

200834034A

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

平成 20 年度 総括・分担研究報告書

(3 年計画の 1 年目)

主任研究者 小 椋 祐 一 郎

平成 21 (2009) 年 3 月

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

平成 20 年度 総括・分担研究報告書

(3 年計画の 1 年目)

主任研究者 小 椋 祐 一 郎

平成 21 (2009) 年 3 月

目 次

I. 班員構成

II. 統括研究報告 1

III. 分担研究報告

1. マグネトリポフェクション法による網膜色素上皮細胞への遺伝子導入 9
藤井康生、加地 秀、兼子裕規、寺崎浩子（名古屋大）
2. F/HN 型レンチウイルスベクターによる網膜への遺伝子導入と抗血管新生治療の検討 12
村上祐介¹⁾、池田康博¹⁾、米満吉和²⁾、宮崎勝徳¹⁾、長谷川護³⁾、石橋達朗¹⁾
(¹⁾九州大、²⁾千葉大遺伝子治療学、³⁾ディナベック株式会社)
3. 当院におけるコロイデレミア患者の CHM 遺伝子変異と臨床像 15
藤巻拓郎、藤木慶子、飯野 裕、和田裕子、早川むつ子
宮崎 愛、濱畑徹也、溝田 淳、村上 晶（順天堂大）
4. 網膜色素変性におけるウノプロストン点眼による黄斑部視機能の保護効果とその背景の検討 18
平松彩子、菅原岳史、小片一葉、萩原 章、山本修一（千葉大）
5. 網膜色素変性と類縁疾患の遺伝子診断 21
高橋政代^{1) 2)}、和田裕子^{3) 4)}、村上 晶⁴⁾、岩田 岳⁵⁾、石上智愛¹⁾
万代道子^{1) 2)} (¹⁾理化学研究所、²⁾神戸市立医療センター中央市民病院、
³⁾わだゆうこ眼科クリニック、⁴⁾順天堂大、⁵⁾東京医療センター臨床研究センター)
6. 網膜色素変性における視覚関連 QOL と視野障害の関係 23
山本修一、平松彩子、菅原岳史、小片一葉、萩原 章（千葉大）
7. 網膜色素変性の経過における自発蛍光、視細胞内節外節境界、視機能の変化 26
相澤さやか、萩原 章、小片一葉、菅原岳史、三田村佳典、山本修一
(千葉大)

8.	網膜色素変性症患者におけるスペクトラルドメイン OCT 像と眼底自発蛍光と静的量的視野の検討	29
	入山 彩、小畑 亮、井上祐治、柳 靖雄、玉置泰裕、新家 眞 (東京大)	
9.	近視性脈絡膜新生血管に対する Bevacizumab 治療の 1 年成績	32
	生野恭司、佐柳香織、十河 薫、沢 美喜、坂口裕和 辻川元一、五味 文、田野保雄 (大阪大)	
10.	PCV に合併した黄斑下血腫に対する bevacizumab 硝子体注入を併用したガス血腫移動療法	34
	北橋正康、三田村佳典、窪田真理子、三浦 玄、山本修一 (千葉大)	
11.	Bevacizumab 投与前後の血中 VEGF と PEDF	36
	松山加耶子 ¹⁾ 、緒方奈保子 ¹⁾ 、和田光正 ¹⁾ 、松岡雅人 ¹⁾ 、西村哲哉 ¹⁾ 高橋寛二 ²⁾ (¹⁾ 関西医大・滝井、 ²⁾ 関西医大・枚方)	
12.	ベバシズマブ点眼、結膜下、硝子体内投与後の眼局所における薬物動態	39
	福田恒輝、廣岡一行、馬場哲也、白神史雄 (香川大)	
13.	加齢黄斑変性における Ranibizumab 硝子体内投与後の脳血管障害のリスク	42
	上田高志 ¹⁾ 、柳 靖雄 ¹⁾ 、玉置泰裕 ¹⁾ 、山口拓洋 ²⁾ 、新家 眞 ¹⁾ (¹⁾ 東京大、 ²⁾ 東京大臨床試験データ管理学)	
14.	加齢黄斑変性症等における脈絡膜血管新生に対するビスフォスフォネートの抑制効果	45
	本田 茂、長井隆行、近藤直士、福田昌秀、塚原康友、根木 昭 (神戸大)	
15.	オステオポンチン阻害による脈絡膜	48
	所真由美、野崎実穂、芦荻正幸、板谷正博、小椋祐一郎 (名古屋市大)	
16.	脈絡膜新生血管除去術の長期成績	51
	野崎実穂、水谷武史、服部知明、吉田宗徳、小椋祐一郎 ¹⁾ (¹⁾ 名古屋市大)	

