

厚生科学研究費補助金研究報告書

平成13年度

国立病院東京医療センター

院長 田中 靖彦

厚生科学研究費補助金（感覚器障害及び免疫アレルギー研究事業）

（総括）研究報告書

視覚障害の早期発見および評価法に関する研究

（主任）研究者 田中 靖彦 国立病院東京医療センター院長

研究要旨 乳幼児の視機能発達を阻害する因子は可及的速やかに発見し適切な治療法を講じなければ一生 視覚障害として QOL を著しく低下させる。従ってこの因子を早期発見することが第一である。

研究目的＝

長寿、少子化に伴い QOL の面からも視覚、聴覚の重要性は益々増大している。

また、日進月歩の発展を続ける情報化社会において一時も欠くことのできない機能である。視覚障害、視覚機能発達障害の予防、治療のためには 早期発見が第一であるが、早期発見のための評価法は未だ確立していない。高齢者に特有の眼科的疾患、いわゆる生活習慣病と称される糖尿病や高血圧症など、知らぬ間に視力障害が進行してしまうような疾患などをいかにして発見したらよいか、など、まだ方法論が確立されていない。元来、視覚機能障害を有する場合、視覚器のみの異常である場合と重複視覚障害とがあるが、後者の場合が多い。このことは単に一般的な 自覚的、他覚的検査では評価しきれないことを示している。殊に乳幼児における視覚機能発達を如何に評価し、如何にして未然に予防するかは、これからの長い生涯を考えるとその QOL に最も密接に関わってくる重大な問題である。そこで、重複障害者のもとより、乳幼児にも適合する視覚機能発達の客観的評価法の開発が望まれる所以である。

研究方法＝

情報は主として視覚、聴覚をどうして得られる。
殊に視覚は その約 80% を担っていると

もいわれている。視覚には、視力、視野、色覚、両眼視機能、コントラスト感度、動体視力など、多岐にわたる機能がある。いずれの一つが障害されても視機能は十分には発揮されない。すなわち、網膜でえた空間的、時間的情報は外側膝状体をへて大脳皮質に至り、そこから形態覚、色覚、立体覚、運動覚などの機能分化されたより高次の中核にて処理される。この何処の箇所に障害があっても視機能は完成しない。このように視覚の発達ほまさに中枢神経系の発達と相俟っているので、出生後急激に成長する運動系とともに重要な発達史のポイントとなっていることは言うまでもない。しかしながら、これを評価するには自覚的方法が主体であり、他覚的評価法は困難とされてきた。それでもこれまでに様々な視機能の他覚的検査法の研究がなされてきた。例えば視力測定法のひとつとして視覚誘発電位（VEP）が開発されてきたが、この検査法は再現性に乏しく、また絶対値を示すことは困難であり、比較値を呈示して（例えば左右の比較）記録にとどめ、時間の推移とともに経過観察するにとどまっている。また視覚心理学的手法による Preferential Looking 法や、Teller Acuity Card (TAC)、視運動眼振誘発法、など定量性を求めて研究、開発がなされているが未だ確立されたとは言えない。一方、行動視力とも言うべき、行動観察によって視機

能を評価する試みもなされている。各発達段階においてそれに応じた行動 態度 反応などを通じて総合的に評価する方法であるが、これもまだ実験段階である。しかし、日常生活の中からある特定の行動をとうして推察される視機能は 症例を重ねることによりかなり明かになる部分があると思われる。

さまざまな脳機能解析法が近年開発されつつある。脳波 (EEG)、視覚誘発脳波 (VEP) ポジトロン断層撮影法 (PET)、機能的核磁気共鳴画像 (f MRI)、それに脳磁図 (MEG) と次第に微小な脳内におこる電気変化をとらえる事が出来る方法が開発されてきた。これらを応用して視覚の機能を各々分けて調べる事の出来るシステムをつくりあげる必要がある。成人においては自覚症状を訴えてから自発的検診を受けることになるが、それでは遅すぎることが多い。普段からの眼科検診が重要であり、関係科と常に連絡をとって (たとえば糖尿病患者の内科医と眼科医) 眼科的検査を受けさせる体制の確立が必要である。

