固[14]，強膜静脈の焼灼[15]などの方法が用いられるが，研究者には高い技術が求められる．この方法によって最大約2倍眼圧上昇を急激に起こすことができる．眼圧上昇は通常数週間持続し，さらに2回目の光凝固が行われると，3週間以上の持続も可能である．眼圧上昇によってヒトに類似する網膜神経線維の萎縮や視神経乳頭の変化が観察できる[16,17]．ラットモデルの登場によって，眼圧上昇に伴う電気生理学的な研究や神経保護薬の開発，豊富な網膜の材料を使った遺伝子解析なども可能になった．眼圧が25～45 mmHgに上昇するRCS (Royal College of Surgeons) ラットも発見されており，網膜神経節細胞死や視神経乳頭陥凹などが観察されている．しかし残念ながらRCSラットにはチロシンキナーゼ遺伝子に変異があり，視細胞の変性が起こることから，緑内障モデルとしては敬遠されている．

次回は，マウスモデルとその他の動物モデルについて述べる．

文　献

1) Ritch R, Shields MB, Krupin T : Animal models of glaucoma. The Glaucomas (2nd ed), p55-69, Mosby-Year Book, St Louis, 1996
2) Gaasterland D, Kupfer C : Experimental glaucoma in the rhesus monkey. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **13** : 455-457, 1974
3) Quigley HA, Hohman RM : Laser energy levels for trabecular meshwork damage in the primate eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **24** : 1305-1307, 1983
4) Quigley HA, Addicks EM : Chronic experimental glaucoma in primates. I. Production of elevated intraocular pressure by anterior chamber injection of autologous ghost red blood cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **19** : 126-136, 1980
5) Weber AJ, Zelenak D : Experimental glaucoma in the primate induced by latex microspheres. *J Neurosci Methods* **111** : 39-48, 2001
6) Kaufman PL, Lütjen-Drecoll E, Hubbard WC et al : Obstruction of aqueous humor outflow by cross-linked polyacrylamide microgels in bovine, monkey, and human eyes. *Ophthalmology* **101** : 1672-1679, 1994
7) Armaly MF : Aqueous outflow facility in monkeys and the effect of topical corticoids. *Invest Ophthalmol* **3** : 534-538, 1964
8) Rasmussen CA, Kaufman PL : Primate glaucoma models. *J Glaucoma* **14** : 311-314, 2005
9) Quigley HA, Nickells RW, Kerrigan LA et al : Retinal ganglion cell death in experimental glaucoma and after axotomy occurs by apoptosis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **36** : 774-786, 1995
10) Miyahara T, Kikuchi T, Akimoto M et al : Gene microarray analysis of experimental glaucomatous retina from cynomologous monkey. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **44** : 4347-4356, 2003
11) Moore CG, Milne ST, Morrison JC : Noninvasive measurement of rat intraocular pressure with the Tono-Pen. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **34** : 363-369, 1993
12) Morrison JC, Moore CG, Deppmeier LM et al : A rat model of chronic pressure-induced optic nerve damage. *Exp Eye Res* **64** : 85-96, 1997
13) Ueda J, Sawaguchi S, Hanyu T et al : Experimental glaucoma model in the rat induced by laser trabecular photocoagulation after an intracameral injection of India ink. *Jpn J Ophthalmol* **42** : 337-344, 1998
14) Levkovitch-Verbin H, Quigley HA, Martin KR et al : Translimbal laser photocoagulation to the trabecular meshwork as a model of glaucoma in rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **43** : 402-410, 2002
15) Shareef SR, Garcia-Valenzuela E, Salierno A et al : Chronic ocular hypertension following episcleral venous occlusion in rats [letter]. *Exp Eye Res* **61** : 379-382, 1995
16) Garcia-Valenzuela E, Shareef S, Walsh J et al : Programmed cell death of retinal ganglion cells during experimental glaucoma. *Exp Eye Res* **61** : 33-44, 1995
17) Johnson EC, Morrison JC, Farrell S et al : The effect of chronically elevated intraocular pressure on the rat optic nerve head extracellular matrix. *Exp Eye Res* **62** : 663-674, 1996

☆　☆　☆

86. 緑内障の動物モデル (2)
—マウスモデル，その他—

岩田　岳
独立行政法人国立病院機構東京医療センター
臨床研究センター(感覚器センター)
分子細胞生物学研究部門

緑内障研究において動物モデルの存在はきわめて重要である．前号では霊長類とラットモデルについて紹介したが，今回はヒトにつぐ情報量と最新の遺伝子改変技術が利用できるマウスモデルについて，その眼球サイズが小さいことから生まれる実験のむずかしさを含めて紹介したい．

はじめに

霊長類や齧歯類モデルによってこれまでに緑内障の発症機序に関する貴重な情報が得られている．しかし，ヒトとの比較において，厳密には眼球の構造も異なっており，病気の進行速度も加速化されている場合もある．ここで紹介する各モデル動物で観察される現象はそのままヒトに当てはまるわけではない．しかし一つひとつの動物モデルは緑内障の一面を捉えていると考えられ，これらの情報を総合的に検討することによって，緑内障に関係する共通なメカニズムの発見につながる可能性がある．この点について，単一あるいは複数の遺伝子についてこれを欠損や過剰発現させる技術が確立しているマウスモデルには期待が寄せられている．

●マウスモデル

マウスモデルはラットモデルの影で開発が遅れていたが，近年目覚しいマウスの遺伝子改変技術の進歩によって，目的とするトランスジェニックマウス，ノックアウトマウス，ノックインマウスなどが容易に作製されるようになり，眼球が小型であるという欠点がありながら，モデル動物として利用される機会が増加している．また，マウスは他の哺乳類に比べてデータベースが整備されており，遺伝子，蛋白質，代謝系，行動パターンに至るまで詳細な情報を手に入れることが可能である．

しかしながら，マウスには緑内障モデルとしての欠点も存在する．マウスとヒトでは視神経乳頭周辺の血管構造が異なることや，篩状板が存在しないなどの違いがあり[1]，眼球の取り扱いについても不利な面がある．その一つに眼圧測定のむずかしさがある．これまでにマウス専用の侵襲式や非侵襲式の眼圧測定法が開発されているが，最も信頼性の高い眼圧測定法としては，角膜の厚さや曲率半径などに影響されない侵襲式の方法がある．圧力計に接続したガラス管の針をマウスの前房に差し込み，眼圧を測定する方法である．この方法によって，異なるマウスの系について10～20 mmHgの眼圧差が存在することが明らかになった[2]．非侵襲式の利点は多数のマウスの眼圧を短い時間で測定できることであるが，角膜の性状に影響される．いずれの方法についても安定した結果を得るにはやはり訓練が必要である．

最近の遺伝子解析研究によってミオシリン，チトクロム *P4501B1*，オプチニュリン，*WDR36* が緑内障遺伝子として発見されているが，これらの遺伝子改変マウス

