

厚生労働科学研究費補助金
感覚器障害研究事業

正常眼圧緑内障に対する早期発見のスクリーニングシステム
構築と最適化された診療指針の確立に関する研究

平成18年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 谷原 秀信

平成19(2007)年4月

目次

I.	総括研究報告	
	正常眼圧緑内障に対する早期発見のスクリーニングシステム構築 と最適化された診療指針の確立に関する研究	-----1
	谷原秀信	
II.	分担研究報告	
1.	正常眼圧緑内障のリスクアセスメント	-----5
	山本哲也	
2.	緑内障スクリーニング法の開発と検討	-----9
	杉山和久	
3.	緑内障薬物療法の薬理学的研究	-----12
	吉富健志	
4.	視神経乳頭評価法の確立と応用	-----15
	富田剛司	
III.	研究成果の刊行に関する一覧表	-----18
IV.	研究成果の刊行物・別刷	-----20

厚生労働科学研究費補助金（感覚器障害研究事業）

総括研究報告書

正常眼圧緑内障に対する早期発見のスクリーニングシステム構築と最適化された診療指針の確立に関する研究

主任研究者 谷原秀信 熊本大学大学院医学薬学研究部教授

研究要旨

本研究計画（3年計画）の二年度にあたる平成18年度では、多治見市および小松市における疫学研究・スクリーニング試行の経験を踏まえて、さらに熊本市において人間ドック受診者を対象とした緑内障健診を実施した。これを通じて、非散瞳、非接触、非医師による検診業務によって、正常眼圧緑内障の簡便で効率的なスクリーニングが通常の間ドック業務内で可能であることが実証された。緑内障の診断基準には、初年度に作成した視神経障害の評価基準に有効な判定ガイドラインを利用し、その有効性を確認できた。また正常眼圧緑内障に対する眼圧下降治療の有効性について解析を続けた。

研究分担者

山本哲也・岐阜大学大学院医学研究科教授

杉山和久・金沢大学大学院医学部教授

吉富健志・秋田大学大学院医学研究科教授

富田剛司・東京大学大学院医学系研究科助教授

見することで、それらをプロスペクティブに割り付けることで、高感度に眼圧下降と神経保護効果の両面で、リスク・ベネフィット比の良好な診療指針を確立できる。第三に、眼科診療全般に本研究の成果を普及させるために、正常眼圧緑内障の診断基準を明確かつ客観的に下せるための標準化の作業が重要と考えた。

A. 研究目的

本研究計画の目的の第一は、正常眼圧緑内障に対する早期発見のスクリーニングシステムを構築して、診療現場での有用性を証明することにある。本研究計画の初年度には、全国の多施設大規模調査で実施することの可能な疫学調査のプロトコルを確立して、その有用性を実際に検証することが目的と考えた。第二に、正常眼圧緑内障に対する最適化された診療指針を確立するためには、上記の早期発見スクリーニングの手法を活用して、無治療・無自覚の正常眼圧緑内障患者群を検出し、その臨床像を明確にしておくことが重要である。さらに、無治療の正常眼圧緑内障患者を多数発

B. 研究方法

本研究計画二年度においては、第一に、多治見市と小松市の臨床調査の経験を踏まえて、熊本市内においても、非接触眼圧計、無散瞳立体カメラ、HRT IIを用いて、正常眼圧緑内障を簡便・高効率に早期発見でき、しかも散瞳を必要としないスクリーニング手法の有効性を検証した。我々の臨床調査は、我々の研究戦略が実際に一般市民からの正常眼圧緑内障の早期発見に有効な治療戦略であることを示した。

第二に、既に診断が下されている正常眼圧緑内障患者に対しては、初期緑内障視神経障害を有する正常眼

圧緑内障に対する臨床面でのリスクアセスメントと危険因子群の同定を行った。危険因子について、詳細なサブ解析をおこなった。正常眼圧緑内障の眼圧日内変動、乳頭出血、日本で大きな問題となる low-teen の眼圧値で進行する正常眼圧緑内障の臨床像の解析と経過観察のプロトコールを作成した。

第三に、血液循環改善や神経保護を目的とした薬物療法の開発と臨床的評価としては、一連の基礎研究を行い、有効な眼圧下降治療薬・神経保護治療薬の開発を手がけた。

第四に、正常眼圧緑内障診断に関する標準化を目指して、特にキーポイントとなる緑内障性視神経症の診断基準を作成し、それを上記の臨床調査に応用した。

(倫理面の配慮)

本研究計画における臨床試験については、原則として、倫理的問題を内在するものについては、各大学の倫理委員会における承認を受ける。基礎研究面での動物実験については、動物愛護の精神から問題のないように、ARVOの動物実験に関する規定を順守して研究を行う。動物に対して重大な疼痛を与えないように、十分に麻酔などの手技で緩和した。

C. 研究結果

第一に、本研究計画における全国多施設調査の基盤となるパイロットスタディ(小松スタディ)を完成し、その成果を踏まえて熊本市内の人間ドック業務に同様の非接触・無散瞳、非医師による緑内障健診を実施した。小松市および熊本市で正常眼圧緑内障の有病率は、日本緑内障学会による疫学調査(多治見スタディ)とほぼ同程度の頻度を示し、日本全体の医学的問題であることが解明された。正常眼圧緑内障は、非散瞳、非接触、非医師による検診業務によって、効率的にスク

リーニングでき、特に日本人における緑内障検出では、眼圧よりも眼底検査が重要であることが示された。この研究成果を元にして、本研究班による市民公開講座を既に小松市と熊本市で開催し、正常眼圧緑内障の早期発見の重要性を啓発した。

第二に、初期緑内障視神経障害を有する正常眼圧緑内障のリスクアセスメントとしては、危険因子として、眼圧、近視、年齢が指摘された。乳頭出血は、サブ解析で有意な進行危険因子であることが示されたが、眼圧下降治療によって、治療的に改善することが可能であった。治療指針が確立されていない low-teen の眼圧値で進行するタイプの患者群の経過観察とリスクアセスメントをおこなうための臨床研究を開始し、現在進行中である。

