

令和 2 年 6 月 8 日現在

機関番号：32713

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K16941

研究課題名(和文) 糖尿病網膜症におけるヒストン脱メチル化酵素jmd1aの検討

研究課題名(英文) Investigation of histone demethylase JMJD1A in diabetic retinopathy

研究代表者

塩野 陽 (shiono, akira)

聖マリアンナ医科大学・医学部・講師

研究者番号：20737598

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,000,000円

研究成果の概要(和文)：正常酸素下における網膜の血管成長程度の比較をJMJD1A欠損マウスと非欠損マウスで行った。Image Jのangiogenesis analyzer (Carpentier, 2012)を用いて、生後5日、生後8日、5週齢において血管密度や血管長など比較したが、有意な差は認められなかった。次に網膜における新生血管を定量するために酸素誘導性網膜症モデルを作成した。その結果、非欠損マウスと比較してJMJD1A欠損マウスでは新生血管の統計学的に有意な抑制が認められた。また無灌流領域において有意差は出ていないものの、JMJD1A欠損マウスでは低下傾向を認めていた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、糖尿病網膜症や滲出型加齢黄斑変性を始めとする血管新生、血管透過性亢進を病態とする網脈絡膜疾患に対する治療薬として、VEGF阻害薬が広く使用されている。しかしながら、効果が不十分であったり、短期間しか効果が得られない症例も多く存在する。JMJD1Aはヒストン脱メチル化酵素として知られていたが、近年、腫瘍領域でVEGFとは異なるメカニズムで血管増殖に関与していることが示された。私たちは網膜血管におけるJMJD1Aの機能解析を行い、VEGF阻害薬とは異なるメカニズムからのアプローチにより新規治療法の開発を目指す。

研究成果の概要(英文)：We investigated the difference of retinal vascular growth under normoxia in JMJD1A-deficient and non-deficient mice. Image J angiogenesis analyzer (Carpentier, 2012) was used to compare the vascular density and vascular total length at postnatal day 5, day 8, and 5 weeks, but there was no significant difference.

Next, JMJD1A-deficient and non-deficient mice were exposed to increased oxygen levels cage to make Oxygen-Induced Retinopathy (OIR) model and we quantify neovascularization in the retina. As a result, low neovascularization was observed in JMJD1A-deficient mice than non-deficient mice and there was statistically significant difference. Although there was no significant difference in the vaso-oblivation area, a decrease tendency was observed in the JMJD1A-deficient mice.

研究分野：眼科 血管新生

キーワード：jmd1a 糖尿病網膜症

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

近年、糖尿病網膜症や滲出型加齢黄斑変性を始めとする血管新生、血管透過性亢進を病態とする網脈絡膜疾患に対する治療薬として、血管内皮増殖因子 (VEGF:vascular endothelial growth factor) 阻害薬が広く使用されている。しかしながら、効果が不十分であったり、短期間しか効果が得られない症例も多く存在する。JMJD1A はヒストン脱メチル化酵素として知られていたが、近年、腫瘍において、VEGF とは異なるメカニズムで血管増殖に関与していることが示された。本研究では JMJD1A ノックアウト(global knock out: GKO)マウスを用いて、網膜血管における JMJD1A の機能解析を行い、VEGF 阻害薬とは異なるメカニズムからのアプローチにより新規治療法の開発を目指す。

### 2. 研究の目的

VEGF 阻害薬とは異なるメカニズムによる治療薬の開発が急がれる。JMJD1A は基礎実験において VEGF と異なるメカニズムで血管新生に関与している事が報告されており、新たな治療ターゲットの可能性を探索する。

### 3. 研究の方法

#### JMJD1A GKO マウスによる異常血管新生の検討

JMJD1A GKO マウスと野生型(Wild Type : WT)マウスを飼育し、生後5日、8日の通常飼育下での成長過程における血管成長の差を検討する。また5週齢における成熟血管での差を検討する。

JMJD1A GKO マウスと WT マウスを高圧酸素化で飼育後、通常酸素化で飼育することで酸素誘発性網膜症を発症させる。その後 P17 で眼球を摘出し、網膜フラットマウントを作成して、免疫化学染色を行い新生血管、無還流領域について検討を行う。

### 4. 研究成果

#### 正常酸素下における網膜の血管成長比較

ImageJ の angiogenesis analyzer ( Carpentier ,2012 )を用いて、生後5日、生後8日、5週齢において血管密度や血管長など比較した。

生後5日、8日、5週齢において血管長、分岐数、血管範囲で明らかな有意差を認めなかった。(図1,図2)

