

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和元年6月20日現在

機関番号：17102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2018

課題番号：16K15735

研究課題名(和文) 網膜色素変性の病態を反映するバイオマーカーの探索

研究課題名(英文) Investigation of biomarkers for retinitis pigmentosa

研究代表者

石橋 達朗 (ISHIBASHI, tatsuro)

九州大学・大学病院・特任教授

研究者番号：30150428

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：網膜色素変性(RP)患者6例とコントロール患者3例を対象として、手術時に採取した硝子体の解析を実施し、RPの病期の進行に伴い濃度が上昇するタンパク、ならびに濃度が低下するタンパクをそれぞれ複数個同定できた。研究期間を延長して更なる患者サンプルの解析を実施し、新たに複数のターゲット・タンパクを同定できた。

また、抗酸化酵素であるSOD3の活性がコントロール患者に比較して、RP患者の前房水中で有意に低下していることが明らかとなったが、視機能との有意な関連が認められなかった。現在、血清中の抗酸化酵素と視機能の関連も追加で検証中であり、視機能と有意な関連を示すバイオマーカーの候補が同定できている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究において同定された複数のバイオマーカーの候補から、今後の研究において、網膜色素変性(RP)の病態との関連性を明らかにすることができる可能性が十分にある。その結果は、患者の病期や病気の進行速度を客観的に判断できるだけでなく、薬剤の治療効果判定などへと応用できる可能性が高い。最終的には、申請者のグループで進めている「RPの病態解明と新しい治療法開発」へと繋がっていく予定であり、治療法のない難病に苦しむ患者に対して大きな福音となるばかりでなく、その保険医療分野に果たす役割は大きい。

研究成果の概要(英文)：We analyzed the vitreous samples obtained both from patients with retinitis pigmentosa (RP) and controls, under surgery. We detected some target proteins which were increased or decreased in concentration according to the disease progression. Moreover, we detected that antioxidant enzyme SOD3 was significantly decreased in aqueous humor obtained from RP patients, compared to controls. However, we found no significant association between the SOD3 concentration in aqueous humor and visual function. Now, we also investigate the associations among several antioxidant enzymes in serum related to the visual function.

研究分野：眼科学、眼病理学

キーワード：網膜色素変性 バイオマーカー

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

網膜色素変性 (retinitis pigmentosa: RP) は未だ有効な治療法の確立されていない遺伝性疾患で、我が国の失明原因の上位を占める。単一遺伝子疾患ではないため、原因遺伝子によってどのように視細胞死 (アポトーシス) が生じるかについては不明な点が多く、また原因遺伝子を同定する遺伝子診断システムも整備されていないため、治療法開発のハードルとなっている。

そのため、原因遺伝子によらない RP に共通した病態を解明し、それぞれのメカニズムに則した治療法を開発することが新しい治療法開発の糸口になると考えられる。これまでに我々は RP 患者より得られた臨床サンプルやモデル動物の解析により、「酸化ストレス」と「慢性炎症」が RP の病態に密接に関与していることを明らかにしてきた。

一方、RP の病期や病気の進行速度は、視力検査や視野検査などの自覚検査による評価が主体であり、かつ病気の進行がゆっくりであることで評価に年月を要することが大きな問題となっている。従って、治療法開発のためには、患者の病期や病気の進行速度を客観的に判断できる指標としてバイオマーカーを明らかにすることは重要な課題である。

### 2. 研究の目的

本研究では、これまでの知見をさらに発展させ、患者の眼内液 (前房水、硝子体液) ならびに疾患モデル動物から得られたサンプルをプロテオミクス解析することにより、「酸化ストレス」と「慢性炎症」に関連した RP の病態と病期を反映するバイオマーカーを探索することを目的とする。具体的には、以下のテーマで研究を実施する。

テーマ1 . プロテオミクスを用いた RP 患者の硝子体内に存在するバイオマーカーの探索

テーマ2 . プロテオミクスを用いた RP 疾患モデル動物の網膜内に存在するバイオマーカーの探索

テーマ3 . RP 患者の前房水中に存在するバイオマーカーの探索と視機能の相関

### 3. 研究の方法

テーマ1 . プロテオミクスを用いた RP 患者の硝子体内に存在するバイオマーカーの探索

プロテオミクスの手法を用いて、硝子体手術の際に採取した貴重な硝子体液に含まれる微量なタンパク質の同定、定量を行うとともに、同定されたタンパク質の機能解析ならびに病態への関与を明らかとする。さらに、患者血液中での定量を行い、視機能との関連についても解析する。

テーマ2 . プロテオミクスを用いた RP 疾患モデル動物の網膜内に存在するバイオマーカーの探索

プロテオミクスの手法を用いて、RP 疾患モデルマウスである rd10 マウス (background: C57BL6、*PDE6B* 遺伝子のミスセンス変異) の網膜に含まれる疾患特異的なタンパク質を同定する。

テーマ3 . RP 患者の前房水中に存在するバイオマーカーの探索と視機能の相関

白内障手術の際に前房水を採取し、前房水中に含まれる 8-oxo-dG ならびに炎症性サイトカイン、ケモカインの濃度を測定する。また、研究テーマ1ならびにテーマ2で同定されたバイオマーカーについても濃度を測定する。

### 4. 研究成果

テーマ1: 黄斑上膜を合併した RP 患者6例と特発性網膜上膜患者3例を対象として、手術時に採取した硝子体の解析を実施し、ターゲット・タンパク群として14個のタンパク・スポットを選定できた。その後の解析により、RP の病期の進行に伴い濃度が上昇するタンパク、ならびに濃度が低下するタンパクをそれぞれ複数個同定できたので、2017年度の臨床眼科学会で「網膜色素変性患者の硝子体タンパクのプロテオミクス解析」という演題名で成果を報告した。研究期間を延長して更なる患者サンプルの解析を実施し、新たに複数のターゲット・タンパクを同定できた。現在、最終的な解析を実施中である。

テーマ2: 研究期間中に十分な動物実験ができず、特記する成果が得られなかった。

テーマ3: 抗酸化酵素である SOD3 の活性がコントロール患者に比較して、RP 患者の前房水中で有意に低下していることが明らかとなったが、RP 患者における視機能との有意な関連が認められなかった。研究期間を延長してサンプルを追加収集したが、最終的に有意な関連までは確認できなかった。一方で、血清中の抗酸化酵素と視機能の関連も追加で検証中であり、視機能と有意な関連を示すバイオマーカーの候補が同定できており、英文原著として投稿し、revise中である。

### 5. 主な発表論文等

{雑誌論文}(計 0件)

{学会発表}(計 1件)

金本尚志、池田康博、村上祐介、中武俊二、園田康平、木内良明、網膜色素変性患者の硝子体タンパクのプロテオミクス解析、日本臨床眼科学会、2017

〔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：  
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：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等：該当なし

## 6. 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名：池田 康博

ローマ字氏名：(IKEDA, yasuihiro)

所属研究機関名：九州大学

部局名：医学研究院

職名：准教授

研究者番号(8桁)：20380389

研究分担者氏名：吉田 茂生

ローマ字氏名：(YOSHIDA, shigeo)

所属研究機関名：久留米大学

部局名：医学部

職名：教授

研究者番号(8桁)：50363370

研究分担者氏名：村上 祐介

ローマ字氏名：(MURAKAMI, yusuke)

所属研究機関名：九州大学

部局名：医学研究院

職名：助教

研究者番号(8桁)：50634995

### (2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。