

令和 5 年 5 月 16 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09809

研究課題名(和文) 萎縮型加齢黄斑変性に対する小胞体ストレスに着目した新規治療法の開発

研究課題名(英文) To explore a new therapeutic approach for age-related macular degeneration

研究代表者

鈴木 美砂 (Suzuki, Misa)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・特任講師

研究者番号：30404966

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)：加齢黄斑変性(age-related macular degeneration; AMD)は、加齢(老化)とともに進行することから、現代の高齢化社会においては世界的な社会問題である。新生血管からの滲出性変化による滲出型AMDは、薬物療法で治療されるが、原因不明で進行する萎縮型AMDの治療法は現時点では世界的に無い。喫煙とメタボリックシンドロームが危険因子で、前駆病変は網膜局所の脂質沈着である。そこで、高脂肪食メタボリックシンドロームモデルマウスを用いて網膜病変を解析した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、中心視力を脅かすことで社会的生活を不自由にする上に、現時点では治療法のない萎縮型AMDの病態メカニズムを解析し、新規治療法の開発につなげることを目的とする。小胞体ストレスに着目したAMD研究はほとんど見られないため独自性が高い。危険因子に着目してメタボリックシンドロームモデルマウスを用いた解析をすることも意義深い。世界的にも治療法がない萎縮型AMDに対する新規治療法の開発に向けた本研究は前例のない研究となり学術的創造性が高い。さらに本研究によりメカニズムが明らかになれば、今後、メタボリックシンドロームによる他臓器の疾患のメカニズムの解明にも役立つ創造性・発展性が高い。

研究成果の概要(英文)：Age-related macular degeneration; AMD is a progressive, blinding disease, thus, it is a global issue in the recent aging society. While wet AMD which involve exudative changes related to macular neovascularization can be treated, dry AMD which progresses with unknown etiology has no therapeutic approaches. Smoking and metabolic syndrome are the risk factors, and the precocious lesion is composed of lipid accumulation. Thus, we analyzed the retinal degenerative lesions in metabolic syndrome model mice.

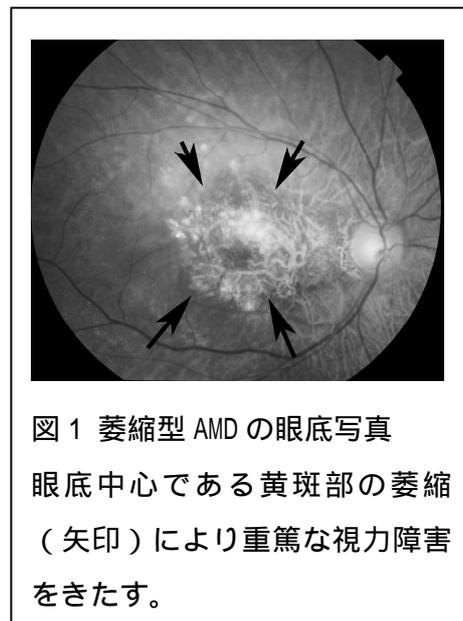
研究分野：網膜

キーワード：網膜 加齢黄斑変性

1. 研究開始当初の背景

加齢黄斑変性(age-related macular degeneration; AMD)は、先進国における主要な失明原因の1つである(図1)。日本では50歳以上の1%以上に発症するとされる頻度の高い疾患である。