第三に、新しい薬物療法の開発としては、ROCK 阻害薬の前臨床研究が一応の完遂をみて、第一相試験で眼圧下降効果が証明され、現在その結果を投稿中である。正常眼圧緑内障で眼圧日内変動の制御が重要であることが解明され、その分子機構を解明した。24時間眼圧制御や神経保護治療が治療で重要な概念である。

第四に、緑内障の視神経乳頭・周囲組織の判定ガイドラインを作成し、上記の臨床調査に応用した。

D. 考察

正常眼圧緑内障の高い有病率は、日本における多治見スタディで発表され、国際的に大きな注目を集めた。その後、我々の研究班で、非接触・無散瞳・非医師による臨床検査手法でも、多治見スタディに匹敵するだけの緑内障を検出できる効率性を確保できることが証明された。また我々の研究成果からも、正常眼圧緑内障が、全国に共通する大きな医学的問題であることが判明した。日本人における正常眼圧緑内障の問題は、世界での緑内障視神経症の概念が大きく変化する契機

となったが、その適正な治療指針は日本においてまだ確立されていない。我々の研究データからは、正常眼圧緑内障において、外来診療時間内の眼圧管理だけでは不十分であり、24時間眼圧の制御が重要となること、眼圧下降により、非眼圧因子である乳頭出血なども間接的に治療しうることが示された。また low-teens の眼圧値ですら視神経障害が進行するタイプの正常眼圧緑内障は、明確な治療指針が提示されておらず、日本緑内障学会の診療ガイドラインにおいても、解決すべき問題として記載されているのが現状である。しかし、比較的進行の遅い本疾患の治療、特に初期治療の最適化を科学的根拠に基づいて検証するためには、多数の正常眼圧緑内障患者を効率の良い正常眼圧緑内障のスクリーニング手法の確立によって得ることがきわめて重要である。また早期発見の体制を全国に普及することで、本疾患による社会経済的な損失を、安価に予防できるものと考えられる。

E. 結論

日本人疫学調査によって明らかにされた正常眼圧緑内障の問題は、世界での緑内障の疾患概念が大きく変化する契機となった。このような国際的な議論を経て、日本緑内障学会の診療ガイドライン改訂版では、視神経乳頭と周囲組織の判定ガイドラインが追加記載された。その緑内障性視神経症の量的判定基準は、我々の臨床調査において応用され、その有効性を認めた。また既存の薬物療法や手術療法の治療効果、および新しい緑内障治療薬の開発も順調に臨床応用されており、このように単なる臨床・基礎研究の狭い枠組みに止まらず、本研究計画で得られた成果は、眼科診療全般の標準化へと還元されつつある。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Awai M, Koga T, Inomata Y, Oyadomari S, Gotoh T, Mori M, Tanihara H. NMDA-induced Retinal injury is mediated by an endoplasmic reticulum stress-related protein, CHOP/GADD153. **Journal of Neurochemistry** 96: 43-52, 2006

Inoue T, Kagawa T, Fukushima M, Shimizu T, Yoshinaga Y, Takada S, Tanihara H, Taga. T. Activation of canonical Wnt pathway promotes proliferation of retinal stem cells derived from adult mouse ciliary margin. **Stem Cells**, 24: 95-104, 2006.

Koga T, Koga T, Awai M, Tsutsui J, Yue BYJT, Tanihara H. Rho-associated protein kinase inhibitor, Y-27632, induces alterations in adhesion, contraction and motility in cultured human trabecular meshwork cell. **Experimental Eye Research**, 82: 362-370, 2006.

Mawatari Y, Hirata A, Kawaji T, Yamada K, Fukushima M, Tanihara H. Choroidal dye filling velocity in patients with Vogt-Koyanagi-Harada disease. **Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology**, 244: 1056-1059, 2006.

Wakita M, Kawaji T, Ando E, Koga T, Inatani M, Ando Y, Tanihara H. Ocular decompression retinopathy following trabeculectomy with mitomycin C associated with familial amyloidotic polyneuropathy. **British Journal of Ophthalmology** 90: 515-516, 2006.

Takano A, Hirata A, Ogasawara K, Sagara N, Inomata Y, Kawaji T, Tanihara H. Posterior vitreous detachment induced by subtilisin NAT (Nattokinase): A novel enzyme for pharmacological vitrectomy. **Investigative Ophthalmology**

& Visual Science 47: 2075-2079, 2006.

Inomata Y, Nakamura H, Tanito M, Teratani A, Kawaji T, Kondo N, Yodoi J, Tanihara H. Thioredoxin inhibits NMDA-induced neurotoxicity in the rat retina. **Journal of Neurochemistry**, 98: 372-385, 2006.

Hara H, Oh-hashu K, Yoneda S, Shimazawa M, Inatani M, Tanihara H, Kiuchi K. Elevated neprilysin activity in vitreous of patients with proliferative diabetic retinopathy. **Molecular Vision**, 12: 977-982, 2006.

Ikema K, Matsumoto K, Inomata Y, Komohara Y, Miyajima S, Takeya M, Tanihara H. Induction of matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of MMPs correlated with outcome of acute experimental pseudomonal keratitis. **Experimental Eye Research**, 8: 1396-1404, 2006.

Inoue T, Hotta A, Awai M, Tanihara H. Loss of vision due to a physiologic pituitary enlargement during normal pregnancy. **Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology**, in press, 2006.

Iwao K, Inatani M, Kawaji T, Mawatari Y, Tanihara H. Frequency and risk factors for intraocular pressure elevation after posterior sub-Tenon's capsule triamcinolone acetonide

injection. **Journal of Glaucoma**, in press.

Awai M, Koga T, Inatani M, Inoue T, Tanihara H. Stability of central visual field after modern trabeculectomy techniques in eyes with advanced glaucoma. **Japanese Journal of Ophthalmology**, in press.

Tokushige H, Inatani M, Nemoto S, Katayama K, Uehata M, Tanihara H. Effects of topical administration of Y-39983, a selective Rho-Associated protein kinase inhibitor, on ocular tissues in rabbits and monkeys. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, in press.

