

令和 4 年 6 月 7 日現在

機関番号：24402

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09997

研究課題名(和文) Pachychoroid spectrum diseaseの分子生物学的病態解明

研究課題名(英文) Molecular mechanism of pachychoroid spectrum disease

研究代表者

本田 茂 (Honda, Shigeru)

大阪市立大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：60283892

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：パキコロイド関連疾患の一つである中心性漿液性脈絡網膜症(CSC)とTNFRSF10AおよびGATA5遺伝子多型との関連を新たに発見した。またCSCの関連遺伝子SLC7A5(蛋白LAT1)が培養網膜色素上皮細胞(RPE)においてコルチゾール(HC)やアルドステロン(ALD)により発現増加する事を確認した。同細胞においてはHCやALDによる基底側から絨毛側へのフルオレセイン(Fluo)輸送量の増加を認め、これはLAT1選択的阻害薬により有意に抑制された。

以上より、HCやALDは培養RPEの基底側から絨毛側へのFluo輸送量を増加させ、それがSLC7A5(LAT1)と関連している事が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

Pachychoroid spectrum disease (PSD)は2015年に提唱された疾患概念で、脈絡膜厚の増加、脈絡膜血管の拡張や透過性亢進を一義的变化とする眼底後極部の細胞変性や滲出性病変の総称とされている。PSDは日本人を含むアジア人に多いことが知られているが、その背景にある分子メカニズムは殆ど明らかにされていないため、疾患の予防や治療予後の予測が困難であった。本研究では同疾患群に関連する遺伝子を同定し、一部の機能解析を行った。これによってPSDの病態理解が進むと同時に新たな治療法開発に繋がる事が期待される。

研究成果の概要(英文)：We have newly discovered the association between central serous chorioretinopathy (CSC), which is one of the pachychoroid spectrum diseases, and TNFRSF10A and GATA5 gene polymorphisms. It was also confirmed that the CSC-related gene SLC7A5 (protein LAT1) was upregulated by cortisol (HC) and aldosterone (ALD) in cultured retinal pigment epithelial cells (RPE). In this cell line, an increase in the amount of fluorescein (Fluo) transported from the basal side to the apical side by HC and ALD was observed, which was significantly suppressed by the LAT1 selective inhibitor.

From the above, it was shown that HC and ALD increased the amount of Fluo transported from the basal side to the apical side of the cultured RPE, which was related to SLC7A5 (LAT1).

研究分野：眼科学

キーワード：Pachychoroid spectrum 中心性漿液性脈絡網膜症 感受性遺伝子 機能解析 コルチゾール アルドステロン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

Pachychoroid spectrum disease (PSD) は 2015 年に提唱された疾患概念であり、脈絡膜厚の増加、脈絡膜血管の拡張や透過性亢進を伴う眼底後極部の細胞変性や滲出性病変で、加齢黄斑変性 (AMD) とは異なる病態の疾患と考えられている。中には今まで AMD の一病型として分類されていたポリープ状脈絡膜血管症 (PCV) の一部や、中心性漿液性脈絡網膜症 (CSC) などが含まれ、これまでの黄斑部滲出性病変の分類基準を変える可能性が示唆されている。PSD は日本人を含むアジア人に多いことが知られているが、その背景にある分子メカニズムは殆ど明らかにされていなかった。我々は先の研究でゲノム関連解析の手法を用いて補体 H 因子 (*Complement factor H: CFH*) や *SLC7A5* 遺伝子の多型が脈絡膜厚や網膜下の漿液性網膜剥離と関連する事を証明してきたが、それらが PSD の臨床像にどのように関わっているかは不明であった。また、上記以外の PSD 関連遺伝子が存在する可能性も残っており、それらを明らかにすることによって PSD の分子メカニズムを解き明かすことが期待されていた。

2. 研究の目的

本研究の目的は PSD に関連する遺伝子群をより広く同定し、さらに機能解析を行う事によって同疾患の分子生物学的な病態解明を試みる事であった。それは今まで互いの関連性が明らかでなかった数々の臨床所見の根底にある病的機序を解明する大きな礎になるものと考えられた。また、感受性遺伝子が明らかになれば、当該遺伝子改変による疾患モデル動物の作成が期待できるため、疾患病態の解明のみならず、それをコントロールする予防・治療のための新たな創薬につながる可能性を追求した。

