

令和 5 年 6 月 26 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K09987

研究課題名(和文) 視覚アレスチンの発現調節により近視の原因である眼軸延長を抑制する研究

研究課題名(英文) Regulation of visual arrestin might regulate development of myopia.

研究代表者

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・ジョイントリサーチ講座准教授

研究者番号：30451941

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：近視発症と進行メカニズムは不明であり治療法は確立されていない。今回我々は近視の分子メカニズムについて明らかにすることで新しい近視治療を開発した。今回の研究により、視覚アレスチン(Arrestin1:Arr1)をコードしたアデノウィルスを用いた網膜へのArr1発現を促す遺伝子導入により、近視誘導が約30%抑制された。また、Arr1は網膜のみならずRPEにも発現しており、RPEでは強膜のコラーゲン構造に影響を及ぼすTGFの発現が更新していた。上記のことから、近視の発症にはArr1が抑制方向に深く関与しており、Arr1の発現を制御させることにより近視抑制を可能にすることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近視の本態は眼軸の延長であり、それに伴い強膜が菲薄化し眼球の脆弱性を著しく増長することでさまざまな合併症が生じる。しかしながら、近視発症と進行のメカニズムは不明であり現在まで分子メカニズムに言及したエビデンスのある治療法は確立されていない。この度の研究から、近視の発症にはArr1が抑制方向に深く関与し、Arr1の発現調節により近視抑制を可能にすることが世界で初めて明らかになった。これは近視治療の道を切り開いたと言える。近視は全世界で急速に増加しており大きな社会懸念となっていることから、今回の結果は世界に対して大きなインパクトを与えるだけでなく大きな社会貢献に寄与すると考えられる。

研究成果の概要(英文)：It has not been identified a molecular mechanism of myopia development. In the present study, we focused on Arrestin1 (Arr1) and identified it as a potential regulator of myopia.

We administered AAV-Arr1 into mice eyes for overexpression of Arr1 in retinae, and we demonstrated the development of myopia was regulated round 30% in the eyes. We also demonstrated the Arr1 was markedly express n the retina and RPE, and the RPE increased the TGF superfamily expression, which may result in preventing sclera from collagen loss. Thus, we estimated Arr1 may be a potential regulator of myopia development.

研究分野：眼科

キーワード：近視 強膜 アレスチン アデノウィルス コラーゲン

### 1. 研究開始当初の背景

治療法のない近視患者の急増は多くの合併症の点から大きな社会問題であるが、近視発症メカニズムは不明である。本研究では、光刺激により生じる網膜内の視覚サイクルに関連する分子で、視細胞に特異的に発現する視覚アレスチンに着目し、網膜色素上皮細胞の持つ視細胞外節の貪食作用による視覚アレスチンの取り込みが網膜色素上皮細胞における各種遺伝子発現を変化させることで、眼軸延長を抑制していることを解明する。本研究成果から、視覚アレスチンの発現制御により近視発症の本態である眼軸延長の抑制を目的とする新規分子標的治療を可能とし、現在治療法のない世界中の全近視患者に対し治療が可能となることが期待される。

