

C. 研究結果

網膜初代培養細胞において ATP、BzATP 投与により細胞生存率が減少し、BBG 投与により抑制された。飢餓培養条件下では BBG 投与により細胞生存率の増加を認めた。ATP、BzATP の硝子体投与により視細胞層に TUNEL 陽性細胞を認め、BBG 同時投与にて抑制された。

D. 考察

P2X7 受容体は網膜細胞死に関与し、阻害剤である BBG は神経保護効果を持つことが示された。網膜疾患において神経保護を目的とした BBG の応用の可能性が示唆された。

E. 結論

Brilliant Blue G (BBG)は網膜において神経保護効果を持つ手術補助剤として応用できる可能性がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

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

出願;神経保護作用を持つ薬剤配合(10-194P)国立大学法人九州大学

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

I. 参考文献

1. Surprenant A, Rassendren F, Kawashima E, North RA, Buell G: The Cytolytic P2Z receptor for extracellular ATP identified as a P2X receptor (P2X7). *Science* 272(5262), 735-738, 1996.
2. Peng W, Cotrina ML, Han X, Yu H, Bekar L, Blum L, Takano T, Tian GF, Goldman SA, Nedergaard M: Systemic administration of an antagonist of the ATP-sensitive receptor P2X7 improves recovery after spinal cord injury. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 106, 12489-12493, 2009.
3. Hisatomi T, Enaida H, Matsumoto H, Kagimoto T, Ueno A, Hata Y, Kubota T, Goto Y, Ishibashi T: Staining ability and biocompatibility of brilliant blue G: preclinical study of brilliant blue G as an adjunct for capsular staining. *Arch Ophthalmol* 124, 514-519, 2006.
4. Enaida H, Hisatomi T, Goto Y, Hata Y, Ueno A, Miura M, Kubota T, Ishibashi T: Preclinical investigation of internal limiting membrane staining and peeling using intravitreal brilliant blue G. *Retina* 26, 623-630, 2006.
5. Enaida H, Hisatomi T, Hata Y, Ueno A, Goto Y, Yamada T, Kubota T, Ishibashi T: Brilliant blue G selectively stains the internal limiting membrane/brilliant blue G-assisted membrane peeling. *Retina* 26, 631-636, 2006.
- 6) Ueno A, Hisatomi T, Enaida H, Kagimoto T, Mochizuki Y, Goto Y, Kubota T, Hata Y, Ishibashi T: Biocompatibility of brilliant blue G

in a rat model of subretinal injection. *Retina* 27,
499-504, 2007.

49. 高濃度グルコース誘導神経細胞死における神経保護因子の 神経生存・再生効果の検討

忍足俊幸、芳田奈津代、山本修一

(千葉大)

研究要旨 高濃度グルコース負荷が神経細胞死に関与するかを検討し、種々の神経栄養因子により高濃度グルコース誘導神経細胞死が救済できるか 3 次元培養したラット網膜で検討した。3 次元培養した網膜切片を正常濃度 (NG)・高濃度グルコース (HG) 群に分け、培養液に BDNF, NT-4, citicoline, VEGF₁₂₀, VEGF₁₆₄ を付加した。培養 7 日で再生突起数を観察したのち切片を固定し、TUNEL 染色及び caspase-9, caspase-3 の免疫染色を施行した。HG 群では GCL の TUNEL 陽性率及び caspase-9, caspase-3 免疫陽性率は有意に増加し、再生突起数は有意に減少した。BDNF, NT-4, citicoline, VEGF₁₂₀, VEGF₁₆₄ を付加した HG 群では TUNEL 陽性率 caspase-9, caspase-3 免疫陽性率は有意に改善した。また、caspase-9 の核への移行が免疫染色で確認された。BDNF, NT-4, citicoline 付加群では再生突起数も有意に増加した。BDNF, NT-4, citicoline は神経細胞死を有意に救済し再生突起数を増加させることが示唆され、これらの保護因子には caspase-9, caspase-3 の抑制効果が関与していた。Caspase-9 の核への移行は神経細胞死で観察される重要なプロセスかもしれない。

A. 研究目的

糖尿病網膜症は失明原因の第 2 位であり、その病態に血管病変と神経病変が関与することは既に知られている。しかしながら、糖尿病網膜症の初期から観察される神経細胞死の正確なメカニズムについては不明である。神経細胞死は視機能の悪化に直結する不可逆的な変化であるためそのメカニズム究明、救済策の検討は早急の課題である。

我々は慢性高血糖そのものが神経病変を進行させる重要な因子であると仮定し、3 次元網膜培養を用いて高濃度グルコース負荷が神経

細胞死を誘導しうるかどうかを検討した。次いで種々の神経栄養因子が高濃度グルコース誘導神経細胞死を救済しうるかを TUNEL 染色、caspase-9, caspase-3 免疫染色、再生突起数の観察を通して検討した。

B. 研究方法

6 匹の成熟 SD ラット網膜を無菌下で単離し、type I コラーゲンのゲルに包埋し無血清培養液で培養維持した。網膜切片は正常濃度グルコース (7.5 mM; NG) と高濃度グルコース (45 mM; HG) に分け HG 群には 100 ng/ml

brain-derived neurotrophic factor (BDNF)、100 ng/ml neurotrophin-4 (NT-4)、1 mm citicoline、100 ng/ml VEGF₁₂₀、100 ng/ml VEGF₁₆₄ を付加した。再生突起数の観察は培養 7 日後位相差顕微鏡を用いて行った。突起観察後網膜切片を固定し凍結切片を作成した。次いで TUNEL 染色及び活性型 caspase-9、caspase-3 の免疫染色を施行し、DAPI で核染色を行った。網膜神経節細胞層(GCL)における TUNEL 陽性率及び caspase-9、caspase-3 免疫陽性率を(GCL における TUNEL 陽性数または免疫陽性数)/(GCL における DAPI 染色数)で解析した。統計解析は Mann-Whitney U test を用いた。P<0.05 を統計的有意とした。

(倫理面への配慮)

