

- Awai-Kasaoka N, Takihara Y, Ito Y, Fukushima M, Tanihara H. Frequency and risk factors for neovascular glaucoma after vitrectomy in eyes with proliferative diabetic retinopathy. **Journal of Glaucoma** 22:572-576, 2013.
- Kameda T, Inoue T, Inatani M, Tanihara H; Japanese Phaco-Goniosynechialysis Multicenter Study Group. Long-term efficacy of goniosynechialysis combined with phacoemulsification for primary angle closure. **Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology** 251:825-830, 2013.
- Tanihara H, Inoue T, Yamamoto T, Kuwayama Y, Abe H, Araie M; K-115 Clinical Study Group. Phase 1 Clinical Trials of a Selective Rho Kinase Inhibitor, K-115. **JAMA Ophthalmology** 131: 1288-1295, 2013.
- Ogata-Iwao M, Inatani M, Takihara Y, Inoue T, Iwao K, Tanihara H. A prospective comparison between trabeculectomy with mitomycin C and phacotrabeculectomy with mitomycin C. **Acta Ophthalmologica** 91:e500-5001, 2013.
- Awai-Kasaoka N, Inoue T, Kameda T, Fujimoto T, Inoue-Mochita M, Tanihara H. Oxidative stress response signaling pathways in trabecular meshwork cells and their effects on cell viability. **Molecular Vision** 19:1332-1340, 2013.
- Haga A, Inatani M, Shobayashi K, Kojima S, Inoue T, Tanihara H. Risk factors for choroidal detachment after trabeculectomy with mitomycin C. **Clinical Ophthalmology** 7:1417-1421, 2013.
- Tanihara H, Inoue T, Yamamoto T, Kuwayama Y, Abe H, Araie M for the K-115 Clinical Study Group. Phase 2 randomized clinical study of a Rho kinase inhibitor, K-115, in primary open-angle glaucoma and ocular hypertension. **American Journal of Ophthalmology** 156:731-736, 2013.
- Awai-Kasaoka N, Inoue T, Inatani M, Takihara Y, Ogata-Iwao M, Tanihara H. Study on prognostic factor in trabeculectomy with mitomycin C having history of previous glaucoma surgery. **Japanese Journal of Ophthalmology** 57:514-519, 2013.
- Inoue T, Tanihara H. ROCK inhibitors: a novel approach to glaucoma therapy. **Progress in Retinal and Eye Research** 37: 1-12, 2013.

- Inoue T, Kawaji T, Tanihara H. Elevated levels of multiple biomarkers of Alzheimer's disease in the aqueous humor of eyes with open-angle glaucoma. **Investigative Ophthalmology & Visual Science** 54:5353-5358, 2013.
- Kojima S, Inoue T, Kawaji T, Tanihara H. Filtration Bleb Revision Guided by Three-Dimensional Anterior Segment Optical Coherence Tomography. **Journal of Glaucoma**, in press.
- Kojima S, Inatani M, Shobayashi K, Haga, A, Inoue T, Tanihara H. Risk factors for hyphema after trabeculectomy with mitomycin C. **Journal of Glaucoma**, in press.
- Takahashi E, Inoue T, Fujimoto T, Kojima S, Tanihara H. Epithelial mesenchymal transition-like phenomenon in trabecular meshwork cells. **Experimental Eye Research**, in press.
- Takahara, Inatani M, Ogata-Iwao M, Kawai M, Inoue T, Iwao K, Tanihara H. Prospective clinical study of trabeculectomy for open-angle glaucoma in phakic vs pseudophakic eyes after phacoemulsification. **JAMA Ophthalmology**, in press.
- Inoue T, Kawaji T, Tanihara H. Monocyte chemotactic protein-1 level in the aqueous humor as a prognostic factor for the outcome of trabeculectomy. **Clinical and Experimental Ophthalmology**, in press.
- Kojima S, Inoue T, Kawaji T, Tanihara H. Tear Fluid Signs Associated with Filtration Blebs as Demonstrated by Three-dimensional Anterior Segment Optical Coherence Tomography. **Clinical Ophthalmology**, in press.
- Kuroda U, Inoue T, Awai-Kasaoka N, Shobayashi K, Kojima S, Tanihara H. Fornix-based vs limbal-based conjunctival flaps in trabeculectomy with mitomycin C in high-risk patients. **Clinical Ophthalmology**, in press.
- Yamamoto T, Sawada A, Mayama C, Araie M, Ohkubo S, Sugiyama K, Kuwayama Y, The Collaborative Bleb-related Infection Incidence and Treatment Study Group: The 5-year Incidence of Bleb-related Infection and Its Risk Factors Following Filtering Surgeries with Adjunctive Mitomycin C: CBIITS 2. **Ophthalmology**, in press.
- 黄益倍, 岡元有己子, 井上俊洋, 谷原秀信. 正常眼圧緑内障に対するラタノプロス

ト単剤の効果および併用薬としてのチモロールとドルゾラミドの比較. 眼科臨床紀要 : 6 巻 : 533-537, 2013.

正林耕平, 岡元有己子, 井上俊洋, 谷原秀信. 正常眼圧緑内障に対するラタノプロスト単剤の効果および併用薬としてのチモロールとドルゾラミドの比較. 眼科臨床紀要 : 印刷中.

2. 学会発表

The Annual Meeting of the Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO) (May 5-9, 2013, Seattle, Washington, USA)

Inoue T, Tanihara H. Investigation of Multiple Proinflammatory Cytokines in the Aqueous Humor in Eyes with Secondary Glaucoma.

Kojima S, Inoue T, Nakashima K, Fukushima A, Tanihara H. Short-term prospective investigation of filtering bleb by three dimensional anterior-segment optical coherence tomography.

Inoue-Mochita M, Inoue T, Fujimoto T, Awai-Kasaoka N, Tanihara H. Identification of TGF- β 2-induced proinflammatory cytokines secreted from cultured trabecular meshwork cells.

