

第 108 回 日本眼科学会総会 特別講演 II

網膜色素変性と加齢黄斑変性：病態研究と治療研究の進展

玉井 信

東北大学大学院医学系研究科神経・感覚器病態学講座眼科学分野

要 約

厚生労働省特定疾患調査研究班の対象疾患、網膜色素変性(RP)および加齢黄斑変性(AMD)の病態解明と診断、治療法の開発、その評価法の確立に取り組んだ。

RP の分子遺伝学的解析の進歩により、遺伝子変異のタイプと頻度には人種差があることが明らかになった。特に既報告の 9 種類の常染色体優性 RP (ADRP) の原因遺伝子 (rhodopsin, peripherin/RDS, RP1, NRL, FSCN 2, PRPF 31, HPRP 3, IMPDH 1) に焦点を絞り、日本人 ADRP 96 家系を遺伝子解析し、それぞれの変異の頻度、種類、臨床像、特に遺伝子変異とその表現型について考察した。その結果、日本人 ADRP には特有の遺伝子変異があることが明らかになった。それは、FSCN 2 遺伝子変異が日本人 ADRP にのみ見つかったこと、一方、高頻度変異として報告されているロドプシン遺伝子の Pro347Leu, Pro23His 変異や、RP 1 遺伝子の Arg677X, IMPDH 1 遺伝子の Asp226Asn 変異は日本人 ADRP にはほとんど見られないか、まれであることが明らかになったことなどによる。

滲出型(wet-type) AMD の治療法として多施設無作為割り付け比較対照試験(厚生労働省特定疾患重点研究)を行った低線量放射線治療の有効性について、少なくとも照射後 1 年までは視力保持、脈絡膜新生血管(CNV)の縮小の点で、有効であることを報告した。また、硝子体手術による CNV 剥去、剥去後に患者自身の培養自己虹彩色素上皮細胞移植を行った場合を検討し、その効果と視力改善について述べた。

RP や AMD の視細胞変性に至るメカニズムはほとんどがアポトーシスで、それを阻止するために神経栄養因子(NT)が有効であることから、NT 分泌能を持つ色素細胞の移植による治療法の開発を目指した。この方法を人に応用するには、1) 患者の虹彩色素上皮(IPE)を周辺虹彩切除で得る、2) 患者自身の血清を用いて培養し、NT の cDNA を導入する、3) これらの細胞を網膜下に移植するという手順をとる。培養した IPE へアデノ随伴ウイルス(AAV)を用い、脳由来神経栄養因子(BDNF)遺伝子(BDNFcDNA)を導入し、その特徴、網膜下移植の安全性、RCS ラットや光障害視細胞変性モデル動物でその視細胞保持に効果があることを示した。ヒト RP や wet-type AMD の治療法となり得ると考え、実際の症例に治療研究として実施するための最終的な準備段階にあることを述べた。もし実施されれば、患者自身の細胞を用いた *ex vivo* 法による網膜変性疾患の治療は、世界で初めての試みとなる。(日眼会誌 108: 750-769, 2004)

キーワード：網膜色素変性、加齢黄斑変性、分子遺伝学、常染色体優性、ロドプシン、ペリフェリン/RDS, RP 1, FSCN 2, PRPF 31, HPRP 3, IMPDH 1, NRL, PRPC 3, 脈絡膜新生血管、培養自己虹彩色素上皮、細胞移植、遺伝子導入、アデノ随伴ウイルス、脳由来神経栄養因子(BDNF)

A Review

Progress in Pathogenesis and Therapeutic Research in Retinitis Pigmentosa and Age-related Macular Degeneration

Makoto Tamai

Department of Ophthalmology, Tohoku University Graduate School of Medicine

Abstract

Retinitis pigmentosa(RP) and age-related macular degeneration(AMD) are designated special tar-

別刷請求先：980-8574 仙台市青葉区星陵町 1-1 東北大学大学院医学系研究科神経・感覚器病態学講座眼科学分野 玉井 信
(平成 16 年 8 月 25 日受付, 平成 16 年 10 月 1 日改訂受理)

Reprint requests to: Makoto Tamai, M. D. Department of Ophthalmology, Tohoku University Graduate School of Medicine, 1-1 Seiryō-machi, Aoba-ku, Sendai 980-8574, Japan

(Received August 25, 2004 and accepted in revised form October 1, 2004)

geted eye diseases by the Welfare and Labor Ministry of Japan. We have been studying the pathogenesis, diagnosis, treatment, and evaluation of these diseases.

The development of molecular genetic analyses of RP revealed that the type and frequency of mutations varied with the ethnic population. In our present study, we focused on the genetic analysis and clinical examinations for autosomal dominant retinitis pigmentosa (ADRP). We screened 96 unrelated ADRP families with 9 genes, which included rhodopsin, peripherin/RDS, RP 1, NRL, FSCN 2, PRPF 31, PRPC 8, HPRP 3, IMPDH 1. We also showed the correlations we have found between the phenotype and genotype of hereditary retinal diseases in Japanese patients. Our mutation screenings suggested that Japanese patients with ADRP might have a unique mutation, because the mutation in the FSCN2 gene has been found only in Japanese patients. On the other hand, the Pro347Leu and Pro23His mutations in the rhodopsin, the Arg677X mutation in the RP 1, and the Asp226Asn mutation in the IMPDH 1 genes are representative mutations for ADRP, and are not found or are very rare in Japanese patients with ADRP.

The results of randomized controlled trials of low-dose radiation for wet-type age-related macular degeneration located at the fovea centralis indicate the effectiveness of this treatment for maintaining visual acuity and regression of choroidal neovascular membrane (CNV) for at least one-year. Simple surgical removal of CNV or transplantation of autologous cultured iris pigment epithelium (IPE) with vitreous surgery showed some improvement of

vision.

In either RP or AMD, photoreceptors die, in most cases by apoptosis. Neurotrophic factors (NT) are effective for reducing these processes and preventing photoreceptor cell death in animal models. To apply these methods to humans, the procedures are as follows: 1) obtaining IPE by peripheral iridectomy, 2) culturing it with autologous serum and transfecting the cDNA of NT, and then 3) transplantation of these cells under the retina. We used cDNA of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) with adeno-associated virus (AAV) as a vector. These *ex vivo* procedures were safe and very effective for preventing photoreceptor cell death in animal models, such as RCS rats and light-damaged rats. In the future, these procedures could be applied for RP or AMD and might show some clinical effects for maintaining or improving the vision of patients.

Nippon Ganka Gakkai Zasshi (J Jpn Ophthalmol Soc 108: 750–769, 2004)

Key words: Retinitis pigmentosa, Age-related macular degeneration, Molecular genetics, Autosomal dominant retinitis pigmentosa, Rhodopsin, Peripherin/RDS, RP 1, NRL, FSCN 2, PRPF 31, PRPC 8, HPRP 3, IMPDH 1, Choroidal neovascular membrane, Cultured autologous iris pigment epithelium, Transplantation, Gene-transfection, Adeno Associated virus, Brain derived neurotrophic factor

はじめに

1953年デオキシリボ核酸(DNA)の構造が発見、報告されてからの20世紀後半は、生命科学と基礎・臨床医学研究の歴史において、人類が嘗て経験したことのない大発展を遂げた時代であった¹⁾。眼科学においても、原因不明といわれ、治療不可能と考えられた疾患の発症機転が明らかになり、治療対象となった。この間の生命科学の発展の特徴は、新たな知識が既存の学問分野の壁だけでなく、医師、患者といった社会的な階層を越えて広がったこと、そしてそれが瞬く間に世界の隅々まで広がったことであろう。それには情報技術(IT)の進歩の果たした役割は大きい。別の表現をすれば interdisciplinary な学問分野と translational research の発展、知識・技術の共有であった。それらはいずれも患者と対峙している我々臨床家にとっては素晴らしいことで、治療法

にしても、開発と同時に世界的な広がりや臨床応用され、さらに治療成績の向上と視機能の質の劇的な改善が患者の協力の下に図られた。代表的なものとして、白内障とその手術法および粘弾性物質と眼内レンズの普及、糖尿病網膜症とレーザー光凝固術、増殖硝子体網膜症や増殖糖尿病網膜症と硝子体手術などが挙げられる。

網膜色素変性(RP)および加齢黄斑変性(AMD)も同様で、世界的にその発症機転や治療法も長らく不明のままであったが、1990年Dryjaらのグループからロドプシン遺伝子の変異が原因で網膜色素変性が発症することが報告され、分子遺伝学の扉が開かれ新たな時代を迎えた²⁾。新規原因遺伝子の発見、遺伝子解析による原因遺伝子異常の発見、変異による疾患の解析、さらには分子生物学的な細胞死のメカニズム、様々なサイトカインの役割など目覚ましい研究成果が発表されるに至った。このように1953年に始まった分子生物学の発展の波は20

表 1 2004 年現在, 常染色体優性網膜色素変性(ADRP)12 個, 常染色体劣性網膜色素変性(ARRP)11 個, X 染色体劣性網膜色素変性(XLRP)2 個, 計 25 個の原因遺伝子が報告されている。

ADRP	Rhodopsin	1990	Dryja et al
	Peripherin/RDS	1991	Farrar et al
	ROM 1	1994	Kajiwara et al
	CRX	1998	Sohocki et al
	RP 1	1999	Pierce et al, Sullivan et al
	NRL	1999	Bessant et al
	FSCN 2(Fascin)	2001	Wada et al
	PRPF 31	2001	Vithana et al
	PRPC 8	2001	Mckie et al
	HPRP 3	2002	Chakarova et al
	IMPDH 1	2002	Bowne et al, Kennan et al
ARRP	Rhodopsin	1992	Rosenfeld et al
	PDE 6 B	1993	McLaughlin et al
	CNGA 1	1995	Dryja et al
	PDE 6 A	1995	Huang et al
	ABCA 4	1997	Martinez-Mir et al
	RLBP 1	1997	Maw et al
	RPE 65	1997	Gu et al
	SAG	1998	Nakazawa et al
	TULP 1	1998	Banejee et al
	CRB 1	1999	den Hollander et al
	RGR	1999	Morimura et al
	MERTK	2000	Gal et al
	NR 2 E 3	2000	Gerber et al
	USH 2 A	2000	Rivolta et al
	CNGB 1	2001	Bareil et al
	LRAT	2001	Thompson et al
	CERKL	2004	Tuson et al
XLRP	RPGR	1996	Meindl et al, Roepman et al
	RP 2	1998	Schwahn et al

Causative gene for retinitis pigmentosa

世紀最後の 10 年間で不可能と思われていた眼底疾患に対して, 治療法となる可能性を秘めるまでになった。この事実は, 患者に大きな夢と希望を抱かせることになり, また, 21 世紀には必ずや花開く多くの芽がそこに含まれていると研究者も患者も考えるようになった。移植や再生医療の考えに基づく治療法の開発ばかりでなく, 完全に視細胞の変性後, 人工網膜の移植による残存神経節細胞の利用や, 光トランスダクションをカメラで行った後の大脳皮質視覚領刺激による, まさに人工的な視覚ではあっても, 何らかの意味で光情報を利用することが可能になる事態を考えると, 21 世紀においてはあらゆる意味での“視機能回復”が決して不可能ではないことを近年の科学技術の進歩が示している。本特別講演では, 東北大学眼科教室における RP, AMD の病態解明と治療法開発への努力, 我々が目指してきた遺伝子導入培養自己虹彩色素上皮移植法を治療法として確立するための研究についてまとめた。

I RP の病態研究

1. 厚生省特定疾患調査研究班の活動

日本における本格的な RP の基礎および臨床研究は厚生省難病対策課が始めた特定疾患対策研究事業の一つとして, 昭和 47 年に RP が取り上げられたことから始まった。昭和 48 年(1973 年)には三島済一教授(東京大)のもとに厚生省特定疾患調査研究班が組織され, その後一貫してこの難病に対する診断法の確立, 患者の把握, 治療法の開発が多くの方々によって受け継がれ, 進められてきた。時代とともに RP だけでなく対象疾患が広げられ, 最終的には RP とその類縁疾患を中心に, 変性近視, 黄斑ジストロフィ, 加齢黄斑変性, さらに難治性視神経症も取り上げられた³⁾。

2. 常染色体優性網膜色素変性(ADRP)の分子遺伝学的解析

RP は, 進行性の夜盲, 視力低下, 視野狭窄を主症状とする疾患で, 遺伝盲の第一位を占めている。長年原因は不明であった本疾患も, 分子生物学の進歩により, 分

