

全身麻酔下、ミトマウスに 2 光子顕微鏡を用いることにより、*in vivo* で共通の方向へ伸長する、個々の RGC 軸索を、網膜各層とともにイメージングできた。次に RGC 軸索を *in vivo* イメージングした結果、血流が保たれていた生理的条件下で、RGC 軸索内ミトコンドリアの、高頻度な順行性、逆行性輸送を検出した。高眼圧による軸索障害を評価した結果、コントロール群のミトコンドリア長  $2.23 \pm 0.08 \mu\text{m}$  に比べて、レーザー後 3 日目では  $1.81 \pm 0.06 \mu\text{m}$  へ有意に短縮していた。軸索輸送されるミトコンドリア数を解析した結果、軸索 1mm あたり、コントロール群では  $102 \pm 6$  個であったが、レーザー後 3 日目では  $65 \pm 7$  個と有意に減少していた。緑内障モデル同様、軸索内を輸送されるミトコンドリアの長さは、4 ヶ月齢マウスに比べて 12 ヶ月齢マウスでは  $1.57 \pm 0.04 \mu\text{m}$  へ短縮していた。ミトコンドリア輸送数を解析した結果、12 ヶ月齢マウスでは 1mm あたり、 $125 \pm 8$  個と有意に増加していた。

#### 10. iPS 細胞由来網膜色素上皮細胞シート移植

術中、全ての移植片において明らかな損傷はなく、介助者なしで網膜下移植する事ができた。術直後の移植片は、①fold が 2/12 眼、②表側が 12/12 眼、③位置は center が 12/12 眼、④方向は前方が 10/12 眼、右方が 2/12 眼であった。移植片の fold は網膜剥離の範囲が小さかったことが原因と考えられ、また移植片が右方向となった原因は、移植器具の挿入方向と流路が同軸で無かったことが考えられた。術 2 週後の移植片は、透見不可が 2 眼あり、fold が

2/12 眼、収縮が 4/10 眼であった。また、保存液中に粘弾性物質を含有した hiPS-RPE シートは全例で移植片が収縮したため、移植片の収縮の原因として不十分な排液が考えられた。

#### 11. 網膜移植

RX-GFP ES ノックイン細胞および Nrl-GFP トランスジェニックマウス由来 iPS 細胞から、再現性をもってほぼ生体内の発生と同じ期間を経て網膜様組織を立体分化培養により誘導することができ、ほぼ網膜組織のみに純化することができた。これらを分化 14-17 日目(胎生期相当)で移植すると、分化早期の移植では、変性網膜下の環境においても移植片は網膜の神経節層、内層、視細胞層すべての構造に分化する像が観察された。2 次ニューロンである双極細胞と視細胞、または視細胞の前シナプスマーカーである ribeye との接する像が観察され、シナプスが形成されている可能性が示唆された。杵体駆動の弱い光刺激に対する a 波様反応が観察できた。また移植片部位での神経節細胞側からの光反応に対する活動電位も観察された。

#### D. 考察

##### 1. 視覚障害者調査

本検討は全数調査ではないため、抽出群による違いがあると思われるが、受診率の向上や治療の進歩により、疾患によって認定患者数に変化があるのではないかと考えられる。また、視覚障害者認定の際には身体障害者福祉法に基づく指定医師の診断書を添えて、福祉事

務所を經由し、都道府県知事、指定都市市長に身体障害者手帳の交付申請をすることになっている。認定に際し、判定項目となる視力や視野検査などの詳細な結果は、各地方自治体へ報告されるのみで 全国規模で集計されることはない。また、診断名はコード選択ではなく、判定医の裁量に委ねられており、現在の日本では、統計調査が困難な状況にある。

## 2. 滲出型加齢黄斑変性治療臨床研究

視力良好な PCV に対する IVR は、2 年間で視力の維持はできるが、1 年以降も漿液性網膜剥離の残存および再発を認めることから、継続的な経過観察、追加治療が必要である。

治療前の病変サイズが小さな症例はラニビズマブ治療に対する反応が良好である。

現在のところフィラキシー発症のメカニズムは明らかにされていない。可能性のあるメカニズムとしては、ラニビズマブに対する中和抗体の産生、VEGF 受容体の up-regulation、マクロファージによる VEGF 産生の亢進、他の経路を介する CNV の再活性化、CNV の成熟化、病変タイプの変化、網膜色素上皮細胞の機能低下喪失などがあげられる。タキフィラキシーに対する対策としては、ステロイドや PDT といった異なった作用機序をもつ薬物との併用療法を行うこと、休薬期間をもうけること、薬剤を変更することが考えられる。

PCV、RAP において、治療経過中に GA の発生、拡大を認めた。HRA2 の region finder を用いると、比較的容易に GA の面積を測ることができ、RAP における GA の解析にも有用である。

## 3. 加齢黄斑変性基礎研究

Semaphorin3E/PlexinD1 シグナル経路が脈絡膜の血管新生にもこの経路が関わっていることが初めて示された。病的な血管新生のみを抑制することで、抗 VEGF 療法と比べ選択的な治療となる可能性がある。生理的な血管新生を抑制しないことが再発抑制につながるのかどうかは今後検討していく必要がある。

Ccr2 アンタゴニストである INCB3344 の治療効果を検討した。その結果、CNV の発生抑制と既に生じた CNV の退縮効果があることが示された。

TNF- $\alpha$  は極性 RPE に対し、VEGF 分泌抑制作用をもつことがわかった。一方で、幼若で未分化な非極性 RPE においては、過去の報告と同様に TNF- $\alpha$  は VEGF 分泌促進作用をもった。加齢黄斑変性の初期段階など RPE の極性が保たれている際に局所炎症が起ると、脈絡膜側への VEGF 分泌が低下し、脈絡膜萎縮が起こる可能性がある。

## 4. 網膜色素変性遺伝解析

近年、日本人の視覚障害の原因として網膜色素変性をはじめとする遺伝性網膜疾患は、緑内障、糖尿病網膜症に次ぎ第 3 位となり、厚生省班研究の全国疫学調査では約 23000 人の患者がいると推定されている。原因遺伝子は約 140 種、未知を含めると約 190 種と多岐にわたり、遺伝的異質性のある疾患である。中でも Leber 先天盲は乳児期に発症する網膜色素変性の重症型で、日本人に頻度の高い ARRP と同様に有効な治療法がない。2007 年、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。遺伝子治療と遺伝子診断とは表裏一体の関係にあり、わが国でも網膜色素変性、とりわけ重症で頻度の高い ARRP の遺伝子治療を目指すに当たり、変異の種類と頻度の概要を知る必要があると考えられる。