動物の取り扱いはすべて ARVO Statement に従って行った。また、本研究の動物実験計画は千葉大学大学院医学研究院動物福祉特別 20060022 号で受理された。

C. 研究結果

HG 群では TUNEL 陽性率は NG 群に比べて有意に増加し、再生突起数は有意に減少した(40.7 ± 7.7% vs. 28.1 ± 11.9%; p<0.01, 37.8 ± 7.0/mm² vs. 77.7 ± 13.3/mm²; p<0.01)。caspase-9 及び caspase-3 免疫陽性率も HG 群では NG 群に比べ有意に増加した(25.3 ± 5.3% vs. 15.9 ± 5.9%; p<0.05, 28.3 ± 11.4% vs. 18.5 ± 5.8%; p<0.05)。BDNF、NT-4、citicoline、VEGF₁₂₀、VEGF₁₆₄ を付加した HG 群では付加しなかった HG 群に比べて TUNEL 陽性率は有意に改善した(27.6 ± 10.8% vs. 40.7 ± 7.7%; p<0.01, 22.5 ±

11.1% vs. 40.7 ± 7.7%; p<0.01, 26.4 ± 7.4% vs. 40.7 ± 7.7%; p<0.01, 31.5 ± 9.2% vs. 40.7 ± 7.7%; p<0.01, 31.7 ± 8.7% vs. 40.7 ± 7.7%; p<0.01)。BDNF、NT-4、citicoline を付加した HG 群では付加しなかった HG 群に比べて再生突起数は有意に増加し(119.4 ± 31.1/mm² vs. 37.8 ± 7.0/mm²; p<0.01, 187.5 ± 50.5/mm² vs. 37.8 ± 7.0/mm²; p<0.01, 63.9 ± 14.1/mm² vs. 37.8 ± 7.0/mm²; p<0.01)、同様に caspase-9、caspase-3 免疫陽性率も有意に改善した(16.2 ± 7.7% vs. 25.3 ± 5.3%; p<0.05, 15.7 ± 11% vs. 25.3 ± 5.3%; p<0.05, 16.8 ± 6.9% vs. 25.3 ± 5.3%; p<0.05, 13.9 ± 3.1% vs. 28.3 ± 11.4%; p<0.01, 11.3 ± 5.1% vs. 28.3 ± 11.4%; p<0.01, 16.1 ± 4.1% vs. 28.3 ± 11.4%; p<0.05)。VEGF₁₂₀、VEGF₁₆₄ を付加した HG 群では付加しなかった HG 群と再生突起数に有意な差は得られなかった(47.2 ± 17.7/mm² vs. 37.8 ± 7.0/mm², 55.6 ± 20.0/mm² vs. 37.8 ± 7.0/mm²)。同様に caspase-9、caspase-3 免疫陽性率にも有意差はでなかった(21.5 ± 9.0% vs. 25.3 ± 5.3%, 21.5 ± 8.5% vs. 25.3 ± 5.3%, 24.4 ± 10.8% vs. 28.3 ± 11.4%, 24.0 ± 7.8% vs. 28.3 ± 11.4%)。また活性型 caspase-9 の核への移行が免疫染色で確認された。

D. 考察

高濃度グルコース負荷は biochemical な injury として神経細胞死を誘導し、再生突起数を減少させることが考えられた。また、高濃度グルコース負荷による神経細胞死を BDNF、NT-4、

citicoline、VEGF₁₂₀、VEGF₁₆₄ は有意に救済した。このうち BDNF、NT-4、citicoline は突起再生を増加させることができた。とりわけ NT-4 は最も救済効果・再生誘導が強い結果となった。これらの神経保護・再生促進作用は caspase-9、caspase-3 の抑制効果と関連があった。VEGF の保護作用は他の神経保護作用に比べると若干劣るようである。このため突起再生では有意差を得ることはできなかった。これらの知見は anti-VEGF 治療において有用な情報を与えるものと思われる。また、副作用が少ないことを考慮すると citicoline は糖尿病網膜症に対する有用な神経保護剤として臨床応用可能かもしれない。例えば術中・術後の神経保護剤としての使用などが具体的に考えられる。これらの保護因子は細胞死メカニズムを共有するストレスの場合にはダメージを受けた神経細胞に対し救済効果を発揮できることが期待される。Caspase-9 の核への移行は神経細胞死で観察される重要なプロセスと考えられた。Caspase-9 の核内での役割は不明であるが Ring1B のような転写因子を切断し遺伝子発現を調節するような caspase family の initiator とは別の役割を担っている可能性が考えられる。Caspase-9 及び caspase-3 の活性は人糖尿病網膜の神経細胞死でも観察されておりこれらの神経栄養因子が人糖尿病網膜症の治療にも応用できる可能性が示唆された。

E. 結論

高濃度グルコース負荷は培養網膜に神経細胞死を誘導し、再生突起数を抑制した。また、BDNF、NT-4、citicoline は細胞死を有意に救

済し、再生突起数を増加させることができた。これらの保護作用は caspase-9、caspase-3 の抑制効果と関連していた。Caspase-9 の核への移行は神経細胞死で観察される重要なプロセスかもしれない。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Oshitari T et al: Effect of neurotrophic factors on neuronal apoptosis and neurite regeneration in cultured rat retinas exposed to high-glucose. Brain Res 1346, 43-51, 2010.

2. 学会発表

Oshitari T et al: Neuroprotective effect of neurotrophic factors, VEGF, and citicoline on retinal neuronal cell death induced by high glucose exposure. Association for Research in Vision and Ophthalmology Annual Meeting (ARVO). Fort Lauderdale, Florida, 2010.

Oshitari T et al: Neuroprotective and regenerative effect of BDNF, NT-4, and citicoline in rat retinas exposed to high-glucose. XIX International Congress of Eye Research (ICER). Montreal, Canada, 2010.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許所得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

1. 参考文献

1. Barber AJ et al: Neural apoptosis in the retina during experimental and human diabetes. Early onset and effect of insulin. J Clin Invest 102, 783-791, 1998.
2. Oshitari T et al: Diabetes: a potential enhancer of retinal injury in rat retinas. Neurosci Lett 390, 25-30, 2005.
3. Oshitari T et al: Mitochondria- and caspase-dependent cell death pathway involved in neuronal degeneration in diabetic retinopathy. Br J Ophthalmol 92, 552-556, 2008.

