

脂質によるドライアイ防止

生化学研究室・教授 木原 章雄

タイトルを見て、脂質とドライアイなんて関係ないのでは？と思われた方も多いと思いますが、実は大有りなんです。涙液の表面は脂質からなる油層で覆われていて、内側の水溶性の液体(涙腺からの分泌物)の蒸発を抑えています(図1)。言わば、すみれのラーメンのような状態です。湯気が出ていないので熱くないと思って食べると熱々だったという経験がありますが、たっぷりのラードがスープを覆っていて湯気が出ていなかったわけです。涙液油層の役割にはその他にも表面張力を低下させ、涙液に適度な粘弾性を付与し、角膜と瞼間を滑らかするなど、色々あります。表面張力の低下のおかげで涙液は滴状にならず、眼球表面上に均一に広がっています。

涙液の油層に存在する脂質は瞼の裏側にあるマイボーム腺(図1)と呼ばれる皮脂腺の一種から分泌されるため、総称してマイバム脂質と呼ばれます。マイボーム腺の開口部は眼瞼縁に点状に分布しており、ドライアイではこの部分が詰まっているケースが多くあります。この詰まりが続くとマイボーム腺の萎縮や脱落にもつながります。開口部の詰まりは鏡で簡単に観察できますし、マイボーム腺も指で瞼をひっくり返すと白っぽく見ることができます。ドライアイの最も多い原因はこのマイボーム腺機能異常です。マイボーム腺は腺房と導管から構成されていて、腺房ではマイボサイトと呼ばれる細胞が増殖後、分化して最終的には全分泌(細胞の破壊による内容物の放出)によってマイバム脂質が導管に放出されます。マイボサイトの増殖は男性ホルモンに依存しているため、女性や歳を取った男性がドライアイになりやすいと言われています。

マイバム脂質は涙液の安定化という特別な役割をもつ

ため、他の組織にはあまり見られない特殊な脂質から構成されています。マイバム脂質の主要な脂質はコレステリルエステル(CE)とワックスモノエステル(WE)であり(図2)、これらで全体の約8~9割を占めます。CEは脂肪滴や血漿リポタンパク質中にも見出されますが、マイバム脂質のCEは脂肪酸の炭素鎖長が極めて長い、いわゆる極長鎖型($\geq C21$)であり、 ω 末端が分岐している(イソあるいはアンテイソ体)という特徴をもちます。また、マイバム脂質中のWEは分岐極長鎖アルコールと脂肪酸から構成されています。これらの脂質は生体に存在する脂質の中でも極性の低い脂質の上位2つです。この極性の低さは、涙液油層という外界と接した部位で透過性バリアとして働くために必要な物性であると考えられますが、一方で下側に存在する水溶液とは本来混じり合いません。そのため、マイバム脂質にはO-アシル- ω -水酸化脂肪酸(OAHFA)などの両親媒性脂質と中間的な極性を示すワックスジエステル(WdiE;タイプ1 α , 2 α , 2 ω)やコレステリルOAHFAが存在し、これらが涙液油層の中で極性勾配を形成することで安定な涙液層を形成されていると我々は考えています。

