

200400818B

厚生労働科学研究費補助金  
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調査研究**

**H14 - 16年度 総合研究報告書**

主任研究者:九州大学眼科 石橋 達朗

平成17(2005)年4月

## 網膜脈絡膜・視神経萎縮症調査研究班

区 分	氏 名	所 属	職 名
主任研究者	石橋 達朗	九州大学医学部眼科	教 授
分担研究者	新家 真	東京大学医学部眼科	教 授
	小椋 祐一郎	名古屋市立大学医学部眼科	教 授
	坂本 泰二	鹿児島大学医学部眼科	教 授
	白神 史雄	香川大学医学部眼科	教 授
	田野 保雄	大阪大学医学部眼科	教 授
	玉井 信	東北大学医学部眼科	教 授
	寺崎 浩子	名古屋大学頭頸部・感覚器外科	教 授
	中江 公裕	南九州大学健康栄養学部食品健康学科	教 授
	中澤 満	弘前大学医学部眼科	教 授
	湯沢 美都子	日本大学駿河台病院眼科	教 授
	吉村 長久	京都大学医学部眼科	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	九州大学医学部眼科 〒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
	沖崎 史枝	E-mail: fumie@eye.med.kyushu-u.ac.jp	秘 書
經理事務担当者	小野 厚志	九州大学医系学部等事務部財務課經理第一係 TEL : (092)642-6006 FAX : (092)642-6022 E-mail: ijzkeiri@jim.kyushu-u.ac.jp	第一經理係長

## 1. 研究目的

本研究は、難治性・進行性で現時点では予後不良とされる加齢黄斑変性、網膜色素変性に代表される遺伝性網脈絡膜変性、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治療法確立を目的とする。また視覚障害者についての実態調査を行い、日本における視覚障害の現況を把握する。

具体的には

### 1) 加齢黄斑変性に対する新たな治療法の検討

今後の人口高齢化に伴い確実に増加すると考えられる加齢黄斑変性(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) 加齢黄斑変性の病態解析

加齢黄斑変性の病態形成に炎症反応が関与していることが明らかになりつつあるが、まだその詳細は不明な点が多い。そこで、加齢黄斑変性の分子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。

### 3) 遺伝性網膜変性疾患の遺伝子解析

遺伝形式ごとに、現在まで報告されている原因遺伝子をスクリーニングし、遺伝子異常と臨床像について詳細に検討し、新しい変異とその遺伝子型と表現型の関連性、さらに遺伝子異常の頻度、人種差を明らかにする。特に日本人に高頻度に認められる原因遺伝子異常を検討し、日本人固有の遺伝子変異をデータベース化し、日本人患者を効率的かつ簡易的にスクリーニングできるシステムを構築する。また、原因遺伝子に加え重症度を左右する遺伝子を決定する。

### 4) 網膜色素変性に対する細胞移植治療の確立

網膜は中枢神経であり、網膜脈絡膜の変性萎縮疾患のように一旦障害されると視機能を回復することは困難で、治療法の開発が必要とされている。その一つが細胞移植による治療であり、移植に用いる細胞としては虹彩色素上皮細胞(iris pigment epithelium: IPE)、網膜色素上皮細胞(retinal pigment epithelium: RPE)が考えられる。さらに、近年幹細胞の概念が確立され、中枢神経の治療にも応用が期待されている。そこで、細胞の移植あるいは内在性幹細胞による網膜機能の再建を目指す。

### 5) 網膜色素変性に対する遺伝子治療

治療遺伝子を搭載した SIV (simian immunodeficiency virus) ベクターを用いたヒト網膜への遺伝子治療の臨床研究を施行するにあたり、その有効性・安全性を検討する。自然宿主でありヒトに近い大動物であるサルにおける網膜への遺伝子導入を行うことにより、網膜での遺伝子導入特性、体内動態、および安全性(急性毒性試験、および発癌性の有無)などの新しい知見が得られるのみでなく、現在我々がすすめているヒトに対する遺伝子治療研究の前臨床研究になりうる。この研究により安全性が確認できれば、現在までに全く有効な治療法のない網膜色素変性の新しい治療法として、遺伝子治療を臨床応用することができ、治療法として確立できる可能性がある。

### 6) 視神経萎縮における病態解明と治療法の確立

遺伝性網膜変性、とくに網膜色素変性は多彩な原因遺伝子によって引き起こされることが明らかになりつつあるが、その病態の本体である視細胞変性は最終的には視細胞のアポトーシスである。したがって薬

物治療法の考え方として視細胞のアポトーシスを抑制するような薬物を使用することが有効であるとの考えが成り立つ。本研究では視細胞アポトーシスのメカニズム解明や、薬剤によるアポトーシス抑制を試みる。

また、網膜が重度に障害されてしまった場合、人工視覚が唯一視力回復の手段である。我々は人工視覚電極を設置する可能性のある部位として上脈絡膜腔、強膜ポケット、視神経乳頭内の3つを想定している。そこで家兎眼においてそれぞれの部位に実際に試作電極を設置して網膜に電気刺激を行い、臨床応用の可能性を検討する。

7) 日本における視覚障害の現況把握および網膜色素変性に関する臨床調査個人票の見直し。

日本における視覚障害者についてその原因を調査する。また、網膜色素変性臨床個人調査票に関して、繰り返し行う必要が無いと考えられる検査については可能なだけ削除する方向で見直しを行う。

