

201024019A

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 22 年度 総括・分担研究報告書

(3 年計画の 3 年目)

研究代表者 小 椋 祐 一 郎

平成 23(2011)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 22 年度 総括・分担研究報告書

(3 年計画の 3 年目)

研究代表者 小 椋 祐 一 郎

平成 23(2011)年 3 月

目 次

I. 班員構成	1
II. 統括研究報告	3
III. 分担研究報告	15
1. Girdin の生理的および病的網膜血管新生における役割	15
米今敬一 ¹⁾ 、伊藤孝紀 ¹⁾ 、安間哲宏 ¹⁾ 、榎本 篤 ²⁾ 、浅井直也 ²⁾ 、岩瀬紗代子 ¹⁾ 寺崎浩子 ¹⁾ 、高橋雅英 ²⁾ (¹⁾ 名古屋大、 ²⁾ 名古屋大腫瘍病理学)	
2. 低分子量 G 蛋白質 RhoJ による網膜血管新生の制御	18
植村明嘉 ¹⁾ 、福嶋葉子 ²⁾ 、西川伸一 ³⁾ 、根木 昭 ¹⁾ (¹⁾ 神戸大、 ²⁾ 大阪大、 ³⁾ 理化学研究所)	
3. マウス変性網膜モデルでの視細胞移植	21
万代道子、本間耕平、高橋政代(理化学研究所)	
4. 低線量・低線量率放射線による網膜色素変性マウスモデルの変性抑制効果	24
大谷篤史、小嶋洋史、郭 从容、中川聡子、牧山由希子、吉村長久(京都大)	
5. Leber 先天盲を含む常染色体劣性網膜色素変性の網羅的遺伝子解析	26
藤巻拓郎、宮崎 愛、藤木慶子、岩田文乃、高林雅子、田村智英子 和田裕子、早川むつ子、村上 晶(順天大)	
6. AO-SLO による黄斑部毛細血管拡張症の視細胞異常	29
大音壮太郎 ¹⁾ 、板谷正紀 ¹⁾ 、高山弘平 ¹⁾ 、荒川奈央子 ¹⁾ 、辻川明孝 ¹⁾ 古泉英貴 ²⁾ 、吉村長久 ¹⁾ (¹⁾ 京都大、 ²⁾ 京都府立医大)	
7. 1 年間の経過観察期間における強度近視眼の眼軸と後部ぶどう腫の変化	32
高橋明子、伊藤逸毅、井口優子、石川浩平、寺崎浩子(名古屋大)	

8. 加齢黄斑変性治療後の網膜所見の可逆性……………34
大石明生¹⁾、下園正剛¹⁾、畑 匡侑¹⁾、万代道子²⁾、西田明弘¹⁾
高橋政代²⁾、栗本康夫¹⁾
(¹⁾神戸市立医療センター中央市民病院、²⁾理化学研究所)
9. 加齢黄斑変性に対する抗 VEGF 薬の硝子体内注射前後の VEGF 動態に関する研究……37
澤田 修、三宅太一郎、柿木雅志、澤田智子、川村 肇、大路正人(滋賀医大)
10. 滲出型加齢黄斑変性に対する ranibizumab 硝子体内投与の 6 ヶ月治療成績……………39
大島裕司、安田美穂、吉田綾子、狩野久美子、石川桂二郎、朝隈朋子
納富昭司、安里 瞳、橋本左和子、吉田茂生、石橋達朗(九州大)
11. 滲出型加齢黄斑変性に対する ranibizumab 硝子体内投与の 12 か月後成績……………43
永井由巳、尾辻 剛、有澤章子、正健一郎、西川真生、平本裕盛、津村晶子
津田メイ、長央由里子、久保木香織、高橋寛二(関西医大)
12. 加齢黄斑変性における視力良好例に対するラニビズマブ硝子体内投与……………48
新田恵里、山下彩菜、白瀉ゆかり、白神千恵子、白神史雄(香川大)
13. 加齢黄斑変性におけるラニビズマブ投与後早期の滲出不変例の短期予後……………51
藤原篤之、白神千恵子、山下彩奈、白瀉ゆかり、新田恵里、白神史雄(香川大)
14. ポリープ状脈絡膜血管症に対するラニビズマブ硝子体内投与6か月の効果……………54
森隆三郎、湯澤美都子、赤座英里子、春山美穂、田中公二(日本大・駿河台)
15. ポリープ状脈絡膜血管症に対する bevacizumab と ranibizumab の治療の比較……………57
園田祥三、白澤 誠、有村 昇、上笹貫太郎、大塚寛樹、大久保明子、坂本泰二
(鹿児島大)
16. ポリープ状脈絡膜血管症に対する reduced fluence PDT の二年成績……………59
山下彩奈、白神千恵子、白瀉ゆかり、新田恵里、藤原篤之、白神史雄(香川大)

