

200400818A

厚生労働科学研究研究費補助金  
難治性疾患克服研究事業

**網膜脈絡膜・視神経萎縮症に関する研究  
平成16年度 総括・分担研究報告書**

(3年計画の3年目)

主任研究者 石橋達朗

平成17(2005)年3月

# 目 次

## I. 班員構成

## II. 総括研究報告 ..... 1

## III. 分担研究報告

1. 東北大学における網膜色素変性の実態調査 ～中間報告～ ..... 13  
( 東 北 大 ) 渡辺 亜希、和田 裕子  
板橋 俊孝、佐藤 肇  
川村 后幸、遠藤 麻衣  
多田 麻子、玉井 信  
( 東 北 大 公 衆 衛 生 学 ) 大森 芳、辻 一郎
2. 遺伝性網膜変性疾患の遺伝子解析と遺伝子異常をもつ症例の臨床像の検討  
～東北大学におけるまとめ～ ..... 16  
( 東 北 大 ) 和田 裕子、板橋 俊隆  
佐藤 肇、川村 后幸  
多田 麻子、遠藤 麻衣  
玉井 信
3. Wave system を用いた遺伝子診断 ..... 29  
( 京 都 大 探 索 医 療 セ ン タ ー ) 高橋 政代、万代 道子  
横田 友子、秋元 正行  
( 京 都 大 ) 平見 恭彦、鈴木 拓也  
村上 智昭、大音壮太郎  
吉村 長久  
( 京 都 大 医 療 倫 理 学 ) 小杉 真司
4. PRPF31 遺伝子変異による常染色体優性網膜色素変性家系における見かけ上の不完全浸透 ..... 31  
( 弘 前 大 ) 中澤 満、平 紅  
佐藤 元哉
5. 変異解析を行った卵黄様黄斑ジストロフィの1例 ..... 35  
( 九 州 大 ) 塩瀬 聡美、吉田 茂生  
山地 陽子、石橋 達朗

6. GeneChip を用いた転写因子 Nr1 の標的遺伝子の同定 .....	37
(九州大)	吉田 茂生、吉田 綾子 山地 陽子、石橋 達朗
(ミシガン大)	Anand Swaroop
(ソーク研究所)	Carrolee Barlow
7. RDH5 遺伝子に異常を有する白点状眼底における錐体と杆体の変性 .....	57
(名古屋大)	近藤 峰生、丹羽 泰洋 上野 真治、中村 誠 寺崎 浩子、三宅 養三
8. クリスタリン網膜症患者の CYP4V2 遺伝子変異検索 .....	60
(東北大)	板橋 俊隆、和田 裕子 川村 后幸、多田 麻子 佐藤 肇、遠藤 麻衣 玉井 信
9. クリスタリン網膜症の CYP4V2 遺伝子異常と臨床像 .....	69
(名古屋大)	中村 誠、林 建 西口 康二、近藤 峰生 寺崎 浩子、三宅 養三
10. 網膜色素線条症の原因遺伝子検索	
-ABCC6 遺伝子内の一塩基多型を用いたハプロタイプ解析- .....	72
(日本大)	水谷 吉宏、石原菜奈恵 猪俣 公一、栃木香寿美 島田 宏之、湯沢美都子
(日本大受容体生物学部門)	中山 智祥
(日本大遺伝子・ゲノム医学研究部門)	浅井 聡
11. 樹状細胞を用いた自己免疫網膜症診断法開発の試み .....	75
(京都市大)	平見 恭彦、川越 直顕 吉村 長久
(京都大探索医療センター)	万代 道子、横田 友子 高橋 政代
12. 地域一般住民における喫煙と加齢黄斑変性発症の関連：久山町研究 .....	78
(九州大)	宮崎 美穂、石橋 達朗
(九州大病態機能内科学)	清原 裕、飯田 三雄

13. 加齢黄斑変性の診断におけるプレビューPHPの有用性 .....	81
(大 阪 大)	生野 恭司、佐柳 香織 十河 薫、北村 淳 五味 文、坂口 裕和 大島 佑介、瓶井 資弘 日下 俊次、大路 正人 田野 保雄
14. フルオレセインおよびインドシアニンググリーン蛍光眼底造影検査 による光線力学療法の適応症例の検討 .....	84
(東 京 大)	小畑 亮、入山 彩 高橋 秀徳、上 順子 井上 裕治、柳 靖雄 玉置 泰裕、新家 眞
15. 拍動性血流を有するポリープ状脈絡膜血管症 .....	91
(鹿 児 島 大)	大久保明子、伊藤もと子 坂本泰二
16. Polypodal Choroidal Vasculopathy に対する放射線治療後の長期経過 .....	93
(京 都 大)	万代 道子、平見 泰彦 武蔵 国弘、高橋 政代 吉村 長久
17. Retinal angiomatous proliferatiom の臨床病理 .....	96
(日 本 大)	島田 宏之、川村 昭之 森 隆三郎、新井 恵子 湯沢美都子
18. 加齢黄斑変性におけるトリアムシノロン硝子体注入群の効果と合併症： コントロール群との比較 .....	118
(鹿 児 島 大)	伊藤もと子、大久保明子 坂本 泰二
19. 中心窩下脈絡膜新生血管に対するトリアムシノロン硝子体内投与 .....	122
(香 川 大)	田中 茂登、野本 浩之 白神千恵子、山下 彩葉 高岸 麻衣、白神 史雄
20. 培養網膜色素上皮細胞における増殖因子とトリアムシノロン .....	126
(大 阪 大)	五味 文、松田 理 大島 佑介、田野 保雄 (大阪大ポストゲノム疾患解析学) 遠山 正弥