## 2. 研究方法

### 1) 加齢黄斑変性に対する新たな治療法の検討

まずは米国でのプロトコールに従い、血管造影所見や視力予後を指標として、日本人患者に対する光線力学的療法の有効性を国内多施設で検討した。

### 2) 加齢黄斑変性の病態解析

動物モデルについては、強レーザー光凝固を用いて脈絡膜新生血管(choroidal neovascularization: CNV)を誘導する創傷治癒モデルおよびドキシサイクリンを投与することで網膜色素上皮細胞に目的遺伝子の発現を開始するトランスジェニックマウスを用いた。この動物モデルにおいて、マクロファージを中心とした細胞動態および各種サイトカインの脈絡膜新生血管の形成における役割について検討した。培養系においては、網膜色素上皮細胞とマクロファージを接触・非接触状態で共培養することで、より vivo に近い状態を再現し、サイトカインやケモカインの発現変化および網膜色素上皮細胞のアポトーシスについて調べた。

また、加齢黄斑変性の病態形成に炎症反応が関与していることが明らかになってきていることから、ステロイド薬による治療効果を調べた。一つは脈絡膜血管新生モデル対し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、新生血管膜の形成に与える影響をみた。また生体分解性高分子を応用して、血管新生阻害薬を効率的に脈絡膜新生血管に送達させることができるドラッグデリバリーシステムを開発した。アプローチとしては、ナノスフェアなどの微粒子担体による経硝子体経路と、強膜を通して薬剤を送達させる経強膜経路の二つの可能性を試みた。また、薬剤の眼内動態を評価するだけでなく、実際に実験動物を用いて実験的脈絡膜新生血管を作製し、デリバリーシステムの

有効性および治療効果を判定した。

臨床的に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)や網膜内血管腫状増殖 (retinal angiomatous proliferation: RAP) についても病態、診断、治療法について検討した。

### 3) 遺伝性網膜変性疾患の遺伝子解析

倫理委員会の承認を得た同意書を用いて、インフォームドコンセントを得た後、網膜色素変性および類縁疾患患者から採血し、白血球分離したのち、全自動核酸抽出装置を用いて安全かつ迅速に白血球中のゲノムDNAを分離、精製した。患者のプライバシーは網膜変性グループを結成し厳重に管理した。各遺伝形式により、スクリーニングを行うプレートが異なるため、96穴プレートに同じ遺伝形式をもつ同濃度の患者のDNAを入れたプレートの作製を行った。原因遺伝子のプライマーのデザイン、PCR (polymerase chain reaction) 法の条件設定を、各エクソンことに行った。

PCR産物をアガロースゲルで確認後、ABI3100を用いてダイレクトシーケンシングを行い、塩基配列の決定を行った。得られた塩基配列は、変異があるか否かをSequence Navigatorを用いて解析した。変異を確認した症例では家系調査を行い、表現型と連鎖するか否かを確認した。さらに遺伝子異常がひきおこす臨床像について詳細に検討した。眼科的検査は、視力、色覚、眼底検査、網膜電位図、視野検査を行った。我々が遺伝子解析を行った結果、無発症例 (Aysmptomatic patients) が存在するFSCN2遺伝子異常をもつ4家系、PRPF31遺伝子異常をもつ2家系について説明と同意が得られた患者から、30cc採血をし、RNAを抽出しCodeLink Bioarray Array System (KURABOU) を用いて、10000万個のヒト遺伝子の発現を蛍光強度で比した。

#### 4) 細胞移植治療

脳由来神経栄養因子 (brain-derived nerve growth factor: BDNF) 遺伝子導入の虹彩色素上皮細胞の網膜色素変性患者に対して移植をする場合の安全性、効果を動物実験レベルで検討した。

BDNF 遺伝子導入虹彩色素上皮細胞 (BDNF-IPE) 移植の光障害に対する視細胞保護効果と BDNF 濃度の関係を検討するために  $1 \times 10^{12}$  capsids/ml に調整した精製ベクターを段階希釈し、それぞれの濃度をラット IPE に感染後、3, 7, 14 日後に細胞活性を MTS で確認した。希釈した AAV2-BDNF を IPE に感染後にラット網膜下に移植し、1 週間の光照射を負荷した。光照射後の視細胞保護効果を視細胞外顆粒層の厚さで比較検討した。

また、神経幹細胞 (あるいは前駆細胞) の移植による網膜機能再生のために、移植細胞源や培養条件による視細胞への分化能の違い、シナプス形成能などについて検討した。移植細胞の生着率や網膜侵入頻度の低い原因の一つに移植細胞と宿主網膜間のグリア瘢痕によるバリア形成があげられる。そこで、それを分解する酵素のひとつであるコンドロイチナーゼを新生マウス網膜細胞と一緒に MNU (N-methyl-N-nitrosourea) 腹腔内投与による網膜変性モデルマウスの網膜下に注入することで、コントロール群と比較した。

また、鳥類で報告されている内在性幹細胞による網膜再生が成体ほ乳類でも起こるかどうかを NMDA (N-methyl-D-aspartate) による網膜障害モデルに BrdU を投与して分裂細胞とその行動を検討した。分裂細胞を増加させるために Wnt3a を投与して効果を形態学的に調べた。

