

平成 21 年 6 月 17 日現在

研究種目: 基盤研究(C)

研究期間: 2006 ~ 2008

課題番号: 18591920

研究課題名(和文) 重症ドライアイにおける眼表面ムチンの発現についての検討

研究課題名(英文) Expressions of Membrane Associated Mucins in the Ocular Surface of Patients with Severe Dry Eye

研究代表者

堀 裕一 (HORI YUICHI)

大阪大学・医学系研究科・助教

研究者番号: 70379171

研究成果の概要: 我々は、重症眼表面疾患の治療に有用な培養口腔粘膜シートにおける膜型ムチンの解析を行ってきた。口腔粘膜組織ではほとんど見られない MUC16 が、培養して上皮シートを作成すると、重層化した上皮の最表層に MUC16 が発現していることが明らかになった。これは、培養過程において何らかの因子が口腔粘膜上皮の MUC16 発現を賦活化した可能性が考えられるが、MUC16 の発現因子を解明するヒントになると思われる。

交付額

(金額単位: 円)

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	1,500,000	0	1,500,000
2007 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2008 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	600,000	4,100,000

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: ドライアイ、ムチン、幹細胞、培養上皮移植、角膜上皮

1. 研究開始当初の背景

我々は、以前よりそれまで治療不可能といわれてきた重症ドライアイの原因となる Stevens-Johnson 症候群、眼類天疱瘡、化学外傷後などの重症眼表面疾患に対して、角膜上皮シートおよび口腔粘膜上皮シートをもちいた治療をおこない、有効な成績をおさめている。術前には角結膜上皮が角化した状態であるが、培養上皮シート移植後には眼表面の再建が可能になっている。

2. 研究の目的

(1)重症ドライアイ患者における涙液中およ

び眼表面に発現するムチンの定量と正常との比較をおこなう。

(2)ドライアイの病態によって発現しているムチン構造の変化の有無を検討する。

(3)培養上皮シートを用いた治療後にムチンの発現がどのように変化(改善)しているかを検討する。これらの研究を総合して重症ドライアイ疾患におけるムチン発現が眼表面の改善により、どのように変化するかを検討する。

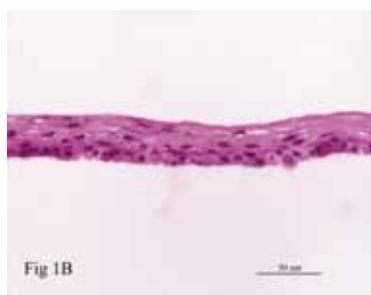
3. 研究の方法

(1)角結膜上皮細胞と口腔粘膜上皮細胞のム

チン発現の比較自己口腔粘膜上皮シート移植後の患者から得られたムチンと正常者から得られたムチン、また、シート自身に発現しているムチンについて特に膜型ムチン (MUC1, MUC4, MUC16) について mRNA およびタンパクレベルで比較検討をおこなう。

4. 研究成果

(1) 正常ボランティアから採取した口腔粘膜上皮から培養口腔粘膜上皮シートの作製 : 3名の正常ボランティアから 5 x 5 mm の口腔粘膜組織を採取し、温度応答性培養皿を用いて培養口腔粘膜上皮シートを作製したところ、5 - 6 層の重層化したシートは、角膜上皮シートと形態が類似しており、表面は豊富な微絨毛で覆われていた。

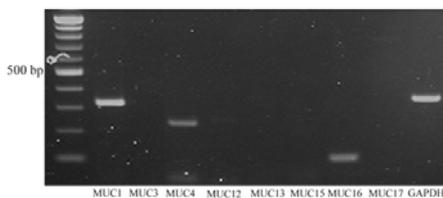


(培養口腔粘膜上皮シート)

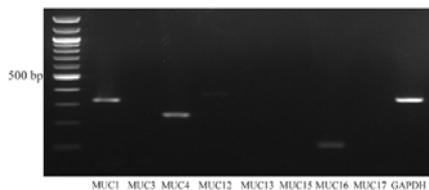
(Hori et al. Exp. Eye Res. 2008)