早期発見には早期検診が必要である。小児については現在 3 歳児眼検診が一般化しているが、この時期では遅すぎる疾患が数多くあって、実際には機能していない部分がある。屈折弱視のスクリーニングに自動屈折測定装置がこれまでに幾つか考案され製品化されているが、改良すべき問題点が多々ある。屈折検査に限らず 検査に協力の得られない小児や重複障害をもつ症例においては、簡便でしかも短時間に出来るだけ正確なデータが得られる検査装置でなければならない。

両眼視機能を調べる装置は 大型弱視鏡を始めとしてハブロスコープ、偏光を応用したチトマスフライテスト、など幾つか臨床利用されているが、いずれも一長一短があり、熟練を要するものが多い。もっと

自然環境に近い状態で検査がおこなえる装置の開発が望まれる。コンピューターを用いたバーチャルリアリティーを応用して両眼視機能を検査する装置が考えられる。

視野検査も他覚的検査しか行われていない。自動視野計といえども検者のみならず被検者もかなりの訓練を要する。ましてや小児や痴呆老人には検査不能である。これもたとえば、微妙な瞳孔反応を捕らえてコンピューターにて解析する方法や、視運動を惹起させることによってその運動を捕らえて視野検査を行える可能性がある。

眼圧検査：閉検したままそのうえから装置をあてることによって眼圧を知ることが可能となる。緑内障患者などは自己管理を可能にする事が期待される。

結果と考察＝

平成 11 年度は ① MTI フォトスクリーナーによる屈折異常の検出 ② 3 歳児健診によるスクリーニング後の事後処置 ③ 糖尿病性白内障および網膜病に関与する酵素の遺伝子転写機構の研究を主に行った。

MTI フォトスクリーナーは、準暗室で子供の前方 1.4 メートルに検者がこのスクリーナーを保持し、ピントあわせのための、エーミングライトを子供の額にあわせると同時にフラッシュさせ、垂直水平 2 方向の瞳孔からの反射光をインスタントフィルムに 2 段に納められるようにセットされている。半月状の反射光の幅によって屈折度が判定できる。48 名中 4 名に屈折異常が疑われ、眼科において精査の結果近視 2 名遠視 2 名 (乱視を含む) が検出された。屈折度の判定は、半月状陰影の境界をどうとるかによってばらつきがでるが、これは、判定を繰り返すことによって解決されるものと思われる。大器の特徴は、比較的距離を一定にとりやすいこと、すなわち、検査しやすい点にある。また必ずしも視能訓練士

と限らず、経験した保健婦、看護婦、などでも扱えることである。焦点をあわせ、シャッターをきるだけのものもある。ただ、判定が検査後に行えるため、うまく写真が撮れているかどうかは、その場で確認しておく必要があり、時間をその分必要とする。

屈折検査は、現在自動屈折計（オートレフラクトメーター）が主流となっている。従来光学的理論に基づいたスキアスコピー（線状検影器）の原理は未だ応用されてきており、この原理をハンディな検査器械として作られたのが MTI photoscreener である。瞳孔からの反射光を撮影して屈折度を測定するもので暗室で行わずとも、ある程度の暗さがあれば検査可能であることから室内で照度を落とした程度の明るさで小児の暗さに対する恐怖感を抱かせることなく測定できる。しかし精度は前年度にも報告した。RC2000のごとく正確さは欠けるものの ± 2 ディオプター以上の屈折異常は検出可能であることからスクリーニングには有効であるとの結論を得た。但し生直後や明室で瞳孔径が、2～3 mm以上であると判読が困難であり、習熟することが必要となる。また、インスタントカメラ方式なのでその場で測定しなおしが可能であることは単純フィルムで一連の検査後に改めて現像の上拡大して検索する一般カメラ方式より有利であるが、コストが高くつく。

眼科3歳児健診は各都道府県レベルで施行されているが、東京都においては家庭での視力検査票（あらかじめ3歳児の家庭に送付）による結果を申告し、異常な低値あるいは左右差をみとめる場合と他に自己申告による問題点につき、第二次医療機関に依頼し、精査を受ける形式をとっている。東京都の場合原則として3.0歳～3歳1ヶ月の間に検査を受けることとしており、地方自治体によっては3歳6ヶ月であったり、3歳後半であったり、一定していない。

しかし3歳児後半になればなるほど異常の検出率は高くなる。（視力検査は行いやすくなるため）がそれに反して異常の検出時期が遅れることから治療には抵抗することになり、矛盾する。眼位異常と視力不良疑いの症例は、スクリーニングにおいて検出されているが、疾患の種類によってはもっと早期に発見しなければ治療に抵抗するものがあるので3歳児よりもさらに早期の健康診査により、眼科的異常を検出できるようにすべきである。

