

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 11 日現在

機関番号：12602

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2017

課題番号：15K15629

研究課題名(和文) 緑内障の新規治療としての強膜篩状板再生法の開発

研究課題名(英文) Regenerating lamina cribrosa as a novel treatment for glaucoma

研究代表者

大野 京子(OHNO-MATSUI, Kyoko)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・教授

研究者番号：30262174

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：篩状板再生のための移植細胞として、ヒト由来の線維芽細胞(Fb)を培養し、ラットの球後の視神経に沿って注入を行った。注入直後から当日に死亡するラットが多く見られ、病理組織的に注入細胞のくも膜下腔迷入による血栓が考えられた。そこで、視神経鞘から離れた位置で眼球後方に注入を試みたところ、個体死亡を回避することができた。移植1週間後では、ヒト線維芽細胞が視神経周囲の強膜に沿って生着し、ヒト特異的コラーゲンの免疫染色により同部位でコラーゲンを産生していた。2週間後には移植細胞は消失していたが、産生されたコラーゲンは残存しており視神経周囲強膜の肥厚がみられた。しかし視神経方向への細胞遊走はみられなかった。

研究成果の概要(英文)：Human fibroblasts were cultured and were injected around the retrobulbar optic nerve in rats. Sudden death after injection was seen and this was considered to be caused by migration of injected cells into cerebrospinal fluid. Thus, we the injected human fibrioblasts along the scleral surface but somewhat distant from the optic nerve. By this methods, sudden death was avoided. One week after injection, transplanted cells proliferated and migrated along the peripapillary sclera. Two weeks after injection, transplanted cells disappeared however produced collagen remained and the peripapillary sclera was thickened. However, no animals exhibited the migration of transplanted fibroblasts toward inside of the optic nerve.

研究分野：眼科学

キーワード：眼発生 再生医学

1. 研究開始当初の背景

緑内障は40歳以上の5%にみられ、我が国の失明原因の首位である。しかし、現行の緑内障治療では視覚障害の進行を完全に止めることは難しく、新たな根本治療の確立が望まれている。緑内障における視神経障害は強膜篩状板部位に始まるとされており (Hayreh 1978 など)、視神経を支える強膜篩状板の脆弱性や構造破綻が視神経軸索障害の原因である可能性が指摘されている (Kiumehr 2012)。強膜篩状板は、胎生期に乳頭周囲強膜の突出とそれに引き続く線維組織の増生により完成する (Wang 1997)。我々は現在、病的近視眼において間葉系幹細胞を用いた強膜再生研究を行っており、後部強膜に沿って移植された細胞が *in situ* でコラーゲンを産生することに成功している (未発表データ)。そこで、胎生期における篩状板形成のメカニズムを再現し、強膜篩状板を再生し、視神経軸索の支持基盤の構造破綻を是正することにより、軸索障害の first insult を是正することで、緑内障の発症や進行を抑制することができるのではないかと考えるに至った。

2. 研究の目的

緑内障は我が国の失明原因の首位であるが、現行の治療では視覚障害の進行を完全に止めることが難しい。緑内障における神経軸索の障害は、強膜篩状板の部位に最初に生じると報告されており、視神経を支える篩状板の構造破綻が緑内障の first insult とされている。

そこで本研究では、これまで緑内障における治療の標的組織として考えられてこなかった篩状板に着目し、間葉系幹細胞などを用いて視神経鞘周囲の強膜から篩状板を再生・肥厚させることにより、それに引き続く神経軸索の障害が抑制できるかを明らかにする。その成果は、篩状板再生という、緑内障に対する全く新しい治療を確立しようとするものであり、first insult を阻止することにより新たな根本治療に結びつく可能性が期待できる。

3. 研究の方法

(1) 篩状板再生のための移植細胞として、間葉系幹細胞 (MSC)、線維芽細胞 (Fb) を用い、視神経中央に向かい遊走、増殖を誘導する最適条件を検討する。そのためには、細胞単体での移植に加え、3次元血管構築付き細胞シートの作成、遊走因子を長期に徐放するナノゲルの作成も行う。

(2) 篩状板構造がヒトと類似しているフェレットの緑内障動物モデルを用い、(1)にて解明された最適条件に従って視神経周囲強膜に MSC の細胞懸濁液あるいは3次元シートを移植して継時的に解析し、移植細胞が視神経中央に向かって遊走し、*in situ* で新たなコラーゲンを産生し、篩状板を再生できること

