

を認めた。その結果、359bp下流で終止コドンが生じていた。臨床像は、同一家系内においても、重症な症例から網膜色素上皮がわずかに粗造になっている症例まで、多様性に富んでいたがと完全に遺伝子異常と臨床像は連鎖していた。1症例は、黄斑部に境界鮮明な萎縮巣を伴っていた。

考察

FSCN2遺伝子に対して海外でスクリーニングが行われていたが、現在までpathogenic mutationの報告はない。今回の我々の検索によりFSCN2遺伝子は、常染色体優性網膜色素変性の原因遺伝子であることが確認された。我々が検索した範囲ではFSCN2遺伝子208delG変異は日本人常染色体優性網膜色素変性の3.3%に認められ、日本人常染色体優性網膜色素変性の主要な原因遺伝子であることが考えられた。

文献

1).Wada Y, Abe T, Takeshita T, Sato T, Tamai M. Mutation of Human retinal fascin

gene (FSCN2) causes autosomal dominant retinipigmentosa. Invest Ophthalmol Vis Sci 42,2395-2410,2001.

2) 1 献けん優性網膜色素変性の主要な原因遺伝子であることが考えられTubb BE, Bardien-Kruger S, Kashork CD, Shaffer LG, Ramagli LS, Xu J, Siciliano MJ, Bryan J. Characterization of human retinal fascin gene (FSCN2) at 17q25: close physical linkage of fascin and cytoplasmic actin genes. Genomics. 2000;65:146-56

3)Saishin Y, Shimada S, Morimura H, Sato K, Ishimoto I, Tano Y, Tohyama M. Isolation of a cDNA encoding a photoreceptor cell-specific actin-bundling protein: retinal fascin. FEBS Lett 1997;414:381-6

4) Saishin Y, Ishikawa R, Ugawa S, Guo W, Ueda T, Morimura H, Kohama K, et al. Retinal fascin: functional nature, subcellular distribution, and chromosomal localization. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2000;41:2087-95

2000630

以降P.159-161は雑誌に掲載された論文となりますので、
下記の資料をご参照ください。

**Mutation of human retinal fascin gene (FSCN2) causes autosomal
dominant retinitis pigmentosa.**

Wada Y, Abe T, Takeshita T, Sato H, Yanashima K, Tamai M.

Invest Ophthalmol Vis Sci. 2001 Sep;42(10):2395-400.

網膜変性ラットに対するニルバジピンの影響

Effect of nilvadipine on retinal dystrophy rat

弘前大学医学部眼科 大黒 浩、丸山 幾代、中沢 満

札幌医科大学医学部眼科 前田亜希子、前田忠郎

横浜市大医学部解剖 出沢真理、澤田元

Hiroshi Ohguro, Ikuyo Maruyama, Mitsuru Nakazawa

(Dept. of Ophthalmology, Hirosaki University School of Medicine),

Akiko Maeda, Tadao Maeda (Dept. of Ophthalmology, Sapporo Medical University School of Medicine)

Mari Dezawa, Hajime Sawada (Dept. of Anatomy, Yokohama City University School of Medicine)

【抄録】

網膜色素変性は遺伝性進行性の網脈絡膜変性症で未だ有効な治療法はない。今回本疾患のモデル動物であるRCSラットを用いてカルシウム拮抗剤であるニルバジピンの網膜変性への影響を検討したところ、ニルバジピンの全身投与により形態的および機能的に著しい網膜変性の抑制が見られた。したがって今回の結果は、ニルバジピンのヒトの網膜色素変性患者に投与により網膜変性を遅らせる可能性を示唆するものである。

Summary

Retinitis pigmentosa is characterized by hereditary and progressive chorioretinal degeneration, and no promising treatment for this retinal degeneration so far. Here we examined drug effects of Ca²⁺ antagonist, nilvadipine on the retinal degeneration of RCS rat which is known to be an animal model for retinitis pigmentosa, and found significant preservation effects of retinal morphology and functions during the retinal degeneration. Therefore, our present data suggest that nilvadipine may be beneficial for retinitis pigmentosa patients.

はじめに

網膜色素変性症は、遺伝性進行性の網脈絡膜変性症で、その病因として網膜特に視細胞におけるロドプシンをはじめとする光情報伝達機構に係わる多くのたんぱく質をコードする遺伝子に何らかの異常があり、それに基づいた視細胞のなんらかの機能異常により最終的に網膜変性に至るものと考えられている。しかしそれらの網膜視細胞機能異常を詳しく検討することは、未だ有効な治療法がない本疾患に対して新しい治療法をデザインする上で必須と考えられるが、あまりよくわかっていないのが現状である。一方本疾患における網膜変性の分子病態を解明するためにモデル動物であるRoyal College Surgeons rat (RCS rat)が使われている。RCSラットは生後3週ころより網膜変性が進行し始め約8週くらいで完全に網膜外層が変性してしまうのが特徴である。この原因として視細胞外節が色素上皮に貪食されないため結果として視細胞と色素上皮細胞の間にデブリスが蓄積するのが重要とされる。したがって第一にRCSラットでは色素上皮細胞に異常があると考えられるが、いろいろな実験結果より貪食される視細胞側にも異常があることが示唆されている。最近われわれの研究グループは、RCSラッ

トにおける視細胞の機能異常を明らかにするために電気泳動的にたんぱく質を検討したところ、RCSラットでは正常に比べてロドプシンキナーゼと α -A-crystallinの発現が特異的に低いことからRCSラットの視細胞では機能異常としてロドプシンのリン酸化に異常があることを示唆した。もしそうであればロドプシンキナーゼの抑制因子であるCa²⁺結合たんぱく質であるリカバリンをカルシウム拮抗剤で抑制することによりRCSラットの網膜変性の進行をくい止めることができる可能性が考えられる。

そこで今回我々は、本疾患に対する有効な治療法を確立するために本症のモデル動物であるRCSラットの網膜変性過程に対してカルシウム拮抗剤であるニルバジピンの効果を検討する目的で実験を行った。

方法

RCSラット3週令にそれぞれニルバジピンまたは、基材を毎日腹腔内に投与し、1週毎に網膜機能としてERGおよびロドプシンの磷酸化能を検討した。また同様にニルバジピンの投与の有無で網膜組織を光顕および電顕で検討した。

結果

ニルバジピンを投与した群は、基材を投与したコントロール群に比べて有意にERGの波形およびロドプシンの磷酸化能が保たれた。また光顕ではニルバジピンを投与した群がコントロールに比べ有意に網膜組織の被薄化が少なく、また電顕でも前者が後者に比べ明らかに網膜組織形態が保たれていた。

考案

今回われわれは、カルシウム拮抗剤ニルバジピンの投与によりRCSラットにおける網膜変性過程で網膜組織および機能障害を軽くなることが明らかとなった。このニルバジピンの網膜神経保護作用については明らかでないが、われわれの以前のRCSラットを用いた検討で機能異常としてロドプシンのリン酸化に異常があることに加え、網膜色素変性患者の遺伝子的検討からロドプシンの遺伝子異常が知られているがこれらも分子生物学的検討ではやはりロドプシンのリン酸化異常を伴うことからおそらくカルシウム拮抗剤による細胞内カルシウム濃度の制御によりカルシウム結合たんぱく質であるリカバリンを介した系によるものであろうと考えられる。興味深いことに最近の検討ではカルシウム拮抗剤であるdiltiazemがrdマウスの網膜変性に効果があることもわかっていることから、カルシウム拮抗剤は共通的に網膜変性に効く可能性がある。またさらにニルバジピンはin vitroの検討により神経細胞のアポトーシスを抑制する効果が認められたり、一方ではニルバジピンの持つ血管拡張作用も関係するかもしれない。したがって今後はさらにRCSラット以外のモデル動物で検討する必要があるものと考えられた。

