

学位請求論文の内容の要旨

論文提出者氏名	機能再建・再生科学領域 視覚再建医学分野 氏名山内 宏大
<p>(論文題目) The spectral-domain optical coherence tomography findings associated with the morphological and electrophysiological changes in a rat model of retinal degeneration, Rhodopsin S334ter-4 rats (ロドプシン S334ter-4 変異ラットの網膜変性過程における光干渉断層像所見の解析)</p>	
<p>(内容の要旨：和文で 2000 字以内)</p> <p>【序論】近年の眼科画像診断の進歩は著しく、特に光干渉断層計（以下 OCT）は非侵襲的に網膜の層構造を撮影することができる有力な画像診断法となっている。網膜色素変性に対しても、網膜視細胞層の病的所見の把握や黄斑浮腫の診断に OCT は欠かすことのできない診断法となっている。しかし、OCT で観察される異常所見がどのような病理所見を表すものなのかについての詳細は、いまだ不明な点がある。我々は 2016 年に、網膜変性モデルの代表として <i>Mertk</i> 遺伝子の欠損変異をもつ Royal College of Surgeons (RCS)ラットを用い、網膜変性の進行がどのような OCT 所見を呈し、その所見が組織像および電顕像のどのような異常所見を反映するのかについて報告した。今回はそれに引き続き、既知遺伝子変異モデルとしてロドプシン遺伝子変異モデル S334ter トランスジェニックラット line4(S334ter ラット)を用いて、網膜変性の進行に伴う OCT 所見の変化を観察し、その組織所見や電顕所見と照合し、さらに網膜電図所見との関連性についても検討したのでその結果を報告する。このラットはヒトの常染色体優性網膜色素変性のモデルと見做すことができ、この病型の原因としてロドプシン遺伝子変異は最も頻度が高いことが知られているが、この変異をもつモデル動物の OCT 所見の解析は過去に報告がない。</p> <p>【目的】スペクトラルドメイン光干渉断層計(以下 SD-OCT)で観察される S334ter ラットの網膜変性の進行過程の特徴が、形態学的所見及び電気生理学的所見とどのように関連しているのかを明らかにすること。</p> <p>【方法】LaVail 博士(University of California, San Francisco)から供与された S334ter ラットを網膜色素変性モデルラットとして用いた。S334ter トランスジェニックラットの中では line4 が変性の進行の最も遅いグループとなる。対照として野生型の Sprague-Dawley ラット (以下野生型ラット)を用いた。SD-OCT 装置として Micron IV (Phoenix Research Labs 社)を用いて生後 13~110 日の S334ter ラットの、視神経乳頭の 1 乳頭径上方網膜を撮影し、その量的、質的变化を野生型ラットのそれと経時的に比較した。網膜各層の定量化のために、網脈絡膜を①網膜内層(網膜神経線維層～内顆粒層)、②網膜外層(外網膜層～外境界膜)、③光受容体層(視細胞内節外節接合部～視細胞外節端)および④網膜色素上皮・脈絡膜層の 4 層に定義した。次に SD-OCT 画像から網膜各層の厚さ計測のソフトウェアには InSight を用いた。生後 22、636、61 日のラットについては病理組織標本と電子顕微鏡標本を作成して SD-OCT と比較した。組織所見はヘマトキシリン・エオジン染色にて観察し、電子顕微鏡所見は透過型電子顕微鏡所見を解析した。更に変性網膜の各層の厚さと全視野網膜電図における a 波、b 波の振幅にどのような関連があるかも検討した。網膜電図は 24 時間暗順応後に 3.0 cd・sec/m² の緑色光による全視野刺激を行い、杆体・錐体最大応答を記録した。統計解析は two-way repeated ANOVA 解析を行い、その後の多重比較として Tukey の検定を行った。</p> <p>【結果】まず野生型ラットで得られた SD-OCT 像とその組織像を照合した。SD-OCT と</p>	

組織所見との対応から、ヒト黄斑部での OCT に対応する内節 ellipsoid zone や interdigitation zone と考えられる画像が分かり、内顆粒層や外顆粒層、および網膜色素上皮層も明瞭に観察されることが分かった。次に、野生型ラット網膜の OCT の経時変化を解析した。網膜各層における基本的な定性的所見は生後 19 日から 134 日でも変化はみられず、一定の所見を呈した。一方、SD-OCT で観察された S334ter ラットの光受容体内節外節層は一様に高輝度化していた。この変化は野生型ラットでは観察されなかった。この高輝度化は電子顕微鏡像における視細胞内節外節層の変性、及び光受容体間マトリックスにおける細胞外小胞状構造物の蓄積像に一致していた。定量的な解析では、S334ter ラットの網膜外層及び光受容体層は、野生型のそれと比較して統計的に有意な差をもって徐々に菲薄化していった。網膜電図の a 波、b 波は S334ter ラットにおいて著しく低振幅化していた。

【考察】SD-OCT を用いて S334ter ラットを撮影することにより、非侵襲的に網膜光受容体の病理学的変化と網膜変性過程における量的、質的变化に関する情報を得ることができた。網膜光受容体内節外節層の病理学的特徴は SD-OCT 像における光受容体層の高輝度化として捉えることができた。