは、中内胚葉遺伝子の発現誘導を抑制し、逆に外胚葉遺伝子の発現を亢進した。興味深いことに、蛋白質ファルネシル化の阻害がスタチンによる細胞運命変換の原因であること見出した。

研究成果の概要(英文)：In this study, we tried to establish to generate neuronal cells including self-induced retinal ganglion cells (RGCs). Results: 1) After development of the optic vesicle from the induced stem cell embryoid body in three-dimensional culture, conversion to two-dimensional culture, achieved by supplementation with BDNF, resulted in differentiation of RGCs; 2) We utilised a mouse embryonic stem cell differentiation system and a library of well-characterised drugs to identify these metabolic factors. We found that statins, which inhibit the mevalonate metabolic pathway, suppressed primitive streak formation in vitro and in vivo. These results may contribute to both basic and clinical science, including embryology, neurology, pathognomy, and treatment of various optic nerve diseases that threaten vision.

研究分野：眼科学

キーワード：網膜神経節細胞 神経細胞 iPS細胞 ES細胞

1. 研究開始当初の背景

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法がなく、ヒト iPS 細胞や ES 細胞などを用いた再生医療が期待されている。しかしながら、*in vivo* を反映した網膜神経細胞を作り出すことには成功していない。

2. 研究の目的

大きな期待が寄せられているヒト iPS 細胞や ES 細胞を用いて、臨床応用可能な機能的なヒト網膜神経細胞を調製する方法を開発することを目的とする。

3. 研究の方法

培養皿内で各種分化誘導因子等を添加することで、ヒト iPS 細胞から機能的な視神経細胞を作成する。また、培地交換によって除去可能な標的既知化合物のライブラリーとマウス ES 細胞を用いて、簡便で安全性の高い神経細胞分化誘導促進因子を探索する。

4. 研究成果

本研究では、「網膜神経細胞を含む神経細胞の分化誘導法の確立を目的」に実験を行った。その結果、1) ヒト iPS 細胞から培養皿の中で長い軸索を持つ視神経細胞(網膜神経節細胞)を作製することに成功した(Scientific Reports 2015)。また、2) マウス ES 細胞に1,600種類の臨床薬剤を添加して、複数の化合物が神経細胞分化誘導を促進することを見出した。このうちスタチンは、中内胚葉遺伝子の発現誘導を抑制し、逆に外胚葉遺伝子の発現を亢進し、神経細胞の分化誘導を促進した。興味深いことに、蛋白質ファルネシル化の阻害がスタチンによる細胞運命変換の原因であることを見出した(論文準備中)。

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)

1. Sarafino M, Trivedi RH, Levin AV, Wilson ME, Nucci P, Lambert SR, Nischal KK, Plager DA, Bremond-Gignac D, Kekunnaya R, Nishina S, Tehrani NN, Ventura MC. Use of the Delphi process in paediatric cataract management. Br J Ophthalmol, 2015 Sep 29. pii: bjophthalmol-2015-307287. doi:

10.1136/bjophthalmol-2015-307287. [Epub ahead of print]

2. Katagiri S, Yokoi T, Nishina S, Azuma N. Structure and morphology of radial retinal folds with familial exudative vitreoretinopathy. Ophthalmology. 123(3): 666-668, 2016
3. Yokoi T, Nakayama Y, Nishina S, Azuma N. Abnormal traction of the vitreous detected by swept-source optical coherence tomography is related to the maculopathy associated with optic disc pits. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 254: 675-682, 2016
4. Yokoi T, Nishina S, Fukami M, Ogata T, Hosono K, Hotta Y, Azuma N. Genotype-Phenotype Correlation of the PAX6 Gene Mutations in Aniridia. Human Genome Variation, 2016, 3: 15052
5. Seko Y, Azuma N, Yokoi T, Kami D, Ishii R, Nishina S, Toyoda M, Shimokawa H, Umezawa A. Anteroposterior Patterning of Gene Expression in the Human Infant Sclera: Chondrogenic Potential and Wnt Signaling. Curr Eye Res, in press
6. Tanaka T, Yokoi T, Tamalu F, Watanabe S, Nishina S, Azuma N. Generation of retinal ganglion cells with functional axons from human induced pluripotent stem cells. Sci Rep, 2015, 5: 8344

