

## 第 104 回 日本眼科学会総会 特別講演 I

視 神 経 炎  
— 診断から移植治療まで —

安 達 恵美子

千葉大学医学部眼科学教室

## 共同研究者

藤本 尚也, 溝田 淳, 津山 嘉彦, 高相 道彦, 四倉 次郎, 池尻 充哉,  
塙 忠雄, 水野谷 智, 出沢 真理, 佐伯 雅基, 五十嵐祥了, 宮内 修,  
石川 一之, 伊藤 彰, 根岸 久也, 佐藤 栄寿, 横山 暁子, 末廣伸太郎,  
忍足 俊幸, 柿沼 健裕, 新村美代子, 今関亜希子, 高橋 敏江, 窪田 伸矢,  
谷合真理子, 千葉 益子, 羽鳥 優子, 塙 勝博, 中村 敏夫, 平井 亜紀,  
根岸千里子, 星野 章子, 安達 七生, 上原淳太郎, 古山 誠, 佐和 未央,  
鈴木慎太郎, 若山 美紀, 莫 曉芬(千葉大学医学部眼科学教室)

## 要 約

視神経炎は視神経の炎症と定義されるが, その診断, 治療は容易ではない. 1884 年, Nettleship はその臨床像を 28 症例にまとめて報告した. 以来, 今日に至るまで, その臨床像は全く変わらず, この間, 進歩したものは診断法と治療法である.

1971 年に, 著者は視神経炎において視覚誘発電位 (visually evoked cortical potentials, VECP) の波形の出現閾値上昇があることを報告した. 視神経炎の他覚的診断に VECP が有効であることを示したものと評価された. その後, 神経内科の Halliday 一派は, 多発性硬化症 (multiple sclerosis, MS) の症例で視神経炎が合併しない症例でも 93% に VECP の潜時の遅れがあるという報告をした. 潜在する視神経炎を検出できる MS 診断の切り札とも思われた. しかし, 彼らの症例では眼科的検査結果は明らかでなく, どの程度の総合判断のもとに診断されたのかという疑問があった.

加えて, VECP と視機能との関連も明らかでないままであった. 我々は, その後, VECP の諸特性の研究を続け, 瞳孔の大きさ, 調節幅, 中心部視力, 色覚, 網膜輝度, 刺激図形のコントラスト, 空間周波数特性, 時間周波数特性など, 眼科医の立場から明らかにしてきた.

これら諸特性をふまえて, 臨床診断に最適の刺激を提示可能にするための刺激機器の開発を行い, 偏光板を組み合わせたもの, テレビジョン方式によるカラーパターン反転装置など, 世界に先駆け発表した実績を持つ.

自己開発したこれらの装置を用い, 過去 21 年間, 視神経炎の診断に応用し, VECP の診断価値を 100% に至らした結果をまとめた. 一施設からの 272 症例の集計は, その数から, 国際的にも最大のものであり, その臨床像が, 人種差を比較する上でも貴重なものと考えられる. 視神経炎の原因を MS に求める欧米型の報告は, 神経内科サイ

ドのものであり, 人種差が強調されている. 我々の統計では, その臨床像も欧米との差がなく, 原因としての MS の頻度も差がなかった.

治療法は副腎皮質ステロイド薬の使用法のうち, 眼球のテノン嚢下への局所注が最適の方法であることを明らかにした.

しかしながら, それでも不可逆の視神経萎縮に陥る例もあり, その治療法に向けて視神経移植が期待される.

視神経の再構築は, まず網膜神経節細胞の存在, 再生がなくては実現し得ない. そこで, 我々は虚血, 視神経切断で障害されたラット網膜を対象として, ラットの硝子体中に種々の神経栄養因子 brain-derived neurotrophic factor (BDNF), glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF), ciliary neurotrophic factor (CNTF) など, さらに heat shock protein 27 を electroporation 手法で遺伝子導入し, 再生率が高い条件を明らかにした. さらに, この際, Mx-e-fos マウスを用い, e-fos が再生に抑制的に働くことを見出した.

その上で, 培養 Schwann 細胞を主成分とした人工移植片を用いて, 視神経切断部に移植を行い, 上丘への架橋を行った. 移植直後に硝子体中に BDNF, CNTF, Insulin, forskolin を注入すると, 上丘から逆行性に diI で染色された神経節細胞の再生率は, 15% にもなっていた.

臨床的には, 角膜移植, 眼内レンズなど, 何十年か後に実際に臨床治療につながった, 基礎的な研究の時代が多々ある. 近い将来, 視神経回路網の保存と再構築が臨床応用できると期待したい. (日眼会誌 104: 841—857, 2000)

キーワード: 視神経炎, 視覚誘発電位, 核磁気共鳴画像, 多発性硬化症, 視神経移植

別刷請求先: 260-8670 千葉市中央区亥鼻 1-8-1 千葉大学医学部眼科学教室 安達恵美子

(平成 12 年 6 月 21 日受付, 平成 12 年 6 月 27 日改訂受理)

Reprint requests to: Emiko Adachi-Usami, M.D. Department of Ophthalmology, Chiba University School of Medicine, 1-8-1 Inohana, Chuo-ku, Chiba 260-8670, Japan

(Received June 21, 2000 and accepted in revised form June 27, 2000)



## A Review

### Optic Neuritis

— From Diagnosis to Optic Nerve Transplantation —

Emiko Adachi-Usami

*Department of Ophthalmology, Chiba University School of Medicine*

#### Abstract

Optic neuritis is a clinical syndrome resulting from inflammation, demyelination, or infection of the optic nerve. Its diagnosis and treatment are complicated. In 1884, Nettleship first reported 28 cases of optic neuritis whose clinical symptoms have been accepted up to the present without any change. On the other hand, the development of diagnostic procedures and steroid therapy have also altered the clinical features of optic neuritis. Among several developed diagnostic procedures, the visually evoked cortical potential (VECP) has become a good tool to prove the impairment of the optic nerve. In 1971, we reported a decrease of threshold intensity required to evoke VECPs in optic neuritis patients whose visual acuity was relatively well preserved. In the same year, Halliday et al. reported that pattern VECP (PVECP) was delayed in 93% of patients with multiple sclerosis (MS) without optic neuritis. Stimulated by this report, a great number of studies appeared to show the usefulness of PVECP in the diagnosis of MS. However, few of these studies gave descriptions of ophthalmic findings. PVECP later become known to be closely related with ophthalmic conditions. In the ophthalmological field, we reported the influence of pupillary size, accommodation power, refractive powers, eccentricity of stimulated retinal area, retinal luminance, contrast, wavelengths, spatial and temporal frequencies, stimulus field etc. On the basis of our results, we developed a television display system in 1975 and applied it clinically.

In the present study, we reviewed the medical records of a total of 272 cases of optic neuritis who presented in our clinic between 1978 and 1999. In the diagnostic, therapeutic point of view in relation with the data of other countries, the study was important regarding the racial differences and recent conceptions of optic neuritis.

The results showed that there were no racial dif-

ference in optic neuritis as had been thought. The development from optic neuritis to multiple sclerosis was not less than in Caucasian patients.

Regarding steroid therapy, we found that the most effective method was sub-Tenon injection.

For cases which recur and progress to optic atrophy, optic nerve transplantation will be needed.

Therefore, we have been studying the reconstruction of the optic nerve in Wistar rats. We experimentally damaged the ganglion cells by causing ischemic retina with ligation of the ophthalmic artery and cutting the optic nerve just behind the eyeball. To prevent the apoptosis of ganglion cells, we injected various neurotrophic factors such as BDNF, GDNF, and HSP 27 into the vitreous. For effective injection of DNA, electroporation was applied and the best condition for avoiding apoptosis was chosen. Further, in Mx-c-fos transgenic mice, we found that regeneration of ganglion cells was inhibited.

Based on the rescue study of the ganglion cells, optic nerve transplantation was performed using an artificial graft in which cultured Schwann cells from the ischiatic nerve, BDNF, CNTF, insulin, and forskolin were compound and bridged to the superior colliculus. The results showed a regeneration rate of the optic nerve axon of 15%. This rate was much higher than in other reports.

Keratoplasty and intraocular lens implantation had a relatively long history of research before achieving clinical success. We believe that optic nerve transplantation will one day be successful in clinical treatment in the same way. (J Jpn Ophthalmol Soc 104: 841–857, 2000)

**Key words:** Optic neuritis, Visually evoked cortical potentials, Magnetic resonance imaging, Multiple sclerosis, Optic nerve transplantation

#### I 緒 言

視神経炎(optic neuritis, ON)は、炎症、脱髄、感染が視神経に及んだときに生ずる臨床診断名である。

1884年、Nettleship<sup>1)</sup>は on cases of retro-ocular neuritis と題して、28例の症例をまとめて発表した。その論文の冒頭には「retro-ocular neuritis といういかにも漠然としたタイトルのもとに、視神経のほんの僅かな部分に急



な炎症が生じたためと考えられる稀な症例を述べる。」とある。

この 28 例を詳しく紹介し、各々に共通な症状を総括してあるが、116 年たった現在まで、その臨床像は何ら変わることがないのでここに紹介する。

1. 眼球運動痛を伴った片眼性の急性、亜急性の視力低下。
2. ほとんどが 1 か月以内に回復する。
3. 平均年齢 35 歳 (18~61 歳)。
4. 中心暗点。
5. 色覚が変わる。
6. 初期は検眼鏡的にほとんど変化なし。

当時、検査が可能であったと思われるが列挙されていない所見は、本疾患診断に不可欠とされる相対求心性瞳孔反射の欠如位である。

その後、116 年後の 2000 年に至る間に進歩した画期的な診断法は電気生理学的検査と画像診断である。

治療法においては副腎皮質ステロイド薬 (以下、ステロイド) である。

加えて、原因論は展開して、梅毒、結核から、特に多発性硬化症 (multiple sclerosis, MS) との関連がクローズアップされてきた。そのため、神経内科サイドからの報告がほとんどで、ON はその一部分症として扱われているきらいがある。ON を眼科サイドから多数例集めている報告は少ない。近年は多施設協力下の集計報告<sup>2)~4)</sup>があるが、その診断法、治療法、臨床像のとらえ方も一様に統一されないことから、難しい課題である。理想的にはまず、一施設から十分な症例数で検討されることである。

欧米でも Cohen ら<sup>5)</sup>の Boston 大学 (1976)、Miller ら<sup>6)</sup> (1988) のロンドン神経病研究所を代表としていくつかの報告はあるが、神経内科側からで、症例数も十分ではない。本邦では、第 85 回日本眼科学会の特別講演でまとめられた諫山ら<sup>7)</sup>の神戸大での 84 例の検討がある。この報告は眼科サイドからの統計的解析の英文での唯一例として、国際的見地から貴重なものである。

今回、千葉大学眼科で集計できた 272 例の視神経炎の解析は、その数において、そして、その後の診断手法の進歩とあいまって、本邦における ON の実態を新たに考察できる資料になると考え、臨床像、診断、MS との関連を検討した。加えて、ステロイド療法の使用法の差の効果をまとめた。さらに、すでに回復不能に陥ってしまった視神経の再生、再構築をめざした視神経移植の治療につながる可能性に向けての動物実験の現況を報告する。

## II 診断手法の進歩とその実態

### 1. 電気生理学的診断法の確立

1) パターン視覚誘発電位 (pattern visually evoked cortical potentials, PVECP)