(2) 口腔粘膜組織および培養口腔粘膜上皮シートにおける膜型ムチンの発現 :

膜型ムチンの発現の検討では、口腔粘膜上皮シートでは、MUC1, MUC4, MUC16 mRNA が発現しており、角膜上皮シートおよび通常の角結膜上皮細胞が発現している膜型ムチンの発現パターンとまったく同じであった。

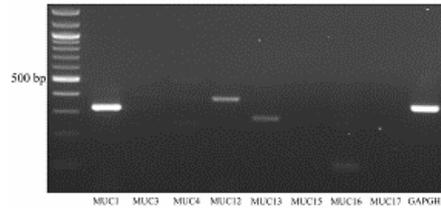


(培養口腔粘膜上皮シート)



(培養角膜上皮シート)
(Hori et al. Cornea 2007)

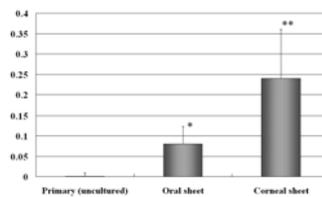
以上より、培養口腔粘膜上皮シートにおける膜型ムチンは移植治療の有効性に関与していると思われる。また、ヒト口腔粘膜上皮細胞株である K B 細胞も同様に培養しシート作製を試みたところ、K B 細胞は重層化せず、膜型ムチンの発現も MUC1, MUC12, MUC13, MUC16 と前者二つと全く異なっていた。



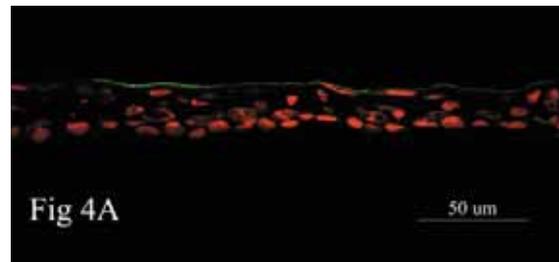
(KB 細胞、重層化せず)

(Hori et al. Cornea 2007)

また興味深いことに、口腔粘膜の織においてはこれら膜型ムチンは発現していないが、培養すると膜型ムチンの発現が見られる。これらはタンパクレベルでも確認されている。つまり、口腔粘膜組織では MUC16 の発現がほとんど見られないのに対し、培養して重層化した口腔粘膜上皮シートを作成すると、MUC16 は重層化した上皮の最表層に発現していることが明らかになった。



(口腔粘膜組織に比べ、培養口腔粘膜シートは有意に MUC16 の発現が上昇している。)



(培養口腔粘膜上皮シートの最表面に MUC16 が発現している。)

(Hori et al. Exp. Eye Res. 2008)

培養により本来発現していないムチン発現が上昇する理由として、1) 培養過程における何らかの因子が口腔粘膜上皮の MUC16 発現を賦活化し発現を増加させた、2) 通常の口腔組織においては何らかの因子が MUC16 の発現を抑制しており、*in vitro* の状態にすると抑制が解除されて発現が増加した、といった可能性が考えられる。本研究は、眼表面における MUC16 の発現を調節する因子を解明するためのヒントになると思われ、今後の検討課題にしたいと考える。

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6件)

Hori Y, Maeda N, Sakamoto M, Koh S, Inoue T, Tano Y: Bacteriologic profile of the Conjunctiva in Patients with Dry Eye. *Am J Ophthalmology* 146:729-734, 2008 査読有

Hori Y, Nishida K, Yamato M, Sugiyama H, Soma T, Inoue T, Maeda N, Okano T, Tano Y: Differential expression of MUC16 in human oral mucosal epithelial and cultivated epithelial sheets. *Experimental Eye Research* 87: 191-196, 2008 査読有

Hori Y, Maeda N, Kosaki R, Inoue T, Tano Y: Three Cases of Idiopathic "Multiple-Parallel-line" Endotheliitis. *Cornea* 27: 103-106, 2008 査読有

