

にIFN β (0.75MIU/kg) 単独またはIFN β -DTPA-dextran (同量のIFN β を含む)を静注し、24時間後にCNV組織内のIFN β 濃度をELISAにより測定した。

最後にIFN β -DTPA-dextranのCNVに対する抑制効果をみるために、蛍光漏出を認める家兎に、生食、IFN β 単独 (7.5MIU/kg/day)、IFN β -DTPA-dextran (7.5MIU/kg/day)を各々週に2回2週間投与またはIFN β -DTPA-dextran (0.75MIU/kg/day)を週に2回4週間投与した。蛍光眼底造影により蛍光漏出の程度を評価し、以下のように定義した。grade 0: 蛍光漏出なし、grade 1: わずかな漏出 (脈絡膜背景蛍光と同じ蛍光強度)、grade 2: 局所的に著明な漏出 (マイクロスフェア投与部の20%以下の大きさ)、grade 3: 大きさが中等度で著明な漏出 (投与部の20%から50%の大きさ)、grade 4: 大きさが大きく著明な漏出 (投与部の50%以上の大きさ)。

結果

IFN β -DTPA-dextran投与群では、IFN β を単独投与した群と比べて、CNV組織でのIFN β 濃度が約4.5倍と有意に増加した (図1)。

生食投与群では、経時的に蛍光漏出の程度が強くなった (図2)。IFN β 単独投与群では、生食投与群と同様に抑制効果は認めなかった。一方、IFN β -DTPA-dextran投与群では、IFN β 単独投与群と比べて有意に抑制した。更に、低量のIFN β を含むIFN β -DTPA-dextranを長期に投与した群の方が、より強い抑制効果を認めた (図3、4)。

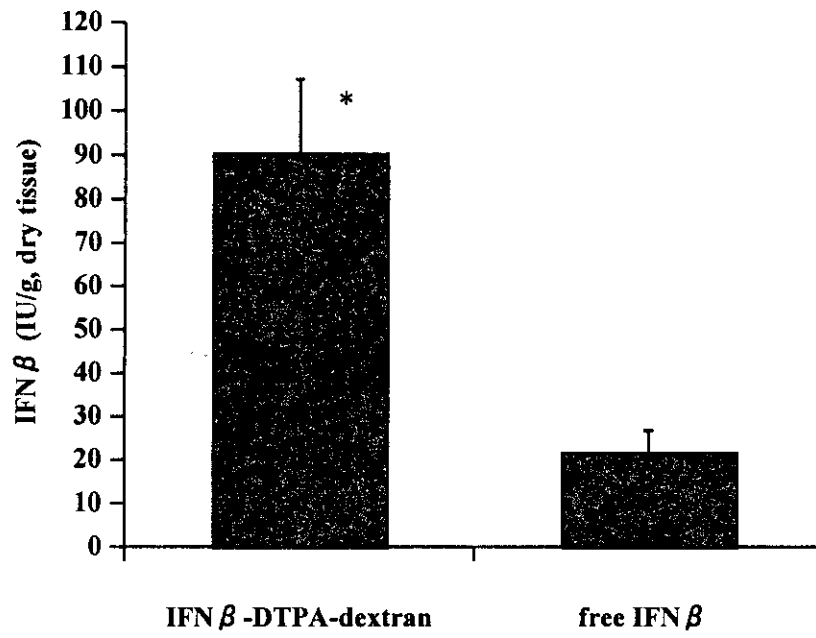
考按

脈絡膜新生血管は、窓構造を有する脈絡膜血管内皮細胞からなり、血管透過性は非常に亢進しており、その周囲組織に高分子物質が漏出しやすい構造をしている。また、リンパ系が発達していないため、漏出した物質はそこに集積しやすくなるというenhanced permeability and retention (EPR) 効果が期待できる (図5)。このことは、血管新生抑制剤TNP-470とポリビニルアルコールとの複合体を用いた研究でも報告している²。薬物を高分子修飾することにより、薬物の血中半減期を延長させたり、EPR効果による受動的ターゲティングを行うことができるが、薬物と高分子とを化学的に結合させる際に、薬物の薬理活性を失うことがある。特に生理活性を有するタンパク質と高分子の複合体化で、その生理活性を維持することは困難である。我々は、金属配位結合を介して生理活性タンパク質と高分子を、その活性を維持して結合させる方法を開発した^{3,4}。本研究ではIFN β をデキストランと亜鉛を介した配位結

合させることにより、IFN β を生理活性を有した状態で高分子修飾することができた。この複合体を、CNVを有する家兎に投与することにより、より効果的にCNV部位にIFN β を集積させることができ、複合体によりIFN β をCNVに受動的にターゲティングすることが可能であることが示された。この方法は、IFN β に限らず様々な生理活性を有するタンパク質に応用可能なシステムであり、今後CNVへの様々な血管新生抑制剤の受動的ターゲティングの可能性が期待できる。

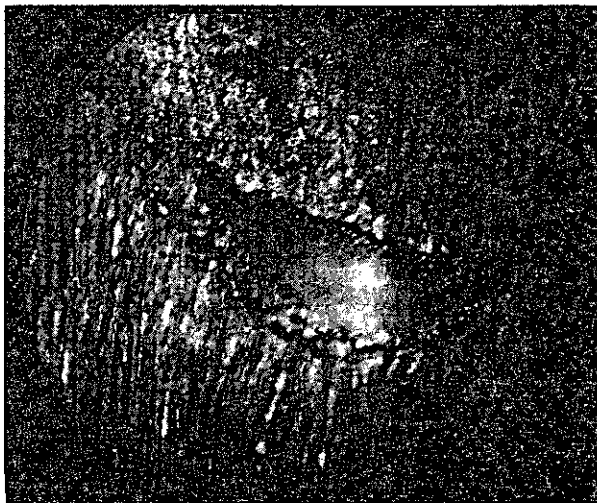
文献

1. Kimura H, Sakamoto T, Hinton DR, Spee C, Ogura Y, Tabata Y, Ikada Y, Ryan SJ: A new model of subretinal neovascularization in the rabbit. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1995; 36:2110-2119.
2. Yasukawa T, Kimura H, Tabata Y, Miyamoto H, Honda Y, Ikada Y, Ogura Y: Targeted delivery of anti-angiogenic agent TNP-470 using water-soluble polymer in the treatment of choroidal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1999; 40:2690-2696.
3. Tabata Y, Noda Y, Matsui Y, Ikada Y: Targeting of tumor necrosis factor to tumor by use of dextran and metal coordination. *J Control Release.* 1999; 59:187-196.
4. Tabata Y, Matsui Y, Uno K, Sokawa Y, Ikada Y: Simple mixing of IFN with a polysaccharide having high liver affinity enables IFN to target to the liver. *J Interferon Res.* 1999; 19:287-292.