著者ら<sup>8)</sup>は 1972 年、視力低下が僅かで、乳頭所見正常

な診断が困難な ON 5 例において、VECP の刺激条件を選択することにより、VECP 閾値上昇のあることを報告した。すなわち、錐体系の障害される ON には、錐体機能を実際に分離され得る条件を設定した。背景光に杆体機能を押さえ得る明るさと、467 nm の波長を用い、刺激光として錐体系のみが関与し得る 630 nm を用いたものである。時を同じくして、イギリスの神経内科の Halliday ら<sup>9)</sup>は、MS に起因する ON では、PVECP の P 100 成分の頂点潜時が延長することを報告した。潜在する ON の検出にも 93% の異常があるというものである。この報告以降、PVECP が MS の診断に期待されるようになり、彼らの報告を支持する報告<sup>10)~12)</sup>が氾濫する。眼科サイドからの興味は未だ薄く、神経内科サイドがほとんどで、いずれも眼科所見の明細な記述に乏しい。

因に、1986 年に教室から<sup>13)</sup>158 例の ON の統計で、MS に起因するものは 24% と報告したところ、何でも MS と診断したら困る、とクレームを付けられたほどの関心の薄い分野であった。

当時、パターン刺激装置は、各研究者が独自に開発していたものであるから、その研究施設は限られていた。著者ら<sup>14)</sup>は 1975 年、全くの手作りで偏光板方式の刺激装置を試作したが、刺激パラメータが限られることから、テレビジョン・ディスプレイを用いた装置を 1978 年<sup>15)</sup>に開発した。眼科医としての発想から、コントラスト、輝度、空間周波数、時間周波数、反転頻度、図形 (輪状も) 刺激野の内縁、外縁を連続的変換できるものである。

この装置はその後、市販されるに至る。1981 年には白黒のパターン発生システムに色度、飽和度、波長、明度を自在に変換できるシステムを加えるなど、等エネルギー・パターン発生装置を開発した<sup>16)</sup>。この装置は欧米でも利用されるに至っている。

臨床応用には白黒テレビモニター上に映し出される刺激装置を 1978 年来ルーチンに用いている。今回の統計は同装置で 1978~1999 年に至る 21 年間に千葉大学医学部附属病院眼科外来を受診した、ON 患者から記録した PVECP をまとめたものである。

#### 2) 教室における ON の PVECP

PVECP 検査実施数：

1988 年以前の記録のプロトコールを紛失したため、1989~1999 年までの実施数を表 1 に示す。11 年間で 5,090 件である。

現時点で 3 人の眼科医が病歴から、再度検討し、視神経炎として診断して follow-up できた 190 例について統計的検討を行った。正常対照は 109 例 109 眼である。

PVECP の記録条件：

刺激装置は、1975 年に著者ら<sup>14)</sup>が独自に開発したディスプレイ上に白黒チェックを時間的に矩形波モードで反転させるものを使用した。

平均輝度は 39 cd/m<sup>2</sup>、コントラスト 80%、反転頻度は 3

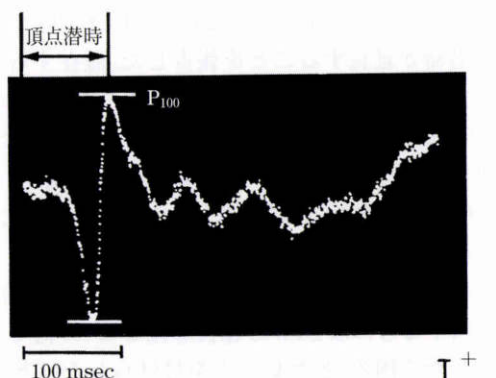


表 1 千葉大学医学部附属病院眼科における年度別 PVECP 実施件数

| 年度     | 1989 | 1990 | 1991 | 1992 | 1993 | 1994 | 1995 | 1996 | 1997 | 1998 | 1999 |
|--------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 実施数(件) | 457  | 539  | 408  | 167  | 354  | 328  | 422  | 482  | 525  | 650  | 758  |

PVECP: パターン視覚誘発電位

transient (3 rev/sec)



steady state (15 rev/sec)

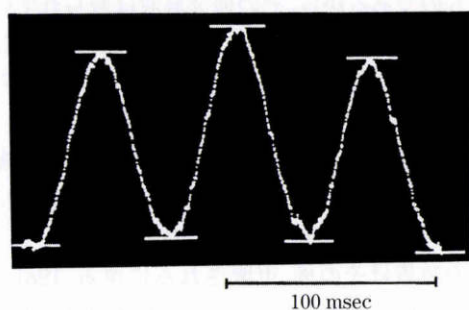


図 1 transient pattern visually evoked cortical potentials(PVECP)(上半)と steady state PVECP(下半).

回/秒(transient PVECP, t-PVECP)と 12 回/秒(steady state PVECP, s-PVECP)の 2 種とした。チェックサイズは視角 15' と 30', 刺激視野は 12°×7°と設定した(観察距離は 170 cm)。画面の輝度とチェックのコントラストは経年変化に備えて、常に上述の値に一定に保たれるよう、刺激装置に操作機能が加えられている。

電極は頭皮上 0 z—両耳朶連結とし、頭皮上に置いた陽性電極を上向きの振れとするように前置増幅器に接続した。誘導された電位は前置増幅器(VC-9, 日本光電)で、電気フィルタ 1.5~100 Hz の幅で増幅し、加算平均器(ATAC-350, 日本光電)で 100 回加算平均した。解析時間は、t-PVECP は 500 ms, s-PVECP は 200 ms とし、加算平均された電位は XY レコーダ(RW-21 S, 理化電器)で記録した。ハム・フィルタは使用していない。

被験者は両眼ともミドリリン P®で散瞳し、かつ調節の影響をできるだけ避けるため、観察距離は 170 cm とした。

電極装着後、直径 3 mm の人工瞳孔を通して、170 cm

表 2 ON の発症期、回復期における PVECP が記録不能の割合

|               | 発症期 | 回復期 |
|---------------|-----|-----|
| t-PVECP       | 52% | 0%  |
| s-PVECP (30') | 73% | 8%  |
| s-PVECP (15') | 75% | 10% |

ON: 視神経炎

の観察距離に合わせた矯正レンズを重ねて装着し、刺激パターン面の中心に設置した視角 30' の固視点を固視させ、記録を開始した。視力が悪く固視できない場合は、僚眼から記録を始め、同じようにまっすぐ固視するように指示した。両眼性の場合はモニターテレビで固視を観察しながら記録を行った。

得られた PVECP は、t-PVECP ではチェックが反転した瞬間から約 100 ms 付近に現れる頭皮上電極に陽性の振れを示す成分を P 100 として、その波の頂点までの時間を頂点潜時、かつ、基線からの振れの幅を振幅として計測した。s-PVECP では 200 ms の解析時間の間に 3 つのサイン波形様の成分が観察されるから、各成分の頂点、底点間の電位差を平均した値を振幅として計測した(図 1)。

#### 病期 vs PVECP:

ON の病期を、発症期、完全回復期(視力 1.0 以上)、不完全回復期(0.9 以下)と分け、PVECP を比較検討した。

##### (1) 記録不能例(non-detectable)の割合

電位変化がノイズレベルに等しいものを記録不能例とした。1988 年、教室の統計<sup>17)</sup>では記録不能例の 71.5% が ON であった。今回、ON の発症期、完全回復期における記録不能例の割合を t-PVECP, s-PVECP(チェックサイズ 30') で比較した(表 2)。発症期においては、t-PVECP で 52%, s-PVECP で 73%(30'), 75%(15') と高率であった。回復期においては、t-PVECP は全例記録可能であったのに対し、s-PVECP では 8%(30'), 10%(15') が記録不能であった。かつ、t-PVECP 記録不能全例 s-PVECP が記録不能であった。このことは s-PVECP が t-PVECP より、より感度の高い検査法であることを示している。

発症期例では視力 0.1 以下の症例が 91% を占めたが、不完全回復期、完全回復期では視力とは相関しなかった。

以下の検討では記録可能であった PVECP の値を用いた。

##### (2) PVECP 振幅比

図 2 は病期別の PVECP 患眼/僚眼振幅比を示す。左半は t-PVECP, 右半は s-PVECP の結果である。



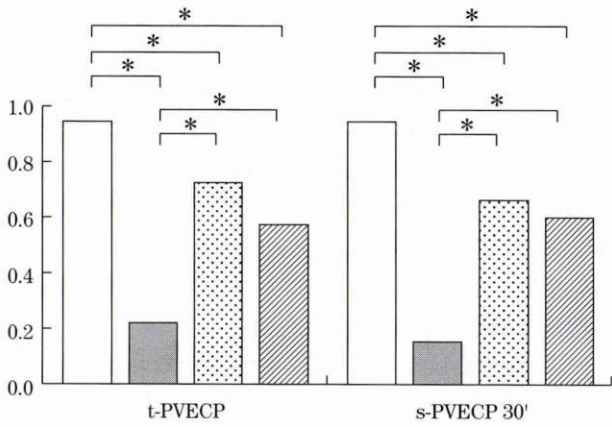


図 2 視神経炎(ON)の病期別の PVECP 患眼/僚眼振幅比。  
\* : Wilcoxon の符号付順位検定  $p < 0.01$  □ : 正常  
■ : 発症期 点線 : 完全回復 斜線 : 不完全回復

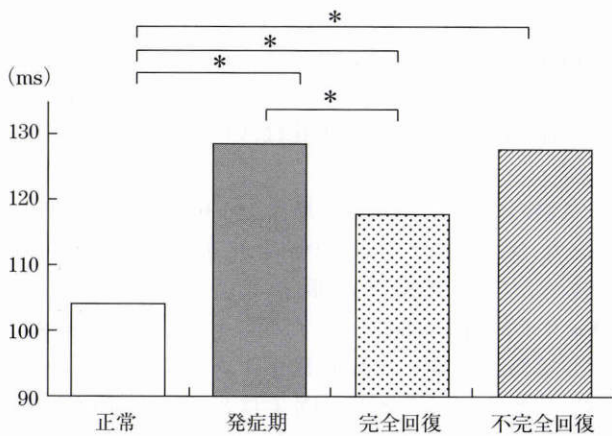


図 3 正常対照眼および ON の病期別の t-PVECP の P 100 頂点潜時。  
\* : Wilcoxon の符号付順位検定  $p < 0.01$

発症期で比は最小に落ちているが、回復期にも正常より有意に小さい。特に s-PVECP の方が、その傾向が強い。ここでも s-PVECP が t-PVECP より感度が高いことが明らかである。

(3) t-PVECP の P 100 頂点潜時

正常値(109 例 109 眼)は  $104.0 \pm 0.6$  (平均値  $\pm$  標準偏差) ms で、発症期  $128.6 \pm 3.1$  ms、完全回復期  $117.6 \pm 2.4$  ms、不完全回復期  $127.7 \pm 4.8$  ms で、正常値  $+2$  SD 以上を異常として検討した。発症期のみならず、完全回復期でも有意な延長を示した(図 3)。

視力 vs PVECP :

(1) t-PVECP の P 100 振幅比

発症期では振幅比と視力の間に有意の相関があるが、回復期には相関はない。

(2) s-PVECP 振幅比

発症期、回復期ともに患眼の視力と振幅比に有意な相関を示す。

表 3 ON の病期別の PVECP パラメータごとの異常率

|     | t-PVECP |     | s-PVECP | いずれか一つ以上が異常 |
|-----|---------|-----|---------|-------------|
|     | 頂点潜時    | 振幅比 | 振幅比     |             |
| 発症期 | 94%     | 76% | 82%     | 100%        |
| 回復期 | 67%     | 18% | 21%     | 87%         |

(3) t-PVECP の P 100 頂点潜時

発症期、回復期ともに患眼の視力と P 100 頂点潜時は有意な相関を示す。

PVECP 異常の判定基準 :

- (1) t-PVECP P 100 頂点潜時  $> 115.0$  ms
- (2) “ の左右差  $> 9.6$  ms
- (3) “ 振幅比  $< 0.45$  ms
- (4) s-PVECP 振幅比  $< 0.44$  ms