21. 未熟児網膜症に対する硝子体手術の検討 .....	129
(大 阪 大) 日下 俊次、下條 裕史 野 保雄 (大阪府立母子保健総合医療センター) 初川 嘉一 (淀川キリスト教病院) 張野 正誉	
22. 網膜内血管腫状増殖に対する外科治療後の再発 .....	132
(香 川 大) 白神千恵子、白神 史雄 (福 島 県 立 医 大) 永山 大、飯田 知弘	
23. 網膜中心静脈閉塞症に対する放射状視神経切開術後視力に影響する因子 .....	135
(香 川 大) 野本 浩之、高岸 麻衣 山地 英孝、白神千恵子 田中 茂登、白神 史雄	
24. 糖尿病黄斑浮腫に対するステロイド硝子体投与の奏功機序 .....	154
(京 都 大) 田村 寛、桐生 純一 宮本 和明、勝田 英人 宮原 晋介、広瀬 文隆 武蔵 国弘、吉村 長久	
25. Peroxisome proliferator activated receptor・リガンド (rosiglitazone) の糖尿病モデルラット網膜血管透過性に対する影響 .....	157
(東 京 大) 柳 靖雄、村中 公正 高橋 秀徳、玉置 泰裕 新家 眞	
26. SiRNA による網膜血管内皮細胞の ICAM-1 発現制御 .....	160
(名 古 屋 市 大) 加藤 亜紀、久納 紀之 西脇 晶子、桜井 英二 小椋祐一郎	
27. 眼球組織に発現する血管新生抑制因子 Chondromodulin-I (ChM-I) に 相同性を有する新規膜蛋白 Tenomodulin (TeM) の C末端機能ドメインによる血管新生抑制作用 .....	164
(大 阪 大) 大島 佑介、野 保雄 (大阪大幹細胞制御医学) 田代 文、宮崎 純一、 (京都大再生医科学研究所) 大島 佑介、宿南 知佐 開 祐司	
28. 血管新生における ephrinB2/Eph シグナル経路の役割 .....	168
(京 都 大) 勝田 英人、植村 明嘉 桐生 純一、吉村 長久 (理 研 神 戸) 勝田 英人、植村 明嘉 西川 伸一	

29. マクロファージ遊走関連ケモカインとそのレセプターの  
ノックアウトマウスにおける脈絡膜新生血管抑制効果 …… 172  
(名古屋大学) 櫻井 英二、小椋祐一郎  
(Department of Ophthalmology, University of Kentucky) 櫻井 英二  
Jayakrishna Ambati
30. Hypoxia Inducible Factor (HIF) 1 $\alpha$ ・HIF2 $\alpha$ の脈絡膜新生血管における発現 …… 175  
(東京大学) 井上 裕治、松浦 恭祐  
柳 靖雄、高橋 秀徳  
小畑 亮、玉置 泰裕  
新家 眞
31. マウス脈絡膜新生血管モデルの活動性に対する加齢の影響 …… 178  
(東京大学) 高橋 秀徳、柳 靖雄  
玉置 泰裕、新家 眞  
(さいたま赤十字病院) 小畑 亮
32. 加齢黄斑変性に対する光線力学療法の1週間後の効果 …… 186  
(日本大学) 栃木香寿美、森 隆三郎  
石原菜奈恵、藤田 京子  
湯沢美都子
33. mERGからみた中心窩脈絡膜新生血管に対する光線力学療法の網膜への影響 …… 190  
(日本大学) 小森谷直美、湯沢美都子  
(鴨下眼科) 大出 尚郎  
(慶応大学) 篠田 啓
34. 加齢黄斑変性に対する光線力学療法における網膜機能と形態の変化 …… 193  
(名古屋大学) 石川 浩平、寺崎 浩子  
伊藤 逸毅、菊池 雅人  
大島 久明、西原 裕晶  
山腰 友珠、浅野 俊哉  
池野谷一輝、三宅 養三
35. 光線力学的療法の早期視力向上因子 …… 196  
(九州大学) 野田 佳宏、宮崎 美穂  
塩瀬 聡美、喜多 岳志  
平山久美子、石橋 達朗
36. 加齢黄斑変性滲出型瘢痕期の読書成績 …… 200  
(日本大学) 藤田 京子、成瀬 睦子  
湯沢美都子  
(東京女子大学現代文化コミュニケーション学科) 小田 浩一