日本人常染色体優性網膜色素変性における遺伝子解析結果

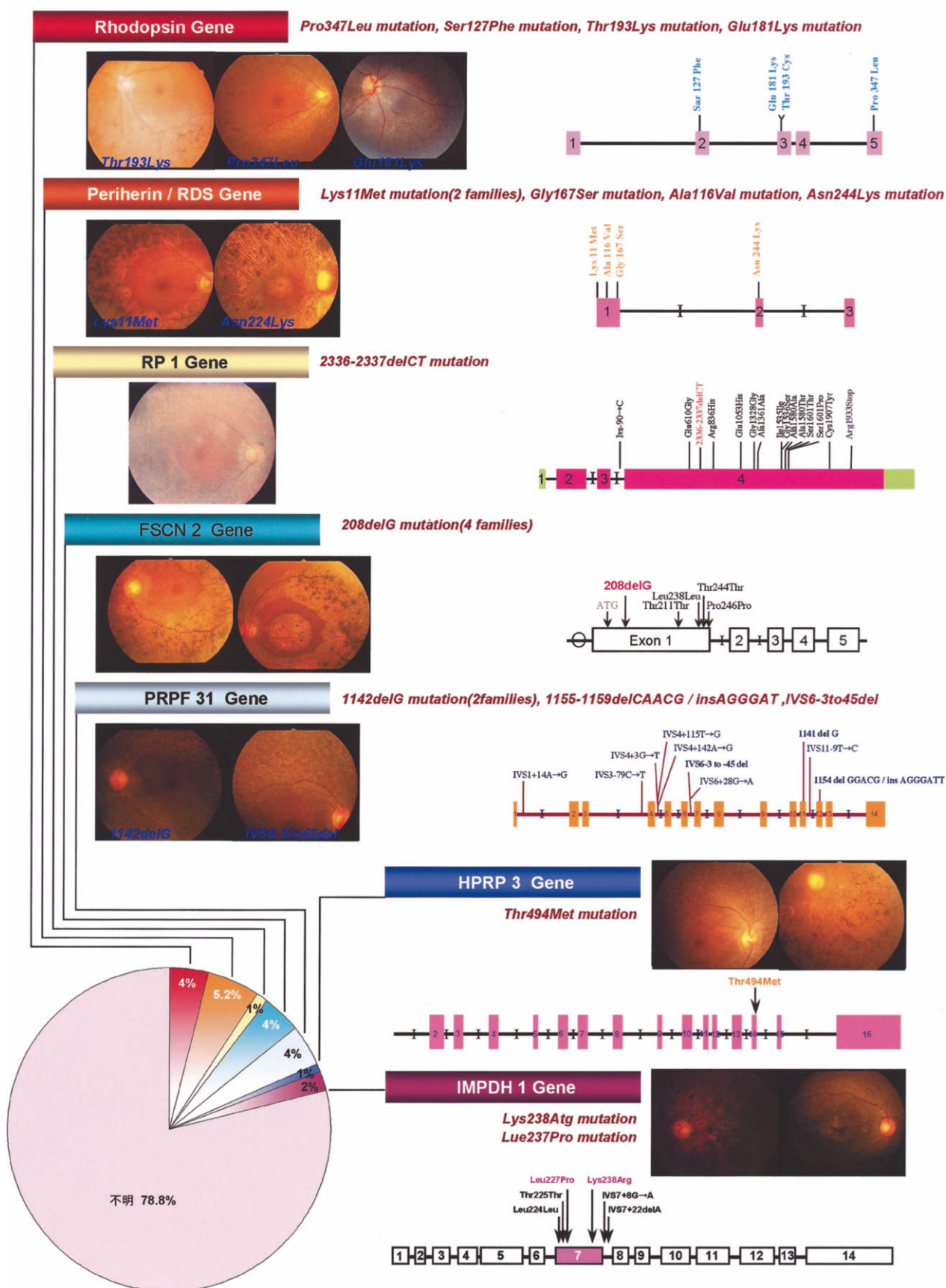


図 1 我々が解析した常染色体優性遺伝色素変性の 7 個の原因遺伝子(ロドプシン, ペリフェリン/RDS, RP 1, FSCN 2, PRPF 31, HRP 3, IMPDH 1)の眼底像, 遺伝子構造と変異部位, 発症頻度。

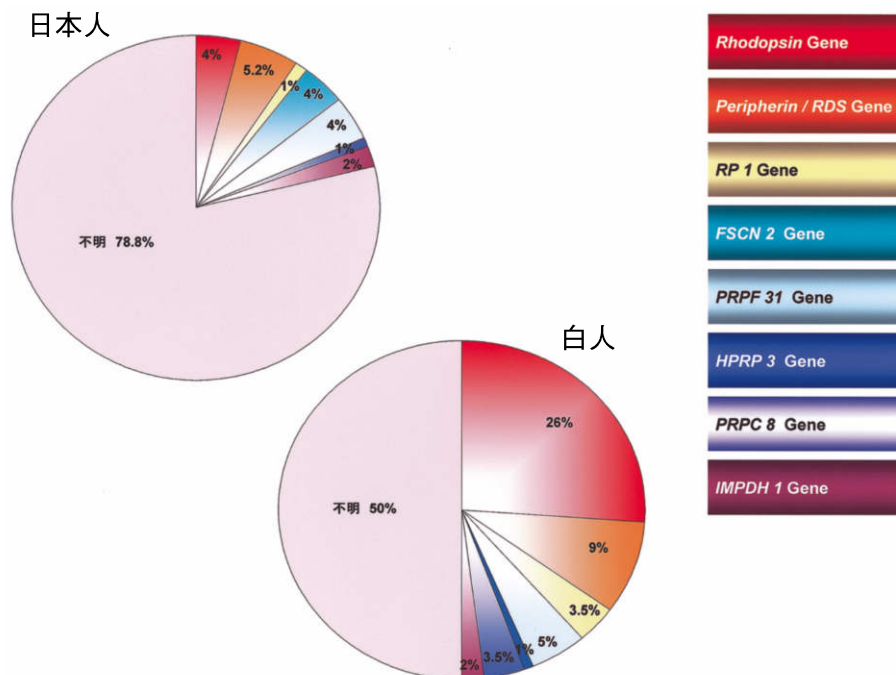


図 2

我々(日本人)と海外からの報告(白人)による常染色体優性網膜色素変性(ADRP)の原因遺伝子とその頻度を比較すると、ロドプシンは欧米人に多く、日本人に少ないこと、また FSCN 2 遺伝子は逆に欧米人には全く報告されていないのに日本人の ADRP には 4% も見られるなど、人種による原因遺伝子の頻度が大きく異なる。一方では、IMPDH 1 遺伝子のように頻度到人種差が全く見られないものもある。原因遺伝子が不明の症例が欧米人では約半数であるのに、日本人では 78% に達する事実はまだまだ知られていない日本人特有の原因遺伝子がある可能性を示している。

子、遺伝子レベルの研究が行われるようになった。ロドプシンのアミノ酸配列、その遺伝子の点突然変異による ADRP の発症²⁾の報告以降、RP における遺伝子変異が次々に明らかにされた。また、網膜変性モデル動物である rd マウスで研究された β -PDE 遺伝子の変異、rds マウスの原因遺伝子ペリフェリン/RDS が、その後の候補遺伝子解析に生かされ、これらの動物での原因遺伝子がそのままヒトにも当てはまる事が明らかにされた⁴⁾。現在では、ADRP では 12 個、常染色体劣性網膜色素変性(ARRP)11 個、X 染色体劣性網膜色素変性(XLRP)で 2 個の原因遺伝子が報告されているが、今後もさらに増え続けることが予想される(表 1)。本邦でもロドプシンの遺伝子変異(Pro347Leu)が始めて報告された 1992 年以後、欧米で報告された原因遺伝子とその変異の日本人患者における解析、新規変異の発見、さらには日本人に特有な小口病の原因遺伝子アレスチンなどが続々と発見され、報告^{5)~7)}された。当教室の網膜変性グループは、2,000 例以上の RP 症例を登録し、インフォームド・コンセントの得られた患者の DNA サンプルに対して、各種の候補遺伝子に対して polymerase chain reaction(PCR)-Direct sequence 法によるスクリーニングを精力的に実施している^{8)~10)}。その結果、多くの遺伝子異常とその頻度、高頻度変異の同定、家系における表現と

の連鎖を明らかにしている。さらに、視力、視野、前眼部、中間透光体、眼底、蛍光眼底、網膜電図、暗順応、色覚検査など臨床的な特徴の記録と解析を行い、遺伝子異常が惹き起こす臨床像の特徴、多様性について研究を行ってきた。原因遺伝子の特徴、特に ADRP、96 家系の解析結果を総合すると、この疾患の様々な特徴、人種差が明らかになった。それを列挙すると下記ようになる。

1) 日本人常染色体優性 RP(ADRP)における 9 つの遺伝子変異解析結果(図 2)

96 家系 ADRP に対して、9 種類の遺伝子の変異解析結果と代表症例の眼底写真、それぞれの遺伝子変異の頻度を図 1 に示した。ロドプシン、ペリフェリン/RDS、RP 1、FSCN 2、PRPF 31、HPRP 3、IMPDH 1 遺伝子に関しては、原因遺伝子異常を確認した。NRL 遺伝子、PRPC 8 遺伝子変異は、海外では、高頻度変異が存在するが、我々の家系では、高頻度変異のみならず、疾患に関連した遺伝子異常はなかった。臨床像は、典型的な RP や、黄斑変性を伴ったもの、検眼鏡的には正常と思われる眼底像を示すものなど、その臨床像は多様であった。さらに、我々の検索では、約 22% に原因遺伝子異常を確認したが、78% の患者には、未報告の遺伝子の変異が存在することを示唆している。今後は、家計

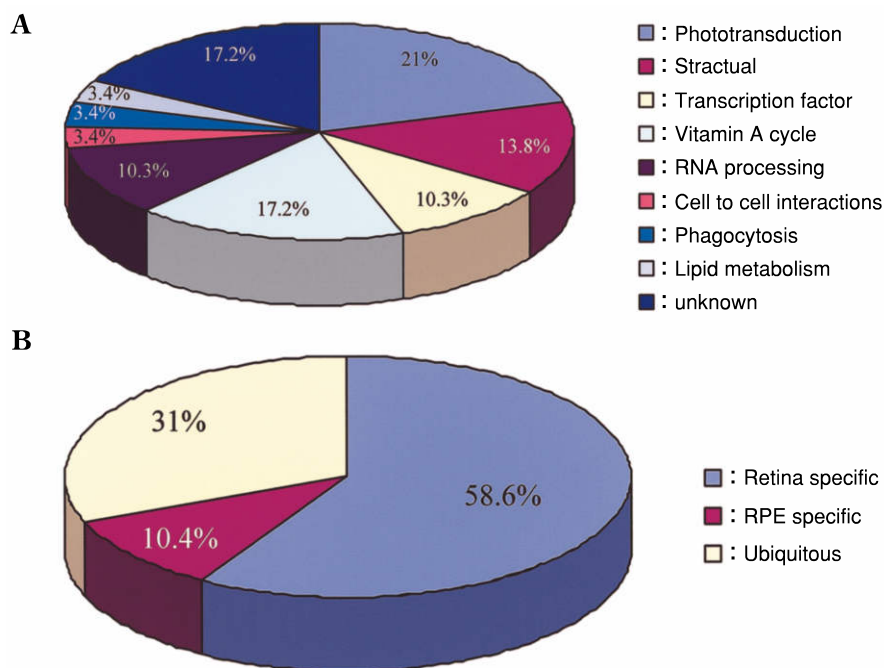


図 3 網膜色素変性の原因遺伝子の発現部位 58,610,431 原因遺伝子の網膜での機能。光トランスダクション、構造蛋白、ビタミン A の代謝サイクル等に関係したものが比較的多いがまだその機能が不明なものも多い。

調査を詳細に行い、連鎖解析により原因遺伝子を検索する必要があると考えられる⁸⁾¹¹⁾。

2) RP 原因遺伝子の網膜での機能(図 3 A)

原因遺伝子の機能面からみると、ここに挙げたような視細胞と色素上皮細胞の持つ様々な機能にかかわっていることがわかる。その主なものは細胞構造蛋白、視物質である vitamin A の再生にかかわる visual cycle、光受容過程である光トランスダクション、細胞の代謝や物質輸送にかかわる蛋白などが主なものであるが、ほぼ 17% はまだ機能が不明である。

3) RP の原因遺伝子の発現部位(図 3 B)

RP の原因遺伝子の発現部位を示す。この分布からわかることは RP の原因遺伝子が視細胞に特異的に発現するものは約 60% の他に、網膜色素上皮(RPE)に特異的なものが 10% である。30% は様々な細胞で発現する遺伝子で、この疾患の原因遺伝子を候補遺伝子検索から発見することの困難さを示している。

4) 網膜変性の原因遺伝子と染色体上の部位(図 4)

遺伝性網膜変性疾患の原因遺伝子を示す。9 番染色体と Y 染色体を除きすべての染色体上で原因遺伝子、または網膜変性疾患の locus が報告されている。日本人 ADRP 患者に注目しても、78% には原因遺伝子が未定であり、今後新たな分布がこの図に付け加えられるであろう¹²⁾。

5) Alleric heterogeneity(対立遺伝子異質性)(図 5 A, B)

同じ遺伝子異常を持っているにもかかわらず、異なる表現型を呈する場合を、対立遺伝子異質性という。FS-CN 2 遺伝子の 208delG 変異を持つ症例を示す。一方は典型的な RP、もう一方は典型的な黄斑変性を示しており、表現型の多様性が認められる。Fascin は視細胞外節の構造にかかわる蛋白で、このような眼底像の異質性を示すことは、同じように視細胞外節の構造蛋白をコードする遺伝子ペリフェリン/RDS でもよく知られている¹³⁾¹⁴⁾。