17. 加齢黄斑変性に対するranibizumab 併用光線力学的療法の12か月経過……………62
岩田英嗣、石川浩平、高橋明子、牛田宏昭、植谷留佳、林真理子
大岩和博、伊藤逸毅、寺崎浩子(名古屋大)
18. 加齢黄斑変性の治療指針……………65
加齢黄斑変性治療指針作成ワーキンググループ
高橋寛二¹⁾、小椋祐一郎²⁾、石橋達朗³⁾、白神史雄⁴⁾、湯澤美都子⁵⁾
(¹⁾関西医大、²⁾名古屋市大、³⁾九州大、⁴⁾香川大、⁵⁾日本大・駿河台)
19. ポリープ状脈絡膜血管症のインドシアニングリーン蛍光眼底造影所見による分類……………68
川村昭之、森隆三郎、春山美穂、田中公二、湯澤美都子(日本大・駿河台)
20. 網膜色素上皮の欠損、菲薄化を認めた網膜色素上皮剥離7眼の検討……………71
能谷聡子、森隆三郎、北川貴子、川村昭之、湯澤美都子(日本大・駿河台)
21. 網膜疾患における視覚関連 QOL……………74
岡本史樹、岡本芳史、福田慎一、大鹿哲郎(筑波大)
22. 加齢黄斑変性に対するラニビズマブ硝子体投与後の自覚的見え方と満足度……………76
藤田京子、湯澤美都子(日本大・駿河台)
23. 一般住民におけるポリープ状脈絡膜血管症の有病率と危険因子の検討:久山町研究……………79
安田美穂¹⁾、朝隈朋子¹⁾、荒川 聡¹⁾、橋本左和子¹⁾、大島裕司¹⁾
石橋達朗¹⁾、清原 裕²⁾(¹⁾九州大、²⁾九州大環境医学)
24. わが国における視覚障害の原因……………82
佐藤里奈¹⁾、安川 力¹⁾、加藤亜紀¹⁾、小椋祐一郎¹⁾、大森豊緑²⁾
(名古屋市大、²⁾名古屋市大健康政策科学)
25. 加齢黄斑変性に見られたreticular pseudodrusenの検討……………84
荒川奈央子、大音壮太郎、田村 寛、山城健児、大谷篤史
辻川明孝、吉村長久(京都大)

26. 脈絡膜新生血管に伴う硝子体出血に対する硝子体手術の検討……………87
尾辻 剛、正健一郎、津村晶子、津田メイ、西村哲哉、高橋寛二(関西医大)
27. 健診受診者における加齢黄斑変性関連 HTRA1 遺伝子多型と血清 C-反応性タンパク濃度の関係……………90
安間哲宏、中村 誠、西口康二、菊池雅人、濱島信之、丹羽利充、寺崎浩子(名古屋大)
28. ポリープ状脈絡膜血管症の垂型分類と感受性遺伝子の関係……………94
田中公二¹⁾、中山智祥²⁾、川村昭之¹⁾、森隆三郎¹⁾、湯澤美都子¹⁾
(¹⁾日本大・駿河台、²⁾日本大板橋臨床検査医学)
29. 滲出型加齢黄斑変性の表現形および光線力学療法への反応性に関連する遺伝子多型の探索と個別化医療への応用……………96
本田 茂、別所弘明、松宮 亘、楠原仙太郎、塚原康友、根木 昭(神戸大)
30. 多施設からの網膜変性疾患試料収集および遺伝子診断システムの構築……………99
石上智愛¹⁾、和田裕子³⁾⁴⁾、村上 晶⁴⁾、岩田 岳⁵⁾、万代道子¹⁾²⁾、高橋政代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⁾わだゆこう眼科クリニック
⁴⁾順天大、⁵⁾東京医療センター臨床研究センター)
31. 脂溶性ビタミン欠乏による網膜変性と視機能障害……………101
村上 晶、河野博之(順天大)
32. 機能性が高い血管内皮前駆細胞の網膜色素変性症への投与効果に関する研究……………104
福田慎一¹⁾²⁾、長野真澄²⁾、山下年晴²⁾、大根田修²⁾、大鹿哲郎¹⁾
(¹⁾筑波大、²⁾筑波大再生幹細胞生物学)
33. 網膜色素変性に合併した黄斑浮腫に対する塩酸ドルゾラミド点眼の長期経過……………107
池田康博、久富智朗、吉田倫子、納富昭司、宮崎勝徳、石橋達朗(九州大)
34. UF-021 0.15%点眼液の網膜色素変性を対象とした第2相臨床試験……………109
山本修一¹⁾、菅原岳史¹⁾、中沢 満²⁾、町田繁樹³⁾、村上 晶⁴⁾、直井信久⁵⁾

