

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：15501

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K16953

研究課題名(和文) 樹状細胞を標的とした、オメガ3脂肪酸を用いた新規の眼炎症抑制療法の開発について

研究課題名(英文) Development of a new anti-ocular inflammation therapy using omega-3 fatty acids that targets dendritic cells

研究代表者

内 翔平 (Uchi, Shohei)

山口大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：20939277

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)：ぶどう膜炎は、過剰な免疫反応による眼内炎症で、ステロイドが急性期の治療に使われるが、副作用が多く長期使用は困難である。本研究者はオメガ3脂肪酸に着目し、その抗炎症効果について検討を行い、オメガ3脂肪酸がTh1/Th17細胞系を抑制し、マウスぶどう膜炎モデルで抗炎症効果を示すこと、抗原提示細胞(APC)の中で特に樹状細胞(DC)を介して抗炎症効果を発揮することを示した。さらに、オメガ3脂肪酸を摂取したマウスの脾臓から単離したDCを用いて、眼内炎症や全身の炎症性サイトカインを抑制できることを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果は、細胞免疫移植がぶどう膜炎治療の新たな可能性を示すものである。しかしながら、細胞免疫移植には費用や安全性の問題がある。また、オメガ3脂肪酸を用いた薬剤の治療応用には、保存性や酸化、全身投与の問題がある。

研究成果の概要(英文)：Uveitis is an intraocular inflammation caused by an excessive immune response. Although steroids are used to treat the acute phase of the disease, long-term use is difficult due to their many side effects. The researchers focused on omega-3 fatty acids and investigated their anti-inflammatory effects. They showed that omega-3 fatty acids suppress the Th1/Th17 cell lineage and exhibit anti-inflammatory effects in a mouse uveitis model, especially via dendritic cells (DC) among antigen-presenting cells (APC). Furthermore, we showed that DCs isolated from the spleens of mice fed omega-3 fatty acids can suppress intraocular inflammation and systemic inflammatory cytokines.

研究分野：眼炎症

キーワード：ぶどう膜炎 樹状細胞 免疫細胞移植 オメガ3脂肪酸 サイトカイン ケモカイン

様式 C-19、F-19-1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ぶどう膜炎は、過剰な免疫反応による眼内炎症で、ステロイドが急性期の治療に使われるが、副作用が多く長期使用は困難である。副作用を回避するための治療法として免疫抑制剤や生物学的製剤が導入されてきたが、即効性やコスト面でステロイドを完全に代替できていない。

本研究者はオメガ 3 脂肪酸に着目し、その抗炎症効果について検討を行い、オメガ 3 脂肪酸が Th1/Th17 細胞系を抑制し、マウスぶどう膜炎モデルで抗炎症効果を示すこと、抗原提示細胞(APC)の中で特に樹状細胞(DC)を介して抗炎症効果を発揮することを示した。さらに、オメガ 3 脂肪酸を摂取したマウスの脾臓から単離した DC を用いて、眼内炎症や全身の炎症性サイトカインを抑制できることを示した。

これらの研究成果は細胞免疫移植がぶどう膜炎治療の新たな可能性を示すものである。しかしながら、細胞免疫移植には費用や安全性の問題がある。また、オメガ 3 脂肪酸を用いた薬剤の治療応用には、保存性や酸化、全身投与の問題がある。

2. 研究の目的

本研究では、オメガ 3 脂肪酸を作用させた樹状細胞(DC)が眼内炎症を抑制する作用機序を解明し、オメガ 3 脂肪酸および DC の実用上の課題を見極め、局所投与による副作用の少ない新規のぶどう膜炎治療法を開発できるか検討することである。そのため、(1)オメガ 3 脂肪酸の抗炎症作用に関与する重要な物質を、オメガ 3 脂肪酸の代謝物質を用いた DC への作用および遺伝子発現解析を通じて同定し、(2)MHC class II の発現量と Tol-DC の発現からその分子機序を詳細に解明することを目指すことを目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、オメガ 3 脂肪酸を作用させた樹状細胞(DC)を利用する。調整方法として、6 週齢の C57BL/6 雌マウスにオメガ 3 脂肪酸を加えた飼料またはコントロール飼料を 2 週間与え、レーザーを用いて眼内炎症を誘導し、8 週齢でマウスを犠牲にし、脾臓から DC を単離し以下の実験を行った。摘出眼球から網膜および脈絡膜を採取した。Bioplex アッセイシステム(Bio-Rad)を用いてサイトカインおよびケモカインを測定した。さらに、回収したマウスの脾臓から抽出した免疫細胞を MACS で分画し、各々の表面抗体をマーカーとして、フローサイトメトリーによる細胞表面形質解析を行うことで、脈絡膜新生血管の抑制作用および抗炎症作用に対する免疫細胞を同定した。

4. 研究成果

(1) マウス網膜および脈絡膜のサイトカイン産生への影響

オメガ3脂肪酸の摂取がマウスの網膜および脈絡膜におよぼす影響について検討するため、オメガ 3 脂肪酸を加えた飼料またはコントロール飼料を 2 週間与え眼内炎症を誘導 7 日後の摘出眼球から網膜および脈絡膜を採取した。Bioplex アッセイシステム(Bio-Rad)を用いてサイトカインおよびケモカインを測定した(data not shown)。オメガ3脂肪酸摂取群の網膜では、IL-2、IL-12、MCP-1、KC、脈絡膜では MCP-1 および MCP-1a が対照群に比べ有意に減少していた。

