

博士學位論文

内容の要旨及び審査結果の要旨

第48号

2021年3月

京都産業大学

は し が き

本号は、学位規則（昭和28年4月1日文部省令第9号）第8条の規定による公表を目的とし、令和3年3月21日に本学において博士の学位を授与した者の論文内容の要旨及び論文審査結果の要旨を収録したものである。

学位番号に付した甲は学位規則第4条第1項によるもの（いわゆる課程博士）であり、乙は同条第2項によるもの（いわゆる論文博士）である。

目 次

課程博士

1. イシハラ 石原 シンタロウ 真太郎 [博士 (先端情報学)] …… 1

論文博士

1. イナバ 稲葉 タカアキ 隆明 [博士 (生命科学)] …… 4

氏名（本籍）	稲葉 隆明（大阪府）
学位の種類	博士（生命科学）
学位記番号	乙生 第1号
学位授与年月日	令和3年3月21日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
論文題目	ドライアイ発症機序の解明-IP ₃ 受容体を介した涙液分泌機構及びマイボーム腺の異常がもたらす代償機構-
論文審査委員	主 査 板野 直樹 教授
	副 査 齋藤 敏之 教授
	〃 棚橋 靖行 准教授

論文内容の要旨

眼表面に存在する涙液は油層、水層、ムチン層の3層構造からなり、油層はマイボーム腺から分泌される脂質成分により構成され、涙液の蒸発を防いでいる。ムチン層は結膜の杯細胞あるいは角膜上皮細胞から分泌され、水の維持に関わっている。水層は涙腺から分泌される涙液により、眼表面の濡れ性の維持に重要な役割を果たしている。涙液量が減少するとドライアイを引き起こすことが知られており、ドライアイは、眼の不快感や視覚障害をもたらす重大な疾患である。従って涙液分泌のメカニズムを解明することは、ドライアイの病態解明および新しい治療法の開発に極めて重要である。

第1章では、小胞体に存在するカルシウムイオンチャンネルであるイノシトール 1,4,5-トリリン酸受容体 (IP₃R) の涙腺における発現を確認し、交感神経および副交感神経の経路におけるIP₃Rの関与を検討した。これまでに2型IP₃Rおよび3型IP₃R 2重欠損 (Itpr2^{-/-};Itpr3^{-/-}) マウスの唾液腺および膵臓の腺房細胞において、細胞内へのCa²⁺放出が欠如し、カルシウムシグナルの障害による重度な外分泌機能障害をもたらすことが報告されている。本研究において、Itpr2^{-/-};Itpr3^{-/-}マウスは、副交感神経および交感神経を介した分泌障害を示し、アセチルコリン

およびエピネフリン刺激後の涙腺腺房細胞における細胞内 Ca^{2+} 応答が消失していることを明らかにした。また、 $\text{Itpr2}^{-/-};\text{Itpr3}^{-/-}$ マウスでは角結膜の異常に伴う角膜上皮障害が認められるなど、ドライアイ様病態を示すことが明らかとなった。さらに、 $\text{Itpr2}^{-/-};\text{Itpr3}^{-/-}$ 涙腺組織に炎症性細胞の浸潤を認め、事実、炎症性サイトカインである tumor necrosis factor alpha (TNF- α) および interleukin-6 (IL-6) の産生や、ヒトのシェーグレン症候群のマーカーである自己抗体の産生などが上昇することがわかった。これらの異常はヒトのシェーグレン症候群の病態に類似していた。以上の結果から IP_3R は副交感神経、交感神経ともに涙液分泌に必須であり、 $\text{Itpr2}^{-/-};\text{Itpr3}^{-/-}$ マウスは涙腺の Ca^{2+} シグナル伝達の異常によって引き起こされるシェーグレン症候群に類似した症状を示す新しいドライアイモデルマウスであることが示唆された。

