

令和元年5月31日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11301

研究課題名(和文) 環境因子に着目した涙液分泌機構の解明とその制御

研究課題名(英文) Investigation of tear secretion mechanism focus on environmental factor

研究代表者

川島 素子 (KAWASHIMA, Motoko)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・特任講師

研究者番号：00327610

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：マウスにストレス負荷を与えると涙液量が減少することを発見した。さらに、「豊かな環境」にいとストレスによる涙液量減少が見られないこと、またストレスによって減少した涙液量は「豊かな環境」に移すことで回復が早くなることを発見した。さらに、ストレス負荷をした時、通常環境下では脳の脳由来神経栄養因子(BDNF)の発現量が減少するのに対し、「豊かな環境」飼育下では発現量の減少は見られなかった。また、BDNFの発現量を抑えたモデルマウスでは涙液量が減少することを発見した。これらの結果より、環境因子によって涙液量は変化し、涙液量の分泌制御には脳のBDNFが関与している可能性が明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ドライアイは眼局所の疾患と考えられているが、環境因子によって涙液量は変化し、涙液量の分泌制御には脳のBDNFが関与している可能性が明らかになったことにより、今後は、眼局所のみならず、全身の関与を考えたアプローチ、環境因子による制御が可能になる意義がある。

研究成果の概要(英文)：To examine the relationship between stress loading and decreased tear secretion, we established a stress-induced DED mouse model, which permitted us to address the underlying mechanism of pathogenesis and resilience. Enriched environment (EE) was an effective intervention to prevent and alleviate stress-induced decreased tear secretion. Because stress loading resulted in decreased brain-derived neurotrophic factor (BDNF) expression while EE resulted in increased expression, we focused on the role of BDNF in tear secretion. Using two distinct Bdnf gene knockdown mice, we evaluated whether BDNF was a deterministic factor in regulating tear secretion in healthy and stressed conditions. Bdnf knockdown mice showed decreased basal tear secretion and loss of stress tolerance by EE for tear secretion. These results suggest that BDNF expression is related to tear secretion and to the pathology of DED.

研究分野：眼科

キーワード：涙液分泌 環境因子 ストレス ドライアイ

1. 研究開始当初の背景

【現代のストレス社会とうつ病】今日の現代社会はストレス社会とも言われるように、多くの人がストレスにさらされながら生活を送っている。ストレスを感じる要因は個人で様々であるが、家庭や職場における環境といった環境因子は重要な要因として認識されている。ストレスを感じる人の増加とともにうつ病患者数は増加しており、ストレスによる疾患の発症が現代社会の問題となっている。

【うつ病とドライアイ】ドライアイは、様々な要因による涙液および角結膜上皮の慢性疾患であり、眼不快感や視機能異常を起し、患者のQOLを低下させるだけでなく生産性も下げる疾患である。うつ病と同様に、現代社会で患者数が急増している疾患であり、わが国の潜在患者は2200万人にもものぼると報告されている。現代社会で問題視されている両疾患、うつ病とドライアイに関して、ごく最近、臨床研究により2つの疾患に関係性があることが報告された(Cornea. 2015 Jul;34(7):733-8, Pak J Med Sci. 2015;31(3):626-31)。シルマー値の低い(=涙液分泌量低下)ドライアイ患者でうつ病が多いという臨床報告もされた。これらの報告により、うつ病とドライアイは関連していることが示唆され、ストレスを感じる要因である環境因子がドライアイにも関係している可能性が考えられる。しかしながら、どのようなメカニズムにより生じるのかは全く報告がない。

2. 研究の目的

環境因子と涙液分泌機構の関連性を明らかにし、その制御機構を(主にBDNFに着目して)解明すること。

3. 研究の方法

1. 環境因子による涙液分泌機構及び生理機能の変化を明らかにする

1) モデルマウスの作成・飼育

環境因子による涙液分泌機構・生理機能の変化の確認を行うため、2種のモデルマウス、「豊かな環境」「ストレス負荷環境」を作成・飼育する。豊かな環境とは、トンネル、イグルーなどの玩具や運動用の回転車輪を与えたり、より大きなケージで多くの個体を一緒に飼ったりすることによって、動物がより多くの感覚、運動、認知的かつ社会的な刺激を受ける生育環境のことである(Nat Rev Neurosci. 2000 Dec;1(3):191-8)。ストレス負荷環境とは、チューブの中にマウスを入れて拘束をし、前方から風を当てるというストレスを与える環境のことである。

2) モデルマウスの評価

生体マウスでの涙液分泌測定、各観察点での涙腺検体を採取し、解析を行う。

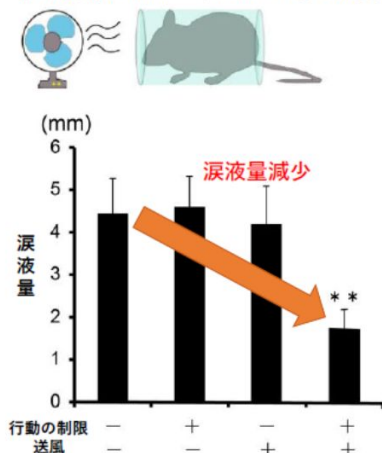
2. BDNFの遺伝子発現を抑制したマウスを用いて、BDNFの遺伝子発現量と涙液分泌機構及び生理機能の変化をとらえ、その相互関係を明らかにするBDNFの遺伝子発現を抑制したモデルマウスとして、BDNF STOPtet0マウスを用いた。BDNFのexon1~4の遺伝子発現を抑制したマウスであり、予備検討により、脳においてBDNFの遺伝子発現量が約4割減少することがわかっている。このモデルマウスを用いて、BDNFと涙液分泌との関連性を調べ、涙液分泌機構の機序解明を行う。