網膜視神経に障害を及ぼす因子の一つとして考えられているアルドース還元酵素は高血糖の状態で糖をソルビトールに変換し、このソルビトールの蓄積が網膜毛細血管の内皮細胞や周細胞に変性壊死を来すとされており、この酵素の遺伝子の転写機構の検討を行った。

厚生科学研究費補助金（感覚器障害研究事業）

（分担）研究報告書

3歳児健診における斜視および弱視の検出 に関する研究

（主任）研究者 田中 靖彦 国立病
院東京医療センター院長

研究要旨 3歳児眼科健診の事後処理における問題点を調査した。
健診における目的とした弱視、斜視の発見には、ほぼ
満足すべき結果が得られた。今後の問題点を指摘した。

野田 徹 国立病院東京医療センター
眼科医長
中村貴子 国立病院東京医療センター
視能訓練士

ぶしがる、眼を細める、眼振疑い、睫毛内
反）が19例（7.8%）であった。眼位異常
疑いと視力不良疑いで90%以上を占めた。

眼位異常疑い123例のうち内方偏位疑
い77例（62.6%）、外方偏位疑い31例（25.2
%）で、その他の眼位異常疑い（横目づか
い、上目づかい、眼性斜頸疑い）が15例
（12.2%）であった。また、視力不良疑い
103例のうち両眼視力不良疑いが63例
（61.2%）で視力に左右差を認めた片眼視
力不良疑いは40例（38.8%）であった。

③眼位異常疑いを依頼要因とする123例
の検査結果内方偏位疑いを依頼要因とする
77例のうち調節性内斜視8例、乳児内斜
視1例の診断結果を得た計9例（11.7%）
に異常が認められた。また仮性内斜視が6
8例（88.3%）を占めた。外方偏位疑いを
依頼要因とする31例のうち、間歇性外斜
視25例、斜視弱視を伴う麻痺性外斜視1
例計26例で83.8%に異常が認められた。
その他眼位異常疑い15例中には、下斜筋
過動4例、先天性上斜視麻痺2例が認めら
れた。全体として眼位異常疑い123例中
41例（33.3%）に何らかの眼位異常を認
めた。

A. 研究目的

東京都3歳時眼科健診が平成2年10月よ
り都内全域で施行されるようになって、3
歳児精密健康診査受診票を持った3歳時が
第二次検診機関を訪れて来ている。そこで、
事後処理が効果的に行われているかどうか
今回は、当院眼科外来における第二次検診
の結果を検討したので報告する。

B. 研究方法

対象は平成9年1月から平成11年12月ま
での2年間に、一次スクリーニング1) 施行
後都内保健所より依頼され眼科を訪れた男
児115名、女児130名計245名である
統計調査。

C. 研究結果

①受診時年齢

当科受診時の年齢分布をみると、3歳3ヶ
月までの間に212名（86.5%）が受診し
ていた。

②依頼要因

当科受診時の依頼要因の内訳は、眼位異常
疑い123例（50.2%）、視力不良の疑い1
03例（42.0%）で、その他の依頼要因（ま

④視力不良疑いを依頼要因とする103例
の検査結果両眼視力不良疑いを依頼要因と
する63例のうち0.5以上の視力を検出でき
なかった例は49例（77.7%）で、そのう

ち 1.0D 以上の乱視を認めたのは 11 例 (17.5%)、- 1.0D 以上の近視 10 例 (15.9%)、+ 2.0D 以上の遠視 9 例 (14.3%) であった。0.5 以上の視力を検出できずに屈折異常のなかったものは 19 例 (30.0%) ありこのうち 17 例が 3 歳 3 ヶ月以下の年齢であった。また、0.5 以上視力が検出できた症例 14 例 (22.3%) 中、4 例に + 20.D 以上の遠視を認め、63 例中計 34 例 (54.0%) に屈折異常を認めた。また、両眼視力不良疑いを依頼要因とする 63 例に不同視を認めなかった。

片眼視力不良疑いを依頼要因とする 40 例の検査結果、2 段階以上の視力の左右差を認めたものは 21 例 (52.5%) で、そのうち不同視弱視 10 例、10.D 以上の乱視 6 例、+ 2.0D 以上の遠視 2 例、器質的眼疾患 3 例を認めた。

