



2013年8月29日

報道関係者各位

慶應義塾大学医学部

重症ドライアイの発症にマクロファージの老化が関与 - 病態と老化メカニズムの関連解明に新しい道 -

慶應義塾大学医学部眼科学教室の小川葉子特任准教授、榛村重人准教授、河合正孝医師（元同大学病院医師（非常勤））らの研究グループ（眼科学教室主任：坪田一男教授）は、同大学医学部先端医科学研究所（細胞情報研究部門 主任：河上裕教授）とともに、慢性の移植片対宿主病（GVHD）（注1）のマウスモデルを用いたドライアイの病態解明の研究で、重症ドライアイにおける免疫応答（注2）の発症機構に、炎症細胞のひとつであるマクロファージの老化（注3）が関与していることを初めて見出しました。

本研究では、マウスの免疫反応の発症時期における涙腺への炎症性浸潤細胞（注4）には、老化細胞に発現するp16や酸化ストレスの発現が亢進していて、マクロファージ（注5）をはじめとする免疫担当細胞の老化が、ドライアイの発症や重症化に関与する可能性を示しました。なお、マクロファージの老化は動脈硬化ばかりでなく、眼の加齢疾患の代表で高齢者の失明原因のひとつでもある加齢黄斑変性（注6）においても重要な要因であることが近年わかってきており注目されています。

この発見は今後、免疫老化、炎症老化によるドライアイの発症・進展の病態解明につながるだけでなく、免疫老化が関連する他の老年性疾患の病態解明にも貢献する可能性があります。

本研究成果は8月29日（木）（欧州西部時間）に、英国の科学誌「Scientific Reports」に掲載されます。

1. 研究の背景

眼表面は黒目（角膜）、白目（結膜）、そして涙腺（涙の水の成分をつくる場所）、副涙腺、マイボーム腺（涙の油の成分をつくる場所）などが存在し、涙はこれらの眼表面組織を保護して、物が鮮明に見えるための光学的透光体としての役割や眼の表面の健全性を保つ役割を担っています。眼表面組織は一体化した粘膜上皮に覆われ、これらのどの部位が障害されても眼表面の恒常性が維持されなくなり、涙の働きが不安定になり、ドライアイが生じます。シェーグレン症候群（注7）や慢性の移植片対宿主病（GVHD）など免疫応答が関与するドライアイはこれらの様々な要素が影響しあい炎症が引き起こされ、炎症性細胞浸潤により角膜、結膜や涙腺の機能が悪くなって発症します。その発症や病気の進展のメカニズムには不明な点が多く残されていました。

慢性GVHDの免疫応答による重症ドライアイ症例に、睫毛、眉毛および毛髪の白髪化がドライアイとともに生じる場合が認められ、結膜腫瘍の発生率が高くなると報告されています。そこで本研究では、このタイプのドライアイに何らかの老化現象が関与するという仮説を着想し、慢

性 GVHD による免疫原性ドライアイのマウスモデルの涙腺における免疫応答と老化との関連を調べました。

2. 研究成果

本研究グループは、ヒトの免疫応答を再現する慢性 GVHD マウスモデルを用いて特に涙腺に焦点を当てて研究を行いました。

まず若年マウス、老齢マウス、慢性 GVHD マウスモデル、GVHD コントロールマウスの涙腺を調べたところ、慢性 GVHD マウスモデルにおいて、老齢マウスと同じように線維化や、炎症性細胞浸潤を来していることがわかりました。さらに電子顕微鏡による解析で詳細を検討すると、老齢マウスと同じように慢性 GVHD マウスモデルにおいてミトコンドリア（注 8）の形態異常が認められ、リポフスチン（注 9）という物質が蓄積していることがわかりました。さらに慢性 GVHD マウスモデルでは、涙を産生する涙腺に浸潤する炎症細胞に老化マーカーの p16 や酸化ストレス（注 10）マーカーの 8-OHdG（DNA 損傷マーカー）、4-HNE（脂質酸化マーカー）、HEL（脂質酸化マーカー）が発現していることを初めて見出しました。涙腺の微小環境下で、特に酸化ストレスマーカーを発現する免疫担当細胞はマクロファージであり、T 細胞と接着して何らかの情報交換をしていることがわかりました（図 1）。老齢マウス、慢性 GVHD マウスモデルの涙腺では若年マウスとコントロールマウスの涙腺に比べて、顕著に酸化ストレスタンパクの発現が上昇していました（図 2）。