37. 加齢黄斑変性癥痕期での preferred retinal locus のロービジョンエイド選択への影響 …… 207  
 ( 日 本 大 ) 藤田 京子、湯沢美都子  
 中村 仁美
38. ラット高眼圧モデルにおける長期の網膜変化の検討 …… 215  
 ( 弘 前 大 ) 伊藤 忠、大黒 浩  
 大黒 幾代、間宮 和久  
 石川 太、目時 友美  
 山崎 仁志、中澤 満
39. 網膜虚血再灌流による網膜障害に対するD-アロースの保護作用 …… 218  
 ( 香 川 大 ) 廣岡 一行、馬場 哲也  
 白神 史雄  
 ( 香 川 大 脳 神 経 生 物 学 ) 宮本 修、板野 俊文
40. 急性障害時の成体網膜内在性幹細胞様細胞に対する Wnt3a の効果 …… 220  
 ( 京 都 大 ) 大音壮太郎、万代 道子  
 秋元 正行、大石 明生  
 吉村 長久、高橋 政代
41. 視神経乳頭周囲への遺伝子導入 …… 229  
 ( 弘 前 大 ) 間宮 和久、大黒 浩  
 大黒 幾代、目時 友美  
 伊藤 忠、中澤 満
42. BDNF 導入虹彩色素上皮細胞移植と TrKB サブタイプの発現変化 …… 231  
 ( 東 北 大 ) 伊勢屋貴史、阿部 俊明  
 村田 裕美、西郷 陽子  
 北条 昌芳、斉藤 孝恵  
 涌沢 亮介、玉井 信
43. BDNF 遺伝子搭載 AAV 感染虹彩色素上皮細胞移植の視細胞保護効果と BDNF 濃度の関係 …… 234  
 ( 東 北 大 ) 齋藤 孝恵、阿部 俊明  
 西郷 陽子、北條 昌芳  
 村田 裕美、伊勢屋貴史  
 涌沢 亮介、玉井 信
44. SIV ベクターを用いた2種類の神経栄養因子遺伝子発現による相乗的視細胞保護効果 …… 236  
 ( 九 州 大 ) 宮崎 勝徳、池田 康博  
 向野利一郎、石橋 達朗  
 ( 九 州 大 病 理 病 態 学 ) 米満 吉和、向野利一郎  
 居石 克夫  
 ( 九 州 大 神 経 生 理 学 ) 後藤 純信、飛松 省三  
 ( 鹿 児 島 大 ) 坂本 泰二  
 ( D N A V E C 株 式 会 社 ) 田畑 寿晃、長谷川 護

45. 変性網膜下への網膜前駆細胞移植におけるコンドロイチナーゼの影響 ..... 238  
 (京 都 大) 鈴木 拓也、吉村 長久  
 (京 都 大 探 索 医 療 セ ン タ ー) 秋元 正行、横田 友子  
 万代 道子、高橋 政代
46. 視神経乳頭刺激型極細電極からの電流刺激による人工視覚の検討 ..... 252  
 (大 阪 大) 坂口 裕和、方 肖雲  
 不二門 尚、神田 寛行  
 小山内 実、生野 恭司  
 瓶井 資弘、大路 正人  
 八木 哲也、田野 保雄

# I. 班 員 構 成

## 網膜脈絡膜・視神経萎縮症に関する調査研究班

区分	氏名	所属等	職名
主任研究者	石橋 達朗	九州大学眼科	教授
分担研究者	中江 公裕	南九州大学食品栄養学科	教授
	玉井 信	東北大学眼科	教授
	田野 保雄	大阪大学眼科	教授
	新家 眞	東京大学眼科	教授
	吉村 長久	京都大学眼科	教授
	小椋祐一郎	名古屋市立大学眼科	教授
	寺崎 浩子	名古屋大学頭頸部・感覚器外科	教授
	中澤 満	弘前大学眼科	教授
	白神 史雄	香川大学眼科	教授
	湯沢美都子	日本大学駿河台眼科	教授
	坂本 泰二	鹿児島大学眼科	教授
	高橋 政代	京都大学附属病院探索医療センター	助教授
事務局	畑 快右	九州大学眼科  〒812-8582 福岡県福岡市東区馬出3-1-1 TEL (092) 642-5648 FAX (092) 642-5663	講師 秘書
	沖崎 史枝		
経理事務担当	小野厚志	九州大学医学部会計掛  TEL (092) 642-6006 FAX (092) 642-6022 e-mail ijzkeiri@jimu.kyushu-u.ac.jp	文部科学事務官

## II. 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）

総括研究報告

主任研究者 石橋 達朗

九州大学大学院医学研究院眼科学分野教授

【研究要旨】

本研究は、難治性・進行性で予後不良な疾患である加齢黄斑変性、網膜色素変性に代表される遺伝性網脈絡膜変性疾患、および視神経萎縮を主な対象疾患とし、その病態解明と科学的根拠に基づいた有効な治療法確立を目的としている。

加齢黄斑変性は高齢者の失明原因として増加傾向にあり、今後は失明原因の主因になると予測されている。最も期待されてきた光線力学的療法が平成16年度より一般施設でも治療が行えるようになり、その治療成績が多施設から報告された。また基礎的研究により、加齢黄斑変性の病態形成において、炎症性反応が増悪因子となる可能性を明らかにした。これをもとに、加齢黄斑変性に対する抗炎症目的でのステロイド治療の有効性を検討した。

