

2. Ahmad I et al. Identification of neural progenitors in the adult mammalian eye. *Biochem Biophys Res Commun.* 270:517-21, 2000.
3. Reynolds BA et al. A multipotent EGF-responsive striatal embryonic progenitor cell produces neurons and astrocytes. *J Neurosci.* 12:4565-74, 1992.
4. Jumblatt MM, Raphael B, Jumblatt JE: A simple method for the isolation of ciliary epithelium. *Exp Eye Res.* 52:229-32, 1991
5. Chiasson BJ et al. Adult Mammalian Forebrain Ependymal and Subependymal Cells Demonstrate Proliferative Potential, but only Subependymal Cells Have Neural Stem Cell Characteristics. *J Neurosci.* 19:4462-71, 1999.
6. Seaberg RM et al. Adult Rodent Neurogenic Regions: The Ventricular Subependyma Contains Neural Stem Cells, But the Dentate Gyrus Contains Restricted Progenitors. *J Neurosci.* 22: 1784-93, 2002.

9.毛様体由来 neurosphere 様浮遊細胞塊の形態解析ならびに

スフィア形成に関する検討

向野利一郎^{1) 2)}、池田康博¹⁾、久富智朗¹⁾、米満吉和²⁾

山口正洋³⁾、宮崎勝徳^{1) 2)}、石橋達朗¹⁾、居石克夫²⁾

(¹⁾九州大、²⁾九州大病理病態学、³⁾東京大細胞分子生理学)

研究要旨 網膜色素変性症をはじめとする変性疾患は未だ難治な疾患であり、現在その治療の一つとして細胞移植が研究されている。臨床応用に向け様々な移植実験等が行われているが、用いる細胞に関しての研究は多くない。そこで、今回この移植細胞供給源として考えられる細胞集団の一つに関して形態学的な検討を加えた。

A. 研究目的

神経前駆細胞は、神経変性疾患に対する細胞治療の源になる細胞として注目されている。毛様体および周辺部網膜から分離・培養できる浮遊細胞塊 (neurosphere like formation: 以下 sphere) は、眼球内の神経前駆細胞を含む細胞集団と考えられている。今回我々は、この sphere 構成細胞の形態学的特徴とその形成過程を中枢神経由来の neurosphere と比較検討した。

B. 研究方法

C57/BL6 マウスおよび nestin-GFP トランスジェニックマウス (6 週齢) の毛様体および周辺部網膜から細胞を分離し sphere を形成させ、電子顕微鏡的に観察した。また、この sphere 形成の初期段階を Time-lapse を用いて観察した。さらに、sphere 形成への細胞周期の影響を検討した。

C. 研究結果

電子顕微鏡的には、sphere を形成する細胞

は中枢神経由来 neurosphere と異なり各種接着装置により接着し、一部に基底膜構造も認められた。Time-laps では、分離された細胞が、互いに集合して細胞塊を形成することが観察された。この sphere に取り込まれた接着細胞は nestin 陽性を示した。また、細胞周期が停止した状態においても培養開始 2 日目までは、sphere が形成された。nestin-GFP トランスジェニックマウスの毛様体ならびに周辺部網膜には蛍光顕微鏡観察下ではネスチン陽性細胞は認められな



図 1 : sphere 構成細胞間接着装置

かったが、neurosphere を形成させるとネスチン陽性細胞（3・6%）が出現してきた。

D. 考察

単一細胞からの未分化神経細胞の採取は数的に問題が多いが、毛様体縁部からのneurosphere法によるsphere形成ではより多くの未分化細胞が採取できると考えられる。一度分化した接着細胞でもsphereに取り込まれることによって未分化な状態へと脱分化する事が示唆された。

E. 結論

毛様体由来 sphere は中枢神経由来のneurosphereとは形態学的に異なる性質を持っていた。また、sphereを形成させることで、分化した細胞が脱分化し未分化な状態になると考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

1. 参考文献

1. Temple S. The development of neural stem cells. *Nature* 414 : 112-7, 2001.
2. Rossi F, Cattaneo E. Opinion: neural stem cell therapy for neurological diseases: dreams and reality. *Nat Rev Neurosci.* 3: 401-9, 2002.
3. Vescovi AL, Reynolds BA, Fraser DD, Weiss S. bFGF regulates the proliferative fate of unipotent (neuronal) and bipotent (neuronal/astroglial) EGF-generated CNS progenitor cells. *Neuron* 11: 951-66, 1993.
4. Reynolds BA, Weiss S. Generation of neurons and astrocytes from isolated cells of the adult mammalian central nervous system. *Science* 255:1707-10, 1992.
5. Ahmad I, Dooley CM, Thoreson WB, Rogers JA, Afiat S. In vitro analysis of a mammalian retinal progenitor that gives rise to neurons and glia. *Brain Res.* 831:1-10, 1999.
6. Tropepe V, Coles BL, Chiasson BJ, Horsford DJ, Elia AJ, McInnes RR, van der Kooy D. Retinal stem cells in the adult mammalian eye. *Science* 287:2032-6, 2000.
7. Yamaguchi M, Saito H, Suzuki M, Mori K. Visualization of neurogenesis in the central nervous system using nestin promoter-GFP transgenic mice. *Neuroreport* 11: 1991-6, 2000.
8. I. Ahmad, L. Tang, H. Pham, Identification of neural progenitors in the adult mammalian eye.

Biochem Biophys Res Commun. 270:
517-21, 2000.

9. Lobo MV, Alonso FJ, Redondo C,
Lopez-Toledano MA, Caso E, Herranz
AS, Paino CL, Reimers D, Bazan E.
Cellular characterization of epidermal
growth factor-expanded free-floating
neurospheres. *J Histochem Cytochem.*
51:89-103, 2003.

