

201324038A

厚生労働科学研究費補助金
(難治性疾患等克服研究事業(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 25 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 26(2014)年 3 月

厚生労働科学研究費補助金
(難治性疾患等克服研究事業(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 25 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 26(2014)年 3 月

目 次

I. 班員構成	1
II. 総括研究報告	3
III. 分担研究報告	
1. ヒト iPS 由来網膜色素上皮細胞の視細胞保護効果	17
孫 嘉楠、万代道子、高橋政代(理化学研究所)	
2. 視細胞移植のための中型モデル動物の作成	19
白井博志 ¹⁾ 、万代道子 ¹⁾ 、寺崎浩子 ²⁾ 、高橋政代 ¹⁾	
(¹⁾ 理化学研究所、 ²⁾ 名古屋大)	
3. マウス iPS 細胞より作製した人工 3 次元網膜組織での視細胞変性の誘導法の確立	21
大西暁士、伊藤晋一郎、伊良波諭、高橋政代(理化学研究所)	
4. 低濃度終末糖化産物による網膜神経細胞の生存・再生への影響	24
忍足俊幸、Bikbova Guzel、山本修一(千葉大)	
5. 進行期網膜変性モデルマウスにおける VCP の ATPase 阻害剤の神経保護効果の検討	28
長谷川智子、池田華子、村岡勇貴、垣塚 彰、辻川明孝、吉村長久(京都大)	
6. 治療後に網膜色素上皮裂孔を生じた加齢黄斑変性罹患眼の特徴	30
松原 央、宮田良平、小林真希、松井良諭、近藤峰生(三重大)	
7. 滲出型加齢黄斑変性患者における抗 VEGF 薬の視細胞への影響:AO-SLO による短期評価	33
中尾新太郎、大島裕司、吉田茂生、塩瀬聡美、安田美穂、狩野久美子、石橋達朗	
(九州大)	

8. 滲出型加齢黄斑変性治療後の地図状萎縮に対するウノプロストン 0.15%点眼液の有効性
35
 白神千恵子¹⁾、藤原篤之²⁾、山下彩奈¹⁾、小野 葵¹⁾、小林 守¹⁾、真鍋紗季¹⁾
 森田美沙子¹⁾、泉端佐枝子¹⁾、三崎佳奈¹⁾、馬場哲也¹⁾、森實祐基²⁾、白神史雄²⁾
 (1)香川大、2)岡山大)
9. 徐放基材としての自己集合性ペプチドゲル:Bevacizumab 封入率と徐放量37
 坂口裕和、上杉晃司、西田幸二(大阪大)
10. 脈絡膜線維血管増殖組織におけるペリオスチンの役割39
 中間崇仁¹⁾、吉田茂生¹⁾、安里 良¹⁾、石川桂二郎¹⁾、喜多岳志¹⁾
 中尾新太郎¹⁾、佐々由季生¹⁾²⁾、大島裕司¹⁾、江内田寛¹⁾³⁾
 工藤 明³⁾、松田 彰⁴⁾、野崎実穂⁵⁾、小椋祐一郎⁵⁾、石橋達朗¹⁾
 (1)九州大、2)福岡大・筑紫、3)佐賀大、4)東京工業大、5)順天大、6)名古屋市大)
11. 組織プラスミノゲン活性化因子による脈絡膜新生血管抑制41
 大曾根大典、水谷武史、野崎実穂、加藤亜紀、安川 力、小椋祐一郎
 (名古屋市大)
12. 典型加齢黄斑変性とポリープ状脈絡膜血管症に対するラニビズマブ単独療法の2年成績
44
 畑 匡侑、辻川明孝、山城健児、三宅正裕、吉川宗光、高橋綾子
 黒田能匡、赤木由美子、上田奈央子、中西秀雄、大石明生
 田村 寛、吉村長久(京都大)
13. 2群に分類したポリープ状脈絡膜血管症のアフリベルセプト硝子体内投与の3か月の効果
46
 森隆三郎、田中公二、春山美穂、篠島亜里、Ferdiriva Hamzah、北川順久
 川村昭之、湯澤美都子(日本大)
14. ポリープ状脈絡膜血管症に対するアフリベルセプト投与の短期成績
 —ポリープ病巣への効果を中心に—49
 細川海音¹⁾、山下彩奈²⁾、白神千恵子²⁾、森實祐基¹⁾、小野 葵²⁾、小林 守²⁾
 白瀧ゆかり²⁾、木村修平¹⁾、塩出雄亮¹⁾、河田哲宏¹⁾、細木三佳¹⁾、白神史雄¹⁾
 (1)岡山大、2)香川大)