(いずれも正常者 109 例 109 眼の平均値  $\pm 2$  SD (標準偏差) を基準とした)

以上の基準で判定した各病期の PVECP 異常率は表 3 のようになる。

いずれか 1 項目が異常である場合を異常とすると、発症期では 100%、回復期では 87% の異常を示した。

ON の原因と PVECP :

上述の各項目を、MS 群、他の原因群、原因不明群に分けて検討したが、有意の差はなかった。

ON における PVECP の評価のまとめ :

① PVECP 異常率(頂点潜時延長、振幅比低下)は、発症期 100%、回復期 87%、MS と他の ON で差はない<sup>18)</sup>。

② s-PVECP の方が t-PVECP よりも異常検出において鋭敏<sup>19)</sup>。

③ PVECP (頂点潜時、振幅比)は視力と相関<sup>18)</sup>。

④ PVECP (頂点潜時)は中心視野 (GVF I<sub>1</sub>) と相関。

3) パターン網膜電図 (pattern electroretinogram, PERG)

PERG は神経節細胞が発生源といわれている<sup>20)</sup>。

電位が極めて小さく、信頼性に欠けるため、その臨床応用は PVECP ほど行われていない。我々も例外ではなく、研究目的には行うが、ルーチンには記録していない。1983<sup>21)</sup>、1985<sup>22)</sup>、1987<sup>23)</sup>年に発表した教室の研究のうち、顔面においた皮膚電極で PERG の顔面上の分布を検討したものを紹介する。高田ら<sup>22)</sup>は 12 例 24 眼の MS 患者(うち ON 合併 20 眼)の PERG を記録した。

頂点潜時の延長はなく、PVECP の記録されない症例でも PERG は記録された。以上から、MS では網膜神経節レベルは比較的よく保たれていると考えた。

2. 画像診断法

1) X 線-computed tomography (X-CT)

1974 年開発と同時に当科も使用開始した。視神経疾患のうち、腫瘍、近接臓器からの圧迫、波及による ON、乳頭ドローゼンなど鑑別を可能にした。



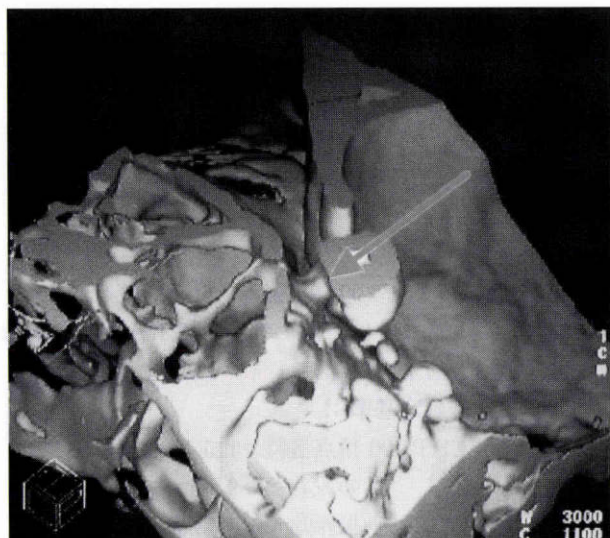


図4 ヘリカル computed tomography(CT)を用いた  
眼窩内骨壁構造。  
視神経管が描出されている(矢印)。

## 2) 3D-X-CT

ヘリカルCTを使い、眼窩の水平断面像を1mmスライスで連続的に撮影し、その撮影スライスから0.5mmスライスの画像をコンピュータで作成し、すべてのスライスから三次元の画像を再構築するものである。立体的な病変の把握が可能となり、好みの方向から三次元画像を描ける(図4)。

その結果、眼球から出た視神経が視神経管の中を通過する画像が描出できるようになった。外傷による視神経管の骨折による視神経への障害は視神経症を生ずる。従来のX-CT,単純X線撮影では、その描出が困難であった骨折を明らかにして、ONとの鑑別を可能にすると期待している。

## 3) 核磁気共鳴画像(magnetic resonance imaging, MRI)

1983年,当教室では科学技術庁放射線医学研究所に導入されたMRIを本邦で初めて眼科で応用<sup>24)</sup>できることとなった。Short time inversion recovery (STIR)法を用いて、ONでの視神経の病巣を検出するのに有意義であると報告<sup>25)26)</sup>してきた。この間、MSでは白質内の脱髄巣が80%以上の確率で描出されることが明らかとなる進歩があり<sup>27)28)</sup>,MSの診断は単純化された。側脳室近辺の脱髄巣の存在、その型が卵円型であること、脱髄巣が時間的経過で出没するなど特徴を示す。

一方、視神経病変の描出法の研究はいろいろ試みられてきているが<sup>29)30)</sup>,定量的なものはない。今回、ONにおける視神経の異常の部位を定量的に解析を試みる目的で、信号強度の測定を片眼性ON患者26例の発症期において検討した。手法は脂肪抑制T<sub>2</sub>強調画像の冠状断において、両側の視神経および脳内白質の信号強度を同一面積(12~18mm<sup>2</sup>)で測定し、脳内白質信号強度に対する比(%)で比較検討した。測定部位は眼球後方5,10,15,20,25mmの5か所である。

図5に22歳,女性,右ONの各部位での画像を示す。脳内白質と視神経の信号強度比は、いずれも視神経において高い。

26眼の結果は、平均値は患側116.9%,健側100.4%であった。①5断面の平均値の結果が、健側より患側が高値であったのは、26眼中22眼,85%。②すべての断面で健側よりも患側が高値であったのは14眼,54%。③一断面でも患側が健側の+2SD以上であったものは15眼,58%であった。この結果、ONでは85%が視神経の異常を検出できることが明らかとなった。詳細は別途、教室の墙が報告する。

## 4) functional MRI (f-MRI)

f-MRIはある特定の刺激や課題に対して起こる脳の賦活に伴う局所血流の変化(ヘモグロビンの酸素化レベ

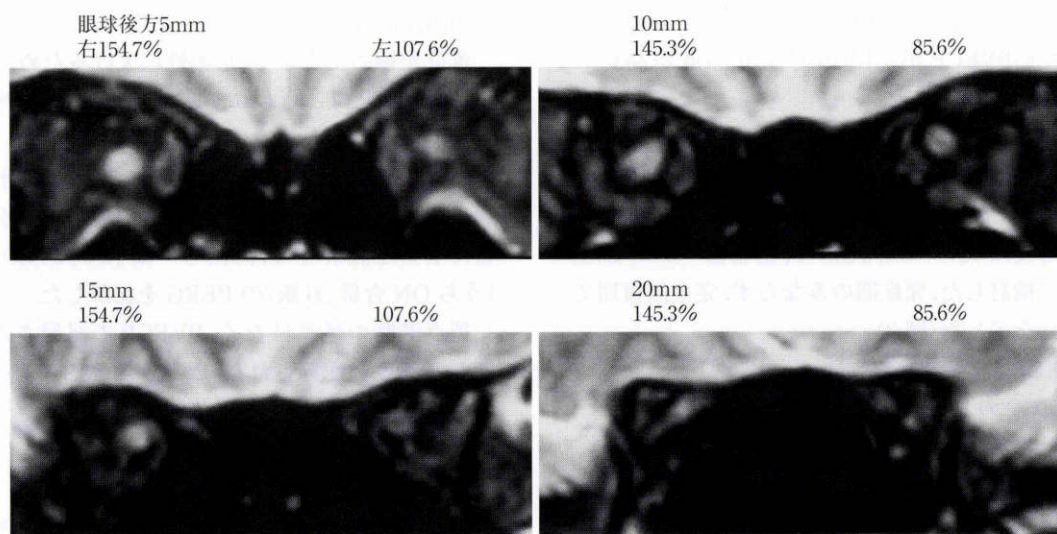


図5 右眼ONのmagnetic resonance imaging(MRI)冠状断,22歳,女性。  
脂肪抑制T<sub>2</sub>強調画像



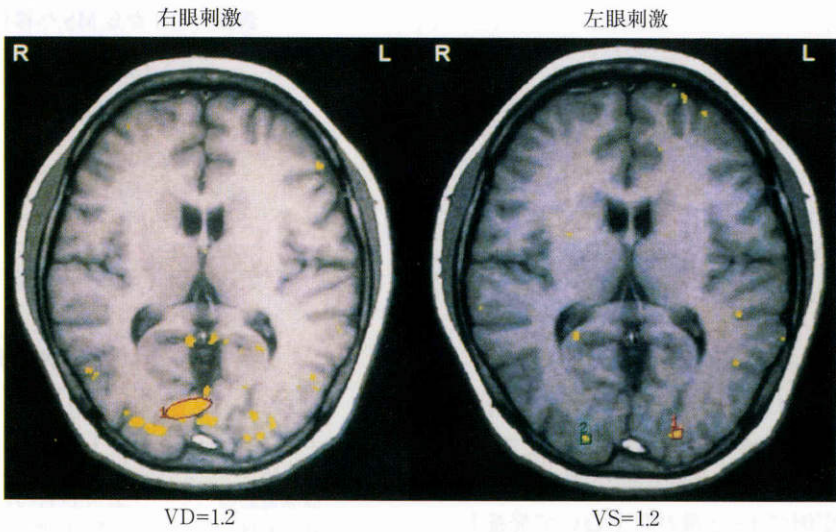


図 6 左眼 ON の f-MRI, 39 歳, 女性.  
フラッシュ刺激に対して患眼は僚眼より反応が低い.

表 4 ON 272 例の成人 (232 例) と小児 (40 例) の臨床像, 検査所見の比較

|                | 成人     | 小児    |
|----------------|--------|-------|
| 症例数            | 232    | 40    |
| 男性：女性          | 1：1.8  | 1：1.2 |
| 初発時 両眼：片眼      | 1：6.0  | 1：1.2 |
| 年齢             | 39.5歳  | 9.3歳  |
| 眼球運動痛          | 41.4%  | 30.0% |
| 初発時視力          | 0.33   | 0.09  |
| 最低視力 (0.1未満)   | 57.5%  | 80.0% |
| 視力回復 (1.0以上)   | 59.2%  | 92.5% |
| 最善視力に回復するまでの期間 | 92.7日  | 90.6日 |
| 中心暗点           | 57.6%  | 64.4% |
| GVF 回復         | 42.3%  | 77.1% |
| 乳頭正常           | 40.8%  | 28.3% |
| 乳頭腫脹           | 44.9%  | 71.2% |
| 乳頭蒼白になる期間      | 118.7日 | 94.3日 |
| MRI 異常         | 85.0%  |       |
| VECP 異常        | 100%   | 100%  |
| ON から MS へ移行   | 9.5%   | 30%   |

GVF：Goldmann 視野 (I<sub>1</sub>) MRI：磁気共鳴画像 MS：多発性硬化症

ルの変化)を信号変化としてとらえ,人の脳の機能を非侵襲的に画像化する方法である.

今回は眼前でのフラッシュ光刺激を用いた.回復期といえど,左眼は視力 1.2 であるのにも拘らず,視覚刺激に対する後頭部視覚領近辺の反応は,右眼刺激のそれと比べて明らかに低い.個人差が大きく応用を躊躇していたため症例が少ない.S/N 改善を克服できれば,今後,期待できる手法ではないかと考えている.

