

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 3 月 30 日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2008 ～ 2011

課題番号：20390450

研究課題名（和文）：硝子体の研究：環境解析とその制御およびそれを利用した治療開発

研究課題名（英文）：Study of vitreous body: Analysis of microenvironmental control and development of novel treatment.

研究代表者：坂本 泰二 (SAKAMOTO TAIJI)

鹿児島大学・医歯学総合研究科・教授

研究者番号：10235179

研究成果の概要（和文）：網膜硝子体疾患の病態解析、治療法開発を様々な点から行った。硝子体内の HMGB-1 などの damage associated molecular pattern 物質との作用を解析した。その結果、網膜硝子体疾患の病態形成には、サイトカインなど従来考えられていた生理活性物質だけではなく細胞崩壊産物などが積極的に関与していることが分かった。この知見を基に、ノックアウト動物を使った研究を行い、網膜疾患などにおける炎症や細胞死の制御には、細胞崩壊産物の制御が有効であることが分かった。

研究成果の概要（英文）： We performed the study of vitreoretinal diseases from the points of its pathogenesis, molecular mechanism, and treatment. First, the relationship between intravitreal damage-associated molecular pattern and retinal damage was analyzed. As a result, retinal pathology was strongly affected not only by bioactive molecules such as cytokines, but rather by damaged cells and its related proteins. The experimental treatment using KO animals was very effective. The present findings are quite beneficial for developing a new treatment with minimal tissue damage.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	5,700,000	1,710,000	7,410,000
2009 年度	2,900,000	870,000	3,770,000
2010 年度	2,900,000	870,000	3,770,000
2011 年度	3,200,000	960,000	4,160,000
年度			
総計	14,700,000	4,410,000	19,110,000

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：硝子体細胞, SDF-1, 硝子体免疫, 薬物治療, 超音波

1. 研究開始当初の背景

網膜硝子体疾患に対する、外科治療、薬物治療は著しく進歩した。それにもかかわらず、著しい視力低下を避けえない症例が少なからず存在する。その原因は、網膜硝子体疾患における病態形成や細胞傷害過程が十分に解明されていなかったことにある。これまでは、細胞傷害に関わる重要因子として、サイトカインなどの生理活性物質の役割が主に研究されてきた。最近、疾患形成には、生理活性物質のみでなく、細胞崩壊産物 (damage-associated molecular pattern) 自体が、あたかも生理活性物質のように働くことが重要であることがわかってきた。特に、網膜剥離や増殖網膜症においては、眼球という閉鎖系で細胞傷害がおこるために、細胞崩壊産物が病態形成に影響する余地は大きいと考えられた。そこで、本研究では damage-associated molecular pattern を中心とした細胞崩壊産物が、網膜疾患病態形成に及ぼす影響について、様々な点から解析した。

2. 研究の目的

様々な眼病変患者の硝子体から、サンプルを収集し、サイトカインなどの生理活性物質および HMGB-1 などの damage associated molecular pattern 分子群について解析して、病態形成への影響を調べる。さらにその知見に基づいた新しい治療法を考案する。

3. 研究の方法

様々な眼病変患者の硝子体から、本人同意取得後にサンプルを収集した。サイトカインなどの生理活性物質および HMGB-1 などの damage associated molecular pattern 分子群について解析した。それぞれの濃度と臨床症状の変化を調べた。その中で、有意な関係が認められた因子、HMGB-1、SDF-1、IL-6 について、網膜剥離モデルにおける局在、機能解析を行った。いっぽうそれらが in vitro でどのように働くかについて、apoptosis induction、cell proliferation、cell migration などの点から解析した。また、それらに影響する薬物の影響を、ステロイド、NSAIDs、抗 vascular endothelial growth factor について調べた。

