

厚生科学研究費補助金(感覚器障害研究事業)

小児・若年者の難治性網膜疾患の原因と治療  
に関する研究

(課題番号H12-感覚器-006)

平成12年度 総括・分担報告書

平成13年(2001年)3月

主任研究者 東 範 行  
(国立小児病院眼科医長)

## 目 次

### I. 総括研究報告書

小児・若年者の難治性網膜疾患の原因と治療に関する研究

(課題番号H12-感覚器-006)

主任研究者 東 範行 国立小児病院 眼科

1

### II. 分担研究報告書

1. 遺伝性網膜形成異常の遺伝子解析と疾患の原因解明に関する研究

東 範行 国立小児病院眼科医長

5

2. 遺伝性網膜疾患の遺伝子解析とその遺伝カウンセリングへの応用に関する研究

奥山虎之 国立小児病院小児医療研究センター  
先天異常研究部奇形研究室

8

3. 小児・若年者の眼底検査に関する研究

野田 徹 国立病院東京医療センター 眼科

12

4. 無症候性網膜剥離に関する研究

柳田 隆 国立金沢病院眼科医長

16

### III. 研究成果の刊行に関する一覧表

18

### IV. 研究成果の刊行物、別刷

21

## 小児・若年者の難治性網膜疾患の原因と治療に関する研究

(課題番号H12-感覚器-006)

主任研究者 東 範行 国立小児病院眼科医長

研究要旨：小児・若年者の難知性網膜疾患のうち、先天黄斑形成不全と先天網膜分離症の遺伝子検索を行い、新たな変異を見出した。網膜分離症では出生前診断を行い、出生前診断に伴う問題点について考察した。小児・若年者の網膜疾患では、診断あるいは手術のための網膜硝子体検査機器が重要であり、眼底を広汎に観察できるレンズ装置を考案した。さらに手術では、無症候性網膜剥離の治療を検討し、早期治療の重要性を明らかにした。

### 分担研究者

奥山 虎之 国立小児病院小児医療研究センター  
先天異常研究部奇形研究室長  
野田 徹 国立病院東京医療センター  
眼科医長  
柳田 隆 国立金沢病院眼科医長

遺伝性黄斑形成不全において、候補遺伝子アプローチによってPAX6の変異を同定し、疾患と変異の対応をつけ、責任遺伝子を明らかにした。

#### 2) PAX6 変異の機能解析

みつかったPAX6遺伝子変異について生化学的検討を行い、疾患の発症機転を考察した。

#### 3) 網膜分離症の遺伝子解析と羊水細胞による出生前診断

網膜分離症の疾患責任遺伝子であるXLR51の変異解析を行い、遺伝子解析により保因者と診断された発端者の姉の羊水穿刺を妊娠16週の時点でを行い、羊水細胞を培養して胎児の遺伝子診断を行った。

#### 4) 小児・若年者に適する網膜硝子体の新たな観察機器開発

眼底周辺部の観察に関して、高屈折倒像型前置レンズを用いた観察法の改良とそれに必要なレンズの開発を行った。

#### 5) 無症候性網膜剥離の早期手術の検討

若年者の網膜剥離症例のなかには、発見が遅れたため手術治療が成功しても恒常的な視力障害を残してしまうものも多い。無症候性網膜剥離に対する治療方針決定に資するため、本疾患の特徴や手術成績、術後経過について検討した。

(倫理面での配慮)

従来から疾患遺伝子の変異の解析については

### A. 研究目的

小児・若年者では成人と異なる多くの難知性網膜疾患がある。その多くは先天異常に起因するが、出世後も未熟児網膜症や網膜剥離では増殖機転が強いために通常の成人に対する治療法では難治なことが多い。本研究では、小児・若年者の難治性網膜疾患の原因を明らかにするとともに、新しい検査や治療法を開発することを目的とする。本年度は先天黄斑形成不全と先天網膜分離症の遺伝子検索を行い、疾患の原因を考察するとともに遺伝相談への応用を試みた。また、検査では小児・若年者に適する網膜硝子体の新たな観察機器を開発し、治療面では無症候性網膜剥離の早期手術の必要性について検討した。

### B. 研究方法

#### 1) 先天黄斑形成不全の遺伝子解析

トを行ってきた。国立小児病院倫理委員会に「眼先天異常における形態形成遺伝子異常の検索」課題で平成 11 年 10 月に審査を申請し、平成 12 年 3 月に承認を受けた。

### C. 研究結果および考察

#### 1) 先天黄斑形成不全の遺伝子解析

常染色体優性遺伝の先天黄斑形成不全家系においてPAX6遺伝子のR128Cの、前眼部形成不全と先天黄斑形成不全を合併する別個の2家系において、V5Dのミスセンス変異を発見した。遺伝子変異の重篤度と表現型の重篤度には相関がみられた。また、黄斑形成不全の変異はPAX6のDNA接着部位paired domainに集中しており、この部位が黄斑の形成に重要であることが示唆された。PAX6遺伝子は眼形態のマスターコントロール遺伝子であると考えられているが、この遺伝子が黄斑の形成を行っており、視覚において重要な中心視の成立に関わっていることを示している。

#### 2) PAX6変異の機能解析

PAX6遺伝子の野生体と変異体の生化学的解析により、転写活性部位 paired domainの2つの subdomain、N-terminal subdomain(NTS)と C-terminal subdomain(CTS)は互いに抑制し合う自動制御機構があることが判明した。そして、黄斑形成には選択的スプライス exon 5aとC-terminal subdomain(CTS)の働きが重要であることが示唆された。この形態形成遺伝子の機能がさらに解明されれば、幹細胞から黄斑を再生させるなど再生医学へも応用できると期待される。

#### 3) 網膜分離症の遺伝子解析と羊水細胞による出生前診断

発端者でXLR51遺伝子のGlu72Lysのアミノ酸置換を生じるミスセンス変異を見出し、同時に解析した発端者の母親、姉、祖母はいずれも同じ変異と野生型のヘテロ接合体で保因者であることが明らかとなった。保因者であった発端者の姉は妊娠が判明した直後に出生前診断の可能性について遺伝相談を希望した。妊娠 16 週に羊水から染色体検査とDNA検査を同時に行った。染色体検査で46XXの女兒であることがわかり、DNA検査ではG214Aのミスセンス変異と野生型のXLR51遺伝子のヘテロ接合体であり、母親と同じ保因者であることが判明した。分子遺伝学の進

歩により遺伝子診断が可能となり、出生前診断という形で、臨床応用が技術的に可能となった。しかし、社会的倫理的問題や家族のこころのケアに関する問題は諸についたばかりで、生命倫理や法律の専門家、さらに親の会のメンバーなどさまざまな分野の意見を取り入れた指針の作成が必要であると考えられる。

#### 4) 小児・若年者に適する網膜硝子体の新たな観察機器開発

網膜硝子体手術の基礎となる眼底観察系、特に高屈折倒像型前置レンズによる眼底周辺部の観察系について、観察用前置レンズと観察法の改良を行った。高屈折倒像型前置レンズを用いた眼底観察系でレンズの接眼部形状を変更し、傾斜角度調整を含めた適切な操作を行うことにより、従来の観察系にはない、水晶体および眼内レンズに伴う収差を補正する効果が生じ、倒像系のもつ広角視野、中間透光体混濁に対する利点とあわせ、従来の観察系より優れた眼底周辺部の観察系となった。本法は、同一視野で後極部から最周辺部までの眼底観察が可能であり、また、散瞳不良や、前眼部、中間透光体などの障害を伴う条件でも観察が障害されにくい。従って、小児の先天疾患などにおける眼底診断、レーザー治療を有効にかつ安全に行う上でも有用性が高いと考えられる。本法は今後、小児を含めた網膜硝子体疾患の眼底診断、レーザー治療において有用な手技となり、さらに硝子体手術における観察系においてもその利点の応用が可能であると考えられる。

