

論文内容の要旨

申請者氏名：桐原 朋子

緑内障は視野と視神経に特徴的な変化を引き起こす神経変性症であり、中途失明原因の最上位疾患の一つである。緑内障発症および進行の危険因子として、現在までに臨床的にその関与が証明されているのは上昇した眼圧である。従って、眼圧を十分に下降させることは、緑内障治療において最も重要なアプローチである。

眼圧は眼内で産生される房水の産生量と流出量のバランスで決定される。緑内障における眼圧上昇は、主房水流出経路である線維柱帯シュレム管経路（コンベンショナル経路）からの流出量が低下することによって引き起こされていると考えられているが、現在、コンベンショナル経路からの流出を増加させることによって眼圧を下降させる緑内障治療薬は存在しない。そこで申請者は、コンベンショナル経路からの流出促進作用を有する眼圧下降剤の探索を行うこととした。

Src キナーゼ（SFK）は細胞骨格や接着の制御に関与する非受容体型チロシンキナーゼである。線維柱帯（TM）細胞の細胞骨格や接着変化はコンベンショナル経路における房水流出を制御していると報告されている。実際、Rho 結合キナーゼ（ROCK）阻害剤は眼圧下降作用を有し、その作用の少なくとも一部は TM 細胞の形態が変化することによるコンベンショナル経路からの房水流出促進に依存していると考えられている。従って、SFK の活性変化も眼圧制御に関与していることが推定されるが、現在までに SFK と眼圧の関係性について報告した研究はない。そこで申請者は、SFK 阻害剤による眼圧下降作用の検討、ならびにその作用機序の解明を目的とした研究を実施した。まず、正常眼圧ウサギにおける SFK 阻害剤の作用を検討したところ、複数の SFK 阻害剤による眼圧下降作用が確認された。続いて、その中で最も強力な薬効を示した PP2 を用い、作用機序解明の研究を実施した。コンベンショナル経路における房水流出抵抗を模倣した *in vitro* の試験として、ヒト TM 細胞の細胞間隙透過性の変化を膜電位測定により評価した。PP2 は濃度依存的に TM 細胞層の膜電位を低下させた。この機能変化の分子メカニズムを解明する目的で、PP2 による TM 細胞の形態および接着に対する作用を評価した。PP2 は濃度依存的な TM 細胞の接着低下を引き起こしたが、細胞形態への作用は著明ではなかった。これらの作用特徴は ROCK 阻害剤である Y-27632 とは異なっていることが明らかになった。さらに、PP2 の処置により TM 細胞の接着が低下している時、細胞の接着斑を構成する focal adhesion kinase および p130cas のチロシンリン酸化が低下していること、並びに細胞死の誘導がないことを確認した。

申請者はこれらの知見により、SFK 阻害剤がコンベンショナル経路からの流出促進により眼圧を下降させる新たな治療薬としての可能性があること、並びにその作用機序は ROCK 阻害剤とは異なることを示した。

論文審査結果の要旨

申請者氏名：桐原 朋子

緑内障は中途失明原因の最上位疾患の一つであり、その治療により失明率を低下させることは社会的意義が高い。現在までに臨床的に治療効果が認められているアプローチは眼圧を十分に下降させることであるが、既存の治療薬では適切に眼圧をコントロールできない患者が存在し、より強力で持続的な眼圧下降作用を示す薬剤の開発が希求されている。緑内障における眼圧上昇は、主房水流出経路である線維柱帯シュレム管経路（コンベンショナル経路）からの流出量が低下することによって引き起こされていると考えられているが、現在、コンベンショナル経路からの流出を増加させることによって眼圧を下降させる緑内障治療薬は存在しない。そこで申請者は、コンベンショナル経路からの流出促進作用に着目し、既存品よりも強力で持続的な眼圧下降作用を示す薬剤の探索を行った。

申請者は細胞骨格や接着の制御に関与する非受容体型チロシンキナーゼ Src キナーゼ（SFK）阻害剤の眼圧下降作用を見出し、その作用点としてコンベンショナル経路の中心である線維柱帯（TM）細胞の構造および機能を検討した。その結果、PP2は、濃度依存的にヒト TM 細胞層の膜電位を低下させ、コンベンショナル経路からの流出促進作用を示唆した。さらに、PP2による TM 細胞層の抵抗低下は、PP2による細胞接着性低下に起因していることも示唆された。一方、PP2によるアクチンストレスファイバーや著明ではなく、また細胞形態変化作用は ROCK 阻害剤とは異なっていることが明らかになった。さらに、PP2の処置により TM 細胞の接着が低下している時、細胞の接着斑を構成する focal adhesion kinase および p130cas のチロシンリン酸化が低下していること、並びに細胞死の誘導による接着低下現象ではないことを示した。

以上のように本論文は、SFK 阻害剤がコンベンショナル経路からの流出促進により眼圧を下降させる新たな治療薬としての可能性があること、並びにその作用機序は ROCK 阻害剤とは異なることを示し、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって、審査委員一同は、本論文が博士（バイオサイエンス）の学位論文として価値あるものと認めた。