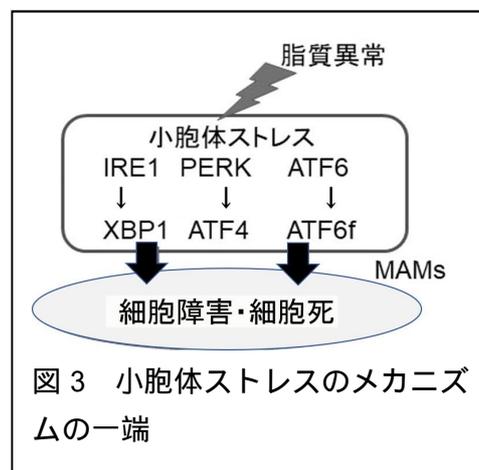
網膜(眼底)は神経組織であり、その中心である黄斑に病変を生じるため、不可逆的に中心が見えなくなり重篤な視力障害をきたす。読書や運転に支障をきたし、両眼発症例では殊に、Quality of life (QOL)を脅かす。抗血管内皮増殖因子(抗vascular endothelial growth factor; 抗VEGF)療法で治療される滲出型AMDに対し、原因不明で進行性の萎縮型AMDには世界的に治療法がない。AMDでは、前駆病変として網膜や隣接する脈絡膜組織等に脂質蓄積がヒトの眼病理でも(Curcio Review Invest Ophthalmol Vis Sci. 2018)動物実験でも(Sene, Apte et al. Cell metab 2013)報告されるが、その介入法は示されていない。



疫学研究により、本疾患のリスク因子として、年齢や喫煙と主に、高body mass index (BMI)を呈する肥満が含まれることが明らかにされた(Clemons et al. Ophthalmology 2005)。肥満はメタボリックシンドロームを構成する。そこで高脂肪食連日投与によるメタボリックシンドロームモデルマウスを用いてAMDの病態解析を行うこととした。すでに、申請者の研究室では、BALB/cマウスを用いれば、高脂肪食を3か月間継続摂取させたときに、多少の血糖上昇はあるものの糖尿病にはならないが、肥満を生じることを明らかにしていた。



一方、脂質代謝異常は肝臓において小胞体ストレスを引き起こしうる(Fu et al. Nature, 2011, Wires et al. J Hepatol 2017)。小胞体ストレスは、タンパクの異常折り畳み構造による弊害を是正するためのストレス応答機構であるが、過剰のストレスにおいては最終的には細胞死を引き起こしうる(図3)。小胞体ストレスは、遺伝性疾患である網膜色素変性による網膜神経変性(Yoshida, Ozawa, Okano et al. Mol Brain 2014)や、脳の神経変性であるアルツハイマー病にも関連する(Helz & Saxema Nat Rev Neurol 2017)。しかし、AMD病態において小胞体ストレスの関与があるかどうかは不明であった。



2. 研究の目的

加齢黄斑変性(age-related macular degeneration; AMD)は、失明原因の国内第4位、米国第1位を占め、加齢(老化)とともに進行することから、現代の高齢化社会においては世界的な社会問題である。新生血管からの滲出性変化による滲出型AMDは、薬物療法で治療されるが、原因不明で進行する萎縮型AMDの治療法は現時点では世界的に無い。喫煙とメタボリックシンドロームが危険因子で、前駆病変は網膜局所の脂質沈着である。一方、脂質代謝異常は小胞体ストレスを引き起こしうる。そこで、高脂肪食メタボリックシンドロームモデルマウスを用いて網膜病変を解析し、AMDモデルとなることを占めず。そして、小胞体ストレスを標的として治療することで網膜変性・視機能低下が抑制されるかを解析する。これにより新規で世界初の萎縮型AMDに対する新規治療法の開発につなげる。

3. 研究の方法

BALB/c マウスに3か月間継続的に高脂肪食もしくは普通餌(コントロール餌)を摂取させた。高脂肪食はすでに申請者の研究室で用いた脂肪32%含有餌を、コントロール食は4.6%含有餌(いずれも日本クレア社より購入)を用いた。そして、そのマウスの組織学的解析を行うと共に電気生理学的手法(網膜電図)(図4)により視機能を測定した。また、網膜組織を採取し、小胞体ストレスマーカーについて、分子生物学的、すなわちリアルタイムRT-PCRを用いて解析した。

4. 研究成果

BALB/c マウスに3か月間継続的に高脂肪食を摂取させたマウスにおいては、普通食を摂取させたマウスに比べて、網膜電図(electroretinogram; ERG)の振幅が低下すること、すなわち視機能低下を示すことを示した(Suzuki, Ozawa et al. unpublished data)(図5)。ERGの波形においては、a波の振幅と潜時により網膜視細胞の機能を、b波の振幅と潜時により網膜視細胞以降のプロセッシングにおける機能を解析可能である。本マウスモデルにおいてはa波の振幅が低下することから視細胞の機能が低下していることが明らかとなった。

