

15. 網膜色素変性全原因遺伝子遺伝子スクリーニングシステムの導入

万代道子¹⁾、小杉眞司²⁾、平見恭彦¹⁾、横田友子¹⁾、高橋政代¹⁾

(¹⁾ 都大探索医療センター、²⁾ 京都大遺伝子診療部)

研究要旨 網膜色素変性は視細胞や色素上皮細胞のさまざまな遺伝子異常を原因として発病し、その病型から原因遺伝子を判断することは困難である。将来的な遺伝子治療や再生医療の発展に伴い疾患の原因遺伝子や細胞を同定することは不可欠となる。京大病院眼科では病院遺伝子診療部と連携して変性 HPLC 法を用いて現在までに報告されている網膜色素変性原因遺伝子の既知の部位すべてについてのスクリーニングシステムを立ち上げ、効率、コスト面で実用的なシステムと思われたので報告する。

A. 研究目的

網膜色素変性は視細胞や色素上皮細胞のさまざまな遺伝子異常を原因として発病し、現在までに30の遺伝子が同定されている。網膜色素変性は病型から原因遺伝子を判断することは困難であるが、将来的な遺伝子治療や再生医療の発展に伴い疾患の原因遺伝子やその局在する細胞を患者毎に同定することは今後不可欠となる。京大病院眼科では病院遺伝子診療部と連携して昨年末までに同疾患の原因遺伝子として報告されている全29遺伝子についての診断スクリーニングシステムを立ち上げたので、その効率、実用性などについて検討した。

B. 研究方法

スクリーニング対象遺伝子は RetNet (<http://www.sph.uth.tmc.edu/Retnet>) に網膜色素変性原因遺伝子として掲載されているすべての遺伝子とした。スクリーニングは主にエキソンごとに行うが、まずはこれまでに疾患の原因として報告されている遺伝子変異を含むすべてのエキソンをスクリーニング対象部位とした。スクリーニン

グ部位は PCR にて増幅し必要に応じ複数検体の DNA を混合することによって d-HPLC(Wave システム、トランスジェノミック社)を用いて遺伝子配列のミスマッチを検出する方法を採用した。検査を簡易化するためにすべての PCR 条件は統一し、そのまま同一チューブまたはプレートにて HPLC 解析を行うようにした。対象部位は常染色体優性遺伝子(AD)12 遺伝子 24 箇所、常染色体劣性遺伝子(AR)16 遺伝子 64 箇所、伴性劣性(XR) 2 遺伝子 22 箇所である。スクリーニング対象患者は遺伝型の不明なもの、孤発例も含め検査協力に同意をえられたすべての色素変性患者とした。PCR 産物は優性遺伝子のスクリーニングでは患者1人ずつ、劣性遺伝子のスクリーニングでは複数患者の DNA をミックスした上でヘテロデュプレックス反応を行い、塩基配列の不一致を HPLC 上で検出、何らかの波形変化がみられたものはシーケンスにて確認をおこなった。

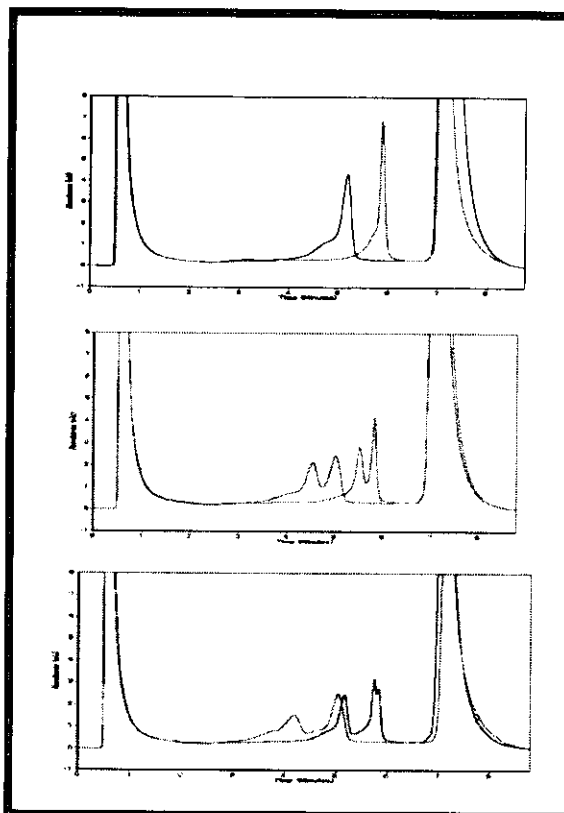
(倫理面への配慮)

遺伝子診断をはじめるとあたって京大病院

の眼科と遺伝子診療部で提携し、患者検体は連結可能匿名化して扱い、患者のプライバシーは厳守することとして京大病院の倫理委員会の承認を得た。患者には検査の意図と内容を十分に説明し、同意を得た上で採血を行い、患者の要請があれば遺伝カウンセリングなども随時応じる体勢で行っている。

C. 研究結果

PCR 増幅反応は RPGR の 1 箇所を除いてすべて統一することが可能であった。このスクリーニングにかかるランニングコストは全スクリーニングを行っても 1 検体 22000 円、シークエンスは両側から確認して 1 ケ所につき 750 円と無理のないものと思われた。予備実験として既知の遺伝子異常を人工的に挿入した変異体クローンを作成し Wt クローンと混合し d-HPLC 解析を行ったところ Wave システムにて解析を行った 27 クローン全てにおいて何らかの波形変化を検出することができた。また正常者 19 検体の DNA を混合して解析をおこなったところ明らかな波形変化のみられた 11 部位についてはいずれもシークエンスにて major SNP が検出された。これまでに患者 25 検体スクリーニングを行い、わずかでも波形変化の疑われたものを含むと全解析中 24% で、そのうちシークエンスにより半分は擬陽性であった。何らかの遺伝子変異のみられたものではほとんどはイントロン部の変異、もしくはアミノ酸置換を伴わない変異であったが、4 ケ所アミノ酸置換を伴う変異が検出され、今後家族などについて調査予定である。



Wave 解析による色素変性患者 Rho 遺伝子異常検出例

上 : 5145G/G 中 : 5145G/C (SNP)

下 : 5208 4bpdeletion+Wt

D. 考察

今回 Wave システムを用いての遺伝子スクリーニングのシステムを京大病院においてたちあげたが、効率、費用ともに妥当なものと思われた。今後スクリーニングをすすめることにより、患者毎の遺伝子診断を効率的に行うと共に、遺伝型不明例の遺伝的背景や新たな遺伝子部位の異常などについても検討できればと思っている。

E. 結論

変性 HPLC 法による網膜色素変性原因遺伝子スクリーニングはコスト、効率面で有用と思われた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

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

I. 参考文献

1. Nickerson, M.L., Weirich, G., Zbar, B., and Schmidt, L.S. Signature-based analysis of MET proto-oncogene mutations using DHPLC. *Hum Mutat.* 16: 68-76, 2000.

