

平成 21 年 4 月 30 日現在

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2007～2008

課題番号：19592013

研究課題名 (和文) 高分子半透膜カプセルを用いた神経栄養因子産生細胞の眼内移植
 研究課題名 (英文) Intraocular implantation of encapsulated neurotrophic factor-secreting cell

研究代表者

中村 誠 (Makoto Nakamura)

名古屋大学・大学院医学系研究科・准教授

研究者番号：60283438

研究成果の概要：

眼内に留置可能な高分子半透膜カプセルの作成した。内腔径約 1mm あるいは 0.5mm の、分子量が約 300kD 以下の分子のみが通過できる高分子半透膜チューブを約 1 cm 長に切り出し、両端をレジンでシールすることにより、カプセルを作成した。動物眼を用いて、眼球内に固定できるかを確認した。培養細胞をカプセル内に封入して、その安全性を確認した。カプセル化細胞を用いた治療方法は、眼科領域でも臨床応用できる可能性が高い、安全で効果的な新しいドラッグデリバリーシステムと考えられた。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2008年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・眼科学

キーワード：カプセル化細胞、高分子半透膜、網膜色素変性、遺伝性眼底疾患、神経栄養因子、移植、遺伝子治療

1. 研究開始当初の背景

網膜色素変性症に代表される遺伝性網膜変性疾患は、網膜に発現するなんらかの遺伝子に異常があることにより生じるものであり、失明原因の上位を占めている。我々は多くの遺伝性網膜変性疾患について発症原因となる遺伝子異常を明らかにし、各疾患の多様な表現型についても多くの新しい知見を得て、海外の一流誌に報告してきた。

しかし遺伝性網膜変性疾患の治療に関しては、これまでに遺伝子治療や再生医療、人

工網膜などによる治療方法の開発が研究されてきているものの、今もなお安全で有効な方法は確立していない。一方網膜神経細胞をできるだけ死なせない神経保護という観点から、神経栄養因子を投与することによって、網膜変性の進行を予防する治療方法も研究されてきた。その一つの安全な方法として、神経栄養因子の遺伝子をウイルスベクターを介して細胞に組み込んだ後、因子は透過するが細胞は通過できないような、高分子半透膜のカプセルに包んで眼内に留置するとい

う方法が考えられる。これのカプセルを用いた細胞治療の研究は、本邦では眼科領域ではこれまで行われていない。

2. 研究の目的

本邦独自の眼科に適したカプセル化細胞療法確立をめざした基礎的研究を行うこと。移植可能なカプセルの作成と、その効果や安全性を動物実験で確認することを目標とした。

3. 研究の方法

分子量が約 300kD 以下の分子のみが通過できる高分子半透膜チューブを、約 1 cm 長に切り出し、両端をレジンでシールすることにより、カプセルを作成する。本研究において最も重要なポイントは、眼内で長期間安全性が保たれるカプセルを作成することであり、そのための試行錯誤を行う。

次に網膜色素変性症のモデル動物で効果が確認されている神経栄養因子として、fibroblast growth factor-2 (bFGF)、pigment epithelium-derived factor (PEDF)、CNTF 等の全長 cDNA を、レトロウイルスに組み込んだコンストラクトを作成し、これらを網膜色素上皮細胞や虹彩色素上皮細胞、線維芽細胞などにトランスフェクションする。実際にウイルスが染色体にくみこまれる効率は、レポーター遺伝子を用いて確認する。またウイルスを投与した細胞が実際にどれくらい各種因子を分泌するかについても確認し、各因子について効率のよい細胞種を検討する。

次に高分子半透膜のカプセル内に培養細胞を注入し、神経栄養因子産生細胞をカプセル化する。これを培養皿にて培養し、封入した細胞がカプセルの外にもれてこないかを確認する。

さらにこれらのカプセルを動物眼に移植し、眼内で安全に長期間留置可能かを検討する。

4. 研究成果

眼内に留置可能な高分子半透膜カプセルを作成した。動物眼を用いて、眼球内に固定できるかを確かめた。培養細胞をカプセル内に封入して、その安全性を確認した。カプセル化細胞を用いた治療方法は、眼科領域でも臨床応用できる可能性が高い、安全で効果的な新しいドラッグデリバリーシステムと考えられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 20 件)

1) 中村誠. 遺伝性疾患における最新のトピ

ックス 網膜色素変性症とその類縁疾患の診断法. 眼科ケア 2009 ; 11 : 92-99. (査読無)

2) 中村誠. 網膜硝子体診療 update 注目の疾患 網膜色素変性 遺伝子解析. 臨床眼科 2008 ; 62 : 309-316. (査読無)

