

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

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)

研究要旨 オカルト黄斑ジストロフィ(OMD、三宅病)は遺伝性の黄斑疾患で、原因遺伝子の一つとして *RP11* が同定されたが、病態については不明な点が多い。そこで錐体細胞レベルでの観察が可能である補償光学を利用した眼底カメラを使用し、黄斑部の形態学的異常の有無について観察を行った。観察した 12 例 24 眼に共通して、不鮮明な背景に錐体細胞に類似した大きさの高輝度の粒子がランダムに分布する様子が確認され、正常眼でみられるような錐体細胞のモザイク配列はほとんど検出されなかった。今回の研究により、黄斑部において広範囲な視細胞の変性を考える画像的所見が得られた。

A. 研究目的

オカルト黄斑ジストロフィ(OMD、三宅病)は遺伝性の黄斑疾患で、眼底検査、蛍光眼底造影、全視野網膜電図は正常であり、黄斑部局所網膜電図または多局所網膜電図の異常により診断される。近年 *RP11* が原因遺伝子の一つとして同定されたが、病態については不明な点が多い。補償光学(Adaptive optics: AO)を用いた眼底カメラにより、黄斑部では錐体細胞レベルの詳細な観察が可能となっており、今回は OMD と診断された症例に対し、AO 眼底カメラを用いて黄斑部の構造を観察した。

B. 研究方法

眼底検査、蛍光眼底造影、全視野網膜電図、黄斑部局所もしくは多局所網膜電図、OCT 等を施行し、臨床的に OMD と診断された 12 例 24 眼を対象とし、AO 眼底カメラ (rtx1™,

Imagine eyes)を用いて中心窩から上下耳鼻側に 6° の範囲を観察した。

(倫理面への配慮)

患者に対しインフォームドコンセントを行い研究の同意を得た。研究はヘルシンキ宣言を遵守して行われた。

C. 研究結果

12 例中男性 7 例、女性 5 例、平均年齢 47 ± 15 歳(20-69 歳)、平均小数視力 0.33 ± 0.16 (0.10-0.60)であった(表1)。また、2 症例で *RP11* 遺伝子の変異が確認された。OMD の症例に共通して、不鮮明な背景に高輝度の粒子がランダムに分布する様子が確認された(図1)。また、正常眼でみられるような錐体細胞のモザイク配列はほとんど検出されなかった。

表1 患者背景

No.	sex	age	RP1L1 mutation	BCVA	
				OD	OS
1	F	44	+	0.10	0.20
2	M	69	-	0.13	0.13
3	M	45	+	0.13	0.16
4	M	51	-	0.20	0.16
5	M	63	-	0.30	0.25
6	F	43	-	0.30	0.30
7	F	19	-	0.30	0.30
8	F	58	-	0.30	0.50
9	M	49	-	0.40	0.50
10	M	40	-	0.50	0.50
11	F	63	-	0.50	0.50
12	M	20	-	0.60	0.60

D. 考察

高輝度の粒子については、正常な錐体細胞に類似した大きさであることから、残存している錐体細胞とも考えられるが、形の不同があり、変性した錐体細胞やその他の構造物をとらえている可能性もある。しかし収差や白内障等の撮影上の問題や画像処理の影響等が含まれており、この画像のみでの判断は困難である。錐体細胞であるとするならば観察される粒子の密度は正常眼の錐体細胞密度と比較し有意に低下しており、OMD患者では黄斑部における錐体細胞密度の異常が考えられる。

E. 結論

OMD患者をAO眼底カメラで観察することにより黄斑において錐体細胞の変性が推測される画像的所見が得られた。

F. 研究発表

2. 学会発表

1. 中西絢美、他: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解析. 第61回日本臨床視覚電気生理学学会、大阪、2013.

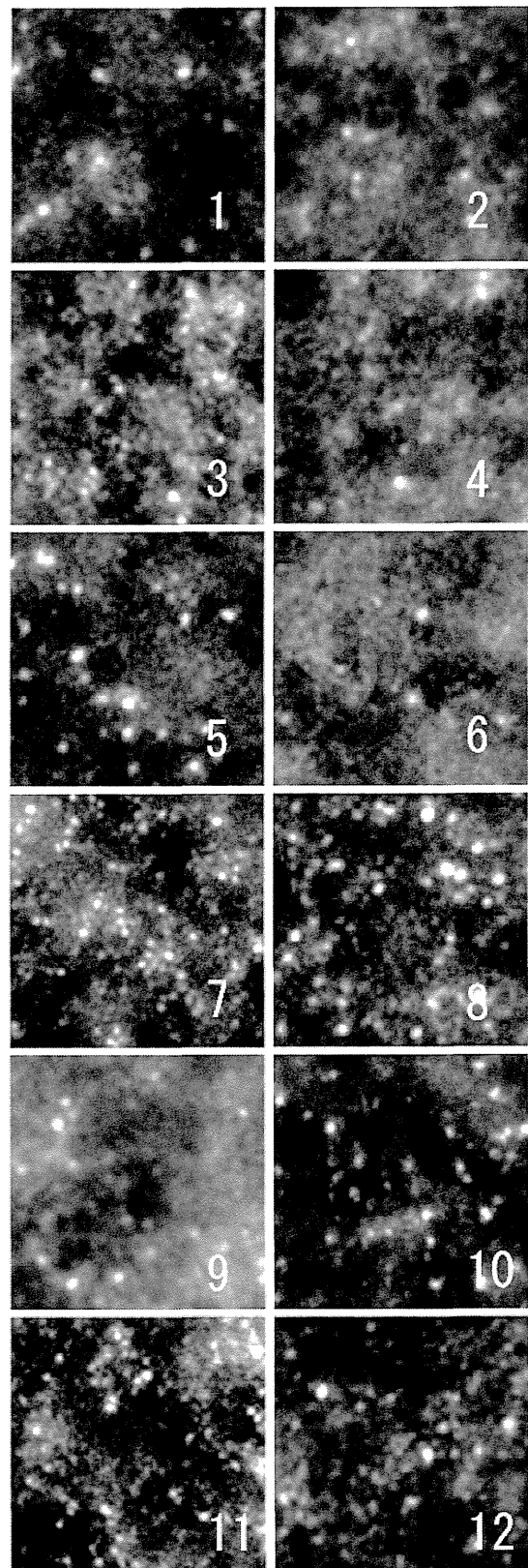


図1 OMD患者12名の中心窩から耳側2°の位置のAO眼底カメラ画像

31. *NMNAT1* 遺伝子変異を認めた Leber 先天黒内障の 2 例

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⁾

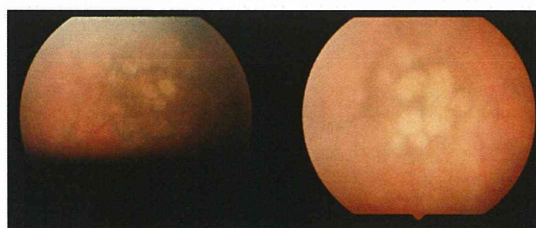
(¹⁾順天大、²⁾日本赤十字医療センター、³⁾三重大、⁴⁾Center for Medical Genetics Ghent, Belgium)