50. 慢性高眼圧によるラット視神経乳頭および網膜における

アクアポリン9の発現に及ぼす影響

中真衣子、金森章泰、中村 誠、根木 昭
(神戸大)

研究要旨 慢性高眼圧は、ラット視神経アストロサイトならびに網膜神経節細胞のアクアポリン(AQP)-9の発現を抑制した。両部位が緑内障性視神経症の首座であることより、AQP-9発現は緑内障性視神経症の発症に関わっている可能性がある。

A. 研究目的

慢性高眼圧が、ラット視神経と網膜神経節細胞(RGC)における水チャンネルAQP-1,4,9の発現に及ぼす影響を調べる。

B. 研究方法

雄Sprague-Dawley ラットの三本の上強膜静脈を焼灼し、慢性眼圧上昇モデルを作成し、視神経と網膜でのAQP-1,4,9の遺伝子と蛋白の発現変化を調べた。

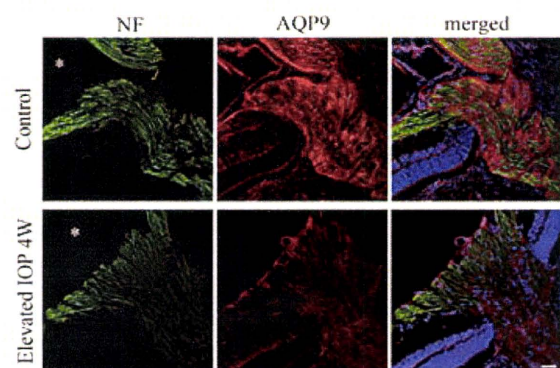
(倫理面への配慮)

ARVOの眼科視覚研究における動物使用指針ならびに神戸大学の動物実験施設指針に従った。

C. 研究結果

眼圧上昇後4週までの間で、経時的に、視神経のAQP-9の免疫染色性と遺伝子発現は低下した。AQP-9は、GFAPと共染色するのに対し、neurofilamentとは共染色しなかったため、アストロサイトで発現していることが分かった。一方、RGC細胞体にもAQP-9は発現しており、眼圧上昇により減少していた。AQP-1と4の発

現変化は見られなかった。



D. 考案

AQP-9は水に加えて、乳酸やグリセロール等も通過させる aquaglyceroporin である。乳酸はブドウ糖の代用として、アストロサイトから神経細胞に供給されるエネルギー基質であり、視神経とRGCという緑内障性視神経症の病態の首座で AQP-9 の発現が眼圧上昇により減少することは、AQP-9 が緑内障性視神経症の発症に関与していることを示唆していると思われる。

E. 結論

眼圧上昇は視神経とRGCでのAQP-9発現を低下させる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Naka M, et al: Reduced expression of Aquaporin-9 in rat optic nerve head and retina following elevated intraocular pressure. IOVS 51, 4618-4626, 2010.

2. 学会発表

1. Nakamura M: The role of aquaporin in glaucomatous optic neuropathy. Asia-Pacific Academy of Ophthalmology Congress (APAO), Beijing, 2010.

2. 中 真衣子、他:眼圧上昇モデルラットにおける視神経乳頭および網膜のアクアポリン9発現変化の検討. 第21回日本緑内障学会、福岡市、2010.

H. 知的所有権の取得状況

なし

I. 参考文献

1. Iandiev I, et al: Expression of aquaporin-9 immunoreactivity by cat-echolaminergic amacrine cells in the rat retina. Neurosci Lett 398, 264-267, 2006

2. Dibas A, et al: Stress-induced changes in neuronal aquaporin-9 (AQP9) in a retinal ganglion cell-line. Pharmacol Res 55, 378-384, 2007.

3. Badaut J, et al: Distribution and possible

roles of aquaporin 9 in the brain. Neuroscience 129, 971-981, 2004.

4. Morrison JC, et al: Optic nerve head extracellular matrix in primary optic atrophy and experimental glaucoma. Arch Ophthalmol 108, 1020-1024, 1990.

5. Fukuda M, et al: Altered expression of aquaporins 1 and 4 coincides with neurodegenerative events in retinas of spontaneously diabetic Torii rats. Exp Eye Res 90, 17-25, 2010.

51. 加齢黄斑変性症の病型別中心脈絡膜厚の特徴

白瀧ゆかり、白神千恵子、山下彩奈、藤原篤之、新田恵里、白神史雄
(香川大)

研究要旨 加齢黄斑変性(AMD)を病型別に分類して中心脈絡膜厚(CCT)を計測し、その特徴を調べて統計学的に検討した。治療歴のない症例において、通常のAMDと網膜血管腫状増殖(RAP)のCCTは、患眼が健眼よりも有意に薄かったが、ポリープ状脈絡膜血管症(PCV)のCCTは患眼が健眼よりも有意に厚いという結果であった。治療歴でPDTの既往があると、通常のAMDではCCTが有意に薄く、RAPとPCVでは有意差はなかった。

A. 研究目的

中心脈絡膜厚(CCT)については高齢化に伴ってCCTが菲薄化する¹という報告や眼軸が長いほど厚くなる²という報告がある。また、中心性漿液性網脈絡膜症(CSC)のCCTは正常眼と比較し、厚くなっている³と報告されている。CSCではPDT後にCCTは薄くなる⁴という報告もあるが、AMDの病型別CCTの検討はまだ少ない。

PDT後に脈絡膜循環障害をきたすことが報告されており、PDTの既往はCCTに影響を及ぼす可能性があると考えられる。

そこで、AMDの病型別CCTと、PDTの既往によるCCTの特徴について検討した。

B. 研究方法

対象は2009年11月から2010年9月の期間に香川大学を受診したAMD連続症例243例274眼(男性166例、女性77例)で、平均年齢は73.9歳であった。-6D以上の近視眼と近視性眼底のIOL挿入眼は除外した。