3) Kaneko H, Nishiguchi KM, Nakamura M, Kachi S, et al.(他 1 名 3 番目) Characteristics of bone marrow-derived microglia in the normal and injured retina. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2008;49:4162-4168. (査読有)

4) 古田祐子, 中村誠, 熊谷あい, (他 3 名 2 番目). 腫瘍随伴視神経症と考えられた 1 例. あたらしい眼科 2008 ; 25 : 1167-1172. (査読有)

5) Wang C, Nakanishi N, Ohishi K, Hikoya A, Koide K, Sato M, Nakamura M, et al.(他 2 名 7 番目) Novel RDH5 mutation in family with mother having fundus albipunctatus and three children with retinitis pigmentosa. Ophthalmic Genet. 2008;29:29-32. (査読有)

6) 中村誠. 遺伝性網膜疾患 網膜ジストロフィ・先天停止性夜盲. 眼科プラクティス 2008 ; 20 : 193-201. (査読無)

7) Kaneko H, Nishiguchi KM, Nakamura M, Kachi S, et al.(他 1 名 3 番目) Retardation of photoreceptor degeneration in detached retina of RD mouse. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2008;49:781-787. (査読有)

8) Nishiguchi KM, Kaneko H, Nakamura M, Kachi S, et al.(他 1 名 3 番目) Identification of photoreceptor precursors in the pars plana during ocular development and after retinal injury. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2008;49:422-428. (査読有)

9) 中村誠. 網膜硝子体診療の進歩 診断機器の進歩 遺伝子診断. あたらしい眼科 2007 ; 24 : 45-53. (査読無)

10) 佐川宏恵, 中村誠, (他 1 名 2 番目). 著しく視力が改善したレーベル病の 1 例. 眼科 2007 ; 49 : 1969-1974. (査読有)

11) 中村誠. 眼科専門医に必要な「全身疾患と眼」のすべて 代謝異常 アミノ酸代謝異常とその他の疾患. 臨床眼科 2007 ; 61 : 53-57. (査読無)

12) 豊島馨, 岩田英嗣, 中村誠. 転移性眼内炎に対する硝子体手術後に交感性眼炎を発症した 1 例. 臨床眼科 2007 ; 61 : 1905-1907. (査読有)

13) Nishiguchi KM, Nakamura M, Kaneko H, Kachi S, et al.(他 1 名 2 番目) The role of VEGF and VEGFR2/Flk1 in proliferation of retinal progenitor cells in murine retinal degeneration. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2007;48:4315-4320. (査読有)

14) Ito Y, Nakamura M, Yamakoshi T, et al. (他 3 名 2 番目) Reduction of inner retinal thickness in patients with autosomal dominant optic atrophy associated with OPA1 mutations. Invest

Ophthalmol Vis Sci. 2007;48:4079-4086. (査読有)

15) Kikuchi M, Nakamura M, Ishikawa K, et al.(他 8 名 2 番目) Elevated C-reactive protein levels in patients with polypoidal choroidal vasculopathy and patients with neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmology*. 2007;114:1722-1727. (査読有)

16) Yata T, Nakamura M, Sagawa H, et al. (他 3 名 2 番目) Survival and axonal regeneration of off-center retinal ganglion cells of adult cats are promoted with an anti-glaucoma drug, nipradilol, but not BDNF and CNTF. *Neuroscience*. 2007;148:53-64. (査読有)

17) 中村誠. 黄斑ジストロフィアアップデート Cone dystrophy. *眼科* 2007;49:1057-1072. (査読無)

18) 中村誠. 眼内炎症診療のこれから 非感染性眼内炎症疾患 全身症状を伴わないもの 後眼部 MEWDS および関連網膜外層症 (AIBSE,AZOO,AAOR,AMN). *眼科プラクティス* 2007;16:201-205. (査読無)

19) Sagawa H, Terasaki H, Nakamura M, et al.(他 4 名 3 番目) A novel ROCK inhibitor, Y-39983, promotes regeneration of crushed axons of retinal ganglion cells into the optic nerve of adult cats. *Exp Neurol*. 2007;205:230-240. (査読有)

20) 岩田英嗣, 豊島馨, 中村誠, (他 1 名 3 番目) 硝子体手術が奏効したクレブシエラ眼内炎の 1 例. *眼科手術* 2007;20:289-292. (査読有)

[学会発表] (計 35 件)

1) 田邊裕貴, 中村誠, 加地秀, 他. 白点状眼底の屈折. 第 418 回東海眼科学会 (名古屋, 2009. 2. 14.)