研究要旨 Leber 先天黒内障 (Leber congenital amaurosis: LCA) を含む常染色体劣性網膜色素変性 (autosomal recessive retinitis pigmentosa: ARRP) 33 遺伝子の全翻訳領域をマイクロアレイにて 105 例の遺伝子解析を行なった。変異を認めた Leber 先天黒内障症例の中に *NMNAT1* 遺伝子 p.Arg237Cys 変異が原因と考えられる 2 家系を経験した。両家系とも一方の親は直接塩基配列決定にて野生型であったため、qPCR 法でコピー数を解析し、エクソン 4 を含む欠失を認めた。このことから遺伝子解析結果の解釈は慎重に行なう必要があると考えられた。

A. 研究目的

Leber 先天黒内障 (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¹⁾原因遺伝子は優性遺伝形式 3 種、劣性遺伝形式 18 種が知られている²⁾。マイクロアレイを用いた遺伝子解析にて *NMNAT1* 遺伝子 p.Arg237Cys 変異を持つ Leber 先天黒内障 2 家系について、発端者と両親の表現型と遺伝子型を検討する。

両眼黄斑部に円形の変性を認めた (図 3)。網膜電図の a 波、b 波の減弱を認めた。(図 4)



右 左
図1 症例1 初診時眼底写真
(仰臥位、頭側から撮影)

B. 研究方法

対象: 症例 1 は 0 歳 3 ヶ月男児、生後 3 ヶ月時に眼振と追従眼球運動不良を認め当院受診。初診時、両眼裸眼視力は 0.86cpd (Teller Acuity cards)、眼振と対光反応減弱を認め、両眼黄斑部に円形の変性を認めた (図 1)。網膜電図では錐体桿体双方の振幅の減弱を認めた (図 2)。

症例 2 は 0 歳 3 ヶ月男児、生後 2 ヶ月時に追従眼球運動不良を認め当院受診。初診時、両眼光覚弁、眼振および対光反応減弱を認め、

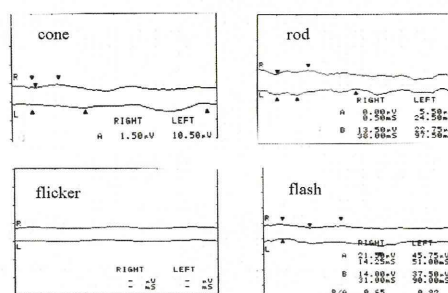
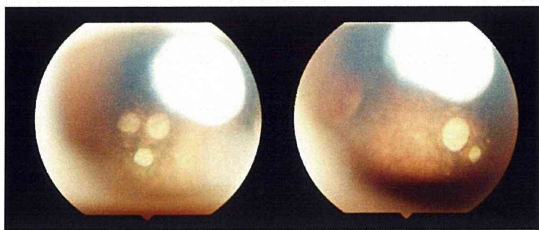


図2 症例1の網膜電図



右 左
図3 症例2 初診時眼底写真
(仰臥位、頭側から撮影)

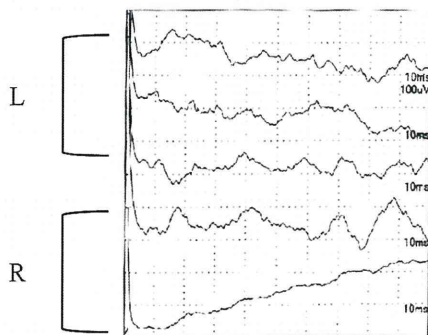


図4 症例2の網膜電図

方法:患者血液からゲノムDNAを抽出。

LCA原因遺伝子16種、ARRP原因遺伝子17種、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。蛋白質機能予測ソフトウェアおよび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。特に小児例は両親に代諾を得た上で罹患者のみに解析を行なった。

C. 研究結果

直接塩基配列決定法では2症例とも *NMNAT1* (c.709C>T, p.Arg237Cys) のホモ接合変異が検出されたが、症例1の母は正常で父はヘテロ接合変異、症例2の父は正常で母はヘテロ

接変異の波形であったため、定量PCR法にて各エクソンのコピー数を確認した(図5)。

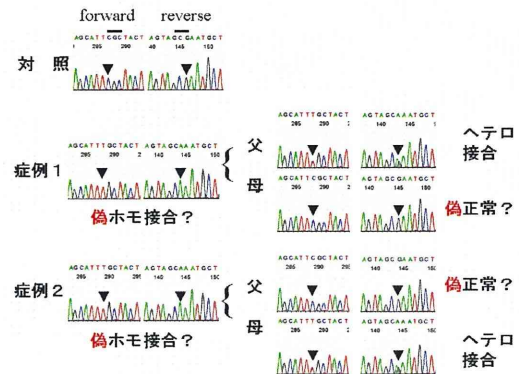


図5 直接塩基配列決定

症例1の母はイントロン3～遺伝子外16.6kbのヘミ接合、症例2の父はイントロン3～エクソン5内部4.8kbのヘミ接合を持ち、両症例ともc.709C>T, p.Arg237Cysとの複合ヘテロ接合体であった(図6)。

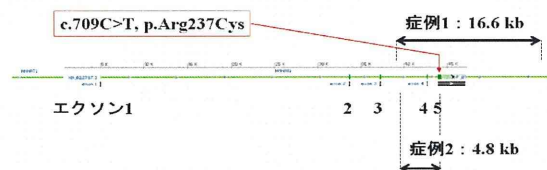


図6 コピー数解析による *NMNAT1* 欠失領域

D. 考察

Chiangらは1例のLCAのエクソームの配列を解読し、*NMNAT1*のナンセンス変異(c.507G>A, p.Trp169Stop)とミスセンス変異(c.769G>A, p.Glu257Lys)を見だし報告した³⁾。*NMNAT1*はこれまでに同定されているLCA9座位に存在しており、ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド(NAD⁺)生合成の律速酵素であるnicotinamide mononucleotide adenylyltransferase 1をコードしている⁴⁾。今回

の2症例に見出された *NMNATI* (c.709C>T、p.Arg237Cys)の変異は、Falkらによりホモ接合変異の症例で既に報告されている⁵⁾。当初両家系ともに、片親の解析結果が野生型であったため、試料採取から解析結果がでるまでの間に検体を取り違えた可能性を考えた。再度オリジナルの各試料を、日時も別にして個別にDNAを精製し、再解析を行なったが、同一の結果となった。一方のアールの欠失を疑ってqPCR法を行なったところ、予想した結果が確認された。このような状況は他の遺伝性疾患全般に当てはまることから、通常のPCRから直接塩基配列決定法を行い野生型であったとしても、コピー数を確認しない限り検出できない変異が存在する場合も考慮しなければ、誤った診断や結果解釈を罹患者に行なう恐れもあると考えられた。