AMDの病型診断はフルオレセイン蛍光眼底造影(FA)、インドシアニングリーン蛍光眼底造

影(IA)にて行った。CCTはスペクトラリス(Heiderberg社)を用いて enhanced depth imaging OCT(EDI-OCT)を撮影し、色素上皮のラインの外側境界から強膜のラインの内側境界までを計測した。

このうち、片眼性で治療歴のない症例について、患眼と健眼のCCTについて病型別に比較検討した(paired t-test)。また、共分散分析にて年齢の影響を調節し、PDTの既往の有無によるCCTを比較した。統計学的にP値が0.05未満を有意差とした。

C. 研究結果

治療歴のない片眼性の通常のAMDは50眼で、患眼の平均CCTは $231.7 \pm 85.6 \mu\text{m}$ 、健眼の平均CCTは $244.6 \pm 87.4 \mu\text{m}$ であった。統計学的に解析すると、患眼の方が健眼よりも有意にCCTが薄いという結果であった(paired t-test, $P=0.036$)。

治療歴のない片眼性のPCV57眼について検討したところ、患眼の平均CCTは $284.4 \pm 101.6 \mu\text{m}$ 、健眼の平均CCTは $265.5 \pm 96.2 \mu\text{m}$ で、患眼の方が健眼よりも有意にCCTが厚

いという結果であった (paired t-test, $P=0.031$)。

治療歴のない片眼性の RAP11 例で検討したところ、患眼の平均 CCT は $247.3 \pm 111.8 \mu\text{m}$ 、健眼の平均 CCT は $288.4 \pm 118.5 \mu\text{m}$ で、患眼の方が健眼よりも有意に CCT が薄いという結果であった (paired t-test, $P < 0.001$)。

対象症例すべてを PDT の既往の有無で分けると、通常の AMD では PDT の既往のある症例が 55 眼で、平均 CCT が $185.3 \pm 96.7 \mu\text{m}$ 、PDT の既往のない症例が 51 眼で、平均 CCT が $255.7 \pm 96.6 \mu\text{m}$ であった。共分散分析にて年齢の影響を調節して比較すると、PDT の既往のある患眼では CCT が有意に薄かった ($P=0.0012$)。

PCV では PDT の既往のある症例が 65 眼で平均 CCT が $266.7 \pm 96.4 \mu\text{m}$ 、PDT の既往のない症例が 45 眼で、CCT は平均 $287.9 \pm 101.9 \mu\text{m}$ であった。共分散分析にて年齢の影響を調節して比較すると、PDT の既往の有無による有意差はなかった ($P=0.477$)。

RAP では PDT の既往のある症例が 37 眼で平均 CCT が $212.0 \pm 94.0 \mu\text{m}$ 、PDT の既往のない症例が 21 眼で、CCT は平均 $260.1 \pm 122.7 \mu\text{m}$ であった。共分散分析にて年齢の影響を調節して比較すると、PDT の既往の有無による有意差はなかった ($P=0.1211$)。

図1 治療歴のない片眼性の通常の AMD の症例

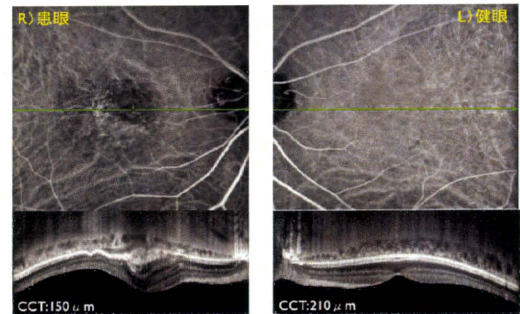


図1 64 歳男性、治療歴のない片眼性の通常の AMD の症例。健眼の CCT が $210 \mu\text{m}$ であるのに対し、患眼は $150 \mu\text{m}$ と健眼と比較して薄い。

図2 PDT の既往のある AMD の症例

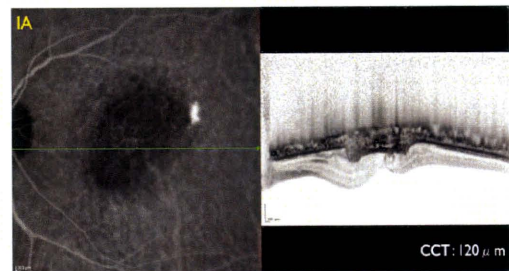


図2 74 歳男性、PDT を3回行った通常の AMD の症例。同年齢での平均 CCT は $231.7 \mu\text{m}$ であったのに対し、CCT は $120 \mu\text{m}$ と菲薄化している。

図3 治療歴のない片眼性のPCVの症例

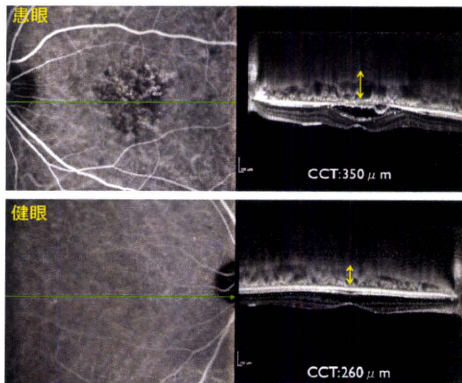


図3 84歳男性、治療歴のない片眼性のPCVの症例。健眼のCCTは260 μ m、患眼は350 μ mと、健眼と比較して患眼のCCTは厚い。

図4 治療歴のない片眼性のRAPの症例

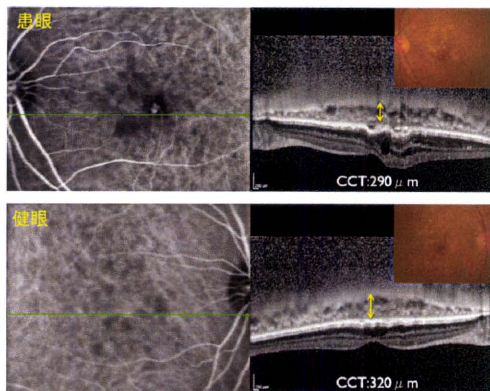


図4 治療歴のないRAPの症例
79歳女性、治療歴のない片眼性のRAPの症例。患眼のCCTは290 μ m、健眼は320 μ mと、健眼と比較して患眼のCCTは薄くなっている。