4. 研究成果

多くの研究成果が上がったが、全てを網羅することは不可能であるので、以下に箇条書きする。

- ・ HMGB-1 は、網膜剥離症例の硝子体中で有意に増加している。

- ・ HMGB-1 は、眼内炎など組織傷害性の高い疾患で著明に増加している。
- ・ HMGB-1 は網膜剥離部で核内から周辺に滲出してくる。これらは、アポトーシスのみならずネクローシスを伴う。
- ・ HMGB-1 には、網膜細胞の遊走を亢進する働きがあるので、組織修復に促進的に働く可能性がある。
- ・ HMGB-1 は SDF-1 の濃度と相関する。
- ・ SDF-1 は、網膜細胞について、細胞遊走を促進し、創傷治癒を促進する。
- ・ SDF-1 は Bcl-2 の発現を促進し、apoptosis を抑制する。
- ・ SDF-1 を抑制すると、網膜剥離眼の細胞死が著明に増加する。
- ・ ステロイド薬や抗 VEGF 薬を硝子体に注入すると、炎症性サイトカインのみならず SDF-1 濃度も影響される。
- ・ NSAIDs は、眼内血管新生を抑制するが、その際は抗ストレス因子 HO-1 を過剰発現させることにより、炎症細胞の集中を抑える。

以上のことなどから、網膜硝子体疾患の病態形成には、細胞崩壊産物が影響を与えるが、その際は従来より知られている生理活性物質と密接に関わることが分かった。これらのことは、病態の理解に繋がるのみでなく、効果的な新規治療の開発に大きく寄与するものと思われる。

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 13 件)

- ① 尾辻 太, 精松徳子, 中尾久美子, 坂本泰二、急速に失明に至り、特異な対光反射を示した悪性腫瘍随伴網膜症、日本眼科学会雑誌、2011.115 (10) 924-929、査読有
- ② Kamisanuki T, Tokushige S, Terasaki H, Khai NC, Wang Y, Sakamoto T, Kosai K. Targeting CD9 produces stimulus-independent antiangiogenic effects predominantly in activated endothelial cells during angiogenesis: A novel antiangiogenic therapy. *Biochem Biophys Res Commun*. 2011 Sep 16;413(1):128-135. 査読有 <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2011.08.068>,
- ③ Yoshinaga N, Arimura N, Otsuka H, Kawahara K, Hashiguchi T, Maruyama I, Sakamoto T.