17. 網膜色素上皮細胞における TWEAK/Fn14 の作用 54
村上 晶、海老原伸行 (順天堂大)
18. 黄斑部における局所 PhNR の記録と上下側および耳鼻側の非対称 58
栗本幸英、近藤峰生、坂井隆夫、子安俊行、宮田健太郎
上野真治、寺崎浩子 (名古屋大)
19. 黄斑円孔のない近視性黄斑分離症の手術成績 60
中静裕之、島田宏之、服部隆幸、森隆三郎、水谷吉宏、湯澤美都子
(日本大・駿河台)
20. 近視性血管新生黄斑症における眼底自発蛍光変化 63
沢 美喜、五味 文、辻川元一、生野恭司、坂口裕和、田野保雄
(大阪大)
21. 中心性漿液性網脈絡膜症症例におけるインドシアニングリーン蛍光眼底造影上の点状過蛍光 66
辻川明孝、尾島優美子、佐々原学、中西秀雄、林 寿子、中川聡子
後藤謙元、岩間大輔、山城健児、田村 寛、大音壮太郎、大谷篤史
吉村長久 (京都大)
22. スペクトラルドメイン光干渉断層計による滲出型加齢黄斑変性眼の前駆病変の検討 68
小畑 亮^{1) 2)}、湯田健太郎²⁾、上田高志²⁾、藤村茂人²⁾、入山 彩²⁾
高橋秀徳²⁾、井上裕治²⁾、柳 靖雄²⁾、玉置泰裕²⁾、新家 眞²⁾
(¹⁾ さいたま赤十字、²⁾ 東京大)
23. Spectralis®HRA+OCT でのポリープ状脈絡膜血管症のポリープ状病巣の OCT 所見 72
春山美穂、湯澤美都子、森隆三郎、川村昭之 (日本大・駿河台)
24. 共焦点 SLO を装備したスペクトラルドメイン OCT によるポリープ状脈絡膜血管症の形態 76
森隆三郎、川村昭之、中静裕之、松本容子、広瀬朝士
赤座英里子、湯澤美都子 (日本大・駿河台)
25. フーリエドメイン光干渉断層計による裂孔原性網膜剥離術後の中心窩網膜所見と視力 79
大島佑介、若林 卓、藤本久貴、村上陽子、坂口裕和、日下俊次
田野保雄 (大阪大)

26.	ブルッフ膜分離症候群	84
	板谷正紀、尾島優美子、石原健司、坂本 篤、辻川明孝、大谷 篤 田村 寛、大音壮一郎、山城健児、喜多美穂里、吉村長久 (京都大)	
27.	ポリープ状脈絡膜血管症に対する光線力学療法後3年の成績	87
	赤座英里子、湯澤美都子、森隆三郎 (日本大・駿河台)	
28.	ポリープ状脈絡膜血管症に対する光線力学療法の視力予後に関わる要因の検討	90
	湯澤美都子、森隆三郎、李 才源、赤座英里子、春山美穂 松本容子、藤田京子 (日本大・駿河台)	
29.	ポリープ状脈絡膜血管症の有無による Occult 脈絡膜新生血管の 光線力学療法治療後経過	93
	大石明生 ^{1) 2)} 、万代道子 ^{1) 3)} 、西田明弘 ^{1) 3)} 、山城健児 ^{1) 4)} 栗本康夫 ^{1) 2)} 、高橋政代 ^{2) 3)} (¹⁾ 神戸市立医療センター中央市民病院、 ²⁾ 先端医療センター、 ³⁾ 理化学研究所、 ⁴⁾ 京都大)	
30.	ポリープ状脈絡膜血管症の自然経過	96
	大久保明子、楢松徳子、有村 昇、坂本泰二 (鹿児島大)	
31.	加齢黄斑変性 occult CNV に対する光線力学的療法	98
	正健一郎、尾辻 剛、津村晶子、永井由巳、有澤章子、高橋寛二 (関西医大)	
32.	加齢黄斑変性に対する reduced fluence PDT の短期成績	101
	山下彩奈、白神千恵子、小野 葵、天雲香里、白神史雄 (香川大)	
33.	網膜血管腫状増殖に対する reduced fluence PDT によるトリプル療法	104
	白神千恵子、山下彩奈、小野 葵、天雲香里、岸上岳裕、白神史雄 (香川大)	
34.	薬剤併用光線力学的療法の脈絡膜毛細血管灌流にあたる影響	107
	八田善幸、石川浩平、西原裕晶、牛田宏昭、竹内紀一郎 伊藤逸毅、寺崎浩子 (名古屋大)	