D. 考察

治療歴のないAMDでは病型別にCCTを計測

すると、通常のAMDとRAPで患眼のCCTのほうが健眼のCCTよりも有意に薄く、PCVでは患眼のCCTのほうが健眼のCCTよりも有意に厚いという結果であった。また、PCVでは同年代の正常眼よりもCCTが厚くなっているという報告があり⁵⁾、PCVは他の病型のAMDとは異なる病態を示している可能性がある。また、PDTの既往があると通常のAMDではCCTが有意に薄く、PDTによる脈絡膜循環障害が関与している可能性がある。

E. 結論

治療歴のないAMDでは、通常のAMDとRAPでは患眼のCCTのほうが健眼のCCTよりも有意に薄く、PCVでは患眼のCCTのほうが健眼のCCTよりも有意に厚い。PDTの既往があると通常のAMDではCCTが有意に薄い。

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

白潟ゆかり:加齢黄斑変性症の病型別中心脈絡膜厚の特徴、第64回日本臨床眼科学会、神戸市、2010.

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. Margolis R, Spaide RF: A pilot study of enhanced depth imaging optical coherence tomography of the choroid in normal eyes. *Am J Ophthalmol* 147: 811–815, 2009.

2. Ikuno Y et al: Choroidal thickness in healthy Japanese subjects. *IOVS* 51, 2173–2176, 2010.

3. Imamura Y, et al: Enhanced depth imaging optical coherence tomography of the choroid in central serous chorioretinopathy. *Retina* 29, 1469–1473, 2009.

4. Maruko I et al: Subfoveal choroidal thickness after treatment of central serous chorioretinopathy. *Ophthalmology* 117, 1792–1799, 2010.

5. Chug SE et al: Choroidal thickness in polypoidal choroidal vasculopathy and exudative age-related macular degeneration. *Ophthalmology*, in press.

52. 滲出型加齢黄斑変性に対する ranibizumab 硝子体注射後の

脈絡膜新生血管の変化

有澤章子、永井由巳、西川真生、平本裕盛、長中央由里子、久保木香織、高橋寛二
(関西医大)

研究要旨 滲出型加齢黄斑変性(滲出型AMD)に対するranibizumab硝子体内注射を施行し、その治療前後の脈絡膜新生血管(CNV)への効果について病型別・病変タイプ別に検討した。ranibizumab投与前と連続3回投与後1か月目にフルオレセイン蛍光眼底造影(FA)を行った46例46眼を対象とした。typicalAMDの病変タイプ別で収縮率をみるとpredominantly classic CNV(pred)とminimally classic CNV(mini)はoccult with no classic CNV(occult)に比べ有意な収縮を認め、蛍光漏出の変化では他のタイプに比べoccultで投与後も持続する率が高い傾向にあったことから、ranibizumabは網膜色素上皮病変に比べ、網膜色素上皮上病変においてCNVの収縮を来たしやすく、効果が得られやすいと考えられた。

A. 研究目的

近年、滲出型加齢黄斑変性(滲出型AMD)に対する治療法として抗血管内皮増殖因子療法(抗VEGF療法)が多用されている。抗VEGF薬の一種であるranibizumab(ルセンティス™)の治療効果は病型、病変タイプによって異なるという報告が散見される。

滲出型AMDに対してranibizumabを硝子体内投与し、その治療前後のCNVへの効果についてretrospectiveに検討したので報告する。

B. 研究方法

対象は、平成21年4月から平成22年6月までに関西医科大学附属枚方病院において、ranibizumabを1か月毎に連続3回硝子体内投与し、投与開始前(投与前)と3回投与後1か月目(投与後)にフルオレセイン蛍光眼底造影(FA)を行った滲出型AMD46例46眼。男性

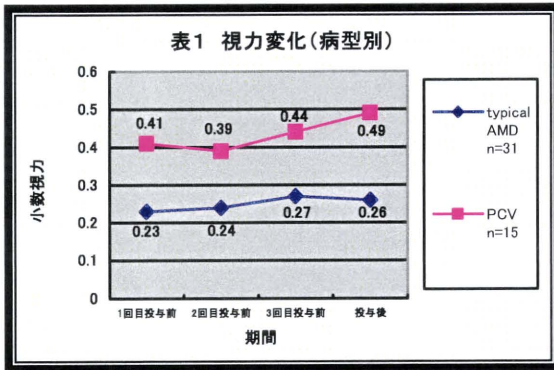
34例34眼、女性12例12眼。年齢は62歳～87歳(平均74.8歳)であった。病型は、典型的AMD(typicalAMD)31例31眼、ポリープ状脈絡膜血管症(PCV)15例15眼。typicalAMDの病変タイプの内訳は、predominantly classic CNV(pred)13眼、minimally classic CNV(mini)4眼、occult with no classic CNV(occult)14眼であった。これらの症例に対して、投与開始前と投与後の視力・FAにおける蛍光漏出の変化・CNVの収縮率について検討した。CNVの収縮率は、投与前後のFA写真をもとにTOPCON社のIMAGENETのPDT/MPS解析ソフトを用いて病変面積(mm²)を測定し、投与後のCNV面積/投与前のCNV面積で算出した。また結果の検定には、Wilcoxon signed-ranks test、Welch's t-test、Mann-Whitney's U testをそれぞれ用いた。

(倫理面への配慮)

