

201122026A

厚生労働科学研究費補助金
障害者対策総合研究事業(感覚器障害分野)

未熟児網膜症の新規手術法開発後の
治療プロトコールの標準化

平成 23 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 東 範 行

平成 24 年(2012 年) 3 月

厚生労働科学研究費補助金
障害者対策総合研究事業(感覚器障害分野)

未熟児網膜症の新規手術法開発後の 治療プロトコルの標準化

平成 23 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 東 範 行

平成 24 年(2012 年) 3 月

目 次

I. 総括研究報告書	
未熟児網膜症の新規手術法開発後の治療プロトコールの標準化 東 範行 国立成育医療研究センター 眼科・細胞医療研究室	1
II. 分担研究報告書	
1. 未熟児網膜症に対する抗VEGF抗体投与における血中移行に関する研究 日下 俊次 近畿大学医学部堺病院眼科	11
2. 未熟児網膜症3期に対する抗VEGF抗体の有効性に関する研究 白神 史雄 香川大学医学部眼科学講座	14
3. 未熟児網膜症の治療に使用する抗 VEGF 剤と無灌流領域 近藤 峰生 三重大学大学院医学系研究科神経感覚医学講座眼科学	16
4. 未熟児網膜症における小切開硝子体手術の有用性の検討 門之園 一明 横浜市立大学附属市民総合医療センター眼科	19
5. 未熟児網膜症に対する硝子体手術に有用な手術補助剤の開発と未熟児網膜症診断 に有用な無侵襲の網膜酸素飽和度測定装置の開発 石橋 達朗 九州大学医学研究院眼科学分野	21
6. 硝子体生体染色剤による無菌性眼内炎に関する研究 坂本 泰二 鹿児島大学医学部眼科学	23
7. 未熟児網膜症の早期硝子体手術における網膜の構造と機能の詳細な評価 東 範行 国立成育医療研究センター眼科	26
8. 東北地方における未熟児網膜症拠点病院の創設と集中化モデル事業に関する研究 飯田 知弘 福島県立医科大学眼科学講座	29
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	34
IV. 研究成果の刊行物、別刷	44

未熟児網膜症の新規手術法開発後の治療プロトコールの標準化に関する研究

研究代表者 東 範行 国立成育医療研究センター 眼科 医長・細胞医療研究室 室長

研究要旨：網膜光凝固に対する反応が不十分な重症未熟児網膜症に対して抗血管内皮細胞増殖因子（VEGF）薬（アバスタチン®）の眼内投与が行われつつあるが、眼内に投与されたアバスタチンの全身への移行など詳細な薬物動態は検討されていない。今回我々はアバスタチン投与を行った重症未熟児網膜症の投与前後のアバスタチン、VEGF の血清濃度を検討した。その結果、アバスタチンは全身に移行し、アバスタチン投与後に血清中アバスタチン濃度は上昇、逆に VEGF 濃度は低下、また、両者には負の相関があることが示された。未熟児網膜症（ROP）に対して抗 VEGF 治療を行う際にはこの点に十分配慮すべきである。

ROP の 3 期中期から後期における抗 VEGF 抗体ベバシズマブ（アバスタチン®、Genentech 社）硝子体内注入の有効性を検討した。現在までに 5 例 10 眼に投与した。いずれもレーザー光凝固の適応と考えられたが、レーザー光凝固を施行せず、10 眼ともにベバシズマブ 0.625mg/0.25m を硝子体内に注入した。治療後 10 眼ともに、新生血管は退縮し、網膜血管は周辺部まで伸び、牽引性網膜剥離に至らず、したがって、いずれの症例にもレーザー光凝固は不要であった。全身的にも局所的にも副作用は見られなかった。

ROP に対する新たな治療法として、抗 VEGF 剤の硝子体内注射が注目されている。これまでの報告では、抗 VEGF 剤の硝子体内注射は眼内新生血管の活動性を低下させることによって ROP の治療として有用であるとされている。しかし最近になり、抗 VEGF 剤の注射によって網膜での無灌流領域（NPA）が拡大するのではないかという報告がなされた。もしそうであれば、この治療法は ROP の治療薬として望ましくない一面があることになる。そこで今回我々は、網膜静脈分枝閉塞（BRVO）の患者 58 名 58 眼において抗 VEGF 剤であるベバシズマブ（アバスタチン®）の硝子体内注射（IVB）と注射後 1 か月における NPA の面積を計測した。その結果、NPA の面積は IVB によって拡大していないことがわかった。今回の研究は ROP の網膜で計測したものではないが、少なくとも BRVO においては IVB は網膜の NPA を拡大させることはないことがわかった。

早期硝子体手術が主流となりつつある ROP に対して、小切開硝子体手術の有効性と安全性を検討した。本治療術式の治療成績は良好であり、小切開硝子体手術は ROP に対して有効な術式と考えられた。

ROP に対する硝子体手術の際に有用な手術補助剤の開発と臨床応用を行うと同時に、ROP 病期や病態の診断に有用な無侵襲の網膜酸素飽和度測定装置の開発を行っておりその成果を報告する。

硝子体手術などに用いるトリアムシノロン眼内投与後に発生する無菌性眼内炎の臨床症状を調査し、そのメカニズムを培養細胞で調べた。投与後 24 時間以内に無痛性の好中球主体の炎症がおりインターロイキン 8 を中心としたサイトカイン上昇が前房液に認められる。一時的に視力は低下するが、短期間のうちに炎症は消退し、視力予後は良好である。原因としてはトリアムシノロン製剤に含まれる添加剤に加えて、トリアムシノロン顆粒による物理的刺激が誘因となる可能性が示唆された。

Aggressive posterior ROP/II 型未熟児網膜症（APROP）に対する早期硝子体手術は、これまでに良好な網膜復位を得ている。しかし、未熟な発生の段階で出生し、血管増殖や部分剥離を起こし、光凝固や硝子体手術を受けた網膜は、正常の構造や機能をもつとは思えない。そこで、治療予後を精密に評価する目的で、全身麻酔下での網膜の微細構造と機能の検査システムを構築した。広面角デジタル眼底カメラ（RetCam）と蛍光眼底造影ユニットで眼底の全体像と循環動態を把握し、光干渉断層計で用い網膜の断面を観察し、さらに網膜電図（全視野と黄斑局所）によって機能を評価する。これら無侵襲の検査方法を組み合わせることによって、これまで以上に網膜症の病態の微細構築と機能を理解することができ、手術適応や術後予後判定に役立つことが判明した。

