

論文の内容の要旨

論文題目 角膜内皮細胞における細胞外基質産生と水輸送
に関する新しい知見

指導教官 新家真教授

東京大学大学院医学系研究科

平成9年4月入学

医学博士課程

外科学専攻

氏名 臼井智彦

角膜は眼球の最も表層に位置する無血管透明組織であり、眼球を光学系で考えた場合、光路の入り口である。よって光刺激を中枢神経系へ伝達する場合、まず角膜が透明でなければならない。角膜内皮細胞は5層から構成される角膜において最も内側に位置する一層の細胞群であり、前房水に接している。内皮はバリアー機能とポンプ機能により、角膜実質の含水率をコントロールし、角膜厚を一定に保つという角膜透明性維持に大変重要な役割を果たしている。しかし角膜内皮は生体内で分裂を行わないため、内皮細胞数減少や種々の侵襲による角膜内皮細胞のジャンクション破壊は、バリアー機能とポンプ機能のバランスを妨げ、臨床的にしばしば問題になる。すなわち角膜内皮細胞の機能低下、破綻は角膜浮腫、水疱性角膜症を誘発し、角膜の透明性に大きな障害を及ぼすことになる。しかし内皮細胞機能不全に対する効果的な治療法がない現状から、内皮細胞の機能を分子レベルから解析することにより、角膜内皮をターゲット

とした新しい治療法の開発が望まれている。

角膜の含水率を一定に保ち、透明性を維持する為、具体的に角膜内皮機能上重要なことは、(1) ジャンクション (バリアー) 機能の保持、(2) ポンプ機能の維持、この二点である。生体内で角膜内皮細胞が増殖しない為、角膜内皮が何らかの障害を受け、細胞が脱落した場合、角膜の透明性維持にはその欠損を塞ぐ必要がある。この為細胞外基質 (ECM) 産生調節による細胞の伸展、拡大、遊走の調節が重要になる。これらの細胞運動を調節するには角膜内皮のECM産生制御のメカニズム解明が必要である。そこでECMの産生制御を担う代表的なサイトカインであるtransforming growth factor- β (TGF- β) による角膜内皮細胞におけるECM産生制御について検討した。

角膜内皮の基底膜を構成する代表的なECMであるラミニン (LN) はTGF- β 刺激を培養角膜内皮細胞に加えることによりその産生が促進された。変異型TGF- β I型受容体を遺伝子導入することによりTGF- β のLN産生作用がI型受容体を介した直接作用であることが確認された。さらにLNはI型受容体下流のシグナル伝達物質であるSmad2, Smad3, Smad4, Smad7による産生調節を認めた。

またヒアルロン酸を合成する酵素であるヒアルロン酸合成酵素 (Hyaluronan synthase, HAS) について検討した。角膜内皮には分子レベルでHAS1, HAS2, HAS3全てのisoformが発現し、HAS1, HAS2は蛋白レベルで角膜組織に発現していた。HASの発現調節を検討するため、TGF- β やPDGF-BB刺激を培養角膜内皮細胞に加えたところ、HAS1, HAS3の産生に関与しなかったが、HAS2の発現を促進した。またLNの実験同様Smad2, Smad3, Smad4, Smad7を介したHASの発現調節が観察され、TGF- β はSmadを細胞内シグナル伝達物質としてHASの発現を調節することによりヒアルロン酸の産生を調節し

ていると考えられた。

次に角膜内皮における水輸送メカニズムの解明の為、水輸送や細胞内pH調節の機能を持つ $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ cotransporter (sodium bicarbonate cotransporter, NBC-1) の角膜内皮における発現を検討した。RT-PCR、免疫染色により角膜内皮にNBC-1が発現していることを確認した。細胞内pHを測定することにより、ナトリウム依存性、クロール非依存性で、DIDSに感受性のある、起電性を持つイオンランスポーターの機能的発現を角膜内皮に認め、それはNBC-1であると考えられた。NBC-1は角膜内皮で実質から前房に向かう水輸送を担う重要なコンポーネントと考えられ、その機能低下により角膜障害が生じる可能性が示唆された。

このような角膜内皮細胞に重要な機能分子を分子レベルから解析することは、将来角膜内皮の機能制御を生体内へ応用する基礎になると思われる。すなわちTGF- β の作用を制御することにより創傷治癒促進や細胞保護に臨床応用される可能性がある。また内皮の水輸送、イオン輸送機構を解明し、分子レベルからそれらを制御することは角膜浮腫に対する治療法開発に大きく貢献するであろう。臨床応用を踏まえ、生体内で検討することが今後の課題である。