また、広義の加齢黄斑変性の数10%を占めるポリープ状脈絡膜血管症 polypoidal choroidal vasculopathy (PCV) や網膜内血管腫状増殖 retinal angiomatous proliferation (RAP) は臨床経過や治療成績が狭義の加齢黄斑変性とは異なっており、その病態解明と治療法確立が急務である。今回ポリープ状脈絡膜血管症の放射線治療、網膜内血管腫状増殖の観血的手術治療について検討を加えた。

網膜色素変性は、我が国の失明原因の約一割を占める。原因遺伝子は多岐にわたり、あらゆる遺伝形式をとり、孤発例も多いため、遺伝形式不明例も多い。そこで、遺伝子診断・治療の臨床応用へ向けてのより効率的なスクリーニングシステムの開発や、遺伝子導入による催炎性・発現量・発現期間の問題を解決すべく新たな発現ベクターの開発も引き続き行った。網膜組織へ補足遺伝子を搭載した細胞を移植することや、神経保護因子の遺伝子を直接導入することで、この疾患に対する遺伝子治療の可能性・有効性を示した。

視神経萎縮は病態解明や治療法開発が困難な分野ではあるが、今回、疾患モデル動物においてアポトーシス関連蛋白の発現変化や活性酸素の抑制について検討した。さらに、失明者に対する電気刺激による人工網膜の開発に加えて、胚性幹細胞などを用いた幹細胞からの網膜細胞への分化誘導についても引き続き研究を行い、臨床応用へと近づけることができた。

【分担研究者】

中江公裕（南九州大学・食品栄養学科・教授）

玉井 信（東北大学・眼科・教授）

田野保雄（大阪大学・眼科・教授）

新家 真（東京大学・眼科・教授）

小椋祐一郎（名古屋市立大学・眼科・教授）

吉村長久（京都大学・眼科・教授）

寺崎浩子（名古屋大学・頭頸部感覚器外科・教授）

中沢 満（弘前大学・眼科・教授）

白神史雄（香川大学・眼科・教授）

湯沢美都子（日本大学駿河台・眼科・教授）

坂本泰二（鹿児島大学・眼科・教授）

高橋政代（京都大学・探索医療センター・助教授）

## A. 研究目的

1. 加齢黄斑変性 age-related macular degeneration (AMD) に対し、新たな治療法として期待される光線力学的療法 photodynamic therapy (PDT) について、日本人患者に対する有効性を検討する。

2. 加齢黄斑変性の発症メカニズムをより詳細に解明し、根拠に基づいた薬物療法を開発すると同時に、効率的なドラッグデリバリーシステムを開発・確立する。

3. 加齢黄斑変性の類縁疾患と考えられているポリープ状脈絡膜血管症 polypoidal choroidal vasculopathy (PCV)、網膜内血管腫状増殖 Retinal angiomatous proliferation (RAP)の病態を解明し、効果的な治療法を確立する。

4. 網膜色素変性の原因となる変異遺伝子の検索を引き続き行うとともに、網膜色素変性・加齢黄斑変性に対する細胞移植治療ならびに遺伝子治療法を確立する。

5. 視神経萎縮における病態を解明して有効な治療法を開発するとともに、人工網膜の開発も引き続き行う。

## B. 研究方法

1. 加齢黄斑変性に対する光線力学的療法については平成16年度より保険診療として我が国でも治療が開始されるに至った。まずは米国でのプロトコールに従い、血管造影所見、多局所網膜電図や視力予後を指標として、日本人患者に対する有効性を検討した。現在、その長期予後について経過

観察中である。

2. これまで日本人において加齢黄斑変性の発症と喫煙の関連を前向きに追跡した報告はない。そこで福岡県久山町における地域住民を5年間追跡調査することにより、喫煙と加齢黄斑変性の発症との関連を前向きに調査した。

また、加齢黄斑変性に対するステロイド薬による治療に関し検討を加えた。ステロイド徐放剤であるトリアムシノロンをテノン嚢下および硝子体腔内に局所投与することで、新生血管膜の形成や視力に与える影響を検討するとともに、網膜色素上皮細胞への影響についても検討した。また、RNA干渉を用いた治療の可能性として、血管内細胞の細胞間接着分子(ICAM-1)の発現制御についても検討した。

3. ポリープ状脈絡膜血管症 (PCV)に関しては昨年作成した診断基準を用いて拍動性血管の頻度や放射線療法の有効性について検討を行った。視力予後の悪いことが知られている網膜内血管腫状増殖に関しても外科的治療の有効性について調べるとともに手術によって得られた組織から病理組織学的検討を加えた。

4. 網膜色素変性の原因遺伝子解析に関しては、患者の末梢白血球より DNA を抽出し、目的遺伝子について検索し、変異のみられた症例では眼科的検査と家系調査を可及的に行い、表現型との連鎖を確認してきた。また原因遺伝子が多数存在するため、効率的かつ簡便なスクリーニング方法が求められており、その方法について検討した。

