

C. 研究結果

各群間の蛍光輝度比はそれぞれ、単独群 0.97、TA 併用群 0.85、ベバシズマブ併用群 0.90 であった($P<0.001$)。単独群は TA 併用群($P<0.05$)とベバシズマブ群($P<0.05$)に比べて脈絡膜毛細血管領域の閉塞は少なく、TA 併用群とベバシズマブ群の間には有意な差は見られなかった。

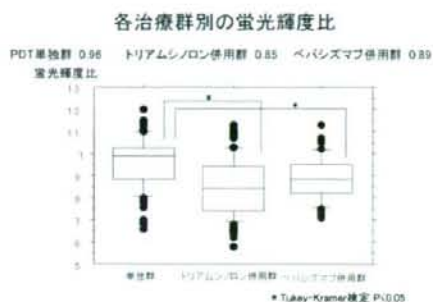


図1 治療群と蛍光輝度比

次に対象 242 眼を蛍光輝度比 0.9 を基準に蛍光眼底検査で脈絡膜血流の抜けのはっきりした hypoperfusion group (group A) とはっきりしない non hypoperfusion group (group B) の 2 つの group に分け、3 か月での再治療の有無や視力の変化との関係では、脈絡膜灌流と 3 か月での再治療の有無は抜けの強い hypoperfusion group では 17.5%、non hypoperfusion group では 33.6% であり、hypoperfusion group では、再治療の割合が有意に低かった。(χ^2 乗検定 $P<0.0033$)

	Group A	Group B
再治療あり	20(17.5%)	43(33.6%)
再治療なし	94(82.5%)	85(66.4%)

($P=0.0033$ χ^2 乗検定)

表1 hypoperfusion と再治療の有無

また、視力変化との関連では、3 段階以上の視力改善を認めたのは各群で 22.7% 15.4% で

化のないものは 68.2%、69.2%、3 段階以上の悪化を認めたのは 9.1% 15.4% で、2 つの群で有意差は認めませんでした

矯正視力	Group A	Group B
3 段階以上改善	27(23.7%)	20(15.4%)
不変	76(66.7%)	90(69.2%)
3 段階以上悪化	10(8.8%)	19(15.4%)

表2 hypoperfusion と 3 か月での視力変化

D. 考察

PDT は、その治療効果として脈絡膜新生血管を閉塞させる。しかしその一方で照射野からの虚血や酸化ストレスが誘因となって炎症性サイトカインである ICMA-1、IL-6 や血管内皮増殖因子である Vascular endothelial growth factor (VEGF) が増加し、これら一連の炎症反応が PDT が新生血管を閉塞させる一方で、AMD の病態の悪化や新たな血管新生を助長する可能性が懸念されているといった問題がある。そこで、トリアムシロロンや抗 VEGF 抗体であるベバシズマブを使用することによって、これらの作用を抑えつつ PDT の効果を高め、再治療率を低下させることが試みられてきた。また、PDT による脈絡膜正常血管閉塞は、ICGA では、通常は 1 週間最大となり、3 か月ほどで回復するといわれている。この脈絡膜血管への再灌流が CNV の再発と関連することも分かっている⁽⁴⁾。近年 VEGF は病的作用だけでなく、生理的な作用を持つことも注目されるようになってきている。VEGF には、脈絡膜血管を生理的に維持する役割、脈絡膜血管の survival (抗アポトーシス) 作用があること

が判明した^(5,6)。つまり、トリアムシノロンやベバシズマブを PDT に併用することによって、これらの VEGF の作用を阻害し、脈絡膜血管の修復を遅らせていると思われ、その結果として脈絡膜血管の閉塞が長続きし、再治療の割合が低くなっているのではと考えられる。ただし、脈絡膜血管閉塞が持続することが網膜にとってどのような影響を及ぼすのかはしっかりと検討しなければならない。

E. 結論

薬剤併用 PDT は、PDT の効果としての脈絡膜血管閉塞を持続させる可能性がある。このことは、脈絡膜新生血管の再灌流を抑制し、薬剤併用 PDT での脈絡膜新生血管の閉塞率の向上、治療回数の減少に関わっていると思われる。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文

なし

2. 学会発表

八田善幸：トリアムシノロンまたはベバシズマブ併用 PDT が脈絡膜血管灌流に与える影響. 日本眼科学会, 東京, 2009(予定)

H. 知的財産権の出願、登録情報

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. Fingar V. : Vascular effects of

photodynamic therapy. J Clin LaserMed Surg. 14,323-328,1996

2. Fingar V et al. Analysis of acute vascular damage after photodynamic therapy using benzoporphyrin derivative(BPD). 79,1702-1708,1999

3. Henderson BW et al.:How does photodynamic therapy work? Photochem Photobiol. 55:145-157,1992;

4 Flower RW et al. :Theoretical investigation of the role of choriocapillaris blood flow in treatment of subfoveal choroidal neovascularization associated with age-related macular degeneration. Am J Ophthalmol 132,85-93,2001

5. Saint-Geniez M et al.: VEGF expression and receptor activation in the choroid during development and in the adult. Invest Ophthalmol Vis Sci 47,3135-3142 ,2006

6.Marneros AG et al.: Vascular endothelial growth factor expression in the retinal pigment epithelium is essential for choriocapillaris development and visual function.Am J Pathol. 2005 67:1451-9. 2005

35. トリアムシロン併用光線力学的療法前後の

網膜機能、形態と脈絡膜循環の関係

石川浩平、西原裕晶、小澤信介、八田善幸、岩田英嗣、
竹内紀一郎、伊藤逸毅、近藤峰生、寺崎浩子
(名古屋大)

研究要旨 我々は加齢黄斑変性に対する単独の光線力学的療法では治療後早期に治療部位の網膜機能障害がみられ、治療部位のレーザーによる脈絡膜循環障害が強いほど、その網膜機能障害も強いことを報告してきた¹⁾。光線力学的療法前にトリアムシロンテノン嚢下投与を併用することにより、この網膜機能障害を軽減できることもこれまでに報告してきたが、本研究ではトリアムシロンテノン嚢下投与併用光線力学的療法後の網膜機能、形態と脈絡膜循環の関係を、光干渉断層計、中心15°刺激黄斑部局所網膜電図を用い評価した。トリアムシロンテノン嚢下投与併用光線力学的療法は、単独の光線力学的療法でみられる治療部位の網膜機能障害は少なく、治療部位の脈絡膜循環障害が高度であると網膜機能障害も強かったが、単独の光線力学的療法に比べ悪化度は軽度だった。

