

## 学位請求論文の内容の要旨

論文提出者氏名	感覚統合科学領域 眼科学分野 氏名 江目 孝幸
(論文題目) <b>Excess Glutamate May Cause Dilation of Retinal Blood Vessels In Glutamate/Aspartate Transporter-deficient Mice</b> (光干渉断層計を用いた Glutamate/Aspartate Transporter 欠損マウスの網膜層厚および網膜血管径の解析)	
(内容の要旨) <b>【序論】</b> 光干渉断層計 (optical coherence tomography、以下、OCT) は、非侵襲的に網膜断層像を評価できる画像診断ツールである。我々は近年、OCT 所見の病理形態を明らかにすることを目的に、各種眼疾患モデル動物において、OCT 所見と組織学的所見の関連について研究し報告している。 グルタミン酸は、網膜を含めた中枢神経系における主な興奮性神経伝達物質である。神経伝達で放出された細胞外グルタミン酸の取り込みは、細胞外グルタミン酸濃度の恒常性を維持するとともに、グルタミン酸によるシナプス伝達に必要不可欠な機構である。網膜には 5 種類のグルタミン酸トランスポーターが発現しており、なかでも Glutamate/Aspartate Transporter (以下、GLAST) は、ミュラー細胞に発現し、網膜における細胞外グルタミン酸の取り込みに寄与している。加えて、ミュラー細胞に取り込まれたグルタミン酸は抗酸化物質であるグルタチオンの基質にもなるため、GLAST に障害がある場合には、網膜内の細胞外グルタミン酸濃度が上昇するほか、グルタチオンの産生低下によって網膜内の酸化ストレスが高まる。 GLAST deficient mice (以下、GLAST <sup>-/-</sup> ) は正常眼圧緑内障および統合失調症のモデル動物として知られる。GLAST が欠損した網膜では、細胞外グルタミン酸濃度が上昇し、過剰なグルタミン酸によって神経興奮毒性が高まっている。さらに、グルタチオンの産生低下による酸化ストレスの増加も加わって、網膜神経節細胞の細胞死を引き起こし、眼圧非依存的に緑内障と類似の形態変化を示す。すなわち、網膜神経節細胞層および網膜神経線維層の菲薄化を起こす。 また、グルタミン酸は脳内における Neurovascular coupling のトリガーとしても知られ、神経興奮によって放出されたグルタミン酸は、脳内局所の血管を拡張させ、局所血流を増加させる。	
<b>【目的】</b> 本研究の目的は、眼底カメラおよび Spectral-domain OCT (以下、SD-OCT) を用いて、GLAST <sup>-/-</sup> の眼底所見、網膜断層像、そして網膜血管径の経時変化を観察し、形態学的に解析することである。	
<b>【方法】</b> 原田高幸博士 (東京都医学総合研究所、東京) から供与された GLAST <sup>-/-</sup> を用いた。対照として、野生型マウスである C57BL/6J (以下、野生型マウス) を用いた。SD-OCT は MicronIV <sup>®</sup> (Phoenix Research Labs社) を用いた。GLAST <sup>-/-</sup> は、生後 22-156 日の計 5 点において、眼底カメラで眼底写真を記録し、SD-OCT で視神経乳頭縁から 140μm 離れ	

た360° 網膜断層像を記録した。SD-OCTで記録した網膜断層像は、Insight<sup>®</sup> software programを用いて、網膜内側から①網膜神経線維層、網膜神経節細胞層、内網状層で構成される網膜神経節細胞複合体 (ganglion cell complex、以下、GCC)、②内顆粒層および外網状層、③外顆粒層、④視細胞内節および外節、⑤網膜色素上皮および脈絡膜の計5層に分けて、各層厚を計測した。網膜血管径はImage J<sup>®</sup> software programを用いて計測した。これらの結果をage-matchさせた野生型マウスと統計学的に比較検討した。網膜層厚についてはStudent's t-testを用い、網膜血管径についてはMann-Whitney U-testを用いた。加えて、SD-OCT所見は組織学的所見と比較した。

#### 【結果】

野生型マウスと比較して、GLAST<sup>-/-</sup>の網膜血管に拡張傾向がみられた。SD-OCT 所見による網膜血管径の解析では、44 日齢以降すべての観察点で統計学的に有意な拡張傾向がみられた (P44-114,  $P<0.001$ ; P156,  $P<0.05$ )。さらに、GCC および外顆粒層の層厚は、88 日齢以降すべての観察点で有意に菲薄化していた (GCC,  $P<0.01$ ; 外顆粒層,  $P<0.05$ )。この菲薄化は SD-OCT 所見よりも組織学的所見でより明らかであった。

#### 【考察】

我々は、GLAST<sup>-/-</sup>において、GCC の菲薄化のほか、網膜血管の拡張および外顆粒層の菲薄化の可能性を初めて報告した。外顆粒層は視細胞の核が存在する領域であるが、この領域にはグルタミン酸受容体は発現していないため、外顆粒層の菲薄化は過剰なグルタミン酸による神経興奮毒性ではなく、グルタチオンの産生低下による酸化ストレスの増加によるものと推察された。また、GLAST<sup>-/-</sup>における網膜血管の拡張は、過剰な細胞外グルタミン酸が網膜血管を拡張させている可能性を示唆するとともに、網膜のみならず、同じ中枢神経系である脳内においても血行動態に影響を及ぼしている可能性が考えられた。