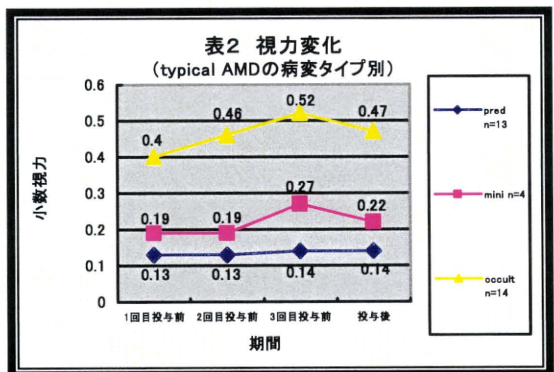
なし

C. 研究結果

病型別の平均視力の変化では typical AMD は投与前 0.23,投与後 0.26、PCV は投与前,0.41 投与後 0.49 と投与前後で有意な改善は認められず(P>0.05)、いずれにおいても維持にとどまっていた。(表1)



typical AMD の病変タイプ別に平均視力の変化をみると、pred は投与前 0.13,投与後 0.14、miniは投与前0.19,投与後0.22、occultは投与前 0.40,投与後 0.47 であった。病型別の視力変化と同様に、typical AMD の病変タイプ別においても投与前後で有意な改善は認められず(P>0.05)、いずれのタイプも維持にとどまっていた。(表2)



FA で投与後も蛍光漏出を認めたものは typical AMD で 9 眼(29%)、PCV で 5 眼(31%) であった。typical AMD の病変タイプ別では

pred3 眼(23%)、mini0 眼(0%)、occult6 眼(42%)で投与後も続く蛍光漏出を認めた。

CNV の平均病変面積と収縮率では、typical AMD 投与前 6454 mm²,投与後 6165 mm² (95.5%)、PCV 投与前 5818 mm²,投与後 5697 mm² (97.9%)と病型別での有意差は認めなかった(P>0.05)。typical AMD の病変タイプ別では、pred 投与前 3047 mm²,投与後 2618 mm² (85.9%)、mini 投与前 9312 mm²,投与後 7959 mm²(85.5%)、occult 投与前 8801 mm²,投与後 8946 mm²(101.6%)であり、収縮率では pred と occult 間 (P=0.0262)、mini と occult 間 (P=0.0267)で有意差を認めた。

D. 考察

Framme らは ranibizumab 硝子体内注射後の CNV への効果を OCT で typical AMD を病変タイプ別で比較検討しており、病巣の大きさ(直径)はどのタイプにおいても治療前後で有意な差はなかったが、網膜厚に関しては occult に比べ classic、mini で大きな改善を認め、2 型 CNV 成分を含むタイプでの有効性を報告している¹⁾。

今回、我々は滲出型 AMD に対して ranibizumab を硝子体内投与し、その治療前後の CNV への効果について FA を用いて検討したが、CNV の収縮率は typical AMD、PCV の病型別の比較ではほぼ同率であったが、typical AMD の病変タイプ別で比較すると pred と mini は occult に比べ有意な収縮を認めた。これは typical AMD のうち、pred と mini は網膜色素上皮の上に CNV が進展した 2 型 CNV を含むものであり、同部に ranibizumab が著効することによって CNV の収縮が得られたと考えられた。一方、occult や PCV は網膜色素上皮下に病変がとどまるため、pred や mini に比べ収

縮率は低く、また、occult では投与後も FA で蛍光漏出が持続する率が 42%と他のタイプに比べ高い傾向にあったと考えられた。

視力の変化においては typical AMD、PCV の病型別、typical AMD の病変タイプ別のいずれにおいても投与前後で有意な改善は認めず、維持にとどまっていた。CNV の収縮と視力改善は相関せず、CNV が収縮しても平均視力は改善しなかった。

E. 結論

Ranibizumab は occult や PCV のような網膜色素上皮病変に比べ、pred、mini のような網膜色素上皮病変において CNV の収縮を来しやすいと考えられた。

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

1. 有澤章子、他：滲出型加齢黄斑変性に対する ranibizumab 硝子体注射後の脈絡膜新生血管の変化。第 64 回日本臨床眼科学会、神戸、2010.

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. Framme, et al: Effects on choroidal neovascularization after anti-VEGF upload using intravitreal ranibizumab, as determined by spectral domain-optical coherence tomography. Invest Ophthalmol Vis Sci 51, 1671-1676, 2009.

53. 慢性期中心性漿液性脈絡網膜症に対する

光線力学的療法前後の脈絡膜静脈の変化

植谷留佳、伊藤逸毅、大岩和博、石川浩平、寺崎浩子

(名古屋大)

研究要旨 我々は昨年、慢性期中心性漿液性脈絡網膜症(CSC)に対するベルテポルフイン半量光線力学的療法(1/2PDT)およびベルテポルフイン三分の一量光線力学的療法(1/3PDT)の治療効果および脈絡膜厚の変化を報告した(第 27 回日本眼循環学会)。本研究では、同症例の 1/2PDT および 1/3PDT 前後におけるレーザー照射部位内外の脈絡膜静脈血管径について検討した。その結果、1/2PDT は照射範囲内外で脈絡膜静脈の断面積を有意に減少させたが、1/3PDT ではどちらにおいても有意な変化はなかった。1/2PDT において照射範囲内は照射範囲外に比べて脈絡膜静脈断面積の減少率が有意に大きかった。また 1/2PDT では脈絡膜静脈の縦径は横径と比較し、有意に減少率が高かった。

A. 研究目的

我々は第 27 回日本眼循環学会で、慢性期 CSC に対する 1/2PDT と 1/3PDT 後の漿液性網膜剥離(SRD)と中心窩下脈絡膜厚の変化について報告した。その結果、1/2PDT は全例で SRD を消失させ(10/10=100%)、脈絡膜厚を減少させたが、1/3PDT では SRD 消失率は低く(2/6 = 33%)、脈絡膜厚に有意な変化は無かった。今回は同症例の PDT 前後のレーザー照射部位内外の脈絡膜静脈径の変化を検討した。

B. 研究方法

対象は発症後半年以上を経過し、1/2PDT を行った男性 7 例 7 眼、女性 3 例 3 眼(平均 51.9 歳)と、1/3PDT を行った男性 5 例 5 眼、女性 1 例 1 眼(平均 52.5 歳)。16 例は連続症例であり、最初の 10 例に 1/2PDT を、次の 6 例に

1/3PDT を行った。PDT はベルテポルフイン量以外の条件は通常設定で行った。治療前と治療後 4 日、1 か月、3 か月にスペクトラルドメイン光干渉断層計画像を用いてレーザー照射部位内外の脈絡膜静脈の断面積と縦径、横径を測定した。脈絡膜静脈は術前のインドシアニンググリーン蛍光造影所見を用いて同定した。