6) Non allelic heterogeneity(非対立遺伝子異質性)がある(図 5 C, D)

対立遺伝子が異なる場合であっても眼底像にほとんど差がない臨床像を示す場合を、このように表現する。HPRP 3 遺伝子 Thr 49 Met 変異, PRPF 31 遺伝子 IVS 6-3 to 45 del 変異をもつ患者の眼底像を示す。両者はほとんど差がない眼底像を示している^{15)~17)}。

7) まだ多数の原因遺伝子不明の症例が存在する(図 1, 2)

さらに、海外からの報告と比較してみると、海外ではロドプシン遺伝子変異が高頻度であり、さらに RP 1 遺伝子, IMPDH 1 遺伝子には高頻度変異が存在するため、遺伝子変異を発見しやすいという特徴があり、約 50% の ADRP 患者に原因が報告されている。図 3 は、遺伝子変異には人種差が存在することが示されており、日本人 ADRP に特有の重要な候補遺伝子がまだ別に存在することを示唆している¹⁸⁾¹⁹⁾。

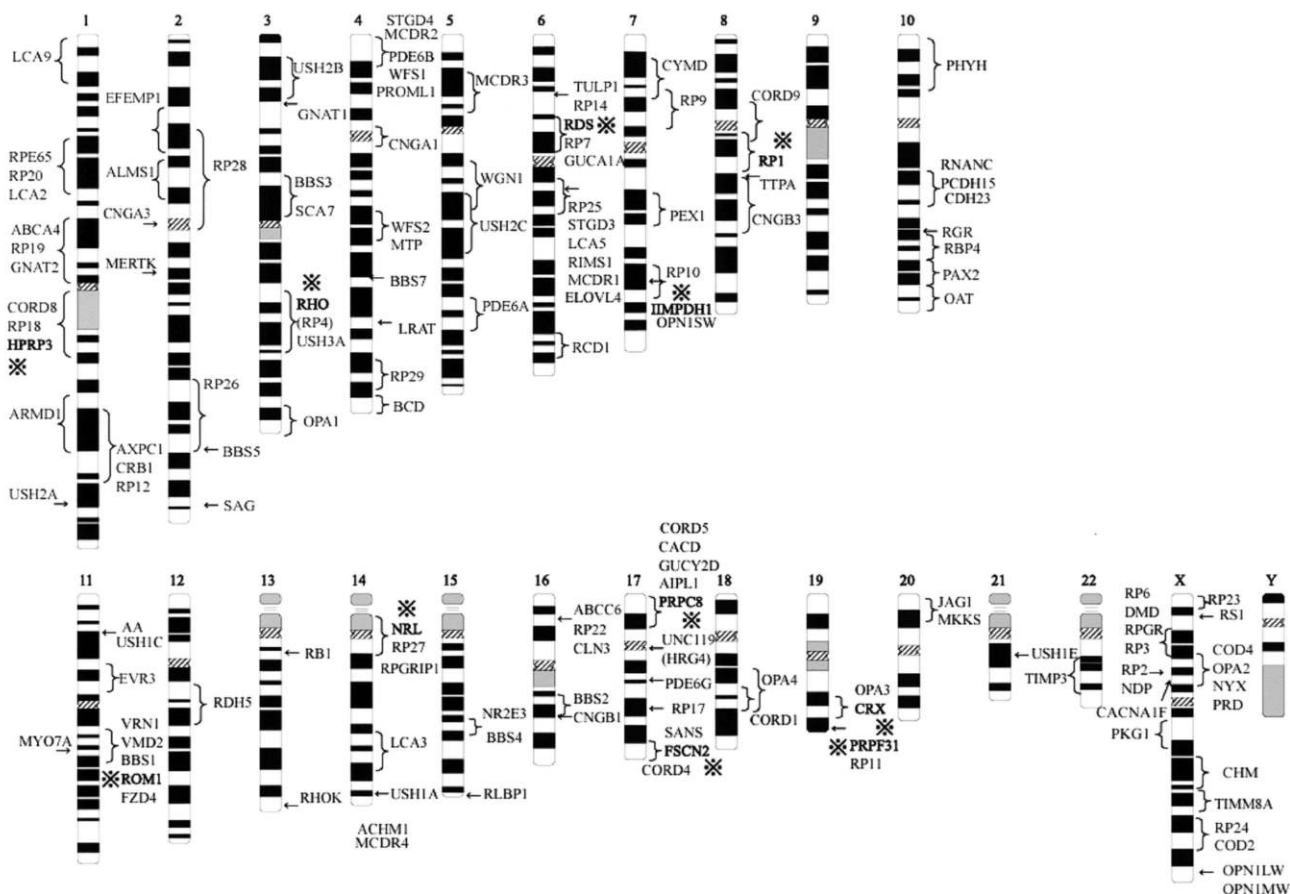


図 4 網膜色素変性の原因遺伝子と染色体の部位。

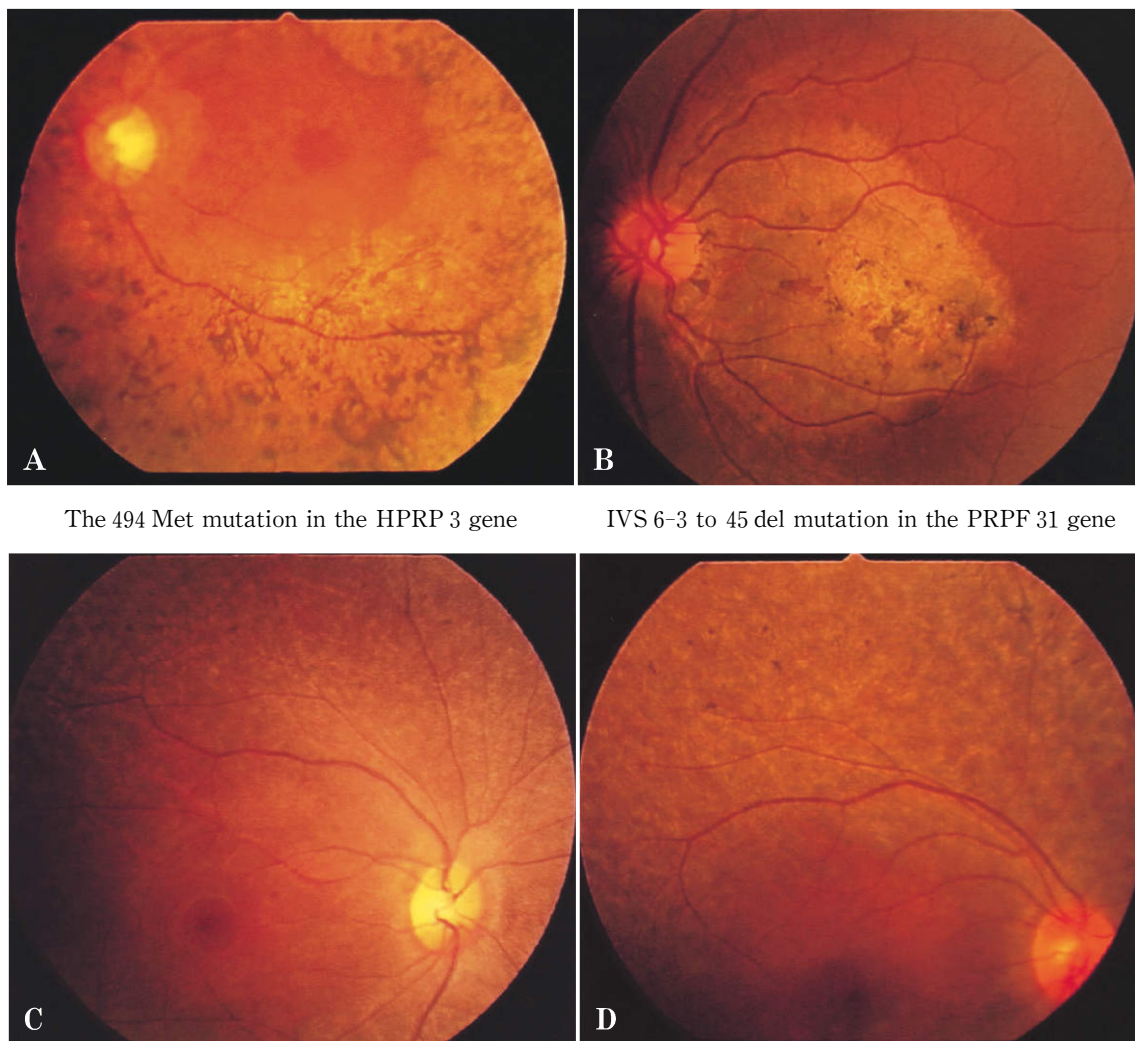
2003 年までの報告をまとめた。17 番、x 染色体に比較的多い。9 番と y 染色体には現在まで発見されていない。

临床上、これら列記した特徴は大変興味がある。例えば、コーカサス人の RP を中心とした欧米の研究で発見された原因遺伝子の中では、ロドプシン遺伝子 Pro 23 His 変異は ADRP の 20~30% を占めているといわれているが、日本人ではほとんど見られない²⁰⁾。一方、当教室で発見した FSCN 2 遺伝子の変異は日本人の ADRP の約 4% に認められ、海外からは FSCN 2 遺伝子変異は報告²¹⁾されていない。これらの遺伝子変異と臨床像、臨床経過の関連を詳細に照らし合わせることは大変重要である。それは過去において、家族歴から臨床症状の重篤度や年齢による臨床経過を予測していたが、さらに遺伝子の変異部位から一部は予想することが可能になった。現在まで原因遺伝子と異常部位の明らかになった症例ごとに、その臨床データと遺伝子解析データをまとめているので参考にして頂きたい²²⁾。しかし、先に述べた人種差を考えれば、欧米で報告された候補遺伝子異常の有無だけを日本人で検索しても、日本人を含めたアジア人における RP の全体像を把握することはできない。我々に特有の新規原因遺伝子異常を発見すること、さらに遺伝子治療を考えれば高頻度変異の有無を確認することが重要である。

II 加齢黄斑変性の治療研究

日本人に多いといわれる滲出型(wet-type) AMD は、脈絡膜新生血管(CNV)が黄斑部に形成されるために経過とともに視力が低下し、最終的には黄斑萎縮のために重篤な視力障害を来す²³⁾。時に網膜下または硝子体出血により、急激に視力障害を来すため、患者の日常生活は大きな影響を受ける。中年以降に多発するため、国民の高齢化とともに、失明原因の上位にランクされるに至った。有効な治療法はなかったが、1980 年代に入りレーザー光凝固、また 1990 年代には硝子体手術の進歩により、その原因となる CNV の外科的抜去や、360 度網膜切開後の黄斑移動術が試みられるようになった²⁴⁾。さらに、近年は経瞳孔温熱療法(TTT)や光化学物質を用いた光線力学療法(PDT)が試みられ、治療法としての確立、普及に向けた努力が図られている。ここでは二つの治療法の有効性と確立への試み、すなわち厚生労働省特定疾患重点研究として行われた低線量放射線照射の有効性に関する多施設無作為治療研究(randomized control trial, RCT)と、外科的な CNV 除去と培養自己虹彩色素上皮(IPE)移植の研究を述べる。

208 delG mutation in the FSCN 2 gene



The 494 Met mutation in the HPRP 3 gene

IVS 6-3 to 45 del mutation in the PRPF 31 gene

図 5 対立遺伝子異質性と非対立遺伝子異質性.

FSCN 2 の同じ遺伝子部位の変異により、典型的な網膜色素変性(RP) (A)と黄斑変性(B)の症例(allelic heterogeneity)と HPRP 3 Thr494Met 変異, C)と PRPF 31 遺伝子の IVS 6-3 to 45 del 変異(D)という全く異なった遺伝子の変異で全く差のない眼底像を示す(non-allelic heterogeneity)例.

