



|                        |   |
|------------------------|---|
| Title                  | Impact of Proteasomal Dysfunction in Sensory Retina [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]  |
| Author(s)              | 安藤, 亮   |
| Citation               | 北海道大学. 博士(医学) 甲第11197号  |
| Issue Date             | 2014-03-25  |
| Doc URL                | <a href="http://hdl.handle.net/2115/55647">http://hdl.handle.net/2115/55647</a>   |
| Rights(URL)            | <a href="http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/">http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/</a> |
| Type                   | theses (doctoral - abstract and summary of review)  |
| Note                   | 配架番号 : 2069   |
| Additional Information | There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.  |
| File Information       | Ryo_Ando_review.pdf (審査の要旨)   |



[Instructions for use](#)

## 学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称      博士 (医 学)      氏名 安 藤 亮

主査 教授 畠 山 鎮 次  
審査担当者 副査 教授 岩 永 敏 彦  
副査 教授 石 田 晋  
副査 教授 田 中 真 樹

### 学位論文題名

Impact of proteasomal dysfunction in sensory retina  
(感覚網膜におけるプロテアソーム機能不全の影響)

ユビキチン-プロテアソーム (ubiquitin-proteasome system, UPS) は主要なタンパク質分解経路の一つであり、細胞内におけるタンパク質の品質管理に寄与している。UPS の機能不全はアルツハイマー病、パーキンソン病、ハンチントン病などの神経変性疾患に関与することが知られている。これらの報告から、UPS 機能低下は、原因が多岐にわたる網膜色素変性においてもその病態に関与していることが示唆される。UPS においてタンパク質分解を担う酵素複合体であるプロテアソームは3つのタンパク質分解サブユニット $\beta 1$ 、 $\beta 2$ 、 $\beta 5$ を有する。プロテアソーム機能低下が網膜色素変性に関与するかは興味深いが、 $\beta 1$ 、 $\beta 2$ 、 $\beta 5$ を含んだプロテアソームサブユニットの遺伝子を欠失させると胎生致死となるため、生体内でプロテアソーム機能を低下させることが眼組織にどのような影響を与えるかを検討した報告は今までになかった。近年報告された $\beta 5t$  トランスジェニックマウス ( $\beta 5t$ -Tg) は、本来胸腺に特異的に発現している $\beta 5t$  を全身に遺伝子導入することでプロテアソーム機能を低下させた遺伝子改変マウスである。今回、申請者はこの $\beta 5t$ -Tg マウスを用いて、プロテアソーム機能の低下が網膜にどのような影響をもたらすかを検討した。

$\beta 5t$ -Tg マウスはその littermate マウスと比較検討した。 $\beta 5t$  タンパク質について免疫染色およびウエスタンブロットでその発現を確認した。眼底カメラを用いて眼底検査を、ヘマトキシリン-エオジン染色で眼球組織切片の組織学的検討及び網膜厚野測定を、網膜電図をもちいて網膜機能の評価を行った。組織学的検討では、超薄切片の電子顕微鏡検査も行った。ロドプシントタンパク質の細胞内異所性の有無を検討する目的でその免疫染色を行った。細胞死の検出は TdT-mediated dUTP nick and labeling assay (TUNEL 法) と免疫染色 (カスパーゼ-3、カスパーゼ-9、apoptosis-inducing factor (AIF)) を組み合わせた。さらに、網膜抽出液中のカスパーゼ-3 とカスパーゼ-9 の酵素活性を測定した。

免疫染色とウエスタンブロットにより、 $\beta 5t$ -Tg マウスでは網膜全体に $\beta 5t$  が特異的に発現していることが確認され、 $\beta 5t$ -Tg マウスでは網膜での機能低下が起きていることが間接的に示唆された。 $\beta 5t$ -Tg マウスの眼底検査では白点が眼底に多発し、網膜萎縮や網膜動脈の狭細化がみられた。網膜の組織学的検討では $\beta 5t$ -Tg マウスの内顆粒層厚は対象マウスと差がなかったのに対し、外顆粒層厚は非薄化していた。この結果に一致して、網膜電図では a 波の振幅が $\beta 5t$ -Tg マウスで有意に低下していた。視細胞におけるロドプシンタンパク質の細胞内異所性を確認したところ、異常は検出されなかった。TUNEL 染色では $\beta 5t$ -Tg マウスの網膜外層に陽性細胞を有意に多く認めた。視細胞死の経路の検討では、 $\beta 5t$ -Tg マウスにおける切断型カスパーゼ-3 及び 9 の免疫染色と TUNEL の共染色を行ったが、同一細胞での染色はみとめなかった。 $\beta 5t$ -Tg マウスにおいて、網膜抽出液におけるカスパーゼ活性の増加もみとめなかった。AIF 免疫染色では、TUNEL 陽性細胞に AIF の核移行がみとめられ、 $\beta 5t$ -Tg マウスの視細胞師にはカスパーゼ非依存性細胞死経路が関与していることが示唆された。

審査にあたり、副査田中真樹教授からプロテアソーム機能低下が神経節細胞ではなく視細胞に影響を与えた理由に関する質問や動脈狭細化に関する質問があった。申請者は、視細胞におけるタンパク質産生量の重要性と視神経変性の二次的な変化の重要性を回答した。次いで、副査岩永教授から組織病理学的評価と TUNEL 染色に関する質問があった。申請者は、TUNEL 染色における染色パターンの多様性が存在したと回答した。副査石田教授からは、今後の本研究の発展性に関する質問があった。申請者は、網膜色素変性症において重要な研究になる可能性があるとは回答した。最後に主査畠山教授から、プロテアソーム阻害剤による視細胞変性の可能性に関する質問があった。申請者は、脳血管閉塞等による影響の考慮が必要と回答した。

この論文はプロテアソーム機能の低下により網膜視細胞の細胞死が惹起されることを初めて示した研究である。本結果はヒト網膜色素変性の病態にプロテアソーム機能低下が関与している可能性を示唆しており、プロテアソーム活性の調節が今後の治療標的として期待される。

審査員一同はこれらの成果を評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ申請者が博士（医学）の学位を受ける資格を有すると判定した。