#### 5) 無症候性網膜剥離の早期手術の検討

無症候性網膜剥離に対して早期手術を積極的に行い、結果として初回手術のみで100%の復位率を得た。無症候性網膜剥離に対しては原則として手術的治療を行うべきである。しかしながら、本疾患に対して手術を行うか、あるいは経過観察にとどめるかは、最終的には患者自身が決めるべきことであり、この前提となるのは、手術をする場合としない場合のそれぞれに予想される経過についての医師からの十分な説明であり、本研究の結果はその貴重な資料となり得る。

### D. 結論

先天黄斑形成不全でPAX6遺伝子の変異を新たに発見し、黄斑形成機序を一部明らかにした。先

天網膜分離症では出生前診断を行い、出生前診断に伴う問題点について考察した。小児・若年者の網膜疾患の診断あるいは手術に重要な眼底観察系レンズ装置を考案した。さらに手術では、無症候性網膜剥離の治療を検討し、早期治療の重要性を明らかにした。

#### E. 健康危険情報

本研究の結果、また得られた成果に関して、国民の生命、健康に重大な影響を及ぼす情報として、特に報告するものはない。

#### F. 研究発表

Azuma N, Yamada M. et al. Mutations of a human homologue of the *Drosophila* eyes absent gene (EYA1) detected in patients with congenital cataract and ocular anterior segment anomalies. *Hum Mol Genet* 2000 9:363-366.

Shinoda K, Azuma N. et al. Ultrastructural and immunohistochemical findings in five patients with vitreomacular traction syndrome. *Retina* 2000; 20:289-293.

仁科幸子・東 範行・他. 未熟児網膜症による視覚障害児の養育に関する問題点. *眼臨医* 2000; 94:529-534.

東 範行. 眼の形成遺伝子とその異常. *現代医療* 2000;32:1973-1982.

東 範行. 黄斑形成と中心視成立の分子細胞生物学. *日眼会誌* 2000;104:960-985.

Kosuga M, Enosawa S, Li XK, Suzuki S, Matsuo N, Yamada M, Roy-Chowdhury J, Koiwai O, Okuyama T. Strong, long-term transgene expression in rat liver using chicken beta-actin promoter associated with cytomegalovirus immediate-early enhancer (CAG promoter). *Cell Transplant* 9:675-680, 2000.

Kosuga M, Takahashi S, Sasaki K, Enosawa S, Li XK, Okuyama S, Fujino M, Suzuki S, Yamada M, Matsuo N, Sakuragawa N, Okuyama T. Phenotype correction in murine mucopolysaccharidosis type VII by transplantation of human amniotic epithelial cells after adenovirus-mediated gene transfer. *Cell Transplant* 9:687-692, 2000.

Kosuga M, Takahashi S, Sasaki K, Li XK, Fujino M, Hamada H, Suzuki S, Yamada M, Matsuo N, Okuyama T. Adenovirus-mediated gene therapy for mucopolysaccharidosis VII: involvement of cross-correction in wide-spread distribution of the gene products and long-term effects of CTLA-4lg coexpression. *Mol Ther* 1:406-413, 2000.

Li XK, Fujino M, Guo L, Okuyama T, Funeshima N, Hashimoto M, Okabe K, Yaginuma H, Mikoshiba K, Enosawa S, Amemiya H, Suzuki S. Inhibition of Fas-mediated fulminant hepatitis in CrmA gene-transfected mice. *Biochem Biophys Res Commun* 273:101-109, 2000.

Muroya K, Okuyama T, Goishi K, Ogiso Y, Fukuda S, Kameyama J, Sato H, Suzuki Y, Terasaki H, Gomyo H, Wakui K, Fukushima Y, Ogata T. Sex-determining gene(s) on distal 9p: clinical and molecular studies in six cases. *J Clin Endocrinol Metab* 85:3094-3100, 2000.

Sakuragawa N, Enosawa S, Ishii T, Thangavel R, Tashiro T, Okuyama T, Suzuki S. Human amniotic epithelial cells are promising transgene carriers for allogeneic cell transplantation into liver. *J Hum Genet* 45:171-176, 2000.

Todoroki T, Matsumoto K, Watanabe K, Tashiro Y, Shimizu M, Okuyama T, Imai K. Accumulated lipids, aberrant fatty acid composition and defective cholesterol ester hydrolase activity in cholesterol ester storage disease. *Ann Clin Biochem* 37:187-193, 2000.

Kosuga M, Sasaki K, Tanabe A, Li XK, Ohkawa H, Ogino I, Okuda O, Arai H, Sakuragawa N, Kamata Y, Azuma N, Suzuki S, Yamada M, Okuyama T. Engraftment of genetically-engineered amniotic epithelial cells corrects lysosomal storage in multiple areas of the brain in mucopolysaccharidosis type VII mice. *Mol Ther* (in press).

Fujino M, Li XK, Suda T, Hashimoto M, Okabe K, Yaginuma H, Mikoshiba K, Guo L, Okuyama T, Enosawa S, Amemiya H, Amano T, Suzuki S. In vitro prevention of cell-mediated xenograft rejection via the Fas/FasL-pathway in CrmA-transduced porcine kidney cells. *Xenotransplantation* (in press).

Li XK, Fujino M, Sugioka A, Morita M, Okuyama T, Guo L, Funeshima N, Kimura H, Enosawa S, Amemiya H, Suzuki S. Fulminant hepatitis by Fas-ligand expression in MRL-lpr/lpr mice grafted with Fas-positive livers and wild-type mice with Fas-mutant livers. *Transplantation* (in press).

Ohba M, Li XK, Kita Y, Enosawa S, Funeshima N, Nagai H, Zhang HQ, Okuyama T, Ogoshi S, Sasaguri S, Amemiya S, Suzuki S. The combined therapy of CTLA4Ig-gene transfection with FTY720: FTY720 may enhance the effect of gene therapy. *World J Surg* (in press).

奥山 虎之, 小須賀 基通, 於保 祐子 性染色体異常症.別冊 日本臨床 領域別症候群シリーズ No. 30 神経症候群 V:353-354, 2000.

小須賀 基通, 奥山 虎之 脳・眼・顔・骨格症候群.別冊 日本臨床 領域別症候群シリーズ No. 30 神経症候群 V:49-50, 2000.

奥山 虎之, 東 範行 網膜芽細胞腫. In 家族性腫瘍遺伝カウンセリング -理論と実際- (宇都宮讓二監修), 金原出版, 東京, p284-288, 2000.

野田 徹: 細隙灯顕微鏡による眼底観察法.眼科診療プラクティス 3:40-45,2000

野田 徹、大野建治: レーザー細隙灯顕微鏡.田野保雄、樋田哲夫、大路正人、山田昌和、野田 徹 編・著: 今日の眼疾患治療指針,2000,p.614, 医学書院,東京

大野建治、野田 徹、浜中輝彦: 蛍光虹彩・隅角造影検査.田野保雄、樋田哲夫、大路正人、山田昌和、野田徹 編・著: 今日の眼疾患治療指針,2000.p.593,医学書院,東京

Negishi K, Ohnuma K, Hirayama N, Noda T, the Policy-Based Medical Services Network Study Group for Sensory Organ: Effect of chromatic aberration on contrast sensitivity in pseudophakic eyes. *Arch Ophthalmol*, in press

奥田徹彦、佐伯智幸、館野静佳、安藤佳奈子、柳田 隆. 国立金沢病院における無症候性網膜剥離 眼科臨床医報 93: 1249-1252, 1999

## 遺伝性網膜形成異常の遺伝子解析と 疾患の原因解明に関する研究

分担研究者 東 範行 国立小児病院眼科医長

研究要旨：視覚において最も重要な中心視をつかさどる黄斑の形成に関して、遺伝性形成不全の症例で眼の形態形成遺伝子 PAX6 の変異を検索し、R128C と V7D のミスセンス変異を見出した。さらに、変異の生化学的検討を行い、PAX6 遺伝子の DNA 接着部位 paired domain が重要であることを明らかにした。