2. Prasad S, Kolln KA, Cucci RA, Trembath RC, Van Camp G, Smith RJ. Pendred syndrome and DFNB4-mutation screening of SLC26A4 by denaturing high-performance liquid chromatography and the identification of eleven novel mutations. *Am J Med Genet.* 124A: 1-9, 2004.

16. 日本人常染色体優性網膜色素変性の分子遺伝学的検討

および簡便な変異解析システムの試み

和田裕子¹⁾、板橋俊隆¹⁾、佐藤 肇¹⁾、川村后幸¹⁾、野田佳宏²⁾

中村 誠³⁾、多田麻子¹⁾、石橋達朗²⁾ 玉井 信¹⁾

(¹⁾ 東北大、²⁾ 九州大、³⁾ 名古屋大)

研究要旨 現在までに、11種類の常染色体優性網膜色素変性の原因遺伝子が報告されている。我々は、日本人常染色体優性網膜色素変性96家系において11種類の原因遺伝子異常の種類、頻度を検討した。我々の解析結果から21%に原因遺伝子異常を同定し、その頻度、種類は欧米諸国とは著しく異なることを示した。さらにこれらの遺伝子解析結果を基に、データベースを作製し、簡便にかつ効率的に遺伝子変異の有無を検索できるシステムを作製した。今後より多くの患者に多施設で変異の有無の解析が可能になると考えられる。

A. 研究目的

現在までに10種類の常染色体優性網膜色素変性(ADRP)の候補遺伝子が(*Rodopsin, Peripherin/RDS, ROM1, RPI, CRX, NRL, FSCN2, PRPF31, PRPC8, HPRP3, IMPDH1*)報告されている。我々は、*ROM1* 遺伝子を除く10種類の候補遺伝子を用いて解析し、日本人ADRPにおける各遺伝子変異の頻度、種類を検討しその結果を基に、簡便かつ効率的な変異解析システムを検討する事を目的とした。

B. 研究方法

日本人ADRP96家系を対象に、末梢血白血球からDNAを抽出した。10種類の候補遺伝子に対して全ての翻訳領域をスクリーニングする為にプライマーをデザインし、PCR-Direct sequence法により塩基配列の決定を施行した。遺伝子異常が認められた家系では可能な限り臨床像との連鎖を確認した。

眼科的検査は、矯正視力、屈折、動的量的視野、細隙灯顕微鏡、眼底検査、蛍光眼底造影検査、網膜電図を施行した。

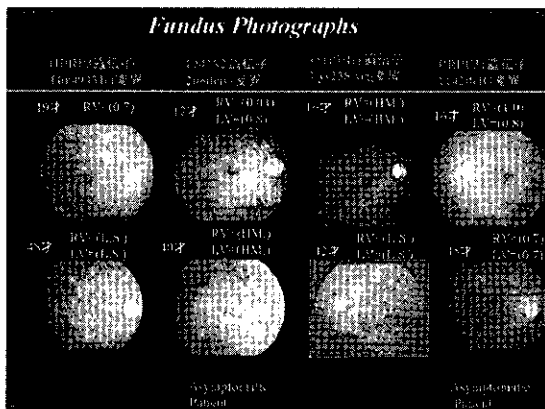
(倫理面への配慮)

遺伝子解析に関し、東北大学倫理委員会承認を得た書面によるインフォームドコンセントを得ている。

C. 研究結果

日本人ADRP96人中20家系に遺伝子変異を認め、頻度は*Rodopsin*;4%、*Peripherin/RDS*;5%、*RPI*;1%、*FSCN2*;4%、*PRPF31*;4%、*HPRP3*;1%、*IMPDH1*;2%であった。*PRPC8*、*NRL* 遺伝子異常は、我々の患者には認めなかった。海外と日本人に共通に認められる遺伝子異常は、*Rhodopsin* 遺伝子、Glu181Lys、Ser127Phe、Pro347Leu 変異、*HPRP3* 遺伝子、Thr494Met 変異、*PRPF31* 遺伝子、IVS6-3to45del 変異の5種類で他の変異はす

べて新規変異であった。今回確認した変異に加え、海外で報告されている主な遺伝子変異も一度にスクリーニングする為、温度条件が一定になるようにプライマーをデザインし、プレートを作成した。



遺伝子変異の認められた家系の網膜色素変性患者の眼底写真

D. 考察

我々の解析結果より、日本人と欧米諸国の遺伝子異常の種類、頻度は異なり、日本人患者は固有の遺伝子異常を持っている可能性が示唆された。また、80%は原因遺伝子異常を確認出来ず、今後連鎖解析を用いての未報告の原因遺伝子の同定が重要になるとと思われる。臨床像は、*PRPF31*, *FSCN2* 遺伝子異常をもつ患者では、“Asymptomatic Patient”が存在し、臨床像から原因遺伝子を検討する上での1つのメルクマールになると考えられる。

E. 結論

我々は日本人 ADRP 患者 21%に原因遺伝子異常を同定し、遺伝子異常には人種差がある事を示した。さらに今回のスクリーニングの結果を基に作成したプレートを使用する事により、いちどに常染色体優性網膜色素変性の変異を解析するシステムを作成した。今後、多くの

患者に対して効率的かつ迅速に変異の有無を確認できると考えられる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Kawamura M, Wada Y, Noda Y, Itabashi T, Ogawa S, Sato H, Tanaka K, Ishibashi T, Tamai M. Novel 2336-2337delCT Mutation in RP1 gene in a Japanese family with autosomal dominant retinitis pigmentosa Am J Ophthalmol(in press)
2. Wada Y, Abe T, Itabashi T, Sato H, Kawamura M, Tamai M. Autosomal Dominant Macular Degeneration Associated with 208delG Mutation in FSCN2 Gene”. Arch Ophthalmol 120:1613-1620,2003.
3. Itabashi T, Wada Y, Sato H, Kunikata H, Tamai M. Ocular Findings in a Japanese Family with an Arg41Trp Mutation of CRX gene.