Nakashima K, Inoue T, Fukushima A, Hirakawa S, Kawaji T, Tanihara H. Evaluation of filtering blebs with transconjunctival oozing by anterior segment optical coherence

tomography

World Glaucoma Congress 2013 (July 17-20, 2013, Vancouver, Canada)

Inoue T, Tanihara H. Investigation of Multiple Proinflammatory Cytokines in the Aqueous Humor in Eyes with Secondary Glaucoma.

Kojima S, Inoue T, Nakashima K, Fukushima A, Tanihara H. Short-term prospective investigation of filtering bleb by three dimensional anterior-segment optical coherence tomography.

Fujimoto T, Inoue T, Inoue-Mochita M, Kasaoka N, Shobayashi K, Tanihara H. Visualization of actin filament using time-lapse fluorescent microscopy in trabecular meshwork cells

Hirakawa S, Kojima S, Inoue T, Tanihara H. A short-term efficacy and safety of brimonidine 0.1% as fourth-line therapy in open-angle glaucoma subjects.

第117回日本眼科学会総会 東京 平成25年4月4日～7日

笠岡奈々子, 井上俊洋, 亀田隆範, 藤本智和, 井上みゆき, 谷原秀信: 線維柱帯細胞において ROCK 阻害薬が酸化ストレスに与える影響.

第83回九州眼科学会 福岡 平成25年5月31日～6月2日

平川沙織, 井上俊洋, 小島祥, 笠岡奈々子, 正林耕平, 中島圭一, 松村理世, 谷原秀信: 熊本大学医学部附属病院におけるブリモニジン点眼液の使用状況調査.

第 24 回日本緑内障学会 東京 平成 25 年 9 月 21~23 日

笠岡奈々子, 井上俊洋, 谷原秀信: 開放隅角緑内障の房水におけるアルツハイマー病関連バイオマーカー.

第 67 回日本臨床眼科学会 神奈川 平成 25 年 10 月 31 日 11 月 3 日

笠岡奈々子, 井上俊洋, 稲谷大, 谷原秀信: トラベクレクトミー術後のラタノプロスト点眼薬による眼圧下降効果の検討.

平川沙織, 井上俊洋, 小島祥, 笠岡奈々子, 正林耕平, 大平さおり, 高橋枝里, 谷原秀信: 開放隅角緑内障における緑内障点眼 4 剤目としてのブリモニジン点眼液の効果.

福島亜矢子, 井上俊洋, 坪井尚子, 岩尾美奈子, 平川沙織, 小島祥, 笠岡奈々

子, 正林耕平, 大平さおり, 高橋枝里, 稲谷大, 谷原秀信: 開放隅角緑内障における緑内障点眼薬配合剤への切り替え効果の前向き検討.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

I. 参考文献

石川伸子白土城照, 安達京, 他: 先天緑内障全国調査結果(1993年度) あたらしい眼科 13, 601-604, 1996.

滝澤麻里, 白土城照, 東郁郎: 先天緑内障全国調査結果(1992年度). あたらしい眼科 12, 811-813, 1995.

8. オカルト黄斑ジストロフィーの遺伝子解析

研究者 岩田 岳

所属 東京医療センター

研究要旨

オカルト黄斑ジストロフィー (Occult Macular Dystrophy) は眼底像が正常であるにもかかわらず、黄斑部の錐体細胞の機能が障害される眼疾患である。当研究部によって RP1L1 の遺伝子変異によって発症することが明らかにされたが、その後、国内外で新たな遺伝子変性が発見されている。我々も独自に OMD の 2 家系を収集し、遺伝子解析を行った結果、発症本研究では OMD 2 家系を調査し、あらたに 7 つの新規遺伝子変異を発見した。個々の遺伝子変異について、臨床像を解析し、OMD 症例データベースを構築する。

A. 研究目的

OMD (三宅病) は眼底像が正常であるにもかかわらず、黄斑部の錐体細胞の機能が障害される難治性眼疾患である [1, 2]。本研究はこの OMD 患者を診断し、遺伝子解析を行うことにより、遺伝子変異別の OMD 症例データベースを構築することを目的とする。

B. 研究方法

すでに論文で報告している RP1L1 R45W、W960R の遺伝子変異は 4 家系で確認されているが [3, 4]、今回新たに複数の OMD 家系 (優性、劣性、孤発) を調査し、ダイレクトシーケンスあるいはエクソームシーケンスによって、既知遺伝子変異の出現頻度および新規遺伝子変異の探索を行った。エクソーム解析は Agilent SureSelect ver. 4+UTR を用いてエクソン抽出を行い、Illumina HiSeq2000 を使っ

て平均 100 リードのシーケンスを得た。レファレンスゲノムに対してマッピングを行い、1,000 人ゲノムシーケンスと我々が集積した日本人のエクソームデータを用いて、出現頻度の高い SNPs を削除し、残った SNPs の中で患者と連鎖しているものが抽出された。さらに健常な日本人約 1,500 人のデータを用いて稀な多型を排除した。

C. 研究結果

今回新たに 2 家系が調査され、R45W (5 家系)、S1199C (4 家系)、Q1987X (1 家系)、G221R (1 家系)、S676C (1 家系)、G1200D (2 家系)、T1196I (1 家系)、T1194M (1 家系) などの既知と新規遺伝子変異が発見された。最も多い変異は R45W で、2 家系中 10 家系で変異が検出された。さらに S1199C 変異も高い頻度で検出されている。

D. 考察

RP1L1は網膜色素変性の原因遺伝子 *RP1* に類似する遺伝子としてクローニングされ、多数の患者がスクリーニングされたが遺伝子変異は発見されていなかった[5, 6]。カニクイザル網膜の免疫染色によってRP1L1は視細胞の微小管に局在することが明らかになり、マウスでも同様な局在が報告されている[7]。視細胞の微小管は高度に分化しており、細胞体と外節の間の輸送機能を担うと同時に視細胞を光軸に沿って細胞の傾きを修正する機能がある[8]。