結論

今回のわれわれの検討から、カルシウム拮抗剤ニルバジピンは、RCSラットの網膜の形態および機能を保持させる可能性が示唆された。

参考文献

1. Ohguro, H., Ogawa, K., and Nakagawa, T.: Both recoverin and hsc70 are found as autoantigens in patients with cancer-associated retinopathy. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 40:82-89, 1999
2. Ohguro, H., Ogawa, K., Maeda, A., Maeda, T., and Maruyama, I.: Cancer-associated retinopathy induced by both anti-recoverin and anti-hsc70 antibodies in vivo. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 40:3160-3165, 1999
3. Maeda, A., Ohguro, H., Maeda, T., Wada, I., Sato, N., Kuroki, Y., and Nakagawa, T.: Aberrant expression of photoreceptor specific calcium binding protein (recoverin) in cancer cell lines. *Cancer Res.*, 60: 1914-1920, 2000
4. Maeda, A., Ohguro, H., Nabeta, Y., Hirohashi, Y., Maeda, T., et al. Identification of human antitumor cytotoxic T lymphocytes epitopes of recoverin, a cancer-associated retinopathy antigen, related with a better prognosis in a paraneoplastic syndrome. *Eur J Immunol*, in press.
5. Maeda T, Maeda A, Maruyama I, Ogawa K, Kuroki K, Sahara H, Sato N, Ohguro H: Mechanisms of anti-recoverin antibody generation and photoreceptor cell death in cancer-associated retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, in press

2000630

以降P.186-193は雑誌に掲載された論文となりますので、
下記の資料をご参照ください。

**Cancer-associated retinopathy induced by both anti-recoverin and
anti-hsc70 antibodies in vivo.**

Ohguro H, Ogawa K, Maeda T, Maeda A, Maruyama I.

Invest Ophthalmol Vis Sci. 1999 Dec;40(13):3160-7.

癌関連網膜症患者末梢血中に検出されるリカバリン 特異的細胞傷害性T細胞の意義

Meanings of recoverin-specific cytotoxic T lymphocytes in patients with cancer-associated retinopathy

札幌医科大学医学部眼科 前田亜希子、前田忠郎
弘前大学医学部眼科 大黒 浩、丸山 幾代、中沢 満
Akiko Maeda, Tadao Maeda

(Dept. of Ophthalmology, Sapporo Medical University School of Medicine)

Hiroshi Ohguro, Ikuyo Maruyama, Mitsuru Nakazawa

(Dept. of Ophthalmology, Hirosaki University School of Medicine)

【抄録】

癌関連網膜症 (cancer-associated retinopathy; CAR) は眼科領域における腫瘍随伴症候群のひとつで、患者血清中には網膜特異的カルシウム結合蛋白質であるリカバリンなどに対する自己抗体が検出され、実験的に視細胞アポトーシスが抗リカバリン抗体を用いて誘導できること、患者癌細胞にはリカバリンが異所性発現していることから、網膜症の発症にリカバリンが関与することが強く示唆されている。CAR患者は視機能障害が存在する一方で癌としての生命予後が他の腫瘍随伴症候群と同様により傾向があることが指摘されていることから、CAR患者血液からリカバリン特異的な細胞傷害性Tリンパ球 (cytotoxic T lymphocyte; CTL) の誘導を試み、リカバリン発現癌細胞を障害できるCTLを得ることができた。このことからCTLが癌に異所性発現したリカバリンを認識し癌細胞の排除に関わっていることが推測された。

Summary

Cancer-associated retinopathy (CAR) is an ocular manifestation of the paraneoplastic syndrome, and CAR patients sera, autoantibodies against a photoreceptor specific 23 kDa calcium binding protein, called recoverin, or some antigens were detected. Because anti-recoverin antibody was found the most frequently among these autoantibodies, and because recoverin-specific antibody can induce apoptosis of retinal cells, and additionally recoverin was aberrantly expressed in the cancer cells obtained from CAR patients, recoverin is suggested to contribute to the pathogenesis of retinopathy. Interestingly, as in some paraneoplastic syndromes, it was suggested that CAR patients possess a preferable prognosis compared with cancer patients without retinopathy. Therefore, we tried to induce recoverin-specific cytotoxic T lymphocytes (CTLs) from CAR patients, and it revealed that recoverin-specific CTLs can be efficiently induced, and that recoverin-expressing cancer cells can be killed by these CTLs. These facts strongly support that aberrantly-expressed recoverin in cancer cells can become a target of CTLs.

キーワード：癌関連網膜症 (cancer-associated retinopathy; CAR)、リカバリン、cytotoxic T lymphocyte; CTL、HLA-A24、腫瘍随伴症候群、癌抗原、免疫療法

はじめに

腫瘍随伴症候群患者において自己抗体が病態に深くかかわることが解明されてきているが、自己抗体だけでなく、細胞性免疫応答の重要性が最近になり指摘されはじめています。これと同時に本来は免疫学的特権部位に存在するこれら腫瘍随伴症候群でのターゲット分子が癌細胞に異所性発現していることがわかってきて、随伴症候群としての神経症だけでなく、腫瘍拒絶にもこのターゲット分子が重要な役割を担い、細胞傷害性T細胞 (cytotoxic T lymphocyte; CTL) を介した癌細胞の免疫学的排除に深く関与していることが示唆されはじめています。

癌関連網膜症は眼科領域における腫瘍随伴症候群のひとつで、癌の遠隔効果により網膜症が惹起されると考えられている。患者血清中には網膜特異的カルシウム結合蛋白質であるリカバリンに対する自己抗体が存在し、このリカバリン抗体が網膜視細胞のapoptosisに関与していることがわかってきた。癌関連網膜症は非常に稀な疾患であるが、他の腫瘍随伴症候群と同様に臨床的に癌としての予後が良好であることが示唆されていることから、我々はリカバリン特異的CTLが病態に関与していることを推測し、これまで網膜特異的に発現している隔絶抗原と考えられていたリカバリンの癌細胞での異所性発現、ま

た、リカバリン特異的CTLの誘導を試みた。

方法

癌細胞におけるリカバリン発現をCARの合併が報告されている肺癌や消化器癌をはじめとする様々な癌細胞をもちいてRT-PCR法により検討した。またHLA-A24結合モチーフをもつリカバリン由来ペプチド9種類を合成し、CAR患者、癌患者、健常者よりCTL誘導をおこない、⁵¹Cr-release assay法にて細胞障害活性の検討をおこなった。