- NSAIDs inhibit neovascularization of choroid through HO-1-dependent pathway. *Lab Invest.* 2011 Sep;91(9):1277-1290. 査読有 doi: 10.1038/labinvest.2011.101.
- ④ Kuroiwa N, Abematsu N, Matsuo Y, Nakao K, Sakamoto T. [A case of intraocular lymphoma having retinal adverse events associated with intravitreal methotrexate]. *Nihon Ganka Gakkai Zasshi*.2011.Jul;115 (7) 611-616 査読有
- ⑤ Sakamoto T. Ishibashi T, Ogura Y, Shiraga F, Takeuchi S, Yamashita H ;Japanese Retina and Vitreous Society Triamcinolone Survey Group. [Survey of triamcinolone-related non-infectious endophthalmitis]. *Nihon Ganka Gakkai Zasshi* 2011 Jun;115(6):523-8. 査読有
- ⑥ Shimura M, Yasuda K, Nakazawa T, Hirano Y, Sakamoto T. Ogura Y, Shiono T. Visual outcome after intravitreal triamcinolone acetate depends on optical coherence tomographic patterns in patients with diffuse diabetic macular edema. *Retina.* 2011 Apr;31(4):748-754. DOI:10.1097/IAE.0b013e3181f04991 査読有
- ⑦ Fujita A, Uchino E, Otsuka H, Arimura N, Noda N, Ishibashi T, Sakamoto T. Ocular surface molecule after transconjunctival vitrectomy. *Br J Ophthalmol.* 2011 Mar;95(3):419-423. 査読有
- ⑧ Kawano H, Uemura A, Sakamoto T. Incidence of outer foveal defect after macular hole surgery. *Am J Ophthalmol.* 2011.Feb;151(2):318-322. http://dx.doi.org/10.1016/j.ajo.2010.08.034 査読有
- ⑨ Sakamoto T. Ishibashi T. Hyalocytes: Essential cells of the vitreous cavity in vitreoretinal pathophysiology? *Retina* 2011 Feb;31(2):222-228. DOI:10.1097/IAE.0b013e3181facfa9 査読有
- ⑩ Otsuka H, Arimura N, Sonoda S, Nakamura M, Hashiguchi T, Maruyama I, Nakao S, Hafezi-Moghadam A, Sakamoto T. Stromal cell-derived factor-1 is essential for photoreceptor cell protection in retinal detachment. *Am J Pathol.* 2010 Nov;177(5):2268-2277. DOI: 10.2353/ajpath.2010.100134 査読有
- ⑪ Shimura M, Yasuda K, Nakazawa T, Takeshita T, Shiono T, Sakamoto T. Combination therapy for retinal vein occlusion. *Ophthalmology* 2010 Sep;117(9):1858,1858.e1-3. http://dx.doi.org/10.1016/j.ophtha.2010.03.077, 査読有
- ⑫ Arimura N, Ki-i Y, Hashiguchi T, Kawahara K, Biswas KK, Nakamura M, Sonoda Y, Yamakiri K, Okubo A, Sakamoto T. Maruyama I. Intraocular expression and release of high-mobility group box 1 protein in retinal detachment. *Lab Invest.* 2009 Mar;89(3):278-289. DOI:038/labinvest.2008.165 査読有
- ⑬ Masuyama K, Yamakiri K, Arimura N, Sonoda Y, Doi N, Sakamoto T. Posturing time after macular hole surgery modified by optical coherence tomography images: a pilot study. *Am J Ophthalmol.* 2009 Mar;147(3):481-488. http://dx.doi.org/10.1016/j.ajo.2008.09.028, 査読有
- [学会発表] (計 30 件)
- ① 大久保明子, 鮫島宗文, 坂本泰二, ポリープ状脈絡膜血管症における動静脈交差部の血管拍動、TEAM2011、2011年12月2日、東京国際フォーラム(東京都)
- ② 寺崎寛人, 山切啓太, 山下高明, 土居範仁, 上村昭典, 坂本泰二、小児の裂孔原性網膜剥離に対する強膜内陥術の術後屈折変化、TEAM2011、2011年12月2日、東京国際フォーラム(東京都)
- ③ 白澤 誠, 有村 昇, 大塚寛樹, 園田祥三, 橋口照人, 坂本泰二、硝子体出血における血管内皮細胞増殖因子についての検討、TEAM2011、2011年12月2日、東京国際フォーラム(東京都)
- ④ 山下敏史, 川野浩輝, 川野純廣, 園田恭志, 山切啓太, 坂本泰二、大型黄斑円孔へのinverted internal limiting membrane(ILM)flap technique手術、TEAM2011、2011年12月2日、東京国際フォーラム(東京都)
- ⑤ 園田祥三, 大塚寛樹, 白澤 誠, 有村 昇, 上笹貫太郎, 喜井裕哉, 大久保明子, 坂本泰二、中心性漿液性脈絡網膜症に対する低照射容量PDTの検討、TEAM2011、2011年12月2日東京国際フォーラム(東京都)
- ⑥ Takehiro Yamashita, Toshifumi Yamashita,

