

図5 プロリンによる保護効果

5. 網膜色素上皮細胞のオルニチンの細胞毒性は、中性および非電荷極性アミノ酸によって軽減した(図6)。

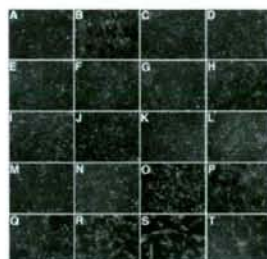


図6 中性アミノ酸によるオルニチンの網膜色素上皮細胞障害の抑制

D. 考察

脳回転状脈絡網膜萎縮症患者では OAT が欠損しており、本モデルはその病態を反映すると考えられ、オルニチンによる網膜色素上皮細胞障害にはスベルミンが関与することが示唆された。ウシ初代培養網膜色素上皮細胞に5mMの5-FMOrnを作用させてOAT失活させて10mMのオルニチンを負荷したところオルニチンの細胞毒性が敷石状の形態を示すサブグループのみにみられ、網膜色素上皮細胞が形態のみならず生化学的な性質にヘテロ性を有することを示したものであると考察する。このような網膜色素上皮細胞のヘテロ性が脳回転状脈絡網膜萎縮症の特徴的な眼底所見に関連があるのではないかと推察する。網膜色素変性

症の発症、進行のメカニズムにも網膜色素上皮細胞のヘテロ性が関与するならば、赤道部あたりから始まり次第に周辺部および黄斑部に病変が進行する病変のメカニズムを明らかにする手がかりになると考えられる。

E. 結論

脳回転状脈絡網膜萎縮症の *in vitro* モデルを確立し、OAT欠損と高オルニチンによる網膜色素上皮細胞障害にアミノ酸輸送とポリアミンが関連していることが示唆された。本モデルを応用すれば網膜色素変性症の病態解明と治療法の開発に役立てることが出来るのではないかと思われる。

F. 健康危険情報

本項に関連する事項は見られなかった。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Ueda M, Masu Y, Ando A, Maeda H, Del Monte MA, Uyama M, Ito S. Prevention of Ornithine Cytotoxicity by Plorine in Human Retinal Pigment Epithelial Cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 39, 820-827, 1998.
2. Ando A, Ueda M, Uyama M, Masu Y, Okumura T, Ito S. Heterogeneity in ornithine cytotoxicity of bovine retinal pigment epithelial cells in primary culture. *Exp Eye Res.* 70, 89-96, 2000.
3. Nakauchi T, Ando A, Ueda-Yamada M, Yamazaki Y, Uyama M, Matsumura M, Ito S. Prevention of ornithine cytotoxicity by nonpolar side chain amino acids in retinal pigment epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 44:5023-5028, 2003.
4. Cytotoxic effect of spermine on retinal

pigment epithelial cells. Kaneko S, Ueda-Yamada M, Ando A, Matsumura S, Okuda-Ashitaka E, Matsumura M, Uyama M, Ito S. Invest Ophthalmol Vis Sci. 48:455-463, 2007.

2. 学会発表

1. Ueda M, Ando A, Uyama M, Masu Y, Ito S, Del Monte MA. Human Retinal Pigment Epithelial (RPE) Cell Degeneration by Ornithine and Ornithine- δ -Aminotransferase (OAT) Inhibitor, and Its Prevention by Proline. ARVO, Florida, USA, 1998.
2. 安藤彰、植田真未、前田英美、宇山昌延、益康夫、伊藤誠二. 脳回転状網膜脈絡膜萎縮症における網膜色素上皮細胞変性の in vitro モデル系の確立. 第102回日本眼科学会総会、福岡、1998.
3. Ando A, Ueda M, Uyama M, Masu Y, Ito S. Heterogeneity in ornithine sensitivity of bovine retinal pigment epithelial (RPE) cells. XIII International Congress of Eye Research, Paris, France, 1998.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

I. 参考文献

1. Simell O, Takki K. Raised plasma-ornithine and gyrate atrophy of the choroid and retina. Lancet. 1973; i:

1031-1033.

2. Wang T, Milam AH, Steel G, Valle D. A mouse model of gyrate atrophy of the choroid and retina. Early retinal pigment epithelium damage and progressive retinal degeneration. J Clin Invest. 1996;97:2753-2762.

51. 一般住民における病的近視の有病率と眼軸長分布

野田佳宏^{1) 2)}、安田美穂¹⁾、畑 快右¹⁾、清原 裕³⁾、飯田三雄⁴⁾、石橋達朗¹⁾

(¹⁾九州大、²⁾九州大医療情報学、³⁾九州大環境医学、⁴⁾九州大病態機能内科学)

研究要旨 【背景・目的】日本人には近視が多く、また増加傾向にあると推測されているが成人一般住民における病的近視の大規模な調査は皆無であるため、実態把握が困難であった。そのため本研究では日本人一般住民における病的近視の有病率と眼軸長との関係を調査した。

【対象】2005年に福岡県久山町に在住している40歳以上の男女を対象とした。2005年の久山町健診を受診され(受診率45%)、疫学同意を得た1969人のうち、1895人(96%)が眼科検診に参加した。このうち、病的近視以外の眼疾患がなく、眼底写真、眼軸長が解析可能な精度で測定できた1739名を解析の対象とした。

【方法】眼疾患および病的近視の判定には眼底写真を用いた。病的近視は既報に基づいてグレーディングを行った。眼軸長の測定にはZeiss社のIOL Master™を用いた。