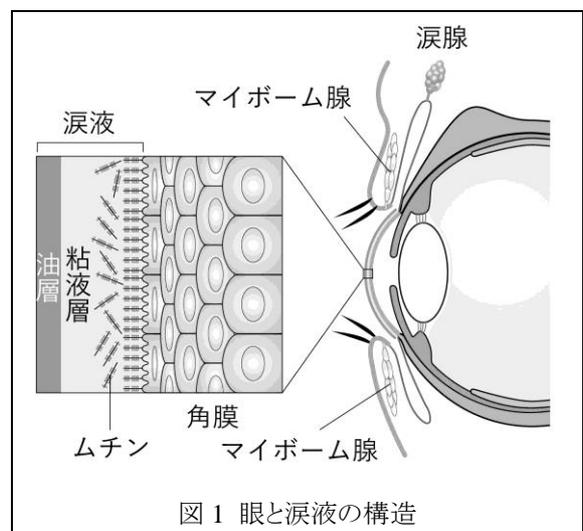
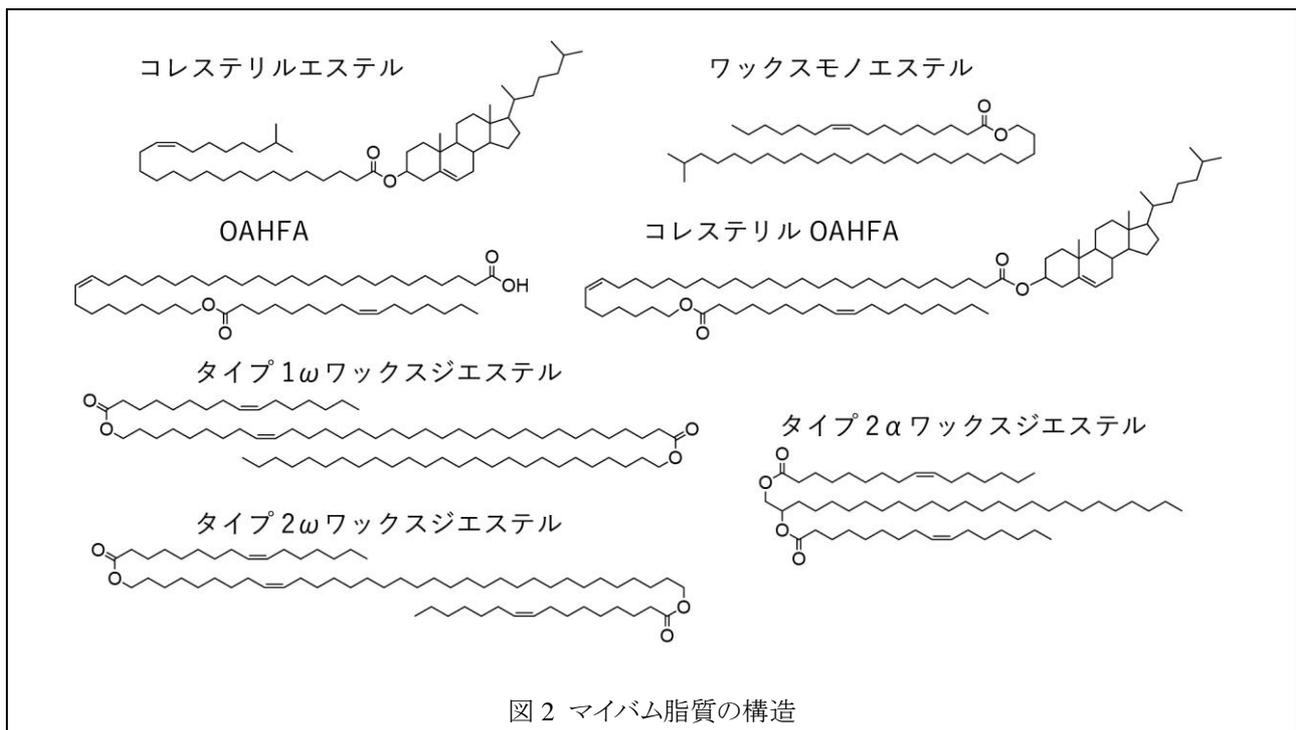


図1 眼と涙液の構造



マイバム脂質に関する研究は脂質研究の中でも最も解析が遅れている未開拓領域です。実際、ドライアイを専門とする臨床医のバイブルと言ってもよい「ドライアイスペシャリストへの道」(中山書店;総ページ数 422 ページ)においてマイバム脂質に関することが記載されているのはたったの 2 ページであり、「マイボーム腺の脂質の合成や取り込みに関する研究は数少ない」や「涙液の成り立ち、組成は複雑であり、特に脂質に関しては解明されていない部分が多い」などの記載が並びます。私自身も脂質の研究をしていて偶然マイバム脂質の研究に行き着きましたが、それまで全く知りませんでした。以下にその研究の進展の経緯を記載します。

