

博士論文要旨

網脈絡膜変性病態におけるプログラニューリンの役割に関する研究

高橋 慶

プログラニューリンは、様々な生理的及び病理的な過程に関与する分泌性糖タンパク質である。プログラニューリンの生理活性として、ライソゾームの機能及び合成の制御に関わることが報告されている。疾患との関連においては、プログラニューリンをコードする遺伝子 (*GRN* 遺伝子) のヘテロ接合変異が前頭側頭葉変性症、ホモ接合変異が神経セロイドリポフスチン症の発症原因として同定された。いずれの疾患の臨床所見においても視力障害が認められることから、プログラニューリンの生理活性が網膜機能の維持に必要不可欠であることが示唆されている。一方、神経網膜及び網膜色素上皮における内在性プログラニューリンの生理機能や網脈絡膜変性病態におけるプログラニューリンの役割については十分に理解されていない。したがって、本研究ではプログラニューリンの機能不全に伴う網膜及び網膜色素上皮障害の病態解明を試みた。

1. プログラニューリン欠損に伴う網膜変性の解析

主に6カ月齢の成体 *Grn* ホモ欠損マウスと同月齢の野生型マウスの眼底及び網膜所見を比較した。成体 *Grn* ホモ欠損マウスは、視細胞の機能低下と変性、白斑様の眼底所見及びミクログリアの網膜下への局在異常を示した。プログラニューリンは野生型マウスの神経網膜において広範な分布が認められ、特に網膜色素上皮及び脈絡膜層に強く発現することが明らかとなった。また、*Grn* ホモ欠損マウスの網膜ではライソゾーム関連タンパク質の発現量が増加したが、網膜色素上皮-脈絡膜複合体においてその発現量は変化しなかった。

2. 網膜色素上皮におけるプログラニューリンの役割

ヒト由来網膜色素上皮細胞を用いて、プログラニュリンのノックダウンが網膜色素上皮の機能に及ぼす影響について検討した。網膜色素上皮細胞においてプログラニュリンは、ライソゾーム顆粒に局在した。プログラニュリンのノックダウンは、ライソゾーム顆粒内の pH 上昇とライソゾーム酵素活性の低下を引き起こすことを明らかにした。さらに、プログラニュリンノックダウン細胞において、生存活性の低下及びタイトジャンクションの破綻が認められた。

3. 脈絡膜血管新生病態におけるプログラニュリンの役割

滲出型加齢黄斑変性の実験モデルとして汎用されているレーザー誘発マウス脈絡膜血管新生モデルを用いて、プログラニュリンが脈絡膜血管新生病態に及ぼす影響を検討した。病変部において、ミクログリア/マクロファージの集積とプログラニュリンの発現増加が認められた。また、*Grn* ホモ欠損マウスにおいて、新生血管の面積及び病変部周囲に集積したミクログリア/マクロファージ細胞数が増加した。培養細胞を用いた検討より、プログラニュリンをノックダウンしたマクロファージにおいて、血管新生促進因子及び炎症性因子の発現増加を認めた。さらに、同細胞において、ライソゾームの異常な活性化が認められた。以上の結果より、プログラニュリンは脈絡膜血管新生病態において、ミクログリア/マクロファージのライソゾーム機能の制御を介して炎症病態を調節することが示唆された。

以上、本検討では、プログラニュリンが神経網膜、網膜色素上皮及びミクログリア/マクロファージのいずれにおいてもライソゾーム機能の制御に深く関わることを明らかにした。

論文審査結果の要旨

氏名（本籍）	高橋 慶 (岐阜県)
学位の種類	博士（薬学）
学位記番号	甲 第 1 9 4 号
学位授与年月日	令和 4 年 3 月 1 0 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項該当者
学位論文の題名	網脈絡膜変性病態におけるプログラニュリンの役割に関する研究
論文審査委員	(主査) 位田 雅俊
	(副査) 福光 秀文
	(副査) 檜井 栄一

本論文は、網膜、網膜色素上皮及び脈絡膜血管新生病態における分泌因子プログラニュリンの役割を検討し、その成績をまとめたものである。

6 カ月齢の成体プログラニュリン欠損マウスにおいて、視細胞の変性と機能低下、白斑様の眼底所見及びミクログリアの局在異常を認めた。また、プログラニュリン欠損マウスの網膜ではライソゾーム関連タンパク質の発現量が増加したが、網膜色素上皮 - 脈絡膜複合体においてその発現量は変化しなかった。ヒト由来網膜色素上皮細胞を用いた検討において、プログラニュリンのノックダウンは、ライソゾーム顆粒内 pH の上昇とライソゾーム酵素活性の低下、細胞生存活性の低下及びタイトジャンクションの破綻を引き起こした。脈絡膜血管新生病態において、プログラニュリンは病変部に集積するミクログリア及びマクロファージから分泌され、これらの炎症細胞のライソゾーム機能の制御を介して炎症病態を調節することが示唆された。

以上、プログラニュリンが神経網膜、網膜色素上皮及びミクログリア・マクロファージのいずれにおいてもライソゾーム機能の制御に深く関わることを明らかにした。これらの結果は、プログラニュリン及びライソゾーム機能調節が網膜変性病態の治療標的の候補となることを示しており、博士（薬学）論文として価値あるものと認める。