医師数が偏在する医療環境において、拠点化された病院の創設と医療ネットワークシステムの確立により十分な未熟児網膜症医療を将来的に提供することを目的とする。福島県内のROPの治療設備に関しては充足していると考えられるが、診断および標準化にむけては画像記録装置など整備が必要と考えられた。遠隔地からの搬送手段としてヘリコプター搬送などは行われておらず、今後、検討が必要と考えられた。

A. 研究目的

未熟児網膜症(ROP)は小児の失明原因の第一位を占める。周産期医療の進歩によって一時期は減少していたが、在胎週数・出生体重が極端に少ない超低出生体重児が生存可能になると、近年は却って急速に増加し、小児失明原因の約40%にまで至っている。我々は重症網膜症に対して、失明を回避する画期的な手術方法を開発したが、この治療プロトコールをさらに改善し、標準化することを目的とする。

ROPには劇症型とも言えるきわめて重症な病型(厚生省分類Ⅱ型/国際分類 aggressive posterior ROP)が存在する。このⅡ型/aggressive posterior ROPはきわめて難治で、光凝固治療に抵抗し、重篤な網膜剥離に進行する。従来硝子体手術では、網膜剥離の治癒率が60%以下であるが、治療できても網膜がすでに強く障害されており、光覚～手動弁程度の視力しか得られないものが大部分であった。しかしながら、我々の開発した早期手術によって、予後を顕著に改善することができ、患児は盲学校ではなく普通学校へ行ける可能性が開けた。この手術を行う事により現在、未熟児網膜症による重篤な失明は消失しつつある。しかしながら、周産期医療と産婦人科医療の進歩に伴い、体重が極端に少ない超低出生体重児が助かる可能性がますます高くなり、重症ROPの発症は増える一方であろう。そのような背景を鑑み早期手術が開発されたとはいえその予後の改善および普及に努めることは急務である。本研究では、手術の洗練化、とともに、全国への普及を目指す。

小児の重症視覚障害において、残存視力を向上させ、早期に社会参加を可能とすることは、少子時代の医療、福祉問題の解決に大きく寄与する。また、この治療プロトコールを社会に発信・普及を目指し、眼科医師のレベルアップにも大きく寄与することができる。障害児教育が特別支援学校で統括して行われることを考慮すれば、早期からロービジョンケアプログラムを実施することは、視覚に応じて有効な教育を受けることが期待できる点も有用である。

B. 研究方法

1) 未熟児網膜症に対する抗VEGF抗体投与における血中移行に関する研究

網膜光凝固を行ってもなお病状が沈静化せず、さらに進行して網膜剥離が発症した、あるいは網膜剥離が発症する可能性が極めて高いと判断された11例で、抗VEGF薬(アバスタチン®)を0.25-0.5mg/眼投与し、投与前、投与1, 7, 14日後に採血を行い、血清中のアバスタチン濃度とVEGF濃度をELISA法で測定した。

(倫理面への配慮)

患児は通常の網膜光凝固治療に反応せず、さらに重症化した、あるいは重症化する可能性が極めて高い症例で、アバスタチン投与で病状が改善する可能性が高いと推定された。採血は通常の全身状態を把握するための採血となるべく同時に行うように、かつ少量(0.4ml以下)とし、患児の負担とならないようにした。なお、本研究は倫理審査委員会の承認済みで、両親の書面によるインフォームドコンセントを得て行った。

2) 未熟児網膜症3期に対する抗VEGF抗体の有効性に関する研究

未熟児網膜症3期中期から後期における症例でレーザー光凝固の適応と考えられた症例5例10眼を対象とした。これら10眼に対して、レーザー光凝固は施行せず、ベバシズマブ0.625mg/0.25mlを硝子体に注入した。治療後眼底の経過を観察した。

(倫理面への配慮)

香川大学医学部附属病院医薬品等臨床研究審査委員会の承認を受け、患者の両親に対して詳細な説明を行った後、同意を得て治療を施行した。

3) 未熟児網膜症の治療に使用する抗VEGF剤と無灌流領域

BRVOによる黄斑浮腫による治療目的でIVBを施行した58名58眼(男性25名、女性55名:年齢41-89歳、平均66.2歳)を対象とした。IVB施行前と施行後1か月の時点で蛍光眼底造影を施行し、NPAの面積をImageNet 1024®(Topcon)を使用して測定した。NPAの面積は、視神経乳頭の面積で除することによって乳頭面積(DA)で表した。出血によるブロックとNPAを鑑別するために、常に眼底写真と対比してNPAの領域のみを計測するようにした。

(倫理面への配慮)

本研究は、名古屋大学医学部の倫理委員会の承認を得て行った。患者には今回の研究について十分説明の後に書面による承諾を得て行った。

4) 未熟児網膜症における小切開硝子体手術の有

用性の検討

小切開硝子体技術は近年向上が目覚ましく、小口径のカッターであっても有効な硝子体処理能力を有しており、また、シャフトの脆弱性も改善されて来ている。特に、未熟児網膜症に見られる増殖組織は硝子体基底部に接着する前の硝子体線維構築する可能性が強く、これを早期に除去することが重要である。MIVSの最大の欠点は20ゲージ硝子体手術と比較すると器具の剛性が低く、硝子体切除や膜切除などの術中操作が効率よくできないという点であった。したがって未熟児網膜症において活動性の高い増殖組織の剥離操作が困難になることも懸念される。そこで、様々なDuty cycleやCutting Rateを有する25ゲージ硝子体カッターを用いて牽引性網膜剥離患者を対象に線維血管膜の切除を行った。また、シャフト計の異なる3種類の鉗子に同じ負荷をかけてたわみ量を観察した。

次にMIVSの低侵襲性について評価するため、兎眼を対象に20ゲージ、23ゲージ、25ゲージ硝子体手術を行い、手術時間、術後のタンパク濃度、術中灌流量について比較した。

(倫理面への配慮)

動物実験は動物実験倫理委員会の承認を得て、動物実験に関する基本指針に則り施行した。

5) 未熟児網膜症に対する硝子体手術に有用な手術補助剤の開発と診断に有用な無侵襲の網膜酸素飽和度測定装置の開発

(1) 我々の開発した硝子体手術の際に有用な手術補助剤のBrilliant Ble G(BBG)について医師主導治験の導入を図る。

(2) 前年に報告したプロトタイプ機器の欠点を補填すべく新型の測定装置を開発し、血中酸素飽和度変化に伴う動脈血酸素飽和度の変化と、疾患眼における網膜酸素飽和度変化の表示を検討する。

