

厚生労働科学研究費補助金（感覚器障害研究事業）  
分担研究報告書

緑内障患者におけるレーベル病に関連するミトコンドリア DNA 変異

分担研究者 工藤 純 慶應義塾大学医学部 助教授  
分担研究者 大竹 雄一郎 慶應義塾大学医学部 講師

研究要旨：萎縮期のレーベル病患者は視神経乳頭陥凹を来すことが、報告されている。今回、レーベル病に関連する6つのミトコンドリア DNA 変異(G3460A, T9101C, G9804A, G11778A, T14484C, T14498C)をインベーター法を用いて、開放隅角緑内障、正常眼圧緑内障および正常人（総計 651 名）において検討した結果、緑内障患者7名に変異がみられた。7名の診断時年齢は  $64.9 \pm 10.6$  歳で、年齢が高くなるほど、視野障害は進行していた。ミトコンドリア DNA の障害は緑内障性視神経乳頭陥凹に関連することが示唆された。

A. 研究目的

平成14年度にレーベル病萎縮期は緑内障様の視神経乳頭陥凹を呈することを報告した。従って、緑内障患者においてレーベル病に関連するミトコンドリア DNA 変異のヘテロプラスミーの有無およびその程度と緑内障発症・進行との関連を検討することは意義があると考え、多数症例の緑内障患者において変異を検索した。

B. 研究方法

平成14年度のインベーター法を用いて、ミトコンドリア DNA のヘテロプラスミーを定量する方法を開発したが、今回はその方法を用いた。検索したミトコンドリア DNA 変異は、G3460A, T9101C, G9804A, G11778A, T14484C, T14498C の6カ所である。対象は開放隅角緑内障患者201名、正常眼圧緑内障患者232名、正常人218名であった。塩基置換の確認にはPCR産物を直接シーケンス法にて決定した。

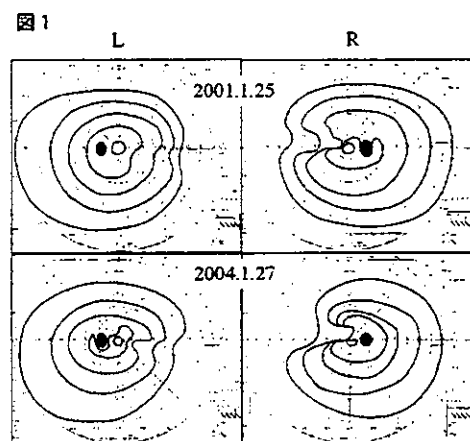
C. 研究結果

13名の緑内障患者において、9個の塩基置換が確認された（表1）。その結果、アミノ酸の置換を来したものは5個、アミノ酸の置換が生じないものは4個であった。アミノ酸置換を来す、緑内障と関連があると思われる5個のミトコンドリア DNA 変異（C9099A, T9101G, T9101C, G9804A, G11778A）は、4名の開放隅角緑内障患者および3名の正常眼圧緑内障にみられた。7名はレーベル病を発症していなかった。2名の患者にみられた

C9099A 変異と T9101G 変異は、今回新たに発見された変異であった。残りの5名の患者にはレーベル病に関連する変異（T9101C, G9804A, or G11778A）がみられた。2人においてG11778A変異がヘテロプラスミーであったが、他の変異はすべてホモプラスミーであった。

7名の診断時年齢は  $64.9 \pm 10.6$  歳で、年齢が高くなるほど、視野障害は進行していた。

図1に7名の患者の中で最も若い症例6の視野変化を示す。ラタノプラスト点眼で眼圧は12-14mmHgを維持されていたが、3年間で視野欠損は明らかに進行した。



D. 考察

レーベル病萎縮期において緑内障様の視神経乳頭の陥凹が認められることから、ミトコンドリア DNA 変異は、緑内障の発症、進行に関連することが想定された。今回の検討で、高齢者の患者7名にミトコンドリア DNA 変

表1 インベーター法によるレーベル病に関連するミトコンドリアDNA変異を検出するプローブ配列

Nucleotide	Target	Probe	Sequence	Tm	Dye
G3460A	Anti-sense	Wild	ACGGACGGGAGgccataaaactcttcacca	63.2	RED
		Mutant	CGCGCCGAGGaccataaaactcttcacaaa	63.3	FAM
		Invader	ccctacgggctactacaacccctcgctgact	77.7	
T9101C	sense	Wild	CGCGCCGAGGatgataaggttagaggaagg	64.1	FAM
		Mutant	ACGGACGGGAGgtgataaggttagaggaag	62.2	RED
		Invader	ggcgacagcgatttctaggtagtcagtagaattagaattgtgaagT	76.8	
G9804A	anti-sense	Wild	ACGGACGGGAGgcccacaggcttcca	63.7	FAM
		Mutant	CGCGCCGAGGaccacaggcttccac	63.7	RED
		Invader	catttccgacggcatctacggctcaacatttttgaT	76.7	
G11778A	Anti-sense	Wild	ACGGACGGGAGgcatcataatcctctctcaag	63.5	RED
		Mutant	CGCGCCGAGGacatcataatcctctctcaag	62.2	FAM
		Invader	gcctagcaaacctcaaacctacgaacgcactcacagtct	77.7	
T14484C	Sense	Wild	CGCGCCGAGGatggttctcttggatatactac	63.4	FAM
		Mutant	ACGGACGGGAGgtggttctcttggatatactac	62.8	RED
		Invader	ttttggggaggttatatgggttaaatagtttttttaatttttagggggaatgt	76.0	
T14498C	sense	Wild	CGCGCCGAGGatttagggggaatgatgg	64.0	FAM
		Mutant	ACGGACGGGAGgtttagggggaatgatgg	62.7	RED
		Invader	tgttatttctgaattttggggaggttatatgggttaaatagtttttttaattT	74.1	

The Large letters indicates the flap sequences of primary probes.

表2 ミトコンドリアDNA変異がみられた7症例

Case	Sex	Age at Diagnosis	Phenotype	Highest IOP (R/L)	Family history	Nucleotide position & change	Amino acid position & change	heteroplasmy	Gene	Final visual field (R/L)	modified Aubson-Croze classification C/D ratio (R/L)
1	M	51	POAG	27/32	father	G9099A	Ile191Met	homoplasmy	ATP synthase 6	stage 3/stage 4	0.7/0.8
2	F	69	HTG	18/21	negative	T9101G	Ile192Ser	homoplasmy	ATP synthase 6	stage 3/stage 4	0.8/0.8
3	F	71	POAG	27/21	mother, sister	T9101C	Ile192Thr	homoplasmy	ATP synthase 6	stage 5/stage 5	0.9/1.0
4	M	63	POAG	26/25	mother	G9804A	Ala200Thr	homoplasmy	Cytochrome c Oxidase	stage 3/stage 3	0.7/0.7
5	F	75	HTG	17/17	negative	G9804A	Ala200Thr	homoplasmy	Cytochrome c Oxidase	stage 3/stage 5	0.8/1.0
6	M	50	HTG	17/17	negative	G11778A	Arg340His	heteroplasmy 15%	ND4	stage 3/stage 2	0.7/0.7
7	F	75	POAG	28/20	negative	G11778A	Arg340His	heteroplasmy 80%	ND4	stage 5/stage 4	1.0/0.9

異が確認された。従って、一部に症例ではあるが、ミトコンドリア DNA の異常が緑内障に関連している可能性が示唆された。更に、視野の進行度をみると、診断後治療されているにも拘わらず、年齢が高い程視野の進行が進んでいた。従って、加齢により緑内障の病態が進行していることが考えられ、その原因の1つとして、ミトコンドリア DNA の変異が関与していることが考えられた。