#### 5) 遺伝子治療

遺伝子導入については、発現量や発現期間の問題を解決すべく、SIV (Simian Immunodeficiency Virus)-based lentivirus vector を用いて、ラット網膜色素上皮細胞に安定した長期の遺伝子発現が可能か検討した。神経保護因子である色素上皮由来因子 (pigment epithelium-derived factor: PEDF) を網膜に導入・発現させ、既存の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も検討した。また SIV-PEDF、SIV-FGF-2 両ベクターを各々単独および同時投与 (各群とも total  $2.5 \times 10^7$  TU/ml に調整) にて RCS ラット 3 週齢の網膜下腔に注入し、遺伝子導入を行った。病理組織学的評価を光学顕微鏡的に、電気生理学的機能評価は網膜電図を用いて経時的に検討した。

#### 6) 視神経萎縮・人工視覚

視神経萎縮については、実験的網膜剥離モデルを作成し、視細胞のアポトーシスのメカニズムならびに、アポトーシスに陥った細胞の処理機構について組織学的に検討した。ラットの網膜下にヒアルロン酸を注入することで実験的網膜剥離を作製し、経時的に視細胞のアポトーシスに関する組織学的評価をした。

アポトーシス抑制に関しては、遺伝性網膜変性モデル動物である RCS ラットおよび rd マウスや、遺伝子改変網膜変性動物であるロドプシン P23H ラット、S334ter ラットを用いて、カルシウム拮抗剤などを用いて視細胞の機能や形態の保護効果を観察した。

人工視覚については家兎眼角膜輪部より 2~2.5mm 後方の強膜を切開し、試作人工視覚電極を上脈絡膜腔に挿入した。試作電極は長さ 130mm、厚さ 50 $\mu$ m、幅

2mm で、ポリイミド樹脂に8つの金電極をマウントしたものを用いた。対照電極を硝子体に挿入し、試作電極から網膜貫通型電気を流し網膜を刺激した。誘発電位を大脳皮質の視覚上野で測定し、電気刺激によって視覚が認知されるか否かを中枢神経系で評価した。また、網膜の障害を検討するため電流刺激ののちに眼球を摘出して組織切片を作製し、光学顕微鏡で観察した。

上脈絡膜腔は神経網膜に近く、効率的に網膜を電気刺激することができるが、手術的には比較的困難であることや網膜に近いことから網膜の障害も懸念される。従ってより安全な方法として強膜ポケットに電極を挿入する方法を同様に家兎眼で検討した。家兎眼の強膜に剪刀でポケットを作成し、同様に試作多点電極を挿入して網膜を刺激し、大脳皮質における誘発電位を測定した。組織学的検討も同様に行った。

視神経乳頭刺激電極は視神経乳頭内に直径 50  $\mu\text{m}$  の白金電極4本を経硝子体的に挿入した。4本のうち一本の電極を参照電極として電気刺激を行い、大脳皮質における誘発電位を測定した。また、刺激後の視神経乳頭における組織検討も行った。

## 7) 視覚障害調査

日本における視覚障害の現況把握については日本全国を9ブロックに分け、1ブロックから1都道府県を抽出して1年間に身体障害者手帳を新規に交付された視覚障害者について視覚障害の原因を調査した。

網膜色素変性臨床個人調査票に関して、疾患の性質上、新規・更新いずれの場合も同じ検査を繰り返し行うことは、患者にとって精神的・肉体的苦痛になるばかりでなく、それに要する医療費も決して無視できない。そこで、繰り返し行う必要が無いと考えられる検査については可能なだけ削除する方向で見直しを行

った。

## 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理指針(平成13年3月29日文科科学省・経済産業省告示第1号)を遵守する。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する。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。また細胞移植による治療に関しては当該施設の倫理委員会の許可のもとに行う。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う。また視覚障害者およびプライバシーの保護に十分配慮し、視覚障害者個人を識別できるような個人識別情報は一切収集しない。

### 3. 研究結果及び考察

#### 1) 加齢黄斑変性に対する新しい治療法の検討

光線力学的療法(photodynamic therapy: PDT)については既に国内多施設による臨床治験が終了し、米国ではあまり視力改善効果が期待できないと考えられていたが、日本人患者に対しては同等もしくはより有効である結果が得られた。平成 15 年 10 月に厚生労働省の認可が下り、平成 16 年 5 月より国内の一般治療施設においても治療が開始された。(資料 1)。

#### 2) 加齢黄斑変性の病態解析

加齢黄斑変性に対する疫学調査から、加齢以外に男性、喫煙、白血球数の増加が危険因子であることを明らかにした。脈絡膜新生血管の形成には局所炎症の関与が考えられているが、アポトーシスに陥った網膜色素上皮細胞には単球・マクロファージがしばしば隣接していることが知られているが、活性化マクロファージの接触により網膜色素上皮細胞がカスパーゼ 3 の作用を介してアポトーシスに陥ることを確認した。実験的脈絡膜血管新生においてマクロファージや腫瘍壊死因子 alpha (tumor necrosis factor- $\alpha$ : TNF- $\alpha$ ), インターロイキン-8 (interleukin-8: IL-8), monocyte chemotactic protein-1 (MCP1) などの催炎物質が関与することを確認した。さらに脈絡膜新生血管は網膜色素上皮細胞に血管内皮増殖因子(vascular endothelial growth factor: VEGF)を発現させるだけでなく、angiopoietin-2 を同時に発現させなければ脈絡膜新生血管が発生しなかった。