10. 25 ゲージ経結膜硝子体手術システムによる白内障同時手術の

短期成績の検討

大島佑介、坂口裕和、生野恭司、五味 文、瓶井資弘、大路西正人、田野保雄
(大阪大)

研究要旨 25 ゲージ経結膜硝子体手術 (以下 25G) システムによる低侵襲手術の有用性を評価するため、25G システムによる白内障・硝子体同時手術を施行し1ヶ月以上の経過観察ができた18例18眼の手術成績を retrospective に検討した。疾患の内訳は、黄斑前膜8眼(44%)、糖尿病性黄斑浮腫3眼(17%)、黄斑円孔、硝子体出血と網膜静脈閉塞症が各2眼(11%)、網膜細動脈瘤1眼(6%)であり、術中に従来の術式の変更を要した症例はなかった。術後視力が2段階以上に改善した症例は8眼(44%)、不変が9眼(50%)、視力が悪化した症例は1眼(6%)であった。術中合併症として、角膜切開創への虹彩陥頓が3眼(17%)にみられ、うち2眼に角膜縫合を要した。また、術後合併症として、低眼圧(7mmHg以下)を13眼(72%)に認め、強膜創縫合を1例に追加施行したが、全例とも術後1週間前後で眼圧が正常化した。脈絡膜剥離を2眼(11%)、低眼圧黄斑症と前房出血を各1眼(6%)に認めたが、眼圧の正常化に伴って自然寛快した。網膜剥離や眼内炎等の重篤な合併症はなかった。ガス非注入眼(16眼)の術後平均在院日数は4.7でした。黄斑部疾患に対する25G-TSV白内障・硝子体同時手術は、早期離床をめざした低侵襲かつ有効な術式であると考えられた。

A 研究目的

近年の網膜硝子体手術の進歩により、様々な網膜硝子体疾患に手術適応が拡大していると同時に、より侵襲の低い術式への選択と手術機器の開発がなされている。本研究では、より低侵襲の手術機器として開発された25Gシステムの臨床適応において、黄斑疾患に特化した術式選択による手術成績を retrospective に検討した。

B 研究方法

対象は、平成15年4月から12月までの間で大阪大学医学部附属病院において、網膜

硝子体疾患に対して、25G システムによる白内障・硝子体手術を施行した18例18眼(男性12例12眼、女性6例6眼)である。平均年齢は 65 ± 13 才(48~73才)、術後観察期間は1~9ヶ月である。対象疾患の内訳は、特発性黄斑上膜が10眼、糖尿病製黄斑浮腫が3眼、網膜静脈分枝閉塞症に伴う黄斑浮腫、特発性黄斑円孔が各2眼、網膜細動脈瘤に伴う黄斑浮腫が1眼である。手術機器は、BAUSCH&LOMB社もしくはDORC社の25Gシステム硝子体手術機器を採用した。手術方法は全症例ともリドカインによる局所麻酔下にて、角膜切開による白内障・硝

硝子体手術を行い、結膜侵襲を軽減する目的で、眼内透見には panoramic viewing system もしくは sutureless ring による接触型コンタクトレンズを使用した。糖尿病性黄斑浮腫、網膜静脈分枝閉塞症に伴う黄斑浮腫、および特発性黄斑円孔の計 7 眼には黄斑部内境界膜剥離を施行した。また、特発性黄斑円孔の 2 眼は手術終了時に硝子体腔内に 20% フッ化イオウガスによる充填置換を行い、術後約 10 日間の伏臥位による姿勢遵守を行った。手術成績に関する検討項目は、術前・後視力、術後眼圧推移、手術合併症である。

手術対象となった 18 例 18 眼は全例とも術前に手術適応、手術合併症などを含めて説明を行い、インフォームドコンセントを確認のうえ手術を施行した。

C 研究結果

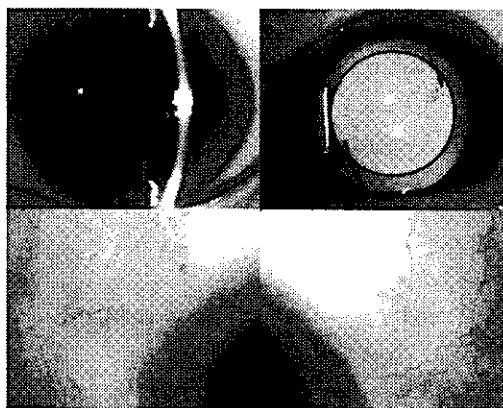
術後の LogMAR 視力が 2 段階以上に改善した症例は 8 眼 (44%)、不変が 9 眼 (50%)、視力が悪化した症例は 1 眼 (6%) であった。術後の平均在院日数は 4.7 日でした。前期の 10 眼と後期の 9 眼に分けて検討した結果を表 1 に示した。最も発生頻度の高い一過性低眼圧は 19 眼中 9 眼 (47%) あったが、手術後期症例では頻度が減少傾向にあり、強膜創縫合に至った症例も後期例にはなく、手術の熟練度に比例して改善し得るものと思われた。一過性低眼圧に付随した脈絡膜剥離、低眼圧黄斑症や硝子体出血のケースも、1 例の追加縫合を除いて、眼圧の再上昇とともに自然寛快した。一過性低眼圧は術後翌日に最も著明に認められたが、ほぼ全例が 1 週間以内で眼圧が術前の正常値に戻っている。これ以外に、一般的に自己閉

鎖創手術で危惧される術後感染性眼内炎や網膜剥離の発生はなかった。また手術中に重篤な合併症の発生で従来の 20 ゲージシステムによる硝子体手術に移行せざるを得ない状況もなかった。

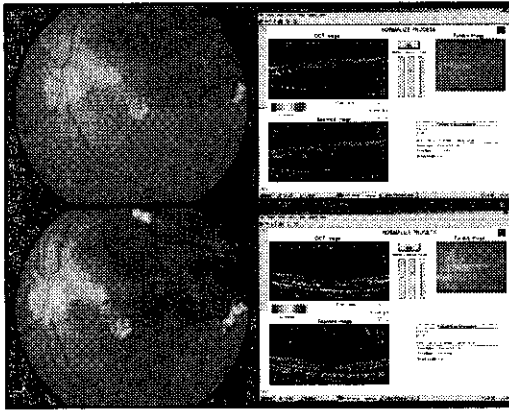
	前期 (n=10)	後期 (n=9)
一過性低眼圧	6	3
脈絡膜剥離・ 低眼圧黄斑症	2	1
硝子体出血	0	1

(表 1)