また網膜色素変性以外の遺伝性網膜変性疾患についても遺伝子解析についての検討を行った。

遺伝子導入については、独自に開発した Simian Immunodeficiency Virus(SIV)-based lentivirus vector を用いて、神経保護因子を色素上皮細胞に導入し、原因遺伝子の異なる網膜色素変性症モデルで、視細胞変性に対する抑制効果について検討してきたが、より低い遺伝子ベクター濃度で高い治療効果を得ることを目指して、複数の神経保護因子を搭載した SIV virus を用いてその有効性を評価した。

また細胞移植治療を目的とし、幹細胞から網膜細胞への分化を誘導する方法や、培養細胞に神経保護因子の遺伝子を導入した後に移植する方法の有効性などについてもさらに検討を加えた。特に、視細胞の大部分を占める桿体の分化に重要であると考えられている Neural Retina Leucine zipper (Nrl) によって発現が制御されている標的遺伝子を把握するため網膜発達段階での Nrl 欠損マウスの遺伝子発現プロファイリングを行った。また幹細胞制御因子として知られている Wnt3a を用いたミュラー細胞から網膜神経細胞への分化についても検討した。

5. 視神経萎縮については、ラット高眼圧モデルにおいてアポトーシス関連蛋白の発現変化について調べた。また、ラット虚血再灌流モデルにおいて、希少糖の1つである D-アロースが活性酸素に及ぼす影響について検討した。人工視覚（網膜）システムについては、視神経乳頭に刺入設置した電極により視神経に電流刺激を加えることで人工視覚を誘発する際、より細い電極

での長期的な有効性と安全性について検討した。

#### （倫理面への配慮）

対象とする遺伝性変性疾患の遺伝子診断を行う場合は、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針（平成13年3月29日 文部科学省・経済産業省告示第1号）を遵守した。対象者に対する不利益・危険性を除去し、インフォームドコンセントを得た上で検体を採取し、結果に関しては本人の知る権利および知らない権利を尊重した。個人のプライバシーは厳守するとともに、本人の自主性を尊重し、治験の途中であっても本人の申し出により中止の希望があればそれ以上の継続はしないこととした。また細胞移植による治療に関しては当該施設における倫理委員会の許可のもとに行った。動物実験時には Association for Research in Vision and Ophthalmology の定めた動物実験のためのガイドラインを厳守し、動物愛護上の配慮を十分に行った。

#### C. 研究結果

1. 光線力学的療法については既に国内多施設による臨床治験が終了し、平成16年度より国内の一般治療施設においても治療が開始された。臨床治験の検査に加えてインドシアニングリーン蛍光眼底造影(IA)を行った結果、光線力学的療法を行った1週間後では多くの症例で脈絡膜毛細血管の閉塞が確認された。多局所網膜電図を行うと潜時の延長や振幅の低下が観察されたが、治療1~3ヶ月後にはほぼ治療前のレベルに戻っていた。また、IAを行うことで光線力学的療法の効果や安全性について確認さ

れていないポリープ状脈絡膜血管症や網膜内血管腫状増殖を鑑別できた。その他、早期の光線力学的療法の治療効果を妨げる因子として、糖尿病や $\gamma$ -GTPの高値が影響する可能性が示唆された。

2. 福岡県久山町における地域住民を5年間追跡調査した結果、喫煙が加齢黄斑変性の有意な危険因子であることが示された。また副腎皮質ステロイドであるトリアムシノロンアセトニドの硝子体内投与では、薬剤投与から12ヶ月間まで有意な視力の改善・維持効果があり、特に投与後短期間は効果が大きいことが確認された。基礎実験からその作用機序として網膜色素上皮細胞での血管内皮増殖因子 vascular endothelial growth factor (VEGF)の減少による脈絡膜新生血管の退縮効果と、結合組織増殖因子 connective tissue growth factor (CTGF)の発現上昇による新生血管の癒痕形成促進効果が影響していると考えられた。またRNA干渉により血管内皮細胞のICAM-1の発現抑制が可能であった。

3. ポリープ状脈絡膜血管症(PCV)は眼底に見られる橙赤色病変とインドシアニンググリーン蛍光眼底造影により観察される脈絡膜レベルのポリープ状病巣が特徴的である。拍動性ポリープ状血管の頻度は9.5%であった。治療についてはポリープ状病巣の流入血管に対する光凝固の有効性が示された。放射線治療では約61%の症例で改善効果が見られたが、治療後4年以上の経過観察で半数に病変の再発がみられ、視力が低下した。網膜内血管腫状増殖(RAP)はレーザー治療に抵抗するため観血的手術による

検討を行い、全例で新生血管の消失を得たが、その後33%に新生血管の再発がみられた。網膜内血管腫状増殖の臨床病理像からは網膜内血管腫状増殖の初発病変が網膜内新生血管であることが確認できた。

4. 効率よい遺伝子検索システムとして今回、Transgenic社製のWAVE systemを用いた。このシステムは1人の患者の候補遺伝子を一挙に検索でき、簡便さとコストの点で優れた方法と考えられた。また網膜色素変性以外の遺伝性網膜変性疾患541家系を調べたところ若年性網膜分離症、眼底白点症、クリスタリン網膜症、小口病、ノリエ病に関してはほぼ100%に変異を確認でき、遺伝子診断が有用であることが判明した。

