

[ 別紙 2 ]

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 宮本 実

眼は外界からの光刺激を神経信号に変換して脳へと伝達する役割を担っており、この過程でも重要な役割を果たしているのは網膜である。哺乳類の網膜には高感度であるが色選別機能がな  
い杆体と低感度であるが色選別機能のある錐体の2種類の視細胞が存在する。この視細胞の機能  
と生存に重要な役割を果たしているタンパクをコードした遺伝子の変異によって様々な網膜疾  
病が誘発されるので、遺伝子変異によってヒト網膜疾患と類似した病態を示す動物モデルは、疾  
患の発症メカニズムの解析や治療法の開発に有益である。

申請者は、フラッシュ網膜電図検査で杆体と錐体の網膜機能の顕著な低下が検出されたにもか  
かわらず眼底検査で網膜形態に異常が認められない雄性 ICR 系マウスを1匹発見した。この突然  
変異マウスをもとに兄妹交配を繰り返して重度網膜機能低下を示す ICR-derived retinal  
dysfunction (IRD) 1 マウスと軽度網膜機能低下を示す IRD2 マウス系統を確立した。本研究で、  
これらの自然発生性遺伝性網膜変性マウスにおける網膜異常の特徴を明らかとし、その原因を究  
明した。

はじめに、出生後から18月齢まで経時的に網膜の形態と機能を精査した。光学顕微鏡と透過  
型電子顕微鏡のいずれを用いた観察でも3月齢までは視細胞の形態と数を含めて網膜形態に異  
常は認められないことがわかった。6月齢になると網膜変性をはじめた。すなわち両系統とも  
視細胞がアポトーシスを開始し、順次減少して18月齢までに消失してしまった。このように視  
細胞の形態異常は6月齢からはじまったが、機能は幼若期から低下しはじめていた。すなわち、  
IRD1 マウスでは杆体と錐体の両機能の著明な低下が幼若期から認められること、IRD2 マウスで  
は杆体機能は幼若期から低下しているが錐体機能は視細胞アポトーシスがはじまる6月齢まで  
は正常であることが明らかとなった。

ついで、交配実験を行って網膜機能異常の遺伝様式を調べた。両系統とも遺伝様式は常染色体

劣性遺伝であり、IRD1 と IRD2 マウスは同じ杆体機能に関連した遺伝子の変異によって杆体機能不全を呈していること、この変異に加えて IRD1 マウスでは錐体機能に関連した遺伝子の変異も有していることがわかった。また両系統を遮光下で飼育し続けたが、網膜変性の進行は止まらず、光感受性の亢進に起因しない遅発性かつ進行性の変性であることが明らかとなった。

さいごに、これらの自然発生性遺伝性網膜変性の原因遺伝子を探索し、両系統で共通してみられる杆体機能不全は、杆体光伝達カスケード関連タンパクのひとつである  $\alpha$  サブユニット (Tr  $\alpha$ ) タンパクをコードする Gnat1 遺伝子の変異に起因することを明らかにした。両系統ともに Tr  $\alpha$  の exon 4 と exon 5 との境界に 48 bp の挿入配列が存在し、これによって codon 150 が TAC (チロシン) から TAG (終止コドン) に変わる nonsense mutation が生じた。このように Tr  $\alpha$  mRNA は途中で終止コドンを含むにもかかわらず truncated Tr  $\alpha$  タンパクは検出されなかった。Gnat1 遺伝子の intron 4 近傍の配列をより詳細に調べたところ、splice donor site の最後の 2 bp を含む計 57 bp の欠損があることがわかった。これによって intron 4 が splice out されなくなって exon 4 と exon 5 との境界に 48 bp の挿入配列が残存してしまったものと考えられた。Tr  $\alpha$  の mRNA とタンパクは各々 *in situ* hybridization と免疫染色でも検出できなかった。

このように本研究によって、申請者が発見した自然発生性遺伝性網膜変性 IRD1 および IRD2 マウスは、各々杆体と錐体の機能不全および杆体の機能不全を呈すること、両系統の杆体機能不全は Gnat1 遺伝子の nonsense mutation による Tr  $\alpha$  タンパクの欠損によって引き起こされることがわかり、このモデル動物はヒト遺伝性網膜疾患の発症機構解析や治療法開発に有用であると考えられた。申請者が発見した自然発生性遺伝性網膜変性マウスの特徴と分子発症機構を含む研究業績をとりまとめた論文の内容および関連事項について試験を行った結果、審査委員一同が博士 (農学) の学位を受けるに必要な学識を有する者と認め、合格と判定した。