4. 総説

和田裕子、玉井信

日本人常染色体優性網膜色素変性の分子遺伝学的検討 日本眼科学会雑誌 107:687-694,2003

2. 学会発表

1. 和田裕子: 遺伝性網膜変性疾患における遺伝子診断の役割と今後の展望 第107回日本眼科学会総会、福岡市 シンポジウム

2. 和田裕子他 日本人常染色体優性網膜色素変性症の遺伝子変異解析及び臨床像の検討第 57 回日本臨床眼科学会, 名古屋市, 2003

3. Y.Wada, T.L. McGee, M.A. Stillberger, M.A. Sandberg, E.L. Berson, T.P. Dryja. Mutation Survey of the IMPDH1 Gene in Patients With Autosomal Dominant Retinitis Pigmentosa and Review of the Clinical Findings Associated With IMPDH1 Mutations 2003 ARVO, Florida

genes, implicated in autosomal dominant retinitis pigmentosa. *Hum Mol Genet.*11:87-92, 2002.

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

I. 参考文献

1. Wada Y, Abe T, Takeshita T, Sato T, Tamai M. Mutation of human retinal fascin gene (FSCN2) causes autosomal dominant retinitis pigmentosa. *Invest Ophthalmol Vis Sci.*42:2395-410, 2001.
2. Vithana EN et al. A human homolog of yeast pre-mRNA splicing gene, PRP31, underlies autosomal dominant retinitis pigmentosa on chromosome 19q13.4 (RP11). *Mol Cell.* 8: 375-81, 2001.
3. Chakarova CF, Hims MM, Bolz H, et al. Mutations in HPRP3, a third member of pre-mRNA splicing factor

17. 日本人常染色体優性網膜色素変性患者における

PRPF31 遺伝子変異

佐藤 肇¹⁾、和田裕子¹⁾、板橋俊隆¹⁾、中村 誠²⁾、川村后幸¹⁾、玉井 信¹⁾
(¹⁾ 東北大、²⁾ 名古屋大)

研究要旨 日本人常染色体優性網膜色素変性患者において *PRPF31* 遺伝子変異を同定した。1142delG 変異と 1155-1159delGGACG/insAGGGATT 変異は新規の遺伝子変異であり、IVS6・3 to・45 del 変異は既に報告されているものであった。臨床像は、典型的な網膜色素変性を呈していたが、1142delG 変異を認めた家系と 1155-1159delGGACG/insAGGGATT 変異を認めた家系に無症候性キャリアが存在した。今回の解析結果から、日本人の常染色体優性網膜色素変性患者における *PRPF31* 遺伝子変異の頻度は約 4%と推定されるが、無症候性キャリアの存在を念頭に置く必要があると考えられた。

A. 研究目的

酵母の pre-mRNA スプライシング遺伝子 *PRP31* のヒトホモログである *PRPF31* 遺伝子が常染色体優性網膜色素変性の原因遺伝子であることが 2001 年に Vithana E.らによって報告された。今回我々は、日本人常染色体優性網膜色素変性患者において *PRPF31* 遺伝子変異を同定し、その頻度を検討し、臨床像と遺伝子変異の相関をみることを目的とした。

B. 研究方法

常染色体優性網膜色素変性 96 家系を対象に、末梢血白血球から抽出した DNA を鋳型にし、*PRPF31* 遺伝子の全エクソンとその近傍のイントロンの塩基配列を PCR 法で増幅した。PCR 産物を用いて直接塩基配列を決定した。遺伝子変異を有する患者の家系調査を可能な限り行った。眼科的検査は、矯正視力、屈折、動的量的視野、細隙

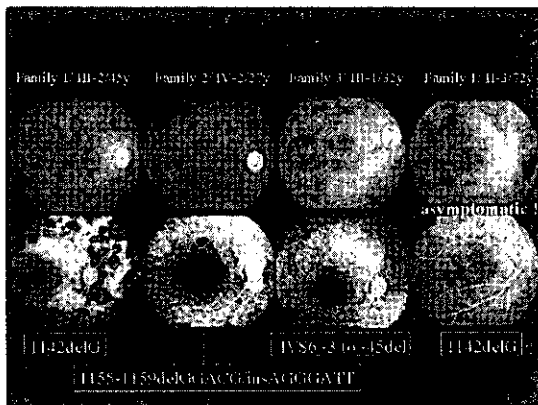
灯顕微鏡、眼底検査、蛍光眼底造影検査、網膜電図を施行した。

(倫理面への配慮)

遺伝子解析に関して書面によるインフォームドコンセントを得ている。

C. 研究結果

96 家系中、1142delG 変異を 1 家系、1155-1159delGGACG/insAGGGATT 変異を 1 家系、IVS6・3 to・45 del 変異を 1 家系に認めた。1142delG 変異と 1155-1159delGGACG/insAGGGATT 変異は新規の変異であった。*PRPF31* 遺伝子異常によって生じる臨床像は多様であり、2 人の無症候性キャリアーが存在した。



PRPF31 遺伝子変異の認められた網膜色素変性患者の眼底写真と蛍光眼底造影写真

D. 考察

日本人の中にも *PRPF31* 遺伝子変異が原因で常染色体優性網膜色素変性が生じることが確認できた。新規の遺伝子変異2種類を含み同定した遺伝子変異は塩基配列の欠出や挿入であり、これまでの報告と同様であった。同じ遺伝子変異を有していても表現型が軽度で臨床症状がない無症候性キャリアに関しては、wild-type allele の発現量の違いによるのではないかということが2003年に Vithana E.らによって示唆されている。wild-type allele の発現制御機構を同定することは、予後や遺伝カウンセリングの際に重要な意義をなし、また変性の進行を抑える治療法の開発につながる可能性がある。

E. 結論

日本人の常染色体優性網膜色素変性患者にも *PRPF31* 遺伝子変異を確認し、その頻度は約4%と考えられた。しかし、無症候性キャリアーが存在することを念頭に置く必要がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

投稿中

2. 学会発表

佐藤 肇 他：日本人常染色体優性網膜色素変性患者における *PRPF31* 遺伝子変異。第57回日本臨床眼科学会，名古屋市，2003

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

I. 参考文献

- Vithana EN et al. A human homolog of yeast pre-mRNA splicing gene, *PRPF31*, underlies autosomal dominant retinitis pigmentosa on chromosome 19q13.4 (RP11). *Mol Cell*. 8:375-81, 2001.
- Martinez-Gimeno M, et al. Mutations in the pre-mRNA splicing-factor genes *PRPF3*, *PRPF8*, and *PRPF31* in Spanish families with autosomal dominant retinitis pigmentosa. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 44: 2171-7, 2003.
- Wang L, et al. Novel deletion in the pre-mRNA splicing gene *PRPF31* causes autosomal dominant retinitis pigmentosa in a large Chinese family.