15. 再発性ポリープ状脈絡膜血管症における脈絡膜の変化 52
飯田知弘¹⁾、丸子一朗¹⁾、小山田紘²⁾、菅野幸紀²⁾、小島 彰²⁾、石龍鉄樹²⁾
(¹⁾女子医大、²⁾福島県医大)
16. ポリープ状脈絡膜血管症における高侵達 OCT による en face 画像 55
佐柳香織¹⁾、五味 文²⁾、沢 美喜¹⁾、原千佳子¹⁾、秋葉正博³⁾、西田幸二¹⁾
(¹⁾大阪大、²⁾住友病院、³⁾株式会社トプコン)
17. ポリープ状脈絡膜血管症による黄斑部網膜下出血に対する組織プラスミノーゲンアクチベ
ータの網膜下注入による血腫移動術の成績 58
白潟ゆかり¹⁾、福田恒輝¹⁾、藤田智純¹⁾、白神千恵子¹⁾、山下彩奈¹⁾
小野 葵¹⁾、小林 守¹⁾、木村修平²⁾、森實祐基²⁾、白神史雄²⁾
(¹⁾香川大、²⁾岡山大)
18. ラニビズマブ治療に抵抗する滲出型加齢黄斑変性へのアフリベルセプト硝子体内注射
..... 61
加藤亜紀、安川 力、鈴木克也、藤野晋平、吉田宗徳、小椋祐一郎
(名古屋市大)
19. OCT 所見から見た加齢黄斑変性の ranibizumab 無効・耐性例の aflibercept への切り替え
成績 64
田中公二、森隆三郎、湯澤美都子(日本大)
20. 加齢黄斑変性に対する aflibercept 硝子体内投与の 6 か月成績 66
尾辻 剛、小池直子、正健一郎、津村晶子、津田メイ、高橋寛二
(関西医大)
21. 滲出型加齢黄斑変性の網膜色素上皮病変に対するアフリベルセプトの効果 69
大中誠之、永井由巳、有澤章子、平本裕盛、三木克朗、木村元貴
尾崎絢子、高橋寛二(関西医大)
22. 加齢黄斑変性の黄斑外部の脈絡膜厚および前駆病変所見 73
野村陽子、小畑 亮、柳 靖雄(東京大)

23. ヒスタミン H4 受容体をターゲットとした脈絡膜新生血管抑制の検討……………75
 兼子裕規¹⁾、叶 福相¹⁾、伊島 亮¹⁾、加地 秀¹⁾、加藤省一²⁾
 長屋匡俊¹⁾、樋口暁子¹⁾、寺崎浩子¹⁾
 (¹⁾名古屋大、²⁾名古屋大・病理部)
24. 近視性中心窩分離症に対する硝子体手術後の網膜光干渉断層計像と視力との関連
 ……………77
 生野恭司、藤本聡子、城友香理、浅井智子、佐柳香織、西田幸二
 (大阪大)
25. 健常若年成人における 64 分割網膜厚と眼軸長および身長との関係……………79
 山下高明、田中 実、喜井裕哉、中尾久美子、坂本泰二(鹿児島大)
26. 紋理状眼底の定量解析および脈絡膜厚との関係……………82
 芳原直也、山下高明、田中 実、喜井裕哉、中尾久美子、坂本泰二
 (鹿児島大)
27. ほ乳類中枢神経系の疾患、加齢モデルにおける、ミトコンドリア軸索輸送 *in vivo* イメージン
 グ……………84
 瀧原祐史¹⁾²⁾、稲谷 大¹⁾²⁾、江藤 圭³⁾、井上俊洋²⁾、岩尾圭一郎²⁾
 高村佳弘¹⁾、坂本浩隆⁴⁾、佐藤慧太⁴⁾、坂本竜哉⁴⁾、鍋倉淳一³⁾
 谷原秀信²⁾(¹⁾福井大、²⁾熊本大、³⁾生理学研究所、⁴⁾岡山大)
28. 視神経脊髄炎におけるヒト化抗 IL-6 受容体抗体トシリズマブの免疫調節効果について
 ……………87
 山村 隆¹⁾²⁾、松岡貴子¹⁾、千葉麻子¹⁾³⁾、荒浪利昌¹⁾、荒木 学²⁾
 中村雅一¹⁾、佐藤和貴郎¹⁾、三宅幸子¹⁾³⁾
 (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多発性硬化症センター、
³⁾順天大・免疫学)
29. SD-OCT 加算枚数変更によるノイズ低減効果の検討……………89
 白澤 誠、寺崎寛人、山下高明、坂本泰二(鹿児島大)

