

平成 21 年 5 月 7 日現在

研究種目：若手研究（スタートアップ）

研究期間：2007～2008

課題番号：19890008

研究課題名（和文） 熱ショック蛋白質の積極的誘導による眼炎症の制御

研究課題名（英文） a regulation of ocular inflammation by inducing intracellular heat shock protein

研究代表者

北明 大洲（KITAMEI HIROKUNI）

北海道大学・大学院医学研究科・客員研究員

研究者番号：90451426

研究成果の概要：

胃・十二指腸潰瘍治療薬の主成分である geranylgeranylacetone (GGA) 大量経口投与により、ラットぶどう膜炎モデルおよびマウス紫外線急性角膜炎モデルの軽症化に成功した。奏功機序は眼組織における熱ショックタンパク 70 (HSP70) の発現誘導によると考えられる。既に消化器領域で広く用いられている安全性の高い薬剤であるため、今後速やかに臨床応用できる可能性がある。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,300,000	0	1,300,000
2008 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,500,000	360,000	2,860,000

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：眼科学、免疫学、熱ショック蛋白質、ぶどう膜炎

1. 研究開始当初の背景

ヒトの内眼炎（ぶどう膜炎）は先進国の中途失明原因の約 10% を占める重要な疾患群である。今日ステロイド薬を始め様々な免疫抑制治療を行われているが、既存治療に抵抗し重篤な視力障害に陥る例をしばしば経験する。

我々は発症機序の解明、新しい治療法の開発のためにぶどう膜炎の動物モデルを用いて長年研究を行ってきた。新しい薬物の発見や新しい免疫機構の解明などが長期的にみて重要であるのはいうまでもないが、実際の治療に至るまでにはかなりの時間が費やされるのも事実である。

速やかな臨床応用を考えると、現在既に他疾患に利用されて安全性の確立されている薬物の新たな作用を解明できれば臨床応用にかかる時間と開発コストは大幅に軽減される。

近年、熱ショック蛋白 heat shock protein (HSP) が有する細胞保護作用に注目した研究が行われ、とくに我が国で開発され広く臨床応用されている胃十二指腸潰瘍治療薬の主成分である geranylgeranylacetone (GGA) 大量投与によりマウスやラットで各種臓器に HSP70 が誘導され、細胞・組織保護効果がみられたとの報告がある。眼炎症分野では我々が初めて GGA の有効性を論文発表した (Kitamei H et al: Immunobiology 212: 11-18, 2007)。これはマウスに GGA を経口投与し、その後実験的自己免疫性網膜ぶどう膜炎 (後部ぶどう膜炎の動物モデル) を誘導すると、後部ぶどう膜炎が軽症化するという内容である。GGA が眼組織に HSP 特に HSP70 を効率よく発現させたことが奏功機序として重要であろうと結論した。

2. 研究の目的

(1) 実験的自己免疫性網膜ぶどう膜炎モデルで得られた知見を発展させ、研究計画に則り以下を検討した。

- ① HSP誘導による後眼部ぶどう膜炎以外の炎症性眼疾患軽症化の可能性
- ②眼炎症の発症機序におけるHSPの関与

具体的には後述する複数の炎症性眼疾患動物モデルにおいてHSPの誘導と眼炎症との関連を検証するものである。

(2) HSP70 は我々の研究のような薬剤による誘導 (組織保護的作用) だけではなく、微

生物感染でも誘導されることが知られており、その際は逆にぶどう膜炎を惹起・悪化させる可能性が指摘されている。特にベーチェット病などでは感染関連HSP (HSP60) の関与が報告されており、現在の我が国でこれらの関与が示唆される疾患患者がどの程度いるか統計学的解析を行った。

3. 研究の方法

(1) 眼炎症の動物モデルとして、ラット前部ぶどう膜炎モデルとマウス紫外線角膜炎モデルの2つを用意した。

前者のモデルではあらかじめGGAを大量投与したのちにラットにエンドトキシンを注射することで眼炎症 (endotoxin-induced uveitis) を誘導し、48時間後の前眼部の炎症を臨床的重症度で評価し、さらに前房水内蛋白濃度、サイトカイン濃度を検討した。これらの結果を対照群 (溶媒投与群) と比較した。また摘出眼球を免疫染色してぶどう膜組織 (虹彩・毛様体) にHSPが発現しているかどうか検討した。