#### 5. 遺伝診断ネットワーク

難病バンクへ登録した患者試料 DNA は、最適な環境下で保管されるだけでなく、検体配送や DNA 抽出にかかる手間と費用は難病バンクが負担する。一方、難病バンクはバンク事業を行い希望する研究者に患者試料 DNA を分譲する。このように登録する側と分譲される側それぞれが難病バンクを研究サポートに用いることが可能である。

#### 6. 網膜色素変性臨床試験

網膜色素変性への 0.15%ウノプロトン点眼 (UF-021) の治験では UF-021 が用量反応性に網膜感度を改善した。しかし、UF-021 の投与終了後、網膜感度は悪化に転じたことにより、UF-021 による視機能改善効果が証明された。投与終了後 2 年を経ても H 群では治験開始時の網膜感度を維持しており、このことは UF-021 による神経保護作用により、UF-021 による視機能維持効果が長期に持続していると推測した。

#### 7. 視神経脊髄炎に対する分子標的治療

トシリズマブ投与により末梢血プラズマブラストの割合が著明に減少したことから、プラズマブラストの生体内での生存に IL-6 が重要である

可能性が示唆された。

#### 8. 強度近視眼球形状解析

不規則型の形状は、強度近視眼の強膜形状の最終型であると推測された。おそらく加齢や近視の進行により、強膜がある程度以上菲薄化すると、もはや正常の円弧を維持することができず、不規則型となり、強膜形状のこのような変化が直接的に網膜や視神経を障害し、視覚障害の原因となる種々の近視性眼底病変を惹起すると考えられる。

#### 9. 神経機能イメージング

緑内障モデルマウス、加齢マウスにおける、軸索内を輸送されるミトコンドリアの長さの減少から、緑内障モデルマウス、加齢マウスにおいては、ミトコンドリア 1 個が運べる ATP 量が低下していると考えられる。加齢マウスと異なり、緑内障モデルマウスではミトコンドリア輸送数が低下していたことから、緑内障モデルにおいては、全体で供給できる ATP 量も低下していると考えられる。

#### 10. iPS 細胞由来網膜色素上皮細胞シート移植

開発した手術器具は、適切な剥離範囲の作製、移植器具の挿入方向と流路を同軸にすることや十分な排液を行う事で、安定した移植を行う事ができたため臨床応用に適していると考えられる。今後は、よりヒトの眼球に近いサル眼球を用いて検討を行う予定である。

#### 11. 網膜移植

iPS、ES 細胞由来網膜様組織は胎生期相当の移植で、移植後変性網膜下の環境でも成熟し、ホスト 2 次ニューロンとのシナプスを形成しうる可能性が示唆された。また、シート状網膜は、移植半年以内にほぼ消失した視細胞移植に比べ長期にわたる生着が観察され、視細胞移植ではみられないような外節様形態も観察された(3)。また、層構造を維持した移植片は、GFAP 活性上昇は伴わない傾向を示した。これらの点において、シート移植は細胞移植に対する優位性を示した。また、これら移植後ホスト網膜の多電極アレイ解析では、microERG にて変性末期ホスト網膜ではみられないような a 波を観察することができ、層構造を維持した移植片由来の光応答と考えた。神経節細胞の光応答性活動電位がホスト由来のものかどうか今後更に検討する。

## 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、多くの症例で長期的に治療を継続する必要があり、また、長期的な視力維持が困難な症例や地図状萎縮への進展などが報告されつつあり、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. 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

## G. 知的所有権の取得状況

各分担研究報告に記載

## H. 参考文献

各分担研究報告に記載

## I. 健康危険情報

なし

### Ⅲ. 分 担 研 究 報 告

# 1. Leber 先天盲を含む常染色体劣性網膜色素変性の

## マイクロアレイを用いた遺伝子解析

藤巻拓郎<sup>1)</sup>、宮崎 愛<sup>1)</sup>、藤木慶子<sup>1)</sup>、新井英介<sup>1)2)</sup>

近藤峰生<sup>3)</sup>、岩田文乃<sup>3)</sup>、村上 晶<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>順天大、<sup>2)</sup>東京都立小児総合医療センター、<sup>3)</sup>三重大、<sup>4)</sup>旗の台駅東口いわた眼科)

**研究要旨** Leber 先天盲 (Leber congenital amaurosis: LCA) は生後早期に視細胞変性が進行する網膜色素変性で遺伝的異質性がある。原因遺伝子は優性遺伝形式 3 種、劣性遺伝形式 17 種が知られている。LCA を含む常染色体劣性網膜色素変性 (autosomal recessive retinitis pigmentosa: ARRP) は日本人において頻度が高く重症型が多く含まれているが、各原因遺伝子の頻度は明らかでない。本研究では 33 遺伝子の全翻訳領域を含むマイクロアレイを用いることで、LCA を含む ARRP 計 105 例について、その変異の種類と頻度の概要を明らかにすることを目的に解析を進める。

### A. 研究目的

LCA を含む ARRP 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。

発症年齢	病 型	症例数
0 歳	LCA	12
1~2 歳	幼年型網膜色素変性	6
3~12 歳	早期発症型網膜色素変性	30
13 歳~	ARRP のみ	57

計 105 例

### B. 研究方法

対象: 1988 年から現在までに当科を受診し、説明と同意が得られた早期発症症例を含む ARRP105 例 (男性 66 例、女性 39 例、平均年齢 43.4±23.2 歳) を対象とした。

13 歳以降発症孤発例は ARRP から除外した。現時点で診療録と試料の双方が保存されており、常染色体劣性遺伝形式は、親、子、血縁者に発症がなく、同胞発症、両親が近親婚、祖父母の出身地が同じもののみとした。X 連鎖遺伝形式と判別不能の場合も対象に含めた。