### A. 研究目的

黄斑は網膜における中心視のレセプターであり、高度な視覚に欠くことができない。黄斑が障害される疾患が多くあるが、黄斑形成不全の遺伝的原因が明らかになれば、疾患の原因解明だけでなく、黄斑の再生医療にも応用が期待できる。本研究は黄斑形成不全における形態形成遺伝子の変異を検索し、その遺伝子の機能を明らかにすることを目的とする。

### B. 研究方法

#### 1) 先天黄斑形成不全の遺伝子解析

遺伝性黄斑形成不全 5 例において、眼形成のマスターコントロール遺伝子である PAX6 の変異解析を行った。インフォームドコンセントを得たのち、白血球から DNA を抽出し、PAX6 遺伝子の全エキソンとエキソン・イントロン結合部位を PCR で増幅し、SSCP でスクリーニングし、バンドシフトがあったものは塩基配列を決定した。

#### 2) PAX6 変異の機能解析

遺伝性黄斑形成不全で見つかった PAX6 遺伝子変異 R128C と V7D の強制発現プラスミドを作成しエフェクターとした。PAX6 の DNA 接着部位 paired domain が接着する塩基配列コンセンサス (P6CON、5aCON) をルシフェラーゼに組み込んだプラスミドをレポーターとし、両者をマウス胎芽腫瘍細胞 P19 に共導入して、ルシフェラーゼアッセイを行った。

(倫理面での配慮)

従来から疾患遺伝子の変異の解析については倫理的問題を十分考慮し、ゲノム DNA 取り扱いにおいては、書面によるインフォームドコンセントを行ってきた。国立小児病院倫理委員会に「眼先天異常における形態形成遺伝子異常の検索」課題で平成 11 年 10 月に審査を申請し、平成 12 年 3 月に承認を受けた。

### C. 研究結果

#### 1) 先天黄斑形成不全の遺伝子解析

3 代にわたる発病者を有する常染色体優性遺伝の先天黄斑形成不全家系において、799 番の C → T 置換により R128C のアミノ酸置換を生じるミスセンス変異を認めた。また、前眼部形成不全と先天黄斑形成不全を合併する別個の 2 家系において、PAX6 の選択的スプライス部 (exon 5a) に同一の変異が見つかった。20 番の T → A 置換により V5D のアミノ酸置換を生じるミスセンス変異があった。

#### 2) PAX6 変異の遺伝子型と先天異常の表現型の検討

先天無虹彩は PAX6 の変異で起こり、全眼球の形成不全でほぼ全例に黄斑形成不全を合併する。その PAX6 遺伝子障害はナンセンス変異で重篤である。これに比べ、今回見出された黄斑を限局とする形成不全では、視力からみても表現型の障害は軽く、遺伝子変異も軽度でミスセンスであった。したがって、遺伝子変異の重篤度と表現型の重篤度には相関があると思われた。また、黄斑形成不全の変異は PAX6 の DNA 接着部位 paired domain に

集中しており、この部位が黄斑の形成に重要であることが示唆された。

#### 5) PAX6変異の機能解析

PAX6遺伝子がコードするPAX6蛋白は、転写活性部位 paired domainが標的遺伝子に接着してこれを制御するが、PRDはさらにN-terminal subdomain(NTS)とC-terminal subdomain(CTS)に分かれ、それぞれが異なる標的遺伝子群を支配する(接着コンセンサスはそれぞれP6CONと5aCON)。これを組み込んだルシフェラーゼプラスミドをレポーターとし、PAX6の2種のアイソフォーム(PAX6WT、PAX6-5a)の強制発現プラスミドをエフェクターとしてin vitroで生化学的検討を行った。PAX6WTが導入されるとP6CONとの接着が亢進し、5aCONとの接着は抑制された。逆にPAX6-5aが導入されると5aCONとの接着が亢進し、P6CONとの接着は抑制された。したがって、選択的スプライスexon 5aの有無によって(PAX6-5aか PAX6WT)NTSとCTSは機能を分け合い、しかも両者は互いに抑制し合う自動制御機構があることが判明した。今回見出された黄斑形成不全の2種のミスセンス変異はexon 5a内あるいはCTS内にあり、いずれもCTSの機能障害をきたす。この変異の強制発現プラスミドをエフェクターとすると、CTSのDNA接着能が低下し、NTSへの接着能が亢進して、両者の自動制御機構が障害されていることが示唆された。

#### D. 考察

PAX6遺伝子は眼の形態形成に関わる転写因子遺伝子で、最初に先天無虹彩の原因遺伝子として発見された。この遺伝子はショウジョウバエの胚で異所性に発現させると触覚や翅、肢などに複眼が発生したため、下等動物では眼の器官形成全体を支配するマスターコントロール遺伝子であると考えられている。さらにPAX6は脊椎動物や軟体動物、昆虫だけでなく、種を越えてさまざまな動物に存在し、いずれの動物種でもその塩基配列がほぼ同じであったため、眼は太古の祖先動物に光を感じる細胞としてただ1度だけ発生し、進化とともにさまざまな形態形成遺伝子を下流に従え、動物種によって多彩な形態に変化してきたと考えられるようになった。さらに我々は先にヒトの眼発生過程でPAX6蛋白の免疫染色を行い、初

期には眼球全体に、その後角膜、水晶体、網膜に発現し、網膜では視細胞、神経節細胞、マスターコントロール遺伝子であり、網膜層構造の分化を支配することが判明した。したがって、この遺伝子に異常が起これば、網膜を含めてさまざまな眼の形成異常が起こることが予測される。今回黄斑形成不全でPAX6の変異はみつかったことは、この遺伝子が黄斑の形成を行っており、視覚において重要な中心視の成立に関わっていることを示している。

PAX6遺伝子がコードするPAX6蛋白は、転写活性部位 paired domainが標的遺伝子に接着してこれを制御する。PRDは N-terminal subdomain(NTS)とC-terminal subdomain(CTS)に分かれ、それぞれが異なる標的遺伝子群を支配するが、その制御様式の詳細は不明であった。NTSの方が主に転写を行っており、CTSは重要でないと考えられていたが、我々が発見した黄斑形成不全の変異はこのCTSにあり、CTSの重要性が初めて示された。しかも、選択的スプライスexon 5aにも変異がみつかったが、このexon 5aがコードされるとPAX6ではCTSが主に働くので、ここからもCTSの重要性が示された。今回、NTSあるいはCTSに変異を入れたPAX6蛋白を作製して転写活性の生化学的検討を行い、NTSとCTSには互いの働きを抑制し合う自動制御機構があること、exon 5aの選択的スプライスが両subdomainの優位性を決めていることを明らかにした。PAX6は時期と場所を違えて、繰り返し発現することによって、眼の形成を支配しているが、この自動制御機構があるためにさまざまな機能を発揮できると考えられる。そして、CTSが黄斑の形成に重要であることが示唆されたが、PAX6遺伝子にexon 5aが存在してCTSが働くようになったのは脊椎動物以降であり、進化では魚類から網膜の構造が複雑化して黄斑が生まれたことを考えると、このexon 5aとCTSの重要性がうなずける。

今回、先天黄斑形成不全の原因遺伝子が明らかになったことは出生前診断を含む臨床遺伝に寄与するばかりではなく、この形態形成遺伝子の機能がさらに解明されれば、幹細胞から黄斑を再生させるなど再生医学への応用も可能になると期待される。



## E. 結論

遺伝性黄斑形成不全の症例で眼の形態形成遺伝子 PAX6 の変異を発見し、PAX6 が黄斑の形成に関与していることを示した。また、変異の生化学的検討を行い、PAX6 遺伝子の DNA 接着部位 paired domain が重要であり、その subdomain に自動制御機構があり、黄斑の形成には選択的スプライスと C-terminal subdomain が重要であることを明らかにした。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

Azuma N, Yamada M. et al. Mutations of a human homologue of the Drosophila eyes absent gene (EYA1) detected in patients with congenital cataract and ocular anterior segment anomalies. *Hum Mol Genet* 2000 9:363-366.