また、2 段階以上の視力の左右差を認めなかった 19 例 (47.5%) 中、左右同程度の屈折異常者が 13 例認められ、これらを含めると屈折異常者の検出率は 40 例中計 34 例 85.0% と高率であった。

第二次検診の結果 2 段階以上の視力の左右差を認めた片眼視力不良例 21 例の患眼と健眼の屈折分布を示す。視力不良眼の屈折は遠視又は遠視性乱視が多く、1 例にのみ高度近視 (眼患 - 14.0D) による不同視弱視を認めた。健眼は、神田の 3 歳児の屈折分布 2) と比較してやや遠視側へ偏りがあるがほぼ正常の屈折分布であった。

なお、視力不良疑いを依頼要因とした 103 例中 2 例の間歇性外斜視を認めたものの、視力は正常であった。

D. 考察

3 歳児眼科検診の目的とするところは、視力および両眼視機能の発達を阻害する因子の発見である⁸⁾。地域差あると思われるがも器質的異常など

による高度の視力障害や、外見上目立つ異常のある者はほとんどが 3 歳までに既に眼科で管理されていることが多い。そこで 3 歳児の眼科検診で主な対象は、3 歳以前では発見困難な、角度の小さい斜視、比較的発症の遅い調節性内斜視、間歇性外斜視などの斜視、不同視弱視、屈折性弱視などの眼位の異常のない弱視や屈折異常などが対象となる。特に眼位異常を伴わない片眼弱視の発見は、左右眼別の視力検査によってはじめて可能となり、就学児検診での発見では治療効果が悪く患児への負担も大きくなるため、3 歳児検診に視力検査を導入した一つの目的となっている⁹⁾。

視力不良疑い例の検査結果についてみると両眼視力不良疑い例における屈折異常検出率 54.0% に対して片眼視力不良疑い例では 85.0% と高率であった。このことは、眼位異常を伴わない片眼視力不良は発見が遅れることが多いことを物語っており、この検出が 3 歳児検診の大きな目的の一つとなっているが、今回の結果から、家庭における絵視票による視力検査でも視力に左右差を認めた場合には、かなり能率良く屈折異常を検出できることを示している。

また、両眼視力不良疑いの例の中には、特筆すべき異常を認めず、3 歳になってまもなくという低年齢のため、絵視票による検査を十分に理解できていないと思われる例が約半数にみられた。

東京都の 3 歳児健診に加わる形で 3 歳児眼科検診は始まったため、一次検診が 3 歳 0 ヶ月～1 ヶ月の間に行われている。そして 3 歳 3 ヶ月までに 86.5% が当科を受診していた。検診からの早期受診という面からは満足すべき結果であったが、検診そのものを施行する年齢については、4 歳児検診が施行されている地域もあり¹⁰⁾、それらの結果を比較検討することも必要である。

斜視群については、眼位異常疑い例全体の 33.3 %に斜視が検出され、スクリーニングにおける問診票の重要性を示していると考えられる。しかし、外方偏位疑い例では斜視の検出率は 83.3 %と良な一方、内方偏位疑い例は仮性内斜視が 88.3 %と高率であり、二次検査への負担が大きくなっている結果となった。東京都 3 歳児検診のアンケートは視力検査票と問診票の二本立てになっているが 1)、保健所においての眼位検査は行われていない。現行の方法で治療の必要のない仮性斜視まで要精検となることは、仮性内斜視として内斜視を見逃される事の危険の大きさを考えればある程度止む得ないと思われる。しかし、従来指摘されているとおり、スクリーニング検査の精度としては、偽陽性者が多く、特異性が低いので、何らかの改善を考慮すべきではないかと考えている。神田^⑤が述べているように Lang-Stereo test のような立体視検査で立体視ありと判定されれば、仮性内斜視のほとんどを除外することが可能であると考えられ、立体視検査を一次検診へ導入できないかどうか、今後検討する予定である。

今回我々は、二次検査を希望して当科を受診した症例の検討を行い、3 歳児検診がどのような特異性を示したかを述べた。スクリーニング検査の精度を考える場合、敏感性すなわち偽陽性者が少ないがどうかも重要である。一次スクリーニングをアンケートによる方式をとるがぎりには、自覚のない者が検出漏れになる可能性がある。3 歳児検診はまだ始まったばかりであり、今後さらに眼科検診としての感性についても検討も加えていかなければならないと考えている。また経費の問題もあり、いかに効率良く行うかも重要で、この面からの検討も必要であると思われる。