表1 対象の内訳

方法: 患者血液からゲノム DNA を抽出。

LCA 原因遺伝子 16 種、*AIP11*、*CABP4*、*CEP290*、*CRB1*、*GUCY2D*、*IQCB1*、*KCNJ13*、*LCA5*、*LRAT*、*NMNAT1*、*RD3*、*RDH12*、*RPE65*、*RPGRIP1*、*SPATA7*、*TULP1*、ARRP 原因遺伝子 17 種、*ABCA4*、*ADAM9*、*CNGA1*、*CNGA3*、*CNGB1*、*CNGB3*、*DHDDS*、*EYS*、*FAM161A*、*IMPG2*、*MERTK*、*PDE6A*、*PDE6B*、*PDE6C*、*PDE6G*、*PRCD*、*RLBP1*、計 33 種のエクソン領域を、PCR 法にて増幅。翻訳領域

(509 配列、84389 塩基)をマイクロアレイにて塩基配列決定。Single nucleotide variants: SNV の機能予測ソフトウェア PolyPhen-2<sup>1)</sup>と SIFT<sup>2)</sup>、および dbSNP<sup>3)</sup>のデータベースと照合し、多型あるいは変異を調査した。

**(倫理面への配慮)**

厚生労働省ガイドラインに準拠し順天堂大学医学部倫理委員会の承認を得て施行した。

**C. 研究結果**

変異候補特定のための各解析段階での結果を示す(図1)。105例中12例に病因となり得る変異を認めた(表2)。

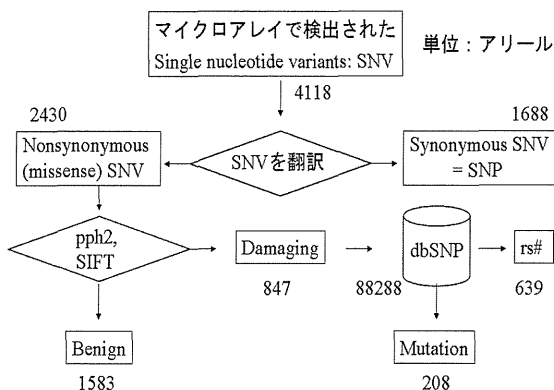


図1 解析のフローチャートと結果

遺伝子	変異	接合	発症年齢	pPh2*	SIFT*
<i>NMNAT1</i>	p.R237C	ホモ	0	PrD	NT
<i>RPGRIP1</i>	exon 17	欠失ホモ	0		
<i>PDE6B</i>	p.I535N	ホモ	5	PrD	NT
<i>RDH12</i>	p.V146E (rs116649873)	ホモ	6	PrD	NT
<i>EYS</i>	p.S1653KfsX2	ホモ	10		
<i>EYS</i>	p.I2188T	ホモ	20	PoD	T
<i>EYS</i>	p.C2899S p.Y2935X	複合ヘテロ	40	PrD	NT
<i>PDE6B</i>	p.L344P	ホモ	30	B	NT
<i>CEP290</i>	p.K632E p.K1930X	複合ヘテロ	55	B	T

\*PolyPhen-2 スコア :

PrD, probably damaging; PoD, possibly damaging; B, benign...

\*SIFT: NT, Not Tolerated; T, Tolerated

表2 変異を認めた症例

**D. 考察**

近年、日本人の視覚障害の原因として網膜色素変性をはじめとする遺伝性網膜疾患は、緑

内障、糖尿病網膜症に次ぎ第3位<sup>4)</sup>となり、厚生省班研究の全国疫学調査<sup>5)</sup>では約23000人の患者がいると推定されている。原因遺伝子は約140種、未知を含めると約190種<sup>6)</sup>と多岐にわたり、遺伝的異質性のある疾患である。中でもLeber先天盲は乳児期に発症する網膜色素変性の重症型で、日本人に頻度の高いARRPと同様に有効な治療法がない。2007年、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<sup>7,8)</sup>。遺伝子治療と遺伝子診断とは表裏一体の関係にあり、わが国でも網膜色素変性、とりわけ重症で頻度の高いARRPの遺伝子治療を目指すにあたり、変異の種類と頻度の概要を知る必要があると考えられる。

**E. 結論**

マイクロアレイを用いて、LCAを含むARRP105例における遺伝子変異の概要を示した。マイクロアレイは従来の直接塩基配列決定法と比較し、LCAを含むARRPの遺伝子診断に有用である可能性が示唆された。

**H. 参考文献**

1. Adzhubei IA, et al: A method and server for predicting damaging missense mutations. Nat Methods 7, 248-249, 2010.
2. Ng PC, et al: Accounting for human polymorphisms predicted to affect protein function. Genome Res 12, 436-446, 2002.
3. Sherry ST, et al: dbSNP-database for single nucleotide polymorphisms and other classes of minor genetic variation. Genome Res 9, 677-679, 1999
4. 中江公裕、他:日本人の視覚障害の原因15年前との比較. 医学のあゆみ 225、

691-693、2008.

5. 網膜脈絡膜・視神経萎縮症に関する研究 : 平成 15 年度総括・分担研究報告書 : 厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業. 厚生労働省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研究班. 2004.

6. Retinal Information Network : <http://www.sph.uth.tmc.edu/Retnet/sum-dis.htm>

7. Maguire AM, et al: Safety and efficacy of gene transfer for Leber's congenital amaurosis. N Engl J Med 21, 2240-2248, 2008.

8. Bainbridge JW, et al: Effect of gene therapy on visual function in Leber's congenital amaurosis. N Engl J Med 21, 2231-2239, 2008.



## 2. 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

石上智愛<sup>1)</sup>、和田裕子<sup>3)</sup>、高橋一朗<sup>4)</sup>、増井 徹<sup>4)</sup>、岩田 岳<sup>5)</sup>、  
万代道子<sup>1)2)</sup>、高橋政代<sup>1)2)6)</sup>

(<sup>1)</sup>理化学研究所、<sup>2)</sup>神戸市立医療センター中央市民病院、<sup>3)</sup>わだゆうこ眼科クリニック、

<sup>4)</sup>医薬基盤研究所、<sup>5)</sup>東京医療センター臨床研究センター、<sup>6)</sup>先端医療センター病院)

**研究要旨** われわれは全国から患者試料を収集し網羅的遺伝子解析を行う検査施設の一つを目指し、様々な面で遺伝子診断システムの構築に取り組んできた。このうち2つが完成し、実際に利用可能となったので報告する。一つは患者・医療機関向け遺伝子検査サービスである。もう一つは、研究サポートのための難病バンク試料収集システムである。理化学研究所は難病バンク試料収集システムを利用し試料バンク化を開始した。このシステムは他の研究機関も理化学研究所と同様に研究サポートに利用できる。また、理化学研究所がバンク化した試料DNAは難病バンクを通じて分譲され、研究に利用できる。