【結果】病的近視(片眼または両眼)の有病率は2.5%であった。また両眼性の病的近視の有病率は1.0%、脈絡膜新生血管またはその痕跡と思われる病態が観察されたのは住民全体の0.3%であった。多変量解析では病的近視と年齢・眼軸長に関連が認められた。Receiver operating characteristic curve(受信者動作特性曲線)により病的近視に基づく正常眼軸のカットオフ値は約25.3mmから25.5mmであった。

【結論】日本人一般住民における病的近視の有病率は2.5%であった。長眼軸の他に高齢であることも病的近視の危険因子である。また正常眼軸と長眼軸のカットオフ値は約25.3mmから25.5mm付近にあると推測された。このカットオフ値を超える眼軸をもつ高齢者は定期的に経過を観察することが望ましいと思われる。

A. 研究目的

屈折と眼疾患の関連は未知の領域が大きい。アジア人には近視が多く¹⁾、また増加傾向にあると推測されているが一般住民における大規模な調査は少ない^{1,2)}。

眼軸長は屈折に最も影響する要素であることは一般的に知られていることであるが、高齢者の屈折には白内障の影響を考慮する必要がある。一方、眼軸長の測定は白内障の影響を受けにくい³⁾ため、高齢者の近視を把握するのに適した手段である。

そして過去に日本人で病的近視と眼軸長を一般住民で検討した報告は皆無である。これらをふまえて、今回日本人成人一般住民における病的近視と眼軸長について検討するに至った。

B. 研究方法

【対象】2005年に福岡県久山町に在住している40歳以上の男女を対象とした。2005年の久山町健診を受診され(受診率45%)、疫学同意を得た1969人のうち、1895人

(96%)が眼科検診に参加した。このうち、病的近視以外の眼疾患がなく、眼底写真、眼軸長が解析可能な精度で測定できた1739名を解析の対象とした。

【方法】

《眼底写真》トプコン社無散瞳眼底カメラTRC-NW200を無散瞳下で使用した。小瞳孔のため無散瞳で写真が鮮明でない場合は散瞳して撮影した。

《眼軸長》Zeiss社IOL Master™を用いて角膜頂点から網膜色素上皮層までの長さを測定した。角膜疾患や中間透光体の混濁のため測定不能であった症例は解析から除外した。

《病的近視の判定・分類》

既報のように病的近視変化なし(グレード0)からグレード5まで分類した。即ちグレード1は後部ぶどう腫がなく、脈絡膜の蒼白状またはモザイク状の変化がみられるもの、グレード2はグレード1の変化に後部ぶどう腫があるもの、グレード3はグレード2の変化に加えてlacquer cracksのあるもの、グレード4は深部まで脈絡膜萎縮が巣状にみられるもの、グレード5は後極に大きな萎縮病変があるものである。グレード1からグレード5までを病的近視ありとして統計解析を行った。

《統計解析》病的近視と関連する因子をロジスティック回帰分析を用いて解析した。年齢・眼軸長・身長は正規分布に近いことを確認した後に連続量として扱った。性別はカテゴリー変数として扱った。また病的近視の出現する眼軸長のカットオフ値をReceiver Operating Characteristic (ROC) 曲線を用いて算出した。全ての解析にはSAS 8(SAS社) または JMP 7(SAS社)を用

いた。

(倫理面への配慮)

この研究は九州大学の倫理委員会の許可を得ている。また研究の対象者全員に書面で同意を得ている。

C. 研究結果

病的近視(片眼または両眼)の有病率は2.5%であった。また両眼性の病的近視の有病率は1.0%、脈絡膜新生血管またはその療痕と思われる病態が観察されたのは住民全体の0.3%であった。(表1)

年齢階級別には有病率を求めると、年齢階級が上がると有病率も上昇する傾向が認められた。(図1)

表1 病的近視の有病率

	Cases	Prevalence
片眼/両眼の病的近視	43	2.5%
両眼の病的近視	18	1.0%
近視による脈絡膜新生血管/療痕形成	6	0.3%

図1 病的近視の年齢階級別有病率

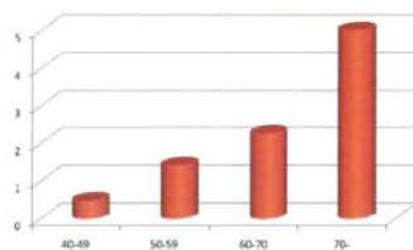


表2 病的近視の危険因子

	Ref.	Relative risk	95% confidence interval	P value
年齢	10歳	2.3	1.3 - 3.9	0.003
性別	男性	1.0	0.2 - 5.0	0.99
身長	1cm	0.9	0.8 - 1.0	0.11
眼軸長	1mm	4.2	3.1 - 5.8	<0.0001

病的近視と関連する因子をロジスティック回帰分析で検討したところ、年齢、眼軸長に有意な相関が見られた。年齢は10歳上がる毎に2.3倍、眼軸長は1mm長くなる毎に4.2倍の相対危険となった。(表2)

眼軸長10分位別の病的近視有病率の検討では10分位目で有病率が急峻に上昇したため(図2)病的近視の出現する眼軸長のカットオフ値をReceiver Operating Characteristic (ROC)曲線を用いて算出した。推定されたカットオフ値は右眼のデータを用いた場合25.32mm、左眼では25.45mmであった。

図2 眼軸長10分位別の病的近視有病率

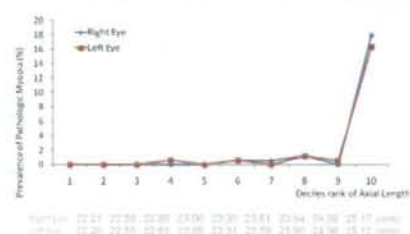
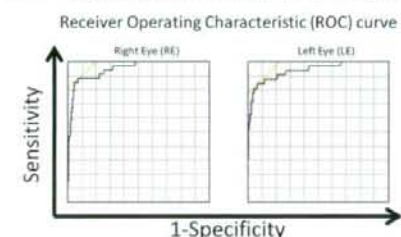