30. オカルト黄斑ジストロフィの補償光学眼底カメラによる黄斑所見……………91
 中西絢美¹⁾、上野真治¹⁾、川野健一¹⁾、伊藤逸毅¹⁾、角田和繁²⁾、赤堀正和²⁾
 岩田 岳²⁾、寺崎浩子¹⁾(¹⁾名古屋大、²⁾東京医療センター)
31. *NMNA1* 遺伝子変異を認めた Leber 先天黒内障の 2 例……………93
 村上 晶¹⁾、藤巻拓郎¹⁾、柳川 愛¹⁾、新井英介¹⁾、川守田珠里²⁾
 藤木慶子¹⁾、近藤峰生³⁾、Frauke Coppieters⁴⁾、Elfride De Baere⁴⁾
 (¹⁾順天大、²⁾日本赤十字医療センター、³⁾三重大、⁴⁾Center for Medical Genetics Ghent, Belgium)
32. Leber 先天黒内障を含む常染色体劣性網膜色素変性マイクロアレイにおける Quality
 Score Threshold……………97
 藤巻拓郎、柳川 愛、藤木慶子、村上 晶(順天大)
33. 網膜色素変性における白内障術後視機能の予測…………… 100
 中村洋介、萩原 章、熊谷 健、山本修一(千葉大)
34. 網膜色素変性に対する視細胞保護遺伝子治療臨床研究の進捗状況…………… 102
 池田康博、村上祐介、吉田倫子、中武俊二、立花 崇、福本嘉一
 藤原康太、納富昭司、久富智朗、宮崎勝徳、江内田寛、石橋達朗
 (九州大)
35. 急性潜在性帯状網膜外層症の改善過程における脈絡膜循環変化…………… 104
 齋藤理幸、齋藤 航、橋本勇希、吉沢史子、新明康弘、野田航介、石田 晋
 (北海道大)
36. 視神経乳頭部及び脈絡膜血流の日内変動とそれに関わる因子について…………… 107
 岩瀬 剛、山本健太郎、羅 英明、北川周太、伊藤逸毅、寺崎浩子
 (名古屋大)
37. 網膜脈絡膜疾患に対するフルオレセインナトリウム経口投与による超広角眼底造影検査
 の有用性…………… 110
 杉本昌彦、松原 央、宮田良平、松井良愉、一尾敦史、近藤峰生(三重大)

38. 滲出型加齢黄斑変性における眼底周辺部自発蛍光の検討	112
吉田宗徳、西脇晶子、安川 力、加藤亜紀、臼井英晶、小椋祐一郎 (名古屋市大)	
39. 遺伝性網膜変性疾患の広角眼底自発蛍光～同胞間の類似性についての検討～	115
古谷友香、荻野 颯、大石明生、後藤謙元、牧山由希子、大石真秀 栗本雅史、辻川明孝、吉村長久(京都大)	
40. 強度近視眼の眼球形状変化による視野測定への影響	118
佐藤友光子、森山無価、所 敬、大野京子(東京医歯大)	
41. 後部強膜ぶどう腫の新分類の提案	120
大野京子、森山無価(東京医歯大)	
42. 瞳孔面積が散瞳不要の新型小型フリッカ ERG 装置 (RETeval™) に及ぼす影響	122
加藤久美子、近藤峰生、松井良諭、杉本昌彦、松原 央(三重大)	
43. On/Off 機能を備えた近赤外蛍光プローブによる網膜低酸素イメージングの開発	
福田慎一、大鹿哲郎(筑波大)	
44. 遷延性中心性漿液性脈絡網膜症 (CSC) に対する時間短縮 reduced fluence 光線力学的療法 (RF-PDT) 後の治療効果	125
横内裕敬、北橋正康、馬場隆之、山本修一(千葉大)	
45. 慢性中心性漿液性脈絡網膜症に対する半量光線力学療法 1 年後の治療成績	129
藤田京子、湯澤美都子(日本大)	
46. Swept-source 光干渉断層計を用いた脈絡膜透過性亢進所見の観察	131
小畑 亮、野村陽子、譚 雪、東 恵子、井上達也、柳 靖雄(東京大)	
IV. 関連業績一覧	135