(倫理面への配慮)

この研究は当院倫理委員会承認の元、保険適応外治療と臨床研究について対象患者のインフォームドコンセントを得た上で施行した。

C. 研究結果

レーザー照射部位内の脈絡膜静脈の平均断面積は、1/2PDT で PDT 前 $75438 \mu\text{m}^2$ 、PDT 3 か月後 $50422 \mu\text{m}^2$ ($p < 0.01$)と減少したが、1/3PDT では有意な変化はなかった(図 1)。レーザー照射部位外の脈絡膜静脈の平均断面

積は、1/2PDTでPDT前65745 μm^2 、PDT3か月後52672 μm^2 ($p < 0.01$)と減少したが、1/3PDTでは有意な変化はなかった(図2)。PDT3か月後の1/2PDTの脈絡膜静脈断面積の減少率は照射範囲内31.0%、照射範囲外20.0%であり、照射範囲内は照射範囲外よりも有意に減少率が大きかった($p < 0.05$)(図3)。1/2PDTの照射部位内の静脈径の減少率はPDT3か月後で縦径28.7%、横径3.8%で縦径は横径よりも有意に減少していた($p < 0.01$)(図4)。

D. 考察

脈絡膜厚の減少とSRDの消退が得られた1/2PDTでは脈絡膜静脈の断面積が減少した。一方脈絡膜厚を変化させず、SRDの残存した症例のみられた1/3PDTでは脈絡膜静脈の断面積にも変化が無かった。CSCのSRDの消退には、脈絡膜厚と脈絡膜静脈断面積の減少が関連していると考えられる。

また1/2PDTはPDT照射範囲内のみならず、照射範囲外の脈絡膜厚も減少させるとの報告がある。今回の研究でも1/2PDTはPDT照射範囲内外で脈絡膜静脈断面積を減少させた。

1/2PDTではPDTの脈絡膜循環への影響が照射範囲内のみならず、照射範囲外にも及んでおり、後極全体の脈絡膜血流が減少している可能性が示唆される。

1/2PDT後に脈絡膜静脈の断面積が減少する際に、縦径よりも横径の減少率が高かった。脈絡膜血管の可動性は縦方向が横方向よりも大きいことが示唆される。

E. 結論

慢性期CSCに対するPDTの効果は、拡張した脈絡膜血管の狭細化および肥厚した脈絡

膜厚の菲薄化と関連していると考えられる。脈絡膜静脈では縦径は変化しやすいが横径は変化しにくいことも判明した。

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

植谷留佳、他：慢性期中心性漿液性脈絡網膜症に対する光線力学的療法後の脈絡膜厚と静脈血管径の変化. 第64回日本臨床眼科学会、神戸市、2010.

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

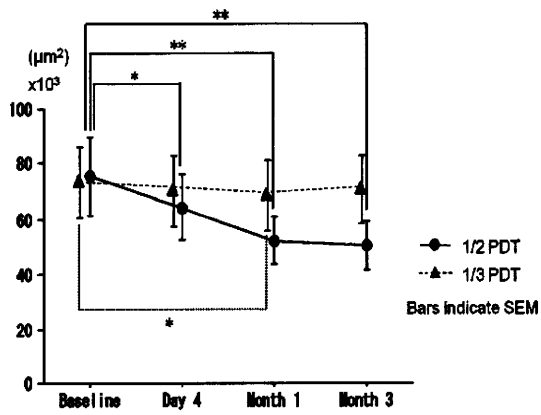
なし

I. 参考文献

1. Chan WM et al: Safety enhanced photodynamic therapy for chronic central serous chorioretinopathy: one-year results of a prospective study. *Retina* 28, 85-93, 2008.

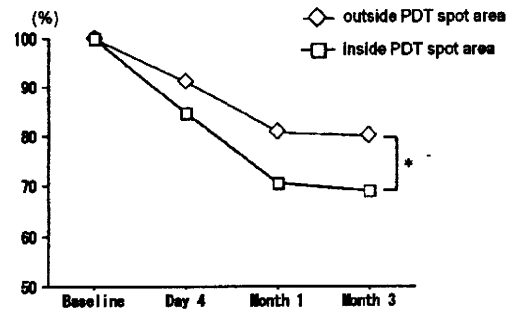
2. Stewart JM: Half dose verteporfin PDT for central serous chorioretinopathy. *Br J Ophthalmol* 90, 805-806, 2008.

3. Maruko I et al: Subfoveal chorioidal thickness after treatment of central serous chorioretinopathy. *Ophthalmology* 117, 1792-1799, 2010.



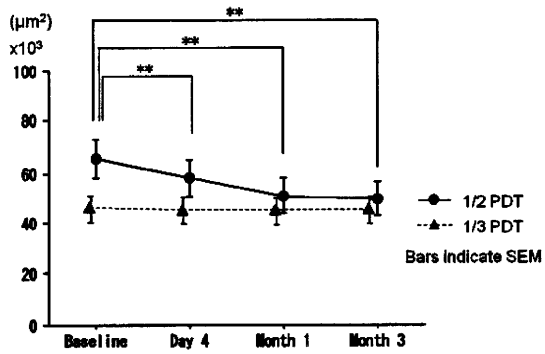
* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ Wilcoxon signed-ranks test

