

平成 21 年 3 月 31 日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2008

課題番号：19592026

研究課題名（和文）増殖性網膜硝子体疾患の病態解明ならびに新規治療薬開発

研究課題名（英文）Investigation of the pathogenesis of proliferative vitreo-retinal diseases and development of new drug therapy

研究代表者

畑 快右（HATA YASUAKI）

九州大学・大学院医学研究院・准教授

研究者番号：90346776

研究成果の概要：

未だ有効な薬物療法が確立されていない増殖糖尿病網膜症や増殖性硝子体網膜症の病態に生理活性物質として形質転換増殖因子- $\cdot\cdot$ （TGF- $\cdot\cdot$ ）、そのシグナル伝達分子として Rho-kinase (ROCK) が関与していることを明らかにし、ROCK 阻害薬を用いた新規の薬物療法の可能性を示した。

交付額

（金額単位：円）

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|---------|-----------|-----------|-----------|
| 2007 年度 | 1,800,000 | 540,000 | 2,340,000 |
| 2008 年度 | 1,700,000 | 510,000 | 2,210,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,500,000 | 1,050,000 | 4,550,000 |

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：糖尿病網膜症、増殖硝子体網膜症、形質転換増殖因子- β 、ROCK、硝子体細胞

1. 研究開始当初の背景

増殖性網膜硝子体疾患は患者の QOL を長年にわたり著しく低下させるものであり、患者の失明への不安も計り知れない。硝子体手術の進歩には目覚ましいものがある一方で、視力予後を大きく左右するような技術的進展も今後大きな期待はしにくい状況になってきているのも事実である。

増殖性網膜硝子体疾患においては網膜硝子体界面における増殖膜の形成ならびにその瘢痕収縮が視力予後を大きく左右する因子であることは

経験的事実である。但し、これらに対する従来のアプローチは機械的に取り除く、あるいはレーザーによって瘢痕化させるという侵襲の大きいアプローチに限られており、病態形成機序に裏付けられた有効な薬物療法はこれまで確立されていない。

本研究は、視力予後を大きく左右する病態の形成メカニズムを明らかにすると同時に、エビデンスに基づいた眼科領域では全く新規の治療薬・治療アプローチが求められている。

2. 研究の目的

これまでに我々が行ってきた *in vitro* の系においては、増殖膜収縮を促進する因子として形質転換増殖因子- β (TGF- β) を主要な agonist と仮説を立てて行ってきた。確かに増殖性網膜硝子体疾患を有する患者の硝子体中では TGF- β の濃度が亢進していることも明らかにしたが、実際にヒト硝子体中で TGF- β が増殖膜収縮の key factor になっているのかは不確かである。そこで、ヒト硝子体サンプルと培養硝子体細胞を用いて、真に TGF- β が主要な agonist であるのかを確認する。TGF- β による作用は ROCK 阻害剤で阻害可能な事は既に確認しているため、ROCK 阻害剤の *in vivo* での安全性・有効性の確認作業を行う。

3. 研究の方法

ヒト硝子体サンプルを agonist とし、培養硝子体細胞を用いて *in vitro* の tipe I コラーゲン収縮能を評価し、真に TGF- β が主要な agonist であるのかを抗 TGF- β 中和抗体を用いて確認する。TGF- β による作用は ROCK 阻害剤で阻害可能な事は既に確認しているため、*in vivo* での安全性・有効性の確認作業として、増殖硝子体網膜症の家兎モデルを作製し、ROCK 阻害剤の硝子体内投与による病態制御の可能性と眼内組織への薬剤の安全性について、組織学的・電気生理学的な解析を行う。

4. 研究成果

今回の研究では、眼内増殖性疾患においては硝子体中の TGF- β 2 の濃度が有意に上昇しており、増殖膜癒痕収縮において主要な働きをしていることを明らかにした。さらに TGF- β 2 による増殖膜の癒痕収縮は選択的 ROCK 阻害剤である fasudil によって制御可能であることを示した。

また、HMG-CoA 還元酵素阻害剤であるスタチンは高脂血症治療薬として広く使われているが、近年、Rho/ROCK 経路を阻害し、多面的な作用を持つことが報告されてきている。今回、スタチンが Rho/ROCK 経路を阻害することで TGF- β 2 依存性の硝子体細胞を包埋したコラーゲン収縮 (*in vitro* 癒痕収縮モ

デル) を抑制しうることを確認した。加えて、スタチンは実際に眼内増殖性疾患の患者から得られた硝子体液刺激によるコラーゲン収縮も有意に抑制した。

最後に、ウサギを用いた *in vivo* の増殖硝子体網膜症モデルにおいても fasudil およびスタチンは明らかな毒性を示すことなく病態の進行を抑制した。すなわち、これらの薬剤を用いた新規薬物療法の可能性を見出した。

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 18 件)

Matsumoto H, Yamanaka I, Hisatomi T, Enaida H, Ueno A, Hata Y, Sakamoto T, Ogino N, Ishibashi T: Triamcinolone acetonide-assisted pars plana vitrectomy improves residual posterior vitreous hyaloid removal: Ultrastructural analysis of the inner limiting membrane. *Retina* 27:174-179, 2007.

