

機関番号：15501

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23390402

研究課題名(和文) 網膜下癥痕病巣形成メカニズム解明とその治療への応用

研究課題名(英文) Investigation of the subretinal fibrosis due to vitreo-retinal diseases to develop new therapeutic strategies.

研究代表者

園田 康平 (SONODA, Koh-Hei)

山口大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：10294943

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,400,000円、(間接経費) 3,720,000円

研究成果の概要(和文)：網膜組織ダメージの最終形である線維癥痕形成に重要な細胞は、マクロファージと網膜色素上皮細胞であった。網膜下に活性化マクロファージを注入すると、活性化されたRPEよりMCP-1が産生される。局所液成分因子のスクリーニングの結果、病巣形成が生じるマクロファージ注入後IL-27の著明な低下が観察された。ゆえにIL-27が網膜炎反応を制御する重要な因子と考えた。事実IL-27を7日目から補充することで、線維癥痕形成を著明に軽減することができた。本研究から、網膜硝子体疾患においてIL-27の補充またはその低下抑制を図る手法が治療に有効であると考えた。

研究成果の概要(英文)：We find that macrophages and RPE play an important role to form subretinal fibrosis. Subretinal macrophage inoculation leads to MCP-1 production from RPE. Due to cytokine/chemokine screening, we also find that IL-27 is markedly decreased in the inoculated site. Importantly, IL-27 supplementation prevents subretinal fibrosis. We thus propose that IL-27 supplementation and/or preventing IL-27 reduction must be effective to improve the visual acuity in the vitreoretinal disease patients.

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：加齢黄斑変性 局所炎症 線維癥痕化 マクロファージ 網膜色素上皮細胞

1. 研究開始当初の背景

遺伝性疾患を除く、ほとんど全ての網膜硝子体疾患は何らかの局所炎症を伴うという過言ではない。網膜硝子体疾患において眼局所炎症が誘発され、それによって不可逆的組織ダメージを残す。その病態は各種網膜硝子体疾患に共通するが、経時的にどのような因子が最終的な視細胞障害をもたらすのか、細胞・分子レベルでの解析は解析されていなかった。これまでの我々のグループの研究で原因の異なる各種網膜硝子体疾患において、慢性期には共通した眼内液性因子の上昇が見られた。このことは網膜がダメージを受けたことで何らかの共通する組織修復起点が働くことが示唆された。

2. 研究の目的

種々の内的・外的要因によって眼炎症が誘発され、二次的な組織ダメージを残す。網膜機能を温存するために、如何に少ないダメージで眼炎症とそれに引き続く二次的応答を制御できるかが重要である。我々は、組織ダメージの最終形である線維瘢痕形成動物モデルにおいて経時炎症変化を解析し、有効な治療戦略を提案する。

3. 研究の方法

マウスを用いて網膜瘢痕化動物モデルを作成し、病態に関わる因子のスクリーニングを行う。網膜色素上皮細胞をマウス眼球から直接分離・培養し、チオグリコレート刺激によって腹腔から採取した活性化型マクロファージと共培養することで、生体内の線維瘢痕反応を試験管内で再現することができる。この系を用いて、主にギャップジャンクションの発現と機能を解析することができる。また RPE 細胞内シグナル伝達経路を検討し、解析を行う。我々は、マクロファージに代表的炎症反応抑制性サイトカインである IL-10 遺伝子をレンチウイルスベクターを用いて導入し、硝子体手術で局所注入するという遺伝子治療を考えており、その上で候補因子をターゲットとした治療薬の開発を行う。

4. 研究成果

網膜下線維化病巣形成に重要な細胞は、マクロファージと網膜色素上皮細胞 (pigment epithelial cell: RPE) であった。網膜下に活性化マクロファージを注入すると、マクロファージから IL-6/IL-8 が分泌され、それによって活性化された RPE より MCP-1 が産生される。注入量の約 10 倍の内因性マクロファージの流入が生じ、これが網膜下線維組織形成の主因となることが判明した。マクロファージと網膜色素上皮細胞が織りなす非特異的な炎症反応 (IL-6、IL-8、MCP-1 が中心となる) によって結果的に不可逆的な網膜ダメージ

ジが誘発されることになる。

RPE は定常状態では抑制型のサイトカインである IL-10 を産生するが、活性化マクロファージと共培養するとその産生が低下した。また細胞内に平滑筋アクチンが増えるなど構造変化が生じ、グリア細胞の増成と相まって不可逆変化に進展した。局所液成因子のスクリーニングの結果、病巣形成部位で IL-27 の著明な低下が観察された。IL-27 を補充することで、線維瘢痕形成を著明に軽減できた。本研究から、網膜硝子体疾患において IL-27 の補充またはその低下抑制を図る手法が治療に有効であると考えた。

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 8 件)

Takeda A, Sonoda KH, Ishibashi T.

Regulation of Th1 and Th17 cell differentiation in uveitis.