1. 厚生労働省特定疾患重点研究による低線量放射線照射の wet-type AMD に対する RCT

10 年ほど前から wet-type AMD の原因である CNV に対する低線量放射線を用いた治療法と、その有効性が議論されてきた。個々の文献引用は控えるが、検索した範囲で有効性は英文で 24 篇、無効 8 篇を数え、日本での論文では有効であるとの報告が多くあり、無効の論文は一篇もなかった²⁵⁾。さらに、世界的には RCT による治療研究は 2002 年までに 5 篇の論文が報告され、有効 2 篇、無効 3 篇とその評価が分かれる結果であった。この疾患は人種差が大きく、特に白人に多く、アジア人を含む有色人には頻度が低いと考えられていた。そこで、厚生労働省特定疾患重点研究として日本においても RCT を行うことを決め、図 7 に示すとおり、特定疾患調査研究班の班員を中心に全国の先生方に参加して頂き、2 年間の治療研究を行った。この治療法が有効であ

る論理的な根拠を得るべく基礎研究も行い、透明窓を用いた新生血管モデルでは 10 Grey の低線量照射で新生血管の密度は減少し、循環血液量も減少することを確認した²⁶⁾。しかし、興味あることはこの効果は永続するのではなく、時間とともに再びその活性が高まり、新生血管の再増殖が予想されることであった。

症例の登録選択基準は 60 歳以上、12 か月以内に症状、所見が悪化、矯正視力が 0.1 以上、蛍光造影〔フルオレセイン蛍光造影(FA)またはインドシアニングリーン蛍光造影(IA)] で CNV を認める、CNV の最大直径が 1 乳頭径以内、CNV が中心窩、またはその辺縁が中心窩から 200 マイクロメートル以内、治療前に書面で十分な同意が得られることとした。放射線治療群と対照群で性別、変性眼と治療眼の左右別、視力、蛍光眼底と IA による新生血管膜の大きさなどで群間にいずれの項目についても差がない放射線照射群 38 例と対照群 31 例



図 6 加齢黄斑変性に対する低線量放射線治療の効果に関する多施設共同研究の参加施設。
(厚生労働省特定疾患治療対策課題番号 H 11-特疾-65)

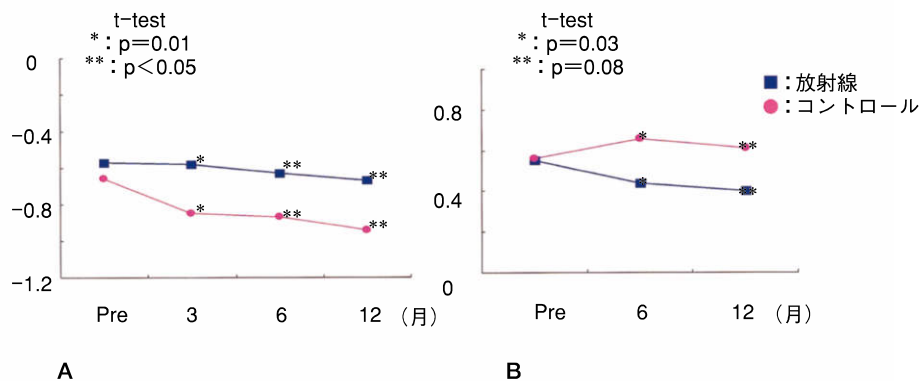


図 7 低線量放射線の視力(A)・新生血管膜(B)に対する効果。

照射後3か月ですでに視力保持効果が現れ、それは1年後まで続いた。一方、新生血管膜の大きさに関しては6か月の時点では有意に縮小したが、1年後にはその傾向はあるものの優位差はなくなった。なお、視力はthe logarithm of the minimal of resolution(Log MAR)で表示し、新生血管膜の大きさインドシアニングリーン蛍光眼底撮影(IA)による乳頭径比で記されている。

でその効果が比較された。図8に示すとおり、照射後3か月ですでに視力保持効果が現れ、それは1年後まで続いたが、新生血管膜の大きさに関しては6か月の時点では優位に縮小したが、1年後にはその傾向はあるものの優位さはなくなっている²⁷⁾。低線量放射線照射の効果がいつまで続くかは、症例数の減少などでははっきりしなかったが、基礎研究での報告から予想するに、再び新生血管膜の増殖の勢いははっきりしてくるのかもしれない。しかし、少なくとも我々が設定した適応基準のwet-type AMDに対して、限られた期間ではあるが、効果があることが明らかになった。このようなCNVの性質は他の治療法でも観察されている²⁸⁾。

2. CNV 単純抜去による治療

Wet-type AMDは、以前は網膜下血腫型と呼ばれ、その名の通り高度の網膜出血や硝子体出血、時には続発性網膜剥離を来し、視力予後は大変よくないことで知られていた²³⁾。このような症例に対して、1980年代から急速に進歩した硝子体手術を利用し、1990年代前半には網膜前および網膜下の血腫除去と、意図的裂孔からCNVを直視下に除去することが行われるようになった。それには、眼内光凝固装置や液-ガス置換とうつむき体位による剝離網膜や出血の処理、時にはシリコンオイルによる眼内タンポナーデも可能であることなどの手技が一般的になったことも大きく貢献している。我々は平成2年(1990年)からこの手術を開始し、12例12眼

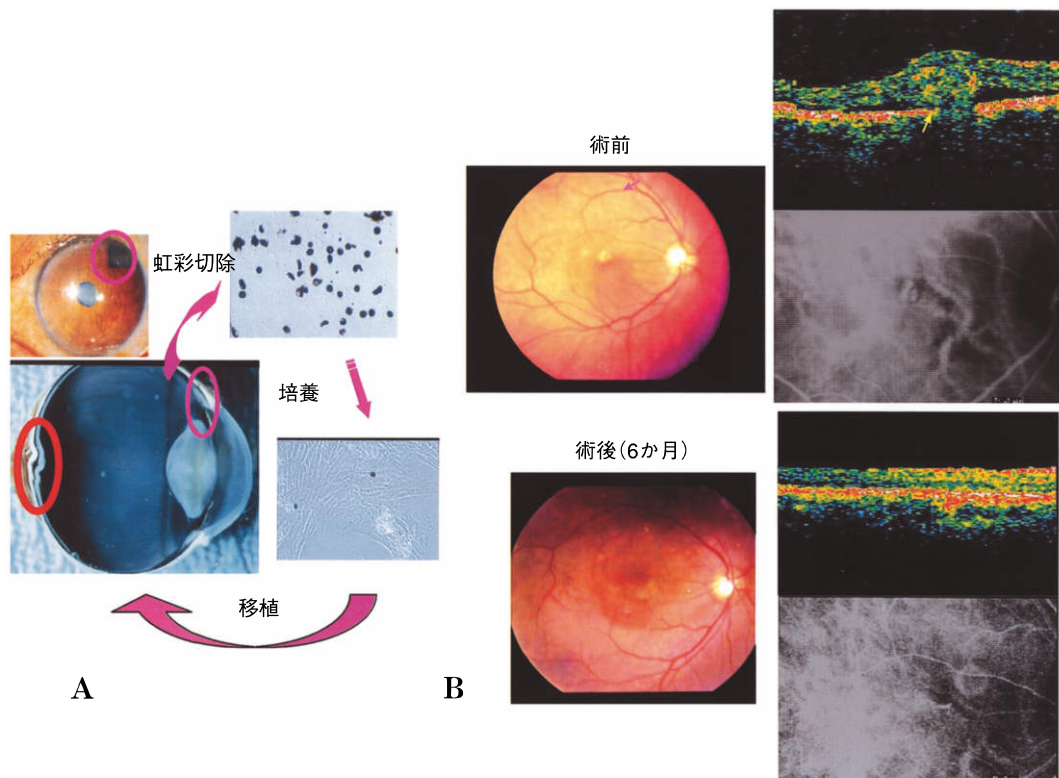


図 8 脈絡膜新生血管板除去と培養自己虹彩色素上皮移植。

- A：周辺虹彩切除による自己虹彩色素上皮の分離，培養とそれを黄斑部に移植する過程を示す。
 B：術前・術後の眼底像，光干渉断層計(OCT)像，インドシアニングリーン蛍光造影(IA)による眼底を示す。術前(0.06)の視力は術後6か月で(0.3)に改善している。

の結果を報告²⁹⁾した。いずれも急激な硝子体出血を来した症例であったが，視力予後は比較的良好であった。

3. CNV 抜去と自己虹彩色素上皮移植

黄斑下新生血管膜単純除去術によって得られる組織標本と症例の経過観察を総合し，RPE 下の増殖(occult type, type 1)であれ，RPE と視細胞間の増殖(type 2)であれ，この手術によって線維増殖と血管を含む肉芽組織，新旧の凝血の除去とともに，如何に多くの RPE が失われるかを観察した³⁰⁾。それらのすべてが正常であるとはとても考えられないが，それによって視細胞間基質の再生，視細胞と脈絡膜毛細血管の間の栄養物，代謝物の輸送，ビタミン A の貯蔵と運搬，視細胞外節の貪食と消化，血液—網膜柵の形成，網膜下腔の水輸送など大きな機能を果たしている RPE がこれだけ欠損してしまえば，視細胞維持に大きな障害となることは明らかである。一部周囲からの RPE の増殖再生が実験動物や，臨床症例で観察されて入るものの，それでは不十分である³¹⁾³²⁾。また，折からの移植組織に対する眼内免疫応答の研究，モデル動物における RPE の網膜下移植の視細胞保持効果の研究から，RPE が傷害されるために発症すると考えられる，いわゆる，dry-type AMD の患者の網膜下に自己または非自己の RPE 移植や，時には未分化な胎児 RPE の移植が試みられた。その結果は実

験動物と異なり，眼内が免疫学的に完全に拒絶反応から守られている領域ではないことを示していた^{33)~35)}。

それらの報告から，患者に細胞移植法を治療法として応用するには患者自身の細胞である必要がある。現実的には本人の RPE の採取は困難で，それに替わり得るものとして，発生学的に同じ虹彩色素上皮(IPE)の利用を考えた。IPE 採取のための周辺虹彩切除術は，眼科医にとっては容易な手技である。そこで，分子生物学的手法など様々な方法で RPE と IPE の比較を行い，さらにモデル動物から周辺虹彩切除で IPE を分離，培養し，網膜下に移植して視細胞保護効果を比較した。モデル動物実験では IPE 移植の効果は十分得ることができた。これらの発想と基礎実験の結果は，第 100 回日本眼科学会総会宿題報告で報告³⁶⁾した。IPE は患者自身から容易に採取することができるし，冷凍保存しておけばいつでも利用できること，自己細胞のため胎児 RPE で見られたような拒絶反応も防ぐことができると予想された³⁷⁾³⁸⁾。

そこで，IPE をあらかじめ採取し，患者血清を利用して培養し，黄斑下新生血管膜の除去手術時に，黄斑下に移植することを，平成 10 年(1998 年)以降行ってきた(図 8)。約 4 週間の培養で平均 5.5×10^4 個の細胞が得られ，この数は眼底後極部，特に黄斑部を覆うに十分な

細胞数であった。この IPE 移植の効果が視力改善の点からどのような効果があったかを評価することは困難であった。我々の症例を 2 年間経過観察すると、視力維持がほぼ 60% に見られたとはいえ、その中で日常生活に不自由のない視力、すなわち 0.3 以上の視力が得られた症例はごくわずかであった。しかし一方で、先に報告された胎児 RPE 移植の報告と異なり、CNV 抜去による血液一眼関門の破壊にもかかわらず、臨床的には拒絶反応は全く見られなかった。また、IPE を培養後網膜下に戻したが、網膜下や硝子体腔には移植細胞の増殖や、それによる増殖性硝子体網膜症などの合併症は全く見られなかった。さらに、単純抜去で報告されている CNV の再発も見られなかった。これらの詳細は第 53 回日本臨床眼科学会特別講演、第 106 回日本眼科学会総会宿題報告「眼の再生医学」で報告^{39)~42)}した。

III 遺伝子導入自己 IPE 移植を RP, AMD の治療法とする可能性

動物実験における光障害、遺伝子異常や虚血による視細胞の変性メカニズムは、様々な経路や因子が働きながら、最終的にはほとんどがアポトーシスによる細胞死であることが知られている⁴³⁾⁴⁴⁾(図 9)。また、AMD における視細胞変性は、酸化ストレスによる細胞死と考えられ、その細胞死のメカニズムは光障害モデルと同様と考えられる。それを阻止するためには、これまでも神経栄養因子(neurotrophic factor, NT)やカルシウム拮抗薬が有効であることは報告され、我々の研究でも示されている^{45)~47)}。もし、移植した色素細胞が生着し、先に述べたあらゆる RPE の機能を発揮できなくても、視細胞の維持に役立つための NT の分泌機能を持ち、局所で必要な濃度を維持ができれば、視細胞死を防ぎ視力保持に有効である可能性がある。培養自己 IPE を黄斑下に移植することは先に述べたように、すでに多数の症例での実績があり、かつその安全性も実証されている。このような発想に基づき、NT 遺伝子を患者自身の IPE に導入し、比較的高濃度に NT を分泌する機能を持たせるための研究を推進した。これらの研究の詳細は、第 106 回日本眼科学会総会宿題報告「眼の再生医学」で報告⁴²⁾した。

1. 脳由来神経栄養因子(BDNF)導入自己 IPE を用いる妥当性

BDNF は 1970 年代に発見された栄養因子で、目を含め神経系に広く発現し、神経保護効果を含め最も研究が進んでいるものの一つである。文献的、あるいは我々の基礎的実験結果からも、神経網膜の保護効果の有効性は非常に高く、安全性も高い。さらに、BDNF は光障害網膜変性モデルにも、遺伝性網膜変性動物モデルにも効果をもつ栄養因子である⁴⁸⁾⁴⁹⁾。一方、BDNF は硝子体内に投与すると、網膜内層には薬剤が及んでも網膜変性