E. 結論

日本人の Leber 先天黒内障において *NMNATI* も原因となる事が示唆された。遺伝子解析の結果の解釈は、慎重に行なう必要があると考えられた。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 村上晶: 総説: 眼科遺伝子診療をめざした遺伝情報解析. 日眼会誌 (印刷中)
2. Usui A, Mochizuki Y, Iida A, Miyauchi E, Satoh S, Sock E, Nakauchi H, Aburatani H, Murakami A, Wegner M, Watanabe S. The early retinal progenitor-expressed gene Sox11 regulates the timing of the differentiation of retinal cells. *Development* 140, 740-750, 2013.
3. Mochizuki Y, Iida A, Lyons E, Kageyama R,

Nakauchi H, Murakami A, Watanabe S. Use of cell type-specific transcriptome to identify genes specifically involved in Müller glia differentiation during retinal development. *Dev Neurobiol.* doi: 10.1002/dneu.22131

4. Usui A, Iwagawa T, Mochizuki Y, Iida A, Wegner M, Murakami A, Watanabe S. Expression of Sox4 and Sox11 is regulated by multiple mechanisms during retinal development. *FEBS Lett* 587, 358-363, 2013.

2. 学会発表

1. 鈴木貴英、藤巻拓郎、宮崎愛、新井英介、玉城和範、根岸貴志、和田裕子、藤木慶子、村上 晶: *RPGPII* エクソン 17 の欠乏を認めたレーベル先天盲の兄弟例. 第38回日本小児眼科学会(2013年7月5日 広島)
2. Arai E, Fujimaki T, Miyazaki A, Fujiki K, Iwata F, Inomata T, Kawano H, Yokoyama T, Okumra A, Murakami A: Genetic and clinical features of FEVR and Norrie disease. ARVO, Washington State Convention Center, Seattle, Washington, 2013, May.
3. 村上晶: 評議員指名講演3 遺伝子診療をめざした遺伝情報解析第117回日本眼科学会総会(2013年4月6日東京)
4. 村上晶: シンポジウム3 単因子疾患の遺伝子診療 単因子眼疾患の遺伝子診療 第20回 日本遺伝子診療学会大会(2013年7月20日 浜松)

1. 参考文献

1. Leber T: Ueber retinitis pigmentosa mit angeborene amaurose. *Gracfes Arch Ophthalmol* 15, 1-25, 1869.
2. 池田康博: Leber 先天盲 (Leber 先天黒内障). *あたらしい眼科* 28, 921-925, 2011.

3. Chiang PW, Wang J, et al: Exome sequencing identifies NMNAT1 mutations as a cause of Leber congenital amaurosis. *Nat Genet* 44, 972-974, 2012.
4. Koenekoop RK, Wang H, et al: Mutations in NMNAT1 cause Leber congenital amaurosis and identify a new disease pathway for retinal degeneration. *Nat Genet* 44, 1035-1039, 2012.
5. Falk MJ, Zhang Q, et al: NMNAT1 mutations cause Leber congenital amaurosis. *Nat Genet* 44, 1040-1045, 2012.

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

藤巻拓郎、柳川 愛、藤木慶子、村上 晶
(順天大)

研究要旨 Leber 先天黒内障 (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、原因遺伝子は優性遺伝形式 3 種、劣性遺伝形式 18 種が知られている。本研究では LCA を含む常染色体劣性網膜色素変性 (autosomal recessive retinitis pigmentosa: ARRP) 33 遺伝子の全翻訳領域を含むマイクロアレイを用い、LCA を含む ARRP 計 105 例において遺伝子変異の概要を解析した。当初の解析で変異を見出せなかった症例に関して解析アルゴリズムの閾値を下げ再解析し、また家族歴の再調査にて常染色体優性遺伝形式の可能性についても再検討した。マイクロアレイの QST を下げる事で、更に変異を検出できる可能性が示唆された。また *KCNJ13* c.1080T>C, p.X361Q のヘテロ接合変異の症例を見出した。

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。

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) (表1)。

方法: 患者血液からゲノム DNA を抽出。

LCA 原因遺伝子 16 種、ARRP 原因遺伝子 17 種、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。蛋白質機能予測ソフトウェアおよびデータベースと照合し、多型あるいは変異を調査した。

変異が見出せなかった症例に関しては、

・ Affymetrix GeneChip® Sequence Analysis Software (GSEQ) Version 4.1 の Quality Score Threshold (QST) を 3 から 1 に下げた際、新たに検出されたバリエーションをカウント。

・原因が特定されなかった 8 例の 0 歳発症 LCA については、LCA 原因遺伝子 16 種の塩基配列を目視にて確認。

・マイクロアレイ上に劣性と優性の双方の遺伝形式をとる遺伝子が *AIPL1*、*GUCY2D*、*PDE6B*、*CRB1*、*RDH12*、*RPE65*、*KCNJ13* の

表1 対象の内訳

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

計 7 種あり、これらについてヘテロ接合変異を持つ患者の家族歴を、診療録で再調査。

(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。特に小児例は両親に代諾を得た上で罹患者のみに解析を行なった。

C. 研究結果

QST を 3 から 1 に下げ(図1)新たに検出された base call 303 種から SNP Viewer でノイズ 127 種、蛍光強度でノイズ 163 種、アミノ酸置換なし 6 種、蛋白質構造予測ソフトで多型 3 種を除外し、残った変異は *RPGRIP1* p.R890X、*ABCA4* p.R2040Q、*CNGBI* p.G1050A の 3 種であった。

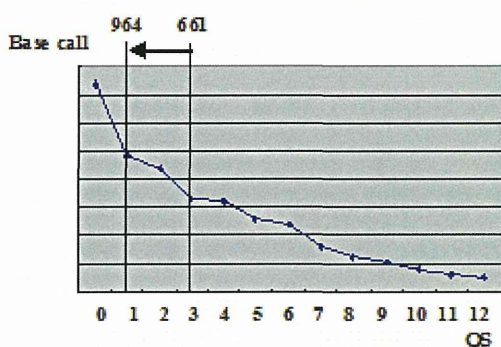


図1 QST 毎のシグナル (base call) 数

変異の中には QST を 0 にしても検出できないシグナルが存在した。例として *ABCA4* c.4195G>A, p.E1399K を示す(図 2)。

・8 例の 0 歳発症 LCA について塩基配列を目視にて確認したが変異を見出せなかった。

劣性と優性の双方の遺伝形式をとる 7 種の遺伝子について家族歴を再調査したところ、*KCNJ13* c.1080T>C、p.X361Q のヘテロ接合変異の症例を見出した。変異は塩基配列上

QDLSIF の 6 アミノ酸が付加された。症例は 54 歳女性で 3 年前からの夜盲の訴えがあり、視力と屈折は以下の通りであった。

RV=0.03 (1.0×-7.00D=Cyl-1.00DAx20°)

LV=0.07 (1.2×-6.00D=Cyl-0.75DAx20°)

