

## 難治性疾患克服研究の対象となっている 1 2 1 疾患について

主任研究者： 石橋 達朗

疾患名： 網膜色素変性

1. 初代研究班発足から現在までの間の研究成果について(特定疾患の研究班が独自に解明・開発し、本研究事業として公表したもの。なお、原則他の研究事業等に依存していないもの。)

(1) 原因究明について(画期的又は著しく成果のあったもの)

	時期 及び 班長名(当時)	内容	備考
1	平成 11 年 玉井信	アレスチン遺伝子 1147delA 変異は日本人小口病の高頻度変異である。同変異が日本人常染色体劣性網膜色素変性の原因である事を始めて報告し、さらに停止性夜盲疾患と考えられていた小口病の中にも進行する例もある事を示した。	
2	平成 12 年 玉井信	視細胞の構造に関与する遺伝子である FSCN2 遺伝子が日本人常染色体優性網膜色素変性を起こし、208delG 変異が日本人常染色体優性網膜色素変性の高頻度変異である事を世界で初めて報告した。FSCN2 遺伝子異常は海外では報告がなく、遺伝子異常には人種差がある事を証明した。さらに FSCN2 遺伝子 208delG 変異は常染色体優性黄斑変性を起こす事も後に報告した。	
3	平成 14 年 石橋達朗	GCAP2 遺伝子変異が日本人常染色体優性網膜変性を起こす事、さらに同変異をもつ家系では表現型の多様性が認められる事を報告した。	
4	平成 14 年 石橋達朗	遺伝子変異の人種差に着目し、日本人常染色体優性網膜色素変性の原因遺伝子全てをスクリーニングした。20%に原因遺伝子を確認した。さらにこれらの遺伝子変異をデータベース化し、高頻度変異を用いた簡易的な変異検索システムを構築した。	

( 2 ) 発生機序の解明について ( 画期的又は著しく成果のあったもの )

	時期 及び 班長名 ( 当時 )	内容	備考
1	平成 13 年 玉井信	網膜色素変性の原因遺伝子は多種類であるが、原因遺伝子変異にかかわらず、視細胞の変性のメカニズムは最終的にはアポトーシスという共通のステップに導かれることをマイクロアレイ、分子遺伝学、組織学的にも解明した。	
2	平成 16 年 石橋達朗	常染色体優性網膜色素変性家系には無症候性キャリアが存在する。同一遺伝子異常を持っているにも関わらず重症例と軽症例の発生機序を解明する事は治療法を確率するうえでも重要である。 無症候性キャリアが存在する PRPF31 遺伝子の 1142delG 変異を持つ常染色体優性網膜色素変性家系において PRPF31 遺伝子の wild-type allele の発現量を定量し、表現型と比較検討した。結果として wild-type allele の発現量が低下することで網膜色素変性を生じ、無症候性キャリアでは、wild-type allele の発現量が低下しないため、重症な表現型に至らない事が判明し、無症候性の発生機序を解明した。	

( 3 ) 治療法 ( 予防法を含む ) の開発について

ア 発症を予防し、効果があったもの

	時期 及び 班長名 ( 当時 )	内容	備考
1		現在まで予防医学の面では網膜色素変性についての報告はなく、班会議での報告もない。 ただし、2004年3月より東北大学では“網膜色素変性の予後決定因子及び発症予防についての疫学研究”を開始している。	

イ 完治に至らしめることはできないが、進行を阻止し、効果があったもの

	時期 及び 班長名(当時)	内容	備考
1	平成 14 年 玉井信	AAV ベクターを用いてアポトーシスを抑制する Bcl-xL 遺伝子を網膜に導入すると網膜変性ラットモデルにおいて視細胞保護効果が認められた。	
2	平成 14 年 玉井信	網膜変性ラットにカルシウム拮抗剤(ニパルジピン)を腹腔投与する事で、RCS ラットの網膜の形態、機能を保持させることを報告した。さらに rd マウスにおいてもニパルジピン投与により同様な結果が得られた。	
3	平成 15 年、16 年 石橋達朗	サル由来レンチウイルス(SIV)ベクターを用いた色素上皮由来因子(PEDF)遺伝子導入を行い、組織学的、さらに電気生理学的に視細胞変性が優位に抑制できた。 2つの網膜色素変性動物モデルである RCS ラット、rds マウスに導入した結果、高い神経保護効果が認められた。この事により遺伝子を導入する事で進行を阻止できる可能性がたかいことを示した。	

ウ その他根本治療の開発について

	時期 及び 班長名(当時)	内容	備考
1	平成 14 年 玉井信	虹彩細胞を bFGF を添加した無血清培地で培養しアデノ、レトロウイルスを用いて Crx 遺伝子を導入した。虹彩組織から得られた細胞が Crx 遺伝子の導入により視細胞固有の蛋白発現が可能になった。虹彩は容易に切除可能であり自己の細胞を移植できる点で拒絶反応が少なく優れた治療法になる。	
2	平成 15 年 石橋達朗	網膜色素上皮に発現する遺伝子変異でおこる網膜色素変性は網膜色素上皮細胞の障害が視機能低下の大きな原因となる。サルの ES 細胞から網膜色素上皮細胞の分化に成功した。ヒト ES 細胞から網膜色素上皮細胞が誘導できれば色素上皮の細胞移植として利用可能になり根本的治療に結びつく。	