Yamakiri K, Sakamoto T, Noda Y, Nakahara M, Ogino N, Kubota T, Yokoyama M, Furukawa M, Sonoda S, Yamada T, Doi N, Enaida H, Hata Y, Ishibashi T: Reduced incidence of intraoperative complications in a multicenter controlled clinical trial of triamcinolone in vitrectomy. *Ophthalmology* 114(2):289-296, 2007.

Kita T, Hata Y, Kano K, Miura M, Nakao S, Noda Y, Shimokawa H, Ishibashi T: TGF- β 2 and CTGF in proliferative vitreoretinal diseases ~Possible involvement of hyalocytes and therapeutic potential of Rho kinase inhibitor~ *Diabetes* 56(1):231-238, 2007.

Hata Y, Enaida H, Sassa Y, Ueno A,

Miura M, Hisatomi T, Goto Y, Ishibashi

T: Preclinical investigation of fluorometholone acetate as a potential new adjuvant during vitreous surgery. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 245:1019-1025, 2007

Sakamoto H, Sakamoto M, Hata Y, Kubota T, Ishibashi T: Aqueous and vitreous penetration of levofloxacin after topical and/or oral administration. Eur J Ophthalmol. 17:372-376, 2007.

Qiao H, Sonoda K-H, Ikeda Y, Yoshimura T, Hijioka K, Jo Y-J, Sassa Y, Tsutsumi-Miyahara C, Hata Y, Akira S, Ishibashi T: Interleukin-18 regulates pathological intraocular neovascularization. J Leuk Biol. 81(4):1012-1021, 2007

Ueno A, Hisatomi T, Enaida H, Kagimoto T, Mochizuki Y, Goto Y, Kubota T, Hata Y, Ishibashi T: Biocompatibility of Brilliant Blue G in a rat model of subretinal injection. Retina 27:499-504, 2007

Kita T, Hata Y, Miura M, Kawahara S, Nakao S, Ishibashi T. Functional characteristics of connective tissue growth factor on vitreoretinal cells. Diabetes 56: 1421-1428, 2007

Ueno A, Enaida H, Hata Y, Hisatomi T, Nakamura T, Mochizuki Y, Sakamoto T, Ishibashi T. Long-term clinical outcomes and therapeutic benefits of triamcinolone-assisted pars plana vitrectomy for proliferative vitreoretinopathy: a case study. Eur J Ophthalmol. 17:392-398, 2007

Nakao S, Hata Y, Miura M, Noda K, N.Kimura Y, Kawahara S, Kita T, Hisatomi T, Nakazawa T, Jin Y, Dana R,

Kuwano M, Ono M, Ishibashi T, and H-Moghadam A. Dexamethasone Inhibits IL-1 β -Induced Corneal Neovascularization: Role of NF- κ B-activated Stromal Cells in Inflammatory Angiogenesis. Am J Pathol. 171(3):1058-1065, 2007

Kawahara S, Hata Y, Miura M, Kita T, Sengoku A, Nakao S, Mochizuki Y, Enaida H, Ueno A, H-Moghadam A, Ishibashi T. Intracellular events in retinal glial cells exposed to ICG and BBG. Invest Ophthalmol Vis Sci. 48: 4426-4432, 2007

Hata Y, Miura M, Nakao S, Kawahara S, Kita T, Ishibashi T. Antiangiogenic property of fasudil, a potent Rho-kinase inhibitor. Jpn J Ophthalmol. 52:16-23,2008

Mochizuki Y, Enaida H, Hisatomi T, Hata Y, Miura M, Arita R, Kawahara S, Kita T, Ueno A, Ishibashi T. The internal limiting membrane peeling with Brilliant Blue G staining for retinal detachment due to macular hole in high myopia. Br J Ophthalmol 92(7):1009, 2008

Mochizuki Y, Hata Y, Hisatomi T, Kawahara S, Arita R, Enaida H, Ueno A, Ishibashi T. Posterior vitreous cortex characteristics of an eye with asteroid hyalosis. Retinal Cases & Brief Reports 2(3):184-186, 2008