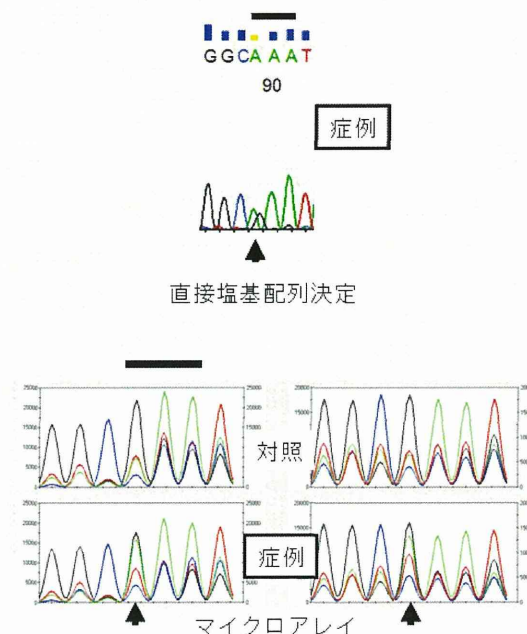


図 2 QST を下げても検出できない base call も存在する

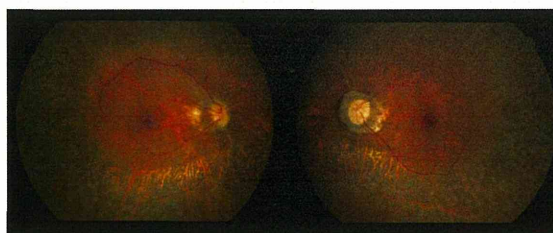


図 3 *KCNJ13* p.X361Q ヘテロ接合変異症例の眼底写真

D. 考察

Quality Score Threshold (QST)を 3 から 1 に下げることで予想通りノイズの base call が増えたが、少数ながら新たに見出される変異もあった。これらのヘテロ接合変異の蛍光強度を見ると、

ノイズを構成する 2 種の塩基の蛍光強度が、他のノイズより強く、QST が 3 の場合にシグナルとして検出されなかった原因と考えられた。また、見出された 3 種ともヘテロ接合変異であり、いずれも劣性遺伝形式をとる遺伝子であったため、疾患とは関連無しと考えられた。

KCNJ13 p.X361Q のヘテロ接合変異の症例は両親が親族同士であったので、当初 ARRP が考えられていたが、家族歴の再調査で母親の同胞に罹患者を認めたため、優性遺伝形式をとる Snowflake vitreoretinal degeneration (SVD, MIM 193230)が考えられた^{1, 2)}。今回、複数の方法を用いることで、新たな変異を見出すことが出来たが、マイクロアレイ解析に際しては、アルゴリズムの特性を認識する必要があると考えられた。

E. 結論

- ・マイクロアレイの QST を下げる事で、更に変異を検出できる可能性が示唆された。
- ・解析ソフトの QST を下げても検出できないシグナルが存在し、変異を見出すためには直接目視も必要。
- ・予測した遺伝形式と異なる場合も考慮し、詳細な家族歴聴取が重要。

G. 研究発表

2. 学会発表

1. 鈴木貴英、藤巻拓郎、宮崎愛、新井英介、玉城和範、根岸貴志、和田裕子、藤木慶子、村上晶: *RPGPIPI* エクソン 17 の欠乏を認めたレーベル先天盲の兄弟例. 第 38 回日本小児眼科学会(2013 年 7 月 5 日 広島)
2. Arai E, Fujimaki T, Miyazaki A, Fujiki K, Iwata F, Inomata T, Kawano H, Yokoyama T, Okumra A, Murakami A: Genetic and clinical

features of FEVR and Norrie disease. ARVO, Washington State Convention Center, Seattle, Washington, 2013, May.

3. 村上晶: 第 117 回日本眼科学会総会 評議員指名講演 遺伝子診療をめざした遺伝情報解析(2013 年 4 月 6 日 東京)

I. 参考文献

1. Hejtmancik JF, et al: Mutations in KCNJ13 cause autosomal-dominant snowflake vitreoretinal degeneration. *Am J Hum Genet* 82, 174-180, 2008.
2. Sergouniotis PI, et al: Recessive mutations in KCNJ13, encoding an inwardly rectifying potassium channel subunit, cause leber congenital amaurosis. *Am J Hum Genet* 89, 183-190, 2011.

33. 網膜色素変性における白内障術後視機能の予測

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)の患者に対して白内障手術を施行した29名36眼を対象として、白内障手術前と術後3か月の視力を測定し、術後視力と光干渉断層計(OCT)による中心窩網膜厚(CFT)および視細胞内節外節接合部(IS/OS)長との関係を比較検討した。また、中心窩下のIS/OSの性状により3群(Grade 1:IS/OSなし、Grade 2: IS/OS不連続、Grade 3: IS/OS連続)に分類し、術前後の視力を比較検討した。白内障術後に視力は有意に改善した($P < 0.0001$)。Grade 3におけるIS/OS長と術後視力に関しては有意な相関はみられなかったが($r = -0.10$, $P = 0.70$)、CFTと術後視力には有意な相関がみられた($r = -0.47$, $P = 0.0006$)。Grade 2およびGrade 3では有意に術後視力が改善したが($P = 0.0077$, $P = 0.0003$)、Grade 1では有意な改善はみられなかった($P = 0.063$)。またGrade 3では、他の2群と比較し、有意に術後視力が良好であった。RPにおいて、中心窩下IS/OSの性状は術後視力の予測因子として重要であり、術前のOCTにおいてIS/OSが保たれている症例では、術後に良好な視力が期待できる。

A. 研究目的

RP患者のOCTによる網膜形態を測定し、白内障手術後の術後視力との関連を検討することにより、術前に、白内障手術後の視機能予後を予測することを目的とした。

B. 研究方法

対象は、千葉大学病院にて白内障手術を施行したRP患者29例36眼である。白内障手術前と術後3か月の視力を測定し、術後視力とOCTによるCFTおよびIS/OS長との関係を比較検討した。また、中心窩下のIS/OSの性状により3群(Grade 1:IS/OSなし、Grade 2: IS/OS不連続、Grade 3: IS/OS連続)に分類し、術前後の視力を比較検討した。嚢胞様黄斑浮腫、黄斑前膜、硝子体黄斑牽引症候群および後部ぶどう腫を伴った近視眼の症例は

除外した。

(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

白内障術後に視力は有意に改善した($P < 0.0001$)。Grade 3におけるIS/OS長と術後視力に関しては有意な相関はみられなかったが($r = -0.10$, $P = 0.70$)、CFTと術後視力には有意な相関がみられた($r = -0.47$, $P = 0.0006$)。Grade 2およびGrade 3では有意に術後視力が改善したが($P = 0.0077$, $P = 0.0003$)、Grade 1では有意な改善はみられなかった($P = 0.063$)。またGrade 3では、他の2群と比較し、有意に