35. トリアムシノロン併用光線力学的療法前後の網膜機能、形態と脈絡膜循環の関係110
 石川浩平、西原裕晶、小澤信介、八田善幸、岩田英嗣、竹内紀一朗
 伊藤逸毅、近藤峰生、寺崎浩子 (名古屋大)
36. 光線力学療法施行前後における末梢血 CD34 陽性幹細胞数の変化113
 牧山由希子、宇佐美有子、大谷篤史、小鷲洋史、
 佐々原学、吉村長久 (京都大)
37. 骨髄由来細胞の機能低下が病的脈絡膜血管新生に及ぼす影響とそのメカニズム115
 佐々原学、大谷篤史、小鷲洋史、牧山由希子、吉村長久 (京都大)
38. 糖尿病網膜症に合併した滲出型加齢黄斑変性117
 緒方奈保子¹⁾、吉川匡宣¹⁾、和田光正¹⁾、尾辻 剛¹⁾、松岡雅人¹⁾
 松山加耶子¹⁾、高橋寛二²⁾ (¹⁾ 関西医大・滝井、²⁾ 関西医大・枚方)
39. 網膜色素線条に生じた脈絡膜新生血管の特徴119
 山城健児、中川聡子、辻川明孝、大谷篤史、田村 寛
 大音壮太郎、佐々原学、吉村長久 (京都大)
40. ブルッフ膜生成機序とベストロフィン121
 高瀬綾恵、安川 力、西脇晶子、佐藤里奈、小椋祐一郎 (名古屋市大)
41. 網膜色素上皮のリポ蛋白産生とアミロイド β の関連124
 佐藤里奈、安川 力、高瀬綾恵、西脇晶子、小椋祐一郎 (名古屋市大)
42. 加齢黄斑変性およびポリープ状脈絡膜血管症における ARMS2 遺伝子
 *372_815del1443ins54 多型126
 安間哲宏、中村 誠、菊池雅人、石川浩平、西原裕晶
 西口康二、寺崎浩子 (名古屋大)
43. ヒト人工多能性幹細胞由来網膜色素上皮細胞および視細胞の分化誘導129
 平見恭彦^{1) 2)}、小坂田文隆²⁾、高橋和利³⁾、山中伸弥³⁾、
 高橋政代^{1) 2)} (¹⁾ 理化学研究所、²⁾ 先端医療センター病院、
³⁾ 京都大 iPS 細胞研究センター)

44. マウス変性網膜への視細胞移植	132
万代道子 ¹⁾ 、本間耕平 ¹⁾ 、石上智愛 ¹⁾ 、山田千佳子 ¹⁾ 、平見恭彦 ²⁾ 、高橋政代 ¹⁾	
(1) 理化学研究所、2) 先端医療センター病院)	
45. 未熟児網膜症における G-CSF の病的新生血管抑制作用と神経保護作用	135
小寫洋史、大谷篤史、佐々原学、牧山由希子、吉村長久 (京都大)	
46. 骨髄由来幹細胞の薬剤による賦活で網膜疾患を治療する	137
大谷篤史、佐々原学、牧山由希子、小寫洋史、吉村長久 (京都大)	
47. 網膜色素変性の遺伝相談に関する課題	139
岩田文乃、高林雅子、村上 晶 (順天堂大)	
48. 網膜色素変性の黄斑体積と黄斑部局所 ERG の相関	141
近藤峰生、杉田 糾、朴 昌華、伊藤逸毅、寺崎浩子 (名古屋大)	
49. 網膜色素変性モデルゼブラフィッシュにおける視細胞死の検討	143
中尾武史、松村永和、辻川元一、田野保雄 (大阪大)	
50. 網脈絡膜変性疾患の in vitro モデルの確立および細胞変性機構におけるアミノ酸輸送の関与	146
安藤 彰、大中誠之、金子志帆、中内正志、山田眞未	
伊藤誠二、高橋寛二 (関西医大)	
51. 一般住民における病的近視の有病率と眼軸長分布	
野田佳宏 ^{1) 2)} 、安田美穂 ¹⁾ 、畑 快右 ¹⁾ 、清原 裕 ³⁾ 、飯田三雄 ⁴⁾ 、石橋達朗 ¹⁾	
(1) 九州大、2) 九州大医療情報学、3) 九州大環境医学、4) 九州大病態機能内科学)	
52. 網膜静脈閉塞症の有病率および9年発症率の検討：久山町研究	154
荒川 聡 ¹⁾ 、安田美穂 ¹⁾ 、畑 快右 ¹⁾ 、石橋達朗 ¹⁾ 、清原 裕 ²⁾	
(1) 九州大、2) 九州大環境医学)	
53. 網膜静脈閉塞症の発症に関する全身因子の検討：久山町研究	157
安田美穂 ¹⁾ 、荒川 聡 ¹⁾ 、畑 快右 ¹⁾ 、石橋達朗 ¹⁾ 、清原 裕 ²⁾	
(1) 九州大、2) 九州大環境医学)	

