



Title	HSP47 siRNA含有ビタミンA結合リポソームの点眼療法は慢性移植片対宿主病のドライアイ症状を改善する [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	大東, 寛幸
Description	配架番号 : 2447
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第13433号
Issue Date	2019-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/74335
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Hiroyuki_Ohigashi_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医 学） 氏 名 大東 寛幸

	主査	教授	橋野	聡
審査担当者	副査	教授	清野	研一郎
	副査	准教授	北村	秀光
	副査	教授	佐藤	典宏

学 位 論 文 題 名

HSP47 siRNA 含有ビタミン A 結合リポソームの点眼療法は慢性移植片対宿主病のドライアイ症状を改善する

(Ocular instillation of vitamin A-coupled liposomes containing HSP47 siRNA ameliorates dry eye syndrome in chronic graft-versus-host disease)

申請者は慢性移植片対宿主病（**graft-versus-host disease, GVHD**）の治療法として抗線維化治療に着目し、慢性 **GVHD** マウスモデルの涙腺に線維化が生じていること、**heat shock protein 47 (HSP47)**陽性線維芽細胞が線維化部位に集積していること、**vitamin A-coupled liposomes containing HSP47 siRNA (VA-lip HSP47)**を全身または局所投与することで **HSP47** 陽性線維芽細胞がノックダウンされ、線維化およびドライアイが改善することを発表した。

審査にあたり、まず副査の清野教授から慢性 **GVHD** の病態生理の一部に自己及びアロ反応性抗体による組織障害があると発表していたが、涙腺への抗体の沈着は認められたかという質問があった。申請者は眼慢性 **GVHD** において涙腺の導管に対する **T** 細胞を中心とした炎症細胞浸潤がきっかけとなり、線維芽細胞が活性化し線維化を生じること、自己及びアロ反応性抗体による涙腺組織障害については確認していないことを回答した。先行研究において皮膚慢性 **GVHD** では活性化した **T** 細胞がマクロファージを活性化させ、線維芽細胞を活性化させるとあったが、眼慢性 **GVHD** でもマクロファージの活性化が起きているのかと質問があり、申請者は今回の研究では検討していないが活性化マクロファージが涙腺においても線維化病態の形成に関与していると思われるかと回答した。副査の佐藤教授から慢性 **GVHD** というには早い時期の移植後 35 日目に評価しているが妥当であるのかと質問があり、申請者は **Masson trichrome (MT)**染色でコラーゲンの沈着が十分にあるため慢性 **GVHD** を反映していると回答した。移植後 35 日目よりも時期が経過し、強固になった線維化病変に対しても **VA-lip HSP47** は有効となり得るのかと質問があり、申請者は例えば骨髓線維症では鍍銀染色で染まる細網線維は生成されて間もない線維であり、線維化が進行するにつれて **MT** 染色で青く染色される膠原線維が増加する。この膠原線維による線維症を

改善させているので強固になった線維化にも有効であると推察するが、移植後 100 日目など後半の時期の解析は行っていないと回答した。VA-lip HSP47 はヒトの臨床試験が行われているが、本研究で使用している VA-lip HSP47 はそれと同じものであるか質問があり、申請者はヒト用とマウス用では siRNA の配列などが異なるため完全に同じ製剤ではないと回答した。慢性 GVHD の標準治療である副腎皮質ステロイドとの比較を行ったか質問があり、申請者は副腎皮質ステロイド点眼治療と VA-lip 点眼治療の比較をした際にステロイド点眼群で角膜潰瘍が出現し、ステロイド点眼の長期投与は感染リスクが高まるが、VA-lip 点眼では一度も起きたことがないと回答した。副査の北村准教授から VA-lip HSP47 の構造でリポソーム化している意義について質問があり、申請者は siRNA は RNA であるため体内で速やかに分解されてしまうがリポソーム化をすることで安定化させて標的臓器まで薬剤を到達しやすくするためであると回答した。近年、siRNA 製剤の中に安定性の高い製品が開発されているが、これらのリポソーム化されていない製品との比較を行ってリポソーム化していることの治療効果への影響を評価した実験を行ったか質問があり、申請者は siRNA 製剤が高額であることと VA-lip HSP47 で治療効果が確認できていたことから実験を行っていないと回答した。さらに VA-lip HSP47 は免疫系の細胞へ取り込まれている可能性がないのか質問があり、申請者は活性化線維芽細胞以外にもビタミン A を取り込む細胞があるため取り込まれている可能性があること、HSP47 はコラーゲン特異的分子シャペロンなので他の細胞への影響は少ないと思われることを回答した。主査の橋野教授から涙腺線維化とマイボーム腺機能不全のどちらが眼慢性 GVHD の主体なのかと質問があり、申請者はマイボーム腺機能不全が比較的新しい概念であるため研究段階であること、マイボーム腺機能不全を発症せずに眼慢性 GVHD を発症する患者もいるため、マイボーム腺機能不全は眼慢性 GVHD の形成に必須ではないと推察されるが、両者が共同して眼慢性 GVHD の形成に寄与していると回答した。実臨床では、点眼後にしばらく目頭を押さえることや目を閉じることで薬剤が鼻涙管から流出するのを防ぐが、今回の研究では具体的にどのように点眼したのかと質問があり、申請者はマウスをイソフルランで麻酔し瞬目を抑制してから点眼した実験と覚醒状態で点眼した実験で治療効果に差がなかったため覚醒状態で点眼治療を行なったと回答した。VA-lip HSP47 はドライアイでも有効であるかと質問があり、申請者は線維化においてコラーゲン生成において重要な分子である HSP47 を標的としており、他の臓器では慢性 GVHD 以外の病態による線維化への有効性が認められているため有効である可能性が高いと回答した。

この論文は、慢性 GVHD による臓器線維化に特化した治療を開発したという点において高く評価され、今後の実臨床への応用が期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や単位取得なども併せ、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。