E. 結論

①眼科外来にて施行した 3 歳児検診の検査結果を報告した。

②眼位異常疑い例における斜視は、内方偏位疑い 7 7 例中調節性内斜視 8 例、乳児内斜視 1 例、外方偏位疑い 3 1 例中間歇性外斜視 2 5 例、麻痺性外斜視 1 例、その他の眼位異常疑い 1 5 例中下斜筋過動 4 例、先天性上斜筋麻痺 2 例を認め、眼位異常疑い例全 1 2 3 例における斜視の検出率は、4 1 例 33.3 %であった。

③視力不良疑い例における屈折異常は、両眼視力不良疑い 6 3 例中 3 4 例 (54.0 %)に、また片眼視力不良疑い 4 0 例中不同視 1 0 例 (25.0 %)を含む 3 4 例 (85.0 %)に認められた。視力不良疑い全 1 0 3 例における屈折異常の検出率は、6 8 例 (66.0 %)であった。

キーワード：3 歳児眼科健診、第二次検診

文 献

- ①東京都眼科医会検診委員会、
監修 植村恭夫：3 歳児の眼科検診のための手引き、1989.
- ②神田孝子：3 歳児健康診査における眼科検診、眼臨、84：69-75,1990.
- ③田中靖彦：小児の眼科集団健診のあり方、眼臨、84：62-64,1990.
- ④永井イヨ子：神奈川県域の 4～5 歳児集団検診— 18 年間の集計—、眼臨、84：341-347,1990.
- ⑤神田孝子：3 歳児・幼児健診、眼臨、44：1701-1703,1990.

厚生科学研究費補助金（感覚器障害）研究事業

（分担）研究報告

小児視覚障害の早期発見 に関する研究

（主任）研究者 田中 靖彦 国立病院東京医療センター院長

研究要旨 乳幼児の視機能発達を阻害する因子は可及的速やかにとり除かれねばならない。このためスクリーニング法の一つとして開発された MTI photoscreener (PS) の有用性を検討した。

野田 徹 国立病院東京医療センター

眼科医長

中村貴子 国立病院東京医療センター

視能訓練士

A. 研究目的

小児の屈折異常を早期に発見し、矯正することは弱視や斜視の予防に役立つ。3歳児以前の乳児、幼児の自覚的検査が不可能な時期に如何にしてこれを発見するか、さまざまな方法が提唱されている。今回我々は比較的軽量で持ち運びに便利な MTI Photoscreener (PS と略す) をもちいて小児の屈折検査および眼位を含む眼科検査を行い、その有用性について検討した。

B. 研究方法

PS は重量約3キログラムで、両手で把持し、小児の動きに対しても容易に対応でき、環境は必ずしも暗室は必要とせず、普通瞳孔のまま、小児の眼前1メートルから撮影する方法である。測定結果は一枚の即現性のフィルムに垂直、水平の二方向の瞳孔からの反射光が記録される。

対象：平成10年から11年にかけて外来を訪れた、生後5ヶ月から4歳11ヶ月までの乳幼児122例（男児62例、女児60例）で、全例普通瞳孔での検査を行い、あわせて屈折検査を含む一般眼科検査を施行した。PCの写真から眼位異常や透光体異常、屈折異常の有無、程度を複数の眼科医と視能訓練士とで判定し、各年齢ごとの判定可能率を求め、敏感度、特異度を検討した。

C. 研究結果

検影法の原理で、眼底からの反射光の三日月部分から判定した。遠視は下方および右側に三日月部分が現れ、近視ではその反対に三日月反射があらわれる。

122例中判定可能であった症例は97例79.5%であった。当然のことながら、年齢が上がるにつれて検査可能率もあがり、4歳以上では100%判定可能であった。

（表1）

photoscreener によるスクリーニングの結果

	スクリーニング判定		計
	tall	pass	
疾病あり	61例 (62.9%)	21例 (21.6%)	82例 (84.5%)
疾病なし	0例 (0.0%)	15例 (6.5%)	15例 (6.5%)
計	61例 (62.9%)	36例 (37.1%)	97例 (100.0%)