Shinoda K, Azuma N. et al. Ultrastructural and immunohistochemical findings in five patients with vitreomacular traction syndrome. *Retina* 2000; 20:289-293.

東 範行. 黄斑形成と中心視成立の分子細胞生物学. *日眼会誌* 2000;104:960-985.

仁科幸子・東 範行・他. 未熟児網膜症による視覚障害児の養育に関する問題点. *眼臨医* 2000; 94:529-534.

東 範行. 眼の形成遺伝子とその異常. *現代医療* 2000;32:1973-1982.

東 範行. 膠様滴状角膜ジストロフィの原因遺伝子. *日本の眼科* 1999; 70:923-924.

東 範行. 網膜色素変性症の薬物治療. *日本の眼科* 2000; 71:167.

東 範行. 視線を合わせる脳の領域. *日本の眼科* 2001; 72:385.

### 学会発表

東 範行. 特別講演 眼の形態形成遺伝子とその異常. 眼先天異常研究会 1999年10月(東京)

東 範行. シンポジウム 未熟児網膜症の硝子

体手術. 日本眼科手術学会 2000年1月(名古屋)

東 範行. シンポジウム 白内障手術における遺伝子治療の可能性. 日本眼科学会 2000年4月(京都)

東 範行. シンポジウム 前眼部の形態形成遺伝子とその異常. 日本眼科学会 2000年4月(京都)

東 範行. 宿題報告 黄斑形成と中心視成立の分子細胞生物学. 日本眼科学会 2000年4月(京都)

東 範行. シンポジウム 網膜芽細胞腫全国登録の成果. 北日本眼科学会 2000年6月(仙台)

東 範行. シンポジウム アトピー性皮膚炎の眼の合併症. 北日本眼科学会 2000年6月(東京)

東 範行. 特別講演 黄斑形成の分子細胞生物学. 愛知眼科アカデミー 2000年6月(名古屋)

東 範行. 形態形成遺伝子を用いた眼組織の再生. Japan Macula Club 2000年8月(蒲郡)

東 範行. 特別講演 黄斑の形成システムと眼の進化. 東京医大臨床懇話会 2000年10月(東京)

東 範行. シンポジウム 眼の形態形成遺伝子の異常とその表現型. 日本臨床眼科学会 2000年10月(東京)

## 遺伝性網膜疾患の遺伝子解析と その遺伝カウンセリングへの応用に関する研究

分担研究者 奥山虎之 国立小児病院小児医療研究センター  
先天異常研究部奇形研究室長

研究要旨：遺伝性網膜疾患のひとつである網膜分離症の一家系について、遺伝子解析を行い、X染色体短腕に位置する原因遺伝子 XLR51 にミスセンス変異を検出した。さらに、保因者である発端者の姉の妊娠に伴い出生前診断を行った。網膜分離症の出生前診断に伴ういくつかの問題点についての考察を加えた。

### A. 研究目的

遺伝性網膜疾患である網膜分離症の遺伝子診断による出生前診断を行い、その有用性と問題点について検討し、遺伝性網膜疾患の遺伝カウンセリングのあり方を考察する。

### B. 研究方法

1) 網膜分離症の遺伝子解析：網膜分離症の疾患責任遺伝子である XLR51 の変異解析を行う。臨床的に網膜分離症と診断された発端者とその家族（母、母方の祖母、姉）の血液から白血球の DNA を抽出し、XLR51 遺伝子の全エキソンとエキソン・イントロン結合部位を PCR で増幅し、それぞれの塩基配列を決定した。

2) 羊水細胞による出生前診断：遺伝子解析により保因者と診断された発端者の姉の羊水穿刺を妊娠 16 週の時点で行い、羊水細胞の培養後に、染色体検査と DNA 解析を行った。なお、以下の倫理面への配慮を行った。遺伝子解析のための検体の採取にあたっては、検査の内容等について十分に説明し、検査を受けない場合でも不利益はないことを説明したのち、文書によりインフォームドコンセントの内容についての確認を行った。また、出生前診断においては、眼科主治医、遺伝専門医（人類遺伝学会が定める臨床遺伝専門医）、産科医師による事前のカウンセリングを数回行った。また、結果の説明も遺伝専門医が行った。

### C. 研究結果

1) 網膜分離症の遺伝子解析：発端者は、214 番の G→A 置換により Glu72Lys のアミノ酸置換を生じるミスセンス変異を認めた。また、同時に解析した発端者の母親、姉、祖母はいずれも、同様のミスセンス変異と野生型の XLR51 遺伝子のヘテロ接合体であり、いずれも保因者であることが明らかとなった。

2) 羊水細胞による出生前診断：保因者と診断されていた発端者の姉は、妊娠が判明した直後に出生前診断の可能性について遺伝相談を希望した。眼科の主治医は遺伝専門医および産婦人科医と合同で相談にあたった。検査法は、絨毛生検と羊水穿刺が考えられるが、前者の場合羊水検査より早期に行えるが、流産の可能性が高くなることを説明した。その結果、家族は羊水からの検査を希望したため、これを採取し、染色体および DNA の検査を行うこととした。妊娠 16 週に羊水を採取し、羊水細胞を培養後、染色体検査と DNA 検査を同時に行った。染色体検査では、46XX の女児であることが判明した。また、DNA 検査では、G214A のミスセンス変異と野生型の XLR51 遺伝子のヘテロ接合体であり、母親と同じ保因者であることが判明した。検査の結果を受けて再度遺伝相談を行い、胎児が女児である場合、発症することはあるがその場合でも症状は一般に軽度であることを説明した。家族は、妊娠の継続を希望した。

### D. 考察

今回の出生前診断では、胎児が保因者女性であることが判明し、妊娠は継続されたのであるが、以下のようないくつかの問題が明らかとなった。

- 1) 羊水採取から遺伝子診断の確定までに約 3 週間を要するため、妊娠継続等の判断を家族が行う場合に、時間がかざらされていること。
- 2) 今回のように、症状が眼に限局している疾患において、妊娠継続の判断のための出生前診断を行う生命倫理的根拠が確立していないこと。
- 3) 先天性網膜分離症は、同じ遺伝子変異を有する個体でも、その表現型は多彩でありその遺伝子型により視力の予後を判定できないこと。
- 4) 妊婦に遺伝子診断の結果を知らせることにより、場合によっては妊婦のころとからだに悪影響を与え、健全な妊娠を障害する可能性があること。

分子遺伝学の進歩により遺伝子診断が可能となり、出生前診断という形で、臨床応用が技術的に可能となった遺伝性網膜疾患は増加している。しかし、上記のように社会的倫理的問題や家族のころのケアに関する問題は諸についたばかりである。今回のケースでは、眼科主治医ばかりでなく遺伝専門医や産科医との合同のカンファレンスやカウンセリングにより、家族が判断するための十分な情報提供に努めてきた。また、家族の自己決定を最大限尊重することに配慮した。しかし、この対応は必ずしも十分であったとはいえない。今後は、生命倫理や法律の専門家、さらに親の会のメンバーなどさまざまな分野の意見を取り入れた指針の作成が必要であると考えられる。

## E. 結論

先天性網膜分離症の出生前診断を遺伝子解析により施行した。遺伝子診断と遺伝カウンセリングを行うにあたり、技術的にも倫理的にも検討すべき点が指摘された。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

Kosuga M, Enosawa S, Li XK, Suzuki S, Matsuo N, Yamada M, Roy-Chowdhury J, Koiwai O, Okuyama T. Strong, long-term transgene expression in rat liver

using chicken beta-actin promoter associated with cytomegalovirus immediate-early enhancer (CAG promoter). *Cell Transplant* 9:675-680, 2000.

Kosuga M, Takahashi S, Sasaki K, Enosawa S, Li XK, Okuyama S, Fujino M, Suzuki S, Yamada M, Matsuo N, Sakuragawa N, Okuyama T. Phenotype correction in murine mucopolysaccharidosis type VII by transplantation of human amniotic epithelial cells after adenovirus-mediated gene transfer. *Cell Transplant* 9:687-692, 2000.