我々は以前からスフィンゴ脂質の研究を行っていました。スフィンゴ脂質の疎水骨格はセラミドであり、長鎖塩基と脂肪酸という 2 つの疎水鎖から構成されています。スフィンゴ脂質の脂肪酸部分の炭素鎖長は通常組織では C16~C24 であり、グリセリン脂質の C16~C20 と比べて長いという特徴があります。我々はその長さに着目し、脂肪酸が長いことの意義を調べてみようと思いまし

た。まず、脂肪酸の炭素鎖長を C20 から C22 あるいは C24 まで伸長させる酵素として脂肪酸伸長酵素 ELOVL1 を同定しました¹⁾。次に、*Elovl1* KO マウスを作成して、炭素鎖長の短鎖化の影響を調べました。その結果、表現型として見つかったのが皮膚透過性バリア異常、神経症状、ドライアイでした^{2,4)}。皮膚透過性バリア異常は角質層に存在するアシルセラミド(C30~C36 脂肪酸含有)の産生異常であり²⁾、この発見はその後の数多くの我々の皮膚透過性バリアとセラミドの研究につながりました。神経症状はミエリンに多く存在し、ミエリンの形成と維持に重要なガラクトシルセラミドとスルファチド(多くが C24 脂肪酸含有)の産生異常によって引き起こされていました³⁾。

Elovl1 KO マウスではマイバム脂質の主要な脂質である CE と WE の短鎖化が起こっていました(図 3)⁴⁾。CE の脂肪酸部分は野生型マウスでは C25~C27 の分子種が多いですが、KO マウスでは C21~C23 に短鎖化していました。一方、WE の脂肪族アルコール部分は野生型マウスでは C26~C27 の分子種が多く、KO マウスでは

C21~C23 に短鎖化していました。これらの解析やその後の他のマイバム脂質の解析においては、まず脂質の解析方法の確立から行う必要がありました。マイバム脂質研究領域が未開拓であったことの1つの理由としてマイバム脂質の極性の低さからくる分析の困難さが挙げられます。また、マイバム脂質に含まれる分子種は膨大であり、全体として1,000種類を軽く超えると予測されます。例えば、WEだけでも脂肪酸部分と脂肪族アルコール部分に炭素鎖長や二重結合の数のバリエーションがあり、その組み合わせの違いから分子種数は数十種類に及びます。さらに、WdiEに至っては数百種類にもなります。従来のマイバム脂質の測定では、ほとんどがLC-MS、すなわち構成する炭化水素鎖の鎖長の総和に基づいた方法で解析されていました。一方、我々はLC-MS/MS(タンデム質量分析)の多反応モニタリングモードによって構成する炭化水素鎖ごとに鎖長を測定できる方法を確立しました。また、質量分析で見られるピークが真に目的の脂質を見ているかについては、研究者の判断に任せられており、いい加減な報告が多いのが現状です。一方、私たちはすべてのマイバム脂質について、市販されていないものは自分たちで標準品を化学合成してピーク同定に使用し、この点をクリアしています。WdiEに関してはこれまでそのタイプの詳細は不明でしたが、我々はタイプ2 α 、1 ω 、2 ω がマイバム脂質中に存在することを初めて明らかにしました⁵⁾。

ELOVL1の研究を契機として、その後次々と多様なマイバム脂質の産生に関わる遺伝子群を同定し、そのKOマウスの作成とドライアイの表現型解析を行いました。これらは ω -水酸化酵素遺伝子CYP4F22(マウスではCyp4f39)⁵⁾、WE合成酵素遺伝子AWAT1とAWAT2⁶⁾、アシルCoA還元酵素FAR2⁷⁾です。CYP4F22/Cyp4f39

