

ドライアイによる神経障害性疼痛： 三叉神経節に着目した病態メカニズムの解明

鄭 有人, 三上義礼, 富田太一郎, 他

目的と背景

角膜や涙液の所見がほとんど正常であるにもかかわらず強い眼表面痛を訴える患者は日常診療においてもしばしば経験され、有効な治療法が少なく苦慮する場合が多い。このような症例における疼痛、あるいは点眼麻酔においても改善がみられない疼痛などにおいては神経障害性疼痛(neuropathic ocular pain)が関与していると考えられているが、その詳細な発生メカニズムは不明である。演者らは以前、ドライアイによって角膜に慢性的な疼痛刺激が加わると、三叉神経核において、アストロサイトの活性化、 $\alpha 2 \delta -1$ サブユニットの発現増加、抑制性介在ニューロンの減少などのメカニズムによって中枢性感作が惹起されることを報告しているが、その末梢側に存在する三叉神経節における慢性疼痛の発症メカニズムについては未知であった。三叉神経節のV1の免疫染色を行うと神経細胞の周囲を複数のサテライトグリア細胞が取り巻くように存在していることが確認され、演者らは三叉神経節においてカルシトニン遺伝子関連ペプチド(calcitonin gene-related peptide: CGRP)などの神経ペプチドや炎症性サイトカインなどを介した神経-グリア連関があるという仮説に基づき、ドライアイモデルラットの三叉神経節における神経ペプチド(CGRP)発現の解析を行った。なお、CGRPはカルシトニン遺伝子からスプライシングの違いによって産生され三叉神経節から放出されるペプチドであり、強力な血管弛緩作用があることが知られており、近年では偏頭痛の治療・再発予防のターゲットとして注目されている。

方法

8週齢の雌 Sprague-Dawley (SD) ラットを用いて、片眼の visual display terminals (VDT) 作業モデルを作成した。処置の8週後に患側と健側の三叉神経節を採取し、quantitative Real-Time (qRT)-PCRを用いてそれぞれに発現する標的遺伝子の mRNA 量について比較検討した。

結果

患側の三叉神経節では、健側の三叉神経節と比較して、神経活動の増加(c-Fosの増加)、神経ペプチドの増加(CGRPの増加)、サテライトグリア細胞の増加(SK3の増加)、炎症性サイトカインの増加(IL-1 β やTNF α の増加)がみられた。

考察

これらの結果から、ドライアイによって角膜に慢性的な疼痛刺激が与えられた場合、三叉神経節において、神経細胞から分泌された CGRP などの神経伝達物質がサテライトグリア細胞を活性化し、炎症性サイトカインによって神経細胞が活性化するというメカニズムにより、神経の過剰な活動が誘発されている可能性が考えられ、neuropathic ocular pain が惹起されるメカニズムの一部である可能性が考えられた。

展望

演者らは今後、これら神経ペプチドや炎症性サイトカインのタンパクレベルでの解析やさらなる実験を通して、これらを標的とした neuropathic ocular pain の治療法の開発を目標としている。



草田 夏樹 Natsuki Kusada
京都府立医科大学大学院医学研究科
視覚機能再生外科学
E-mail : nkusada9@koto.kpu-m.ac.jp

角膜上皮細胞の光照射の影響と細胞内 ATP 濃度

落合怜奈, 山本正道, 辻川元一

目的と背景

膠様滴状角膜ジストロフィー (GDLD) は角膜実質にアミロイドが沈着し、視力低下・羞明・眼痛などの症状を呈する常染色体劣性遺伝の進行性の角膜ジストロフィーである。光照射量が多い環境下で飼育した GDLD モデルマウスは疾患の進行が速いことが報告されており、また演者らの予備実験において、野生型においても光照射を行うことで角膜上皮細胞の増殖抑制がみられたことから、強くない光照射も角膜上皮細胞に何らかの影響を及ぼしている可能性が考えられた。

方 法

培養・凍結させた正常マウス角膜上皮細胞に、起眠した 3 日後に室内照明程度の光照射 (750 lux, 白色灯) を行い、①増殖能および細胞死の検討 (PI 染色による生死細胞数の定量)、②細胞死がアポトーシスによるものかどうかの検討 (光照射から 6 日目の細胞を対象に TUNEL 法によるアポトーシス陽性細胞の核を DAB 染色) を行った。また、蛍光バイオセンサーを導入したトランスジェニックマウス角膜上皮細胞を用いたアデノシン三リン酸 (ATP) イメージングを行い、角膜上皮細胞に光照射を行った場合のエネルギー代謝との関連について検討した。

結 果

総細胞数について、光照射下培養では、暗所下培養と比較して日を経るにつれ細胞数が減少、また生細胞の割合が

減少した。一方、暗所下培養では生細胞の割合に大きな変化はなかった。また、アポトーシス陽性細胞は暗所下培養よりも光照射下培養で多く観察された。ATP イメージングでは、暗所下培養では ATP 量は経日的な増加傾向がみられたが、光照射下培養では ATP 量は 3 日目以降増加しなかった。輝度に基づいて細胞内 ATP 量を定量すると、暗所下培養と光照射下培養の両方で 1 日目および 3 日目においては差がなかったが、6 日目、8 日目では有意な差があり、8 日目でより差が大きかった。

考 按

総細胞数およびアポトーシス陽性細胞数の検討結果から、光照射は角膜上皮細胞のアポトーシスを誘発し細胞死を引き起こすと考えられた。また光照射後の 6 日目以降に ATP 量に有意差がみられ、アポトーシスによる細胞死もその段階で起こっている結果であったが、ATP の絶対量をみると 1 日目に比べて 6 日目および 8 日目で増加していることから、ATP 代謝の変化が細胞死のトリガーとなっている可能性は低いと考えられた。

結 語

光照射は角膜上皮細胞のアポトーシスを誘発し細胞死を引き起こすこと、光照射により角膜上皮細胞の ATP 量の増加が阻害されることが示された。