

200731019B

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  
H17 - 19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20(2008)年3月

## 網膜脈絡膜・視神経萎縮症調査研究班

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	新家 眞	東京大学眼科	教授
	小椋祐一郎	名古屋市立大学眼科	教授
	坂本 泰二	鹿児島大学眼科	教授
	白神 史雄	香川大学眼科	教授
	田野 保雄	大阪大学眼科	教授
	寺崎 浩子	名古屋大学眼科	教授
	中江 公裕	獨協医科大学WHO協力センター	主任研究員
	中澤 満	弘前大学眼科	教授
	湯沢美都子	日本大学眼科	教授
	吉村 長久	京都大学眼科	教授
研究協力者	村田 敏規	信州大学眼科	教授
	高橋 政代	理化学研究所 発生再生科学総合研究センター	チームリーダー
	高橋 寛二	関西医科大学眼科	准教授
事務局	畑 快右	九州大学眼科 〒812-8582 福岡市東区馬出 3-1-1 TEL : (092)642-5648 FAX : (092)642-5663 E-mail: hatachan@med.kyushu-u.ac.jp	准教授
	沖崎 史枝	E-mail: fumie@eye.med.kyushu-u.ac.jp	秘書
経理事務担当	倉富 剛生	九州大学医系学部等事務部 財務課経理第一係 TEL (092) 642-6006 FAX (092) 642-6022 E-mail: ijzkeiri@jimmu.kyushu-u.ac.jp	文部科学 事務官

## 1. 研究目的

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とともに、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、および視神経萎縮症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の確立を目的とする。

### 1) 日本における視覚障害の現況把握

最近の日本における視覚障害者について、その原因を調査する。

### 2) 加齢黄斑変性の診断基準の作成

本研究班が明らかにしたように、加齢黄斑変性は我が国の高齢者の失明原因の第4位となり、確実に増加傾向にある。正確な診断の重要性が増すとともに、様々な新しい治療が検討されている。そこで、我が国において一般眼科医にも通用し、広く用いられる標準的な加齢黄斑変性の診断基準を作成し確立する。

### 3) 加齢黄斑変性の病態解析

加齢黄斑変性(**age-related macular degeneration: AMD**)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、加齢黄斑変性の遺伝子特性・分子メカニズムをより詳細に解明し、根拠に基づいた治療法を開発する。

### 4) 加齢黄斑変性に対する日本人に適した治療法の検討

人口の高齢化に伴い確実に増加傾向にある加齢黄斑変性に対し、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、日本人患者に適した施行法について検討する。

### 5) 加齢黄斑変性に対する新規治療法の開発

加齢黄斑変性に対し、これまでの概念とは異なる新たな治療法開発について検討する(脈絡膜血管新生における骨髄由来幹細胞の役割に関する検討)。

### 6) 網膜変性に対する薬物治療の確立

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を薬剤により遅延させ、薬物治療による長期の視機能維持が可能なものか検討する。

### 7) 網膜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は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。

細胞移植による治療がその一つで、移植源として各種幹細胞から誘導した細胞の移植、あるいは内在性幹細胞による網膜機能の再建を目指す。

### 8) 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・安全性を動物を用いて検討する。

### 9) 視神経萎縮に対する人工視覚の開発

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。そこで経強膜的刺激電極(**STS**)による人工視覚の開発を行う。

## 2. 研究方法

### 1) 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。

### 2) 加齢黄斑変性の診断基準の作成

加齢黄斑変性の専門家4名からなる加齢黄斑変性診断基準作成ワーキンググループで2回の会合を持ち、昨年の班会議で報告した加齢黄斑変性の分類をもとに、分類の改訂を行い、確診例の規定を含めた診断基準を作成した。また、診断基準の各項目に合致する標準的な眼底写真と画像所見を再確認した。

### 3) 加齢黄斑変性の病態解析

遺伝子特性について・・・滲出型加齢黄斑変性(AMD)の危険因子としてHTRA1プロモーター領域の一塩基多型(rs11200638、A/G)が、白人および東南アジア民族において報告されており、本多型の日本人の滲出型AMDへの寄与を検討した。蛍光眼底造影検査を含めて診断、書面で同意を得た患者を患者群とした。患者群は滲出型AMD237例(うちPCV165例)。対照群はPharma SNP Consortiumから得た日本全国から収集された530例。いずれも血縁関係はない。連結匿名化した末梢血からDNAを抽出し、HTRA1プロモーター領域のrs11200638を含む約300塩基対の範囲をリシークエンスした。研究全体はそれぞれの施設の倫理委員会で承認されたプロトコールにそっている。

動物モデルについて・・・加齢黄斑変性の確実な危険因子である「加齢」により眼内にまず起こる変化は、網膜色素上皮(RPE: retinal pigment epithelium)細胞内へのリポフスチンの蓄積である。そこで、リポフスチン内に多く存在すると考えられる最終糖化産物(AGE: advanced glycation end products)からなる微粒子(リポフスチン模倣微粒子)を作製し家兔の網膜下に注入することにより、新しい加齢黄斑変性モデルを開発した。