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	
	大 野 京 子	東京医科歯科大学医学部眼科	准 教 授	
	坂 本 泰 二	鹿児島大学医学部眼科	教 授	
	白 神 史 雄	岡山大学医学部眼科	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	プロジェクトリーダー	
	辻 川 明 孝	京都大学医学部眼科	講 師	
	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	
研 究 協 力 者	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	
	飯 田 知 弘	東京女子医科大学眼科	教 授	
	石 田 晋	北海道大学医学部眼科	教 授	
	近 藤 峰 生	三重大学医学部眼科	教 授	
事 務 局	柳 靖 雄	東京大学医学部眼科	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	
	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 e-mail retina@med.nagoya-cu.ac.jp	准 教 授	
	経 理 事 務 担 当 者	渡 邊 麗	名古屋市立大学医学部事務室 TEL 052-853-8078 FAX 052-842-0863 e-mail watanabe-urara@sec.nagoya-cu.ac.jp	

Ⅱ. 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金
(難治性疾患等克服研究事業(難治性疾患克服研究事業))

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。

視覚障害者調査:我が国の視覚障害による身体障害者認定の原因疾患について、平成 19～21年の3年間で調査したところ、第1位は緑内障、2位は糖尿病網膜症、3位は網膜色素変性症、4位は加齢黄斑変性で前回の調査と変動はなく、本研究班における研究の重要性が示された。

加齢黄斑変性:先進国の成人失明の主要原因であり我が国でも増加している加齢黄斑変性の現在の標準治療である抗血管内皮増殖因子療法や光線力学的療法の治療効果の評価結果を集約し、本研究班内の加齢黄斑変性治療指針作成ワーキンググループで治療指針を作成した。これに基づき治療を行うことで、治療レベルの標準化、向上が期待できる。また、今後の新規治療法などの評価の基準となる。各研究機関において、加齢黄斑変性の病態解明に向けて、基礎研究が行われている。遺伝子解析に基づくテーラーメイド医療を目指して患者の血液サンプルを収集している。iPS細胞由来の網膜色素上皮細胞シート移植に関しては、現在、倫理審査委員会の承認を受けて、臨床試験が始まった。

網膜色素変性: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した。遺伝子治療の臨床研究実施計画について厚生科学審議会で承認され、臨床試験のエントリーを開始した。

病的近視:高度近視眼に対する画像解析により形状変化と病態との関連調査が進み、病期分類の作成に着手した。

視神経萎縮や網膜変性: 蛍光標識神経栄養因子やミトコンドリアを持つマウスを用いて、網膜神経節細胞の軸索輸送のライブイメージ観察が可能となった。難治性の視神経脊髄炎の病態解明が進み、抗インターロイキン6受容体抗体による治療の有効性が示されつつある。ES細胞及びiPS細胞から網膜色素上皮細胞や網膜神経組織への再生の方法が確立しつつあり、移植実験においては、組織学的、電気生理学的評価、行動解析装置による移植組織の機能評価を進めている。人工視覚の実験も進行中である。

【研究分担者】

石橋達朗(九州大学・眼科・教授)	稲谷 大(福井大学・眼科・教授)
大鹿哲郎(筑波大学・眼科・教授)	大野京子(東京医歯科歯科大学・眼科・准教授)
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・眼科・プロジェクトリーダー)
辻川明孝(京都大学・眼科・講師)	寺崎浩子(名古屋大学・眼科・教授)
西田幸二(大阪大学・眼科・教授)	村上 晶(順天堂大学・眼科・教授)
安川 力(名古屋市立大学・眼科・准教授)	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)	

【略語解説】

AMD	(age-related macular degeneration):	加齢黄斑変性
CNV	(choroidal neovascularization):	脈絡膜新生血管
GA	(geographic atrophy):	地図状萎縮
IA	(indocyanine green angiography):	インドシアニングリーン蛍光眼底造影
IL	(interleukin):	インターロイキン
MS	(multiple sclerosis):	多発性硬化症
NMO	(neuromyelitis optica):	視神経脊髄炎
OCT	(optical coherence tomography):	光干渉断層計
PCV	(polypoidal choroidal vasculopathy):	ポリープ状脈絡膜血管症
PDT	(photodynamic therapy):	光線力学的療法
RAP	(retinal angiomatous proliferation):	網膜血管腫状増殖
RPE	(retinal pigment epithelium):	網膜色素上皮
VEGF	(vascular endothelial growth factor):	血管内皮増殖因子

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、視覚障害の対策を立てる。

2. 加齢黄斑変性の治療指針の策定

わが国における標準的な加齢黄斑変性 (age-related macular degeneration: AMD) の治療指針を考案・策定する。

3. 滲出型加齢黄斑変性治療臨床研究

滲出型 AMD 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) 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、長期の視力予後、合併症について病型別に検討した。また、遺伝的要因との関連についても検討する。

