

令和 4 年 5 月 31 日現在

機関番号：33303

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K18895

研究課題名(和文)ドライアイの自覚症状と延髄および頸髄におけるシナプス伝達異常の関連性

研究課題名(英文) Symptoms of dry eyes and synaptic dysfunction in the medulla and the cervical cord

研究代表者

中野 克哉 (NAKANO, Katsuya)

金沢医科大学・医学部・研究員

研究者番号：50835527

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：ドライアイは、目の乾燥感・不快感、疲れ、視覚障害など様々な自覚症状を引き起こす慢性疾患であり、その自覚症状は生活の質を著しく低下させる。近年、ドライアイ患者の中には中枢性の神経ネットワークの異常により自覚症状が誘発されていることを示唆する報告がされている。本研究では、涙腺を摘出したドライアイモデルマウスを用いて角膜神経とシナプスを形成する延髄または頸髄の三叉神経脊髄路核中間/尾側垂核の境界領域における変化を解析し、グリア細胞の活性化や炎症性分子の増加をとらえることができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ドライアイにおける自覚症状の異常を引き起こすメカニズムのひとつとして、三叉神経脊髄路核の炎症による異常が関与している可能性を示すことができた。

研究成果の概要(英文)：Dry eye is chronic ocular disease showing many symptoms like ocular dryness sensation, pain, fatigue and visual disturbance. A part of the symptoms in some patients are recently reported to involve the dysfunction of central nervous system. In present study, we showed that chronic ocular dryness changes expression of glial markers and inflammatory molecules in mouse spinal trigeminal nucleus.

研究分野：神経科学

キーワード：ドライアイ 三叉神経脊髄路核 GFAP

1. 研究開始当初の背景

ドライアイは、目の乾燥感・不快感、疲れ、視覚障害など様々な自覚症状を引き起こす慢性疾患であり、その自覚症状は生活の質(QOL)を著しく低下させることが知られている。これまでのドライアイ治療では角膜上皮障害や涙液層破壊など眼表面の客観的症候を改善することに焦点を当てられてきたが、近年、眼表面の異常と自覚症状(乾燥感・不快感)の間に相関がみられない症例も数多く報告されており、現在の治療法には限界が生じている。したがって、自覚症状の発生メカニズムを解明し、直接自覚症状を抑える治療薬の開発が望まれている。

ドライアイ患者の中には中枢性の神経ネットワークの異常により自覚症状が誘発されていることを示唆する報告がされている。すなわち、角膜神経の知覚情報は、三叉神経節を通り延髄の三叉神経脊髄路核または頸髄 C1 領域に投射され中枢へと伝えられるが、この領域におけるシナプス伝達に変化し、眼不快感の伝達に異常をきたしている可能性がある。

2. 研究の目的

本研究では、ドライアイモデルマウスにおいて角膜神経とシナプスを形成する延髄または頸髄神経のシナプス応答がいつ頃どのように変化しているか明らかにし、中枢性感覚異常を引き起こす時期とその神経科学的变化を明らかにする研究を実施した。

3. 研究の方法

ドライアイモデルマウスにおいて、角膜神経とシナプスを形成する延髄または頸髄神経のシナプス応答がいつ頃どのように変化しているか明らかにした。具体的には、神経因性疼痛や炎症性疼痛などの神経疾患において観察される脊髄のシナプス伝達の異常は、ミクログリアやアストロサイトの活性化を伴っていることが多い。したがって、グリア細胞マーカーを用いて延髄または頸髄におけるマーカー分子の変動をウエスタンブロッティングにより定量し、その後変化が見られたタイミングの組織標本をつくり免疫染色した。これにより、涙腺摘出後に延髄または頸髄におけるグリアの活性化がいつ頃の領域で起きているか明らかにした。