54. レニン・アンジオテンシン系阻害薬による網膜虚血再灌流モデルにおける神経保護効果	160
廣岡一行、福田恒輝、溝手雅宣、白神史雄 (香川大)	
55. Multiplex Bead Analysis System を用いて測定した未熟児網膜症眼における硝子体液中サイトカイン濃度	162
佐藤達彦 ¹⁾ 、日下俊次 ¹⁾ 、下條裕史 ¹⁾ 、不二門尚 ¹⁾ 、田野保雄 ²⁾ (¹⁾ 大阪大感覚機能形成学、 ²⁾ 大阪大感覚器外科学)	
56. 網膜剥離における視細胞死と High-mobility group box 1 protein	165
有村 昇 ¹⁾ 、喜井裕哉 ¹⁾ 、橋口照人 ²⁾ 、川原幸一 ²⁾ 、中村 誠 ³⁾ 園田恭志 ¹⁾ 、山切啓太 ¹⁾ 、大久保明子 ¹⁾ 、丸山征郎 ²⁾ 、坂本泰二 ¹⁾ (¹⁾ 鹿児島大、 ²⁾ 鹿児島大血管代謝病態解析学、 ³⁾ 神戸大)	
57. 裂孔原性網膜剥離における硝子体中 SDF-1 とその他のサイトカイン	168
大塚寛樹 ¹⁾ 、有村 昇 ¹⁾ 、山切啓太 ¹⁾ 、橋口照人 ²⁾ 、丸山征郎 ²⁾ 坂本泰二 ¹⁾ (¹⁾ 鹿児島大、 ²⁾ 鹿児島大血管代謝病態解析学)	
58. Dahl 食塩感受性高血圧ラットにおける網膜血管の白血球接着と腎障害の関連性	171
高橋秀徳 ¹⁾ 、中川 卓 ¹⁾ 、Wu Yaqiong ²⁾ 、入山 彩 ¹⁾ 、小畑 亮 ¹⁾ 、 井上裕治 ¹⁾ 、柳 靖雄 ¹⁾ 、玉置泰裕 ¹⁾ 、沼部敦司 ³⁾ 、上原譽志夫 ²⁾ 新家 眞 ¹⁾ (¹⁾ 東京大、 ²⁾ 東京大保健センター、 ³⁾ 独協医大臨床検査部)	
IV. 関連業績一覧	175

I. 班 員 構 成

網膜脈絡膜・視神経萎縮症に関する調査研究班

区 分	氏 名	所 属 等	職 名
主任研究者	小椋祐一郎	名古屋市立大学医学部眼科	教 授
研究分担者	新家 眞	東京大学医学部眼科	教 授
	石橋 達朗	九州大学医学部眼科	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
	寺崎 浩子	名古屋大学医学部眼科	教 授
	村上 晶	順天堂大学医学部眼科	教 授
	山本 修一	千葉大学医学部眼科	教 授
	湯澤美都子	日本大学医学部眼科	教 授
吉村 長久	京都大学医学部眼科	教 授	
研究協力者	高橋 政代	理化学研究所発生・再生科学総合研究センター	主任研究員
	高橋 寛二	関西医科大学眼科	教 授
	根木 昭	神戸大学医学部眼科	教 授
	福原 俊一	京都大学医学部医療疫学	教 授
事 務 局	安川 力	名古屋市立大学医学部眼科 〒467-8601 愛知県名古屋市瑞穂区瑞穂町字川澄1番地 TEL 052-853-8251 FAX 052-841-9490	准教授
	和田 牧子	E-mail: retina@med.nagoya-cu.ac.jp	秘 書
経理事務 担当者	豊島 行男	名古屋市立大学医学部事務室 TEL 052-853-8078 FAX 052-842-0863 E-mail toyoshima-yukio@sec.nagoya-cu.ac.jp	

