

令和 4 年 5 月 2 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09988

研究課題名(和文)原因不明のシリコンオイル関連視力低下(SORVL)は完全に予防できるのか？

研究課題名(英文)Can we prevent silicone-oil related vision loss perfectly?

研究代表者

兼子 裕規(Kaneko, Hiroki)

名古屋大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：20647458

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)：シリコンオイル(SO)は網膜硝子体手術の充填剤として長らく使用されてきたが、近年になり原因不明のSO関連視力低下(SORVL)という概念が再浮上した。私はSORVLの原因としてSO下液中の高濃度炎症性サイトカインによる網膜毒性、SO下液中の電解質異常、SO充填眼に照射される顕微鏡光による光障害、SO充填眼の網膜酸素飽和度異常、のいずれかが関与していると仮説を立てた。本研究では、SO下液中の電解質においてFeのみが有意に低下していること、網膜がFeを硝子体液から取り込み、Fe関連細胞死(フェロトーシス)を生じているという科学的証拠総合的に確認することに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究課題では、SOに伴う原因不明の視力低下(SORVL)症例に対し、その原因を科学的に検証した。この科学現象が起きる条件を今後発見できれば、SORVLを発生させない新規素材の開発や手術室での環境変更を提唱することでSORVLという現象を防ぐことが可能となる。残る課題としてSOの酸素透過性が非常に硬いことによる網膜への影響を分析することが挙げられ、これには現存するOxymap等の機械を使用することが計画される。さらに、網膜がSO自体を「異物」と誤認することによってフェロトーシスが生じている可能性も十分考えられ、SOだけでなく感染性疾患における網膜障害の治療につながる可能性も残っている。

研究成果の概要(英文)：Silicone oil (SO) has been used as a surgical adjuvant in vitreoretinal surgery for a long time, and the merits and demerits of its use have been thoroughly investigated in the past, but the concept of SO-related vision loss of unknown origin (SORVL) has recently resurfaced. I hypothesized that SORVL is caused by one of the following: (1) retinal toxicity due to high concentrations of inflammatory cytokines in the sub-SO fluid, (2) electrolyte abnormalities in the sub-SO fluid, (3) phototoxicity due to microscopic light irradiating the SO-filled eye, or (4) abnormal retinal oxygen saturation in the SO-filled eye. In the present study, we confirmed that only Fe (iron) was significantly decreased in electrolytes in the sub-SO fluid. Furthermore, we succeeded in confirming the scientific evidence that the retina intakes Fe from the vitreous humor and undergoes Fe-related cell death (ferroptosis) using cultured cells, experimental animals, and human specimens.

研究分野：網膜硝子体

キーワード：シリコンオイル 炎症性サイトカイン 電解質 光障害 網膜フェロトーシス シリコンオイル下液 FeRhoNox-1 鉄

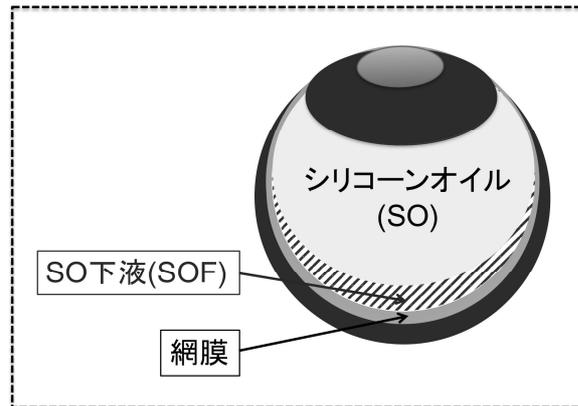
様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