Kosuga M, Takahashi S, Sasaki K, Li XK, Fujino M, Hamada H, Suzuki S, Yamada M, Matsuo N, Okuyama T. Adenovirus-mediated gene therapy for mucopolysaccharidosis VII: involvement of cross-correction in wide-spread distribution of the gene products and long-term effects of CTLA-4Ig coexpression. *Mol Ther* 1:406-413, 2000.

Li XK, Fujino M, Guo L, Okuyama T, Funeshima N, Hashimoto M, Okabe K, Yaginuma H, Mikoshiba K, Enosawa S, Amemiya H, Suzuki S. Inhibition of Fas-mediated fulminant hepatitis in CrmA gene-transfected mice. *Biochem Biophys Res Commun* 273:101-109, 2000.

Muroya K, Okuyama T, Goishi K, Ogiso Y, Fukuda S, Kameyama J, Sato H, Suzuki Y, Terasaki H, Gomyo H, Wakui K, Fukushima Y, Ogata T. Sex-determining gene(s) on distal 9p: clinical and molecular studies in six cases. *J Clin Endocrinol Metab* 85:3094-3100, 2000.

Sakuragawa N, Enosawa S, Ishii T, Thangavel R, Tashiro T, Okuyama T, Suzuki S. Human amniotic epithelial cells are promising transgene carriers for allogeneic cell transplantation into liver. *J Hum Genet* 45:171-176, 2000.

Todoroki T, Matsumoto K, Watanabe K, Tashiro Y, Shimizu M, Okuyama T, Imai K. Accumulated lipids, aberrant fatty acid composition and defective cholesterol ester hydrolase activity in cholesterol

ester storage disease. *Ann Clin Biochem* 37:187-193, 2000.

Kosuga M, Sasaki K, Tanabe A, Li XK, Ohkawa H, Ogino I, Okuda O, Arai H, Sakuragawa N, Kamata Y, Azuma N, Suzuki S, Yamada M, Okuyama T. Engraftment of genetically-engineered amniotic epithelial cells corrects lysosomal storage in multiple areas of the brain in mucopolysaccharidosis type VII mice. *Mol Ther* (in press).

Fujino M, Li XK, Suda T, Hashimoto M, Okabe K, Yaginuma H, Mikoshiba K, Guo L, Okuyama T, Enosawa S, Amemiya H, Amano T, Suzuki S. In vitro prevention of cell-mediated xenograft rejection via the Fas/FasL-pathway in CrmA-transduced porcine kidney cells. *Xenotransplantation* (in press).

Li XK, Fujino M, Sugioka A, Morita M, Okuyama T, Guo L, Funeshima N, Kimura H, Enosawa S, Amemiya H, Suzuki S. Fulminant hepatitis by Fas-ligand expression in MRL-lpr/lpr mice grafted with Fas-positive livers and wild-type mice with Fas-mutant livers. *Transplantation* (in press).

Ohba M, Li XK, Kita Y, Enosawa S, Funeshima N, Nagai H, Zhang HQ, Okuyama T, Ogoshi S, Sasaguri S, Amemiya S, Suzuki S. The combined therapy of CTLA4Ig-gene transfection with FTY720: FTY720 may enhance the effect of gene therapy. *World J Surg* (in press).

鈴木 盛一, 李 小康, 奥山 虎之, 田村 明彦, 舟島 直子, 絵野沢 伸, 大場 正直, 雨宮 浩  
新しい免疫抑制剤と遺伝子導入による免疫制御.  
*日本臨床免疫学会会誌* 22:422-427, 1999.

奥山 虎之, 李 小康, 尾崎倫孝 遺伝子治療の  
移植医療への応用.*遺伝子医学* 4:453-456, 2000.

於保 祐子, 奥山 虎之 Pallister-Hall 症候群.  
別冊 日本臨床 領域別症候群シリーズ No. 30  
神経症候群 V:23-25, 2000.

於保 祐子, 奥山 虎之 Neu-Laxova 症候群.別冊  
日本臨床 領域別症候群シリーズ No. 30 神経症  
候群 V:21-22, 2000.

Klinefelter 症候群.別冊 日本臨床 領域別症候群  
シリーズ No. 30 神経症候群 V:355-357, 2000.

奥山 虎之, 小須賀 基通, 於保 祐子 性染色  
体異常症.別冊 日本臨床 領域別症候群シリーズ  
No. 30 神経症候群 V:353-354, 2000.

小須賀 基通, 奥山 虎之 脳・眼・顔・骨格症  
候群.別冊 日本臨床 領域別症候群シリーズ No.  
30 神経症候群 V:49-50, 2000.

奥山 虎之, 東 範行 網膜芽細胞腫. In 家族性  
腫瘍遺伝カウンセリング -理論と実際-(宇都  
宮讓二監修), 金原出版, 東京, p284-288, 2000.

## 2. 学会発表

小須賀 基通 遺伝子導入羊膜細胞を用いたム  
コ多糖症 VII 型モデルマウスに対する脳内移植  
治療の検討. 第8回細胞療法研究会, 京都, 4月  
27-28日, 2000.

Tanabe A, Kosuga M, Sasaki K, Li XK, Azuma N,  
Suzuki S, Koiwai O, Yamada M, Okuyama T.  
Long-term morphological normalization in whole  
brain of mice with mucopolysaccharidosis VII by  
neonatal systemic administration of an adenoviral  
vector expressing b-glucuronidase. The 6th Annual  
Meeting of the Japan Society of Gene Therapy, Tokyo,  
June 27-29, 2000.

Kosuga M, Sasaki K, Li XK, Fujino M, Hamada H,  
Suzuki S, Yamada M, Matsuo N, Okuyama T.  
Adenovirus-mediated gene therapy for  
mucopolysaccharidosis VII: involvement of  
cross-correction in wide-spread distribution of the  
gene-products and long-term effects of CTLA-4Ig  
co-expression. The 6th Annual Meeting of the Japan  
Society of Gene Therapy, Tokyo, June 27-29, 2000.

Ozaki M, Bellan J, Lowenstein CJ, Dinauer MC,

Goldschmidt-Clermont PJ, Okuyama T, Suzuki S, Irani K. Targeted inhibition of Rac1 GTPase-dependent oxidase protects against ischemia/reperfusion-induced liver injury. The 6th Annual Meeting of the Japan Society of Gene Therapy, Tokyo, June 27-29, 2000.

Kosuga M, Okuyama T, Ohkawa H, Ogino I, Arai H, Matsuo N, Sakuragawa N. Long-term morphological normalization in the whole brain of mice with mucopolysaccharidosis type VII (MPSVII) by local intra-cerebral engraftment of gene-transduced amniotic epithelial cells. VIII International Congress of Inborn Errors of Metabolism, Cambridge, UK, September 13-17, 2000.

Kitagawa M, Sugiura K, Okuyama T, Kanayama K, Natori M, Wakamatsu D, Yura H, Sago H. A new method using lectin for isolation of fetal cells from maternal blood. 50th Annual Meeting of the American Society of Human Genetics, Philadelphia, PA, USA, October 3-7, 2000.

Kosuga M, Li XK, Sago H, Kitagawa M, Suzuki S, Yamada M, Matsuo N, Okuyama T. Engraftment of genetic-engineered amniotic epithelial cells corrects lysosomal storage in the whole brains of mice with mucopolysaccharidosis type VII. 50th Annual Meeting of the American Society of Human Genetics, Philadelphia, PA, USA, October 3-7, 2000.

Tanabe A, Kosuga M, Li XK, Sago H, Kitagawa M, Suzuaki S, Yamada M, Okuyama T. Long-term morphological normalization in whole brains of mice with mucopolysaccharidosis VII by neonatal systemic administration of an adenoviral vector expressing b-glucuronidase. 50th Annual Meeting of the American Society of Human Genetics, Philadelphia, PA, USA, October 3-7, 2000.