和田裕子⁶⁾、三宅養三⁷⁾、真島行彦⁸⁾

(¹⁾千葉大、²⁾弘前大、³⁾岩手医大、⁴⁾順天大、⁵⁾宮崎大、⁶⁾わだゆうこ眼科、⁷⁾愛知医大、⁸⁾アールテック・ウエノ)

35. 錐体 ERG が残存している網膜色素変性症患者と消失した患者の比較 112
荻野 顕、大谷篤史、小寫洋史、牧山由希子、中川聡子、吉村長久(京都大)
36. 網膜色素変性の錐体 ERG の a 波の起源 115
近藤峰生、廣田里香、上野真治、寺崎浩子(名古屋大)
37. 網膜色素変性における網膜内層機能の電気生理学的評価 117
木本龍太、萩原 章、菅原岳史、山本修一(千葉大)
38. 網膜色素変性症における視細胞層および網膜色素上皮細胞層の評価 120
中川聡子¹⁾、大谷篤史¹⁾、小寫洋史¹⁾、荻野 顕¹⁾、牧山由希子¹⁾、栗本雅史¹⁾²⁾
中村 元³⁾、吉村長久¹⁾(¹⁾京都大、²⁾京都桂病院、³⁾天理よろづ相談所病院)
39. 網膜色素変性における外境界膜、視細胞内節外節接合部と視機能の関係 122
萩原 章、木本龍太、菅原岳史、山本修一(千葉大)
40. 網膜色素変性症における網膜嚢胞様変化について 126
牧山由希子、大谷篤史、小寫洋史、中川聡子、荻野 顕、栗本雅史、吉村長久
(京都大)
41. 網膜変性疾患における SD-OCT の特徴的所見 outer retinal sphere formation 129
小寫洋史、大谷篤史、中川聡子、牧山由希子、荻野 顕、栗本雅史、吉村長久
(京都大)
42. NSAIDs による HO-1 を介した脈絡膜血管新生抑制 131
吉永就正、有村 昇、白澤 誠、大塚寛樹、園田祥三、坂本泰二(鹿児島大)
43. 膜蛋白 CD9 標的治療による脈絡膜血管新生阻害剤 134
寺崎寛人¹⁾²⁾、上笹貫太郎¹⁾²⁾、小賤健一郎²⁾、坂本泰二¹⁾
(¹⁾鹿児島大、²⁾鹿児島大遺伝子治療・再生医学)

