

(別紙様式第3号)


論 文 要 旨

論 文 題 目

Proteomic Analysis of Rat Retina in a Steroid-Induced Ocular Hypertension

Model: Potential Vulnerability to Oxidative Stress

(ステロイド誘発高眼圧ラットモデルにおける網膜のプロテオミクス  
解析：酸化ストレスに対する脆弱性)

氏名 宮良孝子 

## (目的)

緑内障は慢性神経変性疾患で、眼圧上昇が主な危険因子であり、網膜視神経障害から失明に至る。ステロイド緑内障はステロイド投与により眼圧上昇が誘発される状態で、高度な緑内障性視神経障害に至ることも多い。今回我々は、ステロイド緑内障の視神経障害発症機序の手がかりを得るため、ステロイド誘発高眼圧ラットモデルと正常ラットとの網膜についてプロテオミクス解析を行った。

## (方法)

ステロイド誘発高眼圧ラットモデルを4週間のステロイド点眼により作成した。高眼圧ラットと対照ラットの網膜蛋白質を抽出し蛍光標識二次元電気泳動法 (2-D DIGE) で蛋白質発現プロファイルを比較した。発現量に増減の認められた蛋白質スポットからオンメンブレン消化法でペプチドを回収してマトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析 (MALDI-TOF/MS) 法に供し、ペプチドマス

フィンガープリント法により蛋白質を同定した。

(結果)

ステロイド誘発高眼圧ラットの網膜で、四つの蛋白質に発現変化を認めた。質量分析の結果、高眼圧ラットで発現増加を示した蛋白質は apolipoprotein A1 (apoA1)、発現減少を示した蛋白質は alpha A crystallin (CRYAA)、superoxide dismutase 1 (SOD1)、および triosephosphate isomerase 1 (TPI1) であった。

(考察)

CRYAA、SOD1 の発現減少は酸化ストレスに対する神経細胞の脆弱性に直接関与する。また TPI1 の発現減少は酸化ストレスと相乗的に作用して神経変性に関与するとされる。従って、ステロイド誘発高眼圧下では酸化ストレスが主に網膜視神経障害の引き金となる可能性がある。また、apoA1 の発現増加をはじめ四つの蛋白質の発現変化については高眼圧と共にステロイドの直接的な影響も考えられる。今回は

高眼圧誘発早期の解析であったが、今後は長期高眼圧状態での検討や組織学的検討も必要である。

(別紙様式第7号)

## 論文審査結果の要旨

報告番号	* 課程博 論文博	第 号	氏 名	宮良 孝子
		審 査 日	平成 19 年 11 月 26 日	
論文審査委員		主 査 教 授	鈴木 幹男 (印)	
		副 査 教 授	須加原 一博 (印)	
		副 査 教 授	山本 秀幸 (印)	
( 論 文 題 目 )				
Proteomic Analysis of Rat Retina in a Steroid-Induced Ocular Hypertension				
Model: Potential Vulnerability to Oxidative Stress				
(論文審査結果の要旨)				
上記の論文に関して、研究に至る背景と目的、研究内容、研究成果の意義と学術水準について慎重に検討し、以下のような審査結果を得た。				
1. 研究の背景と目的				
緑内障は我が国における失明原因の上位を占め、網膜視神経障害から失明に至る。ステロイド緑内障はステロイド投与により眼圧上昇が誘発される病態で、高度な緑内障性視神経障害に至ることも多い。著者らはステロイド緑内障の視神経障害発症機序の手がかりを得るため、ステロイド誘発高眼圧ラットモデルと正常ラットとの網膜におけるタンパク発現についてプロテオミクス解析を行った。				
2. 研究内容				
ステロイド点眼高眼圧ラットモデルを作成し、高眼圧ラットと対照ラットの網膜蛋白を抽出し、蛍光標識二次元電気泳動法で蛋白質発現を比較した。その結果、ステロイド誘発高眼圧ラットの網膜で四つの蛋白質に発現変化を認めた。それら蛋白質スポットからオンメンブレン消化法でペプチドを回収してMALDI TOF/MSで質量分析を行い、ペプチドマスフィンガープリント法により蛋白質を同定した。高眼圧ラットで発現増加を示した蛋白質はapolipoprotein A1、発現減少を示した蛋白質はalpha A crystallin (CRYAA)、				

superoxide dismutase 1 (SOD1)、および triosephosphate isomerase 1 (TPI1) であり、CRYAA、SOD1、および TPI1 については、過去の報告とも矛盾しない。small heat shock protein ファミリーに属する CRYAA、抗酸化酵素である SOD1 の発現低下は酸化ストレスに対する神経細胞の防御力低下に直接関与する。また、酸化ストレス下において解糖系酵素の TPI1 の発現減少は糖化産物である advanced glycation end products (AGEs) を蓄積させる可能性がある。AGEs はそれ自体で酸化ストレスを増大することから、ステロイド誘発高眼圧では酸化ストレスが主に網膜視神経障害の引き金となる可能性がある と結論した。

### 3. 研究結果の意義と学術水準

本研究は、ステロイド誘発高眼圧ラットモデルでの網膜蛋白質をプロテオミクス解析した初めての報告で、ステロイド誘発高眼圧早期では酸化ストレスに対する防御力が低下している状態であることを見出し、ステロイド緑内障における網膜神経障害の機序を解明する端緒となる有意義で高い水準にある研究と考えられる。

以上により、本論文は学位授与に十分に値するものであると判断した。

- 備考
- 1 用紙の規格は、A 4 とし縦にして左横書きとすること。
  - 2 要旨は800字～1200字以内にまとめること。
  - 3 \*印は記入しないこと。