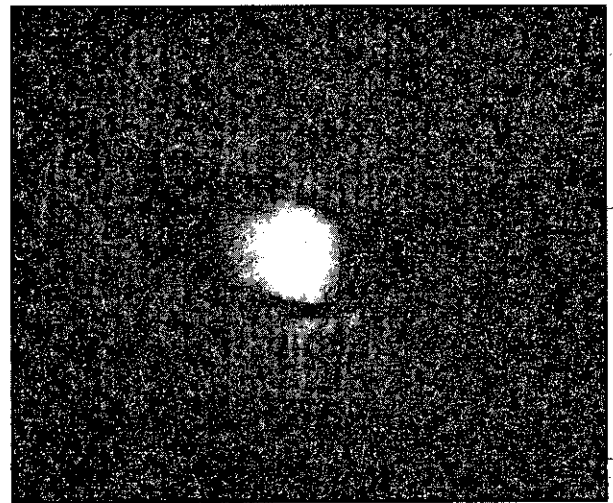


*P=0.0099

図1 CNV組織へのIFN β の集積効果

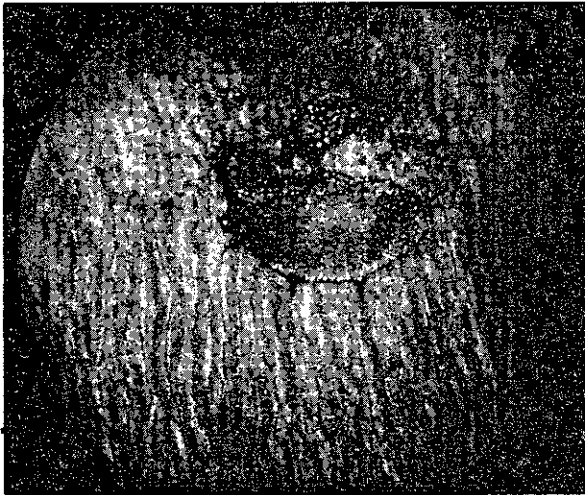


治療前



治療4週間後

図2 生食投与群における蛍光眼底造影写真



治療前



治療4週間後

図3 IFN β -DTPA-dextran (0.75MIU/kg/day、4週間)投与群における蛍光眼底造影写真

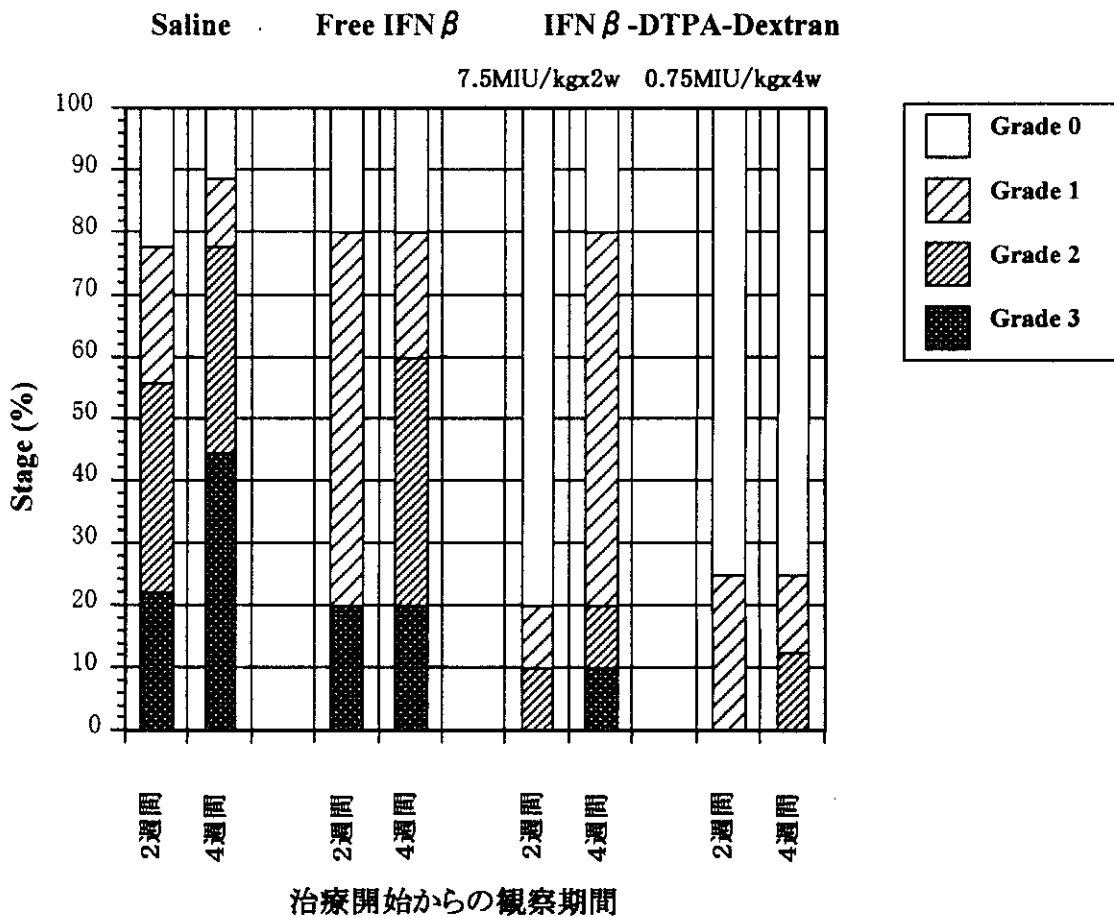


図4 脈絡膜新生血管に対する治療効果

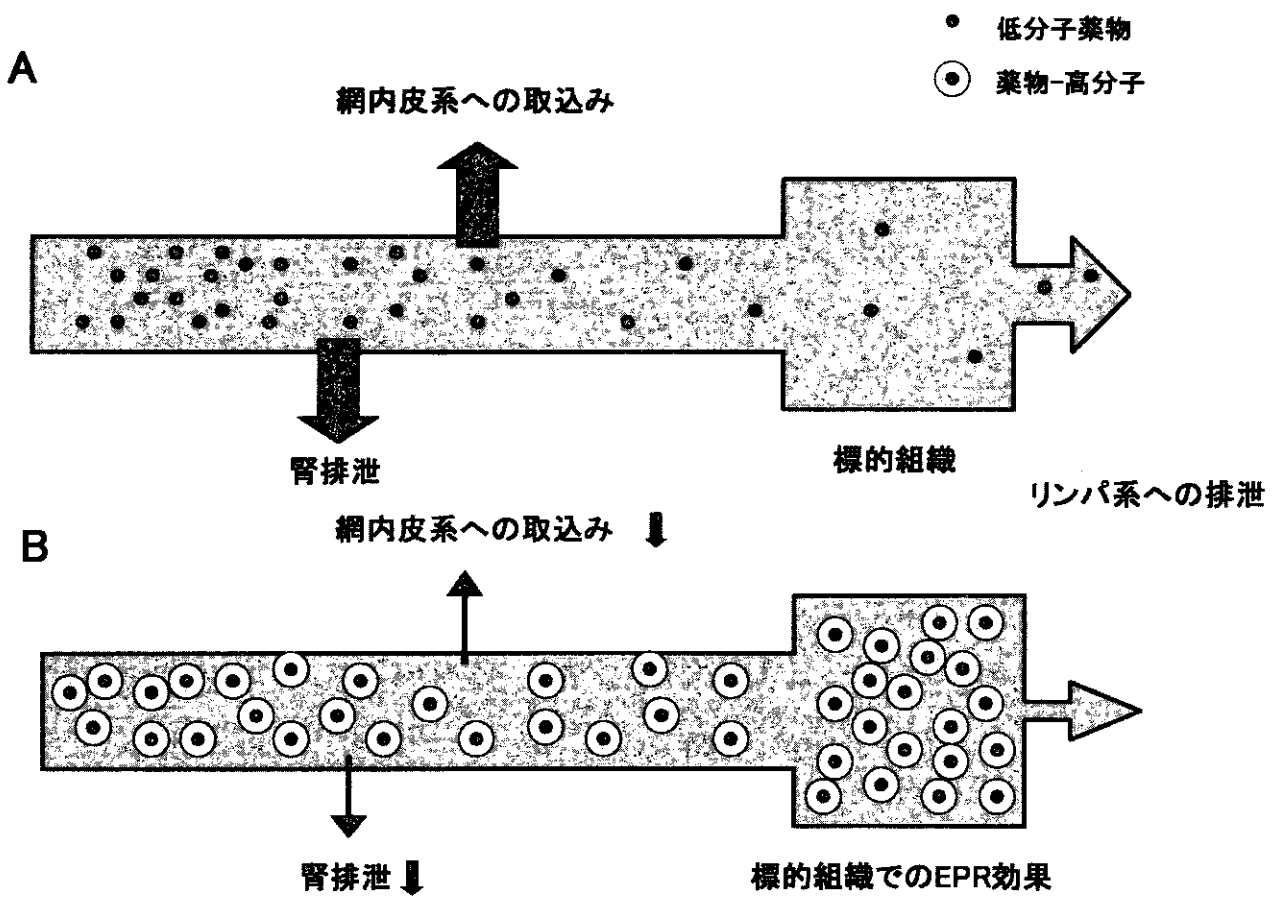


図5 薬物-高分子複合体の体内動態

脈絡膜新生血管に対する経瞳孔的温熱療法(TTT)

Transpupillary thermotherapy for choroidal neovascular membrane associated with age-related macular degeneration

臥雲郷子、立岩 尚、新井 純、黒岩さち子、吉村長久(信州大学眼科)

Satoko Gaun, Hisashi Tateiwa, Jun Arai, Sachiko Kuroiwa, Nagahisa Yoshimura

Department of Ophthalmology, Shinshu University School of Medicine

【抄録】

加齢黄斑変性(AMD)による中心窩下及び傍中心窩の脈絡膜新生血管(CNV) 8例8眼に対して810 nm半導体レーザーを用いてTTTを施行した。病変に応じて1.2 mm、2.0 mm、3.0 mmよりスポットサイズを選択し、パワー280~530mW(60~100%)で60秒間照射を行った。3ヶ月以上経過観察を行い、視力、蛍光眼底造影、光干渉断層計(OCT)を用いて効果を評価した。術後3ヶ月で2段階以上の視力改善または悪化を認めた症例はなかったが、術前にみられた滲出性変化は全例で改善がみられた。TTTを行った症例は滲出性変化が減少してCNVの活動性が低下しているものと思われたが、照射部の網膜の菲薄化と脈絡膜毛細血管板の閉塞がみられた。今後さらに症例数を重ねた上で日本人に対する最適な照射条件を確立していく必要があると思われた。

Transpupillary thermotherapy (TTT) was performed using Infrared (810nm) diode laser for 8 eyes with subfoveal or parafoveal choroidal neovascular membrane secondary to age related macular degeneration(AMD). Laser beam sizes were selected from 1.2, 2.0, and 3.0mm depending on the size of CNV, power settings ranged between 280-530mW(60~100%) and exposure time was 60 seconds. The effect of the treatment was evaluated by visual acuity, indocyanine green and fluorescein angiography, and optical coherence tomography(OCT) after the prognosis of 3 months or more. Although the visual acuity remained unchanged in all eyes, exudative changes improved in all eyes. The activity of the CNV decreased because of reduce of exudation after TTT. However, decreased thickness of retina and closing of choriocapillaris were observed in those parts treated with TTT. Further trials of TTT are needed to definite suitable laser power settings for Japanese patients with CNV secondary to AMD.