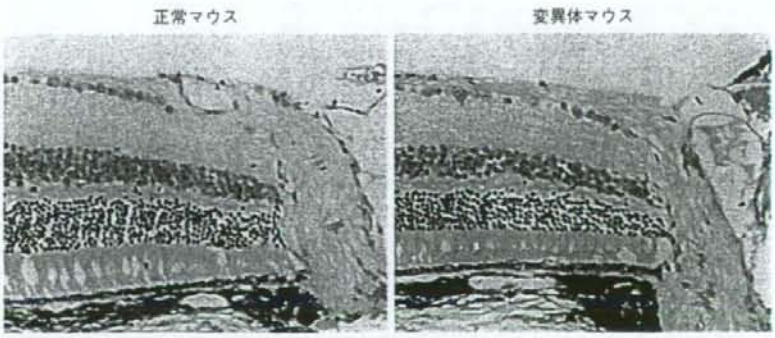


図1　正常マウスとオプチニュリン変異体(Glu50Lys)を発現するトランスジェニックマウスの視神経乳頭
変異体マウスでは網膜神経線維層が菲薄化している．

0910-1810/07/¥100/頁/JCLS

が緑内障を発症するのか研究が行われている．遺伝子改変マウスの利点は発症原因が明確なこと，手術的な方法に比べて表現型が安定していること，そして特別な訓練を必要とせずにネズミ算式に繁殖できることである．すでに複数の緑内障マウスが作製されているが，その一つにミオシリンのTyr437His変異を発現するトランスジェニックマウスがある．このマウスは正常マウスに比べて昼は2 mmHg，夜は4 mmHgの眼圧上昇が認められ，生後1年目には網膜神経節細胞数の20%が減少する[3]．コラーゲンタイプⅠα1サブユニットに遺伝子変異のあるトランスジェニックマウスではコラーゲンのメタロプロテアーゼ（MMP1）による分解が阻害され，生後36週ほどかけて眼圧が4.8 mmHg上昇することが報告されている．隅角の構造は保持されたまま，網膜神経節細胞層への障害が観察され，開放隅角緑内障マウスモデルとして認識されている[4]．また，筆者らはオプチニュリンGlu50Lys変異体を高発現したマウスを作製したところ，正常眼圧は維持されたまま，生後1年後には網膜神経節細胞死や視神経乳頭の陥凹が観察されている．

マウスに対する手術的な眼圧上昇はラットよりもさらに困難である．C57BL/6Jマウスの前房にインドシアニングリーンを注入し，線維柱帯と上強膜静脈部位の光凝固を施すと，約10日後に眼圧が正常なマウスの15.2±0.6 mmHgに対して33.6±1.5 mmHgに上昇したが，60日後には正常値に戻ったと報告されている[5]．網膜神経節細胞層や網膜への機能障害がERG（網膜電図）などによって明らかにされている．Simon Johnらによって報告されたDBA/2Jマウスは2つの遺伝子*Tyrp1*と*Gpnmb*[6]に変異があり，色素顆粒の分散による虹彩の萎縮が起こり，虹彩癒着によって生後9カ月後には眼圧が上昇し，視神経乳頭を基点として網膜神経節細胞死が扇状に観察されている[7]．

●その他の動物モデル

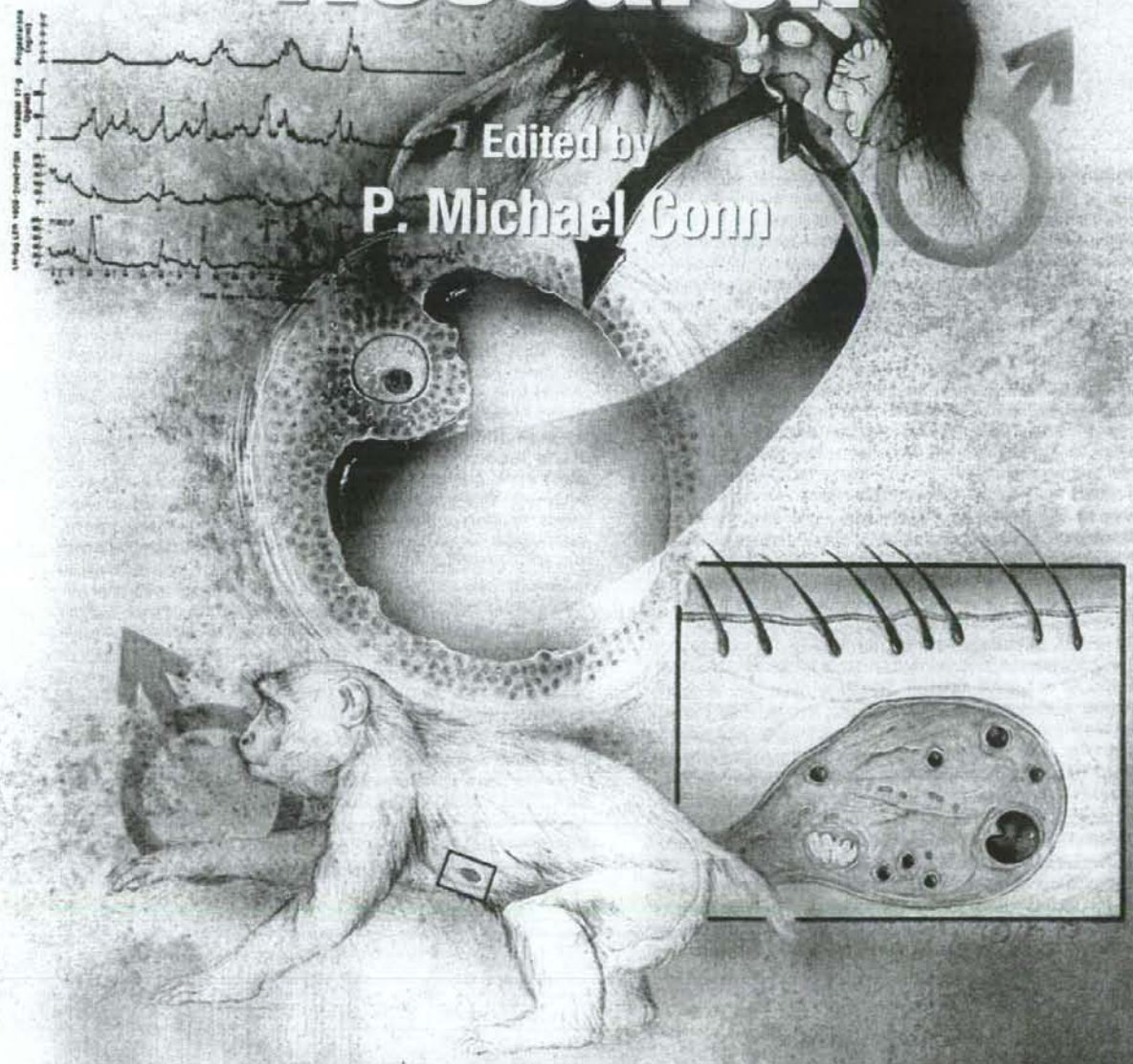
その他の動物モデルにはウサギ，ブタ，ウシなどが報告されているが，広く利用されていない．眼における遺伝子の機能をすばやくおおざっぱに調べる方法として，ゼブラフィッシュ（zebrafish）を利用した研究が最近報告されており，ミオシリン，オプチニュリン，*WDR36*などの欠損による眼球への影響が報告されている[8]．残念ながら眼圧は測定できない．

文　献

1) May CA, Lutjen-Drecoll E : Morphology of the murine optic nerve. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **43** : 2206-2212, 2002
2) Savinova OV, Sugiyama F, Martin JE et al : Intraocular pressure in genetically distinct mice : an update and strain survey. *BMC Genet* **2** : 12, 2001
3) Senatorov VV, Malyukova I, Fariss R et al : Expression of mutated mouse myocilin induces open-angle glaucoma in transgenic mice. *J Neurosci* **26** : 11903-11914, 2006
4) Mabuchi F, Lindsey JD, Aihara M et al : Optic nerve damage in mice with a targeted type I collagen mutation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **45** : 1841-1845, 2004
5) Grozdanic SD, Betts DM, Sakaguchi DS et al : Laser-induced mouse model of chronic ocular hypertension. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **44** : 4337-4346, 2003
6) Anderson MG, Smith RS, Hawes NL et al : Mutations in genes encoding melanosomal proteins cause pigmentary glaucoma in DBA/2J mice. *Nat Genet* **30** : 81-85, 2002
7) Jakobs TC, Libby RT, Ben Y et al : Retinal ganglion cell degeneration is topological but not cell type specific in DBA/2J mice. *J Cell Biol* **171** : 313-325, 2005
8) McMahon C, Semina EV, Link BA : Using zebrafish to study the complex genetics of glaucoma. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* **138** : 343-350, 2004

☆　☆　☆

Sourcebook of Models for Biomedical Research



Edited by

P. Michael Conn

HUMANA PRESS

Sourcebook of Models for Biomedical Research

Edited by

P. Michael Conn, PhD

Associate Director and Senior Scientist, Oregon National Primate Research Center and
Professor of Physiology and Pharmacology and of Cell and Developmental Biology, Oregon Health and Science University, Beaverton, OR

The collection of systems represented in the *Sourcebook of Models for Biomedical Research* reflect the diversity and utility of models that are used in biomedicine. That utility is based on the consideration that observations made in particular organisms will provide insight into the workings of other, more complex systems. Some models have the advantage that the reproductive, mitotic, development or aging cycles are rapid compared with those in humans; others are utilized because individual proteins may be studied in an advantageous way and have human homologs. Other organisms are facile to grow in laboratory settings, lend themselves to convenient analyses, have defined genomes or present especially good human models of human or animal disease. The *Sourcebook of Models for Biomedical Research* is a comprehensive and extensive collection of these important medical parallels. While the entire book is not devoted to the remarkable success of the genomic programs, this work is well represented and indexed within these pages. This volume will be an invaluable resource for pharmaceutical and academic researchers across a wide range of biological fields.