#### A. 研究目的

近年の遺伝子解析研究や次世代シーケンサーなどの解析法の発展により、網膜色素変性における遺伝子変異の検出率は飛躍的に上昇している。一方で、研究終了とともに検査の持続が困難になり、検査施設が減少していることは問題である。今回報告する遺伝子検査サービスはこの問題解決の一つの形である。また、検査・診断・新たな治療法の開発といった網膜変性疾患遺伝子診断の発展のためには、検査の継続だけでなく、遺伝情報と臨床情報の蓄積と解析が重要である。そこで多施設における遺伝子診断研究をサポートする難病バンク試料収集システムを構築した。

#### B. 研究方法

難病研究資源バンク(医薬基盤研究所)に、日

本全国の医療機関から患者試料を収集、バンク化するシステムを構築し、2012年10月より運用を開始した。先端医療センター病院を受診した網膜色素変性患者5名を対象にこのシステムのもと検体収集を行った。また、ONJに10の遺伝子検査を登録し、2012年9月より受託遺伝子解析サービスを開始した。「眼底白点症/RDH5 遺伝子」検査依頼4件を受け、すべての依頼を受領した。

#### (倫理面への配慮)

各施設の倫理委員会に計画書を提出し承認された。計画は厚労省「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」にのっとり、患者からのインフォームドコンセントを得て採血した。個人情報とは連結可能匿名化して厳重に管理している。

### C. 研究結果

構築したシステムのもと、病院、難病バンク、理研間で問題なく試料(血液、ゲノムDNA)と情報のやり取りが行われた。検査会社SRLが抽出したゲノムDNAの半分は難病バンクの試料データベースに登録された。理研は残りの半分のゲノムDNAを用いて網羅的遺伝子解析を行った。

受託した4件のONJ遺伝子検査は、いずれも検査ごとに定める結果報告期限内に検査を終え、結果報告書を作成し、ONJを通して依頼者に返却した。

### D. 考察

難病バンクへ登録した患者試料DNAは、最適な環境下で保管されるだけでなく、検体配送やDNA抽出にかかる手間と費用は難病バンクが負担する。一方、難病バンクはバンク事業を行い希望する研究者に患者試料DNAを分譲する。このように登録する側と分譲される側それぞれが難病バンクを研究サポートに用いることが可能である。

ONJ 遺伝子検査サービスは検査実費分を依頼者が負担する。これは研究室が研究費に左右されず遺伝子検査サービスを継続して提供するための一つのモデルである。

### E. 結論

今回構築した難病バンク試料収集システムと、すでに構築済みであり患者の詳細なフェノタイプを登録するための症例データベース(東京医療センター)を利用すると、多施設研究グループで試料や情報の共有を行うことが可能である。他にも稀少疾患研究における検体数の確保など様々な活用が考えられる。他の研究機関の参加とシステム利用を期待する。

ONJ 遺伝子検査は、解析対象遺伝子の追加など臨床の場で求められる遺伝子検査のニーズを反映させることで、より多くの医療機関の利用を促す。

### 3. 網膜色素変性に対する 9-シス-β カロテン高含有サプリメント

#### 摂取の影響の検討

加藤亜紀<sup>1)</sup>、安川 力<sup>1)</sup>、萩原 章<sup>2)</sup>、藤巻拓郎<sup>3)</sup>、村上 晶<sup>3)</sup>、山本修一<sup>2)</sup>、小椋祐一郎<sup>1)</sup>  
(<sup>1)</sup>名古屋市大、<sup>2)</sup>千葉大、<sup>3)</sup>順天大)

**研究要旨** 本研究では網膜色素変性患者 30 名に 9-シスβ-カロテン含有サプリメント(ドナリエラ<sup>®</sup>)を3ヶ月間摂取してもらい、視機能回復効果を調査した。摂取前後で検査可能であった 30 例 57 眼において、平均 LogMAR 視力と MD 値は改善したが GP、ERG の b 波振幅は、有意差は認めなかった。網膜色素変性患者にドナリエラ摂取は有効である可能性があるが慎重な評価が必要である。

#### A. 研究目的

11-シス-レチナールの異性体である 9-シス-レチナールとその前駆体である 9-シス-β-カロテンが、眼底白点症および網膜色素変性に有効という報告がある<sup>1,2)</sup>。本研究では網膜色素変性に対する 9-シス-β-カロテン含有サプリメント摂取による視機能回復効果を調査した。

#### B. 研究方法

各施設の倫理委員会の承認のもと、同意が得られた網膜色素変性患者 30 名に 9-シス-β-カロテン含有サプリメント(ドナリエラ<sup>®</sup>)を3ヶ月間摂取してもらった。矯正視力、Goldmann 視野(GP)における V-4 イソプターでの視野から I-4 イソプターでの暗点を差し引いた面積を画像上で計算したピクセル数、ハンフリー静的視野計の MD 値、中心感度、ERG の b 波振幅に関して、摂取前と摂取 3 ヶ月後を比較した。

#### (倫理面への配慮)

個人の識別が不可能な状態で行われており、個人情報保護法に定める定義の個人情報に

該当しない。

#### C. 研究結果

男性 13 名、女性 17 名で、平均年齢は 56.4 ± 14.1 歳であった。摂取前後で検査可能であった 30 例 57 眼において、平均 LogMAR 視力は 0.44 から 0.41 に改善した(p=0.02) (図 1)。MD 値は -25.4 dB から -24.9dB に改善し(p=0.02) (図 2)、優位眼の中心感度は 15.7 dB から 16.9dB に改善した(p=0.02) (図 3)。

