

## 学位請求論文の内容の要旨

論文提出者氏名	感覚総合科学領域眼科学教育研究分野 氏名謝玉婷
(論文題目) A Spectral-Domain Optical Coherence Tomographic Analysis of <i>Rdh5</i> <sup>-/-</sup> Mice Retina ( <i>Rdh5</i> <sup>-/-</sup> マウス網膜の OCT 所見に関する研究)	
(内容の要旨) <p><b>背景：</b>白点状眼底 (Fundus albipunctatus, 以下 FA) は、遺伝性網膜変性疾患の一種で、非進行性の暗順応障害を主症状とし、眼底には傍黄斑部から中間周辺部にかけて多数の白点の散在を特徴とする稀な眼疾患である。FA は <i>RLBP1</i> や <i>RPE65</i> 遺伝子の変異と関連があるとの報告があるが、大部分の症例では <i>Rdh5</i> 遺伝子の変異により発症することが明らかにされている。<i>Rdh5</i> 遺伝子は、網膜色素上皮 (RPE) で主に発現する RDH5 エンザイムをコードし、ビタミン A の再生 (視サイクル) 過程で 11-cis retinol を 11-cis retinal に変換する反応を触媒する。視覚サイクルにて再生された 11-cis-retinal はロドプシンや錐体オプシンと結合して発色団として機能し、光エネルギーを電気信号に変換する最初の反応に直接関与する。</p> <p><b>目的：</b>FA のモデルマウスと考えられる <i>RDH5</i> ノックアウト (<i>Rdh5</i><sup>-/-</sup>) マウスを用い、スペクトラルドメイン光干渉断層計 (spectral-domain optical coherence tomography、以下 SD-OCT) で観察される <i>Rdh5</i><sup>-/-</sup> マウス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><b>方法：</b>網膜各層の定量化のために、マウス網脈絡膜を表層から順に A. 網膜内層 (網膜神経線維層～内顆粒層)、B. 網膜外層 (外網膜層～外境界膜)、C. 光受容体層 (視細胞内節外節接合部～視細胞外節端) および D. 網膜色素上皮・脈絡膜層の各 4 層に定義した。次に SD-OCT 画像から網膜各層の平均厚をソフトウェア InSight® を用いて算出した。生後月齢 (PM) 1 から PM6 までの 6 つの時点における SD-OCT 所見を組織標本と電子顕微鏡標本との間で定性的に比較した。Age-match させた C57BL / 6J マウスを野生型対照群として用いた。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刺激網膜電図における 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/m<sup>2</sup> 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。統計解析として各群間の比較には Student t-検定を行った。</p> <p><b>結果：</b>観察期間中、A 層および B 層は、<i>Rdh5</i><sup>-/-</sup> マウスにて野生型との比較で有意に菲薄化していた (<math>P &lt; 0.05</math>, 0.01, 0.001)。さらに C 層と D 層では <i>Rdh5</i><sup>-/-</sup> マウスでは野生型と比較して PM4 以降で有意に菲薄化していた (<math>P &lt; 0.05</math>, 0.01)。<i>Rdh5</i><sup>-/-</sup> マウスの眼底には月齢とともに増加する白点の沈着が観察されたが、この所見に対応する SD-OCT または組織所見を検出することはできなかった。しかし、電子顕微鏡所見では RPE 内に電子密度の低い液胞が蓄積しているのが観察された。外顆粒層における視細胞核は、<i>Rdh5</i><sup>-/-</sup> マウスの方が野生型に比較して密度が低い所見が得られた。電気生理学的検索では 2</p>	

群間で網膜電図の a 波と b 波両者の振幅に有意な差異はみられなかった。

**考察ならびに結論:** 今回の研究によってマウスの *Rdh5* 遺伝子変異によって引き起こされる網膜変性は実際にヒトでの臨床症例で観察される所見とは形態的および機能的に異なることが明らかになった。マウスにおける白点状沈着物は網膜色素上皮細胞内に蓄積する cis-retinyl ester などを内包した液胞である可能性があることが電子顕微鏡所見から考察された。一方、ヒト臨床例では白点状沈着物の生化学的性状は不明ではあるものの網膜深層内に散在することが SD-OCT によって報告されている。マウスではそのような所見は得られなかった。また網膜電図にてもマウスでは明らかな異常を示さず、ヒト臨床症例との差異は大きかった。これらの現象には視サイクルをめぐるヒトとマウスとの間の代謝経路の差異が関与しているのではないかと考えられる。マウスでは視サイクルに RDH5 のほかに RDH11 や RDH10 が補完的に働いていることが知られているので、たとえ RDH5 が欠失しても視サイクルへの影響はヒトほどではない可能性が高い。この点が本研究で得られた知見を説明できる理由ではないかと考えられる。それでも今回の SD-OCT を用いた研究により *RDH5*<sup>-/-</sup>マウス網膜における網膜各層の菲薄化が明らかとなったのに加えて、視細胞核の密度の減少、網膜色素上皮細胞内の液胞などの新規の定性的知見が明らかとなり、これらの所見から *RDH5*<sup>-/-</sup>マウス網膜においても視細胞の進行性変性の存在が示唆された。本研究により遺伝性網膜変性疾患の病態の理解が深まったものと考えられる。