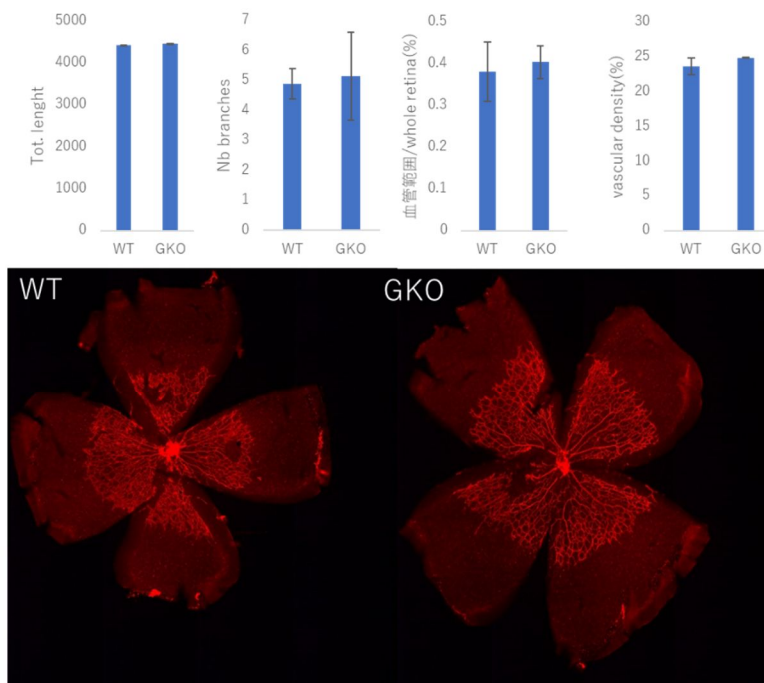


図1.生後5日におけるJMJD1A WT,GKO 血管成長の比較  
WT n=5, GKO n=3 normalized by area (\*P<0.05)

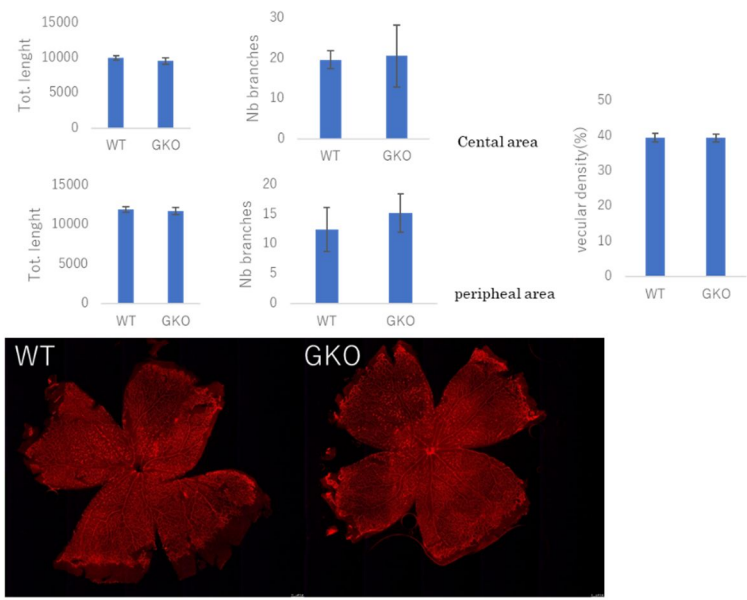


図2.生後8日におけるJMJD1A WT,GKO 血管成長の比較  
WT n=7, GKO n=4 normalized by area (\*P<0.05)

### OIR モデルにおける新生血管と無血管領域

JMJD1A ノックアウト(global knock out: GKO)マウスを用いて、網膜における新生血管を定量するために Oxygen Induced Retinopathy model (OIR model)を作成した。その結果、WT マウスと比較して JMJD1A GKO マウスでは新生血管の統計学的に有意な抑制が認められた。また無灌流領域において有意差は出ていないものの、JMJD1A GKO マウスでは低下傾向を認めていた。(図 3)

