

令和 6 年 5 月 27 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K16882

研究課題名（和文）炎症制御による近視抑制

研究課題名（英文）Suppression of Myopia by Regulating Inflammation

研究代表者

森 紀和子（Mori, Kiwako）

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・特任講師

研究者番号：10880081

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：マウス近視誘導(lens induced myopia; LIM)モデルを用いて、3不飽和脂肪酸(PUFA)の近視抑制効果を検証した。マウスを人為的に近視誘導しLIMモデルを作成したのち、3PUFAを摂取させて近視が抑制されることを確認した。次に、3PUFAを体内で産生することのできる遺伝子改変マウスに3PUFAを含まない餌を投与することで3PUFAの近視抑制効果を証明した。さらにマクロファージを人為的に操作することにより炎症を惹起したマウスが近視になること、その近視になったマウスに3PUFAを与えて近視抑制になることを検証した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は昨今急増する近視罹患数に対応すべく計画された近視進行予防法の開発の一環である。オメガ3多価不飽和脂肪酸(3PUFA)は、様々な疾病予防効果が証明され製品化に至っているが、近視進行抑制に対する効果について過去に報告はなかった。クロセチンと3PUFAは抗炎症作用を有する点で類似しており、炎症制御による近視進行抑制効果が考えられるが、近視と炎症との関連はこれまでも議論されている。3PUFAにはすでに近視進行抑制効果が実証されている天然色素由来であるクロセチンと同様の機序により、抗炎症効果を介して近視抑制効果を持つ確証があった。本研究ではその効果の検証およびメカニズムの解明が行われた。

研究成果の概要（英文）：Verification of the myopia suppressive effect of omega3-polyunsaturated fatty acid (3PUFA) has been performed using lens induced myopia (LIM) models. After creating LIM models with artificial induction of myopia in mice, myopia suppression was confirmed by feeding them with 3PUFA. Subsequently, chows without 3PUFA were administered to transgenic mice which can internally produce 3PUFA. This experiment showed 3PUFA's myopia suppressive effect. Furthermore, by manipulating macrophages for induction of inflammatory responses, mice showed myopic changes and myopic mice showed myopia suppression after being fed with 3PUFA.

研究分野：眼科

キーワード：近視 オメガ3多価不飽和脂肪酸 近視進行抑制 炎症 遺伝子改変マウス

1. 研究開始当初の背景

現在、近視罹患数は世界人口の約 22%にあたる 14 億 4000 万人に達し、2050 年には 47 億 5800 万人にも上ると推測されており (Holden BA, et al. Ophthalmology. 2016)。近視の原因究明、予防法の開発は急務である。最近では天然色素由来のクロセチンに近視予防効果があることが動物実験及びランダム化臨床試験で証明された (Mori K, et al. Sci Rep. 2019, Mori K, et al. J Clin Med. 2019)。クロセチンは抗炎症、抗酸化、抗動脈硬化作用などを有することがかねてより証明されている (Yamauchi M, et al. Eur J Pharmacol. 2010)。同様に抗炎症作用、抗酸化作用、抗動脈硬化作用を持つオメガ 3 多価不飽和脂肪酸 (omega3-polyunsaturated fatty acid; 以下 ω 3PUFA) のマウスによる近視抑制効果の可能性について申請者らは最新の知見を視覚眼科学国際会議で報告した (Mori K, et al. ARVO. 2019)。クロセチンと ω 3PUFA は抗炎症作用を有する点で類似しており、炎症制御による近視進行予防効果が示唆される (図 1)。

近視と炎症の関連については、炎症性眼疾患と近視、アレルギー性結膜炎と近視、炎症性サイトカインと近視、などの報告がある (Herbert CP et al. J Ophthalmic Vis Res. 2011, Coviltir V et al. J Ophthalmol. 2019)。一方で、 ω 3PUFA はマクロファージにおいて抗炎症作用を示すことが報告されており、特に炎症応答後期にマクロファージが合成する不飽和脂肪酸は炎症制御に必須である (Oishi Y, et al. Cell Metab. 2017)。また、最近ではマクロファージと近視の関連も示唆されている (Zhao F, et al. Am J Pathol. 2020)。

近視の増加傾向の背景には遺伝因子よりも環境因子が大きく関与していることが明らかとなっているが、その因子として屋外活動時間の減少、近業活動時間の増加、食生活の変化などが考えられる。申請者らはこれらの環境因子が近視進行に関与しているという事実の検証とそのメカニズムの解明に労を尽くした。バイオレットライトが近視抑制遺伝子 EGR1 の発現増加を惹起することで近視抑制作用を示すこと、天然由来クチナシ色素成分であるクロセチンもまた同様に近視抑制因子 EGR1 発現増加をもたらし、近視抑制につながることを動物実験において分子生物学的に証明した。また、クロセチンは抗酸化作用、抗炎症作用、抗動脈硬化作用を有することが各研究で証明され、さらに眼に関しては加齢黄斑変性、緑内障にも有利に働くことが明らかとなっており、こうした生体にとって有利となる様々な作用が間接的に近視抑制に関連していることも考えられた。 ω 3PUFA は体内で活性代謝物に変換後、抗酸化作用、抗炎症作用、抗動脈硬化作用を呈することが各研究で明らかとなっており、この意味ではクロセチンの持つ生体にとって有利な作用と類似することに着目し、 ω 3PUFA の近視抑制効果の可能性を追究すべきと考えた。申請者らはその準備段階として、近視誘導マウスを用いた実験を行った。 ω 3PUFA を多く含む食餌を与えたマウスの近視誘導眼は、 ω 6PUFA を多く与えたものに比べて有意に近視抑制効果を示すことが観察された。