図 1. PDT 照射範囲内の脈絡膜断面積の変化



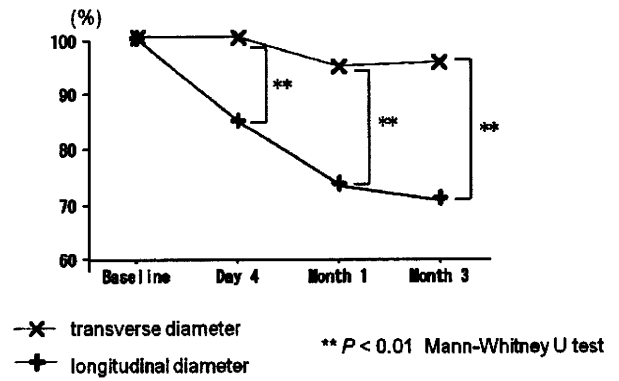
* $P < 0.05$ Mann-Whitney U test

図 3. 1/2PDT における照射範囲内外の脈絡膜断面積の変化



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ Wilcoxon signed-ranks test

図 2. PDT 照射範囲外の脈絡膜断面積の変化



** $P < 0.01$ Mann-Whitney U test

図 4. 1/2PDT における照射範囲内の脈絡膜静脈の縦径と横径の変化

54. カニクイザルを用いたベバシズマブ硝子体内投与における

薬物動態の解析

三宅太一郎、柿木雅志、澤田 修、澤田智子、川村 肇、大路正人
(滋賀医大)

研究要旨 ベバシズマブ硝子体内投与における、血清、前房水中のベバシズマブの薬物動態および前房水中の血管内皮増殖因子(VEGF)に与える影響を解析した。投与眼における前房水中 VEGF 濃度は投与前、平均 80.0 ± 22.6 pg/ml であり、いずれの個体においても投与翌日から 4 週目までは検出感度 (31.2 pg/ml) 以下となり、6 週目で投与前のレベルにもどった。非投与眼においては実験期間を通して前房水中 VEGF 濃度に有意な変化は見られなかった。一方、ベバシズマブ濃度は投与眼では投与翌日にピーク(平均 $49,500 \pm 10,900$ ng/ml) に達し、次第に減少していった。半減期は 2.8 ± 0.6 日だった。非投与眼においても 3 日目をピークにごくわずかの移行を認めた(平均 18.5 ± 25.5 ng/ml)が、2 週間後には検出感度以下となった。血清中のベバシズマブのピーク(平均 $1,430 \pm 186$ ng/ml)は投与 1 週間後であった。半減期は 12.3 ± 2.6 日だった。ベバシズマブの硝子体内投与は投与眼において少なくとも 4 週間は VEGF 濃度を減少させると考えられた。また僚眼への影響は非常に少ないと推察される。

A. 研究目的

ベバシズマブ硝子体内投与における、血清、前房水中のベバシズマブの薬物動態および前房水中の血管内皮増殖因子(VEGF)に与える影響を解析する。

B. 研究方法

ベバシズマブ (1.25mg/50 μ l) をカニクイザル 3 匹の片眼の硝子体内に投与し、投与直前および投与後 1,3,7 日、2,4,6,8 週に解析を行った。両眼の前房水および血清中のベバシズマブ濃度、VEGF 濃度を ELISA 法にて測定した。

(倫理面への配慮)

動物の痛みによる苦痛に配慮し麻酔薬を使用

して実験を行った。

C. 研究結果

投与眼における前房水中 VEGF 濃度は投与前、平均 80.0 ± 22.6 pg/ml であり、いずれの個体においても投与翌日から 4 週目までは検出感度 (31.2 pg/ml) 以下となり、6 週目で投与前のレベルにもどった。非投与眼においては実験期間を通して前房水中 VEGF 濃度に有意な変化は見られなかった。一方、ベバシズマブ濃度は投与眼では投与翌日にピーク(平均 $49,500 \pm 10,900$ ng/ml) に達し、次第に減少していった。半減期は 2.8 ± 0.6 日だった。非投与眼においても 3 日目をピークにごくわずかの移行を認めた(平均 18.5 ± 25.5 ng/ml)が、2

週間後には検出感度以下となった。血清中のベバシズマブのピーク(平均 1,430 ± 186 ng/ml)は投与 1 週間後であった。半減期は 12.3 ± 2.6 日だった。

D. 考察

本実験では経時的な測定を行うため、硝子体でなく繰り返し採取可能な前房水を使用した。硝子体中と前房中の VEGF 濃度は相関する事がわかっており、前房中 VEGF 濃度が低下している期間は硝子体中でも VEGF 濃度が低下していると考えられた。

本実験では非投与眼には影響はみられなかったが、これまでに Avery らは極少量 (6,200 ng)のベバシズマブ硝子体内投与でも効果がみられたと報告している。この量は前房水中に換算するとおおよそ 250 ng/ml に相当する。本実験では非投与眼の前房水中ベバシズマブの濃度はピーク時でも 18.5 ng/ml しかなく、前述の濃度より 10 倍以上低濃度であった。このことより通常量 (1.25 mg) では非投与眼への影響は期待できないと考えられた。

E. 結論

ベバシズマブの硝子体内投与は投与眼において少なくとも 4 週間は VEGF 濃度を減少させると考えられる。また僚眼への影響は非常に少ないと推察される。

F. 健康危険情報

カニクイザルを用いた実験でベバシズマブ (2 mg/kg) を 1 回静脈投与すると血中濃度は 10,000 ng/ml 以上になることがわかっており、これを週 1 回 26 回続けて投与する反復投与毒性試験でも毒性がないことがわかっている。本実験でのベバシズマブの濃度はピーク時でも

1,430 ng/ml であり全身にはほとんど影響がないと推察された。

G. 研究発表

1. 論文発表

Miyake T, Sawada O, Kakinoki M, Sawada T, Kawamura H, Ogasawara K, Ohji M: Pharmacokinetics of bevacizumab and its effect on vascular endothelial growth factor after intravitreal injection of bevacizumab in macaque eyes. Invest Ophthalmol Vis Sci 51, 1606-1608, 2010.

2. 学会発表

カニクイザルを用いたベバシズマブ硝子体内投与における薬物動態の解析. 第114回日本眼科学会総会、名古屋、2010.

H. 知的所有権の取得状況

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. Bakri SJ, et al: Pharmacokinetics of intravitreal bevacizumab (Avastin). *Ophthalmology* 114, 855-859, 2007.
2. Nomoto H, et al: Pharmacokinetics of Bevacizumab after Topical Subconjunctival, and Intravitreal Administration in Rabbits. *IOVS* 50, 4807-4813, 2009.
3. Funatsu H, et al: Aqueous humor levels of cytokines are related to vitreous levels and