

令和 6 年 6 月 25 日現在

機関番号：84524

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K16888

研究課題名（和文）網膜シート移植手術成績向上のための網膜内層評価

研究課題名（英文）Evaluation of inner retinal function to improve retinal sheet transplantation

研究代表者

横田 聡（YOKOTA, SATOSHI）

地方独立行政法人神戸市民病院機構神戸市立神戸アイセンター病院（診療部、研究センター）・診療部・医長

研究者番号：30885405

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：研究課題1において、網膜色素変性患者の網膜内層の構造変化について報告し、機能変化についてelectrically evoked phosphenesについて共著者として報告した。研究課題2として、網膜内層の構造変化について、責任遺伝子の差よりも、病期の進行により相関しており、病的バリエーションの違いによる菲薄化の差が明らかにならなかった。研究課題3については、遺伝性網膜ジストロフィのマウスモデルを用いて、網膜のフラットマウントでの残存網膜神経節細胞数・細胞密度を比較したが、遺伝的背景を持たないマウスと比較して差を認めなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

既報と同様に、網膜外層病変である網膜色素変性の患者において、網膜内層の変化がみられた。本研究では、網膜内層への変化が、遺伝学的背景に関連している可能性を仮定し、それを明らかにすることで将来的な網膜外層移植の適応判断の一助となることを期待して研究を行なった。しかし、バリエーションに関わらず網膜外層の障害の程度の進行具合により内層障害は関連していることがあきらかとなり、遺伝学的背景よりは個別な内層機能の評価が、網膜外層治療の際には重要であることが推定された。

研究成果の概要（英文）：In Project 1, I reported on structural changes in the inner retina of patients with retinitis pigmentosa. I co-authored a report on electrically evoked phosphenes in those patients. In Project 2, I found that structural changes in the inner retina were correlated more with disease progression than with differences in the responsible variants. The inner retinal thickness changes due to different pathological variants were not evident. For Project 3, we compared the number and cell density of residual retinal ganglion cells in the flat mount of the retina in a mouse model of hereditary retinal dystrophy and found no difference compared to mice with no genetic background.

研究分野：眼科

キーワード：網膜色素変性 再生治療 遺伝学的検査 網膜 網膜神経節細胞

## 1. 研究開始当初の背景

網膜変性疾患の代表である網膜色素変性は遺伝子の変化により、網膜の視細胞に不可逆的な変性を起こし、夜盲、視野狭窄、視力低下をきたしやがて失明に至る。現在のところ確立された治療法はなく、厚生労働省の指定する難病の一つである。神戸アイセンター病院では、視細胞の再生を目指し iPS 細胞由来網膜シート移植を行った。移植シート片は視細胞の前駆細胞であり、それらがホスト網膜の双極細胞・網膜神経節細胞とシナプスを形成することにより視機能の改善を目指している。そのため、ホストの網膜の内層機能が温存されていることが必要不可欠である。一方、遺伝性網膜変性患者では、病変の主座は視細胞障害であるものの、双極細胞や網膜神経節細胞といった網膜の他の層まで障害が及ぶことは報告されており、当院からも網膜色素変性患者において緑内障性眼底変化の頻度が一般の有病率と比較して高いことを報告した。どの患者で網膜内層機能が維持できているか、どのような患者で網膜内層が障害されやすく、どのように管理すれば網膜内層が維持できるかを知ることは、のちのちの網膜シート移植による再生の成績を高めることにつながる。近年網膜変性疾患においてはこれまでの診察所見による疾患の表現型による診断から、遺伝子情報に基づいた診断へ変化しつつあり、より詳細な予後予測や変異に応じた治療法の開発が進められている。遺伝性網膜変性の原因遺伝子として 280 を超える遺伝子が同定されているが、原因遺伝子と原疾患以外の眼への影響に関する知見は非常に乏しく、明らかになれば、遺伝性網膜変性患者を長期経過観察する上で他の眼合併症の管理をする際の一助となる。また網膜変性疾患の遺伝子変異に該当する動物モデルは多数あり、解析が進んでいる。動物モデルにおいて遺伝形式の違いによる網膜変性疾患の一次病巣である視細胞だけでなく、網膜内層や房水循環に関連する線維柱帯などの他の組織への影響を明らかにできれば、合併症経過観察時の要注意点が明らかになり早期発見早期治療への道が開ける