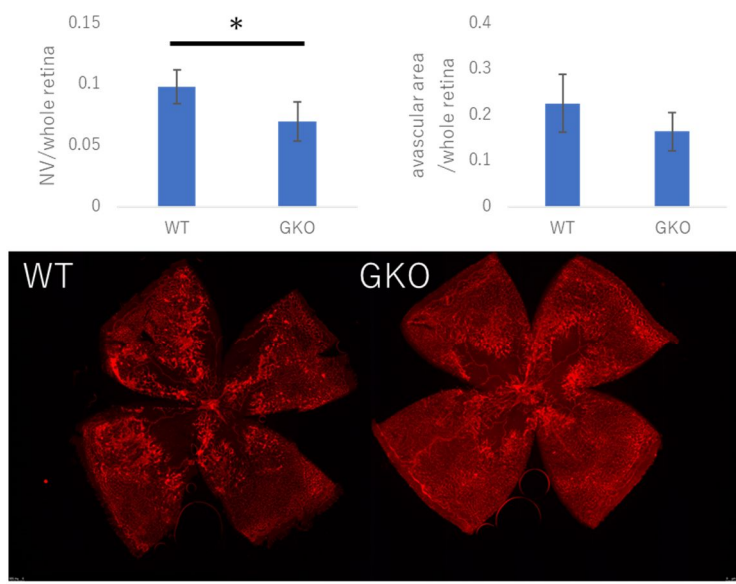


図3.OIRモデルにおけるJMJD1A WT,GKO の比較  
WT n=5, GKO n=8 normalized by area (\*P<0.05)

以上のことから JMJD1A GKO マウスは正常発育下で明らかに有意な変化はでないが、OIR モデルにおいては新生血管の統計学的に有意な抑制が認められており、JMJD1A GKO マウスでは低下傾向を認めており、OIR モデルにおける新生血管に強い関連性が認められ

る。

今後はマウス数を増やし、OIR model での再現性を確認したのち、P12 における無還流領域の確認を行い、ヒト網膜血管内皮細胞、または JMJD1A GKO マウスの OIR model の網膜での網羅的遺伝子解析を行い JMJD1A の網膜における機能解析を行う。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Shiono A, Kogo J, Sasaki H, Yomoda R, Jujo T, Tokuda N, Kitaoka Y, Takagi H.	4. 巻 39
2. 論文標題 HEMI-TEMPORAL INTERNAL LIMITING MEMBRANE PEELING IS AS EFFECTIVE AND SAFE AS CONVENTIONAL FULL PEELING FOR MACULAR HOLE SURGERY	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Retina	6. 最初と最後の頁 1779-1785
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/IAE.0000000000002215	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Shiono A, Kogo J, Sasaki H, Yomoda R, Jujo T, Tokuda N, Kitaoka Y, Takagi H.	4. 巻 13
2. 論文標題 Optical coherence tomography findings as a predictor of clinical course in patients with branch retinal vein occlusion treated with ranibizumab.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 PLoS One	6. 最初と最後の頁 e0199552
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0199552.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Yomoda R, Sasaki H, Kogo J, Shiono A, Jujo T, Sekine R, Tokuda N, Kitaoka Y, Takagi H.	4. 巻 -
2. 論文標題 Comparative study of straight vs angled incision in 27-gauge vitrectomy for epiretinal membrane.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Clinical Ophthalmology	6. 最初と最後の頁 2409-2414
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2147/OPHTH.S183456	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計24件（うち招待講演 3件/うち国際学会 6件）

1. 発表者名 塩野 陽
2. 発表標題 Investigate the possibility of PPAR alpha in treatment for diabetic retinopathy
3. 学会等名 第122回日本眼科学会総会 シンポジウム1（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 重城達哉, 佐々木寛季, 塩野 陽, 向後二郎, 高木 均.
2. 発表標題 糖尿病網膜症におけるTLR4を介したヒストンH2Bの影響に関する検討
3. 学会等名 第122回日本眼科学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐々木寛季, 四方田 涼, 塩野 陽, 松村欣宏, 田中十志也, 酒井寿郎, 高木 均
2. 発表標題 血管内皮細胞におけるPPAR 活性化による糖尿病網膜症抑制メカニズムの検討
3. 学会等名 第122回日本眼科学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Sasaki H, Jujo T, Shiono A, Kogo J, Takagi H
2. 発表標題 Hemi-temporal internal limiting membrane peeling as a safety and useful procedure for macular hole surgery
3. 学会等名 2018 annual meeting of The Association for Research in Vision and Ophthalmology (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kogo J, Shiono A, Sasaki H, Jujo T, Takagi H
2. 発表標題 Retinal thickness changes and fovea migration in eyes with idiopathic macular hole after vitrectomy with hemi-temporal internal limiting membrane peeling
3. 学会等名 2018 annual meeting of The Association for Research in Vision and Ophthalmology (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shiono A, Sasaki H, Takagi H
2. 発表標題 Selective PPAR alpha modulator, pemafibrate as a novel therapeutic target for diabetic retinopathy
3. 学会等名 2018 annual meeting of The Association for Research in Vision and Ophthalmology (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Jujo T, Sasaki H, Shiono A, Kogo J, Takagi H
2. 発表標題 Prospective evaluation of morphological and functional change after intravitreal ranibizumab therapy for macular edema secondary to branch retinal vein occlusion
3. 学会等名 2018 annual meeting of The Association for Research in Vision and Ophthalmology (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 関根怜生, 塩野 陽, 向後二郎, 佐々木寛季, 四方田 涼, 重城達哉, 高木 均
2. 発表標題 特発性黄斑円孔に対するhemi-temporal ILM peelingの有用性
3. 学会等名 第10回神奈川眼科学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 塩野 陽
2. 発表標題 当院の黄斑円孔最新治療 ~Hemi temporal ILM peelingの有用性~ Update in マリアンナ
3. 学会等名 第4回聖マリアンナ眼科シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 塩野 陽
2. 発表標題 黄斑円孔閉鎖の生物学的考察と新たなる内境界膜治療
3. 学会等名 第72回日本臨床眼科学会 シンポジウム2 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐々木寛季, 関根伶生, 重城 達哉, 四方田 涼, 塩野 陽, 向後二郎, 高木 均
2. 発表標題 増殖糖尿病網膜症における25G,27G小切開硝子体手術成績の比較
3. 学会等名 第72回日本臨床眼科学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 関根伶生, 重城達哉, 四方田 涼, 佐々木寛季, 塩野 陽, 向後二郎, 高木 均
2. 発表標題 硝子体手術に多焦点眼内レンズを併用した症例の当院における術後成績
3. 学会等名 第72回日本臨床眼科学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 塩野 陽
2. 発表標題 全身介入から明らかになった網膜症の分子機構
3. 学会等名 第24回日本糖尿病眼学会, 眼学会シンポジウム(眼科) 糖尿病網膜症治療の近未来 (招待講演)
4. 発表年 2018年