結果

癌細胞の50%以上でリカバリンの異所性発現が観察された。2人の癌関連網膜症患者からリカバリン特異的CTLの誘導を試みると両者よりCTLが誘導された。また癌関連網膜症患者だけでなく網膜症のない癌患者、健常者からもCTLが誘導された。このCTLは癌の組織型に関係なく、HLA-A24に提示されるリカバリンを効率的に認識できることがわかった。さらにリカバリン特異的CTL前駆細胞は癌関連網膜症患者と癌患者で著しく増殖していることが判明した。

考按、結語

これまでは癌細胞と宿主である患者の血液をもちいた方法からの癌抗原の同定が最も盛んな同定法として用いられており、癌抗原としての意味以上のものをもつ抗原は決定されていない。リカバリンのように腫瘍随伴症候群患者の良好予後を反映し、かつ腫瘍随伴症候群そのものの原因抗原であるような思慮深い分子の報告は今までに存在していない。さらに癌関連網膜症患者だけでなく網膜症のない癌

患者において癌の組織型に関係なくCTLが誘導されること、正常人に比べ癌関連網膜症患者と癌患者でCTL前駆細胞が増加しているということは、リカバリンが癌の免疫療法に応用できる可能性が高く重要な分子であることを示唆している。これら腫瘍随伴症候群のターゲット分子が広く癌の免疫療法に応用できる可能性がある。

文献

1. Ohguro, H., Ogawa, K., and Nakagawa, T.: Both recoverin and hsc70 are found as autoantigens in patients with cancer-associated retinopathy. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 40:82-89, 1999
2. Ohguro, H., Ogawa, K., Maeda, A., Maeda, T., and Maruyama, I.: Cancer-associated retinopathy induced by both anti-recoverin and anti-hsc70 antibodies in vivo. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 40:3160-3165, 1999
3. Maeda, A., Ohguro, H., Maeda, T., Wada, I., Sato, N., Kuroki, Y., and Nakagawa, T.: Aberrant expression of photoreceptor specific calcium binding protein (recoverin) in cancer cell lines. *Cancer Res.*, 60: 1914-1920, 2000
4. Maeda, A., Ohguro, H., Nabeta, Y., Hirohashi, Y., Maeda, T., et al. Identification of human antitumor cytotoxic T lymphocytes epitopes of recoverin, a cancer-associated retinopathy antigen, related with a better prognosis in a paraneoplastic syndrome. *Eur J Immunol*, in press.

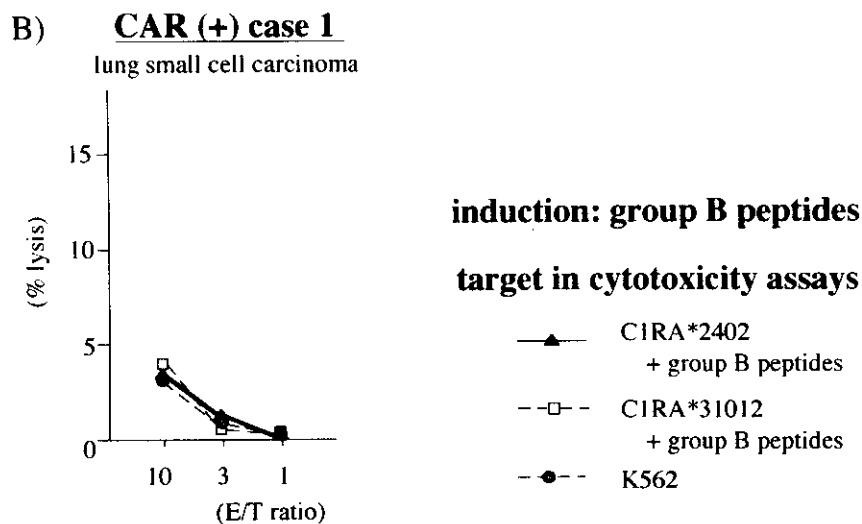
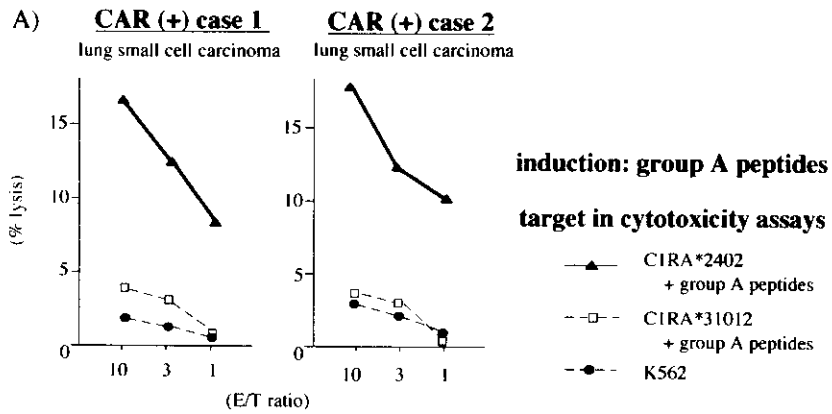


Table 1. Summary of recoverin peptides with HLA-A24 binding motif

Peptide	first	second	Sequence	b) Position
	random group	random group		
R22	A	A-I	<u>K</u> E <u>S</u> E <u>E</u> E <u>L</u> C <u>S</u> <u>W</u>	22-
R49	A	A-I	Q <u>E</u> Q <u>S</u> I <u>Y</u> A <u>K</u> E	49-
R49.2	A	A-I	Q <u>E</u> Q <u>S</u> I <u>Y</u> A <u>K</u> F <u>E</u>	49-
R64	A	A-II	A <u>Y</u> A <u>Q</u> H <u>V</u> F <u>R</u> S <u>E</u>	64-
R108	A	A-II	L <u>Y</u> D <u>V</u> D <u>G</u> N <u>G</u> T <u>I</u>	108-
R69	B		V <u>E</u> R <u>S</u> F <u>D</u> S <u>N</u> <u>L</u>	69-
R82	B		D <u>E</u> K <u>E</u> Y <u>V</u> I <u>A</u> <u>L</u>	82-
R131	B		K <u>M</u> I <u>T</u> P <u>E</u> D <u>V</u> K <u>L</u>	131-
R158	B		Y <u>E</u> G <u>K</u> N <u>D</u> D <u>D</u> K <u>L</u>	158-

a) Under line indicates amino acids which are compatible with HLA-A24 binding motif

b) N-terminal position of the first residue of recoverin

2000630

以降P.197-203は雑誌に掲載された論文となりますので、
下記の資料をご参照ください。

**Aberrant expression of photoreceptor-specific calcium-binding protein
(recoverin) in cancer cell lines.**

Maeda A, Ohguro H, Maeda T, Wada I, Sato N, Kuroki Y, Nakagawa T.
Cancer Res. 2000 Apr 1;60(7):1914-20.