### 4) 加齢黄斑変性に対する日本人に適した治療法の検討

まずは米国でのプロトコールに従い、fluorescein 蛍光眼底造影(FA)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が、症例によって有効性がかなり異なっていたり、組織障害性が強いと考えられた。そこでindocyanine green angiography(IA)にそった照射野の決定や、照射エネルギーの軽減を試みた。

### 5) 加齢黄斑変性に対する新規治療法の開発

骨髄移植モデルを利用し、>40wマウスに致死量放射線照射後、別の>40wマウスの骨髄を移植したマウス(>40w+>40w BM)と、>40wマウスに8wマウスの骨髄を移植したマウス(>40w+8w)の2種類のマウスを作製した。骨髄移植は致死量放射線照射後、別のマウス由来骨髄細胞を静脈注射することによって行った。骨髄移植1ヶ月後に、ダイオードレーザーにてブルッフ膜破碎を行い、脈絡膜新生血管(CNV)を誘導した。レーザー照射2週後に眼球摘出、パラフィン固定、連続切片を作製し、CNVの最大直径、最大厚、最大面積を定量した。また、骨髄由来幹細胞の機能測定としてマクロファージ系コロニー形成能を用いた。

## 6) 網膜変性に対する薬物治療の確立

ホモ rds マウスからその野生型 balb/c マウスとのヘテロ rds マウスを作成した。ヘテロ rds マウスにニルバジピンを連日腹腔内投与し網膜電図の経過を非投与群と比較した。ニルバジピン投与に伴う網膜細胞での遺伝子発現の変化をマイクロアレイ法にて網羅的に検索した。高発現を示した成長因子についてリアルタイム RT-PCR 法とウェスタンブロット法および網膜の免疫染色をおこない発現を検討した。また、視細胞外節の形態について光顕・電顕レベルで両群を比較した。

## 7) 網膜変性に対する細胞移植治療の確立

サルおよびヒト ES 細胞をフィーダー細胞非存在下において血清不含培地中で浮遊培養を行い、細胞塊を形成させた。その細胞塊を poly-D-Lysine/Fibronectin/Laminin でコートした culture slide に播種し、免疫細胞化学、RT-PCR および電子顕微鏡により評価した。

## 8) 遺伝子治療

搭載遺伝子の発現期間や遺伝子導入による安全性を検討すべく、SIV (Simian Immunodeficiency Virus)-based lentivirus vector を用いて、神経保護因子である色素上皮由来因子 PEDF (pigment epithelium-derived factor) をカニクイザルの網膜下に投与した。術後、定期的に採血・採尿・バイタルサインを記録した。また、眼科的検査として細隙灯検査・眼底検査・蛍光眼底造影検査・網膜電図の記録を定期的に行った。

また、網膜由来細胞株 R28 を用い、血清除去によりアポトーシスを誘導し、recombinant PEDF の作用を検討した。さらに、SIV ベクターを用いて疾患

モデル動物である RCS ラットの網膜下に遺伝子導入し、AIF(apoptosis-inducing factor)の細胞内局在を蛍光免疫染色にて確認し PEDF の神経保護効果のメカニズムについて検討した。

## 9) 視神経萎縮・人工視覚

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。

また、網膜色素変性により失明した患者ボランティア 2名に対し STS の埋植、電気刺激を行った。

### 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 文部科学省・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ブ  
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) 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、網膜色素変性、黄斑変性、高度近視の順であった。1989年の調査時と比較して顕著な増加の見られた原因疾患は緑内障、黄斑変性であった。高齢者の激増がその背景にあると考えられる。また糖尿病網膜症は前回の1位から2位へと順位は落としたが、比率はむしろ19%と、前回調査時より上昇している事も明らかとなった。網膜色素変性は比率も平均年齢もあまり変化がなかった(資料1)。

#### 2) 加齢黄斑変性の診断基準の作成

日本での加齢黄斑変性診断基準を作成した(資料2)。

#### 3) 加齢黄斑変性の病態解析

遺伝子特性について・・・HTRA1プロモーター領域の一塩基多型(rs11200638、A/G)のリスクアレル(A)頻度は対照群で36.7%であり、日本人で頻度の高いアレルであった。滲出型AMDでは58.9%と非常に高い有意差( $p=5.98 \times 10^{-16}$ )を認め、リスクアレルAをホモ接合でもつもののOdds比は5.66であった(資料3)。狭義AMD(58.3%)とポリープ状脈絡膜血管症(PCV(59.0%))を分けて検討しても、いずれも対照群と高い有意差を認め、両者間にアレル頻度差はなかった。日本人の滲出型AMDに強く関連するSNPが初めて示された。AMDとPCVはいずれも強い関連を本多型に示した。AMDとPCVは本多型からは区別することができなかった。