を明らかにする。

(3) 篩状板再生を行った実験的緑内障動物モデルにおいて、神経軸索の減少が抑制できることを示す。

4. 研究成果

篩状板再生のための移植細胞として、ヒト由来の線維芽細胞 (Fb) を培養し、ラットの球後の視神経に沿って注入を行った。注入直後から当日に死亡するラットが多く見られたため、病理組織的に原因を調べたところ、注入細胞のくも膜下腔迷入による血栓が考えられた。そこで、視神経鞘からやや離れた位置で眼球後方に注入を試みたところ、個体死亡を回避することができた。移植1週間後の個体では、ヒト線維芽細胞が視神経周囲の強膜に沿って生着し、ヒト特異的コラーゲンの免疫染色により同部位でコラーゲンを産生していた。2週間後には免疫抑制剤投与下においても移植細胞は消失していたが、産生されたコラーゲンは残存しており視神経周囲強膜の肥厚がみられた。しかし、視神経鞘を超えて視神経内部への細胞遊走はみられなかったため、篩状板再生には至らなかった。

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](計69件)

Hosoda Y, Yoshikawa M, Miyake M, Tabara Y, Shimada N, Wanting Z, Oishi A, Nakanishi H, Hata M, Akagi T, Ooto S, Nagaoka N, Fang Y, Ohno-Matsui K, Cheng CU, Saw CM, Yamada R, Matsuda F, Tsujikawa A, Yamashiro K. CCDC102B confers risk of low vision and blindness in high myopia. *Nature Communications*. 9(1):1782, 2018. 査読あり DOI: 10.1038/s41467-018-03649-3
Shinohara K, Tanaka N, Jonas JB, Shimada N, Moriyama M, Yoshida T, Ohno-Matsui K. Ultrawide-Field OCT to Investigate Relationships between Myopic Macular Retinoschisis and Posterior Staphyloma. *Ophthalmology*, 2018 (in press) 査読あり DOI: 10.1016/j.ophtha.2018.03.053
Ohno-Matsui K, Ikuno Y, Lai TYY, Gemmy Cheung CM. Diagnosis and treatment guideline for myopic choroidal neovascularization due to pathologic myopia. *Prog Retin Eye Res*. 63:92-106, 2018. 査読あり DOI: 10.1016/j.preteyeres.2017.10.005
Fang Y, Yokoi T, Nagaoka N, Shinohara K, Onishi Y, Ishida T, Yoshida T, Xu X, Jonas JB, Ohno-Matsui K. Progression of myopic maculopathy during 18-year follow-up.

Ophthalmology. 125(6):863-877, 2018
査読あり doi:
10.1016/j.ophtha.2017.12.005
Ohno-Matsui K. Pathologic myopia.
Annals of Eyes Science. 3:8, 2018
査読あり
<http://aes.amegroups.com/article/view/3983>
Jonas JB, Nagaoka N, Fang YX, Weber P,
Ohno-Matsui K. Intraocular pressure
and glaucomatous optic neuropathy in
high myopia. IOVS. 58(13):5897-5906,
2017 査読あり DOI:
10.1167/iovs.17-21942
Ishida T, Morohoshi K., Takeuchi Y,
Soma R, Uchida M, Ohno-Matsui K.
Swept-source optical coherence
tomographic findings in eyes with
metastatic choroidal tumor. Am J
Ophthalmol. 8:44-47, 2017 査読あり
DOI: 10.1016/j.ajoc.2017.10.005
Ohno-Matsui K., Fang Y, Uramoto K,
Shinohara K, Yokoi T, Ishida T, Jonas
JB. Peri-dome choroidal deepening in
highly myopic eyes with dome-shaped
maculas. Am J Ophthalmol. 183:134-140,
2017. 査読あり DOI:
10.1016/j.ajo.2017.09.009
Jonas JB, Weber P, Nagaoka N,
Ohno-Matsui K. Temporal vascular
arcade width and angle in high axial
myopia. Retina. 2017. (in press) 査
読あり DOI:
10.1097/IAE.0000000000001786
Ishida T, Yoshida T., Shinohara K, Cao
K, Nakahama K, Morita I., Ohno-Matsui
K. Potential role of sirtuin 1 in
Müller glial cells in mice choroidal
neovascularization. PLoS One.
12(9):e0183775, 2017 査読あり DOI:
10.1371/journal.pone.0183775
Shinohara K, Shimada N, Moriyama M,
Yoshida T., Jonas JB, Yoshimura N,
Ohno-Matsui K. Posterior staphylomas
in pathologic myopia imaged by
wide-field optical coherence
tomography. IOVS. 58(9):3750-3758,
2017. 査読あり DOI:
10.1167/iovs.17-22319
Ohno-Matsui K., Fang Y, Morohoshi K.,
Jonas JB. Optical coherence
tomographic imaging of posterior
episclera and tenon's capsule. IOVS.
58(9):3389-3394, 2017. 査読あり DOI:
10.1167/iovs.16-21394
Shinohara K, Yoshida T., Liu H,
Ichinose S, Ishida T, Nakahama K,
Nagaoka N, Moriyama M, Morita I.,
Ohno-Matsui K. Establishment of novel
therapy to reduce progression of