ホメオボックス遺伝子を用いた網膜由来neural sphereからの視細胞の分化誘導

Induction of photoreceptor differentiation from retina-derived neural sphere with homeobox gene transfer

高橋政代、赤木忠道、春田雅俊、秋田穰、本田孔士（京都大学大学院医学研究科視覚病態学）
小阪美津子（JST/TOREST）、鐘ヶ江裕美、斉藤泉（東京大学医科学研究所遺伝子解析施設）
Masayo Takahashi, Tadamichi Akagi, Masatoshi Haruta, Joe Akita, Yoshihito Honda
(Department of Ophthalmology and Visual Sciences, Kyoto University),
Mitsuko Kosaka (JST/TOREST), Yumi Kanegae, Izumi Saitoh
(Laboratory of Molecular Genetics, University of Tokyo)

【要約】

近年、脳・脊髄、また成体の毛様体上皮からも網膜神経幹細胞が得られることが報告された。しかし、必要とする種類の神経細胞を効率良く得る方法はいまだ確率されていない。そこで眼球組織から得られた神経幹細胞（あるいは神経前駆細胞）からホメオボックス遺伝子を導入することによって視細胞を分化させることができるかどうかを検討した。

ラットおよびヒト胎児網膜、毛様体上皮から塩基性線維芽細胞増殖因子を添加した無血清培地で培養することによって神経幹細胞を含むと考えられているneural sphere が得られた。neural sphere から誘導によって神経細胞とグリアが分化した。しかし、オプシン陽性細胞は認めなかった。

アデノウイルスベクターを用いてCrx遺伝子を強制発現させた細胞では多数のオプシン陽性細胞が出現した。GFP遺伝子の導入によってはオプシンの発現はなかった。

Abstract

It was recently shown that adult retinal stem cells are localized to the pigmented ciliary body in the adult mammalian eye. Although these stem cells have the potential to differentiate as retinal-specific cells, very low proportion of cells differentiate into photoreceptor cells. This study was conducted to examine the effect of photoreceptor-specific homeobox gene Crx on stem cell differentiation.

The cells derived from embryonic rat retina, embryonic human retina, and ciliary body epithelium are proliferative in the presence of bFGF and most of the cells expressed the nestin, an intermediate filament protein expressed in both neuronal and glial progenitors. Adenovirus-mediated gene transfer of Crx notably promoted the opsin expression in these cells as judged by the RetP1 immunocytochemistry, while adenovirus-mediated gene transfer of GFP protein did not have significant effect on the photoreceptor differentiation.

キーワード：神経幹細胞、網膜移植、網膜神経細胞、毛様体上皮、分化、ホメオボックス遺伝子、遺伝子導入

目的

われわれは過去に成体ラット海馬由来神経幹細胞を網膜に移植すると、神経幹細胞が発達期の網膜や障害を与えた成体網膜には侵入、生着し神経に分化することを報告した（1、2）。しかし、神経には分化するものの網膜神経を表すまでには分化しない。これは海馬由来の神経幹細胞であるということで、網膜神経へ完全に分化するためのに必要な因子が欠けていると考えられる。

そこで現在我々は、様々な眼球組織から神経幹細胞（あるいは神経前駆細胞）を分離培養し、さらに網膜神経細胞の分化に関与するホメオボックス遺伝

子をそれらの神経前駆細胞に導入することにより効率の良い網膜神経細胞の分化誘導を目指している。

材料と方法

胎児網膜の培養

胎生18日のラット網膜あるいは胎生11週のヒト網膜を摘出する。塩基性線維芽細胞増殖因子（bFGF）を加えた無血清培地を用いて培養する。十分に細胞が増殖したところでtrypsinによって処理後継代培養する。

分化誘導のためには培地からbFGFを除去し、牛胎児血清とレチノイン酸を添加した培地で2週間培

養する。

なお、ヒト胎児網膜の研究に関しては京都大学医の倫理委員会の承認を受け行った。

毛様体色素上皮細胞の培養と神経分化誘導

3～4週齢DAラットの眼球を摘出し、赤道部よりやや前方の強膜を輪状に切開して前眼部を分離する。網膜を完全に除去したのち、レンズおよび毛様体無色素上皮細胞を取り除く。毛様体組織を単離したのち、DispaseおよびEDTAでそれぞれの組織を処理する。一部の毛様体組織はラミニンコートしたディッシュ上で色素上皮細胞側が下面になるようにして接着させ、塩基性線維芽細胞増殖因子を加えた無血清培地を用いて接着培養を行う。またその他の虹彩および毛様体組織はトリプシン処理後にピペティングにて単一細胞にまで分離し、塩基性線維芽細胞増殖因子を加えた無血清培地を用いて浮遊培養を行う。神経への分化誘導を目的とする実験時には、引き続き牛胎児血清を添加した培地に移行して培養を継続する。

組換えアデノウイルスベクターの作成と遺伝子導入

視細胞の特異的ホメオボックス遺伝子であるCrx遺伝子およびレポーター遺伝子であるGFP遺伝子をそれぞれ増幅し、制限酵素で切り出したそれぞれの遺伝子を発現コスミドカセットに組み込む。相同的遺伝子組み替えを用いて、それぞれの遺伝子を発現するアデノウイルスを作成する。得られた組換えアデノウイルスは293細胞に感染させて増殖させ、塩化セシウムを用いたステップグラジエント法によってウイルスを精製する。

虹彩および毛様体由来の培養細胞に対し、精製したCrxまたはGFP遺伝子発現アデノウイルスを感染させる。アデノウイルスによりそれぞれの遺伝子を導入後神経分化条件で引き続き培養し、免疫細胞化学的解析により神経分化に与える効果を判定する。

免疫細胞化学

培養細胞は培地を吸引除去後、4%パラホルムアルデヒドで固定し、スキムミルクを用いてブロッキングを行う。各種の神経マーカーとして知られる様々な一次抗体（ネスチン、ニューロフィラメント200、MAP5、 β -チューブリン、GFAP、オブシン）を至適倍率に希釈して反応させたのち、蛍光標識された二次抗体にて可視化させる。蛍光顕微鏡で観察するとともに、その一部はコンフォーカル顕微鏡を用いて撮影記録する。

結果

ラットおよびヒトの胎児網膜からは海馬由来神経幹細胞と同様の方法で、神経幹細胞を含むと考えられているneural sphereを分離培養することができた。(図1) neural sphereを固定後、凍結切片作成

し、神経幹細胞のマーカーとされているネスチン抗体で免疫染色を行った所、ほぼすべての細胞がネスチン陽性であった。さらに、レチノイン酸で分化誘導後は、 β -チューブリン、GFAP陽性細胞が見られ、幼若な神経や、グリア細胞に分化することが示された。毛様体上皮からも浮遊培養にてneural sphere様の細胞が培養できた。分化誘導前はnestin陽性の細胞が確認され、分化誘導後はやはり β -チューブリン、GFAP陽性細胞が少数ながら存在した。さらにアデノウイルスベクターを用いてCrxを導入後、分化誘導すると視細胞のマーカーであるオブシン陽性の細胞が見られた(図2)。遺伝子を導入せず、あるいはアデノウイルスベクターでGFP(green fluorescent protein)遺伝子を導入した後分化誘導したコントロールではオブシン陽性細胞は認めなかった。

結語

ラットおよびヒト胎児網膜、ラット毛様体上皮から未分化な神経幹細胞(あるいは神経前駆細胞)を培養することができた。また、分化誘導によってそのうちの一部は神経とグリアに分化した。さらにホメオボックス遺伝子を導入することによって視細胞のマーカーであるオブシン陽性の細胞を得ることができた。

参考文献

1. Masayo Takahashi, Theo D. Palmer, Jun Takahashi, Fred H. Gage. Widespread integration and survival of adult-derived neural progenitor cells in the developing optic retina. *Mol. Cell. Neurosci.* 12:340-8, 1998.
2. Akihiro Nishida, Masayo Takahashi, Hidenobu Tanihara, Ichiro Nakano, Jun B Takahashi, Akira Mizoguchi, Chizuka Ide, Yoshihito Honda. Incorporation and differentiation of hippocampus-derived neural stem cells transplanted in injured adult rat retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 41:4268-4274, 2000.