術後視力が良好であった。

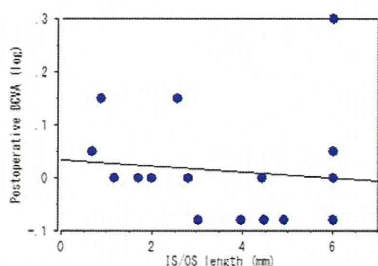


図1 IS/OS 長と術後視力との相関 (grade3)

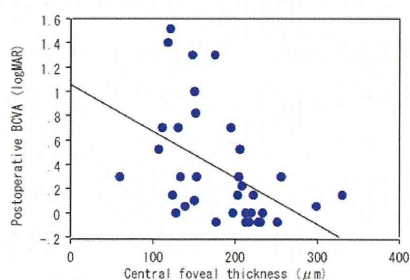


図2 CFTと術後視力との相関

D. 考察

RPにおいて、中心窩下 IS/OS の性状は術後視力の予測因子として重要であり、術前の OCTにおいて IS/OS が保たれている症例では、術後に良好な視力が期待できる。

E. 結論

RPにおいて、術前の OCTにおいて IS/OS が保たれている症例では、術後に良好な視力が期待できることから、白内障術前に OCT で IS/OS の評価をすることは、術後の視力予後を予測するうえで重要であると考えられる。

F. 研究発表

2. 学会発表

1. 熊谷 健、他: OCT を用いた網膜色素変性における白内障術後視機能の予測. 第 67 回

日本臨床眼科学会、横浜、2013.

H. 参考文献

1. Mitamura Y, et al: Correlation between retinal sensitivity and photoreceptor inner/outer segment junction in patients with retinitis pigmentosa. Br J Ophthalmol 93: 126-127, 2009.
2. Aizawa S, et al: Correlation between visual function and photoreceptor inner/outer segment junction in patients with retinitis pigmentosa. Eye 23: 304-308, 2009.
3. Hagiwara A, et al: Photoreceptor impairment on optical coherence tomographic images in patients with retinitis pigmentosa. Br J Ophthalmol 97: 237-238, 2013.

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

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)

研究要旨 九州大学病院(当院)で実施中である網膜色素変性に対する遺伝子治療臨床研究において、臨床研究薬であるヒト色素上皮由来因子遺伝子搭載サル免疫不全ウイルスベクター(SIV-hPEDF)の網膜下投与の安全性を明らかにする。これまでに4名(男性1名、女性3名)の被験者に臨床研究薬を投与した。症例3で術後早期に有害事象を認めたとしたが、その後の経過は良好である。一方、術後に術前からの視力が大きく低下した症例はなく、全身的に重篤な副作用も認められていない。本年度内に5例目への投与を完了した後、適応評価委員会での審議を受け、来年度より治療高用量群(15例)へステージアップする予定である。

A. 研究目的

九州大学病院(当院)で実施中である網膜色素変性に対する遺伝子治療臨床研究において、臨床研究薬であるヒト色素上皮由来因子遺伝子搭載サル免疫不全ウイルスベクター(SIV-hPEDF)の網膜下投与の安全性を明らかにする。

B. 研究方法

対象は、当院にて1年以上定期的に経過観察されている40歳以上の網膜色素変性患者のうち、担癌状態であるなど除外基準に適合しない患者。男性1名、女性3名。

同意取得は患者登録時、および全身検索が終了し、九州大学病院先進医療適応評価委員会が適応有と判定した後の計2度行った。全身麻酔下に経毛様体扁平部硝子体手術により硝子体を切除後、後部硝子体剥離を作製

した後、41G 網膜下注射針を用いて治療低用量(2.5×10^7 TU/mL)の臨床研究薬を黄斑を回避した網膜下に注入した。白内障を合併する患者には、同時に超音波乳化吸引術+眼内レンズ挿入術を併施した。術後7日間は遺伝子治療室で個室管理し、血液、尿、涙液内に臨床研究薬由来のシーケンスがないことを確認後に一般病棟へ転棟し、さらに7日間は入院で経過を観察した。その後は、臨床研究実施計画書のスケジュールに従い、全身ならびに眼局所の検査を実施した。

(倫理面への配慮)

本研究計画は、厚生労働省・文部科学省の遺伝子治療ガイドライン他、以下の指針・法律等に基づいて立案された臨床研究であり、「臨床研究実施計画書」ならびに「患者説明・同意書」の倫理性等については、九州大学医学研究院等倫理委員会および同遺伝

子治療臨床研究審査専門委員会にて十分に議論され、最終承認を受けた。1)の指針に基づき、平成22年10月、厚生科学審議会へ実施申請を行い、平成24年8月に厚生労働大臣より臨床研究実施計画の了承を得た。

- 1)「遺伝子治療臨床研究に関する指針」
- 2)「臨床研究に関する倫理指針」
- 3)「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」
- 4)「遺伝子治療臨床研究に関する「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」に基づく第一種使用規程承認申請の手続等について」
- 5)「遺伝子組換え微生物の使用等による医薬品等の製造における拡散防止措置等について」
- 6)「遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保に関する指針について」
- 7)「遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保に関する指針の改正について」
- 8)「遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保に関する指針の一部改正について」
- 9)「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」

C. 研究結果

症例1は65歳女性。右眼に臨床研究薬を投与した。網膜下の臨床研究薬が吸収されるのに約2週間を要したが、最終的には追加処置等必要なかった。全身ならびに眼局所に重篤な副作用を認めなかった。術前矯正視力0.02、術後6ヶ月の矯正視力0.03であった。

症例2は69歳女性。右眼に臨床研究薬を投与した。全身ならびに眼局所に重篤な副作用を認めなかった。術前矯正視力0.3p、術後6ヶ

月の矯正視力0.2であった。

症例3は69歳女性。右眼に臨床研究薬を投与した。網膜下の臨床研究薬が吸収されるのが遅く、術後10日目により網膜下液が増加した。そのため、術後14日目に再手術を施行した。その後の経過は良好であった。一方、全身には重篤な副作用を認めなかった。術前矯正視力0.07、術後6ヶ月の矯正視力0.1pであった。

症例4は62歳男性。左眼に臨床研究薬を投与した。術後1ヶ月目より後発白内障を認めた。全身に重篤な副作用を認めなかった。術前矯正視力0.1、術後3ヶ月の矯正視力0.08であった。

D.E. 考察・結論

遺伝子治療臨床研究において、治療低用量群5例のうち4例が終了した。本年度内に5例目への投与を実施する予定である。その後、適応評価委員会での審議を受け、来年度より治療高用量群(15例)へステージアップする予定である。

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

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)