シリコンオイル(SO)は高い安定性などから難治性網膜疾患に対する硝子体手術における充填材として本邦でも広く使用されてきた。特に増殖硝子体網膜症(PVR)や増殖糖尿病網膜症(PDR)において剥離した網膜を復位させ、遷延する出血を止めるのに非常に効果的である。SO 使用の歴史は数十年にわたり、その功罪は広く認識されているが、近年になり改めて原因不明の SO 関連視力低下(SORVL)という概念が注目を浴びている。SORVL では網膜光干渉計などでも顕著な異常が見られず、また SO が充填された状態で生じるだけでなく SO 抜去後に生じることがあり、その特異性が注目される。

2. 研究の目的

本研究の目的は、SORVL の原因を明らかにすることである。私は原因として SO 下液中の高濃度炎症性サイトカインによる網膜毒性、SO 下液中の電解質異常、SO 充填眼に照射される顕微鏡光による光障害、SO 充填眼の網膜酸素飽和度異常、のいずれかが関与していると仮説を立てた。



3. 研究の方法

(1) SO 注入眼の光毒性

屈折率の違いにより眼底の集光の度合いが違うことを、モデル眼球を用いて検討した。空気の屈折率が 1.0、水は約 1.3 に対して、SO のそれは約 1.4 であり、これらを模擬眼に注入し模擬眼の眼底に感熱紙を設置した。一定期間光照射したのち、感熱紙を ImageJ で数値化した。

(2) SO 下液の電解質分析

SO 下液中の高濃度炎症性サイトカインは過去の研究で一度報告している(Kaneko H. et al. Sci Rep. 2017)が、臨床所見と炎症性サイトカインの相関を見出すことはできなかった。一方、過去の報告から K (カリウム) の網膜毒性などが確認されており、これら電解質について測定した。さらに、近年注目されている鉄による細胞毒性に注目し鉄を Nitroso-PSAP 法で分析した。

(3) in vitro SO 眼モデルによる分析

培養細胞を用いた in vitro SO 注入眼モデルにおいて、Fe 取込みとそれに伴う細胞死 (ferroptosis) について検討した。Transwell 上にマウス網膜視細胞である 661W 細胞を培養し、下区画に培地を、上区画に SO を注入した in vitro SO 眼モデルを作成した[SO(+)群]。対照群は 661W 細胞を Transwell 上に培養後、上下区画ともに培地を注入した[SO(-)群]。SO 暴露から 24 時間後に FeRhoNox-1 を用いて細胞内の遊離二価鉄イオンを比較した。また、in vitro SO 眼モデルの下区画に Fe(NH₄)₂(SO₄)₂ (FAS) を 100µM 加え、48 時間後に乳酸脱水素酵素 (LDH) を測定し SO(+)群と SO(-)群で比較した。