A. 研究目的

加齢黄斑変性(AMD)に伴う脈絡膜新生血管(CNV)に対するトリアムシロン併用光線力学的療法(TA-PDT)によりPDT後の網膜機能障害を緩和する機序を網膜機能、形態と脈絡膜循環の関係から明らかにする。

B. 研究方法

TA-PDTを施行したAMDに伴う中心窩下CNVのうち、他の脈絡膜新生血管治療の既往がない32例34眼(男性26眼、女性6眼、年齢平均73.3±7.3歳、AMD20眼、ポリープ状脈絡膜血管症14眼)を対象とした。

トリアムシロン20mgをPDTの1週間前にテノン嚢下に投与し、PDTはTAP study group²⁾に準じて行った。治療前、トリアムシロン投与1週間後(PDT当日)、PDT1週間後、1、3か月後に視

力、光干渉断層計、治療前、PDT1週間後、1、3か月後に黄斑部15°局所網膜電図(FMERG)、治療前、PDT3か月後にインドシアニングリーン蛍光眼底造影(IA)を施行した。

(倫理面への配慮)

TA-PDTに対し十分なインフォームドコンセントを行い、治療を施行した。

C. 研究結果

視力は治療前に比べトリアムシロン投与1週間後は有意に低下したが、その後は有意な変化がなかった。黄斑部網膜厚は治療前に比べトリアムシロン投与1週間後は有意に減少したが、PDT1週間後には、治療前とほぼ同じ網膜厚となった。

	Pre TA	PDT day	Post 1W PDT	Post 1M PDT	Post 3M PDT
Visual acuity (LogMAR)	0.53 ± 0.23	0.6 ± 0.25	0.55 ± 0.29	0.52 ± 0.3	0.51 ± 0.34
P value *		0.0017	0.6927	0.4919	0.506
Macular thickness (μV)	337.4 ± 59.8	320.8 ± 57.3	334.9 ± 69.4		
P value *		0.0201	0.6261		

*Wilcoxon signed-rank test (治療前と比較)

表 1 PDT 前後の視力、黄斑部網膜厚の変化

FMERG の振幅は治療前後で有意な変化はなく、潜時は a 波が PDT1 週後、b 波が PDT1 週、1 か月後に有意に延長した。

	Pre TA	Post 1W PDT	Post 1M PDT	Post 3M PDT	Normal subjects (n=112)
Amplitude (μV)					
a-wave	0.69 ± 0.37	0.63 ± 0.39	0.65 ± 0.35	0.7 ± 0.41	2.10 ± 0.64
P value *		0.1978	0.3592	0.6261	
b-wave	1.62 ± 0.71	1.59 ± 0.79	1.65 ± 0.69	1.67 ± 0.62	4.89 ± 0.94
P value *		0.6106	0.8093	0.5494	
Implicit time (ms)					
a-wave	24.5 ± 3.7	26.4 ± 4.2	25.8 ± 3.1	26.2 ± 3.9	21.9 ± 1.7
P value *		0.0074	0.1642	0.1083	
b-wave	54.3 ± 8.3	58.4 ± 8.4	58.5 ± 9.0	56.5 ± 10.0	42.8 ± 2.1
P value *		0.0145	0.0315	0.2089	

*Wilcoxon signed-rank test (治療前と比較)

表 2 PDT 前後の FMERG の変化

黄斑部網膜厚の増加が治療前と比べ10%以上だった群と、10%未満だった群の、FMERG の変化度 (PDT1 週後/治療前) を比較したが、有意差は無かった。

	Increase group (9 eyes)	Decrease group (21 eyes)	P value *
Amplitude (post-PDT 1W / pre-PDT)			
a-wave	1.00 ± 0.47	1.00 ± 0.46	0.9458
b-wave	0.83 ± 0.29	1.03 ± 0.30	0.1184
Implicit time (post-PDT 1W / pre-PDT)			
a-wave	1.07 ± 0.21	1.05 ± 0.09	0.9819
b-wave	1.12 ± 0.21	1.06 ± 0.12	0.5117

*Mann-Whitney U test

表 3 黄斑部網膜厚と FMERG 変化 (PDT1 週後/治療前) の関係

PDT3 か月後の IA で、PDT のレーザーに一致した低蛍光が 360° 明瞭な循環障害+群と、不明瞭な循環障害-群の、FMERG の変化度 (PDT1 週後/治療前) を比較すると、循環障害

+群の方が有意に、FMERG の b 波が悪化が大きかった。

	Indistinct group (18 eyes)	Distinct group (18 eyes)	P value *
Amplitude (post-PDT 1W / pre-PDT)			
a-wave	1.10 ± 0.49	0.99 ± 0.39	0.5229
b-wave	1.09 ± 0.27	0.91 ± 0.39	0.0324
Implicit time (post-PDT 1W / pre-PDT)			
a-wave	1.06 ± 0.13	1.05 ± 0.12	0.5346
b-wave	1.10 ± 0.16	1.05 ± 0.13	0.2848

*Mann-Whitney U test

表 4 PDT3 か月後の IA と FMERG 変化 (PDT1 週後/治療前) の関係

D. 考察

今回の結果では、AMD に対する TA-PDT では単独の PDT で見られるような、PDT 後早期に見られる FMERG の悪化は見られなかった。黄斑部網膜厚の変化と、FMERG の変化を比較したが、関係は見いだされなかった。PDT3 か月後の IA で PDT の照射範囲に一致した脈絡膜の低蛍光が強い群は、低蛍光が弱い群に比して FMERG b 波の振幅の悪化が大きかった。この現象は単独の PDT でも見られたが、TA-PDT の方が脈絡膜の低蛍光が強い群の b 波振幅の悪化が軽度だった。

これらの結果よりトリアムシノロンはその抗炎症作用により、PDT 後に生じる脈絡膜循環障害に伴う網膜機能障害を緩和させている可能性が示唆された。

E. 結論

AMD に対する TA-PDT では、単独の PDT でみられる治療部位の網膜機能障害は少なかった。治療部位の低蛍光が高度であると網膜機能障害も強かったが、悪化度は軽度だった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Ishikawa K et al. Focal Macular
Electroretinograms after Photodynamic
Therapy Combined with Posterior Juxtasceral
Triamcinolone Acetonide. Retina in press.