44. アルドース還元酵素阻害剤 Fidarestat による脈絡膜新生血管抑制 137
野崎実穂¹⁾、中島淳志²⁾、守本亘孝²⁾、加藤憲明²⁾、小椋祐一郎¹⁾
(¹⁾名古屋市大、²⁾三和化学研究所)
45. 酸化脂質によるラット脈絡膜新生血管モデル 141
馬場隆之、山本修一(千葉大)
46. 種々の網膜疾患の硝子体手術中における眼底動脈圧測定 144
杉浦好美、岡本史樹、岡本芳史、大鹿哲郎(筑波大)
47. Brilliant Blue G の細胞染色性と細胞膜透過性の検討 147
久富智朗、納富昭司、武田篤信、池田康博、江内田寛、石橋達朗(九州大)
48. P2X7 受容体遮断薬 Brilliant Blue G による網膜神経細胞保護効果の検討 149
納富昭司、久富智朗、武田篤信、池田康博、江内田寛、石橋達朗(九州大)
49. 高濃度グルコース誘導神経細胞死における神経保護因子の神経生存・再生効果の検討 152
忍足俊幸、芳田奈津代、山本修一(千葉大)
50. 慢性高眼圧によるラット視神経乳頭および網膜におけるアクアポリン9の発現に及ぼす影響 156
中真衣子、金森章泰、中村 誠、根木 昭(神戸大)
51. 加齢黄斑変性症の病型別中心脈絡膜厚の特徴 158
白瀧ゆかり、白神千恵子、山下彩奈、藤原篤之、新田恵里、白神史雄(香川大)
52. 滲出型加齢黄斑変性に対する ranibizumab 硝子体注射後の脈絡膜新生血管の変化 162
有澤章子、永井由巳、西川真生、平本裕盛、長央由里子、久保木香織
高橋寛二(関西医大)
53. 慢性期中心性漿液性脈絡網膜症に対する光線力学的療法前後の脈絡膜静脈の変化 165
植谷留佳、伊藤逸毅、大岩和博、石川浩平、寺崎浩子(名古屋大)

54. カニクイザルを用いたベバシズマブ硝子体内投与における薬物動態の解析	168
三宅太一郎、柿木雅志、澤田 修、澤田智子、川村 肇、大路正人(滋賀医大)	
55. 近視性脈絡膜新生血管に対する Pegaptanib sodium と Bevacizumab 硝子体内投与の短期的治療効果の比較	171
北川貴子、湯澤美都子(日本大・駿河台)	
56. 後部ぶどう腫の境界に生じるポリープ状脈絡膜血管症の造影所見	175
平山真理子、川村昭之、湯澤美都子(日本大・駿河台)	
57. 網膜色素上皮へのアミロイドβ 負荷と小胞体ストレス	179
加地 秀、松井朝子、黒土 愛、牛田弘明、藤井康生、寺崎浩子(名古屋大)	
IV. 関連業績一覧	183

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
研究代表者	小椋祐一郎	名古屋市立大学医学部眼科	教 授
研究分担者	石橋 達朗	九州大学医学部眼科	教 授
	大路 正人	滋賀医科大学眼科	教 授
	大鹿 哲郎	筑波大学医学部眼科	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
	高橋 寛二	関西医科大学眼科	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
	寺崎 浩子	名古屋大学医学部眼科	教 授
	根木 昭	神戸大学医学部眼科	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	大森 豊緑	名古屋市立大学医学部医療健康政策科学	特任教授
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	星野 俊則	名古屋市立大学医学部事務室 TEL 052-853-8078 FAX 052-842-0863 E-mail:hoshino-toshinori@sec.nagoya-cu.ac.jp	

Ⅱ. 統括研究報告

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患対策研究事業)

総括研究報告書

研究代表者 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】

【研究目的】 難治性・進行性で視力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。

【研究方法】 (1)加齢黄斑変性は高齢者の主要な失明原因であり近年増加傾向にある重大疾患である。光線力学的療法(PDT)に加え、2009年に抗血管内皮増殖因子(VEGF)療法が導入され、併用療法を含めると治療方法に多様性が生じているため、いずれの治療がより有効であるか病型別に検討した。また疫学調査および病態解明のための基礎研究、iPS細胞を利用した再生医療の臨床応用も進めている。(2)網膜色素変性症は遺伝性の網膜変性疾患であるが、日本人特有の遺伝子異常が報告されており、遺伝子治療や神経保護治療に向けての基礎となる遺伝子データベースの構築を目指す。特定疾患の診断基準の見直しを行う。また、病態解明、神経保護治療薬、遺伝子治療に関する基礎および臨床研究を進めている。(3)視神経萎縮は緑内障を始めいろいろな病態で発症し、不可逆的障害を残す。視神経萎縮の進行阻止のための神経保護治療の開発と、失われた視機能の回復を目的とした幹細胞による網膜再生治療と人工視覚の開発を行っている。その他、視覚障害者の原因疾患の割合を調査した。