## E. 結論

ミトコンドリア DNA の変異は緑内障の発症または進行に関連することが示唆された。今後はこれらの症例は CoQ10 等の電子伝達系の賦活薬の投与が効果的であることが考えられた。

## G. 研究発表

なし

## 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

厚生労働科学研究費補助金（感覚器障害研究事業）  
分担研究報告書

日本人開放隅角緑内障患者における緑内障感受性遺伝子の検索

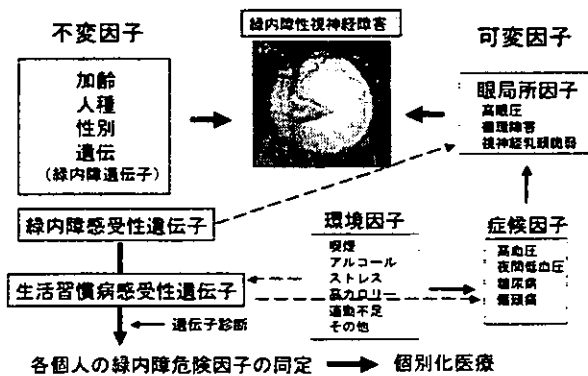
主任研究者 真島 行彦 慶應義塾大学医学部 助教授  
 分担研究者 谷原 秀信 熊本大学医学部眼科 教授  
 堀田 喜裕 浜松医科大学眼科 教授  
 研究協力者 橋爪 公平 慶應義塾大学医学部

研究要旨：緑内障感受性遺伝子多型と原発開放隅角緑内障、正常眼圧緑内障との関連を、Case-control studyにより検討した。対象は、正常対照 232 例、NTG230 例、POAG198 例である。40 遺伝子 66 遺伝子多型を検討した。8 遺伝子 8 多型が緑内障と有意に危険因子として関連していた。

A. 研究目的

緑内障は多因子（多遺伝子）疾患であり、その発症には加齢、環境因子、遺伝的素因等いろいろな因子が関与している。現在、緑内障発症の危険因子として、高眼圧、加齢、人種、近視、糖尿病、心血管障害等生活習慣病や、酸化ストレス、アポトーシス、サイトカイン等が考えられている。緑内障感受性遺伝子多型に関して、既知の遺伝子多型を用いて Case-control association study により明らかにする。

緑内障発症の危険因子



B. 研究方法

対象は、正常対照232例、NTG230例、POAG198例である。検索した緑内障感受性遺伝子多型は、①血管作動性関連系（5 遺伝子 9 SNPs）、②酸化ストレス関連（10 遺伝子 13 SNPs）、③アポトーシス関連（2 遺伝子 2 SNPs）、④動脈硬化関連（2 遺伝子 5 SNPs）、⑤サイトカイン関

連（2 遺伝子 5 SNPs）、⑥加齢関連（2 遺伝子 2 SNPs）、⑦細胞外マトリックス関連（2 遺伝子 3 SNPs）、⑧線溶系（2 遺伝子 2 SNPs）、⑨接着分子関連（1 遺伝子 4 SNPs）、⑩レニン・アンジオテンシン系（7 遺伝子 10 SNPs）である。

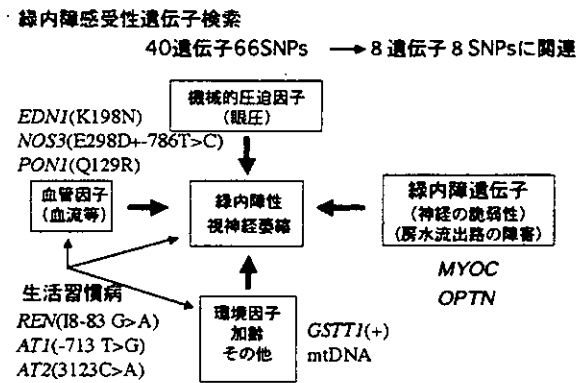
遺伝子解析に関しては倫理委員会の承認を得た。緑内障患者からの血液検体は、本研究の目的、研究対象者に対する人権保護上の配慮、研究方法による研究対象者に対する不利益、危険性の排除を説明し、理解を求めた。その後、患者の同意を得て同意書にサインした後血液を採取し、DNA を抽出した。

方法は PCR-RFLP 法およびインベーター法を用いた。統計解析はカイ二乗検定を行った。

C. 研究結果

①血管作動性関連では、eNOS、エンドセリンに有意差があった。②酸化ストレス関連ではGSTT1多型に有意差があった。③アポトーシス関連では有意差のある多型は無かった。④動脈硬化関連では有意差のある多型は無かった。⑤サイトカイン関連では有意差のある多型は無かった。⑥加齢関連では有意差のある多型は無かった。⑦細胞外マトリックス関連では有意差のある多型は無かった。⑧線溶系では有意差のある多型は無かった。⑨接着分子関連では有意差のある多型は無かった。⑩レニン・アンジオテンシン系ではAT1、AT2、レニンに有意差があった

## 緑内障の危険因子



### D. 考察

今回の検討では、40 遺伝子 66 遺伝子多型を検討し、8 遺伝子 8 多型が緑内障と有意に危険因子として関連していた。種々の緑内障発症の危険因子を遺伝子多型で明らかにすることで、各個人における危険因子を明らかにすることが可能となる。今後は各個人に応じた危険因子を除去することにより、予防法がより効果的に行われる可能性がある。将来行われであろう個別化医療へ向けてのデータの蓄積が重要と思われ、今後も緑内障感受性遺伝子多型の同定を行う必要がある。

### E. 結論

今回の結果から 8 遺伝子 8 多型が緑内障と有意に危険因子として関連していた。今後は更に症例を増やし、大規模スタディを行う。

### F. 健康危険情報

特になし

### G. 研究発表

石川果林、橋爪公平、吉田和秀、谷野富彦、大竹雄一郎、黒坂大次郎、船山智代、真島行彦：緑内障における遺伝子多型の検討 第 10 回日本遺伝子診療学会大会 平成 15 年 7 月 (大阪)

### 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

## インベーター法による解析リスト

遺伝子	多型
APOE	C112R & C158R
APOE	-219G>T
APOE	-419A>T
MTHFR	677C>T
MTHFR	1298A>C
PON1	Leu54Met
PON1	Gln192Arg
PON2	S311C
PAF-AH	V279F
LTA NotI	252A>G
TNFRSF1A	
TNFRSF1B	
ATG	M235T
ATG	T174M
HO-1	-413T>A
END1	Lys198Asn (G>T) (Exon 5)
END1	+138 A Ins/Del (Exon 1)
END1	T4124C(orT8002C) (Intron 4)
EDN1	-1370T>G
EDNRA	-231A>G (Exon 1)
EDNRA	H323
EDNRA	+70C>G
EDNRA	+1222C>T
EDNRB	Leu277Leu (G>A) (Exon 4)
MMP3	5A/6A
MMP2	-1306C>T
MMP1	1G/2G
CNR1	
SELE	1402 C > T
B2R	-58T>C
B2R	R14C (181C>T) (Exon 2)
CD95	-1377G>A
IL-1 $\alpha$	-889C>T
IL-1 $\beta$	-31C>T