本研究により、涙腺に浸潤するマクロファージの老化が、ドライアイを来たず涙腺の病態の発症から慢性炎症へと進展していく過程で主要な役割を果たしている可能性が見出されました（図 3）。

3. 今後の展開

免疫応答の関与する慢性 GVHD マウスモデルを検討することにより、ドライアイの発症時期や経時的な変化、進展を正確にとらえられます。そのため、今後、免疫応答によるドライアイと老化の関係だけでなく、老化のメカニズムを解明する手がかりとなると考えられ、癌や動脈硬化等生命予後にかかわる疾患の病態解明にも役立つ可能性があります。

マクロファージの老化は動脈硬化ばかりでなく、眼の加齢疾患の代表ともいえる加齢黄斑変性においても重要な要因であることが近年わかってきており、今後、免疫応答の異常と老化のメカニズムの関連性の解明に貢献することが期待されます。

4. 特記すべき事項

本成果は、以下の事業・研究領域・研究課題によって得られました。

文部科学省科学研究費助成事業（科学研究費補助金）基盤研究（C）23592590

研究課題名：ドナー由来間葉系幹細胞による眼慢性移植片対宿主病の発症機構と新規治療法の開発

研究期間：2011 年 4 月 1 日から 2014 年 3 月 31 日

研究代表者：小川葉子

5. 論文名

“ Expression and localization of aging markers in lacrimal gland of chronic graft-versus-host disease. ”

「慢性移植片対宿主病の涙腺における老化マーカーの発現と局在」

Masataka Kawai, Yoko Ogawa, Shigeto Shimmura, Shigeki Ohta, Takanori Suzuki, Naoshi Kawamura, Masataka Kuwana, Yutaka Kawakami and Kazuo Tsubota