R45WとS1199Cはタンパク質の全く異なる位置に存在する遺伝子変異で、前者はRP1との相互作用に関係する部位、後者は反復配列の存在する領域に直前に位置する。我々が「典型的なOMD」と診断する患者では何れかのRP1L1遺伝子が必ず検出されており、経験的にもこの変異については遺伝子診断に利用できると考えられる。しかし一部のOMDにはエクソーム解析でも遺伝子変異が検出されておらず、新たな遺伝子変異が発見される可能性がある。現在これらの変異体がクローニングされてタンパク質相互作用の実験が進行中である。

国内外でも新たな遺伝子変異が発見されており[9-11]、劣性型OMDの家系も発見されている。今後の遺伝子解析に期待するとともにOMDの診断基準を明確にし、OMD-likeな症例が紛れ込まないようにしなければなららに。

今後R45W、S1199Cを含む8つの変異と臨床像を解析してOMD症例データベースを構築する。

E. 結論

OMD 22家系が調査され、原因遺伝子RP1L1における遺伝子解析が行われた。すでに報告されている既知遺伝子に加え、新たに複数の遺伝子変異が発見された。今後どの変異が遺伝子機能に最も影響するか解析する予定である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Nakamura N, Tsunoda K, Fujinami K, Shinoda K, Tomita K, Hatase T, Usui T, Akahori M, Iwata T, Miyake Y.

[Long-term observation over ten years of four cases of cone dystrophy with supernormal rod electroretinogram]. *Nihon Ganka Gakkai Zasshi*. 2013 Aug;117(8):629-40. Japanese. PubMed PMID: 24063160.

Kubuto T, Takahashi H, Goto-Fukuura Y, Igarashi T, Akahori M, Kameya S, Iwata T, Mizota A, Yamaki K, Miyake Y, Takahashi H. A new mutation in the *RP1L1* gene in a patient with occult macular dystrophy associated with a depolarizing pattern of focal macular electroretinograms. *Molecular Vision* 2012;18:1031-9

Tsunoda K, Usui T, Hatase T, Yamai S, Fujinami K, Hanazono G, Shinoda K,

Ohde H, Akahori M, Iwata T, Miyake Y.
Clinical characteristics of occult
macular dystrophy in a large family
with mutation of RP1L1 gene. *Retina*
2012;32:1135-47

岩田岳、古野正朗、池尾一穂、全エクソ
ーム解析による遺伝性網脈絡膜疾患の
原因遺伝子探索、エクソーム解析 - 成
果と将来 - (編集：松本直道)、医学
のあゆみ、医歯薬出版株式会社
2013;245:401-407

赤堀正和、岩田岳、黄斑ジストロフィー、
特集 ゲノムと網膜関連疾患の関与を
探る(編集：山城健児)、RETINA Medicine、
先端医学社 2014;3:33-37

2. 学会発表

岩田岳、次世代シーケンサーを用いた
眼疾患の原因遺伝子探索、第116回日
本眼科学会、東京、2012年

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

I. 参考文献

1. Miyake Y et al., *Am J Ophthalmol*
1989;108:292-299
2. Miyake Y et al. *Am J Ophthalmol*
1996;122:644-653
3. Fukuda Y et al. *BMC Bioinformatics*
2009;10:121
4. Akahori M. et al. *Am J Hum Genet*
2010;87:424-429
5. Conte I et al. *Europ J Hum Genet*
2003;11:155-162
6. Bowne SJ et al. *Mol. Vis.*
2003;9:129-137
7. Yamashita T et al. *J Neurosci*
2009;29:9748-9760
8. Eckmiller MS, *Prog Retin Eye Res*
2004;23:495-522
9. Ahn SJ et al., *IOVS*
2013;54:4856-4863
10. Okuno T et al., *Doc Ophthalmol*
2013;127:141-146
11. Davidson AE et al., *Hum Mutat*
2013;34:506-514

9. 錐体ジストロフィ・錐体杆体ジストロフィにおける

GUCY2D 遺伝子解析

分担研究者 村上 晶

研究協力者 藤巻拓郎、柳川 愛、藤木慶子

所属 順天堂大学

研究要旨：錐体ジストロフィ・錐体杆体ジストロフィ (CORD) が疑われた 8 家系 10 症例について、*GUCY2D* 遺伝子の解析を行い 2 家系 4 例に疾患と関連する遺伝子変異が検出された。1 家系は、p. R838H 変異を、他の 1 家系は p. R838C 変異をヘテロ接合で持っていた。発端者はいずれも黄斑の変化は軽微で、視神経乳頭が蒼白化しているため、当初は視神経疾患が疑われ精査を受けていた。その後の ERG 検査と眼底 OCT 検査で錐体杆体ジストロフィの診断に至っている。*GUCY2D* は、コドン 838 の遺伝子変異の報告が多く、CORD のスクリーニングを行う意義のある遺伝子であると考えられた。

A. 研究目的

CORD の原因として海外で報告の多い *GUCY2D* の遺伝子変異について解析を行い日本人での解析の意義を検討する。

B. 方法

CORD が疑われた 8 家系 10 症例について、PCR を用いて *GUCY2D* 遺伝子の全エクソンを増幅し、サンガー法によるシークエンシングにより、変異のスクリーニングを行った。

(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. 結果

2 家系 4 例に疾患と関連する遺伝子変異が検出された。家系 A の 2 症例は、p. R838H 変異を、他の家系 B の症例は p. R838C 変異

をヘテロ接合で持っていた。いずれも他の部位には、病因となりうる遺伝子変異は検出されなかった。発端者はいずれも黄斑の変化は軽微で、視神経乳頭が蒼白化しているため、当初は視神経疾患が疑われ精査を受けており、その後 ERG 検査と眼底 OCT 検査で錐体 (杆体) ジストロフィの診断に至っていた。(図 1)