3	平成16年 石橋達朗	人工視覚の開発を行っている。視神経刺激型電極から電流刺激により視覚誘発電位と同形の波形が得られた。進行した網膜色素変性患者においてもこの電極からの刺激により誘発電位が得られ、光の認知が得られる可能性がある。人工網膜を患者に適応する前に大型動物でその機能をみる必要があるが、機能評価のためアカゲザルを用いて局所刺激による網膜電位図、さらに視覚誘発電位の測定を可能にした。	
---	---------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--

2. 「1」以外で、国内、国外を問わず、研究成果の現在の主な状況について

(1) 原因究明について(画期的又は著しく成果のあったもの)

	時期	内容	文献
1	1990年	Dryjaの報告により、視細胞に特異的に発現するロドプシン遺伝子変異が網膜色素変性を起こす事を初めて証明した。この発見は、他の網膜特異的遺伝子も網膜色素変性の原因遺伝子になる可能性を示し、眼科学の分野で連鎖解析や候補遺伝子検索の道を開いた。	Dryja TP, McGee TL, Reichel E, Hahn LB, Cowley GS, Yandell DW, Sandberg MA, Berson EL. A point mutation of the rhodopsin gene in one form of retinitis pigmentosa. Nature 343:364-366,1990
2	1994年	1つの原因遺伝子の変異のみでは、病気を発症せず2つに遺伝子変異両方を持った際に、病気を発症する2遺伝子異常型網膜色素変性が初めて報告された。	Kajiwara K, Berson EL, Dryja TP. Digenic retinitis pigmentosa due to mutations at the unlinked peripherin/RDS and ROM1 loci. Science 264:1604-1608,1994.

(2) 発生機序の解明について(画期的又は著しく成果のあったもの)

	時期	内容	文献
1	1994年	網膜変性のモデル動物である rd マウス、rds マウス、ロドプシン Q344X の transgenic mouse を用いて網膜変性とアポトーシスの関係を検索した。網膜変性は、遺伝子変異の種類によらずすべての動物でアポトーシスの過程をとる事が証明された。	Portera-Cailliau C, Sung CH, Nathans J, Adler R. Apoptotic photoreceptor cell death in mouse models of retinitis pigmentosa. Proc Natl Acad Sci USA. 191:974-978,1994

2	2000年	RPE65 <sup>-/-</sup> マウス、RHO <sup>-/-</sup> マウスで光障害によるアポトーシスを観察した。RHO <sup>-/-</sup> マウスでは光障害によるアポトーシスが生じない事が判明した。光障害によるアポトーシスの重要な因子である AP-1 が、ロドプシンがない状態では活性化されないためである。すなわちロドプシンは光障害によるアポトーシスでは不可欠である。すなわち網膜色素変性患者では光障害で変化したロドプシンは、網膜変性を進行させる可能性を示唆した報告である。	Grimm C, Wenzel A, Hafezi F, Yu S, Redmond TM, Reme CE. Protection of Rpe65-deficient mice identifies rhodopsin as a mediator of light-induced retinal degeneration. Nat Genet. 25:63-66,2000
---	-------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

(3) 治療法(予防法を含む)の開発について

ア 発症を予防し、効果があったもの

	時期	内容	文献
1	2004年	RPE65 <sup>-/-</sup> マウスで、発症前の子宮内の胎児の状態に AAV2/1-CMV-hRPE65 を手術で胎児の網膜下に導入する。帝王切開で胎児が生まれたのちに、網膜電位図、組織学的検討、ロドプシンアッセイを施行した。遺伝子導入眼では正常値をしめし、発症を予防し、効果が認められた。	Dejneka NS, Surace EM, Aleman TS, Cideciyan AV, Lyubarsky A, Savchenko A, Redmond TM, Tang W, Wei Z, Rex TS, Glover E, Maguire AM, Pugh EN Jr, Jacobson SG, Bennett J. In utero gene therapy rescues vision in a murine model of congenital blindness. Mol Ther. 9:182-188,2004

イ 完治に至らしめることはできないが、進行を阻止し、効果があったもの

	時期	内容	文献
1	2001年	Ciliary neurotrophic factor (CNTF)をAAVを用いて網膜下に注入すると、視細胞保護効果が認められている。	Liang FQ, Dejneka NS, Cohen DR, Krasnoperova NV, Lem J, Maguire AM, Dudas L, Fisher KJ, Bennett J. AAV-mediated delivery of ciliary neurotrophic factor prolongs photoreceptor survival in the rhodopsin knockout mouse. Mol Ther. 3:241-248, 2001
2	1993年	15000IU/dのビタミンA大量療法を同意が得られた網膜色素変性患者に施行し、その有効性を錐体系の網膜電位図でみた。結果としてビタミンAの大量療法をされていないコントロール群に比べ、ビタミンA大量療法群では錐体系の網膜電位図は維持されていた。	Berson EL, Rosner B, Sandberg MA, Hayes KC, Nicholson BW, Weigel-DiFranco C, Willett W.A randomized trial of vitamin A and vitamin E supplementation for retinitis pigmentosa. Arch Ophthalmol. 111:761-772,1993