4. ポリープ状脈絡膜血管症の病態の形態学的・病理学的解明

滲出型 AMD の特殊型であるポリープ状脈絡膜血管症 (polypoidal choroidal vasculopathy: PCV) のインドシアニングリーン蛍光造影 (indocyanine green angiography: IA) 所見、光干渉断層計 (optical coherence tomography: OCT) 所見、病理組織所見から、PCV の病態を形態学的・病理学的に解明する。

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

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。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する。

8. 網膜色素変性臨床試験

網膜色素変性症の進行抑制などの治療法を確立する。

9. 網膜色素変性基礎研究

増殖能・虚血改善能が高い Aldehyde dehydrogenase 活性の低い血管内皮前駆細胞を用いて、神経変性疾患であるとともに血管萎縮性疾患でもある網膜色素変性モデルマウスへ投与し、血管・神経保護作用について検討を行う。

10. 視神経脊髄炎に対する分子標的治療

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多発性硬化症 (multiple sclerosis: MS) とは異なる慢性炎症性中枢神経疾患であり、自己抗体 (抗アクアポリン4抗体) が関与している。我々は NMO 末梢血中の未熟形質細胞 (プラズマブラスト) が主な自己抗体産生であり、インターロイキン 6 (IL-6) の促進に関与していることを報告した (PNAS, 2011)。今回、難治性 NMO 患者における抗 IL-6 受容体抗体 (トシリズマブ) 療法の効果を検討する。

11. 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。強度近視眼における眼球形態変化、網脈絡膜の変化を解析し、病的近視の病態を解明する。

12. 視神経軸索障害の機能的評価と軸索再生の研究

視神経の軸索輸送停滞が緑内障等で障害される網膜神経節細胞の細胞死を予測できると軸索再生に関わる分子を解明する。

13. 緑内障に対する繊維柱帯切除術の危険因子の探索

代表的な緑内障手術である線維柱帯切除術の術後成績を悪化する因子を解明する。

14. iPS 細胞由来網膜色素上皮細胞シート移植

臨床研究を目指しているヒト iPS 細胞由来網膜色素上皮 (retinal pigment epithelium: RPE) 細胞シート (iPS-RPE シート) の網膜下移植器具を開発する。

15. 網膜移植

永楽らの胚性幹細胞 (ES細胞) から網膜組織を立体的に分化誘導する方法により、分化網膜細胞/組織の純化及び移植に必要な細胞数の確保が現実的なものとなった。そこで、異なるES及びiPS細胞株を用い、これらが再現性をもって網膜組織様に分化するか、移植片が末期の網膜変性眼においても生着し成熟するか、および、機能するかについて検討する。

B. 研究方法

1. 視覚障害者調査

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4,852名について調査した。

2. 加齢黄斑変性の治療指針の策定

本研究班の研究代表者および分担者によって加齢黄斑変性治療指針作成ワーキンググループを構成し、2008年に本研究班で作成した「加齢黄斑変性の分類と診断基準」に基づいて治療指針の原案を作成し、2回にわたる検討会を持った上で班会議にて最終決定を行った。

3. 滲出型加齢黄斑変性治療臨床研究

典型AMDと、特殊型のPCVおよび網膜血管腫状増殖 (retinal angiomatous proliferation: RAP) に、導入期として1か月に1回計3回のラニズマブまたはアフリベルセプト硝子体内注射 (0.5mg/0.05mL) を施行し、その後の維持期は1か月毎の診察で再投与基準に当てはまる滲出の再燃を認めれば再投与し、治療成績と視力予後を左右する因子を調査した。遺伝子多型との関連も検討した。

滲出型加齢黄斑変性に対し、ラニズマブ硝子体内注射の反復により効果が減弱するタキフィラキシー症例や網膜色素上皮病変など治療への反応不良症例に対して、アフリベルセプトへの切り替えの効果を検討した。

治療眼で地図状萎縮 (geographic atrophy: GA) の出現、拡大が問題視されてきているた

め、1年以上経過観察できたPCVとRAPを対象に、眼底所見とHRA2の眼底自発蛍光所見からGAを検出し、RegionFinderを用いてGA面積を測定した。またGAに対する0.15%ウノプロストンの抑制効果を検討した。

4. ポリープ状脈絡膜血管症の病態の形態学的・病理学的解明

PCVのIA所見(流入血管と流出血管の有無、異常血管網の血管数、走向、ポリープの数)、IAの流入血管の部を含むOCT所見を検討した。PCVの臨床的な特徴7項目を抽出し、硝子体手術で摘出していた狭義PCVの病理組織を用いて、臨床的特徴を裏付ける病理学的所見を考察した。