- Minoru Tanaka, Yuya Kii, Kumiko Nakao, Taiji Sakamoto. The subfoveal choroidal thickness in Japanese young normal eyes. The 4th joint meeting of Korea-China-Japan Ophthalmologists. 2011年11月4日 Seoul Korea
- ⑦ 藤原悠子, 山切啓太, 坂本泰二、小児増殖硝子体網膜症の2症例に対するヘビースリコーンオイルの使用経験、第65回日本臨床眼科学会、2011年10月9日、東京国際フォーラム(東京都)
- ⑧ 伊東 健, 田原昭彦, 渡部晃久, 久保田敏昭, 池田康博, 坂本泰二、新しい眼圧計(DCT)で測定した正常眼圧の分布、第65回日本臨床眼科学会、2011年10月8日、東京国際フォーラム(東京都)
- ⑨ 内野英輔, 藤田敦子, 精松泰子, 坂本泰二、翼状片手術における術中マイトマイシンC塗布の角膜内皮細胞への影響、第65回日本臨床眼科学会、2011年10月8日、東京国際フォーラム(東京都)
- ⑩ 吉永就正, 有村 昇, 大塚寛樹, 竹之内和則, 貞村ゆかり, 野間 聖, 川原幸一, 園田祥三, 橋口照人, 丸山征郎, 坂本泰二、NSAIDs点眼による脈絡膜血管新生抑制、第65回日本臨床眼科学会、2011年10月8日、東京国際フォーラム(東京都)
- ⑪ 藤田敦子, 田上純眞, 精松泰子, 内野英輔, 坂本泰二、外傷性角膜炎に続発した真菌性虹彩肉芽腫の1例、第65回日本臨床眼科学会、2011年10月7日、東京国際フォーラム(東京都)
- ⑫ 田中 実, 山下高明, 喜井裕哉, 中尾久美子, 坂本泰二、乳頭黄斑角と視神経乳頭周囲網膜神経線維層最厚部の関連、第22回日本緑内障学会、2011年9月24日、秋田ビューホテル・アトリオン(秋田市)
- ⑬ 山下高明, 田中 実, 喜井裕哉, 中尾久美子, 坂本泰二、視神経乳頭周囲網膜神経線維層厚における最厚部の近視性変化、第22回日本緑内障学会、2011年9月23日、秋田ビューホテル・アトリオン(秋田市)
- ⑭ Nakao K, Abematsu N, Mizushima Y, Sakamoto T. Optic disc swelling in Vogt-Koyanagi-Harada disease. Joint Congress of SOE/AAO. 2011年6月4日 Geneva, Switzerland.
- ⑮ 上笹貫太郎, 大塚寛樹, 喜井裕哉, 園田祥三, 坂本泰二、黒色細胞腫に伴う網膜下新生血管に対しベバシズマブ硝子体注射が奏功した1例、第81回九州眼科学会、2011年5月28日、沖縄県市町村自治会館(那覇市)
- ⑯ 田中 実, 喜井裕哉, 山下高明, 坂本泰二、強膜トンネル併用円蓋部基底線維柱帯切除術単独と白内障手術併用の術後成績の検討、第81回九州眼科学会、2011年5月27日、沖縄県市町村自治会館(那覇市)
- ⑰ 内野英輔, 園田祥三, 藤田敦子, 精松泰子, 坂本泰二、角膜内皮移植術後に発症したサイトメガロウイルス角膜内皮炎の一例、第81回九州眼科学会、2011年5月27日、沖縄県市町村自治会館(那覇市)
- ⑱ Sakamoto T. Biology of hyalocytes, Special Invited Lecture, International Symposium for New Insight of Translational Research. 2011 BOVRC and CRCID joint symposium. 2011年5月21日. Seoul, Korea.
- ⑲ 山下敏史, 山切啓太, 坂本泰二、黄斑円孔術後早期のうつ向き姿勢(Pr)解除時期決定の試み、第115回日本眼科学会総会、2011年5月14日、東京国際フォーラム(東京都)
- ⑳ 有村 昇, 吉永就正, 大塚寛樹, 山切啓太, 園田恭志, 山下敏史, 園田祥三, 坂本泰二、糖尿病網膜症と網膜静脈閉塞症における硝子体中VEGFとIL-6, IL-8の比率、第115回日本眼科学会総会、2011年5月13日、東京国際フォーラム(東京都)
- ㉑ 園田祥三, 大塚寛樹, 白澤 誠, 有村 昇, 園田恭志, 坂本泰二、Transwell™を用いた極性ブタ網膜色素上皮細胞の培養、第115回日本眼科学会総会、2011年5月12日、東京国際フォーラム(東京都)
- ㉒ Hiroki Otsuka, Noboru Arimura, Taro Kamisanuki, Yukiko Matsuo, Futoshi Otsuji, Yasushi Sonoda, Keita Yamakiri, Taiji Sakamoto. Non-infectious Endophthalmitis After Intravitreal Injection of Triamcinolone Acetonide. ARVO2011. 2011年5月5日. Fort Lauderdale・U.S.A