## 2. 研究の目的

1. 網膜変性疾患患者の網膜内層の長期経過での変化を示す。
2. 網膜変性疾患の遺伝的背景の違いによる網膜内層障害との関連を明らかにする。
3. 網膜変性疾患の遺伝子変化の違いによる網膜内層や房水循環等の緑内障と関連する組織への影響の差異を明らかにする。

## 3. 研究の方法

神戸アイセンター病院の網膜変性専門外来を受診し光干渉断層計 (OCT) で撮像が可能であった網膜色素変性(RP)患者を対象とし、乳頭周囲網膜神経線維層厚(cpRNFL)、網膜内層厚(mean GCC)、性別・年齢・視力・視野(10-2)の関連について、診療記録から後ろ向きに検討を行った。年齢と mean GCC は弱い負の相関を認めた。矯正視力 (logMAR) や性別と mean GCC には相関を認めなかった。一方、cpRNFL は性差や測定時眼圧との相関はなかったが、年齢や logMAR とは弱い負の相関が、HFA10-2 とは正の相関がみられた。遺伝学的検査が済んでいる症例に限定し、上記に加えて遺伝学的情報を加えて多変量解析を行

なったが、遺伝学的検査の結果は相関がみられなかった。遺伝学的背景の違いによる内層障害の関連としては、EYS 遺伝子に変異を持つ網膜色素変性患者において electrically evoked phosphenes を測定し、手動弁で視野が測定できない程度の患者においてもフォスフェンを認め内層機能の残存が確認できた。網膜変性を有するマウスと野生型マウスのフラットマウントでの網膜神経節細胞の密度を比較したが、有意な差が見られず、観察期間内に動物モデルで遺伝子変化の違いによる網膜内層の差を認めることができなかった。

#### 4 . 研究成果

網膜変性患者においては、その障害の中心である網膜外層の変化が進行すると網膜神経節細胞を含む網膜内層にも障害が及ぶ。その程度は性別や眼圧とは相関がなかったが、年齢や logMAR 視力との関連はみられ、病期に応じての変化があると考えられた。遺伝学的差異があるというのが本研究での仮説であったが、影響の大きさは外層病変の進行程度がより大きく、遺伝学的差異については統計学的に明らかではなかった。そのため、遺伝学的検査では網膜外層移植の適否を考えるにあたり重要な評価ではなく、electrically evoked phosphenes のような電気生理学的検査での網膜内層機能の残存を直接的に評価することが望ましいと考えられた。また動物モデルにおいて評価研究が可能かと考えていたが、観察期間が十分でなく、少なくとも老齢マウスが必要となることがわかった。そのため、primary culture での評価系には個体数が非常に多く必要となり、比較検討に必要な細胞数が得られないと判断し、軸索輸送の評価には至らず、動物モデルでの評価はかなわなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Akiko Maeda, Tadao Maeda, Satoshi Yokota, Yasuhiko Hirami, Masayo Takahashi, Yasuo Kurimoto
2. 発表標題 Electrically evoked phosphenes in a patient with EYS (p.Gly843Glu)-associated retinitis pigmentosa
3. 学会等名 The 60th Annual Symposium of the International Society for Clinical Electrophysiology of Vision (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Assessment of visual function for retinal categorized medicine
2. 発表標題 Tadao Maeda, Akiko Maeda, Satoshi Yokota, Yasuhiko Hirami, Masayo Takahashi, Yasuo Kurimoto
3. 学会等名 The 60th Annual Symposium of the International Society for Clinical Electrophysiology of Vision (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Ai Hagimoto, Satoshi Yokota, Daiki Sakai, Shogo Yamamoto, Satoru Yoshimizu, Masashi Fujihara, Akiko Maeda, Yasuhiko Hirami, Yasuo Kurimoto
2. 発表標題 Circumpapillary retinal nerve fiber layer thickness is affected by retinitis pigmentosa
3. 学会等名 WGC-2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 横田聡、前田亜希子、平見恭彦、藤原雅史、栗本康夫
2. 発表標題 網膜色素変性による視野障害を有する患者における緑内障管理
3. 学会等名 第32回日本緑内障学会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------