5. 加齢黄斑変性基礎研究

C57/BL6マウスを用いて、レーザー脈絡膜新生血管(choroidal neovascularization: CNV)モデルを作製した。免疫染色にてCNV中のPlexinD1の局在を、RT-PCR法にてSemaphorin3E、PlexinD1発現の経時的変化を計測した。また、CNV抑制実験として、レーザー直後にSemaphorin3E 0.1 μ g、VEGFR Fc 2 μ g、Ccr2アンタゴニストであるINCB3344 (1.8 μ M)を硝子体内注射し、マクロファージの浸潤を免疫染色とFACSで評価し、VEGFの発現をELISAとqPCRで定量した。CNV面積をRPE-choroidフラットマウントで評価した。長期光照射によりCNVを誘導したSOD1^{-/-}マウスの硝子体内にINCB3344を投与し、蛍光眼底造影を用いてCNVのサイズを測定し、投与前と比較した。

ブタRPE細胞をtranswell上で培養し、極性RPE細胞を作成した。一方では、通常の12穴

培養皿で培養し非極性RPEを作成した。TNF- α (10ng/ml)で刺激を行い、ELISA法で培養液中のVEGF濃度を測定した。

3000 lxの高照度環境下においたラットの光障害に対するアスタキサンチンの保護効果を網膜電図(ERG)と組織学的に検討した。

6. 網膜色素変性遺伝解析

患者血液からゲノムDNAを抽出し、Leber先天盲原因遺伝子16種と常染色体劣性網膜色素変性原因遺伝子17種の計33種のエクソン領域を、PCR法にて増幅し、翻訳領域(509配列、84389塩基)をマイクロアレイにて塩基配列を決定した。Single nucleotide variants (SNV)の機能予測ソフトウェアPolyPhen-2とSIFT、およびdbSNPのデータベースと照合し、多型あるいは変異を調査した。

7. 遺伝診断ネットワーク

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。また、Orphan Net Japan (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。

8. 網膜色素変性臨床試験

網膜色素変性患者を対象に、イソプロピルウノプロストン点眼薬を一日4滴、6か月間投与し、網膜中心部の網膜感度の変化を検討した。一日2滴群およびプラセボ群と二重遮蔽3群間比較試験を行った。ハンフリー静的視野計により中心2度以内の網膜感度を測定した。網膜色素変性に対するサルレンチウイルスベクター(SIV)を用いた色素上皮由来因子(PEDF)の遺伝子治療の臨床試験を進める。

また、GMP 基準 SIV ベクター生産体制の確立を目指す。

9. 網膜色素変性基礎研究

臍帯血より採取した血管内皮前駆細胞を、Aldehyde dehydrogenase 酵素活性の高い群と低い群に分けて培養を行い、網膜色素変性症モデルマウスである C3H 系マウスの硝子体内および網膜下に注入し、マウス網膜視細胞数、網膜浅層・深層における血管評価を行った。マクロファージの機能を低下させる試薬を低活性群に注入し、フローサイトメーターを用いて回収し、網膜に存在する内在性のマイクログリアとの性質の違いについても検討した。

10. 視神経脊髄炎に対する分子標的治療

抗アクアポリン 4 抗体陽性で通常の治療に抵抗性の難治性 NMO 患者 1 名に、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を分離し、フローサイトメリーにより、末梢血中のプラズマブラストの割合、および血清中の抗アクアポリン 4 抗体価を測定した。

11. 強度近視眼球形状解析

強度近視患者に 3D-MRI、高深達光干涉断層計 (Swept-source OCT: SS-OCT)、超広角眼底撮影装置による蛍光眼底造影検査を施行し、眼球形状、強膜、脈絡膜、周辺部網膜血管の変化を対象眼と比較解析した。

12. 視神経軸索障害の機能的評価と軸索再生の研究

培養網膜神経節細胞の軸索輸送と生きたマウスの視神経軸索輸送をライブで観察した。また

へパラン硫酸のコンディショナルノックアウトマウスを作成して、視神経乳頭の形成を観察した。

13. 緑内障に対する繊維柱帯切除術の危険因子の探索

繊維柱帯切除術を施行した緑内障患者の後ろ向き研究と前向き研究の単施設と多施設研究を行った。

14. iPS 細胞由来網膜色素上皮細胞シート移植

手術器具は留置針外筒、1mm シリンジとこれに着脱可能なハンドピースで構成され、留置針外筒の先端部分を、網膜下鑷子と同程度の角度で扁平形状に加工した。家兎を用いて手術手技の検討を行った。