Ⅱ. 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

総括研究報告

主任研究者 小椋祐一郎

名古屋市立大学大学院医学研究科視覚科学 教授

【研究要旨】

本研究は、難治性・進行性で予後不良な疾患である加齢黄斑変性、網膜色素変性症などの網膜脈絡膜萎縮をきたす疾患群と視神経萎縮をきたす疾患群を対象としてその実態調査、病態解明、治療法開発を目的とする。これらの疾患は本邦での主要な失明原因であり、研究成果は失明予防に直結し、国民医療・保健に与える影響が極めて大きい。

加齢黄斑変性は高齢者の失明の主要原因であり、有効な治療法の開発は高齢者の失明防止の観点から社会的意義も非常に大きい。光線力学的療法(PDT)に加え、最近、抗血管内皮増殖因子(VEGF)療法が導入されてきているが治療効果には限界があり、より良い治療法の開発が重要である。本研究により、正常脈絡膜循環への影響を抑えるために低照射エネルギーPDTの有用性が示された。また、PDTと抗VEGF療法とステロイド投与の併用療法の有用性がサブタイプ別に評価され、難治性の特殊型である網膜血管腫状増殖にも有効である可能性が確認された。一方で、抗VEGF療法に関して、有効性ととも、硝子体内に注入された薬物が全身移行することが示され、副作用に関しても注意が喚起された。また基礎的研究により、脈絡膜新生血管にオステオポンチンの関与や網膜色素上皮の機能におけるベストロフィン、アミロイドの役割やTWEAKの炎症への関与などが明らかになった。

網膜色素変性症は網膜変性疾患であるが、欧米人とは異なる日本人特有の遺伝子異常が報告されており、病態解明と遺伝子異常データベースの構築は遺伝子治療や神経保護治療に向けての基礎となる。多施設検体を検査施設へ集約・解析するシステムの構築に向けて2施設での試行が行われた。同時に遺伝子治療や神経保護治療の可能性についても検討した。遺伝子導入に関しては長期発現型のサル由来レンチウイルスベクターによる遺伝子導入に関する研究が動物実験において長期安全性が示され臨床応用に向けて開発が進んでいる。また、磁性微粒子（マグネトリポフェクタミン）を用いて標的部位局所を狙った遺伝子のターゲティング導入の可能性が示された。

視神経萎縮は緑内障を始めいろいろな病態で発症し、不可逆性の障害を残す。本研究では神経保護治療による視神経萎縮の進行阻止、並びに幹細胞による網膜再生治療と人工視覚による失われた視機能の回復を目的とする。網膜再生治療や人工視覚による視機能回復は失明患者にとっては大きな福音である。本研究により、幹細胞により視細胞や網膜色素上皮細胞への分化誘導や一定条件下での動物網膜への移植細胞の生着が可能となった。人工視覚については、埋植電極の長期の耐久性、組織への安全性が示され今後も臨床応用に向けて開発を進める。

【研究分担者】

新家 眞（東京大学・眼科・教授）
坂本泰二（鹿児島大学・眼科・教授）
寺崎浩子（名古屋大学・眼科・教授）
村上 晶（順天大学・眼科・教授）
湯沢美都子（日本大学・眼科・教授）

石橋達朗（九州大学・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）
山本修一（千葉大学・眼科・教授）
吉村長久（京都大学・眼科・教授）

A. 研究目的

1. 久山町における疫学調査により、網脈絡膜萎縮や脈絡膜新生血管の原因として重要な病的近視の有病率等を明らかにする。
2. 多施設から得た網膜色素変性およびクリスタリン網膜症の検体を1施設に送付し原因遺伝子の解析を行う検査集約施設とシステムの構築を目指す。
3. 生化学的手法および動物実験等により遺伝性網脈絡膜変性疾患の病態を探索する。
4. 加齢黄斑変性の治療法としては光線力

学的療法（PDT）の他、最近では抗血管内皮増殖因子（VEGF）薬が上市され期待されているが、併用療法も含め、今後最善の治療法を探索する必要があり、臨床研究を行った。

5. 臨床応用に向けた遺伝子導入療法について検討した。
6. 既に障害された視機能を回復させる神経再生医療として、幹細胞移植に関する研究と人工視覚に関する研究を行う。