3. 研究の方法

本研究目的を達成するため、以下の方法を計画、実施した。

- (1) PSD の臨床型 (CSC, PPE, PNV, PCV) ごとに感受性候補遺伝子群との関連解析を行い、有意差の有無や effect の方向性を確認する。
- (2) 上記で得られた知見について異なるコホートで replication study を行い確認
- (3) 典型 AMD の感受性遺伝子多型との比較検討による病態の類似点、相違点の解明
- (4) 感受性遺伝子多型による生成タンパクの網膜および脈絡膜における発現量の検証
- (5) 培養細胞、遺伝子改変マウスを用いた感受性遺伝子の機能解析
- (6) 同定された感受性遺伝子多型と臨床経過の対比

4. 研究成果

- (1) Pachychoroid spectrum diseases (PSD) の代表的な疾患とされる中心性漿液性脈絡網膜症 (CSC) の新たなゲノムワイド関連解析を京都大学らと共同で行い、我々の持つコホートを含めた大規模かつ複数の CSC 症例群および対照群において TNFRSF10A-LOC389641 rs13278062 と near GATA5 rs6061548 遺伝子多型との関連を新たに発見した[図1]。

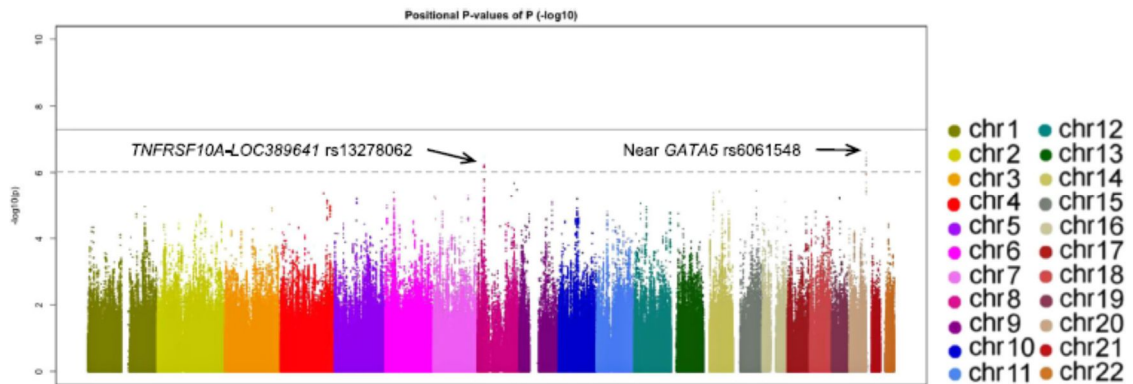


図1 CSCのGWAS結果 rs13278062とrs6061548一塩基多型(SNP)と有意な関連を示した。

- (2) その中で、我々の先行研究で同定したCFH rs1329428多型およびSLC7A5 rs11865049多型については今回新たに使用したコホートでは有意水準の関連が認められなかったものの、疾患関連アレルにおけるリスクの方向性は一致した事から、複数コホートによるメタ解析の必要性が示唆された。そのうち、CFH rs1329428多型については先行する他のメタ解析でCSCとの有意な関連が確認されているため、新たにSLC7A5 rs11865049多型に対する3コホートメタ解析を行い、CSCと同多型の有意な関連が確認された (Fixed effect modelでOR1.47, $p < 0.0001$ 、Random effect modelでOR1.71, $p = 0.042$)。
- (3) 代表的な培養網膜色素上皮細胞(RPE)であるARPE19細胞におけるSLC7A5遺伝子の基礎発現量およびストレスホルモンとされるコルチゾール(HC)またはアルドステロン(ALD)負荷時の発現量変化を調べ、それぞれのホルモン負荷により培養RPEにおけるSLC7A5遺伝子の発現量が経時的および容量依存的に増加する事を確認した[図2]。