を示す動物モデルでの視細胞保護効果は限られる上に、眼内に持続的に導入できる方法は現在のところなく、また頻回の眼内投与は感染、合併症、患者の負担を考えると現実的でない。我々の研究で IPE に BDNF 遺伝子を導入し、網膜下移植を行うと変性網膜の視細胞維持に著効を示すことから、BDNF は硝子体内投与ではなく、できるだけ視細胞の近くに投与することが必要である。もし培養 IPE に BDNF 遺伝子を導入し、網膜下、特に黄斑下に移植しそこに生着することができれば、持続的に分泌される BDNF によって RP や AMD の黄斑部視細胞変性を抑制することができるはずである。視細胞が BDNF 受容体を発現しているか否かの問題はあがるが、グリア細胞である Müller 細胞を介して働くことも報告されており、効果は十分期待できる⁵⁰⁾⁵¹⁾。

2. BDNF cDNA の細胞内導入

遺伝子治療の臨床応用には目的とする遺伝子を如何に効率よく目的とする細胞に導入するかが大きな課題である。一般に非増殖性ウイルスベクターを用いる方法、リポゾームを用いる方法、目的とする DNA を直接導入する方法などが実用的である。我々はアデノ随伴ウイルス(AAV)を用いることにした。それは病原性を持たないことが最大の特徴で、すでに臨床応用されている AAV 血清型 2 型は標的細胞として非分裂細胞である神経細胞に適しているといわれている⁵²⁾。その他多くの要因を考え、生体外での自己 IPE に AAV を利用して BDNFcDNA 導入を行った。これらの方法を用いて作製した遺伝子導入自己 IPE と本来の RPE との様々な性質は下記のような点を調べ報告している。それぞれの詳しい内容は原著を参照して頂きたい。

1) *In vitro* での増殖性⁵³⁾

メラニン産生能にかかわる tyrosinase(Ty), tyrosinase-related protein-1(TRP-1)の遺伝子発現を RPE と IPE の培養で見られる脱分化の過程と眼内の増殖性硝子体網膜症の手術標本から得られた RPE で比較した。これらの脱分化の過程での遺伝子発現には 3 段階あり、TRP-1 発現の時期、Ty, TRP-1 両者の発現の時期、いずれも発現が見られない時期があった。これらの遺伝子は塩基性線維芽細胞成長因子(bFGF)のような NT の存在下では維持された。

2) *In vitro* での遺伝子発現の種類と程度³⁶⁾

RPE と IPE でのメラニン産生にかかわる酵素、種々のサイトカインの遺伝子発現を比較した。分離直後の細胞、培養した細胞、-80 度で保存した細胞で比較したところ、cellular retinaldehyde-binding protein のように IPE に発現が見られないものも一部あったが、ほとんどのもので差がなかった。

3) 視細胞外節の食食能⁵⁴⁾(図 10)

RPE と IPE, vector-IPE, bFGF 遺伝子を導入した IPE(bFGF-IPE)で食食能を比較したところ、IPE, vec-

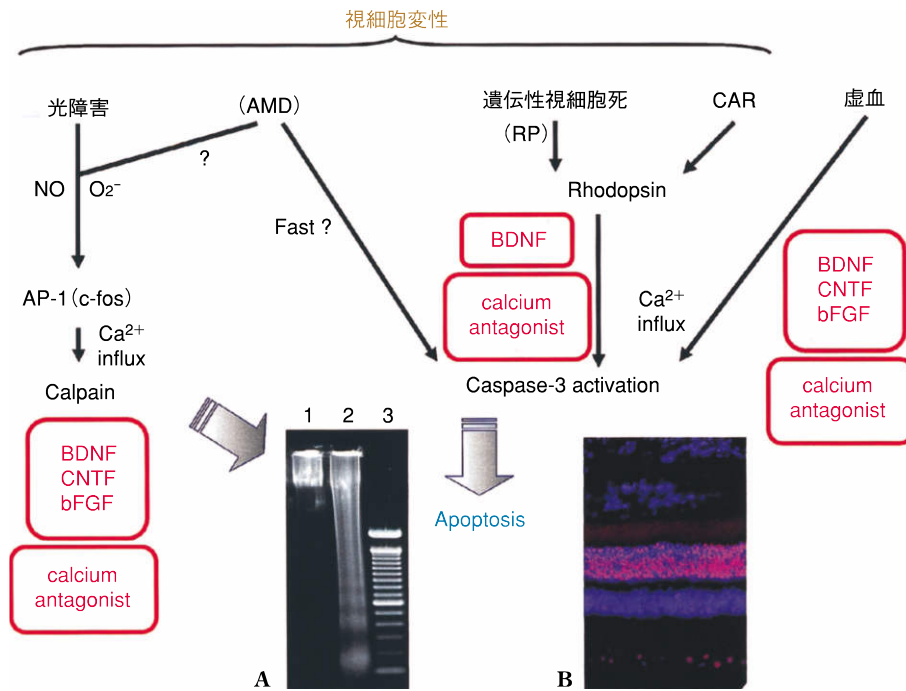


図 9 RP, 加齢黄斑変性(AMD)に対する遺伝子導入自己虹彩色素上皮細胞移植による治療の可能性.

既に動物実験で光障害、遺伝子異常や虚血による場合、視細胞が変性に至るメカニズムは様々な経路や因子が働きながら、最終的にはアポトーシスによることが知られている。これらの障害に対して、脳由来神経栄養因子(BDNF)、毛様体神経栄養因子(CNTF)、塩基性線維芽細胞成長因子(bFGF)が保護効果をもつ。AMDによる視細胞変性は、酸化ストレスによる細胞死と考えられ、その細胞死のメカニズムは光障害モデルと同様と考えられている。A：光障害によるDNAの断片化、1.12時間暗順応した網膜、2.24時間2700 luxの光照射した網膜、B：24時間2700 luxの光を照射した網膜のTdT-mediated dUTP-biotin nick and labelin(TUNEL)染色、青：核、赤：TUNEL陽性細胞。

tor-IPEはRPEの70%、bFGF-IPEではIPEの150%亢進が認められた。

4) カテプシンDとSの機能⁵⁵⁾(図11)

食食した視細胞外節の分解・消化に働く消化酵素カテプシンDとカテプシンSの活性をRPE、IPEで比較したところ、mRNAの発現、酵素活性、蛋白量ともにカテプシンDの活性はRPEがIPEの37倍、カテプシンSでは4倍であった。一方、mRNAの発現で見るとカテプシンDで同等、カテプシンSでは10倍であった。蛋白量でもこの量的関係はほぼ同様に認められた。この結果から、IPEも食食した視細胞外節の分解・消化はできるが、その量、効率はRPEと異なることが明らかになった。

5) バリア機能⁵⁶⁾

ヒトRPE cell lineであるARPE-19を用い、種々のサイトカイン特に起炎症性を持つサイトカイン分泌に影響を与えるインターロイキン 1β のRPEバリア機能に対する影響を上皮間抵抗、色素に対する透過性で調べたところ、いずれに対しても柵機能を低下させる効果を持ち、それが細胞間結合蛋白であるoccludin, claudinの

発現バランスを崩すことが影響していることを明らかにした。

6) 免疫原性移植細胞に対する抗体反応⁵⁷⁾

Axokine, BDNF, bFGFの遺伝子導入RPEで主要組織適合複合体(MHC) class IとIIの発現を比較したところ、BDNFだけがこれらの抗原の発現助長をしなかった。また、これらの細胞をラットに移植すると、BDNF導入では生体の移植細胞に対する抗体反応は誘導されなかった。

7) 視細胞障害モデル動物に対する保護効果⁵⁸⁾

BDNF遺伝子を作製し、BDNFの発現レベルと移植による光障害モデルとNMDA誘導神経網膜の細胞死に対する効果を比較した。その結果、遺伝子導入IPEではBDNFが高レベルで発現し、細胞外にも多くも分泌されていた。この細胞は共培養することによってNMDA誘導細胞死を有意に減少させ、また光障害モデルでも視細胞を保護した。

8) 網膜下での長期生存の可能性⁵⁹⁾

サル自身のIPEをサル自身の血清を用いて培養し、あらかじめDiIでラベルしてから網膜下に移植した。移

植 6 か月後に組織化学, 電子顕微鏡による微細構造を観察したところ, その生存と視細胞外節貪食能を観察することができた。

9) NT の起炎症性⁴²⁾

RPE に異なる神経保護因子遺伝子 axokine, BDNF, bFGF を導入し, 網膜下移植した場合の炎症反応を比較したところ, 炎症スコアでは差が見られなかった。

10) 導入 NT 遺伝子による光障害モデルにおける視細胞保護効果⁴²⁾

ラット光障害モデルで axokine, BDNF, bFGF の遺伝子導入 RPE を RPE 単独, ベクターのみ, 培養液のみ, 移植操作をしないものと比較したところ, 移植部位では NT 導入細胞で, 有意に神経保護効果が見られた。また, 興味深いことは BDNF 導入細胞移植では, 移植部位と反対側の離れた部位でも視細胞保護効果が見られた。

11) 過剰発現した場合の神経網膜の変化⁶⁰⁾

NT の過剰発現を想定した過剰投与に対する眼内の反応を観察するため, 正常ラットの硝子体内への NT の一つである bFGF の投与では網膜の血管走行の異常, 神経膠原線維酸性蛋白 (GFAP) 陽性細胞の増加等副作用が認められたが, BDNF の硝子体内投与では明らかな副作用は観察されなかった。

12) 遺伝子導入された細胞からの NT 分泌量⁵⁷⁾

Axokine, BDNF, bFGF の遺伝子導入 RPE で網膜下に移植後, フローサイトメータで再び採取してそれぞれの発現量を比較したところ, BDNF では約 3 倍の発現が見られた。

13) AAV 感染効率⁶¹⁾⁶²⁾ (図 12)

AAV 感染効率の比較を行った (A). Rat IPE (1), human IPE (2), ARPE 19 (3), HT 1080 (4) 細胞を培養し, AAV-LacZ を感染した。感染後 72 hr で B-galactosidase 染色を行い, LacZ の発現を検出した。その結果, IPE 細胞ではウイルス感染の至適細胞とされる HT 1080 や眼科領域において既に報告のある RPE cell line に比較して, 低い導入効率であることが認められた。また, target gene である BDNF を発現させるために, AAV-BDNF を感染し, IPE 細胞での BDNF 発現量を調べた (B)。BDNF の発現量は感染ウイルス濃度に比例して増加し, 細胞体, 細胞上清ともに無感染細胞に比較して, 優位に高い発現が認められた。ウイルス感染後の BDNF をコードする mRNA の発現は, 7 日目以降安定して有意に高い発現を確認できた (C)。また, 14 日目では AAV-LacZ 感染 IPE 細胞において LacZ 発現細胞は細胞全体の 18.7% であった。AAV-BDNF-IPE 細胞を移植する際に, trypsin 処理により細胞回収を行うが, この過程においてのウイルス粒子の漏れがウイルスの標的部位外への転移を起こす可能性が

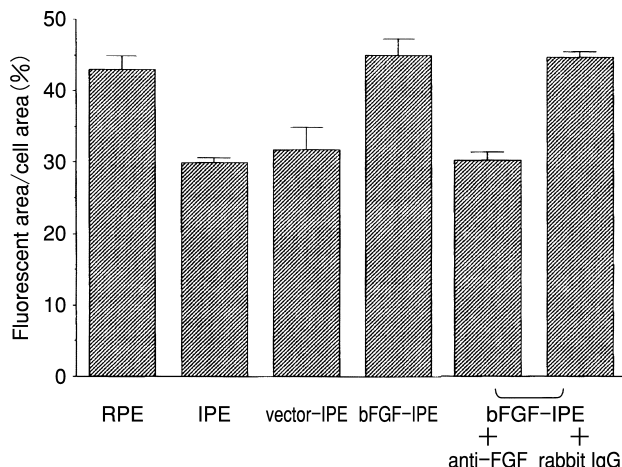


図 10 bFGF 導入虹彩色素上皮 (IPE) における貪食能の変化。

プラスミドベクターを用いて bFGF 遺伝子を IPE に導入した。bFGF-IPE の貪食能は IPE に比べ, 1.5 倍に増加した。この増加は培地中への抗体の添加により抑制された。

視細胞外節を蛍光で標識し培地中に添加し, 貪食能を評価した。貪食能は蛍光の占める面積/細胞体の面積, で表した (n=4)。

ある。そこで, この過程におけるウイルス粒子の存在を調べた。トリプシン処理後の上清を回収し, DNA を抽出した。ウイルス DNA の検出は, CMV 領域と ITR 領域の 2 か所で, プライマーを用いて PCR で行った。AAV-BDNF-IPE (1, 2) ではウイルス DNA が検出できたが, 1 回目 (sup. 1), 2 回目 (sup. 2), 3 回目 (sup. 3) の洗浄を行った洗浄上清を濃縮したものからは検出できなかった。

14) ウイルスベクターの投与方法による全身播種の特徴⁶³⁾⁶⁴⁾ (表 2)