Inflammation and Regeneration, 2014, in press. 査読無

Ko JA, Mizuno Y, Ohki C, Chikama T, Sonoda KH, Kiuchi Y.

Neuropeptides released from trigeminal neurons promote the stratification of human corneal epithelial cells. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2014;55:125-133. 査読有

Yang Y, Takeda A, Yoshimura T, Oshima Y, Sonoda KH, Ishibashi T. IL-10 is significantly involved in HSP70-regulation of experimental subretinal fibrosis. PLoS One. 2013, 20:e80288. 査読有

Morishige N, Yamada N, Morita Y, Kimura K, Sonoda KH.

Persistence of structural changes at the anterior cornea in bullous keratopathy patients after endothelial keratoplasty. PLoS One. 2013;8:e74279. 査読有

Zhang H, Yang Y, Takeda A, Yoshimura T, Oshima Y, Sonoda KH, Ishibashi T. A Novel Platelet-Activating Factor Receptor Antagonist Inhibits Choroidal Neovascularization and Subretinal Fibrosis. PLoS One. 2013;8:e68173. 査読有

Nakamura-Shibasaki M, Ko JA, Takenaka J, Chikama TI, Sonoda KH, Kiuchi Y.

Matrix metalloproteinase and cytokine expression in Tenon fibroblasts during scar formation after glaucoma filtration or implant surgery in rats. Cell Biochem Funct. 2013; 31: 482-488, 査読有

Hasegawa E, Oshima Y, Takeda A, Saeki

K, Yoshida H, Sonoda KH, Ishibashi T.
IL-27 inhibits pathophysiological
intraocular neovascularization due to
laser burn. J Leukoc Biol.
2012;91:267-273. 査読有
Jo YJ, Sonoda KH, Oshima Y, Takeda A,
Kohno R, Yamada J, Hamuro J, Yang Y,
Notomi S, Hisatomi T, Ishibashi T:
Establishment of a new animal model
of focal subretinal fibrosis that
resembles disciform lesion in advanced
age-related macular degeneration.
Investigative Ophthalmology & Visual
Science 2011; 52:6089-6095. 査読有

〔学会発表〕(計7件)

Sonoda KH: The role of bone
marrow-derived inflammatory cells in
the formation of vitreoretinal disease.
UCL-Yamaguchi University special
seminars in Ophthalmology 150 Year
Anniversary of UK-Japan Academic
Interaction, 2014/03/03, United
Kingdom

園田 康平: 合同シンポジウム2 講演
「Human Immunology:疾患理解から治療
へ」ぶどう膜炎の病態と新規治療. 第25
回日本神経免疫学会学術集会,
2013/11/28, 海峡メッセ下関(山口県)
園田 康平: 生理/病理・「IL-27 と網膜
疾患」. 第15回 Japan Macula Club,
2013/08/18, 蒲郡クラシックホテル(愛
知県)

Sonoda KH: The Development of Mutual
Understandings and Collaborative
Immunological Research Projects in
APAO Nations. The 28th Asia-Pacific
Academy of Ophthalmology Congress,
2013/01/18, INDIA

Morishige N, Yamada N, Morita Y, Sonoda KH:
Impact of preoperative duration of
stromal edema in bullous keratopathy on
early visual acuity after endothelial
keratoplasty. The 5th joint meeting of
Japan-China-Korea Ophthalmologists,
Hotel Nikko Fukuoka, Japan, 2012/11/17
Orita T, Kimura K, Sonoda KH: Role of
the JNK Signaling Pathway in
Down-Regulation of Connexin43 by TNF-
in Human Corneal Fibroblasts. 2012
ARVO Annual Meeting, 2012/05/06, USA
Sonoda KH: Management of Retinal
Detachment Following ARN/CMV
retinitis. APAO/SOE 2012, 2012/04/15,
South Korea

〔図書〕(計2件)

園田 康平, (株)全日本病院出版会,

Monthly Book OCULISTA, 2013, 85(49-56)

園田 康平, (株)北隆館, アレルギーの
臨床, 2013, 104(13-13)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等: なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

園田 康平 (SONODA, Koh-Hei)
山口大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号: 10294943

(2) 研究分担者

吉田 裕樹 (YOSHIDA, Hiroki)
佐賀大学・医学部・教授
研究者番号: 40260715

原 博満 (HARA, Hiromitsu)
佐賀大学・医学部・准教授
研究者番号: 20392079

武田 篤信 (TAKEDA, Atsunobu)
九州大学・大学院医学系研究科・助教
研究者番号: 40560313

高 知愛 (KOH, Jie)
広島大学・大学院医歯薬保健学研究院・
講師
研究者番号: 70314797

木村 和博 (KIMURA, Kazuhiro)
山口大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：60335255

森重 直行 (MORISHIGE, Naoyuki)
山口大学・大学院医学系研究科・講師
研究者番号：40346565