2. 学会発表

特になし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

特になし。

2. 実用新案登録

特になし。

3. その他

特になし。

正常眼圧緑内障のリスクアセスメント

分担研究者 山本哲也 岐阜大学大学院医学系研究科教授

研究要旨

本研究計画（3年計画）の第2年度にあたる平成18年度には、正常眼圧緑内障のリスクアセスメントに必要なとなる眼圧変動の基礎データを確立するとともに、リスクファクターである視神経乳頭出血、眼圧の特徴に関して研究を進めた。加えて、将来の神経保護治療の基礎となる動物実験を行った。その結果、本症の眼圧動態を明らかにし、本症の標準的眼圧データを確立することができた。また、視神経乳頭出血の出現頻度が手術治療に伴う眼圧下降により大きく減少することを証明した。加えて、動物実験により、metallothionein-II と lomerizine の網膜神経節細胞の神経保護作用を証明し、cobalt chloride 投与による新しい網膜細胞死モデルを構築することができた。基礎研究成果はいずれも緑内障の実験モデルとして、今後各種抗緑内障薬物等の実験系として利用可能なものである。

A. 研究目的

本研究計画の第2年度では、初年度の成果を元とし、分担分野である正常眼圧緑内障のリスクアセスメントに必要な研究を進展させることを主たる目的として研究を行った。具体的には、昨年の研究をそれぞれ発展させて、1、特徴解析を既に行った正常眼圧緑内障リスクファクターである視神経乳頭出血（乳頭出血）に関して、手術による十分な眼圧改善により出現頻度が変化するか否かの解析を行い乳頭出血の意義を確認すること、2、眼圧の動態と眼圧下降薬への反応に関する成果をより厳密な眼圧維持の必要性とその実現可能性につなげるため24時間眼圧日内変動測定の意義についての研究、3、本症で網膜神経節細胞に生じるアポトーシスの分子機構に関しては将来の治療法確立の基礎研究として、内因性 antioxidant である metallothionein とカルシウム拮抗薬 lomerizine の神経保護作用と分子機構を知る目的での動物実験を行った。加えて、cobalt chloride

を用いた新しい網膜神経節細胞障害の実験系を確立するための研究を行った。

B. 研究方法

マイトマイシンC併用線維柱帯切除術を施行した原発開放隅角緑内障（広義）（原発開放隅角緑内障 99例 99眼、正常眼圧緑内障 50例 50眼）の術前後の乳頭出血の出現頻度をKaplan-Meier生命表法で比較検討した。

569例の正常眼圧緑内障疑い例を対象とした眼圧日内変動測定の結果を解析し、眼圧パラメータ（最高眼圧、最低眼圧、平均眼圧、変動幅、ピーク時間、トラフ時間）の分布を求めた。また、経過観察により、正常眼圧緑内障から原発開放隅角緑内障に診断が変更される確率を推定した。

内因性 antioxidant である metallothionein のマウス NMDA 誘導網膜神経節細胞死モデル眼における発現をリアルタイム RTPCR 法で観察した。

ラット実験緑内障モデルを用いて、カルシウム拮抗薬 lomerizine の神経保護作用を検討した。

また、cobalt chloride 投与により新しい網膜細胞死モデルが構築されるか否かを検討した。

(倫理面の配慮)

倫理的問題を有するものについては、岐阜大学医学系研究科の倫理委員会における承認を受ける。動物実験については、動物愛護の精神から問題のないように、ARVO の動物実験に関する規定を順守して研究を行った。動物に対して重大な疼痛を与えないように、十分に麻酔などの手技で緩和した。

C. 研究結果

原発開放隅角緑内障における乳頭出血の出現頻度は、術前 $33.4 \pm 7.8\%$ (確率 \pm 標準誤差)、術後 $5.5 \pm 2.2\%$ ($p < 0.0001$, Logrank test) であった。正常眼圧緑内障の乳頭出血の出現頻度は、術前 $42.1 \pm 8.8\%$ 、術後 $23.1 \pm 6.3\%$ ($p = 0.0063$) であった。両病型とも、術後の眼圧安定化に伴い乳頭出血頻度の減少を認めた。

正常眼圧緑内障の疑われた症例のうち、5.3%において眼圧日内変動測定により正常値を越える眼圧上昇が証明された。正常眼圧緑内障確定例の最高眼圧、最低眼圧、平均眼圧、変動幅は平均で各 16.1、11.7、13.9、4.4 mmHg であった。確定例の 41.4%では通常診療時間帯 (10:00-16:00) 以外に眼圧値のピークを認めた。また、長期経過観察により、2.9%の症例で正常値を超える眼圧の上昇を認めた。

NMDA 硝子体投与により、metallothionein-II の発現は 5.9-7.4 倍に増加した。硫酸亜鉛、ビタミン D₃ の投与により、NMDA 投与 24 時間後の metallothionein-II 様免疫反応性は増幅され、かつ NMDA による網膜神経節細胞死は抑制された。

ラット実験緑内障モデルにおいて lomerizine 投与は網膜神経節細胞生存率を 65.9%から 88.1-89.8%と有意に改善させた。

cobalt chloride 投与により、網膜視細胞層に細胞障害の選択性の高い新しい網膜細胞死の生じることを明らかにした。

D. 考察

原発開放隅角緑内障 (広義) の乳頭出血出現頻度を濾過手術前後で比較し、手術による十分な眼圧下降により乳頭出血出現頻度が有意に減少することを示した。このことは従来知られてきた病状の進行と乳頭出血出現に有意の関連があることを支持する結果であるとともに、正常眼圧緑内障において術後の乳頭出血の出現減少率が少なかったことから、正常眼圧緑内障には眼圧以外の要因が関与していることをも示唆するデータであり、乳頭出血ならびに正常眼圧緑内障の成因を考える上で重要な成果である。

正常眼圧緑内障症例の各種眼圧パラメータを従来報告のない 569 例という多数例で確立した。これは本症管理の基礎データとしてきわめて重要である。加えて、約 2/5 の症例で通常診療時間帯 (10:00-16:00) 以外に眼圧ピークを認めたことから、本症における 24 時間眼圧日内変動測定、通常の診察時間外の眼圧測定の重要性を示唆する貴重な成果と考える。さらに、正常眼圧緑内障の疑われた症例のうち約 5%が日内変動測定により眼圧上昇が証明され、原発開放隅角緑内障に診断名が変更となり、また、長期経過観察の中で 2.9%に眼圧上昇を認めたことは本症管理における継続的眼圧測定の必要性を強く示唆するものである。

metallothionein-II 並びに lomerizine の網膜神経節細胞に対する神経保護作用を明らかにした。臨床例に応用するに当たっては今後解決されなくてはならない問題