代表症例を提示する。61 歳、男性の左眼の網膜静脈分枝閉塞症に伴う黄斑浮腫に対する 25G システムによる硝子体手術後 1 週間の前眼部所見 (図 1) と眼底所見 (図 2) である。結膜はほぼ出血なく健常に保たれ、眼底では術後視力の改善と相応して黄斑浮腫の軽減を認めた。



(図 1)



(図 2)

D 考察

術後一過性低眼圧等の 25G システムに特有の手術合併症は術式の熟練度により改善可能であり、視力予後に影響する重篤な合併症はむしろ少ないように思われる。現行の二社の機器による手術結果大差はなく、適応症例の拡大には今後の手術機器の改良と器具の開発が重要と思われる。

E 結論

25G-TSV による硝子体手術は徹底的な周辺部硝子体 切除を必要としない黄斑疾患には、簡便かつ有用な術式である。

F. 健康危険情報

なし

G 研究発表

梶田鉄平 他：黄斑疾患に対する 25G システムによる白内障・硝子体同時手術の短期成績の検討と機種間の比較。

第 338 回大阪眼科集談会，大阪，2004.

H 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許出願

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

I 参考文献

1. Fujii JY et al. A new 25-gauge instrument system for transconjunctival sutureless vitrectomy surgery. *Ophthalmology* 109:1807-12, 2002.
2. Fujii JY et al. Initial experience using the transconjunctival sutureless vitrectomy system for vitreoretinal surgery. *Ophthalmology* 109, 1814-20, 2002.

11. 強度近視眼における黄斑円孔網膜剥離の

硝子体手術後の円孔の観察

生野恭司、佐柳香織、沢 美喜、坂口裕和、大島佑介、五味 文、
瓶井資弘、大路正人、田野保雄
(大阪大)

研究要旨 強度近視における黄斑円孔網膜剥離の硝子体手術成績は年々向上してきたが、その視力予後はいまだ通常の裂孔原性網膜剥離と比較して不良である。術後視力に大きく影響すると思われる術後円孔の詳細な観察は強度近視特有の萎縮性変化もあって従来の検眼鏡的検査では極めて困難であった。我々は光干渉断層計を用いて硝子体手術後の円孔を観察した。硝子体手術で網膜の復位が得られた 17 眼のうち円孔閉鎖が得られたのはわずか 7 眼 (41%) で、円孔が閉鎖した症例は有意に術後視力および視力改善度が良好であった。また、術後に円孔が開存していた 11 眼でその円孔直径を測定したところ、平均 1220 μm で、円孔直径は有意に眼軸長および術後視力と相関した。これらの結果から黄斑円孔網膜剥離では円孔閉鎖率が極めて低率であること、良好な術後視力のためには円孔閉鎖が必須であること、そしてそのためには従来の硝子体手術だけでなく、バックリングや強膜短縮術などを併用することが必要であることが示唆された。

A. 研究目的

強度近視に好発する黄斑円孔網膜剥離は従来から難治な疾病であった。硝子体手術とインドシアニングリーンを用いた内境界膜染色剥離によりようやく安定した復位率を上げることができるようになってきた。しかしながら症例の視力予後は芳しくない。ひとつの原因は強度近視による網脈絡膜の萎縮性変化である。さらにその他の要因として術後の黄斑部の形態的回復が解明されていないことである。今回我々は光干渉断層計 (以下 OCT) を用いて黄斑円孔網膜剥離の黄斑円孔の形態を硝子体手術後に観察し若干の知見を得たので報告する。

B. 研究方法

1992 年から 2002 年までの間に大阪大学付属病院で硝子体手術を施行した黄斑円孔網膜剥離症例 17 例 17 眼に対して術後 OCT を施行し円孔の状態を観察した。円孔が開存していた群と閉鎖していた群に分類し、術前術後視力、年齢、眼軸長、そして視力改善度を比較した。また、同時期に硝子体手術を施行した黄斑円孔網膜剥離症例のうち円孔が開存していた 11 眼を対象とし、円孔の直径を付属するソフトウェアで測定した。これら症例において円孔直径が術前術後視力、眼軸長と相関するか否かを検討した。

C. 研究結果

検討した 17 眼のうち円孔閉鎖が得られたものは 7 眼で閉鎖率は 41%であった。円孔閉鎖群の症例は円孔開存群と比較して有意に術後視力が良好で ($P<0.05$)、また LogMAR0.2 以上の視力向上を改善とすると視力改善した症例の割合も有意に高かった ($P=0.05$)。年齢、術前視力、発症期間、眼軸長は両群間で有意差をみなかった。一方術後円孔直径は眼軸長および術後視力と有意に相関した (各々 $P<0.05$ と $P=0.05$)。すなわち円孔直径が大きくなるほど眼軸長が長く術後視力が不良であった。

D. 考察

黄斑円孔網膜剥離症例の術後円孔閉鎖率は特発性と比較して著しく低く、これが黄斑円孔網膜剥離症例の視力予後が不良である原因のひとつと考えられる。術後円孔閉鎖を得ることが良好な視力を得る第一歩である。しかしながら、眼軸長延長が術後円孔直径を大きくするという結果から、網膜の過剰な伸展が円孔閉鎖を阻害していることが示唆される。内境界膜剥離が円孔閉鎖に絶対的な効果がないことから、今後は眼軸長を強膜短縮や黄斑バックリングなどで短縮しないと円孔閉鎖はなかなか得づらいものと考えられた。

E. 結論

黄斑円孔網膜剥離の視力予後を向上させるには円孔閉鎖が必須で、そのためには眼軸長を短縮させねばならないと思われる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Ikuno Y et al. Early macular holes with retinoschisis in highly myopic eyes. Am J Ophthalmol. 136 : 741-4, 2003.
2. Ikuno Y et al. Optical coherence tomographic findings of macular holes and retinal detachment after vitrectomy in highly myopic eyes. Am J Ophthalmol. 136: 477-81, 2003.