- ②③ Narimasa Yoshinaga, Noboru Arimura, Shozo Sonoda, Kazunori Takenouchi, Yukari Sadamura, Satoshi Noma, Ko-ichi Kawahara, Teruto Hashiguchi, Ikuro Maruyama, Taiji Sakamoto. Nsais Eye Drop As Anti-oxidant Treatment In Choroidal Neovascularization. ARVO2011. 2011年5月2日. Fort Lauderdale・U.S.A
- ②④ Hiroto Terasaki, Taro Kamisasanuki, Ken-ichiro Kosai, Taiji Sakamoto. Inhibition Of Choroidal Neovascularization By Targeting To Membrane Protein Cd9. ARVO2011. 2011年5月1日. Fort Lauderdale・U.S.A
- ②⑤ Takehiro Yamashita, Yuya Kii, Akinori Uemura, Taiji Sakamoto. Long-term Intraocular Pressure After 20 Gauge Pars Plana Vitrectomy. ARVO2011. 2011年5月1日. Fort Lauderdale・U.S.A
- ②⑥ Sakamoto T. Chromovitrectomy. Rebert Burns lecture of Mason Eye Institute (Part 2), University of Missouri, 2010年10月23日 Columbia, Missouri, USA
- ②⑦ Sakamoto T. Intravitreal mediators in diabetic retinopathy. Symposium. ARVO summer conference. NIH, 2010年8月1日. Bethesda, USA
- ②⑧ Samoto T. Kamisasanuki T, Kosai K. CD9 as a therapeutic target of ocular diseases (invited speaker symposium). 8th International symposium of ocular pharmacology and therapeutics. 2009年12月4日. Rome Cavaliori, Rome, Italy,
- ②⑨ Sakamoto T. Immediate change after intravitreal triamcinolone for diabetic macular edema. Invited lecture. Symposium of macular disorder. 4th Asia-Pacific Vitreo-Retinal Society, 2009年11月11日. Grand Hotel, Taipei, Taiwan.
- ③⑩ Sakamoto T. Intravitreal staining by triamcinolone during PPV. Symposium. 107th Deutsche Ophthalmol. 2009年9月26日. Gesellschaft. Leipzig Messe, Leipzig, Germany.

〔産業財産権〕

○出願状況 (計1件)

名称：血管新生抑制剤

発明者：小賤健一郎、坂本泰二、上笹貴太郎

権利者：鹿児島大学

種類：特許

番号：国内出願 特願 2011-510400

国際出願 特願 PCT/JP2010/057735

出願年月日：国内 2011年10月20日

国外 2010年4月23日

国内外の別：国内国外とも

6. 研究組織

(1) 研究代表者

坂本泰二 (SAKAMOTO TAIJI)

鹿児島大学・歯学総合研究科・教授

研究者番号：10235179

(2) 研究分担者

園田康平 (SONODA KOH-HEI)

山口大学・医学系研究科・教授

研究者番号：10294943

丸山征郎 (MARUYAMA IKURO)

鹿児島大学・歯学総合研究科・特任教授

研究者番号：20082282

高尾尊身 (TAKAO SONSHIN)

鹿児島大学・医用ミニブタ・先端医療開発

研究センター・教授

研究者番号：80171411

小賤健一郎 (KOSAI KEN-ICHIRO)

鹿児島大学・歯学総合研究科・教授

研究者番号：90301663

隅田泰生 (SUDA YASUO)

鹿児島大学・理工学部研究科・教授

研究者番号：70179282