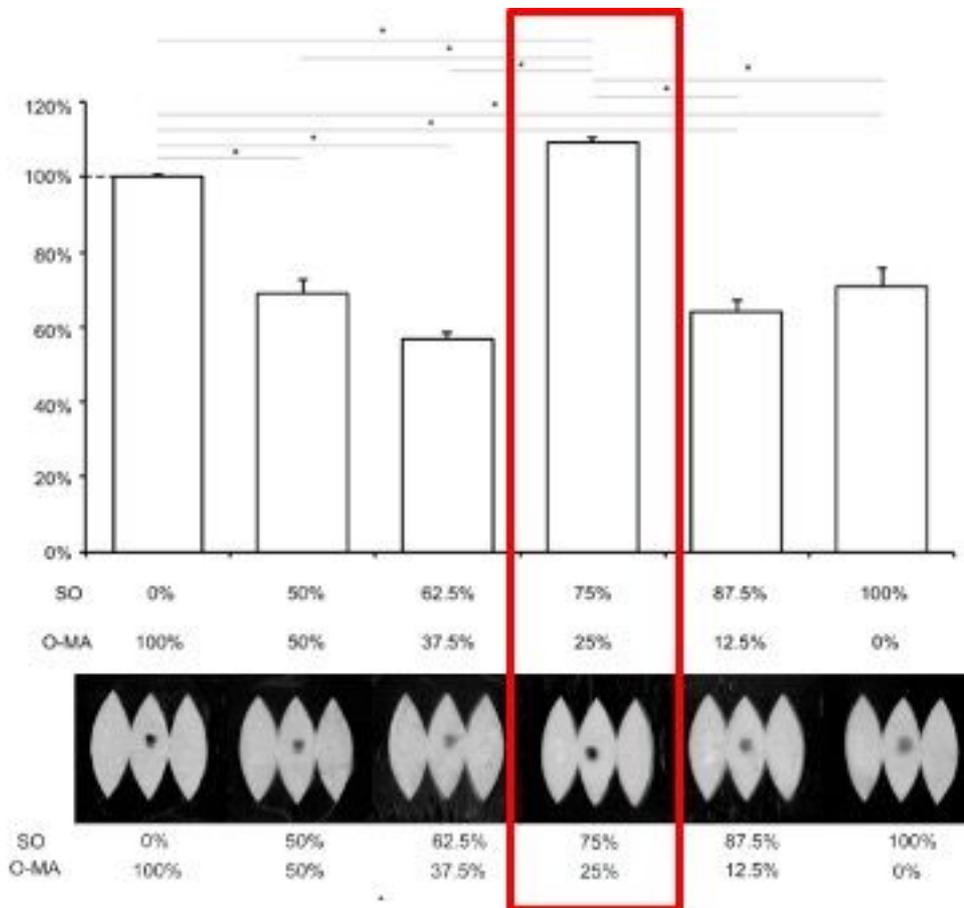
(4) SO 注入動物眼による分析

白色家兔に硝子体手術を行い眼内に SO を充填させ、その眼球を用いて研究を進めた。具体的には、硝子体手術終了時に SO を充填させた白色家兔[SO(+)]群の眼球と、対照群として硝子体手術のみ行い SO 注入しなかった白色家兔[SO(-)]群の眼球を用い、網膜切片を作成後、FeRhoNox-1 染色を用いて細胞内の遊離二価鉄イオン蓄積部位を観察した。また、網膜 lysate を用いて Fe 取り込みに関連する遺伝子群 (フェリチン軽鎖・フェリチン重鎖・トリアンフェリン受容体・フェロポーチン 1) の発現を比較した。

4. 研究成果

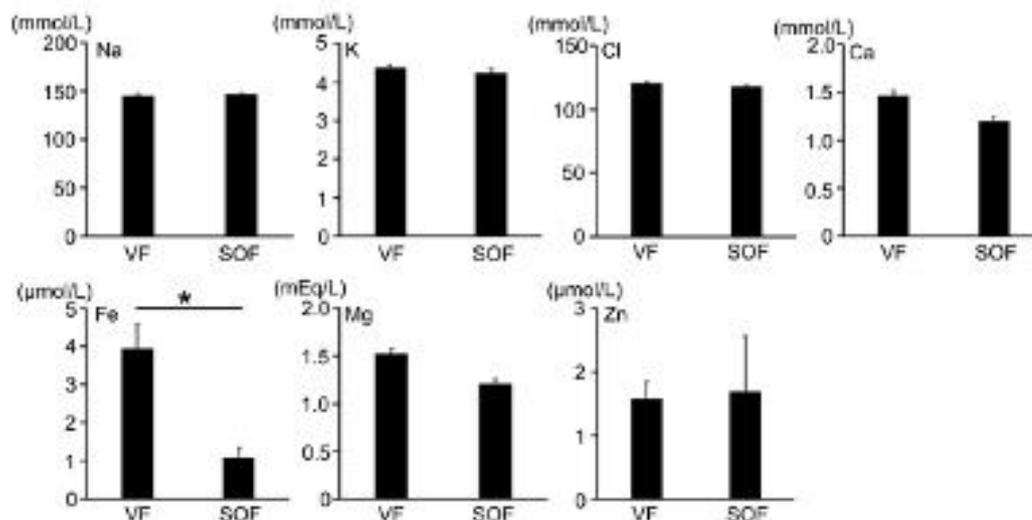
(1) SO 注入眼の光毒性

さまざまな条件と SO 専有率で模擬眼の眼底に集光される程度の違いを分析したところ、20D の眼内レンズを挿入した眼軸長 24mm の模擬眼において、SO が約 75% 注入された模擬眼で最も集光された。このことから、患者眼軸・水晶体 (眼内レンズ) 屈折値などに加え SO が注入された眼球で一定の条件を満たすと、黄斑部に強い光障害が発生する可能性が示唆された。