厚生労働科学研究費補助金（感覚器障害研究事業）  
分担研究報告書

日本人開放隅角緑内障患者における緑内障感受性遺伝子の検索  
—レニン・アンギオテンシン・アルドステロン系—

主任研究者 真島 行彦 慶應義塾大学医学部 助教授  
分担研究者 谷原 秀信 熊本大学医学部眼科 教授  
堀田 喜裕 浜松医科大学眼科 教授  
研究協力者 橋爪 公平 慶應義塾大学医学部

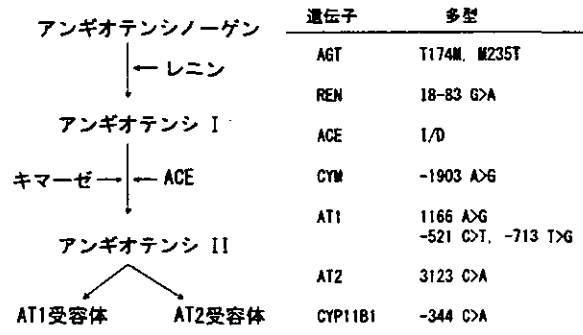
研究要旨：レニン・アンギオテンシン・アルドステロン系の7遺伝子 10多型と開放隅角緑内障、正常眼圧緑内障との関連を、Case-control studyにより検討した。対象は、正常対照 2362例、NTG234例、POAG201例である。開放隅角緑内障においてレニン多型は保護因子、アンギオテンシン II受容体1型多型は危険因子であった。正常眼圧緑内障においてはアンギオテンシン II受容体2型多型が危険因子であった。これらの事実は、広義開放隅角緑内障の発症にはレニン・アンギオテンシン系に関連していることが考えられた。

A. 研究目的

緑内障は多因子（多遺伝子）疾患であり、その発症には加齢、環境因子、遺伝的素因等いろいろな因子が関与している。現在、緑内障発症の危険因子として、高眼圧、加齢、人種、近視、糖尿病、心血管障害が考えられている。レニン・アンギオテンシン・アルドステロン系（RAR系）は、腎および血中を中心とした循環血中RA系に加え、脳、心、血管壁、脂肪組織、眼組織（Wheeler-Schilling TH, et al. Euro J Neuroscience 1999;11:3387）など多くの組織においてRA系の構成要素の存在が確認され、それらの組織特異的な発現調節機構や、組織RA系の動態と種々の循環器疾患との関連が注目されている。

眼組織においても重要な役割をしていることが報告されている。図1にレニン・アンギオテンシン系の概要を示す。この系における7遺伝子10多型に関して緑内障との関連を、Case-control studyにより検討した。

図1 レニン・アンギオテンシン・アルドステロン系



B. 研究方法

対象は、正常対照：236例、NTG：234例、POAG：201例である。

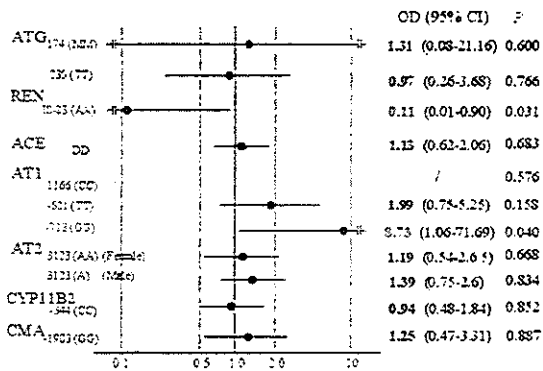
方法はPCR-RFLP法を用いた。AGTの2つのSNPsに関してはインベーター法を用いた。

遺伝子解析に関しては倫理委員会の承認を得た。緑内障患者からの血液検体は、本研究の目的、研究対象者に対する人権保護上の配慮、研究方法による研究対象者に対する不利益、危険性の排除を説明し、理解を求めた。その後、患者の同意を得て同意書にサインした後血液を採取し、DNAを抽出した。

C. 研究結果

## 1) 開放隅角緑内障

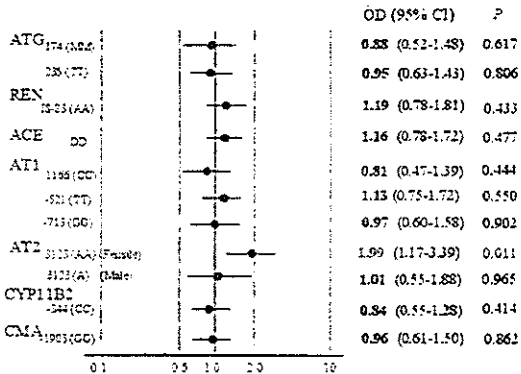
図2 POAG発症と遺伝子多型のオッズ比



レニンの AA 多型は POAG 患者において保護因子であった。アンギオテンシン II 受容体 1 型のプロモーター多型である -713GG は危険因子であった。

## 2) 正常眼圧緑内障

図3 NTG発症と遺伝子多型のオッズ比



アンギオテンシン II 受容体 2 型の AA 多型は女性においては危険因子であった。

## D. 考察

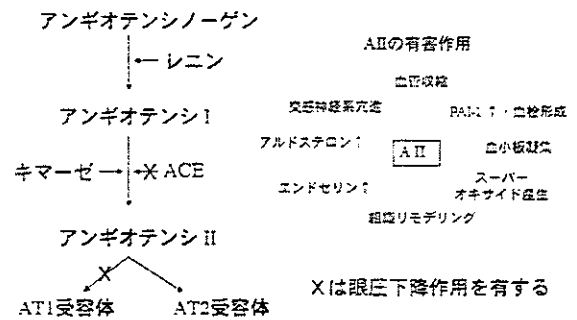
AT1 は毛様体の無色素上皮の表面 (luminal side) に染色される。房水産製の 25% は限外濾過、75% は能動輸送によるが、AT1 拮抗薬の投与により眼圧は下降するので、AT1 は房水産生または分泌に関与していることが考えられる。また、血管系では平滑筋細胞の肥大・遊走・増殖作用があり、PAI-1、eNOS 活性化、スーパーオキシド生成等の作用を有する。一方、AT2 の機能は完全には明らかになっていないが、細胞増殖抑制、アポトーシス誘導、組織線維化抑制、電位依存性 T 型  $Ca^{++}$  電流抑制が報告されている。眼組織での機能は不明

である。

開放隅角緑内障 (最高眼圧 22mmHg 以上) では AT1 との関連から房水動態との関連が想定された。一方、正常眼圧緑内障 (最高眼圧 21mmHg 以下) では AT2 との関連から、神経節細胞における脆弱性との関連が想定された。

アンギオテンシン II は図 4 に示すような有害作用があり、緑内障の発症や進行に関与することが考えられる。ACE 阻害剤や AT1 拮抗剤は眼圧下降作用があり、レニン・アンギオテンシン系は緑内障の発症機序を考える上で今後検討すべき系である。

図4 レニン・アンギオテンシン・アルドステロン系



## E. 結論

今回の結果からレニン・アンギオテンシン系は開放隅角緑内障の発症に何らかの関与が考えられた。今後は更に症例を増やし、大規模スタディを行う。

## F. 健康危険情報

特になし

## G. 研究発表

石川果林、橋爪公平、吉田和秀、谷野富彦、大竹雄一郎、黒坂大次郎、船山智代、真島行彦：緑内障における遺伝子多型の検討 第10回日本遺伝子診療学会大会 平成15年7月 (大阪)

