

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 6 月 16 日現在

機関番号：32661

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592657

研究課題名(和文) 眼表面ムチンのバリア機能および水濡れ性に関する検討

研究課題名(英文) Evaluation of the ocular surface mucin functions; Barrier and wettability on the ocular surface

研究代表者

堀 裕一 (HORI, Yuichi)

東邦大学・医学部・教授

研究者番号：70379171

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：オキュラーサーフェスの構成成分の一つであるムチンは眼表面で重要な役割を担っている。最近、ドライアイ治療薬としてムチン産生促進作用をもつ治療薬が複数上市され、ドライアイと眼表面ムチンの関連の重要性が注目されている。本研究では、各種ドライアイ治療薬によるムチン発現および眼表面の水分上昇の特徴について検討した。また、高速度カメラを用いた接触角計のシステムを構築し、ムチンによって接触角が小さくなり水濡れ性が向上することを証明した。本研究の結果がドライアイの病態解明の一助となると考えられ、さらにムチンを介した効果的なドライアイ治療方法の構築に役立つと思われる。

研究成果の概要(英文)：Mucins, which are one of the major component on the ocular surface, play very important roles, such as barrier function and ocular wettability. Recently, two new eye drops have been introduced in Japan to treat dry eye. In this study, we investigated the pharmacologic action of these agents in terms of the production of the mucins and water. We also established the modified contact angle measuring system to evaluate the relationship between mucin and wettability on the ocular surface. We believe that our results can contribute to figure out the mechanism of the dry eye, and to establish the more effective treatment for the patients with dry eye.

研究分野：眼科学

キーワード：眼表面ムチン ドライアイ バリア機能 水濡れ性

1. 研究開始当初の背景

眼表面ムチンには、結膜杯細胞から分泌される分泌型ムチン (MUC5AC) と角結膜上皮細胞が発現する膜型ムチン (MUC1, MUC4, MUC16) の両者があり、眼表面 (オキュラーサーフェス) の水濡れ性とバリア機能といった重要な役割を担っている。ドライアイでは眼表面ムチンの発現が低下しており、ドライアイ治療用点眼薬として、最近、ムチン分泌を促進させる薬理作用をもった薬剤が上市されている。

2. 研究の目的

今回の研究の目的は、

- 1) 2種類あるムチン分泌促進作用をもったドライアイ治療薬 (ジクアホソルナトリウム点眼およびレバミピド点眼) のムチン分泌の特徴を検査すること
- 2) ムチンと水濡れ性の関係について接触角を測定することで定量することの2点である。

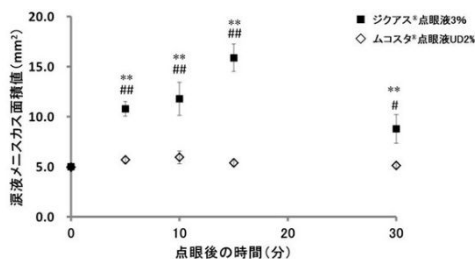
3. 研究の方法

- 1) 涙腺摘出ラット・ドライアイモデルに対して2種類のムチン分泌促進作用をもったドライアイ治療薬 (ジクアホソルナトリウム点眼およびレバミピド点眼) を点眼し、点眼後のPAS陽性細胞の比較および角結膜染色スコア、シルマー値の比較を行った。また、正常ウサギをもちいて上記の2種類点眼薬を点眼し、点眼15分後の涙液中のMUC5AC発現量を比較した。
- 2) ムチン濃度と接触角の検討を行うために、ハイスピードカメラを搭載した接触角計 SImage 100 (エキシマ社) を作成し、様々な濃度のムチン溶液の接触角を測定した。

4. 研究成果

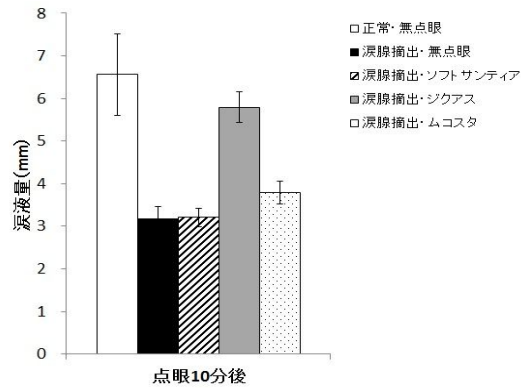
1) 各種ドライアイ治療薬における薬理作用の比較

正常ウサギに対してジクアホソルナトリウム点眼およびレバミピド点眼を投与し、点眼後30分までの眼表面涙液量をシルマー値およびフルオレセイン染色陽性面積にて比較したところ、すべての時間帯 (5, 10, 15, 30分) においてジクアホソルナトリウム点眼の方が有意に眼表面涙液を増加させており、ジクアホソルナトリウム点眼には、点眼後短時間の涙液量増加効果があることが明らかになった (図1)。