図3 病的近視に関する眼軸長のカットオフ値の推定



D. 考察

何らかの近視性眼底変化をもつ日本人の割合は40歳以上で2.5%、近視により著し

く視機能が損なわれていると考えられる割合は0.3%であった。同じく久山町研究では加齢黄斑症/加齢黄斑変性の有病率(50歳以上)を過去に算出しており、加齢黄斑症全体では約13%、加齢黄斑変性は約0.9%であった。単純な比較は難しいが近視による黄斑変性は1/3~1/5のインパクトがあるのではないかと考えられ、これらの疾病の治療の確立や予防対策には一定の効果があると思われる。

病的近視と眼軸長は病的近視と有意に関連した。眼軸長は若年者ほど長い傾向があり、今後日本全体として高齢化が進むことから病的近視患者が増加することが予想される。また25.3mm~25.5mmを超える眼軸長を持つ場合は病的近視の有病率が急峻に上昇したことから、長眼軸を有する集団をハイリスク群として扱うことで病的近視を早期に発見し重篤化を防ぐことが可能かもしれない。

今回の結果では男女差を認めなかったが、我が国では女性が病的近視の危険因子であると経験的に語られている。女性は男性より平均年齢が高く、そのため性別の影響がマスクされた可能性がある。しかし今後さらなる検討が必要であると考えた。

E. 結論

日本人一般住民における病的近視の有病率は2.5%であった。長眼軸の他に高齢であることも病的近視の危険因子である。また正常眼軸と長眼軸のカットオフ値は約25.3mmから25.5mm付近にあると推測された。このカットオフ値を超える眼軸をもつ高齢者は定期的に経過を観察することが望ましいと思われる。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表 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. Xu L, Li J, Cui T et al. Refractive error in urban and rural adult Chinese in Beijing. *Ophthalmology*. 112: 1676-1683, 2005.
2. Shufelt C, Fraser-Bell S, Ying-Lai M et al. Los Angeles Latino Eye Study Group. Refractive error, ocular biometry, and lens opalescence in an adult population: the Los Angeles Latino Eye Study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 46: 4450-4460, 2005.
3. Avila MP, Weiter JJ, Jalkh AE, et al. Natural history of choroidal neovascularization in degenerative myopia. *Ophthalmology* 91:1573-1581, 1984.

52. 網膜静脈閉塞症の有病率および9年発症の検討

: 久山町研究

荒川 聡¹⁾、安田美穂¹⁾、畑 快右¹⁾、石橋達朗¹⁾、清原 裕²⁾

(¹⁾九州大、²⁾九州大環境医学)

研究要旨 福岡県久山町における地域住民を対象として、網膜静脈閉塞症の有病率を算出し、さらにその後の追跡調査により9年発症率を検討した。1998年の有病率は2.1%（網膜静脈分枝閉塞症 2.0%、網膜中心静脈閉塞症 0.2%）、2007年では1.9%（網膜静脈分枝閉塞症 1.8%、網膜中心静脈閉塞症 0.1%）であり、9年発症率は2.0%であった。有病率、発症率ともに諸外国と比べ高率であった。

A. 研究目的

本邦において、地域一般住民を対象とした網膜静脈閉塞症（RVO）の有病率の時代的变化や長期間における発症率を検討した報告はほとんどない。アジアでの有病率、発症率は欧米と比べ低いとされて報告されている。本研究では、福岡県久山町の一般住民を対象とし、有病率と9年間追跡での発症率を算出することを目的とした。

B. 研究方法

1998年に眼科健診を含む久山町成人健診を受診した福岡県久山町在住の40歳以上の住民1775人、および2007年に眼科健診を含む久山町成人健診を受診した2952人を対象として有病率を算出した。また、1998年受診者のうち、RVO既発症者38人を除く1737人を9年間追跡し、2007年に再度住民健診を受診した1341人を対象として発症率を算出した（追跡率77%）。RVOの診断は両眼散瞳後に撮影した眼底写真および眼底写真から行い、網膜静脈分

枝閉塞症（BRVO）と網膜中心静脈閉塞症（CRVO）に分類し、どちらか一方の眼にBRVOもしくはCRVOを有しているものをRVO患者と定義した。

C. 研究結果

1998年におけるRVO有病率2.1%（BRVO 2.0% CRVO 0.2%）であり、2007年でのRVO有病率は1.9%（BRVO 1.8% CRVO 0.1%）であり、男女間に統計学的有意差は認めなかった。

また、9年間の追跡調査の結果、全27名のRVO発症を認め、RVO発症率は2.0%（BRVO 1.9% CRVO 0.1%）であり、年齢階級別に発症率を求めると、年齢とともに発症率が増加した（図1）。