15. 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、立体分化培養により網膜組織を誘導できるか検討した。これらの分化組織を分化14日から17日で細切し、生後4週令から8週令のrd1マウスに移植し、1ヶ月および半年後に免疫組織学的に観察した。また、後期変性網膜(8週令)に分化15日目のシート移植を行った網膜を2ヶ月後にとりだし、多電極アレイ解析を試みた。

(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日文科科学省・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。

2. 加齢黄斑変性の治療指針の策定

前駆病変、萎縮型加齢黄斑変性に対しては生活習慣の改善と抗酸化サプリメントによる予防的治療を、滲出型加齢黄斑変性に対しては、典型加齢黄斑変性、ポリープ状脈絡膜血管症、網膜血管腫状増殖の病型別に抗血管内皮増殖因子薬(抗 VEGF 薬)、光線力学的療法、両者の併用療法を用いた治療を推奨治療として組み込んだ治療指針のアルゴリズムを作成した。

3. 滲出型加齢黄斑変性治療臨床研究

病型別に治療前背景を比較すると平均年齢は、滲出型 AMD:74.7 歳、PCV:72.7 歳、RAP:80.3 歳と RAP 群が他群より有意に高かった。治療前平均小数視力は、滲出型 AMD:0.35、PCV:0.46、RAP:0.23 と PCV 群が一番良好であった。1 年後の視力変化は全症例で改善 23.7%、不変 63.5%、悪化 12.8%であった。導入期に改善した視力を維持できている症例は 42%、いったん改善するも維持できない症例は 24%、視力改善を認めない症例は 35%であった。治療前 GLD が 3500 μ m 以下の症例が有意に予後良好であった。視力良好な PCV に対するラニビズマブ硝子体内注射 2 年後の視力成績は、改善 2%、不変 87%、悪化 11%であった。69%の症例で維持期の再治療を要し、平均再治療回数は1年目が 1.6 回、2年目が 1.2 回だった。最終的に中心窩下の漿液性網膜剥離の残存を 36%で認めた。遺伝子多型の ARMS2 A69S、CFH I62V は典型 AMD に対する治療効果を予測する因子にはなり得なかった。ARMS2 A69S 多型は PCV の治療前の視機能と関係したが、IVR 治療後の視力変化とは関係しなかった。polypoidal CNV 患者は C2、CFB 遺伝子の rs547154、rs541862、rs2072633 の SNP に関連があったが、狭義 PCV 患者では関連がなかった。タキフィラキシー症例は全体の 4.2%にみられた。タキフィラキシー発症までのラニビズマブの投与回数は平均 6.5 回であった。ラニビズマブに反応不良を示す典型 AMD の 1 型 CNV と PCV に対してアフリバルセプトへの切り替えが有効であった。

地図状萎縮の発生率(2 年間)、拡大率(/年)

は、それぞれ、典型 AMD では 75%、1.4 mm²/年、PCV では、65%、1.2 mm²/年、RAP では、89%、1.5 mm²/年であった。0.15%ウノプロストン点眼による予防効果の検討では、54 週後の地図状萎縮面積の平均拡大率は、対照群 2.11 に対して実薬群は 1.21 と有意に低く、抑制効果が認められた。

4. ポリープ状脈絡膜血管症の病態の形態学的・病理学的説明

PCV は CNV の変形である polypoidal CNV と、脈絡膜の血管異常である狭義 PCV に分類できた。IA 上、Polypoidal CNV は、流入血管と流出血管があり、血管網は CNV の特徴を有し、異常血管網辺縁の血管の一部が拡張、蛇行して、ポリープ状に見えた。狭義 PCV は、流入および流出血管が認められず、異常血管網を構成する血管は数が少なく、異常血管の変形がポリープ状に見えた。OCT 上、Polypoidal CNV では流入血管に一致して Bruch 膜を示すラインに断裂があり、RPE を示す高反射ラインは不規則に隆起し、隆起部は太い異常血管とポリープ状病巣に一致していた。狭義 PCV の異常血管網起始部付近で Bruch 膜の断裂はなく、脈絡膜側に屈曲し下面に高反射物質が付着したラインが見られた。起始部では直上の RPE を示すラインは陥凹していた。PCV の特徴的な臨床所見として、(1)pseudo classic CNV の蛍光造影所見、(2)ポリープ様の拡張、(3)脈絡膜の肥厚、(4)ポリープの破裂、(5)PDT でポリープは高率に閉塞する、(6)抗 VEGF 薬では閉塞しにくい、(7)OCT におけるポリープ、異常血管網の特徴の 7 項目が挙げられるが、病理学的に、それぞれ、(1)脈絡毛細血管板の