### 2. 研究の目的

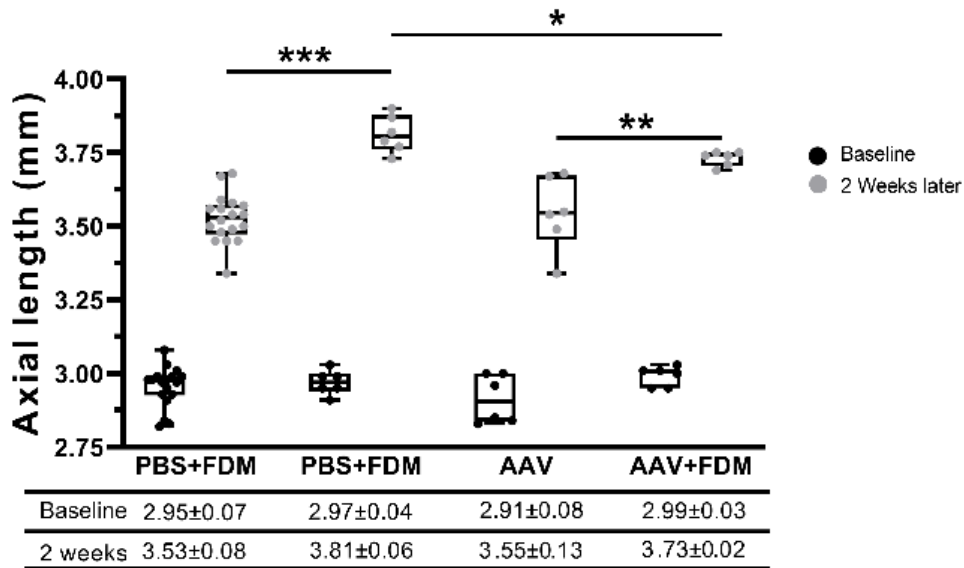
近年日本での近視患者は人口の6割に達している。近視は網膜剥離や黄斑円孔、網膜分離症、緑内障など様々な眼合併症を生じることから社会問題になっている。近視の本態は眼球の延長(眼軸延長)であり、過去の研究から網膜内に近視発症の最初のトリガーがあるとされているものの確定されていない。当研究者は光受容器である網膜視細胞と網膜色素上皮(RPE)との間に存在する視覚サイクルカスケード反応に関与する分子発現に近視発症に関わっていると考えており、視覚サイクルに関与する多くの分子の中で、何らかの分子が発現変化が眼軸延長すなわち近視を発症させる始点であるのではないかと考えている。近視発症の原因分子の確定は全世界で爆発的に増加する近視患者全員に適応となる治療法に結び付くため、その同定をめぐっては国際競争になっている。そこで眼軸延長に至る近視発症メカニズムにおいて詳細に解明することが研究の目的である。

### 3. 研究の方法

視覚アレスチン(Arr1)によるRPEを介した強膜コラーゲンの恒常性維持機構を解明し、眼軸延長との関連について明らかにする。そしてArr1を利用した近視の新しい治療薬への臨床応用に展開するまでの研究基盤を確立する。視覚アレスチン発現の機能解析:1 RPE細胞にArr1が取り込まれる機序の確立。シート状に培養したマウスRPE細胞に光刺激下で飼育したマウスと視覚遮断下で飼育したマウスから摘出した眼球網膜から分離した視細胞外節をそれぞれ共培養したのち、培養細胞切片を作成し免疫染色にてRPEの貪食作用による細胞内のArr1の存在を確認するとともに、培養RPEからタンパク抽出を行いウェスタンブロットでも細胞内発現を確認する。2 RPEにおけるArr1強制発現による細胞内遺伝子発現変化を解析。培養RPE細胞に視覚Arr1遺伝子を組み込んだウィルスベクターを導入、Arr1を強制発現させたのち、マイクロアレイ法にて遺伝子発現変化を包括的に対照群と比較解析する。特にコラーゲン発現調節関連因子と成長因子について解析する。3 遺伝子操作にて人工的にArr1遺伝子を欠如させた視覚アレスチンノックアウトマウスを作成する。視細胞、RPE、強膜の組織学的変化と発現変化因子について野生型と比較し確認するとともに、自然発生的な眼軸延長がみられるか解析する。4 Arr1を標的とした近視抑制実験。光刺激の有無にかかわらずArr1を恒常的に発現させるためにラット網膜下にArr1を発現させる遺伝子改変ウィルスを投与し、RPE内にArr1を強制発現させる。その後、視覚刺激遮断を行い、コントロールウィルス感染群と比較し、眼軸延長の抑制効果の確認後、組織切片を作成し免疫染色を行い、Arr1から眼軸延長に至る分子メカニズムの解明を行うとともに、Arr1遺伝子治療の可能性を検証する。

#### 4. 研究成果

図1



1: 眼軸測定実験。AAV-Arr1 を眼内に導入した実験的近视誘導(FDM)したマウスの目では、治療後2wにおいて近视の本態である眼軸延長が30%抑制された(図1 PBS+FDM vs. AAV+FDM)