D. 考察

RVOの有病率および発症率について数報の報告があるが、アジアにおける一般住人を対象とした大規模の前向きコホート研究はない。今回、われわれは日本人の一般住

人(40歳以上)における有病率および9年間発症率を検討した。

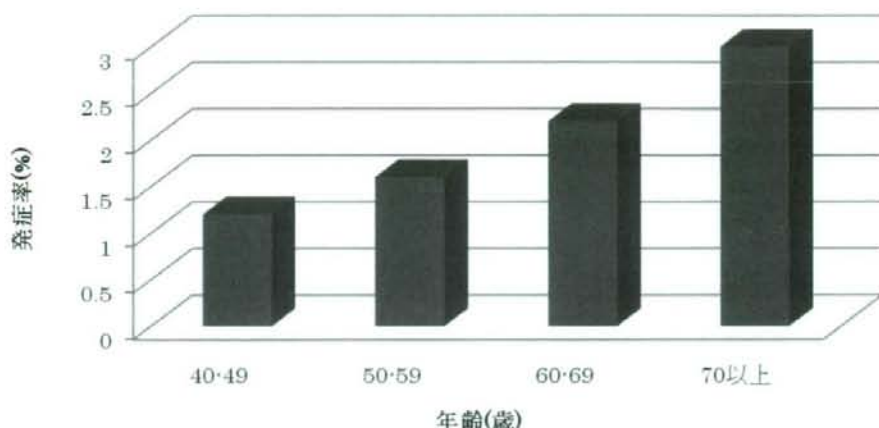


図1 RVO発症率(年齢階級別)

RVOの有病率は1.9%(1998年)、2.1%(2007年)であり、欧米と比べ高く、他のアジアでの報告よりも高率であった。また、1998年と比べると2007年では有病率は0.2%減少していたが、統計学的に有意差はなかった。有病率の変化は、健診受診率の差によるバイアスが影響している可能性があると考えられた。(1998年と比較して2007年では受診率が大幅に上昇した)

他方、発症率も有病率と同様に他の報告と比べ高い結果であった。今回検討した9年発症率を10年に換算すると10年発症率は2.2%であり、欧米での1.6%と比べても高率であった。

E. 結論

日本の地域一般住人(40歳以上)を対象とした横断研究および前向き追跡調査において、有病率および発症率は欧米およびアジア諸国と比べ高率であった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

I. 参考文献

1. Mitchell P *et. al* Prevalence and Association of Retinal Vein Occlusion in Australia: The Blue Mountains Eye Study *Arch Ophthalmol* 1996;114:1243-1247

2. Wong T.Y. *et.al* Cardiovascular Risk Factors for Retinal Vein Occlusion and Arteriolar Emboli *Ophthalmology* 2005;112:540-547

3. Liu W.*et.al* Vein Occlusion in Chinese subjects :The Beijing Eye Study
Ophthalmology 2007;114:1795-1796

4. Lim L.L. *et.al* Prevalence and risk factors of retinal vein occlusion in an Asian population; The Singapore Malay Eye Study
Br J Ophthalmol 2008;92:1316-1319

5. Cheung N *et.al* Traditioinal and Novel Cardiovascular Risk Factors for retinal Vein Occlusion:The Multiethnic study of Atherosclerosis *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49:4297-4302

6. Kashiwagi K *et. al* De Novo Age-related Retinal Disease and Intraocular-pressure Changes During a 10-year Period in a Japanese Adult Population
Jpn J Ophthalmol 2005;49:36-40

7. Cugati S *et.al* Ten-year Incidence of retinal Vein Occlusion in an Older Population: The Blue Mountain Eye Study
Arch Ophthalmol 2006;124:726-732

8. Klein R *et.al* The 15-Year cumulative Incidence of Retinal Vein Occulusion: The Beaver Dam Eye Study
Arch Ophthalmol 2008;126(4):513-518

53. 網膜静脈閉塞症の発症に関する全身因子の検討

: 久山町研究

安田美穂¹⁾、荒川 聡¹⁾、畑 快右¹⁾、石橋達朗¹⁾、清原 裕²⁾

(¹⁾九州大、²⁾九州大環境医学)

研究要旨 福岡県久山町における地域住民を対象とし、網膜静脈閉塞症 (RVO) とその全身の危険因子を検討した。全身の危険因子では、年齢、高血圧、ヘマトクリット値が RVO と有意な関連を認めた。高血圧は、正常高値血圧のレベル (収縮期血圧 130-139mmHg、拡張期血圧 85-89mmHg) から有意にリスクが上昇した。ヘマトクリット値の上昇と高血圧が合併するとことによりそのリスクはさらに高まった。

A. 研究目的

わが国では地域一般住民を対象として、網膜静脈閉塞症 (RVO) とその全身の危険因子を検討した報告はあまりみられない。そこで福岡県久山町の地域一般住民における RVO の有病率とその危険因子を調査することを目的とした。

B. 研究方法

1998 年に眼科健診を含む久山町成人健診を受診した福岡県久山町在住の 40 歳以上の住人 1775 人を対象として RVO に関わる全身の危険因子を検討した。解析に用いた危険因子は、年齢、性別、高血圧、収縮期血圧、拡張期血圧、糖尿病、メタボリックシンドローム、高脂血症、総コレステロール、LDL コレステロール、HDL コレステロール、中性脂肪、Body Mass Index、心電図異常、喫煙、飲酒、運動、脳卒中の既往、心疾患の既往、ヘマトクリット値、白血球数、血小板数である。

RVO の診断は両眼散瞳後に撮影した眼底

写真および眼底写真から行い、網膜静脈分枝閉塞症 (BRVO) と網膜中心静脈閉塞症 (CRVO) に分類し、どちらか一方の眼に BRVO もしくは CRVO を有しているものを RVO 患者としてまとめて解析した。

C. 研究結果

1998 年における RVO 有病率は 2.1% (BRVO 2.0% CRVO 0.2%) であった。年齢と性別による影響を取り除いて RVO との関連を解析すると、収縮期血圧、拡張期血圧、ヘマトクリット値、高血圧が RVO と有意な関連を認めた。さらに年齢、性別、ヘマトクリット値、高血圧、の 4 因子で多変量解析を行うと、年齢、ヘマトクリット値、高血圧はそれぞれ独立して有意に RVO と関連していることがわかった (図 1)。