III ON の臨床像

1. 成人対小児 ON

1977 年 1 月から 1999 年 6 月までの間に千葉大学医学

表 5 ON 臨床像の他施設との比較

|           | 千葉大眼科 (2000) | Miller et al (1988) | Isayama et al (1982) |
|-----------|--------------|---------------------|----------------------|
| 症例数       | 272          | 37                  | 84                   |
| 男女比       | 1：1.7        | 1：2.0               | 1：1.5                |
| 年齢        | 35.0歳        | 30.8歳               | 33.7歳                |
| 両眼性：片眼性   | 1：4.1        | 1：4.3               | 1：1.2                |
| 眼球運動痛     | 39.7%        | 88%                 | —                    |
| 最低視力0.1以下 | 49.5%        | 59%                 | 71.3%                |
| 回復視力1.0以上 | 64.3%        | 86.6% (0.7以上)       | 78.7%                |
| 視野正常      | 5.2%         | 13%                 | 0%                   |
| 中心暗点      | 58.7%        | 74%                 | 82.8%                |
| 乳頭正常      | 40.8%        | —                   | 47.5%                |
| 乳頭腫脹      | 49.8%        | 42%                 | 52.5%                |
| MRI 異常率   | 85%          | 84%                 | —                    |
| VECP 異常率  | 100%         | 100%                | —                    |
| MS 移行率    | 12.5%        | 50%                 | 8.3%                 |

部附属病院眼科を受診した ON 患者 306 例のうち,経過を追えた 272 例を対象に検討した.なお,この数は外来新患数の 0.4% に当たる.272 例中,成人は 232 例,小児 (16 歳以下)は 40 例であった.成人群と小児群に分けて,17 項について比較して表に示す (表 4).

小児例が成人例と異なるのは,

- ① 両眼性が多い.
- ② 初発時視力が低い.
- ③ 最低視力 (経過中) が 0.1 未満の率が高い.
- ④ 視力回復 (0.1 以上) 率が高い.
- ⑤ 視野の回復率が高い.
- ⑥ 乳頭腫脹の率が高い.
- ⑦ MS への移行率が高い.
- ⑧ ウイルス, ワクチン接種後の発症が多い.

つまり,過去<sup>31)~35)</sup>の報告の小児の ON の臨床像とはほぼ同じであるが,MS への移行率が成人より高いのは特異



であった。

## 2. 他施設との比較

一施設からの ON をまとめた報告は少ない。中から、比較的症例数の多い Miller ら<sup>6)</sup>と Isayama ら<sup>7)</sup>の 2 施設と比較したものを表 5 に示す。2 施設も成人と小児を分けていないので、我々の症例も一括した群のデータとした。

眼球運動痛が Miller ら<sup>6)</sup>の統計では 89% と、我々の統計 39.7% より 2.2 倍ほど高いことと、MS への移行率が 50% で、我々の 12.5% の 4 倍と高い。

## 3. ON で発症して MS への移行率

成人では 232 例中 22 例 (9.5%) で、小児では 40 例中 12 例 (30%) であった。両群を合わせると 12.5% となる。このうち、48.5% は 1 か月以内に移行している (表 6)。加うに、今回は両眼発症例で 1~2 週の間において発症した ON の場合、MS の診断基準として除外したが、これを加えると ON から MS への移行率は 20.6% となる。

文献的には、MS 患者の中の ON の合併率は神経内科サイドから<sup>36)37)</sup>数例あるが、ON と診断したのち MS に発展した本邦からの報告は、1982 年の Neurology に発表された Isayama ら<sup>7)</sup>の 84 例中 7 例、8.3% の報告のみである。したがって、アジア人ではその頻度が少なく、人種差があるとされている<sup>36)</sup>。今回の教室のより多数の 272 例の一施設のまとめで 20.6% という数字が出たことは、人種差がないことを証明したもので、疫学的にも貴重な資料となり得ると考える。小児例での本邦の報告は、中尾ら<sup>34)</sup>の 9 例中 0 例 (0%) があるが、いかにも症例が少ない。アメリカ 25%<sup>31)</sup>、イギリス 15%<sup>32)</sup>、フィンランド 44%<sup>33)</sup>に比して、教室の統計は 30% であり、小児例に限ってみても、人種差は考えにくいことが明らかとなった。

ON から MS に移行した症例の臨床像を表 7 に示す。多施設との比較を表に示したように、特徴的な所見はなかった。ON から MS への移行率は、1965 年の McAlpine<sup>36)</sup>の 85% は異常に高く、その後、年々頻度は少なくなっている。古いテキストでは 17~85% という数字がでてくるが、過去 10 年ほどの報告<sup>39)</sup>をみると 20% 前後に落ち着いている。1980 年代以前では MS と確定するためには長期間観察を要し、再発、多巣性を確認しなければならなかったため、およそ 7 年を要した。MRI、VECP の発達は確定までの期間を短くしたためだけでなく、診断の確実性を上げたので、より信頼できる値である。

## IV 治療法

ON の予後は 1884 年の Nettleship の報告以来、よくなっていったであろうか。

現在までの 116 年間に、画期的な治療効果をもたらしたと考えられるのが、副腎皮質ステロイド薬 (ステロイド) である。近年はその効果に対して、副作用をふまえて批判的な傾向になっている。なっているむきもある。

表 6 ON から MS へ移行する期間

|            |       |
|------------|-------|
| ~ 1 か月     | 48.5% |
| 1 ~ 6 か月   | 12.1% |
| 6 ~ 12 か月  | 6.1%  |
| 12 ~ 24 か月 | 9.1%  |
| 24 ~ 36 か月 | 3.0%  |
| 36 ~ 48 か月 | 6.1%  |
| 48 か月~     | 15.2% |

表 7 MS 移行例の臨床像

|          |                            |
|----------|----------------------------|
| 平均年齢     | 24.5 歳 (3 歳 ~ 61 歳)        |
| 男女比      | 1 : 1.83 (12 例 : 22 例)     |
| 発症眼      | 2.78 : 1 (片眼 25 例, 両眼 9 例) |
| 眼球運動痛    | 32.4% (11/34 例)            |
| 乳頭所見     | 正常 51.2% (22/43 眼)         |
| 最低視力     | 平均 0.16 (±0.29, SE)        |
| 回復時視力    | 平均 1.0 (±0.38, SE)         |
| 視野       | 中心暗点 59.5% (22/37 眼)       |
| 再発率      | 52.9% (13/34 例)            |
| (3 か月以内) | 27.8% (5/18 例)             |
| 発作の回数    | 平均 3.4 回                   |
| 観察期間     | 平均 72.4 か月                 |

SE : 標準誤差

表 8 ON の視力予後, Nettleship (1884 年) と千葉大学 (2000 年) との比較

|      | Nettleship (1884) | 千葉大学 (2000)       |
|------|-------------------|-------------------|
| 完全回復 | 56% (14/25 例)     | 64.3% (166/258 例) |
| 光覚なし | 24% (6/25 例)      | 0.4% (1/258 例)    |
| その他  | 20% (5/25 例)      | 35.3% (91/258 例)  |

そこで、ステロイドのなかった時代の Nettleship<sup>1)</sup>の 25 例 (28 例中、3 例は高度の乳頭炎を示し、その病態が ON といささか異なるので除外した) の予後と、今回の教室の予後と比較することによって、ステロイドの効果が浮き彫りにされたと考えた。表 8 にその結果を示す。

Nettleship の 25 例中、回復例は 14 例 56% で、教室の 166/258 (64.3%) より低いことは低いが、回復率が 56% ということは、当時はヨード剤位しか使用していないことを考えると、自然回復のある疾患であることがよくわかる。

光覚なし (completely and permanently lost) が 6/25 (24%) もあり、5/25 (20%) は more or less permanent damage to sight persisited とある。今回の教室のデータは 272 例中、光覚なしで回復しなかったのは 1 例のみであった。このことはステロイドの効果と考えてもよいのではないかと考える。

教室における ON 例へのステロイド総投与量は、成人で平均 1,797 mg、小児で 948 mg であった。投与法は内服のみ、静注+内服、テノン嚢下注のみの 3 法である。



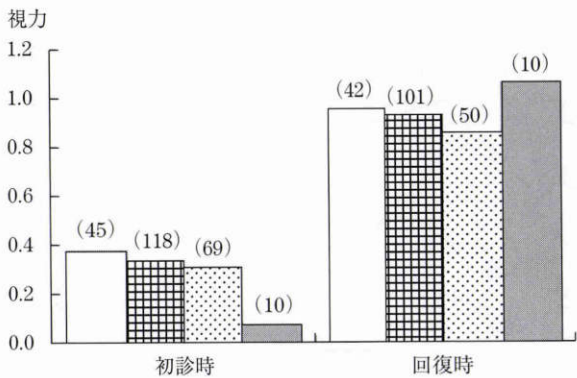


図 7 ON の初診時視力と、各種治療後の回復時視力。括弧内の数字は眼数を表す  
□：ステロイド使用せず   ▤：ステロイド内服  
▦：ステロイド静注   ■：テノン嚢下注のみ

初診時と回復時におけるステロイド未使用群、3 種の異なるステロイド投与法別平均視力を図 7 に示す。グラフの中の括弧内の数字は対象眼数である。

初診時、回復時とも各治療法別に考えても症例の視力に有意差はなかった。換言すれば、ステロイド使用法による回復視力、回復期間に差はなかった。

ステロイドのテノン嚢下注は 1970 年 Smith ら<sup>40)</sup>によって紹介され、当時は Bird ら<sup>41)</sup>も盛んにすすめた時期もあったが、いつの間にかその熱も冷めていった。Bird ら<sup>41)</sup>は MS 起因の ON 74 例にトリアムシロンの球後注射のみで加療してみた。注射しない群に比べると、視力回復がより早いことを報告している。

球後の視神経の近くにステロイドが浸潤するから、長時間作用のメチルプレドニゾロン、トリアムシロロンが好まれる。局所注射は眼組織に即刻 (5 秒) 5~10 倍の濃さで移行し、1 時間後には全身投与時の量レベルに落ちるという優れた 2 点がある。今回の内服に優る結果とともに

我々<sup>42) 43)</sup>の過去の結果も参考にさせていただきたい。  
眼科医としては、このステロイドテノン嚢下注を再度考えていきたいものである。

V 動物実験

1. 実験的脱髄性 ON

Wistar ラット (200 g, 雄) を用いて、硬膜下、視神経周囲に抗 galactocerebroside 抗体、モルモット補体混合液 2 μl を注入し、視神経に脱髄を生ぜしめた<sup>44) 45)</sup>。

図 8 は、抗 myelin-associated glycoprotein (MAG) 抗体と抗 neurofilament (NF) 抗体による二重染色での脱髄像である。抗 myelin basic protein (MBP) 抗体と抗 NF 抗体での脱髄像も同様であった。MAG, MBP ともにミエリンの構成蛋白で、fluorescein isothiocyanate (FITC) (緑の色素) で染色、NF は rhodamine isothiocyanate (RITC) (赤の色素) で染色した。NF と MAG, MBP ともに染色されるとオレンジ色に、脱髄が起こり MAG, MBP ともに破壊され、NF のみ染色されると赤に染まる。脱髄巣にはオレンジ色がない。

脱髄を生ぜしめる前に、ERG, VECF を測定した。ERG は角膜上 Ag-AgCL 綿芯電極、VECF は視覚領 (頭蓋骨ラムダ縫合から 2 mm 側方, 2 mm 前方) にステンレスネジ電極をおき、鼻部皮下においた不関電極から記録した。接地電極は頭部皮下においた。ERG, VECF は同時記録で、前置増幅器の電気フィルタ 1.5~100 Hz の幅で増幅し、64 回加算平均した。刺激は 150 W ハロゲンランプを光源とし、直径 3 mm のレーザーファイバーで Maxiwel-lan view で角膜上に集光させ、その強度は中性フィルタ (NDF) で、1.0 log ごとに 5 段階変換した。NDF なしの角膜面での照度は  $1.4 \times 10^3 \text{ lux}$  で、刺激の持続時間は 5 msec である。