図2

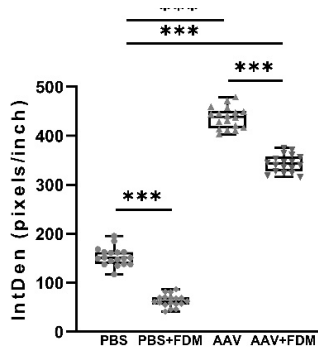
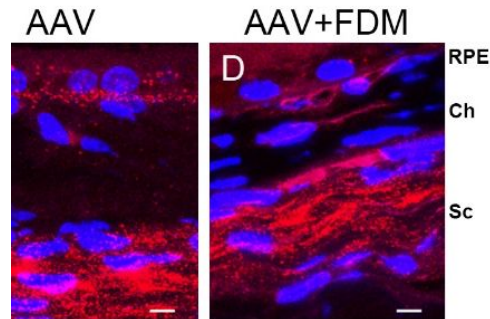
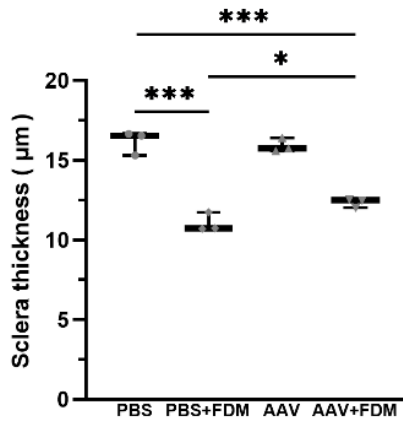


図3



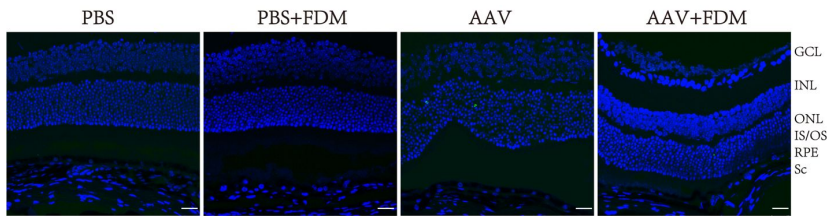
2: Arr1 の発現確認。免疫染色。AAV-Arr1 を眼内に導入した実験的近视誘導(FDM)したマウスの目では、RPE 内への Arr1 発現亢進が認められ(図2図3)、さらには、RPE 内においても TGF の発現更新が見られた(図3)。