また、高血圧を 2007ESH-ESC ガイドライン¹⁾にもとづいて、至適血圧、正常血圧、正常高値、高血圧の 4 つに分類すると、正常高値のレベルからリスクが有意に上昇した。(図 2) ヘマトクリット値を 4 分位に分

けて RVO の有病率とリスクを検討すると、ヘマトクリット値が上昇するとともに有病率は有意に上昇し、第4分位のレベルからリスクが有意に上昇した。(図2) また、高血圧とヘマトクリット高値の合併によりリスクが高まるかどうかの交互作用を調べてみると、高血圧とヘマトクリット高値の合併によりリスクはオッズ比で36.0と大きく上昇した。

図1 網膜静脈閉塞症発症の危険因子 久山町健診(1996年断続調査)

危険因子	多変量調整	
	オッズ比	(95%信頼区間)
年齢 (per 1year)	1.04*	(1.00-1.08)
性別 (男性)	0.83	(0.42-2.07)
高血圧	4.25**	(1.82-9.94)
ヘマトクリット (per 10%)	1.11*	(1.00-1.22)

* $p < 0.01$, ** $p < 0.05$

(年齢、性別、ヘマトクリット、高血圧の4因子で多変量ロジスティック回帰分析)

D. 考察

網膜静脈閉塞症の危険因子として高血圧は多くの論文 (population-based study, Case-control study, clinical-based observations) で共通して指摘されている。²⁻⁴ 本研究においても、収縮期血圧および拡張期血圧ともに有意に関連していることが示された。網膜静脈閉塞症の病因は今のところ明らかではないが、高血圧などにより生じた網膜細動脈の動脈硬化により隣接した静脈壁が圧迫され、局所的な血流変化がおこり静脈に血栓を生じると推測されている。我々のデータも高血圧と網膜血管疾患との強い関連を示唆する。また、血圧レベルが上がるほど有病率が有意に増加しており、十分な血圧コントロールが網膜静脈閉塞症の予防に重要である。とくに正常高値のレベルからすでにリスクが上昇しており、発症を予防するにはさらに厳重な血圧の管理が必要である。

図2 高血圧のカテゴリー別網膜静脈閉塞症のオッズ比

高血圧	SBP	and	DBP	年齢、性別調整	
				オッズ比	(95%信頼区間)
正常血圧	<120		<80	1	(reference)
正常高値	120-129	and/or	80-84	6.81*	(1.30-35.6)
高血圧	≥140	and/or	≥90	11.9**	(2.78-50.9)

SBP: 収縮期血圧, DBP: 拡張期血圧, * $p < 0.01$, ** $p < 0.05$ (1725メミンク94年断続)

図3 ヘマトクリット値の四分位別網膜静脈閉塞症のオッズ比

ヘマトクリット (%)	年齢、性別調整		
	オッズ比	(95%信頼区間)	
第1分位 <37.7	1	(reference)	ヘマトクリット低値群
第2分位 37.7-39.9	1.48	(0.44-4.44)	
第3分位 39.9-42.7	1.81*	(1.58-1.78)	
第4分位 ≥42.7	6.83*	(1.85-19.7)	ヘマトクリット高値群

** $p < 0.01$, * $p < 0.05$ (1725メミンク94年断続)

ヘマトクリットは血液中の赤血球の濃度であり、ヘマトクリット値の上昇は血液粘度の増加を示している。本研究において、ヘマトクリット値の上昇と網膜静脈閉塞症には有意な関連を認め、ヘマトクリット値が上がるほど有病率が有意に増加していることが示された。また血液粘度の増加する多発性骨髄腫やマクログロブリン血症で網膜静脈閉塞症が多く見られるという報告があり、血液粘度の増加は網膜の静脈閉塞を引き起こす可能性が示唆される。

E. 結論

網膜静脈閉塞症の発症予防には、厳重な血圧管理が重要である。特に高血圧患者において血液の粘性が高くなった状態では発症の危険が高まるので注意が必要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

I. 参考文献

1. Mancia G et al: The Task Force for the Management of Arterial Hypertension of European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension. 2007 Guidelines for the Management of Arterial Hypertension. *J Hypertens* 2007;25:1105-1187

2. Wong T.Y. et.al Cardiovascular Risk Factors for Retinal Vein Occlusion and Arteriolar Emboli. *Ophthalmology* 2005;112:540-547

3. Cugati S et.al Ten-year Incidence of retinal Vein Occlusion in an Older Population; The Blue Mountain Eye Study. *Arch Ophthalmol* 2006;124:726-732

4. Klein R et.al The 15-Year cumulative Incidence of Retinal Vein Occlusion; The Beaver Dam Eye Study
Arch Ophthalmol 2008;126(4):513-518

54. レニン・アンジオテンシン系阻害薬による

網膜虚血再灌流モデルにおける神経保護効果

廣岡一行、福田恒輝、溝手雅宣、白神史雄
(香川大)

研究要旨 網膜虚血再灌流モデルに対するレニン・アンジオテンシン (RA) 系阻害薬 (アンジオテンシン変換酵素 (ACE) 阻害薬、アンジオテンシン (Ang) II 受容体拮抗薬) の効果について検討した。ラットの前房内圧を 130 mm Hg に 45 分間上昇させることにより網膜虚血を行った。腹腔内に ACE 阻害薬であるカプトプリル (10 mg/kg) 投与した群と蒸水のみを投与した群に分け、虚血開始 30 分前に投与した。1 週間後に眼球を摘出し、網膜切片を作成することにより網膜組織障害を検討した。更に作用経路を調べるためにカリクレイン・キニン系と RA 系に作用する薬剤を同様の方法で投与した。網膜厚の減少率において、蒸留水群 (56.8%) に対してカプトプリル群 (93.3%) で有意に障害が抑制された。また Ang II 受容体拮抗薬であるカンデサルタン (78.7%) では網膜障害は抑制されたが、他の薬剤では網膜障害は抑制されなかった。以上の結果より RA 系阻害薬は、網膜虚血・再灌流モデルにおいて神経保護効果を有すると考えられる。

