

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31日現在

機関番号：32661

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21791683

研究課題名（和文）ドライアイにおける膜型ムチンの発現制御についての検討

研究課題名（英文）The regulation of the expression of membrane-associated mucins in the ocular surface

研究代表者

堀 裕一（HORI YUICHI）

東邦大学・医学部・准教授

研究者番号：70379171

研究成果の概要（和文）：眼表面に発現する膜型ムチンには、MUC1, MUC4, MUC16 があるが、これらは眼表面のバリア機能に関連している。膜型ムチンの発現が減少すると、眼表面のバリア機能が低下し、臨床的には角膜上皮障害を呈する。我々は、ヒト角結膜培養上皮細胞において、0.1%ローズベンガル液を用いたムチン関連のバリア機能を評価するモデルを確立し、様々な薬剤による影響を検討した。その結果、点眼薬に多く含まれる塩化ベンザルコニウム（BAC）が、濃度依存的に結膜上皮のムチン発現を低下させ、バリア機能を低下させていることが明らかになった。また、BAC 含有および非含有の緑内障点眼を用いた検討では、BAC 含有点眼の方が非含有点眼に比べて有意にムチンによるバリア機能が低下していた。さらに、様々なコンタクトレンズ保存液について検討したところ、ホウ酸を含む保存液が有意に角膜上皮のムチン発現を抑制することが明らかになった。

今回の研究の成果は、臨床的に治療に苦慮する薬剤毒性角膜症の病態解明の糸口になると思われる、さらに今後の副作用の少ない点眼薬の開発のヒントになると考えられる。

研究成果の概要（英文）：The Ocular Surface Epithelia express membrane-associated mucins, MUC1, MUC4, and MUC16, which play an important role of the ocular surface barrier function. In our study, we reported that contact lens solutions (MPSs: Multi Purpose Solutions) containing boric acid significantly reduced gene expressions of MUC1, MUC4 and MUC16 mRNA in the human corneal epithelial cells. Among ingredients, 0.1% boric acid significantly reduced gene expressions of MUC1 and MUC16. Furthermore, we observed that preservative agent of eye drop, benzalkonium chloride (BAC), reduced the expression of MUC16 mRNA and damaged the mucin barrier function in the human conjunctival epithelial cells. We believe that our results can help us to figure out the mechanism of the drug-induced keratopathy and to develop the useful eye drops with fewer side effects.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

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、オキュラーサーフェス、膜型ムチン

1. 研究開始当初の背景

眼表面（オキュラーサーフェス）においては分泌型（MUC5AC）および膜型（MUC1, MUC4, MUC16）の両者のムチンが発現しており、特に、眼表面の水濡れ性とバリア機能の二つの重要な役割を担っている。ドライアイ患者や重症オキュラーサーフェス疾患では、ムチン発現が低下しており、ムチン発現を制御することは、病態の解明や治療に結びつくと考えられ、以前から我々をはじめ多くの研究者が検討を行っている。

2. 研究の目的

今回の研究の目的は、

- (1) 眼表面において膜型ムチンの発現を制御する因子について検討を行う。
 - (2) 膜型ムチンの役割の一つであるバリア機能において評価方法を確立する。
 - (3) 膜型ムチン発現とバリア機能に影響を与える因子（薬剤）について検討を行う。
- 以上である。

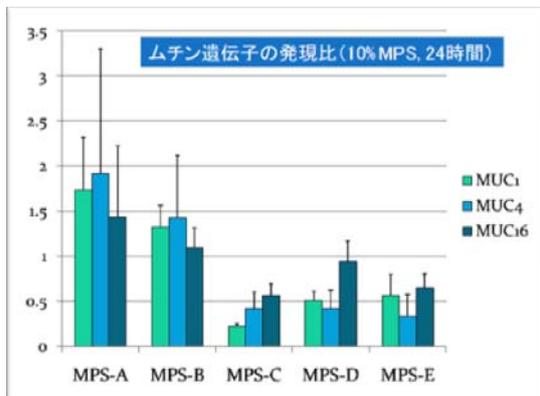
3. 研究の方法

SV40 ヒト不死化角膜上皮細胞(HCE-T)およびヒト結膜上皮細胞(HCjE)を培養し、各種コンタクトレンズ保存液(MPS: Multi Purpose Solution)、塩化ベンザルコニウム(BAC)、抗緑内障点眼薬(BAC含有またはBAC非含有)を暴露させ、膜型ムチン(MUC1, MUC16)の発現の検討(Hori et al. IOVS 2004)および0.1%ローズベンガル染色試験によるバリア機能の評価を行った(Argueso et al. IOVS 2006)。