動物モデルについて・・・リポフスチン模倣微粒子を網膜下に投与1週目にはRPE細胞の貪食作用によ

りRPE内に移行しており、リポフスチン蓄積と類似した状態となった。眼底には、加齢眼にしばしば認め、加齢黄斑変性発症に関与すると言われる眼底異常自発蛍光と類似パターンの自発蛍光が観察された。また、4週目にはドルーゼン様沈着物を認めるようになり、その後12週目にかけて蛍光眼底造影で脈絡膜新生血管と考えられる蛍光漏出を認めた。組織的にはドルーゼン様沈着物の他に、時に網膜下およびRPE下の脈絡膜新生血管、遊走してきたマクロファージを認めた(資料4)。リポフスチン模倣微粒子による家兔眼加齢黄斑変性モデルは、リポフスチンの病態への関わりを解明する上で有用であると考えられる。

#### 4) 加齢黄斑変性に対する日本人に適した治療法の検討

視力の良好なポリープ状脈絡膜血管症や小さいCNVに対しては、現在行っている標準PDTの照射エネルギー( $50\text{J}/\text{cm}^2$ )は大きすぎ、脈絡膜血管閉塞による視力低下やPDTそのものによるVEGFのupregulationなどが懸念される。したがって、照射エネルギーを半分( $25\text{J}/\text{cm}^2$ )にして、行くと、治療効果は高いままで、脈絡膜血管閉塞はほとんど無視できる程度になった。

狭義加齢黄斑変性の大きいCNVに対しては、複数回の治療が必要であり、また治療後の栄養血管再疎通による重篤な出血が懸念される。そこで、PDTにおいて、CNV全体と中心窩外の栄養血管に対してレーザー照射を行うことを試みた。3000 $\mu$ 以上(平均4761 $\mu$ )の大きいCNVを有する12眼中、8眼は1回の治療で安定化し、また11眼で視力の改善もしくは維持が得られた。懸念される治療後の出血も軽症の出血が1眼でみられたのみであった(資料5)。

また、日本人加齢黄斑変性に多いと考えられる、ポリープ状脈絡膜血管症に対し、より低侵襲で効果のあ

る治療法を検討した。これまでのフルオレセイン蛍光眼底造影所見を基準とした方法に比べ、インドシアニンググリーン蛍光眼底造影を基準とした方法は、より小さいレーザー照射野で効果的に治療ができることがわかった（資料 6）。

#### 5) 加齢黄斑変性に対する新規治療法の開発

>40w+ >40w BM に比較し、>40w +8w BM では CNV の最大直径、最大面積が有意に小さくなった（ $P=0.01$ ,  $P=0.02$ ）。骨髄幹細胞の機能は、>40w+ >40w BM に比較し、>40w +8w BM において有意に回復していた（ $P=0.03$ ）。

脈絡膜新生血管（CNV）の重症度は一般的に眼局所因子と全身因子との相互作用において決まると考えられるが、ヒトでは眼局所因子も全身因子もともに個体において影響度がさまざまであり、どちらの因子がどの程度重症度に関与しているか不明である。今回の動物実験で、眼局所因子を揃えた状態で、骨髄細胞を若返らせ細胞機能の回復を行うことで、CNV の重症化が阻止できることが判明した。骨髄幹細胞は本来 CNV の重症化を防ぐような方向に機能していると考えられた（資料 7）。骨髄幹細胞の機能を維持すること、また、可能であれば骨髄幹細胞の機能を改善することが、滲出型加齢黄斑変性の鍵を握る病態である脈絡膜新生血管の重症化阻止を考える上で、重要と思われる。

#### 6) 網膜変性に対する薬物治療の確立

ヘテロ rds マウスに対するニルバジピン投与では、網膜電図にて a・b 波とも非投与群に比べ長期にわたり振幅が有意に保たれており、マイクロアレイ法およびウェスタンブロット法にて、FGF-8・13・22 および CNTF の遺伝子発現がニルバジピン投与により亢進しており、電顕レベルで投与群の方が外節の密度が高か

った（資料 8）。

免疫染色においても、投与群・非投与群におけるこれら growth factor の発現の違いも認め、ニルバジピンによる rds マウス視細胞保護は、現段階では、いくつかの因子が関わっているものと推測される。

#### 7) 網膜変性に対する細胞移植治療の確立

サルおよびヒト ES 細胞を Wnt シグナルの阻害タンパク質および Nodal シグナルの阻害タンパク質の存在下で浮遊培養し、その後接着培養すること（SFEB/DL）により、網膜前駆細胞への誘導に成功した。その後、多角形状の色素を有する細胞が多数観察され、RPE マーカーである RPE-65 の発現、タイトジャンクションの形成、ビーズの貪食能が認められた。さらに、retinoic acid、taurine（RA/T）を添加したところ、Crx 陽性の視細胞前駆細胞および錐体・杆体視細胞が観察され、光応答に必要な遺伝子の発現が認められた。低分子化合物を用いて Wnt シグナルおよび Nodal シグナルを阻害したところ、同様にヒト ES 細胞は RPE および視細胞へ分化した（資料 9）。

#### 8) 遺伝子治療

治療遺伝子発現は少なくとも 2 年間は維持される事が確認された。また、眼局所に重篤な合併症は認めなかった。多局所網膜電図では、ベクター注入部位に一致した電位の低下などは観察されなかった。さらに、全身的には多臓器不全などの重篤な副作用は観察されなかった。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、および安全性などの新しい知見が得られ、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。



