

論文内容の要旨

Trimebutine Prevents Corneal Inflammation in a Rat Alkali Burn Model.

トリメブチン点眼はラット角膜アルカリ熱傷モデルにおいて炎症を抑制する

日本医科大学大学院医学研究科 眼科学 分野

大学院生 後藤 均

Scientific Reports 14: 12111, 2024 掲載, 2024年5月27日 公開

【背景】

角膜アルカリ熱傷では、重篤な炎症や新生血管により角膜が混濁し、視機能が損なわれる。

High mobility group box-1(HMGB1)は炎症や免疫反応、創傷治癒に関与するダメージ関連分子パターンであり、眼疾患の治療標的となり得ることが近年注目されている。既存の消化器潰瘍治療薬であるトリメブチンマレイン酸（トリメブチン）は、HMGB1 - receptor for advanced glycation end products, RAGEシグナル伝達経路を阻害するが、眼科領域で検討された報告はない。本研究では、トリメブチン点眼液を作成し、ラット角膜アルカリ熱傷モデルを用いてその安全性および創傷治癒効果を検証した。

【方法】

角膜アルカリ熱傷を作成後のラット（n=8）角膜に、トリメブチン点眼液または基剤点眼液を各エンドポイント（1日、4日、7日）まで1日2回点眼を行った。トリメブチン点眼液は、トリメブチンマレイン酸を基剤点眼液に溶解し作成した。エンドポイント到達時のラットをサクリフェイスし、トリメブチン点眼液使用群と非使用群を比較した。マクロ像で角膜混濁の程度を比較し、Hematoxylin-eosin (HE), 好中球 (Myeloperoxidase: MPO), 汎マクロファージ (E-cadherin: ED1), HMGB1, RAGE, Nestin, alpha-smooth muscle actin(α SMA), III型コラーゲンの免疫染色を行い病理学的に比較した。また、逆転写ポリメラーゼ連鎖反応(reverse transcription PCR: RT-PCR)を行い分子生物学的に比較した。

【結果】

トリメブチン点眼液使用群は、非使用群と比較し角膜の混濁が軽度であった。HE染色における炎症細胞の浸潤は、各エンドポイントにおいてトリメブチン点眼液使用群では減少した。好中球の浸潤をMPO染色で評価した。トリメブチン点眼液使用群は、7日目に好中球の浸潤が有意に減少した。汎マクロファージの浸潤をED1染色で評価した。トリメブチン点眼液使用群は、1日目と4日目で汎マクロファージの浸潤が有意に減少した。HMGB1とRAGEの角膜創傷治癒への関与を検証するため、正常角膜と各エンドポイントでHMGB1、RAGEの染色を行った。HMGB1とRAGEは正常角膜では共に角膜上皮層に発現していた。角膜アルカリ熱

傷作成後では、角膜実質層に HMGB1 と RAGE が広範に発現していた。両陽性細胞は 4 日目にピークがあった。トリメブチン点眼液使用群では角膜実質層の HMGB1, RAGE 陽性細胞数が減少した。HMGB1 陽性細胞は 4 日目と 7 日目に、RAGE 陽性細胞は 4 日目に有意に減少した。トリメブチン点眼液による新生血管の抑制効果を調べるため、Nestin の免疫染色を行った。アルカリ熱傷後 4 日目から、Nestin 陽性内皮細胞の発現が観察された。トリメブチン点眼液使用群は、4 日目と 7 日目にネスチン陽性内皮細胞が減少した。角膜創傷治癒過程における角膜実質層の線維性変化を調べるため、 α SMA と III 型コラーゲンの免疫染色を行った。アルカリ熱傷後 7 日目に、 α SMA 陽性筋線維芽細胞と III 型コラーゲンの集積が検出され、トリメブチン点眼液使用群は、両者の集積が減少した。RT-PCR では、IL-1 β の mRNA 発現レベルがトリメブチン点眼液群では 4 日目に有意に減少した。TNF- α , IL-6, CCL2 の発現に有意差はなかった。正常角膜に対するトリメブチン点眼液の角膜への傷害性について検討した。病理学的に傷害性は示さなかった。

【結論】

今回、傷害を受けた角膜の急性炎症、血管新生、治療メカニズムの研究に広く用いられているラット角膜アルカリ熱傷モデルを用いて、HMGB1-RAGE シグナル伝達経路の阻害効果を検証した。鎮痙剤として使用されているトリメブチンは、同経路を阻害し得ることが示唆され、点眼液として使用可能であった。本研究にはいくつかの限界がある。病理学的解析により、炎症細胞とメディエーターの時間的变化、その後の癒痕形成に対する影響が示され、治療効果は明らかであったが、その分子メカニズムは解明されていない。複雑な HMGB1-RAGE シグナル伝達経路がトリメブチン点眼液によって影響を受ける分子機序や、両者を発現する細胞型については、詳細な研究を行っていない。今後、トリメブチンによって阻害されると報告されている NF- κ B などのシグナル伝達分子を含めた多角的な評価が必要である。結論として、本研究の結果は、トリメブチン点眼液の投与がアルカリ熱傷後の角膜の炎症、血管新生、線維化を抑制することを示唆している。