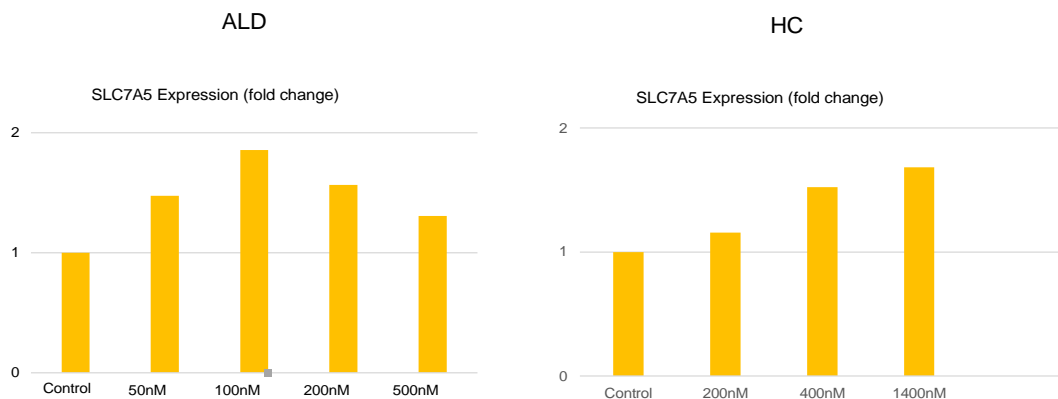


図2 ARPE19細胞におけるALDおよびHC負荷時のSLC7A5遺伝子発現量変化

- (4) トランスウェルを用いた培養RPEの物質輸送実験を行い、HCおよびALD負荷による基底側から絨毛側へのフルオレセインナトリウム輸送量の相対的増加を認めた。これらの輸送量増加はLAT1選択的阻害薬の同時投与により対照群レベルあるいはそれ以下にまで有意に抑制された[図3]。以上の結果から、HCおよびALDは培養RPEにおける基底側から絨毛側へのフルオレセインナトリウム輸送量を増加させ、それがSLC7A5(LAT1)の発現亢進と関連している事が示された。

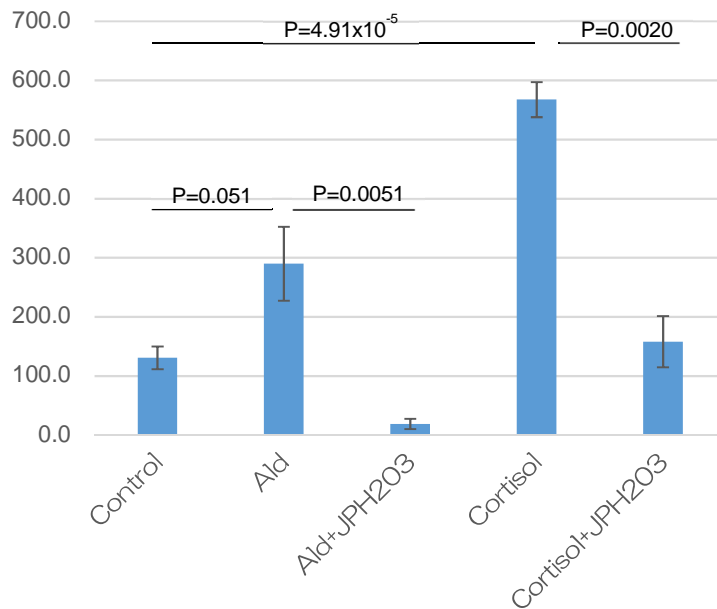


図3 ARPE19細胞におけるALDおよびHC負荷による基底側から絨毛側へのフルオレセインナトリウム輸送量変化とLAT1選択的阻害薬JPH203による抑制効果

- (5) CSCとpachychoroid neovascuopathyの症例に対して光線力学療法(PDT)を行った後の臨床経過とARMS2, CFH, SLC7A5の遺伝子多型の関連を調べた研究では、SLC7A5 rs11865049のAアレルを有する群のみがPDT後に中心脈絡膜厚(CCT)の減少を認めず、その他は全てCCTの有意な減少を認めた。これはSLC7A5(LAT1)がCSCの病態に関与している事を示唆している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計22件（うち査読付論文 22件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 13件）