研究要旨 急性潜在性帯状網膜外層症(acute zonal occult outer retinopathy: AZOOR)は、比較的新しい原因不明の網膜外層症である。病初期には、検眼鏡的に異常がないにも関わらず、網膜外層が特異的に障害されることが特徴的であり、その発症原因は不明であった。今回我々は、AZOOR 患者 11 例 16 眼を対象にして、網膜の外側に隣接し網膜の代謝・栄養に重要な役割を果たす脈絡膜の血流をレーザースペックルフローグラフィー(laser speckle flowgraphy: LSFSG)を用いて測定し、①AZOOR の急性期には脈絡膜血流が低下している事、②ステロイド投与による脈絡膜血流の改善は視機能の改善よりも先行していた事を、明らかにした。この知見から、AZOOR の発症病理には炎症性の脈絡膜循環障害が関与している可能性が考えられた。

A. 研究目的

AZOOR は、1992 年に Gass が初めて報告した、若年女性に好発する、急性の視野障害をきたす網膜外層症である¹。通常、網膜疾患は、検眼鏡的に網膜に異常所見を観察できるが、AZOOR は病初期には検眼鏡的に眼底に異常所見がないにも関わらず、視野欠損が生じ、慢性期には視野欠損に一致した網膜色素上皮萎縮を生じることが最大の特徴である^{1, 2}。AZOOR では多局所網膜電図³・光干渉断層計⁴により機能的・形態学的な視細胞を含む網膜外層障害が生じることがわかっているが、その原因は不明である。

一方、網膜の外側に隣接する脈絡膜に対する検査であるインドシアニングリーン蛍光眼底造影検査において AZOOR での脈絡膜循環障害の報告があるが⁵、定量的な検査ではなく AZOOR と脈絡膜循環の関係は未だ十分に明

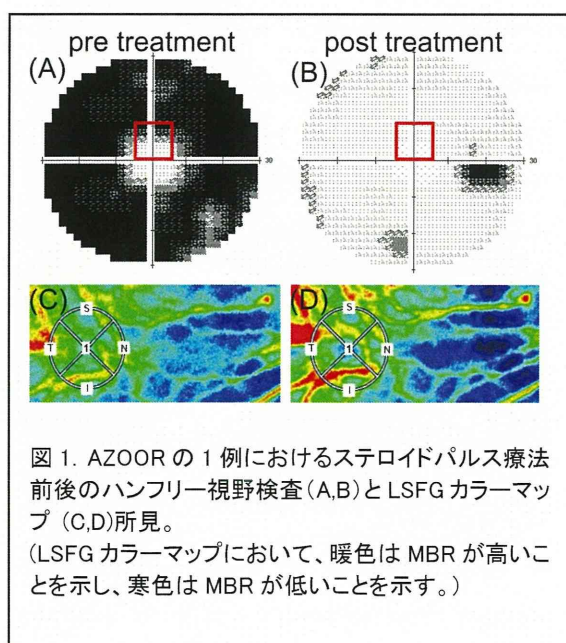
らかにされているとは言い難い。脈絡膜最内層の毛細血管板は、酸素や栄養を網膜色素上皮や視細胞を含む網膜外層に供給する組織であり、AZOOR に対する形態学的・機能的な脈絡膜の研究はその病態を探るために重要であると考えられる。

LSFG は、近年発達したスペックル現象を利用した眼底血流画像化装置であり、眼底の任意の範囲における平均血流速度を Mean blur rate (MBR) として、短時間で非侵襲的に定量的に算出することができる。本研究の目的は LSFSG を用いて AZOOR の脈絡膜循環を経時的・定量的に測定し、評価することである。

B. 対象と方法

対象は、AZOOR 患者 11 例 16 眼(内 6 例 7 眼は無治療、5 例 9 眼はステロイドパルス療法施行)、対照としてステロイドパルス療法を施行

した甲状腺眼症 (thyroid-associated ophthalmopathy: TAO)3 例 6 眼。後ろ向き観察研究であり、視力、視野欠損部分におけるハンフリー視野検査における平均閾値 (図 1A, B 赤四角内)・MBR (図 1 C, D 円内)を 24 週の経過観察期間で経時的に測定しその変化を検討した。また、ステロイドパルス療法を施行した AZOOR 群と TAO 群にてステロイドパルス療法前後における MBR の変化を比較した。



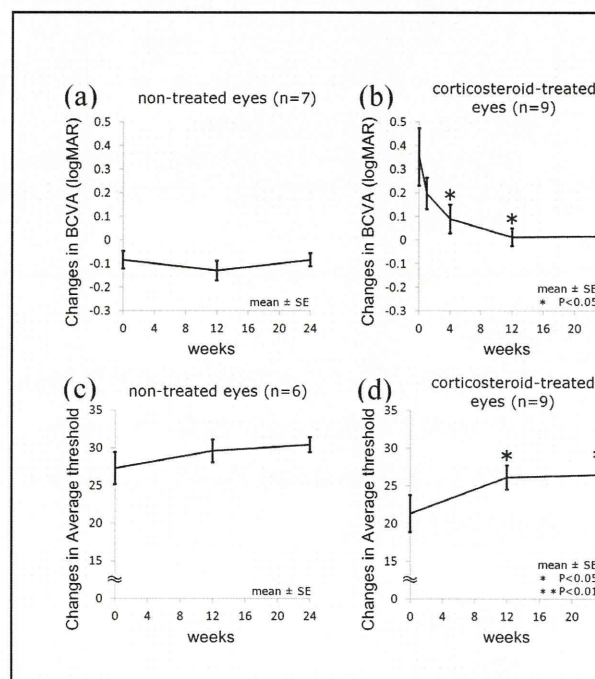
(倫理面への配慮)

この研究は北海道大学病院倫理委員会の承認を得て、ヘルシンキ宣言に基づいて行われた。

C. 研究結果

無治療群において平均 MBR は視野検査における平均閾値の上昇 (図 2c) と共に 24 週で有意に上昇 (119.3%、 $P = 0.016$) した (図 3A)。ステロイドパルス療法群においては視力 (図 2b)・平均閾値 (図 2d) の改善とともに治療後早期から

有意に MBR (図 3B) は上昇した (1、4、12、24 週後にそれぞれ 130.4%、122.3%、122.7%、123.6%、全て $P = 0.0039$)。ステロイドパルス療法開始 4 週後の MBR 値は AZOOR 群の方が TAO 群より有意に上昇していた (122.3% vs. 105.0%、 $P =$



0.0028) (図 3C)。

D. 考察

本研究から、①AZOOR の改善に伴い MBR は経時的に上昇し、②ステロイド投与による脈絡膜血流の改善は視機能の改善よりも先行していた事が、明らかとなった。このことは、AZOOR の急性期には脈絡膜循環が障害されており、脈絡膜循環の改善は視機能の改善に先行していることを示唆している。また、AZOOR におけるステロイド投与による MBR の上昇は対照群 (TAO 群) よりも有意に大きく、MBR の上昇がステロイドそのものによる生理的な作用ではなく、AZOOR の病態に関与している事を示していると考えられる。