6) 硝子体生体染色剤による無菌性眼内炎に関する研究

鹿児島大学病院で発生したTA硝子体注射後に発生した無菌性眼内炎について臨床症状などを調査した。また、感染性眼内炎診断目的で採取した前房液について、cytometric bead arrayを用いて、interleukin (IL)-1b、tumor necrosis factor-a (TNF-a)、IL-6、IL-8、IL-10、IL-12の濃度測定を行った。また、別のサンプルでは細胞診を行った。

次に、培養網膜色素上皮細胞(ARPE-19)、網膜細胞R28、水晶体上皮細胞B3について、TAが及ぼす物理的刺激が、サイトカイン産生に及ぼす影響について、図1の系を用いて、検討した。その際に、物理的刺激を及ぼす非活性ステロイドとして

11-deoxycortisol (11DC)を用いて検討した。また、lipopolysaccharide(LPS)の影響も検討した。

(倫理面への配慮)

TA治療については、鹿児島大学倫理委員会許可のもとで施行した。また、眼内液は感染性眼内炎診断のために得られたサンプルで、細菌培養に用いた残りを使用している。解析についても鹿児島大学倫理委員会許可、患者同意取得済。

7) 未熟児網膜症の早期硝子体手術における網膜の構造と機能の詳細な評価

対象：2010年4月～2011年12月までに、国立成育医療研究センターにおいて、stage 4Aあるいはstage 4B ROPに早期硝子体手術を行い、術後に全身麻酔下検査を行った5例10眼(女児2例、男児3例)。

方法：使用する機器は、広画角デジタル眼底カメラと蛍光眼底造影ユニット(RetCam, Mssie Research Laboratories)、通常の眼底カメラと蛍光眼底造影ユニット(TRC-50LX, TOPCON)、光干渉断層計(RS-3000, NIDEK; iVue, Optovue)、網膜電図(全視野と黄斑局所; MEB-2200, 日本光電; ER-80, Kowa)である。

全身麻酔下で20分の暗順応の後に、仰臥射で全視野ERG検査を行う。次に、側臥位で顔を横に向け、黄斑局所ERGとTRC-50LXによる後極部の眼底撮影、蛍光眼底造影を行う。その後、再度仰臥位にもどし、RetCamで眼底全体の撮影と蛍光造影を行い、必要に応じて手持ち式OCT iVueで、周辺部の構造を観察する。

8) 東北地方における未熟児網膜症拠点病院の創設と集中化モデル事業に関する研究

福島県内の未熟児網膜症診療ならびに共通の治療指針に基づいた医療連携の実態を調査する。

C. 研究結果と考察

1) 未熟児網膜症に対する抗VEGF抗体投与における血中移行に関する研究

3例は片眼のみ、8例は両眼にアバスチン投与を要した。症例の平均出生週数は25週、平均出生体重は660gであった。全例でアバスチン投与前に網膜光凝固を無血管領域に施行されていた。アバスチン投与は平均38修正週数、平均体重1,720gで施行されていた。

アバスチン投与前後の血清中アバスチン濃度の推移は、投与後2週まで血清中のアバスチン濃度は徐々に上昇していた。

総量として0.5mgのアバスチンを投与した症例の投与前後の血清中VEGF濃度の推移は、血清中のVEGF濃度は投与翌日には投与前の値に比し大きく低下し、投与2週後までこの傾向は続いていた。血清中のアバスチン濃度とVEGF濃

度の関係は、負の相関を示した ($r=-0.575$, $P=0.0125$, Spearman rank order correlation)。

今回の検討によって眼内に投与されたアバスタチンは全身に移行し、血清中のアバスタチン濃度が上昇し、逆に VEGF 濃度は低下、また、両者には負の相関があることが示された。今回の検討では患児の入院期間の制約もあり、投与後2週までしか測定できていないが、より長期にわたって VEGF 濃度が抑制されている可能性があり、今後さらに長期のアバスタチンおよび VEGF 濃度の推移を検討すべきであると思われる。

VEGF は生理的な新生血管に関しても重要な役割を果たすサイトカインであり、もし、これが強く抑制されるようであればアバスタチンの眼内投与によって患児の生理的な新生血管が阻害される可能性が高くなる。今回の検討では VEGF 濃度が測定感度以下になるような症例は皆無であり、全症例の最低値は 0.5mg を片眼に投与した症例で、投与1週後に 106ng/ml (投与前は 603mg/ml) であった。このレベルで生理的な新生血管が阻害されていないかどうかの知見は不十分で今後の検討が必要であるが、今回の対象となった患児ではその後の新生児科医師の診察によって全身所見に特に異常はみられていない。

未熟児網膜症例の血清中の VEGF 濃度に関しては未熟児網膜症を発症していない同年齢の低出生体重児より有意に高いとする報告と有意差がないという報告があり、統一した見解は得られていない。仮に未熟児網膜症例の血清 VEGF 濃度が正常より病的に高いとすれば、アバスタチン投与によって多少 VEGF 濃度が低下しても全身的には悪影響が出ないとも考えられる。ただし、この点に関しては今後、注意深い検討が必要である。

2) 未熟児網膜症3期に対する抗VEGF抗体の有効性に関する研究

5例10眼全てにおいて、病態の進行は停止し、牽引性網膜剥離を生じることなく新生血管は退縮した。したがって、レーザー光凝固や硝子体手術を行う必要は全例でなかった。なお、経過観察期間は1か月から12か月 (中央値4か月) にわたっている。安全性に関しては、全身的にも局所的にもこの治療に関連する副作用はみられなかった。

この結果から、未熟児網膜症の病態に VEGF が大きく関与し、抗 VEGF 抗体によって病態の進行が停止し、血管の成長が正常化に向かうことが明らかになった。過去の報告においても、今回の結果からも、全身的にも局所的にも有害事象は見られず、安全である可能性が高いと思われる。レーザーや硝子体手術が不要になったことで、この IVB が、将来的に良好な予後が約束される治療と

なる可能性が示唆された。

3) 未熟児網膜症の治療に使用する抗 VEGF 剤と無灌流領域

58眼中37眼は IVB 前に NPA が存在しなかった。この37眼では、IVB 後に NPA が出現したものが3眼あった。それらの面積は、 0.13 , 0.47 , 0.60 DA であった。

