

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 25 日現在

機関番号：24701

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009 ～ 2011

課題番号：21592241

研究課題名（和文）難治性神経麻痺性角膜症及びアルカリ外傷に対する TRP チャンネルを介した治療法開発

研究課題名（英文）Development of the new treatment strategy through the TRP channel to severe neurotrophic keratopathy and alkali burn in cornea

研究代表者 岡田 由香 (OKADA YUKA)

和歌山県立医科大学・医学部・講師

研究者番号：50264891

研究成果の概要（和文）：TRP チャンネルを阻害することで、アルカリ外傷後の角膜の炎症、混濁癍痕化を抑制することが確認された。TRP ノックアウトマウスでのアルカリ外傷後の結果が、ワイルドタイプマウスに TRP チャンネルの阻害剤を投与することでも再現できたことから、TRP チャンネルをコントロールすることで、難知性角膜疾患である神経麻痺性角膜症やアルカリ外傷の治療につながる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：Absence or blocking TRP channels suppressed inflammation and fibrosis/scarring during healing of alkali-burned cornea. Systemic TRP channel antagonists reproduced the KO-type of healing. In conclusion, absence or blocking of TRPV1 suppressed inflammation and fibrosis/scarring during healing of severe neurotrophic keratopathy and alkali burn in cornea.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
年度			
2009 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2010 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011 年度	900,000	270,000	1,170,000
総計			

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・眼科

キーワード：角膜、創傷治癒、TRP チャンネル

1. 研究開始当初の背景

角膜は眼表面の組織で、外傷を受ける機会が多いが一方で治癒も早いことが多い。しかし、神経麻痺性角膜症の遷延性上皮欠損やアルカリ外傷など治療が困難な症例があり、角膜の創傷治癒のメカニズムを解明する必要が

ある。

2. 研究の目的

角膜は眼表面の組織で、その透明性と形状の維持は良好な視力の維持に必須である。眼表面に位置する事から外傷を受けやすい。また、

角膜は三叉神経系の支配を受けている。痛覚の維持が角膜組織の恒常性維持に重要であることは、三叉神経障害による神経麻痺性角膜症での遷延性上皮欠損から理解できる。本研究では、視力の維持にとって重要な角膜の創傷治癒プロセスの障害による難治性角膜障害として(1)神経麻痺性角膜障害と(2)角膜アルカリ外傷、に焦点を絞り、それらの新規の治療法の確立を目指す。角膜での TRP チャンネルの、創傷治癒、炎症、疼痛への影響を検討することで、神経麻痺性角膜症やアルカリ外傷の治療の手がかりとなることが期待される。

3. 研究の方法

(1) 野生種マウス(WT)及び TRPV1, TRPA1, TRPV4 ノックアウトマウス(KO)に、アルカリ外傷を作製し、角膜混濁の状態や上皮欠損の治癒速度などを検討した。

(2) 角膜由来の細胞と炎症細胞(主にマクロファージ)のどちらが TRPV1 KO の創傷治癒炎症への関与に重要であるかを検討するため、骨髄移植の実験を行う。TRPV1, TRPV4, TRPA1 KO、WT それぞれに放射線照射後骨髄移植を行い、創傷治癒、炎症への関与を検討する。TRPV1 KO、WT それぞれの脛骨と大腿骨から骨髄を採取する。TRPV1, TRPV4, TRPA1 KO、WT それぞれに骨髄移植の1日前に12yの放射線を照射する。WTの骨髄をTRPV1 KOに、TRPV1, TRPV4, TRPA1 KOの骨髄をTRPV1 KOおよびWTに移植する。骨髄移植の3週間後に角膜アルカリ外傷を作製し、観察した。

(3) WTにTRPV1, TRPA1, TRPV4の阻害薬を投与することでアルカリ外傷後の角膜創傷治癒に影響を及ぼすかに着いても検討した。

(4) マウスの三叉神経障害し神経麻痺性角膜症の動物モデルを作製する。方法としては既存の報告にあるように、三叉神経をジアテルミー凝固破壊する。三叉神経障害神経麻痺性角膜症の動物モデルに上皮欠損を作成し、角膜混濁の状態や上皮欠損の治癒速度などを検討する。