ウイルスベクターを用いて遺伝子導入した IPE を網膜下に移植し, ベクターそのものを投与した場合のウイルス DNA の眼外への播種と比較した。その存在はウイルスベクターに組み込まれた LacZ を β -Gal 染色によってその発現で確認したところ, 網膜下ウイルス注入群では宿主の RPE, 脈絡膜, 神経節細胞, IPE, 毛様体細胞に発現が見られたが, 感染細胞移植群では移植細胞が移植部位である網膜下に存在し, 宿主細胞が染色されることはなかった。全身への播種はウイルスベクター注入と AAV 感染 IPE 移植を比較したところ, 前者ではほとんどの臓器に 80% 以上の播種が認められたのに対し, 後者では肺, 骨格筋に一部見られたが, 中枢神経, 精巣などの臓器には見られなかった。これらの結果は, 遺伝子導入細胞の網膜下移植が直接ウイルス液を眼内に注入するよりも全身へのウイルス伝播を防ぎ, それによる副作用を少なくする方法であることを示している。

15) AAV の利用と *in vivo*, *in vitro* での保護効果⁶²⁾

AAV 2 ベクターを利用して BDNF 遺伝子を IPE に

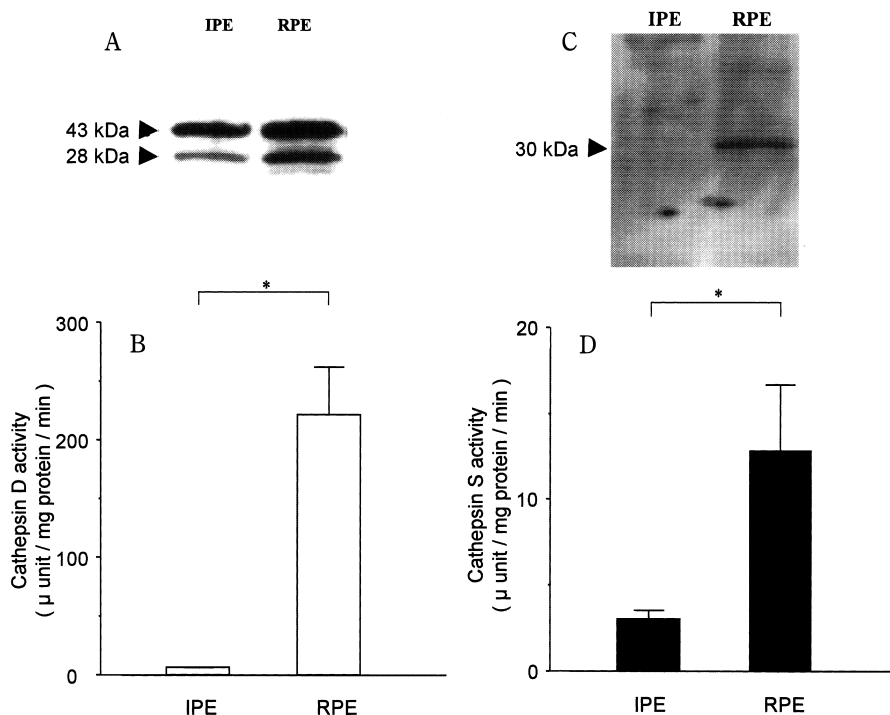


図 11 カテプシン D, S の酵素活性とそのウェスタンブロッティング。

培養 RPE, IPE よりタンパクを抽出し、ウェスタンブロッティング (A, C) と酵素活性 (B, D) を測定した。カテプシン D の活性は 37 倍, S は 4 倍 RPE で高かった。カテプシン D のウェスタンブロッティングでは 2 つのバンドが検出され、不活性型カテプシン D (43 kDa) は IPE と RPE において差は認められなかったが、活性型カテプシン D (28 kDa) は IPE において顕著に低かった。

導入し、移植後 1 日、30 日で光障害による視細胞保護効果を確認したが、ともに移植部位、非移植部位の網膜下方でも視細胞保護効果が見られた。

3. 今後の治療研究へのステップと評価法

以上の基礎的な研究と培養自己 IPE 移植の経験から、遺伝子導入 IPE の移植の臨床応用は移植する細胞数を 50,000 個に一定にして、RP の場合臨床治験研究としては両眼とも同等の視機能を有する患者の片眼を対象とし、また wet-type AMD では先の培養自己 IPE 移植症例と比較するため、同じ適応基準で選択した症例を比較する。移植部位は網膜内で最も視機能に影響を与える黄斑部 2×2 ないし 4×4 mm の範囲に移植する。移植細胞にこのような遺伝子操作を行い、ウイルスベクターを用いて遺伝子導入を行う治療法にはその倫理面、安全面での審査が厳しいことは当然である。平成 6 年 6 月 9 日文部省告示第 79 号により「大学等に於ける遺伝子治療臨床研究のガイドライン」が示され、遺伝子治療は「致死性であるか、きわめて重篤な疾患の治療を直接の目的」とであるとされた。しかし、平成 14 年 3 月 27 日文部科学省厚生労働省告示第 1 号「遺伝子治療臨床研究に関する指針」の対象疾患等に、「重篤な遺伝性疾患、がん、後天性免疫不全症候群その他の生命を脅かす疾患」の他に「身体機能を著しく損なう疾患 (四肢の欠損や視聴覚

機能に著しい障害を及ぼす疾患)」にも可能であることが示され、今回対象にしている RP や AMD の治療法に向けた研究が可能になった。いずれの疾患も進行性で両眼性の場合が多く、罹患した場合生活の質が極度に傷害されるからである。

この研究が実際に患者に治療研究として行われるまでには下記の 3 機関の承認を得る必要がある。

- ① 東北大学医学部「遺伝子治療臨床研究審査委員会」
- ② 厚生労働省「厚生科学審議会先端医療技術評価部会」
- ③ 文部科学省「遺伝子治療臨床研究専門委員会」

いずれの審査もすべてクリアーして初めて治療研究のスタート台に立てるのであり、実際に臨床応用されるまでには今後さらなる努力と、共同研究者はもとより多くの方々の支援が必要である。

移植術後の評価は術前後の全身検査の他に、我々が開発した低視力評価装置 (low vision evaluator, LoVE) を用いる。この装置は現在低視力視機能の表現法として手動弁、光覚弁、無光覚の三段階しかないが、それを刺激時間と刺激強度を変えることによりグレード分けを可能にしたもので、刺激時間を 0.01~1 秒までの 5 段階、刺激強度を 0.1~1000 ルックスの 5 段階で刺激し、時間変動型 LoVE では刺激時間を 0.01~1 秒までの 5 段階に、

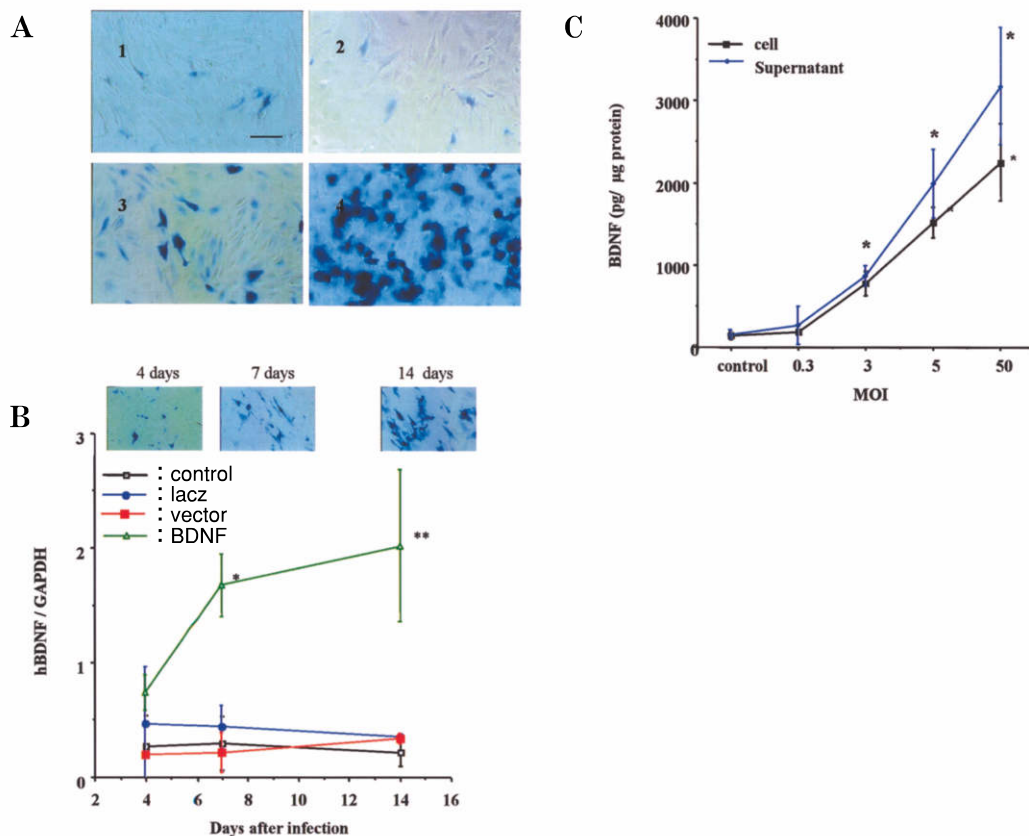


図 12 アデノ随伴ウイルス(AAV)を利用した IPE 細胞への遺伝子導入.

培養細胞株におけるアデノ随伴ウイルス(AAV)感染効率の比較(A). Rat IPE(1), human IPE (2), ARPE 19(3), HT 1080(4)細胞. AAV-LacZ を感染した. AAV-脳由来神経栄養因子(BDNF)を感染した IPE 細胞の BDNF 発現量(B). BDNF の発現量は感染ウイルス濃度に比例して増加. ウイルス感染後の BDNF mRNA の発現(C).

表 2 アデノ随伴ウイルス(AAV)ゲノムの各種臓器での確認

	視神経	脳	肺	肝臓	腎臓	精巣
AAV 硝子体	0/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
AAV 網膜下	0/2	0/2	2/2	0/2	0/2	0/2
AAV-IPE	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5

AAV を硝子体に注入した場合全身の臓器に播種されている. 網膜下に注入しても肺で検出された. しかし, 培養虹彩色素上皮に導入した後移植すると調べた範囲ではどこにも発見されなかった. 別のシリーズでは一部発見されており, 全く起きないということは出来ないことを示している.

また時間固定型 LoVE では 0.2 秒に固定して刺激可能である. 刺激に色光(赤, 緑, 青)を用いれば, 黄斑部の錐体機能の変化もとらえられるように工夫されている^{65)~67)}.

IV 今後の進展

今回取り上げた両疾患は有効な治療法がなく, AMD は症状の進行に任せ, 光を失うことは少ないものの, 最終的には社会的な失明に陥っていた. また RP に対しては, 長い間ヘレニエン, ビタミン剤, 血管拡張剤の内服, ビタミン A の大量投与など内科的な治療が行われ

てきたが, 副作用の問題もあり, いずれも明確な理論と科学的な裏付けに乏しく, 科学的根拠に基づく医療(E-BM)に基づく治療法とはいい難かった⁶⁸⁾. 1990 年代半ば以降, 遺伝子治療の可能性が大きく取り上げられ, 近い将来実現するかもしれない. その例として, 最近ヒトの Leber 先天盲の原因遺伝子と共通の RPE 65 遺伝子の異常で視細胞変性を起こす犬(ブリアール犬)にウイルスベクターを用いて正常な RPE 65 遺伝子を注入すると, 犬は障害物を避けるように歩くことができたという. すなわち, 視機能が回復したことが報告され, もしこの方法が安全であることが示されれば, Leber 先天盲の患者に応用できる可能性がある⁶⁹⁾. このように, 21 世紀においては科学の進歩は早く, その情報は誰でも入手できる時代であり, 遺伝子治療ははるかに行きやすくなるだろう. 例えば, RetNet と呼ばれるテキサス大学ヒューストン健康科学センターのホームページにアクセスすれば, 誰でも最新の網膜変性の遺伝子研究が検索可能である(<http://www.sph.uth.tmc.edu/Retnet/>). それにしても RP の遺伝子治療を進めるには, 原因遺伝子検索を今後さらに進める必要がある. 現在個々の原因遺伝子変異が明らかになった家族例とその臨床像を報告中

