

令和 5 年 6 月 20 日現在

機関番号：32620

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2022

課題番号：18K16966

研究課題名（和文）内因性脂質メディエーターに注目した眼表面疾患の制御

研究課題名（英文）Control of ocular surface diseases focusing on endogenous lipid mediators

研究代表者

岩本 怜（Iwamoto, Satoshi）

順天堂大学・医学部・助教

研究者番号：10568207

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：我々は内因性脂質メディエーターである12-HHTが眼表面に及ぼす影響を研究してきた。

12-HHTの受容体であるBLT2が角膜や結膜に発現しており、BLT2受容体をノックアウトしたマウスでは角膜創傷治癒が遅延することを確認した。また、臨床研究として人の涙液を採取してその中に含まれる12-HHT定量を試みた。しかしながら、正常の人の涙液からの12-HHTは測定にかかった時間や個人差によるばらつきが多く、精度の高い定量はできなかった。今後は脂質定量の質を高めながら人の涙液からの定量を再度試みていく予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々は日常の臨床で遷延性角膜上皮欠損の患者に遭遇する。しかしながら、点眼による治療で改善に乏しいこともあり、治療が難渋するケースがある。我々の研究は角膜上皮の創傷治癒に対する新規治療薬を目標として研究を続けており、今までにあまり注目されていなかった脂質メディエーターが角膜創傷治癒に及ぼす影響を研究している。

研究成果の概要（英文）：We have studied the effects of 12-HHT, an endogenous lipid mediator, on the ocular surface.

BLT2, a receptor for 12-HHT, is expressed in the cornea and conjunctiva, and corneal wound healing is delayed in BLT2 receptor-knockout mice. Also, as a clinical study, we tried to quantify 12-HHT contained in human tear fluid. However, the amount of 12-HHT from normal human tear fluid varied greatly due to the time required for measurement and individual differences, and high-precision quantification was not possible. In the future, we plan to try again to quantify lipids from human tears while improving the quality of lipid quantification.

研究分野：角膜創傷治癒

キーワード：角膜創傷治癒 脂質メディエーター BLT2 12-HHT

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

申請者は順天堂大学の横溝岳彦教授の研究室で、角膜創傷治癒と脂質の関連について研究をしてきた。非ステロイド性抗炎症薬 (NSAIDs) を投与されている患者が角膜上皮障害を起こすことは、眼科臨床しばしば経験する (Guidera A. *et al. Ophthalmology*. 2001) が、その分子機序は長年不明であった。申請者はアラキドン酸カスケードの下流にある生理活性脂質 12-ヒドロキシヘプタデカトリエン酸 (12-HHT) とその受容体である BLT2 が眼球におけるバリア機能維持と創傷治癒促進に寄与することを発見した (Iwamoto S *et al. Sci Rep*. 2017)。すなわち、抗炎症の目的で投与された NSAIDs 点眼薬が、アラキドン酸カスケードを阻害し、12-HHT/BLT2 シグナル経路を遮断することで、NSAIDs 点眼薬の副作用として知られる角膜創傷治癒遅延が生ずることを証明した (図 1)。さらに内在性脂質メディエーターである 12-HHT の投与で角膜創傷治癒が促進されることを同時に証明し、内因性脂質メディエーターを用いた副作用の少ない角膜治療薬の開発の可能性を見いだした。

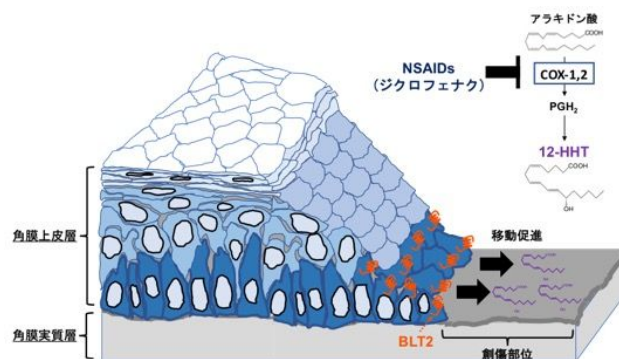


図 1

2. 研究の目的

本研究では 12-HHT とレゾルピンという内因性脂質メディエーターが眼表面疾患に果たす役割を探求するとともに、近未来の臨床応用を見据えたデータ取得をめざしたい。申請者は NSAIDs 点眼薬による副作用としての角膜上皮障害において、アラキドン酸カスケードの下流にある 12-HHT の役割を世界にさきがけて明らかにした (Iwamoto S *et al. Sci Rep*. 2017)。その研究内容と実績をもとに、本研究ではまず、12-HHT が実際のヒト眼表面疾患 (NSAIDs 点眼による角膜上皮障害、ドライアイ等) において果たしている役割を涙液等の非侵襲的に得られるサンプルで検証するとともに、これまで経験上の効能から実臨床に用いられてきた自己血清点眼液における 12-HHT の役割を確認する。さらにアレルギー性結膜疾患における有効かつ副作用の少ない新規治療方法として、内因性の脂質メディエーターである抗炎症性脂質レゾルピンの役割を分子レベルで探求するとともに、その治療上の有効性をマウスモデルで評価したい。

