

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 3 月 31 日現在

機関番号： 32620  
 研究種目： 挑戦的萌芽研究  
 研究期間： 2009 ～ 2011  
 課題番号： 22659313  
 研究課題名（和文） アトピー性眼合併症における IFNG-PAI-1 シグナル  
 研究課題名（英文） IFN- $\gamma$  PAI-1 signals in ocular complications of atopic diseases

研究代表者  
 村上 晶 (MURAKAMI AKIRA)  
 順天堂大学・医学部・教授  
 研究者番号： 90157743

研究成果の概要（和文）：本研究の成果として、IFN- $\gamma$  により誘導される PAI-1 分子が、水晶体上皮細胞の線維化を促進し、アトピー白内障の病態生理に重要な働きをしていることが明らかになった。また新たな疾患概念としてのアトピー緑内障の臨床像、病態に関してまとめた提言をすることができた。これらの成果は欧文学術誌に受理され、今後の臨床への還元が期待されるとことである。

研究成果の概要（英文）：We investigated the molecular pathology of atopic cataracts and found essential roles of PAI-1, an downstream molecule of IFN- $\gamma$ , for the cataractogenesis. We also reported clinical and pathological features of atopic glaucoma as new clinical entity. We published these findings in an academic journal.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,500,000	0	1,500,000
2011 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,800,000	390,000	3,190,000

研究分野：眼科学

科研費の分科・細目：眼免疫学

キーワード：白内障、緑内障、ステロイド、PAI-1、遺伝子多型

1. 研究開始当初の背景

アトピー性皮膚炎に伴う白内障は、十分な調節機能を有する青年期の罹患者に対して人工水晶体を用いた白内障手術の施行を余儀なくさせる疾患であり、調節力の喪失や網膜剥離の合併といった深刻な問題を引き起こす。我々の研究グループはこれまでに 120 例を超えるアトピー性白内障患者のゲノム DNA を収集し、アトピー白内障の患者対照相関研究から、IFNGR1 遺伝子プロモーター上で同遺伝子の発現量を増加させる遺

伝子多型を持つ場合に発症のリスクが増加することを報告した。最近の IFNG シグナルに関する研究から IFNG シグナルの下流でその制御下にある PAI-1 分子が組織の繊維化に重要な役割を果たしていることが報告された。また、臨床的に眼局所へのステロイド使用歴のないアトピー患者にいわゆるステロイド緑内障と同様の病態（青年期患者に著明な眼圧上昇を伴う開放隅角緑内障を認め、繊維柱帯切開手術が著効）を認める例を経験しており、本研究ではアトピー

眼合併症としての緑内障がありうるのかをもう一つの焦点として研究を進める。

## 2. 研究の目的

インターフェロン $\gamma$  (IFNG)シグナルとその下流にあって組織の繊維化を促進する plasminogen activator inhibitor type-1 (PAI-1)分子が前房水中にあってアトピー白内障およびアトピー関連緑内障の発症に関与しているとの仮説を検証することを研究目的とする。臨床的に現在ステロイド緑内障と診断されている疾患群の一部にアトピー性疾患そのものが原因で引き起こされている‘アトピー緑内障’にあたる患者群があるのではないかという臨床的な観察を踏まえ、培養細胞を使用した In vitro, マウスを使った In vivo 研究を施行し、アトピー白内障、アトピー関連緑内障の病態に迫りたい。また、PAI-1 遺伝子上の遺伝子多型とアトピー眼合併症の発症における相関の有無を検証するため、あわせて患者一対照相関研究も施行する。

## 3. 研究の方法

平成 22 年度はアトピー眼合併症患者からの臨床サンプルの収集と解析（主に PAI-1 発現について）、培養水晶体上皮細胞と線維柱帯細胞を用いて PAI-1 遺伝子の発現を制御した際の水晶体および線維柱帯細胞における繊維化マーカーの発現変化、アトピー眼合併症患者における PAI-1 遺伝子多型の患者対照相関研究、アトピー緑内障という疾患概念を確立するための臨床的な観察研究を施行する。平成 23 年度は、前年度の研究内容に加えて、アトピー白内障を発症する NC/Nga マウスに PAI-1 ノックアウトマウスを交配し、白内障の表現型が消失するかを検討し、さらに培養水晶体上皮細胞のタイトジャンクション形成に対する IFNG シグナルの影響を精査する。また、アトピー素因により緑内障が発症するとの仮説を検証するために、線維柱帯細胞に IFNG および Th2 サイトカインの刺激を加え、組織の繊維化に関わる細胞外マトリックスの発現を検討してゆく。

## 4. 研究成果

平成 22 年度はアトピー白内障患者 10 名から臨床サンプルを収集し、PAI-1 発現をリアルタイム PCR 法で検討した。またアトピー白内障患者の病変部位から採取した組織サンプルを用い免疫組織染色と免疫電顕法によりアトピー白内障病変部位に PAI-1 タンパクが沈着していることを示した。また、PAI-1 分子が水晶体上皮の上皮間葉移行の足場になっている可能性を示唆する形態学的な所見を得たため、同部位での上皮