1. 発表者名 佐々木寛季, 四方田涼, 塩野 陽, 高木 均
2. 発表標題 PPAR 活性化による血管内皮細胞における糖尿病網膜症抑制メカニズムの検討
3. 学会等名 第24回日本糖尿病眼学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kogo J, Shiono A, Sasaki H, Takagi H
2. 発表標題 Retinal thickness changes and fovea migration in eyes with idiopathic macular hole after vitrectomy with hemi-temporal internal limiting membrane peeling
3. 学会等名 2018 American Academy of Ophthalmology (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 向後二郎, 塩野 陽, 佐々木寛季, 重城 達哉, 関根伶生, 高木 均
2. 発表標題 特発性黄斑円孔に対するhemi-temporal ILM peelingにおける中心窩位置と網膜厚の変化
3. 学会等名 第57回日本網膜硝子体学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大坪瑞季、関根伶生、重城達哉、佐々木寛季、塩野 陽、向後 二郎、高木 均
2. 発表標題 裂孔原性網膜剥離に対する25-gaugeと27-gauge硝子体手術の比較検討
3. 学会等名 第51回神奈川県眼科臨床談話会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 重城 達哉, 関根伶生, 四方田 涼, 佐々木寛季, 塩野 陽, 向後二郎, 高木 均
2. 発表標題 27 gauge トロカールを用いた強膜内固定術の術後成績
3. 学会等名 第123回日本眼科学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 関根伶生, 重城 達哉, 塩野 陽, 佐々木寛季, 向後二郎, 高木 均
2. 発表標題 裂孔原性網膜剥離術後の嚢胞様黄斑浮腫の発症率、発症の予測因子の検討
3. 学会等名 第123回日本眼科学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 和田圭司, 重城達哉, 佐々木寛季, 塩野 陽, 向後二郎, 高木 均
2. 発表標題 27G トロカールを用いた眼内レンズ強膜固定術の後成績
3. 学会等名 第11回神奈川眼科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kogo J, Shiono A, Jujo T, Takagi H
2. 発表標題 Retinal thickness changes and fovea migration in eyes with idiopathic macular hole after vitrectomy with hemi-temporal internal limiting membrane peeling
3. 学会等名 2019 FLORetina 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takagi H, Kogo J, Shiono A, Jujo T.
2. 発表標題 Impact of hemi-temporal ILM peeling on superficial retinal displacement in macular hole surgery
3. 学会等名 19th EURETINA
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大坪瑞季, 藤田直輝, 関根伶生, 重城達哉, 佐々木寛季, 塩野 陽, 向後二郎, 高木 均
2. 発表標題 裂孔原性網膜剥離手術における27-gauge硝子体システムの有用性の検討
3. 学会等名 第73回日本臨床眼科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 和田圭司, 関根伶生, 重城達哉, 佐々木寛季, 塩野 陽, 向後二郎, 高木 均
2. 発表標題 硝子体手術に多焦点眼内レンズを併用した症例の当院における術後成績
3. 学会等名 第16回Bay Ophthalmic Surgical Seminar
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------	---------------------------	-----------------------	----