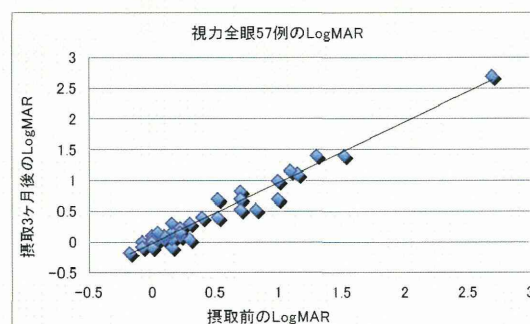


図 1. 摂取前後の視力変化

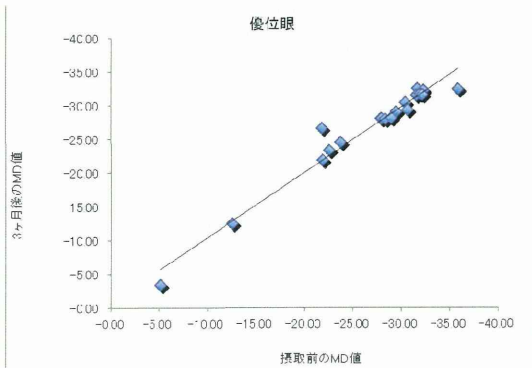


図 2. 摂取前後のハンフリー視野

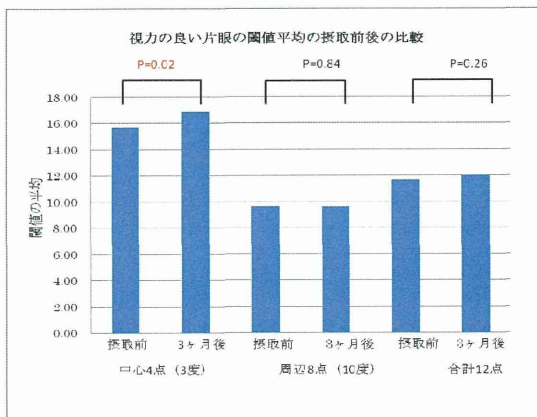


図 3. 摂取前後のハンフリー中心視野

GP では 208,271 ピクセルから 221,846 ピクセルに変化したが無差は認めず ( $p=0.06$ ) (図 4)、b 波振幅は 227.6 $\mu\text{V}$  から 209.6  $\mu\text{V}$  へやや減少したが有意差は認めなかった ( $p=0.63$ ) (図 5)。

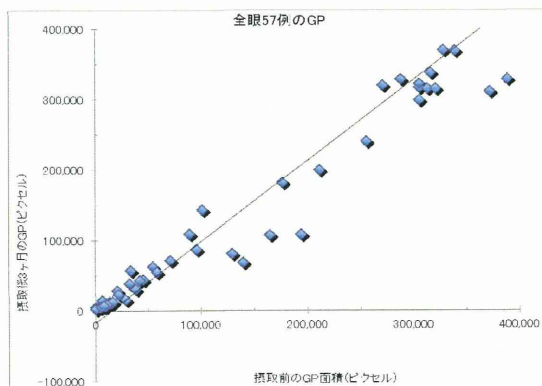


図 4. 摂取前後のゴールドマン視野

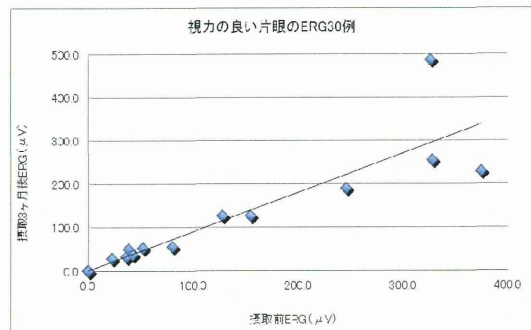


図 5. 摂取前後の ERG b 波振幅

#### D. 考察

網膜視細胞外節—網膜色素上皮存在するレチノイドサイクルの異常は網膜色素変性を生じうる。ドナリエラバーダウィルに含まれる 9-シス- $\beta$ -カロテンは経口接種によって、体内に取り込まれ、肝臓で 9-シス-レチノール となりこれが、レチノイドサイクルに影響を与えられている。ドナリエラバーダウィルに含まれる 9-シス- $\beta$ -カロテンは経口接種によって、体内に取り込まれ、肝臓で 9-シス-レチノール となりこれが、レチノイドサイクルに影響を与えられている。Rotenstreich ら<sup>1)</sup>は RDH5 の異常によって生じる白点状眼底において 9-シス-レチノールの摂取でハンフリー視野の MD 値と ERG の b 波振幅が摂取前より有意に改善したと報告している。また Maeda ら<sup>2)</sup>は RDH5/RDH11 ノックアウトモデル(白点状眼底モデルマウス)において、9-シス-レチノールを投与したところ、錐体、桿体、の機能改善が得られたと報告している。一方で、Sasamoto ら<sup>3)</sup>は加齢黄斑変性、中心性漿液性脈絡膜症の傍眼、正常眼の症例において、6mg のルテインを 12 か月摂取した結果、コントラスト感度と網膜感度の有意な改善を認めたと報告しており、レチノイドサイクルに直接関与しないサプリメントでも網膜感度を上昇させる作用があることを示唆している。

## E. 結論

網膜色素変性患者に対して、ドナリエラ 3 ヶ月摂取により、両眼矯正視力とハンフリーMD 値と中心 4 点感度は有意に改善し、GP の視野も改善傾向を認めた。一方、ERG の b 波振幅は有意差は認めないものの低下した。

網膜色素変性患者にドナリエラ摂取は有効である可能性があるが慎重な評価が必要である。

## F. 研究発表

### 2. 学会発表

1. 安川力、他：網膜色素変性に対する 9-シス-βカロチン高含有サプリメント摂取の影響の検討第 66 回日本臨床眼科学会、京都、2012.

## H. 参考文献

1. Rotenstreich Y, et al: Treatment of a retinal dystrophy, fundus albipunctatus, with oral 9-cis-β-carotene. Br J Ophthalmol 94, 616-621, 2010.
2. Maeda A, et al: Improvement in rod and cone function in mouse model of fundus albipunctatus after pharmacologic treatment with 9-cis-retinal. Invest Ophthalmol Vis Sci 47, 4540-4546, 2006.
3. Sasamoto Y, et al: Effect of 1-year lutein supplementation on macular pigment optical density and visual function. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 249, 1847-1854, 2011.