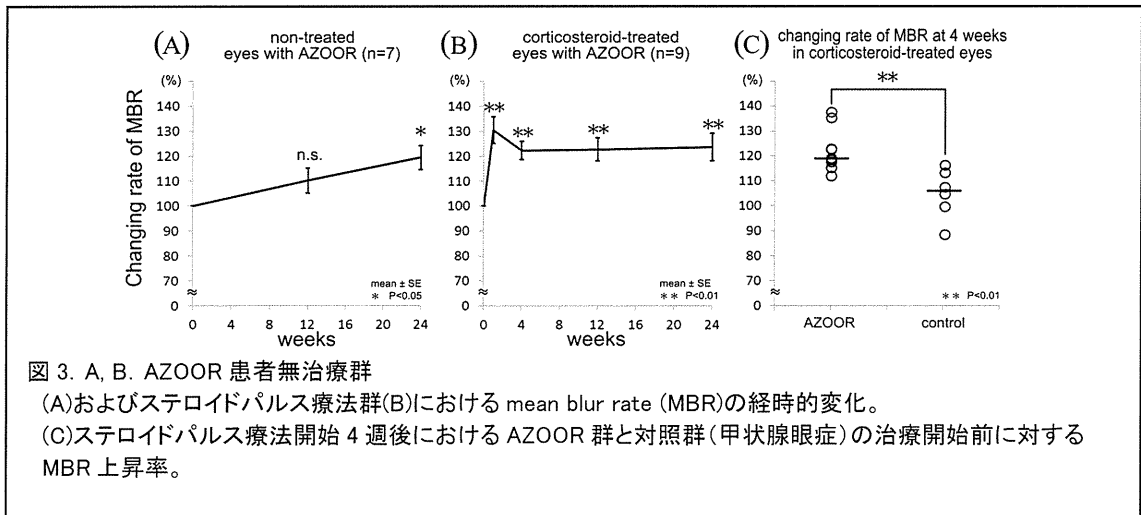


図 3. A, B. AZOOR 患者無治療群

(A)およびステロイドパルス療法群(B)における mean blur rate (MBR)の経時的変化。

(C)ステロイドパルス療法開始 4 週後における AZOOR 群と対照群(甲状腺眼症)の治療開始前に対する MBR 上昇率。

E. 結論

AZOOR 眼において障害部位(視野欠損部位)の MBR が視機能と共に改善したことから、その病態に脈絡膜循環障害が関与している可能性が考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Saito M, et al: Correlation between decreased choroidal blood flow velocity and the pathogenesis of acute zonal occult outer retinopathy. Clin Experiment Ophthalmol [Epub ahead of print] (2013)

2. 学会発表

1. 齋藤理幸、他: 新しい laser speckle flowgraphy を用いた、急性帯状潜在性網膜外層症に対する脈絡膜循環の検討. 第 64 回臨床眼科学会、神戸、2010.

H. 参考文献

1. Gass JD: Acute zonal occult outer retinopathy. Donders Lecture: The

Netherlands Ophthalmological Society, Maastricht, Holland, June 19, 1992. J Clin Neuroophthalmol 13, 79-97, 1993.

2. Gass JD, et al: Acute zonal occult outer retinopathy. a long-term follow-up study. Am J Ophthalmol 134, 329-339, 2002.

3. Arai M, et al: Multifocal electroretinogram indicates visual field loss in acute zonal occult outer retinopathy. Am J Ophthalmol 126, 466-469, 1998.

4. Spaide RF, et al: Photoreceptor outer segment abnormalities as a cause of blind spot enlargement in acute zonal occult outer retinopathy-complex diseases. Am J Ophthalmol 146, 111-120, 2008.

5. Saito A, et al: Indocyanine green angiography in a case of punctate inner choroidopathy associated with acute zonal occult outer retinopathy. Jpn J Ophthalmol 51, 295-300, 2007.

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

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)

研究要旨 滲出型加齢黄斑変性(AMD)ではレーザートップラー法を用いると脈絡膜血流が低下していることが報告されており、視神経乳頭部や脈絡膜血流が日内変動を有していれば、AMD に何らかの影響を及ぼしている可能性がある。そこで、視神経乳頭部や脈絡膜血流の日内変動を、レーザースペックル法を用いて MBR(mean blur rate)を計測し、同時期に血圧、眼圧、脈拍及び脈絡膜厚も計測し関連を調べた。視神経乳頭部の血流は日内変動を有していた($p=0.0003$)ものの、他の因子との関連はみられなかった。このことは視神経乳頭部には網膜末梢への血流を保つ強い自己調節機能が存在することと関連がある可能性があると考えられた。一方、脈絡膜の血流も日内変動を有していたが($p=0.0013$)、収縮期血圧($p=0.0018$)や眼灌流圧($p=0.0473$)と相関がみられた。脈絡膜には弱い自己調節機能しかなく、眼灌流圧の上昇に伴い、脈絡膜血流は増加するとの既報に一致する結果であると考えられた。今後、AMD における日内変動を含めた血流動態を検討する予定である。

A. 研究目的

滲出型加齢黄斑変性ではレーザートップラー法を用いると脈絡膜血流が低下していることが報告されている。しかし、脈絡膜厚、眼圧、眼軸長などは日内変動を有しており、脈絡膜血流が日内変動を有しているかどうかは、脈絡膜血流を比較する上で重要である。今回我々は、レーザースペックルフローグラフィ(LSFG)を用い、視神経乳頭部及び脈絡膜血流の日内変動およびそれに関与する因子について調べた。

B. 研究方法

午前 6 時から午後 12 時まで 3 時間おきに計 7 回、LSFG (LSFG-NAVI[®])を用いて、視神経乳

頭における MBR(mean blur rate)と黄斑部における MBR を脈絡膜血流として計測した (図 1)。同時期に血圧、眼圧、脈拍及び脈絡膜厚も計測し視神経乳頭部及び脈絡膜における血流との関連を調べた。

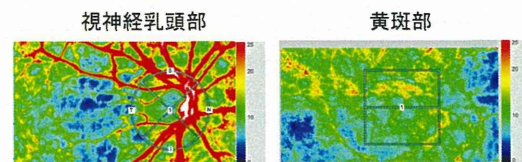


図1 LSFG による血流計測

(倫理面への配慮)

個人情報の取り扱いとして、連結不可能匿名化を行った後に統計学的処置を行い、個人情報の保護をした。

C. 研究結果

視神経乳頭部血流のMBR値は午前6時から順に24.4±4.0、23.4±3.3、24.0±3.1、24.8±3.5、25.3±3.5、25.5±4.0、25.6±4.1で日内変動を有していた(p=0.0003、mixed linear model)ものの(図2)、他の因子との関連はみられなかった(表1)。

