



Title	アシルトランスフェラーゼAwat1およびAwat2が生み出すマイバム脂質多様性とドライアイ防止における役割 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	澤井, 恵
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(臨床薬学)
Dissertation Number	甲第14848号
Issue Date	2022-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/85648
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Megumi_Sawai_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（臨床薬学）氏 名 澤 井 恵

審査担当者	主 査	教 授	木 原	章 雄
	副 査	教 授	前 仲	勝 実
	副 査	准教授	黒 木	喜 美 子
	副 査	准教授	佐 々	貴 之

学 位 論 文 題 名

アシルトランスフェラーゼ *Awat1* および *Awat2* が生み出すマイバム脂質多様性とドライアイ防止における役割

博士学位論文審査等の結果について（報告）

マイバム脂質は眼瞼のマイボーム腺から分泌される脂質の総称であり、涙液の油層を構成する。涙液油層は涙液において水分蒸散防止、表面張力低下、適度な粘弾性の付与といった役割を担う。ドライアイ患者の約 8 割がマイボーム腺機能不全を示していることが報告されており、マイバム脂質の重要性が明らかになっているものの、その質や量を改善するような医薬品は未だ上市されていない。マイバム脂質の主成分はコレステリルエステルとワックスモノエステル（WE）であり、これら以外にも *O*-アシル- ω -水酸化脂肪酸（OAHFA）やエステル結合の向き・水酸基の位置が異なる 3 タイプのワックスジエステル（WdiE）などの多様なエステル分子クラスが存在する。これまでにコレステリルエステルについてはエステル結合を形成する酵素および生理的意義が明らかにされているが、その他のエステル分子クラスについては不明である。AWAT（Acyl-CoA wax alcohol acyltransferase）1 および 2 は、*in vitro* において WE 合成酵素活性を有することが報告されている。しかし、これらが WE、あるいは OAHFA、WdiE などのエステル結合含有マイバム脂質の産生に関与しているかは明らかにされていない。また、WE を含む多くのエステル結合含有マイバム脂質のドライアイ防止における役割は不明である。

本学位論文では、CRISPR/Cas9 システムを用いて *Awat1* および *Awat2* の各単独欠損マウスおよび *Awat1 Awat2* 二重欠損マウスを作製し、上記不明点の解明を試みた。マイボーム腺開口部の塞栓の有無、マイバム脂質の融点、瞬目回数、涙液安定性、眼表面からの水分蒸散といったマイボーム腺機能不全型ドライアイに関連した様々な指標について解析したところ、*Awat1* および *Awat2* の欠損は単独でマイボーム腺機能不全を引き起こし、特に *Awat2* の欠損が強い影響を及ぼすことが明らかになった。液体クロマトグラフィー連結タンデム質量分析（LC-MS/MS）によってエステル結合含有マイバム脂質をクラス・タイプごとに区別できる測定系を確立し、それを用いてマイバム脂質分析を行った結果、WE とタイプ 2 ω WdiE の産生に *Awat2* が中心的な役割を果たすこと、*Awat1* が OAHFA 産生において主に働き、*Awat2* も補助的に関与すること、タイプ 1 ω WdiE 産生において、*Awat1* と *Awat2* がそれぞれ異なる寄与を示すことが明らかになった。マイバム脂質で最も主要な WE が消失した *Awat2* 欠損マウスは激しいマイボーム腺機能不全を示し、OAHFA やタイプ 1 ω WdiE といった主要ではない分子クラスが減少した *Awat1* 欠

損マウスもマイボーム腺機能不全を示したことから、多様なエステル結合含有マイバム脂質がドライアイ防止に必須であることが明らかになった。

さらに本学位論文では、上述の測定系を用いることによってこれまで詳細な分析が行われていなかったヒト涙液中の WE, OAHFA, タイプ 2ω WdiE およびタイプ 1ω WdiE の包括的な測定を行った。その結果、一部の違いはあったものの、鎖長分布などはヒト・マウス間で概ね似ていることが明らかになった。

以上のように、本学位論文では *Awat1* および *Awat2* が WE を含む多くのエステル結合含有マイバム脂質の産生において重要かつ異なる寄与を示すこと、*Awat1* および *Awat2* によって産生されるマイバム脂質のドライアイ防止における役割を明らかにすることに成功した。また、ヒトとマウスの間でマイバム脂質の組成が似ていることを示し、*Awat1* 欠損マウスや *Awat2* 欠損マウスがマイボーム腺機能不全のモデル動物として有用であることを明らかにした。本学位論文の成果は、マイバム脂質の多様性とそれが生み出される機構を明らかにしただけでなく、マイバム脂質の質や量を改善するような新規治療薬開発への貢献が期待されるものである。以上のことから、著者が北海道大学博士（臨床薬学）の学位を授与される資格あるものと認める。