

5-アミノレブリン酸のぶどう膜炎治療効果

:イヌのぶどう膜炎への臨床応用にむけた基礎研究

大高 裕也

[背景]

ぶどう膜炎は眼内における炎症性疾患の総称であり、イヌとヒトにおいて失明の主要な原因である。ぶどう膜炎の原因は、感染性、免疫介在性、外傷性、特発性など多岐にわたるが、共通の病態として、血液房水関門 (BAB) の破綻が挙げられる。BAB は、虹彩毛様体 (ICB) における細胞間の接着分子からなり、血液から眼房水への物質侵入を制御する。BAB 破綻は過剰産生されたプロスタグランジン(PG)E2 や腫瘍壊死因子 (TNF)- α 、インターロイキン(IL)-6、一酸化窒素 (NO)などの炎症性メディエーターにより生じる。ぶどう膜炎治療は、原因療法が必要であるが、イヌのぶどう膜炎は原因不明の特発性が最も多く、対症療法として抗炎症薬 (コルチコステロイド、非ステロイド性抗炎症薬)が一般的に使用される。これらの治療薬は副作用や使用制限の問題があり、安全で広範なぶどう膜炎に有効な新規治療薬の開発が求められている。近年、獣医療において 5-アミノレブリン酸 (ALA) が注目を集め、イヌで悪性腫瘍の診断や脂質代謝異常症への有効性が報告されている。ALA は炎症性メディエーター抑制による抗炎症効果が報告されているが、眼疾患における効果は未解明である。そこで、本研究は ALA がぶどう膜炎新規治療薬として有用であるか検討することを目的とした。

[方法・結果]

(第1章)

エンドトキシン誘発ぶどう膜炎 (EIU)ラットは、ぶどう膜炎の研究で頻繁に使用される急性前部ぶどう膜炎モデルである。EIU ラットはリポ多糖 (LPS)接種 1-2 時間後から炎症性メディエーターが上昇し、4 時間後に BAB が破綻し、24 時間後に炎症がピークとなる。第1章では EIU ラットに対する ALA 経口投与の抗炎症効果を検討した。Sprague-Dawley ラットに LPS を皮下注射して EIU を誘発した。LPS 接種直後に ALA (1、10、100 mg/kg)を経口投与した。炎症ピークとされる LPS 接種 24 時間後、ALA 100 mg/kg は臨床スコア、眼房水中の浸潤細胞数と蛋白濃度、PGE2、TNF- α 、IL-6、NO 濃度を抑制し、病理組織学的スコアを改善した。ALA 100mg/kg の抗炎症効果はプレドニゾロン 1 mg/kg と同等であった。

(第2章)

ALA の代謝は、クエン酸第一鉄ナトリウム(SFC)併用によって、より効率的に行われる。BAB 破綻に関連する炎症性メディエーター産生には NF- κ B 経路と Nrf2/HO-1 経路が関

連している。第2章ではEIUラットに対するALA/SFC経口投与の抗炎症効果とその作用機序を検討した。LPS接種直後にALA/SFC 10/15.7 mg/kgを経口投与した。LPS接種24時間後、ALA/SFCは臨床スコア、眼房水中の浸潤細胞数と蛋白濃度、各種炎症性メディエーター濃度を抑制し、病理組織学的スコアを改善した。ALA/SFCの抗炎症効果はプレドニゾロン 1 mg/kg と同等であった。LPS接種3時間後、ICBにおいてNF- κ B経路抑制とNrf2/HO-1経路の活性化が観察された。以上より、ALA/SFC経口投与における抗炎症効果とその機序の一部を解明した。

(第3章)

臨床において、ぶどう膜炎の症例には治療的投与が必要となる。それゆえ、第3章ではEIUラットに対するALA/SFC経口投与による治療効果を検討した。ALA/SFC 100/157 mg/kgは、BABが破綻するLPS接種4時間後に経口投与した。ALA/SFC 100/157 mg/kgは、LPS接種24時間後における眼房水中の浸潤細胞数と蛋白濃度、各種炎症性メディエーター濃度を抑制し、これらの効果はプレドニゾロン 10 mg/kg と同等であった。以上より、ALA/SFCのぶどう膜炎治療における有用性を証明し。

(第4章)

ぶどう膜炎の炎症制御は一般的に、点眼薬が使用される。ALAは水溶性であり、疎水性の角膜上皮を透過しにくい課題がある。そこで薬物送達システム(DDS)を応用したナノ水酸化マグネシウム〔Nano Mg(OH)₂: nMH〕含有のALA点眼液(ALA-nMH)を共同研究者に作製依頼した。第4章では、EIUラットにおけるALA-nMHの抗炎症効果とその作用機序を検討した。ALA-nMHは、LPS接種1時間前、接種直後、接種1、2時間後の計4回点眼した。LPS接種24時間後、5%ALA-nMHは眼房水中の浸潤細胞数と蛋白質濃度、各種炎症性メディエーター濃度を抑制し、5%ALA-nMHによる効果は0.1%デキサメサゾン点眼液と同等であった。また、LPS接種3時間後のICBにおいて、NF- κ B経路抑制とNrf2/HO-1経路活性化が観察された。以上より、ALA-nMHの有用性が初めて明らかとなった。

(第5章)

一過性のBAB破綻は、イヌにおいて、前房穿刺(ACP)により誘発される。BAB破綻のピークはACP60分後であり、BAB破綻に関与するメディエーターとしてPGE2のみ検出可能である。第5章では、ALAのイヌにおけるBAB破綻抑制効果を検証した。BAB破綻は、ビーグル犬に対して27G注射針を用いたACP後の眼房水吸引により誘発された。ALA/SFC (1/0.64、3/1.92 mg/kg)をACP実施7日前から1日1回、計7回経口投与した。その結果、ALA/SFC 3/1.92 mg/kgは、ACP60分後における眼房水中の蛋白質濃度とPGE2濃度を抑制し、カルプロフェン 4 mg/kg と同等であった。以上より、ALA/SFC経口投与がイヌにおいてBAB破綻を抑制することを明らかにした。次に、ALA-nMHをACP直後、15、

30、45 分後の計 4 回点眼した。ALA-nMH は、ACP60 分後における眼房水中の蛋白質濃度と PGE2 濃度を抑制し、0.1 %デキサメサゾン点眼液と同等であった。以上より、ALA-nMH がイヌにおいて BAB 破綻を早期に抑制することを明らかにした。

[考察・結論]

第 1 章より、ALA 経口投与が炎症性メディエーターを抑制し、EIU ラットに対して抗炎症効果を示すことを初めて明らかにした。そこで第 2 章では、ALA の有用性を高めるために ALA/SFC の抗炎症効果を検証し、ALA/SFC の有用性と抗炎症機序の一部を解明した。第 3 章では EIU ラットにおける ALA/SFC 経口投与の治療効果を検証し、ALA/SFC の治療効果を明らかにした。第 4 章では、DDS を応用した ALA-nMH における抗炎症効果と作用機序を検証し、ALA-nMH により抗炎症効果を示すことを明らかにし、作用機序の一部を解明した。第 5 章では、イヌ ACP モデルを用いて、ALA/SFC 経口投与と ALA-nMH による BAB 破綻抑制作用について検証した。その結果、ALA/SFC 経口投与は予防的に BAB 破綻を抑制すること、ALA-nMH が BAB 破綻を早期に抑制することを明らかにした。本学位論文は ALA がぶどう膜炎の BAB 破綻を抑制することを明らかにし、イヌのぶどう膜炎において新規治療薬となる可能性を示唆するものである。