A. 研究目的

我々は正常眼圧緑内障患者では内因性のブラジキニンが少ないことや¹、正常眼圧緑内障患者で高血圧の治療薬であるアンジオテンシン変換酵素 (ACE) 阻害薬を内服している患者では視野障害の進行が遅いことを報告した²。今回レニン・アンジオテンシン (RA) 系阻害薬 (ACE 阻害薬、アンジオテンシン (Ang) II 受容体拮抗薬) の効果について網膜虚血・再灌流モデルを用いて検討した。

B. 研究方法

ラットの前房内圧を 130 mm Hg に 45 分間上昇させることにより網膜虚血を行った。腹腔内に ACE 阻害薬であるカプトプリル (10

mg/kg) 投与した群と蒸水のみを投与した群に分け、虚血開始 30 分前に投与した。1 週間後に眼球を摘出し、網膜切片を作成することにより網膜組織障害を検討した。更に作用経路を調べるためにカリクレイン・キニン系ではブラジキニン₂ 受容体拮抗薬であるイカチバント (1 mg/kg) 単独、カプトプリル+イカチバントとブラジキニン (1 mg/kg) を、RA 系では Ang II タイプ₁ (AT₁) 受容体拮抗薬であるカンデサルタン (1 mg/kg) と Ang II タイプ₂ 受容体拮抗薬である PD123319 (5 mg/kg) を同様の方法で投与した。

また抗 AT₁ 受容体拮抗薬を用いて正常網膜、虚血 6, 12, 24, 36 時間後の網膜を免疫染色した。

C. 研究結果

網膜厚の減少率において、蒸留水群 (56.8%) に対してカプトプリル群 (93.3%) で有意に障害が抑制された (対応のない *t* 検定、 $P < 0.05$)。イカチバント単独では網膜障害の抑制はみられなかったが、カプトプリル+イカチバント群 (93.9%) では網膜障害の抑制がみられた。またブラジキニン投与では網膜障害の抑制はみられなかった。PD123319 の単独投与では網膜障害の抑制はみられなかったのに対して、カンデサルタン単独投与 (78.7%、 $P < 0.05$) では網膜障害は抑制された。

正常網膜では AT_1 受容体は血管内皮細胞にのみ発現したが、虚血 6, 12, 24 時間後の網膜では網膜内層に AT_1 受容体の発現がみられた (図 1)。



正常網膜 6 時間後 12 時間後 24 時間後 36 時間後

D. 考察

アンジオテンシン II が AT_1 受容体と結合することにより神経細胞死が生じたと考えられる。RA 系阻害薬は、この結合を阻害することにより神経細胞死を抑制した。

E. 結論

RA 系阻害薬は、網膜虚血・再灌流モデルにおいて神経保護効果を有する。

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. Hirooka K, Shiraga F, Hasegawa E. Bradykinin sensitivity in primary open-angle glaucoma and normal-tension glaucoma patients. *Am J Ophthalmol* 2002;134:922-924.
2. Hirooka K, Baba T, Fujimura T, Shiraga F. Prevention of visual field defect progression with angiotensin-converting enzyme inhibitor in eyes with normal-tension glaucoma. *Am J Ophthalmol* 2006;142:523-525.

55. Multiplex Bead Analysis System を用いて測定した

未熟児網膜症眼における硝子体液中サイトカイン濃度

佐藤達彦¹⁾、日下俊次¹⁾、下條裕史¹⁾、不二門尚¹⁾、田野保雄²⁾

(¹⁾ 大阪大感覚機能形成学、²⁾ 大阪大感覚器外科学)

研究要旨 未熟児網膜症 (ROP) は、網膜血管の未熟性を基盤に発症する眼内血管新生病で、現在でも特に先進国における小児失明の主要原因である。ROP の病態には、代表的な血管新生促進因子である vascular endothelial growth factor (VEGF) 以外にも種々のサイトカインが関与すると考えられており、実際に我々は、ROP モデルマウスにおいて複数の炎症関連遺伝子が病初期から発現上昇し、病後期に至るまでその上昇が維持することを報告した¹⁾。しかし、これまでにヒト ROP 眼において複数のサイトカイン濃度を同時に定量した報告はなく、そのため、今回我々は、ヒト ROP 眼において複数のサイトカインの硝子体内濃度を同時に測定し、病態との関連について検討した。

A. 研究目的

ヒト ROP 眼において、複数のサイトカインの硝子体内濃度を同時に定量し、病態との関連について検討すること。

B. 研究方法

研究対象は、光凝固を施行したにも関わらず部分網膜剥離に至った、Stage 4 ROP 症例 19 人 27 眼 (Stage 4A: 18 眼、Stage 4B: 9 眼) である。平均在胎週数は 25 週、平均出生時体重は 823 グラム、光凝固から手術までの期間は平均 34 週、手術時の修正在胎週数は平均 46 週、手術時の体重は平均 3,184 グラムであった。対象は血管活動性に応じて vascularly-active ROP 群 (12 眼) 及び vascularly-inactive ROP 群 (15 眼) の 2 群に分類し、また、他に眼疾患を有しない先天白内障症例 5 人 6 眼をコントロールとして用いた。