- **Unique reflection of the diversity and utility of models used in biomedicine**
- **Novel discussion of reproductive, mitotic, developmental or aging cycles in a range of organisms in comparison with humans**
- **Insights on how some organisms that are able to grow in laboratory settings or lend themselves to convenient analyses have defined genomes or present especially good human models of human or animal disease**
- **Uses a range of tables and figures to make comparisons of models so that observations not available in primary publications can become useful to the reader**

Contents

ISBN 978-1-58829-933-8

90000

9 781588 299338

SOURCEBOOK OF MODELS FOR BIOMEDICAL RESEARCH
SBN: 978-1-58829-933-8
-ISBN: 978-1-59745-285-4
umanapress.com

Complement Activation of Drusen in Primate Model (*Macaca fascicularis*) for Age-Related Macular Degeneration

Takeshi Iwata

Takeshi Iwata, National Institute of Sensory Organs, National Hospital Organization Tokyo Medical Center, 2-5-1 Higashigaoka, Meguro-ku, Tokyo 152-8902 Japan

1 Introduction

Dysfunction of the visual system can alter normal human life style and lower quality of life. The most prevalent causes of visual impairment worldwide are cataracts, glaucoma, and age-related macular degeneration (AMD). These eye diseases are responsible for 69% of blindness globally. Although cataracts are the leading cause of blindness worldwide, recent advances in cataract surgery has significantly reduced the visual impairments caused by cataracts especially in developed countries. The most prevalent eye disease for elderly Europeans and Americans is AMD. This degenerative disease progresses from retinal deposits called drusen to neovascularization and retinal hemorrhages resulting in irreversible loss of central vision. In spite of the high incidence of AMD, a limited amount of information is available on the underlying pathological mechanisms causing these diseases. Obtaining tissues from the AMD donors is often difficult, and even when obtained, they are usually collected many hours or even days after death. Because of limitation for human tissue, the availability of animal models is becomes valuable because they can be used to investigate the molecular mechanisms of the disease and to test new therapeutic intervention.

The retina is composed of nine layers of neural and glial cells that are arranged concentrically at the posterior pole of the eye. Incoming light is focused on the central area of the retina called the fovea which is located in the center of the macula. In humans, the average size of the macula is only 6 mm in diameter. The outer surface of the retina is covered by a monolayer of retinal pigment epithelial (RPE) cells which forms a diffusion barrier between the neural retina and the choroidal blood supply. The RPE regulates the transport of proteins to the retina, and controls the hydration

and ionic composition of the subretinal space. The physiological condition of the RPE is closely associated with the pathogenesis of AMD.

2 Introduction of AMD

AMD is a blinding disorder characterized by a marked decrease in central vision associated with RPE atrophy with or without choroidal neovascularization (CNV). Many factors including genetic, behavioral, and environmental, are involved in this disease. AMD is characterized by the degeneration of cone photoreceptors in the foveal region of the retina resulting in a decrease of central visual acuity. The progressive impairment of the retinal pigment epithelial (RPE) cells, and damage to Bruch's membrane and choriocapillaris results in retinal atrophy and photoreceptor dysfunction. In some cases, CNV develops, and the new vessels penetrate Bruch's membrane and pass into the subretinal space.

Two types of AMD are recognized; the non-neovascular type is called the dry-type AMD and includes more than 80% of the cases, and the neovascular type is called the wet-type AMD which is progressive with a higher probability of blindness. The prevalence of AMD differs considerably among the different ethnic groups, but the incidence increases with age in all groups. A lower prevalence of AMD has been reported in individuals of African ancestry than of Anglo-Saxon ancestry. Other risk factors for AMD are cigarette smoking, obesity, hypertension, and atherosclerosis.

3 Genetics of AMD

Epidemiological studies have shown that genetic factor play critical role for AMD. Twin studies have previously shown a higher concordance for AMD in monozygotic twins than in dizygotic twins (Heiba, Elston, Klein, and Klein 1994; Seddon, Ajani, and Mitchell 1997; Hammond, Webster, Snieder, Bird, Gilbert, and Spector 2002). In addition, first degree relatives of individuals with AMD have higher incidence of AMD over individuals without a family history of AMD. Genetic segregation studies have also shown a genetic effect that accounts for approximately 60% of AMD with a single major gene accounting for about 55% of the risk of developing AMD. Previous data have suggested that the etiology of AMD has a significant genetic component. Only a small proportion of the families with AMD show Mendelian inheritance, and the majority of the individuals inherit AMD in a complex multi-gene pattern. With the help of the haplotype marker project (HapMap Project), genome wide scanning has identified at least 13 loci linked to AMD on different chromosomes (Iyengar, Song, Klein, Klein, Schick, Humphrey, Millard, Liptak, Russo, Jun, Lee, Fijal, and Elston 2004; Schick, Iyengar, Klein, Klein, Reading, Liptak, Millard, Lee, Tomany, Moore, Fijal, and Elston 2003; Majewski, Schultz, Weleber, Schain, Edwards, Matise, Acott, Ott, and Klein 2003). Recently, a polymorphism of complement factor H (CFH) gene (*Y402H*) was shown to be associated with an increased risk for AMD (Klein, Zeiss, Chew, Tsai, Sackler, Haynes, Henning, SanGiovanni, Mane, Mayne, Bracken, Ferris, Ott, Barnstable, and Hoh 2005; Edwards, Ritter, Abel, Manning, Panhuysen, and

Farrer 2005; Haines, Hauser, Schmidt, Scott, Olson, Gallins, Spencer, Kwan, Noureddine, Gilbert, Schnetz-Boutaud, Agarwal, Postel, and Pericak-Vance 2005; Hageman, Anderson, Johnson, Hancox, Taiber, Hardisty, Hageman, Stockman, Borchardt, Gehrs, Smith, Silvestri, Russell, Klaver, Barbazetto, Chang, Yannuzzi, Barile, Merriam, Smith, Olsh, Bergeron, Zernant, Merriam, Gold, Dean, and Allikmets 2005).

These results were confirmed in many of the countries with large Caucasian populations but not in Japan (Okamoto, Umeda, Obazawa, Minami, Noda, Mizota, Honda, Tanaka, Koyama, Takagi, Sakamoto, Saito, Miyake, and Iwata 2006; Gotoh, Yamada, Hiratani, Renault, Kuroiwa, Monet, Toyoda, Chida, Mandai, Otani, Yoshimura, and Matsuda 2006). This gene is located on chromosome 1q25-31 where one of the candidate loci was identified by linkage studies. Another recent study reported that a haplotype association of tandemly located complement 2 and factor B was protective for AMD (Gold, Merriam, Zernant, Hancox, Taiber, Gehrs, Cramer, Neel, Bergeron, Barile, Smith, AMD Genetics Clinical Study Group, Hageman, Dean, Allikmets 2006). HTRA1, a serine protease 11 was recently discovered to be strongly associated with AMD. Unlike the CFH, our study shows strong association with this gene for Japanese AMD patients (Yang, Camp, Sun, Tong, Gibbs, Cameron, Chen, Zhao, Pearson, Li, Chien, Dewan, Harmon, Bernstein, Shridhar, Zabriskie, Hoh, Howes, and Zhang 2006; Dewan, Liu, Hartman, Zhang, Liu, Zhao, Tam, Chan, Lam, Snyder, Barnstable, Pang, and Hoh 2006).

