

12. Maruyama I, Ohguro H, Ikeda Y. Two cases of normal tension glaucoma and two of primary open angle glaucoma with serum autoantibody against retinal ganglion cells. *Sapporo Med J* 2000, 69 : 11-18
13. Ikeda Y, Ohguro H, Maruyama I. Two cases of primary open angle glaucoma with serum autoantibody against retinal ganglion cells. *Jpn J Ophthalmol* 2000 ; 44 : 648r-652.
14. Maeda, A., H. Ohguro, Y. Nabeta, Y. Hirohashi, H. Sahara, T. Maeda, T. Sato, Y. Chuns, Y. Nishimura, Y. Kuroki N. Sato. Induction of antitumor cytotoxic T lymphocytes with recoverin, cancer-associated retinopathy antigen, related with a preferable prognosis in paraneoplastic syndrome. *Eur J Immunol* 2001, 31 : 563-572.
15. Maeda T, Maeda A, Maruyama I, Ogawa K, Kuroki Y, Sahara H, Sato N, Ohguro H. Mechanisms of photoreceptor cell death in cancer - associated retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001, 42 : 705-712.
16. Ohguro H, Ogawa K, Maeda T, Maruyama I, Maeda A, Takano Y, Nakazawa M. Retinal dysfunction in cancer-associated retinopathy is improved by Ca<sup>2+</sup> antagonist administration and dark adaptation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001, 42 : 2589-2595

20010828

P. 150-157 は雑誌/図書等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。

#### 資料

15. Maeda T, Maeda A, Maruyama I, Ogawa K, Kuroki Y, Sahara H, Sato N, Ohguro H. Mechanisms of photoreceptor cell death in cancer - associated retinopathy. Invest Ophthalmol Vis Sci 2001, 42 : 705-712.

# 網膜変性ラットに対するCa拮抗剤の効果

The effect of  $Ca^{2+}$  antagonists in Royal College Surgeons rat

山崎仁志、 大黒 浩、 目時友美、 佐藤元哉、 柳橋さつき、 中沢 満  
(弘前大学医学部眼科学教室)

Hitoshi Yamazaki, Hiroshi, Ohguro, omomi Metoki, Motoya Satou, Satsuki Yanagihashi,  
and Mitsuru Nakazawa  
(Department of Ophthalmology, Hirosaki University School of Medicine)

## 【抄 録】

目的：RCS ラットは最も広く研究に使われている実験動物であり、網膜色素変性を始めとする遺伝性網膜色素変性における分子病態の理解のために使われている。今回我々は、種々の Ca 拮抗剤の RCS ラット網膜変性に対する効果について評価した。

方法：臨床で用いられるCa拮抗剤、すなわちジルチアゼム・ニカルジピン・ニルバジピン・ニフェジピンを RCS ラットの腹腔内に投与し形態学的、機能的分析を行った。

結果：これら Ca 拮抗剤のうちニルバジピンの投与だけが、RCS ラットの網膜変性の初期段階において形態学的な保護作用を示し、また ERG において機能的な保護作用を示した。RT-PCR 法および免疫蛍光顕微鏡においてニルバジピンを投与したラットの網膜ではロドプシンキナーゼ・ $\alpha$ -A-クリスタリンの発現が有意に増強していた。

結論：ニルバジピンは RCS ラットにおいて有意な視細胞保護作用があり、網膜色素変性症患者の治療となり得る。

## Abstract

**Purpose** : The Royal College of Surgeons (RCS) rat is the most extensively studied animal model for understanding the molecular pathology of inherited retinal degeneration, such as retinitis pigmentosa (RP). Here, purpose of the present study is to evaluate drug effects of several kinds of  $Ca^{2+}$  antagonist on the retinal degeneration of RCS rats.

**Methods** : Several kinds of  $Ca^{2+}$  antagonists, diltiazem, nifedipine, nilvadipine or nifedipine, were intraperitoneal administrated and thereafter retinal morphology and functions were analyzed.

**Results** : We found that systemic administration of only nilvadipine caused preservation of retinal morphology and functions of electroretinogram responses in RCS rats during the initial stage of the retinal degeneration. Studies using immunohistochemistry, RT-PCR and Western blotting revealed significant enhancement of rhodopsin kinase and  $\alpha$ -A-crystalline expressions in the retina of nilvadipine treated rats.

**Conclusion** : Based upon these data, it is strongly suggested that nilvadipine is beneficial for the preservation of photoreceptor cells in RCS rats and can potentially be used to treat some RP patients.

キーワード：網膜ジストロフィー、網膜変性、網膜電位図、ロドプシンリン酸化、RCSラット

**Key words** : retinal dystrophy, retinitis pigmentosa, electroretinogram, rhodopsin phosphorylation, RCS rat

## 導入

RP (Retinitis Pigmentosa) は夜盲、輪状暗点、網膜の骨小体様色素沈着を特徴とした遺伝性網膜変性であるが、効果的な治療法は確立されていない。RPの実験モデルとして RCS ラットがしばしば用いられるが、その網膜変性の分子病態に関しては、主に、RCS ラットの RPE (Retinal Pigment Epithelial) から Rod Outer Segment (ROS) へ debris が蓄積し貪食作用が消失するということが関与していると考えられている。最近の研究で、D'Cruz らは、RCS rat の網膜変性の原因として、receptor tyrosine kinase MerTK の mutation を発見した。この遺伝子は人においてもみられるため、この実験モデルにおいて治療効果が得られれば、網膜変性疾患への応用が期待される。RCS ラットの ROS において、オプシン・アレスチン・外節蛋白のリン酸化レベルで様々な変化が生じていることが発見され、それが ROS において光変換経路 (phototransduction pathway) の quenching に影響を及ぼしているのかもしれない。以上のことから考えると、低レベルのロドプシンリン酸化は、桿体視細胞の光変換経路で miss regulation を引き起こし、結果として網膜変性が生じるということが推測される。網膜特異的 Ca 結合蛋白であるリカバリンは、Ca 依存的にロドプシンキナーゼによるロドプシンのリン酸化を negative に制御しているので、Ca 拮抗剤により細胞内への Ca 流入を低下させ、リカバリン依存的なロドプシンキナーゼを抑制することは、RCS rats の視細胞の保護に有効であるかもしれない。興味深い事に Frasson らは近年、Ca チャンネル拮抗剤であるジルチアゼムが、rd mouse において桿体細胞を救済したことを報告している。以上のデータから、細胞内 Ca 濃度の制御は、RP やその動物モデルにおいて進行性の網膜変性を阻止するための治療になり得ると考えられる。

この仮説を証明するために、生後 3 週から視細胞の変性が始まる RCS rats (3 週令) に、臨床で用いられる様々な Ca 拮抗剤を腹腔内投与した。そして、網膜機能は ERG で評価し、光学顕微鏡・免疫組織化学・電子顕微鏡による組織学的検討も行った。

## 結果

RCS rats における Ca 拮抗剤の効果を調べるために、臨床で用いられる 4 種類の Ca 拮抗剤、すなわちジルチアゼム・ニフェジピン・ニカルジピン・ニルバジピンとその基材を 3 週令の RCS rats に連日、2 週間腹腔内投与し、網膜各層の厚さを比較した。ジルチアゼム・ニフェジピン・ニカルジピン投与例では、5 週令において網膜形態に効果は示されなかった。しかし対照的に、ニルバジピン投与例で

は control に比べ、網膜層が 4、5 週令で優位に厚かった。このことから、ニルバジピンは RCS ラットの網膜に対して形態学的保護効果があることが推測される。電子顕微鏡による観察では、未治療の網膜は、視細胞外節の不整が見られたのに対し、ニルバジピン投与した網膜では、その構造はより保たれていた。また、未治療網膜に比べてニルバジピン投与群の網膜では、シナプスとシナプスリボンの保護が見られた。

これらの形態学的な違いは、ニルバジピン投与群と未治療群間に ERG で見られる網膜機能の違いとも一致していた。ニルバジピン投与群の 4 週令では、control に比べて a 波および b 波の振幅が有意に大きかった ( $P=0.001$ )。しかしながら、ほかの Ca 拮抗剤は ERG 反応に影響を及ぼさなかった。以上から、ニルバジピンの腹腔内投与は RCS ラットの網膜形態および機能を保護するということが強く示唆された。