研究方法は、手術時に未希釈の硝子体液を採取し、Multiplex Bead Analysis System (BioPlex™, BioRad 社) を用いて 27 種類のサイトカインの硝子体内濃度を測定した。測定したサイトカインは、interleukin (IL) -1 β 、IL-1ra、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-12、IL-13、IL-15、IL-17、Eotaxin、fibroblast growth factor (FGF) basic、granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF)、granulocyte macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF)、interferon (IFN) - γ 、interferon-gamma-inducible protein (IP) -10、monocyte chemoattractant protein (MCP) -1、macrophage inflammatory protein (MIP) -1 α 、MIP-1 β 、platelet-derived growth factor (PDGF) bb、regulated on activation, normal T cell expressed and secreted (RANTES)、tumor

necrosis factor (TNF) - α 、及び VEGF である。

(倫理面への配慮)

本研究は、大阪大学医学部附属病院臨床研究倫理審査委員会の承認を得て、また、Helsinki 宣言に基づいて行われている。

C. 研究結果

ROP 症例のデモグラフィックであるが、血管活動性に応じて分けた 2 群間で、在胎週数、出生時体重、光凝固から手術までの期間、手術時体重に有意差を認めなかったが、手術時修正在胎週数は vascularly active ROP 群で有意に若かった。

vascularly-active ROP 群、vascularly-inactive ROP 群およびコントロール群の 3 群間で統計学的有意差 ($P < 0.05$) を示したサイトカインは、IL-6、IL-7、IL-10、IL-15、Eotaxin、FGF basic、G-CSF、GM-CSF、IP-10、RANTES、及び VEGF であった。このうち、IL-6、IL-7、IL-15、G-CSF、IP-10、及び RANTES の硝子体内濃度は vascularly-active 及び vascularly-inactive ROP 両群でコントロール群に対して有意な高値を示し、VEGF の硝子体内濃度は vascularly-active ROP 群のみでコントロール群に対して有意な高値を示した。

また、VEGF 濃度と手術時修正在胎週数の間には負の相関 ($r = -0.382$, $P = 0.0495$) を認めた。

D. 考察

今回、ヒト ROP 眼において 27 種類のサイトカインの硝子体内濃度を同時に測定した結果、11 種類のサイトカインで 3 群間に統計

学的有意差を認めた。しかし、複数のサイトカインの硝子体内濃度は vascularly-active ROP 群でも vascularly-inactive ROP 群でもコントロール群に対して有意な高値を示しており、血管活動性をあまり反映していない可能性が示唆された。これは、ROP モデルマウスにおいて、炎症関連遺伝子が病初期から病後期にかけて持続的に発現上昇していることと関連しているのではないかと考えられた。

一方、VEGF 濃度は vascularly-active ROP 群でのみコントロール群に対して有意な高値を示しており、ヒト ROP 眼において直接的に血管活動性を反映しているのではないかと考えられた。さらに、VEGF 濃度は手術時の修正在胎週数と負の相関を示しており、これは vascularly-active ROP 群の手術時修正在胎週数が vascularly-inactive ROP 群よりも有意に若いことと一致する結果となった。

E. 結論

VEGF 以外にも様々なサイトカインが ROP の病態に関与していることが示唆されたが、これらの多くは血管活動性の有無に関わらず高値を示しており、今回検討したサイトカインの中では、VEGF が最も血管活動性を反映しているものと考えられた。

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

特記なし

I. 参考文献

1. Sato T. et al: Comprehensive gene expression profile in murine oxygen-induced retinopathy. Br J Ophthalmol. 93, 96-103, 2009.

56. 網膜剥離における視細胞死と

High-mobility group box 1 protein

有村 昇¹⁾、喜井裕哉¹⁾、橋口照人²⁾、川原幸一²⁾、中村誠³⁾、園田恭志¹⁾、
山切啓太¹⁾、大久保明子¹⁾、丸山征郎²⁾、坂本泰二¹⁾
(¹⁾鹿児島大、²⁾鹿児島大血管代謝病態解析学、³⁾神戸大)

研究要旨 High-mobility group box 1 protein (HMGB1)は核内における転写調節に重要な分子であると同時に、細胞死や外的刺激により細胞外へ放出され、炎症や組織修復を修飾する分子として注目されている。視細胞死を特徴とする網膜剥離における HMGB1 の関与について検討した。ラット胎仔網膜由来細胞株 R28、ヒト網膜色素上皮細胞株 ARPE-19 を用いて、網膜細胞死と HMGB1 の関連を免疫染色、MTT assay、ELISA にて評価した。ラット網膜剥離モデルにおける HMGB1 発現変化を免疫組織学的に検討した。網膜剥離患者硝子体中の HMGB1 濃度と Monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1)濃度を ELISA にて測定した。ARPE-19 に対する HMGB1 の細胞遊走活性を検討するため migration assay を行った。網膜細胞株において HMGB1 は細胞死に依存して細胞外へ放出された。ラット網膜剥離モデルにおいて核内 HMGB1 発現は 3 日目で著明に上昇し、7 日目で元のレベルに低下していた。同時に HMGB1 の網膜下への放出も認められた。網膜剥離患者硝子体では、HMGB1、MCP-1 ともに有意に高値を示し互いに相関した。HMGB1 は ARPE-19 に対し、ERK のリン酸化を介して細胞遊走を促進した。核内 HMGB1 は網膜剥離後にその発現が上昇し、また視細胞死に関連して眼内に放出されると考えられた。細胞外 HMGB1 は細胞の遊走を促進し、眼内の増殖性変化へ関与する可能性が示唆された。HMGB1 は網膜剥離における組織障害の危険信号として機能している可能性がある。