2. 学会発表

1. 生野恭司 他：近視性黄斑円孔網膜剥離に対する内境界膜剥離の意義 第 107 回日本眼科学会 福岡市, 2003
2. 柳香織 他：黄斑円孔網膜剥離における硝子体手術後の円孔拡大 第 57 回日本臨床眼科学会 名古屋市, 2003
3. Ikuno Y et al. Posterior Staphyloma in High Myopia with Macular Hole and Retinal Detachment. American Academy of Ophthalmology (AAO), Anaheim, California, 2003.
4. 生野恭司 他：強度近視に伴う網膜分離症の術中硝子体所見 第 42 回日本網膜硝子体学会総会 福岡市, 2003
5. 佐柳香織 他：黄斑円孔網膜剥離術後の円孔再開 第 42 回日本網膜硝子体学会総会 福岡市, 2003
6. 坂東肇 他：強度近視眼に伴う網膜分離症の内境界膜電子顕微鏡所見 第 42 回日本網膜硝子体学会総会 福岡市, 2003

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

1. 参考文献

1. Oshima Y et al. Complete epiretinal membrane separation in highly myopic eyes with retinal detachment resulting from a macular hole. *Am J Ophthalmol.* 126: 669-76, 1998.
2. Kadonosono K et al. Treatment of retinal detachment resulting from myopic macular hole with internal limiting membrane removal. *Am J Ophthalmol.* 131: 203-7, 2001.

12. 網膜中心静脈閉塞症に対する

放射状視神経切開術後の網膜循環の変化

野本浩之、山地英孝、田中茂登、竹中宏和、白神史雄
(香川大)

研究要旨 網膜中心静脈閉塞症(CRVO)は現在においても難治な網膜疾患のうちのひとつである。2001年に Opremcak らは CRVO に対する放射状視神経切開術、radial optic neurotomy (RON)という新しい手術手技を報告した。彼らは CRVO の原因が神経線維、網膜中心動静脈が共有して強膜を貫く強膜篩状板と scleral ring での圧迫であると仮定し、RONによって同部位での減圧が可能であるとした。全 11 眼で術中合併症はなく網膜出血、網膜血流は改善し 11 眼中 8 眼で 3 段階以上の視力改善を認め、術前視力 20/400 以下の症例に限定して RON を施行しているにもかかわらず 11 眼中 5 眼で 20/70 以上の最終視力を得るといった良い成績であった。

この報告を踏まえて、この術式の効果を網膜循環の観点から評価した。

A. 研究目的

CRVO に対する RON の効果を網膜循環から評価する。

B. 研究方法

対象は 2002 年 4 月から 2003 年 5 月までに香川大学眼科を受診した CRVO 患者のうち、RON を施行し、術前および術後 3 ヶ月目にインドシアニンググリーンビデオ蛍光眼底造影検査(VICGA)が施行できた 15 例 15 眼。男性 6 例、女性 9 例、年齢 49-79 歳(平均 65.1 歳)、発症から手術までの期間は 1-9 か月(平均 4.9 か月)、術前視力:0.01-0.3、非虚血型 7 眼、術前後部硝子体剥離 9 眼であった。

Opremcak の術式に従い core vitrectomy、後部硝子体剥離を作成後、視神経乳頭鼻側を microvitrectomy blade または CRVO

ナイフで穿刺切開した。術前および術 3 ヶ月後に VICGA を撮影し連続的にコンピューターに取り込んだ。耳側網膜を灌流する網膜動脈および静脈大血管起始部に計測点を設定し、それぞれの色素希釈曲線を描き、上行脚で最大蛍光強度の 50%に至るまでの時間差を ΔT_{50} とし arterio-venous passage time とした。計測は上方および下方アーケード血管を別々に計測した。

(倫理面への配慮)

この治療の安全性、効果はまだ確立されていないため、十分な informed consent の後に施行した。

C. 研究結果

術前の ΔT_{50} の平均は 6.46 ± 1.36 (mean \pm SD)秒で術後平均は 6.80 ± 2.50 秒で有意差は認めなかった($P = .5295$, paired t test)。しか

しながら、15眼中8眼に ΔT_{50} の改善を認め、改善した8眼中7眼は、術後に切開部位に一致して網脈絡膜静脈吻合(CRA)が生じた症例であった。CRAが形成されていた7眼では、術前の ΔT_{50} の平均は 6.17 ± 1.37 秒で術後平均は 5.28 ± 1.06 秒で有意差を認めた($P = .0087$, paired t test)が、CRAが形成されていない8眼は術前平均 6.71 ± 1.40 秒で術後平均は 8.14 ± 2.67 秒で有意差を認めなかった($P = .125$, paired t test)(図1)。

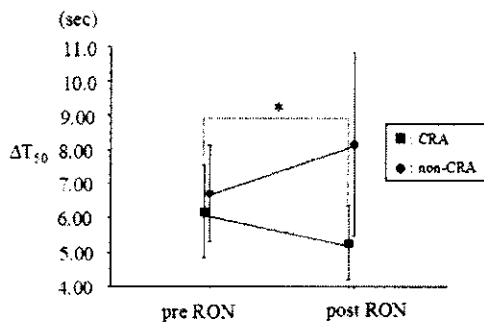


図1 術前後の網膜循環の変化
網脈絡膜静脈吻合(CRA)が形成されている症例は術前後で有意に網膜循環が改善した(* $P = .0087$, paired t test)が、形成されていない症例(non-CRA)は有意な改善を認めなかった($P = .125$, paired t test)。

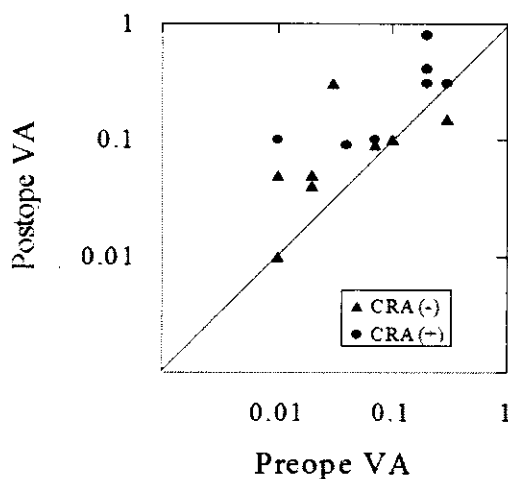


図2 術前後の視力変化

矯正視力は術前平均 logMAR 1.25 (0.52-2.00)、術後平均 0.94 (0.10-2.00)で有意な改善は認めなかった($P = .073$, paired t test)。しかし、CRA形成した症例では術前平均 logMAR 1.15、術後平均 0.75 と有意な改善を認めた($P = .017$, paired t test)(図2)。