2) 水野友広, 中村誠, 加地秀, 他. 下方幅 2.5mm 切開による sinusotomy 併用 trabeculotomy の長期成績. 第 37 回名古屋大学眼科集談会 (名古屋, 2008. 12. 20.)

3) 中村誠. 「最近の進歩シリーズ 31」新しい眼底疾患 白点状眼底、青錐体増幅症候群、Bradyopsia (遅視症). 専門医制度第 49 回講習会 (東京, 2008. 10. 25.)

4) 堀田喜裕, 中村誠, 他. 眼科診療に必要な網膜変性の知識—診療スタンダード 2008—. 第 62 回日本臨床眼科学会 (東京, 2008. 10. 24.)

5) 中村誠. 「臨床医が知るべき網膜・視神経疾患の遺伝子診断の進歩と限界」個別遺伝子の (遺伝子診断で診断のつく) 遺伝子診断. 第 62 回日本臨床眼科学会 (東京, 2008. 10. 24.)

6) Nakamura M, Yasuma T, Kikuchi M, Ishikawa K, Nishihara H, Kaneko H, Nishiguchi KM, et al. Elevated C-reactive protein levels associated with the *LOC387715/HTRA1* gene variants in

Japanese patients with age-related macular degeneration. XIIIth International Symposium on Retinal Degeneration (Emeishan, Sichuan, China, 2008. 9. 18-23.)

7) 中村誠. 「網膜色素変性の診療、過去から未来へ」網膜色素変性の遺伝子診断. 第 56 回日本臨床視覚電気生理学学会、第 44 回日本眼光学学会総会、第 4 回 JRPS 網脈絡膜変性フォーラム (東京, 2008. 9. 7.)

8) Nakamura M, et al. Morphological and functional characteristics in patients with optic atrophy associated with *OPA1* gene mutations. 15th International Society for Genetic Eye Disease (ISGED) (Strasbourg, France, 2008. 8. 29.)

9) Kaneko H, Nishiguchi KM, Nakamura M, Kachi S, et al. Circulating bone marrow derived microglia engraft into the injured retina. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO) (Fort Lauderdale, Florida, U.S.A., 2008. 5. 1.)

10) Nishiguchi KM, Kaneko H, Nakamura M, Kachi S, et al. Prolonged presence of photoreceptor precursors in the ciliary epithelium of mice with hereditary retinal degeneration. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO) (Fort Lauderdale, Florida, U.S.A., 2008. 4. 29.)

11) Nakamura M, Yasuma T, Kikuchi M, Ishikawa K, Nishihara H, Yamakoshi T, Kaneko H, Nishiguchi KM, et al. Association of single nucleotide polymorphisms in the *HTRA1*, *LOC387715*, and *CFH* genes with neovascular age-related macular degeneration (AMD) and polypoidal choroidal vasculopathy (PCV) in a Japanese population. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO) (Fort Lauderdale, Florida, U.S.A., 2008. 4. 29.)

12) Ito Y, Kondo M, Kachi S, Nakamura M, et al. Increased macular volume at onset followed by gradual decrease in eyes with acute zonal occult outer retinopathy. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO) (Fort Lauderdale, Florida, U.S.A., 2008. 4. 28.)

13) Yasuma T, Nakamura M, et al. Association between systemic C-reactive protein levels and single nucleotide polymorphisms in *HTRA1* and *LOC387715*. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO) (Fort Lauderdale, Florida, U.S.A., 2008. 4. 27.)

14) 安間哲宏, 中村誠, 他. 加齢黄斑変性における一塩基多型と血清 C-反応性蛋白濃度の関連. 第 112 回日本眼科学会総会 (東京, 2008. 4. 18.)

15) 中村誠, 安間哲宏, 菊池雅人, 石川浩平, 西原裕晶, 山腰友珠, 兼子裕規, 西口康二, 他. 加齢黄斑変性およびポリープ状脈絡膜血

管症の HTRA1 および LOC387715 遺伝子多型. 第 112 回日本眼科学会総会 (東京, 2008. 4. 18.)

16) 安間哲宏、中村誠、他. 加齢黄斑変性における HTRA1 関連一塩基多型と血清 C-反応性蛋白濃度の関係. 第 36 回 名古屋大学眼科集談会 (名古屋, 2007. 12. 15.)

17) 片岡恵子、中村誠、加地秀、他. 選択的レーザー線維柱帯形成術後の眼圧の変動. 第 36 回名古屋大学眼科集談会 (名古屋, 2007. 12. 15.)