以上のことを踏まえ、本研究は「 ω 3PUFA は近視進行抑制作用を有するか、およびこの作用にマクロファージの抗炎症作用が関与しているか」の検証を目的とし、遺伝子改変マウスを用いて ω 3PUFA の近視抑制効果の検証を行い、マクロファージを操作したマウスは近視が誘導されるか、マクロファージを操作したマウスに ω 3PUFA を与えると近視抑制されるか、近視と炎症との関連を探求する。

2. 研究の目的

本研究は ω 3PUFA に近視抑制効果があるかどうか、あるとすればそのメカニズムはどのようなものかを解明することを目的とする。その前提として、これまでに申請者らは、マウスの近視誘導モデルを用いた予備的実験を行った。これまでマウスによる近視動物モデルは誘導が困難であったが、申請者らは誘導効率の高いマウス近視誘導モデルを確立した (Jiang X, et al. Sci Rep. 2018)。それにより遺伝子改変マウスを用いた検証や様々な介入が可能となった。近視誘導モデルとは、生後数週の片眼に一定期間凹レンズを装着して強制的に近視を誘導するもので

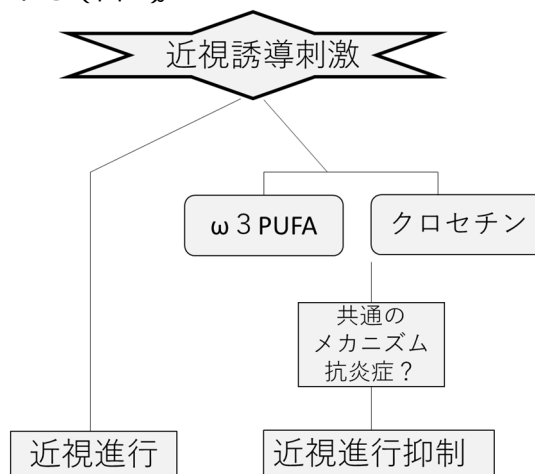


図 1: 食餌による近視進行抑制効果

マウスの近視誘導モデルにクロセチンおよび ω 3PUFA 与え近視抑制効果を検証したところ近視抑制効果を示した。共通のメカニズムが考えられるがまだわかっていない。

ある。近視誘導モデルにおける様々な介入実験は過去の報告で有効であることが証明されている(Mori K, et al. Sci Rep. 2019)。ω3PUFA および ω6PUFA の比率を変えた含有餌を与え、これらの近視抑制効果と比較したところ、ω3PUFA を多く与えたマウスで有意に近視抑制効果を示したことを認め、発表した(図 2)(Mori K, et al. ARVO. 2019)。過去に ω3PUFA が近視抑制効果を有することを検証した報告はなく、本研究の学術的独自性および創造性として、マウスの近視誘導モデルを用いた ω3PUFA の近視予防効果判定、遺伝子改変マウスを用いた検証実験、さらにマクロファージを人為的に操作することにより炎症を惹起したマウスが近視になること、その近視になったマウスに ω3PUFA を与えて近視抑制になることを検証し炎症と近視との関連を検証する。

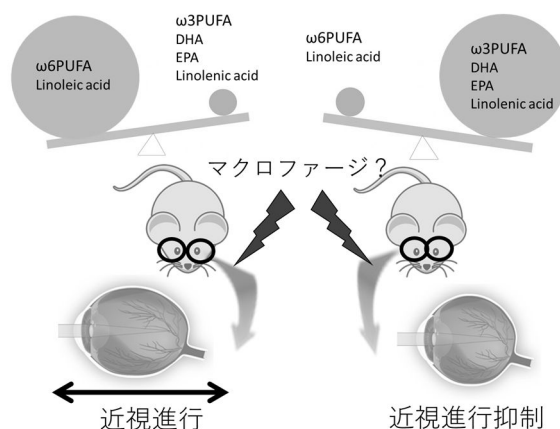


図 2 : ω3PUFA の近視抑制効果
マウスの近視誘導モデルに ω3PUFA と ω6PUFA 含有餌を与え近視抑制効果と比較した。ω3PUFA を多く与えたマウスで有意に近視抑制効果を示した。