さらに免疫蛍光顕微鏡では、組織学的障害が見られたのにもかかわらず、ニルバジピン投与例では、RCS では通常減少しているロドプシンキナーゼや  $\alpha$ -A-クリスタリンの発現が 4 週令、5 週令ともに多かった。

## 考察

この研究で我々は、Ca 拮抗剤であるニルバジピンの腹腔内投与が RCS rats の網膜変性に対して視細胞の保護効果があることを発見した。1) 形態学的に、光学顕微鏡で有意に網膜層が厚くなっており、電子顕微鏡では視細胞外節の構造、外顆粒層のシナプス・シナプスリボン形態の保護が観察された。2) 機能的に、ERG で a 波・b 波の振幅が保護されていた。3) ロドプシンキナーゼや  $\alpha$ -A-クリスタリンの発現の保護が、免疫組織化学・RT-PCR で認識された。

高血圧に対して広く治療に用いられている Ca 拮抗剤は、細胞内への Ca の流入を阻止し、平滑筋細胞を弛緩させ、さまざまな臓器の局所的な血流を増加させる。報告によるとニルバジピンは、高血圧がない場合、全身の血圧に対して最小限の効果を示す dihydropyridine Ca 拮抗剤であり、犬の実験ではニフェジピン・ニカルジピンよりも、より血流を増加させており、ウサギの実験では、視神経乳頭血流および血流速度は、脈絡膜・網膜と同様に増加していた。ゆえにニルバジピンは神経保護として機能していると考えられ、事実、脳梗塞のような中枢神経系の疾患発症後の神経細胞死に対する保護のために臨床的に使われている。また、いくつかの Ca 拮抗剤は緑内障患者の視野欠損の進行を効果的に遅らせると推測されている。特に正常眼圧緑内障に対す

る血管拡張作用による眼血流の増加が注目されている。これらのことから、ニルバジピンは脳血液関門を通過できるため、その腹腔内投与により、網膜組織をはじめとした中枢神経系に作用し、細胞保護レベルにまで達することができると考えられる。

我々の今回の研究で、ニルバジピンは RCS rats において網膜が変性している間、視細胞の形態・機能を保護していた。同様に Mertk に mutation があるという点で、RCS rats と RP 患者は一致しているため、今後さらなる検討を加えることにより、ニルバジピンの効果が臨床的に RP の治療に応用される可能性があると考えられる。

#### 参考文献

1. Ohguro H, Ogawa K, Nakagawa T. Both recoverin and hsc 70 are found as autoantigens in patients with cancer-associated retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999, 40 : 82-89.
2. Maeda A, Ohguro H, Maeda T, Kuroki Y. Low expressions of  $\alpha$ -A crystallins and rhodopsin kinase of photoreceptors in retinal dystrophy rat. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999, 40 : 2788-2794.
3. Ohguro H, Ogawa K, Maeda T, Maeda A, Maruyama I. Cancer-associated retinopathy induced by both anti-recoverin and anti-hsc70 antibodies in vivo. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999, 40 : 3160-3167.
4. Suzuki J, Ohguro H, Oguri N, Satoh M, Kon S, Kogawa K, Nakagawa T. Clinicopathologic and immunologic analysis of mucosa-associated lymphoid tissue lymphomas arising in conjunctiva. *Jan J Ophthalmol* 1999, 43 : 155-161.
5. Ohguro H, Ohguchi S. A case of retinoblastoma suspected by optic nerve invasion by MR imaging. *Tumor Res* 1999, 34 : 83-87.
6. Masaoka N, Emoto Y, Sasaoka A, Fukushima A, Ueno H, Ohguro H. Fluorescein angiographic findings in case of cancer-associated retinopathy. *Retina* 1999, 19 : 462-464.
7. Ohguro H. Retinal 33kDa protein is recognized by autoantibodies from patients with melanoma-associated retinopathy. *Tumor Res* 1999, 34 : 41-48.
8. Maeda T, Ohguro H, Maeda A, Ogawa K, Nakagawa T, Hirai I, Sato N. Identification of antigenic site within hsc 70 by serum autoantibody in patients with cancer-associated retinopathy. *Tumor Res* 1999, 34 : 49-56.
9. Maeda A, Ohguro H, Maeda T, Wada I, Sato N, Kuroki Y. Aberrant expression of photoreceptor specific calcium binding protein (recoverin) in cancer cell lines. *Cancer Res* 2000, 60 : 1914-1920.
10. Maruyama I, Ohguro H, Ikeda Y. Retinal ganglion cells recognized by serum autoantibody against g-enolase found in glaucoma patients. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000, 41 : 1657-1665.
11. Maeda T, Ohguro H, Sohma H, Kuroki Y, Wada H, Okisaka S, Murakami A. Purification and characterization of bovine cone arrestin (cArr). *FEBS Lett* 2000, 470 : 336-340.
12. Maruyama I, Ohguro H, Ikeda Y. Two cases of normal tension glaucoma and two of primary open angle glaucoma with serum autoantibody against retinal ganglion cells. *Sapporo Med J* 2000, 69 : 11-18.
13. Ikeda Y, Ohguro H, Maruyama I. Two cases of primary open angle glaucoma with serum autoantibody against retinal ganglion cells. *Jpn J Ophthalmol* 2000 ; 44 : 648-652.
14. Maeda, A., H. Ohguro, Y. Nabeta, Y. Hirohashi, H. Sahara, T. Maeda, T. Sato, Y. Chuns, Y. Nishimura, Y. Kuroki N. Sato. Induction of antitumor cytotoxic T lymphocytes with recoverin, cancer-associated retinopathy antigen, related with a preferable prognosis in paraneoplastic syndrome. *Eur J Immunol* 2001, 31 : 563-572.
15. Maeda T, Maeda A, Maruyama I, Ogawa K, Kuroki Y, Sahara H, Sato N, Ohguro H. Mechanisms of photoreceptor cell death in cancer-associated retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001, 42 : 705-712.
16. Ohguro H, Ogawa K, Maeda T, Maruyama I, Maeda A, Takano Y, Nakazawa M. Retinal dysfunction in cancer-associated retinopathy is improved by  $Ca^{2+}$  antagonist administration and dark adaptation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001, 42 : 2589-2595.

20010828

P. 161-166 は雑誌/図書等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。

### 資料

**Molecular mechanisms in quenching pathway of vertebrate and invertebrate photoreceptor cells**

**Tadao Maeda, Akiko Maeda, Ikuyo Maruyama, Mitsuru Nakazawa and Hiroshi Ohguro**

**Recent Res Devel Photochem & Photobiol. 5 (2001) P.175-180**

# 癌関連網膜症類似の自己免疫性網膜症

Atypical autoimmune retinopathy

太田浩一、吉田紀子、黒川 徹、菊池孝信、吉村長久

(信州大学医学部眼科学教室)

Kouichi Ohta, Noriko Yoshida, Toru Kurokawa, Takanobu Kikuchi, Nagahisa Yoshimura  
(Department of Ophthalmology, Shinshu University School of Medicine)

## 【抄 録】

癌関連網膜症に類似点を持つ非定型的な自己免疫性網膜症と考えられる2症例を経験したので報告する。

症例1は、66歳女性。視力は右眼(1.0)、左眼(0.8)。両眼底の網膜動脈の狭細化が認められ、亜急性に視力・視野障害が進行した。浸潤性胸腺腫が認められ、腫瘍切除、放射線療法、免疫グロブリン療法、ステロイドパルス療法を行った。臨床的に癌関連網膜症と診断したが、抗網膜抗体は検出できなかった。

症例2は、26歳女性。視力は右眼(0.3)、左眼(0.2)。両眼底に軽度の網膜血管炎を認めた。中心暗点を認めたものの、症状の進行は緩徐で1年後も著変は認められない。悪性腫瘍は見つからなかったが、ウエスタンブロットにて約36 kDaの網膜蛋白に対する自己抗体を認めた。この自己抗体は、内外網状層のシナプスに存在する蛋白を認識していた。

癌関連網膜症類似の非定型自己免疫性網膜症の症例が存在すると考える。

## Abstract

We report two cases of atypical autoimmune retinopathy similar to cancer-associated retinopathy (CAR).

A-66-year female presented decreased vision. Fundus examination revealed narrowing of retinal arteries. During progressively decreasing vision and visual field loss, an invasive thymoma was found. Thymectomy, irradiation, intravenous immunoglobulin administration and pulse therapy of steroid were performed. Anti-retinal autoantibody from her serum was not detected, although we diagnosed as CAR.