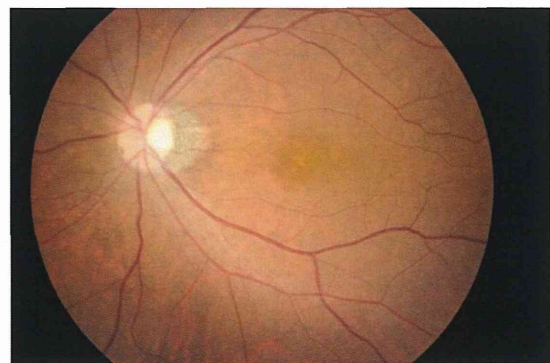


図 1 家系 B 発端者眼底写真

D. 考察

CORDは錐体が優位に障害にされる進行性の遺伝性網膜変性疾患である。常染色体遺伝を呈するCORDの原因遺伝子は少なくとも14種類同定されている。初期には眼底の変化が乏しく、診断に苦慮することがある。常染色体優性遺伝を示すものには、*GUCY2D*に変異を持つものがよく知られている。*GUCY2D*は視細胞に存在する guanylate cyclase 2D をコードする遺伝子である。*GUCY2D*のコードン838の変異は国外では報告が多く、変異も多種類報告されている。すでに日本人においても、複数の家系での報告があり、この部位が人種を超えて変異のホットスポットとなっていると考えられる。ところで、角膜ジストロフィとして常染色体優性を示す角膜ジストロフィは、*TGFBI*遺伝子の変異によるものが多いが、その変異は*TGFBI*遺伝子の2か所に集中している。その一つであるコードン124をコードする塩基配列を含む核酸13塩基対は、*GUCY2D*コードン838を含む核酸13塩基対の配列と同一である(図2)。近年、*de novo*にp.R838H変異が高頻度に起こっていることが観察されており²⁾、家族歴が明らかでない症例においても、候補遺伝子として解析を行う意義もあると思われる。

CORDは、これまで視神経疾患との鑑別診断

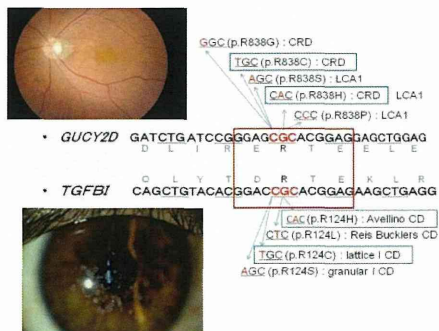


図2 *GUCY2D*と*TGFBI*の共通配列

が十分に行われていないままになっていた可能性があり、OCTの普及により再認識される可能性がある。

E. 結論：*GUCY2D*においては、コードン838の遺伝子変異の報告が多く、CORDのスクリーニングを行う意義のある遺伝子である。

F. 健康危険情報

無し

G. 研究発表

1. 論文発表

・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 118:283-97, 2014.

2. 学会発表

・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)

H. 知的財産権の出願・登録状況

無し

I. 参考文献

1. Ito S, Nakamura M, Ohnishi Y, Miyake Y: Autosomal dominant cone-rod dystrophy with R838H and R838C mutations in the *GUCY2D* gene in Japanese patients. Jpn J Ophthalmol 48: 228-35, 2004
2. Mukherjee R, Robson AG, Holder GE, Stockman A, et al: A detailed phenotypic description of autosomal dominant cone dystrophy due to a *de novo* mutation in the *GUCY2D* gene. Eye (Lond) 28:481-7. 2014

10. *USH2A* 遺伝子異常を認めた非症候群性網膜色素変性の 3 症例

分担研究者 堀田 喜裕

所属 浜松医科大学

研究要旨：

[目的] *USH2A* 遺伝子の両方のアレルに変異を認めた 3 症例の非症候群性網膜色素変性が疑われる患者の臨床像を報告する。[症例と方法] 症例 1 は 38 歳男性で孤発例。夜盲を自覚して 19 歳時に当科を紹介受診した。裸眼視力は右 1.5、左 1.5。視野は島状の孤立暗点を認めた。症例 2 は 61 歳女性で孤発例。夜盲を自覚していたが、54 歳時に近医を紹介受診した。矯正視力は右 0.7、左 0.8。視野は両眼とも中心 10 度の求心性視野狭窄。症例 3 は 61 歳男性。孤発例だが両親は近親結婚。視力低下を自覚して 51 歳時に当科を紹介受診した。矯正視力は右 0.8、左 1.0。視野は両眼とも中心 10 度の求心性視野狭窄。3 例とも網膜血管は細く、網膜色素上皮の広範な萎縮と多数の骨小体様の色素斑を認め、網膜電図は消失型であった。インフォームドコンセントの上、3 症例の血液より得られた DNA を抽出し、*USH2A* 遺伝子の 73 エクソンを PCR 法で増幅し、塩基配列を直接決定した。[結果] 症例 1 は c.685G>C(p.G229R)と c.3595_3597delGAA(p.E1199del)という 2 つの変異、症例 2 は p.G229R と c.2776C>T(p.R926C)という 2 つの変異、症例 3 は c.8559-2A>G のホモ接合体の変異を認めた。3 症例とも典型的な網膜色素変性患者であるが、症例 1 と症例 2 は耳鼻科による精査の結果異常を認めない。症例 3 は日常会話に問題はないが、聴力検査で異常を認めた。[結論] わが国で初めて *USH2A* 遺伝子異常による非症候群性網膜色素変性が疑われる症例を報告した。

A. 研究目的

網膜色素変性(Retinitis Pigmentosa, RP)は、視細胞と網膜色素上皮の機能をびまん性に障害する遺伝性、進行性の疾患である。RP の頻度は、4000~8000 人に 1 人と言われ、夜盲が初期症状のことが多く、進行すると求心性に視野が狭窄し、最終的に失明に至ることが多い眼科領域で最も重篤な疾患である。RP には、常染色体優性(autosomal dominant, ad)遺伝、常染色体劣性(autosomal recessive, ar)遺伝、X連鎖性遺伝形式が知られており、これまでに 60 個の原因遺伝子が同定され、遺伝的異質性が知られている。また RP は、Usher 症候群(USH)*や、Bardet-Biedl 症候群といった症候群の 1 所見としても知られており、症候群性の RP の原因遺伝子も明らかにされはじめている。RP に対する有効な治療法の開発

