

2025 年度臨床研究推進研究費報告書

申請年月日: 2026 年 3 月 10 日

代表者	氏名	大谷 祐紀	所属	One Health リサーチセンター
	内線	5188	e-mail	yukiotani35@vetmed.hokudai.ac.jp
研究課題	イヌおよびネコ涙道の形態と局所免疫システムの探求			
研究チーム参加者	氏名	所属		役割
	大谷 祐紀	One Health リサーチセンター		研究統括、MRI・CT・組織解析
	新坊 弦也	獣医学研究院 動物医療センター		MRI・CT 解析
	平石 真也	獣医学院 解剖学教室		MRI・CT・組織解析
研究期間	2025 年 6 月 ~ 2026 年 3 月			
研究目的と成果の概要 (400 字以内)	<p>動物の眼、特に結膜と涙道の粘膜上皮には、局所免疫機構として眼関連リンパ組織（EALT）が備えられるが、その発達と分布には動物種差がある。今回、ネコとイヌの涙道構造、さらにネコの EALT 局在と細胞構成を解析し、各種で頻発する眼疾患との関連を考察した。</p> <p>ネコとイヌの涙道は涙小管、涙嚢、鼻涙管によって構成された。若齢ネコにおいて涙道周囲の EALT 発達は小さく稀で、一方、涙点付近の第三眼瞼結膜で集中的な EALT の発達が見られた。ネコ第三眼瞼の結膜 EALT は主に CD20⁺B 細胞と CD3⁺T 細胞で構成され、一部は胚中心を形成した。妊娠後期の胎子ネコで EALT の形成はみられなかった。</p> <p>以上、ネコとイヌの涙道構造とネコ EALT の解剖学的特徴を明らかにした。ネコ結膜に大きく発達した EALT は、病原体感染などに応じて局所の免疫応答を担い、過剰な活性は結膜炎病態とも関連する可能性がある。これらの基礎知見は、両種における眼疾患の病態解明と対策法開発へとつながる EALT 研究の礎となる。</p>			

研究方法、結果、考察、成果の公表（上記書式、図表を含めて 3 ページ以内に纏めて下さい）

【方法】

Marshall R プログラムより入手した健康な若齢ネコ（n=5、7~8 カ月齢）および獣医学部における実習の一環で実施された避妊手術で得た胎子ネコ（n=4、推定胎齢 50~60 日）を解析した（いずれも雌雄混合、雑種）。頭部を左右に分割後、10%中性緩衝ホルマリン液により固定し、①CT 撮影による涙道構造の観察または②眼周囲リンパ組織（EALT）の組織学的観察を実施した。

- ① 若齢ネコ（n=1）：頭部を造影剤（1%ホスホタングステン酸溶液）に 4 週間浸漬し、洗浄後、マイクロ CT により連続断面像を撮影し、涙道を三次元的に再構築した（Image Pro 10）。
- ② 若齢、胎子ネコ（各 n=4）：10%ギ酸溶液により脱灰後、パラフィンに包埋した頭部から 100~200 μm（若齢）または 25~50 μm（胎子）毎の間断連続切片を作成し、ヘマトキシリン・エオジン（HE）染色とトルイジンブルー（TB）染色により観察した。さらに 2 例の若齢ネコ頭部から対側の眼瞼を採材し、ホールマウントヘマトキシリン（WMH）染色により EALT の局在を観察した。続いて同組織をパラフィンに包埋し、蛍光抗体法（IF）により EALT を構成する主な細胞種を同定した。また、当研究室で保管されていたホルマリン固定済のイヌ頭部（n=1、ビーグル）の涙点から造影剤（イオパミドール 150）を注入し、CT 撮影により涙道構造を観察した。

【結果】

若齢ネコ頭部を造影剤に浸漬し、洗浄後に CT 撮影すると、涙道は黒く、周辺組織は白く描出された (図 1、2)。涙道は内眼角周辺の上下眼瞼から 2 本の涙小管として起始し、それらは合流して涙嚢を形成した後、さらに吻側では細い鼻涙管として鼻腔外側を走行した (図 3)。