B. 研究方法

1. 久山町において疫学調査を行った。

2. 常染色体網膜色素変性およびクリスタリン網膜症の患者の血液検体を1施設に取りまとめて遺伝子解析を行い、各施設に分析結果を報告した。

3. 高オルニチン血症が脳回転状脈絡網膜萎縮症を誘発する原因として、オルニチンアミノ基転移酵素阻害薬を用いて培養網膜色素上皮細胞への影響を調べた。

網膜色素変性の病態解明に役立つものと考えられるトランスジェニックラビットの開発を行った。

TLR3 は最近、萎縮型加齢黄斑変性患者の遺伝子多型が見つかったことで注目されている。網膜色素上皮の炎症に TLR3 および TLR9 が関与している可能性について培養細胞を用いて検討した。

加齢黄斑変性について光干渉断層計による詳細な観察および摘出眼の組織学的検討により病態について考察を行った。

ラットのレーザー誘発脈絡膜新生血管モデルを利用して、加齢黄斑変性における脈絡膜新生血管の発生に細胞外マトリックスであるオステオポンチンの関与を調べた。

網膜色素上皮細胞の新しい3次元培養システムを用いた検討により、卵黄状黄斑ジストロフィーの原因蛋白であるベストロフィンの役割と、加齢性沈着物であるドルーゼン内に認めるアミロイドβの役割について検討した。

4. 加齢黄斑変性の治療薬として抗 VEGF 療法は注目されているが、有効性、副作

用の点で薬物動態は重要である。bevacizumab に関して治療効果および薬物動態について詳細に検討した。

ポリープ状脈絡膜血管症 (PCV) に対する光線力学的療法 (PDT) の3年後以降の長期成績をまとめた。また、視力予後に関わる因子を検討した。

加齢黄斑変性に対する低照射エネルギー PDT の有用性を検討した。また、トリアムシノロン後部テノン嚢下注入、ベバズマブ硝子体内注入と併用する三者併用療法の有用性を検討した。

5. 遺伝子を導入する戦略においては、独自に開発した長期発現型のサル由来レンチウイルスベクターを用いて、網膜色素変性モデル動物 (小動物) の網膜への導入効果について検討した。

磁性微粒子とリポソームを組み合わせた遺伝子導入 (マグネトリポフェクション法) について検討した。

6. 細胞移植治療を目的とし、ヒト ES 細胞から網膜細胞への分化を誘導する方法や、培養細胞に神経保護因子の遺伝子を導入した後に移植する方法の有効性などについて検討した。

人工視覚の研究に関しては、家兎を用い、1年間長期電極埋植による組織損傷を検討した。実用機完成にむけ、白金バルク構造電極、電極ケーブル、気密パッケージを開発し、耐久性、気密性を検証した。また、網膜変性 RCS ラットで至適刺

激パラメータを検討した。

(倫理面への配慮) 臨床研究においては参加者のプライバシー保護のため、個人を識別する生命、生月日、現住所など個人特定につながる情報が一切マスクされるように配慮した。

遺伝子解析・診断を行う場合は、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針(平成13年3月29日文部科学省・経済産業省告示第1号)を遵守した。対象者に対する不利益・危険性を除去し、インフォームドコンセントを得た上で検体を採取し、結果に関しては本人の知る権利および知らない権利を尊重した。個人のプライバシーは厳守するとともに、本人の自主性を尊重し、治験の途中であっても本人の申し出により中止の希望があればそれ以上の継続はしないこととした。また細胞移植による治療に関しては当該施設における倫理委員会の許可のものに行った。

動物実験時には Association for Research in Vision and Ophthalmology に定めた動物実験のためのガイドラインを厳守し、苦痛の解消など動物愛護上の配慮を十分に行った。

C. 研究結果

1. 久山町における疫学調査により、病的近視の有病率は40歳以上の成人の2.5%であり、両眼性のものが1.0%、脈絡膜新

生血管やその瘻痕を認めるものは0.3%であることが判明した。病的と考える眼軸の境界値(カットオフ値)は25.3-25.5mm付近であることが推測された。

2. 常染色体網膜色素変性102例中18例、クリスタリン網膜症6例中4例で遺伝子変異箇所を検出し遺伝カウンセリングに有用であった。検体の1施設への集約システムの構築が実現可能であることが示された。

3. 脳回転状脈絡網膜萎縮症は、高オルニチン血症の代謝産物であるスペルミンによる細胞毒性が考えられた。

ロドプシン P347L 変異を有する杆体優位の進行性網膜変性を生じるトランスジェニックラビットを開発に成功した。

網膜色素上皮の炎症に TLR3 および TLR9 の関与している可能性が示唆された。また、TNF-like weak inducer of apoptosis (TWEAK) の受容体が網膜色素上皮細胞表面に発現しており、TWEAK により IL-8 や MCP-1 などの炎症性ケモカイン・サイトカインの産生や遊走能を亢進することが判明した。