(図1: あたらしい眼科. 30, 2013, 1007-1010)

また、涙腺摘出ラット・ドライアイモデルに対するジクアホソルナトリウム点眼薬とレバミピド点眼薬を点眼したところ、点眼後10分における涙液量 (シルマー値) はジクアホソルナトリウム点眼薬が有意に上昇していた、このことは本薬剤が涙腺を介さずに結膜上皮からの水分分泌で涙液量を上昇させていることを意味する (図2)。



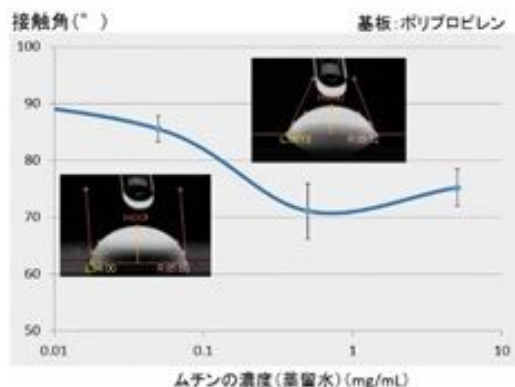
(図2: あたらしい眼科 31, 2014, 105-109)

一方、ムチン分泌においては、正常ウサギに対してジクアホソルナトリウム点眼およびレバミピド点眼を投与し15分後の涙液中のMUC5ACの発現量を調べたところ、ジクアホソルナトリウム点眼の方が有意に涙液中の発現量が多かった (論文投稿中)。

以上のことから、ジクアホソルナトリウム点眼薬とレバミピド点眼薬の使い分けとしては、前者は短時間に水分とムチン量を増加させる「涙液の治療」に向いており、レバミピド点眼薬は、これまでの報告から、杯細胞を増やして粘膜上皮を安定させてから結果的にムチン分泌を増加させるという「粘膜の治療」という特徴があることが予想され、両者の点眼の使い分けのヒントになると考える。

2) ムチン濃度と接触角測定

ポリプロピレンの上に蒸留水の液滴を滴下し、ハイスピードカメラ (3000コマ/秒) を搭載した接触角計 (SImage100, エキシマ社) を用いて接触角を測定したところ、ムチンの濃度が0.01~0.1mg/mLの濃度の間は濃度が上昇するにしたがって接触角が小さくなるということが明らかになった。(下図)



今後はこの実験系を用いてムチンと水濡れ

性の関係について接触角を測定することで定量できる可能性が示唆された。

今回の研究成果が、様々な病態を呈するドライアイ患者に対して効率の良い治療法(テラーメイド治療)の確立やドライアイの病態解明に寄与することができれば幸いであり、今後も同様の研究を進めていきたいと考える。

#### 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 16件)

Onoda Y, Shiba T, Hori Y, Maeno T, Takahashi M: Two cases of Acute Abdomen after an Intravitreal Injection of Bevacizumab. Case Reports in Ophthalmology 査読有 6, 2015, 110-114. DOI: 10.1159/000381257

永岡 卓, 堀 裕一, 金谷芳明, 前野貴俊: 涙管チューブ挿入前後の涙液動態の変化. 臨床眼科. 査読有 68, 2014, 1031-1035

<http://www.igaku-shoin.co.jp/journalDetail.do?journal=35637>

Shiba T, Takahashi M, Sato Y, Onoda Y, Hori Y, Sugiyama T, Bujo H, Maeno T.: Relationship between Severity of Obstructive Sleep Apnea Syndrome and Retinal Nerve Fiber Layer Thickness. Am J Ophthalmol 査読有 157, 2014, 1202-1208.

DOI: 10.1016/j.ajo.2014.01.028.

