

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 25 年 5 月 15 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2010～2012

課題番号：22390326

研究課題名（和文） ドライアイの疾患メカニズムの解明

研究課題名（英文） Molecular mechanism of dry eye disease

研究代表者

坪田 一男 (TSUBOTA KAZUO)

慶應義塾大学・医学部・教授

研究者番号：40163878

研究成果の概要（和文）：

加齢・酸化ストレス亢進による、涙液分泌機能低下を介したドライアイの発症機序、およびその分子メカニズムを解明する事を目的としている。抗酸化酵素欠損マウスを用いることによって加齢性変化による酸化ストレス亢進が、ドライアイ様所見を呈することを証明し、ドライアイの病態に深く関与する涙腺破壊と酸化ストレスの関係を動物レベルで明らかにした。以上の結果はドライアイと加齢による酸化ストレスが密接な関係にあることを明らかにし、ドライアイの新しい予防療法、治療法を開発する上で重要と考えられる。

研究成果の概要（英文）：

The purpose of this study was to elucidate molecular mechanisms of pathogenesis in dry eye associated with lacrimal secretory hypofunction caused by increased oxidative stress and aging. We demonstrated that the increased oxidative stress with aging induces the signs and symptoms of dry eye in the antioxidant enzymes deficient mice, and accordingly clarified the close relationship between oxidative stress and the lacrimal gland dysfunction shown as pathology of dry eye disease at the animal level. Our findings should be crucial in developing preventive and therapeutic treatment of dry eye.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	6,700,000	2,010,000	8,710,000
2011 年度	4,500,000	1,350,000	5,850,000
2012 年度	3,500,000	1,050,000	4,550,000
総計	14,700,000	4,410,000	19,110,000

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、涙腺、酸化ストレス、老化

1. 研究開始当初の背景

我が国は世界一の平均寿命を誇り、2015 年には 65 歳以上の人口が全人口の 25% を占めるという推計がなされている。その結果、高齢者の心身機能の低下を防ぐことは我が国における重要な政策課題となっており、加齢のメカニズムを系統的に理解して各種疾患の

予防につなげる研究が求められている。特に加齢が感覚器に及ぼす影響は非常に大きく、加齢とドライアイの関係は極めて大きい。これまでに加齢による涙液の安定性および分泌量が低下し、ドライアイが発症することが報告されている。ドライアイは視力に影響をおよぼす疾患であり、加齢性変化と重症度に

関係すると言われている。その他にも涙腺の加齢による酸化ストレス状態の亢進によって生じるドライアイは多いにも関わらず、涙腺の加齢とドライアイ発症の分子メカニズムに関して詳細に検討している報告は殆どない。また実際の臨床の場合でも根治療法はなく、人工涙液の補充、涙点プラグ等の対症療法が主流であるが効果は不十分であり、涙液量を亢進させる治療法は皆無である。

2. 研究の目的

加齢制御モデルである抗老化因子欠損マウスおよび抗老化因子過剰発現マウスを利用し、加齢と涙液分泌機能の関係を明らかにする。さらに加齢に伴う酸化ストレスモデルである抗酸化酵素欠損マウスを用いて、酸化ストレスがおよぼす涙液分泌機能の異常を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

加齢による涙液分泌への影響を明らかにするため組織特異的抗加齢因子欠損マウスおよび抗加齢因子過剰発現マウスを用いて涙液機能の検査、涙腺および角結膜の組織学的解析、酸化ストレスと涙液分泌能の変化を評価する。また、加齢による酸化ストレス亢進と涙液分泌への影響を明らかにするために組織特異的抗酸化酵素欠損マウスを用いて涙液機能の検査、涙腺および角結膜の組織学的解析、酸化ストレスと涙液分泌能の変化を評価する。さらに高齢抗酸化酵素欠損マウスの涙腺は高齢野生型マウスと比較し、涙腺組織破壊と炎症性細胞の浸潤メカニズムを検討し、これら加齢に伴う酸化ストレスと炎症のメカニズムの解明に発展させる。最終目標として涙液分泌の詳細な分子メカニズムを解明することが加齢にともない蓄積されたラジカル発生源を制御機構、除去を可能とし、涙腺から涙液の分泌を促進させる新規治療法または薬剤開発に結び付ける。

4. 研究成果

初年度は抗酸化酵素欠損マウスを用いることによってドライアイの病態に深く関与する涙腺破壊と酸化ストレスの関係を動物レベルで詳細に検証した。その結果、本マウスはドライアイの主病変、涙液保持能力の低下、角結膜障害(図 1)をきたし、ヒトと酷似したドライアイ様病変を示した。

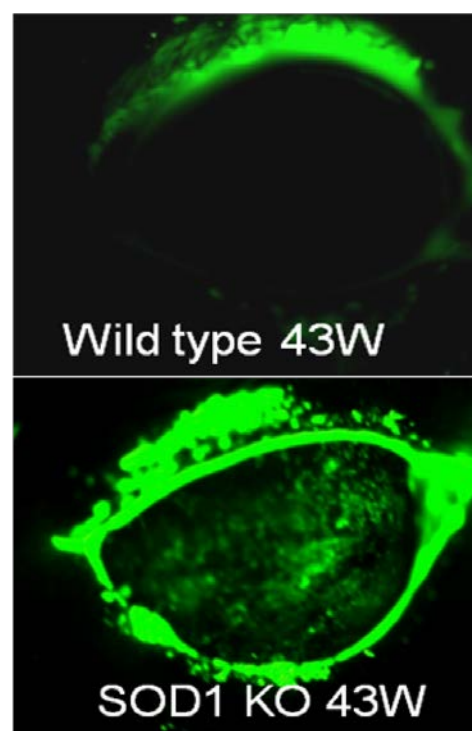


図 1. SOD1 欠損マウスに発症するドライアイ

2 年目以降では加齢による涙液分泌への影響を明らかにするために抗老化遺伝子欠損マウスを用いて涙液機能の検査、涙腺および角結膜の組織学的解析、酸化ストレスと涙液分泌能の変化を評価した。その結果、抗老化遺伝子欠損マウスにて涙液分泌の減少が認められ、加齢性変化による酸化ストレス亢進が、ドライアイ様所見を呈することを明らかにした。さらに加齢に伴う酸化ストレスと炎症に着目し、高齢抗酸化酵素欠損マウスの涙腺では高齢野生型マウスと比較し、涙腺組織破壊と炎症性細胞の浸潤が亢進している事を明らかにした。