3. 研究の方法

炎症性サイトカイン・ケモカインの評価

マウスアレルギー性結膜炎モデルにおいて、レゾルピン腹腔内投与により好酸球浸潤が抑制される事確かめた (図 2) が、抗炎症作用のメカニズムに関しては分かっていない。そこでアレルギー性結膜炎モデルの結膜を採取し、Th2 型炎症性サイトカインである IL4、IL5、IL13 や好酸球の浸潤に關与する CCL5 (Rantes)、CCL11 (Eotaxin) の発現量をリアルタイム PCR で定量する。さらに、ELISA にてタンパクレベルでも発現量の変化を検証する。

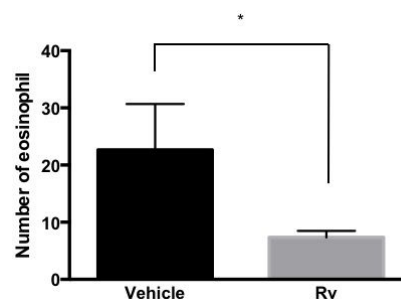


図 2

脂質定量

実験的アレルギー性結膜炎モデルのマウスから結膜を採取し、液体クロマトグラフィー質量分析法(LC-MS/MS)を用いてエイコサノイドの一斉定量を行う。コントロール群と比較し、アレルギー惹起モデルにおけるロイコトリエン B₄などの炎症性脂質やレゾルビンの前駆体であるドコサヘキサエン酸(DHA)やエイコサペンタエン酸(EPA)の変動と、レゾルビン点眼による炎症性脂質の抑制効果を評価する。さらに将来の臨床応用を見据えて、アレルギー性結膜炎患者からの臨床サンプル(涙液)を用いたエイコサノイド定量も同時に施行し、治療ターゲットとしての可能性を評価する。

4. 研究成果

マウスアレルギー性結膜炎モデルにおいて、レゾルビン点眼により IL-4、IL-5、IL-13 や好酸球の浸潤に關与する CCL5(Rantes)、CCL11(Eotaxin)の発現量をリアルタイム PCR で定量した。腹腔内投与では好酸球浸潤の抑制を確認したが、点眼によるレゾルビン投与では Th2 型炎症性サイトカインを抑制することはできなかった(図3)。また、実験的アレルギー性結膜炎モデルのマウス結膜のエイコサノイドの一斉定量を行ったが、レゾルビン点眼によるロイコトリエン B₄などの炎症性脂質の抑制は認められなかった(図4)。さらに、ヒト臨床サンプル(涙液)における 12-HHT 濃度の測定を試みた。ヒト涙液の 12-HHT 濃度を測定することで、眼表面疾患の有無で 12-HHT 産生量の違いを評価することが目的である。基礎疾患のない正常サンプルの涙液とドライアイ患者の涙液の採取データを比較したが、明らかな有意差は認めなかった。これはそれぞれの検体における、採取から検査までの時間にばらつきができてしまったため、室温で分解され 12-HHT 測定量に差ができたことが原因として考えられる。今後はばらつきが少なくなるような工夫をしながら 12-HHT の測定をしてゆく。

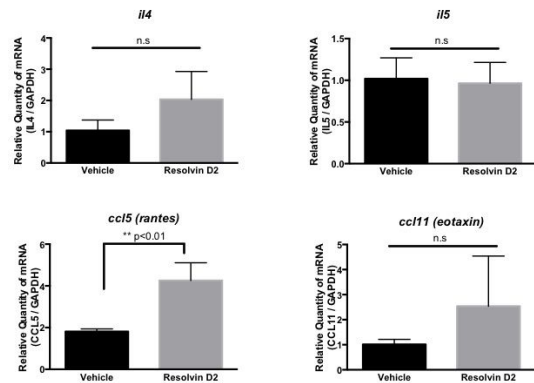


図3

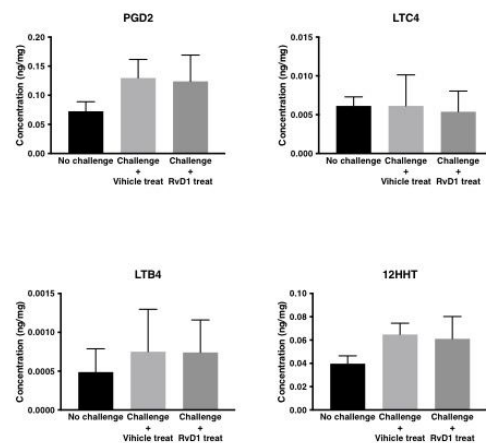


図4

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 岩本 怜
2. 発表標題 12HHT/BLT2経路を介した角膜創傷治癒促進の分子メカニズムの解析
3. 学会等名 第124回日本眼科学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岩本 怜
2. 発表標題 Ocular surfaceと非ステロイド性抗炎症薬
3. 学会等名 第123回日本眼科学会総会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岩本 怜
2. 発表標題 12HHT/BLT2経路を介した角膜創傷治癒促進の分子メカニズムの解析
3. 学会等名 第124回日本眼科学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Satoshi Iwamoto
2. 発表標題 Expression of nicotinamide N-methyltransferase (NNMT) in atopic cataract
3. 学会等名 Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Satoshi Iwamoto
2. 発表標題 Control of mouse allergic conjunctivitis by resolvins
3. 学会等名 ARVO (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岩本 怜
2. 発表標題 レゾルビンによるマウスアレルギー性結膜炎の制御
3. 学会等名 第122回日本眼科学会総会
4. 発表年 2018年

〔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
研究協力者	松田 彰 (Matsuda Akira)		

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1件

国際研究集会 Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO)	開催年 2019年 ~ 2019年
---	----------------------

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
---------	---------