18) 伊藤逸毅、近藤峰生、加地秀、中村誠、他. 片眼性 AZOOR の発症初期黄斑部網膜厚変化. 第 46 回日本網膜硝子体学会 (弘前, 2007. 11. 25.)

19) 兼子裕規、西口康二、中村誠、加地秀、他. 骨髄由来細胞のマウス網膜内への生着. 第 46 回日本網膜硝子体学会 (弘前, 2007. 11. 24.)

20) 堀田喜裕、中村誠、他. 眼科診療に必要な網膜変性の知識. 第 61 回日本臨床眼科学会 (京都, 2007. 10. 13.)

21) 間島愛、中村誠、他. 網膜変性症と角膜変性症の合併例. 第 61 回日本臨床眼科学会 (京都, 2007. 10. 13.)

22) 中村誠、安間哲宏、西口康二、他. KCNV2 遺伝子に変異が検出された cone dystrophy with supernormal rod ERG の一例. 第 61 回日本臨床眼科学会 (京都, 2007. 10. 13.)

23) 李野久美子、中村誠、他. Cone dystrophy with supernormal rod ERG の色覚. 第 61 回日本臨床眼科学会 (京都, 2007. 10. 11.)

24) 白浜久美、中村かおる、中村誠、他. 色誤認を主訴としたクリスタリン網膜症の一例. 第 61 回日本臨床眼科学会 (京都, 2007. 10. 11.)

25) 堀田喜裕、中村誠、他. 遺伝性眼疾患のゲノム解析: 原因遺伝子の変異探索と遺伝子型-表現型関連解析. 日本人類遺伝学会分科会 第 7 回臨床遺伝研究会 (東京, 2007. 9. 13.)

26) 中村誠、他. 錐体 (杆体) ジストロフィの原因遺伝子の検討. 第 52 回日本人類遺伝学会 (東京, 2007. 9. 13.)

27) Fujinami K, Tsunoda K, Shinoda K, Nakamura M, et al. A case of Oguchi's disease without night blindness. XLV Annual Meeting of the International Society for Clinical Electrophysiology of Vision (ISCEV) (Hyderabad, India, 2007. 8. 25-29.)

28) 中村誠、他. 名古屋大学における遺伝性網脈絡膜・視神経疾患の原因遺伝子検索の結果. 第 14 回日本遺伝子診療学会 (松山, 2007. 7. 28.)

29) 中村誠、伊藤逸毅、近藤峰生、加地秀、他. 血管新生緑内障に対する Bevacizumab (アバスタチン®) の効果. 第 28 回東海緑内障の会

(名古屋, 2007. 7. 21.)

30) 松井朝子、加地秀、近藤峰生、伊藤逸毅、中村誠、他. 経過観察中に視野変化をきたした AZOOR の一例. 第 415 回東海眼科学会 (四日市市, 2007. 6. 24.)

31) 片岡恵子、中村誠、他. 抗ヒト TNF α モノクローナル抗体インフリキシマブ (レミケード®) が奏功したベーチェット病の 1 例. 第 415 回東海眼科学会 (四日市市, 2007. 6. 24.)

32) Nishiguchi KM, Kaneko H, Nakamura M, Kachi S, et al. Murine retinal progenitor cells in the ciliary body epithelium may participate in neurogenesis of the peripheral retina *in vivo*. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO) (Fort Lauderdale, Florida, U.S.A., 2007. 5. 9.)

33) Nakamura M, et al. Elevated C-reactive protein levels in patients with polypoidal choroidal vasculopathy and with neovascular age-related macular degeneration. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO) (Fort Lauderdale, Florida, U.S.A., 2007. 5. 7.)

34) 藤波芳、花園元、猪俣公一、角田和繁、大出久朗、篠田啓、中村誠、他. 夜盲を示さない小口病の一例. 第 111 回日本眼科学会総会 (大阪, 2007. 4. 21.)

35) 中村誠. 遺伝情報の眼科臨床応用への展望 網膜変性症. 第 111 回日本眼科学会総会 (大阪, 2007. 4. 20.)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中村 誠 (NAKAMURA MAKOTO)
名古屋大学・大学院医学系研究科・准教授
研究者番号: 60283438

(2) 研究分担者

加地 秀 (Shu Kachi)
名古屋大学・医学部附属病院・助教
研究者番号: 30345904

西口 康二 (Koji Nishiguchi)
名古屋大学・医学部附属病院・助教
研究者番号: 30447825

伊達 勲 (Isao Date)
岡山大学・医歯学総合研究科・教授
研究者番号: 70236785