

## 論文内容の要旨

### Contribution of N-Methyl-DL-Aspartic Acid (NMDA)-sensitive Neurons to Generating Oscillatory Potentials in Royal College of Surgeons Rats

(Royal College of Surgeons における律動様小波発生への N-Methyl-DL-Aspartic Acid (NMDA) 感受性ニューロンの関与)

(原田朋実, 町田繁樹, 西村智治, 黒坂大次郎)

(Documenta Ophthalmologica (投稿審査中))

#### I. 研究目的

網膜色素変性 (retinitis pigmentosa:RP) は, 遺伝性で進行性の視細胞変性をきたす疾患で, 視細胞の変性・脱落に伴ってその網膜機能は低下する. 網膜機能の評価法として網膜電図 (electroretinogram:ERG) が臨床および研究で用いられているが, ERG には網膜外層・中層および内層からの応答が含まれているので, ERG を解析することで網膜各層の機能を定量的に評価できる.

Royal College of Surgeons (RCS) ラットは, 自然発症の RP の動物モデルである. 我々は, RCS ラットでは網膜内層に由来する scotopic threshold response (STR) および photopic negative response (PhNR) の振幅が視細胞変性の早期には他の成分と比較して維持されることを報告してきた. 更に, これらの STR および PhNR の発生には N-Methyl-DL-Aspartic Acid (NMDA) 感受性ニューロンが関与することを報告してきた.

そこで今回は, STR および PhNR と同様に網膜内層に由来する律動様小波 (oscillatory potentials:OPs) に注目し, 視細胞変性の初期の OPs の変化ならびに NMDA 感受性ニューロンの OPs 発生への関与について検討した.

#### II. 研究対象ならび方法

Dystrophic RCS ラット (n=25) および日齢をマッチさせた wild type (WT) RCS ラット (n=25) を対象とした. Dystrophic RCS ラットの視細胞変性の早期である 25, 30, 35 および 40 日齢 (各日齢 n=5) を用いた. 12 時間以上の暗順応後に  $0.71 \log \text{cd-s/m}^2$  の刺激強度を用いて暗順応 ERG を記録した. 暗順応 ERG を記録する 30-90 分前に, 右眼には 3 次ニューロンの影響を阻害する目的で NMDA (5mM) を, 左眼には対照として生理食塩水を硝子体腔に注入した.

得られた ERG 波形から既方の通り a 波, b 波, OP 波の振幅を計測した. OP 波については OP1, OP2, OP3 および OP4 のそれぞれの潜時と振幅を計測し, それらの振幅の合計を  $\Sigma \text{OPs}$  とした. さらに, b 波と比をとり検討した.

また, OPs の波形を fast Fourier transform (FFT) を用い, 周波数特性を解析した.

#### III. 研究結果

1. WT RCS ラット及び Dystrophic RCS ラットの生理食塩水投与眼の ERG 波形に及ぼす日齢の影響

WT RCS ラットにおいては、本実験期間内で日齢による ERG 振幅の変化は見られなかった。一方、Dystrophic RCS ラットでは、a 波および b 波ならびに  $\Sigma$ OPs 振幅が低下した。また、 $\Sigma$ OPs/b 振幅比は、25 日齢では WT ラットと比較して差は無かったが、30 および 35 日齢で増加を示した。

## 2. WT RCS ラット及び Dystrophic RCS ラットの NMDA 硝子体投与による ERG 波形への影響

NMDA 硝子体投与により、WT RCS ラットでは、a 波、b 波および  $\Sigma$ OPs 振幅ならびに  $\Sigma$ OPs/b 振幅比には変化は認められなかった。しかし、OPs の頂点潜時は NMDA 硝子体投与で延長した。

一方、Dystrophic ラットでは、NMDA 硝子体投与により a 波振幅には変化はみられなかったが、b 波振幅は 30 日齢以上で有意に増大した ( $p < 0.05$ )。  $\Sigma$ OPs / b 振幅比は 25 日齢では差は無かったが、30 日齢以上では NMDA 投与で有意に減少した ( $p < 0.05$ )。また、OPs の頂点潜時は WT ラットの NMDA 硝子体投与眼と同様に延長した。

## 3. WT RCS ラット及び Dystrophic RCS ラットの NMDA 硝子体投与による FFT 曲線のピークおよび FFT 曲線の AUC への影響

FFT 曲線のピーク周波数は、NMDA 投与により 40 日齢で有意な低下を示した ( $p < 0.05$ ) が、AUC では、全日齢で変化しなかった。

一方、Dystrophic RCS ラットでは、FFT 曲線のピーク周波数は、25 および 30 日齢で有意に低下した ( $p < 0.01$ )。AUC は、特に 35 および 40 日齢では有意に減少した ( $p < 0.05$ )。

## IV. 結 語

Dystrophic RCS ラットの  $\Sigma$ OPs/b 振幅比は、25 日齢では WT RCS ラットと比較して差は無く、NMDA による影響は無かったが、視細胞変性の早期である 30, 35 日齢では NMDA 投与により減少した。

このことは、視細胞変性が始まると、OPs 波の発生に NMDA 感受性ニューロンが重要な役割を果たすことを示すとともに、視細胞変性の早期における Dystrophic ラットの網膜内層で機能変化が生じている可能性を示唆している。

## 論文審査の結果の要旨

### 論文審査担当

主査 教授 佐藤 洋一 (解剖学講座：細胞生物学分野)

副査 准教授 斎野 朝幸 (解剖学講座：細胞生物学分野)

副査 教授 黒坂 大次郎 (眼科学講座)

網膜色素変性は失明に至る疾患であり、治療法は未だ無い。進行を遅らせたり、停止させたりする治療法の開発には、変性が進行する前の初期の病態を明らかにすることが重要であり、著者らは、これまで網膜色素変性の動物モデルを用いて、初期の網膜内層の機能変化を検討してきた。今回著者らは、網膜色素変性の動物モデルである RCS ラットを用いて、網膜電図により網膜内層由来の Oscillatory potentials(OP 波) に注目し機能解析を行った。その結果、視細胞変性の初期では、変性の進行に伴い、網膜内層に機能変化が生じ、OPs 波発生に N-methyl-DL-Aspartic Acid (NMDA) 受容体が関与するようになることを明らかにした。この結果は、網膜色素変性の初期に NMDA 受容体を持つ神経細胞に機能的な可塑性がある可能性を示唆した。

本論文は、網膜色素変性初期の病態の一部を解明するとともに、治療法に結び付く重要な知見と思われ、学位に値する論文である。

## 試験・試問の結果の要旨

網膜色素変性の病態、研究方法の妥当性、研究結果の分析などにつき試問を行い、適切な解答を得た。学位に値する学識を有していると考ええる。

## 参考論文

- 1) Choroidal findings in idiopathic uveal effusion syndrome  
(特発性 uveal effusion 症候群における脈絡膜所見) (原田朋実, 他 4 名と共著)  
Clinical Ophthalmology, 5 巻 (2011)
- 2) Retinal ganglion cell function after repeated intravitreal injections of ranibizumab in patients with age-related macular degeneration  
(加齢黄斑変性症患者に対するラニビズマブ硝子体内注射反復投与後の網膜神経節細胞機能) (西村智治, 他 3 名と共著)  
Clinical Ophthalmology, 6 巻 (2012)