Second case was 26-year female. Her visual acuity was 0.3 right and 0.2 left. Fundus examination showed mild retinal vasculitis. The visual acuity and central scotoma had been stable in one year. There was 36kDa anti-retinal antibody recognizing inner and outer plexiform layer, although malignant tumor was not found systemically.

We concluded that there is atypical autoimmune retinopathy in some cases.

キーワード：癌関連網膜症、自己免疫性網膜症、浸潤性胸腺腫、網膜自己抗体

**key words** : cancer associated retinopathy, autoimmune retinopathy, invasive thymoma, anti-retinal auto antibody

## I 緒 言

癌関連網膜症(CAR: Cancer Associated Retinopathy)は、悪性腫瘍の細胞が産生する異常蛋白と正常網膜蛋白との共通抗原による、一種の自己免疫性網膜症と考えられている<sup>1-3)</sup>。今回我々は、CARに類似点を持つが、非定型的な自己免疫性網膜症と考えられる2症例を経験したので報告する。

## II 症 例

症例1: 66歳女性。

主 訴: 左眼の視力低下、視野狭窄。

現病歴: 平成12年8月主訴を自覚し近医を受診。

網膜血管の狭細化と硝子体混濁が認められ、精査のため当科紹介となった。

家族歴、既往歴に特記すべきことなし。

初診時所見:

視力 右 0.8 (1.0×+0.75D=cyl-1.0D 140°)  
左 0.3 (0.8×+0.75D=cyl-1.5D30°)

眼圧 右 13 mmHg 左 13 mmHg

前眼部 異常所見なし

中間透光体 軽度硝子体混濁

眼底 網膜および網膜色素上皮の萎縮、網膜動脈の狭細化 (図1)

視野 左眼上方の求心性狭窄 (図2A)

網膜電図 消失型 (図3)

全身検査にて浸潤性胸腺腫を認めた (図4)

経過：視力低下、視野狭窄とも亜急性に進行し (図2B)、平成13年3月には視力、右0.5 (n.c.) 左0.2 (0.4) に至った。CARの診断にて、同月、胸腺腫摘出術および縦隔照射が行われた。その後も視力・視野に改善がみられず、視力も低下傾向にあったため、同年8月に免疫グロブリン療法、ステロイドパルス療法を行い、現在までプレドニン投与 (20 mg/日) で経過観察中。免疫グロブリン療法以降、視力は右 (0.6)、左 (0.4) で維持されている。

胸腺摘出術前および免疫グロブリン療法前の末梢血を用い、ウエスタンブロットを行うも抗リカバリン抗体をはじめ、特異的なバンドは検出されなかった。免疫組織染色においても網膜における有意な染色は認められなかった。

#### 症例2：26歳女性

主訴：両 視力低下 中心暗点

現病歴：約8年前より徐々に進行する視力低下を自覚。平成11年近医受診。前眼部～眼底に異常所見なく、頭部CT、MRIでも異常が認められなかった。心因性視力障害を疑われ、平成12年6月当科紹介受診となった。

家族歴、既往歴に特記すべきことなし。

初診時所見：

視力 右 0.15 (0.3×-1.5D=cyl-0.75D 20°)  
左 0.15 (0.2×-0.5D=cyl-0.5D 140°)

眼圧 右 14 mmHg 左 13 mmHg

前眼部 異常所見なし

中間透光体 硝子体中に軽度炎症細胞 混濁

眼底 中心窩反射不良 周辺部網膜血管炎 (図5)

視野 中心暗点 (図6)

網膜電図 消失型 (図7)

全身検査所見：悪性腫瘍なし。

経過：自覚症状に変化なく、1年以上後の視力、視野、網膜電図にも著変はみられていない。

ウエスタンブロット法にて約36 kDa に特異的バンドを認めた。免疫組織染色では内外

網状層シナプスの部位に染色を認めた (図8)。

### III 考案

症例1では網膜色素変性症様の眼底所見・網膜動脈の狭細化、輪状暗点、網膜電図の反応低下がみられた。網膜色素変性症でみられる所見であるが、家族歴がなく、進行性であり、臨床的に胸腺腫に合併したCARと診断した。CARの原発巣では肺癌が多く<sup>1-3)</sup>、浸潤性胸腺腫との合併は1例のみである<sup>4)</sup>。胸腺腫は抗アセチルコリン受容体を産生し、重症筋無力症を起こすことがよく知られている。他に、脳の変性、皮膚症状等のparaneoplastic syndromeの報告があり<sup>5,6)</sup>、本症例も浸潤性胸腺腫に合併した、CARと考えてもよいであろう。本症例の臨床像は、坂井らの報告と極めて類似していた。興味深い点は網膜に対する自己抗体がともに検出されなかったのである。一般的にCARではリカバリンの他、網膜に対する自己抗体が血清中に検出されるのである<sup>3,7,8)</sup>。坂井らの報告では血清が治療後のものであったが、本症例の胸腺腫摘出術前の血清からも検出されなかった。血清中の自己抗体価は網膜症の進行度を反映するとされるが<sup>9)</sup>、胸腺腫に合併したCARでは従来のCARに比し、抗体価の上昇する期間が短く、検出されなかった可能性を考えた。

また、症例1では胸腺腫の根治的療法がなされたにも関わらず、視力の低下傾向にあったため、免疫グロブリンの静注<sup>10)</sup>、ステロイドのパルス療法も追加した。これらの治療により、視力・視野障害の進行はみられておらず、効果があったものと考えている。

一方、症例2では中心暗点があり、主として錐体細胞が障害されていると考えられた。経過は緩徐で、悪性腫瘍がなく、臨床的にはCARの特徴に一致しなかった。しかし、ウエスタンブロットにて約36 kDaのバンドを認め、シナプスに存在する蛋白を認識していた。autoimmune retinopathy in the absence of cancerという概念に相当するのではないかと考えた<sup>11)</sup>。この概念はCAR類似の臨床所見で、網膜自己抗体が検出されるが、進行が遅く、悪性腫瘍は認められないというものである。

CAR類似の非定型的自己免疫性網膜症の2症例を経験した。CARの発症頻度は低いとはいえ、原因不明の視力低下の症例の中に、自己免疫による網膜症の症例が存在することが示唆された。

#### 文献

1. Sawyer RA, Selhorst JB, Zimmerman LE, Hoyt WF. Blindness caused by photoreceptor



degeneration as a remote effect of cancer. *Am J Ophthalmol* 81 : 606 - 613, 1976.

2. Thirkill CE, Roth AM, Keltner JL. Cancer associated retinopathy. *Arch Ophthalmol* 105 : 372-375, 1987.

3. 大黒 浩、高谷国雄、小川佳一、鈴木純一、中川 喬. 悪性腫瘍随伴網膜症. *日眼会誌* 101:283 - 287, 1997.

4. 坂井まり、目加田篤、三田実千代、小出新一. 浸潤性胸腺腫に起因したと思われる癌関連網膜症 (Cancer-Associated Retinopathy) 類似の網膜症の1例. *眼紀* 50 : 306-311, 1999.

5. Stoll DB, Lublin F, Brodovsky H, Laucius JF, Patchefsky A, Cooper H. Association of subacute motor neuropathy with thymoma. *Cancer* 54 : 770-772, 1984.

6. Patten SF, Dijkstra JW. Associations of pemphigus and autoimmune disease with malignancy or thymoma. *Int J Dermatol* 33:836 -42, 1994.

7. Thirkill CE, FitzGerald P, Sergott RC, Roth

AM, Tyler NK, Keltner JL : Cancer-associated retinopathy (CAR syndrome) with autoantibodies reacting with retinal, optic nerve, cancer cells. *N Engl J Med* 321 : 1589 - 1594, 1989.

8. Polans AS, Buczykko J, Crabb J, Palczewski K : A photoreceptor calcium-binding protein is recognized by autoantibodies obtained from patients with a cancer associated retinopathy. *J Cell Biol* 112 : 981-989, 1991.

9. Keltner JL, Thirkill CE, Tyler NK, Roth AM. Management and monitoring of cancer-associated retinopathy. *Arch Ophthalmol* 110 : 48 - 53, 1992.

10. Guy J, Aptsiauri N. Treatment of paraneoplastic visual loss with intravenous immunoglobulin. *Arch Ophthalmol* 117 : 471-477, 1999.