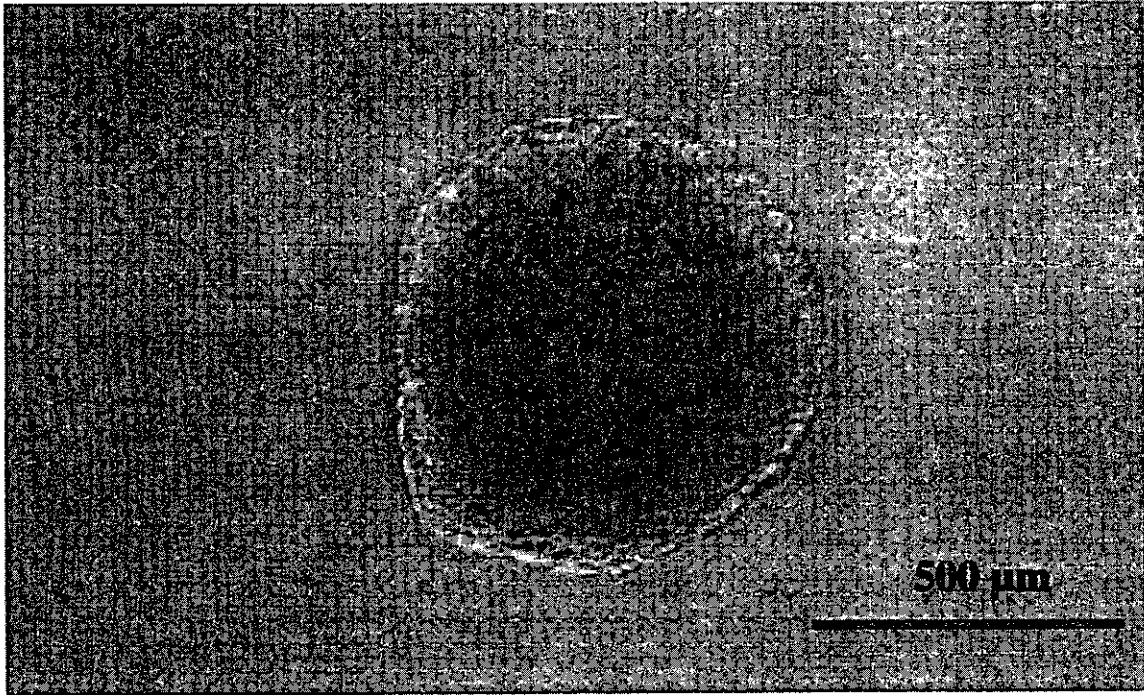


図1 胎児ラット網膜から得られたneural sphere.

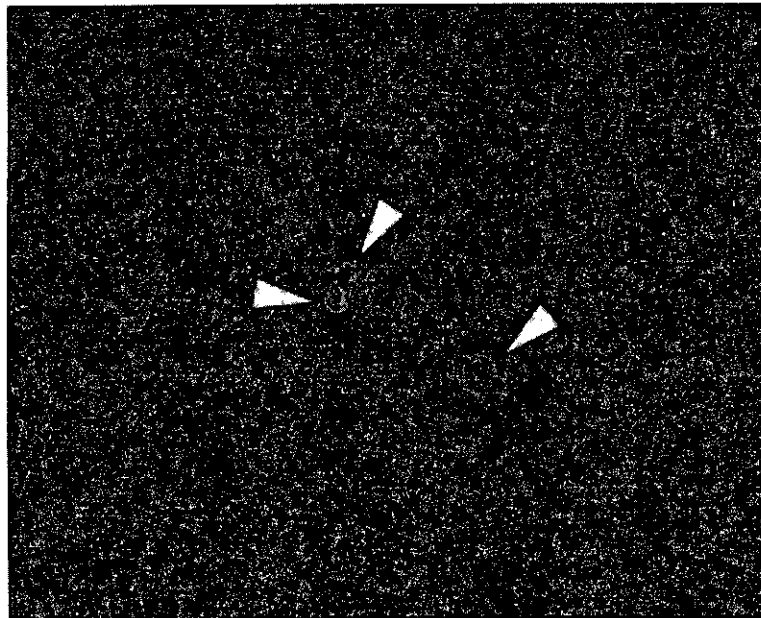


図2 虹彩上皮にアデノウイルスベクターを用いてCrx遺伝子を導入後分化誘導した細胞。視細胞のマーカであるオプシンを発現した細胞を認める。

組み換えセンダイウイルスベクターを用いた ラット網膜への遺伝子導入の検討

Gene transfer to the rat retinal tissue via recombinant Sendai virus

池田康博^{1,2}、米満吉和¹、石橋達朗²、福村正之³、長谷川護³、居石克夫¹
九州大学大学院医学研究院病理病態学¹、同 眼科学²、DNAVEC研究所³

Yasuhiro Ikeda^{1,2}, Yoshikazu Yonemitsu¹, Tatsuro Ishibashi², Masayuki Fukumura³,
Mamoru Hasegawa³ and Katsuo Sueishi¹

¹Division of Pathophysiology and Experimental Pathology, Department of Pathology,

²Department of Ophthalmology, Graduate School Medical Sciences, Kyushu University,
Fukuoka, Japan.

³DNAVEC Research Inc., Tsukuba-city, Ibaraki, Japan.

【抄録】

<目的>新規に開発された組み換えセンダイウイルス (SeV) ベクターの眼組織、特に網膜への遺伝子導入を試みた。
<対象及び方法> LacZ・luciferaseを組み込んだSeVベクター溶液をWistar rat (7週令) の網膜下に注入し、発現期間、
発現量及び発現部位を検討した。また、実験群を10分後にベクター溶液を除去する群 ("remove"群) と溶液を貯留して
おく群 ("leave"群) とに分けて発現量を比較した。<結果> SeVベクターは網膜色素上皮細胞に導入可能で、発現期間は
約1週間であった。また、SeVベクターの"remove"群では、"leave"群と比べて発現量の低下はなかった。
<結論> SeVベクターは導入細胞との極めて短い接触時間で効率の高い遺伝子発現を得られるという特徴があることから、
今後の遺伝子治療ベクターの1つとなる可能性が示唆された。

Purpose. To determine whether recombinant Sendai virus (SeV) vector could be used in case of ocular tissue, including retinal tissue, we tested the transfection potential of SeV in adult rats. Methods. In this study, we used recombinant SeVs encoding the E.coli lacZ gene and the firefly luciferase. These virus solutions were injected into subretinal space of adult Wistar rats (7 weeks old) and we tested the transfection potential of SeV vector. And we used 2 different techniques: to remove them 10 minutes after the injection ("remove") or to allow virus solutions to remain in the subretinal space ("leave"). Results. SeV could efficiently transfect to retinal pigment epithelium (RPE) and gene expression lasted for about one week. Gene expression of SeV in the "remove" group showed no significant decrease compared with that of "leave" group. Conclusions. As SeV could transfect the target cells with a brief exposure time, we propose that recombinant SeV vector may be one of the choices for retinal gene transfer.