58眼中21眼では IVB 前に NPA が存在しており、その面積は 3.45 ± 4.66 DA であった。これら21眼の IVB 後1か月の NPA 面積は、 3.45 ± 5.19 DA であった。両者には統計学的に有意な差はなかった ($P=0.36$)。

この21眼の IVB 前後の NPA 面積の変化を図2に示す。21眼で、IVB 前後で NPA 面積が 1DA 以上増加したものは1眼のみであった。一方で、IVB 前後で NPA 面積が 1DA 以上低下したものは4眼であった。

最近になり、IVB 後に網膜に虚血性変化が生じたという報告がいくつかみられる。Kim らは、CRVO の症例で IVB 後に非虚血型が虚血型に変化した1例を報告している。また、Papadopoulou らは、抗 VEGF 剤注射後に網膜血管径が減少したことを報告している。

その一方で、IVB は網膜における虚血性変化をおこさないという報告もある。CRVO と BRVO の29眼における定性的検討を行った Prager らは、NPA 面積は IVB 前後で変化なかったと報告しているし、Kook らも糖尿病網膜症の129眼における NPA の検討により、その面積は増加していないことを報告している。

もしも IVB によって網膜に急激な虚血変化が引き起こされるのであれば、IVB 後1か月の時点で NPA が増加する症例が多くみられるはずであると仮定して今回の研究を行った。その結果今回の我々の BRVO 58眼の結果では、IVB 前と IVB 後で有意な NPA 面積の変化はみられなかった。しかも、58眼中、IVB 後に NPA が 1DA 以上増加したのはたったの1眼のみであった。以上により、IVB が NPA を促進させる可能性は低いと結論した。

それでは、なぜ我々の1眼で急激な NPA の増加がみられたのであろうか。Hayreh は、65歳以上の BRVO では、発症から6か月の経過観察中に約16%の症例において、非虚血型から虚血型に移行することを報告している[参考文献7]。図3に示した症例は、そのような非虚血型から虚血型への移行症例であり、IVB との関連で生じたものではなかった可能性があると考えられた。

4) 未熟児網膜症における小切開硝子体手術の有効性の検討

① Duty cycle 39%、Cutting Rate 2500 のカッター、
② Duty cycle 52%、Cutting Rate 5000 のカッター、
(Cycles/Minute) の2種類の 25ゲージ硝子体カッ

ター（Alcon社）を使用して合計60眼の増殖膜を有する疾患に対する増殖膜除去を行ったところ、①の器具において2眼で医原性裂孔、1眼で網膜出血を認めたが、②の器具においては全眼で医原性裂孔および網膜出血は見られなかった。また、増殖膜切除が前眼において可能であった。

兎眼を用いた動物実験では25ゲージ群において術後1日、3日におけるタンパク濃度が20ゲージ、23ゲージ群と比較して有意に低かった（ $p < 0.001$ ）。また25ゲージ群において術中灌流量が有意に少なかった。

未熟児網膜症に対する小切開硝子体手術手技の応用により、その治療成績は向上すると予想される。近年の高精度の器具の開発により、未熟児網膜症の早期手術はより安全性の高いものに革新してゆくであろう。今回の検討により、小切開硝子体手術の低侵襲性、剛性を高めた道具の使用による操作性ならびに安全性の向上が示された。しかし、今回の我々の検討は成人眼ならびに動物を対象とした結果から導きだされたものであり、今後は重症未熟児網膜症に対する症例を重ねながら慎重に有効性を検討していく必要があると思われる。

5) 未熟児網膜症に対する硝子体手術に有用な手術補助剤の開発と診断に有用な無侵襲の網膜酸素飽和度測定装置の開発

(1) 我々の開発した硝子体手術の際に有用な手術補助剤のBBGは、網膜内境界膜に対して良好な染色性を有しており、現在オフラベルで用いられているインドシアニングリーン(ICG)の安全面での欠点を克服可能な有用な手術補助剤である。すでにライセンスを終え、2009年オランダのDORC社によりEU圏で製品化された。現在同剤の日本国内への導入を図るべく、日本医師会治験促進センターの支援をうけ、厚生労働科学研究・治験推進研究事業による医師主導治験の準備を進めている。

BBGはICGと比較し網膜毒性はきわめて低いと考えられる色素であるため、国内導入へむけ医師主導治験の計画と遂行を実現する。

(2) 前年はプロトタイプ機器での網膜動静脈の判別や臨床症例への応用を行ってきたが、取得される眼底写真の解像度に問題があり、本年は新たに新型機を開発し、前年に引き続き臨床症例において網膜の酸素飽和度の低下している領域のより詳細な描出にも成功した。

我々の開発した新しい網膜酸素飽和度測定装置では得られた2波長の分光分析により、疾患眼での詳細な酸素飽和度の描出に成功した。今後さらなる正確性と未熟児診療への応用を目指し機器の改良を進める予定である。

6) 硝子体生体染色剤による無菌性眼内炎に関する研究

2009年から2011年までの間に、合計21件の、無菌性眼内炎の発生があった。適応症例は、加齢黄斑変性、糖尿病黄斑症、網膜静脈閉塞症などすべてにわたっており、特に関連の有る疾患はなかった。男女差、年齢による傾向は認められなかった。

臨床的に、TA投与後24時間以内に発生した。臨床症状は痛みを伴わない前房および硝子体の炎症であった。視力障害は様々であったが、20例は発症前視力の維持あるいは改善が可能であった。1例で視力低下がおこったが、これは無菌性眼内炎のためではなく原疾患の影響によるものと考えられた。2009年9月からTA液から保存剤をフィルターで除去しているが、その後の発生率は低下した。

比較的特徴的なことは、以前に眼内注射あるいは、白内障や硝子体手術などの眼内手術を受けた既往のある患者が多かったことである。

採取された前房液において、滲出細胞はその99%が成熟好中球であった。TA顆粒あるいはリンパ球が少数認められた。

前房内のサイトカインは、IL-6とIL-8が有意に高かった。他のサイトカインの上昇は見られなかった。

培養細胞においては、IL-6とIL-8の濃度が、TAと直接接触して培養することで明らかに上昇した。フィルターにより直接接触を阻害すると、その変化は消失した。同様な変化は、11-DCにおいてもみられ、直接接触させると、IL-6とIL-8濃度が上昇したが、接触させないとその変化は見られなかった。この変化は、ARPE19とB3細胞では明らかであったが、R28細胞では見られなかった。