PEDF は R28 のアポトーシスを阻害し、AIF の核内移行を抑制していた。RCS ラットにおいても SIV ベクターを用いた PEDF 遺伝子発現により、AIF の核内移行は著名に抑制され、視細胞のアポトーシスは優位に抑制された (資料 10)。

#### 9) 視神経萎縮・人工視覚

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。視覚誘発電位を生じるのに必要な電流刺激の閾値は  $66.0 \pm 32.1 \mu\text{A}$  ( $33.0 \text{ nC}$ ) 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 (資料 11)。

動物実験に引き続き、急性臨床試験を行い、失明した患者に擬似光覚が得られる事を確認した。また 2 点弁別が可能になると考えられる反応も得ることが出来た。

## 4. 評価

### 1) 達成度について

#### (1) 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（人口高齢化の影響が大）が明確化できた。

#### (2) 加齢黄斑変性の診断基準の作成

加齢黄斑変性に対して、近年種々の新しい治療アプローチが可能となり、正確な治療適応決定と治療評価のために的確な診断の重要性が増している。加齢黄斑変性の分類としては、国際加齢黄斑症疫学調査グループによって1995年に報告された加齢黄斑症および加齢黄斑変性に関する国際分類とグレードシステムが国際的に最もよく用いられている。今回の分類は基本的にはその概念を踏襲したものはあるが、用語を加齢黄斑変性に統一した。加齢黄斑変性の病名は広く認知されつつあったが、これまで疾患の捉え方や診断は研究者によってなお隔たりがみられた。今回作成した基準での統一された診断を行うことは、今後、治療適応や治療効果を判定していくうえで、意義あるものと考えられる。

#### (3) 加齢黄斑変性の病態解析

遺伝子特性について・・・日本人の滲出型AMDに強く関連する遺伝子多型が初めて示された。

動物モデルについて・・・従来のレーザーによる脈絡膜新生血管モデルは実際の病態とはかけ離れており、今回より病態に近いモデルを作成することができた。

加齢黄斑変性の病態は非常に複雑であるが、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。

#### (4) 加齢黄斑変性に対する日本人に適した治療法の検討

従前と比較して、日本人の加齢黄斑変性の病態が明らかになってきており、日本人に適した組織障害を少なく、良好な視力予後を維持するための各症例に合わせた治療法が確立されつつある。

#### (5) 加齢黄斑変性に対する新規治療法の開発

骨髄由来細胞をコントロールすることが加齢黄斑変性の予防的新治療となる可能性を示すことができた。

#### (6) 網膜変性に対する薬物療法の確立

これまで網膜変性に対するエビデンスのある薬物療法は存在しないが、その可能性とメカニズムの一部を明らかにすることができた。

#### (7) 網膜変性に対する細胞移植治療の確立

内在性幹細胞による網膜細胞再生は成体ほ乳類でもおこっていることを確認し、Wnt 3aの投与により20倍以上に増加することを見出した。

また、細胞移植に関しては、移植源となる網膜色素上皮細胞や視細胞をマウス、サル、およびヒトES細胞から効率良く分化誘導する事に成功し、純化をすれば移植に十分な質と量を得る事ができることもわかった。

さらに、移植細胞が宿主の神経ネットワークに組み込まれるかどうかについて、MMP2やCon A, estrogenの投与による移植細胞の網膜内への侵入増加や、コンドロイチナーゼABCの同時投与により、グリア細胞バリアの形成を抑制し、神経突起の網膜内への侵入とシ

ナプス様形態の形成を確認することができた。

## (8) 遺伝子治療

これまでのカニクイザルを用いた検討により、長期間の遺伝子発現と SIV-hPEDF 投与の眼局所ならびに全身の安全性が少なくとも術後 2 年の時点で確認できた。今後は少なくとも術後 5 年間は安全性試験を継続する予定である。また、培養細胞ならびに疾患モデル動物を用いて、hPEDF の視細胞保護作用のメカニズムを一部明らかにすることができた。

## (9) 視神経萎縮・人工視覚

人工視覚に関し、上脈絡膜腔設置型電極で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、ヒトにおいて 2 点弁別が得られたと考えられる事は、人工視覚の実用化という面で非常に意義が大きい。

# 1) 研究成果の学術的、国際的、社会的意義

## (1) 視覚障害実態調査

わが国における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。

## (2) 加齢黄斑変性の診断基準の作成

加齢黄斑変性の分類としては、国際加齢黄斑症疫学

調査グループによって 1995 年に報告された加齢黄斑症および加齢黄斑変性に関する国際分類とグレードシステムが国際的に最もよく用いられている。今回の分類は基本的にはその概念を踏襲したものであるが、病態は欧米人によるものとは異なることが示唆されており、日本人に適した診断基準を作成したことは意義深い。

## (3) 加齢黄斑変性の病態解析

遺伝子特性について・・・AMD の病態は欧米人におけるものと日本人におけるそれとは異なることが示唆されており、日本人における遺伝子多型の解析は必要不可欠であったことから、日本人独自の結果が得られた意義は大きい。

