

主 論 文 要 旨

報告番号	甲 ㊦ 第	号	氏 名	園 部 秀 樹
主 論 文 題 名 A novel and innovative paper-based analytical device for assessing tear lactoferrin of dry eye patients (ドライアイ患者の涙液中ラクトフェリンを評価するための新規かつ革新的な紙ベースの分析装置)				
(内 容 の 要 旨) 新規マイクロ流体紙ベースの分析装置 (microfluidic paper-based analytical device : μ PAD) およびenzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) を用いて、涙液中のラクトフェリン濃度と重症ドライアイ (dry eye disease : DED) の所見および症状との相関を解析した。 背景として涙液層は、異物や微生物の侵入から眼表面を保護し、視力を維持することにより、角膜および結膜の恒常性を維持するために不可欠な役割を果たす。ラクトフェリンは、涙腺から分泌される蛋白質であり、殺菌性、抗腫瘍性、抗真菌効果、免疫調節特性を示し、眼表面の健全性と恒常性を維持する役割がある。ラクトフェリンを含む涙液中蛋白質の分析は、様々なタイプの眼表面疾患を診断するための重要なツールであり、多くの研究が、DEDにおけるラクトフェリン蛋白質濃度の関係を評価している。それらが臨床診療に適用される際に様々な障壁がある。手技の煩雑さ、検査時間の長さ、ランニングコストなどである。本研究では、涙液中のラクトフェリンに着目し、新規の紙ベースのマイクロ流体デバイスを開発した。このデバイスの特筆すべき点は、涙液をマイクロ流体試験紙に滴下することで、涙液中のラクトフェリン濃度を定量できる点である。本デバイスでは、ラクトフェリンと結合して蛍光を放つ性質があるテルビウムを利用し、デバイス上の蛍光シグナルを濃度として測定できる。 慶應義塾大学病院ドライアイ外来で2014年6月から2017年5月に来院し、同意を得た25人の患者を対象とした。 μ PADの機能評価のため、移植片対宿主病 (graft-versus-host disease : GVHD) 関連DED患者4人、他のタイプのDED患者3人、2人の対照群 (グループA) に対して、 μ PADおよびELISA法を用いてラクトフェリン濃度を測定した。また、ELISAによる検証のために、GVHD関連DED患者9人、他のタイプのDED患者6人、対照群7人を含む22人の患者を調べた (グループB)。DED解析はD'Agostino'sの K^2 検定を用いて、データの正規分布の逸脱を評価した。データ間の差異を比較するために、Spearmanの順位相関係数を使用した。2点間のデータの差異を比較するために、Student's-t検定を使用した。 結果は μ PADによる測定ではドライアイ患者の涙液中のラクトフェリン濃度は正の相関を示した。GVHD患者の涙液は、ラクトフェリンの濃度が極めて低いかまたは検出されなかった。さらに、ELISA法による分析は、GVHD患者由来の涙液膜中のラクトフェリン濃度が非GVHD患者由来のラクトフェリン濃度よりも有意に低かった。 ($p=0.002$, $r=0.885$)。 GVHDを含む重症DED患者および対照群の涙液中のラクトフェリン濃度を測定し、従来のELISA法と比較検討し高い相関性を見出した。また、涙液中のラクトフェリン濃度を測定することにより、GVHD関連DEDとDEDなしの非GVHDの違いを識別することができた。 新規の μ PADはELISA法よりも技術的に簡便でかつ安価であり、実臨床つまり外来中での応用が可能であると考えられる。また、重症DED発症の初期段階で疾患の予測および診断をするための新しい検査手法となりうる。				