

学位論文題名

涙液分泌、神経軸索伸長および角膜上皮修復に及ぼす生体内タンパク質の薬理学的研究
— ドライアイ治療薬の選択肢拡充を目指した基礎研究 —

Pharmacological study of the effects of biological proteins on
lacrimation, neurite outgrowth and corneal wound healing

— Basic research for the purpose of increasing the treatment option of dry eye drugs —

学位申請者 藤井 敦子



【諸言】

ドライアイは「様々な要因による涙液および角結膜上皮の慢性疾患であり、眼不快感や視機能異常を伴う」と定義される眼疾患であり、日本国内の患者数は 2000 万人以上にのぼるとも言われている。ドライアイのメカニズムに関しては、現在、日本と米国および諸外国とで考え方が異なる点もあるが、共通して涙液層の安定性の低下が言われている²⁾。

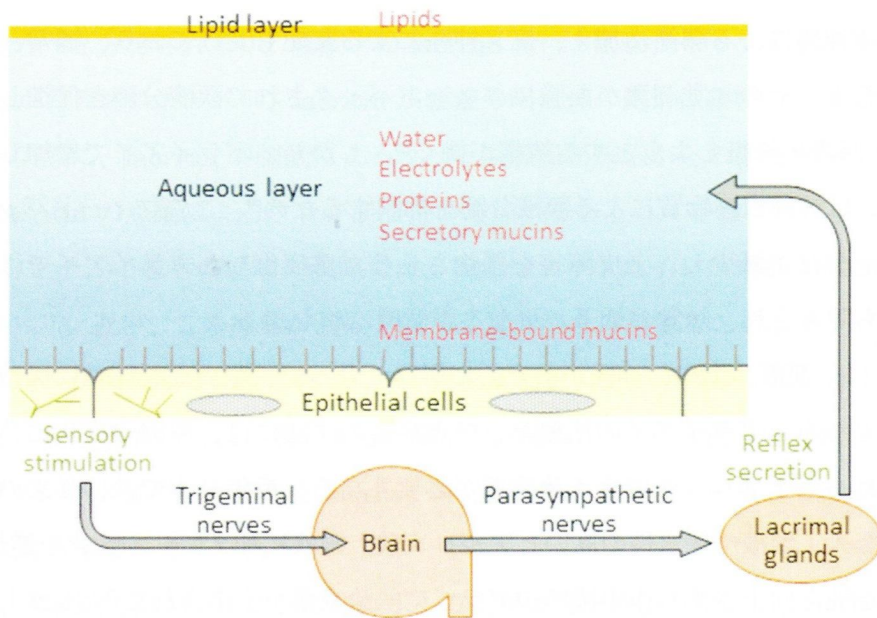


Fig.1. The structure of ocular surface. The tear film, epithelial cells and sensory nerves are closely related to each other to maintain a healthy ocular surface.

眼表面の構造は、角結膜上皮とそれを覆う涙液層から成り、涙液層はさらに、液層と油層に分けられる。液層には、水分、電解質と共に、漿液性の涙腺から分泌された涙液タンパク質が含まれ、角膜の栄養源となっている。また、結膜の杯細胞から分泌された分泌型ムチンも液層に存在し、水分をゲル状に保つことで、液層の安定化に寄与している。一方、角結膜の上皮細胞表面に結合している膜型ムチンは、細胞表面と液層をつなぎ、眼表面の水濡れ性を維持している²⁾。最表層には、脂腺であるマイボーム腺から分泌された油分が油層を形成して液層を覆い、水分の蒸発を防ぐと共に、瞬目・開眼時に液層を引き連れて眼表面に涙液層を伸展させている。