後者のモデルではあらかじめGGAをマウスに投与した後に紫外線 (UVB) を400mJ/cm²照射することで角膜上皮障害を誘導する。24時間後に眼球を摘出して病理組織学的に角膜障害を検討した。これらの結果を対照群 (溶媒投与群) と比較した。また、角膜・ぶどう膜をTUNEL染色、抗HSP抗体で免疫染色し、標的組織でのアポトーシス、HSPの発現誘導を検討した。

(2) ヒトのぶどう膜炎患者におけるHSPの関与が考えられる疾患の比重・疫学を解析するため、北海道大学病院眼科のぶどう膜炎患者

臨床データ1,240例分（1994～2003年の新規受診患者）を収集した。原因疾患頻度や年齢性別分布を統計学的に解析した。

4. 研究成果

（1）動物モデルによる実験から以下の結果が得られた。

① GGA投与後に摘出した眼球を抗HSP70抗体で免疫染色したところ、ラット前眼部ぶどう膜組織（虹彩・毛様体）でもマウス角膜に熱ショック蛋白70(HSP70)が高く発現していた。

この結果はGGAの大量投与により眼球組織にHSPが誘導されることを示している。興味深いことにGGAを投与し炎症を惹起した眼球ではGGAを投与しただけの眼球よりもHSP70の発現がより高くみられ、GGAを投与せずに炎症を誘導しただけではHSP70の発現は変化がない傾向にあった。すなわちGGA投与はHSP70を炎症組織にあらかじめ誘導するが、そこに炎症が起こった場合さらに高く発現することで炎症制御に正の作用を有することが考えられる。

② GGA投与群では対照群と比較して紫外線誘導急性角膜傷害は有意に軽症化した。

このモデルは雪上でサングラスをしないことや、保護眼鏡なしで溶接作業を行うことなどで生じる電気性眼炎の病態を解明する画期的なシステムである。われわれが以前報告した実験的自己免疫性網膜ぶどう膜炎モデルやラット前部ぶどう膜炎モデルは免疫反応によるが、このモデルは紫外線により角膜上皮細胞の急激なアポトーシスや創傷治癒遅延などを来すことで生じるとされている。様々な機

序で生じる眼炎症が事前にGGAを大量投与することで抑制されるという結果はあらゆる眼炎症に応用できる可能性を示している。

③ 摘出角膜をTUNEL染色して比較した結果、染色紫外線で誘導される角膜上皮細胞のアポトーシスがGGA投与群では有意に抑制された。

（以上の結果は投稿準備中）

これらの結果はGGAがHSP70を眼組織に効率的に誘導し、その組織保護効果によりアポトーシスが抑制され、急性角膜傷害が軽症化するという機序によると考えられた。

安価で安全性の高い胃腸薬の主成分であるGGAの新たな効果と速やかな臨床応用に道を開く有用な結果と考えられる。

（2）ヒトのぶどう膜炎患者におけるHSPの役割について解析するための基礎データとして北海道大学病院眼科のぶどう膜炎患者（1994-2003年）の原因や年齢性別分布を1240名の統計としてまとめた。当科は北海道のぶどう膜炎のセンター病院であるため、わが国のぶどう膜炎の疫学をかなり反映しているものと考えられる。

ぶどう膜炎の原因疾患はサルコイドーシス、Vogt小柳・原田病、ベーチェット病の順に多くみられた。精査によっても原因不明例が約半数にのぼることも明らかになった。発症にHSP60の関与が考えられているベーチェット病は過去の報告より頻度が低下していることも明らかとなった。当科では患者の同意を得て血清などの検体を採取しており、今後疾患とHSPの関連を検討するうえで有用なデータベースとなりうる。

この結果を論文として眼科雑誌に投稿し、
受理された。

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 2 件)

1. Clinical features of intraocular
inflammation in Hokkaido, Japan.

Kitamei H, Kitaichi N, Namba K, Kotake S,
Goda C, Kitamura M, Miyazaki A, Ohno S.
Acta Ophthalmol. 2008 (受理、印刷中)、
査読有り

2. 北市伸義, 北明大洲, 大野重昭. 交感性眼
炎. 臨床眼科 62: 650-655, 2008.

査読無し

6. 研究組織

(1) 研究代表者

北明 大洲

北海道大学・大学院医学研究科・客員研究員

研究者番号：90451426

(2) 分担研究者

なし

(3) 連携研究者

なし