LPSを添加すると同様にIL-6とIL-8の濃度が上昇した。

眼内にTAを投与する治療法は、網膜疾患治療法として、広く世界に定着した方法であり、一定の効果が認められている。ただし、白内障などの有害事象を惹起することがあるとされている。その中の一つに、無菌性眼内炎を惹起することがあることが知られるようになった。

この原因としては、まずTAに含まれる添加剤の影響が考えられる。TAの添加剤には、ベンジルアルコールなどの物質がありそれが関連している可能性はある。ただし、ベンジルアルコール自体が、明らかに細胞毒性を持つことはない。今回の一連の症例で、添加剤をフィルタリングで除くことで、無菌性眼内炎発生率が低下したことは、添加剤が無菌性眼内炎の発症に影響した可能性を示唆した。

ただし、添加剤が無菌性眼内炎の唯一の原因で

あれば、添加剤を除くことで無菌性眼内炎の発症は消失するはずであるが、添加剤を除いたTAを用いても、無菌性眼内炎の発症はみとめられた。そこで、新たな可能性を調べるために、TA顆粒による物理的刺激が炎症性サイトカイン産生に及ぼす影響を調べた。その結果、TA顆粒と接触させて培養すると、培養液中に炎症性サイトカインIL-6やIL-8濃度が増加した。この作用は、TAと同じ顆粒状物質であるが、ステロイド作用のない11-DCでも見られた。このことから、この作用はTAのもつステロイド活性によるものではなく、物理的作用によることが示唆された。

IL-8は、好中球浸潤を誘導する強力なサイトカインである。そのため、前房液中の浸潤細胞のほとんどが好中球であったことは、臨床症状と一致する。

上記の作用は、網膜色素上皮細胞で最も顕著に見られたが、実際の眼内注射で顆粒状物質が網膜色素上皮細胞に付着する可能性は極めて小さい。しかし、水晶体上皮細胞であれば、直接付着する可能性がある。特に眼内手術既往眼や硝子体注射既往眼に好発したことは、この理論に合致する。

なお、TA顆粒自体は、眼内投与後に急速に崩壊してゆく。また、ステロイド自体が強力な炎症抑制作用を持つ。そのため、炎症は短期間で消退し、視力予後も良好であった。

7) 未熟児網膜症の早期硝子体手術における網膜の構造と機能の詳細な評価

いずれの症例でも全種類の検査のデータを安定して取得することができた。OCTに関しては50枚加算の良好な画像を、ERGに関してはすべてのタイプの波形を、全例で得られた。ことに、視力に関わる黄斑に関しては、撮影、OCT、局所ERGによって構造と機能を詳細に計測できた。検査時間は約1時間30分ほどであり、検査技術においても、麻酔においても、問題は生じなかった。

いずれも黄斑の形成はある程度不良であり、網膜ひだを形成している場合は、陥凹の欠如と層構造の乱れが観察された。全視野ERGは網膜の牽引が強いと不良であった。黄斑局所ERGは、網膜ひだが高度でと黄斑が巻き込まれていると出なかったが、牽引があつて黄斑陥凹が明らかでない場合でも反応が得られる症例があつた。

術前に検査を行えたのは1例2眼に過ぎなかったが、網膜から立ち上がる増殖組織と硝子体の状態が鮮明に観察できた。

ROPの診療においては、RetCamの導入によって、眼底を広範囲に撮影することができ、疾患の理解が深まった。ことに、眼底zoneにおける病変の位置と範囲を確認できことは大きな利点である。しかし、網膜の水平面上の観察だけでは、病

態を十分に理解することはできない。網膜はさまざまな細胞がネットワークをもつ複雑な構造の組織で、疾患によるその変化を観察するためには、さらなる検討が必要である。ことにROPでは、未熟な発生の段階で出生し、血管増殖や部分剥離を起こし、光凝固や硝子体手術を受けた網膜は、正常の構造や機能をもつとは思えない。

そこで今回我々は、全身麻酔下において、広画面角眼底検査、OCT、ERG等のさまざまな機器を用い、眼底を網羅的かつ詳細に検査する系統立ったシステムを構築した。OCTで網膜の垂直方向の病理構造を、ERGで各細胞レベルの機能を評価することができる。側臥位で黄斑を中心とした後極部の構造と機能を把握できることは、視力予後の判定に有用である。また、ROPは眼底周辺部に病変が起こるので、RetCamやiVueによる周辺部の観察は重要である。

これによって、すべての対象症例で、十分な検査データを得ることができた。ことに、黄斑の構造と機能を把握できることは有用である。網膜が牽引されていて、通常の眼底検査で黄斑が明瞭でなくとも、その構造や機能がある程度存在しているものもあつた。したがって、視力予後の判定ができ、訓練やリハビリテーションの適応を決めるのに大きく役立つ。術前の検査は、体重が少ない児において長時間の麻酔をかける問題があるので、実行は難しいが、増殖の程度や硝子体との関係を、病理標本に近い状態で把握することができた。

本検査システムは、すべての施設で揃えることは難しいかもしれないが、難治例での治療適応や予後判定には、きわめて有用である。

今後は、現在の機器を超えて、構造と機能検査のさらなる高度化、効率化を図る方針である。具体的には、細胞レベルまで観察できる、あるいは長波長光を用いて視神経深部まで観察できる光干渉断層計や、微弱な自発蛍光を捉える輝度測定、麻酔やコンタクトレンズ電極を用いない皮膚電極使用の網膜電図等の新規技術を導入することによって、病態のさらなる理解を得られるようにする。

8) 東北地方における未熟児網膜症拠点病院の創設と集中化モデル事業に関する研究

福島県立医科大学関連6施設において未熟児網膜症に対する網膜光凝固は、2008年、2009年の両年とも年間18例であつたが、2010年では、31例と増加していた。増加の原因は施設A,Bにおける対象患者数の増加であつた。2009年の両施設のNICU入院者数は758名、極小未熟児数36名(4.7%)であつたのに対し、2010年はNICU入院者数672名、極小未熟児数42名(6.3%)であつた。NICU入院者数は減少していたが、極小未熟児は総数および比率ともに増加していることが、光凝

固件数増加の一因となっていると考えられた。

15才以下の小児に対する網膜手術は施設Aで2008年9症例11眼、2009年16例19眼、2010年16例24眼、2011年20例(1月～8月)。2011年は、未熟児網膜症に対する網膜硝子体手術は、2件3眼で行われた。