動物モデルについて・・・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。

## (4) 加齢黄斑変性に対する日本人に適した治療法の検討

欧米人と日本人では病態特性が異なることが明らかになってきており、日本人患者に適した治療法の確立は意義深い。

## (5) 加齢黄斑変性に対する新規治療法の開発

加齢黄斑変性患者血液を検討した結果、両眼発症症例、大きな血管新生膜形成症例にて、骨髄由来末梢血幹細胞機能が低下していることを世界に先駆けて明らかにした意義は大きい。

## (6) 網膜変性に対する薬物療法の確立

失明の恐怖と闘う患者にとって、病態の進行を少しでも遅延させることは大きな福音であり、その社会的意義は大きい。

## (7) 網膜変性に対する細胞移植治療の確立

ヒト ES 細胞は SFEB/DL 処置により RPE に、SFEB/DL + RA/T 処置により視細胞に分化し、低分子化合物でも同様に網膜細胞へ分化させることができたのは世界に先駆けて得られた情報である。

## (8) 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、特許もほぼ国内で所有できていることから、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。

## (9) 視神経萎縮・人工視覚

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、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。わが国で独自の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。また、人工視覚は加齢黄斑変性だけでなく同様に難治な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。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わが国より発信できる新技術となるものと期待され、世界をリードすることとなる。

## 3) 今後の展望について

### (1) 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。

### (2) 加齢黄斑変性の診断基準の作成

加齢黄斑変性に対して、近年種々の新しい治療アプローチが可能となり、正確な治療適応決定と治療評価のための的確な診断の重要性が増しているが、今回の基準に則って統一された診断を行うことで、今後、治療適応などを標準化しうると考えられる。

### (3) 加齢黄斑変性の病態解析

遺伝子特性について・・・AMD 患者においても今後は発症予防が重要になってくると考えられる。そこでリスクアレルを有するような症例には今後開発されるであろう予防的治療を早期から施すことによって良好な視力維持に寄与する可能性がある。

動物モデルについて・・・よりヒトの病態に近いモデルを作成することができたことから、より詳細な病態解明に役立てられるとともに、新規治療法の開発・評価系として有用になると考えられる。

### (4) 加齢黄斑変性の病態解析

今後は症例に応じて、的確な診断に基づき、低侵襲で効率の良いカスタムメイドの治療が可能になると予測される。

### (5) 加齢黄斑変性に対する新規治療法の開発

今後、骨髄由来細胞を人為的にコントロールすることが出来れば、加齢黄斑変性の予防的新治療となる可

能性がある。

#### (6) 網膜変性に対する薬物療法の確立

エビデンスのある薬物療法としてカルシウム拮抗剤の有用性が期待される。

#### (7) 網膜変性に対する細胞移植治療の確立

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。

#### (8) 遺伝子治療

今後は、網膜色素変性に対する視細胞保護遺伝子治療の臨床研究を実現するべく、臨床プロトコールの審査を施設内倫理委員会、ならびに厚生科学審議会（厚生労働省）において進めていく予定である。

#### (9) 視神経萎縮・人工視覚

人工視覚システムについては、さらに長期埋植における安全性・有効性の確認と電極改良を進めている。

### 4) 研究内容の効率性について

#### (1) 視覚障害調査

視覚障害の原因調査は個人情報漏洩に注意を要すると共に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。

#### (2) 加齢黄斑変性の診断基準の作成

当初の予定通り診断基準の作成を行うことができた。

#### (3) 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。

#### (4) 加齢黄斑変性に対する日本人に適した治療法の検討

光線力学的療法は日本人に対する高い有効性が示され、日本人に適した低侵襲の治療として確立されつつあ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。

#### (5) 加齢黄斑変性に対する新規治療法の開発

骨髄由来細胞を人為的にコントロールすることに関し、今後どれだけの時間と労力を要するかは未定であるが、現在までのところ効率的に研究は進められている。

#### (6) 網膜変性に対する薬物療法の確立

種々の原因遺伝子に伴う網膜変性に対して効率よく薬物の有効性やその奏功機序を明らかにすることができている。

#### (7) 網膜変性に対する細胞移植治療の確立

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つあると確信する。

#### (8) 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、霊長類での安全性試験も2年の経過で安全性が確認された。今後、ベクター投与後5年まで安全性試験を継続する予定であるが、予想を上回る効率で研究が進められた。

#### (9) 視神経萎縮・人工視覚

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兎眼で確認した。ヒト眼への応用も着実に進行しており、比較的順調であった。

### 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・細胞移植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。

## 6. 研究発表

### 1) 国内

口頭発表	978
原著論文による発表	241
それ以外	179

#### (主な学会発表)

石橋 達朗: 我が国における加齢黄斑変性の疫学 第 61 回日本臨床眼科学会 京都 2007

石橋 達朗: 増加する加齢黄斑変性 第 24 回日本眼循環学会 高松 2007

高橋秀徳, WuYaqiong, 柳靖雄, 玉置泰裕, 沼部敦司, 新家眞, 上原譽志夫 Dahl 食塩感受性ラット腎障害に及ぼすアンジオテンシン受容体拮抗薬の影響と血管白血球接着との関連性 第 30 回日本高血圧学会総会 2007