4 Biochemistry of AMD

The early stage of the dry type AMD is characterized by a thickening of Bruch's membrane, aggregation of pigment granules, and increasing numbers of drusen. The thickening of Bruch's membrane obstructs its function as a 'barrier' between the choroid and the RPE that protects the neural retina from the choriocapillary. Drusen are small yellowish-white deposits that are composed of lipids, proteins, glycoproteins, and glycosaminoglycans. They accumulate in the extracellular space and the inner aspects of Bruch's membrane. Drusen are not directly associated with visual loss but represent a risk factor for both the dry-type and wet-type AMD. The classification of hard and soft drusen is based on their size, shape, and color; hard drusen are yellowish with diameters <50 μm and are found in eyes that are less likely to progress to advanced stages of the disease, while soft drusen are darker yellow and larger in size, and are found in eyes more likely to progress to more advanced stages of AMD. A small percentage of dry-type AMD patients progress to the late stage of the wet-type AMD that is characterized by geographic atrophy or detachment of RPE and the development of CNV in the macular region. The presence of a CNV is the factor that most damages the neural retina because the newly developed vessels grow from the choriocapillaris through Bruch's membrane and extend laterally through the RPE cell layer (classic CNV) or extend between the inner Bruch's membrane and RPE (occult CNV). In advanced stages of AMD, the CNV and fluid leaked into the subretinal or intraretinal regions leads to cell death and retinal detachment.

Recent analyses of the progression of drusen have provided important clues that help understand the molecular pathology of AMD. Using both immunohistochemistry

and proteomic techniques, the materials in drusen were found to be composed of molecules that mediate inflammatory and immune processes (Russell, Mullins, Schneider, and Hageman 2000; Mullins, Russell, Anderson, and Hageman 2000). These molecules include components of the complement pathway and modulators of complement activation, viz., vitronectin, clusterin, membrane cofactor protein, and complement receptor-1. In addition, molecules triggering inflammation, amyloid P component, α1-antitrypsin, and apolipoprotein E, were identified in drusen. Cellular debris from macrophages, RPE cells, and choroidal dendritic cells has also been identified in drusen. Additional proteins such as crystallins, EEFMP1, and amyloid-beta have been also found in drusen. The presence of immunoreactive proteins and the oxidative modifications of many proteins in drusen imply that both oxidation and immune functions are involved in the pathogenesis of AMD. These findings suggest that complement activation triggers innate immune responses in the subretinal space. The co-distribution of IgG and terminal complement complexes in drusen indicate that immune responses that directly target antigens in retinal cells might also be occurring. Anti-retinal autoantibodies have been reported in a number of ocular disorders, e.g., macular degeneration in an aged monkey model.

5 Primate Model for AMD

Over the past few years, genetic engineering techniques have generated a number of animal models of AMD in mice, rats, rabbits, pigs, and dogs (Chader 2002). However in mammals, a well-defined fovea is found only in primates (humans and monkeys), and a search for a monkey line affected with macular degeneration has been persistent for a long time. A monkey with macular degeneration was first described by Stafford et al in 1974. They reported that 6.6 % of the elderly monkeys they examined showed pigmentary disorders and drusen-like spots (Stafford, Anness, and Fine 1984). El-Mofty et al reported that the incidence of maculopathy was 50% in a colony of rhesus monkeys at the Caribbean Primate Research Center of the University of Puerto Rico (El-Mofty, Gouras, Eisner, and Balazs 1978). At the Tsukuba Primate Research Center (Tsukuba City, Japan), Suzuki et al found a single cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*) (Suzuki Monkeys) in 1986 with a large number of small drusen around the macular region (Nicolas, Fujiki, Murayama, Suzuki, Mineki, Hayakawa, Yoshikawa, Cho, Kanai 1996; Nicolas, Fujiki, Murayama, Suzuki, Shindo, Hotta, Iwata, Fujimura, Yoshikawa, Cho, Kanai 1996; Suzuki, Terao, and Yoshikawa 2003). This single affected monkey has multiplied to a large pedigree of more than 65 affect and 210 unaffected monkeys. Drusen were observed in the macular region as early as one year after birth, and the numbers increased and spread toward the peripheral retina throughout life. No histological abnormalities have been found in the retina, retinal vessels, or choroidal vasculatures of the eyes with drusen. However, abnormality in electroretinogram (ERG) were observed in sever case showing dysfunction of the macula.

Immunohistochemical and proteomic analyses of the drusen from these monkeys showed that the drusen were very similar to those in other monkeys with aged

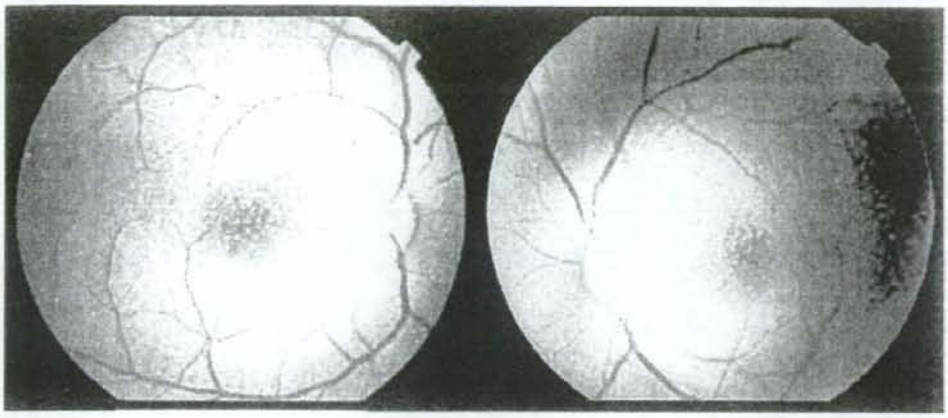


Fig. 1. Fundus photograph of both eyes of Suzuki Monkey showing accumulation of drusen (white spot) around the macular region.

macular degeneration sporadically found in older monkeys and also with human drusen (Umeda, Ayyagari, Allikmets, Suzuki, Karoukis, Ambasudhan, Zernant, Okamoto, Ono, Terao, Mizota, Yoshikawa, Tanaka, and Iwata 2005; Umeda, Suzuki, Okamoto, Ono, Mizota, Terao, Yoshikawa, Tanaka, and Iwata 2005; Ambati, Anand, Fernandez, Sakurai, Lynn, Kuziel, Rollins, and Ambati 2003). These observations have shown that the Suzuki Monkeys produce drusen that are biochemically similar to those in human AMD patients, but the development of the drusen occurs at an accelerated rate. More than 240 loci are being investigated to try to identify the disease causing gene and to understand the biological pathways leading to complement activation. Simultaneously, we have been studying a colony of aged monkeys which develop drusen after 15 years of birth.

Drusen components of these sporadically found affected monkeys were compared with human and Suzuki Monkeys by classical immunohistochemical techniques and by proteome analysis using mass spectrometer. Significant finding was that drusen contained protein molecules that mediate inflammatory and immune processes. These include immunoglobulins, components of complement pathway, and modulators for complement activation (e.g., vitronectin, clusterin, membrane cofactor protein, and complement receptor-1), molecules involved in the acute-phase response to inflammation (e.g., amyloid P component, α1-antitrypsin, and apolipoprotein E), major histocompatibility complex class II antigens, and HLA-DR antigens (Umeda et al. 2005). Cellular components have also been identified in drusen, including RPE debris, lipofuscin, and melanin, as well as processes of choroidal dendritic cells, which are felt to contribute to the inflammatory response. In addition to immune components, a number of other proteins were found in drusen. These appear to be vitronectin, clusterin, TIMP-3, serum amyloid P component, apolipoprotein E, IgG, Factor X, crystallins, EEFMP1, and amyloid-beta. The presence of immunoreactive proteins and oxidative modified proteins implicate both oxidation and immune functions in the pathogenesis of AMD.