Hata Y, Sassa Y, Kita T, Miura M, Kano K, Kawahara S, Arita R, Nakao S, Shih JL, Ishibashi T. VEGF expression by hyalocytes and its regulation by glucocorticoid. Br J Ophthalmol. 92:1540-1544,2008

Kawahara S, Hata Y, Kita T, Arita R, Miura M, Nakao S, Mochizuki Y, Enaida H, Kagimoto T, Goto Y, Ali Hafezi-Moghadam, Ishibashi T. Potenti Inhibition of cicatricial contraction in proliferative vitreoretinal diseases by statins. Diabetes 57 : 2784-2793,2008. Kita T, Hata Y, Arita R, Kawahara S, Miura M, Nakao S, Mochizuki Y, Enaida H, Goto Y, Shimokawa H, Ali Hafezi-Moghadam, Ishibashi T. Role of TGF- β in proliferative vitreoretinal diseases and ROCK as a therapeutic target. Proc Natl Acad Sci USA. 105:17504-17509, 2008 Arita R, Hata Y, Nakao S, Kita T, Miura M, Kawahara S, Zandi S, Almulki L, Tayyari F, Shimokawa H, Ali Hafezi-Moghadam, Ishibashi T. Rho kinase inhibition by fasudil ameliorates diabeted-induced microvascular damage. Diabetes 58: 215 -226, 2009

[学会発表](計7件)

Hata Y, Enaida H, Sassa Y, Ueno A, Miura M, Hisatomi T, Goto Y, Ishibashi T. Preclinical investigation of fluorometholone acetate as a potential new adjuvant during Vitreous surgery. Annual Meeting of the Association for Research in Vision and Ophthalmology. May 6-10, 2007 Fort Lauderdale, Florida, USA Arita R, Hata Y, Noda Y, Ueno A, Enaida H, Mochizuki Y, Ishibashi T: Bullous retinal detachment after single photodynamic therapy. Annual Meeting of the Association for Research in Vision and Ophthalmology. May 6-10, 2007 Fort Lauderdale, Florida, USA Hata Y: Therapeutic potential of

Rho-kinase inhibitors for proliferative vitreo-retinal diseases.

COE The 4th international symposium. November 7, 2007, Fukuoka, Japan

Sugahara M, Yoshimura T, Sonoda KH, Mochizuki Y, Enaida H, Oshima Y, Ueno A, Hata Y, Ishibashi T: Comprehensive analysis of cytokine/chemokine profile in vitreous fluid of diabetic retinopathy.

Annual Meeting of the Association for Research in Vision and Ophthalmology. May 6-10, 2007 Fort Lauderdale, Florida, USA

Nakao S, Hata Y, Miura M, Noda K, Kimura YN, Kawahara S, Kita T, Hisatomi T, Nakazawa T, Jin Y, Dana R, Kuwano M, Ono M, Ishibashi T, and H-Moghadam A. Dexamethasone Inhibits IL-1 β -Induced Corneal Neovascularization: Role of NF- κ B-activated Stromal Cells in Inflammatory Angiogenesis.

Gordon Research Conference (Angiogenesis) August 19-24, 2007 Salve Regina University Newport, RI

Mochizuki Y, Enaid H, Hata Y, Arita R, Kawahara S, Miura M, Ueno A, Ishibashi T: The internal limiting membrane peeling with adjust use of brilliant blue G staining for retinal detachment due to macular hole in high myopia.

Annual Meeting of the Association for Research in Vision and Ophthalmology. May 6-10, 2007 Fort Lauderdale, Florida, USA

Kita T, Hata Y, Arita R, Kawahara S, Miura M, Nakao S, Mochizuki Y, Ueno A, Hafezi-Moghadam A, Ishibashi T : Crucial Roles of TGF-beta2 in Proliferative Vitreoretinal Diseases and Rho-Kinase

Pathway as a Therapeutic Target.
The Association for Research in Vision and
Ophthalmology Fort Lauderdale, Florida, USA.
May, 2008

〔産業財産権〕

出願状況（計1件）

名称：スタチン系化合物を含有する眼内疾患
の治療・予防薬

発明者：畑 快右

権利者：畑 快右

種類：PCT

番号：P2007/001112

出願年月日：2007.10.15

国内外の別：国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

畑 快右 (HATA YASUAKI)

九州大学・大学院医学研究院・准教授

研究者番号：90346776

(2) 研究分担者

石橋 達朗 (ISHIBASHI TATSURO)

九州大学・大学院医学研究院・教授

研究者番号：30150428

後藤 純信 (GOTO YOSHINOBU)

国際医療福祉大学・保険学部・准教授

研究者番号：30336028

園田 康平 (SONODA KOH-HEI)

九州大学・大学院医学研究院・講師

研究者番号：10294943

(3) 連携研究者

なし