脈絡膜新生血管とポリープ状脈絡膜血管症の血管の形態と解剖学的な発生部位について明らかにした。

脈絡膜新生血管の発生にオステオポンチンの関与が示唆された。

ベストロフィンの役割は、ブルッフ膜形成の第一段階としてのアクチンを含む葉状化足の進展に関与している可能性が

示された。また、アミロイドβの産出は網膜色素上皮の生理機能としてのリポ蛋白産生と密接に関連している可能性が示唆された。

4. Bevacizumab の硝子体内投与は脈絡膜新生血管の治療に有効であるが、血中に移行することが示唆され、抗 VEGF 作用に関連した虚血性心疾患や脳血管障害などの全身への副作用に注意を要するものと考えられた。

PCV は中心窩外の小さなポリープでは良好な視力予後が期待でき、また、自然経過でも半数以上の症例で視力維持が期待できたが、一方で、PDT による治療は自然経過より視力維持、改善に有効であるが、3年の経過で、異常血管網の拡大などを示す症例が多く、ポリープ状病巣の再発を効率に認め、長期の経過観察および症例により追加加療の必要性が示唆された。

PCV に対する低照射エネルギーPDT は、従来の標準 PDT と比較して、視力悪化例が少なく、治療後の出血という合併症の頻度も減少した。また網膜血管腫状増殖を含めた難治性の症例に対しては、トリアムシロン後部テノン嚢下注入、ベバシズマブ硝子体内投与と併用する三者併用療法で、高頻度に滲出の消失が得られた。以上の結果から、低照射エネルギーPDT と併用療法の有用性が示唆された。

5. 長期発現型のサル由来レンチウイルスベクターは、単独で神経保護効果が確認

されている線維芽細胞増殖因子および色素上皮由来増殖因子の遺伝子を同時に導入することによって、低いベクター濃度でも視細胞変性を抑制可能であることを明らかにした。サルを用いた長期安全性試験は投与後4年が経過し、重大な副作用は生じていない。GMP (good manufacturing practice) レベルのベクター生産体制については、セルバンキングを終了し、現在テストランを実施中である。また、遺伝子治療臨床研究実施計画が学内倫理委員会にて平成20年10月3日に承認を受けた。現在、厚生科学審議会への提出準備を進めている。

マグネトリポフェクション法により、*in vitro* で標的部位に選択的に遺伝子導入できる可能性を確認した。

6. ヒト ES 細胞を用い、Wnt および Nodal シグナルの阻害薬の存在下で浮遊細胞塊を形成させると Rx/Pax6 陽性細胞が出現し、さらに培養を続けることにより網膜色素上皮細胞への分化を確認した。また、レチノイン酸とタウリンによりリカパリンやロドプシン陽性の網膜視細胞への分化誘導が可能であった。視細胞変性マウスへ移植した視細胞が視細胞外層が維持されている段階では生着することが確認された。また、骨髄由来幹細胞は加齢黄斑変性などに関与している可能性があるがエリスロポイエチンなどの投与により加齢により低下した機能を回復できる可能性を確認した。

人工視覚の長期電極を家兔に埋植後一年では、明らかな組織損傷が見られず、電極自体の安全性も確認された。至適刺激パラメータについてのデータが得られた。

D. 考察

1. 久山町における疫学調査により、我が国における加齢黄斑変性の有病率や発症率が初めて明らかにされたが、エントリーされた被験者のデータの断面調査により、今後も有益な情報を得ることが可能と考えられる。今回の調査により、病的近視の有病率、両眼性の割合、脈絡膜新生血管合併率、病的な眼軸の境界値を把握できたことにより、患者への統計的な情報提供および適切な診療計画を立てることが可能となった。

2. 今回、複数施設からの検体を検査施設に送付し、遺伝解析と結果報告について問題なく行うことができた。今後、さらに大規模に登録できるシステムを作り、遺伝カウンセリングにおける患者側の要望や問題点も含めて多施設のニーズに答えられる検査集約施設を構築することが必要である。

3. 網膜色素変性は複数の遺伝子の異常からなる疾患群であり、それぞれの遺伝子異常の解析、病態研究は、遺伝子治療その他の新しい治療法の開発につながる可能性があり意義のあるものである。脳回