が多々あるものの、この成果は、cobalt chloride 投与による新しい網膜細胞死モデル構築という本研究における成果とともに、新規緑内障治療薬の実験系を構築するための重要な基礎的知見である。

E. 結論

マイトマイシンC併用線維柱帯切除術による十分な眼圧下降は、原発開放隅角緑内障並びに正常眼圧緑内障における乳頭出血の出現頻度を有意に減少させる。

正常眼圧緑内障症例の各種眼圧パラメータの標準値を従来報告のない多数例で確立することができた。また、約 2/5 の症例で通常診療時間帯（10：00-16：00）以外に眼圧ピークを認め、疾患対策として24時間眼圧測定並びに標準的診察時間外での眼圧測定の重要性を明らかにすることができた。

metallothionein-II の NMDA 誘導網膜細胞死に対する細胞保護作用を証明した。また、ラット実験緑内障モデルにおいて lomerizine 投与の網膜神経節細胞の神経保護作用を明らかにした。さらに、cobalt chloride 投与による新しい網膜細胞死モデルを構築することができた。これら3件の基礎研究はいずれも緑内障の実験モデルに比定できるものであり、今後各種抗緑内障薬物等の実験系として利用可能なものである。

上述の新知見は正常眼圧緑内障のリスクアセスメントという本研究の課題の達成に向けての基礎データとして重要であり、次年度研究に向けた研究体制の確立並びに新しい研究課題の設定に大いに貢献するものと考えられる。

G. 研究発表

1. 論文発表

Miyake T, Sawada A, Yamamoto T, Miyake K, Sugiyama K, Kitazawa Y: The incidence of disc hemorrhage in open-angle

glaucoma before and after trabeculectomy. *J Glaucoma* 15 (2): 164-171, 2006

Hara A, Niwa M, Kumada M, Aoki H, Kunisada T, Oyama T, Yamamoto T, Kozawa O, Mori H: Intraocular injection of folate antagonist methotrexate induces neuronal differentiation of embryonic stem cells transplanted in the adult mouse retina. *Brain Res* 1085: 33-42, 2006

Karim MZ, Sawada A, Kawakami H, Yamamoto T, Taniguchi T: A new calcium channel antagonist, lomerizine, alleviates secondary retinal ganglion cell death after optic nerve injury in the rat. *Curr Eye Res* 31: 273-283, 2006

Suemori S, Shimazawa M, Kawase K, Satoh M, Nagase H, Yamamoto T, Hara H: Metallothionein, an endogenous antioxidant, protects against retinal neuron damage in mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 47(9): 3975-3982, 2006

Hasegawa K, Ishida K, Sawada A, Kawase K, Yamamoto T. Diurnal variation of intraocular pressure in suspected normal-tension glaucoma. *Jpn J Ophthalmol* 50(5): 449-454, 2006

Hara A, Niwa M, Aoki H, Kumada M, Aoki H, Kunisada T, Oyama T, Yamamoto T, Kozawa O, Mori H: A new model of retinal photoreceptor cell degeneration induced by a chemical hypoxia-mimicking agent, cobalt chloride. *Brain Res* 1109(1):192-200, 2006

2. 学会発表

末森晋典、嶋澤雅光、川瀬和秀、佐藤雅彦、永瀬久光、山本哲也、原英彰：マウス NMDA 網膜神経節細胞死におけるメタロチオネイン-II の関与。第110回日本眼科学会総会学術展示。4/13-15/06。大阪市

Ban T, Ishida K, Kawase K, Yamamoto T: Comparison of three different methods for longitudinal evaluation of visual fields. ARVO 2006 poster presentation. 5/2/06. Ft.

Lauderdale, USA

Ishida K, Mochizuki K, Yamamoto T. Incidence and risk factors of bleb-related infection following trabeculectomy. The 21st Congress of the Asia-Pacific Academy of Ophthalmology, poster presentation. 6/10-11/06. Singapore
Yamamoto T. Is Japanese glaucoma different? The 21st Congress of the Asia-Pacific Academy of Ophthalmology, Symposium 21 – Glaucoma “Glaucoma Challenges in the Asia Pacific”. 6/13/06. Singapore

川上秀昭、丹羽義明、澤田明、山本哲也：正常眼圧緑内障患者におけるカリジノゲナーゼ内服による眼窩血流動態への影響。第17回日本緑内障学会。9/09/06。神戸市

内田英哉、富所敦男、新家眞、白柏基宏、八百枝潔、山本哲也、岩瀬愛子、池田明日香、大野ゆう子：乳頭長短径比を考慮した Heidelberg Retina Tomograph による緑内障検出。第17回日本緑内障学会。9/09/06。神戸市

Hayashi Y, Nakagawa T, Aoyama A, Hara T, Fujita H, Yamamoto T, Hatanaka Y, Mizukusa Y, Fujita A, Kakogawa M: Extraction of nerve fiber layer defects in ocular fundus images. The 20th International Congress and Exhibition on Computer Assisted Radiology and Surgery (CARS2006) poster presentation. 6/28-7/1/06. Osaka, Japan

Nakagawa T, Hayashi Y, Hatanaka Y, Aoyama A, Hara T, Kakogawa M, Fujita H, Yamamoto T: Cup region extraction of optic nerve head for three-dimensional retinal fundus image. Asian Forum on Medical Imaging 2007. Cheju, Korea. 1/26-27/07.