3 . 研究の方法

1) 近視誘導マウスおよび遺伝子改変マウスを用いた脂肪酸(ω3PUFA, ω6PUFA)投与比較実験を行い、ω3PUFA の近視抑制効果を検証した。

3 週齢雄マウス (C57B6/J) の右眼を近視誘導眼として-30 diopter (D)レンズを、左眼を非誘導眼として 0 D レンズを装着し、マウスの近視誘導モデルを作成した。これに ω3PUFA, ω6PUFA の比率を変えた混合餌を投与することにより、ω3PUFA が近視進行抑制に寄与するかを確認するため、近視誘導前と 5 週後の屈折、眼軸長をマウス専用屈折計、光干渉断層計で測定した。次に体内で ω3PUFA を自己産生できる遺伝子改変マウスに ω6PUFA を投与し、野生株と比較して近視進行が抑制されていることを確認した。

2)マクロファージを人為的に操作したマウスを作成し、これが近視進行に与える影響を観察することで、近視進行のメカニズムにマクロファージが関与していることを検証した。

4 . 研究成果

1)ω3PUFA と ω6PUFA 餌投与群与え、近視進行抑制効果を再度検証した。屈折及び眼軸長伸長ともに有意に近視抑制効果を示した。

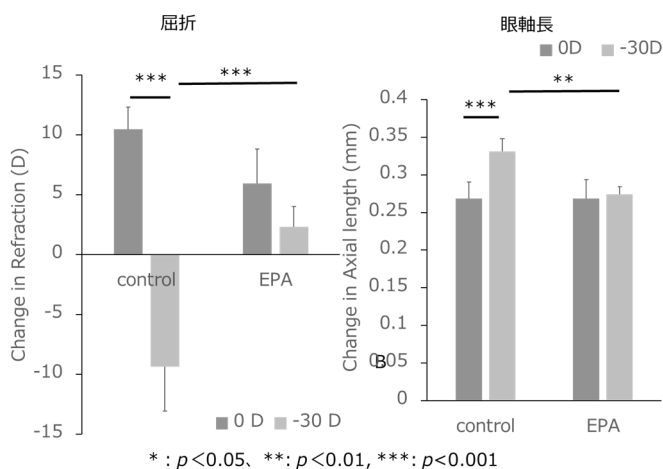


図 3 : ω3PUFA の近視抑制効果
マウスの近視誘導モデルに ω3PUFA(omega 3)と ω6PUFA(omega 6)含有餌を与え近視抑制効果と比較した。ω3PUFA を多く与えたマウスで有意に屈折、眼軸長ともに近視抑制効果を示した。

そのうえで ω3 PUFA を体内で生成できる遺伝子改変マウス群、EPA 付加餌投与群で、それぞれ近視誘導眼の屈折の近視化、眼軸長伸長が有意に抑制された (p < 0.05)。

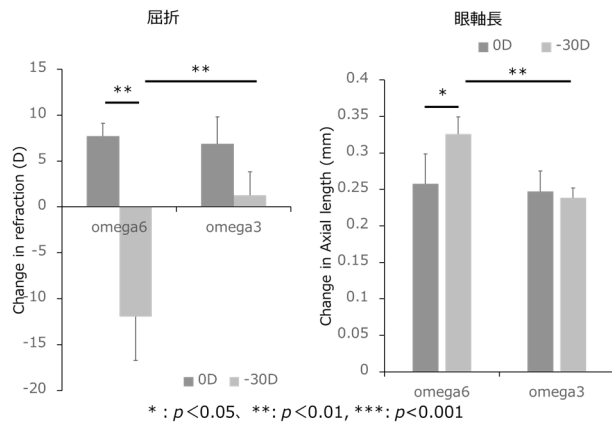


図4：EPA 付加餌の近視抑制効果
 マウスの近視誘導モデルにコントロール餌と EPA 含有餌を与え近視抑制効果を比較した。EPA を付加した餌を多く与えたマウスで有意に近視抑制効果を示した。

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Kiwako Mori, Sayoko Kuroha, Jing Hou, Heonuk Jeong, Mamoru Ogawa, Shin-Ichi Ikeda, Jing X Kang, Kazuno Negishi, Hidemasa Torii, Makoto Arita, Toshihide Kurihara, Kazuo Tsubota	4. 巻 36 (6)
2. 論文標題 Lipidomic analysis revealed n-3 polyunsaturated fatty acids suppressed choroidal thinning and myopia progression in mice.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 FASEB J	6. 最初と最後の頁 e22312
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1096/fj.202101947R	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

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 栗原 俊英、森 紀和子、黒羽 小羊子、侯 靖、ジョン ホヌク、小川 護、池田 真一、Jing X. Kang、根岸 一乃、鳥居 秀成、有田 誠、坪田 一男
2. 発表標題 Omega 3 polyunsaturated fatty acids showed suppression of choroidal thinning and subsequent myopia inhibition by lipidomic analysis in murine experimental models
3. 学会等名 2022 International Myopia Conference（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 森 紀和子、黒羽 小羊子、侯 靖、ジョン ホヌク、池田 真一、小川 護、鳥居 秀成、有田 誠、栗原 俊英、坪田 一男
2. 発表標題 マウス近視モデルにおけるオメガ3不飽和脂肪酸の近視進行抑制効果
3. 学会等名 第3回日本近視学会総会
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
---------------------------	-----------------------	----

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