4. 研究成果

マウスの眼窩外涙腺を摘出してドライアイモデル動物を作製して、グリア細胞マーカーや炎症性分子の発現が、脳内でいつ頃から変化するか明らかにする実験を行った。眼窩外涙腺を摘出すると顕著な涙液分泌の減少が引き起こされ、フルオレセイン染色において顕著な角膜上皮障害が検出された。次に術後2-12週の動物を深麻酔の下三叉神経脊髄路核を含むように脳幹を冠状断で摘出し、ウエスタンブロッティングで活性化ミクログリアのマーカー(Iba1)および活性化アストロサイトのマーカー(GFAP)ならびに炎症性分子(HMGB1)の変化を調べた。その結果、6週目に一過性のGFAP発現の上昇がみられ、12週目にHMGB1が増加することを明らかにすることができた。さらに、モデルマウスの脳スライスを用いた免疫組織染色を行った。三叉神経脊髄路核中間/尾側亜核の境界領域においてGFAPの発現増加(図1)やIba1陽性細胞の形態変化をとらえることができた。また、この部位において神経

活性化の指標であるc-fos発現を解析したところ、モデル動物でc-fos陽性細胞の数が顕著に増加していた。したがって、慢性的な涙液欠乏状態では角膜に内在する一時求心性神経がシナプスを作る三叉神経脊髄路核において、神経入力が増加しており、炎症性的変化が起きている可能性を示すことができた。

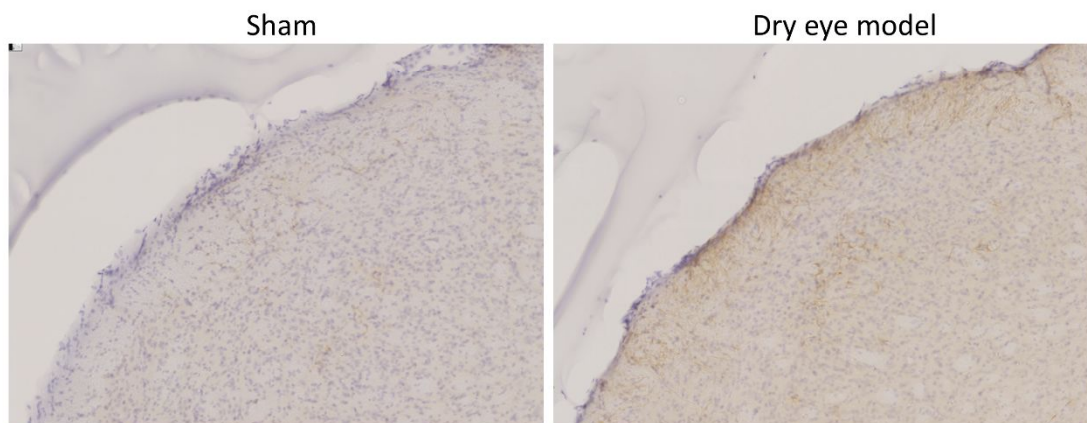
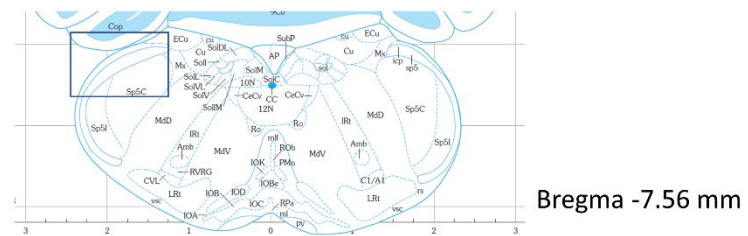