D. 考察

CRVO の自然経過は RON を施行しただけでは術後有意な網膜循環の改善は認めず、CRA が形成された症例には術後有意な網膜循環の改善を認めた。これは CRA によって網膜静脈血が脈絡膜静脈へとシャントされることによる循環改善と考えられ、RON の奏功機序である scleral ring の切開による scleral outlet の減圧にはなっていないものと考えられる。

CRA の形成は自然経過でも 45-50% に生じる。^{2,3)} また、RON 術後に CRA が形成されることも報告されており、^{4,5)} その形成率は 43% である。我々も 15 眼中 7 眼(47%) に CRA が発生しておりほぼ同様の結果が得られた。自然経過と比べて形成率に差はないが、形成時期を促進している可能性は考えられる。

視力改善に関しては Garcia ら⁶⁾ と同様に CRA 形成眼が術後有意な改善を示した。しかし、症例数が少ないことと、対象のマッチングができていないので正確な結果には randomized control study が必要である。

E. 結論

RON 後に網膜循環が改善するのは、Opremcak らの主張する強膜篩状板内での減圧効果ではなく、CRA の形成によるもの

であると考えられる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Nomoto H et al. Evaluation of radial optic neurotomy for central retinal vein occlusion by indocyanine green videoangiography and image analysis. *Am J Ophthalmol* submitted

野本浩之 他：網膜中心静脈閉塞症に対する放射状視神経切開術. 眼科 印刷中

2. 学会発表

野本浩之 他：放射状視神経切開術前後の網膜循環時間. 第107回日本眼科学会総会 福岡市, 2003

野本浩之 他：網膜中心静脈閉塞症に対する2か所切開放射状視神経切開術の検討. 第42回日本網膜硝子体学会総会 福岡市, 2003

野本浩之 他：放射状視神経切開術における網脈絡膜静脈吻合形成に関与する因子. 第27回日本眼科手術学会 東京都, 2004

Ophthalmol. 110: 118-23, 1990.

3. Fuller JJ et al: Retinocolateral veins protect against anterior segment neovascularization after central retinal vein occlusion. *Arch Ophthalmol.* 121: 332-6, 2003.

4. Friedman SM. Optociliary venous anastomosis after radial optic neurotomy for central retinal vein occlusion. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging.* 34: 315-7, 2003.

5. Garcia-Arumii J et al: Chorioretinal anastomosis after radial optic neurotomy for central retinal vein occlusion. *Arch Ophthalmol.* 121: 1385-91, 2003.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

I. 参考文献

1. Opremcak EM et al: Radial optic neurotomy for central retinal vein occlusion: a retrospective pilot study of 11 consecutive cases. *Retina* 21: 408-15, 2001.
2. Quinlan PM et al. The natural course of central retinal vein occlusion. *Am J*

13. 上強膜インプラントによる後極部への薬物送達の試み

加藤亜紀¹⁾、木村英也²⁾、岡部高明¹⁾、岡部純子¹⁾、久納紀之¹⁾、野崎実穂¹⁾、小椋祐一郎¹⁾
(¹⁾名古屋市大、²⁾永田眼科)

研究要旨 生体内非分解性高分子を用いて、薬物ベタメサゾン溶出部位と固定部位からなる黄斑プロンベに類似した形態のインプラントを作製し *in vitro*、*in vivo* での薬物動態、生体適合性を評価した。ベタメサゾンはインプラントから安定して徐放され、後極部網脈絡膜においては、約4週間炎症抑制に対する有効濃度を維持し、組織障害は見られなかった。高分子を用いた後部上強膜インプラントは後極部網脈絡膜への新しい薬物送達システムとして今後期待できると考えられた。

A. 研究目的

加齢黄斑変性のような後極部網脈絡膜の疾患では薬物を後極部網脈絡膜に長期にわたって有効濃度を作用させる必要がある。従来の薬物療法としては点眼、全身投与、硝子体注入などがあるが、それぞれ問題がある。そのため副作用を最小限に抑え、なおかつ後眼部で持続的に薬物を徐放する薬物送達システムが望まれる。

近年、経強膜的に後極部に薬物を到達させることが可能であるという報告がされている¹⁾。経強膜的に後極部により効率よく薬物を送達させるためには、出来るだけ後極部よりに薬物を留置することが望ましい。今回我々は安藤らの考案した黄斑プロンベの形態²⁾を参考にし、後極部網脈絡膜にベタメサゾンを徐放する生体内非分解性上強膜インプラントを作製し、その眼内薬物動態、生体適合性について評価した。また蛍光色素である 6-carboxyl fluorescein diacetate (6-CFDA) を徐放するインプラントを埋め込み、各組織の蛍光分布を、蛍光顕微鏡を用いて観察した。

B. 研究方法

インプラントの作製

生体内非分解性高分子であるエチレン酢酸ビニル共重合体を用いて、薬物(ベタメサゾン)溶出部位と固定部位からなる黄斑プロ

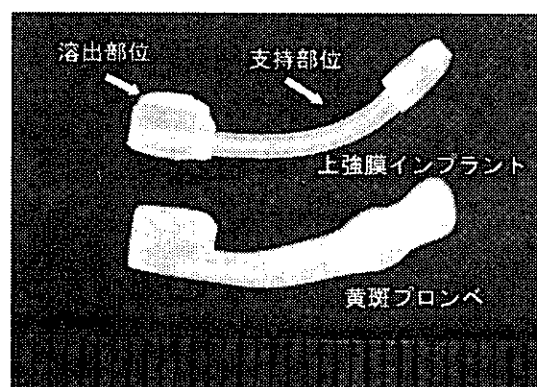


図1 上強膜インプラントと黄斑プロンベ

ンベに類似した形態のインプラントを作製した(図1)。

In vitro での溶出

リン酸緩衝液を入れた密封容器の中にインプラントを入れ、37°Cの恒温振盪水槽で溶出し、BM濃度を高速液体クロマトグラフィー(HPLC)で測定した。

In vivo での薬物動態

家兔眼において、薬物溶出部位が後極部強膜に接するようインプラントを挿入し(図2)、埋め込み後1、2、4週後にインプラントと眼球を摘出し、インプラント内残存ベタメサゾン量、前房水、硝子体、後極部網脈絡膜、周辺部網脈絡膜のベタメサゾン濃度を、HPLCを用いて測定した。