4. 研究成果

(1) ストレスを与えることにより、涙液量が減少する

マウスに行動を制限し、顔に風を当てるストレス負荷を4時間与えたところ、涙液量が減少することを発見した(図1)。

行動の制限+送風 (「ストレス」と定義)



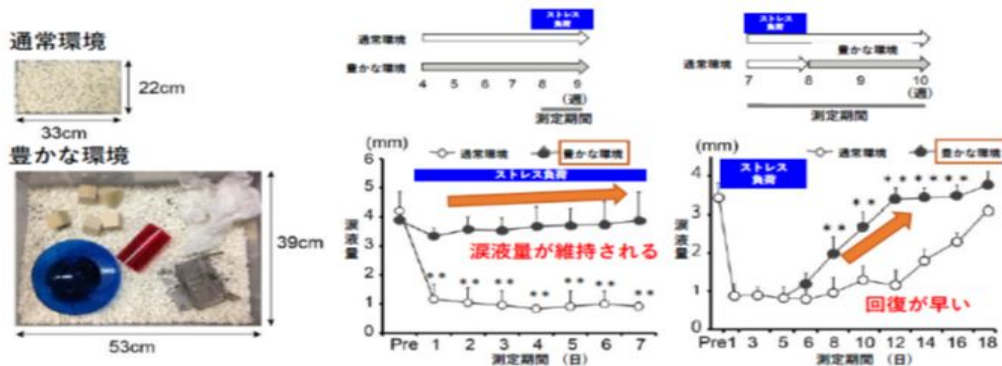
【図 1】ストレス負荷による涙液量の減少マウスにストレス（行動を制限し、顔に風を当てる）を与え、涙液量の変化を観察した。4 時間のストレス負荷によって、涙液量が有意に減少した（** $p<0.01$ ）。

(2) 「豊かな環境」はストレスによる涙液量減少を予防・改善する

マウスはより多くの感覚、運動、認知的かつ社会的な刺激を受けることができる、遊具を備えた広いケージで複数のマウスと一緒に飼育した「豊かな環境」（図 2 左下）で飼育されたマウスに対し上記のストレスを負荷したところ、狭いケージ（図 2 左上）で単独飼育する通常環境のマウスとは異なり、涙液量はほとんど減少しないことが確認された（図 2 中央）。また、通常環境下でストレスを負荷され涙液量が減少したマウスを「豊かな環境」に移し飼育したところ、通常環境に置かれたマウスと比較して涙液量の回復が早いことがわかった（図 2 右）。つまり、「豊かな環境」に置くことで涙液量減少を予防できること、また、涙液量減少からの回復を助けることができることが確認された。

【図2】「豊かな環境」の涙液量への影響

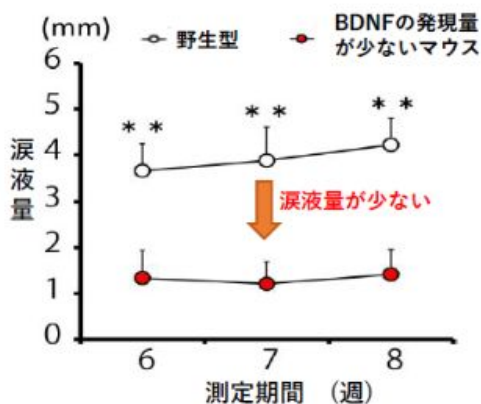
通常環境（SE）ではマウスを 1 匹飼育するのにに対し、「豊かな環境」（EE）ではより大きなケージに回転車輪などの玩具を入れてマウスを 6 匹飼育する。こうすることによって、より多く



の感覚、運動、認知的かつ社会的な刺激をうける生育環境になる（左）。マウスを「豊かな環境」（EE）で飼育することによって、ストレス負荷による涙液量の減少が有意に抑制された（** $p<0.01$ ）(中)。ストレス負荷によって減少した涙液量は、「豊かな環境」（EE）で飼育することによって回復が有意に早くなることが確認された（** $p<0.01$ ）(右)。

(3) 涙液分泌の制御には脳の BDNF が関係している可能性

ストレス負荷をした時、通常環境下では脳の BDNF 発現量が減少にするのに対し、「豊かな環境」飼育下では BDNF 発現量の減少は見られなかった。また、BDNF の発現量を抑えたモデルマウスでは涙液量が少ないことが確認された（図 3）。



【図3】BDNF低発現モデルマウスと野生型マウスの涙液量比較

BDNF の発現量を抑えたモデルマウスは野生型のマウスと比較して涙液量が有意に少ないことが確認された（** $p<0.01$ ）。

ストレス関連疾患の中には脳の BDNF が関与していると考えられているものがあり、さらに研究を進めることで、今後ドライアイと他疾患との関係性の解明が期待される。また環境因子が涙液量に影響を及ぼすことが示されたことで、今後新たなドライアイ予防・改善方法として「環境づくり」によるアプローチが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

1. Enriched environment alleviates stress-induced dry-eye through the BDNF axis. Sano K, Kawashima M, Imada T, Suzuki T, Nakamura S, Mimura M, Tanaka KF, Tsubota K. Sci Rep. 2019 Mar 4;9(1):3422. doi: 10.1038/s41598-019-39467-w. 査読あり

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕なし

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
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：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号(8桁)：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：佐野 ころろ

ローマ字氏名：SANO, Kokoro

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。