

201024019B

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～平成 22 年度 総合研究報告書

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 20 年度～平成 22 年度 総合研究報告書

研究代表者 小 椋 祐 一 郎

平成 23(2011)年 3 月

目 次

I. 統合研究報告	1
網膜脈絡膜・視神経萎縮症に関する調査研究	
小椋祐一郎	
II. 関連業績一覧	23
III. 関連業績別刷	41

I. 統 合 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) 総合研究報告書

網膜脈絡膜・視神経萎縮症に関する調査研究

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】

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。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。遺伝子解析によりARMS2、補体H因子などの遺伝子多型と加齢黄斑変性の発症率や病態、治療への反応性が明らかになってきている。その他、病態解明のための基礎研究も進めている。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するため、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。特定疾患の診断基準の見直しを行う。サルやヒトのES細胞およびiPS細胞を使って網膜色素上皮や視細胞への分化誘導に成功した。現在、網膜下への移植実験を推進中である。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。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。

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。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。視覚障害者の原因調査を行った結

果、前回同様、1位：緑内障、2位：糖尿病網膜症、3位：網膜色素変性、4位：加齢黄斑変性となった。

【分担研究者】

新家 眞（東京大学・眼科・教授）

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）

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）

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、さらにトリアムシノ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。

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。

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(VEP)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-PA_{sp} (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。

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癒痕形成を認めるもの)は 0.3%であることが判明した。

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 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。網膜流出入血管は 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。

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。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。

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。サル iPS 細胞は、オスのカニクイザルの腹部の皮膚を培養し、OCT3/4、Sox2、Klf4、c-Myc 遺伝子を導入したレトロウイルスを感染させ作製した。iPS 細胞から網膜色素上皮細胞を誘導するため、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誘導した。これらの細胞を単離、接着培養を行って、免疫染色におりマーカーの発現を確認した。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。C3H 系マウスは Pde6b(rd1)に遺伝子点変異があり約 4 週で視細胞の消滅および網膜深層血管の委縮を認めた。Alde-Low EPC を投与した群では、Alde-High EPC、HUVEC、PBS 投与群と比較して有意に血管委縮および神経変性に至る速さを抑制した($p < 0.01$)。さらに Alde-Low EPC は視細胞層におけるアポトーシスを有意に抑制した。

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. 福岡県久山町における疫学調査により、40歳以上の日本人における病的近視及び近視性黄斑変性の患者数を産出すると、我が国における病的近視の者は361万人であり、そのうち近視性脈絡膜新生血管や黄斑変性を伴うものは20万人にのぼると推定された。

2. 今回の視覚障害の原因疾患調査では、糖尿病網膜症が順位を下げ、網膜色素変性症が二位となった。これは生活習慣病である糖尿病の人口は増加にあるが、受診率の向上や治療、技術の進歩に伴って失明に至る症例の減少したことを示唆する可能性はあるが、サンプルの抽出数などのバイアスも考慮に入れる必要がある。

3. 身体障害者等級を決めるための視力は良

い方の眼の遠見矯正視力で判定し、等級の上限視力は現行の0.6でなく0.3か0.4に設定するのが妥当かと考えられた。

4. 加齢黄斑変性に対する治療法である抗 VEGF 薬の硝子体内投与は比較的安全で有効な治療法であるが、硝子体内に投与された薬剤は全身へ移行し、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。また、無硝子体眼では効果が低下すると予測され、ドラッグデリバリーシステムなどを用いた新たな治療法の開発が必要である。

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た。フィブリンや出血を伴ったものでは ranibizumab 硝子体内投与のみでも有効である可能性が示され、視力良好例での選択肢となりうるもの考えられた。

難治性の病型である RAP に対しては、低照射エネルギー PDT と抗 VEGF 薬の併用や、ステロイド、抗 VEGF 療法と PDT の三者併用療法が有効である可能性が示唆された。

得られた結果を総合し、病型別の治療指針を作成した。

5. 網膜色素変性の診断に必須とされるフルオレセイン蛍光眼底造影検査による合併症は悪

心、嘔吐を初め、重篤なアナフィラキシーショックなどの出現頻度は 0.002〜0.03%と報告されている。より非侵襲的で実用的な眼底自発蛍光や OCT を代替検査として採用すべきであると考えられた。

6. 加齢黄斑変性に関して、今後、遺伝子多型を調査することにより、個々に適した治療法や視力予後の予測が可能となり、テーラーメイド医療が実現する可能性がある。

遺伝子診断のために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。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。