次に網膜切片を作製し、oil redなどによる染色と、酸化LDLなどに対する免疫組織染色を用いて脂質の蓄積について解析した。視細胞をはじめとした網膜神経組織には元来脂質が多く含まれるが、高脂肪食継続摂取マウスにおいてはそれに加えて網膜色素上皮細胞にも脂質が多く含まれることが明らかとなった。加齢黄斑変性においても網膜色素上皮細胞における脂質沈着が病態と関係すると言われており、その点で合致することが示された。



図4 ERG測定

マウスには麻酔をかけて眼球上に電極を置いて、光を当てた際の視反応を記録した。

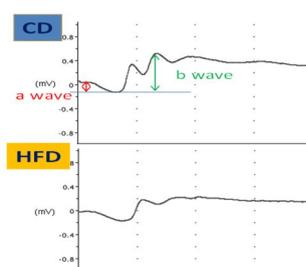


図5 ERG(視機能) 高脂肪食マウス(下)は振幅が小さい(未発表データ)

さらに、網膜神経組織および網膜色素上皮細胞をサンプルとして採取し、リアルタイム PCR により分子の発現を解析した。その結果、BiP、CHOP、XBP-1s、ATF4、ATF6 などの小胞体ストレスマーカーの発現が変化していることが明らかになった。

このように、高脂肪食継続摂取をすると、眼局所での脂質沈着を生じ、その結果眼局所の組織における小胞体ストレスが引き起こされる可能性が示された。さらなる研究を進める必要があった。