消失、拡張血管に接する RPE の消失、RPE 上へのフィブリン析出、(2)血管平滑筋細胞の消失、(3)血管のヒアリン化と著明な血管外漏出、(4)血管壁内泡沫マクロファージの存在、(5)血流のうっ滞、血管内皮細胞障害、(6)血管内皮の VEGF 陰性所見、(7)RPE の減少、消失とブルッフ膜下にあるポリープ病巣と異常血管網の存在から説明可能であった。

5. 加齢黄斑変性基礎研究

免疫染色した凍結切片にて、CNV の辺縁部に PlexinD1 が発現し、レーザー照射後 5 日目から有意に上昇していた。一方、Semaphorin3E の発現量はレーザー照射後 5 日目に有意に減少していた。CNV 形成は Semaphorin3E や VEGFR Fc の硝子体内注射によって有意に抑制された。INCB3344 投与により、レーザー照射部位へのマクロファージ浸潤は有意に抑えられ、VEGF の発現量とマクロファージ中の VEGF mRNA 発現量が有意に下がり、CNV 形成が抑制された。長期光照射誘導 CNV においても、INCB3344 投与群で CNV の有意な縮小が認められた。

ELISA 法と半定量 PCR により、極性 RPE は非極性 RPE 細胞に比べ約 3 倍の VEGF を分泌していた。TNF- α (10ng/ml) は非極性 RPE の VEGF 分泌を約 2 倍に増加させ、極性 RPE では VEGF の分泌を約 40%減少させた。TUNEL 染色と MTT assay により、TNF- α 10ng/ml による今回の結果が細胞死によるものではないことがわかった。

光暴露による ERG の b 波振幅の低下、網膜の外顆粒層の菲薄化、アポトーシス細胞出現 (TUNEL 陽性率) に関して、アスタキサンチン

投与は容量依存性に抑制効果を示した。

6. 網膜色素変性遺伝解析

Leber 先天盲および常染色体劣性網膜色素変性患者の遺伝子解析の結果、105 例中 12 例に病因となり得る変異を認めた。

7. 遺伝診断ネットワーク

構築したシステムのもと、病院、難病バンク、理化学研究所間で問題なく試料(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。理化学研究所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。

網膜色素変性臨床試験: イソプロピルウノプロストン点眼液 1 日 4 滴群において、ハンフリー静的視野の中心 2 度以内の網膜感度は有意に改善したが、1 日 2 滴群とプラセボ群では有意な変化は見られなかった。

SIV による PEDF 遺伝子治療の臨床試験を引き続き実施する。

8. 網膜色素変性臨床試験

イソプロピルウノプロストン点眼液 1 日 4 滴群において、ハンフリー静的視野の中心 2 度以内の網膜感度は有意に改善したが、1 日 2 滴群とプラセボ群では有意な変化は見られなかった。

SIV による PEDF 遺伝子治療の臨床試験を引き続き実施する。

9. 網膜色素変性基礎研究

Aldehyde dehydrogenase 酵素活性の低い血管内皮前駆細胞(Alde-Low EPC)を投与した群では、有意に血管萎縮及び神経変性に至る速さを抑制した。siRNA を用いて CCL2 の発現

を低下させた Alde-Low EPC を投与した群と、同 siRNA を含む Liposome および Alde-Low EPC を投与した群では血管・神経保護作用は低下した。CCL2 を過剰発現させた Alde-High EPC 投与では血管・神経保護作用が回復した。Alde-Low EPC により遊走してきたマクロファージは、幼弱なマクロファージのマーカーである Ly6c を発現しており、IGF-1 や TGF- β などの神経保護因子の発現が内在性のマイクログリアと比べて高い事が明らかとなった。遊走してきた Ly6c 陽性の幼弱なマクロファージを再び C3H 系マウスに投与したところ神経血管保護作用を持つことが明らかとなった。

10. 視神経脊髄炎に対する分子標的治療

NMO 患者の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、末梢血中のプラズマブラストの割合と抗アクアポリン 4 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。

11. 強度近視眼球形状解析

対照眼の正視眼では SS-OCT を用いて強膜の内面のみ観察可能であったが、強度近視患者では高率に強膜の全層を観察できた。正視眼では RPE カーブはほぼ直線状に乳頭に向かい傾斜するタイプ、中心窩を中心としたお椀型の 2 種類があったが、いずれのタイプでも中心窩下の脈絡膜が厚いために、強膜内面のカーブは中心窩を底としたお椀型の形状であっ