ERG は経過中変化はしなかったが、VECF は、抗体注

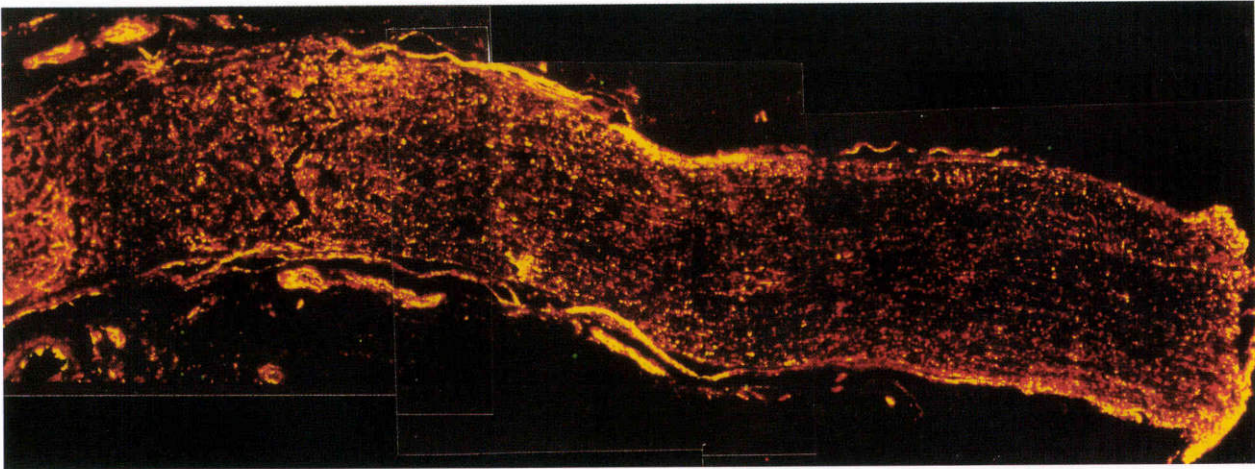


図 8 ラットの視神経の実験的脱髄巣。  
右 3 分の 1 で、myelin associated glycoprotein (MAG) (オレンジ) のみ破壊され、neuro-filament (NF) (赤) は保存されている。



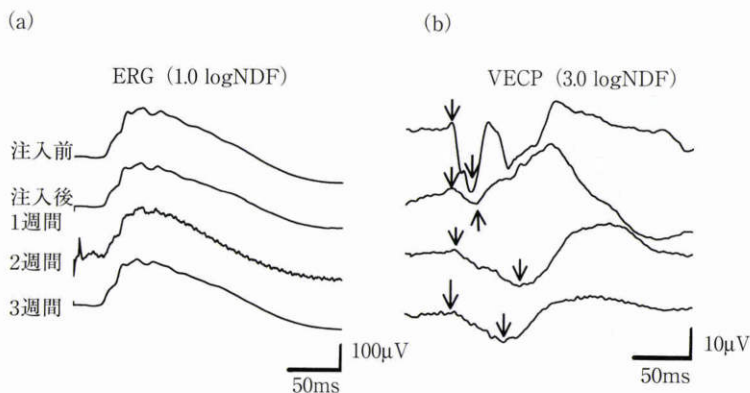


図9 ラット視神経の実験的脱髄下の電気生理学的変化。  
抗体注入前, 注入後, 1週, 2週, 3週目のERG(a)とVECP(b)

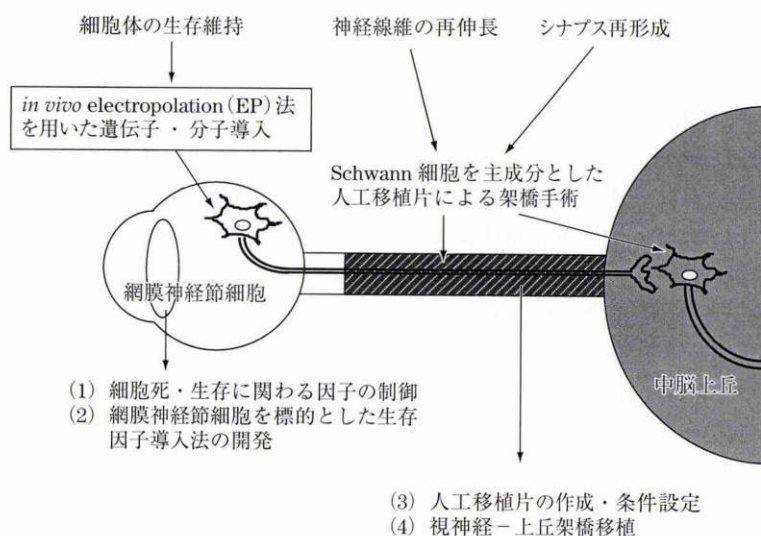


図10 視神経移植に向けての実験手法の模式図。

入1週間後に潜時延長があり,3週間後には改善があった(図9b)。組織学的にも注入1週間後には,脱髄のみが起り,視神経線維は保存されている像が得られ,2週間後から一部再髄鞘化がみられた。

VECPの潜時延長にも拘らず,ERG(図9a)は変化しないことから,本モデルラットにおけるVECPの潜時延長は脱髄によるものと考えられた。これまで本モデルラットは,形態学的にその脱髄を評価されていたが,電気生理学的にも,その機能を評価することが可能であった。

VECPが脱髄により潜時延長することを,実験的脱髄性視神経症モデルラットで明らかにした。

このように,VECPがERGとは別途の変化を示した結果は,ラットのVECPが時に解剖学的に遠くから記録しているERGでないことを明らかにしたことにもなる。次の項の視神経移植の実験では,VECPで機能が再活動したかを評価することができると期待がもてた。

## 2. 視神経回路の再構築

高度に分化した機能を持ち,複雑な回路網を形成する視神経に関しては,

- ① 神経節細胞の生存維持。
- ② 視神経線維の再生・再伸長ならびに,
- ③ 中枢投影におけるシナプスの再形成のすべての要件が満たされたときに,初めて視神経の保護と再生が現実のものとなる。

一義的に実現できるものではなく,多角的にアプローチをする戦略が必要であると思われる。

当教室においては,細胞体の生存維持として,網膜神経節細胞に対する遺伝子,分子導入による救済,ならびに細胞死に関わる因子の制御という方向からアプローチを試みている。また,視神経の再生,シナプス形成としては,人工移植片の開発と,さらには上位中枢への架橋移植をすることによって実現化に向けて研究を進めている。

### 1) 網膜神経節細胞の生存維持

神経節細胞の生存において,positiveに働く因子,またnegativeに働く因子が近年の細胞生物学,分子生物学の進歩により明らかになってきた。

Positiveに働く因子としてはbrain-derived neurotrophic factor (BDNF)などを含めたニューロトロフィンや



ciliary neurotrophic factor (CNTF) などの神経栄養因子がある。これらは神経節細胞の生存や再生において有効であることが知られている。

また、代表的に heat shock protein (HSP) 70 を含めた HSPs はストレス下における細胞の生存維持に役立つという結果が近年出されている<sup>(46)(47)</sup>。

さらには細胞が障害を受けたときの細胞死に至る過程で、実行因子として働いているカスパーゼの役割が多く明らかにされてきた<sup>(48)</sup>。

多くのサブタイプがカスパーゼには報告されているが、その中のいくつかは、caspase inhibitor を与えてブロックすることによって、その細胞死が阻止されることがわかっている。したがって、caspase inhibitor も広い意味では生存における positive な要素として考えることができると思われる<sup>(49)</sup>。

また、この他にも Bcl-2, Bcl-xL などの細胞内カスケードにおける鍵となる因子も多数報告<sup>(50)(51)</sup>されている。

一方、negative な遺伝子の多くは、細胞死に深く関わっているものである。例えば、c-fos, p 53 などの転写因子は細胞死のプロセスにおいて重要な役目を果たしていることがわかっている<sup>(52)(53)</sup>。

当教室において、これらの因子に着眼し、生存に対して positive に働く factor である BDNF の cDNA や HSP27、さらには caspase inhibitor などを神経節細胞に物理的に導入する試みを行ってきた。また、細胞死のプロセスに大きく関わる転写因子である c-fos に着目し、トランスジェニックおよびノックアウトマウスなどの遺伝子改変マウスを用いた解析を通じ、障害初期における c-fos 制御による細胞の救済の可能性を探ってきた。

まずは分子遺伝子導入による神経節細胞の救済として、BDNF と HSP 27 の結果をここに紹介する。

神経節細胞障害モデルとしては、視神経切断と虚血—再灌流の 2 つを用いた。動物は成体ラットを用いた。

切断モデルでは眼球から 1 mm の位置で視神経を完全に切断してしまうと、末梢側の線維は急速に変性し、また、細胞体側も逆行性に変性し、最終的には神経節細胞の細胞死に至る。

虚血—再灌流モデルでは、視神経に硬膜ごと糸をかけ、その後、硬膜にスリットを入れて視神経自体はより分けて硬膜だけをクリップで 1 時間圧迫する方法で行った。この方法によって、網膜中心動脈を主要とした血管系が遮断され、網膜虚血を惹き起こすことが可能となる。

網膜神経節細胞は網膜内の三次ニューロンであり、唯一、上位中枢に投射している細胞である。高等ほ乳類では、その多くは外側膝状体に投射しているが、ラットでは上丘に投射している。またラットの場合、視神経のほとんどが全交差している。

したがって、眼球の反対側の上丘を露出し、そこに脂溶性の diI という蛍光標識物を投与することにより、網膜

電氣的遺伝子導入法による  
網膜神経節細胞への HSP27 の導入

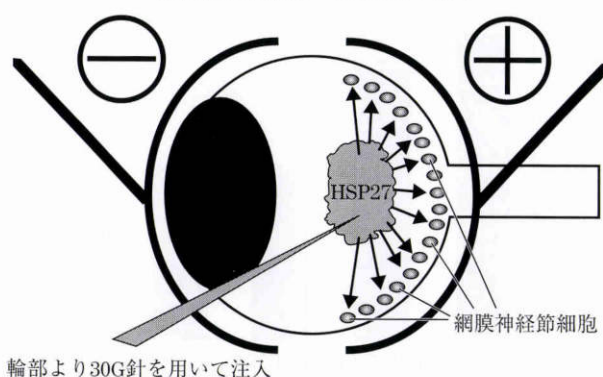


図 11 Heat shock protein (HSP) 27 をラット硝子体内に注入し、electroporation を行う。

内で選択的に神経節細胞のみを逆行性に標識することが可能となる。

標識後 1 週目に網膜を whole mount retina として解析することにより、単位面積当たりの神経節細胞数を計測することが可能となる。

正常で intact な状態の網膜では、diI によって逆行性に標識された神経節細胞が多くあるが、虚血—再灌流を行った 1 週後の whole mount retina では、正常に比べ、神経節細胞数の著しい減少がある。

このように、障害を受けて細胞死に陥った神経節細胞を救済し、いかにして保持するかということが大きな課題となる。

#### 1) HSP 27 の神経節細胞保護効果

そこで、虚血—再灌流モデルを用いて HSP 27 の導入を行い、神経節細胞生存への有効性を検討した。

HSP 27 は HSP 70 とともに、様々な細胞死を惹き起こす刺激に対して、シャペロン機能によって変性蛋白を蓄積させないことにより、あるいはアポトーシスのカスケードを阻害することによって細胞の生存を助けることが知られている。ヒトの数種の癌では HSP 27 が強発現しており、そのために様々な抗癌剤に対する耐性が生じ、また成長因子の乏しい場所での生存も可能となる、つまり転移する力も強まることが知られてきている。

また最近、培養神経細胞に単純ヘルペスウイルスベクターを用いて HSP 27 遺伝子を導入し強発現させると様々なアポトーシス誘導刺激、例えば脊髄後根神経節細胞に対する NGF 除去などに対して、神経細胞の生存率を向上させることができたという報告<sup>(52)</sup>がなされた。

そこで、HSP 27 を虚血により障害を受けた神経節細胞に導入し、細胞保護における有効性を検討した。

方法は HSP 27 蛋白を 5  $\mu$ g 硝子体内に注入し、electroporation 12 v/cm 5 回、5 分間隔で 2 回することによって導入をはかった(図 11)。

なお、この条件は green fluorescent protein (GFP) 遺



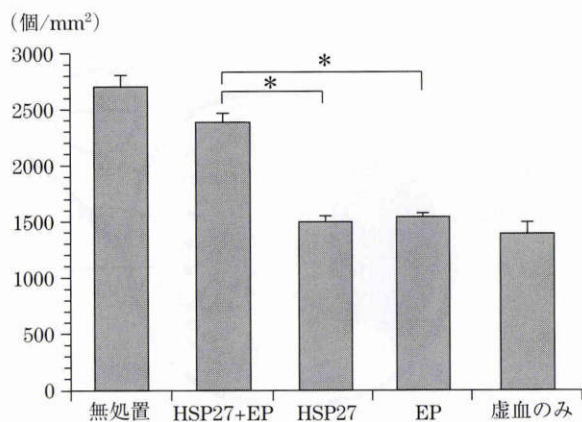


図12 ラット網膜虚血—再灌流後7日目における神経節細胞数.