11. Mizener JB, Kimura AE, Adamus G, Thirkill CE, Goeken JA, Kardon RH. Autoimmune retinopathy in the absence of cancer. *Am J Ophthalmol* 123 : 607-618, 1997.

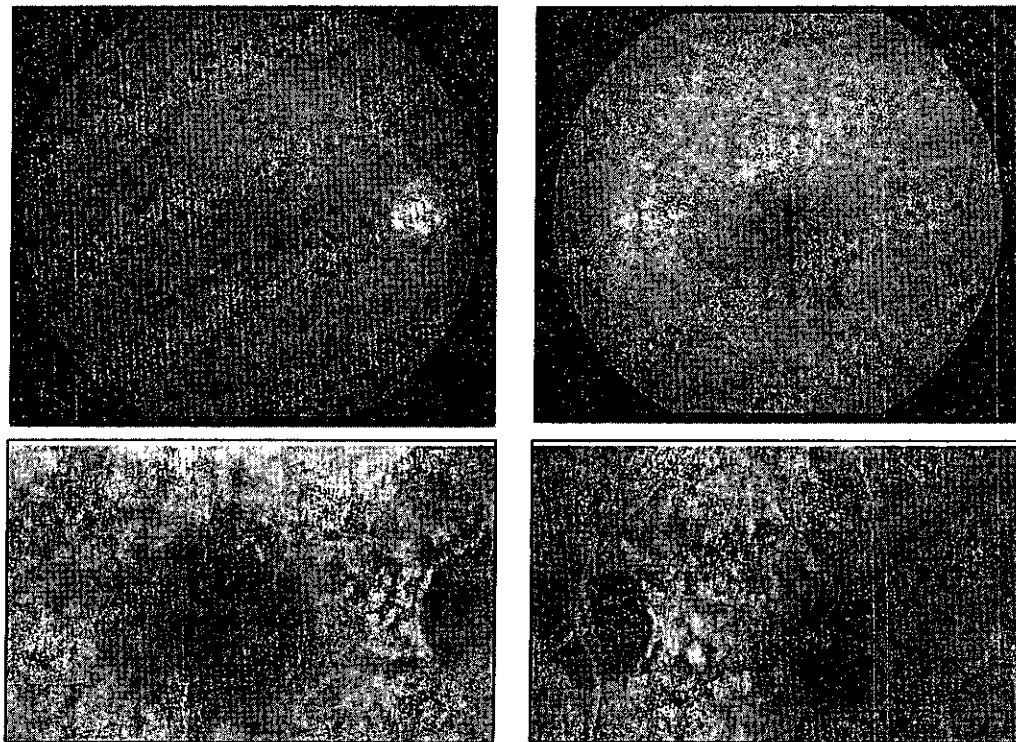
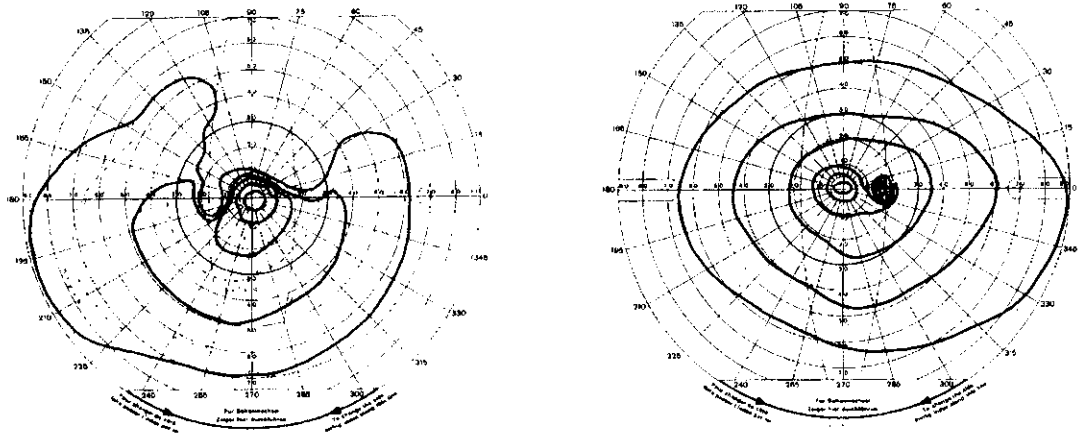


図1 眼底所見 (上段) : 両眼に網膜動脈の狭細化を認める  
 蛍光眼底造影所見 (下段) : 網膜色素上皮の萎縮と思われる window defect を認める

**A**



**B**

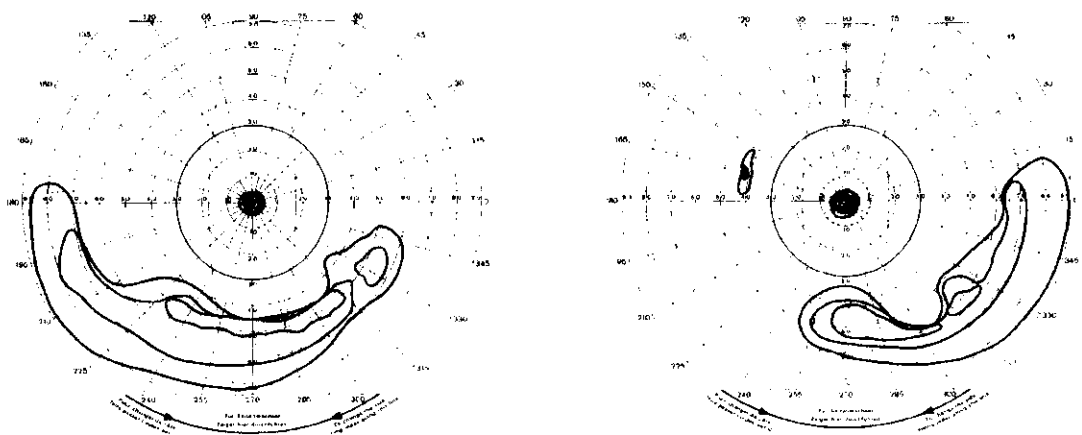


図2 ゴールドマン視野検査所見 (A:初診時、B:6ヶ月後)

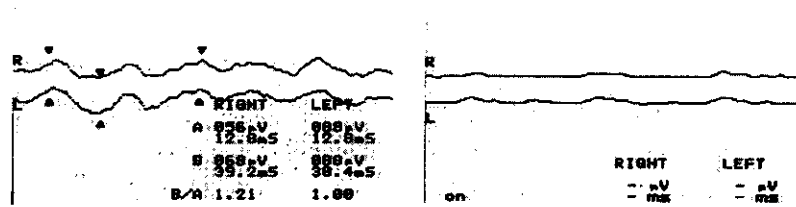


図3 網膜電図所見 (左:フラッシュ ERG、右:フリッカー ERG)