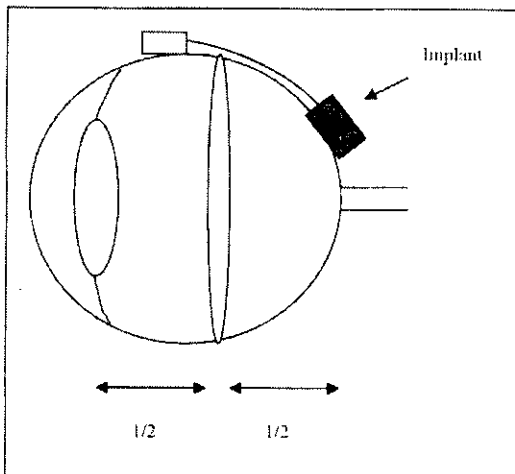


図2 上強膜インプラントの後極部への移植

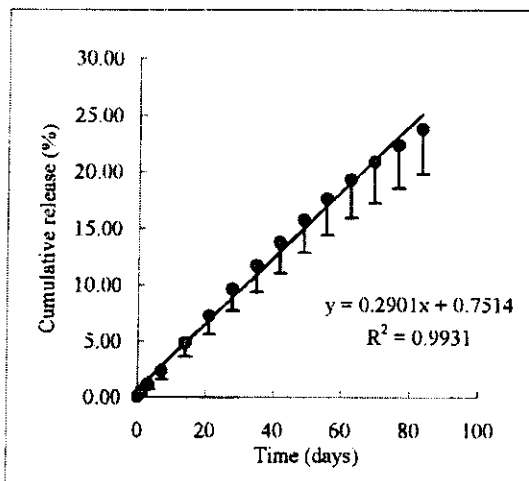


図3 in vitroの溶出

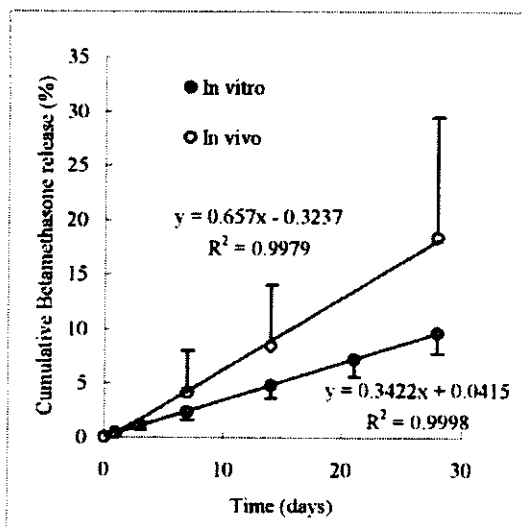


図4 In vitro、in vivoでの溶出

蛍光インプラント

蛍光色素である 6-carboxyl fluorescein diacetate (6-CFDA) を徐放するインプラントを作製した。BM 含有インプラントと同様に移植し、4 日後に眼球を摘出、凍結切片を作製し、周辺部、赤道部、後極部の各組織の蛍光分布を、蛍光顕微鏡を用いて観察した。

生体適合性の評価

移植前、4 週後、8 週後に移植眼及び対側眼の網膜電図を測定し a 波 b 波の絶対値を測定した。

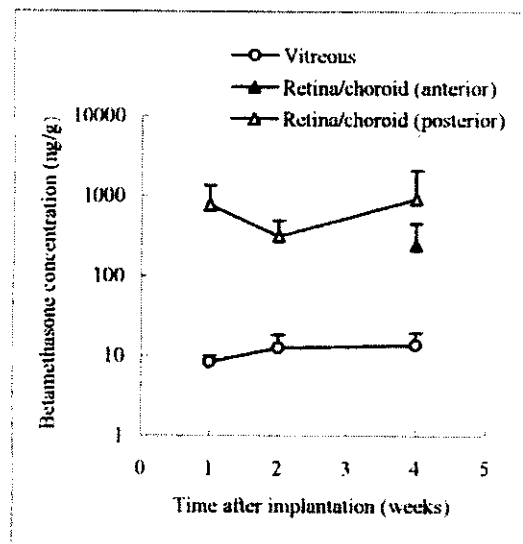


図5 in vivoでの薬物動態

また移植後 4 週、8 週に眼球摘出し、HE 染色後、光学顕微鏡で観察した。

C. 研究結果

In vitro、in vivoでの溶出

ベタメサゾンインプラントから in vitro において 12 週間安定して徐放された (図3)。In vitro、in vivo において 0 次溶出を示し、In vivo における溶出は in vitro と比較して早い傾向があったが、有意差は見られなかった (図4)。

In vivoでの薬物動態

ベタメサゾンは、後極部網脈絡膜においては、約 4 週間炎症抑制に対する有効濃度炎症抑制の有効濃度 (150-4,000ng/g) を維持した³⁻⁵。硝子体中では有効濃度以下であった。周辺

部網脈絡膜では4週のみ検出された(図5)。前房水は1、2、4、週とも検出限界以下であった。

蛍光インプラント

6-CFDA は強膜を貫通して網脈絡膜に達し、その蛍光は移植部からの距離が大きくなるにしたがって減弱していった(図6)。

生体適合性の評価

網膜電図において移植前、4週後、8週後の移植眼と対側眼のa波b波の絶対値に有意差は認められなかった。また脈絡膜および強膜に明らかな障害を認めなかった。



図6 蛍光インプラント移植眼

D. 考察

今回我々はベタメサゾン含有上強膜インプラントの移植後の眼内薬物動態を評価した。薬物は障害を生じることなく強膜を貫通し、網脈絡膜、硝子体中に達することが示された。

ウサギ強膜は150kDの物質を通過可能で、ヒト強膜でも70kDの物質を通過可能であるとの報告がされている^{6,7}。そのため355kDのベタメサゾンは容易に強膜を通過できると考えられる。脈絡膜と感覚網膜の間には血液網膜関門である網膜色素上皮細胞が存在し、種々の物質の通過が制限されているが、BMは脂溶性で細胞に高い親和性があるため細胞内ルートで受動拡散し網膜、硝子体に達したと思われる。

上強膜インプラントの長所は黄斑プロンベを模倣したことにより黄斑部により効果的に薬物を送達することが可能な点である。後極部で直接固定しないため、外眼筋や血管を傷

害することなく薬物溶出部位を後極部に挿入することが可能である。また硝子体注入と比較して侵襲が少なく、白内障、網膜剥離、硝子体出血、眼内炎など硝子体注入の際に生じうる合併症を回避でき、さらに硝子体、前房中の濃度を低く抑えることが可能である。

生体適合性の評価については網膜電図と組織学的検討においては明らかな毒性を認めなかったが観察期間が2ヶ月と短く今後長期にわたる試験が必要である。

E. 結論

高分子を用いた後部上強膜インプラントは後極部網脈絡膜疾患に対する新しい薬物送達システムとして今後期待できると考えられる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Kato A et al. Feasibility of drug delivery to the posterior pole of the rabbit eye with an episcleral implant. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 45,238-44,2004

2. 学会発表

加藤亜紀 他：上強膜インプラントによる後極部への薬物送達の試み 第107回日本眼科学会総会，福岡市,2003

Kato A et al. Feasibility of Drug Delivery to the Posterior Pole of the Rabbit Eye with an Episcleral Implant. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Fort Lauderdale, Florida, 2003.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

1. 参考文献

1. Geroski DH et al. Transscleral drug delivery for posterior segment disease. *Adv Drug Deliver Rev.*52:37-48,2001.
2. Ando F: Use of a special macular explant in surgery for retinal detachment with macular hole. *Jpn. J Ophthalmol.*24: 29-34 ,1980.
3. Arya SK et al. Dexamethasone-mediated inhibition of human T cell growth factor and α -interferon messenger RNA. *J Immunol.* 133: 273-6,1984.
4. Lee SW et al. Glucocorticoids selectively inhibit the transcription of the interleukin 1 α gene and decrease the stability of interleukin 1 α mRNA. *Immunology* 85: 1204-8, 1988.
5. Knudsen PJ et al. Glucocorticoids inhibit transcriptional and post-transcriptional expression of interleukin 1 in U937 cells. *J Immunol.* 139: 4129-34,1987.
6. Ambati J et al. Diffusion of high molecular weight compounds through sclera. *Invest Ophthalmol Vis Sci.*41:1181-6,2000.
7. Olsen TW et al. Human scleral permeability: effects of age, cryotherapy, transscleral diode laser, and surgical thinning. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 36: 1893-903,1995.

14. トリアムシノロンの硝子体内・後部テノン嚢下

同時投与後の眼内薬物動態

野崎実穂、岡部高明、岡部純子、小椋祐一郎
(名古屋市大)

研究要旨 白色家兎を用い、トリアムシノロン(TA)の硝子体内・後部テノン嚢下同時投与の眼内薬物動態について、経時的に検討した。硝子体内投与群 (TA 4mg)、後部テノン嚢下投与群 (TA 20mg)、硝子体内・後部テノン嚢下同時投与群(TA 4mg および 20mg)にわけ、TA 投与後、経時的に眼球を摘出し、房水、硝子体および網脈絡膜中濃度を測定した。また gas vitrectomy を行い、同様に TA を投与し動態を評価した。有硝子体眼において、硝子体内単独投与とくらべ同時投与群のほうが、投与後 2 ヶ月での網脈絡膜濃度は高値であった。硝子体中の TA 残存率は硝子体内投与群、同時投与群とも投与後 2 ヶ月で、投与量の 15%前後が残存していたのに対し、gas vitrectomy 実施眼においては両群とも 7%程度と低い傾向を示したが、今回の投与量では統計学的な有意差は認められなかった。

A. 研究目的

2000 年に Danis ら¹⁾は、滲出性加齢黄斑変性に対し難水溶性のステロイドであるトリアムシノロンアセトニド(TA) 4 mg を硝子体内に投与し、効果があったと報告した。また、昨年度の班会議で、当教室の加藤ら²⁾が実験的脈絡膜新生血管に対して TA の後部テノン嚢下投与を行い、抑制効果を認めたことを報告している。TA の投与法は硝子体内投与と後部テノン嚢下投与に分けられるが、臨床的には硝子体手術時に投与する場合、硝子体内投与では即効性があるが効果が減弱するのも早く、後部テノン嚢下投与では効果の発現には多少時間がかかるが持続するという印象があり、当科では硝子体内・後部テノン嚢下同時投与を行っている。今回、われわれは白色家兎を用い、その眼内薬物動態について経時的に検討したので報告する。

B. 研究方法

白色家兎を用い、硝子体内投与群 (TA 4mg)、後部テノン嚢下投与群 (TA 20mg)、硝子体内・後部テノン嚢下同時投与群(TA 4mg および 20mg)にわけた。TA 投与 1、7、28 および 56 日後に眼底観察後眼球を摘出し、房水、硝子体および網脈絡膜中濃度を高速液体クロマトグラフィーにより測定した。また、無硝子体眼として、白色家兎に 100% C₃F₈gas0.4ml を注入し、gas vitrectomy を行い、3 週間後に同様に硝子体内投与群 (TA 4mg)、後部テノン嚢下投与群 (TA 20mg)、硝子体内・後部テノン嚢下同時投与群(TA 4mg および 20mg)にわけ、TA 投与後 7、28 および 56 日後に眼底観察後眼球を摘出した。

C. 研究結果

TA の硝子体中残存率は、硝子体内投与群および同時投与群間で比較的類似した挙動を示し、投与 56 日後では、有硝子体では投与量の 15%前後の TA の残存が認められた(図 1a)。一方無硝子体眼では投与 56 日後に 7%前後の残存が認められ(図 1b)、両者の間に統計学的な有意差はみられなかった。