第2章では、マイボーム腺機能不全 (meibomian gland dysfunction ;MGD) の病態解明を検討した。MGDはマイボーム腺の慢性またはびまん性の異常であり、マイボーム腺導管の閉塞にともなうマイボーム腺分泌物の質的および量的変化が生じる疾患である。これら閉塞にともなう腺分泌物の変化は涙液機能の変化、眼の不快感、眼表面における重度の炎症、または上皮障害を引き起こすが、MGDに対する有効な治療法はほとんどない。これまでにマイボーム腺に異常をきたす動物モデルとして Stearoyl-CoA desaturase-1 (SCD-1) 欠損マウスが報告されている。SCD-1は細胞に取り込まれた飽和脂肪酸を不飽和脂肪酸へ変換する酵素であり、マイボーム腺からの脂質の分泌に変化が認められている。そこでMGDの病態解明を目指し、SCD-1欠損マウスの表現型解析を実施した。SCD-1欠損マウスではマイボーム腺の萎縮、結膜杯細胞数の増加およびMUC5AC mRNAの発現亢進を認め、涙腺では涙液分泌量および涙腺重量の増加を認めた。その涙液増加のメカニズムの1つとして、脂質代謝に関わる遺伝子である fatty acid synthase (FASN), uncoupling protein-1 (UCP-1) および low density lipoprotein receptor (LDLR) が減少し、トランスポーターである glucose transporter-4 (glut-4) の発現増加が認められ、これら変化の結果として涙腺機能の亢進が考えられた。以上の結果は、マイボーム腺の異常に対する代償機構として、涙液量およびムチン産生の増加をもたらし、油層、水層、ムチン層が密接にかかわっていることを示唆している。SCD-1欠損マウスの解析はヒトのMGDの病態解明、薬剤開発につながる可能性があり、臨床的意義は極めて高い。今後、これら研究結果を利用した薬剤が開発され、ドライアイ患者の治療の選択肢の拡充に貢献することが期待される。

論文審査結果の要旨

本学位論文は、ドライアイ発症機序の解明に関するものである。涙液は眼表面を覆うことにより、眼の乾燥防止や刺激からの保護など重要な役割を担っており、涙液量の減少は、ドライアイの発症原因となる。故に、涙液分泌の機構解明は、ドライアイの病態解明および新規治療法の開発にとって極めて重要な課題といえる。本研究では、遺伝子欠損マウスの解析から、ドライアイの発症にイノシトール 1,4,5-トリスリン酸受容体 (IP₃R) や Stearoyl-CoA desaturase-1 (SCD-1) が深く関与することを明らかにした。

第1章では、涙液分泌調節における IP₃R の役割について、多角的な解析を行い、その結果を報告している。まず、小胞体に存在する Ca²⁺チャンネル IP₃R の涙腺における発現を解析し、2型および3型 IP₃R が発現していることを明らかにした。また、両遺伝子の2重欠損 (Itpr2^{-/-};Itpr3^{-/-}) マウスの解析から、同欠損マウスが角結膜の異常に伴う角膜上皮障害を示すなど、ドライアイ様症状を呈することを報告した。さらに、同欠損マウスでは、アセチルコリンおよびエピネフリン刺激後の涙腺腺房細胞における細胞内 Ca²⁺応答性が消失し、副交感神経および交感神経を介した分泌が障害されていることを明らかにした。以上の結果は、コリン作動性受容体経路およびアドレナリン作動性受容体経路における2型および3型 IP₃R が、涙液分泌の調節に必須であり、その異常がドライアイ発症に関わることを示唆している。その他、同欠損マウスが、涙腺組織への炎症性細胞の浸潤や自己抗体の産生上昇といったヒトのシェーグレン症候群様の症状を呈することも報告している。

マイボーム腺は脂質成分を分泌して涙液の油層を形成する重要な役割を担う。第2章では、飽和脂肪酸を不飽和脂肪酸へ変換する酵素の Stearoyl-CoA desaturase-1 (SCD-1) に着目し、その遺伝子欠損マウスを用いて、マイボーム腺機能不全の病態解析を行った。興味深いことに、SCD-1 欠損マウスでは、マイボーム腺の萎縮や脂質代謝の低下が生じる一方、結膜杯細胞数や涙液分泌量および涙腺重量が増加した。さらに、同欠損マウスでは、脂質代謝の低下と対照的に、glucose transporter-4 や MUC5AC の遺伝子発現が亢進していた。以上の結果は、SCD-1 欠損に起因するマイボーム腺の異常に対して、涙液量およびムチン産生の増加による代償機構が働くこと、そして、脂質代謝の変化が眼表面の恒常性維持に影響を与える可能性を示唆している。

本研究により得られた知見は、ドライアイ発症の分子機構の理解に大いに貢献し、新規治療法の開発に資する。そして本論文に関する内容は、何れも国際専門雑誌に掲載されている。主査、副査の博士論文調査委員による論文審査の結果、研究課題に新規性が認められること、作業仮説や実験方法に妥当性があること、そして、結果の解釈や考察が適切に導かれていることから、本論文は博士学位論文としてふさわしいものであると認められた。また、令和3年2月9日に開催された公聴会では、発表内容は論理的かつ明瞭にまとめられており、質疑応答に対しても的確に回答されていた。よって、申請者は当該分野に関する学力において、博士の学位に相応しい資格を有していることが確認された。

以上より、本論文は、博士（生命科学）の学位を授与されるに値するものと認められる。