Hori Y, Maeda N, Sakamoto M, Inoue T, Tano Y: Fluoroquinolone-resistant bacteria and methicillin-resistant Staphylococci from normal preoperative conjunctiva. *J Cataract Refract Surg.* 34: 711-712, 2008 査読有

Hori Y, Sugiyama H, Soma T, Nishida K: Expression of Membrane-associated Mucins in Cultivated Human Oral Mucosal Epithelial Cells. *Cornea* 26: S65-S69, 2007 査読有

Hori Y, Argueso P, Spurr-Michaud S, Gipson IK: Mucins and Contact Lens Wear. *Cornea* 25: 176-181, 2006 査読有

[学会発表](計4件)

堀 裕一、前田直之、高 静花、井上智之、田野保雄、坂本雅子：ドライアイ患者の結膜常在菌におけるフルオロキノロン感受性の検討第 45 回日本眼感染症学会(スリーサムin 福岡、福岡 2008 年 7 月 4~6 日)

Y. Hori, T. Nakazawa, N. Maeda, T. Inoue, S. Yokokura, N. Kohji, and Y. Tano: Susceptibility Comparison for Fluoroquinolones for Preoperative Normal Conjunctival Bacteria 2008 ASCRS

Symposium & Congress (Chicago, April 5-9, 2008)

堀 裕一、杉山洋章、相馬剛至、井上智之、前田直之、田野保雄、西田幸二：培養口腔粘膜上皮シートにおけるムチン発現についての検討第 31 回角膜カンファランス・第 23 回角膜移植学会(宮崎 2007 年 2 月 9 日~11 日)

堀 裕一、井上智之、前田直之、田野保雄：ドライアイ患者における結膜常在菌の検討第 60 回日本臨床眼科学会(京都 2006 年 10 月 5 日~8 日)

[図書](計10件)

堀 裕一：角膜輪部デルモイド切除・表層移植. 坪田一男編. *眼科プラクティス* 13、角膜外科のエッセンス、156 - 159、文光堂、2007.

堀 裕一：ケースレポート - 所変われば技変わる- BUT短縮型ドライアイ. 坪田一男ら編. *Frontiers in DRY EYE Vol.2 (1)* 28-30、メディカルレビュー、2007

堀 裕一：角膜移植の基礎知識、手術操作と器械出しのポイント. 下村嘉一編. *眼科手術看護マニュアル*、166 - 181、メディカ出版、2007

堀 裕一：初発翼状片. 前田直之編. *眼科インストラクションコース* 13、眼科の処置と小手術完全マスター、48-53、メジカルビュー、2007

島崎 潤、山口昌彦、小室 青、堀 裕一：ひろげようドライアイの輪. 坪田一男ら編. *Frontiers in DRY EYE Vol.2 (2)* 14-19、メディカルレビュー、2007

堀 裕一：麦粒腫、霰粒腫. 田野保雄、樋田哲夫編 *今日の眼疾患治療指針* 第 2 版、63、2007

堀 裕一：眼瞼内反・睫毛内反、眼瞼外反、睫毛乱生. 田野保雄、樋田哲夫編 *今日の眼疾患治療指針* 第 2 版、72 - 74、2007

堀 裕一：帯状角膜変性. 大鹿哲郎編. *眼科プラクティス* 18、前眼部アトラス、233、文光堂、2007.

堀 裕一：角結膜化学損傷. 大鹿哲郎編. *眼科プラクティス* 10、眼科外来必携、162 - 165、文光堂、2006.

堀 裕一：'ドライアイリサーチワード' 解説「眼表面における膜型ムチンの発現について」坪田一男ら編. *Frontiers in DRY EYE Vol.1(1)*、76-78、メディカルレビュー社、2006

6 . 研究組織

(1)研究代表者

堀 裕一 (HORI YUICHI)
大阪大学・医学系研究科・助教
研究者番号：70379171

(2)研究分担者

(3)連携研究者

西田 幸二 (NISHIDA KOJI)
東北大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号：40244610