(2) SO 下液の電解質分析

SO 下液中の電解質を調べたところ、SO 下液中の鉄濃度が対照の硝子体液に比べて有意に低いことが確認された。これは、100 以上の硝子体液を調べて全く確認されなかった所見であり、SORVL の原因に眼内液中の低 Fe 濃度が関与していることが示唆された。現在までにこの現象は SO が Fe を吸着したのではなく、隣接する網膜が眼内液から Fe を過剰に取り込んでいる可能性を強く示唆する発見が得られている。



(3) in vitro SO 眼モデルによる分析

培養細胞を用いた in vitro SO 注入眼モデルにおいて、FeRhoNox-1 assay では、SO(+)群の FeRhoNox-1 陽性細胞数が SO(-)群に比べ有意に増加した。一方 LDH assay では、SO(+)群の LDH が SO(-)群に比べ有意に増加した。このことから、SO 注入眼では SOF 内の Fe を視細胞が取り込み、さらに視細胞の ferroptosis に関与している可能性が示唆された。

(4) SO 注入動物眼による分析

SO 注入白色家兎眼において、SO(+)白色家兎のシリコーンオイル下液はヒトで観察された変化と同様に酸化ストレスの指標である malondialdehyde の上昇が観察され、細胞死の指標の一つである乳酸脱水素酵素 (LDH) の増加が確認された。また SO(+)白色家兎網膜では FeRhoNox-1 染色陽性細胞が SO(-)群に比べ有意に多かった。さらに、In vitro シリコーンオイル充填モデル・白色家兎網膜のいずれにおいてもこれらのことから、トランスフェリン受容体の遺伝子発現亢進・フェロポーチン 1 遺伝子発現低下が確認され、細胞内に Fe が蓄積する遺伝子変化が観察された。Fe の網膜取り込みと関連遺伝子群の変化が観察され、SO 注入眼における網膜障害の本態がフェロトーシスに起因する可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計16件（うち査読付論文 16件 / うち国際共著 4件 / うちオープンアクセス 12件）