図4



3: 強膜厚測定。AAV-Arr1 を眼内に導入した実験的近视誘導(FDM)したマウスの目の強膜は未治療群と比較して保たれている(図3図4)。

図5



4: AAV 治療において網膜細胞障害があるかの確認。TUNEL 染色にて細胞死を確認したが、AAV 導入により明らかに網膜以上は認めれていない。

#### 結果のまとめ

今回の研究により、視覚アレスチン(Arrestin1:Arr1)をコードしたアデノウイルスを用いた網膜への Arr1 発現を促す遺伝子導入により、近视誘導が約 30%抑制された。また、Arr1 は網膜のみならず RPE にも発現しており、その発現は RPE では強膜のコラーゲン構造に影響を及ぼす TGF の発現を更新させていた。上記のことから、近视の発症には Arr1 が抑制方向に深く関与しており、Arr1 の発現を制御させることにより近视抑制を可能にすることが明らかになった。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Mochida Shiho, Yoshida Takeshi, Nomura Takuhei, Hatake Ryoma, Ohno-Matsui Kyoko	4. 巻 66
2. 論文標題 Association between peripheral visual field defects and focal lamina cribrosa defects in highly myopic eyes	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Ophthalmology	6. 最初と最後の頁 285 ~ 295
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10384-022-00909-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Saito Reina, Shinohara Kosei, Tanaka Noriko, Takahashi Hiroyuki, Yoshida Takeshi, Ohno-Matsui Kyoko	4. 巻 41
2. 論文標題 ASSOCIATION BETWEEN DOME-SHAPED MACULA AND POSTERIOR STAPHYLOMA IN HIGHLY MYOPIC EYES INVESTIGATED BY ULTRA-WIDEFIELD OPTICAL COHERENCE TOMOGRAPHY	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Retina	6. 最初と最後の頁 646 ~ 652
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/IAE.0000000000002889	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ito Taiju, Igarashi-Yokoi Tae, Shinohara Kosei, Yoshida Takeshi, Ohno-Matsui Kyoko	4. 巻 20
2. 論文標題 Rapid and spontaneous resolution of hemorrhagic macular hole retinal detachment and subretinal hemorrhages in an eye with pathologic myopia: a case report	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BMC Ophthalmology	6. 最初と最後の頁 N/A
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12886-020-01653-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Fang Yuxin, Ishida Tomoka, Du Ran, Xie Shiqi, Igarashi-Yokoi Tae, Yoshida Takeshi, Watanabe Takashi, Onishi Yuka, Ohno-Matsui Kyoko	4. 巻 128
2. 論文標題 Novel Paravascular Lesions with Abnormal Autofluorescence in Pathologic Myopia	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Ophthalmology	6. 最初と最後の頁 477 ~ 480
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.opthta.2020.07.044	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Xie Shiqi, Fang Yuxin, Du Ran, Yokoi Tae, Takahashi Hiroyuki, Uramoto Kengo, Yoshida Takeshi, Ohno-Matsui Kyoko	4. 巻 40
2. 論文標題 ABRUPTLY EMERGING VESSELS IN EYES WITH MYOPIC PATCHY CHORIORETINAL ATROPHY	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Retina	6. 最初と最後の頁 1215 ~ 1223
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/IAE.0000000000002630	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Du Ran, Fang Yuxin, Jonas Jost B., Yokoi Tae, Takahashi Hiroyuki, Uramoto Kengo, Kamoi Koju, Yoshida Takeshi, Ohno-Matsui Kyoko	4. 巻 40
2. 論文標題 CLINICAL FEATURES OF PATCHY CHORIORETINAL ATROPHY IN PATHOLOGIC MYOPIA	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Retina	6. 最初と最後の頁 951 ~ 959
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/IAE.0000000000002575	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Cao Kejia, Ishida Tomoka, Fang Yuxin, Shinohara Kosei, Li Xuejiao, Nagaoka Natsuko, Ohno-Matsui Kyoko, Yoshida Takeshi	4. 巻 61
2. 論文標題 Protection of the Retinal Ganglion Cells: Intravitreal Injection of Resveratrol in Mouse Model of Ocular Hypertension	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Investigative Ophthalmology & Visual Science	6. 最初と最後の頁 13 ~ 13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1167/iovs.61.3.13	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Xu Xian, Fang Yuxin, Jonas Jost B., Du Ran, Shinohara Kosei, Tanaka Noriko, Yokoi Tae, Onishi Yuka, Uramoto Kengo, Kamoi Koju, Yoshida Takeshi, Ohno-Matsui Kyoko	4. 巻 40
2. 論文標題 RIDGE-SHAPED MACULA IN YOUNG MYOPIC PATIENTS AND ITS DIFFERENTIATION FROM TYPICAL DOME-SHAPED MACULA IN ELDERLY MYOPIC PATIENTS	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Retina	6. 最初と最後の頁 1 ~ 1
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/IAE.0000000000002395	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nagaoka Natsuko, Yoshida Takeshi, Cao Kejia, Iwasaki Yuko, Nakahama Ken-Ichi, Morita Ikuo, Ohno-Matsui Kyoko	4. 巻 20
2. 論文標題 Visual arrestin modulates gene expression in the retinal pigment epithelium: Implications for homeostasis in the retina	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochemistry and Biophysics Reports	6. 最初と最後の頁 100680 ~ 100680
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrep.2019.100680	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 伊藤大樹 吉田武史
2. 発表標題 強度近視眼における眼圧下降に伴う脈絡膜厚の変化
3. 学会等名 第124回日本眼科学会総会
4. 発表年 2019年 ~ 2020年

1. 発表者名 吉田武史
2. 発表標題 強度近視眼後部ぶどう腫症例における緑内障様視野障害
3. 学会等名 題30回日本緑内障学会
4. 発表年 2019年 ~ 2020年

1. 発表者名 Takeshi Yoshida
2. 発表標題 Detecting structural abnormalities of optic discs in high myopia
3. 学会等名 The 17th the international myopic conference (国際学会)
4. 発表年 2019年 ~ 2020年

1. 発表者名 Takeshi Yoshida
2. 発表標題 Application of MP-3 for analysis of visual field disorder in eyes with high myopia
3. 学会等名 The 17th the international myopic conference (国際学会)
4. 発表年 2019年～2020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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------