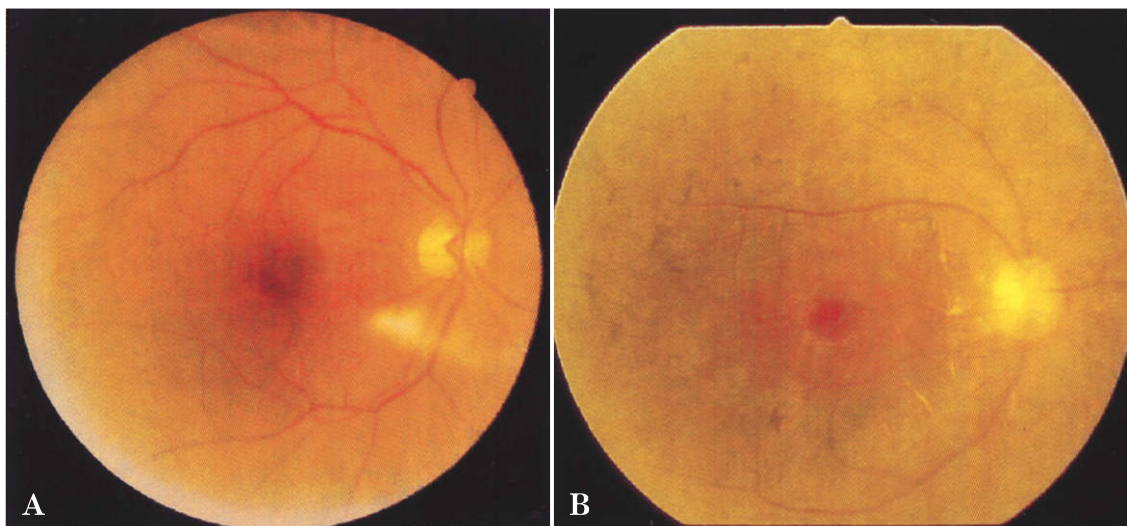


図 13 原因遺伝子変異をもつ症例による重症度の差。

同一家系内でも、表現形の多様性はよく知られている。A, B とも 50 代の患者の眼底写真を示す。A は遺伝子異常を持っているにも拘わらず無発症例である。このような無発症例に関する因子を検索し、それが明らかになれば発症を抑える可能性に繋がるかも知れない。

であるが、日本人の ADRP だけを見てもまだその 78% の症例で原因遺伝子が不明であることを考えると、このような努力が積み重なって始めて、難病といわれた RP の全貌が解明される日が来るだろう⁷⁰⁾。

我々が試みてきた遺伝子導入自己 IPE 移植は、現在考えられている RP や AMD の治療に共通するいくつかの戦略の中から我々が選んだものである。根本的な治療ではないが視細胞死を抑制することを目指したもので、アポトーシスによる視細胞死を惹き起こすあらゆる疾患に利用できるはずである。同様の目的で遺伝子操作し血管新生抑制因子である色素上皮由来因子(pigment epithelium-derived factor, PEDF)を自己 IPE に導入し wet-type AMD の治療しようとする試みも報告されている⁷¹⁾。このような試みは眼科領域、特に眼底疾患に対して今後活発に行われるようになっていくと思われる。

様々な因子が絡み合う生活習慣病といわれる疾患群までもが、その発症に一塩基多型(SNP)が大きく影響していると考えられる現在、我々がしばしば経験する RP の異質性がそれで説明できるかもしれない。また異質性、特に無発症例と発症例の間にどのようなメカニズムが存在するのかを分子生物学、蛋白科学などの方法で追求を始めている(図 13)。また、疫学的な面から生活環境も含めて調査をしており、多面的に症状発現・進行を抑えている因子を発見できれば、治療法として利用することも可能であろう⁷²⁾。

細胞移植による治療法も色素細胞移植だけでなく、視細胞、神経幹細胞、網膜幹細胞、さらには胎生幹細胞へと選択肢が広がっており、大きな可能性を秘めている⁷³⁾。現在は奇形腫の問題が解決されていないとはいえ、いつ break through が見られるか予測がつかないし、近い将

来は解決されると思われる。また、RP や AMD により視細胞が失われた症例ばかりでなく、緑内障や外傷によって神経節細胞、視神経が損傷され無光覚となった場合、何とか視覚情報を取り戻す試みは photo-chip と呼ばれる人工網膜であれ、外部に取り付けるカメラを介してであれ、いずれも光信号を電気信号に変換した上で、直接または残存する視覚伝道系を介して、大脳視覚中枢に情報を送り、脳を刺激する方法も、一部では実際に RP の患者に埋め込む手術が行われており、実用化の可能性はある⁷⁴⁾⁷⁵⁾。こう考えると 21 世紀には、患者・家族と研究者・医師との間に科学的な根拠に基づく治療の話し合いが可能になる、夢の時代が到来することが予感される。

今回発表した内容は東北大学眼科教室で過去 18 年間に行ってきた研究と、多年にわたり厚生労働省特定疾患調査研究、同特定疾患重点研究として行った内容をまとめたものである。ご指導いただいた松井瑞夫先生(日本大名誉教授)、本田孔士先生(京都大名誉教授)、特に重点研究でご協力いただいた湯沢美都子教授(日本大・駿河台)をはじめ多くの方々に、心からお礼を申し上げたい。

長年共同研究者として網膜色素変性、加齢黄斑変性の基礎研究と臨床研究を続けてきた下記の方々にお礼申し上げます。これらの方々の努力がなければ、ここまでの発展はなかった。

石黒誠一(弘前大学)、中沢 満(弘前大学)、清沢源弘(東京医科歯科大学)、西川真平(防衛医科大学)、野呂充(国立仙台病院)、山口克宏(東北厚生年金病院)、吉田まどか(JR 仙台病院)、阿部俊明(東北大学創生応用医学研究センター)、富田浩史(東北大学先進医工学研究機構)、中川陽一、布施昇男、和田裕子、佐藤 肇、相良淑子(東北大学眼科教室)、そ

の他多くの、既に教室を離れた東北大学眼科教室教職員(敬称略)。

また LoVE 開発に際しては、刈田啓史郎先生(東北大学名誉教授)、吉川眞男氏(有限会社メイヨー)、太田 孝氏(日本眼科医療センター)のご協力がなければ実現しなかったことを付記し、感謝申し上げます。

研究を支えていただいた文部科学省科学研究費、同先進医療開発経費 A 研究、厚生労働省厚生科学研究費、同特定疾患調査研究費、同特定疾患重点研究費、東北大学良陵医学振興会、東北大学眼科教室同窓会に深謝する。

文 献

- 1) **Watson JD, Crick FH** : Molecular structure of nucleic acids. A structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature* 171 : 737—738, 1953.
- 2) **Dryja TP, McGee TL, Reichel E, Hahn LB, Cowley GS, Yandell DW, et al** : A point mutation of the rhodopsin gene in one form of retinitis pigmentosa. *Nature* 343 : 364—366, 1990.
- 3) **玉井 信** : 視細胞と色素上皮細胞の病態研究と治療法の発達 : 治療法の変遷と厚生省特定疾患調査研究班としての本症に対する取り組みの歴史. 玉井 信 (編) : 20 世紀における眼科学の総括. 217—221, 2002.
- 4) **Farrar GJ, Kenna P, Jordan SA, Kumar-Singh R, Humphries MM, Sharp EM, et al** : A three-base pair deletion in the peripherin-RDS gene in one form of retinitis pigmentosa. *Nature* 354 : 478—480, 1991.
- 5) **堀田喜裕, 塩野 貴, 早川むつ子, 橋本敏浩, 金井 淳, 中島 章, 他** : 日本人の常染色体優性網膜色素変性患者のロドプシン遺伝子の分子生物学的検討. *日眼会誌* 96 : 237—242, 1992.
- 6) **Shiono T, Hotta Y, Noro M, Sakuma T, Tamai M, Hayakawa M, et al** : Clinical features of Japanese family with autosomal dominant retinitis pigmentosa caused by point mutation in codon 347 of rhodopsin gene. *Jpn J Ophthalmol* 36 : 69—75, 1992.
- 7) **Nakazawa M, Wada Y, Fuchs S, Gal A, Tamai M** : Oguchi disease : Phenotypic characteristics of patients with the frequent 1147delA. *Retina* 17 : 17—22, 1997.
- 8) **和田裕子, 玉井 信** : 日本人常染色体優性網膜色素変性の分子遺伝学的検討. *日眼会誌* 107 : 687—694, 2003.
- 9) **Itabashi T, Wada Y, Sato H, Kawamura M, Tada A, Tamai M** : Three novel mutations in the RPGR Gene in three Japanese families with X-linked retinitis pigmentosa. *Invest Ophthalmol VisSci* 45 : E-Abstract 2468, 2004.
- 10) **Wada Y, Nakazawa M, Abe T, Tamai M** : A new Leu253Arg mutation in the RP2 gene in a Japanese family with X-linked retinitis pigmentosa. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 41 : 290—293, 2000.
- 11) **Wada Y, Sato H, Itabashi T, Kawamura M, Noda Y, Nakamura M et al** : Prevalence of mutations in nine candidate genes in Japanese patients with autosomal dominant retinitis pigmentosa. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 45 : E-Abstract 2456, 2004.
- 12) **和田裕子** : 網膜色素変性・ジストロフィー. *眼科* 45 : 1943—1960, 2003.
- 13) **Nakazawa M, Kikawa E, Kamio K, Chida Y, Shiono T, Tamai M** : Ocular findings in patients with autosomal dominant retinitis pigmentosa and transversion mutation in codon 244 (Asn244 Lys) of the peripherin/RDS gene. *Arch Ophthalmol* 112 : 1567—1573, 1994.
- 14) **Wada Y, Abe T, Itabashi T, Sato H, Kawamura M, Tamai M** : Autosomal dominant macular degeneration associated with 208delG mutation in the FSCN 2 gene. *Arch Ophthalmol* 121 : 1613—1620, 2004.
- 15) **和田裕子, 玉井 信** : HPRP 3 遺伝子異常と網膜変性 (1). *臨眼* 58 : 1132—1134, 2004.
- 16) **Wada Y, Itabashi T, Sato H, Tamai M** : Clinical features of a Japanese family with autosomal dominant retinitis pigmentosa associated with a Thr494Met mutation in the HPRP 3 gene. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. (in press)
- 17) **Sato H, Wada Y, Itabashi T, Nakamura M, Kawamura M, Tamai M** : Autosomal dominant retinitis pigmentosa associated with 1142delG, 1155-1159 delG GACG/ins AGGGATT and IVS 6-3 to-45del mutations in *PRPF31* gene. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 45 : E-Abstract 2455, 2004.
- 18) **Kawamura M, Wada Y, Noda Y, Itabashi T, Ogawa S, Sato H** : Novel 2336-2337 del CT mutation in RP1 gene in a Japanese family with autosomal dominant retinitis pigmentosa. *Am J Ophthalmol* 137 : 1137—1139, 2004.
- 19) **Wada Y, Tada A, Itabashi T, Kawamura M, Sato H, Tamai M** : Screening for mutations in the *IMPDH1* gene in Japanese patients with autosomal dominant retinitis pigmentosa. *Arch Ophthalmol*. (submitted)
- 20) **van Soest S, Westerveld A, de Jong PT, Bleeker-Wagemakers EM and Bergen AA** : Retinitis pigmentosa : Defined from a molecular point of view. *Surv Ophthalmol* 43 : 321—334, 1999.
- 21) **Wada Y, Abe T, Takeshita T, Sato T, Tamai M** : Mutation of human retinal fascin gene (FSCN 2) causes autosomal dominant retinitis pigmentosa. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 42 : 2395—2400, 2001.
- 22) **眼底疾患の遺伝子解析と臨床像. 和田裕子, 玉井 信 (編), 医学書院** (in preparation)
- 23) **菅野俊雄, 山田孝彦, 玉井 信** : 加齢黄斑変性症の自然経過. 厚生省特定疾患調査研究班. 平成 6 年度研究報告 : 61—62, 1995.
- 24) **Macular photocoagulation Study Group** : Argon