ドラッグデリバリーシステムに関しては、長期にわたる臨床使用の歴史がある黄斑ブロンベに形態の類似した後部上強膜インプラントを作製した(資料 2)。網脈絡膜組織内において 4 週間薬物有効濃度を維持し、また組織障害性についても問題がないことを確認

した。またヒト脈絡膜血管新生において、ステロイド薬の後部テノン嚢下注射および硝子体腔内注射が、新生血管膜の形成を有意に抑制した。

加齢黄斑変性の類縁疾患であるポリープ状脈絡膜血管症(polypoidal chorioidal vasculopathy: PCV)は眼底に見られる橙赤色病変とインドシアニングリーン(indocyanine green: ICG) 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。経過観察中にはポリープ状病巣の消失および脈絡膜の血管の走行の変化が起こりうることを確認し、また視力予後のよくない造影所見の知見を得ることができた。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。網膜内血管腫状増殖(retinal angiomatous proliferation: RAP) に対しては光凝固が可能な場合は光凝固を繰り返すこと、光凝固が困難な症例は他の治療にもあまり反応しないが、観血的手術により新生血管を抜去することで視力を維持できる可能性が示された(資料 3)。

#### 3) 遺伝性網膜変性疾患の遺伝子解析

日本人常染色体優性網膜色素変性 96 家系に対してすべての原因遺伝子を用いてスクリーニングし、日本人患者における遺伝子変異の種類と頻度を同定した。海外ではロドプシン遺伝子変異は常染色体優性網膜色素変性の 25%に認められるが日本人では約 4%で非常に低頻度である。RP1 遺伝子変異も海外では約 8%に認められるが日本人では 1%で低頻度である。さらに海外での mutational hot spots であるロドプシン遺伝子 Pro23His、Pro347Leu 変異、RP1 遺伝子の Arg677X 変異、IMPDH1 遺伝子の Asp226Asn 変異は日本人患者では hot spots にならないことを証明した。PRPF31, Peripherin/RDS 遺伝子、HPRP3 遺伝子、IMPDH 1 遺伝子はほぼ海外と同頻

度である。一方、FSCN2 遺伝子 208deG 変異は日本人患者のみに認められ、日本人固有の遺伝子異常であることを証明した。以上のことより、遺伝子変異には人種差が大きく関与し、日本人は固有の遺伝子異常をもつ可能性を示した。我々の遺伝子変異解析の結果と海外からの遺伝子変異の報告をデータベース化し、日本人患者の主要な遺伝子変異を簡易的にかつ効率的に解析できるシステムを構築した。これにより、一日で解析すべき場所をスクリーニングすることを可能にした（資料4）。

マイクロアレイを用いて、重症度の関与する遺伝子を検討した結果、無発症例1例、発症例4例で2倍以上発現量に差が生じた遺伝子は計15遺伝子、発症例で2倍以上発現が上昇していた遺伝子で9遺伝子、無発症例で2倍以上発現が上昇していた遺伝子は6遺伝子であった（資料5）。

発現量の差が認められた遺伝子は転写因子、ミトコンドリアのエネルギー代謝、血管新生、酸素輸送、グルタミン酸代謝、アポトーシス、細胞の構造、分化に関与する遺伝子である。とくにグルタミン酸代謝、アポトーシス、細胞の構造、分化に関与する遺伝子の発現量の差が大きく、表現型の多様性には原因遺伝子異常のみならず、他の遺伝子の関与が関わっていることが示唆された。

#### 4) 細胞移植治療

遺伝子導入虹彩色素上皮移植の臨床応用にむけて AAV2 - BDNF 感染濃度の検討を施行した。AAV2-BDNF はラット IPE がコンフルエントの培養状態で感染させれば細胞活性に影響はなかった。この結果は感染後 3, 7, 14 日も同様であった。AAV2-BDNF 感染濃度は  $1 \times 10^5$  capsids/ml 以下になると、視細胞保護効果は AAV2-LacZ-IPE や IPE のみの移植と統計学的

に有意差は見られなかった。 $1 \times 10^7$  capsids/ml 以上になると保護効果が見られたが AAV2-BDNF は  $1 \times 10^9$  capsids/ml 前後で最も効果があると推測された（資料6）。

神経幹細胞（あるいは前駆細胞）の移植による網膜機能再生に関しては、成体ラット虹彩細胞を2日間培養後、レトロウイルスベクターを用いて Crx を導入し、分化誘導培地で14日間培養すると Crx 導入細胞はロドプシン陽性細胞となった。さらに RT-PCR で S 抗原、リカバリン、ロドプシンキナーゼなどの視細胞特異遺伝子も発現した。電気生理学的には遺伝子導入虹彩細胞は静止電位が遺伝子導入していない細胞と異なり、視細胞に近い静止電位を持っていた。また光刺激にตอบสนองして、過分極（視細胞特有の反応）を示した。網膜器官培養との共培養では数個の細胞が網膜内に侵入し、生着していた。サルの虹彩細胞では同様に Crx 遺伝子導入を行ってもロドプシン陽性細胞とはならず、Crx と NeuroD を共に導入することではじめてロドプシン陽性細胞が得られた。その他、ラットでは otx2 の導入でもロドプシン陽性細胞が得られたが、Nrl や NeuroD ではロドプシン陽性細胞は認めなかった。