Hayashi Y, Nakagawa T, Hatanaka Y, Aoyama A, Kakogawa M, Hara T, Fujita H, Yamamoto T. Detection of retinal nerve fiber layer defects in retinal fundus images using Gabor filtering. International Society for Optical Engineering 2007, poster presentation. 2/17-22/07. San Diego, USA

Nakagawa T, Hayashi Y, Hatanaka Y, Aoyama A, Hara T, Kakogawa M, Fujita H, Yamamoto T. Comparison of the depth of an optic nerve head obtained using stereo retinal images and HRT. International Society for Optical Engineering 2007, poster presentation. 2/17-22/07. San Diego, USA

Yamamoto T: Rates and causes of visual impairment in Japan. Asia ARVO Meeting 2007, Symposium 5 Ocular Epidemiology/International Ophthalmology 3/3/05. Singapore

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
特になし。
2. 実用新案登録
特になし。
3. その他
特になし。

緑内障スクリーニング法の開発と検討

分担研究者 杉山和久 金沢大学大学院医学系研究科教授

研究要旨

平成 18 年度は、小松スタディの結果をもとに他施設調査を開始した。また、一般住民検診に併設した緑内障検診である小松スタディの結果を詳細に解析し報告した。また、より理想的な緑内障検診モデルを作成するために、人間ドックにおいても小松スタディとは別の検査機器を用いて無散瞳、非接触、非医師による検診業務を行い正常眼圧緑内障の簡便で効率的なスクリーニングが可能であることを実証した。それぞれの検査機器の利点と欠点が明らかになりつつある。これらを明確にして、理想的な正常眼圧緑内障のスクリーニング方法を確立したい。

A. 研究目的

多治見スタディの結果から、日本人に正常眼圧緑内障患者が多くその多くが無自覚・無治療の潜在患者であることが明らかにされた。そのために正常眼圧緑内障に対するスクリーニングシステムを確立することは急務である。本研究の目的は、正常眼圧緑内障に対する早期発見のスクリーニングシステムを構築して、診療現場での有用性を証明することである。小松スタディは職場で検診の機会をもたない人たちに検診を行なったが、本年度は職場検診での緑内障検診の充実を図ることを目的とした。また、無散瞳、非接触、非医師による検診業務を可能とする他の検査機器の有用性を検証する。

B. 研究方法

小松スタディの成果を元に、非接触型眼圧計による眼圧測定、ステレオ眼底カメラによる立体眼底撮影、視神経乳頭画像解析装置である Heidelberg Retina Tomograph II (HRT II; Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany)を用いて、無散瞳、非接触、非医師による検診業務を他施設でも開始した。また、人間ドックでの緑内障検診モデルとして、2006年1月から6月にNTT西日本金沢病院の1泊2日人間ドックを受診した801名中、事前の説明で同意の得られた795名に緑内障検診を実施した。男性729名、女性66名。平均年齢52.6(30-65)歳。ドック1日目にスクリーニング検査として非接触式眼圧測定と無散瞳眼底カメラにてステレオ眼底撮影、Frequency Doubling Technology (FDTスクリーナー)のC-20-5プログラムおよび

び神経線維層解析装置(GDxVCC)を行った。眼底はデジタル画像ファイリングシステム(TOPCON IMAGEnet2000)のステレオビューワを用いて視神経乳頭形状等を立体的に観察し判定した。その中で眼圧、ステレオ眼底写真、FDTおよびGDxVCCのいずれかに異常がみられた方または判定不能であった方に二次検診を行い、その結果を詳細に検討した。

(倫理面の配慮)

本研究計画は金沢大学倫理委員会およびNTT西日本金沢病院倫理委員会の承認を得ている。二次検診を行なうために連結可能匿名化とし、個人識別情報管理者によって厳重に情報を保護する。

C. 研究結果

人間ドックでの緑内障検出向上のパイロットスタディを完遂した。その結果、緑内障検診受診者795名中、二次検診対象者は341人で二次精査受診者は322人であった。二次検診の結果、緑内障と診断された人は39名(5.0%)で、全て(広義)原発開放隅角緑内障であった。この結果は小松スタディとほぼ同程度であり、日本緑内障学会による疫学調査(多治見スタディ)より若干高い値であった。緑内障患者のうち今回初めて緑内障と診断されたいわゆる潜在患者は21名(55.2%)であった。この結果は90%が潜在患者であった大規模疫学調査や小松スタディと比較して低かったが、半数以上は潜在患者であった。我々が行った検診方法を用いれば正常眼圧緑内障を、無散瞳、非接触、非医師による検診業務によって、効率的にスクリーニングできることを示した。

この研究成果を基に、今後も本研究班による市民公開講座を開催し、正常眼圧緑内障の早

期発見の重要性を啓発する。

D. 考察

多治見スタディにおいて、日本人において正常眼圧緑内障の有病率が高いことと、日本において約90%の緑内障患者が潜在患者であることが明らかにされた。人間ドックにおけるパイロットスタディでは潜在患者は55.2%であったが、今回の対象者は以前にも職場で通常の検診を受ける機会があったためと対象者の年齢が若かったために、大規模疫学調査や小松スタディより低い値となったと思われる。我々が行ったいずれの検診方法も正常眼圧緑内障を、無散瞳、非接触、非医師によって行うことができる。散瞳することによる検診受診者の負担や緑内障発作の危険性をなくし、非医師でも行えることにすることにより検診コストも引き下げることが可能となると思われる。またステレオ眼底写真の読影のみでは、主観的な判断となり読影者の技量に大きく左右される危険性があることから、HRT IIやGDxVCCを用いることにより客観的な評価が可能となる。また、人間ドックでは、FDTという1分以内で行なうことができる視野検査を併用した。この検査は、自覚的な検査であるために人間ドックの受診層には有用であったが、すべての年齢層に可能かどうかは今後検討が必要である。本研究で確立された検診方法を、人間ドックや住民検診に組み込み、正常眼圧緑内障の早期発見体制を全国的に普及させることで、本疾患による社会的経済的な損失を、安価に予防できるようになると考えられる。

E. 結論

住民健診および人間ドックにあわせて行った緑内障検診でも、日本緑内障学会による疫学調査（多治見スタディ）とほぼ同様な結果が得られた。また、無散瞳ステレオ眼底カメラとHRT IIを用いたスクリーニング方法およびGDxVCCとFDTを用いたスクリーニング方法は正常眼圧緑内障の検出に有効であった。本研究で確立された緑内障スクリーニングシステムを、全国的に普及させることによって、無散瞳、非接触、非医師によって安全に効率的に緑内障を検出することが可能となると思われる。住民健診および人間ドックの両方で緑内障検診を充実させることにより、40歳以上のすべての人に緑内障早期発見の機会が生じ、多くの潜在患者を眼科医の管理下におくことが可能となり、緑内障による失明を予防できると考えられる。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Ohkubo S, Takada H, Higashide T, Sasaki T, Sugiyama K: A pilot study to detect glaucoma with confocal scanning laser ophthalmoscopy compared to nonmydriatic stereoscopic photography in a community health screening. *Journal of Glaucoma* (in press)

Kawaguchi I, Higashide T, Ohkubo S, Takeda H, Sugiyama K. In vivo imaging and quantitative evaluation of the rat retinal nerve fiber layer using

scanning laser ophthalmology. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* 47(7) : 2911-2916, 2006.

Higashide T, Kawaguchi I, Ohkubo S, Takeda H, Sugiyama K. In vivo imaging and counting of rat retinal ganglion cells using a scanning laser ophthalmoscope. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* 47(7) : 2943-2950, 2006.

大久保真司、杉山和久：視神経乳頭視察法の進歩（緑内障を中心に）あたらしい眼科 24: 51-57, 2007.

2. 学会発表

2006年9月 第17回日本緑内障学会 シンポジウム5 早期発見のための検診モデル NTG2006

2006年10月 第60回日本臨床眼科学会 人間ドックにおける網膜神経線維層解析装置（GDxVCC）を用いた緑内障検診の試み。

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得

特になし。

2. 実用新案登録

特になし。

3. その他

特になし。

厚生労働科学研究費補助金（感覚器障害研究事業）

分担研究報告書

緑内障薬物療法の薬理学的研究

分担研究者 吉富健志 秋田大学大学院医学研究科教授

研究要旨

平成18年度の本研究の分担者として、我々は初年度に引き続き緑内障治療点眼薬の眼血流に対する作用機序を薬理的に検討した。対象としたのは緑内障治療点眼薬として現在広く使用される β 遮断薬レボブノロールと現在治験が終了し、新しいプロスタグランジン関連薬として申請中のタフルプロストである。レボブノロールは眼圧下降とは別に血流改善効果があることが報告されている。また、タフルプロストの血流に対する作用については未だはっきりとしたデータはない。これらの緑内障治療薬の主作用はもちろん眼圧下降であるが、今回はそれとは異なる作用機序で血管に対する作用があり、このような作用が眼血流作用改善に寄与していることが実証された。この基礎研究の結果、将来の正常眼圧緑内障に対する血流改善治療の展望が開けた。

A. 研究目的

多治見スタディの結果から、日本人に正常眼圧緑内障患者が多いことが明らかにされた。正常眼圧緑内障に対する治療は眼圧下降だけでは不十分であり、眼圧下降以外の治療法の確立は急務である。本分担研究の目的は、正常眼圧緑内障に対する治療として、有力な候補である血流改善を点眼薬で実現するための基礎的データを集めることにある。そのため既存の緑内障治療薬に存在するとされる血流作用を薬理的に検証した。本研究の目的のひとつは正常眼圧緑内障患者に対する最適化された診療指針を確立することであり、その意味でも既存の治療薬の血流改善作用の評価は、この指針確立のために重要

な意味を持つと考えられる。

B. 研究方法

血流改善を目的とした正常眼圧緑内障薬物治療の開発を行うにあたり、基礎的な薬理学的実験として今回我々が検討した緑内障治療薬の血管作用は、血管を高カリウム溶液で収縮させた状態でこれらの薬剤を投与した際に、どの程度の弛緩作用を持っているか、細胞内のカルシウム測定によって薬物が血管平滑筋に対してどのような作用を持っているかで評価することとした。実験にはウサギおよびラット摘出眼動脈を用いて、*in vitro*で薬物の持つ血管作用を薬理的に検討した。

(倫理面の配慮)

実験に用いた動物は秋田大学「実験動物の取り扱い指針」にのっとり、倫理的に問題にならないよう配慮した。

C. 研究結果

緑内障の治療薬として臨床応用されている薬剤のうち、レボブノロールはウサギ毛様動脈を濃度依存性に弛緩させたが、これはこの薬剤の β 受容体遮断作用とは全く無関係な作用である細胞内貯蔵カルシウム放出抑制作用によることが明らかとなった。これまでの β 遮断薬を用いた実験では、個々の β 遮断薬の血管弛緩作用は大きく異なっていることが明らかとなった。一方で今回我々は新しいプロスタグランジン製剤であるタフルプロストを用いて実験を行ったが、この薬剤の血管弛緩は細胞外のCa流入阻害によると考えられた。これは先に実験を行ったウノプロストンやラタノプロストと同様の作用機序であり、プロスタグランジン製剤については β 遮断剤と異なり血管弛緩作用は共通性があると考えられた。しかしいずれにしても眼圧下降作用とは異なる作用機序であった。これまでの研究で各種緑内障治療薬の多くが血管弛緩作用を有している事が明らかとなり、その作用機序についても新たな知見を見出した。これらの薬剤がそれぞれの薬剤の持つ、眼圧下降作用とは異なる作用によって血流に影響を与えていることが実証された。

D. 考察

日本人における緑内障の有病率は40歳以

上の総人口の5%と推計され、失明原因のトップを占める重要な疾患である。緑内障の中で最も頻度が高い正常眼圧緑内障は、その早期発見とともに有効な治療法の開発が望まれている。しかし、この治療法については眼圧下降治療が唯一エビデンスを持つ治療法であり、それ以外の治療法については確立していないのが現状である。さらに正常眼圧緑内障の薬物治療において、既存の緑内障治療薬は眼圧下降という目的からは十分な効果は持っていない。正常眼圧緑内障に対する治療指針を確立するために既存の緑内障治療薬剤の眼血流に対する効果の検証は重要と思われる。本分担研究は*in vitro*でこれらの薬剤が血管平滑筋に対してどのような効果を持つかを検討したものである。今回の実験で明らかになったように、レボブノロールとタフルプロストはそれぞれ血管弛緩作用を有しており、その作用機序はレボブノロールの持つ β 遮断作用、タフルプロストの持つプロスタグランジン様の作用とは基本的に関係がなく、それぞれの薬剤の持つ、眼圧下降作用とは異なる作用によって血流に影響を与えていることが実証された。正常眼圧緑内障の薬物治療において、このような従来知られていなかったような緑内障治療薬の作用の検証は、新しい薬物治療開発の基礎となるデータであり、既存の薬物治療選択に関しても重要な意義がある。