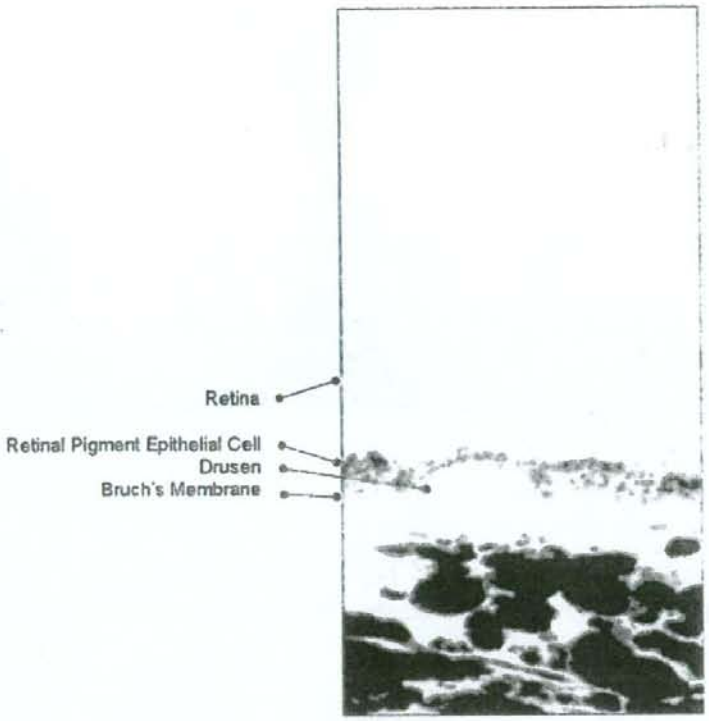


Fig. 2. Retinal histological section of affected Suzuki Monkey showing the accumulation of drusen between the retinal pigment epithelium and Bruch's membrane.

The eyes of monkey are structurally similar to human eyes which make them extremely valuable for AMD studies. However, there are limitations in using this species over other laboratory animals. Monkeys have a relatively longer life span, have a longer gestation period, have a lower birth numbers resulting in a slower expansion of the pedigree, more difficult to genetically manipulate, and the maintenance cost is high. In the other laboratory animals, the differences in the eye structure, lack of a fovea, and a low cone/rod ratio compared to humans have been considered to be a disadvantage for using them as AMD models. However, they are easier to manipulate genetically and easier and less expensive to maintain. This has made the development of a mouse model of AMD very attractive, and a number of mouse AMD models have been reported recently.

6 Mouse Model for AMD

The mouse model described by Ambati et al is deficient either in monocyte chemoattractant protein-1 or its cognate C-C chemokine receptor-2. These mice were found to develop the cardinal features of AMD including accumulation of lipofuscin

in drusen beneath the RPE, photoreceptor atrophy, and CNV (Ambati et al. 2003). An impairment of macrophage recruitment allowed the accumulation of C5a and IgG, which leads to the production of vascular endothelial growth factor by the RPE cells and the development of CNVs. Another mouse model that has three known AMD risk factors: age, high fat cholesterol rich diet, and expression of human apolipoprotein E (apoE2, apoE3, apoE4) has been developed (Malek, Johnson, Mace, Saloupis, Schmechel, Rickman, Toth, Sullivan, and Bowes Rickman 2005). ApoE4-deficient mice are severely affected showing diffuse subretinal pigment epithelial deposits, drusen, thickened Bruch's membrane, and atrophy, hypopigmentation, and hyperpigmentation of the RPE.

Oxidative stress has long been linked to the pathogenesis of AMD. Imamura et al reported a Cu, Zn-superoxide dismutase (SOD1)-deficient mice that had features typical of AMD in human. Senescent Sod1 (-/-) mice had drusen, thickened Bruch's membrane, and choroidal neovascularization (Imamura, Noda, Hashizume, Shinoda, Yamaguchi, Uchiyama, Shimizu, Mizushima, Shirasawa, and Tsubota 2006). The number of drusen increased with age and also after exposure of young Sod1 (-/-) mice to excess light. The retinal pigment epithelial cells of Sod1 (-/-) mice showed oxidative damage, and their beta-catenin-mediated cellular integrity was disrupted. These findings suggested that oxidative stress may affect the junctional proteins necessary for the barrier integrity of the RPE. These observations strongly suggested that oxidative stress may play a major role in AMD.

The complement components, C3a and C5a, are present in drusen, and were observed in Bruch's membrane of a laser-induced CNV mice model. Neutralization of C3a or C5a by antibody or by blockade of their receptors by a complement inhibitor significantly reduced the CNV (Nozaki, Raisler, Sakurai, Sarma, Barnum, Lambris, Chen, Zhang, Ambati, Baffi, and Ambati 2006). These observations revealed a role for immunological mechanisms for the angiogenesis and provided evidence for future therapeutic strategies for AMD. Although the pathology of AMD is pronounced in the macula area, it is not confined to this region. Characteristics of human AMD such as thickening of Bruch's membrane, accumulation of drusen, and CNV have been observed in mouse models. Nevertheless, the primate model will still be the choice for AMD studies, especially at the stage when new therapeutic methods are tested and evaluated for the first time. However, it would be wise and more productive to study both primate and mouse models in AMD research. This will be necessary to learn the mechanisms underlying the disease and to identify clinical and molecular markers for the early stages of AMD. The findings from these studies will provide critical information needed to develop therapies for AMD.

7 Acknowledgements

This work was supported by the research grant from the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan.

References

Ambati, J., Anand, A., Fernandez, S., Sakurai, E., Lynn, B. C., Kuziel, W. A., Rollins, B. J., Ambati, B. K. (2003) An animal model of age-related macular degeneration in senescent Ccl-2- or Ccr-2-deficient mice. Nat. Med. 9, 1390-1397.

Chader, G. J. (2002) Animal models in research on retinal degenerations: Past progress and future hope. Vision Res 42, 393-399.

Dewan A., Liu, M., Hartman, S., Zhang, S. S., Liu, D. T., Zhao, C., Tam, P. O., Chan, W. M., Lam, D. S., Snyder, M., Barnstable, C., Pang, C. P., Hoh, J. (2006) HTRA1 promoter polymorphism in wet age-related macular degeneration. Science 314, 989-992.

Edwards, A. O., Ritter, R. 3rd., Abel, K. J., Manning, A., Panhuysen, C., Farrer, L. A. (2005) Complement factor H polymorphism and age-related macular degeneration. Science 308, 421-424.

El-Mofty A., Gouras, P., Eisner, G., Balazs, E. A. (1978) Macular degeneration in rhesus monkey (Macaca mulatta). Exp. Eye Res. 27, 499-502.

Gold, B., Merriam, J. E., Zernant, J., Hancox, L. S., Taiber, A. J., Gehrs, K., Cramer, K., Neel, J., Bergeron, J., Barile, G. R., Smith, R. T. (2006) AMD Genetics Clinical Study Group; G. S. Hageman, M. Dean, R. Allikmets. Variation in factor B (BF) and complement component 2 (C2) genes is associated with age-related macular degeneration. Nat. Genet. 38, 458-462.

Gotoh, N., Yamada, R., Hiratani, H., Renault, V., Kuroiwa, S., Monet, M., Toyoda, S., Chida, S., Mandai, M., Otani, A., Yoshimura, N., Matsuda, F. (2006) No association between complement factor H gene polymorphism and exudative age-related macular degeneration in Japanese. Hum. Genet. 120, 139-143.

Hageman, G. S., Anderson, D. H., Johnson, L. V., Hancox, L. S., Taiber, A. J., Hardisty, L. I., Hageman, J. L., Stockman, H. A., Borchardt, J. D., Gehrs, K. M., Smith, R. J., Silvestri, G., Russell, S. R., Klaver, C. C., Barbazetto, I., Chang, S., Yannuzzi, L. A., Barile, G. R., Merriam, J. C., Smith, R. T., Olsh, A. K., Bergeron, J., Zernant, J., Merriam, J. E., Gold, B., Dean, M., Allikmets, R. (2005) A common haplotype in the complement regulatory gene factor H (HF1/CFH) predisposes individuals to age-related macular degeneration. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A 102, 7227-7232.