\*:  $p < 0.01$  EP: 電氣的遺伝子導入

伝子を用いた基礎実験を基に設定されたパラメータである。

HSP 27 の硝子体注入の際に, electroporation を行ったものでは, 無投与のものとは比べて神経節細胞生存数が有意に向上した. electroporation を同時に行ったものとは行わないものでは十分に有意差があった(図12). また, 免疫染色を用いて導入蛋白の局在を確認しているが, 同時に electroporation を行わなかったものでは神経節細胞内に HSP 27 が取り込まれていなかったことと一致していると思われる。

## 2) BDNF cDNA の神経節細胞保護効果

次にニューロトロフィンである BDNF cDNA を導入し, 神経節細胞の保護効果があった。

この実験においては視神経切断モデルを用いた。

また, 遺伝子の発現は導入後1週でピークがあったため, 切断1週前に BDNF cDNA を導入し, 切断後2週目において残存神経節細胞数を求めた。

正常における神経節細胞数に対して, 切断2週後では

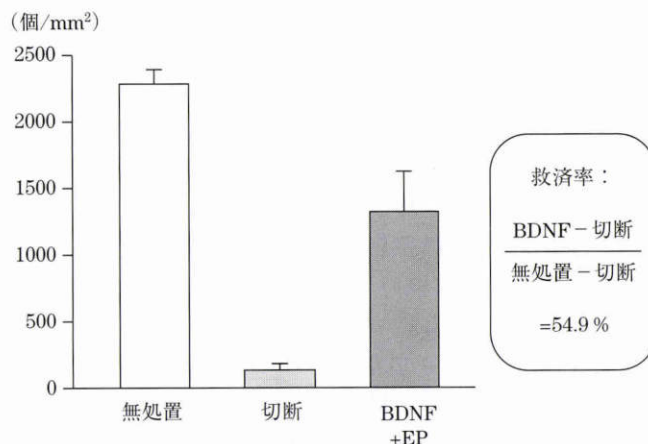


図13 視神経切断後2週間目の神経節細胞数.

前もって硝子体中に BDNF cDNA を導入しておくこと, 細胞死は救済された(54.9%).

約90%が細胞死となり, 僅か10%前後のものしか残らない。

しかし, BDNF を導入したものでは細胞死が大幅に抑制され, 救済率は54.9%ほどを示した(図13)。

## 3) 網膜神経節細胞の再生と c-fos

転写因子である c-fos は, 神経細胞の生存・再生・細胞死に関わるといわれているが, その正確な役割ははっきりしていない. 今回, 我々は c-fos トランスジェニックマウスおよび c-fos ノックアウトの網膜を培養することで, c-fos の網膜神経節細胞(RGCs)に与える影響について解析した。

c-fos トランスジェニックマウスと c-fos ノックアウトマウスの網膜を三次元培養し, 変性していく細胞を terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT) -mediated dUTP-biotin nick end labelling (TUNEL) 染色で確認し(図14), 再生していく突起数を経時的に観察した. c-fos 免疫染色によって, トランスジェニックマウスでは腹腔内 poly I/C 投与により初期に大量に c-fos を誘導できた

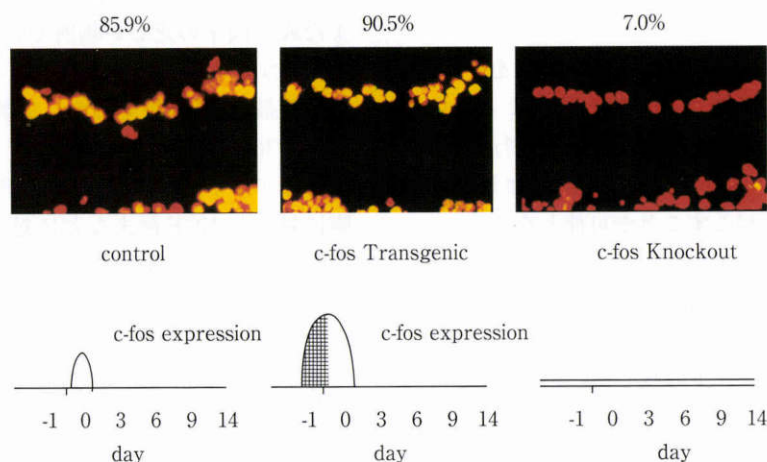


図14 c-fos トランスジェニック, c-fos ノックアウト, 対照マウスの網膜を三次元培養14日目のtunel陽性率.



ことを確認した。対照では初期一過性に一部の RGCs で c-fos が誘導された。ノックアウトマウスでは、c-fos は誘導されなかった。TUNEL 染色において、対照群とトランスジェニックマウスの群では培養 14 日で大量の RGCs がアポトーシスを起こしていた。ただし、トランスジェニックマウスでは培養初期にすでに大量の RGCs が TUNEL 陽性に染まっていた。

しかし、c-fos 発現のないノックアウトマウスの網膜ではアポトーシスがほとんどなかった。

このことから、c-fos は損傷 RGCs に誘導されるアポトーシスに重要な役割をしていることが確認された。逆にいうと、ダメージで誘導される c-fos 発現を人為的にタイミング良く抑制できれば RGCs にアポトーシスが誘導されない、すなわち細胞死を防げることが期待できる。

さらに、培養網膜切片からコラーゲンのゲルの中を再生していく突起を観察した。これを根元で 1 本と数え、それぞれの条件下で再生突起数に差が出るか観察した。

観察は、ノックアウトマウスの網膜は培養 3, 6, 9, 14, 21 日に行ったが、トランスジェニックマウスの網膜は突起再生が極めて乏しかったため 14 日まで行った。

対照と比べると、c-fos が大量にある群では再生突起数が非常に有意に抑制された。これは、c-fos が大量にある群では培養初期にたくさんの RGCs にアポトーシスが誘導されていたことを反映していたと考えられる。c-fos のないノックアウトマウスの群では、初期に若干の突起再生が抑制されるが、後期には突起数が増加し、培養 21 日には対照を逆転することが確認された。ノックアウトマウスでは細胞死が抑制され、多くの RGCs が生存していたことと関連があると思われる。このことから、細胞死を抑制することが突起再生に極めて重要であることが推定された<sup>55) 56)</sup>。

## (2) 人工移植片による視神経移植

視神経は周知のとおり、ひとたび損傷を受けると変性し、再生しない厳しい環境であることがわかっている<sup>57) 58)</sup>。

視神経が再生しない原因に関しては、多くの要因が指摘されているが、その中でも視神経の組織環境を作るグリア細胞による再生の障害が大きな要因と考えられている。

すなわち、障害を受けた視神経ではアストロサイトがグリオシスを起こし、物理的に再生を障害し<sup>59)</sup>、またミエリンを形成しているオリゴデンドロサイトは神経再生を阻止する物質を持っていることがわかっている<sup>60)</sup>。

一方、末梢神経は損傷を受けても旺盛に再生し、機能回復もなされることが知られている。末梢神経の組織環境を作っているのは主に Schwann 細胞であり、先ほど述べた視神経のグリアとは大きく性質が異なる。

まず、末梢神経が障害を受けると Schwann 細胞は形態を大きく変え、分裂増殖し、未分化な状態に戻ります。

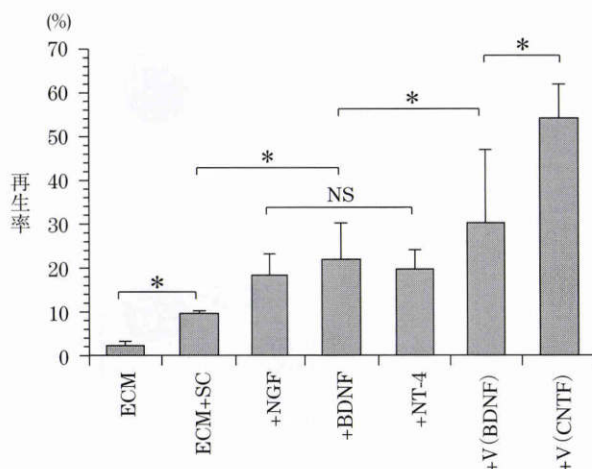


図 15 視神経人工移植片の最適条件設定のため、移植片の中に Schwann 細胞に加えて、投与する組成別、神経節細胞の再生率。

\* :  $p < 0.01$  NS : not significant ECM : 細胞外基質成分 SC : 培養 Schwann 細胞 V : 硝子体注入

る。この状態の Schwann 細胞は再生において重要な働きをする因子を産生し、神経再生を導くものと考えられている。

そこで、再生に対して阻害的な視神経環境を Schwann 細胞を含む末梢神経の環境に移植操作を用いて置き換えた場合、視神経線維は末梢神経の中を再生することがわかった<sup>61)</sup>。

すなわち、視神経ならびにその細胞全体である神経節細胞は潜在的に再生能力を持っており、その能力は神経線維を取り巻くグリア環境を変えることによって引き出すことができるというわけである<sup>62)</sup>。

まず、Schwann 細胞は様々な種類の神経成長因子を分泌することにより神経再生を誘導する。つまり、前述のニューロトロフィンを含め、ciliary neurotrophic factor (CNTF), fibroblast growth factor (FGF) など神経の生存、および再生において大きな役割を果たすものが多数分泌される<sup>63)</sup>。

また、Schwann 細胞膜には神経線維が Schwann 細胞上を伸長する際に足掛かりとなる L1, neural cell adhesion molecule (NCAM), gap junction などの細胞接着因子が発現されている<sup>64) 65)</sup>。

さらには、神経再生をサポートするとされる laminine などの細胞外マトリックス (extracellular matrix, ECM) を産出する<sup>66)</sup>。