治療についてはこれまでも細胞移植の可能性を示してきたが、分化に関わる因子としてWnt3aがミューラー細胞から網膜神経細胞への分化を促すことが示された。また転写因子Nr1を欠損させると視細胞の発生・分化・機能維持に関わる段階で合計161の遺伝子に有意な発現レベルの差を認めた。また遺伝子を直接導入する戦略においては、独自に開発した長期発現型のサル由来レンチウイルスベクターを用いて、網膜色素変性モデル動物の網膜に単独で神経保護効果が確認されている線維芽細胞増殖因子および色素上皮由来増殖因子の遺伝子を同時に導入することによって、低いベクター濃度でも視細胞変性を抑制可能であることを明らかにした。

5. 視神経萎縮については、ラット高眼圧モデルにおいて、少なくとも3ヶ月間はcaspase9の発現が促進していた。ラット虚

血再灌流モデルにおいては再灌流時の過酸化水素の放出が D-アロースの投与により抑制された。また、視神経乳頭刺激型電極による電流刺激では長期的な有効性、安全性が示された。

#### D. 考察

1. 光線力学的療法については保険診療が開始され、平成17年1月までに治療が行われた症例については全例追跡調査が行われており、有効性・安全性に更なる検討が加えられている。今後長期経過が明らかになると、従来有効な手を施されることなく視力を失っていたような患者にとって大きな福音となる可能性があり、加齢黄斑変性が増加し続ける社会背景にあって不可欠な治療法の一つとなるであろう。さらに加齢黄斑変性に限らず、他の眼内血管新生性疾患などに対しても適応が拡大していくことも予測される。

2. 加齢黄斑変性発症と喫煙との相関が前向き調査で明らかになったことで、加齢黄斑変性の予防には禁煙が有効であると考えられた。また加齢黄斑変性は分子メカニズムとして局所炎症や、付随するケモカイン・サイトカインの関与が明らかになってきている。これらのことから抗炎症を目的とした治療法が選択肢の一つに加わり、実際に有効であるという結果を得ている。また抗血管新生システムとしてRNA干渉は新しいアプローチとして期待される。

3. ポリープ状脈絡膜血管症は広義の加齢黄斑変性の数十%を占めることが明らかになっているが、狭義の加齢黄斑変性と比

して臨床経過や治療に対する反応が異なっていることから、その病態の解明と治療法の確率が急務である。また網膜内血管腫状増殖は光凝固療法に抵抗し難治であるため、手術療法に加えて光線力学的療法も新たな選択肢になりうると考えられる。また病理組織学的検討からその発症には虚血性因子、炎症性因子の関与が考えられ、今後の治療への展開が期待される。

4. 網膜色素変性には多数の原因遺伝子が存在し、人種差も大きい。今後はより効率的に遺伝子検索を進め、遺伝子治療を含めた有効な治療法確立へと帰結することを期待する。遺伝子治療については、さしあたって神経保護因子を導入する方法が主な戦略になると考えられる。レンチウイルスベクターを用いた遺伝子導入については霊長類を対象としてその安全性・有効性を確認中であり、ヒトへの臨床応用も十分期待される。また幹細胞から網膜細胞への分化誘導にも成功しており、単独あるいは目的遺伝子を搭載させて細胞移植を行うなど、今後大いに発展性が期待される分野である。

5. 視神経萎縮についてはやはりその病態解明には悩まされる分野である。但し、神経節細胞を含めた網膜細胞死のメカニズムやその制御に関しては成果が得られており、正常眼圧緑内障などとの関連からも有効な薬物療法の確立が期待される。

人工網膜は技術的に困難な分野であることに変わりはないが、電気刺激による人工網膜ばかりでなく、幹細胞からの網膜再生も着実に現実味を帯びてきている。失明患者にとってその期待は計り知れず、さらに発

展させねばならない分野の一つである。

## E. 結論

国際保険機関と国際失明予防機構は、世界の予防・治療可能な失明者を根絶することを目的として、1999年にVISION2020を立ち上げ、厚生労働省、日本眼科学会、日本眼科医会もこれに署名している。残念ながら現時点では、本研究班が対象とする難治性・進行性疾患はVISION2020の対象外ということになるかと思われるが、それでも本報告で示すように、徐々にではあるが難治性疾患の病態の本質が明らかにされてきており、その検出法・評価法や遺伝子治療を含めた新たな治療法も徐々に臨床応用へと近づきつつある。

現在対象としている難治性疾患を、近い将来にその一部でも治療可能な疾患とすべく、さらに本研究を発展させていきたい。

## F. 健康危険情報

各分担発表に記載

## G. 研究発表

(過去1期3年間より主なものを抜粋)

### 1. 論文発表

(国内)

吉田綾子、宮崎美穂、石橋達朗：加齢黄斑変性の疫学と病態：臨床眼科 57:1475-1480,2003

玉井 信：網膜色素変性と加齢黄斑変性：病態研究と治療研究の進展 日眼会誌 108:750-768,2004

荒川妙 富田剛司 国松志保 鈴木康之

新家真 梁健進：緑内障における近視型乳頭と非近視型乳頭の傍乳頭網脈絡膜萎縮の比較検討・臨床眼科・56・743-746・2002

田野 保雄：各科臨床のトピックス 眼科人工眼の現状 日日本医師会雑誌 132; 78-79, 2004

吉村長久：ポリープ状脈絡膜血管症。眼科紀要 55:155-172,2004.