若齢ネコの涙小管は重層上皮で内張りされ、結合組織によって囲まれていた (図 4)。涙嚢および鼻涙管の粘膜上皮は涙小管よりも薄く、周囲の結合組織内には血管がみられた (図 4)。4 例中 3 例の若齢ネコの涙道周囲に EALT の形成はみられず、1 例でのみ涙小管周囲の結合組織内に小さなリンパ球集簇として EALT が観察された (図 5)。一方で、組織観察したすべての若齢ネコで、眼球側の第三眼瞼結膜上皮下に EALT が発達した (図 6~8)。EALT は WMH 染色により赤い点状構造として観察され、第三眼瞼の眼球側、特に内眼角周辺に集中していた (図 6)。第三眼瞼 EALT の一部は胚中心を形成し、上皮に並行して発達した (図 7、8)。また、同 EALT は主に濾胞中心付近に集簇する CD20⁺ B 細胞と、それを囲む CD3⁺ T 細胞で構成され、さらに少数の CD20⁺CD3⁺細胞を含んだ (図 9)。



図 1. 若齢ネコ頭部

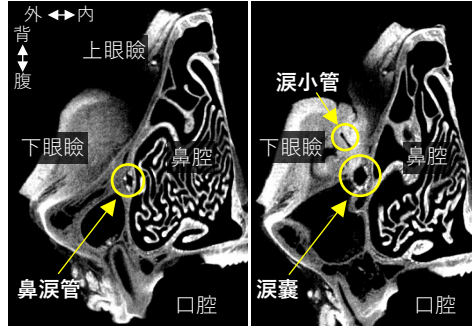


図 2. 若齢ネコ頭部の横断 CT 画像

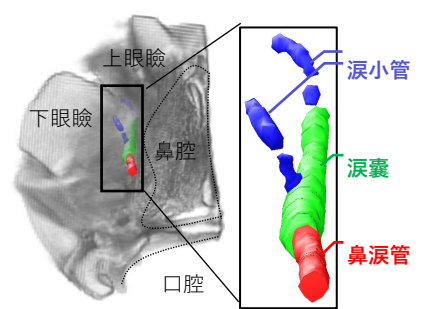


図 3. 若齢ネコ涙道の三次元像

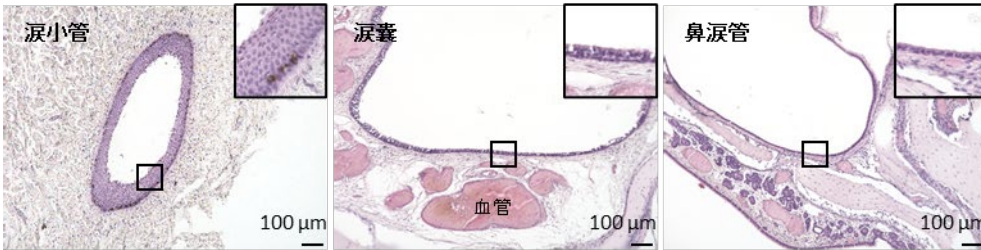


図 4. 若齢ネコの涙道 (HE)

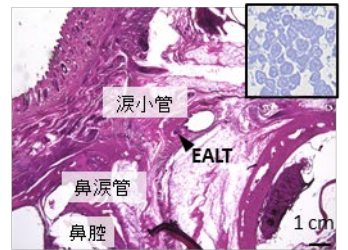


図 5. 若齢ネコ涙道 EALT (HE, TB)

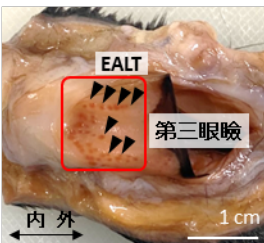


図 6. 若齢ネコ結膜 EALT の分布 (WMH)