1. 著者名 Yamamoto Manabu, Miura Yoko, Kyo Akika, Hirayama Kumiko, Kohno Takeya, Theisen-Kunde Dirk, Brinkmann Ralf, Honda Shigeru	4. 巻 19
2. 論文標題 Selective retina therapy for subretinal fluid associated with choroidal nevus	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 American Journal of Ophthalmology Case Reports	6. 最初と最後の頁 100794 ~ 100794
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ajoc.2020.100794	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 Yamamoto Manabu, Miura Yoko, Hirayama Kumiko, Kohno Takeya, Kabata Daijiro, Theisen-Kunde Dirk, Brinkmann Ralf, Honda Shigeru	4. 巻 40
2. 論文標題 Predictive factors of outcome of selective retina therapy for diabetic macular edema	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Ophthalmology	6. 最初と最後の頁 1221 ~ 1232
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10792-020-01288-6	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 Hirayama Kumiko, Yamamoto Manabu, Kohno Takeya, Kyo Akika, Theisen-Kunde Dirk, Brinkmann Ralf, Miura Yoko, Honda Shigeru	4. 巻 259
2. 論文標題 Selective retina therapy (SRT) for macular serous retinal detachment associated with tilted disc syndrome	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology	6. 最初と最後の頁 387 ~ 393
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00417-020-04931-1	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 Tamachi Tomoko, Kohno Takeya, Yamamoto Manabu, Hirayama Kumiko, Kyo Akika, Ueda Nobuhiko, Hirabayashi Michiko, Shiraki Kunihiko, Honda Shigeru	4. 巻 9
2. 論文標題 One-Year Results of a Treat-and-Extend Regimen of Intravitreal Aflibercept for Polypoidal Choroidal Vasculopathy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Ophthalmology and Therapy	6. 最初と最後の頁 1069 ~ 1082
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s40123-020-00312-3	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 Tagami Mizuki, Honda Shigeru, Azumi Atsushi	4. 巻 20
2. 論文標題 Preoperative clinical factors and visual outcomes following orbital decompression with dysthyroid optic neuropathy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BMC Ophthalmology	6. 最初と最後の頁 30~
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12886-020-1314-8	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 Sakai Atsushi, Tagami Mizuki, Kakehashi Anna, Katsuyama-Yoshikawa Atsuko, Misawa Norihiko, Wanibuchi Hideki, Azumi Atsushi, Honda Shigeru	4. 巻 15
2. 論文標題 Expression, intracellular localization, and mutation of EGFR in conjunctival squamous cell carcinoma and the association with prognosis and treatment	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 0238120 ~ 0238120
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0238120	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 Misawa Norihiko, Tagami Mizuki, Sakai Atsushi, Kohno Takeya, Honda Shigeru	4. 巻 11
2. 論文標題 Rapid Regression of Scleral Melting Associated with Tumor Necrosis Factor- in a Case of Surgically Induced Necrotizing Scleritis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Case Reports in Ophthalmology	6. 最初と最後の頁 418 ~ 422
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000509260	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 Hayashida M, Miki A, Nakai S, Matsumiya W, Imai H, Kusuhara S, Honda S, Nakamura M.	4. 巻 26
2. 論文標題 Genetic factors associated with treatment response to reduced-fluence photodynamic therapy for chronic central serous chorioretinopathy.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Mol Vis	6. 最初と最後の頁 505~509
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Hosoda Yoshikatsu, Miyake Masahiro, (Honda Shigeru), et al.	4. 巻 2
2. 論文標題 Genome-wide association analyses identify two susceptibility loci for pachychoroid disease central serous chorioretinopathy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 468
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-019-0712-z	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 Tagami Mizuki, Misawa Norihiko, Noma-Ishikura Saki, Honda Satoshi, Kase Satoru, Honda Shigeru	4. 巻 16
2. 論文標題 EPIDERMAL GROWTH FACTOR RECEPTOR EXPRESSION IN A CASE OF FOCAL NODULAR GLIOSIS OF THE RETINA	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 RETINAL Cases & Brief Reports	6. 最初と最後の頁 375 ~ 378
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/ICB.0000000000000987	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 Tagami Mizuki, Honda Shigeru, Azumi Atsushi	4. 巻 20
2. 論文標題 Preoperative clinical factors and visual outcomes following orbital decompression with dysthyroid optic neuropathy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BMC Ophthalmology	6. 最初と最後の頁 30
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12886-020-1314-8	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 Yamamoto Manabu, Miura Yoko, Hirayama Kumiko, Kohno Takeya, Kabata Daijiro, Theisen-Kunde Dirk, Brinkmann Ralf, Honda Shigeru	4. 巻 40
2. 論文標題 Predictive factors of outcome of selective retina therapy for diabetic macular edema	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Ophthalmology	6. 最初と最後の頁 1221 ~ 1232
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10792-020-01288-6	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 Misawa Norihiko, Tagami Mizuki, Kohno Takeya, Honda Shigeru	4. 巻 19