Am J Med Genet. 121: 235-9, 2003.

4. Vithana EN, et al. Expression of PRPF31 mRNA in patients with autosomal dominant retinitis pigmentosa: a molecular clue for incomplete penetrance? *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 44: 4204-9, 2003.

18. 白内障術後の視力改善に伴い言葉の識別能力の改善を認めた 2 症例

板橋俊隆¹⁾、和田裕子¹⁾、川瀬哲明²⁾、佐藤 肇¹⁾、川村后幸¹⁾、玉井 信¹⁾

(¹⁾ 東北大、²⁾ 東北大耳鼻咽喉科)

研究要旨 現在、言葉の識別には視覚と聴覚が関与している事が分かってきている。我々は網膜色素変性患者において、白内障手術を施行した 1 症例と、収縮した前嚢を切開した 1 症例について、術前後で視力改善に伴い言葉の識別能力の改善を認めたので報告する。白内障手術及び前嚢切開手術の術前後で視力と言葉の検査を施行し、視力変化に伴う言葉の識別能力を評価した。症例 1 : 65 才女性。1994 年当科初診し、網膜色素変性及び白内障の診断で通院中。左眼白内障の進行を認め、2001 年 9 月に左眼の水晶体超音波吸引術、眼内レンズ挿入術を施行した。その後前嚢が収縮し、2001 年 12 月再来時には白内障手術時に切開した前嚢は完全に閉鎖したため、2002 年 2 月、前嚢切開術を施行した。術前左視力は (0.03) で、術後は (0.6) と改善を認め、言葉の検査結果も術前 44% から術後 56% と改善を認めた。症例 2 : 58 才男性。2001 年 6 月当科初診し、網膜色素変性及び白内障の診断で通院中。両眼白内障の進行を認め 2002 年 2 月、両眼の水晶体超音波吸引術、眼内レンズ挿入術を施行した。術前視力は右 (0.08) 左 (0.09) で、術後視力は右 (0.7) 左 (1.0) と改善を認め、言葉の検査結果も 48% から 74% と改善した。視力の改善に伴い言葉の識別能力も改善することが分かった。言葉の識別には、聴覚以外に視覚情報が必要であると考えられた。また視覚情報としては視力以外に視野が関与していると考えられた。

A. 研究目的

日常会話上、言葉の識別には聴覚のみならず視覚が関与していると考えられている。ヒトがコミュニケーションを得る場合には、聴覚のみでは聞き取りが困難な言葉も、顔の表情や口唇の動きにより補助され認識している。今回我々は、白内障手術による視力改善に伴う言葉の識別能力の変化を、網膜色素変性患者で検討し、その変化を数値化して示す事を目的とした。

B. 研究方法

視覚情報を提示した言葉の検査は、劣化音声を用いた単音節 50 音による語音明瞭検査を施行した。劣化音声は、1kHz 以上の成

分をフィルターを用いてカットした音声であり、単音節 50 音は聴覚医学会で選定されている 67 式の 50 音である。ヒトの顔面が映し出された 27 インチのビデオモニターを 2.5 メートル離れて眺めながら、モニター内のアナウンサーが発声する単音節がどのように聞こえたかを検査し、その正答率を%で示した。

始めに、正常者 4 名に対して凸レンズもしくは凹レンズを使用した過矯正を行い人工的に視力を低下させ、視覚情報を提示した言葉の検査を施行した。この検査にて任意の視力における視覚利用の効率を検討した。その後、対象 2 症例の術前術後の視力改善に伴う言葉の識別能力の変化について検討

した。対象は白内障手術を施行した網膜色素変性の2症例で、術前に聴力検査にて高度の難聴を認めない事を確認した。

手術前には、矯正視力検査、聴力検査、視覚情報を提示した言葉の検査を施行し、術後にも、矯正視力検査、視覚情報を提示した言葉の検査を施行した。

C. 研究結果

任意の視力において視覚情報を提示した言葉の検査を行った結果、0.3以上の視力で視覚利用の効率が十分であった(図1)。

症例1:65才女性。1994年当科初診し、網膜色素変性及び白内障の診断で通院加療中。両眼網膜色素変性により視野狭窄を来していた(図2)。左眼白内障の進行を認め、左視力(0.1)と低下したため2001年9月、左眼の水晶体超音波吸引術、眼内レンズ挿入術を施行した。術直後には左視力(0.3)と改善を認めたが、その後前嚢が収縮し、2001年12月、白内障手術時に切開した前嚢は完全に閉鎖したため、2002年2月、前嚢切開術を施行した。術前左視力は(0.03)で、術後は(0.6)と改善を認めた。視覚情報を提示した言葉の検査の結果も術前44%から術後56%と改善を認めた(図3)。

症例2:58才男性。2001年6月当科初診し、網膜色素変性及び白内障の診断で通院中。両眼網膜色素変性により視野狭窄を来していた(図2)両眼白内障の進行を認め2002年2月、両眼の水晶体超音波吸引術、眼内レンズ挿入術を施行した。術前視力は右(0.08)左(0.09)で、術後視力は右(0.7)左(1.0)と改善を認め、視覚情報を提示した言葉の検査の結果も48%から74%と改善した(図3)。

D. 考察

白内障手術による視力改善に伴い、言葉の識別能力が改善する事を確認した。すなわち、言葉の聞き取りを行うには視覚情報(口唇の動き)の補助が重要であると考えられた。

今回の2症例が、術後に0.3以上の視力に改善したにもかかわらず、正常者に比べ視覚利用の効率が低下していたのは、網膜色素変性による視野狭窄が関与しているのではないかと考えられた。