E. 結論

多治見スタディで明らかになったように、正常眼圧緑内障は頻度が高い疾患であり、今後ますます高齢者の視機能に重大な影響を及ぼすため、その診断と治療の診療指針の確立

が急務である。本分担研究は血流改善を主としてその治療法についての検討を行い、点眼剤でも十分有効な治療効果が得られる可能性を薬理的に示した。この疾患は早期発見と適切な治療によって視機能を長期に保つことが重要であり、その意味から眼圧下降によらない神経保護治療や眼血流改善治療法の開発は本研究によって前進している。

F. 健康危険情報
特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Goseki T, Ishikawa H, Nishimoto H, Mashimo K, Uga S, Yoshitomi T, Shimizu K. Pharmacological vascular reactivity in isolated diabetic rabbit ciliary artery. *Exp Eye Res.* 83: 1317–1324, 2006.
Dong Y, Ishikawa H, Wu Y, Shimizu K, Goseki T, Yoshitomi T. Effect and mechanisms of Betaxolol and Timolol on Vascular Relaxation in Isolated Rabbit Ciliary Artery. *Jpn J Ophthalmol.* 50: 504 – 508, 2006.

Dong Y, Ishikawa H, Wu Y, Yoshitomi T. Vasodilatory mechanism of levobunolol on vascular smooth muscle cells. *Exp Eye Res.* in press.

2. 学会発表

董雅儒、石川均、吉富健志. Levobunolol の血管弛緩機序に関する薬理的究. 第110回日本眼科学会総会. 2006年4月14日 大阪.
董雅儒、澤田有、石川均、吉富健志. タフプロストの血管平滑筋に対する作用. 第26回日本眼薬理学会. 2006年9月23日. 福井.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得

特になし。

2. 実用新案登録

特になし。

3. その他

特になし。

視神経乳頭評価法の確立と応用

分担研究者 富田剛司 東京大学大学院医学系研究科助教授

研究要旨

正常眼圧緑内障を含め、緑内障は視神経症の一種と考えられているが、三次元眼底画像解析法を用いて緑内障を診断する上で、1. 他の視神経症との鑑別が十分に行うことができるのか、2. 乳頭周囲の網膜神経線維層厚を測定する上での乳頭外周に決定される測定円の大きさによって診断精度が変化するか否か、3. 緑内障性視神経症を代表する眼底変化の一つである、乳頭周囲脈絡網膜萎縮が視野障害にどのような影響を与えるのか、について検討した。その結果、三次元画像解析法は、虚血性視神経症による乳頭変化の違いを有意に検出すること、小サイズ測定円と中サイズ測定円では診断精度に差がないこと、下方に生じた乳頭周囲脈絡網膜萎縮は、視野障害と有意に相関することがわかり、今後の視神経乳頭評価法を確立する上で有益な情報が得られた。

A. 研究目的

これまでの研究で、視神経乳頭の判定にはより客観的かつ普遍的な手法としてコンピューター画像解析法の応用が有用である可能性が示された。今回は、コンピューター画像解析手技を主とした三次元眼底画像解析検査法による視神経乳頭評価を確立する上で；検討1) 同法が、緑内障視神経症とは異なる視神経症と緑内障性変化を的確に鑑別することができるのか、検討2) 乳頭周囲の網膜神経線維層厚を測定する上での乳頭外周に決定される測定円の大きさによって診断精度が変化するか否か、検討3) 緑内障性視神経症を代表する眼底変化の一つである、乳頭周囲脈絡網膜萎縮を画像解析法にて測定し、視野障害にどのような影響を与えるのか、について検討

した。

B. 研究方法

検討1)～3) まですべて、断面的調査(cross sectional study)を行った。検討1)では虚血性視神経症患者33名33眼と年齢、視野障害程度が同等の正常眼圧緑内障患者33名33眼を検討対象とし、視神経乳頭形態を、レーザー走査眼底断層装置にて測定し、網膜神経線維層厚を、レーザー走査ポラリメーターにて行い、測定結果の異同、視野との相関性を解析した。検討2)では、282名の開放隅角緑内障患者を対象とし、網膜神経線維層厚を測定する上で誤差要因となりうる乳頭周囲脈絡網膜萎縮が大、中、小の測定円に抵触する頻度、およびそれぞれの測定円の

診断精度をROCカーブにて解析した。検討3)では、正常眼圧緑内障患者109名109眼を対象とし、乳頭周囲脈絡網膜萎縮の形態測定をレーザー走査眼底断層装置にて行い、視野との相関性を解析した。

(倫理面の配慮)

研究は、ヘルシンキ宣言にもとづいて行われ、すべての対象患者には、研究の主旨を十分説明し、文書による同意書を取得した。

C. 研究結果

検討1) 虚血性視神経症患者の視神経乳頭形態は正常眼圧緑内障患者のそれと比べて、乳頭の大きさが有意に小さく、陥凹は有意に浅く、リム面積は有意に大きいことが示された。網膜神経線維層厚と視野障害の相関は虚血性視神経症でも示されたが、乳頭形態変化と視野との相関は認めず、緑内障性視神経症との違いが示された。

検討2) 網膜神経線維層厚を測定する際に用いる視神経乳頭外周の測定円は、中測定円を用いると乳頭周囲脈絡網膜萎縮が測定円に抵触する頻度は低く、かつ通常用いられる小測定円における測定変動、および緑内障検出精度もほぼ同等であることが示された。