大久保明子, 平川真由美, 坂本泰二: 初期のポリープ状脈絡膜血管症の特徴 第 111 回日本眼科学会総会 大阪 2007

坂本泰二, 園田祥三, 山下敏史, 鈴木亮, 丸山一雄, 立花克郎: 超音波を利用した Drug Delivery System の最前線 眼科疾患に対する超音波とマイクロバブルを用いた薬物送達 第 80 回日本超音波医学会 鹿児島 2007

森本壮, 不二門尚, 三好智満, 田野保雄. 経角膜電気刺激の損傷網膜神経節細胞に対する生存促進効果の刺激条件による変化. 第 111 回日本眼科学会総会. 大阪, 2007.

中澤 満, 黒滝淳二, 類家浩司: 近視の進行にともなう

乳頭移動とコーヌスの形成過程. 第 111 回日本眼科学会総会. 大阪 2007

板谷正紀: ここまで進化した網膜硝子体の画像診断・第 111 回日本眼科学会総会・大阪・2007

湯澤美都子: 加齢黄斑変性とその類縁疾患の診断. 第 61 回日本臨床眼科学会総会 モーニングクルーズ, 京都, 2007

高橋政代, 小坂田文隆, 万代道子: 「網膜細胞分化の分子メカニズム」内在性幹細胞による網膜再生の促進 第 111 回日本眼科学会総会 大阪 2007

#### (主な論文発表)

畑 快右, 石橋達朗: 眼科領域における抗血管新生療法 血管医学 8 : 39-46, 2007

野田佳宏, 石橋達朗: 加齢黄斑変性症の治療薬 日本医事新報 4315 : 157-158, 2007

玉置泰裕, 柳靖雄, 出田隆一, 井上裕治, 入山彩, 高橋秀徳, 小畑亮, 村中公正, 上順子, 新家眞, 西山伸宏, ZhangGD, JangWD, 片岡一則, 原田敦史, 相田卓三, 近藤峰生, 伊藤逸毅, 上野真治, 宮田健太郎, 子安俊行, 寺崎浩子, 井上達也, 古川貴久, 大石高生, 田坂文孝, 石井康雄. 眼と加齢 加齢黄斑変性に対する新規治療法の開発 抗血管新生療法および網膜再生 日本眼科学会雑誌 111: 232-269, 2007

白神史雄. 加齢黄斑変性. 今日の眼疾患治療指針第 2 版.

田野保雄・樋田哲夫総編集、医学書院. pp271-273. 2007.

瓶井資弘、田野保雄 人工網膜、脳 21 10 ; 201-204,2007

大谷篤史: 骨髄造血血管細胞による網膜色素変性症治療の可能性・臨床眼科・61:921-926,2007

湯沢美都子, 島田宏之, 川村昭之, 中島正巳, 森 隆三郎, 赤座英里子, 中田光紀, 左近允徳啓, 松本容子, 藤田京子, 柏倉志歩, 春山美穂, 新井恵子, 根本則道, 中山智祥: 加齢黄斑変性の類縁疾患—ポリープ状脈絡膜血管症・網膜血管腫状増殖—, 第 22 回日本眼循環学会誌 1-15, 2007

高橋政代: ヒト ES 細胞を用いた網膜細胞への分化誘導と再生治療 医学のあゆみ 220 : 143-146, 2007

## 2) 海外

口頭発表	389
原著論文による発表	412
それ以外	27

### (主な学会発表)

Ishibashi T: Brilliant Blue G in Vitreoretinal Surgery  
The 3rd International Symposium on Macular Diseases  
Sydney, Australia, 2007

Ishibashi T, Yasuda M, Noda Y, Oshima Y:  
Epidemiology of Age-related Maculopathy in Japan: The  
Hisayama Study. 9th Michaelson Symposium. Baltimore  
USA 2007

Sakamoto T, Yamashita T, Yamakiri K, Miura M, Enaida H, Ishibashi T, Atsumi I, Matsuhisa K, Sakamoto Y, Kida T :  
Polylactic Acid for Visualizing Vitreous Body During  
Vitreotomy. ARVO, Fort Lauderdale, U.S.A, 2007

Tomita N, Shiragami C, Yamashita A, Yamaji H, Shiraga F.  
Indocyanine Green Angiographic Findings After  
Photodynamic Therapy in Eyes With Polypoidal Choroidal  
Vasculopathy. ARVO, Fort Lauderdale, U.S.A, 2006

Nishida K, Kamei M, Suzuki M, Nakauchi K, Yamamoto T, Sakaguchi H, Fujikado T, Tano Y. Middle-Sized Animal Model of Retinal Degeneration. ARVO. Fort Lauderdale, USA, 2007.