小須賀 基通, 田辺 亜希子, 佐々木 恭子, 東 範行, 松尾 宣武, 山田 正夫, 奥山 虎之 ムコ多糖症 VII 型の遺伝子治療: 生後早期のアデノウイルス全身投与による中枢神経病変の改善に

ついて. 第 43 回日本先天代謝異常学会, 東京, 10 月 19-21 日, 2000.

室谷 浩二, 緒方 勤, 涌井 敬子, 福嶋 義光, 奥山 虎之, 山森 俊治 9p 上の性決定遺伝子: 6 例における臨床のおよび分子遺伝学的解析. 日本人類遺伝学会第 45 回大会, 福岡, 10 月 25-27 日, 2000.

奥山 虎之, 小須賀 基通, 山田 正夫, 鎌田 裕子, 東 範行 アデノウイルスベクターを用いた ムコ多糖症 VII 型角膜病変に対する遺伝子治療. 日本人類遺伝学会第 45 回大会, 福岡, 10 月 25-27 日, 2000.

田辺 亜希子, 小須賀 基通, 佐々木 恭子, 東 範行, 山田 正夫, 奥山 虎之 ムコ多糖症 VII 型の遺伝子治療: 生後早期のアデノウイルス全身投与による中枢神経病変の改善について. 日本人類遺伝学会第 45 回大会, 福岡, 10 月 25-27 日, 2000.

小須賀 基通, 奥山 虎之, 佐々木 恭子, 山田 正夫, 田村 明彦, 鈴木 盛一 肝クッパー細胞の排除がアデノウイルスベクターによる肝細胞遺伝子治療に与える効果. 日本人類遺伝学会第 45 回大会, 福岡, 10 月 25-27 日, 2000.

Takahashi M, Guha C, Deb NJ, Kawashita Y, Lee SW, Fugureli J, Okuyama T, Roy- Chowdhury N, Vikram B, Roy-Chowdhury J. Regulated Fas-mediated apoptosis of host hepatocytes along with hepatic irradiation results in preferential proliferation of hepatocytes transplantation in rat liver. 51st Annual Meeting of the American Association of Study for Liver Diseases, Dallas, TX, USA, November 9-13, 2000.

## 小児・若年者の眼底検査に関する研究

分担研究者 野田 徹 国立病院東京医療センター眼科医長

研究要旨：網膜硝子体手術の基礎となる眼底観察系、特に高屈折倒像型前置レンズによる眼底周辺部の観察系について、観察用前置レンズと観察法の改良を行った。高屈折倒像型前置レンズを用いた眼底観察系は、眼底周辺部の観察において従来のGoldmann 3面鏡型の観察系に劣るとの指摘がされてきたが、レンズの接眼部形状を変更し、傾斜角度調整を含めた適切な操作を行うことにより、従来の観察系にはない、水晶体および眼内レンズに伴う収差を補正する効果が生じ、倒像系のもつ広角視野、中間透光体混濁に対する利点とあわせ、従来の観察系より優れた眼底周辺部の観察系となった。本法は小児を含めた網膜硝子体疾患の診断、レーザー治療において有用な手技となり、硝子体手術へもその利点が応用されるものと考えられる。

### A. 研究目的

高屈折倒像型前置レンズを用いた細隙灯顕微鏡眼底観察は、広い観察視野が得られ、その有用性が評価されているが、眼底周辺部の観察には適さず、従来のGoldmann 3面鏡に劣るとの認識がされてきた。しかし実際は、眼底周辺部の観察においては、有水晶体眼では水晶体、眼内レンズ挿入眼では眼内レンズを斜めに通過する光束による観察となるため、それに伴う収差が強く生じ、従来のGoldmann 3面鏡による観察系はその補正は不可能であり、観察される眼底所見に明らかな限界があると考えられる。それに対して、高屈折倒像型前置レンズは、観察時に眼前で傾斜させることにより、眼内のレンズ系で発生する収差と逆方向の収差を意図的に生じさせることにより、眼底観察像の収差を補正でき、むしろ眼底周辺部の観察には適した系となる可能性が示唆される。本研究では、眼底周辺部の観察に関して、高屈折倒像型前置レンズを用いた観察法の改良とそれに必要なレンズの開発を行ったので報告する。

### B. 研究方法

以下の各条件下で細隙灯顕微鏡による眼底観察を行い、眼底周辺部の観察像、観察範囲について検討した。観察される眼底像の判定に際しては、クリップオンタイプのレーザー光凝固ユニットを細隙灯顕微鏡に取り付け、200 $\mu$ ～500 $\mu$ 径の円形のエイミングビームを眼底像に投射し、その形状の変化を観察像の収差の指標としてあわせて観察した。

#### (1) 観察眼の条件

- A) 無水晶体眼
  - B) 有水晶体眼
  - C) 眼内レンズ挿入眼
- (2) 前置レンズ
- 1) Goldmann 3面鏡型レンズ
  - 2) 高屈折倒像型レンズ

<従来型>

a) Quadraspheric (VOLK)

b) Transequator (VOLK)

<改良型\* >

a) Quadraspheric (VOLK)

b) Transequator (VOLK)

(\*従来のレンズの接眼部形状を変更し、眼前での位置・角度調整を行いやすく改良した前置レンズを新たに開発した。支持安定性を確保するための鏢状形状部分をより滑らかな形状へと変更した。)

(倫理面への配慮)

研究はインフォームドコンセントの下での非侵襲的検査に基づいて行われたため、倫理上の問題はない。

### C. 研究結果

1) Goldmann 3面鏡型レンズによる眼底周辺部の観察像および観察範囲

A) 無水晶体眼

無水晶体眼においては、散瞳状態が良好であれば、網膜鏢状縁部から毛様体部までの観察が可能であり、観察像も良好であった。散瞳不良の症例では、散瞳径に応じた観察視野の制限が生じた。

B) 有水晶体眼

散瞳状態が良好な症例においては、網膜鋸状縁付近までの観察が可能であった。しかし、赤道部を越えた周辺部においては、観察される眼底像には収差を伴い、硝子体基部付近では観察可能な範囲であっても特に著明な収差を伴った。それらの収差はレンズ操作による補正は不能であった。散瞳不良な観察条件では、観察視野の制限のみならず、赤道部付近から周辺部の観察像の収差が顕著に増加した。白内障を伴う症例では、水晶体の混濁部位の眼底観察は直接的に障害された。

#### C) 眼内レンズ挿入眼

散瞳良好な症例であっても、赤道部付近から顕著に眼底像の収差を伴い、また、眼内レンズの光学部以外の部分に後発白内障を伴う症例では、赤道部を越えた範囲の眼底観察は困難であった。また、光学部を含めた後発白内障は観察視野を直接障害した。

### 2) 高屈折倒像型前置レンズによる観察

#### A) 無水晶体眼

#### B) 有水晶体眼

#### C) 眼内レンズ挿入眼

従来型の前置レンズにおいては、赤道部をやや超えた範囲までの観察が可能であったが、それより周辺部の観察はレンズの角度の制限から観察眼の条件にかかわらず困難であった。同部位までの観察においては、眼底に投射されたレーザーエイミングビームは前置レンズの傾斜操作に伴い変化するが、観察部位ごとに適切な角度設定により、正円形に補正することが可能であった。しかし、さらに周辺を観察を行う際には著明な収差によりスポットが流れ、その補正は困難であった。散瞳径、白内障・後発白内障に伴う直接的な観察像の障害は Goldmann 3 面鏡に比して明らかに少なかった。

改良型の前置レンズでは、より周辺部までの眼底の観察が可能となり、観察眼の光学的条件にかかわらず網膜鋸状縁までの観察は十分可能であった。レーザースポットのエイミングビームの形状は特に最周辺部の観察時には容に流れやすく（無水晶体眼>>有水晶体眼>>眼内レンズ挿入眼）強い収差が発生しやすいが、前置レンズの角度調整を十分行うことにより、各観察範囲でほぼ正円形に補正することが可能であった。適切な観察には、必要に応じてレンズを眼球面に圧迫する必要あり、やや習熟を要する操作であると考えられた。