(2)オメガ3脂肪酸によるマウス脾臓由来の免疫細胞組成に対する影響

摂取により樹状細胞の発現に変化があるかどうかについて着目するため、樹状細胞の表面マーカーである CD11c および免疫系由来細胞の表面マーカーである CD88 に対する抗体を用いて解析した。まず、フローサイトメトリーの条件設定のため、健常マウスを用いて抗体の濃度およびフローサイトメトリーの蛍光強度などを計測した。

本研究により、眼疾患に最適な投与方法である点眼剤や局所注射薬の新規開発につながることを期待され、ぶどう膜炎の新たな治療法の開発に貢献できる可能性がある。

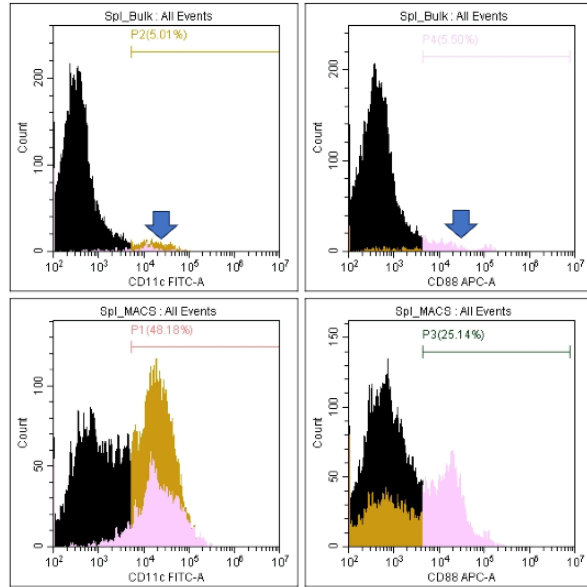
右図に示すように健康マウスの脾臓由来の免疫細胞すべて(Bulk)に CD11c あるいは CD88 の抗体を反応させても、有意な抗体発現量を有する細胞の検出はできなかった。この理由として、脾臓由来の細胞には免疫細胞が多く含まれるが、我々が標的としている樹状細胞の割合は低く一般に4%程度であるため、フローサイトメトリによる検出には限界があった。次に MACS(磁気活性

健康マウス Bulk

健康マウス 樹状細胞分画 (MACS)

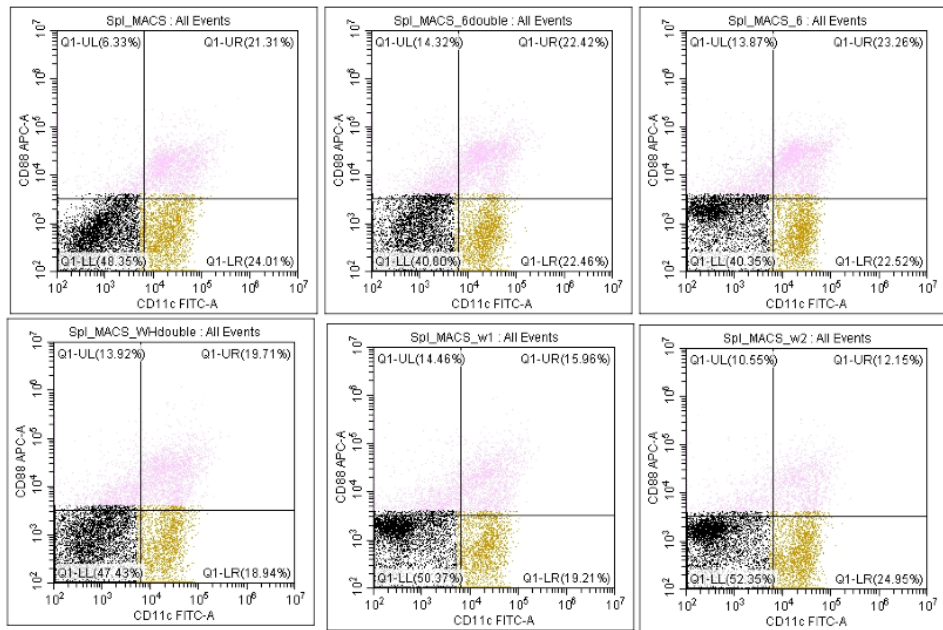
CD11c: 樹状細胞

CD88: 骨髄系由来細胞



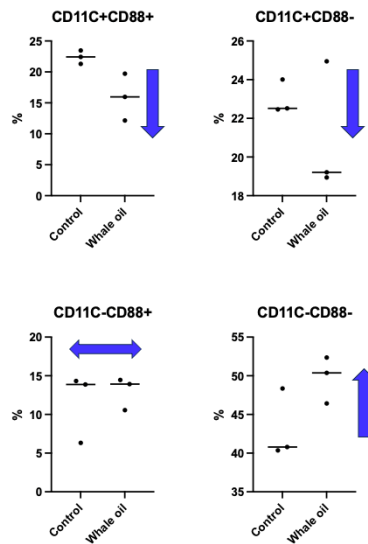
対照群 (オメガ3フリー)

鯨油群



化セルソーティング)を用いて、樹状細胞分画を抽出した細胞を用いて、フローサイトメトリを行うと DC11c および CD88 の抗体に反応する細胞が検出された。次にオメガ3脂肪酸あるいはコントロール食を摂食させたマウスから脾臓を摘出し、免疫細胞を回収後に MACS で樹状細胞分画のみを濃縮してフローサイトメトリを行った。

上図および右図に示すように鯨油摂食マウス脾臓由来の樹状細胞分画では CD11c+CD88+細胞および CD11c+CD88-細胞が減少し、CD11c-CD88-細胞が対照マウス由来の細胞が減少していた。この結果より、オメガ3脂肪酸の摂食はマウス脾臓由来の樹状細胞の表面マーカーを変化させ、樹状細胞の形質を転換させることにより、眼炎症を抑制している可能性が示唆された。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------