Haines, J. L., Hauser, M. A., Schmidt, S., Scott, W. K., Olson, L. M., Gallins, P., Spencer, K. L., Kwan, S. Y., Noureddine, M., Gilbert, J. R., Schnetz-Boutaud, N., Agarwal, A., Postel, E. A., Pericak-Vance, M. A. (2005) Complement factor H variant increases the risk of age-related macular degeneration. Science 308, 419-421.

Hammond, C. J., Webster, A. R., Snieder, H., Bird, A. C., Gilbert, C. E., Spector, T. D. (2002) Genetic influence on early age-related maculopathy: A twin study. Ophthalmology 109, 730-736.

Heiba, I. M., Elston, R. C., Klein, B. E., Klein, R. (1994) Sibling correlations and segregation analysis of age-related maculopathy: The Beaver Dam Eye Study. Genet. Epidemiol. 11, 51-67.

Imamura, Y., Noda, S., Hashizume, K., Shinoda, K., Yamaguchi, M., Uchiyama, S., Shimizu, T., Mizushima, Y., Shirasawa, T., Tsubota, K. (2006) Drusen, choroidal neovascularization, and retinal pigment epithelium dysfunction in SOD1-deficient mice: a model of age-related macular degeneration. Proc Natl Acad Sci U S A 103, 11282-11287.

Iyengar, S. K., Song, D., Klein, B. E., Klein, R., Schick, J. H., Humphrey, J., Millard, C., Liptak, R., Russo, K., Jun, G., Lee, K. E., Fijal, B., Elston, R. C. (2004) Dissection of genomewide-scan data in extended families reveals a major locus and oligogenic susceptibility for age-related macular degeneration. Am. J. Hum. Genet. 74, 20-39.

Klein, R. J., Zeiss, C., Chew, E. Y., Tsai, J. Y., Sackler, R. S., Haynes, C., Henning, A. K., SanGiovanni, J. P., Mane, S. M., Mayne, S. T., Bracken, M. B., Ferris, F. L., Ott, J., Barnstable, C., Hoh, J. (2005) Complement factor H polymorphism in age-related macular degeneration. Science 308, 385-389.

Schick, J. H., Iyengar, S. K., Klein, B. E., Klein, R., Reading, K., Liptak, R., Millard, C., Lee, K. E., Tomany, S. C., Moore, E. L., Fijal, B. A., Elston, R. C. (2003) A whole-genome screen of a quantitative trait of age-related maculopathy in sibships from the Beaver Dam Eye Study. Am. J. Hum. Genet. 72, 1412-1424.

Majewski, J., Schultz, D. W., Weleber, R. G., Schain, M. B., Edwards, A. O., Matise, T. C., Acott, T. S., Ott, J., Klein, M. L. (2003) Age-related macular degeneration--a genome scan in extended families. Am. J. Hum. Genet. 73, 540-550.

Malek, G., Johnson, L. V., Mace, B. E., Saloupis, P., Schmechel, D. E., Rickman, D. W., Toth, C. A., Sullivan, P. M., Bowes Rickman, C. (2005) Apolipoprotein E allele-dependent pathogenesis: a model for age-related retinal degeneration. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 102, 11900-11905.

Mullins, R. F., Russell, S. R., Anderson, D. H., Hageman, G. S. (2000) Drusen associated with aging and age-related macular degeneration contain proteins common to extracellular deposits associated with atherosclerosis, elastosis, amyloidosis, and dense deposit disease. FASEB J 14, 835-846.

Nicolas, M. G., Fujiki, K., Murayama, K., Suzuki, M. T., Mineki, R., Hayakawa, M., Yoshikawa, Y., Cho, F., Kanai, A. (1996) Studies on the mechanism of early onset macular degeneration in cynomolgus (Macaca fascicularis) monkeys. I. Abnormal concentrations of two proteins in the retina. Exp. Eye Res. 62, 211-219.

Nicolas, M. G., Fujiki, K., Murayama, K., Suzuki, M. T., Shindo, N., Hotta, Y., Iwata, F., Fujimura, T., Yoshikawa, Y., Cho, F., Kanai, (1996) A. Studies on the mechanism of early onset macular degeneration in cynomolgus monkeys. II. Suppression of metallothionein synthesis in the retina in oxidative stress. Exp. Eye Res. 62, 399-408.

Nozaki, M., Raisler, B. J., Sakurai, E., Sarma, J. V., Barnum, S. R., Lambris, J. D., Chen, Y., Zhang, K., Ambati, B. K., Baffi, J. Z., Ambati J. (2006) Drusen complement components C3a and C5a promote choroidal neovascularization. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A 103, 2328-2333.

Okamoto, H., Umeda, S., Obazawa, M., Minami, M., Noda, T., Mizota, A., Honda, M., Tanaka, M., Koyama, R., Takagi, I., Sakamoto, Y., Saito, Y., Miyake, Y., Iwata, T. (2006) Complement factor H polymorphisms in Japanese population with age-related macular degeneration. Mol. Vis. 12, 156-158.

Russell, S. R., Mullins, R. F., Schneider, B. L., Hageman, G. S. (2000) Location, substructure, and composition of basal laminar drusen compared with drusen associated with aging and age-related macular degeneration. Am J Ophthalmol 129, 205-214.

Seddon, J. M., Ajani, U. A., Mitchell, B. D. (1997) Familial aggregation of age-related maculopathy. Am. J. Ophthalmology 123, 199-206.

Stafford, T. J., Anness, S. H., Fine, B. S. (1984) Spontaneous degenerative maculopathy in the monkey. Ophthalmology 91, 513-521.

Yang, Z., Camp, N. J., Sun, H., Tong, Z., Gibbs, D., Cameron, D. J., Chen, H., Zhao, Y., Pearson, E., Li, X., Chien, J., Dewan, A., Harmon, J., Bernstein, P. S., Shridhar, V., Zabriskie, N. A., Hoh, J., Howes, K., Zhang, K.. (2006) A variant of the HTRA1 gene increases susceptibility to age-related macular degeneration. Science. 314, 992-993.

Umeda, S., Ayyagari, R., Allikmets, R., Suzuki, M. T., Karoukis, A. J., Ambasudhan, R., Zernant, J., Okamoto, H., Ono, F., Terao, K., Mizota, A., Yoshikawa, Y., Tanaka, Y., Iwata, T. (2005) Early-onset macular degeneration with drusen in a cynomolgus monkey (Macaca fascicularis) pedigree: exclusion of 13 candidate genes and loci. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 46, 683-691.

Umeda, S., Suzuki, M. T., Okamoto, H., Ono, F., Mizota, A., Terao, K., Yoshikawa, Y., Tanaka, Y., Iwata, T. (2005) Molecular composition of drusen and possible involvement of anti-retinal autoimmunity in two different forms of macular degeneration in cynomolgus monkey (Macaca fascicularis). FASEB J. 19, 1683-1685.