2. 学会発表

第 62 回日本臨床眼科学会

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. Ishikawa K et al. Correlation between Focal Macular Electroretinograms and Angiographic Findings after Photodynamic Therapy. Invest Ophthalmol Vis Sci 48, 2254-2259, 2007.
2. Treatment of Age-Related Macular Degeneration With Photodynamic Therapy (TAP) Study Group: Photodynamic therapy of subfoveal choroidal neovascularization in age-related macular degeneration with verteporfin: One-Year Results of 2 Randomized Clinical Trials—TAP Report 1. Arch Ophthalmol 177, 1329-1345, 1999.

36. 光線力学療法施行前後における末梢血 CD34 陽性幹細胞数の変化

牧山由希子、宇佐美有子、大谷篤史、小島洋史、佐々原学、吉村長久

(京大)

研究要旨

末梢血造血幹細胞 (HSC) は骨髄由来の幹細胞で、組織においてマクロファージやマイクログリアなどに分化する能力を持つ。HSC が光線力学療法 (PDT) という眼科局所治療で一時的に増加していることより、加齢黄斑変性の病態において眼科局所以外の因子も影響している可能性が考えられた。

A. 研究目的

これまで、CD34 陽性細胞としてみた HSC 数が滲出性加齢黄斑変性患者の末梢血中で増加していることを報告してきたが¹、更にその働きや変化を解明するために、脈絡膜新生血管 (CNV) に対する治療 (PDT) において、HSC がどのように変化しているか、更にそれに影響を与えている因子がないか検討した。

B. 研究方法

①2006年2月より2006年10月において、CNVがあり、PDTの初回単独治療を施行した黄斑変性患者22例(22眼)を対象とし、PDT施行前、2日後、2週後に採血を施行。

②flow cytometryを用いてCD34陽性細胞 (cells/ μ l) を計測。

③血清中のサイトカイン濃度をELISA法、FACS CBAシステム (BD社) を用いて測定。

C. 研究結果

各個人において HSC の経時的な変化を認めた。HSC の平均値は PDT 前 4.45 ± 1.98 個/ μ l、2日後 5.51 ± 2.23 個/ μ l、2週間後 4.51 ± 1.68 個/ μ l であり、2日後において一旦細胞数が有意に増加し ($p < 0.01$)、2週後には施行前レベルに戻っていた。

その増加率は PDT 照射径と有意に相関しており ($p = 0.02$)、PDT 照射径が大きいほど HSC の増加率が大きいことがわかった。

測定できたサイトカインの中で MCP-1 が CD34 陽性細胞と同様 2 日目で有意に増加し ($p < 0.05$)、2 週後には施行前レベルまで低下していることがわかった。MCP-1 の増加率と照射径の関係を見たところ大変強い相関をみとめ ($p < 0.01$)、PDT 照射径が大きいほど、MCP-1 の増加率が大きいことがわかった。

D. 考察

PDT 後 HSC が増加しており、PDT による骨髄からの CD34 陽性細胞の誘導または既存の末梢血幹細胞のフェノタイプの変化が考えられた。いずれにしても PDT という眼

局所治療において骨髄由来幹細胞が変化していることが解った。

PDTにより血清中 MCP-1 濃度が増加していた。MCP-1 は単球を組織に誘導する因子であり、単球は CD34 陽性幹細胞由来といわれている。実験的 CNV において PDT 後に MCP-1 の発現が増加したとの報告²もあり、ヒト CNV においても PDT 後に骨髄幹細胞由来細胞が CNV 内に一時的に誘導されている可能性が考えられた。

HSC、MCP-1 の増加は共に光感受性物質の静脈注射の影響も考えられたが、どちらも PDT 照射径と相関がみられたため、今回の実験の光感受性物質の影響は除外できたものと考えた。

E. 結論

CNV に対する PDT 施行後、末梢血中 HSC、MCP-1 濃度がともに一時的に有意に増加していた。PDT は HSC を増加させ、CNV に MCP-1 を介した細胞誘導を引き起こしている可能性が示唆された。単球はマクロファージ、マイクログリア、樹状細胞に分化するため、これらの細胞が PDT 後の CNV の治療効果、変化にかかわっている可能性が考えられた。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

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

I. 参考文献

1. Yodoi Y, Sasahara M, Kameda T, et al. Circulating hematopoietic stem cells in patients with neovascular age-related macular degeneration. Invest Ophthalmol Vis Sci 2007;48(12):5464-72.

2. She H, Nakazawa T, Matsubara A, et al. Photoreceptor protection after photodynamic therapy using dexamethasone in a rat model of choroidal neovascularization. Invest Ophthalmol Vis Sci 2008;49(11):5008-14.

37. 骨髄由来細胞の機能低下が病的脈絡膜血管新生に及ぼす影響

とそのメカニズム

佐々原学、大谷篤史、小嶋洋史、牧山由希子、吉村長久

(京大)

研究要旨 末梢血中に存在する骨髄由来幹/前駆細胞のうち、特にミエロイド系前駆細胞の働きが脈絡膜新生血管の重症度に影響を及ぼしている可能性が考えられる。機能低下したミエロイド系前駆細胞では、血管新生環境における血管退縮能が低下している可能性があり、このことが病態の重症化をもたらすメカニズムの一つかもしれない。

A. 研究目的

ヒト脈絡膜新生血管(CNV)患者において、病変サイズの大きな重症例では循環末梢血中に存在する骨髄由来細胞の細胞機能が低下傾向にあることを報告してきた。また、マウスにおけるレーザー誘発性 CNV モデルを用いて、加齢マウスの骨髄を若年マウス骨髄で置換し機能回復を行うと、CNV の重症化を抑制できることを示してきた。これらの結果は、骨髄由来細胞の細胞機能によって病的脈絡膜血管新生が大きくコントロールされる可能性を示唆している。今回、多種類の骨髄由来細胞のうち特にどの種類の細胞が重要なのか、また、細胞が機能低下した場合に CNV の拡大をもたらす分子生物学的メカニズムはどういったものなのか、ということに関して検討を試みた。

