

## 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 5 月 15 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2011

課題番号：22791694

研究課題名（和文）

加齢によるマイボーム腺機能不全ドライアイの病態生理

研究課題名（英文）

Meibomian Gland (MG) and Ocular Surface Alterations in Sod1 knock-out (KO) Mice: A Novel Model for Age Related Dry Eye Disease.

研究代表者

イブラヒム オサマ モハメド アリ (Ibrahim Osama Mohamed Aly)

慶應義塾大学・医学部・研究員（非常勤）

研究者番号：90528340

研究成果の概要（和文）：我々は SOD1KO と野生マウスの眼表面、涙液、血液中の炎症性サイトカインを測定し、SOD1KO では高度な角膜障害、マイボーム腺消失、腺房周辺に炎症細胞の浸潤、瘢痕化、涙液に炎症性サイトカイン濃度の上昇を認め認めた。マイボーム腺における DNA と脂質酸化ストレスマーカーは SOD KO マウスで増加していた。SOD1KO が炎症を起こし、細胞死及び線組織の消失し、ドライアイと角膜障害が発症した。

研究成果の概要（英文）：We investigated the alterations of the MG in the SOD1KO mice. SOD1KO caused inflammation, apoptosis, dry eye and corneal damage. The SOD1 KO mouse appears to be a promising model for the study of age related meibomian gland alterations.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2011 年度	900,000	270,000	1,170,000
総計	2,200,000	660,000	2,860,000

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：マイボーム腺・ドライアイ・酸化ストレス

## 1. 研究開始当初の背景

マイボーム腺機能不全によるドライアイは眼表面の乾燥により不快感、疼痛や視力低下を引き起こし患者の QOL を低下させる。マイボーム腺機能不全によるドライアイは高齢者に高頻度に認められ、社会問題になっている。我々はドライアイに酸化ストレスが関与し、酸化ストレスに常にさらされている SOD1 ノックアウトマウスを用いて加齢にともない数種のストレスマーカーが涙腺組織において上昇していることを発見した。我々は本マウスと野生型のマウスの眼表面、涙液中、血

液中の炎症性サイトカインの定量を行い、眼表面およびマイボーム腺所見の違いを検討することにした。

## 2. 研究の目的

本研究は SOD1 ノックアウトマウスを用いて加齢によっておこるマイボーム腺機能不全に伴うドライアイと酸化ストレスの病態を解明することを目的とした。

## 3. 研究の方法

SOD1 ノックアウトマウスと野生型のマウスの涙液量を綿糸法で測定した。涙液を収集し、涙液中の炎症性サイトカイン

ン濃度を cyto bead assay 法に評価した。生体染色にて角膜上皮障害を判定した。マイボーム腺の病理学的な検討として HE 染色、Oil Red O 染色、癬痕程度を見るのにマロリー染色、DNA と脂質酸化ストレスマーカー、またアポトーシスのマーカーの免疫染色も試行した。CD 45 染色にて炎症細胞の浸潤程度を評価した。最後に電子顕微鏡の検討を加えた。

#### 4. 研究成果

涙液量：SOD1 ノックアウトマウスでは野生マウスに比較して涙液量が有意に減少していた（図1）。

角膜上皮障害：SOD-1 KO マウスでは野生マウスに比べ角膜上皮の高度な障害を認めた（図2）。

涙液中のサイトカイン濃度：ノックアウトマウスでは涙液に炎症性サイトカイン濃度の上昇（特に IL-6 および TNF- $\alpha$ ）を認めた（図3）。

病理学的な検討：HE 染色において SOD-1KO マウスではマイボーム腺の計時的消失を認めた。またマイボーム周辺に炎症細胞の浸潤を認め（図4）、これら変化と同時にマイボーム腺周辺に著しい癬痕化が生じたことが明らかになった（図5）。またマイボーム腺における DNA と晚期脂質酸化ストレスマーカー（8 OhdG と 4HNE）の定量を行った結果ノックアウトマウスでは野生マウスに比べ脂質における酸化ストレスマーカーの増加を認めた（図6）。SOD1 ノックアウトマウスのマイボーム腺房の密度も野生マウスより低く、マイボーム腺房上皮細胞が apoptosis におちい、萎縮が生じている可能性があると思われた。TUNNEL 法で免疫染色を行った結果、マイボーム腺房上皮細胞の高度な apoptosis が確認された（図7）。また OIL RED O 染色ではノックアウトマウスの脂質分泌の染色性は不均一で酸化されている様子も染色にて確認された。電子顕微鏡における検討ではマイボーム腺房上皮細胞のミトコンドリアの swelling と cristae の乱れが認められた。ミトコンドリアの形態学的な異常によってマイボーム腺脂質分泌機能障害が生じる可能性も考えられた。本研究の結果より SOD1 ノックアウトがマイボーム腺組織での炎症の引き金となり、マイボーム腺房上皮細胞死および線組織の消失が招かれ、ドライアイに伴う角膜上皮障害が発症したことが示唆された。