キーワード：経瞳孔的温熱療法(TTT)、脈絡膜新生血管(CNV)、加齢黄斑変性(AMD)、視力、滲出性変化

Key words : TTT, CNV, AMD, visual acuity, exudative change

緒言

温熱療法(thermotherapy)は以前より固形癌に対する治療法として用いられており、熱によって組織を45~60°Cに暖め癌細胞のみを死滅させるものである。経瞳孔的温熱療法(transpupillary thermotherapy; TTT)は脈絡膜悪性黒色腫に行われた¹⁾²⁾のが最初であるが、近年、加齢黄斑変性(AMD)によるoccult CNV³⁾⁴⁾や強度近視に伴うCNV、脈絡膜血管腫⁵⁾に有効であるとの報告がなされている。平成12年6月よりAMDによるCNVに対してTTTを開始したので、その短期経過を報告する。

対象および方法

対象はAMDによるCNVが中心窩下または傍中心窩に存在し、視力低下を来した症例8例8眼(男性6眼、女性2眼)で、1回の照射で3ヶ月以上経過観察できたもののみとした。年齢は66歳~82歳(平

均76.5歳)、術前視力は0.02~0.4であった。CNVの病型はtype1が5眼、type2が3眼で、経過観察期間は3~6ヶ月であった。

TTTは810nm半導体レーザーを用いて行い、スポットサイズを病変の大きさによって1.2mm, 2.0mm, 3.0mmより選択した上で、欧米人に対する照射条件³⁾の60~100%のパワーで60秒間照射を行った。術後3ヶ月以上経過観察を行い、視力、フルオレセイン及びインドシアニンプリーン蛍光眼底造影(FA及びIA)、光干渉断層計(OCT)にて効果を評価した。

結果

視力は2段階以上の改善、悪化を認めた症例はなく、8眼全てで不変であった。また、網膜浮腫、漿液性網膜剥離、色素上皮剥離などの滲出性変化は検眼鏡所見、蛍光眼底所見、OCT所見から全例で改善が認められた。術前後に造影検査を行うことができ

た7眼のうち術後1ヶ月のIAにて明確にCNVの閉塞が認められた症例は5眼であった。残り2眼は術前のIAにおいてCNVの描出が明瞭ではなかったため閉塞の確認は困難であった。

症例

73歳、男性。

現病歴：平成12年3月頃より左視力低下を自覚。

術前所見：視力LV(0.02)。type 1 CNV。

TTT：2.0mm、430mW(81%)、60秒。

6週後視力LV(0.02)。

図1(a~j)にて眼底、FA、IA、OCTを供覧。

考按

今回TTTを行った症例は約1ヶ月後より滲出性変化が減少し、CNVの活動性が減少しているものと考えられたが、照射部では網膜の菲薄化と脈絡膜毛細血管板の閉塞が認められた。今後さらに症例数を重ねた上で日本人に対する最適な照射条件を確立していく必要があると思われる。また、CNVの再発や視力予後については長期にわたる経過観察を行っていかなければならない。

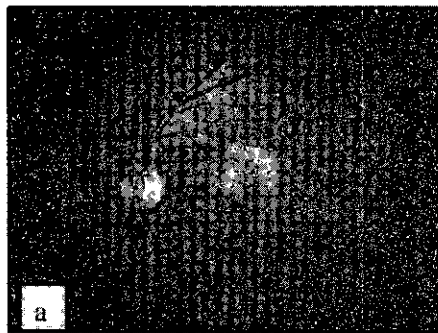
結語

TTTは中心窩下・傍中心窩のCNVに対する有効な治療法の1つになりうると考えられた。今後、日本人に対する照射条件を確立し、他の疾患への適応も検討していく必要があると思われる。

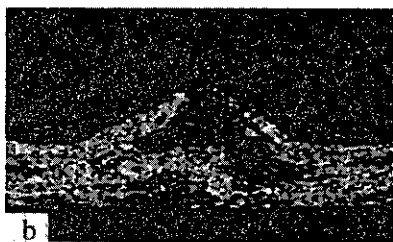
文献

- 1) Oosterhuis J, Journee-de Kover H, Kakebeek-kemme H, et al. Transpupillary thermotherapy in choroidal melanomas. Arch Ophthalmol 1995; 113: 315-21.
- 2) Shields C, Shields J, Cater J, et al. Transpupillary thermotherapy for choroidal melanomas. Tumor control and visual results in 100 consecutive cases. Ophthalmology 1998; 103: 2142-51.
- 3) Reichel E, Berrocal A, Ip M, et al. Transpupillary thermotherapy of occult subfoveal choroidal neovascularization in patients with age-related macular degeneration. Ophthalmology 1999; 106: 1908-14.
- 4) Newsom R S B, McAlister J C, Saeed M, et al. Transpupillary thermotherapy (TTT) for the treatment of choroidal neovascularization. Br J Ophthalmol 2001; 85: 173-78.
- 5) Garcia-Arumi J, Ramsay L S, Guraya B C. Transpupillary thermotherapy for circumscribed choroidal hemangiomas. Ophthalmology 2000; 107: 351-57.

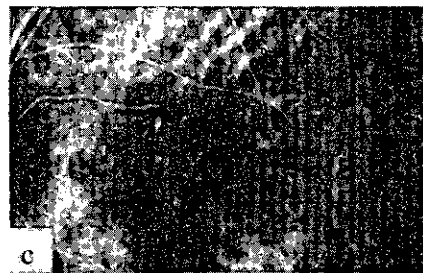
図1 (症例1)



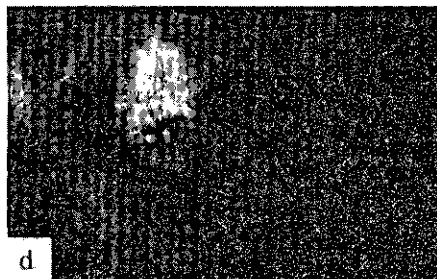
TTT前眼底：黄斑部に出血を伴った約1乳頭径のCNVを認めた。



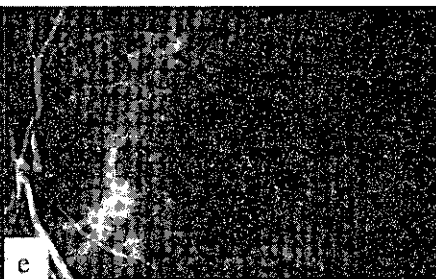
TTT前OCT：CNVによると思われる色素上皮の隆起と著明な網膜浮腫を認めた。



TTT前IA：過蛍光を示す約1乳頭径のCNVを認めた。



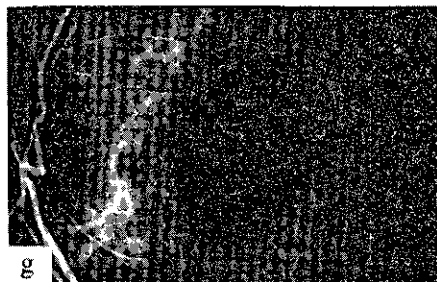
TTT前FA：後期像で著明なCMEを認めた。



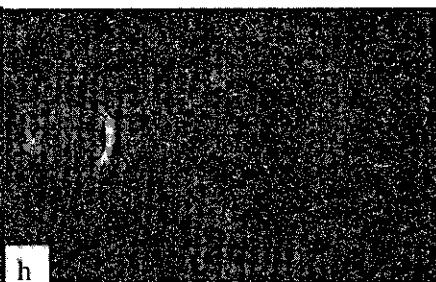
術後30分IA：照射部は低蛍光を示し、CNVによる過蛍光は描出されなかった。



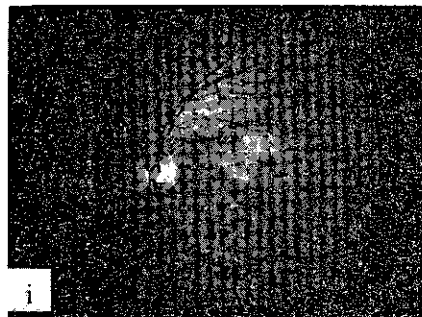
術後30分FA：照射部は低蛍光を示し、網膜血管からの色素の漏出を認めた。



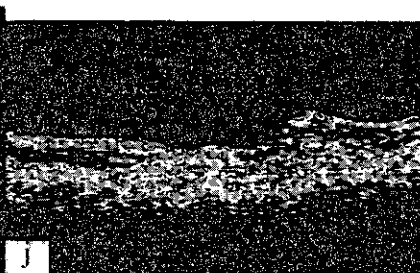
3週後IA：照射部の低蛍光とCNVによる過蛍光の消失がみられた。



3週後FA：後期像にてCMEの改善が認められた。



6週後眼底：網膜浮腫の改善がみられた。



6週後OCT：CNVの癒痕化、網膜浮腫の改善、網膜の非薄化が認められた。

網膜色素上皮のtight junctionに対するサイトカインの影響

Effect of cytokines against tight junction of retinal pigment epithelial cell

阿部俊明、玉井 信 (東北大学大学院感覚器病態学講座眼科学分野)

Toshiaki Abe and Makoto Tamai

Department of Ophthalmology, Tohoku University School of Medicine

【抄録】

目的：サイトカインが網膜色素上皮細胞(RPE)のtight junctionに与える影響を検討する。

方法：RPEはARPE19, 050496, D407株細胞を使用した。24穴プレートにインターセルを設置し培養した後、抵抗(TER)を測定した。培養液中にはIL-1 β , bFGF, TGF β -1, VEGFを添加し比較した。また、透過性を検討するためにSFとHRPを使用した。また上皮細胞間に発現するtight junctionに関与する遺伝子の発現をRT-PCRで調べた。

結果：ARPE19がもっとも強い抵抗を示した。ARPE19のTERはIL-1 β 添加で有意に低値を示した。SFとHRPの透過性はIL-1 β で有意にその他のものより上昇した。RT-PCRではARPE19にoccludin遺伝子が多く発現していた。

結論：IL-1 β はRPEのバリアーに影響を与える可能性があることが判明した。

Purpose: To examine the effect of cytokines against tight junction of retinal pigment epithelium (RPE).