B. 研究方法

①健康人末梢血から単核球を採取し、血管新生刺激条件下でコロニー形成を5日間行わせた(Hill's assay)。培養前と5日後の細胞をそれぞれ回収し、flow cytometry を用いて13種類の表面抗原の発現率を調べた。また、若マウ

ス(8週)及び老マウス(>60週)それぞれから骨髄細胞を採取し、②コロニー形成能、③flow cytometry を用いて表面抗原の発現率、④PCR array を用いて、血管新生刺激条件下での血管新生関連因子84種類のmRNA発現量、⑤ELISA法を用いて、培養上清中の血管新生関連因子の定量、をそれぞれ検討した。

C. 研究結果

①5日間培養後の単核球細胞では、血管系マーカーであるCD144、CD146が急増する(CD144; 2.2→52%, CD146; 1.1→52%)一方で、ミエロイド系マーカーであるCD11b、CD14は高発現を維持(CD11b; 77→66%, CD14; 74→43%)していた。②老マウス骨髄細胞ではコロニー形成能が有意に低下していた。③各種表面抗原の発現率には差を認めなかった。④CD11bでソートした老マウス由来骨髄細胞ではPEDFのmRNA発現量が有意に低下していた(-3.12倍)。⑤CD11bでソートした老マウス由来骨髄細胞の培養上清中ではPEDFタンパク量が有意に低下していた($p < 0.001$)。

D. 考察

今回の研究結果はミエロイド系前駆細胞の重要性を示唆している。CNV 中でマクロファージが PEDF を分泌しているという報告は既にあるので、次の問題点として、ミエロイド前駆細胞の持つ PEDF の分泌能が生体内で本当に CNV の抑制に関与しているかどうか確かめる必要がある。また、実際のヒト CNV 患者においてミエロイド前駆細胞の PEDF 分泌能の検討も行いたい。

E. 結論

ミエロイド系前駆細胞の関与が重要と思われる。機能低下したミエロイド系骨髄由来細胞では血管新生環境における血管新生抑制因子の分泌能が低下している可能性があり、このことが CNV 伸展を引き起こすメカニズムの一つかもしれない。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. Yodoi Y et al: Circulating hematopoietic stem cells in patients with neovascular age-related macular degeneration. Invest Ophthalmol Vis Sci 48, 5464-5472, 2007.
2. Sasahara M et al: Circulating hematopoietic stem cells in patients with choroidal neovascularization secondary to pathologic myopia. Eye, 2008. Epub ahead of print.
3. Sasahara M et al: Circulating hematopoietic stem cells in patients with idiopathic choroidal neovascularization. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2008. Epub

ahead of print.

4. Otani A et al: Functional recovery of impaired bone marrow-derived myeloid progenitor cells as a new therapeutic strategy for choroidal neovascularization. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Fort Lauderdale, Florida, 2008.
5. 佐々原 学 他: 骨髄由来細胞の機能回復による脈絡膜新生血管の重症化阻止. 第 47 回日本網膜硝子体学会, 2008.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
国内特許出願済み、国際特許申請中
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

I. 参考文献

なし

38. 糖尿病網膜症に合併した滲出型加齢黄斑変性

緒方奈保子¹⁾、吉川匡宣¹⁾、和田光正¹⁾、尾辻 剛¹⁾、松岡雅人¹⁾、
松山加耶子¹⁾、高橋寛二²⁾

(¹⁾ 関西医大・滝井、²⁾ 関西医大・枚方)

研究要旨 糖尿病網膜症に合併した滲出型加齢黄斑変性について検討した。1999年から2008年までの10年間の診療録を検索し、糖尿病網膜症に滲出型加齢黄斑変性が合併した25例26眼を検討した。なお年齢が50歳以下、萎縮型および強度近視に伴う新生血管黄斑症は除外した。年齢は60～88歳(平均71.0歳)、男性23例(92.0%)女性2例(8.0%)であった。糖尿病網膜症は、単純網膜症が9眼(34.6%)、前増殖網膜症が16眼(61.6%)、増殖網膜症が1眼(3.8%)であった。滲出型加齢黄斑変性の内訳は、加齢黄斑変性が21眼(80.8%)、ポリープ状脈絡膜血管症が4眼(15.4%)、網膜血管腫状増殖は1眼(3.8%)であった。糖尿病網膜症に合併した滲出型加齢黄斑変性では日本人における滲出型加齢黄斑変性の頻度を示した報告と比較して、女性が少なくまた加齢黄斑変性が多くポリープ状脈絡膜血管症が少なかった。

A. 研究目的

近年、加齢黄斑変性(AMD)は増加傾向にある。また糖尿病網膜症患者も増加している。しかし、糖尿病網膜症にAMDが合併した多数例での報告¹⁾は少なく、その臨床像は明らかでない。そこで、糖尿病網膜症に合併した滲出型加齢黄斑変性について検討した。

B. 研究方法

対象は1999年から2008年までの10年間の診療録を検索し、糖尿病網膜症に滲出型加齢黄斑変性が合併した25例26眼。なお年齢が50歳以下、萎縮型および強度近視に伴う新生血管黄斑症、網膜線条症に伴う脈絡膜新生血管は除外した。年齢、性別、糖尿病網膜症の病期、AMDの病型について検討した。

(倫理面への配慮)

本研究は、個人のプライバシーに配慮し個人が特定できないようにした。

C. 研究結果

年齢は60～88歳(平均71.0歳)、男性23例(92.0%)女性2例(8.0%)であった。

糖尿病網膜症の病期を分類すると単純網膜症9眼(34.6%)、前増殖網膜症が16眼(61.6%)、増殖網膜症1眼(3.8%)であった。糖尿病網膜症への網膜光凝固治療は、既往ありが15眼(57.7%)既往なしが11眼(42.3%)であった。黄斑部毛細血管瘤凝固や格子状凝固の既往のある症例はなかった。