キーワード：センダイウイルス、網膜色素上皮細胞、アデノウイルス、遺伝子治療、接触時間

目的

近年、網膜を中心とした眼組織への遺伝子導入を用いた遺伝子治療の研究が行われる中、現在までに、アデノウイルス、レトロウイルスなどのウイルスベクターを用いた方法や、HVJ-liposome法などの非ウイルスベクターを用いた方法が報告されている。また、実際に疾患モデルである実験動物の治療効果も報告されてきている。新規に開発された組み換えセンダイウイルス (SeV) ベクターは種々の培養細胞や、実験動物の様々な臓器において高い導入効率が証明されている。今回、我々はこのベクターを用い、ラットの眼組織、特に網膜への遺伝子導入の検討を試みた。

対象及び方法

- 1、reporter geneであるLacZ・luciferaseを組み込んだSeVベクター溶液を顕微鏡下に、Wistar rat (オス・7週令) の網膜下に注入し、発現期間、発現量及び発現部位を検討した。
- 2、免疫抑制剤であるシクロスポリンAの腹腔内連日投与による遺伝子発現の延長効果を検討した。
- 3、培養ヒト網膜色素上皮細胞を用い、細胞とベクター溶液との接触時間を1・10・30・60分間・3・12・24・48時間まで変化させ、2日後の発現量をSeVベクターとアデノウイルスベクターとで比較した。
- 4、ラット網膜下投与において、実験群を10分後

に網膜下からベクター溶液を除去する群 ("remove"群) と、溶液をそのまま網膜下に貯留しておく群 ("leave"群) とに分けて、2日後の発現量をSeVベクターとアデノウイルスベクターとで比較した。

結果

1、SeVベクターでは、アデノウイルスベクターと同様に網膜色素上皮細胞に導入が可能で、平均約40%の導入率であった。また、発現期間は約1週間であった。

2、免疫抑制剤であるシクロスポリンAの腹腔内連日投与により、遺伝子発現は4週間まで延長可能であった。また、その延長効果は容量依存性であった。

3、培養ヒト網膜色素上皮細胞において、SeVベクターでは1分間の接触時間で最大発現の約1/7の発現量が得られ、30分間で最大発現とほぼ同等の発現量が得られた。一方、アデノウイルスベクターでは3時間の接触時間においても最大発現の約1/1000の発現量しか得られなかった。

4、SeVベクターの"remove"群では"leave"群と比べて発現量の低下はみられなかった。アデノウイルスベクターの"remove"群では有意な発現量の低下をみ

られ、また、SeVベクターのそれに比べても有意な発現量の低下がみられた。

結論

1、組み換えセンダイウイルスベクターの網膜下投与による網膜色素上皮細胞への遺伝子発現期間は約1週間と短期間であるが、発現量はアデノウイルスベクターと同等であることがわかった。また、免疫抑制剤投与において、容量依存性に発現延長効果がみられたことから、発現低下の原因に宿主免疫（特にCTL）が関与していることが示唆された。

2、センダイウイルスベクターは導入標的細胞との接触時間が極めて短くても、効率の高い遺伝子発現を得られるという特徴があることから、導入時の網膜剥離による視細胞のアポトーシスなどの障害を軽減できることが期待できる。また、ウイルス液を眼内から除去できることで、宿主の免疫反応を軽減できることが期待される。

3、以上の特徴から、センダイウイルスベクターは今後の遺伝子治療ベクターの1つとなる可能性が示唆された。

遺伝子導入を用いた網膜グリア性癆痕の抑制

Inhibition of retinal gliosis by gene therapy

九州大学大学院医学研究院眼科学 久富智朗 坂本泰二 石橋達朗

Toshio Hisatomi, Taiji Sakamoto, Tatsurou Ishibashi

Department of Ophthalmology, Graduate school of Medicine, Kyushu University

【抄録】

<目的> 変性、虚血、炎症後の癆痕化を抑制する目的でTGF- β を中和するTGF- β II型受容体組み込みアデノウイルスベクター(AdTb-TR)、可溶性TGF- β II型受容体分泌型組み込みアデノウイルスベクター(Ad-ExR)を作成し、その効果を培養細胞モデル、ラットレーザー光凝固モデルを用いて検討した。

<方法> 培養網膜グリア細胞を用いてTGF- β 刺激によるグリオーシスの程度をグリア線維性蛋白(glial fibrillary acidic protein; GFAP)を指標として判定し、アデノウイルスベクター(AdTb-ExR)感染細胞の培養上清を用いてグリオーシスの抑制効果を検討した。またBrown Norwayラットの眼内にAdTb-TRを投与した群と、腹腔内にAdTb-ExRを投与した群を作製し、レーザー光凝固を行い、網膜の癆痕化の程度とGFAP発現の程度を判定した。

<結果> 培養網膜グリア細胞ではTGF- β 刺激により用量依存的にGFAPの発現増加が見られ、可溶性TGF- β II型受容体を含むAdTb-ExR感染細胞の培養上清により発現が抑制された。レーザー光凝固モデルではAdTb-TR、AdTb-ExR投与群で網膜のグリオーシスがコントロール群(AdLacZ投与群)に比較して抑制された。

<結論> TGF- β II型受容体を遺伝子導入により、直接、または遠隔投与することでTGF- β の作用を中和し、網膜のグリオーシスを抑制できた。

<Purpose> To study the effect of inhibiting TGF- β signaling for degeneration, ischemia, or inflammation, adenovirus-mediated gene therapy, which code truncated TGF- β type II receptor and soluble receptor, was done with cultured cells and animal models of photocoagulation.

<Method> Cultured M μ ller cells were stimulated by recombinant TGF- β and glial fibrillary acidic protein (GFAP) expression was analysed. Cultured medium from Adenovirus (AdTb-ExR)-infected cells was co-cultured with M μ ller cells, and their inhibitory effect was analysed subsequently. In animal models of photocoagulation, AdTb-TR was injected in the vitreous, and AdTb-ExR was injected intraperitoneally. The eyes were analysed by immunohistochemistry and Western blotting.

<Results> In cultured M μ ller cells, GFAP expression was increased by TGF- β in a dose-dependent manner, and cultured medium from Adenovirus (AdTb-ExR)-infected cells inhibited these changes effectively. GFAP expression was also decreased in vivo studies treated with AdTb-TR and AdTb-ExR. <Conclusion> Retinal gliosis was inhibited by dominant-negative TGF- β type II receptor, provide by direct and indirect gene therapy.