Methods: We used ARPE19, 050496, and D407 cell lines. The cells were cultured on the 24 well intercells and the transepithelial electrical resistance (TER) was measured by Volt meter. The culture was performed with IL-1 β , bFGF, TGF β . We also performed permeability assay using sodium fluorescein, inulin, and HRP. The expression of the genes consisting the tight junction (occludin and claudin) were examined by RT-PCR.

Results: The TER of IL-1 β was gradually decreased. Also statistically significant permeability was observed in FA and HRP when cultured IL-1 β , if compared to those of other cytokines or vehicles. The gene expression of occludin was higher in ARPE19 when compared to those of 050496 or D407.

Conclusion: IL-1 β was suspected to affect the tight junction of the RPE.

キーワード：網膜色素上皮細胞、TER、バリアー、サイトカイン、IL-1 β

目的

網膜色素上皮(RPE)は血液網膜柵を構成する重要なバリアーの一つで、さまざまな病態でこのバリアーの破壊が知られている。RPEのバリアーの破壊は臨床的にはフルオレセイン蛍光造影 (FAG)やインドシアニグリーン蛍光造影 (ICG)を利用したりして確認することができる。種々のぶどう膜炎でRPEのバリアーの障害があることが良く知られている。また、欧米では成人失明原因の第1位にあげられる加齢黄斑変性が日本でも増加傾向にあり、本疾患の初期にもRPEのバリアー機能の障害がある症例が報告されている。ぶどう膜炎も加齢黄斑変性も病態形成にサイトカインが重要な役割をすることが知られている。こういったサイトカインが影響を及ぼすのかを検討することは、病態の解明に貢献するのみでなく、疾患特異的な治療法の開発に役立つ可能性もある。今回の研究目的はサイトカインがRPEのtight junctionに与える影響を検討する。

方法

培養RPEを利用した。培養したRPEはARPE19株細胞、050496RPE培養細胞、D407RPE培養細胞を使用した。いずれも上皮細胞であることや、ある程度のRPEの機能を維持していることは報告されている。培養方法は24穴培養プレートに透明型インターセルを設置し、インターセル内に約4X10⁴個の細胞を分注し培養した後、DMEM/F-12培地に10%牛血清を使用し、37°C、5%CO₂の条件で行った。培地は3日ごとに交換した。RPEの抵抗transepithelial electrical resistance (TER)は上皮用ボルト、オーム計で経時的に測定した。培養液中にはIL-1 β 、bFGF、TGF β -1、VEGFをそれぞれ10ng/mlあるいは1ng/ml使用し、10%血清あるいは無血清で培養したものも含めて比較した。インターセルで培養したRPEは電顕で細胞の状態を確認した。また、バリアーの透過性の検討するためにsodium fluorescein (SF)、inulinとhorse radish peroxidase (HRP)を培地中に添加して透過率を測定した。サイトカインの細胞増殖に与える影響はMTS assayで測定した。さらにoc

cludinやclaudinといった上皮細胞間に発現するtight junctionに關与する遺伝子の発現をRT-PCRで調べた。

結果

インターセルで培養したRPEは通常のプレートで培養するよりも細胞がより立体的でかつ細胞表面に微絨毛様の突起物がたくさん見られた。ARPE19, 050496, D407RPE細胞のTERはいずれもほぼconfluentの状態と考えられるにもかかわらずARPE19で有意に他RPE細胞よりも高いTER値を示した。Tight junctionに発現するoccludinとclaudin遺伝子の発現をRT-PCRで調べると050496やD407はoccludinやclaudin1遺伝子の発現が減少していた。細胞増殖は血清を添加したもの以外に有意差はみられなかった。ARPE19のTERに対する影響を10%血清、無血清あるいはそれぞれのサイトカインの影響を検討するとbFGFを添加したものが有意に他のものより抵抗が上昇した(図)。長期間培養するとIL-1 β とTGF β -1は無血清よりも低い抵抗を示した。デキサメサゾンはTERに有意な影響を与えなかった。SFとHRPの透過性はIL-1 β で有意にその他のものより上昇した。InulinはIL-1 β 培養で透過性が上昇する傾向を示したが、有意差はなかった。

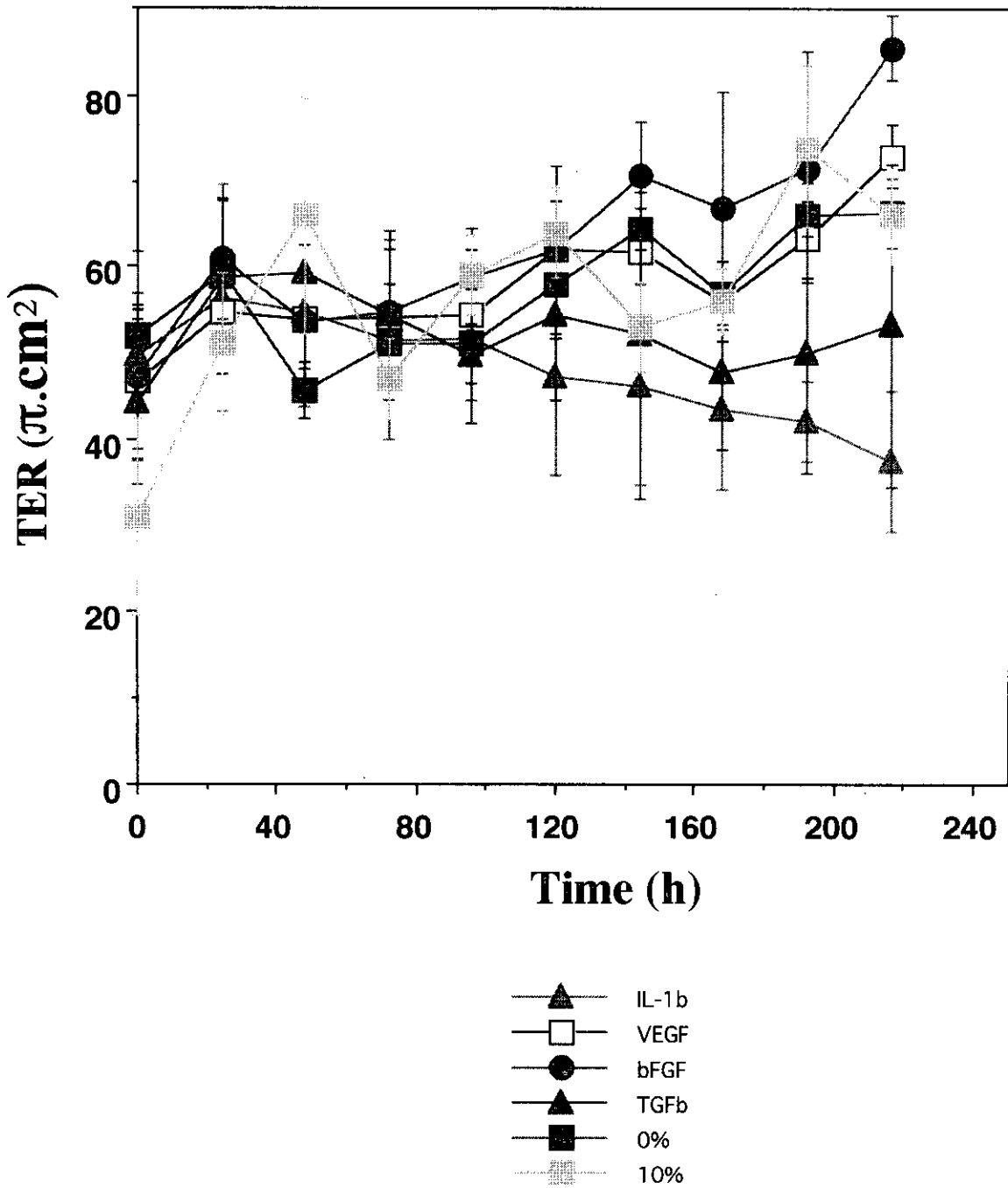
結論

我々はこれまでに、加齢黄斑変性、糖尿病網膜症、増殖硝子体網膜症など眼内増殖疾患の増殖膜には多数のサイトカインが発現していることを報告してきた。これらのサイトカインは非特異的に発現しているものもあるが、病態特異的に発現しているものも多数報告されてきた。いずれの病態も初期の時期

にバリアー機能の破壊があることは容易に推測される。今回はRPEのバリアーに關するサイトカインの影響を検討したが、今回検討したすべてのサイトカインはバリアーに対してそれぞれ違う反応を示した。IL-1 β は眼内炎症に關与すると考えられる重要な因子であり、TGF β -1はRPEなどの細胞増殖制御や加齢黄斑変性、糖尿病網膜症、免疫機能制御に關与する重要な因子であるが、RPEの抵抗にも影響を与え可能性があることが判明した。

文献

- (1) Dunn KC, Aotaki-Keen AE, Putkey FR, Hjelmeland LM. Related Articles ARPE-19, a human retinal pigment epithelial cell line with differentiated properties. *Exp Eye Res.* 62:155-69,1996.
- (2) Abe T, Sato M, Tamai M. Differentiation of the retinal pigment epithelium compared to the proliferative membranes of proliferative vitreoretinopathy. *Curr Eye Res.* 17:1103-1109, 1998.
- (3) Davis AA, Bernstein PS, Bok D, Turner J, Nachtigal M, Hunt RC. A human retinal pigment epithelial cell line that retains epithelial characteristics after prolonged culture. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 36:955-64, 1995.
- (4) Chang CW, Ye L, Defoe DM, Caldwell RB. Serum inhibits tight junction formation in cultured pigment epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1997 38:1082-1093.