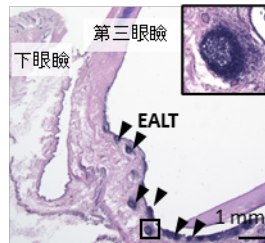


図 7. 若齢ネコ結膜 EALT の成熟 (HE)

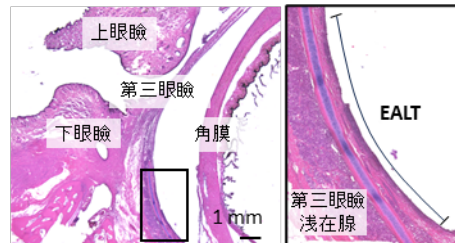


図 8. 若齢ネコ結膜 EALT の上皮に沿った発達 (HE)

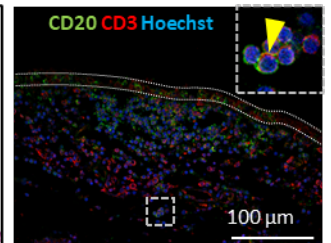


図 9. 若齢ネコ結膜 EALT の細胞構成 (IF) (矢頭：共陽性細胞)

胎子ネコの胎齢は、既報に基づき体長と胎盤組織像から交尾後 50~60 日と推定した (Gomez Castro et al, 2025) (図 10)。全個体で上下および第三眼瞼、涙小管、鼻涙管の形成がみられたが、明瞭な涙嚢は未形成だった (図 11)。全個体の涙道および眼瞼に EALT の形成はみられなかった (図 9)。

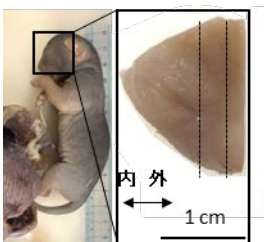


図 10. 胎子ネコ

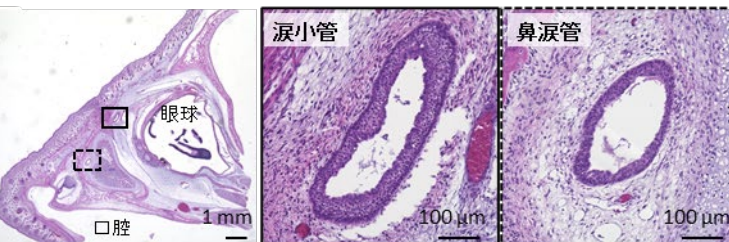


図 11. 胎子ネコの涙道 (HE)

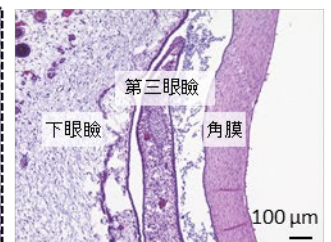


図 12. 胎子ネコの眼瞼

イヌの涙道走行を観察するため、ネコと同様に内眼角付近の上下眼瞼に涙点が存在することを確認し、涙点から涙道に造影剤を注入した。イヌ涙道は尾側から吻側にかけて以下の3部位に分けられた；①涙点から腹側に下走する涙小管および涙嚢、②水平に内側吻側に走行する鼻涙管、③腹側吻側に下走して鼻腔に合流する鼻涙管（図13、14）。