2. 論文標題 Correlation between visual acuity and human leukocyte antigen DRB1*04 in patients with Vogt-Koyanagi-Harada disease	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BMC Ophthalmology	6. 最初と最後の頁 214
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12886-019-1227-6	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 Sakurada Y, Tanaka K, Miki A, Matsumoto H, Kawamura A, Mukai R, Akiyama H, Honda S, Mori R, Iijima H.	4. 巻 63
2. 論文標題 Clinical characteristics of cuticular drusen in the Japanese population.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Jpn J Ophthalmol.	6. 最初と最後の頁 448-456
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10384-019-00692-5	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 Nakai S, Matsumiya W, Miki A, Honda S, Nakamura M.	4. 巻 63
2. 論文標題 Association of an age-related maculopathy susceptibility 2 gene variant with the 12-month outcomes of intravitreal aflibercept combined with photodynamic therapy for polypoidal choroidal vasculopathy.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Jpn J Ophthalmol.	6. 最初と最後の頁 389-395
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10384-019-00683-6	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 Mori Yuki, Miyake Masahiro, Hosoda Yoshikatsu, Miki Akiko, Takahashi Ayako, Muraoka Yuki, Miyata Manabu, Sato Takehiro, Tamura Hiroshi, Ooto Sotaro, Yamada Ryo, Yamashiro Kenji, Nakamura Makoto, Tajima Atsushi, Nagasaki Masao, Honda Shigeru, Tsujikawa Akitaka	4. 巻 -
2. 論文標題 Genome-wide Survival Analysis for Macular Neovascularization Development in Central Serous Choroidopathy Revealed Shared Genetic Susceptibility with Polypoidal Choroidal Vasculopathy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Ophthalmology	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) 10.1016/j.optha.2022.04.018	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 Kojima Yuka, Misawa Norihiko, Yamamoto Tatsunori, Honda Shigeru	4. 巻 17
2. 論文標題 Intraoperative alteration in the vital signs of diabetic patients during cataract surgery with local anesthesia	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0265135 ~
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0265135	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 Honda Shigeru, Yanagi Yasuo, Koizumi Hideki, Chen Yirong, Tanaka Satoru, Arimoto Manami, Imai Kota	4. 巻 11
2. 論文標題 Impact of neovascular age-related macular degeneration: burden of patients receiving therapies in Japan	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 13152
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-92567-4	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 Kyo Akika, Yamamoto Manabu, Hirayama Kumiko, Kohno Takeya, Theisen-Kunde Dirk, Brinkmann Ralf, Miura Yoko, Honda Shigeru	4. 巻 11
2. 論文標題 Factors affecting resolution of subretinal fluid after selective retina therapy for central serous chorioretinopathy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 8973
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-88372-8	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 Hirayama Kumiko, Yamamoto Manabu, Kohno Takeya, Kyo Akika, Theisen-Kunde Dirk, Brinkmann Ralf, Miura Yoko, Honda Shigeru	4. 巻 259
2. 論文標題 Selective retina therapy (SRT) for macular serous retinal detachment associated with tilted disc syndrome	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology	6. 最初と最後の頁 387 ~ 393
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00417-020-04931-1	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 Misawa Norihiko, Tagami Mizuki, Sakai Atsushi, Kohno Takeya, Honda Shigeru	4. 巻 21
2. 論文標題 Visual outcomes and choroidal thickness associated with human leukocyte antigen DRB1*04 in unclassifiable uveitis in Japanese patients	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BMC Ophthalmology	6. 最初と最後の頁 457
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12886-021-02222-9	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 Tagami Mizuki, Kakehashi Anna, Sakai Atsushi, Misawa Norihiko, Katsuyama-Yoshikawa Atsuko, Wanibuchi Hideki, Azumi Atsushi, Honda Shigeru	4. 巻 259
2. 論文標題 Expression of thrombospondin-1 in conjunctival squamous cell carcinoma is correlated to the Ki67 index and associated with progression-free survival	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology	6. 最初と最後の頁 3127 ~ 3136
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00417-021-05236-7	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1件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Norihiko Misawa, Akika Kyo, Kumiko Hirayama, Manabu Yamamoto, Michiko Hirabayashi, Takeya Kono, Shigeru Honda
2. 発表標題 Reduction of choroidal thickness was not associated with the outcomes of photodynamic therapy for pachychoroid spectrum diseases
3. 学会等名 The Association for Research in Vision and Ophthalmology (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	三澤 宣彦 (MISAWA NORIHIKO)	大阪市立大学・大学院医学研究科・大学院生 (24402)	

6. 研究組織（つづき）

	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	居 明香 (KYO AKIKA)	大阪市立大学・大学院医学研究科・大学院生 (24402)	
研究協力者	本田 聡 (HONDA SATOSHI)	大阪市立大学・大学院医学研究科・大学院生 (24402)	

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