堀 裕一, 柴 友明, 前野貴俊: 眼窩外涙腺摘出ラット・ドライアイモデルに対するジクアホソルナトリウム点眼液とレバミピド点眼液の効果. あたらしい眼科 査読有 31, 2014, 105-109,

<http://www.atagan.jp/article/20140126.htm>

金谷芳明, 堀 裕一, 村松理奈, 出口雄三, 柴 友明, 前野貴俊: フルオレセイン染色法の違いによる涙液メニスカス高への影響. あたらしい眼科 査読有 30, 2013, 102-105,

<http://www.atagan.jp/article/20131224.htm>

村松理奈, 堀 裕一, 金谷芳明, 出口雄三, 柴 友明, 前野貴俊: 脳梗塞後の神経麻痺性角膜症に対し、レバミピド点眼液が有効だと思われた一例. 眼科臨床紀要 査読有 6, 2013, 975-978.

[http://www.ganrinki.jp/magazine/book\\_detail.html?no=72](http://www.ganrinki.jp/magazine/book_detail.html?no=72)

Tchedre K, Imayasu M, Hori Y, Cavanagh HD: Contact lens care solutions downregulate membrane-associated mucins 1 and 16 in cultured human corneal epithelial cells and at the rat corneal surface in vivo. Eye & Contact lens 査読有 39, 2013, 394-399. DOI:

10.1097/ICL.0b013e3182a2f8d9

堀 裕一: ドライアイに対する眼表面の層別診断・層別治療 4) ムチン層. 眼科. 査読無 55, 2013, 1251-1256

<http://www.kanehara-shuppan.co.jp/magazines/detail.html?kubun=02453&code=02453> 2013105

毛塚由起子, 堀 裕一, 出口雄三, 芦澤純也, 柴友明, 前野貴俊: 涙道内視鏡が病態の把握に有用であった涙小管乳頭腫の1例. あたらしい眼科. 査読有. 30, 2013, 1305-1308.

<http://www.atagan.jp/article/20130928.htm>

堀 裕一, 前野貴俊: 正常ウサギの涙液量に対するジクアホソルナトリウム点眼とレバミピド点眼の効果. あたらしい眼科. 査読有. 30, 2013, 1007-1010,

<http://www.atagan.jp/article/20130728.htm>

谷口ひかり, 堀 裕一, 柴 友明, 前野貴俊: 白内障術後に上皮型角膜ヘルペスを発症した2症例. 眼科臨床紀要. 査読有. 6, 2013, 363-367

[http://www.ganrinki.jp/magazine/book\\_detail.html?no=65](http://www.ganrinki.jp/magazine/book_detail.html?no=65)

金谷芳明, 堀 裕一, 山本 忍, 出口雄三, 前野貴俊. ペンタカムによる角膜全屈折力および Equivalent K 値を用いた眼内レンズ度数掲載の検討. あたらしい眼科. 査読有. 29, 2012, 133-137

<http://www.atagan.jp/article/20120829.htm>

Higashiura R, Maeda N, Nakagawa T, Fuchihata M, Koh S, Hori Y, Inoue T, Nishida K. Corneal Topographic analysis by 3-dimensional anterior segment optical coherence tomography after endothelial keratoplasty. Invest Ophthalmol Vis Sci. 査読有. 57, 2012, 3286-3295, DOI:

10.1167/iovs.12-9602

堀 裕一, 橋本りゅう也, 産賀 真, 出口雄三, 芦澤純也, 日谷光一郎, 柴 友明, 前野貴俊: 肺腺癌に対するエルロチニブ塩酸塩内服中にみられた角膜障害の1例. 日本眼科学会雑誌. 査読有. 116, 2012, 510-515,

<http://journal.nichigan.or.jp/Disp?style=abst&vol=116&year=2012&mag=0&number=5&start=510>

Koh S, Maeda N, Soma T, Hori Y, Tsujikawa M, Watanabe H, Nishida K. Development of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Keratitis in a Dry Eye Patient with a Therapeutic Contact Lens. Eye & contact lens. 査読有. 38, 200-202, DOI:

10.1097/ICL.0b013e31823ff1f4

Fukuda M, Yamada M, Kinoshita S, Inatomi T, Ohashi Y, Uno T, Shimazaki J, Satake Y, Maeda N, Hori Y, Nishida K, Kubota A, Nakazawa T, Shimomura Y. Comparison of Corneal and Aqueous Humor Penetration of

Moxifloxacin, Gatifloxacin and Levofloxacin during Keratoplasty. Advances in therapy. 査読有. 29, 2012, 339-349, 2012, DOI: 10.1007/s12325-012-0016-x

〔学会発表〕(計 15 件)

Hori Y : Alteration of mucins at the ocular surface in dry eye, Asia ARVO2015, 2015 年 2 月 18 日、パシフィコ横浜、神奈川県横浜市