滲出型加齢黄斑変性の内訳は、狭義加齢黄斑変性が21眼(80.8%)、ポリープ状脈絡膜血管症(PCV)が4眼(15.4%)、網

膜血管腫状増殖 (RAP) は1眼 (3.8%) であった。狭義加齢黄斑変性を分類すると predominantly classic CNV が9眼、minimally classic CNV が3眼、occult with no classic CNV が9眼であった。

糖尿病網膜症の病期と滲出型AMDの病型をみると単純網膜症では9眼のうち6眼 (66.7%) がAMD、3眼 (33.3%) がPCVであった。前増殖・増殖網膜症では15眼 (88.2%) がAMD、PCVとRAPが1眼 (5.9%) ずつであった。

D. 考案

日本人AMDの過去の報告と比較すると、平均年齢に差はないが、PCVの頻度は23%から54.7%の報告^{2,3)}に対し、本研究では15.3%とPCVの頻度が低く、網膜症の進行例でその傾向が顕著であった。また、男女比に関しても女性の頻度が低い結果であった。滲出型AMDの病変タイプをみると、本研究ではpredominantly classic CNVの頻度が42.9%と他の報告^{1,3)}と比較して高く、minimally classic CNVが14.2%と低い結果であった。

E. 結論

糖尿病網膜症に合併した滲出型加齢黄斑変性は、女性に少ない。また、狭義加齢黄斑変性が最も多くPCVが少ない。

F. 健康危険情報

糖尿病網膜症に合併した滲出型加齢黄斑変性は、男性に多く、狭義加齢黄斑変性のタイプでおこることが多い。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし。

2. 学会発表

糖尿病網膜症に合併した滲出型加齢黄斑変性。吉川匡宣、緒方奈保子、和田光正、尾辻剛、松岡雅人、松山加耶子、高橋寛二。網膜硝子体学会、眼循環学会合同学会、2008年11月、京都

H. 知的財産権の出願登録状況

なし。

I. 参考文献

1. 荻野哲男, 他. 網膜血管病変に合併した加齢黄斑変性の臨床像. 臨眼 61:773-778, 2007
2. Sho K, et al. Polypoidal choroidal vasculopathy. Incidence, demographic features, clinical characteristics. Arch Ophthalmol. 2003;121: 392-396
- 3) Maruko I, et al. Clinical characteristics of exudative age-related macular degeneration in Japanese patients. Am J Ophthalmol 2007; 144: 15-22.

39. 網膜色素線条に生じた脈絡膜新生血管の特徴

山城健児、中川聡子、辻川明孝、大谷篤史、田村 寛、
大音壮太郎、佐々原学、吉村長久
(京都大)

研究要旨 網膜色素線条 (AS) に脈絡膜新生血管 (CNV) が合併することはよく知られているが、その詳細についてはあまり検討がなされていない。一般的に Gass 分類の 2 型 CNV で classic CNV が生じるとされているが、occult CNV が出現することもあるという報告がある。近年、スペクトラルドメイン光干渉断層計 (SD-OCT) により、網膜断層の詳細な検討が可能になったため、SD-OCT を用いて Gass 分類に基づいた分類を試みた。経過観察期間中に認められた CNV 30 例 54 眼のうち、3 例 5 眼 (9.3%) が 1 型に分類されると考えられ、残りの 28 例 49 眼 (90.7%) は 2 型に分類された。1 型 CNV から 2 型 CNV の出現を認めた症例もあり、さらにポリープ状脈絡膜血管症 (PCV) と考えられる所見を呈した症例もあった。以上のことから、網膜色素線条には様々な血管病態を合併し得ると考えられた。

A. 研究目的

網膜色素線条 (AS) に脈絡膜新生血管 (CNV) が合併することはよく知られているが、その詳細についてはあまり検討がなされていない。一般的に Gass 分類の 2 型 CNV で classic CNV が生じるとされているが、群馬大の森本らは 2006 年日本眼科学会総会で classic CNV が 88% で、occult CNV が 12% であると報告している。他の文献では 45% が classic CNV で、55% が occult CNV であるという報告もある。近年、スペクトラルドメイン光干渉断層計 (SD-OCT) により、網膜断層の詳細な検討が可能になったため、今回は、SD-OCT を用いて Gass 分類に基づいた分類を試みた。

B. 研究方法

対象は当科黄斑外来を受診した対象は AS 患者 35 例 (男性 19 例、女性 16 例)、平均

年齢は 62.8 ± 10.2 歳、平均経過観察期間は 35.5 ± 41.5 ヶ月であった。フルオレセイン蛍光眼底造影検査 (FA) およびインドシアニングリーン蛍光眼底造影検査 (IA) と SD-OCT 検査を施行し、病変部を精査した。

(倫理面への配慮)

本研究はレトロスペクティブな研究である。また、行われている造影検査、OCT 検査は臨床上、黄斑疾患に対する検査として一般的に行われている検査であり、倫理上問題は無いと考えられる。

C. 研究結果

経過観察期間中に CNV を認めたものは 30 例 54 眼であった。うち、13 眼は初診時から陳旧性の CNV を認めており、5 眼では経過観察中に新たな CNV の出現を認めた。OCT 所見から Gass 分類で 1 型に分類されると考えられたものが 3 例 5 眼 (9.3%、図 1) で、

残りの28例49眼(90.7%)は2型に分類された。1型に分類されたCNVのうち1眼で経過観察中に2型CNVの出現を認めた。2型CNVに乳頭鼻側のポリープ状脈絡膜血管を併発したものが2例3眼あり、また2型CNVの辺縁にポリープ状所見を認めたものが2例2眼あった。ポリープ状脈絡膜血管症(PCV、図2)から網膜下出血を契機に2型CNVを生じたものも1眼あった。



図1 網膜色素線条に合併した1型脈絡膜新生血管

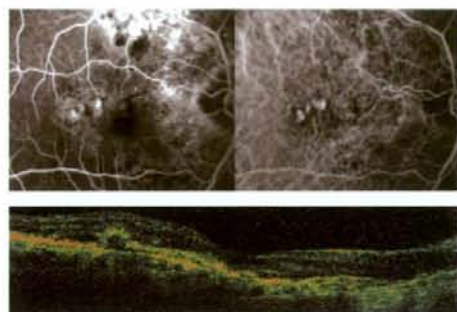


図2 網膜色素線条に合併したポリープ状脈絡膜血管症

D. 考察

ASにCNVを合併した54例中5眼(9.3%)に1型CNVを認めた。このうち1例では、1型CNVから2型CNVを生じた。PCVから網膜下出血を契機に2型CNVが生じたと考えられる症例が1眼あり、他にも視神経乳頭鼻側や2型CNVの周辺にポリープ状脈絡膜血管を認めた症例もあった。

E. 結論

網膜色素線条に合併するCNVは、1割程度

が1型CNVであると考えられ、また、ポリープ状脈絡膜血管も1割程度に認められたことから、網膜色素線条には様々な血管病態を合併し得ると考えられた。

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

I. 参考文献

1. Arvas S, Akar S, Yolar M, Yetik H, Kizilkaya M, Ozkan S. Optical coherence tomography (OCT) and angiography in patients with angioid streaks. Eur J Ophthalmol. 2002 Nov-Dec;12(6):473-81.