福島県内の6つの新生児医療圏で個別に未熟児網膜症の診療がおこなわれている。未熟児網膜症の治療は、未熟児網膜症専門医が出張で対応している状態である。現在の眼科医数を考えると今後この各診療圏に、未熟児網膜症の専門医を配置することは困難である。福島県内全域で専門医による十分な治療をおこなうためには、未熟児眼底撮影機器によるネットワーク化や未熟児網膜症児の搬送などにより集約化した未熟児医療が必要と考えられた。集約化の実現に当たっては今後地域の情勢に合わせたいくつかのモデルの検討が必要である。

D. 結論

網膜光凝固に対する反応が不十分な重症未熟児網膜症に対して投与されたアバスタチンは全身に移行し、血清中アバスタチン濃度は上昇し、逆にVEGF濃度は低下、また、両者には負の相関があることが示された。未熟児網膜症に対して抗VEGF治療を行う際にはこの点に十分配慮すべきである。

未熟児網膜症に対してIVBは有効で安全である可能性が示唆された。

未熟児網膜症治療において早期硝子体手術が主流となりつつある。小切開硝子体手術は、未熟児網膜症の外科的治療における有用な治療手段といえる。

未熟児網膜症手術治療を安全に遂行できる可能性、および診断に有用な無侵襲の網膜酸素飽和度測定装置の開発の実現が期待できる。

TAによる無菌性眼内炎は、好中球浸潤による眼内炎である。その原因としては、添加剤が考えられるが、TA顆粒による物理的刺激が関連している可能性があることを明らかにした。視力予後は良好であり、無菌性眼内炎の予後と治療効果を考えると、治療を中止するほどの有害性はないと考えられた。

今回の研究結果により、少なくとも成人のBRVO症例においては、抗VEGF抗体の硝子体内注射は網膜のNPAを拡大させることはないということがわかった。しかしながら、今回の結果は実際のROPやROPモデル動物で行った実験ではない。ROPモデル動物を使った実験報告の中では完全なVEGFブロックは網膜の虚血性変化を促進させるという結果もあり、今後はさらに多くの疾患や

動物実験による証拠の集積が必要であると考えられた。

全身麻酔下で、広画角デジタル眼底カメラ、光干渉断層計、網膜電図(全視野と黄斑局所)によって、網膜病変の構造と機能を詳細に評価するシステムを構築した。これによって、これまで以上に網膜症の病態の微細構築と機能を理解することができ、手術適応や術後予後判定に役立つ。

地域の未熟児網膜症医療の集約化には、診断機器、患児搬送の手段のネットワーク化が必要と考えられる。

E. 健康危険情報

該当する危険 なし

F. 研究発表

論文発表

1. Sato T, Shima C, Kusaka S. Vitreous Levels of Angiopoietin-1 and Angiopoietin-2 in Eyes with Retinopathy of Prematurity. *Am J Ophthalmol* 2011;151:353-357.
2. Kondo H, Kusaka S, Yoshinaga A, Uchio E, Tawara A, Hayashi K, Tahira T. Mutations in the TSPAN12 Gene in Japanese Patients with Familial Exudative Vitreoretinopathy. *Am J Ophthalmol*. 2011 18. [Epub ahead of print]
3. Sato T, Wada K, Arahori H, Kuno N, Imoto K, Iwahashi-Shima C, Kusaka S: Serum Concentrations of Bevacizumab (Avastin®) and Vascular Endothelial Growth Factor in Infants with Retinopathy of Prematurity. *Am J Ophthalmol* (in press)
4. Kitaguchi Y, Kusaka S, Yamaguchi T, Mihashi T, Fujikado T. Detection of photoreceptor disruption by adaptive optics imaging and Fourier-domain optical coherence tomography in eyes with occult macular dystrophy. *Clin Ophthalmol*. 2011;5:345-51.2.
5. Terui T, Kondo M, et al. Changes in areas of capillary nonperfusion after intravitreal injection of bevacizumab in eyes with branch retinal vein occlusion. *Retina*. 2011;31:1068-1074.
6. Yasuda S, Kondo M, et al. Rebound of macular edema after intravitreal bevacizumab therapy in eyes with macular edema secondary to branch retinal vein occlusion. *Retina*. 2011;31:1075-1082.
7. Sanuki R, Onishi A, et al. miR-124a is required for hippocampal axogenesis and retinal cone survival through Lhx2 suppression. *Nat Neurosci*. 2011;14:1125-1134.
8. Kondo M, Sanuki R, et al. Identification of autoantibodies against TRPM1 in patients with paraneoplastic retinopathy associated with ON bipolar cell dysfunction. *PLoS One*. 2011;6:e19911.