Hori Y : Mucin expression on the human ocular surface and novel secretagogue agents for the treatment of DRY EYE, Qingdao International Cornea Symposium, 2015 年 1 月 16 日 青島、中国

堀 裕一 : 眼表面粘膜に対するムコスタ点眼薬の有効性について、第 42 回日本潰瘍学会、2014 年 11 月 1 日、慶応大学薬学部芝共立キャンパス、東京都港区

Hori Y: Evaluation of Mucin barrier induced by Benzalkonium Chloride on the Ocular Surface Epithelium. 13<sup>th</sup> Congress of the International Society of Ocular Toxicology, 2014 年 10 月 9 日、金沢文化ホール、石川県金沢市

堀 裕一 : オキュラーサーフェスについての新知見と今後の治療について、第 782 回東京眼科集談会、2014 年 8 月 20 日、順天堂大学有山記念講堂、東京都文京区

堀 裕一 : 涙液層におけるムチンの役割について (本当は分かっている眼表面ムチン)、第 3 階日本涙道・涙液学会総会 2014 年 7 月 6 日、東京フォーラム、東京都千代田区

Hori Y, Ide T, Toda I: Treatment of Dry Eye Syndrome in Refractive Surgery. 16<sup>th</sup> Catholic University Refractive Surgery Symposium, 2014 年 5 月 18 日、ソウル、韓国

Hori Y: Topics of Dry Eye in Japan. 2<sup>nd</sup> Asia Dry Eye Society Meeting, 2013 年 11 月 23 日、ザ・ペニンシュラ東京、東京都千代田区

堀 裕一 : 液層(分泌型ムチン)の治療、第 67 回日本臨床眼科学会、2013 年 10 月 31 日、パシフィコ横浜、神奈川県横浜市

堀 裕一 : ムチン層・表層上皮の診断、第 7 回箱根ドライアイクラブ、2013 年 5 月 31 日、小田原ヒルトン、神奈川県小田原市

堀 裕一 : ドライアイと MGD、第 117 回日本眼科学会総会、2013 年 4 月 4 日、東京フォーラム、東京都千代田区

堀 裕一 : 全層角膜移植の適応と手技、第 36 回日本眼科手術学会総会、2013 年 1 月 26 日、福岡国際会議場、福岡県福岡市

堀 裕一 : 正常ウサギの涙液量に対するジクアス 3% とムコスタ点眼液 UD2% の効果、第 32 回日本眼薬理学会、2012 年 9

月 15 日、ピアザ淡海、滋賀県大津市  
堀 裕一 : シェーグレン症候群に対する眼科的アプローチ~我が国のドライアイ治療における新たな方向性~、第 21 回日本シェーグレン症候群学会学術集会、2012 年 9 月 7 日、ウェスティン都ホテル 京都、京都府京都市

堀 裕一 : 我が国のドライアイ治療について、第 116 回日本眼科学会総会、2012 年 4 月 8 日、東京フォーラム、東京都千代田区

〔図書〕(計 10 件)

堀 裕一 : 中山書店、iron line 眼科診療クオリファイ 25 「角膜混濁のすべて」 2014、16-20

堀 裕一 : MSD 出版、ドライアイ Update ドライアイの新しい点眼液 Ophthalmic Foresight、2014、8-9

堀 裕一 : メディカ出版、眼科で治療する病気 角膜混濁 眼科ケア 16、2014、28-33

堀 裕一 : メディカ出版、水疱性角膜症、角膜ヘルペス 目の解剖と病気、2013、110-118

堀 裕一 : 中山書店、ムチンの構造と機能 眼科診療クオリファイ 19 「ドライアイスペシャリストへの道」 2013、41-45

堀 裕一 : 文光堂、初発翼状片に対する手術(遊離弁移植)眼手術学 4 角膜・結膜・屈折矯正、2013、260-263

堀 裕一 : メディカ出版、角膜穿孔治療の注意点 眼科グラフィック 2、2013、515-519

堀 裕一 : 中山出版、ドライアイ(乾燥性角結膜炎、Sjogren 症候群)メディカルオブサルモロジー眼薬物治療のすべて、2012、49-54

堀 裕一 : 中山出版、上輪部角結膜炎 メディカルオブサルモロジー眼薬物治療のすべて、2012、43-48

堀 裕一 : 中山書店、結膜被覆術 角膜内皮障害 to the Rescue、2012、214-215

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

該当なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

堀 裕一 (HORI, Yuichi)

東邦大学・医学部・教授

研究者番号: 70379171

(2) 研究分担者

該当なし

(3)連携研究者  
該当なし