Ishikawa K, Kikuchi M, Nishihara H, Yamakoshi T, Ozawa S, Hatta Y, Kondo M, Terasaki H: Electroretinography and optical coherence tomography before and after intravitreal bevacizumab for age-related macular degeneration. ARVO Fort Lauderdale, USA, 2007.

Nishiguchi KM, Kaneko H, Nakamura M, Kachi S, Terasaki H: Murine retinal progenitor cells in the ciliary body epithelium may participate in neurogenesis of the peripheral retina in vivo. ARVO Fort Lauderdale, USA, 2007.

Nakazawa M, Kurotaki J, Ruike H. Early changes of optic disc deviation and peripapillary crescent formation in mild or moderate myopic eyes. ARVO Fort Lauderdale, USA, 2007.

Gotoh N, Nakanishi H, Otani A, Tsujikawa A, Mandai M, Sasahara M, Yamada R, Matsuda F, Yoshimura N.



Association Between HTRA1 Promoter Polymorphism and Polypoidal Choroidal Vasculopathy. ARVO Fort Lauderdale, USA, 2007.

**Takahashi M.** Retinal repair and its stem cell involvement. Asia ARVO Symposium Singapore 2007

**Takahashi M.** Induction of Photoreceptors from Embryonic Stem Cells. Stem Cell Biology/Ocular Surface Asia ARVO Symposium Singapore 2007

(主な論文発表)

Nakao S, Hata Y, Miura M, Noda K, N.Kimura Y, Kawahara S, Kita T, Hisatomi T, Nakazawa T, Jin Y, Dana R, Kuwano M, Ono M, **Ishibashi T**, and H-Moghadam A.

Dexamethasone Inhibits IL-1 $\beta$ -Induced Corneal Neovascularization: Role of NF- $\kappa$ B-activated Stromal Cells in Inflammatory Angiogenesis. Am J Pathol. 171:1058-1065, 2007

Kawahara S, Hata Y, Miura M, Kita T, Sengoku A, Nakao S, Mochizuki Y, Enaida H, Ueno A, A Hafezi-Moghadam, **Ishibashi T**: Intracellular Events in Retinal Glial Cells Exposed to ICG and BBG. Invest Ophthalmol Vis Sci. 48: 4426-4432, 2007

Inoue Y, Yanagi Y, Matsuura K, Takahashi H, Tamaki Y, **Araie M**. Expression of hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$  and 2 $\alpha$  in choroidal neovascular membranes associated with age-related macular degeneration. British Journal of Ophthalmology 91: 1720-21, 2007

Inoue Y, Iriyama A, Ueno S, Takahashi H, Kondo M, Tamaki Y, **Araie M**, Yanagi Y. Subretinal transplantation of bone marrow mesenchymal stem cells delays retinal degeneration in the RCS rat model of retinal degeneration. Exp Eye Res. 85:234-41,2007

Yamada K, Sakurai E, Itaya M, Yamasaki S, **Ogura Y** : Inhibition of laser-induced choroidal neovascularization by atorvastatin by downregulation of monocyte chemoattractant protein-1 synthesis in mice. Invest Ophthalmol Vis Sci 48 : 1839-1843, 2007.

Mizuno S, Nishiwaki A, Morita H, Miyake T, **Ogura Y** : Effects of periocular administration of triamcinolone acetonide on leukocyte-endothelium interactions in the ischemic retina. Invest Ophthalmol Vis Sci 48 : 2831-2836, 2007.

Okubo A, Hirakawa M, Ito M, Sameshima M, **Sakamoto T** : Clinical features of early and late stage polypoidal choroidal vasculopathy characterized by lesion size and disease duration. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol (in press)

Sonoda S, Tachibana K, Uchino E, Yamashita T, Sakoda K, Sonoda KH, Hisatomi T, Izumi Y, **Sakamoto T**: Inhibition of Melanoma by Ultrasound-Microbubble-Aided Drug Delivery Suggests Membrane Permeabilization, Cancer Biology & Therapy. (in press)

Hirooka K, Miyamoto O, Jinming P, Yinghua Du, Itano T, Baba T, Tokuda M, **Shiraga F**. Neuroprotective effect of D-allose against retinal ischemia reperfusion injury. Invest Ophthalmol Vis Sci. 47:1653-1657,2006

Fujikado T, Kanda H, Kusaka S, Nakauchi K, Ozawa M, Matsushita K, Matsushita K, Sakaguchi H, Ikuno Y, Kamei M, Tano Y. Evaluation of phosphene by extraocular stimulation in normals and by suprachoroidal-transretinal stimulation in patients with retinitis pigmentosa. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol, E-Pub,2007

Kikuchi M, Nakamura M, Ishikawa K, Suzuki T, Nishihara H, Yamakoshi T, Nishio K, Taki K, Niwa T, Hamajima N, Terasaki H: Elevated C-reactive protein levels in patients with polypoidal choroidal vasculopathy and with neovascular age-related macular degeneration. Ophthalmology 114:1722-1727, 2007

Ishikawa K, Kondo M, Ito Y, Kikuchi M, Nishihara H, Piao CH, Sugita T, Terasaki H: Correlation between focal macular electroretinograms and angiographic findings after photodynamic therapy. Invest Ophthalmol Vis Sci 48: 2254-2259, 2007

Nakazawa M, Kurotaki J, Ruike H. Early changes of optic disc deviation and peripapillary crescent formation in mild or moderate myopic eyes. Acta Ophthalmol Scandinavica, in press.