4. 研究成果

(1) TRPV1, TRPA1, TRPV4 KOはWTに比べアルカリ外傷後の角膜混濁や炎症反応が軽微であった。

(2) 角膜由来の細胞と、骨髄由来の細胞のどちらがTRPV1, TRPV4 KOの創傷治癒炎症への関与に重要であるかを検討するため、骨髄移植の実験を行った。TRPV1, TRPV4, TRPA1 KO、WT それぞれに放射線照射後骨髄移植を行った結果、角膜由来の細胞がアルカリ外傷後の角膜混濁、炎症反応に影響を与えていた。

(3) WTにTRPV1, TRPA1, TRPV4それぞれの阻害薬を投与することで、アルカリ外傷後の角膜混濁、炎症反応を軽減できた。

(4) マウスの三叉神経1枝をジアテルミー凝固することで、神経麻痺性角膜症モデルを作製した。凝固パワーを変えることで、軽症及び重症モデルの作製が可能になった。重症モデルは早期から角膜混濁や炎症を来した。軽症モデルは、角膜混濁等は認められなかったが、角膜知覚低下と、上皮欠損の治癒遅延を認めた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1件)

1. Okada Y, Reinach PS, Shirai K, Kitano A, Kao WW, Flanders KC, Miyajima M, Liu H, Zhang J, Saika S. TRPV1 involvement in inflammatory tissue fibrosis in mice. Am J Pathol. 2011;178(6):2654-64.

〔学会発表〕（計 8 件）

1. Okada Y, Reinach P, Shirai K, Kitano A, Saika S. TRP receptors and corneal inflammation. Gordon Reserch Conferences. 2012.3. Ventura. USA.

2. Okada Y, Reinach P, Shirai S, Kitano A, Miyajima M, Saika S. Effects of loss of TRPV4 on the inflammation and scarring of an alkali-burned cornea in mice. ARVO 2011.5. Ft.lauderdale USA.

3. Okada Y, Reinach P, Shirai K, Kitano A, Miyajima M, Kao WW, Saika S. Thermosensitive ion channel receptors and corneal inflammation. 2010 Korea-Japan Joint Cornea Conference. 2010. 12. Kyoto.

4. Okada Y, Reinach P, Shirai K, Kitano A, Miyajima M, Kao WW, Saika S. TRPV4 gene ablation in mice improves corneal wound healing response to injury. The 2nd Asia Cornea Society Biennial Scientific Meeting. 2010. 12. Kyoto

5. Okada Y, Reonach P, Shirai K, Kitano A, Miyajima M, Kao WW, Saika S. Modulation of inflammation in corneal stroma by ion channel signaling. ICER 2010.7. Montreal Canada.

6. Okada Y, Reinach P, Shirai K, Kitano A,

Miyajima M, Saika S. TRPA1 gene ablation in mice improves corneal wound healing response to injury. ARVO 2010.5. Ft.lauderdale USA.

7. Okada Y, Saika S, Shirai, K, Kitano A, Miyajima M, Kao WW, Reinach P. Loss of mouse TRPV1 function improves corneal wound healing response to alkali-burn injury. Gordon Reserch Conferences. 2010.3. Ventura. USA.

8. Okada Y, Saika S, Shirai K, Kitano A, Miyajima M, Reinach P. Effects of loss of TRPV1 on the inflammation after an alkali-burned cornea in mice. ARVO 2009.5. Ft.lauderdale USA.

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況（計◇件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織
(1) 研究代表者

岡田 由香 (Yuka Okada)
和歌山県立医科大学・医学部・講師
研究者番号：50254891

(2) 研究分担者

雑賀 司珠也 (Shizuya Saika)
和歌山県立医科大学・医学部・教授
研究者番号：40254544

(3) 連携研究者

()

研究者番号：