網膜色素上皮細胞の各種サイトカインに対する抵抗の変化縦軸にtransepithelial electrical resistance (TER)を、横軸に測定開始からの時間を示した。

Fibrinogenによるウシ脈絡膜血管内皮細胞のin vitro血管新生促進

Fibrinogen stimulates tube formation and vascular endothelial growth factor expression by bovine choroidal capillary endothelial cells

塩瀬聡美 武田篤信 畑快右 石橋達朗 (九州大学大学院医学研究院眼科学)

S Shiose, A Takeda, Y Hata, T Ishibashi

Department of Ophthalmology, Faculty of Medicine, Kyushu University, Fukuoka, Japan.

【抄録】

目的：Fibrinogenの培養ウシ脈絡膜血管内皮細胞(BCEC)によるin vitro血管新生に対する効果の検討

方法：BCECを分離培養し、Fibrinogenを含むコラーゲンゲルとコラーゲンのみのゲルに播き、3日後にBCECによるチューブ形成の長さをmacscope analyserで測定した。Fibrinogen刺激下でBCECを培養し、そのRNAを採取し、northern blot analysisで、VEGFmRNAの発現を調べた。さらに、このBCECによるin vitro血管新生に対する抗VEGF抗体やKDRリン酸化阻害薬(SU5416)の作用も検討した。

結果：Fibrinogenを含むゲルではcontrolゲルに比べて、濃度依存性にtube長の延長がみられた。BCECによるVEGFmRNAの発現は、fibrinogenの刺激によって濃度依存性に促進された。Fibrinogenによるtube形成促進効果は、抗VEGF抗体やSU5416で有意に抑制された。

結論：透過性亢進により血管外漏出したfibrinogenは内皮細胞からのVEGFの発現を亢進しそのオートクライン作用による内皮細胞の増殖を介して、AMDの脈絡膜血管新生に関与していると考えられた。またVEGFとその受容体システムの阻害は、AMDに対する薬物療法として注目される。

Purpose: Fibrinogen (fg) is one of the serum protein that is known to extravasate and deposit around the choroidal vessels of age-related macular degeneration. We investigated the effect of fg on in vitro tube formation and vascular endothelial growth factor (VEGF) gene expression by cultured bovine choroidal capillary endothelial cells (BCECs). Methods: Collagen gel containing fg was prepared in 24-well plate. BCECs were seeded on each gel and cultured for 3 days. Total length of the tubular structure was measured using macscope analyser. The effect of fg on VEGF gene expression by BCECs was analyzed by northern blotting. On in vitro tube formation assay, we added anti-VEGF antibody or SU5416 in the supernatant of the gels. Results: Formation of tubular structure was enhanced in fg containing gel in a dose dependent manner as compared with that without fg. Fg significantly increased VEGF gene expression by BCECs. Anti-VEGF antibody and SU5416 suppressed the stimulation of fg on in vitro tube formation of BCECs. Conclusion: These data indicates that extravasated fg plays an important role in the progression of angiogenesis in age-related macular degeneration in part through the function of VEGF in autocrine manner.

キーワード：フィブリノーゲン、血管新生、加齢黄斑変性、脈絡膜血管内皮細胞、チューブ形成、血管内皮増殖因子

Key words: fibrinogen, angiogenesis, age-related macular degeneration, choroidal capillary endothelial cell, tube formation, vascular endothelial growth factor

緒言

加齢黄斑変性は老人の視力低下の原因の1位をしめ、その視力悪化の主因は脈絡膜新生血管の発生であるが、その発生、増殖のメカニズムの詳細はあきらかにされていない。

フィブリノーゲンは分子量34000程度の血漿蛋白で、血管外に出るとフィブリンに変化し血液凝固に関与する。このフィブリノーゲンが血管新生を促進するとの報告1, 2, 3や、加齢黄斑変性(AMD)患者で血中濃度の上昇4、AMD眼の浸出性変化の部位に組織学

的に透過性亢進によるfibrinogen (fibrin)の沈着がみられる5, 6, 7との報告がある。

これらのことから、フィブリノーゲンがAMDの新生血管発生に関与していると考えられたので、培養ウシ脈絡膜血管内皮細胞(BCEC)を用いて検討した。

方法

細胞培養：ウシ脈絡膜血管内皮細胞(BCEC)を分離し、10%ウシ胎児血清を含むDMEMで培養した。

チューブ形成：Fibrinogenを0.5, 1, 1.5 mg/ml

含むコラーゲンゲルと、コラーゲンのみのゲルを作成し、24ウェルプレートに注いだ。30分インキュベーターで固めた後、BCECを各々のゲルに 2×10^5 個ずつ播種した。その3日後にBCECによるチューブ形成を位相差顕微鏡で観察し、その長さをmacscope analyserで測定した。さらにこのin vitro血管新生に対する抗VEGF抗体やKDRリン酸化阻害薬(SU5416)の作用も検討した。コントロールゲルと1mg/mlのfgを含むコラーゲンゲルを用意しBCEC播種と同時に、抗VEGF抗体0.5, 1(g/ml)やSU5416 1, 3(g/ml)を培養上清に加えた。

Northern blot analysis: BCECを9cmディッシュに播き0, 0.5, 1 mg/mlのfibrinogenを培養上清に加え16時間培養した。その後全RNAを採取し、northern blot analysisでVEGFmRNAの発現を調べた。

検定: student's-t testを用いた。

結果

BCEC播種後2日目にはすべてのゲル内にtube形成がみられた。3日目にはfibrinogen(0.5, 1, 1.5mg/ml)を含むゲルではcontrolゲルに比べて、濃度依存性にtube長の延長がみられた(各濃度、コントロールゲルと比較して $P < 0.01$)。このゲルの切片をヘマトキシリンエオジン染色したところ、1層のBCECに連続する管腔の形成が確認できた。Fibrinogenによるこのチューブ形成促進効果は、non immune IgG(1g/ml)によって影響を受けなかったが、抗VEGF抗体を加えると0.5(g/ml)ですでに強いチューブ形成抑制効果がみられた。SU5416ではその濃度依存性に有意にチューブ形成が抑制された($p < 0.01$)。また、BCECによるVEGFmRNAの発現は、fibrinogen(0.5mg/ml, 1mg/ml)の刺激によって濃度依存性に促進された。

結論

Fibrinogenは、BCECのVEGF産生促進を介して、BCECのチューブ形成を促進していると考えられた。AMDの脈絡膜新生血管形成は、網膜色素上皮細胞、マクロファージ、グリア細胞などによる局所のVEGF濃度の上昇によっておこるとされている。ここでそのVEGF上昇によって同時に局所の透過性亢進がおこりfibrinogenが血管外漏出する。するとその刺激で内皮細胞からのVEGFの発現が亢進しそのオートクライン作用による内皮細胞の増殖がおこる、といった悪循環を介して、さらなる血管新生が進行していくと考えられた。

VEGFとその受容体システムの阻害は、AMDに対する薬物療法としての可能性をもつとして、注目されるであろう。

引用文献

1. HF Dvorak, VS Harvey, P Estrella, LF Brown, J Macdonagh, AM Dvorak. Fibrin containing gels induce angiogenesis. *Lab Invest*, 1987; 57: 673-686
2. RF Nicosia, A Ottinetti. Growth of microvessels in serum-free matrix culture of rat aorta. *Lab Invest*, 1990; 115: 115-122
3. JV Olander, ME Bremer, JC Marasa J Feder. Fibrin-enhanced endothelial cell organization. *J. Cell Physiol*, 1985; 125: 1-9
4. W Smith, P Mitchell, SR Leeder, JJ Wang. Plasma fibrinogen levels, other cardiovascular risk factors, and age-related maculopathy. *Arch Ophthalmol*, 1998; 116: 583-587
4. PF Lopez, BD sippy, HE Grossniklaus, HM Lambert, et al. Pathologic features of surgically excised subretinal neovascular membranes in age-related macular degeneration. *AJP*, 1991; 112: 647-656
6. TL Schaft, CM Mooy, WC de Bruijn, PTVM de Jong. Early stages of age-related macular degeneration: an immunofluorescence and electron microscopy study. *BJO*, 1993; 77: 657-661
7. BA Lafaut, KU Bartz-Schmidt, CV Broecke, S Aisenbrey, JJ De Laey, K Heimann. Clinicopathological correlation in exudative age related macular degeneration: histological differentiation between classic and occult choroidal neovascularisation. *BJO*, 2000; 84: 239-243

2000630

以降P.111-119は雑誌に掲載された論文となりますので、
下記の資料をご参照ください。

**Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma ligands inhibit
choroidal neovascularization.**

Murata T, He S, Hangai M, Ishibashi T, Xi XP, Kim S, Hsueh WA, Ryan SJ,
Law RE, Hinton DR.

Invest Ophthalmol Vis Sci. 2000 Jul;41(8):2309-17.