図1 抗GFAP抗体による免疫染色
褐色がGFAP陽性細胞。ドライアイモデルマウスにおいて三叉神経脊髄路ならびに三叉神経脊髄路核でGFAP陽性細胞が増加していた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Masuoka Takayoshi, Yamashita Yuka, Nakano Katsuya, Takechi Kenshi, Niimura Takahiro, Tawa Masashi, He Qiang, Ishizawa Keisuke, Ishibashi Takaharu	4. 巻 14
2. 論文標題 Chronic Tear Deficiency Sensitizes Transient Receptor Potential Vanilloid 1-Mediated Responses in Corneal Sensory Nerves	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Cellular Neuroscience	6. 最初と最後の頁 598678
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fncel.2020.598678	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Masuoka Takayoshi, Yamashita Yuka, Yoshida Junko, Nakano Katsuya, Tawa Masashi, Nishio Matomo, Ishibashi Takaharu	4. 巻 177
2. 論文標題 Sensitization of glutamate receptor mediated pain behaviour via nerve growth factor dependent phosphorylation of transient receptor potential V1 under inflammatory conditions	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 British Journal of Pharmacology	6. 最初と最後の頁 4223 ~ 4241
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/bph.15176	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Masashi Tawa, Yuka Yamashita, Takayoshi Masuoka, Katsuya Nakano, Junko Yoshida, Matomo Nishio, Takaharu Ishibashi	4. 巻 140(1)
2. 論文標題 Responsiveness of rat aorta and pulmonary artery to cGMP generators in the presence of thiol or heme oxidant.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Pharmacological Sciences	6. 最初と最後の頁 43-47
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jphs.2019.04.002	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Masashi Tawa, Takeshi Kinoshita, Takayoshi Masuoka, Yuka Yamashita, Katsuya Nakano, Matomo Nishio, Tomio Okamura, Takaharu Ishibashi	4. 巻 43
2. 論文標題 Impact of cigarette smoking on nitric oxide-sensitive and nitric oxide-insensitive soluble guanylate cyclase-mediated vascular tone regulation.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Hypertension Research	6. 最初と最後の頁 178-185
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41440-019-0363-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Masashi Tawa, Takayoshi Masuoka, Yuka Yamashita, Katsuya Nakano, Takaharu Ishibashi	4. 巻 33(4)
2. 論文標題 Effect of Betanin, a Beetroot Component, on Vascular Tone in Isolated Porcine Arteries	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 American Journal of Hypertension	6. 最初と最後の頁 305-309
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/ajh/hpaa006.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 益岡尚由、中野克哉、何強、中澤瞳、清井武志、宇和田淳介
2. 発表標題 涙腺摘出による慢性的眼乾燥状態はうつ様行動を誘発する。
3. 学会等名 第95回日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 益岡尚由、何強、中野克哉、清井武志、石橋隆治
2. 発表標題 ニコチン受容体による角膜感覚神経の制御
3. 学会等名 日本眼薬理学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田和 正志、益岡 尚由、中野 克哉、岡村 富夫、石橋 隆治
2. 発表標題 アテロームを有する冠動脈におけるNO感受性および非感受性sGCを介する血管緊張調節
3. 学会等名 第73回日本酸化ストレス学会・第20回日本NO学会合同学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 田和 正志、中野 克哉、何 強、益岡 尚由、石橋 隆治
2. 発表標題 マイコプラズマ肺炎感染ブタにおける冠動脈内皮機能
3. 学会等名 第30回日本循環薬理学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 益岡尚由, 山下優香, 中野克哉, 田和正志, 西尾眞友, 石橋隆治
2. 発表標題 ドライアイモデル動物におけるTRPV1を介した角膜神経応答の感作
3. 学会等名 第39回日本眼薬理学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田和 正志、益岡 尚由、山下 優香、中野 克哉、西尾 眞友、岡村 富夫、石橋 隆治
2. 発表標題 高コレステロール食負荷ウサギの冠動脈における可溶性グアニル酸シクラーゼ酸化還元状態
3. 学会等名 第29回日本循環薬理学会・第55回高血圧関連疾患モデル学会合同学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田和 正志、木下 武、益岡 尚由、山下 優香、中野 克哉、西尾 眞友、岡村 富夫、石橋 隆治
2. 発表標題 喫煙者における一酸化窒素非感受性可溶性グアニル酸シクラーゼを介する血管弛緩
3. 学会等名 第93回日本薬理学会年会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------