このように Schwann 細胞の再生誘導能は、これらの因子が総合的に働いて機能しているものと思われる<sup>67)</sup>。

そこで、我々はこのように視神経の再生にとって非常に重要な働きをする Schwann 細胞を高密度に含む人為的環境を作り、有効な視神経再生を誘導する試みを行った。

すなわち、Schwann 細胞を細胞外マトリックス、各種



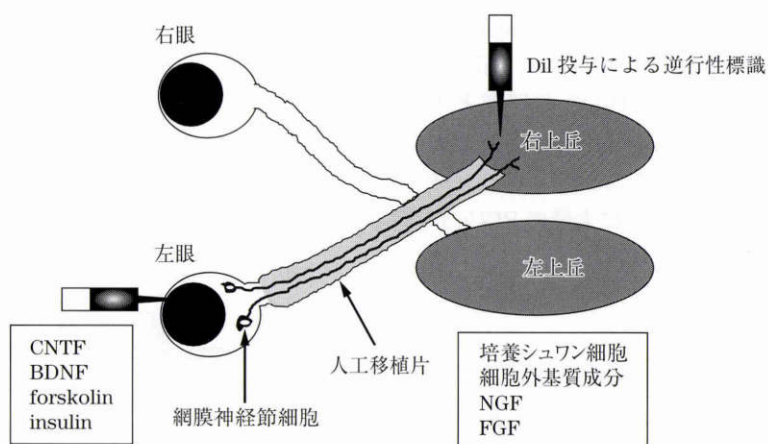


図 16 視神経人工移植片を用いた上丘への架橋移植の模式図。

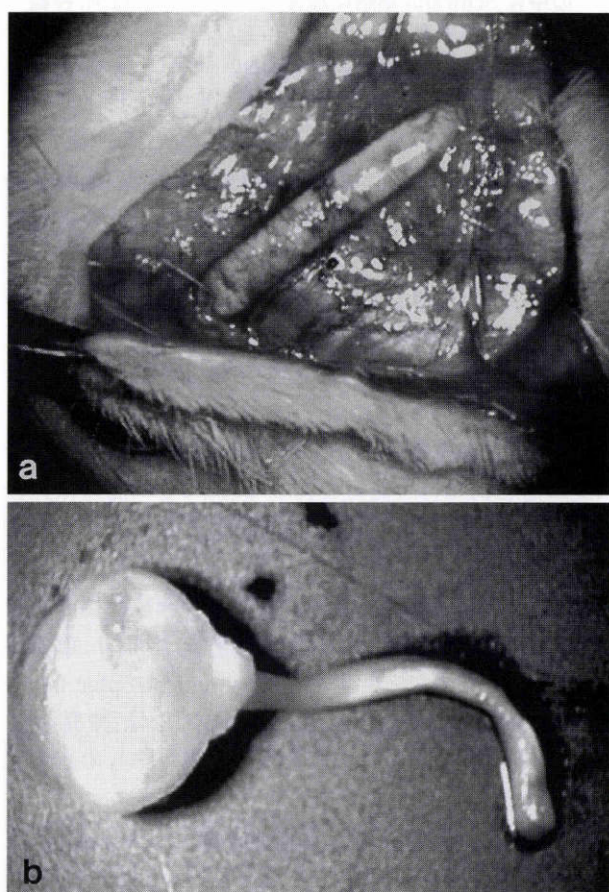


図 17 視神経人工移植片を移植後 2 か月目に移植片を取り、露出した写真。

左下に眼球があり、球後から対側の上丘に移植片が伸びている (a)。

眼球と人工移植片を取り出し、移植チューブの内容を露出した写真。

眼球から再生した視神経組織がある (b)。

神経成長因子とともにシリコンチューブ、および物質半透過性チューブに充填し人工移植片とし、損傷視神経に移植することにより再生を引き出すというものである。

Schwann 細胞は生後 1 日の脊髄後根神経節から採取

した培養 Schwann 細胞を用いた。

まず、人工移植片の条件を設定するために、移植片の中に投与する組成を変え、再生率を求めた。

細胞外マトリックスのみではほとんど再生がなく、次に Schwann 細胞を加えると、10% 前後の移植片の中への再生があった。移植片の中に nerve growth factor (NGF), BDNF, neurotrophin-4 (NT-4) の成長因子を加えると、再生率が 20% 前後に上昇した。また、切断視神経末端に接する移植片内のみならず、細胞体により近い硝子体にも成長因子を加えると、さらに再生率が上昇し、特に CNFF を硝子体内に投与した群では 50% ほどの再生があった (図 15)。

このことから、培養 Schwann 細胞、細胞外マトリックスならびに神経成長因子を用いた人為的な環境によって視神経再生を引き出すことが可能である、ということが明らかとなった<sup>69)</sup>。

これらの結果を基に、視神経の中樞投射であるラット上丘との架橋移植を行った (図 16)。

ラット視神経はほぼ全交差なので、左眼球から 1 mm で切断した視神経と右上丘を人工移植片で架橋した。

移植片の中には Schwann 細胞と細胞外マトリックスに加え、Schwann 細胞を活性化させるため、NGF と FGF を投与した。

また、硝子体中には CNTF, BDNF, forskolin, insulin を投与した。

図 17 a は移植後 2 か月目に再度移植片を露出したところである。左下に眼球があり、そこから反対側の上丘に移植片が伸びている。この状態で右上丘へ diI 色素を投与することにより網膜神経節細胞を逆行性標識した。

図 17 b は眼球と移植片を取り出し、移植片の中身を露出したものである。眼球から再生した視神経組織がある。

上丘への視神経再生を確認するために移植後 2 か月目に行った上丘への diI 色素投与では、網膜神経節細胞を逆行性に標識することが可能であった。その際の再生率は 18% 前後であった<sup>69)</sup>。



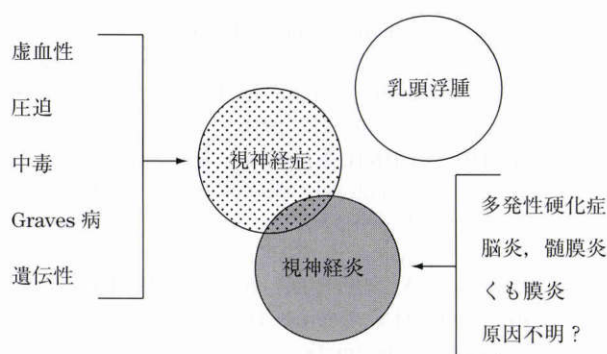


図 18 ON と視神経症の鑑別の模式図。

## VI 結 論

ON の診断には、視神経症との鑑別診断がまず第一であることは百も承知で、その鑑別法については敢えて触れないでまとめた。図 18 に示すように、いわゆる炎症に起因しない視神経症の場合は、その原因を探することは容易とはいえないが、可能な場合の方が多い。しかし、いわゆる虚血性視神経症のうち、側頭動脈炎に起因する動脈炎性視神経症 (arteritic ischemic optic neuropathy, AION) に対して、非動脈炎性視神経症の (non-arteritic ischemic optic neuropathy, NAION) と ON の鑑別は難しい。この鑑別について述べるには、余りにも紙面が限られていることから、別途、教室からの報告を参考にして頂きたい。

ON の診断に当たっては、VECP の果たしてきた役割は多大なものがある。著者は VECP の何であるか、視機能の何をとっているかを 1971 年来研究してきて、その臨床応用にルーチン化できることを可能にしたと考えている。その基礎的な詳しい研究結果の全容を述べる紙面もないので、歴史的な一局面だけを紹介しながらまとめた。加えて、MRI の画像診断の眼科サイドからの究明の一部を紹介した。

診断手法の発展を総括しながら、今回は過去 21 年間の教室における臨床データをまとめた。これほど多数のデータを一施設からまとめた報告はなく、本邦の ON の病態を明らかにすることができた。その結果は、従来、神経内科サイドの報告からの概念と異なり、人種差のないことが明らかになったことは国際的土壌でも貴重なデータ提供となり得ると考える。より詳しくは別途、教室の Suehiro<sup>70)</sup> の報告を参考にされたい。

加えて、ON から MS への移行の頻度も高く、MS が少ないと考えられた日本の統計に対して、impact のある結果と思われる。MS 診断の技術は、眼科サイドからの研究を重視されたく、人種差のない遺伝子診断につながれば、と敢えて考える。

さらに治療法としては、副腎皮質ステロイド薬のテノン下注の結果が優れていることを示した。眼科医としては是非、見直して欲しい手法である。

実験的には、人工移植片を用いた視神経移植による視神経回路の再構築を試みた。まずは網膜神経節細胞の生存維持を目的として、ニューロロフィン遺伝子やストレス蛋白の導入ならびに転写遺伝子である c-fos の制御は有効であることを示した。そして、損傷視神経の再伸長は培養 Schwann 細胞を主成分とした人工移植片によって誘導可能であり、上丘までの再生を 15% の高さで行われ得ることを示した。このように視神経は好条件で人工移植片を通して、再生誘導が可能であることがわかり、近い将来、ヒトでも視神経回路の実現の可能性を期待したい。移植治療法の可能性は僅かとはいえ、光明を灯し、まさにこの研究の臨床に向けての幕開けである。

最後に、第 104 回日本眼科学会総会の特別講演の機会を与えていただいた日本眼科学会評議員各位、日眼会員の皆様に感謝いたします。また、本研究の協力に当たった千葉大学医学部眼科学教室員に感謝いたします。

本研究は文部省科学研究費「基盤研究展開 A, 課題番号 10357015」, 科学技術庁科学技術振興調整費目標達成型脳科学技術研究推進制度, 厚生省特定疾患網膜脈絡膜・視神経萎縮症調査研究費の支援を受けた。

## 文 献

- 1) Nettleship E: On cases of retro-ocular neuritis. Trans Ophthalmol Soc UK 4: 186—226, 1884.
- 2) Beck RW, Cleary PA, Anderson, MM Jr, Keltner JL, Shults WT, Kaufman DI, et al: A randomized, controlled trial of corticosteroids in the treatment of acute optic neuritis. N Engl J Med 326: 581—588, 1992.
- 3) Wakakura M, Minei-Higa R, Oono S, Matsui Y, Tabuchi A, Kani K, et al: Baseline features of idiopathic optic neuritis as determined by a multicenter treatment trial in Japan. Jpn J Ophthalmol 43: 127—132, 1999.
- 4) Jin YP, de Pedro-Cuesta J, Söderström M, Stawiarz L, Link H: Incidence of optic neuritis in Stockholm, Sweden 1990—1995: I. Age, sex, birth and ethnic-group related patterns. J Neuro Sci 159: 107—114, 1998.
- 5) Cohen MM, Lessell S, Wolf PA: A prospective study of the risk of developing multiple sclerosis in uncomplicated optic neuritis. Neurology 29: 208—213, 1979.
- 6) Miller DH, Newton MR, van der Poel JC, du Boulay EPGH, Halliday AM, Kendall BE, et al: Magnetic resonance imaging of the optic nerve in optic neuritis. Neurology 38: 175—179, 1988.
- 7) Isayama Y, Takahashi T, Shimoyama T, Yamadori A: Acute optic neuritis and multiple sclerosis. Neurology 32: 73—76, 1982.
- 8) Adachi-Usami E, Kellermann FJ, Makabe R: VER threshold in different stages of optic neuritis. Ophthalmic Res 4: 284—297, 1972.