1. 著者名 Suzumura A, Kaneko H*, Funahashi Y, Takayama K, Nagaya M, Ito S, Okuno T, Hirakata T, Nonobe N, Kataoka K, Simizu H, Namba R, Yamada K, Ye F, Ozawa Y, Yokomizo T, Terasaki H	4. 巻 69
2. 論文標題 Omega-3 Fatty Acid and its Metabolite 18-HEPE Ameliorate Retinal Neuronal Cell Dysfunction by Enhancing Muller BDNF in Diabetic Retinopathy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Diabetes	6. 最初と最後の頁 724-735
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2337/db19-0550	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 Matsuura T, Kaneko H*, Takayama K, Shibata R, Kataoka K, Ito S, Tsunekawa T, Shimizu H, Suzumura A, Namba R, Ito Y, Murohara T, Terasaki H.	4. 巻 20
2. 論文標題 Diacron reactive oxygen metabolites and biological antioxidant potential tests for patients with age-related macular degeneration	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BMC Ophthalmol	6. 最初と最後の頁 56-56
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12886-020-01334-y	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 Terao R, Kaneko H.	4. 巻 21
2. 論文標題 Lipid Signaling in Ocular Neovascularization	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci.	6. 最初と最後の頁 4758-4758
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms21134758	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 Yamada K, Kaneko H*, Shimizu H, Suzumura A, Namba R, Takayama K, Ito S, Sugimoto M, Terasaki H.	4. 巻 9
2. 論文標題 Lamivudine Inhibits Alu RNA-induced Retinal Pigment Epithelium Degeneration via Anti-inflammatory and Anti-senescence Activities	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Transl Vis Sci Technol.	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) 10.1167/tvst.9.8.1	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 Shimizu H, Yamada K, Suzumura A, Kataoka K, Takayama K, Sugimoto M, Terasaki H, Kaneko H	4. 巻 61
2. 論文標題 Caveolin-1 Promotes Cellular Senescence in Exchange for Blocking Subretinal Fibrosis in Age-Related Macular Degeneration	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Invest Ophthalmol Vis Sci	6. 最初と最後の頁 21-21
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1167/iovs.61.11.21	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 Suzumura A, Terao R, Kaneko H	4. 巻 26
2. 論文標題 Protective Effects and Molecular Signaling of n-3 Fatty Acids on Oxidative Stress and Inflammation in Retinal Diseases	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Antioxidants (Basel)	6. 最初と最後の頁 920-920
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/antiox9100920	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 Takeuchi J, Kataoka K, Shimizu H, Tomita R, Kominami T, Ushida H, Kaneko H, Ito Y, Terasaki H.	4. 巻 -
2. 論文標題 Intra- and Postoperative Monitoring of Autologous Neurosensory Retinal Flap Transplantation for Refractory Macular Hole Associated with High Myopia	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Retina	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/IAE.0000000000003000	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 Kaneko H*, Hirata N, Shimizu H, Kataoka K, Nonobe N, Mokuno K, Terasaki H	4. 巻 -
2. 論文標題 Effect of internal limiting membrane peeling on visual field sensitivity in eyes with epiretinal membrane accompanied by glaucoma with hemifield defect and myopia	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Jpn J Ophthalmol	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10384-021-00817-9	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 Takashi N, Nakamura A, Kataoka K, Usui Y, Ito Y, Kaneko H*	4. 巻 100
2. 論文標題 Optical coherence tomography angiography for the diagnosis of granulomatosis with polyangiitis with serous retinal detachment: A case report.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Medicine (Baltimore)	6. 最初と最後の頁 e24789
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/MD.00000000000-24789	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 Yamada K, Kaneko H, Tsunekawa T, Shimizu H, Suzumura A, Namba R, Takeuchi J, Kataoka K, Takayama K, Inoue M, Ito Y, Terasaki H	4. 巻 97
2. 論文標題 Silicone oil-associated retinal light exposure under a surgical microscope	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Acta Ophthalmol	6. 最初と最後の頁 e742-e746
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/aos.14038	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 該当する

1. 著者名 Shimizu H, Kaneko H, Suzumura A, Takayama K, Namba R, Funahashi Y, Kataoka K, Iwase T, Hwang SJ, Ito S, Yamada K, Ueno S, Ito Y, Terasaki H	4. 巻 8
2. 論文標題 Biological Characteristics of Subsilicone Oil Fluid and Differences With Other Ocular Humors	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Transl Vis Sci Technol.	6. 最初と最後の頁 28
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1167/tvst.8.1.28.	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 該当する

1. 著者名 Nakano Y, Kataoka K, Takeuchi J, Fujita A, Kaneko H, Shimizu H, Ito Y, Terasaki H	4. 巻 14
2. 論文標題 Vascular maturity of type 1 and type 2 choroidal neovascularization evaluated by optical coherence tomography angiography	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 PLoS One.	6. 最初と最後の頁 e0216304
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0216304.	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 該当する

1. 著者名 Namba R, Kaneko H, Suzumura A, Shimizu H, Kataoka K, Takayama K, Yamada K, Funahashi Y, Ito S, Nonobe N, Terasaki H	4. 巻 60
2. 論文標題 In Vitro Epiretinal Membrane Model and Antibody Permeability: Relationship With Anti-VEGF Resistance in Diabetic Macular Edema	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Invest Ophthalmol Vis Sci.	6. 最初と最後の頁 2942-2949
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1167/iovs.19-26788.	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 該当する