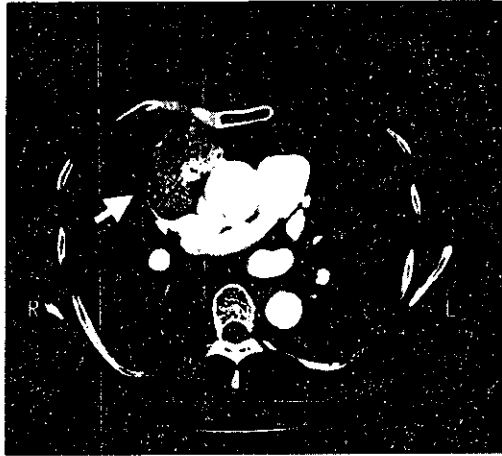


図4 胸部造影CT写真  
前縦隔に腫瘍陰影を認める（矢印）

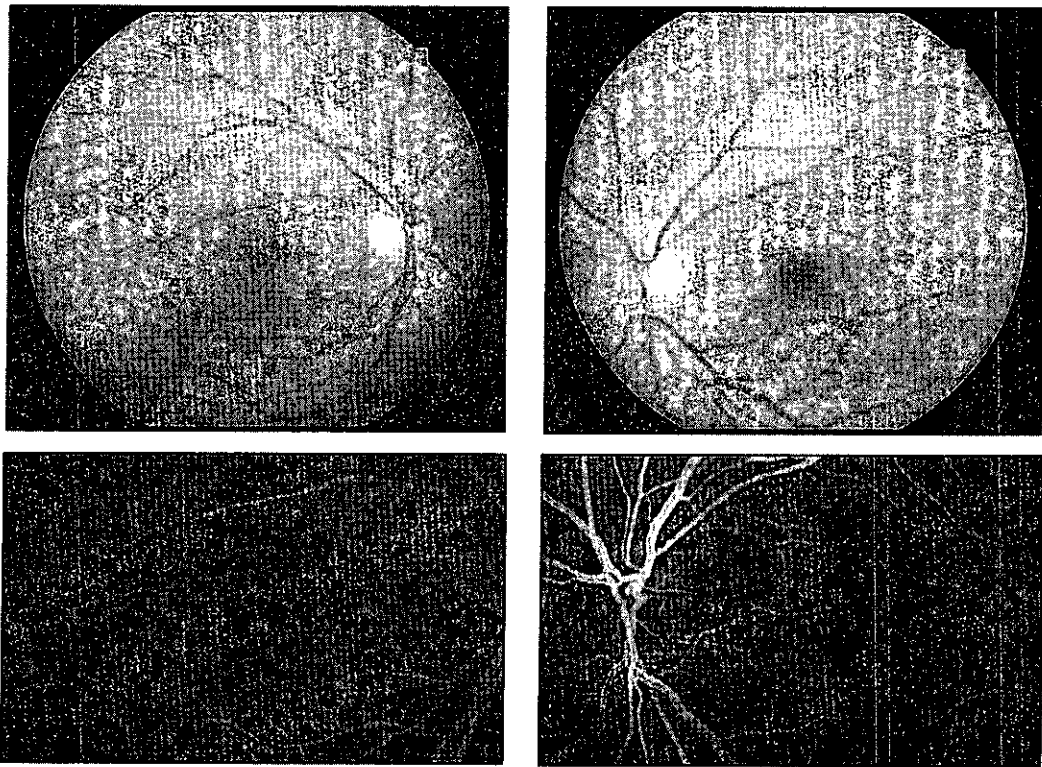


図5 眼底所見（上段）：右眼の中心窩陥凹消失以外は正常眼底  
蛍光眼底造影所見（下段）：右黄斑部と周辺網膜血管からのごく軽度の蛍光漏出

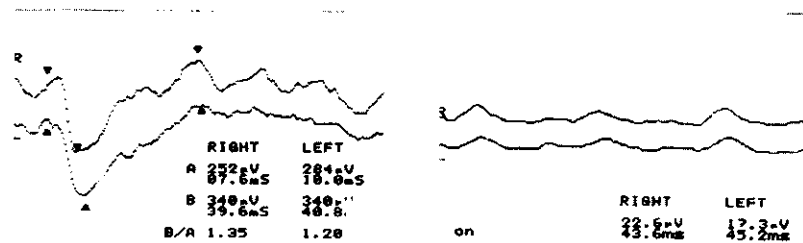


図6 ゴールドマン視野検査所見（初診時）  
両眼の比較中心暗点

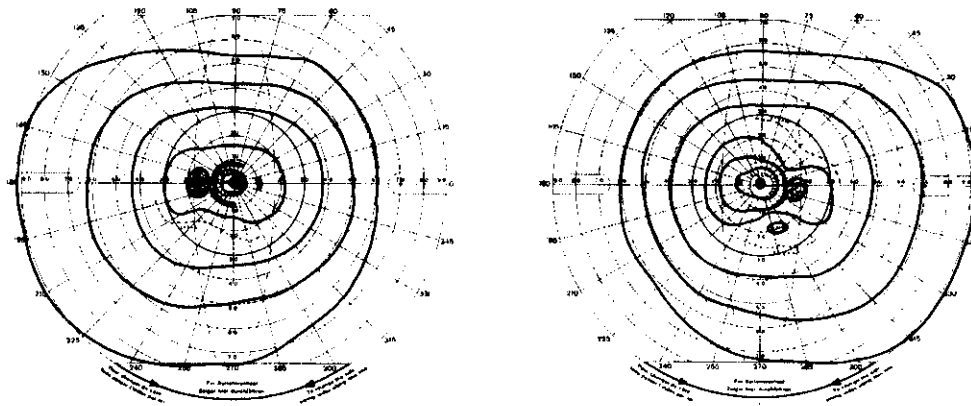


図7 網膜電図所見 (左:フラッシュ ERG、右:フリッカー ERG)

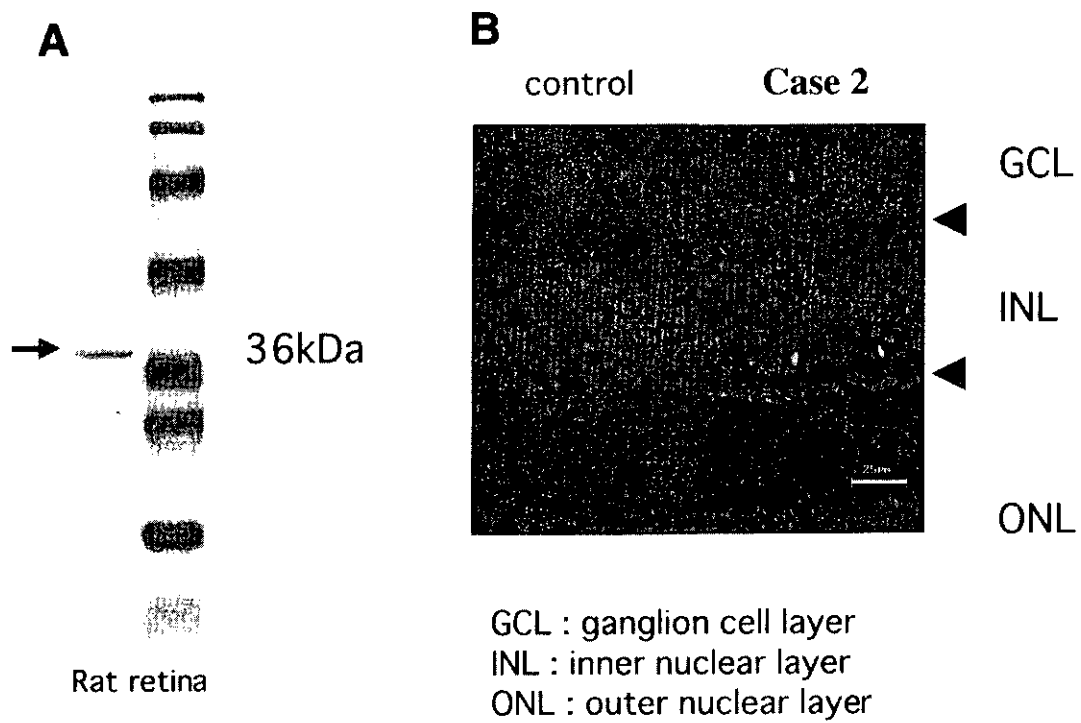


図8 患者血清を用いた Western Blot (A) と免疫組織学的検討 (B)  
 A: ラット網膜可溶分画の 36kDa に対し、バンドがみられる  
 B: サル網膜の内・外網状層に特異的な染色を認める (矢印)

# 癌関連網膜症の患者血清が認識する新しい網膜特異抗原遺伝子の解析

Molecular cloning and characterization of human PTB-like protein  
: a possible retinal autoantigen of cancer-associated retinopathy

菊池孝信、立岩 尚、市川正樹、後藤謙元、吉村長久  
(信州大学医学部眼科学講座)

Takanobu Kikuchi, Hisashi Tateiwa, Masaki Ichikawa, Norimoto Gotoh, Nagahisa Yoshimura  
(Department of Ophthalmology, Shinshu University School of Medicine)

## 【抄 録】

癌関連網膜症 (CAR) の自己抗原蛋白の一つと考えられる遺伝子をヒトの網膜から分離した。この遺伝子は、RNA 結合性蛋白である PTB と高い相同性を有したため、PTB-like protein (PTBLP) と命名した。ヒト PTBLP は 532 アミノ酸から構成され、ヒト PTB に対して 75% の相同性を示した。PTB の機能ドメインである RNA 認識部位 (RRM) は PTBLP においても保存されており、PTBLP は 4 つの RRM を保有していた。そして PTB と同様に PTBLP にも RNA に対する結合能が認められた。PTBLP には 4 つのアイソフォームが存在し、これらは選択的スプライシングに由来するものであった。CAR の患者血清は完全長の PTBLP を認識し、抗原決定基は C 末端の 12 アミノ酸配列内に存在した。同時にこの抗原決定基は PTBLP の第 4 RRM 内に存在するものであった。

## Abstract

Human homologue of polypyrimidine tract binding protein (PTB), a possible autoantigen for cancer-associated retinopathy (CAR), was isolated from a human retinal cDNA library. This homologue, named PTB-like protein (PTBLP), encodes a 532 amino acid residue and has a 75% homology to the human PTB. The human PTBLP had four RNA recognition motifs (RRMs) and had a RNA binding ability. There are four splicing variants in PTBLP. The CAR serum recognized the full length form of PTBLP and the antigenic determinant was localized within 12 amino acids of the C-terminal region. The sequence was included in the fourth RRM sequence.