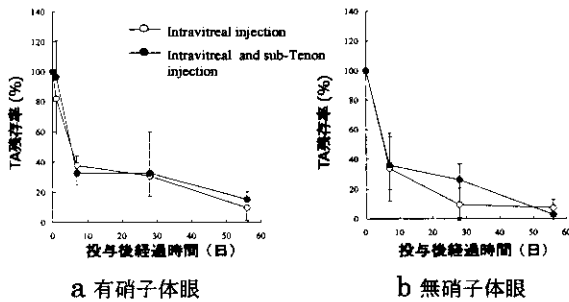


図 1 硝子体薬物残存率

網脈絡膜中においては、TA は硝子体内投与群および同時投与群で投与 56 日後まで、後部テノン嚢下投与群では、28 日後まで検出された(検出限界以下 100ng/g)。投与 56 日後の時点では、硝子体内投与群と比較して同時投与群で高い値を示したが、統計学的に有意な差は認められなかった(図 2a)。無硝子体眼では、56 日まですべての群で検出された。どの観察期間においても硝子体内投与群と同時投与群で、有意差はみられなかった(図 2b)。網脈絡膜中薬物濃度における硝子体内投与と後部テノン嚢下投与での薬物速度論パラメータを算出した。その結果、消失速度定数お

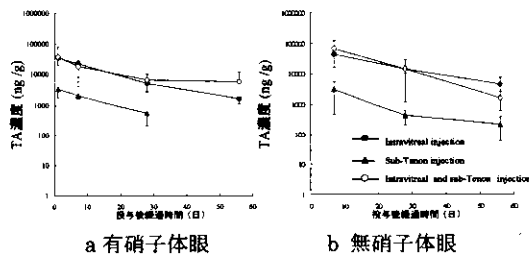


図 2 網脈絡膜中濃度 (n=3-6, 検出限界以下 100ng/g 以下)

よび消失半減期はともに類似した値を示した

	消失速度定数: k (day ⁻¹)	消失半減期: $T_{1/2}$ (days)	曲線下面積: AUC _(0-∞) (μg/g tissue·day)
Intravitreal injection			
有硝子体眼	0.053	13.0	605
無硝子体眼	0.047	14.9	1343
Sub-Tenon injection			
有硝子体眼	0.068	10.2	53.7
無硝子体眼	0.052	13.3	71.0

表 1 薬物速度論パラメータ

が、曲線下面積(AUC)は硝子体内投与が後部テノン嚢下投与と比較して約 10 倍程度高い値を示した(表 1)。さらに無硝子体眼では、AUC は有硝子体眼よりも約 2 倍高い値であった(表 1)。

D. 考察

1985 年に、Scholes³⁾らは、家兎硝子体内に TA0.4mg を注入し、硝子体濃度から半減期を測定し、その結果 1.6 日と述べている。また、ヒトでは TA4mg を硝子体内に投与した場合、房水中濃度から算出した半減期は、有硝子体眼では 18.6 日であり、無硝子体眼では 3.2 日と報告されている⁴⁾。今回、硝子体中濃度から TA 半減期を算出すると、有硝子体眼では 19 日、無硝子体眼では 17 日となった。投与量が 4mg であったため、ヒト有硝子体眼の半減期に比較的近い値になったものと推測される。

一方、過去の報告⁴⁾からも、無硝子体眼では半減期がもっと短くなることが予想されたが、今回の検討では有硝子体眼とあまり変わらない値であった。この原因としては家兎の硝子体腔はヒトの約 4 分の 1 から 5 分の 1 であるのたいし、投与量が 4mg と多かったからではないかと考えられた。また、今回無硝子体眼のモデルとして使用した gas vitrectomy 眼では、硝子体ゲルが圧縮され網膜表面に残存してい

るため、完全な無硝子体眼とちがい半減期がそれ程短縮されなかった可能性も考えられる。一方、網脈絡膜中の TA 濃度から算出した AUC は、硝子体投与は後部テノン嚢下投与の約 10 倍と高値であり、さらに硝子体投与でも無硝子体眼では有硝子体眼の約 2 倍と高値であった。ヒトと家兎と強膜の厚みや周囲の血管組織なども若干異なるため、完全な比較はできないが、後部テノン嚢下投与よりも硝子体投与のほうが、網脈絡膜への移行は良いと結論できる。また、硝子体内投与でも、無硝子体眼のほうが、硝子体での濃度勾配が少なくなり、網脈絡膜への移行が増加したため、AUC が高値となったと推論できた。

E. 結論

有硝子体眼において、硝子体内投与群とくらべ硝子体内・後部テノン嚢下同時投与群のほうが、投与後 2 ヶ月での網脈絡膜濃度は高値であった。無硝子体眼では、有硝子体眼と比較して、硝子体からの消失が若干早くなる傾向が認められた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

1. 岡部純子 他：実験的脈絡膜新生血管に対するトリアムシノロン後部テノン嚢下投与。第 20 回眼微小循環研究会，東京都，2003
2. 岡部高明 他：トリアムシノロンの硝子体内および後部テノン嚢下投与後の眼内薬

物動態。第 42 回日本網膜硝子体学会，福岡，2003

3. 春山善美 他：近視性脈絡膜新生血管に対するトリアムシノロンの後部テノン嚢下・硝子体内同時投与。第 42 回日本網膜硝子体学会，福岡，2003

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

I. 参考文献

1. Danis RP et al. Intravitreal triamcinolone acetonide in exudative age-related macular degeneration. *Retina* 20:244-50, 2000.
2. 加藤亜紀 他：実験的脈絡膜新生血管に対するトリアムシノロンの後部テノン嚢下投与による抑制効果。網膜脈絡膜・視神経萎縮症に関する研究 平成 14 年度総括・分担研究報告書，214-8, 2003.
3. Scholes GN et al: Clearance of triamcinolone from vitreous. *Arch Ophthalmol.* 103: 1567-9, 1985.
4. Beer PM et al: Intraocular concentration and pharmacokinetics of triamcinolone acetonide after a single intravitreal injection. *Ophthalmology* 110: 681-6, 2003.