移植細胞の生着率について、コンドロイチナーゼ投与群は、コントロール群と比較して、細胞がより多く網膜に侵入し、突起を網膜内に延ばし、シナプス蛋白と2重染色を示す細胞が多く見られた。

内在性幹細胞による網膜再生の実験では NMDA 硝子体注入後の変性網膜を器官培養し、培地に Wnt3a を加えると、明らかに分裂細胞が増加した。前駆細胞の増殖因子である Wnt によって分裂細胞が増加したことは、分裂細胞が未分化性を有することと、網膜再生を促進させる可能性を示唆した（資料7）。

## 5) 遺伝子治療

遺伝子を直接導入する戦略として、長期発現型のウイルスベクターであるサル由来レンチウイルスベクターを独自に開発し、その網膜への遺伝子導入特性を明らかにした。さらに、網膜色素変性モデルである RCS ラットの網膜に神経保護因子である PEDF 遺伝子や線維芽細胞増殖因子(fibroblast growth factor: FGF) の遺伝子を導入することによって、その視細胞変性を抑制可能であることを明らかにした(資料 8)。また、SIV ベクターを用いた PEDF、FGF-2 の両遺伝子発現によって、相乗的神経保護効果が得られた。

## 6) 視神経萎縮・人工視覚

実験的網膜剥離においては視細胞がアポトーシスに陥るが、アポトーシスに陥った細胞は、網膜下腔に浸潤した骨髄由来マクロファージによって処理されることによって二次的ネクローシスを抑制し、残存組織を保護する機構が存在する可能性を示した。これに対し、網膜細胞死をいかに防ぐかという防ぐ方向性でさらに網膜色素変性モデルを用いて研究を進めたところ、今現在使用可能であるカルシウム拮抗薬が、色素変性モデルラットの網膜細胞のアポトーシスを抑制し構造的・機能的に保護する作用を有することを明らかにした(資料 9)。

人工視覚については、上脈絡膜腔から網膜貫通型電流で網膜を刺激すると電気刺激の大きさに比例して大脳皮質で視覚誘発電位が測定された(資料 10)。視覚誘発電位を生じるのに必要な電流刺激の閾値は  $66.0 \pm 32.1 \mu\text{A}$  (33.0 nC) であった。刺激後の組織的検索では特に網膜に障害は認めなかった。強膜ポケットからの刺激でも視覚誘発電位を得ることができた。その際に必要な電気刺激の閾値は  $55.0 \pm 10.0 \mu\text{A}$  (27.5 nC) であった。強膜ポケット法では上脈絡膜腔法と同様、

刺激後に網膜の障害は組織的には認めなかった。乳頭刺激型電極では閾値 6.25 nC で大脳皮質に電位を誘発した。組織学的検討では視神経乳頭の電極刺入部位に炎症反応が見られ、神経組織の損傷が確認された。

## 7) 視覚障害実態調査

日本における視覚障害原因の第 1 位は緑内障であった。2 位以下は糖尿病網膜症、視神経・網脈絡膜萎縮、白内障、脳卒中・脳腫瘍、高度近視の順であった。(中間報告)

網膜色素変性症臨床調査個人票の作成に関し、アンケート調査を行い、新たな調査票を作成した。その結果、新規の場合は不可欠の検査である造影検査や網膜電図の検査を、更新の場合は削除することとした。

## 4. 評価

### 1) 達成度について

#### (1) 加齢黄斑変性に対する新たな治療法の検討

加齢黄斑変性に対する光線力学的療法は日本人に対して有効であり、欧米のプロトコルをそのまま適用できた。ほぼ当初の目的を達成できたと考える。

#### (2) 加齢黄斑変性の病態解析

加齢黄斑変性の病態は非常に複雑であるが、血管新生性疾患の一面と炎症性疾患という一面を明らかにし、それぞれにおいて各種細胞の関与があることを確認した。ドラッグデリバリーシステムに関しては強膜内インプラントを用いて家兎眼での有効性、安全性を確認できた。薬物療法に関しては徐放性ステロイドであるトリアムシノロンの投与の有効性を確認した。薬物治療については複数の新薬の第Ⅲ相臨床試験が本邦でもはじまっている。加齢黄斑変性の病態などは今後も研究を積み上げる必要があるが、新薬の有効性が確認できれば研究として実りの時期を迎えたと言える。

#### (3) 遺伝性網膜変性疾患の遺伝子解析

遺伝子診断については、常染色体優性網膜色素変性の全遺伝子を用いてスクリーニングを施行し、日本人患者の遺伝子変異のデータベース化、簡易的かつ効率的変異解析システムを構築し十分目標は達成した。さらに遺伝子診断の結果を踏まえ”網膜色素変性診断の手引き“を改訂したことも意義深い。またマイクロアレイを用いた発症予防に関する因子の解析はきわめて独創的である。

#### (4) 細胞移植治療

遺伝子導入虹彩色素上皮細胞 (BDNF-IPE) の BDNF の安全性、適正な濃度についても基礎実験を重ね臨床応用に十分近づけることができた。

眼球由来の内在性幹細胞を用いた細胞移植による網膜再生は機能的網膜再生にはまだ遠いものの、視細胞へと分化が進んだ細胞を網膜内へ生着させることはできた。しかし、細胞源に関しては神経幹細胞では限界があり、胚性幹細胞を使えばより進んだ研究となる可能性がある。臨床応用に向けては倫理的な問題もクリアしなければならないが、3年間での目標は概ね達成できた。