のためには、遺伝子レベルでの病因解明が重要である。本研究では、浜松医科大学眼科を受診した非症候群性の arRP 患者の内、*EYS*(Eyes Shut Homolog)遺伝子に原因変異を同定できた患者¹⁾を除いた患者を対象として、欧米の arRP 患者で変異の頻度が高いと報告されている *USH2A*(Usher syndrome 2A)遺伝子^{2),3)}の変異解析を行い、日本人における RP 患者の *USH2A* の変異と病態の対応関係の基礎データを創出することを目的とした。

*Usher 症候群(USH)は、感音難聴に RP を合併する常染色体劣性遺伝性疾患である。難聴の程度と前庭機能障害の有無により 1~3 型に分類され、2 型(USH2)の頻度が最も高い。USH2 の主な原因遺伝子として欧米^{2),3)}でもわが国^{4),5)}でも *USH2A* 遺伝子が知られているが、USH

ではなく、聴覚障害の合併のない非症候群性 RP でも *USH2A* 遺伝子異常の報告がある^{2),3),6-8)}。

B. 研究方法

眼科外来で詳細な問診と眼科的検査(視野検査、視力検査、眼底検査、網膜電図)により確定診断されたarRP患者の内、本学の倫理規定に基づき、遺伝子検査について十分な説明を行い、インフォームドコンセントが得られた上記患者の末梢血よりDNAを抽出し、*USH2A*遺伝子の73エクソンをPCRダイレクトシーケンス法にて解析した。また、変異を同定できた患者で、承諾の得られた者に対して聴力検査を行った。

【倫理面への配慮】

当該研究に関する遺伝子及び末梢血の収集にあたり、浜松医科大学の倫理委員会(ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理委員会承認番号第24-164号:平成25年1月)の承認を受けた。末梢血は、同意を得た患者または保護者より提供を受けた。採血前に本研究の研究内容、協力の任意性と撤回の自由、研究計画書等の開示、個人情報保護の保護、提供者の利益および不利益、解析結果の通知、研究成果の公表、研究終了後の試料等の取扱いの方針、知的財産権、費用、遺伝カウンセリング等について詳しく説明し、インフォームドコンセントを書面で得られたもののみを対象とした。本研究は、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」(文部科学省、厚生労働省、経済産業省)及び、「疫学研究に関する倫理指針」(文部科学省、厚生労働省)を遵守して行った。

C. 研究結果

本学眼科を受診した非症候群性のarRP患者の内、*EYS*遺伝子に原因変異を同定できた患者¹⁾を除いた患者を対象として*USH2A*遺伝子の変異解析を行い、3症例

に原因変異を認めた。それぞれの患者の臨床像と変異について下記に示す。

(1). 症例1

38歳男性で孤発例。夜盲を自覚して19歳時に当科を紹介受診した。裸眼視力は右1.5、左1.5。視野は島状の孤立暗点を認めた。新規のc.685G>C (p.G229R)と新規のc.3595_3597delGAA (p.E1199del)という2つの変異を同定した。分離解析の結果、p.E1199delは正常父親由来、p.G229Rは正常母親由来であり、健常者である兄はどちらの変異も認めなかった。

(2). 症例2

61歳女性で孤発例。小児期より夜盲を自覚していたが、44歳時に近医を初診した。矯正視力は右0.7、左0.8。視野は両眼とも中心10度の求心性視野狭窄。症例1と同じp.G229Rと新規のc.2776C>T (p.R926C)という2つの変異を同定した。

(3). 症例3

61歳男性。孤発例だが両親は近親結婚。視力低下を自覚して51歳時に当科を紹介受診した。矯正視力は右0.8、左1.0。視野は両眼とも中心10度の求心性視野狭窄。c.8559-2A>Gのホモ接合体の変異を同定した。

上記3症例は、網膜血管が細く、網膜色素上皮の広範な萎縮と多数の骨小体様の色素斑を認め、網膜電図は消失型であった。

3症例とも典型的なRP患者であるが、症例1と症例2は耳鼻科による精査の結果異常を認めない。症例3は、聴力検査を行うまでは日常会話に支障はなく、非症候群性のRPと思われていたが、聴力検査の結果、感音難聴を認め、後からUSH2と分かった。

D. 考察

症例1と症例2は、わが国で初めての

*USH2A*遺伝子異常による非症候群性の RP と考えられる。

わが国のUSH2患者の遺伝子解析は、中西らにより *USH2A*遺伝子の変異解析が行われており、19名のUSH2患者より15名から23種の原因変異が報告されている^{4),5)}。19名中4名に症例3と同様の c.8559-2A>G が同定されており、症例3は、この変異で初めてのホモ接合体の症例である。今回の解析により、c.8559-2A>G は、日本人の *USH2A*遺伝子異常の中で高頻度な変異であることが改めて確認できた。

E. 結論

わが国初の *USH2A* 遺伝子異常によると考えられる非症候群性の RP を報告した。

F. 健康危険情報

該当する危険なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Suto K, Hosono K, Takahashi M, Hirami Y, Arai Y, Nagase Y, Ueno S, Terasaki H, Minoshima S, Kondo M, Hotta Y. Clinical phenotype in ten unrelated Japanese patients with mutations in the *EYS* gene, *Ophthalmic Genet*, 2014, 35(1), 25-34.

Wang C, Hosono K, Ohtsubo M, Ohishi K, Gao J, Nakanishi N, Hikoya A, Sato M, Hotta Y, Minoshima S. Interaction between optineurin and the bZIP transcription factor NRL, *Cell Biol Int*, 2014, 38(1), 16-25.

2. 学会発表

Hotta Y, Hosono K, Suto K, Sato M, Mizuta K, Minoshima S. Three Japanese Cases with Autosomal Recessive Retinitis Pigmentosa associated with the *USH2A* Gene Mutation. APVRS, 2013, Nagoya.