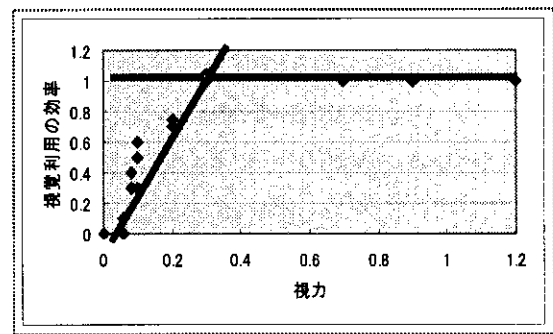


図1: 任意の視力における視覚利用の効率

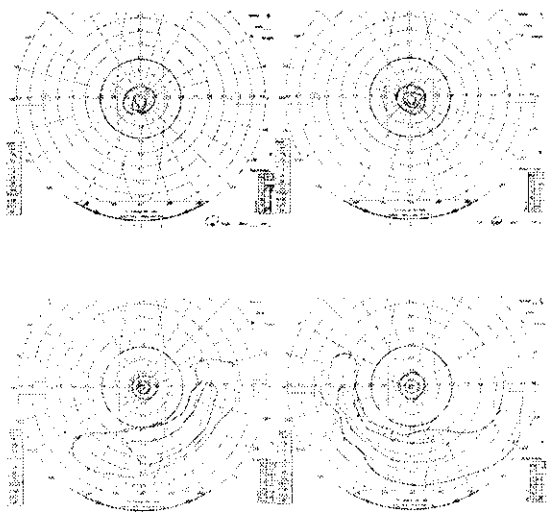


図2: ゴールドマン視野(上: 症例1 下: 症例2)

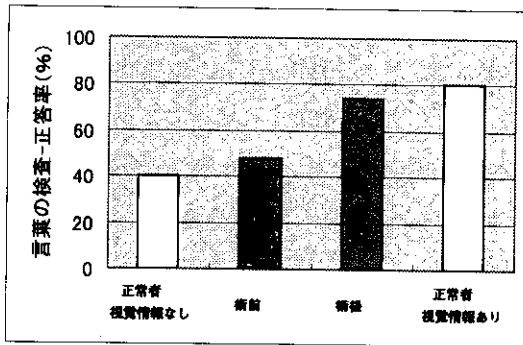
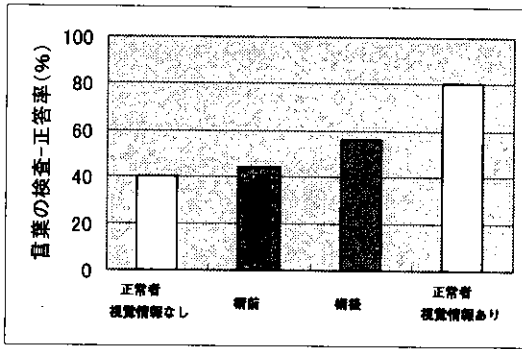


図 3：視覚情報を提示した言葉の検査の結果（上：症例1 下：症例2）

E. 結論

視力が 0.3 以上であれば、ヒトが言葉の識別に必要な視覚情報を得られることを確認した。

ヒトが言葉の識別を行う際に必要とする視覚情報には視力だけでなく視野も関係することが分かった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

板橋俊隆 他：白内障術後の視力改善に伴い言葉の識別能力の上昇を認めた網膜色素

変性の2症例. 第42回日本網膜硝子体学会
総会, 福岡市, 2004

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

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

1. 参考文献

なし

19. 抗網膜抗体を有する網膜症の2例

多田麻子、和田裕子、菅野江里子、板橋俊隆、佐藤 肇、中村政彦、玉井 信
(東北大)

研究要旨 我々は網膜自己抗体を有する網膜症を2例経験した。症例1の眼底では、血管に沿った色素沈着が見られ、症例2では色素沈着は症例1より軽度だったが、視力は症例1より低下していた。これまでの報告では Autoimmune Retinopathy の眼底は色素が全く見られないか、あってもごく軽度であるとされており、Autoimmune Retinopathy の表現型の多様性が認められた。ウェスタンブロット法にて、症例1では40kd付近および20~30kd付近に、症例2では20~30kd付近に抗網膜抗体を認めた。40kd付近の血清抗体は Heckenlively らの報告などで多く見られる抗リカバリン抗体と異なる。今回の症例より、孤発例の網膜色素変性では自己抗体の検索も重要であると考えられた。

A. 研究目的

2000年、Heckenlivelyらは521人の孤発性網膜色素変性患者の抗網膜抗体を検索し、10人に抗リカバリン抗体を確認したと報告した。我々は今回、抗リカバリン抗体とは異なる抗網膜抗体を有する網膜症を経験し、その臨床像の特徴および経過を探ることを目的とした。

B. 研究方法

患者から血清を採取し、ウェスタンブロット法にて網膜自己抗体の解析を行った。眼科的検索は、矯正視力、細隙灯顕微鏡検査、眼底検査、蛍光眼底造影、ゴールドマン動量的視野、LoVE、網膜電位図、視覚誘発電位を可能な限り行った。

(倫理面への配慮)

患者にインフォームドコンセントを得た後に網膜自己抗体の解析を行った。

C. 研究結果

例1: 47歳男性。12年前から下方視野欠損を自覚。1995年、視力は右眼(1.2)左眼(1.2)で眼底所見より網膜色素変性と診断された。2003年1月より急激な視力低下を自覚し当科受診。当科初診時の視力は右眼(0.4)左眼(0.3)、高度の求心性視野狭窄を認め、網膜電位図は全て non-recordable であった。眼底は網膜が粗造で、血管に沿う色素沈着をみとめた。

症例2: 54歳男性。12年前にペニシリンによる薬疹を契機に両眼の視力低下を自覚し、網膜色素変性と診断された。当時の視力は右眼(0.8)左眼(0.8)。1999年当科初診時の視力は右眼(指数弁)左眼(指数弁)、高度の求心性視野狭窄を認め、網膜電位図は全て non-recordable であった。眼底は網膜が粗造で、周辺部に色素沈着を認めた。ウェスタンブロット法にて、症例1では40kd付近につよいシグナルおよび20~30kd付近に正常では見られないバンドを、症例2では、20~30kd付近に正常では見ら