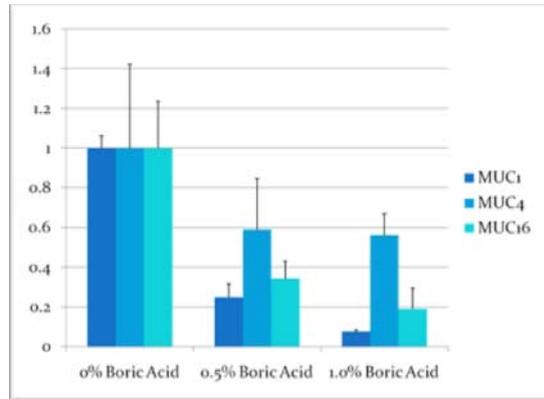
4. 研究成果

(1) 各種コンタクトレンズ保存液(MPS)における膜型ムチン発現への影響

SV40 ヒト不死化角膜上皮細胞をもちいた研究では、ホウ酸を含んだコンタクトレンズ保存液(図1 MPS-C, -D, -E)、およびホウ酸そのもの(図2)が角膜上皮に発現する膜型ムチン(MUC1, MUC4, MUC16)の発現を抑制した。



(図1)

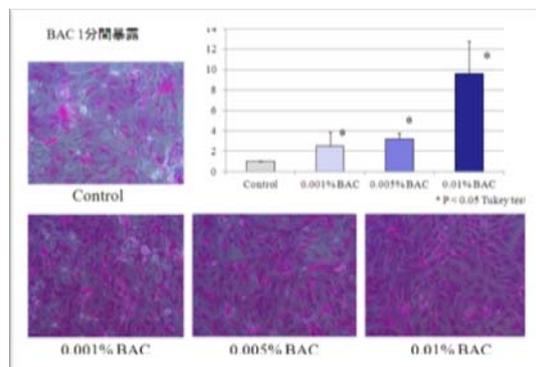


(図2)

(Imayasu M, Hori Y, Cavanagh HD: Eye Contact Lens 361-366, 2010 一部改編)

(2) 塩化ベンザルコニウムにおける影響

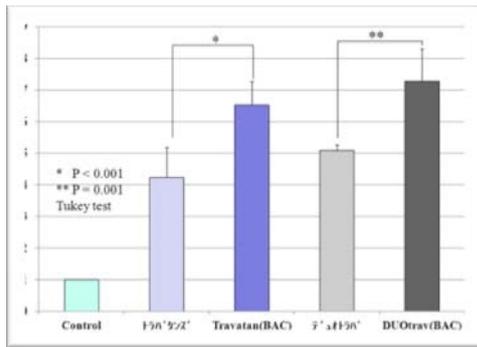
塩化ベンザルコニウム(BAC)を添加した培養液にて、1分間暴露させた。BACが添加された培養細胞では、対照群と比較して濃度依存的に膜型ムチン(MUC16)の遺伝子発現が低下し、0.1%ローズベンガル試験にてバリア機能評価を行ったところ、BACに1分間暴露させた培養細胞では、濃度依存的にバリア機能が低下していた(図3)。



(図3)

(3) 抗緑内障点眼薬における影響

緑内障点眼薬(トラボプラスト点眼液およびトラボプラスト/チモロールマレイン酸塩配合点眼液)を用いて塩化ベンザルコニウム(BAC)を含むもの(Travatan®およびDuoTrav®)と含まないもの(トラバタズ®およびデュオトラバ®)を培養液中に添加し1分間暴露させたところ、BACを含む緑内障点眼薬において、有意に膜型ムチンの発現が阻害され、ローズベンガル試験で細胞のバリア機能が障害されたことが明らかになった(図4)。



(図 4)

今回の研究において、臨床的によく使用されている点眼液やコンタクトレンズ保存液自身にも眼表面上皮細胞のムチン発現やバリア機能の低下に影響があることが明らかになった。この研究成果が、薬剤毒性角膜炎の病態の解明や副作用の少ない点眼薬の開発の助けになれば幸いと考える。

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 5 件)

