

# 学 位 論 文 要 約

博士論文題目 .....Artemin/GFR $\alpha$ 3 経路の視神経損傷後の軸索再生における役割

.....東北大学大学院医学系研究科.....医科学専攻

.....神経感覚器病態学講座.....眼科学分野

氏名.....面高 宗子.....

【目的】緑内障は本邦の失明原因の第一位を占め、高齢化社会において現在も増加し続ける重要な眼疾患である。通常眼圧を十分に下降させることにより進行を止めることが出来るとされている。しかし、本邦では眼圧が正常なタイプの緑内障（正常眼圧緑内障）が全緑内障の大半を占め、更に十分に眼圧下降を得られなくても視野障害が進行する症例が存在し、眼圧下降以外の新たな治療法の開発が急務である。緑内障は視神経乳頭篩状板部での軸索障害による網膜神経節細胞（RGC: retinal ganglion cell）死が主原因であり、神経保護治療の開発が期待されている。これまでに当教室では脳由来神経栄養因子（BDNF: brain-derived neurotrophic factor）を用いた治療開発を進めたが、軸索保護作用や長期的な効果が認められないことが明らかとなった。本研究では他の有力な神経栄養因子であるグリア細胞由来神経栄養因子（GDNF: glial cell line-derived neurotrophic factor）の治療応用への可能性について検討した。

【方法】成熟ラット（Sprague-Dawley rat, 200-240g）に視神経切断を行った。眼球後方から視神経を確認、視神経鞘を切除し視神経を露出した。眼球後壁から 1mm の部位で血管損傷ないように視神経のみを剪刀で切断した。軸索切断後 1, 3, 7, 10 日目の網膜を摘出し解析に用いた。生存 RGC 密度を測定するために、脳上丘に逆行性染色トレーサーであるフルオロゴールドを注入し、染色された RGC 密度を網膜伸展標本で顕微鏡下に計測した。RNA 発現変化は定量的 RT-PCR 法、蛋白の変化はウェスタンブロット法や免疫染色法で調べた。GDNF 関連分子の受容体である GFR $\alpha$ 1, 2, 3 の網膜における役割を調べるために、発達期の網膜で蛋白・RNA の経時的な発現変動を調べた。視神経切断で確認された GFR $\alpha$ 3 の劇的な発現増加の役割を検討するために、成熟ラット網膜の初代培養を用いて、GFR $\alpha$ 3 のリガンドである Artemin (ARTN) の RGC 生存のシグナル伝達経路や軸索再生作用を調べた。また、生体ラットを用いて GDNF 関連分子の軸索再生作用について、視神経挫滅後の瘢痕部位を乗り越えた再生軸索を計測した。

【結果】成熟ラットの視神経切断モデルにおいて、網膜 GFR $\alpha$ 3 の mRNA は 3 日後をピークに約 10 倍の遺

(書式 18) 課程博士  
伝子発現上昇を示した。また、網膜 GFR $\alpha$ 3 蛋白も有意に増加し、免疫染色では、その発現上昇は RGC に認められた。網膜 GFR $\alpha$ 3 の遺伝子発現は発達期の早期 (生後 7 日まで) に見られた。免疫染色法では GFR $\alpha$ 3 蛋白は主に網膜内層に強く認められた。GDNF 関連分子は *in vivo*、*in vitro* 共に RGC に対して神経保護作用を認めた。特に ARTN の網膜初代培養における RGC 生存維持には PI3K、MAKP が重要な働きをしていた。ARTN/GFR $\alpha$ 3 は生体成熟ラットにおいて、有意な軸索再生促進作用を有した。

【結論】 ARTN/GFR $\alpha$ 3 は軸索損傷後 RGC に対する神経保護作用と、他の GDNF 分子には認めない強力な軸索再生促進作用を有することが判明した。本研究の成果は、緑内障の神経栄養因子を用いた遺伝子導入による神経保護治療の開発に寄与する発見と考えられる。