

東邦大学学術リポジトリ

Toho University Academic Repository

タイトル	Pathogenic mechanism of dry eye-induced chronic ocular pain and a mechanism based therapeutic approach
別タイトル	ドライアイによる慢性眼痛の発症メカニズムとメカニズムに基づいた治療法
作成者（著者）	鄭, 有人
公開者	東邦大学
発行日	2022.03.16
掲載情報	東邦大学大学院医学研究科 博士論文 内容の要旨及び審査結果の要旨.
資料種別	学位論文
内容記述	主査：前野貴俊 / タイトル：Pathogenic mechanism of dry eye-induced chronic ocular pain and a mechanism based therapeutic approach / 著者：Yuto Tei, Yoshinori Mikami, Masanori Ito, Taichiro Tomida, Daisuke Ohshima, Yuichi Hori, Satomi Adachi Akahane / 掲載誌：Investigative Ophthalmology & Visual Science / 巻号・発行年等：/
著者版フラグ	none
報告番号	32661甲第1035号
学位記番号	甲第714号
学位授与年月日	2022.03.16
学位授与機関	東邦大学
DOI	10.1167/iovs.63.1.7
その他資源識別子	https://iovs.arvojournals.org/article.aspx?articleid=2778232
メタデータのURL	https://mylibrary.toho.u.ac.jp/webopac/TD38610095

博士學位論文

論文内容の要旨

および

論文審査の結果の要旨

東邦大学

鄭 有人より学位申請のため提出した論文の要旨

学位番号甲第714号

学位申請者 : てい 鄭 ゆう 有 と 人

学位論文 : Pathogenic mechanism of dry eye-induced chronic ocular pain and a mechanism-based therapeutic approach

(ドライアイによる慢性眼痛の発症メカニズムとメカニズムに基づいた治療法)

著者 : Yuto Tei, Yoshinori Mikami, Masanori Ito, Taichiro Tomida, Daisuke Ohshima, Yuichi Hori, Satomi Adachi-Akahane

公表誌 : Investigative Ophthalmology & Visual Science

論文内容の要旨 :

【目的】

ドライアイによる慢性的な疼痛は「Ocular neuropathic pain」とも呼ばれ、アロディニアや過敏症を発症し、QOLを著しく低下させる。しかし、病態メカニズムに基づいた有効な治療法は確立されていない。慢性的なドライアイ患者が、角膜上皮障害が回復したにもかかわらず眼表面の痛みを呈したり、角膜過敏症やアロディニアを呈したりする場合、神経障害性疼痛が三叉神経や上部ニューロンのレベルで発症している可能性を考えた。神経障害性疼痛の分子メカニズムとして、動物実験の脊髄後角レベルの報告では、活性化したミクログリアやアストロサイトそして $\alpha_2\delta-1$ サブユニットのアップレギュレートが重要なメカニズムとされている。プレガバリンは、電位依存性カルシウムチャネル、興奮性アミノ酸トランスポーター、カリウムチャネル、N-methyl-D-aspartate 受容体、および炎症を抑制することにより、神経障害性疼痛の緩和に有効であると報告されている。しかし三叉神経における角膜由来の神経障害性疼痛の発症とプレガバリンの効果との関係については、詳細には解明されていない。そこで、本研究では、ドライアイによる前眼部の慢性疼痛の発症メカニズムを解明し、その病態に基づいた治療法を開発することを目的とした。

【方法】

6週齢の雄のSprague-Dawleyラットの左側の眼窩外涙腺と眼窩内涙腺を切除した。これをLGE側(涙腺摘出側)とし、反対側

を sham 手術により sham 側とした。術後疼痛管理はカルプロフェンにて行った。ドライアイモデルラットの表現型解析として、フェノールレッド綿糸法を用いて、涙液量を測定した。角膜過敏性を評価するために、5 分間あたりの瞬目回数を測定した。角膜疼痛過敏性を評価するために 5MNaCl 点眼により 3 分間あたりの Eye wipe time を計測した。角膜上皮障害を評価するために、フルオレセイン染色により評価を行った。解析する三叉神経節および核を、コレラ毒素トレーサーや Nissl 染色により同定した。免疫組織染色法により、神経細胞の活性化、ミクログリア、アストロサイト、抑制性介在ニューロン、 $\alpha_2\delta-1$ サブユニットの解析を行った。また、qRT-PCR 法により遺伝子レベルでの発現量の解析を行った。

末梢神経レベルでの治療、中枢神経レベルでの治療をターゲットとして、点眼・眼軟膏による角膜上皮障害治療および持続的プレガバリン治療を行い、各表現型および $\alpha_2\delta-1$ サブユニットの発現量とアストロサイトの活性化について解析を行った。

【結果】

ドライアイにより LGE 側において、涙液量の減少を認め、角膜上皮障害、感覚過敏、疼痛過敏が出現した。また、三叉神経核において、神経細胞が活性化し、ミクログリアの一過性の活性化、その後のアストロサイトの持続的な活性化を認めた。 $\alpha_2\delta-1$ サブユニットのアップレギュレーションの持続も認めた。また慢性的な経過により三叉神経核の抑制性介在ニューロンが減少した。角膜上皮障害の治療を行うと、感覚過敏は若干の改善を認めたが、疼痛過敏は改善しなかった。一方、持続的なプレガバリンの治療を追加して行うと、感覚過敏はより改善を認め、疼痛過敏も緩和された。形態解析を行うと、末梢神経治療を行った点眼治療群では、 $\alpha_2\delta-1$ サブユニットのアップレギュレーションもアストロサイトの活性化も変化がなかった。一方、持続的なプレガバリン治療を追加した群においては、 $\alpha_2\delta-1$ サブユニットの発現量とアストロサイトの活性化は sham 側と同等レベルまで改善を認めた。