【結果と考察】 (1)加齢黄斑変性:病型別の抗VEGF療法およびPDTの治療効果を検討し、滲出型加齢黄斑変性に対する治療指針を作成した。久山町における疫学調査では、日本人の多いとされるポリープ状脈絡膜血管症の割合が明らかになった。iPS細胞を利用した再生医療の臨床プロトコル作製中である。(2)網膜色素変性症:多施設で得た患者検体を1施設へ集約・解析するシステムを構築中である。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の動物実験における長期安全性が示され臨床試験の準備中である。(3)視神経萎縮や網膜変性:幹細胞から網膜の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。視覚障害者の原因疾患として、1位:緑内障、2位:網膜色素変性、3位:糖

尿病網膜症、4位:加齢黄斑変性となり、若干の順位変動は認めしたが、前回の調査と同様の結果であった。

【結論】 加齢黄斑変性に対しては、今後、さらに有効な治療法や予防法開発のための臨床研究、病態解明が進むものと思われる。網膜色素変性や視神経萎縮においては、原因遺伝子の解析やデータベースの構築が進められ、また、遺伝子導入療法も臨床応用に向けて開発中である。萎縮した網膜や視神経の再生医療や人工視覚の臨床応用は、失明患者が熱望するものであり、今後も進展を目指す必要がある。

【研究分担者】

石橋達朗（九州大学・眼科・教授）

大鹿哲郎（筑波大学・眼科・教授）

大路正人（滋賀医科大学・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）

高橋寛二（関西医科大学・眼科・教授）

高橋政代（理化学研究所・チームリーダー）

寺崎浩子（名古屋大学・眼科・教授）

根木 昭（神戸大学・眼科・教授）

村上 晶（順天大学・眼科・教授）

山本修一（千葉大学・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）

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。また滲出型加齢黄斑変性において国内で多いとされるポリープ状脈絡膜血管症の有病率を調査する。

2. 視覚障害対策のため、日本における最近の視覚障害者の原因疾患の実態調査を行う。

3. 現行の視覚障害認定基準は平成7年に交付、平成16年に一部改正されたものの、加齢黄斑変性患者の急増など現状に適応できない種々の問題がある。このような身体障害者の視力判定の問題点を解決するために加齢黄斑変性の視力と日常生活の困難さについて検討した。

4. 滲出型加齢黄斑変性の治療法として抗血管内皮増殖因子(VEGF)、光線力学的療法(PDT)や低照射エネルギーPDTの単独および併用した場合の治療効果や正常網脈絡膜組織への影響を病型別に検討し、治療指針を作成する。また、抗VEGF薬について眼内、血中での薬物動態を調査する。

5. 網膜色素変性の特定疾患申請時には、フルオレセイン蛍光眼底造影が必須とされているが、造影剤に対するアレルギーの問題があり、今回、その必要性和代替の検査法について再評価することを目的とした。

6. 遺伝子解析により加齢黄斑変性の遺伝子多型やその治療効果への影響を調査する。また、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。

7. 網膜色素変性患者に対して、神経保護薬による網膜保護の臨床試験を行う。

8. 生化学的手法および動物実験等により加齢黄斑変性や遺伝性網脈絡膜変性疾患や網膜生理機能の病態を探索する。

9. 臨床応用に向けた遺伝子導入療法について検討した。

10. 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. 無作為に抽出した2県1都市において平成19年～21年の3年間に身体障害者診断書・意見書に基づき新規に視覚障害認定を受けた1477名について調査した。

3. 加齢黄斑変性患者の視力と日常生活の困難さの関係を調査するため、両眼の遠見視力、近見視力、最大読書速度、臨界文字サイズを測定し、また、DLTV (the daily living task

dependent on vision)の聞き取り調査を行った。

4. 加齢黄斑変性の治療薬である抗 VEGF 療法の薬物動態を調査するため、bevacizumab に関して治療効果の評価およびカニクイザルを用いた薬物動態調査を行った。また、抗 VEGF 薬投与した患者の前房水を採取して眼内 VEGF 濃度を測定した。

滲出型加齢黄斑変性や特殊病型である国内に多いポリープ状脈絡膜血管症(PCV)や難治な網膜血管腫状増殖(RAP)に対して、PDT 単独、低照射エネルギー PDT 単独、ranibizumab (0.5 mg)または bevacizumab (1.25 mg)硝子体内投与単独、抗 VEGF 薬併用 PDT、さらにトリアムシロン後部テノン嚢下投与との三者併用療法の治療効果(視力、黄斑部網膜厚の推移)、合併症、黄斑機能、蛍光眼底造影所見などについて検討した。