キーワード：遺伝子治療、グリオーシス、M μ ller細胞、TGF- β 、アデノウイルス

Key words: gene therapy, gliosis, M μ ller cells, TGF- β , adenovirus

目的

変性、虚血、炎症等の病的過程において網膜のグリオーシスは、網膜の正常構造が失われグリア性の癆痕組織に置き換わるといふ点で重要である。神経系以外の組織では、線維芽細胞の増殖による線維化が起り、過剰な線維化は組織の持つ形態、機能を阻害することが報告され、これらを抑制することで本来の役割を温存できることが知られている。線維化においてはTGF- β を介したシグナルが大きな割合を占めることが知られており(1,2)、中枢神経系においてもグリオーシスの過程に、TGF- β が関与してい

ることが報告されている(3,4)。眼科領域でも、網膜・視神経萎縮性疾患において、これらの正常構造が失われ代償的にグリア性癆痕に置き換わった像が観察される。また眼内への薬物投与の方法として遺伝子導入は有効であることが報告されており(5,6,7,8)、今回はこれらの過程におけるTGF- β の関与とその抑制について考察した。

方法

培養網膜グリア細胞モデルとラット網膜光凝固モデルを用いてTGF- β 刺激によるグリオーシスの程度を

グリア線維性蛋白(glial fibrillary acidic protein; GFAP)を指標として判定した。培養網膜グリア細胞モデルでは、ウシ網膜から得られたM₁細胞を24時間無血清培地で培養し、recombinant TGF- β を用いて刺激し、GFAPの量をWestern Blottingを用いて評価した。次に293細胞に可溶性TGF- β II型受容体分泌型組み込みアデノウイルスベクター(Ad-ExR)を感染させ、得られた可溶性TGF- β II型レセプターを含む培養上清を用いて、recombinant TGF- β を用いて刺激したM₁細胞のグリオシスの抑制効果を検討した。またBrown Norwayラットの眼内にTGF- β II型受容体組み込みアデノウイルスベクター(AdTb-TR)を投与した群と、腹腔内に可溶性受容体分泌型組み込みアデノウイルスベクター(Ad-ExR)を投与した群を作製し、レーザー光凝固を行い、10日後に眼球を摘出し、病理学的に網膜の瘢痕化の程度を、免疫染色を用いてGFAP発現の程度を判定した。また網膜を採取し、GFAPの量をWestern Blottingを用いて評価した。それぞれ実験においてLacZ組み込みアデノウイルスベクター(Ad-LacZ)を感染させたものをコントロール群として用いた。

結果

培養網膜グリア細胞ではTGF- β 刺激により用量依存的にGFAPの発現増加が見られ、この発現増加は可溶性TGF- β II型受容体を含むAdTb-ExR感染細胞の培養上清により濃度依存的に発現が抑制された。網膜光凝固モデルではAdTb-TR、AdTb-ExR投与両群で病理学的に網膜のグリオシスがコントロール群(AdLacZ投与群)に比較して抑制された。免疫染色では、光凝固部に一致してGFAPの発現増加がみられ、コントロール群に比較してAdTb-TR、AdTb-ExR群では発現増加が抑制されていた。網膜抽出物を用いたWestern Blottingでも、同様にTGF- β により用量依存的にGFAP発現増加がみられ、AdTb-TR、AdTb-ExR両群でこれらの増加は抑制された。

結論

TGF- β II型受容体を遺伝子導入することで、dominant negative typeのreceptorを直接、または遠隔投与することでTGF- β の作用を競合的に阻害し、網膜のグリオシスを抑制できた。

References

- 1) Ueno H, Sakamoto T, Nakamura T, et al. A soluble transforming growth factor beta receptor expressed in muscle prevents liver fibrogenesis and dysfunction in rats. *Hum Gene Ther.* 2000;11:33-42.
- 2) Nakamura T, Sakata R, Ueno T, Sata M,

Ueno H. Inhibition of transforming growth factor beta prevents progression of liver fibrosis and enhances hepatocyte regeneration in dimethylnitrosamine-treated rats. *Hepatology.* 2000;32:247-55.

- 3) da Cunha A, Jefferson JJ, Tyor WR, et al. Control of astrocytosis by interleukin-1 and transforming growth factor-beta 1 in human brain. *Brain Res.* 1993;631:39-45.
- 4) Lippa CF, Smith TW, Flanders KC. Transforming growth factor-beta: neuronal and glial expression in CNS degenerative diseases. *Neurodegeneration.* 1995;4:425-32.
- 5) Sakamoto T, Ueno H, Goto Y, et al. A vitrectomy improves the transfection efficiency of adenoviral vector-mediated gene transfer to Muller cells. *Gene Ther.* 1998;5:1088-97.
- 6) Oshima Y, Sakamoto T, Yamanaka I, et al. Targeted gene transfer to corneal endothelium in vivo by electric pulse. *Gene Ther.* 1998;5:1347-54.
- 7) Sakamoto T, Oshima Y, Nakagawa K, et al. Target gene transfer of tissue plasminogen activator to cornea by electric pulse inhibits intracameral fibrin formation and corneal cloudiness. *Hum Gene Ther.* 1999;10:2551-7.
- 8) Oshima Y, Sakamoto T, Nakamura T, et al. The comparative benefits of glaucoma filtering surgery with an electric-pulse targeted drug delivery system demonstrated in an animal model. *Ophthalmology.* 1999;106:1140-6.

2000630

以降P.211-218は雑誌に掲載された論文となりますので、
下記の資料をご参照ください。

Experimental subretinal neovascularization is inhibited by adenovirus-mediated soluble VEGF/flt-1 receptor gene transfection: a role of VEGF and possible treatment for SRN in age-related macular degeneration.

Honda M, Sakamoto T, Ishibashi T, Inomata H, Ueno H.
Gene Ther. 2000 Jun;7(11):978-85.

ラット虚血再灌流傷害網膜におけるGene Microarray 解析

GENE MICROARRAY ANALYSIS OF RAT RETINA AFTER ISCHEMIA REPERFUSION INJURY

菊池孝信、黒岩さち子、臥雲郷子、黒川 徹、吉村長久（信州大学眼科学教室）
TAKANOBU KIKUCHI, SACHIKO KURAIWA, SATOKO GAUN, TOHRU KUROKAWA,
NAGAHISA YOSHIMURA
DEPARTMENT OF OPHTHALMOLOGY, SHINSHU UNIVERSITY SCHOOL OF MEDICINE

【抄録】

目的：本研究の目的は高眼圧負荷の虚血再灌流によって障害を惹起させた網膜における遺伝子の発現動態をDNAマイクロアレイ分析法を用いて総合的に把握することにある。

方法：SDラットの片眼を高眼圧負荷によって1時間虚血した後、再灌流して12時間後に摘出し、網膜を採取した。網膜から抽出したRNAはさらにoligo-dTセルロースカラムを用いてpoly(A) RNAにまで精製された。mRNAは3'末端にT7プロモーター配列を有するoligo-dTプライマーを用いて、cDNAに変換された。このcDNAを鋳型としてin vitro transcription によってBiotin標識したcRNAを大量に合成し、DNAマイクロアレイのプロープとした。未処置眼からも同様にRNAの抽出およびプロープの作成を行い、マイクロアレイ分析における対照試料とした。Affimetrix社製のDNAチップ（RATU34A）を用いて、解析した。

結果：RATU34A チップに存在する約8,800個のcDNAクローンについてその発現変動を解析した。対照試料より2.1倍以上変化したクローンを有意に変化したものとして検討した。大きく変動した遺伝子群としてはストレス応答遺伝子、細胞周期関連遺伝子などがみられ、虚血再灌流障害によって惹起された変化を反映しているものと考えられる。これらの遺伝子について詳細な解析を行っている。また、変動した遺伝子群にはいくつかの未知のESTクローンが含まれており、これらのクローンの単離・同定を行っている。

結論：本研究から得られた知見は今後の障害網膜の分子機構を解明する上に、また、その障害を阻止するための遺伝子治療などの開発に大変有用な情報を提供することができると考えられる。

Purpose: To profile changes in gene expression after retinal ischemia reperfusion injury, using gene microarray technology and also to verify the microarray data.

Methods: Retinal ischemia were created by increasing the intraocular pressure to 110 mm Hg for 1 hour in adult rats. At 12 hours after reperfusion, rat retinas were isolated from ischemic and non-ischemic eyes. Poly(A) RNA was prepared from the retinas. Double-stranded cDNA was synthesized from the poly(A) RNA with an oligo-dT primer containing a T7 RNA polymerase promoter sequence at the 3'-end. Biotin-labeled antisense cRNA as a probe of microarray analysis was produced by in vitro transcription reaction. The cRNA was hybridized with Affymetrix RATU34A oligonucleotide microarrays. The microarray contained approximately 8,800 of rat cDNA clones including EST clones.

Results: Fluorescence intensity was measured for each chip and normalized to the average fluorescence intensity for the entire chip. The values were compared between the ischemic retina and the non-ischemic retina. Expression changes of 262 clones are increased or decreased an average of 2.1-fold and more in the ischemic retina. Some transcriptional regulatory genes (jun, fos-related protein, and myc) and cell cycle related genes are upregulated. Heat shock protein and stress-corresponding protein genes are also upregulated. Immunohistochemical studies showed that expression of transcriptional regulatory gene products, cell cycle-related gene products and some stress-inducible molecular chaperones were upregulated in dying neurons and/or surrounding glial cells.

Conclusions: This study suggests that increased expression of transcriptional regulatory proteins, cell cycle-related gene products and stress-inducible molecular chaperones play a role in retinal neuronal apoptosis after ischemia-reperfusion injury.

参考文献

(1) Lockhart DJ, Dong H, Byrne MC, et al.

Expression monitoring by hybridization to high-density oligonucleotide arrays. Nat Biotech

hnol. 1996; 14: 1675-1680.

(2) Derisi JL, Iyer VR, Brown PO. Exploring the metabolic and genetic control of gene expression on a genomic scale. *Science*, 1997; 278: 680-686.

(3) Kuroiwa S, Katai N, Shibuki H, et al. Expression of cell cycle-related genes in dying cells in retinal ischemic injury. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1998; 39: 610-617.

(4) Shibuki H, Katai N, Kuroiwa S, et al. Protective effect of adult T-cell leukemia-derived factor on retinal ischemia-reperfusion

injury in the rat. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1998; 39: 1470-1477.

(5) Kuroiwa S, Katai N, and Yoshimura N. A possible role for p16INK4 in neuronal cell death after retinal ischemia-reperfusion injury. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1999; 40: 528-533.

(6) Kurokawa T, Katai N, Shibuki H, et al. BDNF diminishes caspase-2 but not c-Jun immunoreactivity of neurons in retinal ganglion cell layer after transient ischemia. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1999; 40: 3006-3011.

非動脈炎性虚血性視神経症のレボドパ治療の試み-LoVEを用いての評価

中川道博, 田代裕二, 若倉雅登 濟安堂井上眼科病院
Michihiro Nakagawa, Yuji Tashiro, Masato Wakakura
Inouye Eye Hospital

【抄録】

非動脈炎性虚血性視神経症(本症)の治療法は確立していないが, Johnson らはレボドパ治療の有効性について報告している。今回我々は, 玉井らの開発したLow Vision Evaluatorを用いて, 本症に対するレボドパ治療の評価を行った。対象は発症から2ヶ月以上経過した慢性期の本症患者で, 同意が得られた5例6眼(男女比1対4, 平均年齢59歳, 患眼視力0.01~0.2)であった。全例にLevodopaとCarbidopaの合剤(メネシット100?)を1日1錠3週間, 3週間以上の休薬期間を置いて, 3錠3週間で投与した。LoVEによる検査は, 白, 赤, 青の3色の光刺激を用い, 応答が得られた数をLoVE値(最低値0, 最高値27)として評価した。全症例とも治療後の視力変化はなかったが, 全例に赤色刺激に対するLoVE値の上昇がみられた。このうち2例は2峰性で, 休薬期間に低下する傾向がみられた。残りの3例は1峰性で休薬期間も高値を示すものと, 3錠投与時のみ高値となるものがあった。この結果から, レボドパは慢性期の本症に対し, 視機能上昇をもたらすことが明らかとなった。

Treatment for non-arteritic ischemic optic neuropathy (NAION) is not yet established. L-dopa treatment is recently advocated by Johnson et al. We evaluated L-dopa treatment for chronic stage of NAION using Low Vision Evaluator (LoVE) developed by Tamai et al. Six eyes of 5 patients (M:F=1:4, average age=59 and visual acuity of the affected eye=0.01-0.2) consented were chosen and treated with 1 tablet / day of Menesit (250 mg levodopa and 27 mg carbidopa) for 3 weeks (Treatment period A). Following 3 weeks of non-treatment, 3 tablets /day of the drug were administered (Treatment period B). LoVE value was defined by the number of correct response to 27 times stimuli, namely maximum LoVE value was 27 and minimum, 0. LoVE values at red light stimuli increased in all cases though no visual acuity showed significant improvement. LoVE values in two cases were biphasic pattern which had two high peaks during the treatment period A and B, while those of residual three cases had monophasic pattern from the treatment period A to B. These results suggest that L-dopa can lead visual improvement in patients with NAION at chronic stage.

キーワード：非動脈炎性虚血性視神経症, レボドパ, Low Vision Evaluator(LoVE)

目的

非動脈炎性前部虚血性視神経症(本症)に対する治療法はこれまで種々試みられてきたが, 未だ確立したものはない。1996年, Johnsonらは, 発症後6ヶ月以上経過した慢性期症例の投与患者30%に視力改善促進効果があった事を報告し, ついで2000年に, 視力0.5以下の本症に対して, 発症後1ヶ月以内にレボドパ治療を行うことで, 3段階以上の視力改善が得られることを報告し, 本症に対するレボドパ治療を提唱している。

また, 本症は高齢者が罹患し, かつ低視力であるため, 信頼できかつ簡便な視機能評価が困難であった。

今回, 我々は低視力者用の視機能評価手段として, 1999年, 玉井らによって開発されたLow vision evaluator (LoVE) を用いて, 本症の慢性期症例に

おけるレボドパ治療の評価を行ったので, 報告する。

方法

対象は, 同意が得られた, 本症の患者5例6眼(男性1例, 女性4例, 44歳~76歳, 平均年齢59歳。矯正視力は0.01~0.2。いずれも, 発症から2ヶ月以上経過した慢性期の症例であった。

投与した製剤はJohnsonらの原法と同一の処方で, LevodopaとCarbidopaの合剤(メネシット100?, Carbidopa:Levodopa=1:10)を投与した。投与法は1日1錠を3週間投与し, その後3週間以上の休薬期間を置いて, 1日3錠を3週間投与した。この間, 2週間から4週間おきにLoVE検査を施行した。LoVEは発光ダイオード(LED)の発光強度をLEDの電流値と発光時間を変えることにより9段階に変化させて被験者の光覚を自覚的に検査する装置である。今回