## 4. 網膜色素変性に対する UF-021 投与終了 2 年後の視機能変化

中村洋介、萩原 章、熊谷 健、山本修一  
(千葉大)

**研究要旨** 網膜色素変性(RP)の 22 名 22 眼を対象として、24 週間の 0.15%ウプロロトン点眼(UF-021) 治験<sup>1)</sup> 終了 2 年後の視機能変化を検討した。対象症例は、治験時に無作為二重盲検により、1 回 2 滴点眼の高濃度群(H)、1 回 1 滴点眼の低濃度群(L)、プラセボ群(P)に割り付けられていた。検討項目は、治験開始時と治験終了 120 週後のハンフリー視野(HFA)10-2 の中心 4 点平均網膜感度と mean deviation(MD 値)および矯正視力である。平均網膜感度および MD 値はいずれも統計学的有意差はみられなかったが、L 群と P 群では悪化傾向を示すものの、H 群では治験終了 2 年を経ても、治験開始時の網膜感度を維持していた。また矯正視力は全例で不変であった。治験ではすでに UF-021 による視機能改善効果が確認されている。今回の検討では、UF-021 投与終了後 2 年を経ても H 群では治験開始時の網膜感度を維持しており、UF-021 による視機能維持効果が、長期に持続している可能性が示唆された。

### A. 研究目的

我々はすでに UF-021 の治験において、RP を対象として UF-021 が用量反応性に網膜中心部感度を改善することを報告<sup>1)</sup>している。今回 UF-021 投与終了 2 年後の視機能変化を報告する。

### B. 研究方法

対象は、千葉大学病院眼科において、24 週間の UF-021 治験を行い、その後も経過観察可能であった RP 患者 22 名 22 眼である。治験では無作為二重盲検により、1 回 2 滴点眼の高濃度群(H)6 眼、1 回 1 滴点眼の低濃度群(L)8 眼、プラセボ群(P)8 眼に割り付けられていた。治験終了後は全例で投薬は中止されている。治験開始時と治験終了 120 週後の HFA10-2 の中心 4 点平均網膜感度と MD 値および矯正視力について検討した。

### (倫理面への配慮)

「臨床研究に関する倫理指針」に準拠し、千葉大学倫理委員会の承認を得た。個人情報保護のため、研究データは匿名化し解析に供した。

### C. 研究結果

治験開始時に対する治験終了 120 週後の中心網膜感度の平均変化値(dB)は、H 群  $1.03 \pm 2.34$ 、L 群  $-1.30 \pm 2.08$ 、P 群  $-0.78 \pm 1.74$  であり、MD 値の変化は、H 群  $-0.36 \pm 1.67$ 、L 群  $-1.50 \pm 2.15$ 、P 群  $-1.23 \pm 1.81$  であった。いずれも統計学的有意差はみられなかったが、L 群と P 群では悪化傾向を示すものの、H 群では治験終了 2 年を経ても、治験開始時の網膜感度を維持していた。また矯正視力は全例で不変であった。

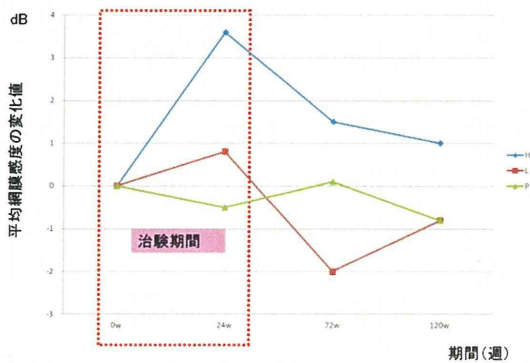


図1 平均網膜感度の変化値の推移

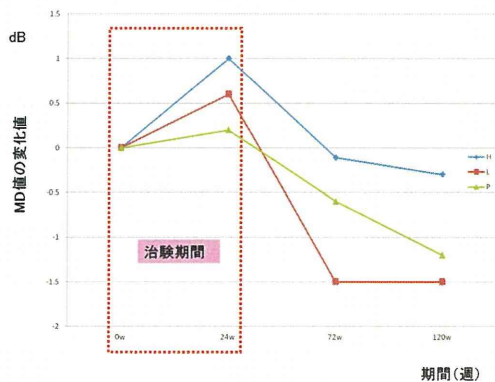


図2 MD値の変化値の推移

#### D. 考察

治験ではUF-021が用量反応性に網膜感度を改善した。しかし、UF-021の投与終了後、網膜感度は悪化に転じたことにより、UF-021による視機能改善効果が証明された。投与終了後2年を経てもH群では治験開始時の網膜感度を維持しており、このことはUF-021による神経保護作用により、UF-021による視機能維持効果が長期に持続していると推測した。

#### E. 結論

UF-021は投与終了後2年を経ても治験開始時の網膜感度を維持しており、UF-021による視機能維持効果が長期に持続している可能性が示唆された。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Yamamoto S, et al: Topical isopropyl unoprostone for retinitis pigmentosa: microperimetric results of the phase 2 clinical Study. Ophthalmol Ther 1, 1-16, 2012.

##### 2. 学会発表

1. Sugawara T, et al: Humphrey Perimetry 10-2(japicCTI-090748) assessment of retinitis pigmentosa patients in phase 2 study of UF-021. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Fort Lauderdale, Florida, 2011.

2. Kumagai K, et al: Retinal sensitivity analysis using HFA and MP1 after UF-021 clinical trial for Retinitis Pigmentosa. Asia-Pacific Academy of Ophthalmology (APAO), Busan, Korea, 2012.

#### H. 参考文献

1. Yamamoto S, et al: Topical isopropyl unoprostone for retinitis pigmentosa: microperimetric results of the phase 2 clinical study. Ophthalmol Ther 1, 1-16, 2012.

## 5. 腫瘍随伴網膜症における ON 型双極細胞に対する

### 自己抗体の作用機序

上野真治、西口康二、寺崎浩子  
(名古屋大学)

**研究要旨** ON 型双極細胞に発現している TRPM1 (transient receptor potential 1) に対する自己抗体の発現している患者の血清が網膜にどのような作用をするかを確認するため、血清をマウス硝子体内に投与し、機能的、解剖学的にどのような変化を生じるかを検討した。その結果、弧の血清はマウス網膜の ON 型双極細胞にアポトーシスを起こし患者と同じような網膜機能を低下させることが分かった今回患者の病態の確認と同時に世界で初めて双極細胞の特異的な変性モデルを作成するのに成功した。

#### A. 研究目的

我々は、急激な夜盲を主訴に受診した患者で ON 型双極細胞の機能障害を生じた腫瘍随伴網膜症の患者を経験した。この患者の自己抗体の検索で ON 型双極細胞に発現している TRPM1 (transient receptor potential 1) に対する自己抗体の発現を確認した。今回の目的は、この患者血清が ON 型双極細胞に及ぼす影響について検討することである。