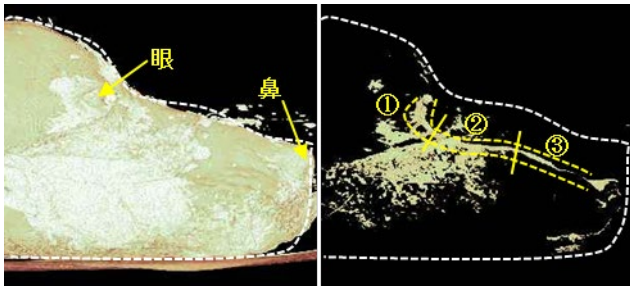


図13. イヌ涙道の側面像（黄点線：涙道）
（右図：左図より高輝度部位を抽出）

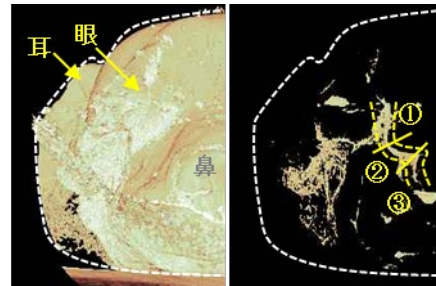


図14. イヌ涙道の正面像（黄点線：涙道）
（右図：左図より高輝度部位を抽出）

【考察】

今回、ネコの涙道とその周辺組織を網羅的に観察し、同種で初めて涙道 EALT の観察に成功したが、その発達は小さく不定だった。一方、異物の除去や眼表面の保護を担う第三眼瞼の結膜上皮下に集中的な EALT 発達がみられた。第三眼瞼の結膜 EALT は B 細胞と T 細胞からなる典型的な粘膜関連リンパ組織構造を示し、眼局所免疫の主体を担う可能性が考えられた。第三眼瞼はイヌやウシも有し、いずれの種でも結膜 EALT を発達させる (Hong et al, 2015; Kosenda et al, 2023)。一方で、機能的な第三眼瞼を欠くヒトやマウスは涙道 EALT を発達させることから、第三眼瞼の発達の程度が EALT の分布に影響する可能性がある。いずれの動物種においても、涙液が蓄積する領域に EALT を集中させることで、効率的な眼表面の抗原取り込み、および免疫応答を可能にしていると考えられた。

妊娠後期の胎子ネコにおいて EALT は未形成であり、ネコ EALT は生後に発達することが明らかになった。また今回、若齢ネコの結膜 EALT は、抗原刺激に対する免疫応答として胚中心を形成しており、加齢と環境中抗原の刺激に関連して発達したと考えられた。腸管などの粘膜関連リンパ組織は抗原取込経路による病原体の侵入や構成細胞による活発な炎症性サイトカイン産生を介して粘膜の炎症病態を増悪させる。また、マウスでは EALT を介した結膜炎の悪化が報告されている (Oya et al, 2025)。ネコは結膜炎を好発する動物種であり、詳細な病態機序は不明であるが、今回若齢ネコにみられた EALT が結膜炎の発達に関与する可能性が考えられた。さらに興味深いことに、若齢ネコの結膜 EALT で B 細胞マーカー CD20 と T 細胞マーカー CD3 を共発現する細胞が確認された。CD20⁺CD3⁺細胞はヒトやイヌで報告され、通常のリンパ球より活発に増殖し炎症性サイトカインを産生することで、関節リウマチ、多発性硬化症、乾癬などの慢性炎症性疾患の病態に関与する (Brachelente et al, 2016; Chen et al, 2019)。今後、ネコ結膜炎における EALT および CD20⁺CD3⁺細胞の関与を探索することで、未知であったネコの結膜炎発生機序の解明に寄与し、予防・治療法の発展に貢献したい。

また今回、イヌの涙道に造影剤を注入し CT 撮影することで涙道の形態・走行を可視化し、ホルマリン固定標本であっても、涙道の形態評価ができることを示した。一部の犬種では涙道の閉塞や狭窄による流涙症が問題となっており、同法を用いた涙道形態の精査は重要である。今後は狭窄が頻発する部位の同定、さらに EALT の解析を進め、イヌに特徴的な眼疾患の病態解明を目指す。

【成果の公表（代表的なもの）】

・論文発表

Hiraishi M, Namba T, Otani Y, Kira S, Ichii O. Dominance of conjunctiva-associated lymphoid tissue in the feline ocular immune system, with identification of lacrimal duct-associated lymphoid tissue. *J Vet Med Sci*, 88:82-89, 2025.

・学会発表

平石 真也, 難波 貴志, 大谷 祐紀, 吉良 俊之介, 市居 修. 連続断面解剖によるネコ涙道周囲リンパ組織の観察. 第168回日本獣医学会学術集会 2025.