小椋祐一郎：眼内薬剤放出制御システム。眼薬理 18:51-53,2004.

寺田佳子、白神史雄。光線力学療法。あたらしい眼科。20:1509-1514, 2003

中沢 満：網膜色素変性症の治療。臨床眼科 57:1536-1539,2003

湯沢美都子、鈴鴨よしみ、李 才源、福原俊一：加齢黄斑変性のQuality of Life評価、日本眼科学会雑誌 108:368-374,2004.

寺崎浩子：硝子体の病態生理—硝子体手術における形態と機能の関わり—日眼会誌 107:836-865,2003

坂本泰二：硝子体の細胞反応：ヒアロサイトについて（総説）。日眼会誌 107:886-883,2003

高橋政代：網膜幹細胞の臨床と基礎—最近の話題。眼科 46：1063-1068, 2004

(海外)

- Hirayama K, Hata Y, Noda Y, Miura M, Yamanaka I, Shimokawa H, **Ishibashi T.**: The involvement of the rho-kinase pathway and its regulation in cytokine-induced collagen gel contraction by hyalocytes.. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 45:3896-3903,2004
- Miyazaki M, Ikeda Y, Yonemitsu Y, Goto Y, Sakamoto T, Tabata T, Ueda Y, Hasegawa M, Tobimatsu S, **Ishibashi T**, Sueishi K.: Simian lentiviral vector-mediated retinal gene transfer of pigment epithelium-derived factor protects retinal degeneration and electrical defect in Royal College of Surgeons rats. *Gene Ther* 10:1503-1511,2003
- Wada Y, Itabashi T, Sato H, Kawamura M, Tada A, **Tamai M.**: Screening for mutations in CYP4V2 Gene in Japanese patients with Bietti'scrystalline corneoretinal dystrophy. *Am J Ophthalmol* (in press)
- Hojo M, Abe T, Sugano E, Yoshioka Y, Saigo Y, Tomita H, Wakusawa R, **Tamai M.**: Photoreceptor protection by iris pigment epithelial transplantation transduced with AAV-mediated brain-derived neurotrophic factor gene.*Invest Ophthalmol Vis Sci* 45:3721-3726,2004
- Mayama C, **Araie M**, Suzuki Y, Ishida K, Yamamoto T, Kitazawa Y, Shirakashi M, Abe H, Tsukamoto H, Mishima HK, Yoshimura K, Ohashi Y.: Statistical evaluation of the diagnostic accuracy of methods used to determine the progression of visual field defects in glaucoma. *Ophthalmology.* 111:2117-2125,2004
- Tamaki Y, **Araie M**, Fukaya Y, Nagahara M, Imamura A, Honda M, Obata R, Tomita K: Effects of lomerizine, a calcium channel antagonist, on retinal and optic nerve head circulation in rabbits and humans • *Invest Ophthalmol Vis Sci* • 44:4864-4871,2003
- Sakaguchi H, Ohji M, Gomi F, Sawa M, Oshima Y, Ikuno Y, Kamei M, **Tano Y.**: New Micro Vertical Scissors for the Surgical Ablation of Retinal Angiomatous Proliferation. *Am J Ophthalmol* (in press).
- Zheng Y, Bando H, Ikuno Y, Oshima Y, Sawa M, Ohji M, **Tano Y.**: Involvement of rho-kinase pathway in contractile activity of rabbit RPE cells in vivo and in vitro. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 45:668-674,2004
- Kuroiwa S, Tateiwa H, Hisatomi T, Ishibashi T, **Yoshimura N.**: Pathologic features of surgically-excised polypoidal choroidal vasculopathy membranes. *Clin Exp Ophthalmol.* 32:297-302,2004
- Yoshimura N**, Kikuchi T, Kuroiwa S, Gaun S.: Differential temporal and spatial expression of immediate early genes in retinal neurons after ischemia-reperfusion injury. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 44:2211-2220, 2003.
- Yasukawa T, **Ogura Y.**: Drug delivery to the

posterior segment of the eye. HV Nema and Nitin Nema, eds: *Recent Advances in Ophthalmology*, Jaypee Brothers Medical Publishers (P) Ltd, New Delhi, 54-101, 2004.

Kato A, Kimura H, Okabe K, Okabe J, Kunou N, **Ogura Y**: Feasibility of drug delivery to the posterior pole of the rabbit eye with an episcleral implant. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 45 : 238-244, 2004.