#### B. 研究方法

生後 7-9 週齢の C57BL/6 マウス 30 匹使用。患者と正常者の血清をそれぞれマウス硝子体内に投与し、その変化を網膜電図、光学的顕微鏡、電子顕微鏡を用いて検討した。観察期間は投与後 3 時間から 6 カ月とし、その期間の変化を多面的に検討した。動物の扱いに関しては The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO) の規定に従った。

#### C. 研究結果

正常者の血清を投与した眼球では明らかな網膜電図の異常は見られなかったのに対し、患者血清投与したものでは投与後 3 時間から陰性型を示し、ON 型双極細胞の機能不全が生じていた。陰性型の波形はその後 6 か月の経過観察期間に回復することはなかった。

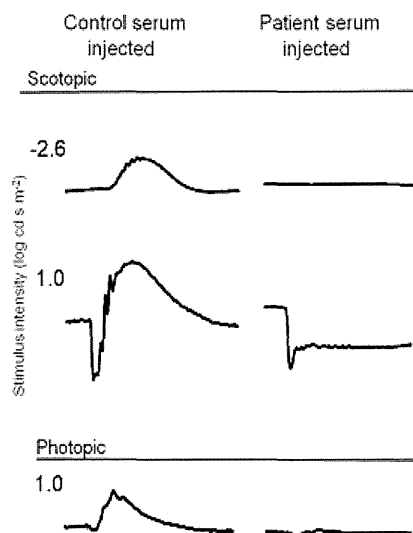


図1 患者血清投与後の ERG の変化



組織学的検討では患者血清投与後 5 時間で内顆粒層に核の濃染を認めた。電子顕微鏡でも内顆粒層に核のアポトーシス所見を認め、視細胞と ON 型双極細胞のシナプスの変性がみられた。

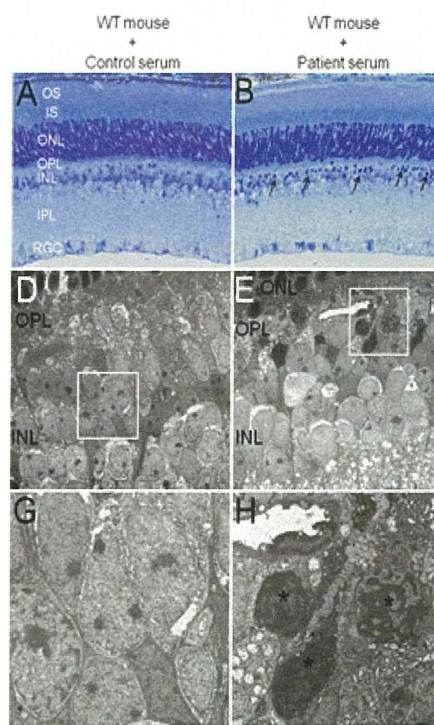


図2 患者血清投与後に内顆粒層にアポトーシスが見られた。

血清投与後 24 時間後には、ON 型双極細胞のマーカである PKC  $\alpha$  の染色が消失し、ON 型双極細胞が消失していることが推測された。患者血清投与 3 か月後の光学顕微鏡による所見は明らかな網膜の細胞配列の異常はみられなかったが、内顆粒層の厚みが減少し PKC  $\alpha$  の染色は消失したままであった。

#### D. 考察

今回の結果から、患者血清をマウスに投与すると、投与後短時間に ON 型双極細胞の細胞死を起こし機能不全を生じることが分かった。また一度 ON 型双極細胞が変性すると再生す

ることはなく、機能不全が永続することが予想された。患者血清を投与したマウス眼球の網膜電図は患者と同様の ON 型双極細胞の機能不全を示す網膜電図であった。このことから、患者血清をマウスに投与することにより生じた変化が、患者網膜に生じていると考えられた。

#### E. 結論

抗 TRPM1 抗体を持つ患者血清は ON 型双極細胞に変性を生じることが分かった。またこのマウスは世界で初めての ON 型双極細胞の変性モデルである。

#### F. 研究発表

##### 2. 学会発表

上野真治、他：腫瘍随伴網膜症における抗 TRPM1 自己抗体の双極細胞機能障害の作用機序。第116回日本眼科学会総会、東京都 2012年。

## 6. 視神経脊髄炎に対する抗インターロイキン 6 受容体抗体療法

荒木 学<sup>1)</sup>、荒浪利昌<sup>2)</sup>、松岡貴子<sup>2)</sup>、中村雅一<sup>2)</sup>、三宅幸子<sup>2)</sup>、山村 隆<sup>2)</sup>

(<sup>1)</sup>国立精神・神経医療研究センター病院神経内科、<sup>2)</sup>国立精神・神経医療研究センター)

**研究要旨** [目的] 視神経脊髄炎 (neuromyelitis optica, NMO) は、視力低下や視野欠損、感覚・運動障害などの症状が、再発と寛解を繰り返す慢性炎症性中枢神経疾患である。患者末梢血中の自己抗体 (抗アクアポリン 4 抗体、抗 AQP4 抗体) が発見されて以来、多発性硬化症 (multiple sclerosis, MS) とは異なる自己免疫病態であると考えられている。我々は NMO 末梢血において、MS や健常者と比較して、未熟形質細胞 (プラズマブラスト、PB) が有意に増加しており、末梢血中の主要な抗 AQP4 抗体産生細胞であること、さらにインターロイキン 6 (IL-6) が PB の生存を促進することを報告した (*PNAS*, 2011)。近年 NMO 患者髄液および血清における IL-6 の増加が報告されていることから、難治性 NMO 患者における抗 IL-6 受容体抗体 (トシリズマブ) 療法の臨床研究を立案した。

[対象] 抗 AQP4 抗体陽性であり、通常の NMO 治療に抵抗性の難治性 NMO 患者 1 名。

[方法] トシリズマブを 4 週毎に 6 ヶ月間静脈内投与した。投与開始前および各回投与前に神経学的診察及び採血を行った。末梢血より単核球細胞 (PBMC) を分離し、フローサイトメリーにより、末梢血中の PB の割合、および血清中の抗 AQP4 抗体価を測定した。

[結果] 神経性疼痛の数値的評価スケールおよび総合障害度スケール (Expanded Disability Status Scale, EDSS) はトシリズマブ投与により、徐々に改善した。また、トシリズマブ投与後、末梢血中の PB の割合と抗 AQP4 抗体価の減少が認められた。