近視性脈絡膜新生血管に対する bevacizumab と pegaptanib 硝子体内投与の治療成績を比較した。

5. 網膜色素変性の診断におけるフルオレセイン蛍光眼底造影の必要性と代替の検査法について、文献的考察と実際の症例における検討を行った。

6. 加齢黄斑変性 156 例、PCV229 例で、各群の初診時の矯正視力、最大病巣径(GLD)と関連のある遺伝子多型を検索した。また、上記の群で PDT 単独療法を施行された狭義 AMD71 例、PCV135 例に対して PDT 後 12 ヶ月時点での矯正視力に関連する遺伝子多型を検索し

た。

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。全国の多施設からの依頼に答えられるよう難病資源バンクと協力した。

7. 0.15%ウノプロストン点眼液による網膜色素変性における神経保護効果を、前向き二重盲検 3 群比較(プラセボ、1 滴点眼、2 滴点眼)で臨床試験を行った。

8. 網膜色素上皮細胞の培養における脱分化の問題を解消するための手段として Transwell™を用いた培養の意義を調査した。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。

網膜色素上皮への小胞体ストレスの影響を調査した。

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。

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。

網膜色素変性の病態解明に役立つものと考えられるロドプシン P347Lトランスジェニックラビッ

トを開発し、網膜電図所見を検討した。

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。

アドレノメジュリン(ADM)ヘテロ欠損マウスと野生型マウスを使って、レーザー誘発脈絡膜新生血管を作製して、比較検討した。

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。

網膜色素変性における黄斑部微細構造と網膜機能の関係を調査した。

9. 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。

PEG-C6-PAsp (DET)ブロック共重合体を設計し、蛍光色素発現プラスミドまたは血管新生阻害効果のある sflt-1 発現プラスミドを内包するミセル型ベクターを用い、マウスレーザーCNVモデルに対する遺伝子導入効率と抑制効果を検討した。

10. 細胞移植治療を目的とし、ES 細胞や iPS 細胞から網膜色素上皮細胞や網膜細胞への分化を誘導する方法や、これらの細胞を移植する方法や移植の有効性などについて検討し

た。また臨床応用に向けてのプロトコール作製を行う。

網膜色素変性モデルとして、網膜変性と血管萎縮に至る C3H 系マウス(Pde6b(rd1))に、機能性が高い血管内皮前駆細胞(Alde-Low EPC)の硝子体内投与を行い、血管・神経保護作用について検討した。

人工視覚の研究に関しては、家兔を用い、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を行った。

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. 福岡県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 5.4%であり、両眼性のものが 2.7%、近視性黄斑変性(脈絡膜新生血管やその癬痕形成を認めるもの)は0.3%であることが判明した。加齢黄斑変性では有意に高感度CRP値が高く、高血圧、高脂血症、心疾患、喫煙の割合が有意に多くみられた。

2. 視覚障害の原因の第一位は緑内障で 19.8%であった。二位は網膜色素変性症 13.3%、三位は糖尿病網膜症 12.7%、四位は黄斑変性 10.5%、五位は網膜・脈絡膜萎縮 8.9%であった。平均年齢は 69.2%であった。また上位 5 位の各疾患において高い割合を占める等級は、緑内障では 1 級 2 級で 47.9%、網膜色素変性症では 2 級が 59.4%であった。糖尿病網膜症では 2 級が最も多く 27.7%であり、その他各等級にわたって 10%台の割合で認定を受けていた。黄斑変性では 4 級 5 級で 47.8%、網膜・脈絡膜萎縮は 2 級が 28.0%、5 級が 22.0%と二峰性を示した。

3. 加齢黄斑変性患者の良い方の遠見矯正視力と DLTV 総スコアの Spearman 相関係数は 0.76 で、視力が良いほど総スコアの平均点は良く、視力 0.4 でスコア 69.3 と不良であり、読み書きが困難になるためと考えられた。一方、視