#### D. 考察

高屈折倒像型前置レンズを用いた細隙灯顕微鏡眼底観察は、広い観察視野が得られるため、その有用性が評価されているが、眼底周辺部の観

察には制限があるとの問題点が指摘されてきた。しかし今回の研究結果により、むしろ従来の Goldmann 3 面鏡による眼底周辺部の観察は、無水晶体眼においては有用であるものの、眼内にレンズが存在する光学系では観察法として適しておらず、特に眼内レンズ挿入眼では特に観察が困難となることが明らかとなった。有水晶体眼では水晶体、眼内レンズ挿入眼では眼内レンズを斜めに通過する光束による観察となるため、それに伴う収差が強く生じ、観察される眼底所見に明らかな限界が生じるものと考えられる。

それに対して、高屈折倒像型前置レンズは、観察時に眼前でレンズを傾斜させることにより、眼内のレンズ系で発生する収差と逆方向の収差を意図的に生じさせ、眼底観察像の収差を補正し観察を可能とすることが、眼底観察時のレーザー・エイミングビームの形状からも示唆された。しかし、その適切な操作は従来の前置レンズの形状では困難であり、そのために観察範囲が制限されていたものと考えられる。本研究において、高屈折前置レンズの接眼部形状を変更し、傾斜角度調整を含めた適切な操作を行うことにより、従来の観察系にはない、水晶体および眼内レンズに伴う収差を補正する効果が生じ、倒像系のもつ広角視野、中間透光体混濁に対する利点とあわせ、従来の観察系より優れた眼底周辺部の観察系となることが明らかとなった。

本法は、同一視野で後極部から最周辺部までの眼底観察が可能であり、また、散瞳不良や、前眼部、中間透光体などの障害を伴う条件でも観察が障害されにくい。従って、小児の先天疾患などにおける眼底診断、レーザー治療を有効にかつ安全に行う上でも有用性が高いと考えられる。本法は今後、小児を含めた網膜硝子体疾患の眼底診断、レーザー治療において有用な手技となり、さらに硝子体手術における観察系においてもその利点の応用が可能であると考えられる。

#### E. 結論

眼底周辺部の観察系について、観察用前置レンズと観察法の開発、改良を行った。従来の Goldmann 3 面鏡による眼底観察は、眼内にレンズが存在する光学系ではそれに伴う収差により観察が障害されるため、眼底最周辺部の観察法として適していない。

高屈折倒像型前置レンズの従来の接眼部形状を変更し、傾斜角度調整を含めた適切な操作法を行うことにより、水晶体および眼内レンズに伴う収差を補正しつつ眼底観察を行うことが可能であり、高屈折倒像系のもつ広角視野、中間透光体混濁に対する利点とあわせ、従来困難であった眼

底最周辺部までの観察が可能な観察系となる。  
本法は小児を含めた網膜硝子体疾患の眼底診断、  
レーザー治療において有用な手技となるものと  
考える。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

##### 1) 論文・著作

野田 徹：細隙灯顕微鏡による眼底観察法.眼科  
診療プラクティス 3:40-45,2000

野田 徹、大野建治：レーザー細隙灯顕微鏡.田  
野保雄、樋田哲夫、大路正人、山田昌和、野田 徹  
編・著：今日の眼疾患治療指針,2000.p.614, 医学  
書院,東京

大野建治、野田 徹、浜中輝彦：蛍光虹彩・隅角  
造影検査.田野保雄、樋田哲夫、大路正人、山田  
昌和、野田徹 編・著：今日の眼疾患治療指  
針,2000.p.593,医学書院,東京

野田 徹、：血管新生緑内障.田野保雄、樋田哲夫、  
大路正人、山田昌和、野田 徹 編・著：今日の  
眼疾患治療指針,2000.p.352-353,医学書院, 東京

大野建治、野田 徹：滅菌・消毒法.田野保雄、  
樋田哲夫、大路正人、山田昌和、野田 徹 編・  
著：今日の眼疾患治療指針,2000.p.713-715,医学書  
院,東京

大野建治、野田 徹：循環改善薬.田野保雄、樋  
田哲夫、大路正人、山田昌和、野田 徹 編・著：  
今日の眼疾患治療指針,2000.p.744-746,医学書院,  
東京

大野建治、野田 徹：抗精神薬.田野保雄、樋田  
哲夫、大路正人、山田昌和、野田 徹 編・著：  
今日の眼疾患治療指針,2000.p.747-750,医学書院,  
東京

大路正人、山田昌和、野田 徹：症状・所見・主  
訴からの鑑別フローチャート.田野保雄、樋田哲  
夫、大路正人、山田昌和、野田 徹 編・著：今  
日の眼疾患治療指針,2000.p.2-38,医学書院,東京

野田 徹、小林佳郎：眼科手術中の救急薬投与方法。  
田野保雄、樋田哲夫、大路正人、山田昌和、野田  
徹 編・著：今日の眼疾患治療指針,2000.p.53-56,  
医学書院,東京

若林俊子、野田 徹：蛍光眼底撮影の合併症：田  
野保雄、樋田哲夫、大路正人、山田昌和、野田 徹  
編・著：今日の眼疾患治療指針,2000.p.43,医学書  
院,東京

平井香織、野田 徹：結核症.田野保雄、樋田哲  
夫、大路正人、山田昌和、野田 徹 編・著：今  
日の眼疾患治療指針,2000.p.504-506,医学書院,東  
京

Negishi K, Ohnuma K, Hirayama N, Noda T, the  
Policy-Based Medical Services Network Study  
Group for Sensory Organ: Effect of chromatic  
aberration on contrast sensitivity in pseudophakic  
eyes. Arch Ophthalmol, in press

根岸一乃、野田徹：基本的な手術器具：ナイフ。  
眼科診療プラクティス 3;26-31,2000.

根岸一乃、野田徹：眼科手術用メス材質の違い.眼  
科診療プラクティス 3;117-119,2000.

細田ひろみ、野田 徹：追加ガスタンポナーデの  
適応と実際：眼科診療

野田 徹：第 53 回日本臨床眼科学会印象紀「網  
膜硝子体」.眼科 42：554-555. 2000

##### 2) 学会発表

###### <シンポジウム>

野田 徹：硝子体手術の観察法の進歩.第 2 3 回  
眼科手術学会総会シンポジウム「眼科手術観察法  
の進歩」.名古屋、2000.

###### <一般口演>

Negishi K, Ohnuma K, Hirayama N, Noda T: Effect  
of color (chromatic) aberration on contrast  
sensitivity in pseudophakic eyes.  
American-International Congress on Cataract, IOL  
and Refractive Surgery, Boston, 2000

大野建治 野田徹、根岸一乃ほか：多様な角膜形  
状に対応した眼圧測定システムの開発—デジタ  
ルデータファイリングシステムによる眼圧測定  
補正プログラム.第 55 回国立病院療養所学会総会。  
東京,2000.

大野 建治、野田 徹、佐野雄太ほか：蛍光濾過  
フィルターを用いた細隙灯顕微鏡による角結膜  
フルオレセイン染色所見の観察・撮影法.第 25 回  
角膜カンファレンス、第 17 回角膜移植学会総会、  
大阪,2001



黒川直行、林康司、野田徹ほか:結膜囊細菌培養でのオフロキサシン耐性菌検出の経年変化と背景因子. 第 37 回日本眼.科感染症学会総会,金沢,2000.