転状脈絡網膜萎縮症は高オルニチン血症でおこる疾患であるが代謝産物のスペルミンの影響が示唆された。

遺伝子改変動物としては飼育の簡便性などからマウスが通常用いられているが、大型動物で作製できれば電気生理学的評価や新しい治療法の試行、効果判定に有利である。今回、杆体優位の進行性網膜変性を生じるトランスジェニックラビットを開発できたことは今後の病態解明に役立つものと考えられる。

加齢黄斑変性の遺伝子多型が、補体 H 因子や TLR3 などに認められたことにより病態への炎症の関与が示唆されている。TLR3、TWEAK などの網膜色素上皮細胞における役割を解明することにより、病態解明や治療法や予防法の開発につながる可能性がある。

脈絡膜新生血管の形態について組織学的に、また臨床上で光干渉断層計 (OCT) などで把握することは、視力予後が良好であるか不良であるかの予測が可能となり、治療方針の決定に役立つものと考えられる。

脈絡膜新生血管の発生にオステオポンチンの関与が示唆され、病態解明および新しい治療法につながる可能性がある。

ベスト病は網膜色素上皮細胞に発現しているベストロフィンの異常を認める疾患であるが、ベストロフィンのブルッフ膜のメンテナンスへの関与が示されたことで、新しい治療法や類似疾患としての加齢黄斑変性の病態解明につながる可能

性がある。また、アミロイドβ産生は網膜色素上皮細胞のリポ蛋白産生機能に付随するものである可能性が示唆され、今後の加齢黄斑変性の解明につながるものと考えられる。

4. 加齢黄斑変性に対する治療法として、PDT に続き、最近注目されている抗 VEGF 療法であるが、硝子体内への投与においても全身へ移行し、心筋梗塞や脳梗塞の原因となりうることを念頭において治療に用いるべきであることが示唆された。

PCV は自然経過でも視力維持される症例が多いが、PDT によりさらに視力予後が改善することがわかっていたが、3年の長期経過を見ると再発も多く、加齢性疾患である本疾患は治療後も長期に経過観察、必要なら追加治療を検討することが必要である。

低照射エネルギーPDT によっても十分治療効果が得られ、一方でステロイド、抗 VEGF 療法と PDT の三者併用療法が難治性である加齢黄斑変性の特殊型である網膜血管腫状増殖の治療に有効である可能性が示された。今後、症例ごとにテーラーメイドの適切な治療法の選択ができることが理想でそのために病態の理解と治療効果の評価をフィードバックしていく必要があるものと考えられた。

5. サル由来レンチウイルスベクターを用いた遺伝子導入の臨床応用に向けた研究

が進行中で今後の発展が期待される。

マグネトリポフェクタミンを用いて眼内の特定部位に磁力を用いて遺伝子のターゲティング導入の可能性が示唆された。

6. 再生医療や人工視覚の研究は既に視機能を失った患者にとって大きな福音となる可能性を秘めている。幹細胞から網膜視細胞や網膜色素上皮細胞、グリア細胞などへの分化誘導が可能となり、今後、生体における移植細胞の生着の効率が改善すれば臨床応用への道が開くものと考えられる。

人工視覚に関して、埋植した電極が生体に長期間寛容であることがわかり、今後、電気刺激の評価など進めていく必要がある。

E. 結論

加齢黄斑変性は最近の視覚障害の原因疾患の第4位に位置しており、今後も生活の欧米化なども影響して増加傾向にある疾患である。PDT に続き抗 VEGF 療法が導入され、治療の道が開けてきたが、視力改善率は3割-4割程度で、依然として発症すると治療効果に限界があるのが現状である。今後、併用療法も含め、最善の治療法の評価が必要であり、また新治療法や予防法開発のための病態解明が重要である。

網膜色素変性や視神経萎縮においては、原因遺伝子の解析により今後、遺伝子導入療法の可能となるかもしれない。遺伝子導入に関する研究も重要で臨床応用に

に向けた研究が進行中である。また、萎縮した網膜や視神経の再生医療や人工視覚に関する研究は、患者がその臨床応用を待望しているものであり、今後も進展を目指す必要がある。

多方面からの研究により、これら難治性疾患に対して、早期発見・早期治療や社会復帰、QOL 向上といった第二次予防、第三次予防に向けて新しい治療概念や治療法が、着実に臨床の現場へ還元されつつあるとの確信が得られた。

F. 健康危険情報

各分担研究報告に記載

G. 研究発表

1. 論文発表

「IV関連業績一覧」に記載

2. 学会発表

各分担研究報告に記載

H. 知的所有権の出願・登録状況

各分担研究報告に記載

I. 参考文献

各分担研究報告に記載