

ならびにウイルスベクターを供給いただいておりますダイナベック株式会社の長谷川護社長に深謝いたします。

参 考 文 献

- 1] Dryja TP, McGee TL, Reichel E, Hahn LB, Cowley GS, Yandell DW, Sandberg MA and Berson EL : A point mutation of the rhodopsin gene in one form of retinitis pigmentosa. *Nature*. 343 : 364-366, 1990.
- 2) Blaese RM, Culver KW, Miller AD, Carter CS, Fleisher T, Clerici M, Shearer G, Chang L, Chiang Y, Tolstoshev P, Greenblatt JJ, Rosenberg SA, Klein H, Berger M, Mullen CA, Ramsey WJ, Muul L, Morgan RA and Anderson WF : T lymphocyte-directed gene therapy for ADA-SCID : initial trial results after 4 years. *Science*. 270 : 475-480, 1995.
- 3) Bennett J, Wilson J, Sun D, Forbes B and Maguire A : Adenovirus vector-mediated in vivo gene transfer into adult murine retina. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci*. 35 : 2535-2422, 1994.
- 4) Sakamoto T, Kimura H, Scuric Z, Spee C, Gordon EM, Hinton DR, Anderson WF and Ryan SJ : Inhibition of experimental proliferative vitreoretinopathy by retroviral vector-mediated transfer of suicide gene. Can proliferative vitreoretinopathy be a target of gene therapy? *Ophthalmology*. 102 : 1417-1424, 1995.
- 5) Chévez-Barrios P, Chintagumpala M, Mieler W, Paysse E, Boniuk M, Kozinetz C, Hurwitz MY and Hurwitz RL : Response of retinoblastoma with vitreous tumor seeding to adenovirus-mediated delivery of thymidine kinase followed by ganciclovir. *J Clin Oncol*. 23 : 7927-7935, 2005.
- 6) Campochiaro PA, Nguyen QD, Shah SM, Klein ML, Holz E, Frank RN, Saperstein DA, Gupta A, Stout JT, Macko J, DiBartolomeo R and Wei LL : Adenoviral vector-delivered pigment epithelium-derived factor for neovascular age-related macular degeneration : results of a phase I clinical trial. *Hum Gene Ther*. 17 : 167-176, 2006.
- 7] Bainbridge JW, Smith AJ, Barker SS, Robbie S, Henderson R, Balaggan K, Viswanathan A, Holder GE, Stockman A, Tyler N, Petersen-Jones S, Bhattacharya SS, Thrasher AJ, Fitzke FW, Carter BJ, Rubin GS, Moore AT and Ali RR : Effect of Gene Therapy on Visual Function in Leber's Congenital Amaurosis. *N Engl J Med*. 358 : 2231-2239, 2008.
- 8] Maguire AM, Simonelli F, Pierce EA, Pugh EN Jr, Mingozzi F, Bennicelli J, Banfi S, Marshall KA, Testa F, Surace EM, Rossi S, Lyubarsky A, Arruda VR, Konkle B, Stone E, Sun J, Jacobs J, Dell'Osso L, Hertle R, Ma JX, Redmond TM, Zhu X, Hauck B, Zelenia O, Shindler KS, Maguire MG, Wright JF, Volpe NJ, McDonnell JW, Auricchio A, High KA and Bennett J : (2008). Safety and Efficacy of Gene Transfer for Leber's Congenital Amaurosis. *N Engl J Med*. 358 : 2240-2248, 2008.
- 9) Hauswirth WW, Aleman TS, Kaushal S, Cideciyan AV, Schwartz SB, Wang L, Conlon TJ, Boye SL, Flotte TR, Byrne BJ and Jacobson SG : Treatment of leber congenital amaurosis due to RPE65 mutations by ocular subretinal injection of adeno-associated virus gene vector: short-term results of a phase I trial. *Hum Gene Ther*. 19 : 979-990, 2008.
- 10) Acland GM, Aguirre GD, Ray J, Zhang Q, Aleman TS, Cideciyan AV, Pearce-Kelling SE, Anand V, Zeng Y, Maguire AM, Jacobson SG, Hauswirth WW and Bennett J : Gene therapy restores vision in a canine model of childhood blindness, *Nat Genet* 28 : 92-95, 2001.
- 11) Acland GM, Aguirre GD, Bennett J, Aleman TS, Cideciyan AV, Bennicelli J, Dejneka NS, Pearce-Kelling SE, Maguire AM, Palczewski K, Hauswirth WW and Jacobson SG : Long-term restoration of rod and cone vision by single dose rAAV-mediated gene transfer to the retina in a canine model of childhood blindness, *Mol Ther* 12 : 1072-1082, 2005.
- 12) Nakajima T, Nakamaru K, Ido E, Terao K, Hayami M and Hasegawa M : Development of novel simian immunodeficiency virus vectors carrying a dual gene expression system. *Hum Gene Ther*. 11 : 1863-1874, 2000.
- 13] Ikeda Y, Goto Y, Yonemitsu Y, Miyazaki M, Sakamoto T, Ishibashi T, Ueda Y, Hasegawa M, Tobimatsu S and Sueishi K : Simian Immunodeficiency Virus-Based Lentiviral Vector For Retinal Gene Transfer: a preclinical safety study in adult rats. *Gene Ther*. 10 : 1161-1169, 2003.
- 14] Ikeda Y, Yonemitsu Y, Miyazaki M, Kohno RI, Murakami Y, Murata T, Goto Y, Tabata T, Ueda Y, Ono F, Suzuki T, Ageyama N, Terao K, Hasegawa M, Sueishi K and Ishibashi T : Acute Toxicity Study of a Simian Immunodeficiency Virus-based Lentiviral Vector for Retinal Gene Transfer in Nonhuman Primates. *Hum Gene Ther*. 20 : 943-954, 2009.

- 15] Miyazaki M, Ikeda Y, Yonemitsu Y, Goto Y, Sakamoto T, Tabata T, Ueda Y, Hasegawa M, Tobimatsu S, Ishibashi T and Sueishi K : Simian lentiviral vector-mediated retinal gene transfer of pigment epithelium-derived factor protects retinal degeneration and electrical defect in Royal College of Surgeons rats. *Gene Ther.* 10 : 1503-1511, 2003.
- 16] Miyazaki M, Ikeda Y, Yonemitsu Y, Goto Y, Kohno RI, Murakami Y, Inoue M, Ueda Y, Hasegawa M, Tobimatsu S, Sueishi K and Ishibashi T : Synergistic neuroprotective effect via simian lentiviral vector-mediated simultaneous gene transfer of human pigment epithelium-derived factor and human fibroblast growth factor-2 in rodent models of retinitis pigmentosa. *J Gene Med.* 10 : 1273-1281, 2008.
- 17] Murakami Y, Ikeda Y, Yonemitsu Y, Onimaru M, Nakagawa K, Kohno R, Miyazaki M, Hisatomi T, Nakamura M, Yabe T, Hasegawa M, Ishibashi T and Sueishi K : Inhibition of nuclear translocation of apoptosis-inducing factor is an essential mechanism of the neuroprotective activity of pigment epithelium-derived factor in a rat model of retinal degeneration. *Am J Pathol.* 173 : 1326-1338, 2008.
- 18] Ikeda Y, Yonemitsu Y, Miyazaki M, Kohno RI, Murakami Y, Murata T, Tabata T, Ueda Y, Ono F, Suzuki T, Ageyama N, Terao K, Hasegawa M, Sueishi K and Ishibashi T : Stable Retinal Gene Expression in Nonhuman Primates via Subretinal Injection of SIVagm-based Lentiviral Vectors. *Hum Gene Ther.* 20 : 573-576, 2009.

(参考文献のうち、数字がゴシック体で表示されているものについては、著者により重要なものと指定された分です。)

プロフィール

池田 康博 (いけだ やすひろ)

九州大学助教 (大学病院眼科)。医博。

◆**略歴**：1970年熊本県に生る。1995年九州大学医学部卒業。同年同大学医学部眼科入局。2003年同大学大学院医学系研究科博士課程修了。2004年より同職。

◆**研究テーマ**：網膜色素変性の病態解明とあたらしい治療法開発が研究テーマです。治療法開発のひとつが今回ご紹介した遺伝子治療で、臨床応用へ向けて研究を続けています。昼間は診療と研究に集中して夜は美味しいお酒を飲む、が理想ですが…。

◆**趣味**：お酒 (ワイン)、サッカー (最近はフットサル) など。

眼科における先端的治療について

坂本 泰二* 池田 康博**

緒 言

眼科は先端医療のうち、特に治療を受け入れ易い診療科である。その理由のひとつは、眼球が体表に位置する臓器であるために介入が行い易いだけでなく、その影響を直視化でモニターすることができることにある。このことは、脳や肝臓などの深部臓器と比較すれば容易に理解できる。また、機能的閉鎖空間を形成するために、治療の影響が全身に広がりにくい点、さらには生命維持に不可欠の臓器ではないため生命倫理上の問題が大きい点も理由に挙げられる。実際、再生医療、遺伝子治療のように分子生物学の最先端技術を駆使した治療から、既に臨床応用され始めた生物製剤や人工臓器を用いた治療まで、幅広い先端的医療が眼科疾患の治療のために開発されつつある。本稿では、その全てを網羅することは困難であるので、網膜硝子体疾患領域において既に臨床応用されている治療および欧米で臨床応用が始まり、わが国でも治験が開始されようとしている網膜変性症に対する遺伝子治療について述べる。

1. 既に臨床応用されている治療

現在、多くの診療科領域において分子標的薬が導入されてきているが、眼科領域では、抗血管内皮増殖因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 薬、抗腫瘍壊死因子 (tumor necrosis factor- α , TNF- α) がその代表であり、目覚ましい効果を上げつつある。

1. 加齢黄斑変性と抗 VEGF 薬

加齢黄斑変性は、視力に最も重要な網膜黄斑

部が病変の主座となる疾患で60歳以降に好発する。先進国では中年以降の失明原因のトップを占めており、わが国でも罹患者数が急激に増加している。本疾患の本態は完全には明らかにされていないが、しばしば黄斑部に脈絡膜血管新生 (CNV) が起こり、その後出血、線維化を繰り返し、最終的には視力を失うことが多い。10年前であれば、本疾患に対する有効な治療法がないため、失明まで手をこまねいて待つしかない症例が多かった。

特に加齢黄斑変性における CNV への治療が困難であった原因は、病変が黄斑部直下に存在することにある。そのため、レーザー治療や外科治療の適応が大幅に制限された。また、ステロイド薬などの既存の薬物は、副作用 (感染症誘発、緑内障、白内障、骨粗鬆症など) の発生率が高いわりに効果も限定的であった。そのため、効果的な薬物療法が長らく待たれていた。

そして、過去10年以上に及ぶ詳細な研究により、この病態形成に VEGF が重要な働きをしていることが分かり、抗 VEGF 薬が開発され臨床応用された。この治療効果は驚くべきものであり、従来治療では視力低下防止が精一杯であったものが、視力改善までもが期待できるようになった。わが国でも2008年から保険収載され、現在多くの医療機関で使用されている (図1, 2)。抗 VEGF 薬は、糖尿病黄斑症、網膜静脈閉塞症、近視による CNV など、多くの網膜疾患に有効性を示すことが報告されてきており、今後はさらに広汎に使用されると考えられる。

2. ぶどう膜炎への先端的治療

ぶどう膜は、虹彩、毛様体、脈絡膜からなり、そこでおきる炎症をぶどう膜炎という。ぶどう膜炎は、肉芽腫性ぶどう膜炎 (サルコイドーシス、原田病など) と非肉芽腫性ぶどう膜炎

*鹿児島大学大学院医歯学総合研究科眼科学

**九州大学大学院医学研究科眼科学

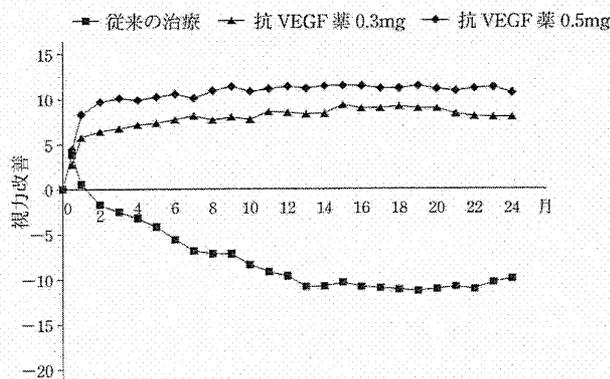
(ベーチェット病など)に分けられる。いずれの場合も、治療の中心は過去20年以上にわたりステロイド薬であった。ステロイド薬は治療効果が強い半面、特有の副作用があるため、全ての症例に使用することは不可能である。また、長期使用により効果が消失することや、リバウンド現象があることも、ステロイド治療を躊躇させる理由となっている。結果的に、ステロイ

ド使用不能あるいは無効症例が少なからず存在し、失明に至ることも多かった。

分子標的薬は、ぶどう膜炎治療に画期的な進歩をもたらしつつある。そのひとつが抗TNF- α 薬によるベーチェット病治療である。ベーチェット病は、眼、口、皮膚、外陰部の他、中枢・末梢神経などをおかす全身性疾患である。1970年代に、本症による多数の失明者の発生が社会問題となったが、現在でも年間1,000人近くが新たに発症している。ベーチェット病は、初期からぶどう膜炎の眼発作を生じる。それぞれの眼発作は寛解しても、再発を繰り返すうちに、不可逆的な視力障害を生じ失明することが多い。

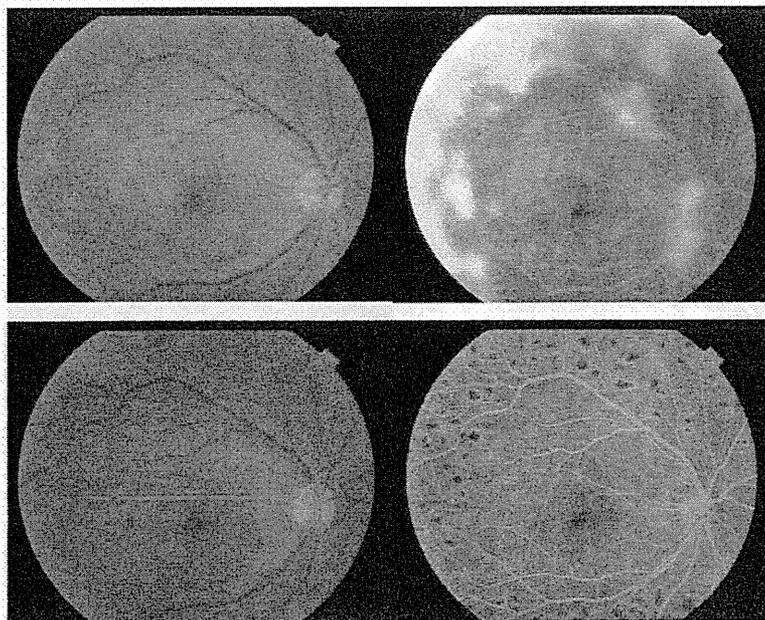
先述のように、ステロイド薬は本症による眼発作を一時的に鎮静化するが、発作の度に使用することで、緑内障などの合併症がおり最終的には失明することが多い。また、シクロスポリンなどの免疫抑制薬は、発作頻度を幾分低下させるが、腎障害などの重篤な副作用があり、ベーチェット病そのものよりも、薬物の副作用に苦しむ患者も少なくなかった。

1990年代後半から、関節リウマチに対して、抗TNF- α 薬療法が著効することが知られるようになったが、ぶどう膜炎患者の硝子体中に



縦軸に視力変化、横軸に時間経過(月)を示す。縦軸の上に行くほど、視力改善度が強い。従来治療(光線力学的療法)では、平均視力は治療前視力よりも低下するが、抗VEGF薬治療(ラニビズマブ)では、24ヵ月後には視力は改善している(文献1を改変)。

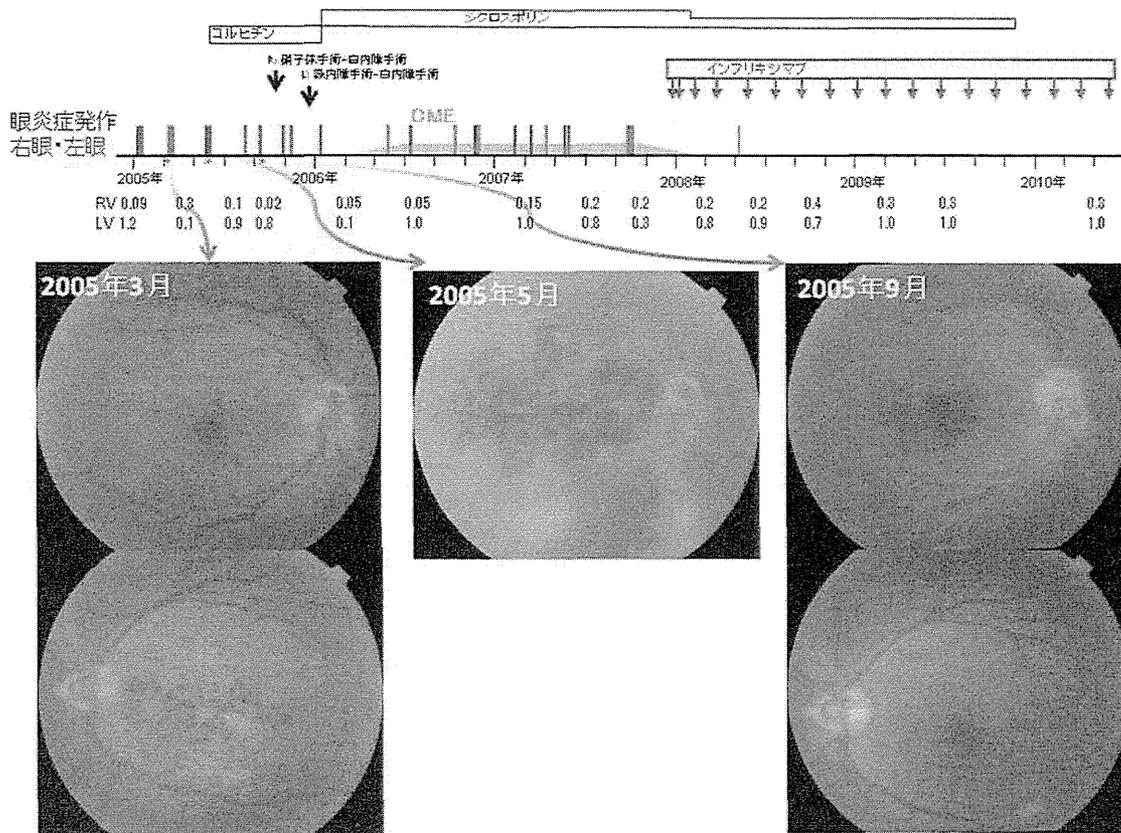
図1 抗VEGF薬治療による加齢黄斑変性患者の視力経過



治療前は新生血管から旺盛な色素漏出がみられていた(上段)が、抗VEGF薬(ベバシズマブ)注射3日後には色素漏出はほとんど消失した(下段)。

図2 抗VEGF薬治療前後の糖尿病網膜症眼底

症例 33歳男性



免疫抑制剤使用によっても、年間10回程度の発作が起こっていたが、抗 TNF- α (インフリキシマブ) 薬開始後は小発作が2年間で1回起こっただけであり、発作頻度が激減した (文献4を改変)。

図 3 ベーチェット病患者に対する抗 TNF- α 薬治療例

TNF- α などのサイトカインが多く含まれることが分かっていたため、抗 TNF- α 薬療法がベーチェット病治療に応用された。その結果、眼発作頻度を劇的に低下させることが分かった。先述のように、眼発作自体は軽度でも、繰り返すことにより失明することが多かったので、発作頻度を下げるとは、失明の危険性を下げることに直結する。

以下に自験例を示す (図3)。本症例はシクロスポリンなどの免疫抑制薬を使用しても、年5回以上眼発作を繰り返し視力が低下してきた。このままでは、失明に至る可能性が高いことを考慮して、抗 TNF- α 薬治療を開始した所、使用開始後から現在までの2年半に、発作がわずか1回に激減した。結核の再燃、治療継続期間などの問題点が指摘されているが、眼発作に怯えていたベーチェット病患者や医師を、その恐怖から解放した功績は極めて大きい。

最近では分子標的薬治療以外に、顆粒球除去療法が始められている。ベーチェット病の急性前眼部発作時には、眼内に好中球が遊走し、前房蓄膿や硝子体混濁になる。前房蓄膿の構成細胞はほとんどが好中球であり、その異常がベーチェット病を誘発する。そこで、血液から顆粒球除去ができれば、ベーチェット病の発作頻度が下がるのではないかと考えられ本治療が始まった。顆粒球除去療法は酢酸セルロースビーズで充填されたカラム内に血液を体外循環させ、顆粒球をビーズに吸着させることで生体内から除去する (図4)。

ベーチェット病に用いる場合は、酢酸セルロースビーズカラムを使用し、週1回の頻度で連続5回治療を施行する。この治療を最初に報告した Sonoda らによれば、初回治療14例全体の平均発作回数は、治療前4.2回が、治療後2.9回と有意に減少した。本治療によって発作が完

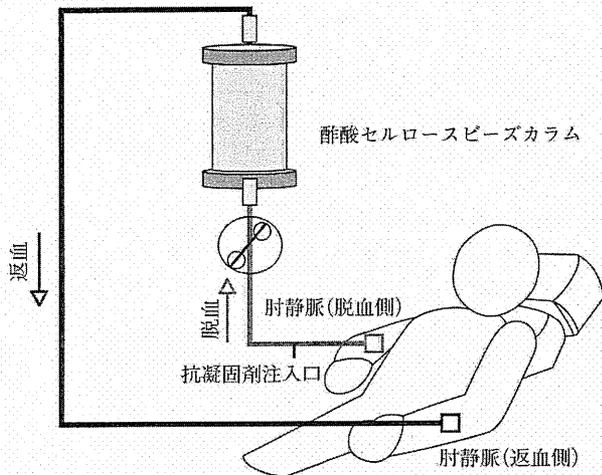


図 4 顆粒球除去療法の模式図 (文献4より)

全抑制されるわけではなかったが、今までの治療に比べ、副作用が格段に少ないことから患者の満足度は高かった。興味深いのは、本治療は眼症状以外の口腔内アフタ性潰瘍・関節症状・皮膚症状等も軽快するため、眼症状に関しては無効であっても、患者側が再治療を希望するケースが多かったことである。また、通常の治療効果が少ない発症後5年以上経過した症例にも効果があった。先述の分子標的治療は、有効性は高いものの、患者側条件により適応困難な場合がある。本治療という新たな選択肢があることは、医療者側、患者側双方にとって大きなメリットである。

II. 臨床応用間近の先端的治療 - 網膜色素変性への遺伝子治療 -

網膜色素変性は進行性の夜盲、求心性の視野狭窄、視力低下を主な症状とする遺伝性の網膜変性疾患である。網膜の外層にある視細胞や網膜色素上皮細胞に特異的に発現している遺伝子異常により、(一般に)若年期に発症して緩徐に進行し、中年ないし老年で高度な視力障害に至る疾患の総称である。遺伝性疾患としては比較的頻度が高く、わが国での患者数は約3万人とされている。1990年にロドプシン遺伝子が原因遺伝子であることが報告されて以来、これまでに多くの原因遺伝子が報告されている。しかし、この疾患に対する有効な治療法は確立されておらず、予後は不良である。従って、遺伝子治療の他に、他家網膜移植や人工網膜移植、さ

らには幹細胞を利用した網膜再生療法などが将来の臨床応用を期待されている。

1. 眼科領域の遺伝子治療

眼科領域の遺伝子治療は、当初は立ち遅れていたが、閉鎖系かつ操作・モニタリングが容易な臓器であるという眼球の利点を生かして、最近では遺伝子治療臨床応用が最も進歩している領域といえる。その中で現在注目されているのが、レーバー先天黒内障 (Leber's congenital amaurosis : LCA) に対する遺伝子治療である。これは、疾患モデル動物など用いた基礎研究に裏打ちされた遺伝子治療開発の素晴らしい成功例である。

LCAは、生後早期より高度に視力が障害される網膜色素変性類縁疾患で、原因遺伝子として *RPE65* や *CRX* などが知られている。*RPE65* は網膜色素上皮細胞に発現し 11-cis-retinal の産生に関わるが、*RPE65* 遺伝子に変異があると 11-cis-retinal が産生されず、視細胞 (桿体) が光に反応できなくなり、最終的に視細胞は死に至ってしまう。この LCA に対する遺伝子治療法として、AAV ベクターを用いた網膜色素上皮への正常 *RPE65* 遺伝子導入という方法が試みられ、イヌの LCA モデルにおいて著明な治療効果が得られることが報告された。さらに、小型・中型動物を用いて AAV ベクター網膜下投与の安全性を確認した。2007年2月より英国のグループによって、また2007年9月より米国のグループによって、ヒト LCA 患者に対する遺伝子治療臨床研究が開始されており、その途中経過が報告された。

英国での臨床研究では、17~23歳の LCA 患者3名に対して遺伝子が投与された。その結果、1名では、投与部位に一致した感度の改善を認め、さらに暗所下での行動の著しい改善を認めたと報告されている。また米国の臨床研究でも同様に、19~26歳の3名の患者を対象に遺伝子治療が行われ、治療を受けた3名とも視野に改善を認め、うち2名では視力の改善も認めたと報告されている。

2. 網膜色素変性に対する視細胞保護遺伝子治療

先端医療が臨床応用されるようになっているが、そのほとんどは欧米の研究所、企業によるものであり、日本オリジナルのものは少なく、

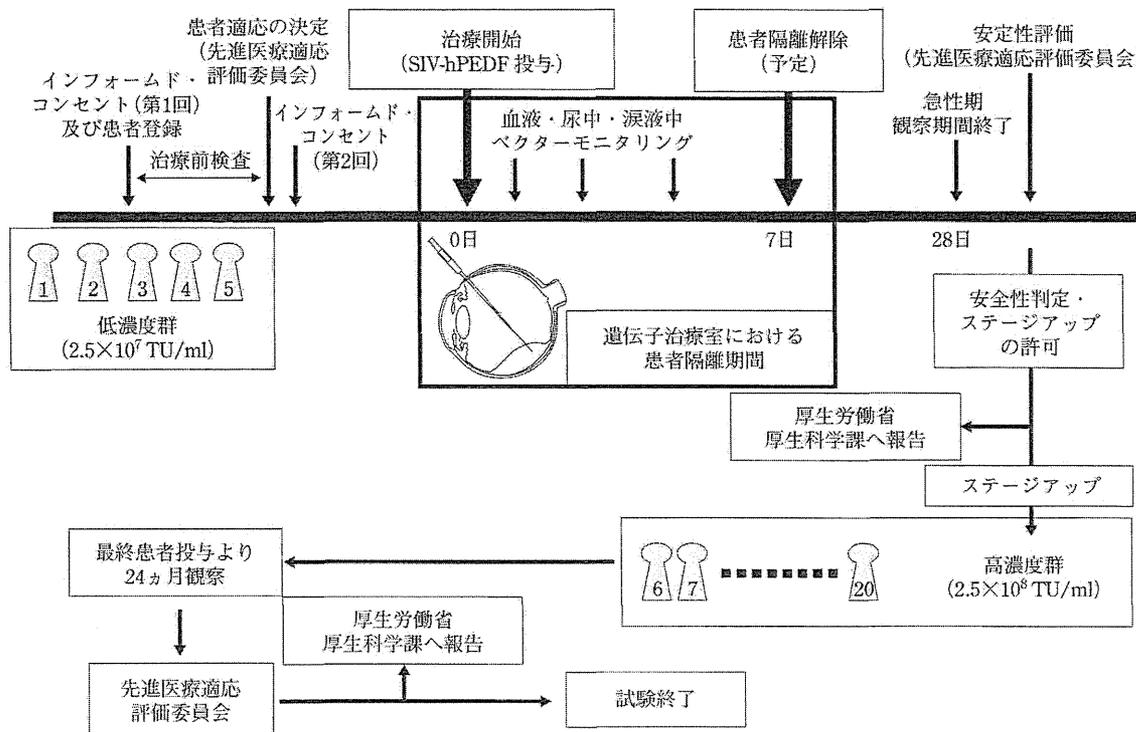


図 5 九州大学が計画している網膜色素変性に対する遺伝子治療の臨床研究予定図 (文献5より)

先端医療から得られる果実の多くが欧米企業に占有されている。これは何もわが国の基礎研究の水準が低いためではない。例えば、前述の VEGF の基礎研究では、わが国の研究貢献はきわめて大きかったが、特許を含めた長期戦略が欠けていたために、現状に至ったといえる。研究開発には多額の費用がかかり、今後も投資が必要なることを考えると、わが国独自の技術開発が急務である。それらの点から、本稿では日本で開発された視細胞保護遺伝子治療について紹介する。

遺伝子治療の当初の概念は「遺伝子の異常を直す」、すなわち病気を根本的に治療しようというもので、異常のある遺伝子を正常遺伝子と置換することにあつた。しかし、現時点では技術的に難しいので、現実的には遺伝子異常を有する細胞に単に正常な遺伝子を補充する（異常遺伝子はそのまゝ残る）方法が取られていることが多い。先ほどの LCA に対する遺伝子治療はこの成功例である。

一方、「遺伝子を用いて治療する」という方法も遺伝子治療のひとつの治療戦略である。網膜色素変性は網膜に発現する分子の遺伝子異常によって最終的には視細胞が死に至るが、その

共通するメカニズムは、視細胞のアポトーシスである。そこで、九州大学眼科では、視細胞保護遺伝子を導入することで、少しでも網膜変性が起きる程度を軽くする遺伝子治療を考案し、現在臨床応用へ向けて研究を進めている。神経栄養因子と称されるタンパクは、神経細胞に対し保護作用を有するが、これらの中から色素上皮由来因子 (pigment epithelium-derived factor: PEDF) を選択した。網膜を構成する細胞に対する神経保護効果に加え、血管新生抑制効果を併せ持つことから、眼にとって好都合なタンパクである。この PEDF 遺伝子を搭載したウイルスベクター (SIV ベクター) を網膜色素変性患者の網膜下に投与し、患者の眼内を PEDF タンパクで満たし PEDF の視細胞保護作用により視細胞の喪失を防ぎ、患者の視機能低下を防ぐことを目的としている。

この治療には、アフリカミドリサル由来サル免疫不全ウイルス (SIVagm: simian immunodeficiency virus from African green monkey) を基本骨格とした SIV ベクターが選択された。自然宿主であるサルにも病原性がないため安全性に優れており、また日本で開発された独自性の高いベクターであったからである。こ

のSIVベクターによる網膜への遺伝子導入には、ベクター注入部位に一致した網膜色素上皮細胞への遺伝子導入が可能、長期間の安定した遺伝子発現が持続すること、遺伝子導入部の網膜に機能的な影響を生じないことが分かった。そこで、PEDF遺伝子を遺伝子導入して網膜変性モデルラットに対する治療効果の検討を行ったところ、無治療群では7週齢で多くの視細胞が消失してしまうのに対し、PEDF遺伝子導入群では15週齢（投与後12週）まで組織学的に視細胞が保たれることなど、有効な治療効果が確認できた。前臨床試験として、大型動物であるカンクイザルを用いた安全性試験が行われたが、少なくとも現在までは有害事象は認められていない。

現在、「神経栄養因子遺伝子搭載第3世代組換えアフリカミドリザル由来サル免疫不全ウイルスベクターの網膜下投与による網膜色素変性に対する視細胞保護遺伝子治療臨床研究」という臨床研究プロトコルが完成しており、学内倫理委員会での審議・承認を得ることができた。さらに、平成22年末に厚生科学審議会において実施計画に対する審議が開始されることが決定した。近い将来、この新しい治療法が臨床応用される可能性がある。

Ⅲ. 先端的治療の抱える問題

以上のように、先端的治療の臨床導入は、画期的な治療効果を示しているが、その反面先端的治療が抱える様々な問題点を明らかにしていることも事実である。そのひとつは、治療終了判断の困難さである。抗VEGF薬投与は治療開始から最初の3回は1ヵ月間隔で施行し（導入療法）、その後は毎月1回程度注射を繰り返す（維持療法）。米国で行われたプロトコル通りに行うのであれば、年に10回以上注射を受ける必要がある。わが国では維持療法必要性の判断は医師により行われることが多いが、分子標的薬は、副作用が少ない半面、治療効果が一過性であるため、治療中止の判断は難しい。これはベーチェット病における抗TNF- α 薬治療についても同様である。このことに関連するが、高額な医療費はさらに深刻な問題を投げかけている。例えば抗VEGF薬は繰り返し投与する必要があるが、本薬剤は薬剤費だけで一回に15万円

に上るため、場合によっては年間200万円以上の医療費が必要になる。加齢黄斑変性患者は、退職者に多いことを考えると、患者の経済的負担は決して小さくはない。そして、この問題は、先述した治療継続必要性の判断をいっそう複雑にしている。

一方、現在の眼科領域分子標的薬は比較的患者数の少ない疾患を対象としているが、糖尿病網膜症、網膜静脈閉塞症など患者数の多い疾患を対象とするようになった場合、保険診療への影響は無視できないほど大きくなる。いくら優れた先端的治療が開発されたところで、患者がその恩恵をこうむる事ができなければ医療としては不完全なものである。分子標的薬の登場により、はからずもこの点が明らかになってきたが、これは今後登場する遺伝子治療、再生治療など全ての先端的治療に共通する問題である。

かつては、治療の適否を純粹に科学的観点から論じておけばよかったが、今後は先端的医療が社会に及ぼす影響などを、経済的観点を含む多くの点からを評価する必要がある。そのためには、医療構造、社会構造に対するわれわれの価値観自体の変化が迫られるかもしれない。このことは、先端的医療が及ぼす影響の広さだけでなく、社会に及ぼすインパクトがいかに大きいかを示すものである。

謝辞 図の提供をいただきました山口大学眼科学教授園田康平先生、鹿児島大学眼科学准教授中尾久美子先生に深謝いたします。

文 献

- 1) Bressler, N. M., Chang, T. S., Fine, J. T. et al.: Anti-VEGF Antibody for the Treatment of Predominantly Classic Choroidal Neovascularization in Age-Related Macular Degeneration (ANCHOR) Research Group. Improved vision-related function after ranibizumab vs photodynamic therapy: a randomized clinical trial. *Arch Ophthalmol*, 127: 13-21, 2009.
- 2) Sonoda, Y., Arimura, N., Shimura, M., Sakamoto, T.: Early change of central macular thickness after intravitreal triamcinolone or bevacizumab in diabetic macular edema or retinal vein occlusion. *Retina* (in press).
- 3) Sonoda, K. H., Inaba, S., Ariyama, A. et al.: Therapeutic neutrophil apheresis in patients with ocular Behçet disease. *Arch Ophthalmol*, 123: 267-269, 2005.
- 4) 坂本泰二: 眼内炎症性疾患の新しい治療. 学術の動向, 15: 14-14, 2010.
- 5) 池田康博, 石橋達朗: 網膜色素変性に対する視細胞保護遺伝子治療. *福岡医学雑誌*, 101: 183-189, 2010.
- 6) Bainbridge, J. W., Smith, A. J., Barker, S. S. et

- al.: Effect of Gene Therapy on Visual Function in Leber's Congenital Amaurosis. *N Engl J Med*, 358: 2231-2239, 2008.
- 7) Ikeda, Y., Goto, Y., Yonemitsu, Y. et al.: Simian Immunodeficiency Virus-Based Lentiviral Vector For Retinal Gene Transfer: a preclinical safety study in adult rats. *Gene Ther*, 10: 1161-1169, 2003.
- 8) Ikeda, Y., Yonemitsu, Y., Miyazaki, M. et al.: Acute Toxicity Study of a Simian Immunodeficiency Virus-based Lentiviral Vector for Retinal Gene Transfer in Nonhuman Primates. *Hum Gene Ther*, 20: 943-954, 2009.
-

小児科診療〔第75巻・第1号〕別刷

2012年1月1日発行

発行所 株式会社 診断と治療社

特集 最先端医療の進歩—臓器移植・再生医療・遺伝子治療

Ⅲ. 遺伝子治療の進歩

先天性網膜変性疾患に対する遺伝子治療

いげ だ やす ひろ いし ばし たつ ろう
池 田 康 博 石 橋 達 朗 九州大学大学院医学研究院眼科学

要旨 Leber 先天盲 (LCA) や網膜色素変性 (RP) は、遺伝子異常によって生じる先天性の網膜変性疾患で、これまでに有効な治療法が確立されておらず、先天盲の原因疾患として上位を占める。近年、これらの先天性網膜変性疾患に対して、遺伝子治療というアプローチが新しい治療法としての地位を獲得しようとしている。LCA に対する臨床応用はすでに欧米で始まっており、RP に対する臨床応用もわが国で準備が進められている。

Key words Leber 先天盲, 網膜色素変性, RPE65, 視細胞保護遺伝子治療

はじめに

われわれが取得する外界情報の約80%を得るために必要な視覚を失うこと、すなわち「失明」は、患者のQOL (quality of life) を著しく低下させ、患者の社会活動は大幅に制限される。世界の中途失明原因の上位を占める疾患のうち、白内障や緑内障は、手術療法の進歩や点眼薬などの充実により、治療することができる疾患となった。一方、本稿で紹介するLeber先天盲 (Leber's congenital amaurosis, 以下LCAと略す) や網膜色素変性 (retinitis pigmentosa, 以下RPと略す) といった先天性網膜変性疾患は、これまでに有効な治療法が確立されておらず、早期の治療法開発が望まれている。

最近になってLCAに対する遺伝子治療の臨床研究が英国、米国から相次いで報告され^{1)~3)}、安全性と有効性を期待させる内容であった。本稿では、LCAに対する遺伝子治療臨床研究の結果をまとめ、さらに筆者らが臨床応用を目指しているRPに対する遺伝子治療について紹介したい。

Leber 先天盲 (LCA)

LCAは、1869年Leberによって報告されたRPの類縁疾患で、生後早期 (多くは生後6カ月以内) より高度に視力が障害される⁴⁾。これまでに16種類の原因遺伝子が同定されており、ほとんどが常染色体劣性遺伝の形式をとる。CEP290がもっとも頻度が高く、全体の約15%を占める。報告により差があるものの、以下、GUCY2D (約12%)、CRB1 (約10%)、IMPDH1 (約8%)、RPE65 (約6%)、などの頻度が高いとされている⁵⁾⁶⁾。80,000出生に1~2人の頻度で認められ、先天盲の約20%を占めるとされている。

LCAは遺伝的異質性のみでなく、臨床所見も多様性に富むが、次の四つの臨床的な特徴を有する。①生後早期からある高度な視機能障害、②感覚性眼振 (sensory nystagmus)、③対光反応の欠如もしくは高度障害 (黒内障瞳孔: amaurotic pupil)、④網膜電図の異常 (消失型もしくは著しい減弱) である。鑑別疾患としては、幼少時発症の網膜色

素変性, Alstrom 症候群, Batten 病などがある。また, LCA にはしばしば, 精神発達遅滞, 自閉症, てんかん, 水頭症, 難聴などの全身合併症を伴う場合がある。

LCA では, oculodigital sign (指眼現象) という拳や指を眼球にくり返し押しつける行動がよく観察される⁷⁾(図1)。この行動は, 盲児に認められる共通の行動 (blindism) で, LCA だけに認められるものではないが特徴的である。

視力は, ほとんどの症例が0.1以下である。高度な遠視眼が多く, 円錐角膜や白内障を高頻度に合併するため, 視機能がより障害されることになる。

眼底所見は, 症例によりさまざまであるが, 血管狭小化, 視神経萎縮, 黄斑部の変性, 骨小体様色素沈着, 胡麻塩状網膜, などの所見が認められ

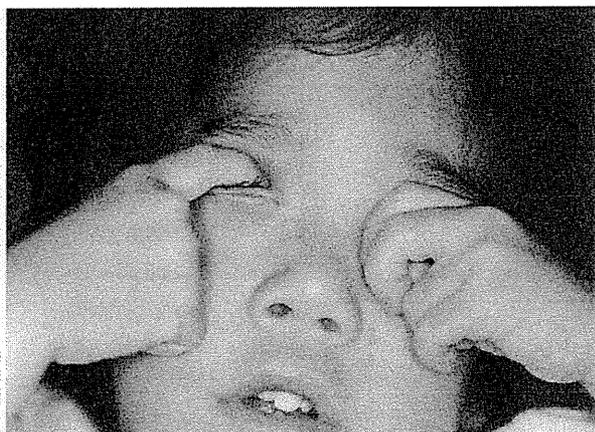


図1 oculodigital sign (指眼現象) (文献7) より引用)

る⁵⁾。一方で, 視機能が高度に障害されている症例でも新生児期には検眼鏡的な眼底の変化がほとんどないものも認められる。

この疾患に対する臨床的に明確な効果を有する治療法は確立されておらず, 予後は不良である。

LCA に対する遺伝子治療

RPE65 (*LCA2*) は網膜色素上皮細胞に発現し, 11-cis-retinal の産生にかかわるが, *RPE65* 遺伝子に変異があると 11-cis-retinal が産生されず, 視細胞 (桿体) が光に反応できなくなり, 最終的に視細胞は死に至ってしまう。Acland らは, この *LCA2* に対する遺伝子治療法として, アデノ随伴ウイルス (adeno-associated virus, 以下 AAV と略す) ベクターを用いた RPE への正常 *RPE65* 遺伝子導入という方法を試み, イヌの *LCA2* モデルにおいて著明な治療効果が得られることを報告した⁸⁾。2007年2月より英国のグループによって, また2007年9月より米国ペンシルバニア大学のグループによって, ヒト *LCA2* 患者に対する遺伝子治療臨床研究が開始されており, その途中経過が報告された (図3)^{1)~3)}。

英国での臨床研究では, 17~23歳の *LCA2* 患者3名 (症例1~3) に対して, AAV ベクターが網膜下投与された。その結果, 1名 (症例3) では, 投与部位に一致した感度の改善を認め, さらに暗所下での行動の著しい改善を認めたと報告されてい

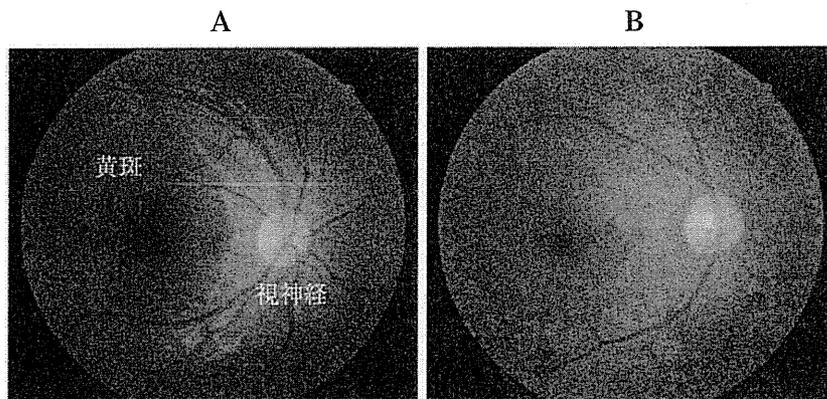


図2 眼底写真
A: 正常者, B: RP患者

る¹⁾。また米国の臨床研究でも同様に、19～26歳の3名の患者を対象に遺伝子治療が行われ、治療を受けた3名とも対光反応および視野に改善を認め、うち2名では視力の改善も認めたと報告されている²⁾。同様に、米国フロリダ大学とペンシルバニア大学の共同研究グループからの報告でも、1年間の経過観察期間に重篤な副作用がないこと、光に対する感度が上昇した症例があることが示されている³⁾。

このように、LCA2に対する遺伝子治療は安全性と治療効果が複数の施設で確認され、症例も着実に積み重ねられているようである。より若年の症例を適応とすることにより、さらに高い治療効果が期待される。

網膜色素変性 (RP)

RPは進行性の夜盲、求心性の視野狭窄、視力低下を主徴とする遺伝性の網膜変性疾患で、「視細胞と網膜色素上皮細胞の機能を原発性、びまん性に傷害する遺伝性かつ進行性の疾患群」と定義されている。一般には若年期に発症して緩徐に進行し、中年ないし老年で高度な視力障害に至る疾患の総称である。Dryjaらにより、1990年に視細胞に特異的に発現しているロドプシン遺伝子が常染色体優性RPの原因遺伝子であることが報告されて以来⁹⁾、これまでに約50種類の原因遺伝子が報告されている。遺伝形式は、常染色体優性遺伝、常染色体劣性遺伝、X染色体性劣性遺伝などさまざま、わが国ではそれぞれ17%、25%、2%の割合を占めるが、遺伝形式がはっきりしない孤発例も約半分存在する。また、複数の遺伝子異常によって発症する二遺伝子性遺伝も証明されている。わが国での有病率は3,400～8,000人に1人とされており、患者数は約3万人と推定されている。本疾患はわが国における先天盲の第1位で、中途失明原因でも第3位である。

眼底所見は特徴的で、網膜色素上皮の粗造化、網膜血管の狭細化、骨小体様色素沈着などが認められる(図2-B)。RPを合併する全身疾患としては、Laurence-Moon-Bardet-Biedl症候群、ムコ多糖沈着症(Hurler症候群、Hunter症候群など)、Alport症候群、Kearns-Sayre症候群などがある(表)。また、感音難聴を伴うものにUsher症候群がある。

この疾患に対する臨床的に明確な効果を有する治療法は確立されておらず、予後は不良である。したがって、患者にとっては現状の視力を有効に

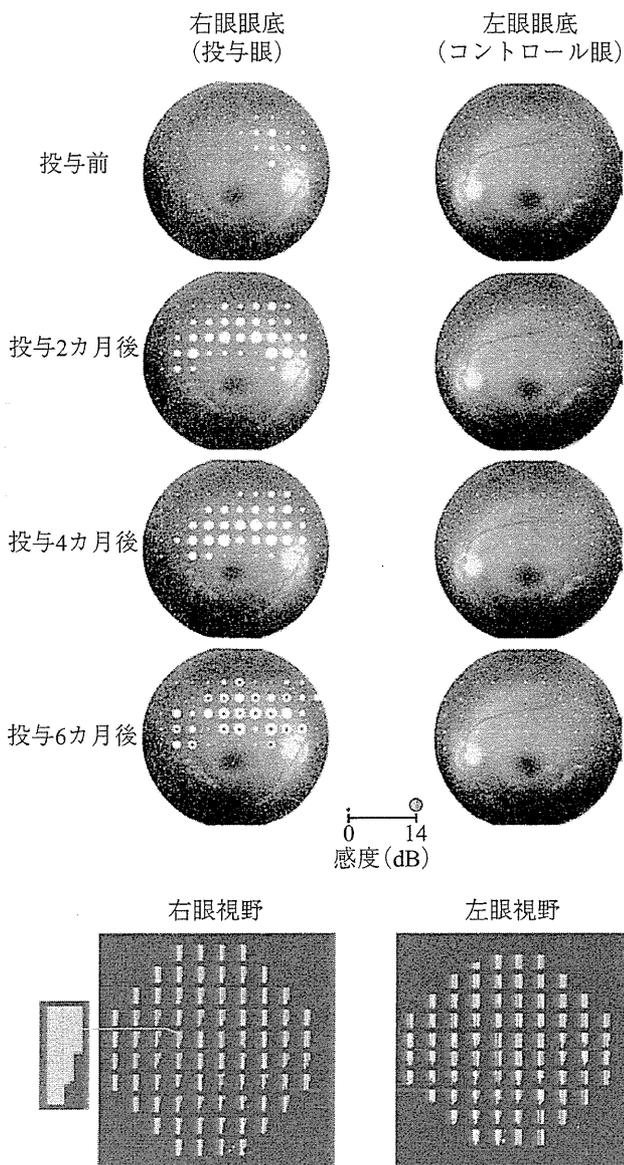


図3 LCA2に対する遺伝子治療臨床研究の結果
文献1)より引用、改変

症例3のマイクロペリメトリー検査(網膜感度の検査)。ベクター投与眼である右眼の網膜感度が上昇している。白丸が大きい程、網膜感度が高い

Copyright © 2008 Massachusetts Medical Society. All rights reserved. Translated with permission.

表 網膜色素変性を合併する全身疾患（症候群）

Alagille 症候群	Dyschondroplasia（軟骨異形成症）	Laurence-Moon-Biedl 症候群
Alport 症候群	Hallervorden-Spatz 症候群	Refsum 症候群
Bassen-kornzweig 症候群	Hunter 症候群	Rud 症候群
Biemond 症候群	Hurler 症候群	Scheie 症候群
Brown-Marie 症候群	Hypolipidemia 症候群	Senior 症候群
Carbohydrate-deficient glycoprotein 症候群	（低脂血症症候群）	Turner 症候群
Cockayne 症候群	Kartagener 症候群	Usher 症候群
Cohen 症候群	Kearns-Sayre 症候群	Ward 症候群
	Laurence-Moon-Bardet-Biedl 症候群	Werner 症候群

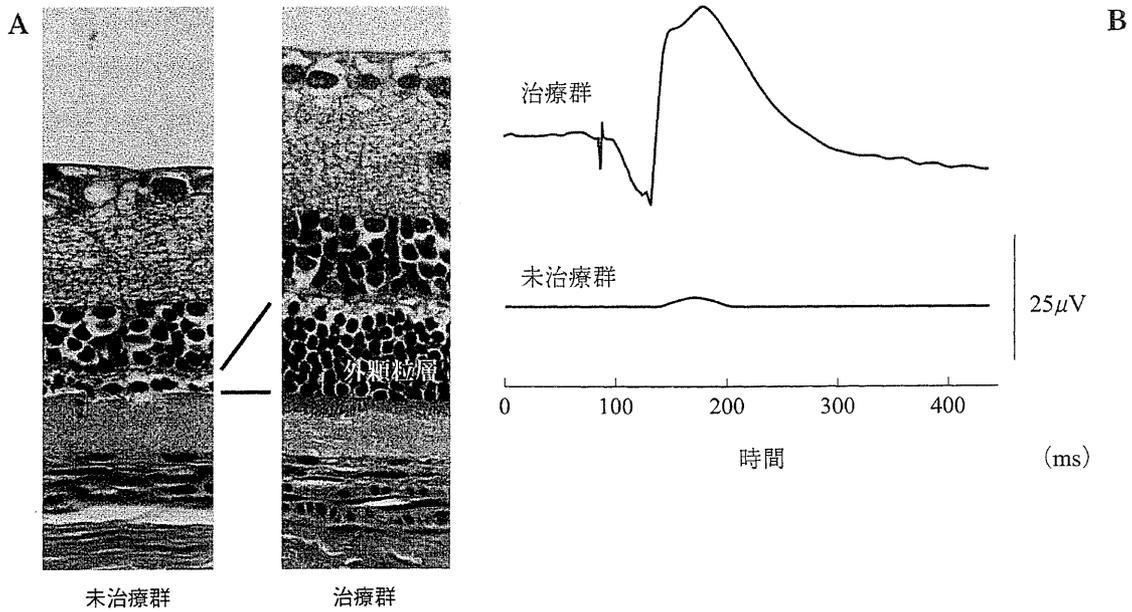


図4 視細胞保護遺伝子治療の効能試験結果（文献10）12）より引用、改変）

生後3週齢の網膜変性モデル動物（RCSラット）の網膜下に治療用ベクターを投与し、7週齢で評価した

A：網膜の断面。治療群では、外顆粒層（視細胞）が保たれている

B：網膜電図（網膜機能の評価）。未治療群では光に対する反応が消失しているが、治療群では反応が認められている

利用するための情報提供、すなわち補装具の紹介・処方、特定疾患の認定とそれによるサービスの情報提供、診断書（身体障害者手帳・障害年金）の交付、リハビリテーションの紹介などといった、QOLを高めるための総合的な支援が現時点では重要である。一方、新しい治療法開発も盛んに進められており、今回紹介する遺伝子治療の他に、他家網膜移植や人工網膜移植、さらには幹細胞を利用した網膜再生療法などが将来の臨床応用を期待されている。

RPに対する視細胞保護遺伝子治療

前述のように、RPは網膜に発現するさまざま

な分子の遺伝子異常によって最終的には視細胞が死に至るが、その共通するメカニズムは、視細胞のアポトーシスである。神経栄養因子と称される蛋白は、神経細胞に対し保護作用を有するが、筆者らはこれらの中から色素上皮由来因子（pigment epithelium-derived factor, 以下PEDFと略す）を選択した。このPEDF遺伝子を搭載した国産ウイルスベクター〔サル由来レンチウイルス（simian immunodeficiency virus, 以下SIVと略す）ベクター〕をRP患者の網膜下に投与し、分泌されたPEDF蛋白により眼内のPEDF濃度を高く維持しようと考えている。PEDFの視細胞保護作用により視細胞の喪失を防ぎ、患者の視機能低下を防ぐ

ことを目的としている。実際に複数のRPモデル動物において、その治療効果が確認できている(図4)^{10)~12)}。

眼科領域の遺伝子治療臨床研究としてレンチウイルスベクターが用いられた前例がないことより、SIVベクター投与による安全性(局所ならびに全身)を大型動物であるカニクイザルを用いて検討した。急性期ならびに約5年間の長期間の観察において、ベクター投与に伴う眼局所および全身における重大な有害事象がないことが確認できている¹³⁾。

以上の効能試験ならびに安全性試験の結果に基づき、臨床研究プロトコルを作成し、学内倫理委員会での審議・承認を得た。さらに、平成22年10月に厚生労働省への実施計画の申請が完了し、今年度中に厚生科学審議会において実施計画に対する審議が開始される見込みである。近い将来、この新しい治療法が臨床へと応用される可能性がある。

おわりに

先天性網膜変性疾患に対する遺伝子治療の臨床応用は、まだ症例数は少ないものの、今後に期待をもてる結果が少しずつ積み重ねられている。遺伝子治療によってこれらの難治性疾患が克服できる日を夢見ながら、筆者らも研究を進めている。

文献

- 1) Bainbridge JW, Smith AJ, Barker SS et al.: Effect of gene therapy on visual function in Leber's congenital amaurosis, *N Engl J Med* 358:2231-2239, 2008
- 2) Maguire AM, Simonelli F, Pierce EA et al.: Safety and efficacy of gene transfer for Leber's congenital amaurosis. *N Engl J Med* 358:2240-2248, 2008
- 3) Hauswirth W, Aleman TS, Kaushal S et al.: Phase I Trial of Leber Congenital Amaurosis due to RPE65 Mutations by Ocular Subretinal Injection of Adeno-Associated Virus Gene Vector: Short-Term Results. *Hum Gene Ther* 19:979-990, 2008

- 4) Leber T: Uber retinitis pigmentosa und angeborene amaurose. *Graefes Arch Klin Ophthalmol* 15:1-25, 1869
- 5) den Hollander AI, Roepman R, Koenekoop RK et al.: Leber congenital amaurosis: genes, proteins and disease mechanisms. *Prog Retin Eye Res* 27:391-419, 2008
- 6) Li L, Xiao X, Li S et al.: Detection of variants in 15 genes in 87 unrelated chinese patients with leber congenital amaurosis. *PLoS One* 6:e19458, 2011
- 7) 黒田紀子: Leber 先天盲. 安達恵美子・編著, 網膜色素変性症. 医学書院, 64-65, 1998
- 8) Acland GM, Aguirre GD, Ray J et al.: Gene therapy restores vision in a canine model of childhood blindness, *Nat Genet* 28:92-95, 2001
- 9) Dryja TP, McGee TL, Reichel E et al.: A point mutation of the rhodopsin gene in one form of retinitis pigmentosa. *Nature* 343:364-366, 1990
- 10) Miyazaki M, Ikeda Y, Yonemitsu Y et al.: Simian lentiviral vector-mediated retinal gene transfer of pigment epithelium-derived factor protects retinal degeneration and electrical defect in Royal College of Surgeons rats. *Gene Ther* 10:1503-1511, 2003
- 11) Murakami Y, Ikeda Y, Yonemitsu Y et al.: Inhibition of nuclear translocation of apoptosis-inducing factor is an essential mechanism of the neuroprotective activity of pigment epithelium-derived factor in a rat model of retinal degeneration. *Am J Pathol* 173:1326-1338, 2008
- 12) Miyazaki M, Ikeda Y, Yonemitsu Y et al.: Synergistic neuroprotective effect via simian lentiviral vector-mediated simultaneous gene transfer of human pigment epithelium-derived factor and human fibroblast growth factor-2 in rodent models of retinitis pigmentosa. *J Gene Med* 10:1273-1281, 2008
- 13) Ikeda Y, Yonemitsu Y, Miyazaki M et al.: Acute Toxicity Study of a Simian Immunodeficiency Virus-based Lentiviral Vector for Retinal Gene Transfer in Nonhuman Primates. *Hum Gene Ther* 20:943-954, 2009

著者連絡先

〒812-8582 福岡県福岡市東区馬出3-1-1
九州大学大学院医学研究院眼科学
池田康博

