

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 3 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2015

課題番号：24791877

研究課題名(和文) 涙腺上皮分泌顆粒とドライアイ発症機序

研究課題名(英文) The mechanism of dry eye and secretory vesicles of the lacrimal gland

研究代表者

鴨居 瑞加 (KAMOI, MIZUKA)

慶應義塾大学・医学部・助教

研究者番号：50348728

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：長時間のVDT作業に伴う非シェーグレン症候群タイプのドライアイ(VDT群)を対象として、シェーグレン症候群ドライアイ群と正常群と比較し、涙腺における分泌顆粒(SV)の蓄積がVDTドライアイに関連するかどうかを調査した。組織学的所見の解析結果より、VDT群の涙腺にはSVが過剰に蓄積していることが判明した。以上のことから、VDT群ではVDT作業による瞬目低下の影響で、涙液の産生は行われているが分泌が障害されSVが蓄積するという新たなメカニズムの関与が考えられた。

研究成果の概要(英文)：In this study, we focused on a human VDT work-related dry eye. The lacrimal gland biopsy specimens from VDT-related dry eye patients were compared with specimens from Sjogren's syndrome patients and autopsied normal controls. The purpose of this study is to elucidate whether SV accumulation is involved in VDT work-related dry eye in human subjects. Our analysis of lacrimal gland showed that the increased SV accumulation. Based on our findings, we hypothesize a new mechanism for VDT work-related dry eye, in which a tear secretion disorder probably related to a decreased blinking rate leads to an excessive accumulation of SVs.

研究分野：眼科

キーワード：涙腺

1. 研究開始当初の背景

近年、information technology の発達に伴い visual display terminals (以下 VDT) 作業が急速に普及している。そしてドライアイは VDT 作業に伴う重要な眼症状の 1 つであることが報告されている¹⁾。ドライアイは失明の原因にはならないが、目の乾き、眼精疲労や充血、実用視力の低下など患者の quality of life を低下させるが^{2), 3)}、いまだにそのメカニズムは不明である。ドライアイには涙液分泌減少型と蒸発亢進型があり⁴⁾、今まで VDT 作業に伴うドライアイは VDT 作業により瞬目が低下し、涙液蒸発量が亢進することで発症すると考えられてきた⁵⁾⁻⁹⁾。近年、ラットの VDT user model において涙液分泌量が低下し、涙腺の腺房上皮細胞に大量の分泌顆粒 secretory vesicles (以下 SV) が蓄積し、涙液の分泌低下つまり涙腺の機能不全が関与していることが報告された¹⁰⁾。さらに私たちの外来において、ドライアイの診断目的で行われた涙腺生検で、VDT ドライアイ患者の腺房上皮細胞に多量の SV が蓄積している症例を経験した。以上よりヒトにおける VDT ドライアイでも、涙液分泌が低下し涙腺の機能不全が関与しているのではないかと考えられた。

2. 研究の目的

今までに、ヒト涙腺において SV の観点からドライアイのメカニズムを考察した報告はない。そこで本研究では、ヒトにおける VDT ドライアイに SV の蓄積が関与しているかどうかを目的とした。

3. 研究の方法

対象は慶應義塾大学病院眼科外来を受診したドライアイ患者で、ドライアイの診断目的で涙腺生検を施行された症例のうち、同意を得られた症例において余った涙腺検体を組織学的に解析した。

涙腺検体を hematoxylin & eosin 染色 (以下 HE 染色) を行った組織切片を組織学的に

観察し、さらに透過型電子顕微鏡 (以下 TEM) での観察、免疫染色を施行した。VDT ドライアイ患者 (VDT 群) の検体は Sjögren's ドライアイ患者 (SS 群) の検体と、正常コントロール (正常群) の検体と比較した。

(1) HE 染色像において、腺房における導管の占める割合、組織中の腺房領域の割合、各群における腺房細胞の比較を行った。

(2) 続いて電子顕微鏡写真において、腺房上皮細胞の細胞質における SV の占有率、SV の直径を算出した。

(3) さらに代表症例において、外分泌の際の膜融合に関連する SV 上の分子 VAMP8 と、成熟した SV の指標である Rab3D の免疫染色を施行した。

(4) これらの症例の臨床検査所見 (角結膜上皮障害・涙液分泌量) と VDT 作業時間を調査し、組織の解析結果と関連があるか否か比較した。

4. 研究成果

各群における HE 染色像における比較では、VDT 群で腺房細胞が腫脹し導管が狭窄していた。電子顕微鏡での超微形態では、VDT 群で過剰な SV が細胞質に蓄積し、腺房上皮細胞の核が基底膜側に偏在していた。また直径の大きな電子密度の異なる SV が混在していた。以上より VDT 群では SV が過剰に蓄積していることがわかった。さらに外分泌の膜融合に関連する VAMP8 の免疫染色を施行したところ、正常群では涙腺腺房の排出導管側の細胞膜周囲と細胞質に発現が認められたが、VDT 群と SS 群では細胞質と基底膜側に認められ、導管側には認められなかった。このことより、VDT 群と SS 群では発現の分布が正常と異なり、外分泌経路に何らかの異常がある可能性が示された。続いて、成熟した SV の指標となる Rab3D について評価した。正常群では導管周囲の細胞質に発現を認められたが、VDT 群では細胞質に強い陽性像を認

めた。SS 群では基底膜側に弱い発現を認めた。以上より VDT 群では成熟した SV が過剰に細胞質に存在する一方、SS 群では SV 自体が少ないもしくは成熟していない可能性が考えられた。