myopia in rats with experimental
myopia by fibroblast transplantation
on sclera. J Tissue Eng Regen Med.
12(1):e451-e461, 2017 査読あり DOI:
10.1002/term.2275
Fang Y, Jonas JB, Yokoi T, Cao K,
Shinohara K, Ohno-Matsui K. Macular
bruch's membrane defect and
dome-shaped macula in high myopia.
PLoS One. 12(6):e0178998, 2017 査読あ
り DOI: 10.1371/journal.pone.0178998
Ohno-Matsui K. What is the fundamental
nature of pathologic myopia?. Retina.
37(6):1043-1048, 2017 査読あり DOI:
10.1097/IAE.0000000000001348
Jonas JB, Weber P, Nagaoka N,
Ohno-Matsui K. Glaucoma in high myopia
and parapapillary delta zone. PLoS One.
12(4):e0175120, 2017 査読あり DOI:
10.1371/journal.pone.0175120
Ohno-Matsui K., Alkabes M, Salinas C,
Mateo C, Moriyama M, Cao K, Yoshida T.
Features of posterior staphylomas
analyzed in wide-field fundus images
in patients with unilateral and
bilateral pathologic myopia. Retina.
37(3):477-486, 2017 査読あり DOI:
10.1097/IAE.0000000000001327
Yokoi T, Zhu D, Bi HS, Jonas JB, Jonas
RA, Nagaoka N, Moriyama M, Yoshida T.,
Ohno-Matsui K. Parapapillary diffuse
choroidal atrophy in children is
associated with extreme thinning of
parapapillary choroid. IOVS.
58(2):901-906, 2017 査読あり DOI:
10.1167/iovs.16-20652
Jonas JB, Ohno-Matsui K., Panda-Jonas
S. Optic nerve head histopathology in
high axial myopia. J Glaucoma.
26(2):187-193, 2017 査読あり DOI:
10.1097/IJG.0000000000000574
Yokoi T, Jonas JB, Shimada N, Nagaoka
N, Moriyama M, Yoshida T, Ohno-Matsui
K. Peripapillary diffuse
chorioretinal atrophy in children as
a sign of eventual pathologic myopia
in adults. Ophthalmology.
123(8):1783-1787, 2016 査読あり DOI:
10.1016/j.ophtha.2016.04.029

[学会発表](計 192 件)

Ohno-Matsui K. Imaging of pathologic
myopia. RetinaChina2018. 2018.3.30,
Qingdao, China
Ohno-Matsui K. The origin of myopic
CNV. The 2nd annual
International Swept Source
OCT and Angiography Conference.
2018.2.16, Paris, France
Ohno-Matsui K., Shinohara K.

Wide-Field OCT for Pathologic Myopia. 2018APAO. 2018.2.9, Hongkong, China

Ohno-Matsui K. State-of-the-art imaging of pathologic myopia. The 2nd Taiwan - Japan Vitreoretinal Joint Meeting. 2017.12.3, 東京都千代田区(国際フォーラム)

Ohno-Matsui K., Cheung G, Lai T, Hirakata A. The cutting edge of pathologic myopia. AAO(American Academy of Ophthalmology)2017. 2017.11.13, Neworleans, USA

Yokoi T, Yoshida T., Shinohara K, Nagaoka N, Ohno-Matsui K. Long-term change of optic disc appearance in children with pathologic myopia and its impact on visual field. AAO(American Academy of Ophthalmology)2017. 2017.11.12, Neworleans, USA