Taira K, Nakazawa M, Sato M. A mutation (c. 1142 del G) in the *PRPF31* gene in a family with autosomal dominant retinitis pigmentosa (RP11) and its implications. Jpn J Ophthalmol 51: 45-48, 2007.

Hangai M, Ojima Y, Gotoh N, Inoue R, Yasuno Y, Makita S, Yamanari M, Yatagai T, Yoshimura N. Three dimensional

imaging of macular hole with high-speed optical coherence tomography. Ophthalmology • 114:763-773,2007

Shimada H, Kawamura A, Mori R, Yuzawa M: Clinicopathological Findings of Retinal angiomatous proliferation, Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol 245: 295-300, 2007

Osakada F, Ooto S, Akagi T, Mandai M, Akaike A, Takahashi M. Wnt Signaling Promotes Regeneration in the Retina of Adult Mammals. J. Neurosci. 27:4210-4219, 2007

## 7. 知的所有権の出願・取得状況（予定を含む）

### 1) 特許取得 2件

名称：「Preclinical investigation of Brilliant Blue G as a potential new staining solution for membrane peeling.」

出願人：国立大学法人九州大学、

権利者：江内田寛、石橋達朗、畑 快右（ほか1名）および国立大学法人九州大学

出願番号：60/647. 504

出願日：2005年1月27日

名称：増殖硝子体網膜症治療薬、及び複製眼細胞の増殖・収縮阻害剤

発明者：畑 快右、石橋達朗（ほか3名）

出願番号：特願 2006-279338

出願日：2006年10月13日

### 2) 実用新案登録 なし

### 3) その他 なし

(資料1)

## 視覚障害の原因 (視覚障害者手帳の新規交付状況より)

	1991年		2005年	
1位	糖尿病網膜症	18.3%	緑内障	20.7%
2位	白内障	15.6%	糖尿病網膜症	19.0%
3位	緑内障	14.5%	網膜色素変性	13.7%
4位	網膜色素変性	12.2%	黄斑変性	9.1%
5位	高度近視	10.7%	高度近視	7.8%

(解説)

今回の調査では、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、網膜色素変性、黄斑変性、高度近視の順であった。1989年の調査時と比較して顕著な増加の見られた原因疾患は緑内障、黄斑変性であった。高齢者の激増がその背景にあると考えられる。また糖尿病網膜症は前回の1位から2位へと順位は落としたが、比率はむしろ19%と、前回調査時より上昇している事も明らかとなった。網膜色素変性は比率も平均年齢もあまり変化がなかった。

(資料2)

### 加齢黄斑変性の診断基準

年齢50歳以上の症例において、中心窩を中心とする直径6000 $\mu$ m以内の領域に以下の病変がみられる。

#### 1. 前駆病変

軟性ドルーゼン\*<sup>1</sup>、網膜色素上皮異常\*<sup>2</sup>が前駆病変として重要である。

#### 2. 滲出型加齢黄斑変性

主要所見:以下の主要所見の少なくとも一つを満たすものを確診例とする。

- \* 脈絡膜新生血管\*<sup>3</sup>
- \* 漿液性網膜色素上皮剥離\*<sup>4</sup>
- \* 出血性網膜色素上皮剥離\*<sup>5</sup>
- \* 線維性瘢痕

随在所見:以下の所見を伴うことが多い。

- ①滲出性変化:網膜下灰白色斑(網膜下フィブリン)、硬性白斑、網膜浮腫、漿液性網膜剥離
- ②網膜または網膜下出血

#### 3. 萎縮型加齢黄斑変性

脈絡膜血管が透見できる網膜色素上皮の境界鮮明な地図状萎縮\*<sup>6</sup>を伴う

#### 4. 除外規定

近視、炎症性疾患、変性疾患、外傷などによる病変を除外する。

(付記)

- \* 1 軟性ドルーゼンは直径63 $\mu$ m以上のものが1個以上見られれば有意とする。
- \* 2 網膜色素上皮異常とは網膜色素上皮の色素脱失、色素沈着、色素むら、小型の漿液性網膜色素上皮剥離(直径1乳頭未満)をさす。
- \* 3 脈絡膜新生血管は、検眼鏡所見、蛍光眼底造影によって診断する。検眼鏡所見として、網膜下に灰白色または橙赤色隆起病巣を認める。蛍光眼底造影はフルオレセイン蛍光眼底造影またはインドシアニングリーン蛍光眼底造影所見に基づく。
- \* 4 漿液性網膜色素上皮剥離は、直径1乳頭径以上のもので、脈絡膜新生血管を伴わないものも含める。
- \* 5 出血性網膜色素上皮剥離は大きさを問わない。
- \* 6 網膜色素上皮の地図状萎縮は大きさを問わない。