HE 染色像、電子顕微鏡像、Rab3D の免疫染色の結果より、VDT 群では涙腺上皮細胞の細胞質に成熟した SV が過剰に蓄積しており、腺房は腫脹し排出導管は狭窄していた。一方で SS 群では上皮細胞における SV は少なく、また成熟していない可能性が示された。VAMP8 の染色結果より、VDT 群と SS 群は正常群と比べ発現の分布が異なっており、外分泌経路に何らかの異常がある可能性が示された。

VDT 群と SS 群において、角結膜上皮障害と涙液分泌量を比較すると、SS 群でドライアイの程度が強い傾向があった。SS 群では VDT 群に比べ VDT 作業時間は短かった。

以上より、VDT 群では VDT 作業に伴う瞬目低下が涙液分泌障害をもたらし、成熟した SV が過剰に蓄積するメカニズムが考えられた。つまり VDT 群では涙液の産生は行われているが、分泌が障害されており、SS 群では両者が障害されている可能性がある。長時間の VDT 作業は瞬目低下による涙腺の機能不全を惹起していると考えられる。

さらに、VDT 群の涙液分泌障害に自律神経の影響がある可能性を考え検討した。自律神経の1つである副交感神経は、涙液分泌に重要な役割を果たしており、VDT 作業で瞬目が低下している VDT 群では、副交感神経に何らかの変化を来しているのではないかと考えた。涙腺のパラフィン切片を用いてアセチルコリンエステラーゼの免疫染色を施行した。しかし VDT 群と SS 群の染色結果を比較したところ、有意な差は得られなかった。続いて、涙液分泌に重要な神経筋接合部に着目した。涙腺腺房は筋上皮細胞に囲まれ、自律神経の刺激により筋上皮細胞が収縮し涙液

が分泌される。透過型電子顕微鏡において、VDT 群と SS 群の組織片を観察したが両者に有意な差は認められなかった。

今後はますます視覚情報化が進むと考えられ、VDT 作業者数は増加していくであろう。VDT ドライアイの病態解明は急務である。今までに、ラットの VDT user model において、涙液分泌量が低下し涙腺の腺房上皮細胞に多量の SV が蓄積していることを見出し、涙液分泌の低下つまり涙腺の機能不全が関与していることが報告されている。しかしヒト涙腺において SV の観点からドライアイの発症メカニズムを考察した報告はなかった。本研究では、ヒト涙腺を組織学的に解析することで、ヒトの VDT ドライアイにおいても涙液分泌障害という新たなドライアイの発症メカニズムが関与している可能性を示した点で有意義であると思われる。

<引用文献>

1. Wolkoff P, Nojgaard JK, Troiano P, Piccoli B. Eye complaints in the office environment: precorneal tear film integrity influenced by eye blinking efficiency. *Occup Environ Med* 62: 2005. 4-12.
2. Toda I, Fujishima H, Tsubota. Ocular fatigue is the major symptom of dry eye. *Acta Ophthalmol* 71: 1993. 347-352.
3. Ishida R, Kojima T, Dogru M, Kaido M, Matsumoto Y, et al. The application of a new continuous functional visual acuity measurement system in dry eye syndromes. *Am J Ophthalmol* 139: 2005. 253-258.
4. Lemp MA. Report of the National Eye Institute/Industry workshop on Clinical Trials in Dry Eye. *CLAO J* 21: 1995. 221-232.
5. Tsubota K, Nakamori K. Dry eye and video display terminals. *N Eng J Med* 25: 1993. 584.
6. Tsubota K, Nakamori K. Effects of ocular

surface area and blink rate on tear dynamics. Arch Ophthalmol 113: 1995. 155-158.

7. Acosta MC, Gallar J, Belmonte C. The influence on eye solutions of blinking and ocular comfort at rest and during work at video display terminals. Exp Eye Res 68: 1999. 663-669.

8. Kojima T, Ibrahim OM, Wakamatsu T, Tsuyama A, Ogawa J, et al. The impact of contact lens wear and visual display terminal work on ocular surface and tear functions in office workers. Am J Ophthalmol 152: 2011. 933-940.

9. Tsubota K, Toda I, Nakamori K. Poor illumination, VDTs, and desiccated eyes. Lancet 347: 1996. 768-769.

10. Nakamura S, Kinoshita S, Yokoi N, Ogawa Y, Shibuya M, et al. Lacrimal hypofunction as a new mechanism of dry eye in visual display terminal users. PLoS One 5:e11119. 2010.

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計1件)

1. Kamoi M, Ogawa Y, Nakamura S, Dogru M, Nagai T, Obata H, Ito M, Kaido M, Kawakita T, Okada Y, Kawakami Y, Shimmura S, Tsubota K. Accumulation of secretory vesicles in the lacrimal gland epithelia is related to non-Sjögren's type dry eye in visual display terminal users. PLoS One. 7(9). 2012. e43688. doi: 10.1371/journal.pone.0043688. Epub 2012 Sep 4. (査読あり)

〔学会発表〕(計2件)

1. 鴨居瑞加, Accumulation of secretory vesicles in the lacrimal gland epithelia is related to non-Sjögren's type dry eye in visual display terminal users、第67回日本

臨床眼科学会(招待講演) 2013年10月31日、パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)

2. 鴨居瑞加, 涙腺上皮細胞における分泌顆粒の過剰な貯留は VDT 作業者の非シェーグレン症候群タイプドライアイに関連する、第22回日本シェーグレン症候群学会学術集会、2013年9月13日、大阪ブリーゼプラザ(大阪府大阪市)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕
出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕
なし

6 . 研究組織

(1)研究代表者

鴨居 瑞加 (Kamoi Mizuka)

慶應義塾大学・医学部、助教

研究者番号: 50348728

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし