

長寿医療研究委託事業
総括研究報告書

高齢者の感覚器（視覚・聴覚）における機能低下等に対する実態把握と
予防・治療法の標準化に関する研究

研究代表者 山田 潤 国立長寿医療センター感覚器再生科 医長

研究要旨

加齢や疾病による感覚器（視覚・聴覚）障害は高齢者のQOLを著しく低下させている。本研究は感覚器障害の克服を目指し、高齢者に特化して行う、包括的な研究である。

視覚障害に関しては、後期高齢者の主な視覚障害原因である緑内障と加齢黄斑変性を取り上げ、これらの疾患の克服に向けて、一塩基多型（SNP）にもとづくゲノム診断法とスペクトラムドメイン干渉断層計等による早期診断法の確立やリスクファクターの検討を行うとともに、基礎研究も含めた新規治療法の開発の両面からアプローチを行った。また高齢者に発症頻度が高く、現在有効な薬剤が存在しない角膜内皮障害治療薬を臨床応用可能な低分子化合物を中心にスクリーニングし創薬につなげる基礎研究を施行した。さらに瞳孔の対光反応を利用し、高齢者が受検しやすい高齢者視機能診断装置である客観的視機能診断装置の開発を行った。また、非侵襲的で客観的な眼瞼・瞳孔解析装置を用いて眼瞼と瞳孔を詳細に観察し、神経系・筋肉系の老化度判定法の開発に向けた研究を始めた。

聴覚障害に関しては、加齢性難聴の危険因子同定を目的として、疫学調査による加齢性難聴の感受性遺伝子多型を調べた。また、糖尿病と感音難聴との関連を調査・検討した。また、加齢性難聴の動物モデルの系の確立を行うとともに、既存の加齢性難聴モデルにおける酸化ストレスの関与についての基礎研究をおこない、加齢性難聴発症メカニズムの解明へ向けた研究を行った。

以上のように、感覚器障害の予防・早期診断・治療について、基礎から臨床研究までの、そして、眼科と耳鼻科の双方からの多角的アプローチを継続発展させることで、感覚器機能低下への不安を克服し、高齢者のQOL向上を推進でき、活動的な高齢者の創出といった、社会的に大きく貢献できる研究であると考えている。

研究分担者

内田育恵	国立長寿医療センター	医師
津田玲生	国立長寿医療センター	室長
中島 務	名古屋大学	教授
寺西正明	名古屋大学	講師
木下 茂	京都府立医科大学	教授
上野盛夫	京都府立医科大学	助教
田代 啓	京都府立医科大学	教授
田淵昭雄	川崎医療福祉大学	教授
寺崎浩子	名古屋大学	教授
谷原秀信	熊本大学	教授
小泉範子	同志社大学	准教授

研究分担者の専門性を連携させ、高齢者に特化した視機能障害・聴覚機能障害に関する包括的研究を行い、主たる高齢者感覚器障害を引き起こす疾患を対象とした予防法・早期診断法・治療法の開発・標準化を行う。

B. 研究方法

加齢に伴って増加する緑内障、加齢黄斑変性(AMD)、角膜内皮障害、加齢性難聴を主な対象疾患として検討するとともに、高齢者のための他覚的な感覚器機能診断装置の開発を行った。また、眼瞼が中枢神経系の表現器であることに注目し、中枢神経系の老化度判定への応用を見据えた新しい眼瞼運動記録装置も開発した。本年度は基礎～臨床研究による病因追求・臨床データの蓄積といった地盤固めを行った。

1) 緑内障はわが国の中途失明原因1位で、60才以上の5%が罹患している

A. 研究目的

近年における高齢視覚障害者の増加や(平成17年度厚生労働省難治性疾患克服研究事業)、聴力障害の高い有病率(疾病の第2位：2008年WHO世界疾病調査)をふまえ、高齢者のQuality of Lifeの維持を目的とする。すなわち、

が、9割の例で自覚症状が無いことが早期診断の妨げになっている。そこで、緑内障発症の遺伝的リスク判定健診を実現させるべく、より信頼性の高い緑内障発症マーカー候補一塩基多型 (SNPs) の同定に向けた研究を行った。また、緑内障手術治療の予後向上と適応の標準化のため、緑内障濾過手術の創傷治癒解析を行った。

2) AMDでは局所炎症論の観点から発症機序の解明に取り組むとともに、関与する遺伝子多型と炎症反応の関連についてSNPs解析を行った。また、AMD前駆病変である眼底の加齢性変化の同定を目指して診断機器を開発した。さらに、AMDの視機能維持を目的として、網膜色素上皮細胞からのVEGF産生条件とチオールレドックス偏倚による制御、ならびに、チオールレドックス偏倚による網膜癒着抑制を検討した。

3) ヒトの角膜内皮細胞は生体内では増殖せず、内眼手術などによる減少が問題となる。そこで、臨床応用可能な低分子化合物を用いた角膜内皮治療薬の開発を目指して、低分子化合物の霊長類角膜内皮細胞培養への効果について検討した。Rhoキナーゼ阻害薬であるY-27632、Fasudil、およびPKC阻害剤であるH7の培養霊長類角膜内皮細胞への効果を検討した。

4) 加齢性難聴は多因子性であり、ヒトと動物モデルを用いた多面的アプローチによる原因追及と治療方法の確立・標準化を目指す。疫学的アプローチで遺伝要因と、糖尿病などの危険因子を検討した(当センター: 老化に関する長期縦断疫学研究)。また、オーグラムで老人性難聴と類似のパターンを示す遺伝疾患であるファブリー病患者についての難聴発症と程度を解析した。さらに人における遺伝的加齢性難聴疾患(OASD)の原因遺伝子(TBL1)に関して、TBL1のホモログであるebiの機能欠損を光受容細胞で作出したショウジョウバエと、TBL1のドミナントネガティブ型を内耳有毛細胞で特異的に発現するTgマウスの作成を行なった。また、マウス加齢性難聴モデル(C57BL/6マウス)における酸化ストレスの関与を検討した。これらを総合して、発症機序の解明・有効な予防法・治療法の確立を目指した。

5) 感覚器の自覚的機能検査は高齢者には不向きである。超高齢期あるいは認知機能低下を伴う高齢者においても検査可能な客観的視機能診断装置の開発とその判定法の標準化を行った。(倫理面への配慮)

人における全ての検討においては倫理委員会の承認とおりの厳格なデータ取り扱いとインフォームドコンセントをおこなった。動物実験においては研究倫

理委員会の承認と倫理規定に従った研究を行った。

C. 研究結果

(1) 緑内障: 緑内障症例とコントロール例(合計1575例)を全ゲノム解析し、緑内障マーカー候補SNPsを同定した(PNAS誌)。また、全ゲノム解析結果の信頼性検証方法を発表した(PNAS誌)。今後、さらなる継続による候補SNPs選別とアルゴリズム最適化によって、信頼性の高い診断チップのプロトタイプ開発が期待できる。次に、最も治療効果の大きい緑内障手術である濾過手術においては血管新生緑内障や白内障手術後眼などの臨床因子が手術予後に悪影響を与えており、その原因は眼内液中における種々の生理活性物質濃度の上昇であることを解明した。高齢者における新たな治療指針と手術適応指針が期待できる。

(2) 加齢黄斑変性: 遺伝要因・補体因子活性・酸化ストレスなど種々の原因が論じられているが、発症機序は定かでない。血管透過性抑制治療(抗VEGF薬)や新生血管破壊という臨床治療が現在の主たる治療である。網膜色素上皮細胞由来のVEGF産生には低酸素、もしくはTGF- β の刺激が必要条件であり、細胞内還元型グルタチオン(GSH)の酸化型偏倚状態との関連が示唆された。すなわち、AMD制御に向けての還元型誘導剤治療へと発展させる。次に、局所炎症の誘因としてAMDに関与する遺伝子多型と炎症反応との関連を調べたところ、10q26領域ARMS2遺伝子c.*372_815del1443ins54多型がある場合には血清CRP値が高いことがわかった。現在、患者から採取した前房水から炎症に関与する12種類の蛋白定量を開始している。炎症制御による簡便な早期進行予防が期待できる。次に、スペクトラルドメイン光干渉断層計を用いた脈絡膜断層像視覚化法による早期AMD診断を開発した。中心窩下脈絡膜厚が300 μ m以上であればAMD亜型のポリープ状脈絡膜血管症であるオッズ比が5倍以上と判明した。現行のAMD分類は治療指針決定には不十分と思われ、脈絡膜厚を含めた治療指針の標準化を目指したい。最後に、不可逆的な網膜癒着形成マウスモデル(マクロファージ(M ϕ)網膜下注入モデル)において、M ϕ 細胞内GSHが酸化型に偏倚して線維化を誘導することから、還元型誘導剤による癒着抑制を実証した。現在、臨床応用可能な癒着予防法の開発に向けての検討を行い始めている。

(3) 角膜内皮治療薬の開発: Rhoキナーゼ阻害剤であるY-27632とFasudilは霊長類角膜内皮細胞培養の効率を向上させた。これらのRhoキナーゼの阻

害は、霊長類角膜内皮細胞の接着と増殖を促進し、アポトーシスを抑制する効果を有した。生体に安全な低分子化合物であるY-27632などのRhoキナーゼ阻害剤は、角膜内皮疾患治療薬として応用できる可能性が示唆された。

(4) 加齢性難聴：難聴のリスクが有意に高くなる遺伝的要因としてEDN1 Lys198Asn(rs5370) (オッズ比、約1.13)、UCP 2 Ala55Val(rs660339) (オッズ比、約1.26)、FABP2 Ala54Thr遺伝子多型 (オッズ比、約1.26)の3 SNPsを同定・報告した。環境要因である糖尿病では高齢群よりも中年群の難聴に対する寄与が大きかった。糖尿病の病期期間や重症度(HbA1Cや合併症の有無)により、高齢期における聴力保存を左右する因子を今後明らかにする。

ファブリー病における検討では α -ガラクトシダーゼ遺伝子の異常を全例で確認した。60歳以上での加齢に伴う聴力障害(純音聴力のうち高周波領域)と、男性での有意な増悪が見られた。ファブリー病では酸素療法が有効であり、加齢性難聴の進行予防についての効果を期待している。また、心臓、脳、眼などにも発症する全身疾患であり、本研究班での総合的な解釈を経て、加齢に関する知覚器全般の解析をも期待している。

ebi機能欠損ショウジョウバエモデルの作成に成功し、加齢に伴う光受容細胞の変性が約4週間でみられた。この変性はp35(Caspaseの阻害因子)の過剰発現で抑制可能であった。ヒト加齢性感覚器障害での炎症反応と強く関連しているAP-1とebiとは複合体を形成し、生体防御反応の下流で機能していることも判明した。つまり、加齢および光刺激によるアポトーシス誘導という一面からも加齢性感覚器障害モデルとして発症機序の解明・予防・治療法の確立に応用できる。Tgマウスでは加齢に伴う聴覚の低下を検討し始めている。

マウス加齢性難聴モデルでは脳波聴力検査(ABR)による聴覚機能評価と酸化ストレスマーカー(8-OHなど)を用いた内耳の免疫組織染色を行った。8ヶ月齢のマウス蝸牛に8-OHが発現増強しており、加齢による蝸牛での酸化ストレス増加が細胞障害・難聴を引き起こすと考えられた。有効な抗酸化剤の投与が課題である。また若年マウスと高齢マウスの蝸牛から蛋白を抽出し、予防と治療に有効なターゲット分子をプロテオミクス解析中である。

(5) 他覚的視機能診断装置の開発：中央、および、4象限の一定角度からの白色光による対光反応について、瞳孔径を計測・解析できる瞳孔視野計を開発・改良した。高齢者における標準

曲線を作成し、緑内障などの他覚的な診断を検討中である。また、瞬目高速解析装置を用いて自発性および随意性瞬目検査を施行し、若年者と高齢者の瞬目パターン、瞬目速度および頻度を測定・解析した。結果、高齢者は自発瞬目、随意瞬目ともに若年者より浅く遅い瞬目で、瞬目回数も少なく、瞬目速度も下降・上昇ともに遅かった。眼瞼機能は中枢神経系が司っており、被侵襲的な瞬目運動解析により高齢者の中枢神経系の老化度の判定が可能となる可能性がある。

D. 考察

耳鼻咽喉科と眼科とにおいて、そして、臨床研究と基礎研究とにおいて、研究分担者が同じ目的を有し、お互いの研究支援がなされた結果、本研究班では「予防・治療の標準化」を実践するにあたっての理想的な班構成が実現したと考えている。また、各分担研究者が得意とする専門分野からの多角的アプローチを一つの研究として集約できたおかげで、感覚器障害の克服にむけた、他の研究ではみられない高水準の感覚器研究が見込まれる。高齢者の感覚器障害を来す疾患群に対する予防・早期診断・治療方針が確立していくにつれ、高齢者においては疾病に対する不安が減少していき、感覚器障害克服によるコミュニケーション向上や情報の取得が可能となり、活動意欲が向上するとともに社会復帰の支援に結びつき、医療費削減にも貢献できると考えている。また、コンピューターやインターネットが普及した情報社会は今後も続いていくと予想でき、過去とは異なった高齢者像の出現、すなわち、知的活動を喜んで継続していくお年寄りが社会に出現し、そして社会に必要なことになる。この方々を支援するためにも感覚器障害の克服が必須と考えている。

E. 結論

加齢にともなう感覚器障害の代表疾患に対して予防・早期診断・治療の検討を始めることができた。本年度の診断・予防・治療における成果ではすでにブレイクスルーが見られている(資料1:)。高齢者における視機能・聴覚機能を維持することでQOL向上や「動けるお年寄り」の増加が実現可能となる(図1)。次年度の研究では、臨床から基礎までの研究がさらに融合し、わが国の高齢者の感覚器障害の克服に結びつくとして強く確信している。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表
 (Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表を参照)
2. 学会発表
 各分担研究報告書参照

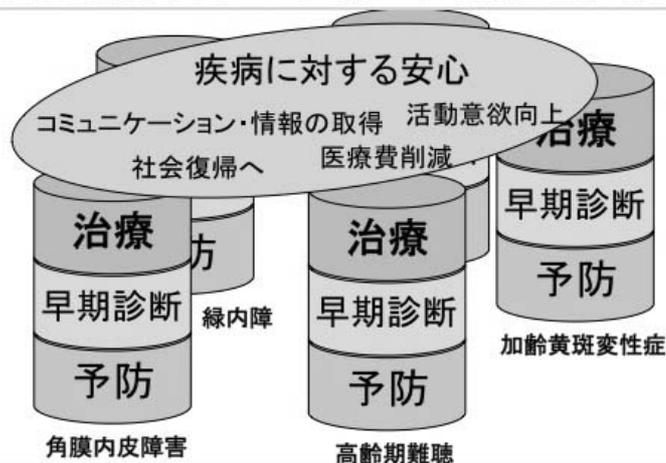
H. 知的財産権の出願・登録状況
 各分担研究報告書参照

(図1)

「健康な65歳」から「活動的な85歳」へ

老人保健事業の見直しに関する検討会(平成16年10月)

感覚器障害の予防・早期診断・治療



動ける85歳より **働**ける85歳

(資料1)

平成21年度長寿医療研究委託（21指-17）研究班会議要約

課題名： 高齢者の感覚器（視覚・聴覚）における機能低下などに関する
予防・治療法の標準化に関する研究

開催日： 平成21年8月21日（金） 15:50～23:00

会場： 京都府立医科大学 基礎医学学舎 3階会議室

出席者

研究代表者

山田 潤（国立長寿医療センター 感覚器再生科 医長）

研究分担者

内田育恵（国立長寿医療センター 耳鼻咽喉科）

津田玲生（国立長寿医療センター 老化機構研究部生体機能研究室 室長）

中島 務（名古屋大学医学部大学院医学系研究科 耳鼻咽喉科学 教授）

寺西正明（名古屋大学医学部大学院医学系研究科 耳鼻咽喉科学 講師）

木下 茂（京都府立医科大学大学院医学研究科 視覚機能再生外科学 教授）

上野盛夫（京都府立医科大学大学院医学研究科 視覚機能再生外科学 助教）

田代 啓（京都府立医科大学大学院医学研究科 ゲノム医科学 教授）

田淵昭雄（川崎医療福祉大学大学院医療技術学研究科 教授）

小泉範子（同志社大学大学院生命医科学研究科 准教授）

寺崎浩子（名古屋大学医学部大学院医学系研究科 眼科学 教授）代理：加地秀

谷原秀信（熊本大学医学薬学研究部 視機能病態学 教授）代理：井上俊洋

研究協力者

羽室淳爾（京都府立医科大学大学院医学研究科 特任教授）

森 和彦（京都府立医科大学大学院医学研究科 視覚機能再生外科学 講師）

渡辺彰秀（京都府立医科大学大学院医学研究科 視覚機能再生外科学 助教）

古泉英貴（京都府立医科大学大学院医学研究科 視覚機能再生外科学）

奥村直毅（京都府立医科大学大学院医学研究科 視覚機能再生外科学）

中井義典（京都府立医科大学大学院医学研究科 視覚機能再生外科学）

今井浩二郎（京都府立医科大学大学院医学研究科 視覚機能再生外科学）

畑中宏樹（京都府立医科大学大学院医学研究科 視覚機能再生外科学）

議事録

本研究課題の趣旨説明

山田 潤（国立長寿医療センター） 上野盛夫（京都府立医科大学）

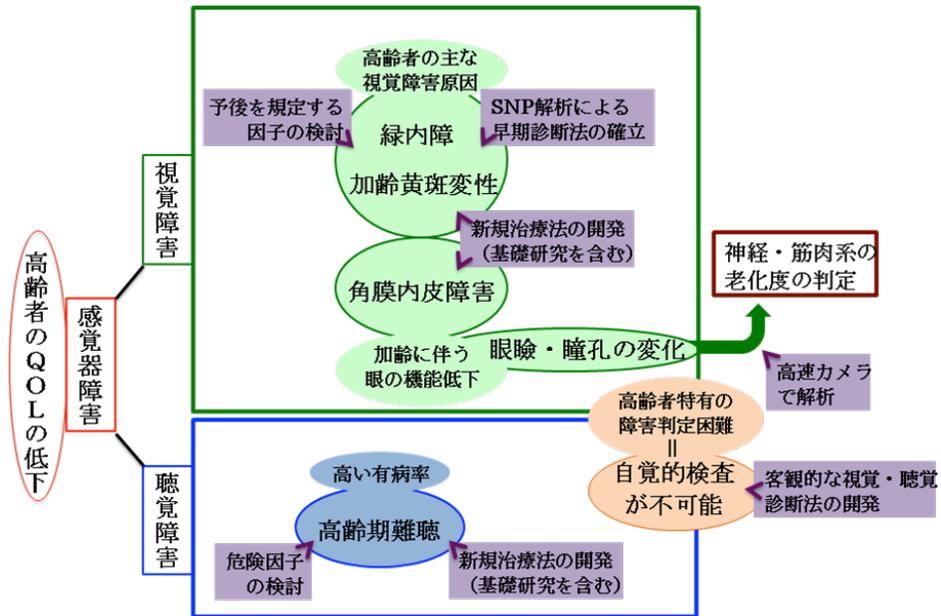
国立高度専門医療センター（ナショナルセンター）は6センター（がん、循環器病、精神・神経、国際医療、成育医療、長寿医療）により構成されている。各センターは、医療、研究、人材育成、情報発信の牽引車としての役割や、高度先駆的な医療技術の開発、高齢者の在宅医療システムの全国への普及等を行う役割を担うとともに、政策提言も行える方向で、その果たすべき役割や機能、体制等について整備を進めることが求められている。それを実現するために、国より研究委託費が交付されている。国立長寿医療研究委託は国立長寿医療センターが国より受けた研究費で、本研究費の理念は「高齢者の心と体の自立を促進し、健康長寿社会の構築に貢献する」という国立長寿医療センターの理念に一致する。

我が国の65歳以上の高齢者人口は、昭和25（1950）年には総人口の5%に満たなかったが、45（1970）年に7%を超え（国連の報告書において「高齢化社会」と定義された水準）、さらに、平成6（1994）年にはその倍化水準である14%を超えた（「高齢社会」と称された）。そして、今、まさに22%を超え、5人に1人が高齢者、10人に1人が75歳以上人口という「本格的な高齢社会」となっている。将来推計人口で50年後の日本をみると、総人口は9000万人を割り込み、2.5人に1人が高齢者で、4人に1人が後期高齢者となる。それは現役世代1.3人で1人の高齢者を支える計算になり高齢化はさらに進むことは明白である。高齢化社会に対する対策は以前よりなされてきたが、平成16年10月に発表された老人保健事業の見直しに関する検討会（座長：辻一郎東北大学教授）の中間答申で、それまで目指してきた「健康な65歳」の確保から「活動的な85歳」の創出への大きな目標変革があった。同検討会が提示した新しい高齢者像は病気を持ちながらも、なお活動的で生きがい満ちた自己実現ができるような高齢者である。このようなQuality of Life (QOL)を保った高齢者の実現のためには感覚器障害の克服が不可欠であることは自明で、その観点より本研究委託がなされた。本研究委託においては、医学研究成果をシームレスな医療現場への提供還元を加速し、健康長寿社会の構築を図る為に長寿医療に関わる基盤となる研究を実施することが求められている。

研究班の構築に当たっては、将来的には視覚障害と聴覚障害を統合的にとらえて研究を遂行することが理想的であるが、本研究課題では（図1）のようにまず視覚障害と聴覚障害のそれぞれを克服することを目的とした。視覚障害に関する研究（眼科領域）の課題としては、後期高齢者の主な視覚障害原因である緑内障と黄斑変性症、高齢者に発症頻度が高く現在有効な薬剤が存在しない角膜内皮障害の治療薬開発、高齢者が受検しやすい客観的視機能診断装置の開発、非侵襲的で客観的な眼瞼・瞳孔解析装置を用いた神経系・筋肉系の老化度判定法の開発を取り上げた。聴覚障害に関しては、WHO 世界疾病調査 (Global Burden of Disease 2004) の結果、聴覚障害は調査地域全体でみた総合有病率第2位の疾

病であったことをふまえて、高齢期に見られる難聴の危険因子同定を糖尿病や肥満およびメタボリックシンドロームを中心に調査・検討する。乳幼児の他覚的聴力検査法である聴性定常反応を高齢者向けに最適化し、超高齢期においても可能な客観的聴力評価法の確立を行う。さらに加齢性難聴の薬物治療を見据えて実験モデルでみる加齢性難聴発症メカニズムの解明を行う。(図2)に各研究者の分担を示した。

(図1)



(図2)

班員紹介	
<p>耳鼻科領域 聴覚研究総括 中島 務 (名古屋大学)</p> <p>糖尿病と聴力障害 SASと聴力障害 内田育恵 (国立長寿医療センター) 疫学協力 下方浩史 (国立長寿医療センター)</p> <p>難聴マウスモデル 寺西正明 (名古屋大学) 津田玲生 (国立長寿医療センター)</p>	<p>眼科領域 視覚研究総括 木下 茂 (京都府立医科大学)</p> <p>客観的診断・解析装置 田淵昭雄 (川崎医療福祉大学) 上野盛夫 (京都府立医科大学) 渡辺彰英 (京都府立医科大学)</p> <p>角膜内皮治療薬 小泉範子 (同志社大学)</p> <p>加齢黄斑変性 寺崎浩子 (名古屋大学) 羽室淳爾 (京都府立医科大学) 古泉英貴 (京都府立医科大学) 山田 潤 (国立長寿医療センター)</p> <p>緑内障 田代 啓 (京都府立医科大学) 谷原秀信 (熊本大学) 森 和彦 (京都府立医科大学)</p>
研究代表者 山田 潤 (敬称略)	

各研究者による研究計画発表

木下 茂 先生（京都府立医科大学・眼科教室）

■ 眼科領域総括

平成17年に行われた後天性失明原因の原因検索では、緑内障が第一位、続いて糖尿病網膜症、網膜色素変性症、高度近視、黄斑変性となっている。このため、視覚領域における中途失明の主要原因と考えられる緑内障と加齢黄斑変性を本研究のターゲット疾患として取り上げ、非侵襲的早期診断法の開発、病態の解析、疫学研究、新規治療法の開発を行うこととした。

さらに、角膜内皮障害による角膜浮腫を生じる患者が、白内障手術や緑内障手術の増加などにも関連して激増しているため、角膜内皮障害への新規治療法を取り上げた。さらに、視覚領域の病的変化を定量的に解析することは必須であり、数種類の客観的診断解析装置の作成を取り上げた。

今回は、研究分担者がカバーする領域は除いて、私の研究協力者が行う加齢黄斑変性の一部の研究と、眼瞼・瞳孔運動の研究について解説する。加齢黄斑変性については、主として複数の励起波長を用いた眼底自発蛍光撮影を行い、網膜色素上皮の早期加齢変化の検出を試みる。このため、青色光の励起波長によるリポフスチン蓄積検出のみならず、近赤外光励起によるメラニン関連物質の動向にも着目する。さらにスペクトラルドメイン光干渉断層計のEDI-OCTを用いて脈絡膜全層撮影を行い、多数の画像を重ね合わせて脈絡膜変化を詳細に捉えて検討する。

眼瞼・瞳孔解析装置の作成については、プロトタイプ機器が浜松フォトニクスとの共同開発で完成し、上眼瞼の位置をみて瞬目波形を捉えていく実用化の目途がほぼたっているため、この装置を用いて正常高齢者と正常若年者のデータを蓄積、正常値が確定した段階で神経内科系疾患、特にパーキンソン病、初期アルツハイマー病をターゲットとして、この疾患の早期スクリーニング法を開発する。

以上のような研究により、3年後には高齢者の視覚障害への新規診断法、新規治療法が開発されるものと考えられる。

田代 啓 先生（京都府立医科大学・生化学ゲノム医科学教室）

■ 原発開放隅角緑内障の全ゲノム解析に基づく診断方法開発

緑内障による失明を遅延させるには、点眼薬などにより眼圧下降を図るのみである。治療は早くから開始した方が良いが、しかし病態のみで早期の緑内障患者を見出すのは困難である。このためゲノム解析により緑内障の診断が付けられるようになるとメリットが大きい。

緑内障の主病型である原発開放隅角緑内障の遺伝子マーカーを同定するため、日本人を対象とした全ゲノム相関解析を実施した。開放隅角緑内障患者（疾患群）827例および疾患群と同等の診断を実施して非疾患群（対照群）と判断された748例、合わせて計1,575検体を収集し統計学的な検出力のシミュレーションをするに至った。（2009年2月現在）

アフメトリクス社の500Kチップによる全ゲノム解析（Stage 1）に引き続き、イルミナ社のカスタムチップを用いたStage 1の再現性確認試験（Stage 2）までを単独施設で実施した。

Stage 1で抽出された疾患関連候補SNPsについて、Stage 2での別集団による再現性確認後、Stage 1と2の統合解析（Mantel-Haenszel test）を実施し、抽出されたSNPsの信頼性を詳細に評価した。最終的に疾患関連SNPsと判断されたSNPsについては組合せ効果も評価し、緑内障の発症を予測する診断マーカーとしての有用性の評価も加えた。Odd ratioを使い、相対的な緑内障になりやすい遺伝の体質について調査を実施した、その結果、両親共に緑内障の場合の発症確率は3倍に高まるというデータを得ることが出来た。

【今後の研究方針】

今後、緑内障を早期診断するために、全ゲノム解析に基づきより同定した原発開放隅角緑内障疾患関連SNPs利用した診断技術開発を進める。

【質問】

Q（名古屋大学 中島教授）：発見されたSNPsの機能はどのようなものか？

A：発見されたSNPsが機能をもったものであることは珍しい。現在SNP近傍の500KB～10KBのLDブロック内を探索中で、まさに調べたいところを調査中である。

■ 緑内障の病態研究

加齢に伴い有病率の上昇する緑内障は先進国における失明原因の上位を占める。従って長寿医療研究において緑内障治療の研究は質の高い生活を目指す上で重要な意味がある。我々はこれまで緑内障手術に関する臨床研究を行い、白内障手術既往がその危険因子であることを確認した。そこで臨床研究として、緑内障手術の危険因子を解析するための一連の後ろ向き研究と前向き研究を展開する。本研究の成果を将来的に緑内障治療の改善に結び付け、より質の高い高齢者の生活に貢献することが我々の目的である。

【今後の研究方針】

10年間で100例以上の情報収集を目標とする。

1. 原発閉塞隅角緑内障（および隅角症）に対する隅角癒着解離の成績を解析する
2. 多彩な続発緑内障が濾過手術に対して示す抵抗性の解析を行う
3. 臨床標本や動物モデル眼を用い、濾過胞結膜の創傷治癒に及ぼす房水組成や炎症細胞浸潤などの影響を解析する
4. これらの背景にある分子機構についても以下の通り解析を進める
 - (ア) 培養ヒト網膜色素上皮細胞や血管内皮細胞、マクロファージなどにコンストラクト導入する。
 - (イ) 遺伝子に SiRNA をかける。
 - (ウ) アミロイドβ、H₂などで負荷をかける。
 - (エ) Akt、ERK、NFκB などの活性を測定する。
 - (オ) VEGF、TNF-α、IL-1β、IL-6 などのサイトカインを測定する。

【質問】

Q（京都府立医科大学 木下教授）：緑内障手術に白内障手術既往が影響を与えているとのことだが、緑内障手術の前か後のどちらに行われたものか？

A：白内障手術を先にしているものの解析を行った。

加地 秀 先生（名古屋大学）

■加齢黄斑変性患者における遺伝子多型と炎症

加齢黄斑変性（AMD）は眼底中心部に新生血管や萎縮を生じる疾患で、わが国でも主要な失明原因の一つとなっており増加傾向にあるが、成因や病態はまだ不明なことが多い。また欧米では緩徐な経過をたどる萎縮型AMDが多いのに対し、日本では著明な視力低下を引き起こしやすい滲出型AMDを多く認めることが特徴である。

近年AMDに強く関連する遺伝子多型（SNP）として、染色体1q32および10q26領域のSNPが報告され、我々も自験例で（日本人においても）これらのSNPが本疾患と関連することを確認した。さらにAMDの病態には炎症が関わっていることは以前から示唆されていたが、滲出型AMDでは血清高感度CRP（hs-CRP）の値が高い傾向にあり、また特定のリスクアレルを持つ場合、有意に高くなることを示し、これらのSNPが炎症反応と関わっていることを見出した。

【今後の研究方針】

テーラーメイドの治療開発と標準化を目指し、染色体1q32及び10q26領域のSNPがどのようなメカニズムで炎症反応や加齢黄斑変性（AMD）の発生進行に関与するかを解明すべく研究を進める。

山田 潤 先生（国立長寿医療センター）

■ 加齢黄斑変性症における組織構築の維持と網膜下瘢痕の抑制

主な失明原因である加齢黄斑変性（AMD）に対する治療は、来る高齢化社会における大きな課題である。AMD発症後の網脈絡膜組織構築破壊や硬膜下瘢痕形成という不可逆的な変化を内科的治療によって抑制を試みる。

まず、細胞内チオールレドックスが還元型に傾斜したマクロファージ(Mp)が組織障害に関与することから酸化型偏倚による制御を試みる。この操作によってMpによるNO産生が低下し、組織障害抑制に働く。次に、バリンを投与することにより酸化型Mpで合成されたオルニチンがプロリンへ合成されてコラーゲン合成されるのを阻害し、瘢痕形成の阻害を試みる。現在までに、Mpのオルニチン合成を下げる目的で還元型Mp誘導を行うことによって、マウス網膜線維化抑制を認めているため、本手法による網膜線維化制御の可能性は十分にあると考えている。臨床において、いかなる時期に、いかなる経路で本治療を施行するのが適切であるかについて、マウスモデルを用いた検討を行う。

【今後の研究方針】

1. 網膜炎モデルを用い酸化型 Mp 誘導による網脈絡膜での組織障害の抑制を検討する。
2. 網膜下瘢痕形成モデル（皮膚の熱傷・角膜混濁モデル）を用い、バリン投与などによる抑制を検討する。
3. 臨床を想定し、マウスモデルを用いて最適な治療時期・治療方法について検討する。

■ 角膜内皮治療薬の開発

角膜内皮細胞は角膜の含水率を一定に保ち、透明性を維持する重要な役割を持つ。霊長類の角膜内皮細胞は生体内における増殖能が極めて低く、疾病や外傷、手術等によって障害されると、角膜内皮細胞密度が低下する。角膜内皮細胞密度（正常値は約2500個/mm²）が約500個以下になると角膜の透明性を維持することができなくなり、水疱性角膜症とよばれる角膜の浮腫性混濁を生じて視力が著しく低下する。水疱性角膜症は角膜失明の重要な原因疾患であるが、特に日本では緑内障に対するレーザー虹彩切開術に起因するものが多い。また白内障や緑内障に対する内眼手術も水疱性角膜症の大きなリスクであることから、社会の高齢者に伴う水疱性角膜症患者の増加は深刻な問題である。

ヒト同様に生体内での角膜内皮の増殖能が乏しい霊長類であるカニクイザルをモデル動物として、培養角膜内皮の移植を行った。コラーゲンシートを基質として培養した角膜内皮シートの移植を行ったところ角膜は透明治癒し長期間にわたって透明な角膜を維持できた。また、コラーゲンシートの代わりに、ヒト角膜実質を基質として角膜内皮を培養して再構築した移植片による角膜内皮移植を行ったところ角膜は透明治癒して経過が良好であった。

【今後の研究方針】

高齢者における失明の重要な原因である角膜内皮疾患の再生医学的治療法を開発を行う。特に以下の点について重点的な研究を行う。

1. 角膜内皮細胞の老化メカニズムの解明
2. 霊長類角膜内皮細胞を生体外で培養・増殖させる技術の確立
3. 角膜内皮細胞を生体内で増殖させる角膜内皮治療薬の開発

■ 加齢による聴覚障害・視覚障害との関連

難聴には、伝音難聴（外耳・中耳の障害）と感音難聴（内耳・内耳神経の障害）の2種類がある。伝音難聴・感音難聴の関係は、視覚での角膜水晶体異常と網膜異常の様な関係にあたるが、聴覚系では、鼓膜・耳小骨は、加齢により障害をきたすことはほとんどない。また循環系を見ても、中耳、外耳は外頸動脈支配、内耳は椎骨動脈支配と分かれている。加齢により耳の聞こえが悪くなる老人性難聴は感音難聴にあたる。老人性難聴は、徐々に進行するのが普通であるが、ある時期に急速に進行することもある。突発性難聴は原因不明の感音難聴で、50歳代、60歳代を中心に多発している。原因については今も研究途上であるが、高齢者でも増えてきており老人性難聴との関連も検討しなければならない。

今回の研究課題で、視覚系は、加齢性黄斑変性症、緑内障、糖尿病性網膜症などが研究の中心となっているが、緑内障に類似する耳疾患にメニエール病がある。内リンパに水が溜まって圧が上ると発症する。内リンパの圧は測定する方法が現在は無いものの、最近3テスラの造影MRIで画像化できるようになった。緑内障もメニエール病も、それぞれ、眼、内耳の「水」の流れの異常であり、両疾患を合併してもつ患者も比較的多い。また糖尿病の合併症として網膜の異常が広く知られているが、最近、糖尿病合併症としての聴覚障害も注目されるようになってきた。さらに視覚系では人工網膜に当たるであろう人工内耳は、すでに保険で認可されており、使用している患者の約半数が日常生活を不自由なく送ることができている。

このように視覚系と聴覚系は感覚器として病態に共通点があり、両者を比較検討することは有意義なことと考える。視覚系、聴覚系の研究者を含んで行うキックオフミーティングは、この観点から期待している。

寺西 正明 先生 (名古屋大学 頭頸部・感覚外科学耳鼻咽喉科)

■ 酸化ストレスシグナルからみたマウスの加齢による難聴モデルの検討

近年加齢による難聴に酸化ストレスや蝸牛のアポトーシスが関与していることや、抗酸化剤の投与やカロリー制限による難聴制御の報告が散見されるが、全容は明らかではない。活性酸素は、脂質の過酸化、核酸の酸化を引き起こすが、蝸牛内での酸化ストレスを検討することは、病態を解明し、予防および治療戦略の確立に役立つものと考えられる。

加齢による難聴モデルとして、3-4ヶ月以後、難聴が進むマウスであるC57BL/6マウスを用い、聴覚測定と酸化ストレスの評価を行う。DNA酸化のマーカーである8-OHdGは8ヶ月齢のマウス蝸牛に発現増強しており、蝸牛での酸化ストレスの加齢による増加が示唆される。他にも酸化ストレスのマーカーとして脂質過酸化のマーカーである抗MDA抗体やNOS II、ニトロチロシンがあげられる。また酸化ストレスシグナルにより、抗酸化酵素やsirtuin、Nrf2などさまざまな防御因子が誘導される。加齢変化でのこの系に関与するタンパクの蝸牛での発現を評価し、薬物投与により加齢による難聴を予防できるかどうか検討する。

【今後の研究方針】

タンパクの蝸牛での発現を評価し薬物投与によって、加齢による難聴を予防できるか検討

1. 抗酸化剤投与 : alfa-lipoic acid, n-acetyl cysteine
2. カロリー制限による、寿命延長・難聴軽減・sirtuin (SiRT1) の関与・sirtuin 活性を持つ resveratrol などの薬物投与を通じて検討する
3. 酸化ストレスで活性化される sulforaphane による予防・治療効果を検討する
4. 網羅的解析を行っていく

【質問】

Q (京都府立医科大学 羽室先生) : Nrf2に対してプレリミナリなデータはあるのですか？

A : はい、あります。

内田 育恵 先生（国立長寿医療センター）

■ 高齢者の聴力低下に関与する遺伝子多型および糖尿病を始めとする
危険要因の影響解析・聴力定常反応の高齢者への応用について

高齢者の難聴は個人差が大きい。この差を説明する要因として、遺伝要因からは、老年病関連または難聴関連の多くの候補遺伝子多型の中から感受性遺伝子多型の同定をめざし、遺伝外要因の中からは、聴力の観点からみた糖尿病、肥満等に関する詳細を把握し、制御目標を探る。地域住民対象研究と病院受療患者対象研究を組み合わせることで対象範囲の拡大を図り、例えば糖尿病については、病脳期間、インスリン抵抗性、HbA_{1c}値等、重症度を反映する指標などの候補変数が、聴力保存にもたらす効果に関して、普遍性の高い結果獲得を目指す。一方乳幼児の聴力評価として実用化されつつある聴性定常反応を高齢者に応用し、認知機能低下の有無によって影響されず、補聴等のリハビリテーションへの活用が即時可能な客観的聴力診断法としての確立を図る。

【今後の研究方針】

1. 候補遺伝子多型の中から、高齢者の聴力との関連を解析
2. 高齢者に多い糖尿病と、その合併症としての聴力障害の相互作用に注目し解析する
3. 睡眠時無呼吸症候群【肥満・高血圧・循環器疾患】と聴力の関連を検討する
4. 聴性定常反応をリハビリへの活用が即時可能な客観的聴力診断法として確立を図る

津田 玲生 先生（国立長寿医療センター）

■ 加齢性難聴発症原因の解明

加齢性難聴や加齢性黄斑変性症等の加齢性感覚器障害に共通したリスクファクターとして加齢および酸化ストレス応答が指摘されているが、分子レベルでの詳しいメカニズムは明らかになっていない。本研究は、加齢性難聴疾患の一つであるOASD (ocular albinism with late-onset sensorineural deafness) に注目して、モデル動物を用いて発症と酸化ストレス応答および老化との関係を分子レベルで明らかにすることを目的としている。これまでの研究から、OASDのショウジョウバエモデルの作製に成功し、炎症反応シグナル伝達における負の調節機構の破綻が発症原因の一つであることを明らかにしている。

【今後の研究方針】

OASD疾患マウスモデルについて、加齢に伴う聴力低下および内耳有毛細胞の生存維持機構を解析することにより加齢性難聴発症のリスクファクターの詳しいメカニズムの解明および予防・治療法の確立を目指す。

田淵 昭雄 先生（川崎医療福祉大学）

■ 客観的視機能診断装置の開発

現行では視機能を評価する他覚的検査が存在せず、特に高齢者における適切な視機能検査がなされていないのが現状である。そこで、高齢者が受検しやすい客観的視機能装置として、現在、最も困難な視野の他覚的（客観的）評価を計画した。

研究分担者の田淵らがパナソニック電工株式会社と共同開発している瞳孔視野計は瞳孔の対光反射を利用して他覚的に視野測定を行う非侵襲的な装置で、従来の自覚的視野検査装置では測定困難であった高齢者の視野測定に極めて有用であると考えている（生体医工学2005;43:179-183）。

まず、この瞳孔視野計の開発の経緯と問題点、最近、話題になっているメラノプシン含有網膜神経節細胞の青色反応などを紹介し、実際にこれらの問題をクリアーできる瞳孔視野計の作成計画を述べる。そしてこれを用いた正常成人および高齢者の標準値を求めると共に、高齢者の測定用に最適化したい。

試作しているゴーグル型瞳孔視野計（ビデオ眼振計）を用いた診断の結果について

1. 上方視野刺激、下方視野刺激により瞳孔の動きを測定することができる
2. 左右眼のRAPD評価による緑内障の検出が可能か
3. 色刺激対光反射・色刺激自覚的な反応量・瞳孔視野を測定することができる

瞳孔視野の反応は個人差が大きいため、わずかな異常の診断にむけて更なる改良が必要。最近発見されたメラノプシン含有網膜神経節細胞（m-RGC）には、光感受性が存在する。

【今後の研究方針】

現在、開発している客観的な視機能診断装置「ゴーグル型瞳孔視野計（ビデオ眼振計）」は、非常に魅力的であるが、臨床応用するにはまだ少し問題がある。瞳孔視野の反応は個人差が大きいため、さらにわずかな異常の診断にむけてデータを収集・解析する改良が必要である。

1. 高齢者層のデータを収集
2. 白内障眼に対する青色刺激の有用性を検討
3. 色刺激のデータを収集

上野 盛夫 先生（京都府立医科大学）

■ 客観的視機能診断装置の高齢者への応用

死亡時点で見たと生前の要介護期間を先死期というが、先死期は「動けない」、「失禁」、「認知症」を三大主徴としており、このような状態はQOLの低下を招いている。「動けない」の原因となる事故の代表が転倒で、転倒・骨折をきっかけに「動ける」高齢者が一気に「動けない」状況になり先死期を迎えるという構図があり、転倒・骨折は要介護となった原因の第3位である。転倒・骨折の予防にはその危険因子を理解が重要で、危険因子は内的因子と外的因子に分類できる。代表的な内的因子の一つが視機能障害であるため、高齢期の視機能を正確に評価し、適切な介護介入を行うことは転倒・骨折の予防に直結する。最も一般的な視機能の評価方法は視力検査と視野検査であるが、そのいずれも被験者の自覚による検査で客観性を欠いていることは否めない。特に視野検査は加齢による体力や集中力の低下や検査への不慣れが結果に大きく影響するため、高齢者の視野を客観的に評価することは困難であった。瞳孔視野計は、まさに視機能を客観的に評価する装置である。瞳孔視野計の高齢者測定用への最適化や高齢者ノルモグラムの作成の後に、瞳孔視野計検査データをもとにした適切な介護介入の高齢者の転倒・骨折予防への効果を検討したい。

【今後の研究方針】

瞳孔視野計検査データをもとに、要介護機関（先死期）の3大特徴のひとつ「動けない」と、内的危険因子のひとつ視機能障害による高齢者の「転倒・骨折」の予防へむけた適切な介護介入（客観的な検査：視力・視野）への効果を検討していきたい。

羽室 淳爾 先生（京都府立医科大学）

■ 加齢・肥満とAMD～マクロファージ機能の空間的制御

（目的）加齢性黄斑変性症（AMD）の根本的治療法の創出は焦眉の課題である。本提案者は、脈絡膜浸潤マクロファージ（Mps）により遷延化する組織炎症がAMD病態の本質と捉え、浸潤Mpsの機能をCCR2+からCX3CR1+型に変換すること、もしくは、CCR2+型を選択的に除去する手法を確立し、よって、CNV形成、ブルー膜（BrM）のコラーゲン性肥厚、basal laminar deposit形成を抑制することを目的とする。

（背景）組織炎症で局所浸潤Mpsが炎症の慢性化に関与すると捉える概念は蓋然性が高い。提案者らは、糖尿病、炎症性腸疾患、肝硬変、喘息性気道狭窄などにおいて、発症早期にはNOS2⁻、IFN γ ⁻、IL10⁺の酸化型Mps/Th2が主流で、組織破壊から炎症遷延化の段階では、NOS2⁺、IFN γ ⁺、IL10⁻の還元型Mps/Th1へと形質変換の起こることを報告している（羽室ら、EJI, Int Immunol, 2002など）。一方、加齢・肥満に伴い惹起される脂肪組織の慢性炎症がIFN γ ⁻、IL10⁺Mps/Th2からIFN γ ⁺、IL10⁻Mps/Th1への変換で惹起されることが相次いで報告された（Nat. Med. 2009. 8月）。提案者は、炎症局所におけるMps機能の可塑的な変換がAMDの組織炎症増悪に主たる役割を果たすと考え本研究課題を提案する。

（実施計画と課題）

主題：動物モデルと評価系

- AMD, PEX 動物モデルの作成(入手)：CX3CR, CCR2, CCL2, LOXL1KO マウス活用
- 脈絡膜浸潤 Mps の同定：F4/80, CD11c, IL-10, SR-A, IR, MMP2, PAI-1
- 同上 Mps の細胞表面マーカー検定：MGL, Mincle, CCR2, CX3CR1, IL-1R, TSP1-R+/-
- 病態ステージと Mps 機能変換の対応：TNF-a , CCL2, IL-10, IL-6, NOS2, Arginase, FasL
- ER ストレス、PPAR α 発現との対応付け：PPAR α KO マウス活用、同阻害剤
- 組織局所における Mps の枯死、貪食能の検定：免疫組織染色、
- Mps 亜集団の選択的阻害剤：企業との連携を模索
- Mps 遊走阻害剤：Rho-kinase 阻害剤（腎障害に対するのと同様の作用の有無）

課題：translational researchに向けて

- ヒト AMD 患者の脈絡膜浸潤 Mps の採取と機能同定
- 動物モデルとヒトの病態の対応付け
- 病態ステージとの対応付け：どのステージでの介入が有効か？
- 標的を絞り込んだ後の診断法の標準化と非侵襲的イメージング手法の工夫
- 絞り込んだ標的に選択的に作用する薬剤候補の探索：企業の協力が得られるか
- TTT 治療法の有効性との理論的・実験的対応付け

今後の予定

平成21年度

2009年11月	中間報告書類 提出
2010年1月中旬	中間報告発表（書面にて発表）
2010年2月後半	実績報告書を製本

平成22年度

2010年11月	中間報告書類 提出★重要
2011年1月中旬	中間報告発表（口頭スライド発表）★重要
2011年2月後半	実績報告書製本

〈中間評価の結果によっては、期間を短縮〉

〈委託費の継続OR減額、更なる指定課題の獲得〉

平成23年度

2011年11月	成果報告書類 提出
2012年1月	成果報告発表（口頭スライド発表）
2012年2月後半	成果報告書を製本

■第2回研究班会議の予定

日程:平成22年3月～平成22年6月

会場:愛知県内