敏感度 74.4% 特異度 100.0%

判定可能であった97例のスクリーニング結果を示す。failと判定した症例で実際に疾患の認められたもの61例(62.9%)、認められなかったもの、つまり偽陽性はなかった。一方passと判定したもので疾患の認められたもの、つまり偽陰性例21例(21.6%)、認められなかったものは15例(6.5%)であった。またスクリーニングとして用いた場合の敏感度は74.4%、特異度100%であった。次にこの偽陰性例の内訳を検討した。

透光体異常では 1 例、軽度の瞳孔膜遺残があった。眼位異常は 11 例で間歇性外斜視 9 例、10 の残余内斜視 1 例、10 の上斜視 1 例で、撮影時正位を保っている間歇性外斜視や、10 以下の微小角斜視はこのように pass と判定してしまうことが明かになった。屈折異常は 9 例で、+ 3 デイオプター以下の遠視が 1 例、+ 8 デイオプターの遠視が 1 例、近視、近視性乱視、混合乱視がそれぞれ 2 例ずつ、3 デイオプター差の不同視が 1 例であった。8 デイオプターの 1 例は生後 6 ヶ月の乳児の例で、瞳孔径が小さく判定が困難な症例であった。

D. 研究結果

MTI は 1979 年に Kaakinen により開発された、off-axis 型フォトレフラクション法に基づき作られたフォトレフラクターで、従来から用いられてきた検影法を応用したものである。MTI を用いたスクリーニングの報告は Otter らが 1000 例の乳幼児に行った結果から、敏感度 81.8 %、特異度 90.6 %と報告している。このように MTI は準定量的フォトレフラクションであるが、検査、判定法も比較的容易で、眼科医でなくとも判定可能であり、小型であれ 2 例ずつ、3 デイオプター差の不同視が 1 例であった。8 デイオプターの 1 例は生後 6 ヶ月の乳児の例で、瞳孔径が小さく判定が困難な症例であった。

E. 結論

このように MTI は準定量的フォトレフラクションであるが、検査、判定法も比較的容易で、眼科医でなくとも判定可能であり、小型であり、小児の検査時の拘束もなく乳幼児を含め、眼科的検診には有用であると考えられる。

文献 (1) Otter WL, Scott WE, Holgano SI.: Photoscreening for Amblyogenic factors. J. Pediat. Ophthalmol. Strabismus 32:289-295, 1995

厚生科学研究費補助金 (感覚器障害研究事業)
分担研究報告書

主任研究者 野田 徹 国立病院東京医療センター
分担研究者 岩田 岳 国立感覚器センター

研究要旨

糖尿病性白内障および網膜症に関与する酵素、アルドース還元酵素の遺伝子転写機構の解明

A. 研究目的

我々は糖尿病性の視覚障害に焦点を合わせ、糖尿病性白内障および糖尿病網膜症の原因因子として知られるアルドース還元酵素の転写機構の解析を行った。この酵素は糖尿病によって生じる高血糖の状態でグルコースをソルビトールに変換し、このソルビトールの蓄積によって水晶体の上皮細胞や網膜毛細血管の周辺細胞などの細胞浸透圧を上昇させ、細胞死に至らせると考えられている。この酵素は浸透圧の上昇によってその転写が促進されることが知られており、この浸透圧転写促進シス因子の塩基配列がNF- κ Bの結合塩基配列と類似していることからサイトカインによる制御を検討した。近年、炎症性サイトカインの一種であるTNF- α が肥満性糖尿病の発症原因の一つにあげられており、アルドース還元酵素の転写が肥満性糖尿病患者で特に活発であることが示唆される。

研究方法

ヒトのアルドース還元酵素遺伝子をクローニングしてその5'末端のシークエンスを行って塩基配列4 Kbを決定した。この塩基配列における転写開始点をプライマーエクステンション法によって明らかにしてこれを塩基番号+1とし、塩基+1から上流3.5 Kbのプロモーター領域を2種類の転写因子データベースにかけて転写因子結合塩基配列の位置を検索した。この位置に基づいてプロモーター領域の+1から上流の塩基を含む13のルシフェラーゼ・リポーターベクターを作成し、これを網膜色素上皮細胞、水晶体上皮細胞、