9. Yasuda S, Kachi S, et al. Significant correlation between electroretinogram parameters and ocular vascular endothelial growth factor concentration in central retinal vein occlusion eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52:5737-5742.
10. Kadonosono K, Arakawa A, Yamane S, Uchio E, Yanagi Y : An experimental study of retinal endovascular surgery with a microfabricated needle. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2011; 52(8):5790-5793.
11. Yamane S, Kadonosono K, Inoue M, Kobayashi S, Watanabe Y, Arakawa A : Effect of intravitreal gas tamponade for sutureless vitrectomy wounds: three-dimensional corneal and anterior segment optical coherence tomography study. *Retina*, 2011; 31(4):702-706.
12. Inoue M, Morita S, Watanabe Y, Kaneko T, Yamane S, Kobayashi S, Arakawa A, Kadonosono K : Preoperative inner segment/outer segment junction in spectral-domain optical coherence tomography as a prognostic factor in epiretinal membrane surgery. *Retina*, 2011; 31(7):1366-1372.
13. Sonoda Y, Arimura N, Shimura M, Sakamoto T. Early change of central macular thickness after intravitreal triamcinolone or bevacizumab. *Retina* 2011 Feb;31(2):290-7
14. Sakamoto T, Ishibashi T. Hyalocytes: Essential cells for vitreoretinal pathophysiology? *Retina* 2011 Feb;31(2):222-8.
15. Fujita A, Uchino E, Otsuka H, Arimura N, Noda N, Ishibashi T, Sakamoto T. Ocular surface molecule after transconjunctival vitrectomy. *Br J Ophthalmol* 2011 Mar;95(3):419-23.
16. Yoshinaga N, Arimura N, Otsuka H, Hashiguchi T, Maruyama I, Sakamoto T. NSAIDs inhibit neovascularization of choroid through HO-1-dependent pathway. *Lab Invest* 2011, Sep;91(9):1277-90.
17. Kamisanuki T, Tokushige S, Terasaki T, Khai NC, Wang Y, Sakamoto T, Kosai KI. Targeting CD9 produces stimulus-independent antiangiogenic effects predominantly in activated endothelial cells during angiogenesis: A novel antiangiogenic therapy. *Biochem Biophys Res Comm* 2011 Sep 16;413(1):128-35
18. Ueno Y, Sonoda S, Suzuki R, Yokouchi M, Kawasoe Y, Tachibana K, Maruyama K, Sakamoto T, Komiya S. Combination of ultrasound and Bubble liposome enhance the effect of doxorubicin and inhibit murine osteosarcoma growth. *Cancer Biol Ther*. 2011 Aug 15;12(4).
19. 日本網膜硝子体学会トリアムシノロン調査グループ: 坂本泰二, 石橋達朗, 小椋祐一郎, 白神史雄, 竹内忍, 山下英俊. トリアムシノロンによる無菌性眼内炎調査. *日眼会誌* 2011 Jun;115(6):523-8.
20. Yokoi T, Seko Y, Yokoi T, Makino H, Hatou S, Yamada M, Kiyono T, Umezawa A, Nishina H, Azuma N. Establishment of functioning human corneal endothelial cell line with high growth potential. *PLoS ONE* . 2012;7:e29677.
21. Hosono K, Ishigami C, Takahashi M, Park DH, Hirami Y, Nakanishi H, Ueno S, Yokoi T, Hikoya A, Fujita T, Zhao Y, Nishina S, Shin JP, Kim IT, Yamamoto S, Azuma N, Terasaki H, Sato M, Kondo M, Minoshima S, Hotta Y. Two novel mutations in the EYS gene are possible major causes of autosomal recessive retinitis pigmentosa in the Japanese population. *PLoS ONE* 2012; 7: e-31036.
22. Seko Y, Azuma N, Umezawa A. Identification of factors determining human photoreceptor cell fate. *PLoS ONE* 2012; in press.
23. Nishina S, Suzuki Y, Yokoi T, Kobayashi Y, Noda E, Azuma N. Clinical features of congenital retinal folds. *Am J Ophthalmol* 2012 ; 153:81-87.
24. Nishina S, Kosaki R, Yagihashi T, Azuma N, Okamoto N, Hatsukawa Y, Kurosawa K, Yamane T, Mizuno S, Tsuzuki K, Kosaki K. Ophthalmic features of CHARGE syndrome with CHD7 mutations. *Am J Med Genet Part A* 2012;158A:514-518.
25. Nishina S, Kurosaka D, Nishida Y, Kondo H, Kobayashi Y, Azuma N. Survey of microphthalmia in Japan. *Jpn J Ophthalmol*. 2012 Feb 23. [Epub ahead of print]
26. Shigeyasu C, Yamada M, Mizuno Y, Yokoi T, Nishina S, Azuma N. Clinical features of anterior segment dysgenesis associated with congenital corneal opacities. *Cornea*. 2012;31:293-298.
27. Yamasaki T, Kawasaki H, Arakawa S, Shimizu K, Shimizu S, Reiner O, Okano H, Nishina S, Azuma N, Penninger JM, Katada T, Nishina H. Stress-activated protein kinase MKK7 regulates axon elongation in the developing cerebral cortex. *Journal of Neuroscience* 2011; 31:16872-16883.
28. Kobayashi Y, Yokoi T, Yokoi T, Hiraoka H, Nishina S, Azuma N. Fluorescein staining of the vitreous during vitrectomy for retinopathy of prematurity. *Retina* 2011; 31:1717-1719 .
29. Sawada M, Sato M, Hikoya A, Wang C-X,

- Minoshima S, Azuma N, Hotta Y. A case of aniridia with unioocular Peters anomaly. *J AAPOS* 2011; 15:104-106.
30. Ojima A, Iida T, Sekiryu T, Maruko I, Sugano Y. Photopigments in central serous chorioretinopathy. *Am J Ophthalmol* 151:940-952, 2011.
 31. Sekiryu T, Oguchi Y, Arai S, Wada I, Iida T. Autofluorescence of the cells in human subretinal fluid. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 52:8534-8541, 2011.
 32. Maruko I, Iida T, Sugano Y, Saito M, Sekiryu T. Subfoveal retinal and choroidal thickness after verteporfin photodynamic therapy for polypoidal choroidal vasculopathy. *Am J Ophthalmol* 151:594-603, 2011.
 33. Maruko I, Iida T, Sugano Y, Oyamada H, Sekiryu T, Fujiwara T, Spaide RF. Subfoveal choroidal thickness after treatment of Vogt-Koyanagi-Harada disease. *Retina* 31:510-517, 2011.
 34. Kaneko H, Suzutani T, Aoki K, Kitaichi N, Ishida S, Ishiko H, Ohashi T, Okamoto S, Nakagawa H, Hinokuma R, Asato Y, Oniki S, Hashimoto T, Iida T, Ohno S. Epidemiological and virological features of epidemic keratoconjunctivitis due to new human adenovirus type 54 in Japan. *Br J Ophthalmol* 95:32-36, 2011.
 35. Maruko I, Iida T, Ojima A, Sekiryu T. Subretinal dot-like precipitates and yellow material in central serous chorioretinopathy. *Retina* 31:759-765, 2011.
 36. Maruko I, Iida T, Sugano Y, Ojima A, Sekiryu T. Subfoveal choroidal thickness in fellow eyes of patients with central serous chorioretinopathy. *Retina* 31:1603-1608, 2011.
 37. Saito M, Iida T, Kano M. Intravitreal ranibizumab for polypoidal choroidal vasculopathy with recurrent or residual exudation. *Retina* 31:1589-1597, 2011.
 38. Maruko I, Iida T, Sugano Y, Furuta M, Sekiryu T. One-year result of choroidal thickness following photodynamic therapy in central serous chorioretinopathy. *Retina* 31:1921-1927, 2011.
 39. Imamura Y, Iida T, Maruko I, Zweifel SA, Spaide RF. Enhanced depth imaging optical coherence tomography of the sclera in dome-shaped macula. *Am J Ophthalmol* 151:297-302, 2011.
 40. Tano Y, Ohji M; EXTEND-1 study group (Iida T, Ishibashi T, Ishida S, Kishi S, Ohji M, Okada AA, Sato Y, Shiraga F, Shiraki K, Tano Y, Terasaki H, Yuzawa M). Long-term efficacy and safety of ranibizumab administered pro re nata in Japanese patients with neovascular age-related macular degeneration. *Acta Ophthalmol* 89: 208-217, 2011.
 41. Tano Y, Ohji M, EXTEND-I Study Group. Long-term efficacy and safety of ranibizumab administered pro re nata in Japanese patients with neovascular age-related macular degeneration in the EXTEND-I Study. *Acta Ophthalmol* (Reprinted from Early View article) :1-10, 2011.
 42. Nakata I, Yamashiro K, Yamada R, Gotoh N, Nakanishi H, Hayashi H, Tsujikawa A, Otani A, Saito M, Iida T, Oishi A, Matsuo K, Tajima K, Matsuda F, Yoshimura N. Association between the SERPING1 gene and neovascular age-related macular degeneration and polypoidal choroidal vasculopathy in Japanese. *PLoS ONE* 6:e19108, 2011.
 43. Nakata I, Yamashiro K, Yamada R, Gotoh N, Nakanishi H, Hayashi H, Tsujikawa A, Otani A, Ooto A, Tamura H, Saito M, Saito K, Iida T, Oishi A, Kurimoto Y, Matsuda F, Yoshimura N. Genetic variants in pigment epithelium-derived factor influence response of polypoidal choroidal vasculopathy to photodynamic therapy. *Ophthalmology* 118:1408-1415, 2011.
 44. Ikuno Y, Maruko I, Yasuno Y, Miura M, Sekiryu T, Nishida K, Iida T. Reproducibility of retinal and choroidal thickness measurements in enhanced depth imaging and high-penetration optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 52:5536-5540, 2011.
 45. Yamashiro K, Mori K, Nakata I, Tsuchihashi T, Horie-Inoue K, Nakanishi H, Tsujikawa A, Saito M, Iida T, Yamada R, Matsuda F, Inoue S, Awata T, Yoneya S, Yoshimura N. Association of elastin gene polymorphism to age-related macular degeneration and polypoidal choroidal vasculopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 52:8780-8784, 2011.
 46. Toju R, Iida T, Sekiryu T, Saito M, Maruko I, Kano M. Near-infrared autofluorescence in patients with idiopathic submacular choroidal neovascularization. *Am J Ophthalmol*, 2011 Oct 7. [Epub ahead of print].
 47. Saito M, Iida T, Kano M. Combined intravitreal ranibizumab and photodynamic therapy for retinal angiomatous proliferation. *Am J Ophthalmol*, 2011Nov9. [Epub ahead of print].
 48. Maruko I, Iida T, Sugano Y, Oyamada H, Sekiryu T. Morphologic choroidal and sclera changes at the macula in tilted disc syndrome