## 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

厚生労働科学研究費補助金（感覚器障害研究事業）  
分担研究報告書

アンギオテンシン II 受容体 1 型拮抗薬と眼圧下降作用の検討

主任研究者 真島 行彦 慶應義塾大学医学部 助教授  
研究協力者 木村 至 慶應義塾大学医学部  
橋爪 公平 慶應義塾大学医学部

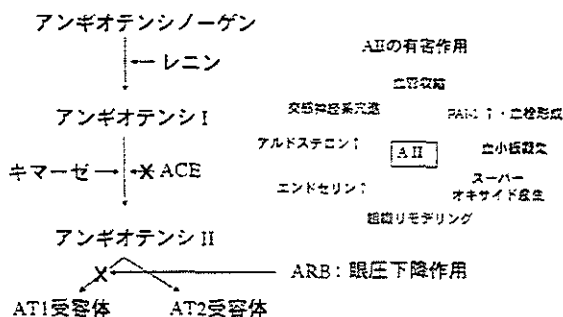
研究要旨：レニン・アンギオテンシン系は、眼組織の毛様体において構成要素の発現が確認されており眼圧動態に重要な役割をしているとされている。アンギオテンシン II 受容体 1 型阻害薬（ARB）は高血圧の治療薬として多くの患者に使用されているが、同時に眼圧も下降させる作用を持つ。今回、正常人 37 名において、カンデサルタン（12mg）内服後経時的に眼圧の変化を検討した。内服 2 時間後より有意に眼圧は下降し、5 時間までその効果は持続した。ARB は新たな眼圧下降剤として期待できる。

A. 研究目的

レニン・アンギオテンシン系（RAR 系）は、腎および血中を中心とした循環血中 RA 系に加え、脳、心、血管壁、脂肪組織、眼組織（Wheeler-Schilling TH, et al. Euro J Neuroscience 1999;11:3387）など多くの組織において RA 系の構成要素の存在が確認され、それらの組織特異的な発現調節機構や、組織 RA 系の動態と種々の循環器疾患との関連が注目されている。

眼組織においても眼圧動態に重要な役割をしていることが報告されている。図 1 にレニン・アンギオテンシン系の概要を示す。

図 1 レニン・アンギオテンシン系



ACE 阻害薬やアンギオテンシン II 受容体 1 型阻害薬（ARB）は高血圧の治療薬として多くの患者に使用されているが、同時に眼圧も下降させる作用を持つ。今回、日本人正常人における眼圧下降作用を検討した。

B. 研究方法

対象は、正常人 37 名である。カンデサルタン（12mg）を内服したが、内服前、1 時間後、2 時間後、3 時間後、4 時間後、5 時間後、6 時間後、24 時間後に眼圧、収縮期圧、拡張期圧、脈拍数を経時的に測定した。

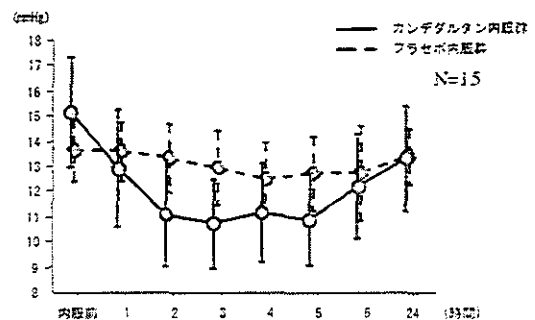
15 名においてはプラセボ（グルコース錠）との比較を行った。

適応外使用に関する内服実験に対して倫理委員会の承認を得た。

C. 研究結果

1) プラセボとの比較（図 2）

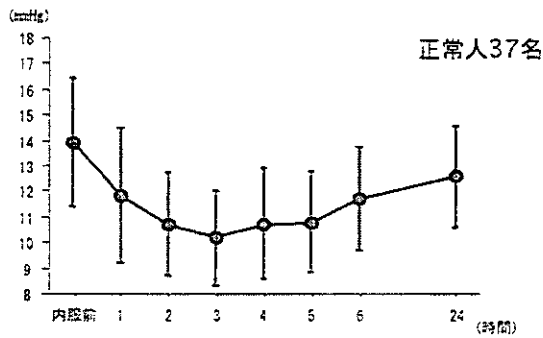
図 2 アンギオテンシン II 受容体拮抗薬（カンデサルタン）内服後の眼圧の推移



プラセボとの比較において、内服 2 時間後より有意に眼圧は下降し、5 時間までその効果は持続した。

2) 37 名正常人での効果（図 3）

図3 アンギオテンシンII受容体拮抗薬  
(カンデサルタン)内服後の眼圧の推移



37名の健常人において、カンデサルタンを内服したが、2時間後より有意の差を持って眼圧は下降し、6時間までその効果は持続した。

図4は図3の個々のデータである。眼圧が十分に下降する人としらない人が観察される。一番眼圧の下降した例は高眼圧症で内服前28mmHgから16mmHgまで下降した。

図4 カンデサルタン内服と眼圧下降量効果

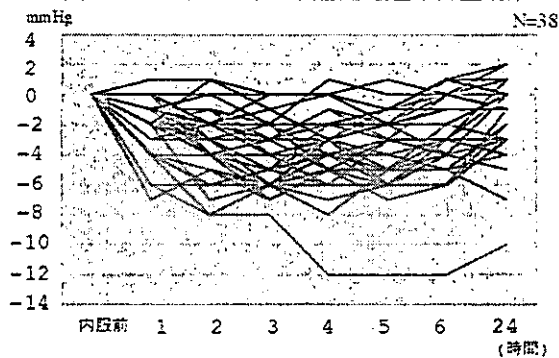
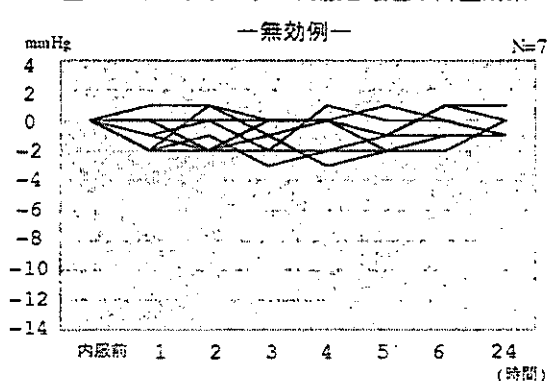


図5に内服無効例7名のデータを示す。

図5 カンデサルタン内服と眼圧下降量効果

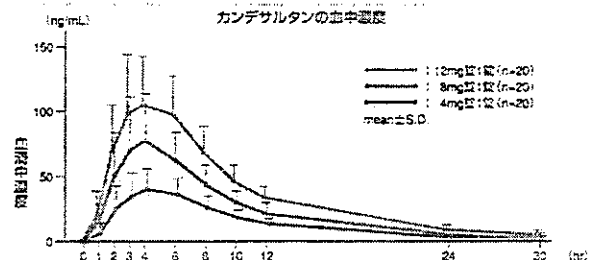


#### D. 考察

AT1は毛様体の無色素上皮の表面 (luminal side) に染色される。房水産製の25%は限外濾過、75%は能動輸送によるが、AT1拮抗薬

の投与により眼圧は下降するので、AT1は房水産生または分泌に関与していることが考えられる。

カンデサルタンは内服後約4時間で最高血中濃度に達する。このデータは図3の眼圧下降の経時変化とほぼ一致した形であることが分かる。眼の還流圧を計算するとほぼ一定なことから、眼圧の変化は血圧の変化に依存していないことが分かる。



