

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 5月 17日現在

機関番号：37116

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22591956

研究課題名（和文） 小児網膜剥離の疾患概念の構築：Coats 病の病因解明

研究課題名（英文） Pathogenesis of Coats disease: establishing a concept of pediatric retinal detachment

研究代表者：近藤 寛之（KONDO HIROYUKI）

産業医科大学・医学部・准教授

研究者番号：40268991

研究成果の概要（和文）：Coats 病は小児に特有の非遺伝性の疾患で、特異な滲出性の網膜剥離が特徴である。眼底所見が家族性滲出性硝子体網膜症と類似し、男児に多いことから、X染色体性家族性滲出性硝子体網膜症の原因遺伝子 NDP の関与が想定されているが定説となるにはいたっていない。また、本疾患は眼内で血管内皮増殖因子の産生亢進を伴うことが報告されているが、産生レベルなど、不明な点が多い。我々は、網膜剥離を来した Coats 病の手術症例に対して眼内液および遊離細胞を採取し、DNA およびタンパクからみた Coats 病の病態生理を検討し、治療・予防にむけた病態の解明をおこなった。

研究成果の概要（英文）：Coats disease is a non-hereditary ocular disorder that affects children's eyes. It is characterized by extensive serous retinal detachment. The retinal findings are similar to those of familial exudative vitreoretinopathy, a hereditary disease. Because Coats disease mainly affects male patients, the pathogenesis is speculated but not established for the involvement of the gene for Norrie disease, a gene for X-linked familial exudative vitreoretinopathy. Moreover, expression of vascular endothelial growth factor is increased in Coats disease, however, the detail of the expression level remains unclear. We collected intraocular fluid samples and the cellular components during vitreous surgery, and searched for alternations of the DNA and protein in order to unveil the pathophysiology of the disease.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2012年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：眼科学

キーワード：Coats 病、家族性滲出性硝子体網膜症、NDP 遺伝子、血管内皮増殖因子、VEGF、網膜剥離、小児、WNT シグナル

1. 研究開始当初の背景

Coats 病は小児にみられる非遺伝性の網膜疾患である。特異な滲出性の網膜剥離を特徴とし、網膜剥離の増悪により失明の転帰をたどる難治性の疾患である。その原因は不明であり、治療方法の確立のために病態の解明が重要である。

Coats 病は眼底所見が家族性滲出性硝子体網膜症との類似性があり、男児に多いことから、X染色体性家族性滲出性硝子体網膜症の原因遺伝子 (NDP) の関与が疑われている。これまで、Coats 病 1 症例の摘出眼球 (網膜) から抽出した DNA より NDP 遺伝子の変異が示されている (Black et al. 1999) が、その後追試がなされていないため、この考えは定説となるには至っていない。また、本疾患は主要な病態生理の一つとして、眼内で血管内皮増殖因子の産生亢進を伴うことが知られている。このため血管内皮増殖因子の抗体である bevacizumab の硝子体内投与が有効であるとの報告があるが、重症度と血管内皮増殖因子産量との相関など、不明な点が多い。

2. 研究の目的

Coats 病は非腫瘍性の疾患であり、眼球を摘出する機会が稀少である。このため原因究明のために病理組織学的な検査を行うことは困難であるが、重症例では硝子体手術を行うことがあり、手術時には硝子体液などの眼内液を抽出することが可能である。硝子体液中には微量ではあるが細胞が含まれ、このうち一部は網膜由来であると考えられる。このようなサンプルを解析し、家族性滲出性硝子体網膜症の原因遺伝子の関与や血管内皮増殖因の動態やを検討し、治療・予防にむけた病態の解明をおこなった。

3. 研究の方法

研究施設での倫理委員会の承認に基づき、重症 Coats 病の手術症例 4 例に対して眼内液 (前房水、硝子体液、網膜下液) を採取し血管内皮増殖因子を定量した。

さらに硝子体液、網膜下液中の微量の細胞から DNA を抽出し、nested PCR 法により NDP 遺伝子 (翻訳領域と非コードエクソン 1 および 3' untranslated region) を増幅し、直接シーケンスを行った。シーケンスデータの解析には phred/phap/consed ソフトウェアを用いた。本ソフトウェアではシーケンスデータの定量性が検討されており、サンプル中に 5% 程度の変異 DNA が含まれば、Quality スコアを参考にして、変異細胞の検出が可能である。この解析法を用いて、1 塩基ごとに解析を行い、NDP 遺伝子の変異の有無を検討した。

4. 研究成果

重症 Coats 病では眼内液の血管内皮増殖因子の産生量は全例で異常高値を呈した。また、前房水、硝子体液、網膜下液を同時に採取したところ、濃度勾配がみられ、前房水、硝子体液と比べて網膜下液で 10 ~ 数 100 倍高値であった。重症 Coats 病では網膜剥離を契機として病変の首座が網膜下腔となり、血管内皮増殖因子の産生亢進などの増殖性変化が生じることが明らかとなった。

硝子体または網膜下腔から採取した細胞中の DNA からは NDP 遺伝子の翻訳領域だけでなく非コードエクソン 1 および 3' untranslated region も検索したが、体細胞変異を示唆する遺伝子異常は検出されなかった。この理由として、(1) Coats 病の発症原因として異なる機序が関与する、(2) 理論的には 5% 以上の変異 DNA が含まれていれば直接シーケンスで検出できるが、採取された細胞は変異細胞の含有がそれより低いことが考えられた。

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 16 件)

- ① Kondo H (6 名中筆頭) : Genetic variants of FZD4 and LRP5 genes in patients with advanced retinopathy of

- prematurity. *Mol Vis* 2013(19) 476-485 査読有
- ② Aoki R, Kondo H (7名中5番目): Identification of causative pathogens in eyes with bacterial conjunctivitis by bacterial cell count and microbiota analysis. *Ophthalmology* 2013(120) 668-676 査読有
- ③ Nishina S, Kurosaka D, Nishida Y, Kondo H, et al. et al: National survey of microphthalmia in Japan. *Jpn J Ophthalmol* 2012(56) 198-202 査読有
- ④ Matsushita I, Kondo H, et al: Novel compound heterozygous mutations in MFRP gene in Japanese patient with posterior microphthalmos. *Jpn J Ophthalmol* 2012(56) 396-400 査読有
- ⑤ 森田啓文、近藤寛之 (3名中2番目): 黄斑剥離を伴う裂孔原性網膜剥離に対する硝子体術後の変視量の検討. *眼科手術* 2012(26) 449-452 査読有
- ⑥ 藤田陽子、近藤寛之 (8名中7番目): ベバシズマブ硝子体内投与併用網膜光凝固術が奏効した重症未熟児網膜症の3例. *眼臨紀* 2012(5) 377-381 査読有
- ⑦ 仁科幸子、近藤寛之 (6名中5番目): 小眼球症に伴う眼窩発育異常の画像評価. *眼臨紀* 2012(5) 387-391 査読有
- ⑧ Miyamoto N, Izumi H, Miyamoto R, Kondo H, et al.: Quercetin induces the expression of peroxiredoxins 3 and 5 via the Nrf2/NRF1 transcription pathway. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011(52) 1055-1063 査読有
- ⑨ Miyamoto N, Izumi H, Miyamoto R, Bin H, Kondo H, et al.: Transcriptional regulation of activating transcription factor 4 (ATF4) under oxidative stress in retinal pigment epithelial ARPE-19 cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011(52) 1226-34 査読有
- ⑩ Kondo H, Kusaka S, Yoshinaga A, Uchio E, Tahira T: Mutations in TSPAN12 gene in Japanese patients with familial exudative vitreoretinopathy. *Am J Ophthalmol* 2011(151) 1095-1100 査読有
- ⑪ 近藤寛之: 家族性滲出性硝子体網膜症 (特集・遺伝性網膜・黄斑ジストロフィアップデート). *あたらしい眼科* 2011(28) 963-968 査読無
- ⑫ 有田直子、林英之、内尾英一、近藤寛之: 重症未熟児網膜症に対しベバシズマブ硝子体内投与を行った症例の検討. *臨床眼科* 2011(65) 1225-1229 査読有
- ⑬ 渡辺晃久、近藤寛之他: 未熟児網膜症に対する抗VEGF療法の効果の検討. *眼科手術* 2011(25) 115-119 査読有
- ⑭ Kondo H, Saito K, Urano M, et al.: A case of Fukuyama congenital muscular dystrophy associated with negative electroretinograms. *Jpn J Ophthalmol* 2010(54) 662-624 査読有
- ⑮ 小山田剛、近藤寛之、林英之、内尾英一: 成人と小児における増殖硝子体網膜症の手術成績. *臨眼* 2010(64) 543-546 査読有
- ⑯ 近藤寛之: 眼科 (4) 色覚異常、(9) 網膜色素変性、(12) 網膜剥離. *臨床病理レビュー*、特集病気をもちながらどこまで働けるか—疾病と就労の臨床診断—2010(146) 214、220-221、224 査読無

[学会発表] (計24件)