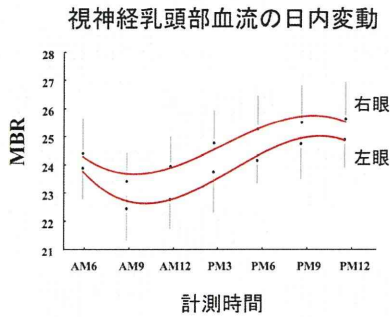


図2 視神経乳頭部血流の日内変動

因子	推定値	95%信頼区間		P値
年齢(Age)	0.3288	-0.1473	0.8049	0.1742
収縮期血圧	-0.0431	-0.2474	0.1613	0.6778
拡張期血圧	-0.0532	-0.3378	0.2314	0.7126
心拍数	-0.3353	-0.7158	0.0453	0.0838
眼圧	0.3415	-0.7551	1.4382	0.5396
脈絡膜厚	0.0078	-0.0325	0.0481	0.7024
平均動脈血圧	-0.0826	-0.3512	0.1860	0.5445
眼灌流圧	-0.1453	-0.5653	0.2747	0.4957

※被験者と左右眼それぞれで、時点に適切な共分散構造を仮定した
※※年齢、時点、眼軸長、屈折値を調整因子とした

表1 視神経乳頭部血流と他の因子との関連

脈絡膜血流における MBR 値は 10.9±3.4、2.3±3.7、13.2±3.8、13.5±3.3、16.3±3.6、12.0±3.5、13.3±3.6 で日内変動を有しており(p=0.0013、mixed linear model)、収縮期血圧(p=0.0018、mixed linear model)および眼灌流圧(p=0.0473、mixed linear model)と相関がみられた。

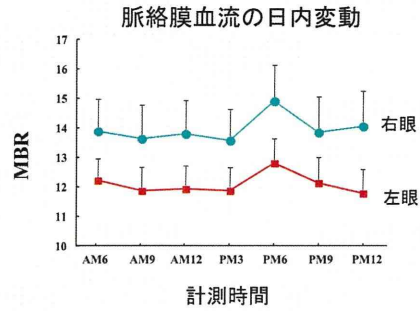


図3 脈絡膜血流の日内変動

因子	推定値	95%信頼区間		P値
年齢(Age)	0.0278	-0.2674	0.3231	0.8419
眼軸長(axis)	-0.1976	-1.9721	1.5769	0.8199
屈折値(refrac)	0.0386	-0.7719	0.8492	0.9213
収縮期血圧	0.0324	0.0122	0.0525	0.0018
拡張期血圧	0.0147	-0.0112	0.0405	0.2639
心拍数	-0.0125	-0.0352	0.0102	0.2796
眼圧	0.0444	-0.0375	0.1263	0.2862
脈絡膜厚	0.0116	-0.0001	0.0233	0.0512
平均動脈血圧	0.0328	0.0045	0.0611	0.0236
眼灌流圧	0.0426	0.0005	0.0847	0.0473

※被験者と左右眼それぞれで、時点に適切な共分散構造を仮定した
※※年齢、時点、眼軸長、屈折値を調整因子とした

表2 脈絡膜血流と他の因子との関連

D. 考察

視神経乳頭部における血流の日内変動に関する報告はわずかしがなく、その中においても緑内障では日内変動を有するが、正常人眼において日内変動を認めたとの報告はない。既報ではレーザードップラー法を用いていたこと、レーザースペックルを用いても測定回数が少なかったことが、日内変動を認めなかった原因であると考えられた。視神経乳頭部の血流と他の変動因子との間に関連がみられなかったことから、視神経乳頭部には網膜末梢への血流を保つ強い自己調節機能を有していると考えられた。

一方、脈絡膜血流も同様に日内変動がみられたが、収縮期血圧や眼灌流圧と相関がみられた。今までの脈絡膜には弱い自己調節機能がなく、眼灌流圧の上昇に伴い、脈絡膜血流は増加するとの報告に一致する結果であると考えられた。

視神経乳頭部と脈絡膜血流では自己調節機能が異なるので、日内変動のパターンが異なると考えられた。

E. 結論

視神経乳頭部及び脈絡膜ともに日内変動を有しており、また脈絡膜血流では収縮期血圧や眼灌流圧と有意の相関がみられたことから、視神経乳頭部と脈絡膜血流では自己調節機能が異なるので、日内変動のパターンが異なると考えられた。

F. 研究発表

2. 学会発表

1. 岩瀬剛、他：眼底血流循環の日内変動とそれに関わる因子について。第30回日本眼循環学会、東京、2013.
2. 岩瀬剛、他：眼底血流循環の日内変動とそれに関わる因子について。第427回東海眼科、津、2013.

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

杉本昌彦、松原 央、宮田良平、松井良諭、一尾享史、近藤峰生
(三重大)

研究要旨 蛍光眼底造影検査 (Fluorescein angiography, FA) の問題点は、薬剤によるアレルギー反応の可能性があることである。内服による蛍光眼底造影検査 (Oral FA) はこの副作用を軽減するとされているが、普及にいたっていない。今回、この Oral FA と超広角眼底撮影装置 Optos ultra-widefield imaging system (Optos Panoramic 200TX™, Optos PLC. Dunfermline, Scotland, UK) を組み合わせた Oral wide field FA を試みたので報告する。対象は正常人を含む 34 例である。20mg/kg のフルオレセインナトリウムを 30ml のスポーツドリンクに溶解し、経口投与し、Oral wide field FA 画像を取得した。内服後 15-20 分で従来の経血管投与による FA とほぼ同様な画像を得ることができ、各疾患における周辺異常血管の構築や無灌流領域が、特に耳鼻側において明瞭に描出された。実施後、2 名に軽度の皮膚掻痒感を認めたが、他の合併症は認めなかった。Oral wide field FA は周辺網膜病変を安全に評価できる可能性がある。

A. 研究目的

蛍光眼底造影検査 (Fluorescein angiography, FA) の問題点は、嘔気やショックなどの薬剤によるアレルギー反応の可能性があること、および各部位の写真が必ずしも同一時間に撮影されたものではないことである。前者の解決策として内服による蛍光眼底造影検査 (Oral FA) が報告されている。しかし、造影効果が弱く実用性に乏しいため普及にいたっていない。超広角眼底撮影装置 Optos ultra-wide field imaging system (Optos Panoramic 200TX™, Optos PLC. Dunfermline, Scotland, UK) は、0.2 秒という短時間で 200 度の範囲の眼底撮影を可能とする画期的な装置である。本装置を用いた FA では一回の撮影で同一造影条件の画像を得ることができる。今回両者の利点を

生かし、Oral FA と Optos を組み合わせた Oral wide field FA を試みたので報告する。

B. 研究方法

正常人ならびに三重大学医学部附属病院眼科通院中の患者 34 例を対象とした。疾患内訳は健常人 2 例、網膜血管閉塞症 17 例、糖尿病網膜症 11 例、ぶどう膜炎 2 例、網膜周辺部変性 2 例である。

20mg/kg のフルオレセインナトリウムを 30ml のスポーツドリンクに溶解し、経口投与した。投与後 5 分から 25 分まで 5 分ごとに、Optos を用いて Oral wide field FA 画像を取得した。

(倫理面への配慮)

三重大学医学部附属病院倫理委員会の承認を経て行なわれた。