および肝臓細胞にトランスフェクトしてプロモーターの活性を測定した。細胞培養液にNF- κ B転写因子の強い促進剤として知られるTNF- α 、IL-1, INF- γ を加えてコントロールと比較した。TNF- α によるアルドース還元酵素の発現促進はウエスタンブロット法とノーザン法によって確認した。リコンビナントNF- κ B転写因子が浸透圧転写促進シス因子の塩基配列に結合することを証明するためにゲルシフト・アッセイ法とゲルシフト・アッセイ・ウエスタンブロット法を試みた。浸透圧転写促進シス因子の塩基配列の一部を変異させることによりプロモーターの活性の影響を調べ、浸透圧とサイトカインによる転写促進に何らかの差があるか検討した。NF- κ B転写因子の阻害剤であるLactacystinとMG132の転写への影響を調べた。

研究結果

3種類のサイトカイン中、TNF- α によるアルドース還元酵素の転写促進が最も顕著でタンパク質の発現も増加することがノーザン・ブロット法及びウエスタン・ブロット法によって明らかとなった。転写の増加率は細胞によっては48時間以内に最大12倍となり、濃度も最低20 U/mlで増加が認められた。13のルシフェラーゼ・リポーターベクターによるプロモーター活性の測定は浸透圧とTNF- α の間で差が無く、同じプロモーター領域が2種類の異なった刺激の転写促進に関与していることが明らかとなった。このプロモーター領域には浸透圧転写促進シス因子が存在しこの塩基配列の変異によってはTNF- α のみに反

応させることができた。リコンビナントNF-kBはこの浸透圧促進シス因子に結合することが観察され、このシス因子がNF-kB結合シス因子の変形型であることが確認された。NF-kBの阻害剤のLactacystinとMG132は転写を抑えた。

考察

近年、肥満性糖尿病の発症原因の一つにあげられる炎症性サイトカインのTNF- α がアルドース還元酵素遺伝子の転写を促進することが明らかとなった。TNF- α による転写促進はNF-kBシグナル伝達経路によって伝達されることが確認されて阻害剤による実験もこれを支持した。浸透圧によるシグナル伝達経路は浸透圧転写促進シス因子の塩基配列変異のよってNF-kBシグナル伝達経路と異なることが明らかとなった。アルドース還元酵素は実験動物及び連鎖分析により糖尿病症候群と関連することが示唆されてきたが我々の一連の実験によって、特に肥満性の糖尿病視覚障害に深く関与している可能性がでてきた。さらに詳しい連鎖分析が必要である。

結論

我々は糖尿病性白内障および糖尿病網膜症の原因遺伝子の1つとして知られるアルドース還元酵素遺伝子の転写が肥満性糖尿病の発症原因の一つにあげられる炎症性サイトカインTNF- α によって促進されることを明らかにした。

研究発表論文

(1)

Takeshi Iwata, Sanai Sato, Jose Jimenez, Michelle H. McGowan, Maria Moroni, Anup Dey, Nobuhito Ibaraki, Vanket N. Reddy, and Deborah A. Carper
Osmotic Response Element is Required for the Induction of Aldose Reductase by Tumor Necrosis Factor- α .
J. Biol. Chem. 274: 7993-8001 (1999)

(2)

Deborah A. Carper, Jennifer Sun, Takeshi Iwata, Nobuhiko Ibaraki, L-R Lin, Venkat N. Reddy, and J. Samuel Zigler Jr.
Oxidative stress induces differential gene expression in a human lens epithelial cell line. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 40:400-406 (1999)

(3)

Yukihiko Mashima, Kei Shinoda, Susumu Ishida, Yoko Ozawa, Jun Kudoh, Takeshi Iwata, Yoshihisa Oguchi, and Nobuyoshi Shimizu
Identification of four novel mutations of the XLR51 gene in Japanese patients with X-linked juvenile retinoschisis.
Human Mutations Mutation in Brief #234 (1999)

(4)

Yi Qun Wang, Hai Ying He, J. Samuel Zigler Jr., Takeshi Iwata, Nobuhiro Ibaraki, Venkat N. Reddy, and Deborah A. Carper
BFGF suppresses serum deprivation-induced apoptosis in a human lens epithelial cell line. Exp. Cell Biol. 249: 123-130 (1999)

(5)

Jennifer K. Sun, Takeshi Iwata, J. Samuel Zigler, Jr., and Deborah A. Carper.
Differential Gene Expression in Male and Female Rat Lenses Undergoing Cataract Induction by Transforming Growth Factor-beta (TGF-beta).
Exp. Eye Res. 70:169-181 (2000)