Ohtsuki H, **Shiraga F**, Morizane Y, Furuse T, Takasu I, Hasebe S.: Transposition of the Anterior Superior Oblique Insertion as a Treatment for Exocyclotorsion Induced From Limited Macular Translocation. *Am J Ophthalmol.* 137:125-134,2004

Hirooka K, **Shiraga F**.: The GINKGO BILOBA EXTRACT (EGb 761) provides neuroprotective effect on retinal ganglion cells in a rat model of chronic glaucoma. *Curr Eye Res.* 28:153-157, 2004

Ohguro H, Yokoi Y, Ohguro I, Mamiya K, Ishikawa F, Yamazaki H, Metoki T, Takano Y, Ito T, **Nakazawa M**.: Clinical and Immunologic aspects of cancer-associated retinopathy. *Am J Ophthalmol,* 137, 1117-1119, 2004.

Mamiya K, Ohguro H, Ohguro I, Metoki T, Miyagawa Y, Ishikawa F, Yamazaki H, Takano Y, Ito T, **Nakazawa M**.: Effects of MMC III gene transfer by electroporation in glaucoma filter surgery.

*Exp Eye Res*, 79,405-410, 2004.

**Yuzawa M**, Mori R, Kawamura A.: The Origins of Polypoidal Choroidal Vasculopathy. *Br J Ophthalmol*, (in press)

Shimada H, Mori R, Arai K, Kawamura A, **Yuzawa M**.: Surgical excision of neovascularization in retinal angiomatous proliferation. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2004 Dec 17; [Epub ahead of print].

**Terasaki H**, Ishikawa K, Niwa Y, Piao CH, Niwa T, Kondo M, Ito Y, Miyake Y.: Changes in focal macular ERGs after macular translocation surgery with 360°retinotomy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 45: 567-573, 2004

Kondo M, Ueno S, Piao CH, Ito Y, **Terasaki H**, Miyake Y.: Occult macular dystrophy in an 11 year old boy. *Br J Ophthalmol.* 88:1602-1603,2004

Sonoda S, Uchino E, Sonoda KH, Yotsumoto S, Uchio E, Isashiki Y, **Sakamoto T**.: Two patients with severe corneal disease in KID syndrome. *Am J Ophthalmol.* 137:181-3,2004

Oshima Y, **Sakamoto T**, Hisatomi T, Ishibashi T, Ueno H.: Gene transfer of soluble TGF-beta type II receptor inhibits experimental proliferative vitreoretinopathy. *Gene Ther.* 9:1214-1220,2002

Haruta M, Sasai Y, Kawasaki H, Amemiya K, Ooto S, Kitada M, Suemori H, Nakatsuji N, Ide

C, Honda Y, Takahashi M.: In vitro and in vivo characterization of pigment epithelial cells differentiated from primate embryonic stem cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 45:1021-1025, 2004.

Ooto S, Akagi T, Kageyama R, Akita J, Mandai M, Honda Y, Takahashi M. Potential for neural regeneration after neurotoxic injury in the adult mammalian retina. *Proc Natl Acad Sci USA.* 101:13654-9, 2004

## 2. 学会発表

### (国内)

石橋 達朗: 加齢黄斑変性の病態研究と治療法の発達 -病態研究- 第 106 回日本眼科学会総会、仙台、2002

石橋 達朗: Vision 2020 現状と将来の課題 日本人における眼科疾病の EBM. 第 57 回日本臨床眼科学会、名古屋、2003

玉井 信: 網膜色素変性と加齢黄斑変性: 病態研究と治療研究の進展. 第 108 回日本眼科学会総会、東京、2004

柳靖雄 井上裕治 玉置泰裕 新家真: 養網膜前駆細胞における背腹・前後軸に沿った増殖分化の特性. 第108回日本眼科学会、東京、2004

坂口 裕和、不二門 尚、神田 寛之、小山 内実、方 肖云、生野 恭司、中内 一揚、瓶井 資弘、大路 正人、八木 哲也、田野 保雄: 家兎における視神経乳頭刺激型電極による人工視覚の検討. 第 108 回日

本眼科学会総会、東京、2004

吉村長久 Polypoidal Choroidal Vasculopathy. 第 20 回眼微小循環研究会. 第 14 回日本 ICG 蛍光造影研究会 合同研究会、東京、2003

加藤亜紀、木村英也、岡部高明、岡部純子、久納紀之、野崎実穂、小椋祐一郎: 上強膜インプラントによる後極部への薬物送達の試み. 第 107 回日本眼科学会総会、福岡、2003

田中茂登、阿部通子、山地英孝、野本浩之、白神史雄、高須逸平・脈絡膜新生血管に対する経瞳孔温熱療法とステロイド後部テノン嚢下注射の併用療法. 第 57 回日本臨床眼科学会、名古屋、2003

佐藤元哉、柳橋さつき、中澤 満. 網膜色素変性患者における GCAP-2 遺伝子異常の検索. 第 107 回日本眼科学会総会、福岡、2003

湯沢美都子: 加齢黄斑変性の新しい治療法 (シンポジウム: 臓器の抗加齢). 第 3 回日本抗加齢医学会、東京、2003

寺崎浩子: 青錐体と視覚情報処理 -青錐体機能検査から判明した臨床疾患の最近の知見. 第 108 回日本眼科学会、東京、2004

坂本泰二: 細胞反応の場としての硝子体. 第 107 回日本眼科学会総会宿題報告 (硝子体の病態生理)、福岡、2003