れないバンドを認めた。40kd 付近の血清抗体は2000年 Heckenlively らの報告などで多く見られる抗リカバリン抗体と異なる。

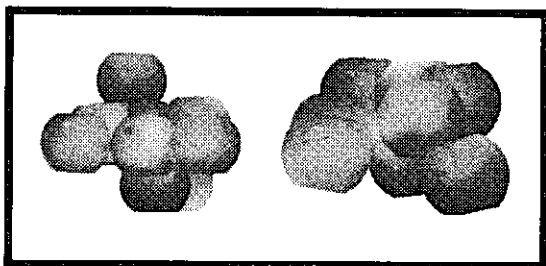


図1 症例1の眼底写真

D. 考察

ウェスタンブロット法にて、症例1では40kd 付近および20kd 付近に、症例2では、20kd 付近に抗網膜抗体を認めた。

今まで報告されている Autoimmune Retinopathy は眼底に色素が全く見られな
いか、あってもごく軽度であった。症例1
の眼底では、血管に沿った色素沈着が見ら
れ、症例2では、色素沈着は症例1より軽
度だったが、視力は症例1より低下してお
り、Autoimmune Retinopathy の表現型
の多様性が認められた。

E. 結論

今回の症例より、孤発例の網膜色素変性で
は自己抗体の検索も重要であると考えられ
た。また Autoimmune Retinopathy の表
現型の多様性が認められた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

多田麻子 他：日本人常染色優性網膜色素
変性における IMPDH1 遺伝子異常の解析
57回日本臨床眼科学会、名古屋市、2003

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

I. 参考文献

1. Adamus G: Antirecoverin antibodies and autoimmune retinopathy. *Arch Ophthalmol.* 118: 1577-8,2000.
2. Heckenlively JR et al: Autoimmune retinopathy: patients with antirecoverin immunoreactivity and panretinal degeneration. *Arch Ophthalmol.* 118: 1525-33,2000.
3. Keltner JL et al: Cancer-associated retinopathy vs recoverin-associated retinopathy. *Am J Ophthalmol.* 126:296-302,1998.
4. Whitcup SM et al: Recoverin-associated retinopathy: A clinically and immunologically distinctive disease. *Am J Ophthalmol.* 126: 230-7,1998.
5. Mizener JB et al: Autoimmune retinopathy in the absence of cancer. *Am J Ophthalmol.* 123: 607-18,1997.

20. ポリープ状脈絡膜血管症の診断基準

日本ポリープ状脈絡膜血管症研究会：

湯沢美都子¹⁾、飯島裕幸²⁾、飯田知弘³⁾、石橋達朗⁴⁾、大路正人⁵⁾、白神史雄⁶⁾、
高橋寛二⁷⁾、竹田宗泰⁸⁾、張野正誉⁹⁾、吉村長久¹⁰⁾

(¹⁾日本大、²⁾山梨大、³⁾福島県医大、⁴⁾九州大、⁵⁾大阪大、⁶⁾香川大、
⁷⁾関西医大、⁸⁾市立札幌病院、⁹⁾淀川キリスト教病院、¹⁰⁾信州大)

研究要旨 眼底検査でみられる橙赤色隆起病巣とインドシアニングリーン蛍光造影でみられるポリープ状病巣に重点を置いて以下のようなポリープ状脈絡膜血管症の診断基準を作成した。確実例：以下のいずれかの項目を満たすものとする。1. 眼底検査で橙赤色隆起病巣を認める 2. IA で、特徴的なポリープ状病巣を認める 不確実例：以下のいずれかの項目を満たすものとする。1. IA で異常血管網のみを認める 2. 再発性の出血性・漿液性網膜色素上皮剥離を認める。

A. 研究目的

ポリープ状脈絡膜血管症 (PCV) は脈絡膜レベルの異常血管網とその先端のポリープ状病巣から成る特異な疾患であり、インドシアニングリーン蛍光造影 (IA) 所見は診断に有用である。またポリープ状病巣に一致して眼底検査では橙赤色隆起病巣が観察される。しかし、ポリープ状病巣、異常血管網、橙赤色隆起病巣の全てが揃って認めることが少ないため、診断には曖昧な点があり、研究者間でも統一見解が得られていない。そこで、臨床、研究に有用なポリープ状脈絡膜血管症 (PCV) の診断基準を作成する。

B. 研究方法

平成14年7月～平成15年12月の間に6回の会合を行い、PCV およびその疑い症例の眼底写真と IA 写真を対比して検討し、その結果に基づいて PCV の診断基準を作成した。

C. 研究結果

作成した診断基準は下記のとおりである。

確実例

以下のいずれかの1項目を満たすものとする

1. 眼底検査で橙赤色隆起病巣*を認める
2. IA で、特徴的なポリープ状病巣**を認める

不確実例

以下のいずれかの1項目を満たすものとする

1. IA で異常血管網***のみを認める
2. 再発性の出血性・漿液性網膜色素上皮剥離を認める

* 橙赤色隆起病巣は、網膜色素上皮レベルの境界明瞭な隆起病巣であり、充実性で、漿液性あるいは出血性網膜色素上皮剥離とは区別できる

**

- ・ ポリープ状病巣は、IA で瘤状あるいはぶどうの房状の病巣である (図 1)。
- ・ 造影時間の経過とともに大きくなり、ある時点から形、大きさは変わらない (図 2)。
- ・ 早期には、内部に小さな過蛍光を認めることもある (図 3)。
- ・ 後期に輪状の過蛍光を示す事がある (図 4)。



