

## 学位論文審査の結果の要旨

平成 30年 6月 13日

審査委員	主査	平野 勝也		
	副主査	田宮 隆		
	副主査	山本 融		
願出者	専攻	分子情報制御医学	部門	病態制御医学
	学籍番号	12D732	氏名	小野 葵
論文題目	Gene expression changes in the retina after systemic administration of aldosterone			
学位論文の審査結果	<input checked="" type="radio"/> 合格	・	<input type="radio"/> 不合格	(該当するものを○で囲むこと。)

〔 要 旨 〕

【背景】眼局所には網膜や毛様体に組織RAAS関連分子が存在しており、アルドステロンの全身投与後、眼圧上昇を伴わずに網膜神経節細胞（RGC）の減少が起こることを以前報告した。眼圧と独立して起こる細胞死のメカニズムを解明するためにアルドステロンの全身投与後における網膜の遺伝子発現の変化について調べた。

【対象と方法】正常ラットと80μg/kg/dayのアルドステロンを全身投与したラットについて7日後に網膜を採取。両群間における遺伝子発現の増減をマイクロアレイ解析にて調べ、それらの遺伝子についてRT-PCRで定量し、in situ hybridization（ISH）にて網膜内での遺伝子発現部位を確認した。

【結果】マイクロアレイ解析では24遺伝子で発現増加、24遺伝子で発現減少が見られた。RT-PCRでは4遺伝子で発現増加、12遺伝子で発現の減少を認めた。ISHでは網膜神経節細胞層にCdkn1aで発現シグナルの増加を認めたが、Pf4とVdrでは認めなかった。

【考案】アルドステロン投与ラットにおけるRGC障害は、NADPH oxidase pathwayを介してROS依存的にアルドステロンによって誘導された可能性を報告している。RT-PCRで発現の増減が見られた16遺伝子のうち、Cdkn1a、Pf4、VdrがNADPH oxidase pathwayを介した細胞死に関連する可能性が考えられた。ISHでCdkn1aのみで網膜神経節細胞層にシグナルの増加が見られたことから、NADPH oxidase pathwayを介したRGC死にはCdkn1aが関連している可能性が示唆された。

【結論】全身的なアルドステロン投与後にいくつかの遺伝子で著明な増減が見られた。中でもCdkn1aがRGCのアポトーシスに関与している可能性が示唆された。

平成30年6月13日に行われた学位論文審査委員会においては、以下に示す様々な質疑応答が行われたが、それぞれに対して適切な回答が得られた。

1. アルドステロンの溶媒はなにか。
2. Fig. 1についてアルドステロンの投与期間はどれくらいか。
3. マイクロアレイの結果ではアルドステロン投与後1週から様々な変化があるよう。遺伝子変化から病態が起こるまでどのように考えるか。
4. 遺伝子をアルドステロン投与後1週で調べた理由、根拠はなにか。
5. 本研究におけるVdrについての考察はどのようなものか。
6. Cdkn1aが p 53を介しているというデータはあるか。
7. Down regulationについての考察は。
8. RT-PCRでPff4が上昇するというのは教科書的なことか。
9. 2w、3w、4w後でRT-PCRをすると、更に発現が強くなるとか弱くなるかはなかったか。
10. 良い抗体があると思うので抗体染色をするとよかったのではないか。VdrがRGCに発現していないというには抗体染色をしたらはつきりしたでしょう。
11. マイクロアレイとRT-PCRで使用したサンプルは同じものか。
12. In situ hybridizationのモデルは野生型？
13. Cellのポピュレーションはどのようにになっているか。
14. アルドステロンの役割をどのように考えるか。動物モデルではなく、ヒトにおいて報告例はあるのか。

本論文はアルドステロンによる網膜神経細胞障害のメカニズムを解明することを目的とした研究である。結果に対する十分な考察もなされている。本研究で得られた成果は網膜神経細胞死のメカニズム解明に重要であり学術的価値も高い。委員会の合議により、本論文は博士（医学）の学位論文に十分値するものと判定した。

掲 載 誌 名	Japanese Journal of Ophthalmology 第62巻, 第4号		
(公表予定) 掲 載 年 月	2018年 7月	出版社(等)名	Springer

(備考) 要旨は、1, 500字以内にまとめてください。