キーワード: PTB-like protein, RNA binding protein, retina, cancer-associated retinopathy, autoantigen

## 【背景】

癌関連網膜症 (cancer-associated retinopathy; CAR) は腫瘍随伴症候群 (paraneoplastic syndrome) の 1 つであり、原発の悪性腫瘍の直接の浸潤や転移がないにもかかわらず、その遠隔作用により網膜の変性をきたす稀な症候群である<sup>1)</sup>。CAR の発生病序はまだ明らかではないが、網膜組織内に存在する自己抗原に対する自己抗体が産生されるためと考えられている。これまで、CAR における自己抗原として、数種の蛋白が報告されている<sup>2-17)</sup>。以前我々は、CAR の患者血清を用いて、自己抗原蛋白の一つである可能性をもつ新規の遺伝子をラットの網膜から分離した<sup>18)</sup>。この遺伝子は、RNA 結合蛋白である PTB (polypyrimidine tract binding protein)

と高い相同性を有したことから、PTB-like protein (PTBLP) と命名した。PTB の発現場所には特異性はなく、生体内に広く分布しているのに対して<sup>19,20)</sup>、ラットの PTBLP は神経系組織内 (網膜、脳) に特異的に発現していた。網膜内における分布は網膜内層の神経節細胞層が主体であり、核内に局在していた<sup>18)</sup>。

## 【目的】

今回この PTBLP cDNA クローンをヒトの網膜から分離し、その塩基配列を決定した。また、CAR の患者血清が認識する抗原決定部位を特定した。

[方法]

ラットの PTBLP cDNA 断片をプローブとして用いてブランクハイブリダイゼーションによるスクリーニングを行い、ヒト網膜の cDNA ライブラリーからヒト PTBLP を分離した。PTBLP の組み換え蛋白を調製し、その生理作用の一つと考えられる RNA に対する結合能の有無を検討した。また、CAR における PTBLP の抗原決定部位を検索するために、PTBLP の大きさの異なる数種の組み換え蛋白を調製し、CAR 患者血清との免疫学的検討を行った。

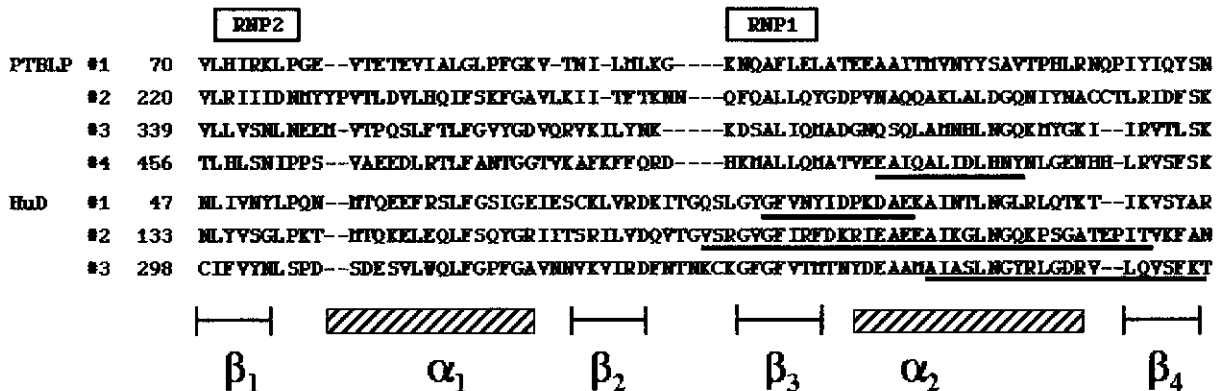
[結果]

ヒト PTBLP は 532 アミノ酸から構成され、ヒト PTB と 75% の相同性を有した。特に、核移行性シグナル (nuclear localization signals; NLS) や RNA 認識部位 (RNA recognition motif; RRM) などの PTB における機能的部位は<sup>21-23)</sup>、ヒト PTBLP においても高い相同性が保持されていた。ヒト PTBLP は PTB と同様に 4 つの RRM を有し、RNA に対する結合能を認め、C 末端側の 2 つの RRM が RNA 結合の主要な機能をもつことが示唆された。ヒト PTBLP の塩基配列には選択的スプライシングによるバリエーションがみられ、4 種類のアイソフォームが存在した (PTBLP-L および L', PTBLP-S および S')。PTBLP-L/L' は 532/537 アミノ酸から構成されるのに対して、PTBLP-S/S' は読み取り枠内の 34 塩基対が欠失してフレームシフト変異が生じる結果、356/361 アミノ酸から構成され

た。このため、PTBLP-S および S' は、PTBLP-L および L' が有する 4 つの RRM のうち C 末端側の 2 つの RRM を欠き、PTBLP-S の RNA 結合能は PTBLP-L に比べて非常に弱いものであった。PTBLP-L' と PTBLP-S' は、上述の 34 塩基対の欠失が起こる部分よりも上流で読み取り枠内に 15 塩基対の添加を認めるアイソフォームで、PTBLP-L および PTBLP-S をそれぞれ 5 アミノ酸だけ延長した。CAR 患者血清は PTBLP-L を認識したが、PTBLP-S との免疫学的反応は認められなかった。抗原決定基は PTBLP-L の C 末端内の 12 アミノ酸配列 (504-515) を中心に存在し、この配列は PTBLP の機能的部位である 4 番目の RRM 内に局在していた。

[結論]

PTB と高い相同性を有する PTBLP 遺伝子は、ヒトの網膜に存在した。PTBLP は RNA 結合能を有し、PTB family (PTB, ROD124) に属する蛋白質であると考えられた。その生理作用および網膜変性との明らかな関連性はまだ不明ではあるが、CAR 血清により認識され、網膜変性を起こす自己抗原蛋白である可能性が示唆された。CAR 以外でも腫瘍随伴症候群における神経特異的な自己抗原蛋白がこれまで多く同定されてきている。その一つである HuD25) は PTBLP と同様に神経特異的な RNA 結合性蛋白であり、通常は脳に発現していて脳脊髄炎/知覚神経症の自己抗原蛋白であるという報告が多く認められる。HuD における抗原決定基<sup>26)</sup> は



PTBLP の RRM (4 つ)、および HuD の RRM (3 つ) を示す。RRM は通常 80~100 アミノ酸配列から構成され、その中に保存性の高い配列 (ribonucleoprotein: RNP) を有する。その立体構造は 4 つのシート状構造 ( $\beta$ -sheet) と 2 つの螺旋状構造 ( $\alpha$ -helix) からなる。PTBLP の抗原決定基は第 4 の RRM の  $\alpha$ -helix 部分に局在する。HuD の抗原決定基は各 RRM 内に存在するが、同様に  $\alpha$ -helix 部分に局在する (下線: 抗原決定基)。両者のアミノ酸配列としての相同性は認めない。

PTBLP の抗原決定基とは全く相同性を認めなかったが、その存在部位が機能ドメインであるRRM の  $\alpha$  2-helix 内に局在する点で共通していた (図)。

