

網膜色素変性におけるTGF- β signalingと 新規治療ターゲット



東京大学大学院医学系研究科眼科学 助教 上田 高志

【背景】

遺伝性網膜変性はヒトにとって重大な失明原因ですが、未だ有効な治療法は実現していないのが現状です。遺伝性網膜変性は遺伝子異常によって視細胞死がおこる病態であり、隣接する網膜色素上皮（RPE）にも二次的に変性がおこると考えられていますが、RPEでの変化についての詳細な検討はこれまでになされてきませんでした。しかし、RPEについての検討を行うことは、昨今脚光をあびている遺伝子治療や再生医療の実現においても意味のあることと考えられます。つまり、変性が進行している視細胞に正常遺伝子を導入したり、再生した視細胞を移植することで治療できるのではないかと期待されていますが、暗黙の前提になっていることは、RPEが正常に温存されていることです。視細胞とRPEは隣接する細胞で、互いに密接に応答しながら視機能を維持しているため、正常なRPEがなければ視細胞を維持することはできない可能性が考えられます。また、本研究課題では、RPEでの形質変化が視細胞死という網膜変性の病態本体へ影響を及ぼす可能性についても検証しました。

【目的】

網膜色素変性における網膜色素上皮（RPE）の形質変化を明らかにし、網膜色素変性におけるTGF- β シグナルの役割について検証すること。また、網膜色素変性の新規の治療ターゲットを明らかにすること。

【結果】

本研究では、ヒト遺伝性網膜変性と同じ病態であるマウス遺伝性網膜変性の一つであるRD1マウスを実験検討に用いました。まず、遺伝性網膜変性におけるRPE細胞の形質変化を検討しました。mRNA、タンパク質レベルで、進行した網膜変性マウスのRPEでは、上皮系マーカーの発現はむしろ亢進していました、一方で、間葉系マーカー（alpha SMA, Vimentin, Myosin1等）の発現も顕著に上昇していることが分かりました。一般的に、上皮間葉移行の現象にはTGF- β やBMPなどのTGF- β スーパーファミリーが重要な役割を担っていますが、RD1マウスにおけるRPEでの変化においてもTGF- β やBMPの発現亢進を確認しました。また、また、RPE細胞は視細胞外節を貪食することによって視細胞の機能維持を補助していますが、RD1マウスのRPE細胞は視細胞外節の貪食能を喪失していることも確認されました（図1）。

このRD1マウスRPE細胞でのTGF- β やBMPの発現上昇は視細胞死が顕著になる生後13日目以降に認めました。そこで、TGF- β やBMPを含むTGF- β スーパーファミリーによるシグナルが視細胞死という病態の本体に影響を与えている可能性について検討するため、TGF- β シグナルの阻害剤（SB431542, DMH1）を生後13日目以降にRD1マウスの眼内に投与（硝子体注射）し、生後16日目に網

膜変性の進行程度を検討しました。すると、図2に示すように、SB431542やDMH1を投与したRD1マウスでは視細胞層の減少が抑制されていました。さらに、遺伝性網膜変性において視機能の予後を左右する錐体視細胞の残存程度についても検討したところ、これらの阻害剤を投与したRD1マウスでは錐体視細胞の外節がより長く残存していることを確認しました。今後さらに視機能の改善の有無があるかどうか電気生理学的な検討を行い、研究報告を行っていく予定です。

【謝 辞】

本研究は公益財団法人難病医学研究財団による研究助成によって遂行することができましたことを心より感謝申し上げます。

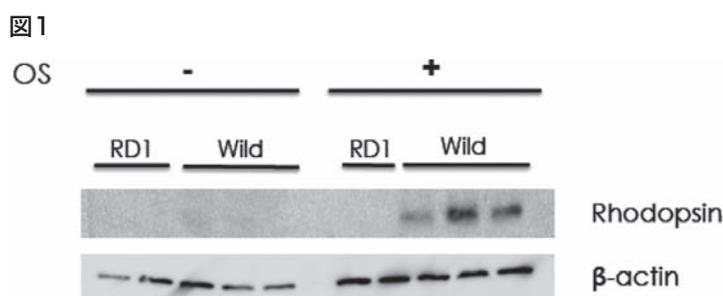


図1 RD1マウス、wild-typeマウスのRPEを含む組織 (eye cup) をex vivo培養し、視細胞外節 (OS) を付加した。組織を洗浄後、homogenizeしてwestern blotを行った。RPEがOSを貪食したことは、western blotでrhodopsinのバンドが観察できるかどうかで判定した。RD1マウスRPEではOSを付加してもrhodopsinのバンドは観察されず、RD1マウスRPEがOSを貪食する機能を失っていることが分かる。

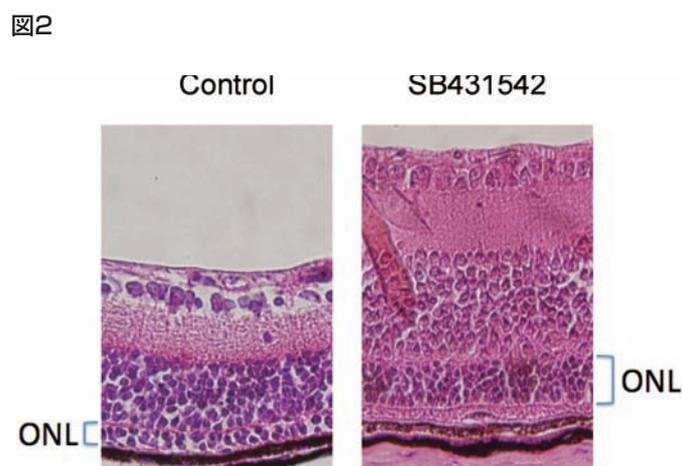


図2 視細胞は網膜ONL層に核が観察されるが、SB431542を眼内投与したRD1マウスでは視細胞死が抑制されていることが分かる。