7. 網膜色素変性や視神経萎縮に対して、神経保護薬の有用性が示され、今後の新薬の開発が期待できる。

8. Transwell™ 上で培養した網膜色素上皮は良く分化して上皮として特徴的な細胞形態と極性を示し、網膜色素上皮の生理機能を評価する上で有用な培養システムであることが示唆された。

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。

加齢性黄斑変性の病態に、アミロイドβや小胞体ストレスの関与が示唆された。

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。細胞内オルニチン濃度の上昇だけでなく NO によって細胞傷害が起こっているものと考えられた。また、ミトコンドリアでアルギニンを基質としてオルニチンを産生するアルギナーゼ II の発現上昇を認めるが、細胞内アルギニン濃度を低下させ、NO 産生を抑制して、細胞保護的に働くことが示唆された。

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。

ロドプシン P347L トランスジェニックラビットの ERG は進行性の視細胞変性に伴う網膜内層機能の二次的変化として興味深い所見を呈しており網膜色素変性モデルとしての有用性が示された。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。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。

ADM は網膜色素上皮細胞からの CCL2 の発現を抑制し、マクロファージ遊走を抑制することで脈絡膜新生血管抑制作用を発揮することが示唆された。

脈絡膜新生血管の形態について組織学的に、また臨床上、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。

9. 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。

遺伝子導入のための新規全身投与型 PEG-C6-PAsp (DET)ミセルはマウス CNV に対し、高い遺伝子導入効果と CNV 抑制効果を認めた。今後、副作用等について評価が必要である。

10. 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。今回作成した病型別の治療指針をもとに治療効果の評価を継続し、遺伝子多型などの情報も考慮しながら、最善の治療法を探索していく。また、新治療法や予防法開発のための病態解明を推進していく。

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、遺伝子導入療法が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。

網膜色素変性の特定疾患認定の必須項目である蛍光眼底造影の必要性につき議論を進める必要がある。現状の視覚障害認定基準が加齢黄斑変性を想定したものでなく、再評価の

必要性が示唆された。

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. 研究発表

1. 論文発表

「Ⅱ 関連業績一覧」に記載

2. 学会発表

Takase A, et al: Role of bestrophin in basal membranogenesis of retinal pigment epithelium. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Fort Lauderdale, Florida, 2008.

Yasukawa T, et al: Three-dimensional spheroid culture system redifferentiates retinal pigment epithelial cells independent of the number of passages. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Fort Lauderdale, Florida, 2008.

Hirano Y, et al: Suppression of ICAM-1 in murine retina by plasmid small interfering RNAs. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Fort Lauderdale, Florida, 2008.

入山彩、他: 網膜色素変性症患者におけるスベ

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. 第62回日本臨床眼科学会、東京都、2008.

高橋秀徳、Wu Yaqiong、入山彩、小畑亮、井上裕治、柳靖雄、玉置泰裕、沼部敦司、上原譽志夫、新家真: 高血圧ラットの臓器障害に及ぼす Fluvastatin の影響と網膜血管の白血球接着との関連. 第 112 回日本眼科学会総会、横浜市、2008.

Takahashi H, Yaqiong W, Numabe A, Yanagi Y, Tamaki Y, Araie M, Uehara Y: Angiotensin subtype-1 receptor antagonist Losartan and regulator of G-protein signalling 2 in kidney damage in dahl salt-sensitive rat. Hypertension Berlin, Germany, 2008.

野村陽子、他: 狭義加齢黄斑変性とポリープ状脈絡膜血管症における硝子体牽引の病態への関与. 第112回日本眼科学会総会、横浜市、2008.

Nomura Y, et al: Posterior vitreomacular adhesion in exudative age-related macular degeneration and polypoidal choroidal vasculopathy. The association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Fort Lauderdale, Florida, 2008.

野村陽子、他: 加齢黄斑変性における後部硝子体癒着の有無と光線力学療法の治療成績との関連. 第62回日本臨床眼科学会、東京都、2008.

Yasuda M, Kiyohara Y, Hata Y, Arakawa S, Iida M, Ishibashi T. The 9-year incidence and risk factors for age-related macular degeneration in a general Japanese population: The Hisayama Study. The first joint meeting of Korea-China-Japan Ophthalmologists, Ilsan, Korea, 2008.

福田恒輝、他: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. 第47回日本網膜硝子体学会、京都市、2008.

Hukuda K, et al: Pharmacokinetics of bevacizumab after topical, subconjunctival and intravitreal administration in rabbits. The association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Fort Lauderdale, Florida, 2008.

