

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等政策研究事業  
（難治性疾患政策研究事業）  
「希少難治性角膜疾患の疫学調査」

分担研究報告書

「膠様滴状角膜ジストロフィの診断基準、重症度分類および治療指針の確立と  
その啓蒙による予後の改善」

研究分担者	川崎 諭	大阪大学 眼免疫再生医学共同研究講座	特任准教授
研究分担者	村上 晶	順天堂大学 眼科学教室	教授
研究協力者	松田 彰	順天堂大学 眼科学教室	准教授
研究協力者	舟木 俊成	順天堂大学 眼科学教室	准教授
研究協力者	中司 美奈	京都府立医科大学 眼科	医員
研究協力者	中川 紘子	京都府立医科大学 眼科	医員
研究分担者	新谷 歩	大阪大学 臨床統計疫学寄付講座	教授
研究協力者	山本 紘司	大阪大学 臨床統計疫学寄付講座	准教授
研究協力者	関 季子	大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部	特任研究員
研究協力者	繁田 龍二郎	大阪大学 脳神経感覚器外科学（眼科）	医員

**【研究要旨】**

膠様滴状角膜ジストロフィは 10 歳代に角膜にアミロイド沈着が生じて著しい視力低下を来す疾患である。本疾患は 1914 年に中泉によって初めて報告され、その後も日本人研究者によって疾患本態の究明がなされ続けられた。本疾患は 3 万人に 1 人と稀であるとはいえ、現時点の治療法をもってしても視機能を生涯にわたって維持することが困難な疾患であり、多くの患者は慢性的な低視機能状態とそれを維持するために繰り返し行われる外科的治療を受け入れざるを得ないのが現状である。本研究課題は、本疾患の診断基準、重症度分類、診療ガイドラインを確立して、本疾患の予後を改善することを目的としている。今年度は診断基準、重症度分類、治療指針の暫定版を作成し、また疫学調査のデータを収集して保管するシステムとして REDCap にてデータベースを構築しデータ入力を開始した。また膠様滴状角膜ジストロフィは遺伝性疾患であり、また臨床表現型の多様性が見られるため、診断確定のために遺伝子検査のシステムを構築し実際の解析に着手した。

**A. 研究目的**

膠様滴状角膜ジストロフィ（Gelatinous Drop-Like Dystrophy）は 10 歳代に角膜にアミロイド沈着が生じて著名な視力低下をもたらす疾患である。本疾患は 1914 年に中

泉によって世界で初めて報告され、その後 1999 年には辻川によって責任遺伝子が発見され、さらに 2010 年には中司らによって分子病態が解明された。日本人研究者はこの疾患の謎の解明において世界で最も貢献し

ていると言っても過言ではない。

本疾患は稀であるとはいえ、現時点の治療法をもってしても視機能を維持することが困難な疾患であり、多くの患者は慢性的な低視機能状態とそれを維持するために繰り返し行われる外科的治療を受け入れざるを得ないのが現状である。平成 22 年度に厚生労働省の難治性疾患克服研究事業に採択されてから、本疾患の標準的治療レジメンの確立と新規治療法の創出という課題で平成 24 年度までの 3 年間の研究期間の間に、分子病態の解明に成功し、患者由来の不活化細胞を樹立することに成功した。また不活化細胞を用いて、遺伝子治療の可能性についてレンチウイルスとプラスミドの両面から検討し、生化学的レベルではあるものの遺伝子治療の有効性を示すことに成功した。本疾患は両アリの機能喪失性変異が原因であることから、遺伝子治療が根治的治療となることは早くから予想されていた。遺伝子治療が実際の臨床の場に出るまでにはまだまだかなりの年数が必要であることから現在の技術水準において患者の予後を改善する方策を考えなくてはならない。

今年度から本研究課題（希少難治性角膜疾患の疫学調査）が厚生労働省の難治性疾患等政策研究事業として採択された。本疾患は本研究課題で対象とされる 6 つの疾患領域のうちの一つ、角膜ジストロフィにおいて対象とする疾患である。本研究課題では本疾患の疫学調査、学会主導で全国共通の診断基準や重症度分類、診療ガイドラインの確立や改正およびそれらの普及・啓蒙を行うことを目的とする。これらにより、本疾患における診療の均てん化が図れ、患者は国内の広い範囲で均一な診療を受けることが可能となり、巨視的な視点で我が国における本疾患の予後改善が期待できるもの