- ① 堀 裕一 : ドライアイとムチンの関係. あたらしい眼科. 査読無 29, 2012, 323-339
<http://www.atagan.jp/article/20120307.htm>
- ② Tchedre KT, Imayasu M, Hori Y, Cavanagh HD: Assessment of effects of multipurpose contact lens care solutions on human corneal epithelial cells. Eye & Contact Lens 査読有 37, 2011, 328-330.
DOI: 10.1097/ICL.0b013e31822c36c2
- ③ Imayasu M, Hori Y, Cavanagh HD: Effects of multipurpose contact lens solutions their ingredients on membrane-associated mucins of human corneal epithelial cells. Eye & Contact Lens. 査読有 36(6), 2010, 95-99.
DOI: 10.1097/ICL.0b013e3181faa43e
- ④ 堀 裕一, 前田直之, 井上智之, 坂本雅子: Polyhexamethylene Biguanide (PHMB) を含有するハードコンタクトレンズ用洗浄保存液の抗菌効果. 日本コンタクトレンズ学会誌. 査読有 52(2), 2010, 95-99.
<http://www.agm-net.com/contact/src/pdf.php?id=1209>
- ⑤ Shiba T, Maeno T, Saishin Y, Hori Y, Takahashi M: Nocturnal Intermittent

Serious Hypoxia and Reoxygenation in Proliferative Diabetic Retinopathy Cases. American Journal of Ophthalmology. 査読有 149(6), 2010, 959-963.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.ajo.2010.01.006>

[学会発表] (計 8 件)

- ① 堀 裕一 : 塩化ベンザルコニウム非含有緑内障点眼の眼表面膜型ムチン発現の影響、第 115 回日本眼科学会総会、2011 年 5 月 13 日、東京
- ② Hori Y, Deguchi Y, Ashizawa J, Hitani K, Shiba T, Saishin Y, Maeno T: valuation of MUC16 Expression Induced by Benzalkonium Chloride on the Ocular Surface Epithelium. ARVO 2011 2011 年 5 月 5 日 Fort Lauderdale, FL, USA
- ③ 堀 裕一 : ドライアイに関する最近の話題～眼表面におけるムチン発現とその役割について～、第 328 回岩手県眼科集談会 (招待講演) 2011 年 4 月 16 日、盛岡
- ④ Hori Y: The Antibacterial Efficacy of Contact Lens Solutions Containing Polyhexamethylene Biguanide (PHMB) for Rigid Gas Permeable Lenses. 2010 CLAO ERF Scientific Symposium, 2010 年 9 月 23 日, Las Vegas, USA
- ⑤ 堀 裕一 : シンポジウム BUT 短縮のメカニズムに迫る「ムチンから見る」第 4 回箱根ドライアイクラブ、2010 年 5 月 28 日、兵庫
- ⑥ Hori Y and Deguchi Y: Comparison of Central Corneal Thickness, Anterior Chamber Depth, and Central Corneal Power Measurements between Two Scheimpflug Imaging Systems. 2010 ASCRS Symposium & Congress. 2010 年 4 月 10 日 Boston, USA
- ⑦ 堀 裕一 : シンポジウム「ハードコンタクトレンズケースの管理」第 52 回日本コンタクトレンズ学会総会、2009 年 7 月 11 日、大阪
- ⑧ 堀 裕一 : シンポジウム「角膜グライコバイオロジー」第 113 回日本眼科学会総会、2009 年 4 月 16 日、東京

[図書] (計 7 件)

- ① 堀 裕一 : 文光堂 眼科学第 2 版「抗菌薬、抗ウイルス薬、抗真菌薬」2011、1088-1092
- ② 堀 裕一 : 中山書店、メディカルユースコンタクトレンズ. 眼科診療クオリファイ 6 コンタクトレンズ自由自在、2011、145-150
- ③ 堀 裕一 : 医学書院、ドライアイに対する治療. 臨床眼科増刊号 65(11) :, 2011、115-118

- ④ 堀 裕一：(社)日本眼科医会、涙点プラグの使い分け. 日本の眼科 81(4): 2010、491-492
- ⑤ 堀 裕一：中山書店眼科診療クオリファイ 2 結膜炎オールラウンド「開発中のドライアイ治療薬について教えてください」、2010、226-228.
- ⑥ 堀 裕一：文光堂、メディカルユースソフトコンタクトレンズ. 坪田一男編. 眼科プラクティス 27 標準コンタクトレンズ診療、2009、150-153
- ⑦ 堀 裕一：文光堂、外眼部常在菌. 大橋裕一編. 眼科プラクティス 28 眼感染症の謎を解く、2009、312-313

6. 研究組織

(1) 研究代表者

堀 裕一 (HORI YUICHI)
東邦大学・医学部・准教授
研究者番号：70379171

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 連携研究者

該当なし