【参考図】

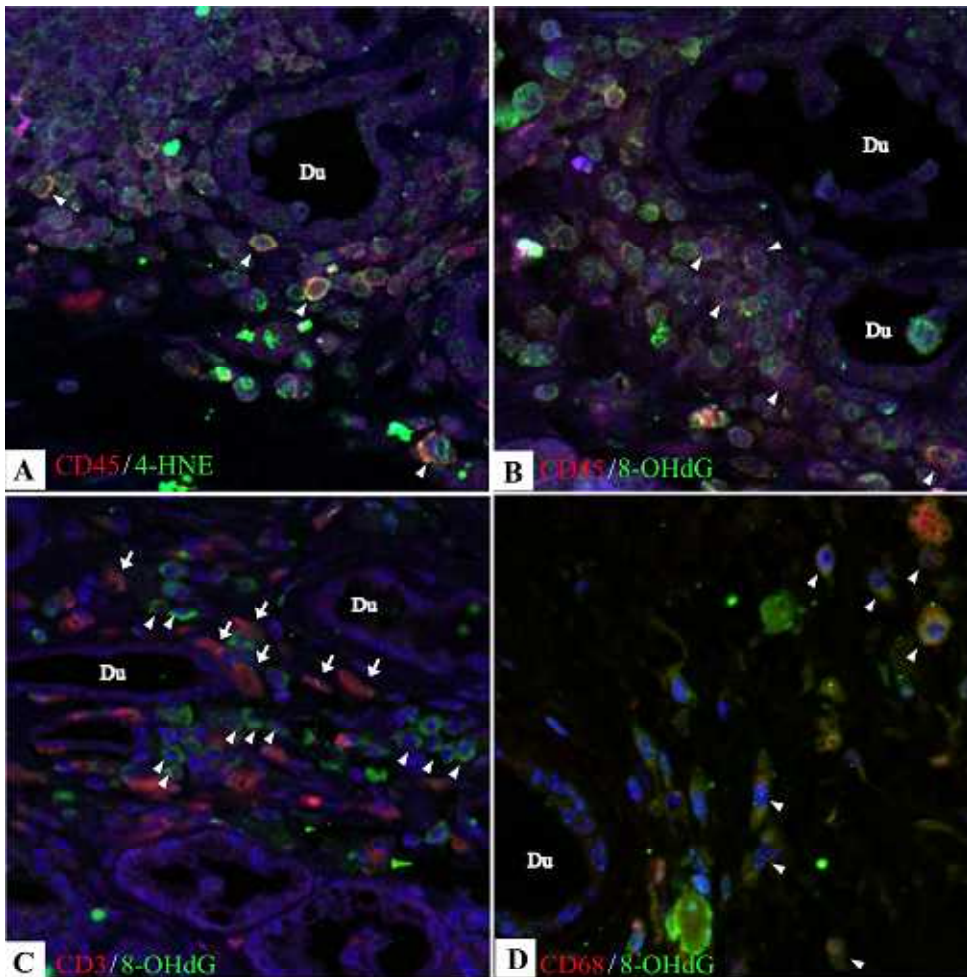


図1 .慢性 GVHD マウスモデル膵腺組織での免疫担当細胞における酸化ストレスマーカーの発現 (A、B) 炎症性細胞 (CD45, 赤) が膵腺の導管 (Du)の周囲に数多く集積していて、そのうちの多くは 4-HNE (A ; 緑, 脂質酸化を示します。)と 8-OHdG (B ; 緑, DNA 損傷を示します) を発現していました。同じ細胞が赤と緑に同時に染まると黄色く染まります。この指輪状に黄色く染まった細胞 (白 の部分) が酸化ストレスマーカーを発現している炎症性細胞です。青は細胞の核を示します。

(C) 膵腺導管周囲に浸潤する T 細胞 (赤、矢印) は多くの 8-OHdG (白 の部分、緑色の細胞、) を発現する浸潤細胞に接着していました。

(D) 8-OHdG を発現する炎症性浸潤細胞はマクロファージ (CD68, 赤) であることがわかりました。(白 の部分, 黄色の細胞)

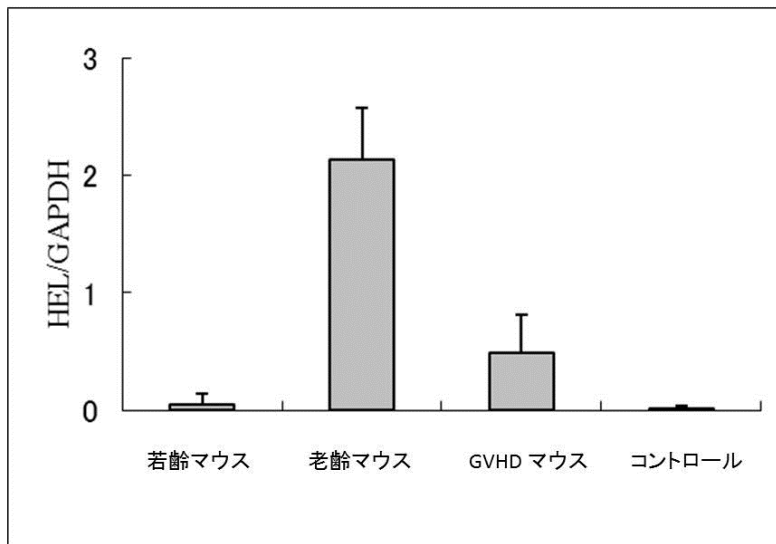


図2 . 涙腺における HEL (脂質の酸化マーカー)の発現。
 老齢マウスと慢性 GVHD マウスモデルの涙腺には、脂質酸化マーカーである HEL のタンパクの発現がコントロールマウスと若年マウスに比べて亢進していました。免疫プロット (ウェスタンブロット) という方法でタンパクの発現を確認しました。

免疫原性ドライアイと炎症細胞の老化

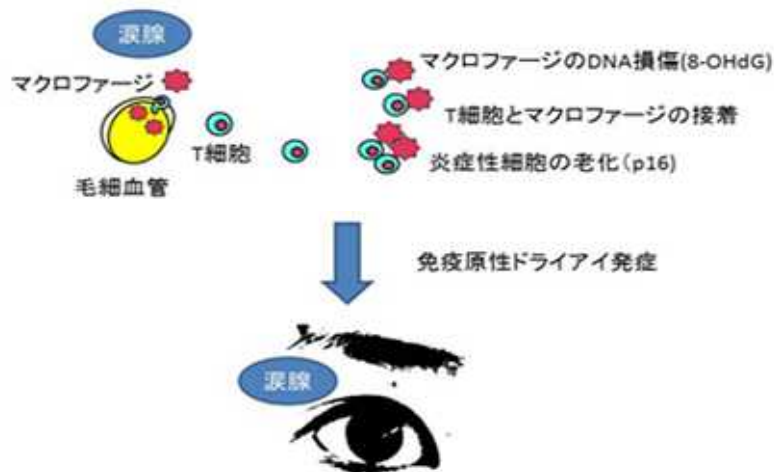


図3 . 涙腺や眼の表面に浸潤する炎症細胞、特にマクロファージの老化が眼表面組織に破綻を来たしてドライアイを起こすと考えられます。T細胞はマクロファージと接着して相互作用をし、液性因子を放出し慢性炎症が原因となるドライアイの引き金となると考えられます。