#### (5) 遺伝子治療

神経保護因子の遺伝子を搭載したサル由来レンチウイルスベクターを用いた遺伝子治療は、原因遺伝子によらず有効であり、多様なヒト網膜色素変性に対応できることが示唆された。現在感染宿主であるサル（霊長類）で安全性試験を行うに至っており、ヒトへの応用の直前まできている。

#### (6) 視神経萎縮・人工視覚

遺伝性網膜変性症の薬物治療では RCS ラットばかりでなく rd マウスやその他の遺伝子改変ラットを用いた検索にてカルシウム拮抗薬の効果の普遍性が示されようとしている。これが実際の網膜色素変性患者にも有効であることを示す多施設無作為試験へと繋がることを期待する。

人工視覚に関し、上脈絡膜腔設置型電極と強膜ポケット設置型電極の両者がともに実用的な電気刺激によって大脳皮質に誘発電位を生じせしめたことは、人工視覚の実用化という面で非常に意義が大きい。しかしながら今回検討した網膜組織は電気刺激後短期の

もので、今後は長期間の刺激による変化を検討するべきである。視神経乳頭設置型は直接視神経を刺激するために電気刺激を効率的に中枢に伝達できる反面、今回の検討のように組織障害を生じる可能性が高い。以上から脈絡膜側から刺激する人工視覚チップは将来非常に有望であると考えられるが、ヒト眼は家兎眼より強膜が厚く電流の伝達効率が低下することが危惧され、いかに網膜に近い位置にチップを縫着するかなどの課題もクリアされなければならない。今後は実際ヒトへの応用を考慮するとともに、ヒト眼の特異性も考慮して改良を重ねていくべきである。

## (7) 視覚障害実態調査

新規に交付された視覚障害者について視覚障害の原因を調査したことによって、現時点での視覚障害の問題点が明確化できた。

網膜色素変性症臨床個人調査票に関して、単に患者にとって精神的・肉体的苦痛になるばかりでなく、それに要する医療費も決して無視できない検査を削除することによって、効率的な診療と医療費削減につながったものとする。

## 2) 研究成果の学術的、国際的、社会的意義

### (1) 加齢黄斑変性に対する新たな治療法の検討

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、我が国でも高齢化が進む近い将来には失明原因の主因になると予測され、社会的にもその病態解明・治療法開発は重要課題の一つである。これまで脈絡膜新生血管に対して、レーザー治療や低容量放射線照射が進行防止に有効な症例もあることが確認され

てはいるものの、少なくとも視力改善効果は満足できるものではなかった。これに対し、我が国および欧米で光線力学的療法が開発され、我が国で加齢黄斑変性による失明者が激増する前に、よりよい治療法を確立する意義は大きい。

### (2) 加齢黄斑変性の病態解析

加齢黄斑変性研究は上記のように重要である。我々の研究は加齢黄斑変性のよりよいモデル動物の作製や治療の開発につながるものとする。また我が国には加齢黄斑変性の類縁疾患であるポリープ状脈絡膜血管症の頻度が高く、その研究は世界のトップにある。経強膜薬物送達システムは米国でも検討されているが、我々のグループがこの分野の研究をリードしている。

### (3) 遺伝性網膜変性疾患の遺伝子解析

現在網膜色素変性に関する遺伝子異常の検索は欧米先進国を中心に活発に行われており、新しい遺伝子異常の発見および遺伝子型と表現型の関連に関する知見の集積が行われている段階である。本研究は世界の研究の流れの中にあり、その発展の一翼を担い、特に日本人など黄色人種、東洋人における遺伝子異常の特徴をさぐる重要な位置を占める。本研究により我々は欧米での研究知見と東洋人との間の人種差による遺伝子異常や表現型の特徴の差の有無を検索できるという立場にある。

### (4) 細胞移植治療

眼球由来の前駆細胞に視細胞分化に必要な遺伝子を導入することによって、視細胞特異遺伝子の発現や光に対する反応を確認することができた。さらに宿主網膜の細胞外マトリックスを修飾することによって、

細胞の移植効率を上昇させることを示した。また内在性幹細胞による真の網膜再生の可能性もあるが、いずれも今後網膜機能の再生を確認する必要がある。

#### (5) 遺伝子治療

遺伝子治療に用いたサル由来レンチウイルスベクターは我が国で独自に開発されたものであり、特許もほぼ国内に所有していることから、今後研究を進め臨床応用する際には非常に有利であり、経済的にもその意味は大きい。また現在研究している神経保護因子の遺伝子導入は遺伝子異常の部位に関わらず効果が期待できる点も臨床応用へ近い位置にいることを示唆する。

#### (6) 視神経萎縮・人工視覚

視細胞変性の分子機構の解明は、分子メカニズムに基づいた優れた治療法を開発しようとする方向のもとで研究が進行している。これは難病治療にむけての国際的研究競争に日本が生き残る上で重要であるばかりでなく、網膜色素変性や緑内障といった難治性疾患に苦しむ患者に対する医学研究者の責務とも言える。