また、高血圧患者同様に、眼圧が高い人にはより効果があることが図4から分かる。

#### E. 結論

ARBは新たな眼圧下降剤として期待できる。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

なし

#### 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



厚生労働科学研究費補助金（感覚器障害研究事業）  
分担研究報告書

慶應義塾大学病院における開放隅角緑内障患者の受診機転と視野変化に影響を与える因子  
分担研究者 大竹 雄一郎 慶應義塾大学医学部 講師  
研究協力者 相馬 久美子 慶應義塾大学医学部

研究要旨：慶應義塾大学病院を通院している広義開放隅角緑内障患者を視野変化初期群と進行群の2群に分け受診機転と臨床像について検討した。対象は正常眼圧緑内障患者119例、開放隅角緑内障患者41例である。進行群でも人間ドックや他の検査で、緑内障が疑われた症例が半数を占めていた。正常眼圧緑内障の視野変化初期群は発見時年齢のピークは70歳代であり、異なる病型の存在が示唆された。家族歴の有無は視野変化に影響を及ぼさなかった。緑内障早期発見には人間ドックなどでの眼底検査が重要であることが再認識された。

A. 研究目的

緑内障は失明原因の第2位であり、有病率は加齢と共に上がり40歳以上では5%で推定約300万人以上存在するが、実際に眼科で治療されているのは20%にすぎないとされている。緑内障の初期は自覚症状が乏しいため、偶然の眼底検査や人間ドックや健康診断の眼底写真により疑われることも多い。また、一方では自覚症状が乏しいため、視野欠損がかなり進行してから眼科を受診すること患者も多い。高齢化社会を迎える日本において、患者の視野・視機能の維持のために、より早期の診断、予防、および緑内障の根本的治療が期待されている。自覚症状の乏しい正常眼圧緑内障（NTG）患者および原発開放隅角緑内障（POAG）患者の受診機転および受診時の視野変化に影響を与える因子につきを検討した。

B. 研究方法

対象は、2001年1月1日～2002年12月31日に、慶應義塾大学病院眼科外来を通院中の広義の開放隅角緑内障患者160例（男性72例、女性88例）である。NTG患者は119例（男性52例、女性67例）、POAG患者は41例（男性20例、女性21例）である。

検査方法は、1）当科初診時のゴールドマン動的視野検査結果に従い、①初期群（両眼とも湖崎分類IIb以下）、②進行群（いずれかの眼が湖崎分類IIIa以上）の2群に分けた。2）初診前の眼科受診歴、3）緑内障と診断された時の受診動機、4）診断時年齢、5）

最高眼圧、6）家族歴について診療録を元に比較検討した。

C. 研究結果

1) 初診時の視野変化結果

	初期群	進行群	計
NTG	29例 (24.4%)	90例 (75.6%)	119例
POAG	6例 (14.6%)	35例 (85.6%)	41例

大学病院では進行例が多い。

2) 初診前の眼科受診歴の有無

① NTG 患者

大学病院ではNTGの進行例の紹介が多い。

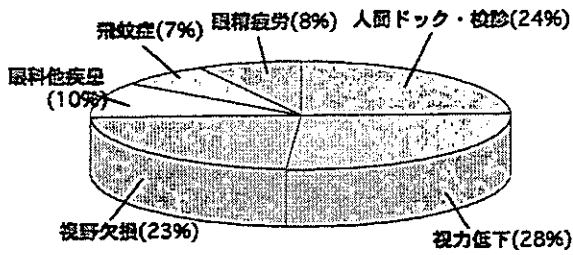
	前医受診歴あり	前医受診歴なし	計
初期群	16例 (55.2%)	13例 (44.8%)	29例
進行群	59例 (65.6%)	31例 (34.4%)	90例
計	75例	44例	119例

② POAG 患者

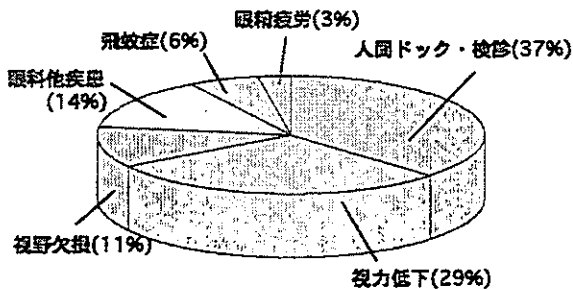
POAGでは必ずしも、大学病院を紹介受診するわけではない。

	前医受診歴あり	前医受診歴なし	計
初期群	1例 (16.7%)	5例 (83.3%)	6例
進行群	18例 (51.4%)	17例 (48.6%)	35例
計	19例	22例	41例

3) 緑内障と診断された時の受診動機  
NTG 進行群 90 例

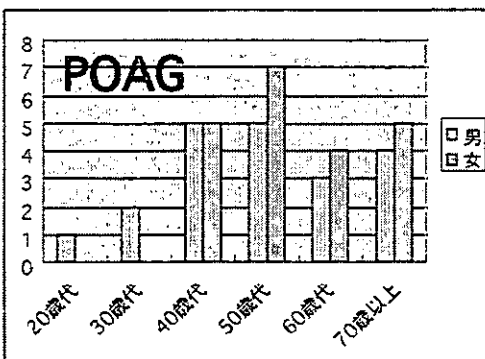
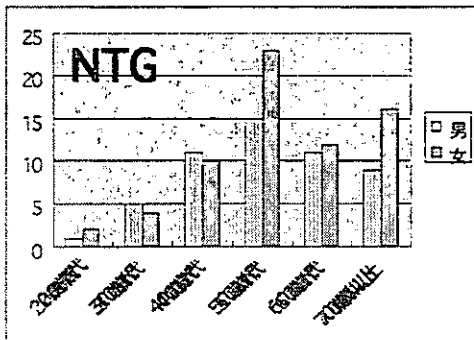


POAG 進行群 35 例



NTG、POAG とも進行例は他の検査で発見される患者が半数を占める。

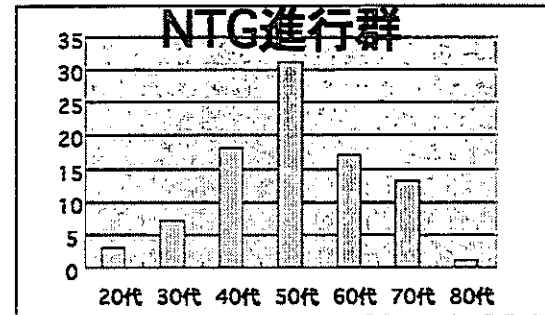
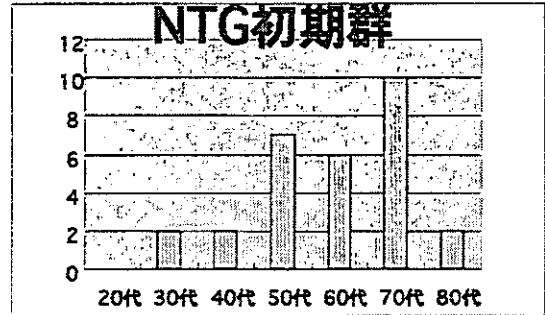
4) 緑内障の診断時年齢



NTG、POAG とも 50 歳代にピークがある。

進行度による診断時年齢

NTG 初期群は進行群より診断時年齢が有意に高かった。t=0.00223 (t 検定)



5) 最高眼圧と初診時の視野変化

NTG	15mmHg以下	16-21mmHg
初期群	11例	18例
進行群	39例	51例

p=0.608

POAG	22-24mmHg	25mmHg以上
初期群	6例	0例
進行群	20例	15例

p=0.051

相関は無かった。

6) 家族歴と初診時の視野変化

NTG	家族歴あり	家族歴なし
初期群	9例	20例
進行群	28例	62例

p=0.593 (X<sup>2</sup>検定)