国立医療学会誌 IRYO
医療
JAPANESE JOURNAL OF NATIONAL MEDICAL SERVICES
Vol.62 No.9
SEPTEMBER 2008

図説　感覚器疾患シリーズ　No. 9

特集；視覚障害(3)

眼疾患バイオマーカーの探索

国立病院機構東京医療センター　臨床研究センター　分子細胞生物学研究部

岩田　岳

国立医療学会
JAPANESE SOCIETY OF NATIONAL MEDICAL SERVICES

国立医療学会

国立医療学会は、国立高度専門医療センター、国立ハンセン病療養所、
独立行政法人国立病院機構などの会員を
中心とした学術団体です。
いわゆる国が実施する高度専門医療、政策医療に深く関わり、
医療の進歩発展、診療、研修教育を促進し、
国民医療の向上と、会員の親睦を目指します。

国立医療学会は開かれています。上記の国立医療機関に勤務されている方はどの職種からでも正会員に登録していただけます。また、上記以外の一般の方であっても、本学会の活動趣旨に賛同していただける方は、一定の手続きをしていただきますと、賛助会員になれます。

正会員と賛助会員には、機関誌「医療」が定期配信されます。
正会員と賛助会員は機関誌「医療」に投稿できます。
入会手続きは、裏面を参照願います。

雑誌「医療」は,

＊国立医療学会の機関誌です。
＊多職種の会員構成である為に、国が行うあらゆる医療分野がカバーされる総合医学誌です。
＊国が進める高度専門医療、政策医療、あらゆる医療分野からのホットな情報が満載されています。
＊厚労省が進める医学研究情報、科学研究費関連の研究トピックスをいち早く知ることが出来ます。

最近のバックナンバーは、以下の通りです。
雑誌のみの定期購読も受け付けています。各1部850円となっていますので、興味ある方は是非ご購入の上、医療現場でお役立て下さい。

今後の筋萎縮性側索硬化症医療のあり方を考える	第60巻第10号
長寿医療の最前線	第60巻第12号
神経疾患の摂食・嚥下・栄養を考える	第61巻第2号
スタートした障害者自立支援法	第61巻第3号
曲がり角に立つ重症心身障害医療	第61巻第11号
筋ジストロフィーの歯科学的問題	第61巻第12号
ソーシャルワークの最前線	第62巻第2号
循環器病克服10年戦略	第62巻第3号
がん医療における全人的な他職種チーム医療の可能性と課題	第62巻第4号

お問い合わせ先：国立医療学会事務局
TEL/FAX:03-3410-8881

眼疾患バイオマーカーの探索

岩田 岳

IRYO Vol. 62 No. 9 (512－515) 2008

キーワード：眼，遺伝子，遺伝子多型，シークエンサー，予防医学

はじめに

近年ゲノム配列や体内のタンパク質を分析して疾患の発症を予測する研究が行われている．この背景には飛躍的な技術革新によるゲノム解析技術や質量分析を用いた微量タンパク質の網羅的解析技術などの進歩がある．これらの技術はすでに多くの疾患で成果を上げており，眼科分野でも応用されている．患者の眼球において，まだ生理機能が保持されている環境では再生医療を，そして環境が破綻(はたん)している場合には人工網膜等による視力回復が検討されている．本章ではこれらの研究に加え，未発症の患者予備軍を選別し，病気の予防あるいは遅延を目的とした予防医学について，その選別部分について最近の研究を紹介したい．

感覚器症例情報収集システムの構築

眼球内部は透明な組織で構成されていることから容易に組織内部を観察できる一方，生検することがきわめて困難な組織でもある．したがって早期診断に利用できるサンプルは涙液，血液，尿に限られ，必然的に研究対象は白血球のDNAと血漿成分に絞られる．また，手術中に破棄される房水，硝子体の一部についても倫理委員会の承認と患者の同意があれば研究材料として利用できる．われわれはこれらのDNAや体液から疾患と相関する疾患バイオマーカーの探索を行っている．平成15年，国立病院機構および厚生労働省の支援を受けて，オンラインによる症例情報の収集とDNA・血漿バンクの設立を目的とした「感覚器ネットワーク」を東京医療センター臨床研究センター（感覚器センター）に構築した（図1）．関連施設の国立病院および大学病院から白内障，緑内障，加齢黄斑変性，網膜色素変性の症例情報をウェッブ画面上から登録し，同時に検体を受け取る仕組みである．症例情報には個人情報を除く患者の臨床所見が詳細に登録できるようになっており，眼底写真の添付も可能である．遺伝子やタンパク質の解析結果は症例情報と一体化され，個々の患者についてデータベースが構築されることによって，疾患バイオマーカーの探索をより容易にしている．

遺伝子解析による加齢性眼疾患の感受性遺伝子の探索

これまでの研究から加齢性眼疾患の多くは多因子疾患（遺伝，習慣，環境）であると考えられている．

国立病院機構東京医療センター 臨床研究センター 分子細胞生物学研究部
別刷請求先：岩田岳 国立病院機構東京医療センター 臨床研究センター 分子細胞生物学研究部
〒152-8902 目黒区東が丘2－5－1
（平成20年7月18日受付）
Series of Articles on Sensory Disorders No. 9
Search for Biomarker of Ocular Diseases
Takeshi Iwata
Key Words: eye, gene, single nucleotide polymorphisms, DNA sequencer, preventive medicine

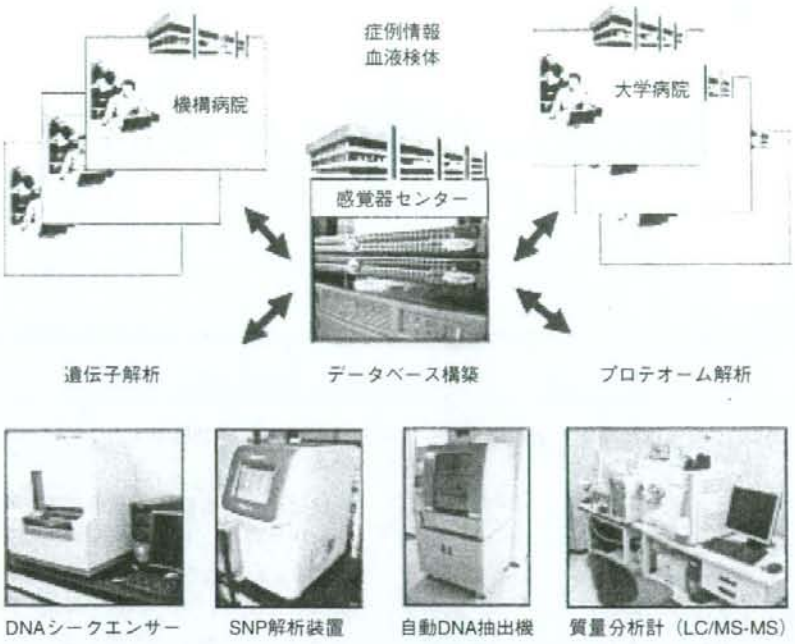


図1　感覚器センターに設置された症例情報システムと各種分析装置

加齢黄斑変性の場合，加齢，遺伝，喫煙，肥満，青い光などがリスク因子として報告されている．とくに遺伝因子（感受性遺伝子）については技術的な進歩によって全ゲノムを対象とした患者と健常者の比較が可能になっている．ヒトゲノムプロジェクトによってヒトゲノムには約22,000個の遺伝子が存在し，平均で1,000塩基に1つの割合で配列が個々に異なることが明らかになった．この一塩基配列の変化である遺伝子多型：Single Nucleotide Polymorphism（SNP）を組み合わせてブロックにし，比較することによって感受性遺伝子の染色体上の位置を調べることができる．SNPの組み合わせをハプロタイプと呼ぶが，複数の国が参加して，すべてのハプロタイプを明らかにする国際ハップマッププロジェクト（International HapMap Project, http://www.hapmap.org/）が進行中である．

ゲノム上には1千万個のSNPが存在すると計算されるが，これだけのSNPを患者個々に解析することは困難であった．しかし，最近SNPアレーの開発が進み，50万-100万種類のSNPを同時に検出することができるようになっている．このチップを利用しても全SNPの5-10%しかカバーできないが，感受性遺伝子の位置情報，病気との相関（頻度，オッズ比）について有用な情報が得られる．われわれはこの方法によって白内障，緑内障，加齢黄斑変性，偽落屑症候群の感受性遺伝子について解析している．疾患と相関するSNPは疾患を発症する塩基配列と物理的に近い位置に存在すると考えられるが，そのものではないことが多い．これはハップマッププロジェクトが健常者を対象にして作成されたデータベースであり，患者のSNPは登録されていないからである．発症原因の塩基配列を知るためにはSNP間の塩基配列をDNAシークエンサーで読むしかない．近年この塩基配列解読についても驚異的な技術革新が進行している（図2）．1990年にアメリカエネルギー省と厚労省によって30億ドルの予算で開始されたヒトゲノムプロジェクトが10年間かけて解読した30億塩基を1日で解読するDNAシークエンサーがアメリカPacific Bioscience社を含む複数の会社から発表される予定である．アメリカではヒトゲノムを1,000ドルで完全解読する1,000ドルゲノムプロジェクトが進行しており，今後SNPアレーからゲノム配列を患者と健常者で直接比較することによってより詳細な情報が得られると考えられる．また，DNAシークエンサーの感度が上がり，必要なDNA量も年々減少している．このことから採血は不要と