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 9件）

1. 著者名 Shinojima A, Ozawa Y, Uchida A, Nagai N, Shinoda H, Kurihara T, Suzuki M, Minami S, Negishi K, Tsubota K.	4. 巻 10
2. 論文標題 Assessment of Hypofluorescent Foci on Late-Phase Indocyanine Green Angiography in Central Serous Chorioretinopathy.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Clin Med.	6. 最初と最後の頁 2178
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/jcm10102178.	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 Minami S, Uchida A, Nagai N, Shinoda H, Kurihara T, Ban N, Terasaki H, Takagi H, Tsubota K, Sakamoto T, Ozawa Y*.	4. 巻 10
2. 論文標題 Shorter axial length is a risk factor for proliferative vitreoretinopathy grade C in eyes unmodified by surgical invasion.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Clin Med.	6. 最初と最後の頁 3944
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/jcm10173944	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 Guzman NA, Homma K, Osada H, Toda E, Ban N, Nagai N, Negishi K, Tsubota K, Ozawa Y*.	4. 巻 10
2. 論文標題 Neuroprotective effect of 4-phenylbutyric acid against photo-stress in the retina.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Antioxidants.	6. 最初と最後の頁 1147
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/antiox10071147	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 Nagai Norihiro, Minami Sakiko, Suzuki Misa, Shinoda Hajime, Kurihara Toshihide, Sonobe Hideki, Watanabe Kazuhiro, Uchida Atsuro, Ban Norimitsu, Tsubota Kazuo, Ozawa Yoko	4. 巻 9
2. 論文標題 Macular Pigment Optical Density and Photoreceptor Outer Segment Length as Predisease Biomarkers for Age-Related Macular Degeneration	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Medicine	6. 最初と最後の頁 1347 ~ 1347
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/jcm9051347	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 Nagai Norihiro, Suzuki Misa, Uchida Atsuro, Kurihara Toshihide, Ban Norimitsu, Minami Sakiko, Shinoda Hajime, Tsubota Kazuo, Ozawa Yoko	4. 巻 9
2. 論文標題 The Area and Number of Intraretinal Cystoid Spaces Predict the Visual Outcome after Ranibizumab Monotherapy in Diabetic Macular Edema	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Medicine	6. 最初と最後の頁 1391 ~ 1391
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/jcm9051391	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 Minami Sakiko, Nagai Norihiro, Suzuki Misa, Uchida Atsuro, Shinoda Hajime, Tsubota Kazuo, Ozawa Yoko	4. 巻 9
2. 論文標題 Ocular and Systemic Effects of Antioxidative Supplement Use in Young and Healthy Adults: Real-World Cross-Sectional Data	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Antioxidants	6. 最初と最後の頁 487 ~ 487
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/antiox9060487	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 Mushiga Yasuaki, Minami Sakiko, Uchida Atsuro, Nagai Norihiro, Suzuki Misa, Kurihara Toshihide, Sonobe Hideki, Ban Norimitsu, Watanabe Kazuhiro, Shinoda Hajime, Tsubota Kazuo, Ozawa Yoko	4. 巻 9
2. 論文標題 Hyperreflective Material in Optical Coherence Tomography Images of Eyes with Myopic Choroidal Neovascularization May Affect the Visual Outcome	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Medicine	6. 最初と最後の頁 2394 ~ 2394
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/jcm9082394	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 Asato Teru, Nagai Norihiro, Suzuki Misa, Uchida Atsuro, Kurihara Toshihide, Ban Norimitsu, Minami Sakiko, Shinoda Hajime, Tsubota Kazuo, Ozawa Yoko	4. 巻 36
2. 論文標題 Closure of macular hole secondary to ischemic hemi-central retinal vein occlusion by retinal photocoagulation and topical anti-inflammatory treatment	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Lasers in Medical Science	6. 最初と最後の頁 469 ~ 471
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10103-020-03133-9	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 Sato Maho, Minami Sakiko, Nagai Norihiro, Suzuki Misa, Kurihara Toshihide, Shinojima Ari, Sonobe Hideki, Akino Kunihiko, Ban Norimitsu, Watanabe Kazuhiro, Uchida Atsuro, Shinoda Hajime, Tsubota Kazuo, Ozawa Yoko	4. 巻 15
2. 論文標題 Association between axial length and choroidal thickness in early age-related macular degeneration	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLOS ONE	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) 10.1371/journal.pone.0240357	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6件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 本間耕平, 坪田一男, 岡野栄之, 小沢洋子.
2. 発表標題 タウリンはミトコンドリア病 MELAS 疾患 iPS 細胞の代謝不全と網膜色素上皮細胞の上皮間葉転換を抑制する
3. 学会等名 第44回日本神経科学大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 原田成美, 虫賀庸朗, 新井英介, 永井紀博, 小沢洋子
2. 発表標題 加齢黄斑変性を有する患者群の傍眼における光干渉断層血管撮影画像の解析.
3. 学会等名 第37回日本眼循環学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 虫賀庸朗, 新井英介, 永井紀博, 小沢洋子.
2. 発表標題 蛍光眼底造影における Retina Circulation time と糖尿病黄斑浮腫の関係 .
3. 学会等名 第37回日本眼循環学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 本間耕平, 坪田一男, 岡野栄之, 小沢洋子.
2. 発表標題 ミトコンドリア病疾患 iPS 細胞を用いたドラッグスクリーニングシステム構築
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Minami S, Uchida A, Mushiga Y, Nagai N, Suzuki M, Watanabe K, Sonobe H, Kurihara T, Shinoda H, Tsubota K, Ozawa Y
2. 発表標題 Factors associated with visual outcome after anti-vascular endothelial growth factor therapy in myopic choroidal neovascularization.
3. 学会等名 The Association for Research in Vision and Ophthalmology (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 篠島亜里, 小沢洋子, 内田敦郎, 永井紀博, 篠田肇, 栗原俊英, 鈴木美砂, 南早紀子, 坪田一男
2. 発表標題 中心性漿液性脈絡網膜症のマルチモダルイメージングによる異常領域の検討
3. 学会等名 第59回日本網膜硝子体学会総会
4. 発表年 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
研究 分 担 者	小澤 洋子 (Ozawa Yoko) (90265885)	慶應義塾大学・医学部(信濃町)・特任准教授 (32612)	

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