POAG	家族歴あり	家族歴なし
初期群	3例	3例
進行群	13例	22例

p=0.433 (X<sup>2</sup>検定)

相関は無かった。

D. 考察

緑内障と診断される契機となる眼科受診動

機は、NTG、POAGともに他の眼疾患の症状や不定愁訴によるものが約半数を占めていた。特に人間ドックや検診で視神経乳頭形状の異常を指摘され緑内障が疑われた症例は約30%を占めていた。視野欠損を自覚した症例は1/4程度であることから、緑内障発見のためには検診などによる視神経乳頭評価が重要であると再認識された。

NTG、POAGともに、診断時年齢は40歳以降に多く、受診動機は50歳代にピークを認めた。その中で、NTG初期群の診断時年齢は進行群より有意に高かった。発症時期が遅い病型あるいは進行が遅い病型の存在も示唆された。

今回、初診時の視野変化と最高眼圧や家族歴には有意な相関を認めなかった。症例数が少ないこともあるが、眼圧や家族歴以外の進行要因の存在も考えられた。緑内障の進行速度など長期的な予後について今後検討する必要があると思われた。

#### E. 結論

進行例の緑内障患者の眼科への受診機転は、人間ドックや他の症状で偶然発見された症例が半数を占めていた。家族歴の有無と初診時の視野変化には有意な相関は無かった。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

相馬久美子、大竹雄一郎、石川果林、佐藤裕理、木村 至、谷野富彦、真島行彦、小口芳久：開放隅角緑内障の受診機転および家族歴  
第14回日本緑内障学会 平成15年9月（東京）

#### 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

厚生労働科学研究費補助金（感覚器障害研究事業）  
分担研究報告書

無散瞳眼底写真による緑内障スクリーニング精度と教育効果

分担研究者 大竹 雄一郎 慶應義塾大学医学部 講師  
研究協力者 兼田 英子 慶應義塾大学医学部

研究要旨：緑内障の早期発見を目的とする写真判定スクリーニングの社会的要請は高く、また医療経済的にもその精度が重要である。今回、内科医・眼科研修医・緑内障専門医の眼底写真スクリーニング精度、および眼科研修医に対する教育学習効果について検討した。感度は、内科医で 83.3%と最も高かったが、特異度は緑内障専門医・眼科専門医・研修医・内科医の順であった。感度は、乳頭判定教育を受けた直後に上昇したが、特異度については臨床経験に応じて上昇する傾向にあった。眼底写真判定の緑内障スクリーニング精度および教育効果を判定する上で、デジタルプレゼンテーションを用いたシミュレーションが有用であった。またスクリーニング効率を上げるためには、緑内障専門医による反復教育と臨床経験が重要である。

A. 研究目的

緑内障は失明原因の第2位であり、有病率は加齢と共に上がり40歳以上では5%で推定約300万人以上存在するが、実際に眼科で治療されているのは20%にすぎないとされている。緑内障の初期は自覚症状が乏しいため、偶然の眼底検査や人間ドックや健康診断の眼底写真により疑われることも多い。また、一方では自覚症状が乏しいため、視野欠損がかなり進行してから眼科を受診すること患者も多い。高齢化社会を迎える日本において、患者の視野・視機能の維持のために、より早期の診断、予防、および緑内障の根本的治療が期待されている。緑内障の早期発見を目的とする写真判定スクリーニングの社会的要請は高く、また医療経済的にもその精度が重要である。今回我々は、患者の眼底写真よりデジタルプレゼンテーションを作成し、緑内障スクリーニングシミュレーションを行い、内科医・眼科研修医（2年目）・眼科専門医・緑内障専門医の写真判定スクリーニング精度を比較した。また、本シミュレーションを用いて眼科研修医に対する教育効果について検討した。

B. 研究方法

健診で緑内障を疑われて当科を受診した症例から20眼を選び、眼底写真のデジタルプレゼンテーションを作成した。内訳は、健常眼11眼、正常眼圧緑内障6眼、開放隅角緑内障3眼である。

1) 判定者によるスクリーニング精度の違い

判定者は、緑内障専門医3名、眼科専門医8名、眼科研修医（2年目）13名、内科医6名とし、CRTモニターで眼底写真を最大20秒提示し、各験者に緑内障性変化の有無を判定させ、確定診断と一致する割合、すなわちスクリーニング精度を検討した。

スクリーニング精度の指標として、感度、特異度、陽性尤度比（likelihood ratio）を求めた。陽性尤度比は、感度 / (1 - 特異度) で定義され、スクリーニング後の健常人1人に対する緑内障患者の割合を示す。感度・特異度についてはFisher's exact probability testで統計学的に検討し、 $p < 0.05$ を有意とした。

2) 眼科研修医に対する視神経乳頭判定教育の効果

研修を始めたばかりの眼科研修医10人に対して、3、4、6、7か月目の計4回行い、うち4か月目と7か月目は緑内障専門医による視神経乳頭判定の教育を受けた直後とした。また、判定者は各判定後に正答を知らされていない。統計学的検討はpaired t-testを用い、2群間多重比較であるためにBonferroniの方法による補正を加えて判定した。

研修医の視神経乳頭判定教育は、以下の内容であった。

陥凹と乳頭辺縁部については、血管走行の変化に着目しrimの形状の不規則性、cupの大きさ・形状・C/D比（水平よりも垂直方向

を重視), に注意する。特に視神経乳頭の耳側上下方の象限の rim 変化に注目して緑内障性変化を判定し, 乳頭線条出血, 網膜神経層欠損 (NFLD) と相関していれば緑内障の疑いが強まるとした。

### C. 研究結果

1) 判定者によるスクリーニング精度の違い  
各判定医の判定精度を表 1 に示す。感度には有意差を認めなかったが, 特異度においては内科医と眼科医各群の間で有意差を認めた。また, 緑内障専門医と眼科研修医 (2 年目) の間にも有意差を認めた ( $p < 0.05$ )。内科医では, 感度はやや高いものの特異度が低く, 乳頭陥凹を過大評価する傾向があると考えられた。陽性尤度比は, 緑内障専門医で 12.8 と最も高く, 眼科研修医の 3 倍, 内科医の 6 倍であった。

表1 判定者による精度の差

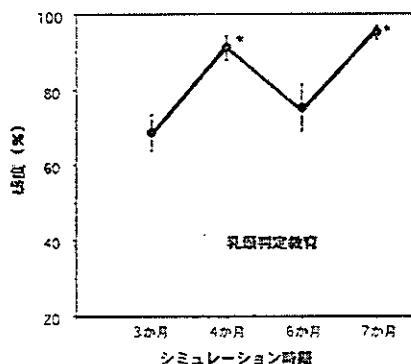
	緑内障専門医	眼科専門医	眼科研修医	内科医
平均正答数	17.3	15.9	15.7	13.7
感度%	77.8	69.4	76.0	83.3
特異度%	93.9**	87.5**	80.4*	56.0
陽性尤度比	12.8	5.5	3.9	1.9

内科医に比べ特異度は有意に高かった (\*\* $P < 0.01$  \* $P < 0.05$ )

### 2) 眼科研修医に対する視神経乳頭判定教育の効果

結果を図 1, 2 に示す。感度, 特異度のいずれにおいても, 全体的に経時的な向上が見られた。特に感度については, 視神経乳頭判定教育を受けた直後 (4 か月, 7 か月) には有意に上昇した (図 1)。