#### 参考文献

- 1) Sawyer, R. A., Selhorst, J. B., Zimmerman, L. E., Hoyt, W. F. 1976. Blindness caused by photoreceptor degeneration as a remote effect of cancer. *Am. J. Ophthalmol.* 81, 606 - 613.
- 2) Thirkill, C. E., Roth, A. M., Keltner, J. L. 1987. Cancer-associated retinopathy. *Arch. Ophthalmol.* 105, 372 - 375.
- 3) Thirkill, C. E., FitzGerald, P., Sergott, R. C., Roth, A. M., Tyler, N. K., Keltner, J. L. 1989. Cancer-associated retinopathy (CAR syndrome) with antibodies reacting with retinal, optic-nerve, and cancer cells. *N. Engl. J. Med.* 321, 1589 - 1594.
- 4) Thirkill, C. E., Tait, R. C., Tyler, N. K., Roth, A. M., Keltner, J. L. 1992. The cancer associated retinopathy antigen is a recoverin-like protein. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 33, 2768 - 2772.
- 5) Thirkill, C. E., Keltner, J. L., Tyler, N. K., Roth, A. M. 1993. Antibody reactions with retina and cancer-associated antigens in 10 patients with cancer-associated retinopathy. *Arch. Ophthalmol.* 111, 931-937.
- 6) Dizhoor, A., Ray, S., Kumar, S., Niemi, G., Spencer, M., Brolley, D., Walsh, K. A., Philipov, P. P., Hurley, J. B., Stryer, L. 1991. Recoverin: a calcium sensitive activator of retinal rod guanylate cyclase. *Science* 251, 915-918.
- 7) Polans, A. S., Buczylo, J., Crabb, J., Palczewski, K. 1991. A photoreceptor calcium binding protein is recognized by autoantibodies obtained from patients with cancer-associated retinopathy. *J. Cell. Biol.* 112, 981 - 989.
- 8) Polans, A. S., Burton, M. D., Haley, T. L., Crabb, J. W., Palczewski, K. 1993. Recoverin, but not visinin, is an autoantigen in the human retina identified with a cancer-associated retinopathy. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 34, 81 - 90.
- 9) Adamus, G., Guy, J., Schmied, J. L., Arendt, A., Hargrave, P. A. 1993. Role of anti-recoverin autoantibodies in cancer-associated retinopathy. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 34, 2626-2633.
- 10) Adamus, G., Machnicki, M., Seigel, G. M. 1997. Apoptotic retinal cell death induced by antirecoverin autoantibodies of cancer-associated retinopathy. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 38, 283 - 291.
- 11) Erickson, M. A., Lagnado, L., Zozulya, S., Neubert, T. A., Stryer, L., Baylor, D. A. 1998. The effect of recombinant recoverin on the photoresponse of truncated rod photoreceptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 95, 6474 - 6479.
- 12) Whitcup, S. M., Vistica, B. P., Milam, A. H., Nussenblatt, R. B., Gery, I. 1998. Recoverin-associated retinopathy: a clinically and immunologically distinctive disease. *Am. J. Ophthalmol.* 126, 230 - 237.
- 13) Grunwald, G. B., Klein, R., Simmonds, M. A., Kornguth, S. E. 1985. Autoimmune basis for visual paraneoplastic syndrome in patients with small-cell lung carcinoma. *Lancet* 1, 658 - 661.
- 14) Ohnishi, Y., Ohara, S., Sakamoto, T., Kohno, T., Nakao, F. 1993. Cancer-associated retinopathy with retinal phlebitis. *Br. J. Ophthalmol.* 77, 795 - 798.
- 15) Rizzo, J. F., Gittinger, J. W. 1992. Selective immunohistochemical staining in the paraneoplastic retinopathy syndrome. *Ophthalmology* 99, 1286 - 1295.
- 16) Ohguro, H., Ogawa, K., Nakagawa, T. 1999. Recoverin and hsc70 are found as autoantigens in patients with cancer-associated retinopathy. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 40, 82 - 89.
- 17) Kikuchi, T., Arai, J., Shibuki, H., Kawashima, H., Yoshimura, N. 2000. Tubby-like protein 1 as an autoantigen in cancer-associated retinopathy. *J. Neuroimmunol.* 103, 26-33.
- 18) Kikuchi, T., Ichikawa, M., Arai, J., Tateiwa, H., Fu, L., Higuchi, K., Yoshimura, N. 2000. Molecular cloning and characterization of a new neuron-specific homologue of rat polypyrimidine tract binding protein. *J. Biochem.* 128, 811 - 821.
- 19) Gil, A., Sharp, P. A., Jamison, S. F., Garcia-Blanco, M. A. 1991. Characterization of cDNAs encoding the polypyrimidine tract-binding protein. *Genes. Dev.* 5, 1224 - 1236.
- 20) Patton, J. G., Mayer, S. A., Tempst, P., Nadal-Ginard, B. 1991. Characterization and molecular cloning of polypyrimidine tract-binding protein: a component of a complex necessary for pre-

- mRNA splicing. *Genes. Dev.* 5, 1237 – 1251.
- 21) Perez, I., McAfee, J. G., Patton, J. G. 1997. Multiple RRM domains contribute to RNA binding specificity and affinity for polypyrimidine tract binding protein. *Biochemistry* 36, 11881–11890.
- 22) Huang, S., Deerinck, T. J., Ellisman, M. H., Spector, D. L. 1997. The dynamic organization of the perinucleolar compartment in the cell nucleus. *J. Cell. Biol.* 137, 965 – 974.
- 23) Hahm, B., Cho, O. H., Kim, J. E., Kim, Y. K., Kim, J. H., Oh, Y. L., Jang, S. K. 1998. Polypyrimidine tract-binding protein interacts with HnRNP L. *FEBS. Lett.* 425, 401 – 406.
- 24) Yamamoto, H., Tsukahara, K., Kanaoka, Y., Jinno, S., Okayama, H. 1999. Isolation of a mammalian homologue of a fission yeast differentiation regulator. *Mol. Cell. Biol.* 19, 3829 – 3841.
- 25) Manley, G. T., Smitt, P. S., Dalmau, J., Posner, J. B. 1995. Hu antigens: reactivity with Hu antibodies, tumor expression, and major immunogenic sites. *Ann. Neurol.* 38, 102–110.
- 26) Sodeyama, N., Ishida, K., Jaekle, K. A., Zhang, L., Azuma, A., Yamada, M., Mizusawa, H., Wada, Y. 1999. Pattern of epitopic reactivity of the anti-Hu antibody on HuD with and without paraneoplastic syndrome. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* 66, 97 – 99.



# Melanoma-associated retinopathy における自己抗原の同定

The effect of  $Ca^{2+}$  antagonists in Royal College Surgeons rat

大黒 浩、山崎仁志、目時友美、佐藤元哉、柳橋さつき、中沢 満  
(弘前大学医学部眼科学教室)

Hiroshi Ohguro, Hitoshi Yamazaki, Tomomi Metoki, Motoya Satou, Satsuki Yanagihashi,  
and Mitsuru Nakazawa

(Department of Ophthalmology, Hirosaki University School of Medicine)

## 【抄 録】

目的：Melanoma-associated retinopathy (MAR) の自己抗原として網膜双極細胞由来のものが免疫組織化学の検討により推定されているもののいまだその分子は不明であった。今回我々は、このMAR 抗原の同定を目的として検討した。

方法：免疫組織化学的手法によりアッセイ法を確立し、これを用いて牛網膜からその精製を行った。

結果：牛網膜 500 枚よりシヨ糖密度勾配遠心法により視細胞外節を除去したのちシヨ糖密度勾配遠心法をもう一度行い神経由来の形質膜を分離した。そこから detergent で膜を可溶化し、MAR 患者 IgG を固相化した affinity カラムにより精製を行い牛網膜 500 枚よりシヨ糖密度勾配遠心法により視細胞外節を除去したのちシヨ糖密度勾配遠心法をもう一度行い神経由来の形質膜を分離した。そこから detergent で膜を可溶化し、MAR 患者 IgG を固相化した affinity カラムにより精製を行った。

結論：この 33 k Da の網膜神経膜由来の MAR 抗原はその発症機序に深く係わることが考えられた。

## Abstract

**Purpose.** Previous studies revealed that sera of patients with cutaneous melanoma-associated retinopathy (MAR) specifically reacted with bipolar cells of the retina. However, the specific bipolar cell antigen has not yet been identified. The purpose of the present study is to identify the bipolar cell MAR antigen in order to elucidate the pathophysiology of the disease.

**Methods.** We developed a MAR IgG preabsorption assay to detect the presence of the unknown bipolar cell MAR antigen. Utilizing this assay system, we purified the MAR antigen from bovine retinas and analyzed its amino acid sequence.

**Results.** The MAR antigen was extracted from non-ROS (rod outer segment) neuronal plasma membranes isolated from fresh bovine retinas by sucrose density gradient centrifugation by a combination of sonication and Triton X 100 treatment. The solubilized fraction containing the MAR antigen was successively subjected to column chromatography using blue sepharose, human IgG (non MAR) conjugated sepharose and MAR IgG sepharose. An homogeneous 33kDa MAR antigen was obtained.