網膜前膜により牽引性網膜剥離に至った網膜色素変性症の一例

A case of retinitis pigmentosa with traction retinal detachment due to epiretinal membrane

鈴木幸彦、三上尚子、中沢 満¹、桜庭知己²、中村秀世³

弘前大学医学部眼科学教室¹ 青森県立中央病院眼科² 中村眼科クリニック³

Yukihiko Suzuki, Naoko Mikami, Mitsuru Nakazawa¹, Tomoki Sakuraba², Hideyo Nakamura³

Department of Ophthalmology, Hirosaki University School of Medicine¹

Department of Ophthalmology, Aomori Prefectural Central Hospital²

Nakamura Ophthalmic Clinic³

【要約】

嚢胞様黄斑浮腫を伴う網膜色素変性症の経過観察中、網膜前膜が周辺部まで拡大し、牽引性網膜剥離を生じた1例を経験した。症例は50歳、男性。初診時視力は右(0.6)、左(0.15)であった。両眼に周辺網膜の色素脱失と色素沈着があり、左黄斑部には網膜前膜と黄斑浮腫が見られた。アセタゾラミド内服で経過観察中、徐々に網膜前膜が拡大し周辺部に及ぶ牽引性網膜剥離が生じ、増殖硝子体網膜症となり、視力は眼前手動(矯正不能)まで低下した。白内障硝子体同時手術手術を行い、網膜前膜は周辺部まで剥離し、20%SF6ガスタンポナーデと輪状締結を併用し、網膜の復位を得た。術後2ヵ月目に、最高視力(0.1)を得たが、術後4ヵ月目に網膜前膜の再発が見られ、術後7ヵ月目に牽引性網膜剥離が再発した。手術の希望がなく現在、網膜は全剥離となった。本症例は、網膜色素変性症の中でも、特異な増殖性変化により増殖硝子体網膜症にまで至った稀な症例であるが、早期に手術を行えば、より良い結果が得られたかもしれない。

A 50-year-old male presented a traction retinal detachment with epiretinal membranes spreading to the peripheral retina while he was observed as one of the cases of retinitis pigmentosa with cystoid macular edema. The corrected visual acuities were 0.6 in the right eye and 0.15 in the left eye. Peripheral retinal depigmentation and pigmentation were pointed out in both his eyes and preretinal membranes with a cystoid macular edema in the left eye. While he was medicated with acetazolamide, the epiretinal membranes gradually spread to the periphery and a traction retinal detachment appeared to be proliferative vitreoretinopathy. Preoperative visual acuity of the left eye was not corrected over hand motion. The retina was reattached after a combined cataract surgery and vitrectomy accompanied by peeling of the preretinal membranes, gas tamponade with a surfur hexafluoride-air mixture and an encircling. Best corrected visual acuity was 0.1 two months after the operation, but preretinal membranes not only recurred four months, but also a traction retinal detachment seven months after the surgery. Now a total retinal detachment presents because of no hope for further operation. Though this case may be considered rare case because of the peculiar proliferative changes to become a proliferative vitreoretinopathy among in the cases of retinitis pigmentosa, but it will be curable if a combined cataract surgery and vitrectomy were performed before a progressive stage like this case.

キーワード：網膜色素変性症、嚢胞様黄斑浮腫、網膜前膜、硝子体手術、牽引性網膜剥離、増殖硝子体網膜症

Key words: retinitis pigmentosa, cystoid macular edema, epiretinal membrane, vitrectomy, traction retinal detachment, proliferative vitreoretinopathy

緒言

網膜色素変性症の中には、嚢胞様黄斑浮腫を伴い視力低下を来す症例(1-3)が存在し、炭酸脱水酵素阻害剤の内服治療が効果的であるとの報告(4)がある。

しかし、網膜前膜による牽引性網膜剥離や増殖硝子体網膜症の合併はほとんど見られない。

今回、網膜色素変性症に伴う嚢胞様黄斑浮腫の経過観察中に、網膜前膜が周辺部まで拡大し、牽引性

網膜剥離を生じ、増殖硝子体網膜症に至った症例を経験したので報告する。

症例

50歳、男性。

1998年11月、左飛蚊症および変視症のため前医を受診し、網膜色素変性症に伴う左嚢胞様黄斑浮腫と診断された。経過観察中に、さらに左視力が低下し

たため、1999年5月14日、当科を紹介された。

既往歴に高血圧があり、内服治療中であった。網膜色素変性症の家族歴はなかった。

初診時、視力は右0.6 (0.9×S.+0.5D C.-0.5D Ax.180°)、左0.15 (矯正不能) で、眼圧は右12、左11 (mmHg) であった。角膜は両眼とも透明で、前房は右眼は透明、左眼に少量の細胞が見られた。水晶体は透明であったが、前部硝子体には右眼に微量の、左眼に比較的多量の細胞成分が見られた。両眼底には周辺部網膜の色素脱失と骨小体様の色素沈着があり、網膜色素変性症を呈していた。さらに、左黄斑部には網膜前膜と嚢胞様黄斑浮腫が見られた (図1a、1b)。

左黄斑浮腫の軽減を期待して、アセタゾラミド250mg/日の内服治療により、経過観察を行ったが、左視力が0.07 (矯正不能) まで低下し、また、同年8月13日の蛍光眼底写真においても、左眼のみに著明な嚢胞様黄斑浮腫が見られたため (図2a、2b)、アセタゾラミド内服を500mg/日まで増量した。

さらに、2000年3月17日には網膜前膜が周辺部まで拡大し、鼻下側には牽引性網膜剥離が見られるようになり手術治療へと方針が変更された。

同年3月22日の入院時の視力は、右0.6 (0.9×S.-0.75D C.-0.25D Ax.160°)、左眼前手動弁 (矯正不能) で、眼圧は右12、左11 (mmHg) であった。右眼の様態は現在まで変化ないため、以下は左眼についてのみ述べる。

左眼の網膜には、血管アーケードを超えて周辺まで増殖膜があり、それによる牽引性網膜剥離が生じ、増殖硝子体網膜症の状態であった。黄斑部にも網膜剥離が及んでいた (図3)。

同年3月29日、白内障硝子体同時手術による網膜の復位を試みた。

術式は、まず、超音波水晶体手術を行い、ついで硝子体手術に移り、後極部から網膜前膜を剥離しながら後部硝子体剥離を作成し、強膜圧迫による周辺部の硝子体を十分に切除した。増殖膜は網膜と強固に癒着していたが、慎重に剥離した結果、医原性裂孔は生じなかった。しかし、網膜下液が広範囲にあり、網膜自体が浮腫状であり、早期に網膜を復位させるため、意図的裂孔を作成し、液空気置換を行った。着色眼内レンズ (HOYA社製) を嚢内固定し、2.5mm幅のシリコンバンドで輪状締結し、硝子体腔内を20%SF6で置換して手術を終了した。なお、網膜機能を保護する目的で、顕微鏡照明は475nm以下の波長の光を除去した黄色光を用い、また、光量も通常より抑えて手術を行った。

術中に摘出した増殖膜は、部分的にリンパ球の浸潤を伴う線維性の膜組織と考えられる組織像を呈していた (図4)。

術後、網膜前膜はなくなり、牽引性網膜剥離は消退し、嚢胞様黄斑浮腫はほとんど見られなくなった (図5)。術後約2カ月目には、最高視力 0.08 (0.1×S.-1.0 C.-3.0D Ax.100°) が得られた。左眼の前部硝子体腔の細胞浮遊は持続した。

しかし、術後約4カ月目に、網膜前膜の再発が観察されるようになり、視力は0.04~0.06 (矯正不能) で経過していた。さらに、上方と下方の周辺部網膜に網膜前膜の牽引によると見られる網膜皺襞が生じ、術後約7カ月目に牽引性網膜剥離が再発した (図6)。再手術を勧めたが、手術治療の希望がなく、現在、網膜がほぼ全剥離の状態になり、外来で経過観察中である。

考按

網膜色素変性症のうち、黄斑浮腫のために視力低下を来す例は少なくない¹⁻³⁾。嚢胞様黄斑浮腫を生じる機序として、Schepensら⁵⁾は硝子体の牽引によるとし、一方で、Heckenlivelyら²⁾は網膜色素変性症患者が網膜に対する抗体を有しているためであろうとしているが、十分に明らかにはされていない。

また、網膜色素変性症に伴う嚢胞様黄斑浮腫に対する治療としては、これまで硝子体手術が試みられることはほとんどなく、実際には炭酸脱水酵素阻害剤の内服による軽快に期待して経過観察が行われているというのが現状である。

本症例のように、嚢胞様黄斑浮腫のみならず網膜前膜も伴う症例では、後部硝子体剥離が完成しない状態で黄斑部が硝子体により牽引された結果として嚢胞様黄斑浮腫を生じていると推測される。そのため、硝子体牽引を解除することのできる硝子体手術に期待が持たれるが、網膜色素変性症であることの特異性から積極的に手術に踏み切れないのも事実である。

左右差のある網膜色素変性症の中には、網膜前膜によるものは3%前後存在するとされていて、通常の網膜ではそれほど支障を来さない程度の病変でも、網膜色素変性症では視力低下が起こりやすいという報告⁶⁾もある。

本症例では、網膜前膜の除去と網膜の復位を目的に、白内障硝子体同時手術を行った結果、一時、視力が (0.1) まで改善し、黄斑浮腫も軽減した。このことから、網膜色素変性症の嚢胞様黄斑浮腫も硝子体切除により治療可能である可能性が示唆された。

しかし、本症例の場合は、通常予想される以上に、増殖性変化が急速に進行し、周辺部まで牽引性網膜剥離が及んだ症例であり、すでに極めて重篤な病態を呈していた。また、白内障硝子体同時手術により、増殖膜は周辺部まで除去でき、術後数ヶ月間は経過が良かったが、増殖膜と牽引性網膜剥離の再発を生

じるといふ、手術治療に抵抗する難治な症例であったと思われる。

この増殖性変化の原因は明らかでないが、初診時から術後に網膜前膜が再発する過程を通して、左眼の前房および前部硝子体腔に細胞成分が持続して見られ、網膜色素変性症による血液網膜関門の破綻以外に、ブドウ膜炎などの何らかの炎症性疾患の存在も否定はできない。