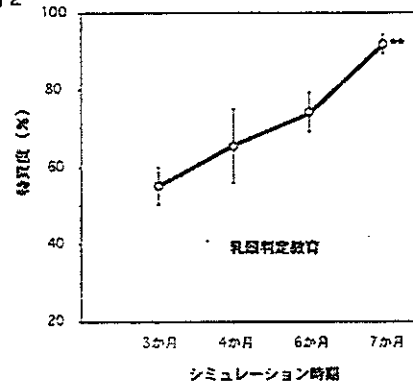
図 1



しかしながら, 特異度に関しては, 1 回の

教育だけではあまり変化なく, 2 回目の教育後, すなわち 7 か月目には有意に上昇した (図 2)。

図 2



最終的には感度 95.6%, 特異度 91.8% となり, 1 年目の眼科研修医でも緑内障専門医とほぼ同等となった。

### D. 考察

緑内障の確定診断には緑内障性乳頭陥凹とそれに相当する視野異常を証明することが不可欠であるが, 1 次スクリーニングとして全例に視野閾値検査を行うことは測定時間が長く不可能である。無散瞳眼底撮影による写真判定は簡便であり, いわゆる人間ドックを含めた 1 次緑内障スクリーニングとして広く普及している。しかし, 現状の問題点として, 眼底写真判定のスクリーニング精度は, 判定医毎の力量に大きく左右されることが挙げられる。今回の検討では, シミュレーションという特殊な状況下ではあるが, 陽性尤度比をみると, 緑内障専門医が最も高く, 眼科専門医, 眼科研修医, 内科医の順であった。以上から, 熟練した眼科医による眼底写真判定が最も妥当なスクリーニング方法であることが確認された。更に, 研修医も的確な教育と臨床経験を積み上げれば, 比較的短期間に緑内障専門医と同等のスクリーニング精度を習得できると考えられた。

### E. 結論

デジタルプレゼンテーションを用いた研修医教育は有用であると考えられる。今後症例数を増やし, 反復自己学習できるような教育用眼底写真シミュレーションの構築を目指したい。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

兼田英子、大竹雄一郎、木村 至、谷野富彦、  
真島行彦、小口芳久：研究医における眼底写  
真判定緑内障スクリーニングの教育効果 第  
107回日本眼科学会総会 平成15年4月

兼田英子、大竹雄一郎、奥田恵美、木村 至、  
谷野富彦、真島行彦、小口芳久：無散瞳眼底  
写真による緑内障スクリーニング精度と教育  
効果 あたらしい眼科 21(2):261-264, 2004.

#### 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

厚生労働科学研究費補助金（感覚器障害研究事業）  
分担研究報告書

眼底写真による緑内障スクリーニング

分担研究者 大竹 雄一郎 慶應義塾大学医学部 講師  
研究協力者 鈴木 浩太郎 慶應義塾大学医学部

研究要旨：緑内障早期発見に対する社会的要請は高く、スクリーニングの重要性は増している。今回我々は、検診方法による緑内障発見の効率について検討した。対象は、平成11年1月～12年12月の2年間に人間ドックまたは企業検診で緑内障疑いを指摘され、慶應義塾大学病院を紹介された85例である。緑内障診断のため当科で諸検査を施行した。1次検診の方法としては、眼底写真判定のみの施設（A群；51例）と眼底写真で疑わしい例には無散瞳下で直像鏡眼底検査を行った施設（B群；34例）があった。両群での緑内障検出効率を、検査後確率と検査後オッズを用いて比較検討した。当科検査後オッズはA群0.46、B群2.4で、オッズ比5.22であった。眼底写真で緑内障が疑われる症例に対しては、直像鏡による視神経評価を加えることで、偽陽性が減少し緑内障の検出効率が高まると考えられた。

A. 研究目的

緑内障は失明原因の第2位であり、有病率は加齢と共に上がり40歳以上では5%で推定約300万人以上存在するが、実際に眼科で治療されているのは20%にすぎないとされている。緑内障の初期は自覚症状が乏しいため、偶然の眼底検査や人間ドックや健康診断の眼底写真により疑われることも多い。また、一方では自覚症状が乏しいため、視野欠損がかなり進行してから眼科を受診すること患者も多い。高齢化社会を迎える日本において、患者の視野・視機能の維持のために、自覚症状に乏しい緑内障の早期発見に対する社会的要請は高く、検診による緑内障スクリーニングの重要性は増している。ドックでは短時間に多くの患者の判定を行わなければならない、無散瞳カメラによる後極部眼底写真を眼科医が読影、診断することが広く行われている。散瞳という患者の負担を軽減できる反面、眼底写真の解像度の限界などの欠点も有している。

今回我々は健康診断で行われている眼底写真による緑内障発見の現状について、検討を試みた。

B. 研究方法

平成11年1月から平成12年12月の間に、人間ドックまたは企業検診で視神経乳頭陥凹を指摘され、緑内障精査目的で慶應義塾大学病院を紹介され受診した85例を対象とした。

年齢は28～74歳、平均50.8±9.9歳であった。眼科検診の方法としては、眼底写真の判定を眼科医が行った施設（A群；51例）と眼底写真で疑わしい例には眼科医が直像鏡にて無散瞳眼底検査を行った施設（B群；34例）があった。1次検診では、視神経乳頭陥凹の拡大Cup/Disc ratio (C/D比) 0.7以上、視神経乳頭辺縁の局所的菲薄化、網膜神経線維層欠損(NFLD)、乳頭出血から、緑内障疑いの有無を判定した。検診総数はA群2500人、B群1351人であった。

当院を受診した患者に対しては、緑内障2次精査として、ゴールドマン圧平眼圧計による眼圧測定、ハンフリー自動視野測定（プログラムC30-2）、散瞳下眼底検査を含む眼科諸検査を施行した。今回の検討では、いわゆる緑内障性乳頭変化とそれに一致する視野変化を認めた場合に、緑内障と診断した。

1次検診方法の異なる2群間で緑内障の検出効率を比較するために、検査後確率と検査後オッズを算出し、統計学的に検討した。それぞれ、検査後確率 = 陽性数 / 全体数、検査後オッズ = 検査後確率 / (1 - 検査後確率) と定義され、検診を施行した後の緑内障患者の割合を反映する。

これらの対象患者の初診時の所見である眼圧、視神経乳頭陥凹、視野異常の有無について、2群間で比較した。眼圧については左右眼のうち高い測定値を採用し、視神経乳頭陥凹については、左右眼のうち陥凹の大きい方

の垂直 C/D 比を採用した。また、初診時の緑内障性視野の進行度は Aulhorn 分類 Greve 変法を用いて評価した。

### C. 研究結果

#### 1) 2次検診後確率および検査後オッズ

2次検診の結果、視野異常を認め緑内障と診断されたのは、A群で51例中16例、B群で34例中24例であり、検査後確率はそれぞれ31.4%、70.6%であった。また、検査後オッズは、眼底写真判定のみのA群で0.46、写真判定に加え眼底観察を行ったB群で2.4であり、両群のオッズ比は5.22であった(表1)。

表1 検診患者における視野異常の割合(検査後確率と検査後オッズ)

	視野異常を認めた症例	検査後確率	検査後オッズ
A群	16例 / 51例	31.4%	0.46
B群	24例 / 34例	70.6%	2.4
全体	40例 / 85例	47.1%	0.89

