

論文の内容の要旨

氏名：中 井 郁 華

専攻分野の名称：博士（医学）

論文題名：Tight junction component protein claudin-1 deficiency in retinal pigment epithelium leads to early and intermediate age-related macular degeneration phenotypes in mice.

(マウス網膜色素上皮におけるタイトジャンクション構成タンパク質クローディン-1欠損は初期及び中期加齢黄斑変性様の表現型を引き起こす)

網膜色素上皮(retinal pigment epithelium: RPE) 細胞は神経網膜と脈絡膜の間に位置する単層上皮細胞であり、脈絡膜血管によって栄養されている。RPE の隣接する細胞同士は密接し、外側血液網膜関門を形成することで、神経網膜-脈絡膜間の液体や栄養素、酸素、代謝産物の輸送を選択的に行う。外側血液網膜関門のバリア維持は膜貫通タンパク質と細胞質足場タンパク質で構成されたタイトジャンクションが主に担っている。ヒトでは外側血液網膜関門のバリア破綻が加齢黄斑変性(age-related macular degeneration: AMD)、中心性漿液性脈絡網膜症、糖尿病網膜症等の網膜疾患における漿液性網膜剥離などの滲出性変化の形成と、それに伴う視力低下へ関与することが示唆されている。膜貫通タンパク質の一つであるクローディンの *in vivo* 外側血液網膜関門での発現パターンやその機能はいまだ不明な点が多く、RPE におけるクローディン-1 と加齢の関連に関しては報告がない。本研究は第一に、外側血液網膜関門のバリア破綻と脈絡膜中大血管の透過性亢進が発症の原因 (Eandi CM et al., 2005) とされている中心性漿液性脈絡網膜症の動物モデルを構築することを目的に開始した。外側血液網膜関門を構成するクローディンの発現には種の特異性があり、ヒト外側血液網膜関門の調整に働いていると培養細胞研究から明らかになっているクローディン-19 はマウス RPE には発現しない(Peng S et al., 2011)。本論文ではマウス RPE におけるタイトジャンクション構成タンパク質クローディンの発現を明らかにし、最も多く mRNA が発現していたクローディン-1 の RPE での機能を、RPE 特異的クローディン-1 欠損マウスを用いて検討した。結果、成体野生型マウス(C57BL/6) から分離した RPE より合成した cDNA の定量 PCR では、*Cldn1* から *Cldn27* の中で *Cldn1* 遺伝子が最も高い発現を認めた。RPE 特異的に *Cldn1* 遺伝子をノックアウトしたコンディショナルノックアウトマウス(*Best1-Cre⁺ Cldn1^{lox/lox}* mice: *Cldn1* cKO マウス)を作成し、表現型を検討した。成体 *Cldn1* cKO マウスは網脈絡膜の菲薄化と RPE 細胞の多角化や密度低下、大小不同といった加齢性変化を示した。また *Cldn1* cKO マウスは光頭的に局所的な RPE の過形成と電頭的に RPE の重層化やメラニンの細胞外脱出といった RPE の異常所見(pigmentary abnormalities) を示した。加えて、*Cldn1* cKO マウスでは電頭的にリポフスチンの異常な蓄積と Basal lamellar deposits (BlamD)、ブルッフ膜外側膠原繊維層への脂質様沈着、Subretinal drusenoid deposits (SDD)といった加齢関連細胞外脂質沈着物が観察された。一方 *Cldn1* cKO マウスでは漿液性網膜剥離や嚢胞様黄斑浮腫といったヒト網膜疾患で度々観察される網膜浮腫は形態学的に認めなかった。さらに、外側血液網膜関門から網膜側への顕著な FITC-dextran 漏出の増加も成体マウスでは認めなかった。これらの結果から、クローディン-1 は、マウス RPE のタイトジャンクションにおいて、クローディンファミリーの中で最も豊富に発現していること、RPE 特異的クローディン-1 欠損マウスは、RPE の pigmentary abnormalities と加齢関連脂質代謝異常によって示される初期及び中期 AMD の表現型を呈することが明らかになった。*Cldn1* cKO マウスのさらなる解析は、AMD の発症および進行の病態解明に寄与する可能性が示唆された。