これほど進行性の症例は稀と思われるが、今後、同様の症例に対しては、よりよい視機能を保持できるように、早期に硝子体手術を考慮する必要があるかもしれない。

文献

- 1) Fishman GA, Fishman M, Maggiano J: Foveal lesions seen in retinitis pigmentosa. *Arh Ophthalmol* 95:1993-1996, 1977.
- 2) Heckenlively JR, Jordan BL, Aptsiauri N: Association of antiretinal antibodies and cystoid macular edema in patients with retinitis pigmentosa. *Am J Ophthalmol* 127:565-573, 1999.
- 3) Hirakawa H, Iijima H, Gohdo T, Tsukahara S: Optical coherence tomography of cystoid macular edema associated with retinitis pigmentosa. *Am J Ophthalmol* 128:185-191, 1999.
- 4) Fishman GA, Gilbert LD, Fiscella RG, et al.: Acetazolamide for treatment of chronic macular edema in retinitis pigmentosa. *Arch Ophthalmol* 107:1445- 1452, 1989.
- 5) Schepens CL, Avila MP, Jalkh AE, Trempe CL: Role of the vitreous in cystoid macular edema. *Surv Ophthalmol* 28:499-504, 1984.
- 6) 高橋政代、平尾恭彦、木村忠貴、本田孔士、木村英也: 左右差のある網膜色素変性 —後天的要素について—。網膜脈絡膜・視神経萎縮調査研究班 平成11年度研究報告書 32-34, 2000.

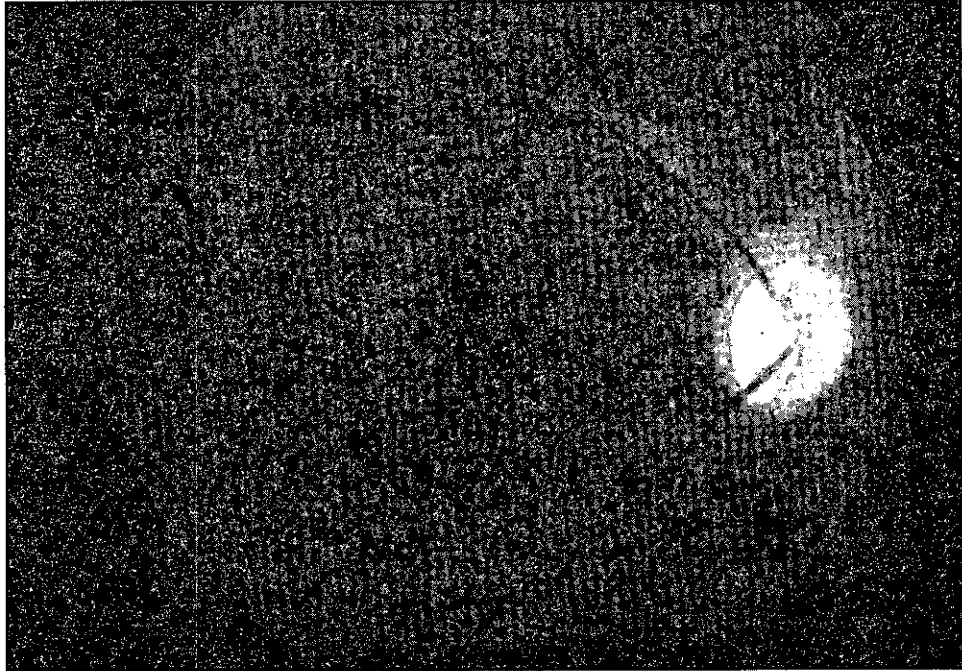


図 1 a : 初診時の右眼底写真 (1999年5月14日)
血管アーケードより周辺部の網膜に色素の脱失が見られる。

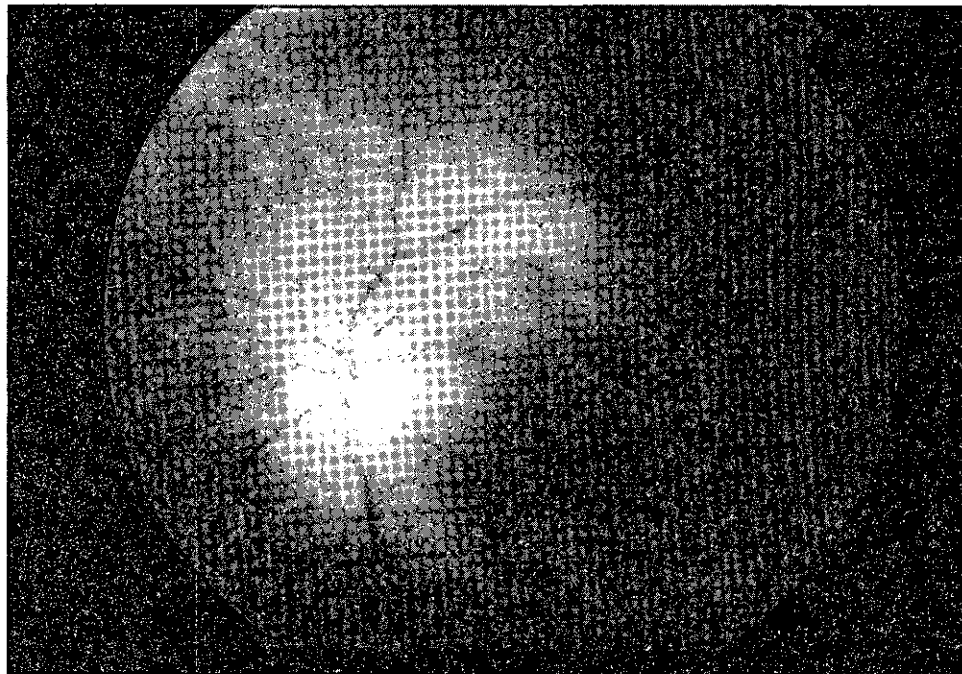


図 1 b : 初診時の左眼底写真 (1999年5月14日)
黄斑浮腫のほか、黄斑部から上方にかけて網膜前膜が見られる。

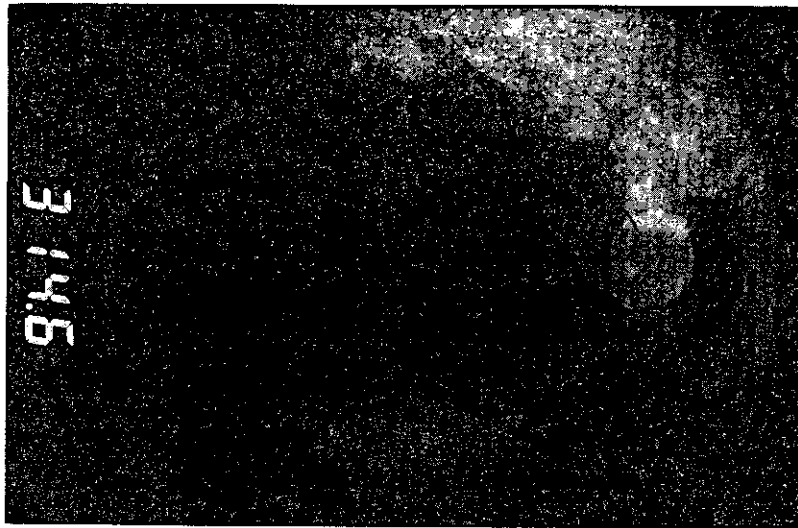


図 2 a : 初診より3カ月後の右蛍光眼底写真 (1999年8月13日)
血管アーケードより周辺部の網膜に、顆粒状に過蛍光と低
蛍光が散在する所見があるが、黄斑浮腫は見られない。

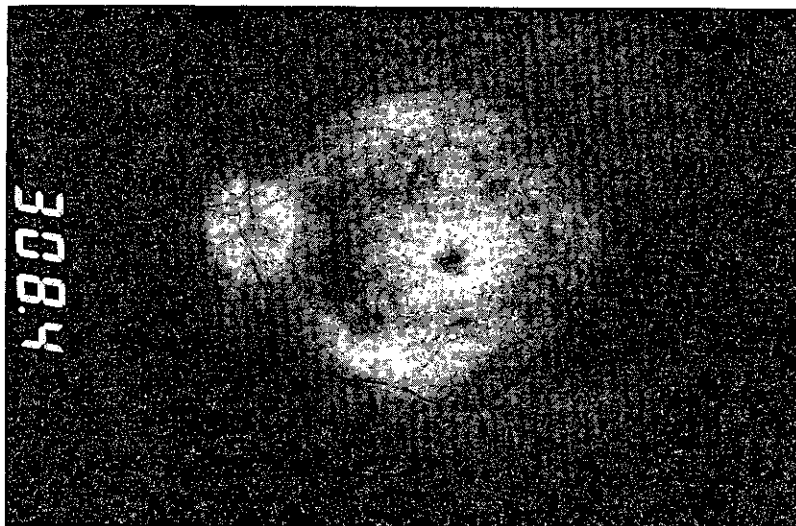


図 2 b : 初診より3カ月後の左蛍光眼底写真 (1999年8月13日)
著明な嚢胞様黄斑浮腫が見られる。

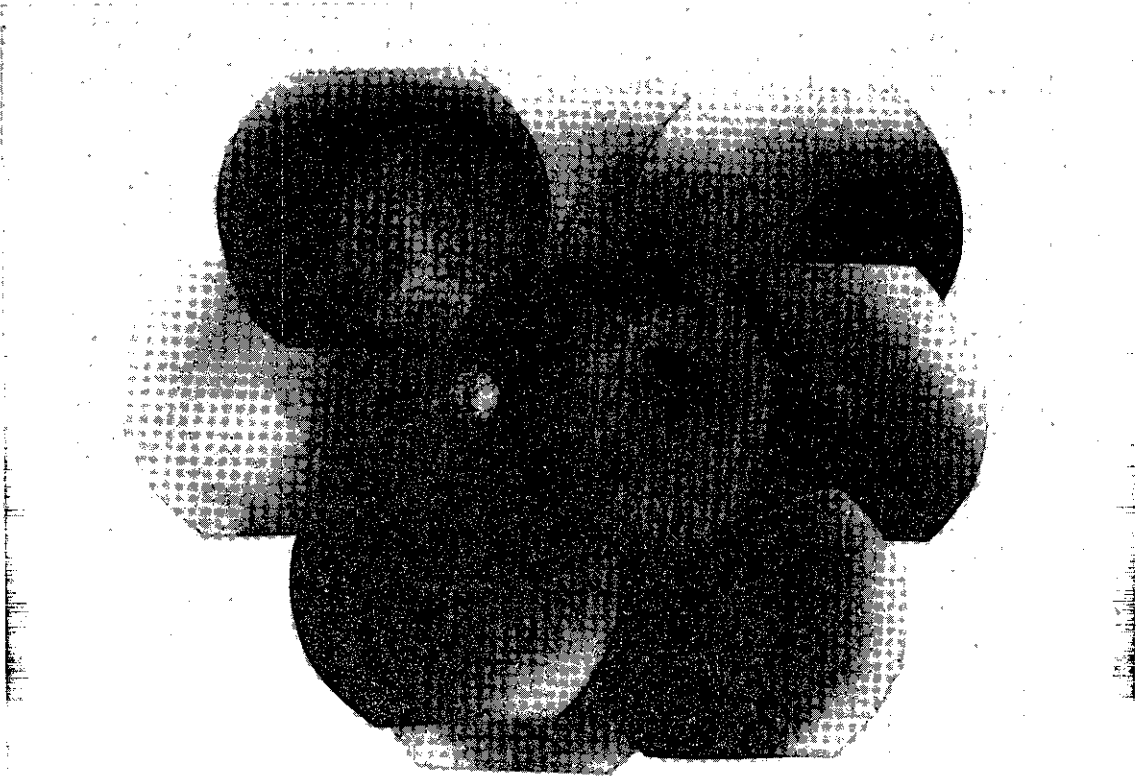


図3：術前の左眼底写真（2000年3月22日）
血管アーケードを超えて周辺まで増殖膜があり、それにより牽引性網膜剥離が生じ、増殖硝子体網膜症の状態である。黄斑部にも網膜剥離が及んでいる。

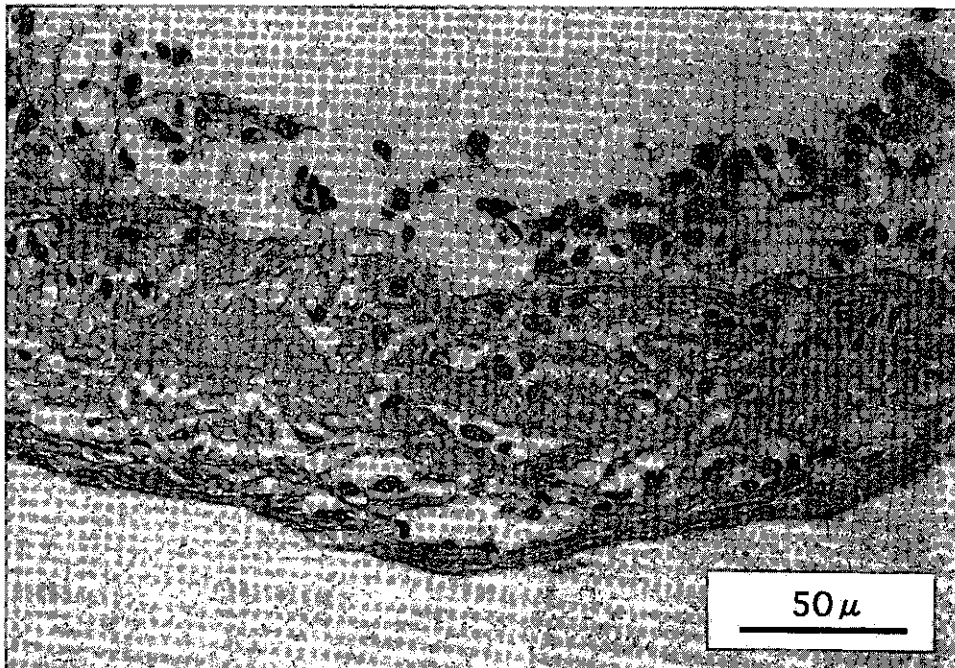


図4：術中に摘出された網膜前膜の光学顕微鏡所見（2000年3月29日）
部分的にリンパ球の浸潤を伴う線維性の膜組織が観察される。

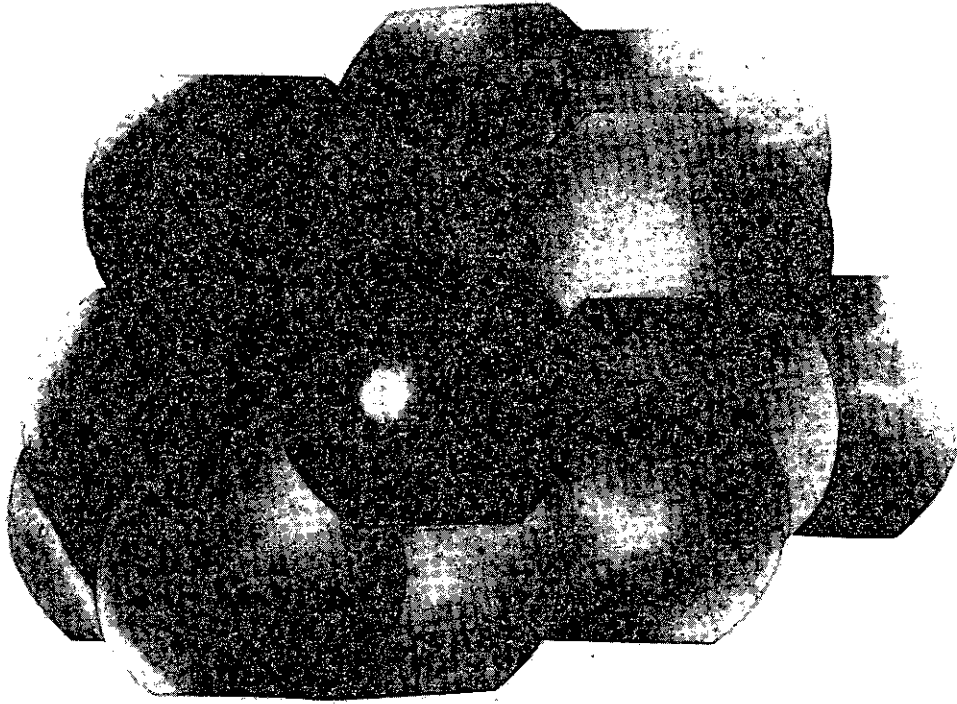


図5：術後約3カ月の左眼底写真（2000年6月19日）
網膜前膜と牽引性網膜剥離は消退し、黄斑浮腫はほとんど見られない。

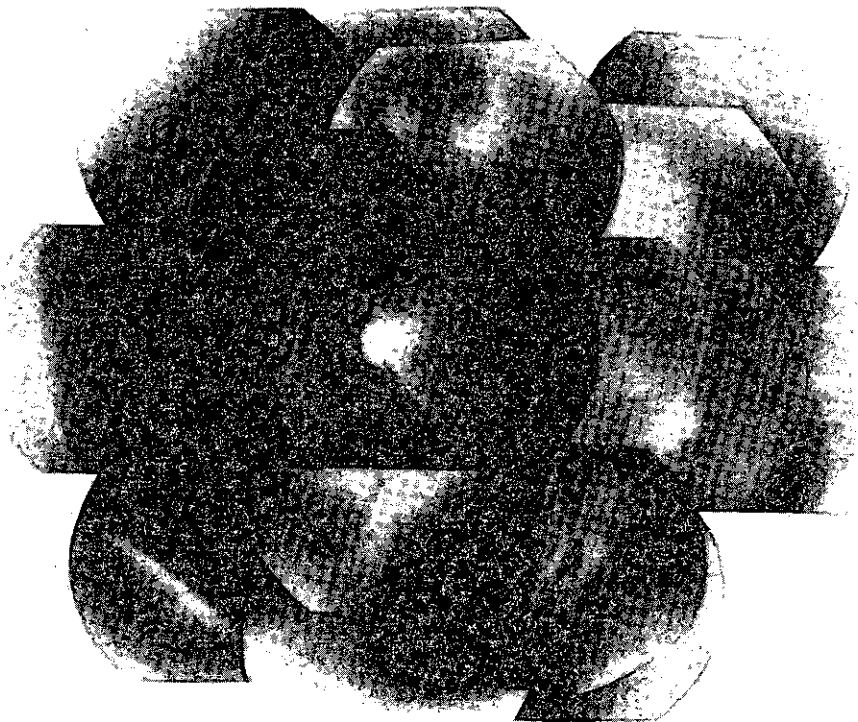


図6：術後約7カ月の左眼底写真（2000年10月10日）
黄斑部に網膜前膜の再発と、周辺部網膜に牽引性網膜剥離による網膜皺裂が見られる。