

氏名	岡 隆之
授与した学位	博士
専攻分野の名称	工学
学位授与番号	博乙第4241号
学位授与の日付	平成20年 3月25日
学位授与の要件	博士の学位論文提出者 (学位規則第5条第2項該当)
学位論文の題目	Studies on the Target Proteins for the Therapy of Ocular Diseases (眼科疾患の治療のためのターゲットタンパクに関する研究)
論文審査委員	教授 虎谷 哲夫 教授 大森 齊 教授 山田 秀徳

### 学位論文内容の要旨

眼は可視光を特異的に受容する感覚器で、眼内で受容した光学情報は中枢神経にて視覚として認識されるため、ヒトに於ける視覚異常はQuality of Life (QOL) の著しい低下に繋がる。本研究は各種眼科疾患に対する薬物治療剤を開発する上で、臨床を反映すると考えられる動物モデルを作製し、疾患の発症機序に関わると推測される酵素・受容体等のターゲットタンパクが動物モデルにおいても関与すること、およびそれらのタンパクのリガンド化合物が治療剤として有用であることを証明することを目的として行った。

カラゲニンあるいはリポ多糖で炎症を誘発したラット結膜組織中のシクロオキシゲナーゼ (COX) アイソザイムの挙動を解析したところ、誘導型のCOX-2の発現が亢進した一方、恒常型のCOX-1に変化は認められなかった。さらにCOX-2選択的阻害剤を点眼投与すると、これらの結膜炎の発症が抑制された。以上の結果から、眼炎症には誘導型のCOX-2が関与すると結論され、新規の眼科用抗炎症剤としてCOX-2特異的阻害剤は有用と考えられた。

PKC活性化剤のホルボールエステル (PMA) をウサギ眼の前房内に直接投与すると持続的な眼圧下降が認められた。PMAにより眼圧が下降した時点の房水動態を解析すると、房水産生に変化が無かった一方、房水排出は明らかに亢進していた。さらに、PKCを活性化しないPMA異性体は眼圧に影響を及ぼさなかった。以上の結果から、PKCによるタンパクリン酸化はウサギ眼における眼圧下降に関与すると結論され、臨床の緑内障患者に対して処方される眼圧下降剤の新規ターゲットとしてPKC活性化剤は有用と考えられた。

ラット眼球に一過性の高眼圧を負荷すると、網膜神経の不可逆的な機能異常と網膜細胞死が認められたことから、カルシウム依存性システインプロテアーゼのカルパインについて網膜中の挙動を解析したところ、カルパインタンパクの自己分解、カルパイン特異的基質の分解、および組織内カルシウム含量の増加が確認された。さらにカルパイン阻害剤を内服すると、網膜カルパインの活性化および引き続く網膜変性が抑制された。カルパインはラットだけでなくヒトおよびサルも網膜中にも恒常的に発現していた。以上の結果から、眼圧ストレスによる網膜障害にはカルパインの過剰な活性化が関与すると結論され、緑内障に対する網膜神経保護剤としてカルパイン阻害剤は有用と考えられた。

DNAアルキル化剤のN-メチル-N-ニトロソ尿素 (MNU) をラットに単回投与すると網膜中の視細胞が特異的に障害されたことから、網膜組織中のカルパインの挙動を解析したところ、カルパインタンパクの自己分解、カルパイン特異的基質の分解、および組織内カルシウム含量の増加が確認された。さらに、カルパイン阻害剤をMNU投与日から連続投与すると、視細胞の変性が抑制された。以上の結果から、MNUによる視細胞変性にはカルパインの過剰な活性化が関与すると結論され、臨床の網膜色素変性症に対する視細胞保護剤としてカルパイン阻害剤は有用と考えられた。

## 論文審査結果の要旨

ヒトにおいて視覚異常はQuality of Life (QOL) の著しい低下に繋がる。本研究では、各種眼科疾患に対する薬物治療剤を開発するための動物モデルを作製し、下記の結果を得ている。

カラゲニンあるいはリポ多糖で炎症を誘発したラット結膜組織中のシクロオキシゲナーゼ (COX) アイソザイムの挙動が解析された。誘導型COX-2の発現が亢進したが、恒常型酵素に変化はみられなかった。COX-2選択的阻害剤の点眼投与により結膜炎の発症が抑制されたことから、眼炎症には誘導型酵素が関与すると結論され、その阻害剤の抗炎症剤としての有用性が示唆された。

PKC活性化剤であるホルボールエステル (PMA) をウサギ眼の前房内に直接投与すると持続的な眼圧下降が認められた。PMAにより眼圧が下降した時点の房水動態を解析すると、房水産生に変化はなかったが、房水排出は亢進していた。また、PKCを活性化しないPMA異性体は眼圧に影響を及ぼさなかった。以上より、PKCによる蛋白質リン酸化が眼圧下降に関与すると結論され、緑内障患者に対して処方される眼圧下降剤の新規ターゲットとしてPKC活性化剤は有用と考えられた。

ラット眼球に一過性の高眼圧を負荷すると、網膜神経の不可逆的な機能異常と網膜細胞死が認められた。カルシウム (Ca) 依存性システインプロテアーゼであるカルパインの網膜中での挙動を解析し、その自己分解、カルパイン特異的基質の分解、および組織内Ca含量の増加を認めた。その阻害剤を内服すると、網膜カルパインの活性化と網膜変性が抑制された。カルパインはラット、ヒト、サル網膜中で恒常的に発現していた。以上より、眼圧ストレスによる網膜障害にはカルパインの過剰な活性化が関与すると結論され、その阻害剤の網膜神経保護剤としての有用性が示唆された。

DNAアルキル化剤であるN-メチル-N-ニトロソ尿素 (MNU) をラットに投与すると、網膜中の視細胞が特異的に障害された。網膜組織中のカルパインの挙動を解析し、その自己分解、カルパイン特異的基質の分解、および組織内Ca含量の増加を認めた。また、カルパイン阻害剤をMNU投与日から連続投与すると、視細胞の変性が抑制された。以上より、MNUによる視細胞変性にはカルパインの過剰な活性化が関与すると結論され、臨床の網膜色素変性症に対する視細胞保護剤としてのカルパイン阻害剤の有用性が示唆された。

以上のように本研究では、眼科疾患の発症機序に関わると推測される酵素・受容体等の標的蛋白質が動物モデルでも関与し、それらのリガンド化合物が治療剤として有用であることが示され、実用上有用な新発見が得られている。よって、本論文は博士 (工学) の学位に値するものと認める。