

|           |  |
|-----------|--|
|           | あ ら い し ん い ち  |
| 氏 名       | 荒 井 紳 一  |
| 学 位       | 博 士 (医 学)  |
| 学 位 記 番 号 | 新大博(医)第1673号   |
| 学位授与の日付   | 平成17年 4月12日  |
| 学位授与の要件   | 学位規則第4条第2項該当   |
| 博 士 論 文 名 | Restoration of visual responses following transplantation<br>of intact retinal sheets in <i>rd</i> mice<br>(網膜色素変性症マウスにおける全層網膜移植後の視性<br>誘発電位の回復) |
| 論文審査委員    | 主査 教授 阿 部 春 樹<br>副査 教授 板 東 武 彦<br>副査 教授 澁 木 克 栄  |

#### 博士論文の要旨

##### 【目的】

網膜色素変性症モデルのマウス (*rd/rd* マウス) に対し胎児網膜を用いた全層網膜移植を行い、術後視機能および組織を精査し、視機能回復のメカニズムを検討する。

##### 【方法】

生後5週 (Postnatal day: PD 31-38) の *rd/rd* マウスの片眼に、胎生17日の Green Fluorescent Protein (GFP) マウスより摘出した胎児網膜をシート状に全層移植した。移植後4週後 (PD 59-76)、上丘より視性誘発電位 (VEP) を測定した。コントロールとして、(1) *rd/rd* マウス: Sham 手術施行群 (PD=63-65、N=5)、(2) *rd/rd* マウス: 手術非施行生後5週群 (PD34-35、N=4)、(3) *rd/rd* マウス: 手術非施行生後9週群 (PD=63-67、N=3)、(4) ワイルドタイプマウス (PD=63-67、N=3) の4群のマウスの VEP も同様に測定した。

眼球摘出後、Primary antibody として Protein Kinase C, Rhodopsin, Recoverin, Peanut Agglutinin を用いて免疫染色を施行し、共焦点顕微鏡を用いて組織を精査した。特にホスト網膜に残存する視細胞の評価のため、Recoverin 陽性の視細胞 (錐体と推測される) をカウントし、(1) VEP 陽性網膜移植施行群 (N=3)、(2) VEP 陰性網膜移植施行群 (N=4)、(3) Sham 手術施行群 (N=5)、(4) 手術非施行生後5週群 (N=2)、(5) 手術非施行生後9週群 (N=2) の各群で比較 (一元配置分散分析及び Student-Newman-Keuls 検定) を行った。

##### 【結果】

- 1) 視性誘発電位の回復: 網膜移植を施行した7眼中3眼(43%)において、移植片を挿入した網膜部位に対応する上丘部位より陽性の VEP が得られた。Sham 手術施行群、手術非施行の生後5週群及び9週群からは陽性の VEP は得られなかった。一方ワイルドタイプのマウスでは、上丘の全範囲より陽性の VEP が得られた。網膜移植をうけた3眼の VEP は、ワイルドタイプマウスと比較して VEP の振幅は減弱していたものの、潜時は近似していた。
- 2) 組織評価: 移植網膜は、ほぼ正常の層構造に分化したもの (laminated)、ロゼット構造を呈したもの

(Rosette)、そして全く層構造を示さないもの(disorganized)がみられた。VEP の改善と移植網膜の状態は相関せず、VEP 陽性であった3眼はいずれもロゼット構造を示し、良好な層構造を示した2眼はいずれも無反応であった。VEP 陽性の3眼においては、移植網膜に接するホスト網膜で recoverin 陽性の視細胞が有意に増加していた (vs 手術非施行生後5週群  $p < 0.01$ 、vs 手術非施行生後9週群  $p < 0.001$ 、vs sham手術施行群  $p < 0.001$ 、vs VEP 陰性網膜移植施行群  $p < 0.001$ )。

#### 【考案】

網膜色素変性症における網膜移植による視機能改善には、2つのメカニズムが考えられている。第一のメカニズムは、移植された網膜および視細胞が、残存するホストの網膜内層と機能的に連絡し新たな神経ネットワークを形成するというものである。第二のメカニズムは、移植網膜より放出されるサイトカインなどを介し、残存するホスト網膜の視細胞に対する救済効果である。

今回、VEP の回復は移植網膜の状態とは相関せず、また VEP の潜時の延長は認められず、さらに VEP 陽性群においてはホスト網膜の残存視細胞の増加が認められた。以上の結果より、VEP の回復はホスト網膜の残存視細胞に対する救済効果によるものと思われる。

#### 審査結果の要旨

網膜色素変性症は、網膜の視細胞層および色素上皮層が広範におかされる疾患であり、現在有効な治療法が確立されていない。本研究は、網膜色素変性症モデルのマウス (*rd/rd* マウス) に対し胎児網膜を用いた全層網膜移植を行い、術後視機能および組織を精査して、視機能回復のメカニズムを検討したものである。生後5週の *rd/rd* マウスの片眼に胎生17日の Green Fluorescent Protein マウスより摘出した胎児網膜をシート状に全層移植し、4週後上丘より視性誘発電位 (VEP) を測定した。網膜移植を施行した7眼中3眼 (43%) において、移植片を挿入した網膜部位に対応する部位より陽性の VEP を得た。コントロール群からは、いずれも陽性反応は得られなかった。組織評価においては、VEP の回復は移植網膜の状態とは相関せず、また VEP 陽性群においてはホスト網膜の残存視細胞の増加が認められた。これらの結果は、VEP 回復のメカニズムとして、網膜移植によるホスト網膜の残存視細胞に対する救済効果の可能性を示唆している。

本研究のように確立された網膜色素変性症モデルを用いて、シート状の全層網膜移植を行った報告は過去にない。本研究は今まで困難であった網膜色素変性症の治療に対し、網膜移植による治療法の可能性を示し、またその奏効メカニズムを検討したもので、この点に学位論文としての価値を認める。