Wang C, Hosono K, Kachi S, Terasaki H, Hotta Y, Minoshima S. Fine analysis of the deletions in red/green opsin genes and the upstream locus control region (LCR) found in two Japanese families with blue cone monochromacy (BCM). ARVO, 2013, Seattle.

堀田喜裕、細野克博、趙 洋、須藤希実子、大坪正史、水田邦博、峯田周幸、蓑島伸生・*USH2A* 遺伝子異常を認めた網膜色素変性の 3 症例・日本人類遺伝学会第 58 回大会・2013 年・仙台

細野克博、石上智愛、高橋政代、朴 東浩、上野真治、萩原 章、山本修一、佐藤美保、寺崎浩子、金 仁澤、東 範行、近藤峰生、蓑島伸生、堀田喜裕・網膜色素変性と関連疾患における *EYS* 遺伝子の 2 種類の変異の分子遺伝学的解析・第 117 回日本眼科学会総会・2013 年・東京

須藤希実子、細野克博、趙 洋、永瀬康規、水田邦博、峯田周幸、蓑島伸生、堀田喜裕・*USH2A* 遺伝子異常を認めた非症候群性網膜色素変性の 3 症例・第 67 回日本臨床眼科学会総会・2013 年・横浜

趙 洋、細野克博、須藤希実子、永瀬康規、水田邦博、大坪正史、峯田周幸、蓑島伸生、堀田喜裕・*USH2A* 遺伝子異常を認めた非症候群性網膜色素変性の 3 症例・第 20 回日本遺伝子診療学会大会・2013 年・浜松

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし。

2. 実用新案登録

なし。

3. その他

シンポジウム発表

細野克博、わが国の網膜色素変性患者の遺伝子解析の現状と近未来の可能性、第

61 回日本臨床視覚電気生理学会、2013年、大阪 76 : 383–391.

I. 参考文献

1. Hosono, K. 他 : Two novel mutations in the *EYS* gene are possible major causes of autosomal recessive retinitis pigmentosa in the Japanese population、*PLoS One*、2012、7 : e31036.
2. Seyedahmadi, BJ. 他 : Comprehensive screening of the *USH2A* gene in Usher syndrome type II and non-syndromic recessive retinitis pigmentosa、*Exp Eye Res*、2004、79 : 167–173.
3. McGee, TL. 他 : Novel mutations in the long isoform of the *USH2A* gene in patients with Usher syndrome type II or non-syndromic retinitis pigmentosa、*J Med Genet*、2010、47 : 499–506.
4. Nakanishi, H. 他 : Identification of 11 novel mutations in *USH2A* among Japanese patients with Usher syndrome type 2、*Clin Genet*、2009、76 : 383–391.
5. Nakanishi H. 他 : Novel *USH2A* mutations in Japanese Usher syndrome type 2 patients: marked differences in the mutation spectrum between the Japanese and other populations、*J Hum Genet*、2011、56 : 484–490.
6. Rivolta, C. 他 : Missense mutation in the *USH2A* gene: association with recessive retinitis pigmentosa without hearing loss、*Am J Hum Genet*、2000、66 : 1975–1978.
7. Bernal, S. 他 : Mutations in *USH2A* in Spanish patients with autosomal recessive retinitis pigmentosa: high prevalence and phenotypic variation、*J Med Genet*、2003、40 : e8.
8. Ávila-Fernández, A. 他 : Mutation analysis of 272 Spanish families affected by autosomal recessive retinitis pigmentosa using a genotyping microarray、*Mol Vis*、2010、16 : 2550–2558.

11. 近視性脈絡膜新生血管に対する ranibizumab 硝子体内投与の長期成績

分担研究者 大野京子

所属 東京医歯大

研究要旨

近視性 CNV は病的近視の合併症の中でも特に中心視力を著しく損なう疾患として重要である。近年、近視性 CNV に対して抗 VEGF 薬の硝子体注射が用いられるようになったが、長期的な成績は未だ不明である。

今回我々は、近視性 CNV に対して ranibizumab の硝子体注射を行い、42 ヶ月間の経過を追えた 15 名 15 眼の検討を行った。その結果、視力は 8 割以上で改善または維持が得られ、治療前に比して有意な視力改善も認めた。しかしながら徐々に視力は悪化傾向にあり、治療前の baseline の視力に戻りつつある。その原因としては治療後に発生する CNV 周囲の網脈絡膜萎縮が挙げられる。今後は網脈絡膜萎縮を発生させないような治療法を考えて行く必要があると思われる。

A. 研究目的

近視性脈絡膜新生血管（近視性 CNV）に対しての ranibizumab 硝子体内投与の長期成績を検討する。

B. 研究方法

対象は近視性 CNV に対して ranibizumab 硝子体内投与を行い、42 か月以上経過観察ができた 15 名 15 眼であり、診療録から後ろ向きに解析した。

年齢、屈折度、眼軸長、治療前および治療 2 年、4 年後の視力、注射後に発生した CNV 周囲網脈絡膜萎縮の有無を調査し、治療効果を判定した。また、治療効果を CNV の

発生位置（中心窩下あるいは中心窩外）によって比較検討した。

なお、ranibizumab 追加投与は蛍光眼底造影検査あるいは光干渉断層系にて滲出性の変化が認められる場合に行なった。

（倫理面への配慮）

当院の倫理委員会承認のもと、研究を行った。

C. 研究結果

15 眼中 6 眼（40.0%）は 1 回の治療で CNV の完全消失あるいは瘢痕化が得られた。

追加投与回数は平均 0.9 回であり最大でも

3 回であった。追加投与時期は平均で初回投与後 17.9 か月後 (5~46) であった。追加投与が必要となった群の CNV 面積は $2.20 \pm 2.64 \text{cm}^2$ 、必要としなかった群では $0.68 \pm 0.36 \text{cm}^2$ であり、有意に追加投与不要の群で CNV 面積が小さかった。