[結論] トシリズマブは NMO に対して有効な新規治療法となる可能性がある。 (*Modern Rheumatol.* 2012)。

### A. 研究目的

視神経脊髄炎 (neuromyelitis optica, NMO) は、視力低下や視野欠損、感覚・運動障害などの症状が、再発と寛解を繰り返す慢性炎症性中枢神経疾患である。患者は殆どが女性で、発症年齢は 30-35 歳であると言われている。病理学的には、視神経と脊髄に IgG 抗体と補体の沈着、アストロサイトの脱落および脱髄を伴う炎症病巣が多発する。以前は多発性硬化症

(MS) の一病型とも考えられていたが、患者末梢血中の自己抗体 (抗アクアポリン 4 抗体、抗 AQP4 抗体) が発見されて以来、MS とは異なる自己免疫病態であると考えられている。経口ステロイド療法が NMO の標準的治療であるが、病態に即した特異的治療法が希求されている。我々は NMO 末梢血において、MS や健常者と比較して、未熟形質細胞 (プラズマブラスト、PB) が有意に増加しており、末梢血中の主要

な抗 AQP4 抗体産生細胞であること、さらにインターロイキン 6 (IL-6) が PB の生存を促進することを報告した (*PNAS*, 2011)。近年 NMO 患者髄液および血清における IL-6 の増加が報告されていることから、難治性 NMO 患者における抗 IL-6 受容体抗体 (トシリズマブ) 療法の臨床研究を立案した。

## B. 研究方法

対象は、抗 AQP4 抗体陽性であり、通常の NMO 治療に抵抗性の難治性 NMO 患者 1 名。関節リウマチにおける投与法に従い、8mg/kg 体重のトシリズマブを 4 週毎に 6 ヶ月間静脈内投与した。投与開始前および各回投与前に神経学的診察及び採血を行った。末梢血より単核球細胞 (PBMC) を分離し、フローサイトメトリーにより、末梢血中の PB の割合、および血清中の抗 AQP4 抗体価を測定した。

### (倫理面への配慮)

本研究においては、NCNP の倫理委員会の承認を得た上で、全ての患者から書面によるインフォームドコンセントを得た上で採血を行った。また、患者から得られた情報は当研究部でのみ使用し、厳重に保管されている。

## C. 研究結果

神経性疼痛の数値的評価スケールおよび総合障害度スケール (Expanded Disability Status Scale, EDSS) はトシリズマブ投与により、徐々に改善した。特に神経性疼痛の数値的評価スケールは、トシリズマブ数回投与後よりゼロとなり、疼痛が消失したと考えられる。また、トシリズマブ投与後、末梢血中の PB の割合と抗 AQP4 抗体価の減少が認められた。重篤な有害事象は認められなかった。

## D. 考察

トシリズマブ投与により末梢血プラズマブラストの割合が著明に減少したことから、プラズマブラストの生体内での生存に IL-6 が重要である可能性が示唆された。

## E. 結論

トシリズマブは NMO に対して有効な新規治療法となる可能性がある。 (*Modern Rheumatol.* 2012)。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Araki M, et al: Clinical improvement in a patient with neuromyelitis optica following therapy with the anti-IL-6 receptor monoclonal antibody tocilizumab. *Mod Rheumatol.* Epub ahead of print, 2012

### 2. 学会発表

1. Araki M, et al: Clinical efficacy of anti-IL-6 receptor monoclonal antibody tocilizumab in three patients with neuromyelitis optica. 28<sup>th</sup> Congress of the European Committee for treatment and research in multiple sclerosis. Lyon, France, 2012.

2. 荒木学、他: Tocilizumab が著効した Neuromyelitis Optica の 1 例. 第 24 回日本神経免疫学会学術集会、軽井沢、2012.

## 7. わが国における視覚障害の原因と現状

佐藤里奈<sup>1)</sup>、安川 力<sup>1)</sup>、加藤亜紀<sup>1)</sup>、大森豊緑<sup>2)</sup>、石田 晋<sup>3)</sup>、  
石橋達朗<sup>4)</sup>、小椋祐一郎<sup>1)</sup>

(<sup>1)</sup>名古屋市大、<sup>2)</sup>名古屋市大・医療健康政策科学、<sup>3)</sup>北海道大、<sup>4)</sup>九州大)

**研究要旨** 視覚障害認定者数を調査し、視覚障害の原因や割合の変化を把握し、視覚障害の対策をたてる為、無作為に抽出した7自治体において、平成19年～21年の3年間に新規に視覚障害認定を受けた4852名について調査を行った。原因順位と割合は、1位が緑内障で21.0%、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。前回調査の順位と変化はなく、緑内障の割合にも大きな変化がみられなかった。糖尿病網膜症の割合が減少しているのは、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。

### A. 研究目的

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。

### B. 研究方法

全国を7ブロックに分け、1ブロックから1県あるいは1都市の自治体を無作為に抽出した。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4852名について調査した。

#### (倫理面への配慮)

個人の識別が不可能な状態で行われており、個人情報保護法に定める定義の個人情報に該当しない。

### C. 研究結果

視覚障害の原因の第1位は緑内障21.0%であった。2位は糖尿病網膜症15.6%、3位は網膜

色素変性12.0%、4位は黄斑変性9.5%、5位は網膜・脈絡膜萎縮8.4%であった(図1)。

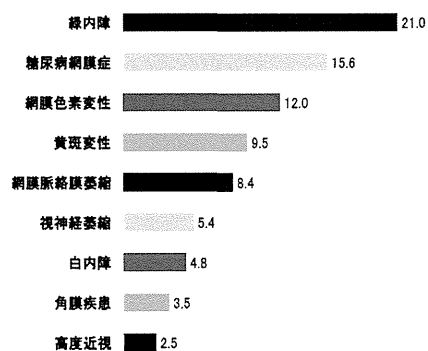


図1. 視覚障害の原因順位と割合(%)

今回の検討と過去の検討を比較すると、今回と前回の上位の順位には変化がなかった。やはり緑内障が1位で約20%を超えた。生活習慣病である糖尿病の人口は増加傾向にあるが、糖尿病網膜症の割合が減少しているのは、受診率の向上や治療、技術の進歩に伴って改善がみられたためではないかと考えられる。網膜色素変性や、黄斑変性の割合には大きな変