【用語解説】

注1：慢性の移植片対宿主病（Graft-versus-host Disease: GVHD）

血液悪性疾患等の根治療法としての造血幹細胞移植のあとに生じる晩期合併症のうちのひとつ。移植後約半数の患者さんに慢性 GVHD が発症するとされます。移植後 1-2 週で出現する急性 GVHD とは区別されます。ドナー（造血幹細胞提供者）の移植片とレシピエント（移植希望者）の細胞、または組織との間に生じる免疫応答で、眼科領域での最も多い合併症はドライアイです。

注2：免疫応答

免疫反応の役割をする細胞が体の外因性または内因性の異物を自分とはちがう抗原として認識し、特異的に行なわれる反応です。

注3：老化

加齢に伴い全身的に種々の組織・期間で並行して進行する複合的な衰退減少です。細胞老化、組織老化、臓器老化、個体老化として区別されています。細胞老化の原因には酸化ストレス、炎症老化、免疫老化、遺伝子変異、テロメア短縮、ミトコンドリアの変異が考えられています。これらの異常は癌や様々な老年性疾患に密接にかかわるとされます。

注4：炎症性浸潤細胞

炎症がおきている組織に侵入してくる細胞。感染や、免疫応答の際に局所的に好中球、好酸球、好塩基球やリンパ球、樹状細胞、マクロファージ、肥満細胞などの白血球をはじめとした炎症性細胞が集積します。異なる疾患ではそれぞれ浸潤細胞の種類が違います。

注5：マクロファージ

白血球の一種の生体内を遊走する貪食細胞で、死細胞や体内に生じた変性物質などの異物を取りこんで消化する掃除役を務め、免疫機能の中心的役割を担っています。

注6：加齢黄斑変性

加齢とともに増加する疾患です。ものを見るのに重要な網膜の黄斑部というところに異常が起こります。中途失明の主要な原因であり日本における失明原因の上位に位置します。晩期には新生血管を伴う滲出型と伴わない萎縮型があります。正確なデータは不明ですが、2007 年の調査では、国内患者数約 70 万人と推定されています。

注7：シェーグレン症候群

自己免疫疾患の一つであり、涙腺や唾液腺などにリンパ球浸潤が生じ、涙液や唾液の分泌を障害しドライアイやドライマウスをきたします。40～60歳の中年女性に好発し、男女比は1対14です。日本における涙腺、唾液腺以外に関節、皮膚、肺、血液など腺組織以外の臓器にも病変が生じることがあります。正確なデータは不明ですが、国内患者数約 10 万人と推定されます。

注8：ミトコンドリア

細胞内小器官。二重膜につつまれています。核とは別にミトコンドリア DNA が存在します。老化した細胞ではミトコンドリアの変性が生じて活性酸素種を産生するとされます。

注9：リポフスチン

変性タンパク質、脂質が含まれる高度に酸化された物質です。鉄、亜鉛、マンガン、銅なども含まれていて老化した細胞に増加するとされています。

注10：酸化ストレス

酸化物質が過剰に発生した場合は、DNA や脂質、酵素、タンパク質を酸化させます。通常発生した酸化物質は抗酸化物質や抗酸化酵素によって除去されます。

ご取材の際には、事前に下記までご一報くださいますようお願い申し上げます。

本リリースは文部科学記者会、科学記者会、厚生労働記者会、厚生日比谷クラブ、各社科学部等に送信させていただいております。

【本発表資料のお問い合わせ先】

慶應義塾大学医学部 眼科学教室
小川 葉子（おがわ ようこ） 特任准教授
TEL:03-5363-3972 FAX 03-5363-3974
E-mail: yoko@z7.keio.jp
<http://www.keio-eye.net/>

【本リリースの発信元】

慶應義塾大学信濃町キャンパス総務課
富田、齋藤
〒160-8582 東京都新宿区信濃町3-5
TEL 03-5363-3611 FAX 03-5363-3612
E-mail: med-koho@adst.keio.ac.jp
<http://www.med.keio.ac.jp/>