治療前、治療 4 年後の logMAR 視力での 2 段階以上の視力の改善は 15 眼中 7 眼 (46.7%) に認められ、2 段階以上の視力の悪化は 5 眼 (33.3%)、残りの 3 眼 (20.0%) は視力の維持であった。6 割以上の症例で視力の維持、あるいは改善を得られたが、治療前の logMAR 視力は 0.51、最終受診時の logMAR 視力は 0.41 で、有意な改善は認められなかった。

治療後に CNV 周囲に網脈絡膜萎縮が発生した症例は 15 眼中 11 眼あり、視力悪化群では全例に網脈絡膜萎縮が発生していた。CNV の生じた位置による治療効果の違いであるが、追加投与は中心窩下に生じた CNV (中心窩下 CNV) では平均 1.1 回、中心窩外に生じた CNV (中心窩外 CNV) では平均 0.3 回と中心窩外 CNV の方が追加投与は少なかった。

D. 考察

近視性 CNV に対して ranibizumab 硝子体内投与することによって視力の改善あるいは維持が 6 割以上にみられ、長期経過においても一定の効果があることが確認された。中心窩外 CNV は中心窩下 CNV よりも治療の効果が期待され、また治療前の CNV 面積が大きいと追加投与の必要が懸念されることがわかった。視力が悪化した群では網脈絡膜萎縮の発生が全例に認められ、治療後の CNV 周囲に生じる網脈絡膜萎縮が視力

予後に大きく影響すると思われる。

2012 年度に報告した近視性 CNV に対する bevasizumab と効果を比較すると、追加投与回数では大きな差はなかったが、bevasizumab 投与では約 8 割に視力の維持、改善が得られたのに対して、ranibizumab では約 6 割に留まった。まだ ranibizumab 投与の症例が少ないため、今後より多数での検討が必要である。

E. 結論

近視性 CNV に対する ranibizumab 硝子体内投与は長期的にみても有効であると思われる。

F. 研究発表

1) 国内

口頭発表	3 件
原著論文による発表	0 件
それ以外 (レビュー等) の発表	1 件
そのうち主なもの	
論文発表	
なし	
学会発表	

「近視性脈絡膜新生血管に対する抗 VEGF 療法の 4 年成績」、土屋香、大野京子ほか、117 回日本眼科学会総会

2) 海外

口頭発表	0 件
原著論文による発表	0 件
それ以外 (レビュー等) の発表	0 件
そのうち主なもの	
論文発表	
なし	

学会発表
なし

1 特許取得

なし

2 実用新案登録

なし

G. 8 知的所有権の出願・取得状況（予定
を含む

3 その他

なし

12. 黄斑部毛細血管拡張症診断基準の作成

分担研究者 飯田知弘¹、山下英俊²

研究協力者 古泉英貴¹、丸子一朗¹、桐井枝里子²

所属 ¹東京女子医科大学 ²山形大学

研究要旨

黄斑部毛細血管拡張症 (IMT) は黄斑部の毛細血管拡張を特徴とする疾患群の総称である。2006 年に Yannuzzi らは臨床的特徴の差異により Type 1 (血管瘤型)、Type 2 (傍中心窩型)、Type 3 (閉塞型) といったサブタイプ分類を行ったが、明確な診断基準が存在しないことが問題であった。我々は IMT の中でも頻度の高い Type 1、Type 2 の診断基準を作成し、その有用性を検討した。作成した診断基準は具体的な検査所見が記載されており、診断およびサブタイプの分類に非常に有用であると考えられた。

A. 研究目的

Type 1 IMT、Type 2 IMT の診断基準を作成し、その有用性につき検討すること。

B. 研究方法

診断基準は以下の通りとした。

Type 1 IMT

- ① フルオレセイン蛍光眼底造影 (FA) で片眼性の多発性の毛細血管瘤を伴う黄斑部網膜毛細血管拡張と蛍光漏出
- ② 網膜静脈分枝閉塞症、糖尿病網膜症など他の網膜血管病変による変化が否定される

上記の①かつ②を満たすものを確実例とする

Type 2 IMT

- ① FA で両眼性に黄斑部網膜毛細血管拡張と蛍光漏出がみられる
- ② 光干渉断層計で FA の蛍光漏出に一致しない網膜内外層の萎縮

上記の①かつ②を満たすものを確実例とする

上記診断基準に基づき、山形大学に受診した IMT 全 7 例 7 眼のサブタイプ分類につき後ろ向きに調査した。

C. 研究結果

全 7 例の内訳は男性 6 例、女性 1 例、平均年齢は 63.3 歳 (44 歳～78 歳) であった。全 7 例 7 眼で Type 1 IMT の診断基準①および②を満たしていた。Type 2 IMT の診断基準を満たす症例は存在しなかった。

D. 考察

山形大学における症例の検討では全例が Type 1 IMT と診断された。過去の日本人 IMT の特徴に関する Maruko らの報告 (Jpn J Ophthalmol 2012) においても全 IMT 27 例中、20 例 (74.1%) が Type 1、5 例 (18.5%) が Type 2、2 例 (7.4%) が Type 3 と診断されており、Type 2 IMT の

頻度の高い欧米の場合とは異なり、今回の研究でも本邦において Type1 IMT の頻度が高いという事実が裏付けられた。

E. 結論

今回作成した IMT の診断基準は簡便かつ具体的な検査所見が記載されており、診断およびサブタイプの分類に非常に重要であると考えられた。

G. 研究発表

1. 論文発表

Maruko I, Iida, T, Sugano Y, et al.

Demographic features of idiopathic macular telangiectasia in Japanese patients. Jpn J Ophthalmol 2012;56:152-158.