検討3) 視神経乳頭形態を上下に分割した場合、下半分に相当する乳頭周囲脈絡網膜萎縮の面積のみ、緑内障性視野障害と有意に相関することが判明した。

D. 考察

判定者の主観に極力影響されない、より客

観的、標準的な視神経乳頭評価法としてコンピュータ画像解析装置を用いた眼底の三次元画像解析検査が有望であることが、これまでの研究で示されてきた。今後、画像解析装置を正常眼圧緑内障診断に対する乳頭評価法のメインの手段として取り入れていくことの可能性がより高まったものとする。今回の研究で、同じ視神経疾患の範疇にはいる虚血性視神経症と緑内障においては、視野検査、視力検査的にはほぼ同一の障害程度であっても、画像解析法により両者視神経乳頭変化が有意に異なるものであることが明瞭になり、本法の有用性が明瞭に示されたものとする。また、緑内障性視神経症に特徴的に生じる乳頭周囲脈絡網膜萎縮は、近視眼に生じる耳側コーヌスと同一であり、その生成原因の異同に興味を沸かされるが、画像診断的には、コーヌス上の網膜神経線維層の測定には誤差を生じることが多くあり、それを避けて計測する必要がある。測定円の大きさを変化させた場合に診断精度が低下するか否かについては、中測定円においては、小測定円と同等の正確な診断が可能であるという有益な結果が示された。また、乳頭周囲脈絡網膜萎縮は、乳頭下半部分の面積がより視野進行程度と密接に関連していることが分り、その医学的な原因が今度必要であるとともに、乳頭変化を評価する上では、下半部分の萎縮の大きさに注目することの有用性が示唆された。これらの知見は、今後より精度の高い画像解析による判定法を確立していく上で大きな指針となり得ると考えられた。

E. 結論

より客観性の高い視神経乳頭評価法として視神経乳頭の眼底三次元画像解析的評価法を確立する上で、同法が臨床の現場に即したより実効性の高いものであるかを検証していく必要がある。この点において、緑内障性視神経症の乳頭変化を明瞭に区別可能であることが判明したこと、現実の患者に対して、測定にばらつきが生じやすい状況（乳頭耳側コーヌスが存在する眼）において、それに対応する方法が判明したこと、緑内障性視神経症の理解と新たな診断指標として、乳頭下半の乳頭周囲脈絡網膜萎縮面積が有用であることが解明されたことは、今後の同法の発展に大きく寄与するものと考ええる。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Saito H, Tomidokoro A, Sugimoto E, Aihara M, Tomita G, Fujie K, Wakakura M, Araie M. Optic disc topography and peripapillary retinal nerve fiber layer thickness in nonarteritic ischemic optic neuropathy and open-angle glaucoma.

Ophthalmology 2006;113:1340-1344.

Kunimatsu S, Tomidokoro A, Saito H, Aihara M, Tomita G, Araie M. Performance of GDx VCC in eyes with peripapillary atrophy: comparison of three circle sizes. Eye 2006 Aug 4; [Epub ahead of print]

Kawano J, Tomidokoro A, Mayama C, Kunimatsu S, Tomita G, Araie M. Correlation between hemifield visual field damage and corresponding parapapillary atrophy in normal-tension glaucoma. Am J Ophthalmol 2006;142:40-45.

2. 学会発表

特になし。

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得

特になし。

2. 実用新案登録

特になし。

3. その他

特になし。

書籍

著者氏名	論文タイトル	書籍全体の編集者	書籍名	出版社	出版地	出版年	ページ
大久保真司 杉山 和久	視神経乳頭観察法の進歩 (緑内障を中心に)	木下 茂	あたらしい 眼科	メディカル 葵出版	東京	2007	51-57

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Awai M, Koga T, Inomata Y, Oyadomari S, Gotoh T, Mori M, Tanihara H.	NMDA-induced Retinal injury is mediated by an endoplasmic reticulum stress- related protein, CHOP/GADD153.	J Neurochem	96	43-52	2006
Inoue T, Kagawa T, Fukushima M, Shimizu T, Yoshinaga Y, Takada S, Tanihara H, Taga T.	Activation of canonical Wnt pathway promotes proliferation of retinal stem cells derived from adult mouse ciliary margin.	Stem Cells	24	95-104	2006
Koga T, Koga T, Awai M, Tsutsui J, Yue BYJT, Tanihara H.	Rho-associated protein kinase inhibitor, Y-27632, induces alterations in adhesion, contraction and motility in cultured human trabecular meshwork cell.	Exp Eye Res	82	362-370	2006
Mawatari Y, Hirata A, Kawaji T, Yamada K, Fukushima M, Tanihara H.	Choroidal dye filling velocity in patients with Vogt-Koyanagi-Harada disease.	Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol	244	1056-1059	2006
Wakita M, Kawaji T, Ando E, Koga T, Inatani M, Ando Y, Tanihara H.	Ocular decompression retinopathy following trabeculectomy with mitomycin C associated with familial amyloidotic polyneuropathy.	Br J Ophthalmol	90	515-516	2006
Takano A, Hirata A, Ogasawara K, Sagara N, Inomata Y, Kawaji T, Tanihara H.	Posterior vitreous detachment induced by subtilisin NAT (Nattokinase): A novel enzyme for pharmacological vitrectomy.	Invest Ophthalmol Vis Sci	47	2075-2079	2006
Inomata Y, Nakamura H, Tanito M, Teratani A, Kawaji T, Kondo N, Yodoi J, Tanihara H.	Thioredoxin inhibits NMDA-induced neurotoxicity in the rat retina.	J Neurochem	98	372-385	2006
Hara H, Oh-hashii K, Yoneda S, Shimazawa M, Inatani M, Tanihara H, Kiuchi K.	Elevated neprilysin activity in vitreous of patients with proliferative diabetic retinopathy.	Molecular Vision	12	977-982	2006
Ikema K, Matsumoto K, Inomata Y, Komohara Y, Miyajima S, Takeya M, Tanihara H.	Induction of matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of MMPs correlated with outcome of acute experimental pseudomonal keratitis.	Exp Eye Res	8	1396-1404	2006
Inoue T, Hotta A, Awai M, Tanihara H.	Loss of vision due to a physiologic pituitary enlargement during normal pregnancy.	Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol		in press	2006
Iwao K, Inatani M, Kawaji T, Mawatari Y, Tanihara H.	Frequency and risk factors for intraocular pressure elevation after posterior sub-Tenon's capsule triamcinolone acetate injection.	J Glaucoma		in press	
Awai M, Koga T, Inatani M, Inoue T, Tanihara H.	Stability of central visual field after modern trabeculectomy techniques in eyes with advanced glaucoma.	Jpn J Ophthalmol		in press	
Tokushige H, Inatani M, Nemoto S, Katayama K, Uehata M, Tanihara H.	Effects of topical administration of Y-39983, a selective Rho-Associated protein kinase inhibitor, on ocular tissues in rabbits and monkeys.	Invest Ophthalmol Vis Sci		in press	