間葉移行のマーカー  $\alpha$  smooth muscle actin タンパクの発現を検討したところ、発現の亢進を認めた。さらに培養水晶体上皮細胞に PAI-1 siRNA を加えて PAI-1 分子の発現を抑制すると TGF- $\beta$  刺激による上皮間葉移行のマーカー  $\alpha$  smooth muscle actin 遺伝子の発現を抑制することを発見した。これらの結果から、アトピー白内障の病態には組織繊維化を促進する PAI-1 分子を足場に水晶体上皮細胞が上皮間葉移行を生ずることによって、特徴的なヒトデ型の水晶体前囊混濁を呈することが強く示唆された。平成 23 年度は前年の成果に基づき、PAI-1 分子が水晶体上皮の上皮間葉移行の足場になっている可能性を検討するため、近畿大学医学部松尾 理教授のグループと共同で、PAI-1 ノックアウト (KO) マウスに TGF-beta 誘発白内障を作成し、PAI-1 KO マウスでは、コンジェニックなワイルドタイプマウスと比較して、水晶体嚢下の白内障形成が有意に抑制されることを見出した。また免疫電顕法により、アトピー白内障の臨床サンプルにおいて、PAI-1 分子の沈着部位と水晶体上皮の上皮間葉移行部位の一致が確認された。これらの結果から、アトピー白内障の病態には組織繊維化を促進する PAI-1 分子を足場に水晶体上皮細胞が上皮間葉移行を生ずることによって、特徴的なヒトデ型の水晶体前囊混濁を呈することが強く示唆された。これら一連の研究結果は原著論文として Investigative Ophthalmology and Visual Science 誌に受理された。また、アトピー緑内障の臨床像、病態に関する臨床データを収集した結果を学会報告し、現在論文投稿準備中である。

## 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 6 件)

- ① Hori K, Matsuda A, Ebihara N, Imai K, Mori K, Funaki T, Watanabe Y, Nakatani S, Okada K, Matsuo O, Murakami A. Involvement of Plasminogen Activator Inhibitor-1 in the Pathogenesis of Atopic Cataracts. Invest Ophthalmol Vis Sci. in Press 査読有
- ② Inomata T, Ebihara N, Funaki T, Matsuda A, Watanabe Y, Ning L, Xu Z, Murakami A, Arikawa-Hirasawa A.

Perlecan-Deficient Mutation Impairs Corneal Epithelial Structure. Invest Ophthalmol Vis Sci. in Press 査読有

③ Ebihara N, Matsuda A, Nakamura S, Matsuda H and Murakami A. Role of the IL-6 classic and trans-signaling pathways in corneal sterile inflammation and wound healing. Invest Ophthalmol Vis Sci. in Press 査読有

④ Matsuda A, Ebihara N, Yokoi N, Maruyama K, Hamuro J, Kinoshita S, Murakami A. Lymphoid neogenesis in the giant papillae of patients with chronic allergic conjunctivitis. J Allergy Clin Immunol 査読有 126, 2010, pp. 1310-1312

⑤ Matsuda A, Ebihara N, Yokoi N, Okayama Y, Watanabe Y, Kawasaki S, Tanioka H, Walls AF, Hamuro J, Kinoshita S, Murakami A. Basophils in the giant papillae of chronic allergic keratoconjunctivitis. Br J Ophthalmol 査読有 94, 2010, pp. 513-518

⑥ Matsuda A, Ebihara N, Yokoi N, Kawasaki S, Tanioka H, Inatomi T, de Waal Malefyt R, Hamuro J, Kinoshita S, Murakami A. Functional Roles of Thymic Stromal Lymphopoietin for Chronic Allergic Keratoconjunctivitis. Invest Ophthalmol Vis Sci 査読有, 51, 2010, pp. 151-155

[学会発表] (計4件)

① The Roles of Plasminogen Activator Inhibitor-1 for the Pathogenesis of Atopic Cataracts. Association for Resea

rch in Vision and Ophthalmology (ARVO) 2010 5月4日

② The Role of PAI-1 and TGF- $\beta$ 1 for Atopic Cataract Formation. Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO) 2011年5月1日

③ アトピー白内障発症におけるプラスミノゲンアクチベーターインヒビター1の役割. 第115回日本眼科学会総会. 2011年5月13日

④ アトピー白内障発症におけるプラスミノゲンアクチベーターインヒビター1の役割. 第65回日本臨床眼科学会(優秀ポスター賞受賞講演) 2011年10月8日

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

村上 晶 (MURAKAMI AKIRA)  
順天堂大学・医学部・教授  
研究者番号: 90157743

### (2) 研究分担者

松田 彰 (MATSUDA AKIRA)  
順天堂大学・医学部・准教授  
研究者番号: 00312348

### (3) 連携研究者

海老原 伸行 (EBIHARA NOBUYUKI)  
順天堂大学・医学部・前任准教授  
研究者番号: 20255699