- laser photocoagulation for senile macular degeneration: Results of a randomized clinical trial. *Arch Ophthalmol* 100: 912—918, 1982.
- 25) **Chakravarthy U, Houston RF, Archer DB**: Treatment of age-related subfoveal neovascular membranes by teletherapy: A pilot study. *Br J Ophthalmol* 77: 265—273, 1993.
- 26) **Hori K, Saito S, Tamai M**: Effect of irradiation neovascularization in rat skin fold chamber: Implications for clinical trials of low-dose radiotherapy for wet-type age-related macular degeneration. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*(in press)
- 27) **低線量放射線照射による加齢黄斑変性治療研究班**: 滲出型加齢黄斑変性に対する低線量放射線治療の効果に関する多施設無作為割付け比較対照試験: 中間報告. *日眼会誌* 107: 326—330, 2003.
- 28) **Treatment of Age-related Macular Degeneration With Photodynamic Therapy(TAP) Study Group**: Photodynamic therapy of subfoveal choroidal neovascularization in age-related macular degeneration with verteporfin: Two-year results of 2 randomized clinical trials: TAP Report 2. *Arch Ophthalmol* 119: 198—207, 2001.
- 29) **山田孝彦, 菅野俊雄, 君塚佳宏, 玉井 信**: 加齢黄斑変性症の 12 症例に対する硝子体手術による治療の試み. *臨床眼科* 48: 1236—1237, 1994.
- 30) **山田孝彦, 菅野俊雄, 君塚佳宏, 玉井 信**: 老人性円盤状黄斑変性症の網膜下線維血管病巣についての組織学的検索. *臨床眼科* 47: 826—827, 1993.
- 31) **Heriot WJ, Machemer R**: Pigment epithelial repair. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 230: 91—100, 1992.
- 32) **君塚佳宏, 菅野俊雄, 武藤 勉, 山田孝彦, 玉井 信**: 加齢黄斑変性症において網膜下血腫, 増殖組織除去を行った症例の網膜色素上皮の動態. *臨眼* 47: 290—293, 1993.
- 33) **Li LX, Turner JE**: Inherited retinal dystrophy in the RCS rat: Prevention of photoreceptor degeneration by pigment epithelial cell transplantation. *Exp Eye Res.* 47: 911—917, 1988.
- 34) **Streilein JW**: Anterior chamber associated immune deviation: The privilege of immunity in the eye. *Surv Ophthalmol* 35: 67—73, 1990.
- 35) **Algvere PV, Berglin L, Gouras P, Sheng Y, Kopp ED**: Transplantation of RPE in age-related macular degeneration: Observations in disciform lesions and dry RPE atrophy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 235: 149—158, 1997.
- 36) **玉井 信**: 網膜色素上皮移植. *日眼会誌* 100: 982—1006, 1996.
- 37) **Durlu YK, Tamai M**: Transplantation of retinal pigment epithelium using viable cryopreserved cells. *Cell Transplantation* 6: 149—162, 1997.
- 38) **Abe T, Tomita H, Ohashi T, Yamada K, Takeda Y, Akaishi K, et al**: Characterization of iris pigment epithelial cell for auto cell transplantation. *Cell Transplantation* 8: 501—510, 1999.
- 39) **玉井 信**: 加齢黄斑変性: 病態研究と治療法の新しい展開. *臨眼* 54: 1664—1673, 2000.
- 40) **Abe T, Yoshida M, Tomita H, Kano T, Nakagawa Y, Sato M, et al**: Functional analysis after auto iris pigment epithelial cell transplantation in patients with age-related macular degeneration. *Tohoku J Exp Med* 189: 295—305, 1999.
- 41) **Abe T, Yoshida M, Tomita H, Kano T, Sato M, Wada Y, et al**: Auto iris pigment epithelial cell transplantation in patients with age-related macular degeneration: Short-term results. *Tohoku J Exp Med* 191: 7—20, 2000.
- 42) **阿部俊明**: 色素上皮細胞を利用した網膜再生医療の可能性. *日眼会誌* 106: 778—804, 2002.
- 43) **Chang GQ, Hao Y, Wong F**: Apoptosis: Final common pathway of photoreceptor death in rd, rds, and rhodopsin mutant mice. *Neuron* 11: 595—605, 1993.
- 44) **Tomita H, Ishiguro S, Abe T, Tamai M**: Administration of nerve growth factor, brain-derived neurotrophic factor and insulin-like growth factor-II protects phosphate-activated glutaminase in the ischemic and reperfused rat retinas. *Tohoku J Exp Med* 187: 227—236, 1999.
- 45) **Faktorovich EG, Steinberg RH, Yasumura D, Matthes MT, LaVail MM**: Photoreceptor degeneration in inherited retinal dystrophy delayed by basic fibroblast growth factor. *Nature* 347: 83—86, 1990.
- 46) **Kimizuka Y, Yamada T, Tamai M**: Quantitative study on regenerated retinal pigment epithelium and the effects of growth factor. *Curr Eye Res* 16: 1081—1087, 1997.
- 47) **LaVail MW, Yasumura D, Matthes MT, LaVillacorta C, Unoki K, Sung CH, et al**: Protection of mouse photoreceptors by survival factors in retinal degenerations. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 39: 592—602, 1998.
- 48) **Ikeda K, Tanihara H, Honda Y, Tatsuno T, Noguchi H, Nakayama C**: BDNF attenuates retinal cell death caused by chemically induced hypoxia in rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 40: 2130—2140, 1999.
- 49) **Okoye G, Zimmer J, Sung J, Gehlbach P, Deering T, Nambu H, et al**: Increased expression of brain-derived neurotrophic factor preserves retinal function and slows cell death from rhodopsin mutation or oxidative damage. *J Neurosci* 23: 4164—72, 2003.
- 50) **Harada T, Harada C, Kohsaka S, Wada E, Yoshida K, Ohno S, et al**: Microglia-Müller glia cell interactions control neurotrophic factor production during light-induced retinal degeneration. *J Neurosci* 22: 9228—9236, 2002.
- 51) **Wahlin KJ, Campochiaro PA, Zack DJ, Adler R**: Neurotrophic factors cause activation of intracellular signaling pathways in Muller cells

- and other cells of the inner retina, but not photoreceptors. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 41 : 927—936, 2000.
- 52) **Tenenbaum L, Chtarto A, Lehtonen E, Velu T, Brotschi J, Levivier M** : Recombinant AAV-mediated gene delivery to the central nervous system. *J Gene Med* 6 : S 212—S 222, 2004.
 - 53) **Abe T, Sato M, Tamai M** : Dedifferentiation of the retinal pigment epithelium compared to the proliferative membranes of proliferative vitreoretinopathy. *Curr Eye Res* 17 : 1103—1109, 1998.
 - 54) **Sakuragi M, Tomita H, Abe T, Tamai M** : Changes of phagocytic capacity in basic fibroblast growth factor-transfected iris pigment epithelial cells in rats. *Curr Eye Res* 23 : 185—191, 2001.
 - 55) **Sugano E, Tomita H, Abe T, Yamashita A, Tamai M** : Comparative study of cathepsins D and S in rat IPE and RPE cells. *Exp Eye Res* 77 : 203—209, 2003.
 - 56) **Abe T, Sugano E, Saigo Y, Tamai M** : Interleukin-1 β and barrier function of retinal pigment epithelial cells (ARPE-19) : Aberrant expression of junctional complex molecules. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 44 : 4097—4104, 2003.
 - 57) **Saigo Y, Abe T, Hojo M, Tomita H, Sugano E, Tamai M** : Transplantation of transduced retinal pigment epithelium in rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 45 : 1996—2004, 2004.
 - 58) **Kano T, Abe T, Tomita H, Sakata T, Ishiguro S, Tamai M** : Protective effect against ischemia and light damage of iris pigment epithelial cells transfected with the BDNF gene. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 43 : 3744—3753, 2002.
 - 59) **Abe T, Tomita H, Kano T, Yoshida M, Ohashi T, Nakamura Y, et al** : Autologous iris pigment epithelial cell transplantation in monkey subretinal region. *Curr Eye Res* 20 : 268—275, 2000.
 - 60) **富田浩史** : 網膜移植. 玉井 信, 水流忠彦(編) : *New Mook 3 眼組織移植と免疫*. 金原出版, 東京, 78—87, 2002.
 - 61) **Sugano E, Tomita H, Abe T, Tamai M** : Establishment of effective method for adeno-associated virus type 2 mediated gene transfer in iris pigment epithelial cells. *J Virology* (in preparation)
 - 62) **Hojo M, Abe T, Sugano E, Yoshioka Y, Saigo Y, Tomita H, et al** : Photoreceptor protection by iris pigment epithelial transplantation transduced with AAV-mediated brain-derived neurotrophic factor gene. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 45 : 3721—3726, 2000.
 - 63) **Yoshioka Y, Yamaguchi K, Tomita H, Nakazawa T, Yamashita A, Sugano E, et al** : Transplantation of gene transfected adenovirus-transduced iris pigment epithelial cells into the rat subretinal space can prevent the systemic dissemination of adenovirus vector in intraocular gene therapy. *Curr Eye Res* (in preparation)
 - 64) **Yoshioka Y, Abe T, Tomita H, Wakusawa R, Hojo M, Saigo Y, et al** : Comparison of adeno-associated virus transduced rat iris pigment epithelial cell transplantation and direct adeno-associated virus injection into subretinal space of rats. *Exp Eye Res* (in preparation)
 - 65) **Tamai M, Kunikata H, Nakagawa Y** : An instrument capable of grading visual function : Results from patients with retinitis pigmentosa. *Tohoku J Exp Med* 203 : 305—312, 2004.
 - 66) **山田 翼, 中川陽一, 和田裕子, 玉井 信** : Low Vision Evaluator (LoVE) による網膜色素変性の視機能評価. *臨眼* 54 : 516—520, 2000.
 - 67) **Kunikata H, Nakagawa Y, Noro M, Itabashi T, Yoshida H, Wakusawa R, et al** : Introduction of the Low Vision Evaluator (LoVE) for children. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus*. (in press.)
 - 68) **Berson EL, Rosner B, Sandberg MA, Hayes KC, Nicholson BW, Weigel-DiFranco C, et al** : A randomized trial of vitamin A and vitamin E supplementation for retinitis pigmentosa. *Arch Ophthalmol* 111 : 761—772, 1993.
 - 69) **Acland GM, Aguirre GD, Ray J, Zhang Q, Aleman TS, Cideciyan AV, et al** : Gene therapy restores vision in a canine model of childhood blindness. *Nat Genet* 28 : 92—95, 2001.
 - 70) **玉井 信** : 眼の遺伝病シリーズをはじめるに当たって. *臨眼* 53 : 1632—1633, 1999.
 - 71) **Semkova I, Kreppel F, Welsandt G, Luther T, Kozłowski J, Janicki H, et al** : Autologous transplantation of genetically modified iris pigment epithelial cells : A promising concept for the treatment of age-related macular degeneration and other disorders of the eye. *Proc Natl Acad Sci* 99 : 13090—13095, 2002.
 - 72) **和田裕子, 佐藤 肇, 板橋俊隆, 多田麻子, 川村后幸, 玉井 信** : 不完全浸透を呈する常染色体優性網膜色素変性家系のマイクロアレイによる解析. *日眼会誌 108 臨時増刊号* : 208, 2004.
 - 73) **Haruta M, Kosaka M, Kanegae Y, Saito I, Inoue T, Kageyama R, et al** : Induction of photoreceptor-specific phenotypes in adult mammalian iris tissue. *Nat Neurosci* 4 : 1163—1164, 2001.
 - 74) **Dobelle WH, Mladejovsky MG, Girvin JP** : Artificial vision for the blind : Electrical stimulation of visual cortex offers hope for a functional prosthesis. *Science* 183 : 440—444, 1974.
 - 75) **Zrenner E, Miliczek KD, Gabel VP, Graf HG, Guenther E, Haemmerle H, et al** : The development of subretinal microphotodiodes for replacement of degenerated photoreceptors. *Ophthalmic Res* 29 : 269—280, 1997.

Comment：箕田 健生

玉井 信教授の第 108 回日本眼科学会総会特別講演の原著“網膜色素変性と加齢黄斑変性：病態研究と治療研究の進歩”は、21 世紀の眼科学の大きなテーマと考えられている両疾患の解明と治療法の開発に東北大学眼科学教室の総力を挙げて取り組まれた研究成果の報告である。

その主なものは次のとおりである。

1) 日本人の網膜色素変性(RP)の遺伝子解析と臨床像の検討

96 家系の常染色体優性網膜色素変性(ADRP)に、ロドプシン、ペリフェリン/RDS, RP 1, FSCN 2, PRPF 31, HPRP 3, IMDDH 1 遺伝子変異を確認した(22%の症例)。欧米ではロドプシン遺伝子 Pro 23 His 変異が ADRP の 20~30% を占めているが、日本人にはほとんど見られない。また Wada らが発見した FSCN 遺伝子変異は日本人の ADRP の約 4% に認められるが、海外では未だ報告されていない。したがって、日本の RP 遺伝子変異が欧米のそれと、かなり異なっていることが明らかにされた。

また、同じ遺伝子異常があっても、一方は典型的な RP もう一方は黄斑変性を示すといった、異なる臨床像を示す場合があり、他方では対立遺伝子が異なる場合でも眼底像にほとんど差がない場合があった。

したがって、RP の遺伝子変異が次々と明らかにされたが、RP の病態には未だ解明されていない多くの謎が残されている。

2) 加齢黄斑変性(AMD)の治療研究

AMD における黄斑下新生血管膜除去の際に失われる網膜色素上皮(RPE)の機能を補うため、発生学的に同じで且つ採取が容易な患者の虹彩色素上皮(IPE)を移植する方法を考案し、動物実験でその有効性を確認し、次に採取した IPE を患者血清で培養し、手術時に黄斑下に移植した。その結果、拒絶反応や合併症は無く、CNV の再発も見られず、2 年間で約 60% は視力保持が見られたが、0.3 以上の視力が得られた症例は少数であった。

3) 遺伝子導入自己 IPE を RP, AMD の治療法とする基礎実験

視細胞変性による細胞死を阻止するために有効な神経栄養因子(NT)遺伝子を患者 IPE に導入して、RP・AMD の治療に応用する基礎実験を行った。その結果 NT 遺伝子導入 IPE が RPE と視細胞外節貧食能、視細胞保護効果などの機能に大差がないことが示された。

また、ウイルスベクターを用いた遺伝子導入 IPE を網膜下移植した場合、全身へのウイルス伝播の可能性は少ないことが示された。以上の基礎的実験と培養自己 IPE 移植の臨床経験から、遺伝子導入 IPE 移植の臨床応用を現在準備中である。

以上のべたように、本報告は最先端の分子遺伝学的手法と、自己 IPE 移植という眼科臨床医ならではの独自のアイデアの下に、RP と AMD の病態解明と治療法の開発という難関に果敢にチャレンジされ、めざましい成果を挙げられた、日眼史上に記念すべき特別講演であった。近い将来、遺伝子導入 IPE 移植が臨床応用され、多くの患者が失明の悲劇から救われる日が来るよう期待するものである。