山下彩奈、他:加齢黄斑変性に対する reduced fluence PDTの短期成績. 第62回日本臨床眼科学会、東京都、2008.

白神千恵子、他:網膜血管腫状増殖に対する reduced fluence PDTによるトリプル治療. 第62回日本臨床眼科学会、東京都、2008.

沢美喜、他:近視性血管新生黄斑症における眼底自発蛍光変化. 第62回日本臨床眼科学会、東京都、2008.

若林卓、他:フーリエドメイン光干涉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. O.C.C.大阪市、2008.

Oshima Y, et al: Fourier-domain optical coherence tomographic imaging analysis of foveal microstructural changes and the correlation with visual recovery in patients with successful repair of retinal detachment. XXXI World Ophthalmology Congress, Hong Kong, 2008.

中尾武史、辻川元一、田野保雄:ゼブラフィッシュ変異体における視細胞死とフォトランスダクション. 第112回日本眼科学会総会、横浜市、2008.

Nakao T, Tsujikawa M, Tano Y: Phototransduction and photoreceptor cell death are closely related in a zebrafish model. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Fort Lauderdale, Florida, 2008.

Nakao T, Tsujikawa M, Tano Y: Suppression of cyclic GMP-phosphodiesterase beta subunit has an insignificant effect on photoreceptor cell death in a zebrafish model. XXXI World Ophthalmology Congress, Hong Kong, 2008.

高林雅子、岩田文乃、村上晶:ロービジョンへの対応が困難な患者の支援の課題. 第62回臨床眼科学会、東京都、2008.

Hiramatsu A, et al: Unoprostone can

preservecone function in retinitis pigmentosa. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Fort Lauderdale, Florida, 2008.

平松彩子、他：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。第112回日本眼科学会総会、横浜市、2008。

Watanabe M, et al: Relationships between macular function and the NEI VFQ-25 in patients with retinitis pigmentosa, The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Fort Lauderdale, Florida, 2008.

Ohira T, et al: Relationships between peripheral visual field loss and vision-related quality of life in patients with retinitis pigmentosa, The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Fort Lauderdale, Florida, 2008.

北橋正康、他：黄斑下血腫に対するガス血腫移動とアバスチン™硝子体注入の併用療法。第31回日本眼科手術学会、横浜市、2008。

Kitahashi M, et al: Combined intravitreal gas injection and intravitreal bevacizumab for massive submacular hemorrhage due to polypoidal choroidal vasculopathy. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Fort Lauderdale,

Florida, 2008.

大町和美、小片一葉、菅原岳史、羽田明、山本修一：網膜色素変性におけるコントラスト視力の有用性。第112回日本眼科学会総会、横浜市、2008。

Omachi K, Ogata K, Sugawara T, Hata A, Yamamoto S: Evaluation of contrast visual acuity in patients with retinitis pigmentosa. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Fort Lauderdale, Florida, 2008.

森隆三郎、他：スペクトラルドメインOCTを装備した共焦点SLOのポリープ状脈絡膜血管症の形態。第62回日本臨床眼科学会、東京都、2008。

湯澤美都子、中静裕之、森隆三郎、春山美穂、赤座英里子、川村 昭之、李才源：ポリープ状脈絡膜血管症。第47回網膜硝子体学会・第25回眼循環学会合同学会、京都市、2008。

石原健司、板谷正紀、大石明生、鶴木則之、山池紀翔、西嶋一晃、喜多美穂里、吉村長久：原田病における漿液性網膜剥離のスペクトラルドメイン光干渉断層計所見。第112回日本眼科学会総会、横浜市、2008。

Ishihara K, Hangai M, Nishijima K, Kita M, Yoshimura N: Foveal schisis in Vogt-Koyanagi-Harada disease. Annual Meeting of American Academy of Ophthalmology (AAO), Atlanta,

2008.

藤本雅大、板谷正紀、須田謙史、西嶋一晃、辻川明孝、吉村長久:多発一過性白点症候群(MEWS)の暗点および暗点に一致する視細胞層異常の検討. 第62回日本臨床眼科学会、東京都、2008.

Otani A, et al: Functional recovery of impaired bone marrow-derived myeloid progenitor cells as a new therapeutic strategy for choroidal neovascularization. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Fort Lauderdale, Florida, 2008.

佐々原学、他:骨髄由来細胞の機能回復による脈絡膜新生血管の重症化阻止. 第47回日本網膜硝子体学会、京都市、2008.

大谷篤史、他:網膜脈絡膜手術と生体反応—生体反応の個人差が疾患予後に影響する? 第112回日本眼科学会総会、横浜市、2008.

大谷篤史、佐々原学、大石明生、小嶋洋史、牧山由希子、中村元、吉村長久:骨髄由来細胞活性化による網膜色素変性治療. 第47回日本網膜硝子体学会、京都市、2008.

万代道子、他:移植時ホスト網膜の環境の検討—成体網膜と新生児網膜. 第62回日本臨床眼科学会、東京都、2008.

松山加耶子、他:Bevacizumab投与前後の血中V

EGF濃度. 第47回日本網膜硝子体学会・第25回日本眼循環学会合同学会、京都市、2008.

吉川匡宣、緒方奈保子、和田光正、尾辻剛、松岡雅人、松山加耶子、高橋寛二:糖尿病網膜症に合併した滲出型加齢黄斑変性. 第47回日本網膜硝子体学会・第25回日本眼循環学会合同学会、京都市、2008.

野村陽子、他:加齢黄斑変性における硝子体網膜癒着と光線力学療法の治療前所見・治療成績との関連. 第63回日本臨床眼科学会、福岡市、2009.

池田康博、他: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効果. 第63回日本臨床眼科学会、福岡市、2009.

大久保明子 他:光線力学的療法が介入するポリープ状脈絡膜血管症の治療効果. NOW2009、名古屋市、2009.

園田祥三、他:TranswellTMを用いた極性ヒト網膜色素上皮細胞の培養及びその評価. 第113回日本眼科学会総会、東京都、2009.

山下彩奈、他:ポリープ状脈絡膜血管症に対するreduced fluence PDTの一年成績. 第63回日本臨床眼科学会、福岡市、2009.

廣岡一行、楊宏偉、福田恒輝、白神史雄:ラット緑内障モデルにおけるアンジオテンシンIIタイプ1受容体拮抗薬の神経保護効果. 第20回日本緑

内障学会、沖縄、2009.

白濁ゆかり、他：網膜血管腫状増殖に対するラニズマブと低照射エネルギー光線力学的療法の併用、第48回日本網膜硝子体学会総会・第26回日本眼循環学会合同学会、名古屋市、2009.

万代道子、他：マウス網膜への視細胞移植の条件検討. 第8回日本再生医療学会総会、2009.

平見恭彦、小坂田文隆、高橋和利、山中伸弥、栗本康夫、高橋政代：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. 第8回日本再生医療学会総会、2009.

平見恭彦、小坂田文隆、高橋和利、山中伸弥、栗本康夫、高橋政代：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. 第113回日本眼科学会総会、東京都、2009.

大中誠之 他：脳回転状脈絡網膜萎縮症の網膜色素上皮細胞におけるアルギナーゼIIの役割. 第82回日本生化学会大会、神戸市、2009.

平見恭彦、畑匡侑、高橋政代、栗本康夫：網膜色素変性のスペクトラルドメイン光干渉断層計画像における網膜内の顆粒状所見. 第63回日本臨床眼科学会、福岡市、2009.

安田俊介、近藤峰生、照井隆行、上野真治、加地秀、伊藤逸毅、寺崎浩子：網膜静脈分枝閉塞の黄斑浮腫に対するベバシズマブ療法後のリバウンド現象. 第48回日本網膜硝子体学会総会、

名古屋市、2009.

石川浩平、他：Bevacizumab併用光線力学的療法前後の黄斑部網膜機能、形態と脈絡膜循環の関係. 第113回日本眼科学会総会、東京都、2009.

植谷留佳、他：中心性漿液性脈絡網膜症に対する半量光線力学的療法における黄斑形態と機能の短期経過. 第26回日本眼循環学会、名古屋市、2009.

近藤峰生：網膜・視神経疾患動物モデルのERG解析. 日本眼科学会評議員会指名講演. 第113回日本眼科学会総会、東京都、2009.

田邊裕貴、他：光干渉断層計による脈絡膜厚マップの作成(脈絡膜厚マップ). 第63回日本臨床眼科学会、博多市、2009.

松井朝子 他：網膜色素上皮細胞における血管内皮増殖因子発現増加への小胞体ストレスの関与. 第48回日本網膜硝子体学会総会、名古屋市、2009.

田上瑞記、楠原仙太郎 他：生理的・病的血管新生におけるABCトランスポーターの発現. 第48回日本網膜硝子体学会総会、名古屋市、2009.

植村明嘉、他：網膜血管再生療法の可能性. 第63回日本臨床眼科学会、福岡市、2009.

植村明嘉、他：網膜新生血管内皮細胞における