[雑誌論文](計3件)

1. 八木橋めぐみ, 仁科 幸子, 萬束 恭子, 鹿田 千尋, 新保 由紀子, 赤池 祥子, 越後貫 滋子, 上村 朋世, 横井 匡, 東 範行: 先天性疾患における両眼視機能. 眼臨紀 8 (8): 564-570, 2015.
2. 仁科 幸子: 弱視. 日本医師会雑誌 特

集 視覚障害の早期発見と治療 144 (9): 1791-1794, 2015
3. 仁科 幸子: 内斜視に対する手術治療. 特集: 斜視治療アップデート 58 (3): 251-257, 2016.

〔学会発表〕(計4件)

1. 仁科幸子、八木橋めぐみ、萬束恭子、鹿田千尋、赤池祥子、越後貫滋子、上村朋世、横井匡、東範行. 先天性疾患における黄斑異常と両眼視機能. 第71回日本弱視斜視学会総会・第40回日本小児眼科学会総会合同学会, 2015.6, 神戸.
2. 仁科幸子. 頭位異常. 第31回日本弱視斜視学会講習会, 2015.6, 神戸.
3. 仁科幸子. 小児の神経眼科. 第69回日本臨床眼科学会, 2015.10, 名古屋.
4. Nishina S. Invited speaker of the APSPoS Symposium “Common Problems in Pediatric Ophthalmology” Early detection and management of deprivation amblyopia. 31th APAO Congress, 2016.3. Taiwan.
5. 仁科幸子. 乳幼児健診の現状. 東京23区小児の見えるを護る会, 2015.1, 東京.
6. 仁科幸子. 先天性疾患の治療 両眼視の獲得をめざす. 第2回雪明・新潟眼科フォーラム, 2015.2, 新潟.
7. 仁科幸子. 先天性疾患と両眼視. 北海道大学大学院医学研究科眼科学分野リサーチカンファレンス, 2015.3, 札幌.
8. 仁科幸子. 乳幼児の前眼部診療. 第18回川崎市眼疾患研究会, 2015.5, 川崎.
9. 仁科幸子. 小児の斜視と弱視. 第48回町田市医師会学術講演会, 2015.6, 町田.
10. 仁科幸子. 乳幼児の前眼部診療. 第257回長野県眼科医会集談会・第38回信州臨床眼科学研究会, 2015.6, 松本.
11. 仁科幸子. 先天性疾患の治療 両眼視の獲得をめざす. 岩手眼科学術セミナー, 2015.7, 盛岡.
12. 仁科幸子. 乳幼児健診での効果的な視覚スクリーニング. 日本小児科学

会健康診査委員会, 2015.7, 東京.

13. 仁科幸子. 注意したい小児の緑内障. 第7回小児眼科診療セミナー, 2015.9, 東京.
14. 仁科幸子. 先天性疾患の治療 両眼視の獲得をめざす. 第8回水道橋眼科フォーラム, 2015.10, 東京.
15. 仁科幸子. 乳幼児の斜視弱視診療. 第3回眼科臨床勉強会 IN 宮崎, 2015.10, 宮崎.
16. 仁科幸子. 弱視の診療. 東京都眼科医会卒後研修会, 2015.11, 東京.

〔図書〕(計0件)

〔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〕
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

仁科 幸子 (NISHINA, Sachiko)
国立成育医療研究センター・感覚器・形態外科部眼科・医員
研究者番号: 40237954

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

東 範行 (AZUMA, Noriyuki)
国立成育医療研究センター・感覚器・形態

外科部眼科・医長
研究者番号：10159395

仁科 博史 (NISHINA, Hiroshi)
東京医科歯科大学・難治疾患研究所・教授
研究者番号：60212122