- 9) Halliday AM, McDonald WI, Mushin J : Visual evoked response in diagnosis of multiple sclerosis. *Br Med J* 4: 661—664, 1973.
- 10) Regan D, Milner BA, Heron JR : Delayed visual perception and delayed visual evoked potentials in the spinal form of multiple sclerosis and in retrobulbar neuritis. *Brain* 99: 43—66, 1976.
- 11) Asselman P, Chadwick DW, Marsden CD : Visual evoked responses in the diagnosis and management of patients suspected of multiple sclerosis. *Brain* 98: 261—282, 1975.
- 12) Matthews WB, Small DG, Small M, Pountney E : Pattern reversal evoked visual potential in the diagnosis of multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 40: 1009—1014, 1977.
- 13) 溝田 淳, 安達恵美子, 黒田紀子, 柿栖米次 : 多発性硬化症の眼症状に関する統計的観察. *臨眼* 40: 1227—1230, 1986.
- 14) 安達恵美子, 安達哲夫, 金井塚道節, 千葉弥幸 : Checkerboard pattern reversal 装置の試作. *眼紀* 26: 516—518, 1975.
- 15) Adachi-Usami E : A multipurpose television pattern generator. *Proc. 16 th ISCEV Symposium*, Morioka, 195—199, 1979.
- 16) 安達恵美子, 千葉弥幸, 千葉次郎, 石川 清, 石川貞夫 : 等エネルギーカラーパターン発生装置の試作と第 1 色覚異常の VEP 記録への応用. *眼紀* 32: 1517—1521, 1981.
- 17) Adachi-Usami E, Kuroda N, Yamamoto Y : Clinical analysis of non-recordable pattern VEPs in 107 patients. *Fortschr Ophthalmol* 85: 301—303, 1988.
- 18) Miyauchi D, Adachi-Usami E, Takasoh M, Mizota A : The correlation between visual acuity and pattern visually evoked potentials in patients with optic neuritis (Submitted).
- 19) Takasoh M, Adachi-Usami E, Mizota A : Steady-state PVEP is superior to transient PVEP in the diagnosis of optic neuritis. *Acta Ophthalmol Scand* 76: 230—233, 1998.
- 20) Maffei L, Fiorentini A : Electoretinographic responses to alternating gratings before and after section of the optic nerve. *Science* 211: 953, 1981.
- 21) Adachi-Usami E, Kuroda N, Nakajima I : Distribution of pattern-evoked potentials in the facial area. *Am J Ophthalmol* 96: 734—739, 1983.
- 22) 高田郁子, 安達恵美子, 黒田紀子 : 多発性硬化症における多チャンネル同時記録による PERG と PVEP の比較. *日眼会誌* 89: 1391—1396, 1985.
- 23) Adachi-Usami E : Facially distributed pattern-evoked potentials in multiple sclerosis. *Doc Ophthalmol* 65: 259—269, 1987.
- 24) 柿栖米次, 渡部美博, 豊永直人, 麻薙 薫, 黒田紀子, 安達恵美子, 他 : NMR-CT の眼科領域の応用. *臨眼* 79: 701—705, 1985.
- 25) 柿栖米次, 安達恵美子, 小島重幸, 平山恵造 : 視神経炎(症)による磁気共鳴像 MRI の意義. *日眼会誌* 93: 281—286, 1989.
- 26) Kakisu Y, Adachi-Usami E, Fujimoto N : Pattern visually evoked cortical potential and magnetic resonance imaging in optic neuritis. *J Clin Neuro-ophthalmol* 11: 205—212, 1991.
- 27) Paty DW, Li DKB, Koopmans RA : Matters arising : MRI in monitoring the treatment of multiple sclerosis : Concerted action guidelines. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 55: 978, 1992.
- 28) Morrissey SA, Miller DH, Kendall BE, Kingsley DPE, Kelly MA, Francis DA, et al : The significance of brain magnetic resonance imaging abnormalities at presentation with clinically isolated syndromes suggestive of multiple sclerosis : A 5-year follow-up study. *Brain* 116: 135—146, 1993.
- 29) Miller DH, Johnson G, McDonald WI, MacManus D, duBoulay EPGH, Kendall BE, et al : Detection of optic nerve lesions in optic neuritis with magnetic resonance imaging. *Lancet* 1: 1490—1491, 1986.
- 30) Larsson HBW, Thomsen C, Frederiksen J, Henriksen O, Olsen J : Magnetic resonance imaging of the optic nerve in patients with acute optic neuritis. *Acta Radiol* 29: 629—632, 1988.
- 31) Kennedy C, Carroll FD : Optic neuritis in children. *Trans Am Acad Ophthalmol Oto-Laryngol* 64: 700—712, 1960.
- 32) Kriss A, Francis DA, Cuendet F, Halliday AM, DSI Taylor, Wilson J, et al : Recovery after optic neuritis in childhood. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 51: 1253—1258, 1988.
- 33) Riikonen R, Donner M, Erkkilä H : Optic neuritis in children and its relationship to multiple sclerosis : A clinical study of 21 children. *Dev Med Child Neurol* 30: 349—359, 1988.
- 34) 中尾雄三, 大本達也, 下村嘉一 : 小児視神経炎について. *眼紀* 34: 496—498, 1983.
- 35) 宮崎 泉 : 小児脱髄疾患に起因する視神経炎の視機能. *日眼会誌* 95: 995—1003, 1991.
- 36) Beck RW, Cleary PA, Trobe JD, Kaufman DI, Kupersmith MJ, Paty DW, et al : The effect of corticosteroids for acute optic neuritis on the subsequent development of multiple sclerosis. *N Engl J Med* 329: 1764—1769, 1993.
- 37) Optic neuritis study group : The 5-year risk of MS after optic neuritis. Experience of the optic neuritis treatment trial. *Neurology* 49: 1404—1413, 1997.
- 38) McAlpine D : The benign form of multiple sclerosis : Results of a long-term study. *Br Med J* 2: 1029—1032, 1964.
- 39) Paty DW, Noseworthy JH, Ebers GC : Diagnosis of multiple sclerosis. In : Paty DW, et al (Eds) : *Multiple Sclerosis*. FA Davis Company, Philadelphia, 48—134, 1998.
- 40) Smith JL, McCrary JA, Bird AC, Kursten J, Kulvin SM, Skilling F, et al : Sub-Tenon steroid injection for optic neuritis. *Trans Am Acad Ophthalmol* 74: 1249—1253, 1970.



- 41) Bird AC, Leaver PK, Gould E, McDonald I: Assessment of intraocular steroids in the treatment of retrobulbar neuritis. In: Glaser JS (Ed): Neuro-ophthalmology. The CV Mosby Company, St Louis, 154—159, 1977.
- 42) 安達恵美子: 視神経炎の診断と治療. 日本の眼科 57: 1037—1045, 1986.
- 43) 藤本尚也, 安達恵美子: 視神経炎におけるステロイドテノン下注の視機能への短期効果について. 眼臨 82: 987—991, 1988.
- 44) Zhu B, Moore GRW, Zwimpfer TJ, Kastrukoff LF, Dyer JK, Steeves JD, et al: Axonal cytoskeleton changes in experimental optic neuritis. Brain Res 824: 204—217, 1999.
- 45) 谷合真理子, 伊藤 彰, 出沢真理, 四倉次郎, 溝田淳, 安達恵美子: 実験的脱髄性視神経症における免疫組織化学的, 電気生理学的研究. 日眼会誌臨時増刊号 104: 256, 2000.
- 46) Berbe MF, Tytell M, Gower DJ, Welch WJ: Hyperthermia protects against light damage in the rat retina. Science 241: 1817—1820, 1988.
- 47) Caprioli J, Kitano S, Morgan JE: Hyperthermia and hypoxia increase tolerance of retinal ganglion cells to anoxia and excitotoxicity. Invest Ophthalmol Vis Sci 37: 2376—2381, 1996.
- 48) Cohen GM: Caspase: The executioners of apoptosis. Biochem J 326: 1—16, 1997.
- 49) Lam TT, Abler AS, Tso MOM: Apoptosis and caspases after ischemic-reperfusion injury in rat retina. Invest Ophthalmol Vis Sci 40: 967—975, 1999.
- 50) Levin LA, Schlamp CL, Spieldoch RL, Geszvain KM, Nickells RW: Identification of the bcl-2 family of genes in the rat retina. Invest Ophthalmol Vis Sci 38: 2545—2553, 1997.
- 51) Chen J, Flannery JG, Lavail MM, Steinberg RH, Xu J, Simon MI: bcl-2 overexpression reduces apoptotic photoreceptor cell death in three different retinal degenerations. Proc Natl Acad Sci USA 87: 3899—3903, 1990.
- 52) Smeyne RJ, Vendrell M, Hayward M, Baker SJ, Miao GG, Schilling K, et al: Continuous c-fos expression precedes programmed cell death *in vivo*. Nature 363: 166—169, 1993.
- 53) Rosenbaum DM, Rosenbaum PS, Gupta H, Singh M, Aggarwal A, Hall DH, et al: The role of the p53 protein in the selective vulnerability of the inner retina to transient ischemia. Invest Ophthalmol Vis Sci 39: 2132—2139, 1998.
- 54) Wagstaff MJ, Collaco-Moraes Y, Smith J, de Belleruche JS, Coffin RS, Latchman DS: Protection of neuronal cells from apoptosis by HSP 27 delivered with a herpes simplex virus-based vector. J Biol Chem 274: 5061—5069, 1999.
- 55) 忍足俊幸, 横山暁子, 出沢真理: 網膜神経節細胞の生存維持と分子メカニズム. 神経眼科 16: 402—412, 1999.
- 56) Oshitari T, Dezawa M, Negishi H, Adachi-Usami E: Effect of c-fos on retinal ganglion cell regeneration. Invest Ophthalmol Vis Sci (Suppl) 40: S 473, 1999.
- 57) 出沢真理, 忍足俊幸: 視神経のグリア細胞とその機能. 神経眼科 16: 47—57, 1999.
- 58) Dezawa M, Kawana K, Negishi H, Adachi-Usami E: Glial cells in degenerating and regenerating optic nerve of the adult rat. Brain Res Bull 48: 573—579, 1999.
- 59) Liuzzi FJ, Lasek RJ: Astrocytes block axonal regeneration in mammals by activating the physiological stop pathway. Science 237: 642—645, 1987.
- 60) Christine B, Thomas Z, Martin E: Oligodendrocytes arrest neurite growth by contact inhibition. J Neurosci 10: 3837—3848, 1999.
- 61) Vidal-Sanz M, Bray GM, Villegas-Perez MP, Thanos S, Aguayo AJ: Axonal regeneration and synapse formation in the superior colliculus by retinal ganglion cells in the adult rat. J Neurosci 7: 2894—2909, 1987.
- 62) 出沢真理, 根岸久也: 視神経移植の現状と問題点. 眼科診療プラクティス 44, 文光堂, 東京, 132—139, 1999.
- 63) Scherer SS, Salzer JL: Axon-Schwann cell interactions during peripheral nerve degeneration and regeneration. In: Jessen KR, et al (Eds): Glial cell development. BIOS Scientific Publishers, Oxford, 165—196, 1996.
- 64) Martini R: Expression and functional roles of neural cell surface molecules and extracellular matrix components during development and regeneration of peripheral nerves. J Neurocytol 23: 1—28, 1994.
- 65) Dezawa M, Mutou T, Dezawa A, Adachi-Usami E: Putative gap junctional communication between axon and regenerating Schwann cells during mammalian peripheral nerve regeneration. Neurosci 85: 663—667, 1998.
- 66) McKerracher L, Chamoux M, Arregui CO: Role of laminin and integrin interactions in growth cone guidance. Mol Neurobiol 12: 95—116, 1996.
- 67) Dezawa M, Kawana K, Adachi-Usami E: The role of Schwann cells during retinal ganglion cell regeneration induced by peripheral nerve transplantation. Invest Ophthalmol Vis Sci 38: 1401—1410, 1997.
- 68) Negishi H, Dezawa M, Oshitari T, Adachi-Usami E: Optic nerve regeneration into the artificial graft in adult rats. Invest Ophthalmol Vis Sci (Suppl) 40: 460, 1999.
- 69) Adachi-Usami E, Negishi H, Oshitari T, Dezawa M: Retinal ganglion cell regeneration into superior colliculus by usage of artificial Schwann cell graft. Invest Ophthalmol Vis Sci (Suppl) 41: 855, 2000.
- 70) Suehiro S, Tsuyama Y, Miyauchi O, Mizota A, Adachi-Usami E: The clinical profile of optic neuritis in Japanese (Submitted).