人工視覚装置は欧米の一部で開発がすすめられているが、ほとんどは白人に対するもので、我々日本人を含む黄色人種でのデータはきわめて少ない。わが国で人工視覚装置が開発されれば、アジアの他の発展途上国にもきわめて重要な意味を持つものと思われる。また、人工視覚は加齢黄斑変性だけでなく同様に難治性疾患として知られている網膜色素変性症の患者にも大きな福音となる。人工視覚システムを実用化することは、このように難病を持つ多くの人々にとって非常に意義があるものと考えられる。また、現段階で人工視覚装置を完全に実用化しているグループは国際

的にもなく、これを開発することは世界をリードすることとなる。

#### (7) 視覚障害実態調査

視覚障害の実態を明らかにすることは、第一次予防としての視覚障害予防対策を進める上で極めて重要であるばかりでなく、早期発見・早期治療や社会復帰、QOLの向上といった第二次予防、第三次予防の観点からも重要である。視覚障害の実態調査は、視覚障害に関する医学的、社会的、行政的対策をたてるための基礎資料を得ることが目的であり、わが国の医療、保健、福祉の分野並びに国際保健の向上に寄与するところが少なからずあると期待される。

### 3) 今後の展望について

#### (1) 加齢黄斑変性に対する新たな治療法の検討

光線力学的療法における長期経過の調査を行う。また光線力学的療法は治療後の脈絡膜毛細血管の閉塞や局所での血管新生増殖因子の発現増強が見られるため、併用して行う治療を開発していく。

#### (2) 加齢黄斑変性の病態解析

加齢黄斑変性の病態解明を進め、より実際の病態に沿ったモデル動物の開発を進める。また解明された病態から導き出された新しい治療の開発および日本人に対する有効性の検討を行う。また新たなドラッグデリバリーシステムとの併用によって、より効率的な治療が期待される。ポリーブ状脈絡膜血管症については国際分類の提唱を行う。

### (3) 遺伝性網膜変性疾患の遺伝子解析

網膜色素変性の遺伝子変異は、その遺伝子異常と種類は人種差があり日本人には固有の遺伝子異常が存在する、遺伝子変異の人種差に着目し高頻度変異を用いた解析システムを構築した事は、遺伝子治療を行う上で重要な役割をしめる。マイクロアレイを用いた解析により原因遺伝子のみならず他の遺伝子も表現型に関与し、それらを今後解析していくことで予防医学の面からもアプローチすることが可能になる。基礎実験、臨床応用により、治療法開発への大きな足がかりを築いたと考えられる。網膜色素変性症については予防医学について着目し遺伝子解析と疫学的研究を絡めた検討を行っていく。

### (4) 細胞移植治療

細胞移植については細胞の生着率や分化能を高めるための研究を引き続き行い、機能的網膜再生への道筋をつける。

### (5) 遺伝子治療

SIVベクターを用いての複数の神経栄養因子発現は、より低いベクター濃度でより高い治療効果が得られることを示唆し、網膜変性疾患における安全かつ有効な遺伝子治療として有望な方法論であると考えられた。

現在霊長類への安全性を検討中であるが、安全性が証明されればヒトへの臨床応用を計画から実行に移したいと考えている。

### (6) 視神経萎縮・人工視覚

視神経萎縮については網膜色素変性モデルや、人工的に高眼圧を作製したラットに対する視神経傷害機構をさらに分子レベルで検索するとともに各種緑内

障治療薬の視神経保護効果を遺伝子レベルや形態レベルで検証し、視神経保護を視点においた新しい視神経萎縮・緑内障治療プロトコルの確立をめざす。

人工視覚システムについては今回まで検討したいくつかのシステムのうち最適なものをひとつ選択してさらに開発を進めていく予定である。刺激電極の安全性が確立されればヒト眼への応用も可能であり、現在準備中である。

### (7) 視覚障害調査

視覚障害の現状を正確に把握し、今後の視覚障害者に対する行政への提言を行う。

## 4) 研究内容の効率性について

### (1) 加齢黄斑変性に対する新たな治療法の検討

光線力学的療法は日本人に対する高い有効性が示され、中心窩下脈絡膜新生血管を伴う加齢黄斑変性の第1選択の治療として確立されるまで時間がかからなかったことから非常に順調であったと思われる。

### (2) 加齢黄斑変性の病態解析

加齢黄斑変性の基礎研究および臨床研究では数多くの発表・報告が行われ、多くの成果が上がっている。

### (3) 遺伝性網膜変性疾患の遺伝子解析

網膜色素変性症の遺伝子診断は遺伝子解析の技術的進歩の加速のため、飛躍的に効率化した。

### (4) 細胞移植治療

細胞移植に関しては最終目標である網膜再生という非常に高い目標に対して、十分なエビデンスを蓄積

しつとあると確信する。

#### (5) 遺伝子治療

遺伝子治療ではモデル動物で有効性が示され、まもなく霊長類での安全性試験も終了する予定で、予想を上回る効率であった。

#### (6) 視神経萎縮・人工視覚

視神経萎縮のメカニズム徐々に解明される一方で、対症的ではあるが視細胞のアポトーシスを抑制するという治療法のアプローチも選択肢の一つとすることができた。人工視覚の開発に関しては今回試作した人工視覚装置で安全性および有用性を家兔眼で確認した。ヒト眼への応用も比較的近い将来可能であると予測され、比較的順調であったと考えている。