平井香織、野田徹、根岸一乃ほか:周辺部に形成された Elschning pearl の移動により急激な視力低下を生じたシリコン眼内レンズ移植眼の 1 例. 第 54 回日本臨床眼科学会総会. 於東京,2000

林康司、野田徹ほか:甲状腺視神経症の危険因子. 第 55 回国立病院療養所学会総会.東京,2000

小西美奈子、山田昌和、野田徹ほか:重症ドライアイにおける涙点プラグ挿入術の有用性.第 55 回国立病院療養所学会総会.東京,2000

細田ひろみ、野田徹、根岸一乃ほか:単色光コントラスト感度測定法の開発.第 55 回国立病院療養所学会総会.東京,2000

阿部聡、野田徹、根岸一乃ほか:含水ゲル眼内レンズ挿入眼のコントラスト感度.第 55 回国立病院療養所学会総会.東京,2000

大野建治、野田徹ほか:眼科画像のデジタル化に関する研究 - 細隙灯顕微鏡フルオレスチン蛍光染色所見のデジタル撮影法.第 55 回国立病院療養所学会総会.東京,2000

根岸一乃、大沼一彦、平山典夫、野田徹:コントラスト感度からみた眼内レンズ挿入眼における色収差.第 23 回日本眼科手術学会総会,名古屋,2000

根岸一乃、大野建治、野田 徹ほか:LASIK 後角膜フラップ線条整復と灌流液.第 17 回角膜移植学会総会,大阪,2001, 第 54 回日本臨床眼科学会,東京,2000

根岸一乃、大野建治、野田徹ほか: オゾン水による LASIK 術前消毒とフラップ下洗浄.第 25 回角膜カンファランス.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

## 無症候性網膜剥離に関する研究

分担研究者 柳田 隆 国立金沢病院眼科医長

研究要旨：無症候性網膜剥離についてその特徴を明らかにし、手術成績、術後経過などをまとめた。

### A. 研究目的

若年者に多くみられる無症候性網膜剥離について、本疾患のなかには非進行性のものがあることや、進行するとしても極めて緩徐な経過をとることが多いという理由で、手術的治療は不要とする意見がある。しかし、実際に我々が臨床の場で遭遇する若年者の網膜剥離症例のなかには、発見が遅れたため手術治療が成功しても恒常的な視力障害を残してしまうものも多い。本研究では、無症候性網膜剥離に対する治療方針決定に資するため、本疾患の特徴や手術成績、術後経過について検討した。

### B. 研究方法

1993年1月から1997年8月までの4年半の間に国立金沢病院眼科で手術を行った無症候性網膜剥離63例65眼について、それらの臨床的特徴、手術成績、術後経過を検討した。術後経過観察期間は9日～4年8カ月（平均10.8カ月）であった。

（倫理面への配慮）

本疾患のなかには、非進行性のものがあり、また進行するとしても極めて緩徐な経過をとることが多いことを説明し、経過観察にとどめることも選択肢の一つであることを話した後に、手術を希望する患者に対して手術を行った。

### C. 研究結果

男女間、左右眼の間に差はなかった。年齢分布では10～30歳が最も多く、全体の45%を占めた。受診の動機はコンタクトレンズに関するものが最も多く、次いで飛蚊症、検診の順に多くみられた。術前屈折度は、若年性無症候性網膜剥離（40歳未満）では-3.25～-6Dの中等度近視が多く、中高年無症候性網膜剥離（40歳以上）では-3.0D以下の弱度近視が多かった。裂孔または円孔の位置は、若年では下耳側が多く、中高年では上耳側が多かった。術後に網膜下液が消失するまでの期間は、若年では1カ月以上を要したものが多く、最長では16カ月であったが、中高年では多くが1週間以内であった。結果として全症例で網膜下液

は消失し、すなわち復位率は初回手術のみで100%であった。

### D. 考案

本疾患の臨床的特徴は、従来の裂孔原性網膜剥離についての報告とほぼ同様であったが、無症候性のものであるから、当然視力が良好な例や剥離範囲が小さいものが多数を占めた。本疾患の発見の契機はコンタクトレンズに関するものが多かった。このことより、眼鏡やコンタクトレンズの処方希望して来院した患者であっても詳細な眼底検査を行うことの重要性が改めて強調される。若年性網膜剥離では網膜下液の粘性が高く、その吸収には長期間を要することはよく知られているが、原因となった円孔が閉鎖されていれば長期間（時に1年以上）を要しても必ず網膜下液が消失し、網膜が復位することが本研究によって明らかとなった。この事実は患者への説明の貴重な資料となり得る。

前述のように、本疾患のなかには非進行性のものがあり、また進行するとしてもその速度が極めて緩徐であるものが多いことから、定期的に経過観察できるのであれば手術的治療は不要であるとする意見がある。しかし、筆者は以下の理由により原則として手術的治療を勧める考えである。第一に、今回の症例のなかには、他眼に黄斑部におよぶ網膜剥離があり、視力障害を生じたために発見されたものがあつた。すなわちこのようなタイプの網膜剥離でも進行する可能性があると考えられる。第二に、今回の手術成績は良好で、復位率が100%、合併症が皆無であった。第三に、手術をしない場合は日常生活に制限が加えられることがあり、また定期的に眼底検査を受けるといふ負担が残る。

### E. 結論

無症候性網膜剥離に対しては原則として手術的治療を行うべきである。しかしながら、本疾患に対して手術を行うか、あるいは経過観察にとどめるかは、最終的には患者自身が決めるべきこと

であり、この前提となるのは、手術をする場合としない場合のそれぞれに予想される経過についての医師からの十分な説明であり、本研究の結果はその貴重な資料となり得る。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

奥田徹彦、佐伯智幸、館野静佳、安藤佳奈子、柳田 隆. 国立金沢病院における無症候性網膜剥離 眼科臨床医報 93 : 1249-1252, 1999

##### 2. 学会発表

奥田徹彦、佐伯智幸、館野静佳、安藤佳奈子、柳田 隆. 国立金沢病院眼科における無症候性網膜剥離について 第37回網膜硝子体学会 5.20-21 仙台

なし

#### H. 知的財産権の出願、登録状況

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
奥山虎之、東範行	網膜芽細胞腫	宇都宮讓二	家族性腫瘍遺伝カウンセリングー理論と実際ー	金原出版	東京	2000	284-288
野田 徹、大野建治	レーザー細隙灯顕微鏡	田野保雄、樋田哲夫、大路正人、山田昌和、野田 徹	今日の眼疾患治療指針	医学書院	東京	2000	614
大野建治、野田 徹、浜中輝彦	蛍光虹彩・隅角造影検査	田野保雄、樋田哲夫、大路正人、山田昌和、野田 徹	今日の眼疾患治療指針	医学書院	東京	2000	593

雑誌

著者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	出版年	ページ
Azuma N, Yamada M. et al.	Mutations of a human homologue of the Drosophila eyes absent gene (EYA1) detected in patients with congenital cataract and ocular anterior segment anomalies.	Hum Mol Genet	9	2000	363-366
Shinoda K, Azuma N. et al.	Ultrastructural and immunohistochemical findings in five patients with vitreomacular traction syndrome. Retina	Retina	20	2000	289-293
東 範行	黄斑形成と中心視成立の分子細胞生物学	日眼会誌	104	2000	960-985
仁科幸子・東 範行・他	未熟児網膜症による視覚障害児の養育に関する問題点	眼臨医	94	2000	529-534
東 範行	眼の形成遺伝子とその異常	現代医療	32	2000	1973-1982
Kosuga M, Enosawa S, Li XK, Suzuki S, Matsuo N, Yamada M, Roy-Chowdhury J, Koiwai O, Okuyama T	Strong, long-term transgene expression in rat liver using chicken $\beta$ -actin promoter associated with cytomegalovirus immediate-early enhancer (CAG promoter).	Cell Transplant	9(5)	2000	675-680
Kosuga M, Takahashi S, Sasaki K, Enosawa S, Li XK, Okuyama S, Fujino M, Suzuki S, Yamada M, Matsuo N, Sakuragawa N, Okuyama T	Phenotype correction in murine mucopolysaccharidosis type VII by transplantation of human amniotic epithelial cells after adenovirus-mediated gene transfer.	Cell Transplant	9(5)	2000	687-692