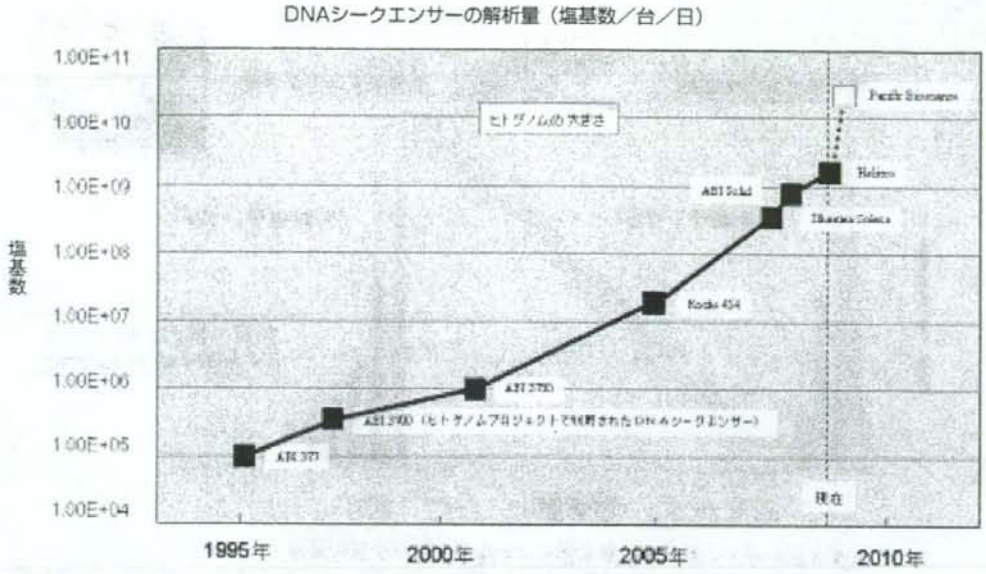


図2　DNA シークエンサー1台が1日に解読できるゲノム塩基数
1人分のゲノムが1日で解読できる DNA シークエンサーが発表される予定である．

なり，爪や髪の毛から抽出される DNA 量でも十分な解析が可能になると予測される．

近年の研究によってゲノム上の2％の配列が約22,000遺伝子をコードし，残り70％の配列から RNA が生成され，この RNA が遺伝子発現やタンパク質合成の制御に関係していることが明らかになってきた．このようなタンパク質を合成しない RNA（ncRNA：non-coding RNA）が眼疾患にも関わっている可能性は高く，感受性遺伝子に加え，感受性 ncRNA についても積極的に研究を進めている．

眼疾患のためのプロテオミクスとバイオマーカーの探索

感受性遺伝子が明らかにされ，発症の有無が判断できるようになっても，個々の患者の発症時期を予測することは困難である．体内を循環する血液や排泄される尿の成分を分析することによって発症時期を予測する研究が行われている．近年，質量分析計が飛躍的に進歩し，コンピューターソフトによる機械の操作性も改善されたことから，専門の技官でなくても操作できるようになってきた．発現しているタンパク質の総称をプロテーム，その分析方法をプロテオミクスというが，今回われわれは白内障，緑内障，加齢黄斑変性の患者から血漿を集め，質量分析計を用いた血漿プロテオミクスを行った．血漿にはアルブミン，グロブリンなど20種類のタンパク質が重量換算で99％を占めており，これらを除去しなければ疾患によって変動する微量タンパク質を質量分析計の検出できる感度で捕捉することが困難である．そこでわれわれは東レ株式会社との共同研究によって低分子のタンパク質だけを分離・濃縮する分画装置を開発し，患者血漿の分画を試みた（図3）．分画成分はさらに逆相クロマトグラフィー，トリプシン処理，2次元クロマトグラフィーによる分離を経て，イオントラップ型質量分析計よってタンパク質の同定が行われた．その結果，白内障，緑内障，加齢黄斑変性からそれぞれ固有に17，15，21種類のタンパク質が同定され，現在これらのタンパク質について ELISA やウエスタンブロットによって確認作業を進めている．同様な方法によって涙液，房水，硝子体液など眼由来の体液についても解析を行う予定である．また，今回同定されたタンパク質情報の確認作業と遺伝子多型情報と症例情報に結びつけるための作業を行っている．

おわりに

眼疾患のバイオマーカー探索として遺伝子解析と質量分析計を用いた眼疾患プロテオミクスについて

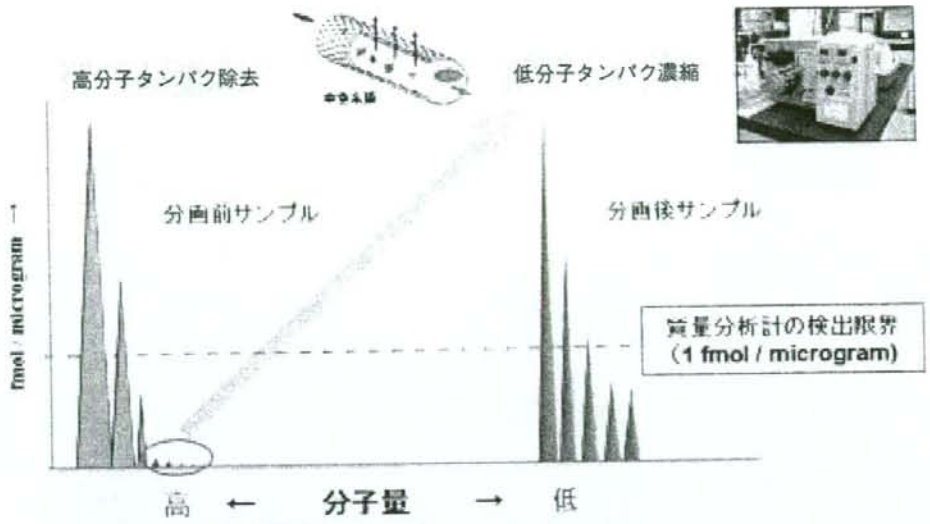


図3　中空糸膜を用いた低分子分画装置による微量タンパク質の濃縮
東レ株式会社が開発した分画装置によって，選択的に低分子（50KDa以下）の血漿タンパクを質量分析計で検出できる濃度に調製できるようになった．

紹介した．これまでに日本人と欧米人との間で疾患と相関する遺伝子多型が一致しないことがたびたび報告されている．しかし，日本人と体質がより近いと考えられるアジアの人々と連携しながら研究が進めば，日本人で発見された疾患バイオマーカーを利用して，広くアジアの患者の早期診断にも利用できる可能性がある．

［参考文献］
1）岩田岳．遺伝子解析の現状，またその行方は？　打倒！加齢黄斑変性，眼科インストラクションコース．メディカルビュー社；2005；p20-3．
2）岩田岳．加齢黄斑変性の遺伝子研究の最前線，特集：網膜脈絡膜変性疾患のアップデート．あたらしい眼科 2006；23：1125-31．
3）Okamoto H, Umeda S, Obazawa M et al. Complement Factor H Polymorphisms in Japanese Population with Age-Related Macular Degeneration. Mol Vis 2006；12：156-8．
4）岩田岳．網膜・硝子体のプロテオーム解析，日の眼科 2007；78：577-82．
5）Yoshida T, Wan AD, Zhang H et al. HTRA1 Promoter Polymorphism Predisposes Japanese to AMD. Mol Vis 2007；13：545-8．