#### (7) 視覚障害調査

視覚障害の原因調査はマンパワーを必要とするが、予定通り調査は完了しており当初の予定通りの効率であった。網膜色素変性症の調査票見直しは非常に効率よく行うことができ、日本眼科学会の承認を経て新しい調査票が現在用いられている。

## 5. 結論

我々の日常生活の大半は視覚情報に依存しており、そのよりどころを人生の途中で失う苦痛・恐怖は計り知れない。これまでは、本研究班が対象とする難治性・進行性疾患は世界の予防・治療可能な失明者を根絶することを目的とした VISION2020 の対象疾患外であったかもしれない。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るべく、さらに本研究を発展させていきたい。

## 6. 研究発表

### 1) 国内

口頭発表	1042
原著論文による発表	251
それ以外	217

#### (主な学会発表)

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 眞：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

部への薬物送達を試み. 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囊下注射の併用療法. 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

高橋政代：網膜の機能再生を目指して. 学術会議公開シンポジウムー感覚器機能障害の克服ー、東京、2004

#### (主な論文発表)

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 眞  
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

## 2) 海外

口頭発表	328
原著論文による発表	385
それ以外	21

### (主な学会発表)

Ishibashi T: The Japanese AMD trial: a review of one-year results & two case histories. XXIIIrd Meeting of the Club Jules Gonin. Montreux, Switzerland, 2002

Miyazaki M, Ikeda Y, Ishibashi T, et al.: Simian lentiviral vector-mediated retinal gene transfer of pigment epithelium-derived factor protects retinal degeneration and electrical defect in Royal College of Surgeons rats. ARVO, Ft. Lauderdale, USA, 2003

Tamai M: Autologous cultured IPE transplantation in wet type AMD. Special Vision Club Lecture, Dean McGee Eye Institute, Oklahoma Medical Center Oklahoma City, 2004

Yanagi Y, Tamaki Y, Inoue Y, Araie M: Growth and molecular properties of retinal progenitor cells from distinct portions of the retina • ARVO, Ft. Lauderdale, USA, 2004.

Ohji M, Sakaguchi H, Gomi F, Tano Y. Pneumatic displacement of submacular hemorrhage: Is TPA essential? XXIV Club Jules Gonin, Athens, Greece, 2004

Sato A, Katai N, Shibuki H, Kukuchi T, Yoshimura N. Characterization of gene expression changes in oxygen-induced retinopathy at the early stage of retinal neovascularization. ARVO, Ft. Lauderdale, USA, 2004.

Ohguro H, Ohguro I, Mamiya K, Ishikawa F, Metoki T, Yamazaki H, Miyagawa Y, Takano Y, Ito T, **Nakazawa M** : Prolonged survival of the phosphorylated form of rhodopsin during dark adaptation of Royal College Surgeons rat. ARVO, Ft. Lauderdale, USA, 2004.

Nozaki M, Okabe K, Okabe J, **Ogura Y**: Intraocular pharmacokinetics of triamcinolone acetonide after intravitreal and posterior sub-Tenon's capsule injections. ARVO, Fort Lauderdale, USA, 2004

**Yuzawa M**: Transpupillary thermotherapy (Symposium: Current non-surgical management of exudative age-related macular degeneration), 29<sup>th</sup> International Congress Of Ophthalmology, Sydney ,Australia,2002.

**Shiraga F**. Combined transpupillary thermotherapy and posterior sub-Tenon's injection of triamcinolone acetonide for subfoveal choroidal neovascularization. The 27th Annual Meeting of the Macula Society, Las Vegas, USA 2004

Miyake Y, Kondo H, **Terasaki H**: Analysis of waveforms of focal macular ERGs in 2939 patients with macular diseases. The 24th Meeting of the Club Jules Gonin, Athens, Greece, 2004

Sonoda S, Uchino E, **Sakamoto T**. Sonoporation-mediated gene transfer to the eye. ARVO Ft. Lauderdale, USA,2004

**Takahashi M.**: Adult iris cells and ES cells as sources of retinal transplantation. ARVO Minisymposium, Florida, USA,2004

(主な論文発表)

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's crystalline corneoretinal dystrophy. *Am J Ophthalmol* 139:894-899,2005

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* 139:377-380,2005
- 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 Excyclotorsion 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*, 89:602-607,2005
- 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

## 7. 知的所有権の出願・取得状況（予定を含む）

### 1) 特許取得 7件

・「磁性ナノ微粒子を用いたバイオターゲティング」  
(16年国際特許申請中)

・「光干渉断層計による厚みのリング状表示、および眼底写真の重ね合わせ」(16年特許申請中)

・「遺伝子導入方法及び薬剤導入方法」  
(現在公開中：公開番号・特開 2001-37476)

・「水晶体細胞の作成方法、およびこの方法によって得られる水晶体細胞」  
(特許出願：出願番号 特願 2003-96002)  
(PCT 出願：国際出願番号 PCT/JP2004/003848)

・「Low Vision Evaluator」 (Patent No US6802608B1)

・「希少糖の生理活性作用の利用方法および希少糖を配合した組成物」  
2003年5月22日特許出願  
(整理番号：PCT-03-RS01)

・その他1件

### 2) 実用新案登録 1件

・硝子体手術用コンタクトレンズ補助リング  
(14年5月)

### 3) その他 なし