力 0.6 ではスコア 89.5 でそれ以上の視力と大きな差はなかった。

4. Bevacizumab の硝子体内投与後、眼内半減期は 2.8 日であり、4週間検出可能であった。硝子体手術眼では眼内半減期は 1.1 日に短縮した。血中や対側眼への移行も確認され、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治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 後、平均視力の推移は logMAR にて、治療前、1年後、2年後で 0.42、0.27、0.30 であり、2年後でも有為な改善を維持していた。2年の時点で、視力改善が 36%、不変が 57%、悪化 7%であった。平均治療回数が 1.8 回(1-4回)であり、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。PCV に対する ranibizumab 硝子体内投与後 3ヶ月の時点では治療前視力良好群(視力 0.6-1.0)では全例視力維持、不良群(視力 0.1-0.5)では改善 20%、不変 70%、悪化 10%であった。ポリープ状病巣の完全消失は 22%で得られ、術前フィブリンを伴っているもの、大きな出血を伴うもので消失しやすいことが示唆された。一方、PCV に PDT を

施行した症例の視力経過を追うと、1年後に改善した症例ではその後も悪化に転ずる症例は少なかった。

RAP (stage II 8眼、stage III 1眼) に対する ranibizumab 併用低照射エネルギーPDT 後3ヶ月の時点で、視力改善が4眼、不変5眼、悪化0眼であった。網膜流入血管は8眼(89%)で閉塞していた。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。

近視性脈絡膜新生血管に対する治療効果は、pegaptanib より bevacizumab の方が優れていた。

5. 網膜色素変性の特定疾患の診断基準では、「蛍光眼底造影所見で網膜色素上皮萎縮による過蛍光」が判定に必須とされているが、蛍光色素へのアレルギーで検査が不可能な場合は除外が認められている。蛍光眼底造影検査で得られる所見は、眼底検査、視野検査、網膜電図検査等でも診断できる。また、最近普及してきた眼底自発蛍光検査や光干渉断層計(OCT)では網膜色素上皮の萎縮や代謝異常、嚢胞様黄斑浮腫の診断により有用で非侵襲的であった。

6. *ARMS2* 遺伝子の rs10490924(A69S)多型は加齢黄斑変性およびPCVの初診時GLDと有意な相関が認められた($p=0.0025$)。さらに同多

型はPDT12ヵ月後の矯正視力と有意な相関を認めた。

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。東京医療センターのサーバーと理研のサーバーを用いて患者登録、遺伝子解析データの管理を行い、医薬基盤研究所に設置された難病研究資源バンクの協力を得て、試料の全国からの輸送、保管システムを考え、遺伝子診断の多施設ネットワークシステムを構築した。

7. 網膜色素変性患者に 0.15%ウノプロストン点眼を行うことにより、中心 2 度以内の平均網膜感度の悪化がプラセボ群に比して有意に少なく、本剤が網膜色素変性の網膜感度を改善するとともに悪化を阻止することが明らかになった。

8. 胎生眼球(18-20 週)から網膜色素上皮を分離し、初代培養後、24ウェル培養皿内に挿入した Transwell™ 上に10万個の細胞を播種したところ、六角形の上皮の形態を示し、免疫染色により分化マーカーの発現を確認できた。

ベストロフィン役割は、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。

網膜色素上皮下に認める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を培養網

膜色素上皮細胞に負荷により小胞体ストレスマーカーや VEGF 発現亢進を認めた。また、小胞体ストレスを薬物で誘導することによって上皮のバリア機能に重要な細胞間の tight junction への影響を認めた。

脳回転状脈絡網膜萎縮症は、細胞内オルニチン濃度、NO、アルギナーゼ II の発現上昇を認めた。また、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。

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。

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。ERG は全ての成分が週齢とともに減弱した。b 波よりも a 波の方がより障害され、Ops は保たれていた。

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。

ADM ヘテロ欠損マウスではレーザー誘発脈絡膜新生血管の活動性が野生型より有為に高いことが示された。マクロファージの浸潤も上昇していた。一方、ADM は血管内皮細胞の管腔構造形成に直接作用せず、網膜色素上皮細胞からの CCL2 の発現を抑制していた。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。

網膜外層構造の障害は網膜内層の構造異常や視機能低下と関連することが明らかになった。

9.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。

蛍光色素発現プラスミド内包ミセルをレーザーCNV誘導マウスの静脈内投与7日目に脈絡膜伸展標本においてCNV領域に蛍光発現を認めた。また、sflt-1発現ミセルを導入した群ではCNVの有為な抑制を認めた。

10.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バリンやロドプシン陽性の網膜視細