40. ブルッフ膜生成機序とベストロフィン

高瀬綾恵、安川 力、西脇晶子、佐藤里奈、小椋祐一郎

(名古屋市大)

研究要旨 ベスト病は若年性に発症する遺伝性黄斑変性疾患であり、ベストロフィンの変異が関与していることが分かっている。ベストロフィンは最近ではカルシウムイオン (Ca^{2+}) 活性化塩素イオン (Cl^-) チャネルとして働くと言われているが、その機能は明らかになっていない。我々はベストロフィンがブルッフ膜生成に関わっているのではないかと考え、網膜色素上皮 (RPE) 細胞の三次元培養システムを用いて、その関連性について検討した。ヒト RPE 細胞を 96 穴丸底培養皿でメチルセルロース添加培養液を使用して培養すると、表層を一層の RPE 細胞で覆われた球状の細胞塊ができる。細胞球の表面はまずアクチンフィラメントを含む葉状仮足で被覆され、ついでその中にエラスチンが分泌され、弾性線維を形成してブルッフ膜の主要構成成分となることが観察された。ところが、ベストロフィン-1 特異的 siRNA をヒト RPE 細胞に作用させるとアクチンフィラメント構造は粗雑で、細胞球の体積の減少率が通常の細胞球より大きかった。また、ヒト RPE 細胞で細胞球作成後一週間目に Cl^- チャネルブロッカーを作用させても、アクチンフィラメント構造が失われたが、 Ca^{2+} ブロッカーを同時に作用させるとフィラメント構造は保存されていた。本研究より、アクチンフィラメントがブルッフ膜生成に重要で、ベストロフィンはこのアクチンフィラメントを含む葉状仮足の形成に関与していることが示唆された。ベスト病ではこのベストロフィンの異常により、ブルッフ膜生成機序に支障が生じているものと推察された。

A. 研究目的

ベスト病は常染色体優性遺伝性の進行性黄斑変性疾患である。若年期に発症し、初期には黄斑部に卵黄状の物質が蓄積した眼底所見を示す。また眼電位図において、L/D 比が低下することにより診断できる。ベストロフィン-1 遺伝子が原因遺伝子であることが分かっている。ベストロフィン-1 遺伝子にコードされるベストロフィンは膜タンパク質で、RPE 細胞の

基底外側に存在することが分かっている。最近では Ca^{2+} 活性化 Cl^- チャネルとして機能するといわれている。しかし、ベストロフィンの生体における機能は明確にされておらず、ベストロフィンの変異がどのようにベスト病に影響しているかは未だわかっていない。今回我々はベストロフィンが RPE の基底外側にあることから、ブルッフ膜の生成に関わっているのではないかと考え、RPE 細胞の三次元培養シ

ステムを用いて、検討した。

B. 研究方法

ドイツアイバンク協会より得たヒト RPE 細胞を 96 穴丸底プレートでメチルセルロースを含んだ培養液で培養すると、RPE 細胞が凝集し、表層に一層の RPE 細胞が並んだ球状の細胞塊ができた。内部の RPE 細胞はアポトーシスに至り、その成分は表層の RPE 細胞に貪食された。また細胞球はブルッフ膜で覆われた。一部のヒト RPE 細胞にベストロフィン特異的 siRNA を作用させて細胞球を作成し、形態的变化及びアクチンの発現について検討した。また細胞球作成後一週間目に Cl⁻チャンネルブロッカー及び Ca²⁺チャンネルブロッカーを一時間作用させ、同様に検討した。

(倫理面への配慮) 網膜色素上皮細胞の使用にあたってはドイツアイバンク協会の規定にしたがった。

C. 研究結果

細胞球作成後一週間目に走査型電子顕微鏡で観察すると、細胞球の表面が葉状仮足で覆われているのがわかった (図 1)。

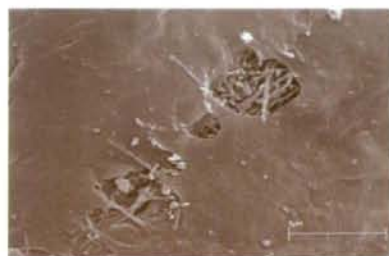
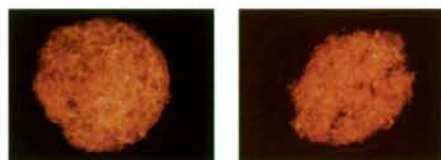


図 1 走査型電子顕微鏡図

また抗エラスチン抗体を使用し、免疫染色を行うと葉状仮足内にエラスチンの発現が認められた。ベストロフィン特異的 siRNA でベストロフィンを抑制すると、細胞球の直径の減少率が有意に大きいことが分かった。

細胞球作成後一週間目でファロイジン染色を施行すると、ベストロフィンを抑制しなかったものではアクチンフィラメントの形成が認められたが、ベストロフィンを抑制したものではフィラメント構造ははっきりせず顆粒状に染色された (図 2)。



コントロール ベストロフィン
-1 siRNA

図 2 細胞球のファロイジン染色

次に Cl⁻チャンネルブロッカー、Ca²⁺チャンネルブロッカーを作用させたものを比較すると、Cl⁻チャンネルブロッカーを作用させたものは、ベストロフィンを抑制させたものと同様に、アクチンは顆粒状に散在した。一方、Ca²⁺チャンネルブロッカーを同時に作用させるとフィラメント構造が保存されていた。