と考えている。

## B. 研究方法

本研究課題の目的は希少難治性角膜疾患において、学会承認レベルの診断基準、重症度分類、診療ガイドラインを確立し、さらにそれらを眼科医や患者に広く啓蒙して希少難治性角膜疾患の予後を改善することにある。今年度はそのための疫学調査を開始し、診断基準、重症度分類、診療ガイドラインの暫定版を研究班で作成することとした。また疫学調査のデータを収集して保管するシステムとして REDCap にてデータベースを構築することとした。また膠様滴状角膜ジストロフィは遺伝性疾患であり、また臨床表現型の多様性が見られるため、角膜専門の眼科医であっても時に診断を誤ることがあるため、診断確定のために遺伝子検査を実施することとした。

（倫理面への配慮）

すべての研究はヘルシンキ宣言の趣旨を尊重し、関連する法令や指針を遵守し、大阪大学および各施設の倫理審査委員会の承認を得たうえで行うこととする。また遺伝子検査については、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する指針を遵守することとする。また個人情報の漏洩防止、患者への研究参加への説明と同意の取得を徹底する。

## C. 研究結果

疫学調査のためのデータベース構築は大阪大学臨床統計疫学寄附講座と共同で行った。調査項目を過去の厚生労働省研究を参考に研究班内で議論して決定し、入力時には簡便に入力できるように、プルダウンメニューとするなどの工夫を凝らした。遺伝子検査については、大阪大学のゲノム審査に申請して 2015.2.25 に承認された。（承認

番号：548) 遺伝子検査に関し、研究員に対しゲノム DNA 抽出、PCR、シーケンス反応の教育を行った。また解析ソフトウェアとしては Variant reporter を用い、情報漏えい防止のため、インターネットから隔絶された PC を用意して解析専用とした。Variant reporter から出力されるデータはそのままでは解釈しにくく、また既知の遺伝子変異や既知の SNPs との一致についても検討する必要がある。そのため、Variant reporter からの出力ファイルを読み込んで、既知の遺伝子変異や既知の SNPs との一致について検討して病的変異の有無を自動的に解析するソフトを perl スクリプトを用いて自前で作成した。(参考資料-1 を参照) さらにそこから出力されるテキストファイルを読み込んで自動的に遺伝子解析結果を整形するエクセルマクロについても自前で作成した。(図を参照) これらのデータは匿名化され個人情報が伏された状態で(連結可能匿名化ではある)大阪大学ネットワーク内でセキュリティを担保したうえで REDCap データベースとして蓄積される予定である。遺伝子検査全体の流れについて標準手順書(SOP)を作成した。(参考資料-2 を参照)。

#### D. 考按

本疾患は表現系が多様であるため臨床診断のみでは確実とはいえない。これまで調査した本疾患患者のなかにはおそらく本疾患ではないものも含まれていると推測している。遺伝子診断は遺伝性疾患の診断において極めて有用であるにもかかわらず、現在のところ遺伝子診断が可能な疾患は限られている。今年度、我々が確立した遺伝子診断システムを用いて、本疾患の確定診断が可能となるが、本研究期間の3年間の後にも継続して行い、日本全国の症例の診断

に役立てたいと考えている。

今年度、診断基準、重症度分類、治療指針について暫定版を作成した。今年度から来年度にかけて行う疫学調査の結果を踏まえ、さらなる改良を継続して行っていきたいと考えている。

#### E. 結論

今年度の予定であった疫学調査についてはデータベースの構築、遺伝子検査のシステム構築、ソフトウェア開発などの枠組みをほぼ完了した。データについては現在入力中であり、来年度初めには大半のデータ入力が終了するものと予想している。今年度の達成度としては年度開始時に想定したものをほぼ達成できていると考える。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Nakamura T, Hamuro J, Takaishi M, Simmons S, Maruyama K, Zaffalon A, Bentley AJ, Kawasaki S, Nagata-Takaoka M, Fullwood NJ, Itami S, Sano S, Ishii M, Barrandon Y, Kinoshita S: LRIG1 inhibits STAT3-dependent inflammation to maintain corneal homeostasis. *J Clin Invest* 124: 385-97, 2014
2. Koh S, Maeda N, Ikeda C, Asonuma S, Mitamura H, Oie Y, Soma T, Tsujikawa M, Kawasaki S, Nishida K: Ocular forward light scattering and corneal backward light scattering in patients with dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 55: 6601-6, 2014

## 2. 学会発表

川崎諭 日々の実験におけるちょっとしたコツ~PCR から遺伝子クローニング、不死化細胞の樹立まで~眼科基礎研究スキルトランスファー ~続・基本戦術とスキルを身につけよう~, 第118回日本眼科学会総会 2014年4月4日(金), 帝国ホテル, 東京

## H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案特許  
なし
3. その他  
なし