1. 著者名 Kaneko H, Takashi N, Matsunaga M, Ito Y, Takeuchi J, Terasaki H, Yatsuya H, Nishiguchi KM.	4. 巻 259
2. 論文標題 Seasonal variation in submacular hemorrhages in retinal macroaneurysms and its disappearance in age-related macular degeneration.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.	6. 最初と最後の頁 3589-3596
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00417	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 Takeuchi J, Kataoka K, Shimizu H, Tomita R, Kominami T, Ushida H, Kaneko H, Ito Y, Terasaki H.	4. 巻 41
2. 論文標題 INTRAOPERATIVE AND POSTOPERATIVE MONITORING OF AUTOLOGOUS NEUROSENSORY RETINAL FLAP TRANSPLANTATION FOR A REFRACTORY MACULAR HOLE ASSOCIATED WITH HIGH MYOPIA.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Retina	6. 最初と最後の頁 921-930
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/IAE.0000000000003000	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 Kaneko H, Hirata N, Shimizu H, Kataoka K, Nonobe N, Mokuno K, Terasaki H.	4. 巻 65
2. 論文標題 Effect of internal limiting membrane peeling on visual field sensitivity in eyes with epiretinal membrane accompanied by glaucoma with hemifield defect and myopia.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Jpn J Ophthalmol.	6. 最初と最後の頁 380-387
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10384-021-00817-9	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10件（うち招待講演 7件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Hiroki Kaneko
2. 発表標題 Possible mechanism of silicone-oil related vision loss in intractable retinal diseases
3. 学会等名 ARVO Annual Meeting 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 兼子 裕規
2. 発表標題 シリコンオイルの生理 シンポジウム16「手術から学ぶ網膜生理」
3. 学会等名 第73回臨床眼科学会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 兼子 裕規
2. 発表標題 シリコンオイルによる網膜フェロトキシ
3. 学会等名 第125回日本眼科学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 兼子 裕規
2. 発表標題 加齢黄斑変性のバイオマーカー
3. 学会等名 Global Ocular Inflammation Workshop (GOIW) (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 兼子 裕規
2. 発表標題 マロンジアルデヒドと加齢黄斑変性
3. 学会等名 第39回日本眼薬理学会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 兼子 裕規
2. 発表標題 手術と科学で考える網膜診療と緑内障診療のマッチング
3. 学会等名 第22回沖縄眼研究フロンティア（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 兼子 裕規
2. 発表標題 網膜硝子体疾患研究の進め方：硝子体サンプルの解析と病態解明
3. 学会等名 第125回日本眼科学会総会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 兼子 裕規
2. 発表標題 AMDと炎症 腸内細菌は網膜疾患に関係あるのか
3. 学会等名 第54回日本眼炎症学会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 兼子 裕規
2. 発表標題 糖尿病網膜症における神経障害の病態理解とオメガ3脂肪酸内服による治療の可能性
3. 学会等名 第27回日本糖尿病眼学会総会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hi roki Kaneko
2. 発表標題 Seasonal variation and gender differences in submacular hemorrhages caused by retinal macroaneurysms and age-related macular degeneration
3. 学会等名 The 14th Joint Meeting of Japan-China-Korea Ophthalmologists（国際学会）
4. 発表年 2021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
研究協力者	清水 英幸 (Shimizu Hideyuki)	名古屋大学・医学部附属病院・病院助教 (13901)	
研究協力者	鈴村 文那 (Suzumura Ayana)	名古屋大学・医学部附属病院・病院助教 (13901)	
研究協力者	山田 和久 (Yamada Kazuhisa)	名古屋大学・医学部附属病院・大学院生 (13901)	

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
---------	---------