図 1

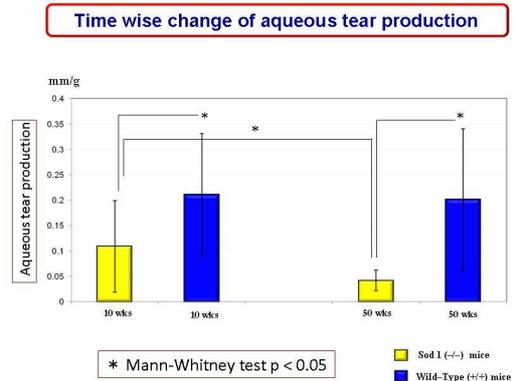


図 2

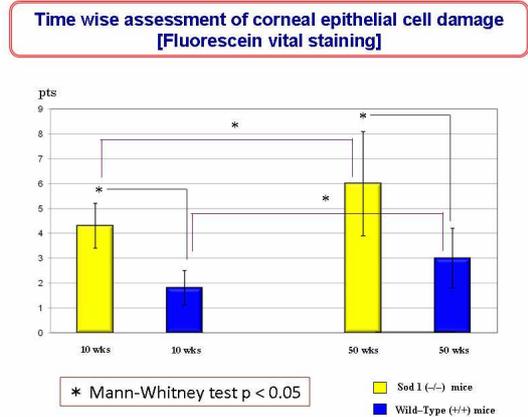


図 3

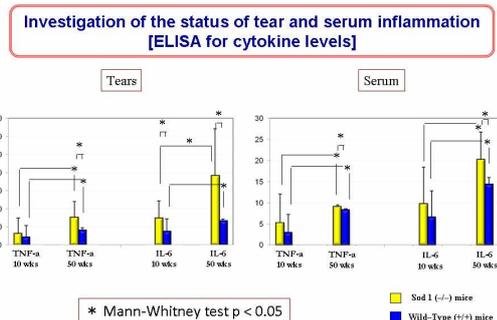


図 4

Investigation of the status of tissue inflammation: CD45 Immunohistochemistry staining

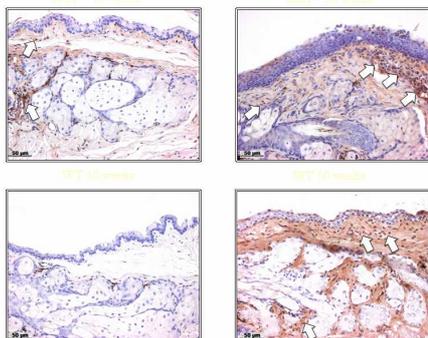


図 5

Meibomian Gland Histopathology Investigation: Tissue fibrosis observation [Mallory Staining]

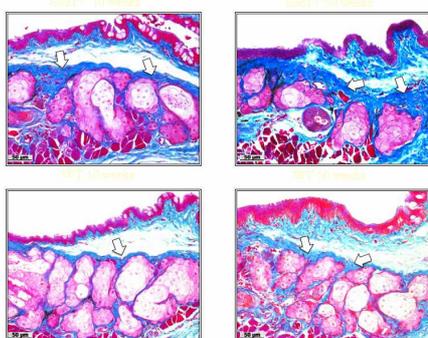


図 6

Investigation of the Meibomian Gland Oxidative stress status: lipid peroxidation marker Anti-4-Hydroxy-2-nonenal (4-HNE) Immunohistochemistry staining

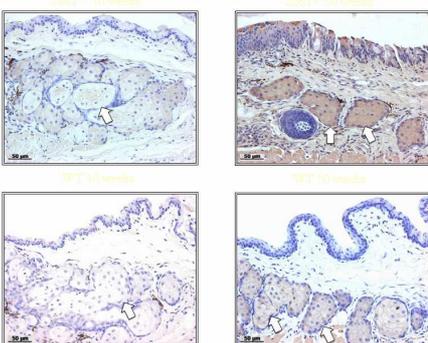
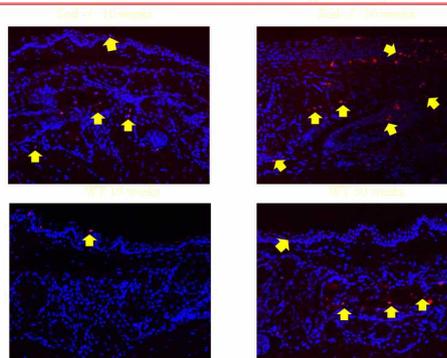


図 7

Time wise meibomian gland apoptotic changes TUNEL Immunohistochemistry staining



### 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 0 件 )

[ 学会発表 ] ( 計 1 件 )

Ibrahim Osama,The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO)May 5<sup>th</sup> 2011,Fort Lauderdale,USA, Evidence For Accelerated Apoptosis And Altered Meibomian Glandular Differentiation In The Sod1 Knock-out Mice Novel Model For Age Related Dry Eye Disease

[ 図書 ] ( 計 0 件 )

[ 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 該当なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

イブラヒム オサマ モハメド アリ  
(Ibrahim Osama Mohamed Aly)  
慶應義塾大学・医学部・研究員（非常勤）  
研究者番号：90528340