Ohno-Matsui K. Strange pattern of choroidal thickening; It was not just VKH... The retina society meeting2017. 2017.10.5, Boston, USA

Fang Y, Yokoi T, Nagaoka N, Shinohara K, Onishi Y, Ishida T, Yoshida T., XU X, Cao K, Jonas JB, Ohno-Matsui K. Progression of maculopathy due to pathologic myopic: long-term study of more than 10 years. International myopia conference 2017. 2017.9.14-17, Birmingham, England

Ohno-Matsui K. Staphyloma and dome-shaped maculopathy. 17th Euretina congress. 2017.9.9, Barcelona, Spain

Ohno-Matsui K. What is the origin of myopic CNV?. MaculART 2017. 2017.7.5, Paris, France

Ohno-Matsui K. Being too thin is not always a bad thing for choroid. 40th Annual Macula Society Meeting. 2017.6.7, Singapore

Ohno-Matsui K. The impact of pathologic myopia on visual impairment in asia and beyond. 2017APAO. 2017.3.4. Singapore(Suntec Singapore)

Ohno-Matsui K. Peripapillary diffuse atrophy is an indicator in children for eventual pathologic myopia in adults. 2016 Autumn Meeting of Ophthalmological Society of Taiwan. 2016.11.13. Kaohsiung,Taiwan(Chung Gung Memorial Hospital)

Ohno-Matsui K., Cheung G, Lai T, Hirakata A. Diagnosis and Management of Complications due to Pathologic Myopia. AAO(American Academy of

Ophthalmology)2016. 2016.10.17. Chicago,USA(McCormick Place)

Ohno-Matsui K. Imaging of Pathologic Myopia. 3rd International conference on Pathologic Myopia. 2016.10.1、東京都千代田区(ホテルニューオータニ)

Ohno-Matsui K. Imaging of optic nerve in highly myopic eyes. XXII International society for Eye Research Biennial Meeting(ISER). 2016.9.27、東京都新宿区(京王プラザホテル)

Ohno-Matsui K., Alkabes M, Mateo C, Moriyama M. Features of posterior staphylomas analyzed by wide-field fundus imaging and 3DMRI in patients with pathologic myopia. XXXth Meeting of the Club Jules Gonin. 2016.7.7. Bordeaux, France

Ohno-Matsui K. Imaging of pathologic myopia. Samsung Medical Center Retina Symposium. 2016.6.25. Seoul, Korea.(Sungkyunkwan University Hospital)

Yoshida T., Ishida T, Kejia C, Shinohara K, Hongding L, Ohno-Matsui K. The correlation between sirt1 and muller cells in the development of CNV. ARVO 2016. 2016.5.4. Seattle, USA.

Ohno-Matsui K. High myopia and myopia control forum. International Retinal Forum / Annual Meeting of Chinese Ocular Fundus Diseases Society, 2016.4.14. Xiamen, China.

〔図書〕(計2件)

Ohno-Matsui K et al. Lippincott Williams & Wilkins, Fundus Autofluorescence. 2015, P.247-251

Ohno-Matsui K et al. Springer, Myopia and Glaucoma. 2015, P75-87

〔産業財産権〕

取得状況(計2件)

名称:発明の名称:眼底画像解析装置、眼底画像解析方法及びプログラム

発明者:森田 育男、大野 京子、森山 無
価、茂出木 敏雄、近藤 純一、高橋 洋
一

権利者:同上

種類:特許

番号:第 6038438 号

取得年月日:2016/11/11

国内外の別:国内

名称:発明の名称:眼科疾患の画像解析装置、眼科疾患の画像解析方法及び眼科疾患の画像解析プログラム

発明者:森田 育男、大野 京子、森山 無
価、茂出木 敏雄、近藤 純一、高橋 洋

—

権利者：同上
種類：特許
番号：第 5935146 号
取得年月日：2016/05/20
国内外の別：国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大野 京子 (OHNO-MATSUI, Kyoko)
東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究
科・教授
研究者番号：3 0 2 6 2 1 7 4

(2) 研究分担者

相原 一 (AIHARA, Makoto)
東京医科歯科大学・その他・特任教授
研究者番号：8 0 2 2 2 4 6 2

吉田 武史 (YOSHIDA, Takeshi)
東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究
科・講師
研究者番号：3 0 4 5 1 9 4 1

諸星 計 (MOROHOSHI, Kei)
東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究
科・助教
研究者番号：3 0 4 5 1 9 4 1