

5-アミノレブリン酸のぶどう膜炎治療効果：犬のぶどう膜炎への臨床
応用にむけた基礎研究

Therapeutic effect of 5-aminolevulinic acid in uveitis: basic
research for clinical application in uveitis of dogs.

獣医内科学 大高 裕也

ぶどう膜炎は眼内における炎症性疾患の総称であり、イヌと人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 (Blood aqueous barrier: BAB)破綻が挙げられる。BABは、虹彩毛様体領域 (Iris-ciliary body: ICB)における細胞間の接着分子からなり、血液から眼房水 (Aqueous humor: AH)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。しかし、イヌにおいてぶどう膜炎の原因は特発性が最も多く、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 (5-Aminolevulinic acid: 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。

1. 実験的ぶどう膜炎誘発ラットにおける ALA 経口投与の抗炎症効果

エンドトキシン誘発ぶどう膜炎 (Endotoxin-induced uveitis: 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、AH 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。以上より、ALA 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 (*Vet Sci.* 2023)。

2. EIU ラットにおける ALA とクエン酸第一鉄ナトリウム (Sodium ferrous citrate: SFC)経口投与の抗炎症効果と作用機序

ALA の代謝は、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 と SFC (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、AH 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 (*Int J Mol Sci.* 2023)。

3. EIU ラットにおける ALA/SFC 経口投与の治療効果

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 AH 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た (*Int J Mol Sci.* 2023)。

4. EIU ラットにおけるナノ水酸化マグネシウム含有 ALA 点眼薬の抗炎症効果と作用機序

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、ALA-nMH は AH 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。

5. イヌにおける ALA/SFC 経口投与または ALA-nMH の BAB 破綻抑制効果

一過性の BAB 破綻は、イヌにおいて、前房穿刺 (Anterior chamber paracentesis: ACP) 後の AH 吸引により誘発される。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 AH 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 3/1.92mg/kg は、ACP60 分後における AH 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 (*J Vet Med Sci.* 2023)。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 AH 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。

本研究は 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。