【考察】

ドライアイにより角膜の感覚過敏と疼痛過敏は長期にわたって持続し、角膜上皮の損傷が局所治療によって治癒した後も残存したことから、中枢性感作や神経障害性疼痛の関与が示唆された。神経活性と $\alpha_2\delta-1$ サブユニットのアップレギュレーションの時間経過とプレガバリン感受性は、角膜痛覚過敏の結果と類似性があり、重要なメカニズムであることを示唆した。また、LGE 側の抑制性介在ニューロンの減少の結果は、疼痛抑制シグナルの減弱を示唆した。また、ミクログリアの一過性の活性化とアストロサイトの持続的な活性化は、脊髄後角レベルの報告と同様に、神経障害性疼痛の発症と維持に関与していることが考えられた。プレガバリン投与の結果は、NSAIDs がドライアイによる目の神経障害性疼痛に効果がないこと、ガバペンチノイドが治療効果を発揮することを示す報告を理論的に裏付けた。プレガバリン投与により、三叉神経節から三叉神経核の神経末端への $\alpha_2\delta-1$ サブユニットの産生・輸送が阻害されることで、三叉神経核の $\alpha_2\delta-1$ サブユニットタンパク量が正常化し、角膜神経やアストロサイトの活動が正常化することが考えられた。プレガバリンは、ドライアイによる慢性眼痛に対して、慢性痛が定着した後も有効であることを示し、実臨床への応用が期待される。本研究では、ドライアイによる慢性角膜痛の分子メカニズムの一部を明らかにし、その病態メカニズムに基づいたプレガバリン治療が有望な治療戦略であることを示した。

1. 学位審査の要旨および担当者

学位番号甲第 714 号	氏 名	鄭 有 人
学位審査担当者	主 査	前 野 貴 俊
	副 査	石 田 政 弘
	副 査	藤 岡 俊 樹
	副 査	南 木 敏 宏
	副 査	亀 田 秀 人

学位論文の審査結果の要旨 :

ドライアイによる角膜上皮障害が回復しても、慢性的な神経因性の眼痛を生じることがあり QOL を著しく低下させるが、その病態メカニズムに基づいた有効な治療法は確立されていない。この神経因性疼痛は、分子メカニズムとして $\alpha_2\delta-1$ サブユニットのアップレギュレートが重要とされている。プレガバリンは、電位依存性カルシウムチャネルおよび炎症などを抑制し神経因性疼痛の緩和に有効であると報告されているが、三叉神経由来の角膜における神経因性疼痛の効果については解明されていない。本研究では、ドライアイによる慢性疼痛の発症メカニズムを解明し、病態に基づいた治療法を開発することを目的とした。方法は6週齢の雄の Sprague-Dawley ラットの左側の眼窩内外涙腺を切除して摘出側 (LGE 側) とし、反対側を sham 側とした。検査項目は、フェノールレッド綿糸法を用いた涙液量、5 分間あたりの瞬目回数による角膜過敏性、5MNaCl 点眼刺激による角膜疼痛過敏性、フルオレセイン染色による角膜上皮障害、などの評価を行った。さらに組織学的には、蛍光標識コレラ毒素トレーサーを用いて角膜から延髄の三叉神経核を同定し免疫組織染色を行った。治療効果に関して、皮下に浸透圧ポンプを留置し 10mg/kg のプレガバリンを持続投与して生理食塩水投与症例と比較検討した。結果として、術後 1 週間から LGE 側では涙液量減少、知覚過敏、疼痛過敏、上皮障害を認めた。免疫組織染色により、LGE 側では術後 8 週において三叉神経核の活性化と $\alpha_2\delta-1$ サブユニット強度の増加を認めた。さらに三叉神経核の抑制介在ニューロンは術後 2 週目以降に減少を認めた。知覚過敏や痛覚過敏状態で一過性のミクログリアの活性化と持続的なアストロサイトの活性化を認めた。プレガバリン投与群では生理食塩水投与群よりも角膜過敏性がより改善し、疼痛過敏性も有意な改善を認めた。プレガバリン治療によって神経核の活性化、 $\alpha_2\delta-1$ サブユニット強度の増加、アストロサイトの活性化のすべてを抑制した。以上より、本研究ではドライアイによる慢性的な神経因性の眼痛発症メカニズムの一部を明確にして、プレガバリン投与が有効な治療法となる可能性を示唆した。

2022 年 1 月 25 日に行われた学位審査会において、申請者による研究要旨の発表の後に質疑応答がなされた。審査委員から、三叉神経核におけるアストロサイトの活性化と $\alpha_2\delta-1$ サブユニットのアップレギュレーションの発現における時間的相違、アストロサイトの活性化が神経因性疼痛に関与する作用機序、マイクログリアのサブタイプに関する検討の有無、角膜上皮の治療にヒアルロン酸を用いた根拠、sham 側での角膜上皮障害が 8 週目に増悪した理由、プレガバリン治療で角膜知覚低下など副作用の発現の可能性などに関して質問がなされた。これらの質問に対して、申請者から今後の検討課題も明確にしたが的確な回答があった。以上より、審査委員会は全会一致で申請者の論文は学位に値するものであると結論した。