図 1 ポリープ状病巣

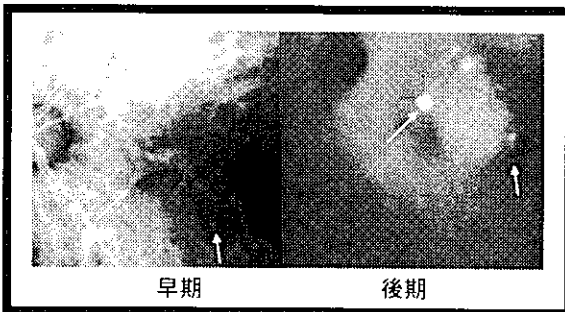


図 2 ポリープ状病巣の典型所見

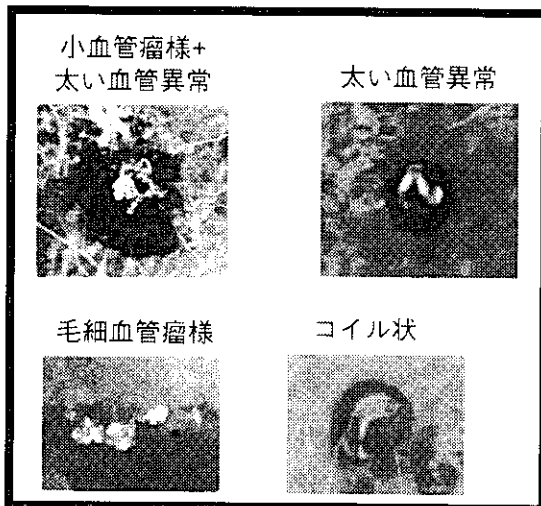


図 3 ポリープ状病巣内部の過蛍光

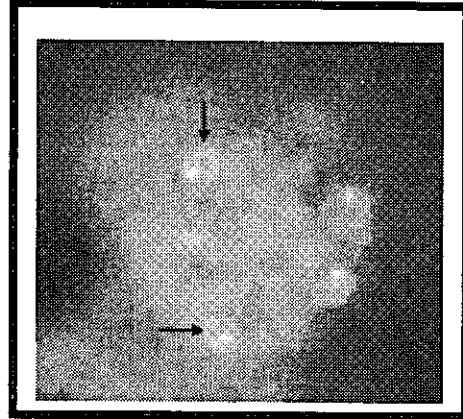


図 4 後期の輪状過蛍光

- ・ 異常血管網は、IA で早期に分枝した脈絡膜内層の血管として造影され、血管の走行、口径から正常の脈絡膜血管と区別できる (図 5)。
- ・ 異常血管網の範囲は後期に面状の過蛍光を示すことが多い (図 6)。

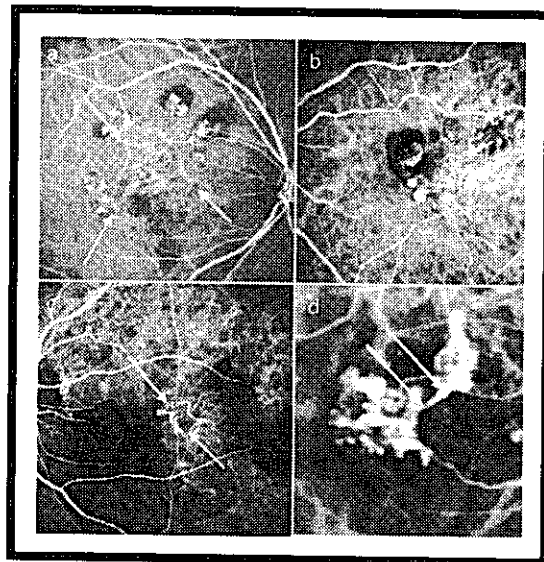


図 5 異常血管網

- a 太い異常血管網
- b 中くらいの太さの異常血管網
- c 走行異常が著明な異常血管網
- d 口径不同が著明な異常血管網

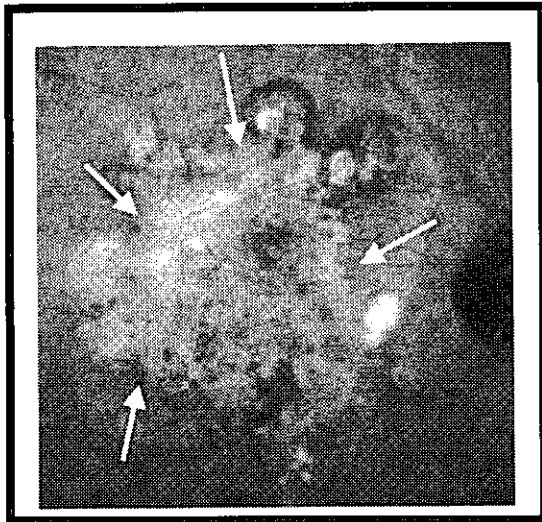


図6 異常血管網の後期の面状過蛍光

D. 考察

PCVは再発性の出血性、漿液性網膜色素上皮剥離を生じる疾患であり、乳頭近傍に好発すると報告された¹⁾。しかし本邦では黄斑に好発する²⁾。診断にはIAが不可欠であり、次のような特徴的な造影所見を示す。

造影早期には脈絡膜レベルに樹枝状の血管網が造影され、その先端に小さな過蛍光がみられる³⁾。しかし実際に造影される樹枝状の血管網は太いことも細いこともあり、太い血管網では口径不同がみられることもある。また血管網の充盈は正常の脈絡膜血管よりもゆっくりであることが多い。異常血管網の範囲は後期には面状の過蛍光を示す事が多いが³⁾、周囲と同等の蛍光になることも低蛍光のこともある⁴⁾。

造影早期にみられる樹枝状血管網の末端の小さな過蛍光は造影時間の経過とともに大きくなり、造影中期には一定の大きさになり、それ以降は変わらない²⁾。後期のIA所見はポリープ状病巣と呼ばれる。ポリープ状病巣は単発のことも集合してぶどうの房状のこともある⁴⁾。ポリープ状病巣の内

部には細かい血管瘤様、コイル状になった太い血管などの過蛍光がみられることもある。後期にはポリープ状病巣は均一な過蛍光を示すことが多く、色素の漏れを示すこともある⁴⁾。一方、輪状の過蛍光になることもあり⁴⁾、造影所見にはばらつきがある。

眼底検査ではポリープ状病巣に一致した部には円形あるいは楕円形、時には愈合性の網膜色素上皮の橙赤色隆起病巣がみとめられ、出血性あるいは漿液性網膜色素上皮剥離とは、充実性であること、特有の色や急峻な立ち上がりによって区別でき、特徴的である。急峻な立ち上がりを示す充実性病変であることは光干渉断層計検査で明瞭である⁵⁾。しかしそれらは多量の出血にマスクされて観察できないことも多い。また経時的には白みを帯び、隆起は減少し、やがて色素上皮の萎縮を残して消失する。