- ① 近藤寛之: 網膜第151回宮崎県眼科医会講習会(招待講演) 剥離の診断と治療、その進歩. 2013.2.2、宮崎市(ホテルスカイタワー)
- ② Kondo H (5名中筆頭): New mutation in GJA8 gene is associated with unique phenotype of familial microphthalmia with anomalies of iris and lens. Annual meeting of the Association for Research in Vision and Ophthalmology. 2012.5.7 Fort Lauderdale, Florida, USA
- ③ Kondo H: A case of atypical retinopathy of prematurity. 5th Association of Pediatric Retinal Surgeons Meeting. 2012.9.21. Hotel Park City, Park city, Uta, USA
- ④ Kondo H: Genetic variations in advanced retinopathy of prematurity. World ROP congress III. 2012.10.16 Intercontinental Shanghai Puxi, Shanghai, China
- ⑤ Kondo H (6名中筆頭): Genetic variations of FDZ4 and LRP5 genes in eyes with advanced retinopathy of prematurity. 第51回日本網膜硝子体学会 2012.11.30 甲府市(富士屋ホテル)
- ⑥ Kondo H: Autosomal recessive familial exudative vitreoretinopathy. 2nd Pediatric Retinal Vascular Disease Forum. 2011.2.10 Grand Hyatt on Union Square, San Francisco, USA
- ⑦ Kondo H: VEGF levels in refractory Coats disease with or without intravitreal bevacizumab. 2nd Pediatric Retinal Vascular Disease Forum. 2011.2.11 Grand Hyatt on Union Square, San Francisco, USA

- ⑧ Kondo H, Tawara A, et al: Search for SOX17 gene mutations in patients with familial exudative vitreoretinopathy. Annual meeting of the Association for Research in Vision and Ophthalmology. 2011. 5. 11 Fort Lauderdale, Florida, USA
- ⑨ 近藤寛之、他: TSPAN12 遺伝子異常による家族性滲出性硝子体網膜症. 第 6 4 回日本臨床眼科学会. 2010. 11. 12 神戸市 (ポートピアホテル)
- ⑩ 近藤寛之: 遺伝性網膜疾患のトピックス～遺伝性網膜硝子体症～. 第 8 5 回網膜病変談話会. 2010. 11. 4 東京都 (興和大ホール)
- ⑪ 近藤寛之 (4 名中筆頭): 重症 Coats 病にみられた眼内 VEGF 濃度勾配と bevacizumab 硝子体投与の効果. 第 66 回日本臨床眼科学会. 2010. 10. 25 京都国際会議場、京都市
- ⑫ 近藤寛之: 小児の網膜剥離は遺伝性か? 第 111 回佐賀大学眼科臨床懇話会. 2010. 10. 16 佐賀市 (ホテルマリターレ創世佐賀)
- ⑬ 近藤寛之他: bevacizumab を用いた未熟児網膜症の治療 (インストラクションコース 26). 第 65 回日本臨床眼科学会. 2010. 10. 8 東京都 (東京国際フォーラム)
- ⑭ 近藤寛之: 網膜剥離の診かた、治療の考え方. 第 48 回六大学合同眼科研究会. 2010. 9. 4 福岡市 (九州大学百年講堂)
- ⑮ 近藤寛之、他: わが国の Stickler 症候群にみられた COL2A1 遺伝子異常とその臨床像. 第 114 回日本眼科学会総会. 2010. 4. 16 名古屋市 (国際会議場)

[図書] (計 5 件)

- ① 近藤寛之、南江堂、臨床糖尿病マニュアル改訂第 3 版、2012、482 (159-181)
- ② 近藤寛之、文光堂、眼科手術学：網膜・硝子体 II、2012、336 (319-326)
- ③ 近藤寛之、メジカルビュー社、Eye Surgery Now 6 きれいな小児眼科手術 これであなとも悩まない！ 2011、153 (132-137)
- ④ 近藤寛之、中山書店、専門医のための眼科臨床クオリファイ 8 網膜血管障害、2011、256 (234-236)
- ⑤ 近藤寛之、中山書店、専門医のための眼科臨床クオリファイ 9 こどもの眼と疾患、2011、286 (141-143, 150-154)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

近藤 寛之 (KONDO HIROYUKI)
産業医科大学・医学部・准教授
研究者番号：40268991

(2) 研究分担者

田平 知子 (TAHIRA TOMOKO)
九州大学・生体防御医学研究所・講師
研究者番号：50155230

内尾 英一 (UTIO EIICHI)
福岡大学・医学部・教授
研究者番号：70232840

(3) 連携研究者

林 健志 (HAYASHI KENSHI)
九州大学・生体防御医学研究所・特任教授
研究者番号：00019671