博 士 論 文 要 旨

網膜変性疾患の病態解明並びにその分子機構に関する研究

大野　雄太

網膜は外界から情報を得る器官として非常に重要であり、そのため網膜変性疾患を発症すると QOL が著しく低下する。網膜変性疾患の治療は病態の進行抑制が中心であり、治療薬が十分にないのが現状である。したがって、網膜障害モデル動物を用いた評価系の確立や神経保護作用のある機能性補助食品の評価、さらに薬剤開発には網膜機能のさらなる解明が必要であると考えられ、本研究では以下の検討を行った。

第 1 章　マウス網膜障害モデルの評価系確立と病態解明

光干渉断層計 (OCT) は生きたまま網膜を観察できるライブイメージング技術である。Volumetric OCT 画像から作製される網膜層の厚さマップ画像は、網膜眼底上のどの場所の厚さが変化したのかを視覚的に把握できるが、マウスにおいて厚さマップ画像の詳細な検討はされていない。そこでマウス *N*-methyl-D-aspartate (NMDA) 誘発網膜障害モデルにおいて volumetric OCT 画像を得て、神経節細胞複合体 (GCC) 厚マップ画像を作製した。その結果、GCC 厚マップ画像解析において、GCC 厚は NMDA 投与 1 日後に増加し、3 日から 1 か月後にかけて減少した。OCT 断層画像及び組織画像の GCC 厚においても同様の変化が認められた。OCT 断層画像と組織画像の GCC 厚は高い相関を示した。以上より、OCT を用いて GCC 厚マップ画像を作製することは実験的マウス網膜障害の評価に有用であることが示唆された。

第 2 章　マウス網膜障害モデルにおけるカロテノイド類クロセチンの薬効薬理作用

クロセチンは、クチナシ果実の黄色色素成分であり、機能性補助食品として用いられる。マウス NMDA 誘発網膜障害に対するクロセチン経口投与の作用を検討した。クロセチンは NMDA 誘発網膜神経節細胞死を抑制し、また TUNEL 陽性細胞数の増加を抑制した。クロセチンは NMDA による視機能の低下を抑制した。NMDA は、活性型カスパーゼ 3 の発現を増加させたが、クロセチンはこれを抑制した。以上より、クロセチンはカスパーゼ経路の阻害を介して NMDA 誘発網膜障害を予防することが示唆された。

第 3 章　マウス網膜のカルニチントランスポーターの同定及びその機能解析

カルニチンは抗酸化作用を有し、視細胞内の酸化ストレスに対して保護的な役割を

果たすと考えられる。カルニチンは親水性が高く、視細胞内への取り込みは特定の輸送機構が必要であるが、その輸送機構は特定されていない。そこでマウス錐体視細胞由来細胞株（661W 細胞）を用いて、カルニチン取り込み輸送機構の同定を試み、その輸送特性を調べた。カルニチンは飽和様式で 661W 細胞に輸送され、担体の関与が示唆された。その輸送特性は細胞外 pH および Na^+依存的であった。661W 細胞における既知のカルニチントランスポーターの mRNA 発現は非常に低く、カルニチントランスポーターの基質は取り込み活性を阻害しなかった。以上より、視細胞株である 661W 細胞が独自の分子ベースのカルニチン輸送系を有する可能性が高いことが示唆された。

以上、今回の一連の研究から、網膜変性疾患の治療のモデルとなるマウス網膜障害モデルや網膜の生理機能について新たな知見を得ることができ、本研究は網膜変性疾患の治療の発展に寄与するものであると考えられる。

[略語]
GCC: Ganglion cell complex
NMDA: *N*-Methyl-D-aspartate
OCT: Optical coherence tomography
QOL: Quality of life

論文審査結果の要旨

氏名（本籍）	大野　雄太　　（　岐阜県　）
学位の種類	博士（薬学）
学位記番号	乙　第 384 号
学位授与年月日	平成３０年９月２５日
学位授与の条件	学位規則第４条第２項該当者
学位論文の題名	網膜変性疾患の病態解明並びにその分子機構に関する研究
論文審査委員	（主査）井上　直樹
	（副査）福光　秀文
	（副査）臼井　茂之

本論文は、マウス網膜障害モデルでのイメージング技術を用いた評価系の確立や神経保護作用のある化合物の評価、網膜の生理機能解明を目的とした検討を行い、それらの成績をまとめたものである。

網膜障害の評価系確立では、生きたまま網膜を観察できるイメージング技術である光干渉断層計 OCT を用いて網膜の三次元画像を構築して得られた神経節細胞複合体厚マップが、マウス *N*-methyl-D-aspartate (NMDA) 誘発網膜障害モデルでの正確な障害評価に有用であることを明らかにした。神経保護作用のある化合物の評価では、機能性補助食品として用いられるクロセチンが、カスパーゼ経路の阻害を介してマウス NMDA 誘発網膜障害を予防することを明らかにした。網膜の生理機能解明においては、マウス錐体視細胞由来細胞株である 661W 細胞を用いて、カルニチン取り込み輸送機構の同定を試みた。その結果、既知の輸送特性に合致する輸送機構では説明できないマウス視細胞独自のカルニチン輸送系が存在する可能性が示唆された。

以上、本研究は、網膜変性疾患の治療のモデルとなるマウス網膜障害モデルや網膜の生理機能について新たな知見を得た。よって本研究は網膜変性疾患の治療の発展に寄与するものであると考えられ、博士（薬学）論文として価値あるものと認める。