D. 考察

ベストロフィンはアクチンがフィラメント構造へ重合するのに必要であると推測された。

E. 結論

以上の結果より、ブルッフ膜生成の最初の過程としてアクチンフィラメントの形成を伴う葉状仮足が伸展すると推測される。葉状仮足同士が融合し、エラスチンが分泌され、弾性線維が形成される。次にIV型コラーゲン I型コラーゲンが分泌され、ブルッフ膜の主要成分となると考えられる。ベストロフィンが変異すると葉状仮足が形成されにくくなり、ブルッフ膜の形成が円滑におこなわれなくなるため、リポフスチンの蓄積が亢進し、高度にブルッフ膜のメンテナンス必要となるようになると、なんらかのきっかけでベスト病が発症すると考えられる。

F. 健康危険情報

特記すべき事項なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Takase A et al: Suppressive effect of short-interfering RNA on hyperglycemia-induced expression of intracellular adhesion molecule-1 on cultured vascular endothelial cells. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 246: 989-992, 2008.

2. 学会発表

Ayae T et al: Role of bestrophin in basal membranogenesis of retinal pigment epithelium. *The Association for Research in*

Vision and Ophthalmology (ARVO), Fort Lauderdale, Florida, 2008

H. 知的財産権の出願・登録状況

特記すべき事項なし。

I. 参考文献

Okubo A et al: The relationship of age changes in retinal pigment epithelium and bruch's membrane. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 40, 443-449, 1999.

Sun H et al: The vitelliform macular dystrophy protein defines a new family of chloride channels. *PNAS* 99, 4008-4013, 2003.

41. 網膜色素上皮のリポ蛋白産生とアミロイド β の関連

佐藤里奈、安川 力、高瀬綾恵、西脇晶子、小椋祐一郎
(名古屋市大)

研究要旨 アミロイド β はアルツハイマー病の老人斑などで認められ、病態への関与が示唆されているが、最近ドルーゼン内にも存在することが示唆されている。網膜色素上皮 (RPE) 細胞の3次元培養システムを使用してリポ蛋白産生とアミロイド β の生理機能との関連を検討した。ヒト RPE 細胞を 96 穴丸底培養皿にメチルセルロース添加培養液で培養を行うと、1層の上皮で囲まれた球状細胞塊が形成され、表層にブルッフ膜形成と徐々に小さくなりながら外側へのリポ蛋白の排泄が観察できる。アミロイド前駆蛋白からのアミロイド β 遊離に働いている β および γ セクレターゼの阻害剤をそれぞれ培養液に混ぜると、コントロール群に比べて、細胞球の直径は観察期間を通じて大きく、リポ蛋白を含む排泄物は少なく細胞表面は平滑であった。免疫染色にて、リポ蛋白の構成成分である ApoB-100 とブルッフ膜の主要成分のエラスチンがコントロール群の方でより染色された。これらより、セクレターゼ阻害剤でアミロイド β 産生を阻害すると、リポ蛋白排泄およびエラスチン産生は低下した。ブルッフ膜のメンテナンスを伴うリポ蛋白産生にアミロイド前駆蛋白は関与しており、その副産物としてアミロイド β が放出されている可能性が示唆された。

A. 研究目的

ドルーゼン内にアミロイド β の発現を認め、加齢黄斑変性との関連が示唆されている。アミロイド β は、膜結合型蛋白であるアミロイド前駆タンパクが β セクレターゼ、 γ セクレターゼで分解を受けて、アミノ酸の数が 40 もしくは 42 のアミロイド β が放出される。アルツハイマー病における老人斑に局在していて、オリゴマーを形成したり、さらに凝集したりして、細胞障害や炎症に関わっていると考えられている。また、アミロイド β には ApoE 結合部位があり、ApoE はアミロイドの凝集を抑制していると報告されているが、RPE は ApoE の他に、ApoB-100 を構成成分に持つリポ蛋白を放出することがわかっている。そこでアミロイドとリポ蛋白との

関連性について検討した。

B. 研究方法

ヒト RPE 細胞を 96 穴丸底培養皿にメチルセルロース添加培養液で培養を行うと、表層にブルッフ膜側を外側にした 1層の上皮を持つ球状細胞塊が形成される。アミロイド前駆蛋白からのアミロイド β 遊離に働いている β および γ セクレターゼの阻害剤をそれぞれ培養液に混ぜて、1週間後にその細胞球を回収し、光学顕微鏡で細胞球の直径、表面のリポ蛋白を含む排泄物の有無や形態を観察した。また、ApoB-100、エラスチンの局在を調べるために免疫染色を行った。

(倫理面への配慮)

網膜色素上皮細胞の使用にあたっては、ド

イツアイバンク協会の規定に従った。

C. 研究結果

細胞球の直径は各セクレターゼ群でコントロールより観察期間を通じて大きかった。

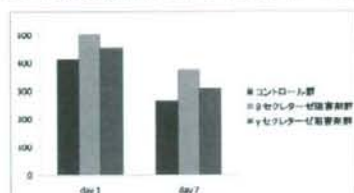


図 1. 1週間後の細胞球の直径

リポ蛋白を含む排泄物はβおよびγセクレターゼ阻害剤群において、コントロール群より少なく、細胞表面は平滑であった。



図 2. 1週間後の細胞表面の形態

免疫染色ではリポ蛋白の構成成分であるApoB-100とブルッフ膜の主要構成成分であるエラスチンがコントロール群の方でより染色され、リポ蛋白の排泄に伴い、ブルッフ膜のメンテナンスが盛んに行われていると考えられる。

D. 考察

セクレターゼ阻害剤でアミロイドβ産生を阻害すると、リポ蛋白排泄およびエラスチン産生は低下した。ブルッフ膜のメンテナンスを伴うリポ蛋白産生にアミロイド前駆蛋白の関与が示唆された。

E. 結論

リポ蛋白が細胞膜から発芽分離するためにアミロイド前駆蛋白は必要で、副産物とし

てアミロイドβが放出されるのではないかと考えられる。また、ブルッフ膜を超えた大型のリポ蛋白放出にはブルッフ膜の再構築が必要であると思われる。

F. 健康危険情報

特記すべき事項なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Sato R et al: Early-onset macular holes following ruptured retinal arterial macroaneurysms. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 246, 1779-1782, 2008

2. 学会発表

Yasukawa T et al: Three-dimensional spheroid culture system redifferentiates retinal pigment epithelial cells independent of the number of passages. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Fort Lauderdale, Florida, 2008

H. 知的財産権の出願・登録状況

特記すべき事項なし。

I. 参考文献

Anderson DH, et al. Characterization of β amyloid assemblies in drusen: the deposits associated with ageing and age-related macular degeneration. Exp Eye Res. 2004;78:243-256.