臨床、研究に有用な診断基準は高頻度に見られる特徴的な所見をいくつか備えていて、それに従えば容易に診断できる簡素なものでなければならない。その観点から考えると日常診療で診断に際して有用なのは、眼底検査でみとめられる橙赤色隆起病巣である。そこでこれを確定診断の第一とした。しかし橙赤色隆起病巣は経時的に変化し、あるいは出血などにマスクされる場合があり、診断が困難な場合があることに注意を要する。IAのポリープ状病巣は出血があっても検出される事が多く、その所見は特異的であるので、異常血管網の有無に関わらず第二の確定診断とした。一方、異常血管網はIAの造影初期には明瞭にみとめられないこともある。また後期には面状過蛍光として認められることが多い。しかしそれら所見は非特異的であるので、そのみが

みとめられる場合には不確実とした。このような異常血管網のみの不確実例の場合にはポリープ状病巣の出現に注意しながら経過観察し、診断を確定する必要がある。また、再発性の出血性、漿液性網膜色素上皮剥離、網膜剥離の既往は新たなポリープの出現や破綻などのポリープの変化に基く本症の臨床経過の特徴と考えられるので、不確実とした。既往から PCV を疑った場合には詳細な眼底検査と IA が必要である。なお、不確実は統計を取る場合には数には入れない方が良く考えられる。

ポリープ状病巣がみられる他の疾患としては、加齢黄斑変性の進行期、Radiation-associated choroidal neovascuopathy がある。加齢黄斑変性と PCV の異同については統一見解が得られておらず、網膜色素上皮下に発育した脈絡膜新生血管とポリープ状病巣は鑑別が困難な場合があることから本診断基準では考慮しなかった。Radiation-associated choroidal neovascuopathy は加齢黄斑変性の中心窩 CNV に低線量放射線療法を行った後にポリープ状病巣がみとめられるものである⁷⁾。しかし本症については PCV と同じ遺伝子異常が関与する可能性が示唆されていること⁸⁾、もともと低線量放射線療法の適応になったものが加齢黄斑変性でなく PCV であった可能性も否定できないことから、これも含めて考えることにした。

今後この診断基準を用いて臨床、研究を行い、その有用性を評価する必要がある。

E. 結論

ポリープ状病巣と橙赤色隆起病巣に重点を置いた PCV の診断基準を作成した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

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

I. 参考文献

1. Yannuzzi LA et al: Idiopathic polypoidal choroidal vasculopathy(OPCV). *Retina* 10: 1-8,1990.
2. Uyama M et al: Idiopathic polypoidal choroidal vasculopathy in Japanese patients. *Arch Ophthalmol.* 117: 1035-42, 1999.
3. Spaide RF et al: Indocyanine green video angiography of idiopathic polypoidal choroidal vasculopathy. *Retina* 15: 100-10, 1995.
4. 春山美穂 他:ポリープ状脈絡膜血管症のインドシアニングリーン蛍光造影所見. *眼科* 45:365-71,2003.
5. Iijima H, Imai M, Gohdo T,

- Tsukahara S, Optical coherence tomography of idiopathic polypoidal choroidal vasculopathy, *Am J Ophthalmol.* 127: 301-5, 1999.
6. Iijima H, Iida T, Imai M, Gohdo T, Tsukahara S, Optical coherence tomography of orange-red subretinal lesions in eyes with idiopathic polypoidal choroidal vasculopathy, *Am J Ophthalmol.* 129: 21-6, 2000.
 7. Spaide RF et al: Radiation-associated choroidal neovascuopathy. *Ophthalmology* 106: 2254-60, 1999.
 8. Mauget-Faysse M et al: Idiopathic and radiation-induced ocular telangiectasia: The involvement of the ATM gene. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 44: 3257-62, 2003.

21. Confocal Scanning Ophthalmoscope によるポリープ状脈絡膜血管の インドシアニングリーン蛍光造影所見の検討

森隆三郎、湯沢美都子、川村昭之、春山美穂、左近允徳啓
(日本大)

研究要旨 目的: Confocal Scanning Ophthalmoscope である Heidelberg Retina Angiograph (HRA) によるポリープ状脈絡膜血管症 (PCV) の脈絡膜の異常血管網 (NET) とその先端のポリープ状病巣 (ポリープ) のインドシアニンググリーン蛍光造影 (IA) 所見の特徴を明らかにし、PCV の病態を考案する。対象、方法: HRA を用いて IA を撮影した PCV 33 例 33 眼の NET とポリープの造影所見について検討した。結果: NET の造影開始時期は 33 眼全てで脈絡膜動脈と同時で、造影早期の NET の範囲とその周囲の低蛍光は全てにみとめ、造影早期の血管の走行異常は 31 眼 (94%) にみとめた。造影後期の過蛍光は 30 眼 (90%) にみとめた。ポリープ内の血管瘤様過蛍光の集簇は 33 眼全てで、ポリープ内に流入する比較的太い血管は 10 眼 (30%) にみとめた。拍動は NET あるいはポリープ、あるいはその両方に計 11 眼 (33%) にみとめた。結論: PCV の NET とポリープは変形した脈絡膜内層の血管異常であると考えた。

A. 研究目的

Confocal Scanning Ophthalmoscope である Heidelberg Retina Angiograph (以下、HRA) のインドシアニンググリーン蛍光造影 (indocyanine green angiography: 以下、IA) は、Confocal システムにより直接光を主に捉え散乱光の影響が少ないので鮮明な造影所見を得ることができる¹⁾。

ポリープ状脈絡膜血管症 (polypoidal choroidal vasculopathy: 以下、PCV) の病態を解明するうえで脈絡膜の異常血管網 (network of branching vessels: 以下、NET) とその先端のポリープ状病巣 (polypoidal lesions: 以下、ポリープ) のさらに細かいレベルの造影所見の検討が必要である。HRA により PCV の NET とポリープの IA 所見を検討し病態を考案する。

B. 研究方法

対象は平成 14 年 11 月から平成 15 年 5 月までに駿河台日本大学病院で HRA を用いて IA を撮影し、NET と NET に連続するポリープを確認でき PCV と診断した 33 例 33 眼である。男性 30 例、女性 3 例、年齢 59 歳～81 歳。平均 69 歳であった。感覚網膜下脈絡膜新生血管を合併したものは含めていない。検討項目は NET については、造影開始時期、拍動の有無、造影早期の NET の範囲とその周囲の低蛍光の有無、造影早期の血管の走行異常の有無、造影後期の過蛍光の有無である。ポリープについてはポリープ内の血管瘤様所見の集簇の有無、ポリープ内に流入する比較的太い血管の有無、拍動の有無である。

C. 研究結果

1. NET の結果

NET の造影開始時期は 33 眼全例で、脈