#### 2) 2次検診後眼圧分布

対象全体の平均眼圧は 16.8 ± 2.4 mm Hg であり、初診時眼圧が 22mmHg 以上であったのは 3例 3.5%のみであった(表2)。

表2 検診患者の眼圧分布

	IOP ≤ 15mmHg	16 ≤ IOP ≤ 21	22mmHg ≤ IOP
A群	23例	27例	1例
B群	12例	20例	2例
全体	35例	47例	3例

#### 3) 2次検診後視神経乳頭陥凹所見

視神経乳頭陥凹は、A群に比べB群で有意に高かった(Mann Whitney's U-test p=0.0012)(表3)。

表3 検診患者の視神経乳頭の陥凹比

	C/D ≤ 0.6	0.6 < C/D ≤ 0.8	0.8 < C/D
A群	23例	15例	13例
B群	4例	16例	14例

一般に C/D 比が 0.7 以上の場合は緑内障疑いとされるが、今回の検討において散瞳下眼底検査にて C/D 比が 0.6 以下であった症例に注目すると、A群で23症例、B群で4症例であった。このうち、ハンフリー視野にて緑内障変化を認めたものはA群では23例中1例のみであり、視野異常はないが眼底検査で緑内障性視神経乳頭陥凹と判定された症例が1例あった。一方、B群4例では乳頭に notching などの局所的变化を有しており、全例で視野異常が検出された。以上のことから、無散瞳眼底写真判定だけでは、乳頭陥凹を過大評価する症例、すなわち偽陽性が多く含まれると考えられた。

#### 4) 2次検診後視野欠損所見

視野欠損を認めた48眼について視野進行度を表4に示す。

表4 視野異常症例の進行度(Aulhorn分類 Greve変法)

Grade	A群	B群	合計
Stage 1	2眼	2眼	4眼
Stage 2	7眼	10眼	17眼
Stage 3	1眼	5眼	6眼
Stage 4	1眼	1眼	2眼
Stage 5	6眼	9眼	15眼
非典型的変化	2眼	2眼	4眼
計	19眼	29眼	48眼

全体では Stage1 が 4 眼、Stage2 が 17 眼、Stage3 が 6 眼、Stage4 が 2 眼、Stage5 が 15 眼 であり、分類不能の非典型的変化が 4 眼 であった。非典型的変化は、近視に伴う斜傾乳頭に合併するものが多かった。Stage3 以上の進行例にもかかわらず、自覚症状のない例が 17 例 23 眼あり、今回の 2 次検診で緑内障と診断された症例うちの 42.5% に相当した。

### D. 考察

緑内障の確定診断には視野異常を証明することが不可欠であるが、1次スクリーニングとして全例に視野検査を行うことは測定時間が長く困難である。

現時点では、緑内障の確実な発見のためには眼底検査、乳頭観察を併せて行う必要がある。



る。そこで、無散瞳眼底撮影による写真判定が簡便であり、いわゆる人間ドックを含めた1次緑内障スクリーニングとして広く普及しているのが現状である。しかし無散瞳眼底写真では乳頭の立体観察ができないために、び慢性の陥凹や乳頭の局所性変化が観察困難なことがある。また、今回の結果では、眼底写真で異常と判定された症例でも、2次検査の結果、視神経乳頭や視野には緑内障性変化を認めなかったものが21例存在し、無散瞳眼底写真の撮影条件によっては乳頭蒼白部が誇張されて、視神経乳頭変化を過大評価してしまう可能性も示唆された。

無散瞳眼底写真判定に加え眼科専門医による無散瞳眼底検査を施行することによって、検査後陽性確率は31.4%から70.6%に上昇し、オッズ比は5.22であった。すなわち写真判定により緑内障が疑われた症例に対しては、直像鏡による乳頭観察を加えるだけで診断効率が向上した。これは、C/D比が0.6以下の偽陽性例が減少し、notchingなどの乳頭局所変化を確認できるために、より特異度が上昇した結果と考えられた。

#### E. 結論

従来の無散瞳眼底写真判定に加え、眼科専門医が直像鏡による視神経乳頭評価を加えることにより、さらに緑内障スクリーニングの診断効率が格段に上昇することが確認された。しかしながら、緑内障スクリーニングのために検診者全員に眼科医が直像鏡検査を行うことは、時間と効率の面からみて現実的ではない。そこで、まず眼底写真判定を行い、疑わしい例には企業診療所などを利用して眼科医が直像鏡にて視神経評価を行うことが、検診効率を高めるために有効であると考えられる。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

鈴木浩太郎、大竹雄一郎、谷野富彦、山田昌和、真島行彦、小口芳久：眼底写真による緑内障スクリーニング 日本眼科紀要 印刷中

#### 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

## 研究成果の刊行に関する一覧表

### 雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
真島行彦	緑内障様視神経障害の病態 遺伝因子. 先端医療シリーズ23・眼科 眼科の最新医療	先端医療技術研究所		153-159	2003
真島行彦	緑内障（特集：眼関連遺伝子—最近の知見と今後の展望）	眼科	45	1927-1935	2003
石川果林、谷野富彦、大竹雄一郎、木村 至、宮田 博、真島行彦	正常眼圧緑内障における最高眼圧の違いによる視野・乳頭形態の比較	日本眼科臨床医報	107	433-439	2003
岩田 岳、真島行彦	インベーター法を用いた緑内障の遺伝子解析	実験医学 Bio Medical Quick Review Ne		No. 4001	2004
真島行彦	正常眼圧緑内障と遺伝子診断（眼科医の手引き569）	日本の眼科	75	36	2004
兼田英子、大竹雄一郎、奥田恵美、木村 至、谷野富彦、真島行彦、小口芳久	無散瞳眼底写真による緑内障スクリーニング精度と教育効果	あたらしい眼科	21	261-264	2004

佐藤裕理、谷野富彦、大竹雄一郎、木村 至、宮田 博、真島行彦、小口芳久	慶應義塾大学病院における正常眼圧緑内障患者の受診機転.	あたらしい眼科	21	405-408	2004
鈴木浩太郎、大竹雄一郎、谷野富彦、山田昌和、真島行彦、小口芳久	眼底写真による緑内障スクリーニング	日本眼科紀要	印刷中		2004
Izumi K, Mashima Y, Obazawa M, Ohtake Y, Tanino T, Miyata H, Tanaka Y, Iwata T	Variants of myocilin gene in Japanese patients with normal tension glaucoma.	Ophthalmic Res	35	345-350	2003
Mashima Y, Nagano M, Funayama T, Zhang Q, Egashira T, Kudoh J, Shimizu N, Oguchi Y	Rapid quantification of the heteroplasmy of mutant mitochondrial DNAs in Leber's hereditary optic neuropathy using the Invader technology.	Clin Biochem	37	268-276	2004
Ishikawa K, Funayama T, Ohtake, Y Tanino T, Kurosaka D, Kimura I, Suzuki K, Ideta H, Fujumaki T, Tanihara H, Asaoka R, Naoi N, Yasuda N, Iwata T, Mashima Y	A novel <i>MYOC</i> gene mutation, Phe369Leu in Japanese patients with primary open-angle glaucoma detected by denaturing high-performance liquid chromatography.	J Glaucoma			in press

Obazawa M, Mashima Y, Sanuki N, Noda S, Kudoh J, Shimizu N, Oguchi Y, Tanaka Y, Iwata T	Comparable analysis of porcine optineurin and myocilin expression in trabecular meshwork cells and astrocytes from optic nerve head.	Invest Ophthalmol Vis Sci			in press