かつて涙液減少症や乾性角結膜炎と言われていたドライアイは、近年急速に病態理解が深まり、現在では、より複雑な眼表面の複合的な異常として捉えられるようになってきた³⁾。ドライアイでは、涙液の各分泌腺の異常から加齢や生活習慣などの様々な要因によって、涙液減少、蒸発亢進、水濡れ性の低下が引き起こされた結果、涙液層の安定性が低下し、涙液層が破綻した箇所から上皮が障害される。また、蒸発亢進により涙液の浸透圧が上昇すると、炎症性物質が誘導され、上皮細胞が障害を受ける⁴⁾。障害を受けた上皮の上では、涙液層の安定性が低下し、悪循環を生じる。角膜は知覚神経である三叉神経に支配されており、上皮障害は、知覚を刺激して眼不快感の症状を呈する。本来、角膜上皮は自己修復能の高い組織であり、涙液中には、上皮修復を促す成分も含まれている。涙腺からの涙液分泌は、自律神経による調節に加え、三叉神経による支配も受けており、通常、角膜に異常を感知すると、その知覚刺激が涙腺にフィードバックされて涙液分泌を促進し（反射分泌）、上皮を保護・修復しようとする機構が働く⁵⁾。しかし、ドライアイで増加した炎症性サイトカインは神経伝達物質による涙液分泌を抑制するため⁶⁾、このフィードバック機能が低下し、涙液分泌が減少し、上皮障害を悪化させる。重症化したドライアイでは、角膜上の三叉神経も障害され、知覚の低下が更なる悪循環につながる。

このように、涙液、上皮、神経がお互いに影響し合って、眼表面を健常に保つように働いていることから、ドライアイの治療および重症化の予防には、原因や症状に合わせて、これらいずれへもアプローチできる治療薬が必要となる。近年日本では、従来の水分補給を目的とした人工涙液や保水性の高いヒアルロン酸点眼液に加えて、ムチンを増加させて、涙液層の安定性を向上させる作用機序のドライアイ治療薬が上市された⁷⁾。しかし、上述のとおり複雑なドライアイを治療するには、水分保持とムチン増加だけでは選択肢が十分であるとは言えず、効果が不十分な重症例には、外科的処置や自己血清点眼や、適応外のステロイド剤等が用いられている⁸⁾。治療薬の選択肢の拡充が求められており、そのためには

既存薬とは異なる作用機序の治療薬開発が必要であると考えられる。そこで本研究では、涙液タンパク質分泌、三叉神経修復、角膜上皮修復をターゲットにして、それぞれ以下の3つの生体内タンパク質の薬理作用を検討し、そのメカニズムを調べた。

第一章では、涙液成分を含む涙液の増加を狙って、**lacritin** による主涙腺腺房細胞からの涙液タンパク質分泌作用について調べた。また、ドライアイによる炎症状態を再現したモデルで、**lacritin** と神経伝達物質による作用を比較した。第二章では、涙液の反射分泌機構の回復を狙って、三叉神経に注目し、**pituitary adenylate cyclase-activating peptide (PACAP)** による神経軸索伸長作用について、関連する受容体の発現と合わせて調べた。さらに、**PACAP** による主涙腺からの直接的な涙液タンパク質分泌作用についても検討した。最後に、第三章では、涙液の安定性および眼不快感や視機能の改善を狙って、**galectin-3** による角膜上皮修復作用とそのメカニズムを調べた。

【第一章 **lacritin** による涙液タンパク質の分泌促進作用】

Lacritin は涙液中に存在する涙液タンパク質の一つであり、主に霊長類の涙腺に選択的に発現していることが知られている^{9,10}。また、**lacritin** は、主涙腺腺房細胞内では分泌顆粒と一緒に分布しており、副交感神経作動薬の刺激によって細胞内シグナルが活性化されると、細胞外へと分泌される¹¹。涙液中の **lacritin** 量は、眼瞼炎やドライアイ患者で減少していることが報告されており^{12,13}、**lacritin** が涙液や眼表面の健常性維持に貢献していると予想される。実際に、**lacritin** の刺激によるラット涙腺腺房細胞からの涙液タンパク質分泌促進¹⁰、**lacritin** の点眼によるウサギ涙液量の増加が報告されている¹⁴。

一方、ドライアイ患者の涙液や涙腺では、炎症性サイトカインが増加することが知られているが^{15,16,17}、近年、この炎症が涙液タンパク質分泌を抑制することが分かってきた。例えば、マウスの涙腺炎症モデルにおいて、神経伝達物質の分泌が減少しただけでなく¹⁸、炎症性サイトカイン存在下では、神経伝達物質による涙液タンパク質の分泌減少が認められた⁶。涙液タンパク質の一つである **lacritin** が、眼瞼炎やドライアイ患者で減少しているのも、炎症による影響が考えられる。

そこで、本試験では、よりヒトに近いサルの主涙腺腺房細胞を用いて、**lacritin** による涙液分泌作用を調べ、通常の細胞からの分泌作用と、ドライアイを模した炎症状態下での作用とを比較することにした。