**Conclusion.** These observations suggest that a novel membrane associated 33kDa protein homologous may be the bipolar cell antigen recognized by the sera of MAR patients.

**Key words :** Melanoma-associated retinopathy, retinal dystrophy, retinitis pigmentosa, electroretinogram, Cancer-associated retinopathy

## 目的

癌患者の一部に中枢神経系への腫瘍転移ではなく種々の中枢神経症状を呈することがあり、これを悪性腫瘍随伴神経症 (paraneoplastic neuropathy) (表 1) と呼ぶが、この中で網膜視覚系の障害を呈する

ものを癌関連網膜症 (CAR, carcinoma-associated retinopathy) と区別している。CAR を引き起こす癌の原発病巣として肺癌特に小細胞癌が最も多く、次いで消化器系および婦人科系の癌頻度が多い。これらは臨床的に遺伝性進行性網膜脈絡膜変性症であ

る網膜色素変性に似た症状、即ち桿体視細胞障害に基づく視感度の低下、視野狭窄等の症状を特徴とする。一方、皮膚悪性黒色腫に随伴する網膜症で CAR とは異なり網膜 2 次ニューロンの障害に基づく臨床像を呈する MAR (melanoma associated retinopathy) が知られている。CAR は欧米および本邦でそれぞれ百例前後および数十例の報告があるが、MAR は欧米で数十例の報告があるのみで本邦での報告例はまだ無い。CAR では、原発巣の癌が臨床的に発見される以前に網膜症を呈することがあることから網膜症が癌の早期発見につながる可能性が示唆されている。CAR および MAR の発症機序は、癌細胞および網膜共通特異抗原に対して自己抗体ができ、それが網膜を傷害するためと考えられている。しかし依然として CAR および MAR に関して特異な自己抗原を含め詳細な網膜症発症の分子機構に関しては明らかでないが、これらを解明することは遺伝性に視細胞傷害を引き起こす網膜色素変性などの眼科臨床的に類似の変性疾患の病態の理解と新しい治療法のデザインにも役立つことが予想される。そこで本研究では癌関連網膜症のうちいまだその自己抗原が不明である MAR の自己抗原を同定するべく検討した。

#### 方法

牛網膜 500 枚よりシヨ糖密度勾配遠心法により視細胞外節を除去したのちシヨ糖密度勾配遠心法をもう一度行い神経由来の形質膜を分離した。そこから detergent で膜を可溶化し、MAR 患者 IgG を固相化した affinity カラムにより精製を行った。

#### 結果

上記の方法により 33 kDa の網膜神経膜由来の MAR 抗原の同定ができた。

#### 考案

MAR は最初、皮膚悪性黒色腫の患者の中に夜盲や羞明を主訴とする MAR 患者が Ripps ら<sup>39)</sup> により報告された。それ以来、欧米で数十例の報告があるが、本邦での報告例はない。MAR の臨床症状の特徴として、CAR のそれとは異なる以下の特徴がある。

- 1) 皮膚悪性黒色腫患者で他臓器に転移が発見されてから比較的はやい時期 (数週から 1 年) に発症することが多い。
- 2) 夜盲および羞明感を訴え、著しい暗順能の低下が認められる。
- 3) 網膜電位図 (electroretinogram, ERG) で先天性停止性夜盲 (congenital stationary night blindness, CSNB) 患者で認められる異常と非常

に似た所見を示す (b 波の低下)。しかし CSNB 患者と異なり oscillation potential の異常も認められる (CSNB 患者ではほぼ正常である)。

- 4) 視野検査では MAR 患者において著しい視感度 (特に視細胞桿体機能) の低下が認められる。Milam ら、および Weinstein らは、MAR 患者の血清を一次抗体に用いて免疫組織学的検討を行ったところ、MAR 患者の血清には網膜の双極細胞を特異的に認識する自己抗体が存在することを報告した。これは先に示した MAR 患者に認められる ERG 所見で網膜 2 次ニューロンが障害されていることを裏付けるものである。しかし MAR においては CAR で認められた CAR antigen のような原因となる抗原に関しては今のところ同定されるまでには至っていなかったが今回我々が MAR の自己抗原を見出したことにより今後その分子病態が明らかになると思われる。

#### 参考文献

- 1 Ohguro H, Ogawa K, Nakagawa T. Both recoverin and hsc 70 are found as autoantigens in patients with cancer-associated retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999, 40 : 82-89.
- 2 Maeda A, Ohguro H, Maeda T, Kuroki Y. Low expressions of a-A crystallins and rhodopsin kinase of photoreceptors in retinal dystrophy rat. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999, 40 : 2788-2794.
- 3 Ohguro H, Ogawa K, Maeda T, Maeda A, Maruyama I. Cancer-associated retinopathy induced by both anti-recoverin and anti-hsc 70 antibodies in vivo. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999, 40 : 3160-3167.
- 4 Suzuki J, Ohguro H, Oguri N, Satoh M, Kon S, Kogawa K, Nakagawa T. Clinicopathologic and immunologic analysis of mucosa-associated lymphoid tissue lymphomas arising in conjunctiva. *Jan J Ophthalmol* 1999, 43 : 155-161.
- 5 Ohguro H, Ohguchi S. A case of retinoblastoma suspected by optic nerve invasion by MR imaging. *Tumor Res* 1999, 34 : 83-87.
- 6 Masaoka N, Emoto Y, Sasaoka A, Fukushima A, Ueno H, Ohguro H. Fluorescein angiographic findings in case of cancer-associated retinopathy. *Retina* 1999, 19 : 462-464.
- 7 Ohguro H. Retinal 33kDa protein is recognized by autoantibodies from patients with melanoma-associated retinopathy. *Tumor Res* 1999, 34 : 41-48.
- 8 Maeda T, Ohguro H, Maeda A, Ogawa K,

- Nakagawa T, Hirai I, Sato N. Identification of antigenic site within hsc 70 by serum autoantibody in patients with cancer-associated retinopathy. *Tumor Res* 1999, 34 : 49–56.
- 9 Maeda A, Ohguro H, Maeda T, Wada I, Sato N, Kuroki Y. Aberrant expression of photoreceptor specific calcium binding protein (recoverin) in cancer cell lines. *Cancer Res* 2000, 60 : 1914–1920.
- 10 Maruyama I, Ohguro H, Ikeda Y. Retinal ganglion cells recognized by serum autoantibody against g-enolase found in glaucoma patients. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000, 41 : 1657–1665.
- 11 Maeda T, Ohguro H, Sohma H, Kuroki Y, Wada H, Okisaka S, Murakami A. Purification and characterization of bovine cone arrestin (cArr). *FEBS Lett* 2000, 470 : 336–340.
- 12 Maruyama I, Ohguro H, Ikeda Y. Two cases of normal tension glaucoma and two of primary open angle glaucoma with serum autoantibody against retinal ganglion cells. *Sapporo Med J* 2000, 69 : 11–18
- 13 Ikeda Y, Ohguro H, Maruyama I. Two cases of primary open angle glaucoma with serum autoantibody against retinal ganglion cells. *Jpn J Ophthalmol* 2000 ; 44 : 648–652.
- 14 Maeda, A., H. Ohguro, Y. Nabeta, Y. Hirohashi, H. Sahara, T. Maeda, T. Sato, Y. Chuns, Y. Nishimura, Y. Kuroki N. Sato. Induction of antitumor cytotoxic T lymphocytes with recoverin, cancer-associated retinopathy antigen, related with a preferable prognosis in paraneoplastic syndrome. *Eur J Immunol* 2001, 31 : 563–572.
- 15 Maeda T, Maeda A, Maruyama I, Ogawa K, Kuroki Y, Sahara H, Sato N, Ohguro H. Mechanisms of photoreceptor cell death in cancer-associated retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001, 42 : 705–712.
- 16 Ohguro H, Ogawa K, Maeda T, Maruyama I, Maeda A, Takano Y, Nakazawa M. Retinal dysfunction in cancer-associated retinopathy is improved by Ca<sup>2+</sup> antagonist administration and dark adaptation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001, 42 : 2589–2595

20010828

P. 180-186 は雑誌/図書等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。

#### 資料

16. Ohguro H, Ogawa K, Maeda T, Maruyama I, Maeda A, Takano Y, Nakazawa M. Retinal dysfunction in cancer-associated retinopathy is improved by  $\text{Ca}^{2+}$  antagonist administration and dark adaptation. Invest Ophthalmol Vis Sci 2001, 42 : 2589-2595