以上の結果はドライアイと加齢による酸化ストレスが密接な関係にあると考えている。今後も継続して加齢性の遺伝子改変マウスおよび酸化ストレス亢進マウスを利用し、加齢がおよぼす涙液分泌機構の詳細な分子メカニズムとドライアイ様病変への影響を明らかにする。これら加齢性変化と涙液分泌機構の分子メカニズムを解明することはドライアイの新しい予防療法、治療法を開発する上で重要と考えられる。

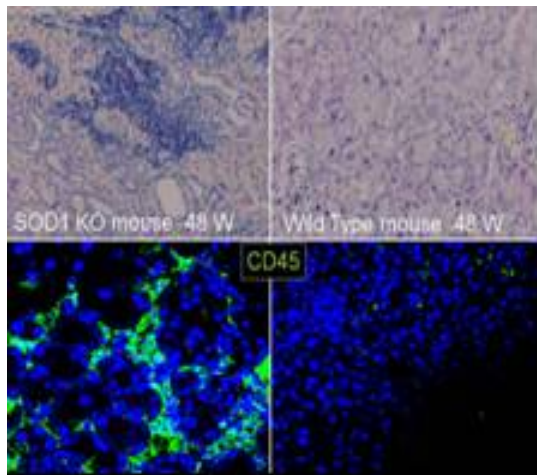


図 2 SOD1 欠損マウスでの涙腺組織破壊像と炎症細胞浸潤

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 7 件)

- (1) Kojima T, Wakamatsu T, Dogru M, Ogawa Y, Igarashi A, Ibrahim O, Inaba T, Shimizu T, Noda S, Obata H, Nakamura S, Wakamatsu A, Shirasawa T, Shimazaki J, Negishi K, Tsubota K, Age-Related Dysfunction of the Lacrimal Gland and Oxidative Stress : Evidence from the Cu,Zn-Superoxide Dismutase-1 (Sod1) Knockout Mice. *Am J Pathol*. 査読有 2012, 180: 1879-1896 (DOI:10.1016/j.ajpath.2012.01.019)
- (2) Tsubota K. Antiaging Approach for Dry Eye Treatment. *Cornea*. 査読無 2012 Oct; Suppl 1:S3-S8 (DOI:10.1097/ICO.0b013e31826a05a8)
- (3) Kawashima M, Kawakita T, Maida Y, Kamoi M, Ogawa Y, Shimmura S, Masutomi K, Tsubota K. Comparison of telomere length and association with progenitor cell markers in lacrimal gland between Sjögren syndrome and non-Sjögren syndrome dry eye patients. *Mol Vis*. 査読有 2011
- (4) Kawashima M, Tsubota K. Effect of calorie restriction on change in lacrimal gland with age. *Cornea*. 査読無 2011 Oct;30 Suppl 1:S29-AS33. (DOI:10.1097/ICO.0b013e318228167f) Feb;17:1397-1404.
- (5) Kawashima M, Kawakita T, Okada N,

Ogawa Y, Murat D, Nakamura S, Nakashima H, Shimmura S, Shinmura K, Tsubota K. Calorie restriction: A new therapeutic intervention for age-related dry eye disease in rats. *Biochem Biophys Res Commun*. 査読有 2010 Jul; 9;397(4):724-8. (DOI: 10.1016/j.bbrc.2010.06.018)

(6) Tsubota K. Anti-aging in ophthalmology. (DOI: 10.1159/000316446)

Ophthalmic Res. 査読有 2010;44(3):145.

(7) Tsubota K, Kawashima M, Inaba T, Dogru M, Ogawa Y, Nakamura S, Shinmura K, Higuchi A, Kawakita T The Era of Antiaging Ophthalmology Comes of Age: Antiaging Approach for Dry Eye Treatment. *Ophthalmic Res*. 査読有 2010;44:146-154 (DOI:10.1159/000316594)

[学会発表] (計 3 件)

- (1) Tsubota K. New challenges for dry eye. International Conference on the Tear Film & Ocular Surface in Asia. 2012, kanagawa, Japan
- (2) Tsubota K. A Radical Approach to Aging Eye Disease. Association for Research in Vision and Ophthalmology Annual meeting. 2011, Fort Lauderdale, FL, USA
- (3) Tsubota K. Anti-Aging Approach for the Treatment of Dry Eye. The 2nd Asia Cornea Society Biennial Scientific Meeting. 2010, kyoto, Japan

[図書] (計 3 件)

- (1) 坪田一男 文藝春秋新書 ごきげんな人は 10年長生きできる. 2012, 198 ページ
- (2) 坪田一男 小学館 101新書 人は誰でも「元気な 100 歳」になれる 長寿遺伝子活性化の秘訣. 2011, 221 ページ
- (3) 坪田一男 マガジンハウス 細胞からキレイになる遺伝子ダイエット. 2010, 173 ページ

[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
<http://www.keio-eye.net/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

坪田 一男 (TSUBOTA KAZUO)
慶應義塾大学・医学部・教授
研究者番号：40163878

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし