

201128271A

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 23 年度 総括・分担研究報告書

(3 年計画の 1 年目)

研究代表者 小 椋 祐 一 郎

平成 24(2012)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 23 年度 統括分担研究報告書

(3 年計画の 1 年目)

研究代表者 小 椋 祐 一 郎

平成 24(2012)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. マウス網膜下出血モデルにおける P2X7 受容体の関与と Brilliant Blue G による神経保護効果の検討	15
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)	
2. 網膜虚血再灌流障害におけるアルドステロン/ミネラルコルチコイド受容体(MR)の存在と MR 拮抗薬の神経保護効果	17
廣岡一行、刘 野、藤田智純、白神史雄(香川大)	
3. 高濃度グルコース及び糖尿病誘導神経細胞死における小胞体ストレスの関与と NT-4 の小胞体ストレス関連神経細胞死保護効果の検討	19
忍足俊幸、芳田奈津代、山本修一(千葉大)	
4. 視神経軸索障害の機能的評価法の確立と視神経軸索再生の分子メカニズムの解明	22
稲谷 大(福井大)	
5. 双極細胞が障害される癌関連網膜症における自己抗体の同定	25
近藤峰生 ¹⁾ 、上野真治 ²⁾ 、寺崎浩子 ²⁾ 、西沢祐治 ³⁾ 、山本修一 ⁴⁾ 、大黒 浩 ⁵⁾ 町田繁樹 ⁶⁾ 、Grazyna Adamus ⁷⁾ 、佐貫理佳子 ⁸⁾ 、古川貴久 ⁸⁾ (¹⁾ 三重大、 ²⁾ 名古屋大、 ³⁾ 中部大、 ⁴⁾ 千葉大、 ⁵⁾ 札幌医大、 ⁶⁾ 岩手医大、 ⁷⁾ オレゴン大、 ⁸⁾ 大阪バイオサイエンス研究所)	

6. 視神経脊髄炎(NMO)における plasmablasts の関与と抗 IL-6 受容体抗体療法の可能性… 27
 山村 隆¹⁾、千原典夫¹⁾²⁾、三宅幸子¹⁾、林 幼緯²⁾、岡本智子²⁾、小川雅文²⁾
 大木伸司¹⁾、荒浪利昌¹⁾
 (¹国立精神・神経医療研究センター、²国立精神・神経医療研究センター病院・神経内科)
7. 緑内障手術による眼圧変化に伴う脈絡膜厚と眼軸長の変化 …………… 30
 加地 秀、植谷留佳、長屋佐千子、長屋匡俊、伊島 亮、伊藤逸毅、寺崎浩子(名古屋大)
8. 地図状萎縮病巣における黄斑部脈絡膜厚についての検討 …………… 33
 吉田祥子、大音壮太郎、板谷正紀、辻川明孝、山城健児、吉村長久(京都大)
9. 乳頭周囲ポリープ状脈絡膜血管症に対する光凝固術の中長期成績 …………… 36
 白潟ゆかり、白神千恵子、山下彩奈、藤原篤之、白神史雄(香川大)
10. 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1年の効果 …………… 40
 森隆三郎、湯澤美都子、春山美穂、田中公二(日本大)
11. 中心性漿液性脈絡網膜症と多発性後極部色素上皮症に対するベルテポルフイン半量光線力学的療法の予後関連因子 …………… 43
 植谷留佳、伊藤逸毅、大岩和博、加地 秀、石川浩平、寺崎浩子(名古屋大)
12. ポリープ状脈絡膜血管症に対するラニビズマブ併用低照射エネルギーPDTの1年成績 …………… 46
 山下彩奈、白神千恵子、白潟ゆかり、藤原篤之、白神史雄(香川大)
13. ポリープ状脈絡膜血管症に対する ranibizumab 併用光線力学的療法 …………… 49
 飯田知弘、齋藤昌晃、狩野麻里子(福島県医大)
14. 網膜血管腫状増殖に対する ranibizumab 硝子体内注射併用時間短縮 reduced fluence 光線力学的療法の短期治療成績 …………… 52
 北橋正康¹⁾、梶田房江¹⁾、櫻井まどか¹⁾、横内裕敬¹⁾、窪田真理子¹⁾²⁾
 馬場隆之¹⁾、山本修一¹⁾(¹千葉大、²千葉医療センター)

15. 加齢黄斑変性初期病態に関する臨床研究報告—異常眼底自発蛍光と網膜感度の変化—…… 55
安川 力¹⁾、森隆三郎²⁾、五味 文³⁾、石龍鉄樹⁴⁾、大島裕司⁵⁾； JFAM スタディグループ
(¹⁾名古屋市大、²⁾日本大、³⁾大阪大、⁴⁾福島県医大、⁵⁾九州大)
16. 加齢黄斑変性発症と C2/CFB 領域の遺伝子多型との相関…… 58
仲田勇夫¹⁾、山城健児¹⁾、赤木由美子¹⁾、三宅正裕¹⁾、大石明生¹⁾、辻川明孝¹⁾
大谷篤史¹⁾、大音壮太郎¹⁾、田村 寛¹⁾、齋藤昌晃²⁾、飯田知弘²⁾、吉村長久¹⁾
(¹⁾京都大、²⁾福島県医大)
17. ゲノムワイド関連解析による日本人での滲出型加齢黄斑変性の感受性遺伝子を同定…… 60
荒川 聡¹⁾²⁾、高橋 篤¹⁾、芦川享大¹⁾、碧井智美¹⁾、吉田茂生²⁾、江内田寛²⁾
安田美穂²⁾、大島裕司²⁾、森 圭介³⁾、根木 昭⁴⁾、門之園一明⁵⁾、清原 裕⁶⁾
鎌谷直之¹⁾、中村祐輔⁷⁾、久保充明¹⁾、石橋達朗²⁾
(¹⁾理化学研究所横浜研究所ゲノム医科学研究センター、²⁾九州大、³⁾埼玉医大、⁴⁾神戸大
⁵⁾横浜市大附属市民総合医療センター病院、⁶⁾九州大・環境医学
⁷⁾東京大・医科学研究所ヒトゲノム解析センター)
18. 網膜色素変性に対する UF-021 投与終了後の視機能変化…… 63
菅原岳史、萩原 章、熊谷 健、木本龍太、山本修一(千葉大)
19. わが国における視覚障害の原因…… 65
佐藤里奈¹⁾、安川 力¹⁾、加藤亜紀¹⁾、大森豊緑²⁾、石橋達朗³⁾、小椋祐一郎¹⁾
(¹⁾名古屋市大、²⁾名古屋市大・医療健康政策科学、³⁾九州大)
20. 全身感染症と加齢黄斑変性—LPS 全身投与が実験的脈絡膜新生血管に及ぼす影響…… 67
瓶井資弘、松村永和、辻川元一、謝 平、鈴木三保子、坂口裕和、西田幸二(大阪大)
21. 強い生理光による VEGF の誘導と脈絡膜血管新生の促進…… 69
上田高志¹⁾、井上達也¹⁾、湯田健太郎¹⁾、古川貴久²⁾、柳 靖雄¹⁾、玉置泰裕¹⁾
(¹⁾東京大、²⁾大阪バイオサイエンス研究所・発生生物学部門)

22. CCR3拮抗剤による脈絡膜新生血管抑制 71
水谷武史¹⁾、野崎実穂¹⁾、芦荻正幸¹⁾、所真由美²⁾、小椋祐一郎¹⁾
(¹⁾名古屋市大、²⁾愛知厚生連尾西病院)
23. 脈絡膜新生血管におけるケモカイン受容体 CXCR3 の関与 75
藤村茂人¹⁾³⁾、高橋秀徳¹⁾、湯田健太郎¹⁾、上田高志¹⁾、入山 彩¹⁾
井上達也¹⁾、蕪城俊克¹⁾、玉置泰裕¹⁾、松島綱治²⁾、柳 靖雄¹⁾
(¹⁾東京大、²⁾東京大・分子予防医学、³⁾さいたま赤十字病院)
24. Girdin の生理的および病的網膜血管新生における役割 78
安間哲宏¹⁾、米今敬一¹⁾、伊藤孝紀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)
25. 極性を持つ分化培養網膜色素上皮細胞に対するトロンビンの影響 81
寺崎寛人、白澤 誠、有村 昇、園田祥三、坂本泰二(鹿児島大)
26. 極性を持つ分化網膜色素上皮細胞のバリア機能の解析 83
白澤 誠、寺崎寛人、有村 昇、園田祥三、坂本泰二(鹿児島大)
27. iPS 細胞由来網膜色素上皮細胞の免疫原性 85
鎌尾浩行¹⁾²⁾、万代道子¹⁾、桐生純一²⁾、高橋政代¹⁾(¹⁾理化学研究所、²⁾川崎医大)
28. 抗血管内皮増殖因子治療後に眼球癆に陥った血管新生緑内障の 2 例 87
喜井裕哉、山下高明、田中 実、坂本泰二(鹿児島大)
29. Swept source OCT を用いた強度近視眼における視神経周囲構造の観察 90
大野京子¹⁾、秋葉正博²⁾、森山無価¹⁾、島田典明¹⁾、石橋達朗³⁾
(¹⁾東京医歯大、²⁾(株)トプコン、³⁾九州大)
30. 強度近視眼における 3D MRI 解析ソフトウェアの作成 92
森山無価¹⁾、大野京子¹⁾、所 敬¹⁾、森田育男²⁾、近藤純一³⁾、茂出木敏雄³⁾、高橋洋一³⁾
(¹⁾東京医歯大、²⁾東京医歯大・分子細胞機能、³⁾(株)大日本印刷)

31. 近視性脈絡膜新生血管に対する Pegaptanib sodium と Bevacizumab 硝子体内投与 1 年の治療効果の比較…………… 94
水谷吉宏、北川貴子、湯澤美都子(日本大)
32. treatment naïve AMD 症例に対するラニズマブ硝子体内注射 1 年成績…………… 98
正健一郎¹⁾、尾辻 剛¹⁾、津村晶子¹⁾、津田メイ¹⁾、高橋寛二²⁾
(¹⁾関西医大・滝井、²⁾関西医大・枚方)
33. 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…………… 102
平山真理子、森隆三郎、春山美穂、藤田京子、北川貴子、湯澤美都子
(日本大)
34. 典型加齢黄斑変性に対する Ranibizumab 単独療法の 24 か月成績…………… 105
永井由巳、有澤章子、西川真生、平本裕盛、三木克朗、長央由里子
久保木香織、高橋寛二(関西医大)
35. 加齢黄斑変性に対するラニズマブ無反応例の検討…………… 110
尾辻 剛、永井由巳、正健一郎、津村晶子、有澤章子、津田メイ、高橋寛二(関西医大)
36. 加齢黄斑変性におけるラニズマブ硝子体内投与の治療効果と硝子体網膜癒着との関連…………… 113
野村陽子、藤村茂人、高橋秀徳、小畑 亮、柳 靖雄(東京大)
37. 加齢黄斑変性に対する HLA*A 拘束性抗 VEGFR ワクチン療法の第 I 相臨床試験…………… 116
辻川元一¹⁾、沢 美喜¹⁾、五味 文¹⁾、大路正人²⁾、白神史雄³⁾、高橋寛二⁴⁾、西田幸二¹⁾
(¹⁾大阪大、²⁾滋賀医大、³⁾香川大、⁴⁾関西医大)
38. 網膜色素変性患者の臨床所見の特徴…………… 118
池田康博、吉田倫子、納富昭司、久富智朗、宮崎勝徳、石橋達朗(九州大)

39. 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…………… 120
 石上智愛¹⁾、和田裕子³⁾、亀岡洋祐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)医薬基盤研究所、5)東京医療センター臨床研究センター)
40. 網膜色素変性患者におけるハンフリー10-2 視野のセクター解析…………… 122
 荻野 颯、大谷篤史、大石明生、中川聡子、牧山由希子、小寫洋史
 栗本雅史、吉村長久(京都大)
41. 網膜色素変性症に対する血管内皮前駆細胞の機能解析に関する研究…………… 125
 福田慎一¹⁾、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)
42. 人工網膜用の多孔化電極の網膜機能画像による評価…………… 128
 不二門尚¹⁾、神田寛行¹⁾、森本 壮¹⁾、三好智満²⁾、広原陽子³⁾、三橋俊文³⁾
 瓶井資弘⁴⁾、西田幸二⁴⁾
 (1)大阪大・感覚機能形成学、2)大阪大・統合生理学、3)㈱トプコン・研究開発センター、4)大阪大)
43. Stargardt 病の ABCA4 遺伝子解析…………… 132
 村上 晶、志村由依、藤巻拓郎、濱畑徹也、宮崎 愛、藤木慶子、武井正人(順天堂大)
44. Leber 先天盲を含む常染色体劣性網膜色素変性のマイクロアレイによる遺伝子解析…… 135
 藤巻拓郎、宮崎 愛、新井英介、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(順天堂大)
- IV. 関連業績一覧…………… 139

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
	稲 谷 大	福井大学医学部眼科	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
	西 田 幸 二	大阪大学医学部眼科	教 授
	村 上 晶	順天堂大学医学部眼科	教 授
	安 川 力	名古屋市立大学医学部眼科	准 教 授
	山 本 修 一	千葉大学医学部眼科	教 授
	湯 沢 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	飯 田 知 弘	福島県立医科大学医学部眼科	教 授
	大 野 京 子	東京医科歯科大学医学部眼科	准 教 授
	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
	近 藤 峰 生	三重大学医学部眼科	教 授
	柳 靖 雄	東京大学医学部眼科	特任講師
	山 村 隆	国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 免疫研究部	部 長
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

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】

本研究は、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。現在、光線力学的療法(PDT)と抗血管内皮増殖因子(VEGF)療法が主要な治療法である。本研究により、病型別に長期成績が得られてきている。これらの結果をもとに、病型別の治療指針を確立中である。遺伝子解析により、欧米で報告されている遺伝子多型の日本人における関連を調査し、また、ゲノムワイド関連解析(GWAS)により新たな遺伝子多型の関与が発見された。今後、発見された原因遺伝子の情報は病態解明やテーラーメイド医療に役立つものと考えられる。VEGF受容体ペプチドを利用したワクチン療法の第1相臨床試験で安全性とある程度の有効性が示された。

網膜色素変性は遺伝性の網膜変性疾患であり有効な治療法は確立されていない。2007年に米国と英国でLeber先天盲患者の遺伝子治療が行なわれ、患者の視機能改善が報告された。将来わが国でも網膜色素変性の遺伝子治療を目指すにあたり、変異の種類と頻度の情報の蓄積を進めている。遺伝子診断システムの確立・効率化のため、診断ネットワークを構築し、継続可能な遺伝子診断サービスの提供を目指す。遺伝子治療や神経保護治療の可能性についても検討中である。

視神経萎縮は緑内障を始めいろいろな病態で発症し、不可逆性の障害を残す。神経細胞のイメージングにより視神経萎縮の病態解明や治療法開発を目指す。神経保護治療による視神

経萎縮の進行阻止を目指す。また、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標とする。これまでの研究で、ES細胞やiPS細胞から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。現在、サルへのiPS細胞由来網膜色素上皮シート移植を行い、自家移植の必要性などを評価中である。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、現在、電極刺激の性能を高めるための動物実験を進めている。今後も臨床応用に向けて開発を進める。

【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)

白神史雄(香川大学・眼科・教授)

高橋政代(理化学研究所・眼科・チームリーダー)

西田幸二(大阪大学・眼科・教授)

安川 力(名古屋市立大学・眼科・准教授)

湯沢美都子(日本大学・眼科・教授)

稲谷 大(福井大学・眼科・教授)

坂本泰二(鹿児島大学・眼科・教授)

高橋寛二(関西医科大学・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)

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. 視覚障害者調査

視覚障害認定者数を調査し、我が国の視覚障害の原因、実態を明らかにし、視覚障害の対策をたてる。

2. 脈絡膜新生血管治療臨床研究

滲出型加齢黄斑変性や近視性脈絡膜新生血管の治療法として抗血管内皮増殖因子(vascular endothelial growth factor: VEGF)療法、光線力学的療法(photodynamic therapy: 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た。

3. 加齢黄斑変性遺伝解析

加齢黄斑変性は、環境要因および遺伝要因により起こる多因子疾患と考えられている。ゲノムワイド関連解析(GWAS)などを利用して、日本人における遺伝要因を検討した。

4. 加齢黄斑変性臨床試験

標準治療に抵抗する滲出型加齢黄斑変性に対して、VEGF受容体を標的としたHLA-A拘束性エピトープペプチドによる医師主導型第I相臨床試験をおこない、加齢黄斑変性に対するVEGF受容体に対するHLA拘束性ペプチドワクチン療法の安全性、有効性を評価した。

5. 加齢黄斑変性基礎研究

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の病態や網膜生理機能を探索する。

6. 網膜色素変性遺伝解析

Leber 先天盲を含む常染色体劣性網膜色素変性の各原因遺伝子について、日本人における変異の種類と頻度の概要を明らかにする。

7. 遺伝診断ネットワーク

医薬基盤研究所難病研究資源バンクを利用して網膜変性疾患患者の試料と情報を収集し、遺伝子診断を行うシステムを構築した。稀少疾患の遺伝子診断を提供する研究室が共通に抱える問題を解決すべく設立された NPO 法人 オーフアネット・ジャパン (Orphan Net Japan: ONJ) に遺伝子検査を登録することで、継続可能な遺伝子診断サービスを提供する。

8. 網膜色素変性臨床試験

網膜色素変性において 0.15%ウノプロストン点眼 (UF-021) が用量依存性に網膜中心部感度を改善することを以前に報告したが、今回、UF-021 投与終了後の視機能変化を調査した。

9. 視神経症病態解明研究

視神経脊髄炎は主に視神経炎と脊髄炎を繰り返す中枢神経系の炎症性神経疾患である。最近、アストロサイトに発現する水チャネルアクアポリン 4 (AQP4) に対する自己抗体の関与が示唆されている。我々は、未熟形質細胞 (plasmablast) が末梢血における主な抗 AQP4 抗体産生細胞でインターロイキン 6 (IL-6) シグナルに依存していることを発見した。今回、末梢血で増加している plasmablast がどこで病原

性を発揮するのかについて末梢血と髄液内での比較解析を行った。

10. 強度近視眼球形状解析

強度近視では眼軸延長や後部ぶどう腫形成といった眼球形状異常をきたすことが知られている。3D MRI を定量的に解析するソフトウェアを開発し、眼球形状を数値化する。また、算出された数値を基に眼球形状を分類し、病的近視の病態との関連を調査する。

11. 神経機能イメージング

緑内障患者の視神経障害を機能的に評価する方法を確立するため、軸索流をライブイメージで観察することで、網膜神経節細胞のアポトーシスを予測できるかを明らかにする。また、視神経再生研究として、視神経軸索投射に関わる分子メカニズムを明らかにする。

12. 神経再生医療と人工視覚

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. 視覚障害者調査

視覚障害の原因調査のために、全国を 6 ブロックに分け、1 ブロックから 1 県あるいは 1 都市の自治体が無作為に抽出した。これらの自治体において、平成 19~21 年の 3 年間に身体障害者診断書・意見書に基づいて新規に視覚障害認定を受けた 18 歳以上の視覚障害者 4138 名について調査した。

2. 脈絡膜新生血管治療臨床研究

典型加齢黄斑変性を対象に、抗 VEGF 療法である ranibizumab の硝子体内投与の 12 か月、

24ヶ月間の治療成績を評価した。

ポリープ状脈絡膜血管症に対する ranibizumab 硝子体内投与1年の効果を治療前視力の良好群（0.6 – 1.0）と不良群（0.1-0.5）に分けて検討した。また、ranibizumab 併用 PDT1年後の治療成績を検討した。

網膜血管腫状増殖に対して、ranibizumab 硝子体内投与後 1-2 日で低照射エネルギー PDT を施行して、治療成績と合併症をまとめた。

近視性脈絡膜新生血管を対象に、別の抗 VEGF 薬である pegaptanib sodium と bevacizumab の硝子体内投与1年の治療効果を比較した。

3. 加齢黄斑変性遺伝解析

滲出型加齢黄斑変性患者 827 人と対照者 3,323 人を対象に GWAS を行った。遺伝子型の決定は、高密度ビーズチップアレイを用いて行い、解析には約 45 万個の SNP の中から一定の基準を満たした 77 個の SNP について、別の滲出型加齢黄斑変性患者 701 人と対照者 15,565 人を対象とし、マルチプレックス PCR を併用したインバーダー法を用いて追試研究を実施した。

また、別の患者 1036 例（典型加齢黄斑変性:455 例、PCV:581 例）、対照群 865 例の末梢血から DNA を抽出し、6 番染色体に存在する C2/CFB 領域から 4 つの一塩基多型 (SNP) を選出し検討を行った。

4. 加齢黄斑変性臨床試験

PDT もしくは抗 VEGF 薬の硝子体内注射が無効であった滲出型加齢黄斑変性で、40 歳以

上 85 歳以下でかつ、HLA-A*201 もしくは HLA-A*2402 を有する患者を対象に、エピトープペプチド (VEGFR1 および 2 由来) の混合ペプチドを患者腋下またはソケイ部の皮下に1週間ごとに投与した。4 週間ごとに、明らかな病状の悪化が認められなかった場合、投与を継続した。安全性の評価、免疫学的評価を行い、2 年間の継続観察がされたものに対しては臨床的有効性の評価もおこなった。

5. 加齢黄斑変性基礎研究

セリン/スレオニンキナーゼ Akt の基質である Girdin のリン酸化が網膜血管新生に及ぼす影響を解析するために、GirdinS1416A ノックインマウスと、生後 28 日ごろにかけて網膜下に新生血管が生じる hVEGF トランスジェニックマウスと、これらを掛け合わせたマウスを用いて、生後 28 日齢で網膜フラットマウントを作成し、蛍光顕微鏡で新生血管を定量、解析した。Transwell™ による培養で、ブタ網膜色素上皮を分化誘導し、腫瘍壊死因子 (TNF- α) のバリア機能への影響を、経上皮電気抵抗 (TER) と tight junction 蛋白 ZO-1 の発現で評価した。p38MAPK, NF- κ B, JNK, caspase の各阻害薬を TNF- α 添加 1 時間前に加え、その影響をみた。

マウスのレーザー誘発性脈絡膜新生血管モデルを利用して、ケモカイン受容体である CXCR3 とそのリガンドの発現を RT-PCR にて検討した。また、CXCR3 ノックアウトマウスにおける脈絡膜新生血管の誘導や、野生型マウスの脈絡膜新生血管誘導における CXCR3 中和抗体やリガンドである IP-10 の中和抗体の抑制効果を調査した。同様に、別のケモカイン受

容体である CCR3 の関与を見るために CCR3 拮抗剤 YM-344031 による脈絡膜新生血管抑制効果を検討した。

6. 網膜色素変性遺伝解析

Leber 先天盲を含む常染色体劣性網膜色素変性 73 例(男性 45 例、女性 28 例)中、同意が得られた症例の血液からゲノム DNA を抽出し、*RPE65*, *AIPL1*, *CEP290*, *CRB1*, *GUCY2D*, *LCA5*, *RDH12*, *RPGRIP1*, *TULP1*, *EYS*, *PDE6A*, *PDE6B* 計 12 種の遺伝子のエクソン領域を含む、0.5~10kbp を PCR 法で増幅の上、*RPE65* 遺伝子に関しては直接塩基配列決定法でも解析した。網羅的遺伝子解析に関しては *RPE65* を含む上記遺伝子のエクソン部分の DNA アレイを作成し、増幅した DNA は Fragmentation、Labeling、Hybridization、Wash/Stain/Scan の行程を経て塩基配列を決定し、変異の有無を確認した。

7. 遺伝診断ネットワーク

網膜色素変性(常染色体優性遺伝、X連鎖劣性遺伝)、クリスタリン網膜症、小口病、眼底白点症、白点状網膜炎、若年網膜分離症を対象とする遺伝子検査と、*PRPH2* 遺伝子、*RHO* 遺伝子、*ABCA4* 遺伝子を対象とする単独遺伝子検査を提供する。検査方法は DHPLC 法と直接シーケンシング法を用いて各原因遺伝子のコーディング領域の配列解析を行う。さらに検出した塩基変化についてデータベースの検索を行い、既知変異か新規変異かを判別する。新規変異のうち、SNP については *in silico* 解析を行い病的変化の可能性を判定した上で、依頼者に報告する。

8. 網膜色素変性臨床試験

網膜色素変性患者 22 名に対して、24 週間の 0.15%ウノプロトン点眼(UF-021)の無作為二重盲検試験を行った。1回2滴点眼の高濃度群6名、1回1滴点眼の低濃度群8名、プラセボ群8名に割り付けられていた。治験開始時および終了時とそれから48週後のハンフリー静的視野計にて10-2で測定した中心4点平均網膜感度と mean deviation(MD 値)、マイクロペリメトリー(MP1)の中心2度と10度の平均網膜感度を調査した。

9. 視神経症病態解明研究

健常人 20 例、抗 AQP4 抗体陽性 NMO 患者 41 例、抗 AQP4 抗体陰性で Wingerchuk 2006 診断基準を満たす NMO 患者 4 例、McDonald 診断基準を満たし RRMS の臨床病型をとる通常型多発性硬化症(MS)患者 17 例を対象とした。各々の末梢血単核球を分離し B 細胞亜面の頻度やケモカインなどの表面分子発現をフローサイトメトリー(FACS)で解析した。

10. 強度近視眼球形状解析

強度近視(屈折度<-8D、または眼軸長 \geq 26.5 mm)117名234眼を対象に、3D MRI を撮影した。3D MRI 画像から眼球の水平面での対称性、矢状面での対称性、眼球後部の尖鋭度を自動的に算出するソフトウェアを作成し、全例において眼球形状を数値化した。算出された数値を基に眼球形状を18通りに分類し、各分類間において近視性眼底病変(網脈絡膜萎縮、脈絡膜新生血管、近視性牽引黄斑症、視神経障害)の発生頻度の差を検討した。

11. 神経機能イメージング

生直後のラットの網膜神経節細胞の初代培養をおこない、蛍光標識された脳由来神経栄養

因子(BDNF)をトランスフェクションし、軸索内に発現した BDNF の蛍光信号をタイムラプスイメージで撮影することによって、その分子輸送を観察した。さらに、コルヒチンを投与し、軸索輸送を停止させ、網膜神経節細胞のアポトーシスが誘導されるかを観察した。網膜の発段階で一過性に発現上昇する分子であるヘパラン硫酸の欠損マウスを作成して、視神経の軸索投射の表現型を解析した。

12. 神経再生医療と人工視覚

加齢黄斑変性などに対する再生医療を目標に、サル iPS 細胞由来網膜色素上皮シートを作製し、これを他家と自家の網膜下に移植し、眼底写真、蛍光眼底造影、光干渉断層計にて移植後 1 年観察した。

脈絡膜上-経網膜刺激(STS)方式の人工網膜の動物実験を行った。刺激電極には、直径 0.5 mm で高さ 0.3 mm の多孔化電極をシリコン基盤上に 2 極配列された多極電極を用いた。電極間距離は 1.5mm だった。麻酔下で、ネコ眼球の後極部強膜に大きさ 5mm 角の強膜ポケットを作成し、多極電極を挿入して縫着した。術後に刺激電極-帰還電極間の電気インピーダンスを計測した。また眼球摘出後、電極設置部の網膜および強膜の組織学的検索を行った。

(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. 視覚障害者調査

視覚障害の原因順位と割合は、1 位が緑内障で 21.6%、以下 2 位が糖尿病網膜症、3 位が網膜色素変性、4 位が黄斑変性、5 位が網膜・脈絡膜萎縮であった。

2. 脈絡膜新生血管治療臨床研究

滲出型加齢黄斑変性に対する ranibizumab 硝子体内投与の 12 か月後平均視力の改善に関わる因子は、治療前小数視力 0.5 以下、前治療なし、オカルト病変(網膜色素上皮下の脈絡膜新生血管)、64 歳以下、中心網膜厚 150 μ m 以上だった。治療回数が有意に少ないのは 64 歳以下の症例 だった。クラシック病変(網膜色素上皮を越えて網膜下に侵入した脈絡膜新生血管)の方がオカルト病変より、視力予後が良く、ranibizumab への反応も良かった。ま

た、日常診療の中、滲出性変化の残存・増悪や視力低下を元に適宜、ranibizumab 硝子体内投与を繰り返すことになるが、投与が不十分であると視力低下する症例を認めた。

ポリープ状脈絡膜血管症に対する ranibizumab 硝子体内投与で視力良好群、視力不良群ともに平均視力、中心窩網膜厚は有意に改善し、視力及び黄斑所見の non responder は少なかった。ranibizumab 併用 PDT は、視力の維持改善と黄斑部形態の改善に優れると考えられた。

網膜血管腫状増殖に対する ranibizumab 併用低照射エネルギーPDT 後6ヶ月の時点で、視力改善が 36.4%、不変 54.5%、悪化 9.1%であった。

近視性脈絡膜新生血管に対する bevacizumab 硝子体内投与は、少ない投与回数でより早く滲出を吸収し平均網膜感度を改善させるため、pegaptanib sodium 硝子体内投与より有効であった。

3. 加齢黄斑変性遺伝解析

加齢黄斑変性を対象した GWAS および追試研究の結果、*CFH* (rs800292、P 値=4.23 × 10⁻¹⁵) および *ARMS2* (rs3750847、P 値=8.67 × 10⁻²⁹) の既報の領域に加えて、2 つの新規の滲出型加齢黄斑変性感受性領域を同定した。8 番染色体上の *TNFRSF10A-LOC389641* (rs13278062、統合 P 値 = 1.03 × 10⁻¹²、オッズ比 =1.37) と、4 番染色体上の *REST-C4orf14-POLR2B-IGFBP7* (rs1713985、統合 P 値 = 2.34 × 10⁻⁸、オッズ比 = 1.30) の 2 領域が新規の関連領域として同定された。さらに領域を特定するため詳細マッピングを行

った結果、rs13278062 が 8 番染色体短腕領域で最も強い関連を持つことが示された。

C2 遺伝子に存在する rs547154 及び CFB 遺伝子に存在する rs541862 が加齢黄斑変性発症、ポリープ状脈絡膜血管症発症共に関連した。さらに、rs547154 の疾患発症への関与を既知の危険因子の影響を考慮した多重ロジスティック回帰分析にて検討したところ、オッズ比 0.47(対加齢黄斑変性)及び 0.53(対ポリープ状脈絡膜血管症)と非常に強い相関を示した。

4. 加齢黄斑変性臨床試験

加齢黄斑変性に対する VEGF 受容体に対する HLA 拘束性ペプチドワクチン療法の第1相臨床試験の結果、*A24-02 に関しては 9 名 *A02-01 に関しては 7 名が3か月の投与を終了した。安全性に関して重篤な問題は生じなかった。2 年間の経過を追えた12例では、滲出性変化は3例で改善し、対照群に比較して平均視力の推移は良好であった。

5. 加齢黄斑変性基礎研究

hVEGF マウスと比較し、GirdinS1416A と hVEGF を双方もつマウスでは、血管新生が有意に抑制されることが示された。

培養網膜色素上皮は、TNF- α 刺激によりバリア機能の破綻を認めた。TNF- α の下流シグナルとして p38MAPK が関与していた。

マウス脈絡膜新生血管モデルにおいて、CXCR3 と IP-10 の発現を認めた。CXCR3 ノックアウトマウスでは、脈絡膜新生血管は野生型より大きかった。野生型マウスの脈絡膜新生血管誘導に対して、抗 CXCR3 中和抗体、抗 IP-10 中和抗体投与で促進的に働いた。一方、

CCR3 拮抗剤は VEGF の発現量に影響しなかったが脈絡膜新生血管の発生を抑制した。

6. 網膜色素変性遺伝解析

常染色体劣性網膜色素変性 16 例の 42016 塩基中、148 箇所を調査し、SNP は 57 箇所認められた。4 例に病因となり得る variations を認めた。

7. 遺伝診断ネットワーク

ONJ による遺伝子検査の結果は依頼者に帰属する。依頼者の許可を得ているものは遺伝子変異データベースに登録する。

8. 網膜色素変性臨床試験

網膜色素変性に対する 0.15%ウノプロストン点眼 (UF-021) 治験 72 週後のハンフリー静的視野の中心4点感度および MD 値の平均変化値 (dB) は、高濃度群では進行は緩慢で、治験後の経過においては、高濃度群はプラセボ群に対して有意差はないものの悪化が抑えられる傾向がみられた。MP1 でも同様の傾向であった。以上より UF-021 による視機能改善効果が確認された。

9. 視神経症病態解明研究

視神経脊髄炎患者末梢血における B 細胞の特徴を解析するため、B 細胞を各種表面抗原 (CD19、CD27、CD38、CD180) を用いて単離した。視神経脊髄炎患者において全 B 細胞に占める plasmablast (CD19^{int}CD27^{high}CD38^{high}CD180⁺細胞) の細胞割合が健常人や MS 患者と比して有意に多かった。

10. 強度近視眼球形状解析

3D MRI 基に全例で眼球形状を数値化することが可能であった。算出された数値から眼球形状を 18 通りに分類した。水平面で非対称形を呈し、耳側に偏位しているものは視神経障

害の発生頻度が高く、鼻側や耳側に偏位しているものは網脈絡膜萎縮、近視性牽引黄斑症の発生頻度が高かった。また、眼球後部が鋭なタイプは近視性牽引黄斑症、網脈絡膜萎縮の発生頻度に高かった。

11. 神経機能イメージング

網膜神経節細胞の軸索内を輸送する BDNF をライブイメージで観察することに成功した。BDNF は軸索内を順行性と逆行性、両方向に輸送されていることを確認した。さらに、コルヒチン投与による軸索障害によって、BDNF の軸索輸送は、コルヒチン投与後 2 時間目以降著明に停滞し、投与後 24 時間後にアポトーシスが誘導された。視神経軸索誘導実験では、ヘパラン硫酸欠損マウスにおいて、視神経乳頭低形成が引き起こされた。軸索ガイダンス因子の Netrin-1 と Slit による軸索誘導シグナルが障害された。

12. 神経再生医療と人工視覚

サル iPS 細胞由来網膜色素上皮シートの他科移植では全ての移植片に眼底の線維性瘢痕や滲出性変化などの拒絶反応所見を認めた。一方、自家移植では術後 1 年まで経過観察したが拒絶反応を示唆する所見は認めなかった。

人工網膜を埋植したネコに刺激を行うと電極設置部近傍に限局して反射率の変化が見られた。これは、刺激により限局した神経活動が生じたことを示す。刺激閾値の平均値は 370 μ A だった。この閾値は個体間でばらつきが大きく、強膜厚が厚いほど閾値が増加する傾向が認められた。インピーダンスが高いほど閾値が低下する傾向が認められた。

D. 考察

1. 視覚障害者調査

視覚障害の原因は前回調査の順位と変化はなく、1位の緑内障の割合にも大きな変化がみられなかったが、2位の糖尿病網膜症の割合が減少していた。これは、受診率の向上や治療、技術の進歩に伴い改善がみられたためと考えられる。視覚障害者の視力や視野などの詳細情報の集計にはシステム上、困難があり、今後改善すべき問題である。

2. 脈絡膜新生血管治療臨床研究

滲出型加齢黄斑変性や近視性脈絡膜新生血管に対する治療法として、PDT と抗 VEGF 療法があるが、これらを病型により使い分け、または併用することで治療効果を高めることができた。一方、慢性疾患であり、適宜治療していく基準が曖昧なことや、通院加療継続の難しさ、高額な医療費に起因する患者側の経済的な理由などにより、治療回数が不十分だと視力低下を招くことがわかり、日常診療の難しさや医療費圧迫の問題が浮き彫りになってきた。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、病態の理解、遺伝子多型の理解、治療効果の評価を目的とした研究の継続が必要である。

3. 加齢黄斑変性遺伝解析

今回、新たに滲出型加齢黄斑変性への関与が示された rs13278062 は、*TNFRSF10A* 遺伝子の転写量を調節する領域（プロモーター領域）に存在していた。ルシフェラーゼアッセイを用いた過去の論文では、この SNP のアレルの違いにより、発現量の違いが生じると報告されている。また、*TNFRSF10A* 遺伝子は、TRAIL

レセプター1 (TRAILR1) というタンパク質をコードする遺伝子であり、TRAILR1 は網膜色素上皮細胞を含む多くの組織に発現している。この TRAILR1 に TRAIL タンパク質が結合すると、カスパーゼを介したアポトーシス誘導経路の活性化や NF- κ B を介した炎症性サイトカイン産生が誘導されると報告されている。よって、この SNP のアレルの違いにより TRAILR1 の発現量が増加し、滲出型加齢黄斑変性発症に関連していることが示唆された。

欧米人と同様に、C2/CFB 遺伝子多型は日本人の加齢黄斑変性及びポリープ状脈絡膜血管症発症と関係することが示された。

4. 加齢黄斑変性臨床試験

従来の治療に抵抗する滲出型加齢黄斑変性に対し、HLA*A 拘束性抗 VEGF 受容体ワクチン療法の第 I 相試験で、安全性については問題なく、ある程度の有効性も示された。一方、この療法は即効性がないと考えられ、今後、治療の適応やプロトコールに関して注意深い考察が必要であると考えられた。

5. 加齢黄斑変性基礎研究

in vivo における実験においても、Girdin の発現量の減少および Girdin のリン酸化阻害が血管新生の促進を抑制することから、普遍的に Girdin の発現およびそのリン酸化は、網膜血管新生に促進的な役割を果たしていると考えられた。

TNF- α 刺激による網膜色素上皮バリア機能障害は、生体内の慢性炎症を主体とする黄斑疾患の病態と類似しており、加齢黄斑変性などの Transwell™ を用いた網膜色素上皮培養は、*in vitro* モデルとなりうる可能性がある。