はOAHFA、タイプ1 ω /2 ω WdiE、コレステリルOAFHA中の ω -水酸化に関わり、AWAT1はOAHFA、タイプ1 ω WdiE中のエステル結合形成、AWAT2はOAHFA、タイプ1 ω /2 ω WdiE中のエステル結合形成(一部AWAT2と重複)、FAR2はWE、タイプ2 α /1 ω /2 ω WdiE中の1位アルコール産生に関わり、それらのKOマウスでは上述の脂質が減少あるいは消失していました(図3)。いずれのKOマウスもドライアイ表現型を示しましたが、程度には差があり、重篤な順にFar2 KO、Awat2 KO、Awat1 Awat2 二重 KO(DKO) > Elov1 KO > Cyp4f39 KO > Awat1 KO マウスでした。最も重篤なFar2 KO、Awat2 KO、Awat1 Awat2 DKOマウスではマイバム脂質の融点が著しく上昇して体温以上となり、固化することで開口部に詰まりが生じていました。これは主要なマイバム脂質であるCEとWEのうち、融点が低いWEの産生が損なわれたからでした。

涙液油層の異常がドライアイの主要な原因であるにも関わらず、涙液油層の異常を回復させる治療薬は存在しません。応用面では、ライオン株式会社との共同研究が目薬(OTC薬)の販売(2021年9月)につながりました。ミネラルオイルが配合された目薬です。共同研究と言っても我々はモデルマウスとしてElov1 KOマウスを提供しただけですが、Elov1 KOマウスにこの目薬を点眼すると、様々なドライアイの指標が改善されました⁸⁾。

研究というのは面白いもので、当初予想していたこととは全く違う方向に展開するものです。今回の研究ももとはなぜスフィンゴ脂質の脂肪酸鎖長は長いのかということ明らかにするために始めたわけですが、スフィンゴ脂質とは全く関係のないマイバム脂質とドライアイの研究に結びついたわけです。

	野生型	<i>Far2</i> KO	<i>Awat1/2</i> DKO	<i>Awat2</i> KO	<i>Elovl1</i> KO	<i>Cyp4f39</i> KO	<i>Awat1</i> KO
CE	○	○	○	○	短鎖化	○	○
WE	○	×	×	×	短鎖化	○	○
OAHFA	○	○	△	○	ND	×	△
1ω WdiE	○	×	×	△	ND	×	△
2ω WdiE	○	×	×	×	ND	×	○
2α WdiE	○	×	○	○	ND	○	○
C-OAHFA	○	ND	○	○	ND	×	○

図 3 ドライアイモデルマウス中でのマイバム脂質量

○, 正常; ×, 消失; △, 低下; ND, not determined; C-OAHFA, コレステリル OAHFA

参考文献

- 1) Ohno Y. *et al.* (2010) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 107, 18439–44.
- 2) Sassa T. *et al.* (2013) *Mol. Cell. Biol.*, 33, 2787–96.
- 3) Isokawa M. *et al.* (2019) *FASEB Bioadv.*, 1, 747–59.
- 4) Sassa T. *et al.* (2018) *FASEB J.*, 32, 2966–78.
- 5) Miyamoto M. *et al.* (2020) *eLife*, 9, e53582.
- 6) Sawai M. *et al.* (2021) *iScience*, 24, 102478.
- 7) Otsuka K. *et al.* (2022) *FASEB J.*, 36, e22216.
- 8) Watanabe K. *et al.* (2021) *Transl. Vis. Sci. Technol.*, 10, 21.

今回ご紹介したマイバム脂質の研究データは、生化学研究室の佐々貴之准教授と卒業生の宮本政宗君(57期)、澤井恵さん(59期)、大塚賢人君(63期)らの成果です。最後になりますが、同窓会の皆様のご健勝とご活躍を祈念致します。

同窓会 HP:2022年8月9日公開