ウ その他根本治療の開発について

	時期	内容	文献
1	2001年	RCSラットの原因遺伝子はMERTKである事が報告されているが、RCSラットにAd-Mertkを網膜下に導入した結果、網膜色素上皮の貪食能が正常化し、視細胞も保護された。	Vollrath D, Feng W, Duncan JL, Yasumura D, D'Cruz PM, Chappelow A, Matthes MT, Kay MA, LaVail MM. Correction of the retinal dystrophy phenotype of the RCS rat by viral gene transfer of Mertk. Proc Natl Acad Sci U S A. 98:12584-12589, 2001

2	2001年	RPE65 <sup>-/-</sup> の犬に対して vector として AAV を用いて wild type の RPE65(AAV-RPE65)を導入し、網膜電位図、犬の行動で遺伝子治療を判断した結果、視力、視機能の回復が認められた。	Acland GM, Aguirre GD, Ray J, Zhang Q, Aleman TS, Cideciyan AV, Pearce-Kelling SE, Anand V, Zeng Y, Maguire AM, Jacobson SG, Hauswirth WW, Bennett J. Gene therapy restores vision in a canine model of childhood blindness. Nat Genet. 28:92-95,2001
3	2004年	6人の網膜色素変性患者に silicon retina microchip を移植して、6~18ヶ月の間経過観察を施行した。自覚症状、光覚検査、視野検査において全てで改善が認められた。	Chow AY, Chow VY, Packo KH, Pollack JS, Peyman GA, Schuchard R. The artificial silicon retina microchip for the treatment of vision loss from retinitis pigmentosa. Arch Ophthalmol. 122:460-469,2004

### 3. 現時点において、次の事項について残された主要な課題及び今後の研究スケジュールについて

#### (1) 原因の解明について

	課題	解決の可能性	今後の研究スケジュール
1	網膜色素変性の原因を遺伝子レベルで解明する。特に、日本人固有の原因遺伝子を解明する。さらに原因遺伝子は多種類に及ぶために、効率的に遺伝子診断を可能にすることを課題とする。	あり	患者のデータベース化を班員の各施設で行い、日本では困難とされている連鎖解析をおこない、日本人固有の原因遺伝子を解明する。 日本人固有の原因遺伝子が発見したのち、他施設でより多くの患者でスクリーニングを施行し、日本人患者における遺伝子変異の割合を確認する。

( 2 ) 発生機序の解明について

	課 題	解決の 可能性	今後の研究 スケジュール
1	網膜色変性は最終的にアポトーシスが関与している事は報告されているので、課題では Asymptomatic patient”すなわち無症候性キャリアに着目し、重症例、軽症例の発生機序を解明する。	あり	FSCN2 遺伝子変異、PRPF31 遺伝子変異をもつ家系では Asymptomatic patientが存在する。発症例、無発症例でマイクロアレイを用いて遺伝子発現の差を確認する。さらに環境因子の関与も含め疫学研究を施行する。

( 3 ) 治療法 ( 予防法を含む ) の開発

	課 題	解決の 可能性	今後の研究 スケジュール
1	網膜色素変性予後決定因子の疫学研究を行う。	あり	網膜色素変性患者に対してアンケート式で疫学調査を施行する。前向き研究で、1 回目のアンケート施行時と5年後の2点で統計をとる。さらに眼科学的検査結果との比較を行う。これらの研究により眼科的な進行度を左右する因子を解明する。
2	FSCN2knock out mouse をもちいた遺伝子治療の可能性を検討する。	あり	FSCN2knock out mouse および transgenic mouse の作成に成功している。このマウスは唯一本研究班のみで保持している。さらに FSCN2 遺伝子変異は日本人の常染色体優性網膜色素変性のみ認められる原因遺伝子異常でありで日本人患者の治療を考える際に非常に重要である。 そこで knock out mouse , transgenic mouse を用いて wild type の FSCN2 を導入し、遺伝子治療の有効性を確認する。

3	人工網膜の開発と患者への植え込み	あり	人工網膜の開発は本研究班で現在も進行しているプロジェクトである。今後は第一に網膜色素変性の大型動物モデルを作成し、人工網膜の植え込みを行う。 副作用、効果を大型動物で判定した後、第2段階として短期間患者に手術でチップの移植を行い、効果を判定した後、再度除去を行うという短期間の植え込み手術を予定する。
---	------------------	----	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

#### 4. 重症化防止対策について

大多数の患者に対して外来通院によって症状のコントロールが可能な治療法（重症化防止のための治療法）の確立

	重症化防止のための治療法確立について解決すべき課題	5年以内に解決できる可能性	解決不可能な場合の理由	左記理由を解決していくスケジュール
1	網膜色素変性では難しいかとおもいます。			