Johnson LV, et al. The Alzheimer's A beta peptide is deposited at sites of complement activation in pathologic deposits associated with aging and age-related macular degeneration. PNAS. 2002;99:11830-11835

42. 加齢黄斑変性およびポリープ状脈絡膜血管症における

ARMS2 遺伝子 c.*372_815del443ins54 多型

安間哲宏、中村 誠、菊池雅人、石川浩平、西原裕晶、西口康二、寺崎浩子
(名古屋大)

研究要旨 加齢黄斑変性 (AMD) に関連する遺伝子多型として最近新たに報告された ARMS2 遺伝子の c.*372_815del443ins54 多型 (del443 多型) について、当院の滲出型 AMD およびポリープ状脈絡膜血管症 (PCV) 症例における関連を検討した。その結果、本多型が認められ、既報の AMD 関連一塩基多型 (SNP) である rs10490924 / rs11200638 と連鎖不均衡の関係にあり、滲出型 AMD および PCV との強い関連が認められた。

A. 研究目的

加齢黄斑変性 (以下、AMD) に関連する遺伝子多型として最近新たに報告された ARMS2 遺伝子の c.*372_815del443ins54 多型 (del443 多型) ¹⁾ について、当院の AMD およびポリープ状脈絡膜血管症 (PCV) 症例における関連を検討した。

B. 研究方法

名古屋大学医学部附属病院 (以下、当院) を受診した黄斑変性の患者について、眼底検査、HRA2 (TM) による FA/IA 造影検査等により病型により分け、AMD 群、ポリープ状脈絡膜血管症 (以下、PCV) について解析した。滲出型 AMD は造影検査で脈絡膜新生血管を確認できた症例を、PCV は日本ポリープ状脈絡膜血管症研究班の診断基準 (日眼 2005) における“確実例”である症例を対象とした。文書による同意を得たのち、アンケート調査を行い、末梢血より DNA を調整し、各多型の遺伝子型を PCR 法、およびダイレクトシーケン

法により決定した。黄斑に異常のない患者を参考として同様の方法で調べた。一塩基多型の rs10490924⁴⁾、rs11200638^{2,3)} および del443 多型の遺伝子型を決定し、SPSS 17.0TM および R haplo.stat package を用いて統計解析を行った。

(倫理面への配慮)

当院の倫理委員会の承認を得た上で、十分な説明をしたのち、文書による同意を得て実施した。

C. 研究結果

AMD 186 名と、PCV 100 名、黄斑疾患を持たない 139 名で、平均年齢は各々 74.4、71.1、70.4 歳であった。対象者の背景因子を AMD 患者、PCV 患者、黄斑疾患を持たない者の各群間で検討したが、AMD 患者と PCV 患者で有意差を認めたものは年齢のみであった。del443 多型の配列を検討したところ、以前の報告¹⁾と同様であった。Del443 多型アレルの頻度は AMD 患者で 63.4%、PCV 患者で 51.9%、対照例で

36.3%だった。ロジスティック回帰分析を用い年齢・性別を補正した上での del443 多型の疾患オッズ比は、AMD で 1.84・6.72 (ヘテロ・ホモ)、PCV で 3.23 (ホモ) であった。同様に、年齢・性別・既往歴・肥満度・喫煙歴で補正したオッズ比は、AMD で 2.3・9.7 (ヘテロ・ホモ)、PCV で 4.3 (ホモ) であった。Rs10490924, del443 多型, rs11200638 の連鎖不均衡係数 D' は 0.96~0.99 であり、連鎖不均衡の関係が確認された。

D. 考察

rs11200638 と rs10490924 は、いずれも 10q25-10q26 上の一塩基多型であり、ゲノム上では 6kbp 離れているが、完全に連鎖不均衡の関係にある^{2,3)}。今回報告する del443 多型は、これらの中間の位置にあり、これも完全に連鎖不均衡の関係にある。これらの SNP および、del443 多型は邦人でも AMD 発症に強く関連することが示されている。rs11200638 は HTRA1 遺伝子のプロモータ領域にあり、AP-2 α 、SRF などの転写因子の結合部位にあると推定²⁾されている。rs11200638 のリスクアレルを持つ患者ではリンパ球の mRNA レベルで HTRA1 発現が変化していると報告されている²⁾。また、HTRA1 は、TGF ファミリの機能を調整しているとされ、卵巣腫瘍患者で減少しているという報告があるセリンプロテアーゼの一種であるが、その機能については詳細はわかっていない。一方、rs10490924 は ARMS2 の遺伝子コーディング領域でミスセンス変異を起こす SNP である⁴⁾が、機能がわかっていない。今回の del443 多型は、ARMS2 の 3'UTR に存

在し、ポリアデニレーション形成部位を欠失させ、挿入される配列は mRNA を不安定にするとされているモチーフを持ち、mRNA およびタンパク発現を低下させると報告された。¹⁾このため、今までに報告されてきた SNP よりも意義が大きいと考えられ、AMD との関連を引き起こす部位として有力視される。本研究により、日本人でも同様の疾患関連遺伝子が再確認された。

E. 結論

AMD の疾患関連多型である del443 多型は日本人にも存在し、滲出型 AMD および PCV との関連が確認された。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

I. 参考文献

1. Fritsche et al.: Age-related macular degeneration is with an unstable ARMS2 (LOC387715) mRNA. : Nature Genetics. : 892-6, 2008
2. Yang et al.: A variant of the HTRA1 gene increases susceptibility to age-related macular degeneration. Science 314 : 992-3, 2006
3. Dewan et al.: HTRA1 promoter polymorphism in wet age-related macular degeneration. Science