2. 学会発表

木村真智子、古泉英貴、飯田知弘、中井義秀、後部硝子体剥離発生に伴い網膜所見が消失した Type 2 黄斑部毛細血管拡張症. 第 30 回日本眼循環学会、東京、2013 年 7 月 19 日

。

13. 難治性視神経症における視機能と Phosphene の関係

分担研究者 不二門 尚
研究協力者 遠藤高生 森本壮
所属 大阪大学

研究要旨

外傷性視神経症に対し経角膜電気刺激を行い、その治療効果および、疑似光覚の知覚閾値が視機能評価、予後予測に活用出来るかを検討した。電気刺激治療により、半数程度の症例で何らかの視機能改善が得られた。疑似光覚の知覚閾値と視野の回復の間に相関関係があり、予後の予測に有用である可能性が示唆された。

A. 研究目的

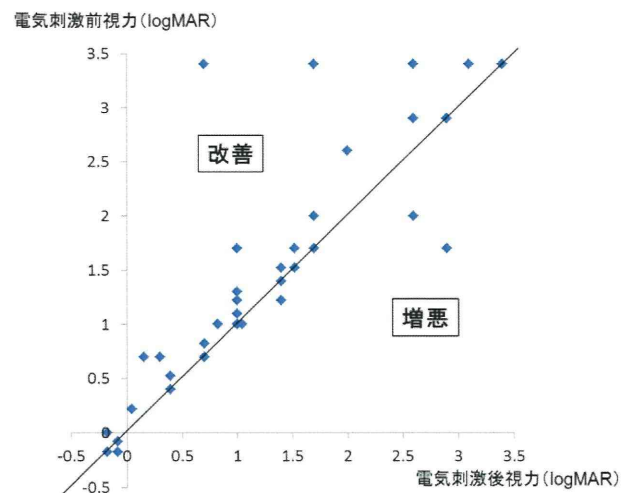
経角膜電気刺激（Transcorneal Electrical Stimulation：TES）とは、コンタクトレンズ型電極を用いて網膜を電気刺激することにより神経保護効果が得られるという治療法であり、主に難治性視神経症に対してこの治療が行われる。この電気刺激に伴い、刺激の強さに応じて Phosphene（疑似光覚）が発生するが、この Phosphene を視神経・網膜残存機能の評価および視機能予後の予測に活用出来るかを検討する。

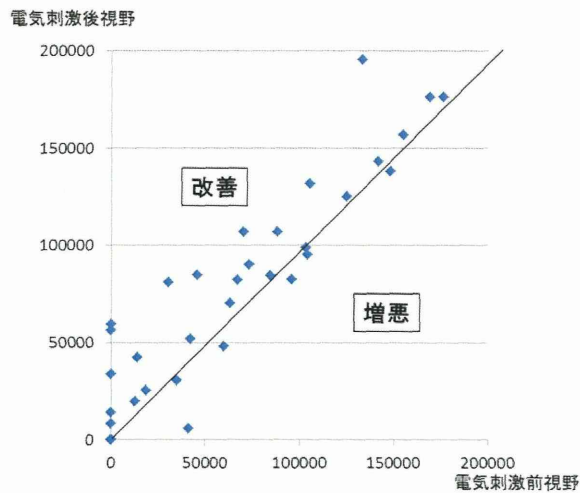
B. 研究方法

大阪大学医学部附属病院にて電気刺激治療を受けた片眼性の外傷性視神経症患者 42 人（男性 34 人、女性 8 人、 32.9 ± 19.9 歳）に対して電気刺激を行い、得られた Phosphene と視力、OCT による網膜厚、視野を比較した。電気刺激条件は 20Hz の交流電流、電流量は $50 \sim 2000 \mu A$ 。視野のどこかに Phosphene が発生する最低の電流量を周辺 Phosphene 閾値、視野中心に Phosphene が発生する電流量を中心 Phosphene 閾値とした。

C. 研究結果

周辺 Phosphene 閾値が低いほど視力良好で視野が広がったが、網膜神経線維層厚と Phosphene 閾値は有意な相関を認めなかった。電気刺激治療後では、44%が 2 段階以上の視力改善、50%が 2 割以上の視野拡大を認めた。





Phosphene 閾値と視力回復に相関は無かったが、視野拡大とは相関を認めた。

● 周辺Phosphene閾値と視野変化		● 中心Phosphene閾値と視野変化	
20%以上改善	改善なし	20%以上改善	改善なし
周辺Phosphene閾値 200 μ A未満	5眼	12眼	5眼
200 μ A以上	12眼	5眼	5眼

カイ2乗検定 $X^2=4.235$ $P=0.040$

D. 考察

Phosphene 閾値は視力、視野と相関しており、視神経・網膜残存機能を反映していると考えられる。Phosphene 閾値が高いほうが広汎に視神経損傷されており、治療による改善効果が出やすい。

E. 結論

難治性視神経症において経角膜電気刺激は視神経・網膜残存機能評価法として有用である。また、Phosphene 閾値は治療後の視野予測に有用である可能性がある。

F. 健康危険情報

軽度の充血、点状表層角膜症など（1,2日で改善）

G. 研究発表

1. 論文発表

・ Morimoto T, Kanda H, Miyoshi T, Mihashi T, Hirohara Y, Kitaguchi Y, Nishida K, Fujikado T. Characteristics of retinal reflectance changes induced by transcorneal electrical stimulation in cat eyes PLOS ONE, in press.

・ 遠藤高生他、抗アクアポリン 4 抗体陽性視神経炎の全国アンケート調査：日本眼科学会雑誌に投稿、revise 中

2. 学会発表

・ 遠藤高生他、抗アクアポリン 4 抗体陽性視神経炎の全国アンケート調査：第 67 回日本臨床眼科学会（横浜 10 月 31 日）

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし

I. 参考文献

1、Fedorov A, Jobke S, Bersnev V, et al: Restoration of vision after optic nerve lesions with noninvasive transorbital alternating current stimulation: a clinical observational study. Brain Stimul. 4 :189-201, 2011.

2、Naycheva L, Schatz A, Röck T, et al: Phosphene thresholds elicited by transcorneal electrical stimulation in healthy subjects and patients with retinal diseases. Invest Ophthalmol Vis Sci. 53: 7440-7448, 2012.