A. 研究目的

High-Mobility Group Box 1 Protein (HMGB1) はすべての体細胞に豊富に存在する、主要な核タンパク質であり、転写調節、細胞増殖・遊走など細胞内局在により様々な機能を持つことが知られている。最近、HMGB1 は細胞死、特にネクローシスに伴って細胞外へ放出され、炎症や修復といった生体反応に関与することが注目されている。眼科領域については、我々の報告した眼内

炎患者における HMGB1 の発現など、いくつかの検討があるものの、十分でない。視細胞死を特徴とする網膜剥離における HMGB1 の関与について検討した。

B. 研究方法

高濃度 (1mM) の過酸化水素にて、ラット胎仔網膜由来細胞株 R28、ヒト網膜色素上皮細胞株 ARPE-19 に細胞死を誘導し、酸化ストレス誘導細胞死における HMGB1 発現を免

疫染色、MTT assay、ELISA にて評価した。Brown Norway rat に1%ヒアルロン酸の網膜下注入を行い作成した、ラット網膜剥離モデルにおける HMGB1 発現変化を免疫染色にて評価し、アポトーシス細胞における HMGB1 発現を確認するため、TUNEL 染色との共染色を行った。また、網膜剥離患者硝子体中の HMGB1 濃度と Monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1)濃度を ELISA にて測定し、Mann Whitney-U 検定、Spearman 順位相関係数を用いて統計解析を行った。ARPE-19 に対する HMGB1 の細胞遊走活性を検討するため recombinant HMGB1 により細胞を刺激し、Boyden chamber assay を用いた migration assay と関連するシグナル蛋白を western blotting にて検討した。

(倫理面への配慮)

患者硝子体、ラットの使用に際しては鹿児島大学病院倫理委員会、鹿児島大学動物実験委員会の承認を得た。

C. 研究結果

酸化ストレスにより R28、ARPE-19 とともに細胞死が誘導され、HMGB1 は細胞死に依存して細胞外へ放出された。ストレス下の HMGB1 発現は細胞により様々に変化を認めた。ラット網膜剥離モデルにおいて核内 HMGB1 発現は剥離 3 日目著明に上昇し、7 日目で元のレベルに戻り、以降は網膜の菲薄化につれて発現の低下が認められた。同時に HMGB1 の網膜下への放出も認められた。3 日目の HMGB1 発現上昇は、均一でなく、細胞により異なっていたが、TUNEL 陽性細胞では、HMGB1 の発現上昇は認められなかった。網膜剥離患者硝子体では、HMGB1 (図 1)、MCP-1 とともに有意に高値を示し、互いに相

関していた。網膜剥離患者の中で、増殖硝子体網膜症を来したものでは、HMGB1 は低い傾向にあったが有意差は認められなかった。Recombinant HMGB1 は ARPE-19 の細胞遊走を促進し、また ERK-1/2 のリン酸化を誘導した。その阻害剤である U0126 にて前処理することで、HMGB1 による細胞遊走は阻害された。

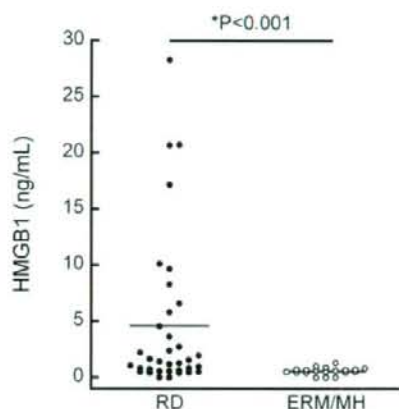


図 1. 硝子体中 HMGB1 濃度。RD : retinal detachment, ERM/MH : epiretinal membrane / macular hole

D. 考察

網膜由来細胞株において、細胞死により HMGB1 の放出が見られたことから、HMGB1 は網膜の細胞死にも関連すると考えられた。また、ラット網膜剥離モデルにおける HMGB1 発現の結果より、転写調節に重要な HMGB1 の発現が網膜剥離後に上昇することは、網膜剥離後の転写レベルの変化に関連したものと考えられ、さらにアポトーシスを起こしていない細胞においてのみ HMGB1 の発現

上昇を認めたことから、HMGB1 の発現上昇は網膜剥離後の視細胞生存にとって重要であると考えられた。同時に、網膜下には HMGB1 陽性の debris が認められ、網膜剥離後にはアポトーシスばかりでなく、ネクローシスによる視細胞死も生じていると考えられた。網膜剥離患者硝子体中に HMGB1 が高値であったことから、ヒトにおいても、網膜剥離後に、視細胞死に伴って眼内へ HMGB1 が放出されていると考えられ、MCP-1 と有意な相関がみられたことから、視細胞死に関連するメディエーターにも調節機構がある可能性が示唆された。細胞外 HMGB1 には細胞遊走活性があり、眼内の増殖性変化への関与が示唆された。

E. 結論

HMGB1 は、核内において網膜剥離後の視細胞生存に重要である一方で、細胞外へ放出されると、網膜剥離後の病態悪化に関連する二面性のある分子であると考えられた。過剰な冷凍凝固や過度の手術侵襲などにより、眼内における細胞死を増加させると、HMGB1 などの細胞崩壊産物が組織損傷の危険信号として働き、病態悪化につながる可能性がある。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表 Laboratory Investigation (in press).
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. Lotze MT and Tracey KJ. Nat Rev Immunol 5:331-42, 2005.
2. Arimura N et al. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 246:1053-8, 2008.