- with staphyloma using optical coherence tomography. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2011 Oct 11. [Epub ahead of print].
49. Nakata I, Yamashiro K, Yamada R, Gotoh N, Nakanishi H, Hayashi H, Akagi-Kurashige Y, Tsujikawa A, Otani A, Saito M, Iida T, Oishi A, Matsuo K, Tajima K, Matsuda F, Yoshimura N. Significance of C2/CFB Variants in Age-related Macular Degeneration and Polypoidal Choroidal Vasculopathy in a Japanese Population. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2012 Jan 9. [Epub ahead of print].
 50. Saito M, Iida T, Kano M. Intravitreal ranibizumab for exudative age-related macular degeneration with good baseline visual acuity. Retina, in press.
 51. Saito M, Iida T, Kano M. Combined intravitreal ranibizumab and photodynamic therapy for polypoidal choroidal vasculopathy. Retina, in press.
 52. Maruko I, Iida T, Sugano Y, Ojima A, Oyamada H, Sekiryu T. Demographic features of idiopathic macular telangiectasia in Japanese patients. Jpn J Ophthalmol, in press.
 53. 飯田知弘. 黄斑疾患の病態—画像診断による形態と機能解析—. 日眼会誌 115: 238-275, 2011.
 54. 齊藤かおり, 森 隆史, 根津吉史, 清野あかね, 坂本章子, 丹治弘子, 橋本禎子, 八子恵子, 飯田知弘. レチノマックス®で測定した3歳児の屈折値(3歳児検診での測定結果から). 日本視能訓練士協会誌 39: 159 -164, 2011.
 55. 森 隆史, 齊藤かおり, 坂本章子, 丹治弘子, 橋本禎子, 八子恵子, 飯田知弘. 3歳児検診要精査児の視力と屈折値. 眼科臨床紀要 4: 240 -244, 2011.
 56. 齊藤かおり, 森 隆史, 清野あかね, 丹治弘子, 橋本禎子, 八子恵子, 飯田知弘. 3歳児のレチノマックス®を用いた屈折検査での調節介入. 眼科臨床紀要 4: 245 -248, 2011.
- G. 知的財産権の出願・登録状況**
1. 特許取得
眼内レンズ交換用ソケット(国内、国際、出願中)
 2. 実用新案登録
なし
 3. その他

未熟児網膜症に対する抗 VEGF 抗体投与における血中移行に関する研究

研究分担者 日下 俊次 近畿大学医学部堺病院 眼科 教授

研究要旨： 網膜光凝固に対する反応が不十分な重症未熟児網膜症に対して抗血管内皮細胞増殖因子（VEGF）薬（アバスタチン®）の眼内投与が行われつつあるが、眼内に投与されたアバスタチンの全身への移行など詳細な薬物動態は検討されていない。今回我々はアバスタチン投与を行った重症未熟児網膜症の投与前後のアバスタチン、VEGFの血清濃度を検討した。その結果、アバスタチンは全身に移行し、アバスタチン投与後に血清中アバスタチン濃度は上昇、逆にVEGF濃度は低下、また、両者には負の相関があることが示された。未熟児網膜症に対して抗VEGF治療を行う際にはこの点に十分配慮すべきである。

A. 研究目的

現在、未熟児網膜症に対する確立された標準的な治療法は網膜光凝固であるが、これを行っても病状がさらに進行し、牽引性網膜剥離あるいは水晶体後面増殖膜の発生によって重篤な視力低下を生じる症例が数%存在する。これに対して牽引性網膜剥離が一部発生した段階（stage 4A）で手術を行うことで重篤な視力低下を来す症例を減少させ、治療成績が向上できる可能性があることを昨年までの研究成果として報告した。

最近、外科的治療法とは別に抗血管内皮細胞増殖因子（VEGF）抗体を用いた薬物療法が重症未熟児網膜症の病態改善に有効であることがいくつかの報告で示されており、手術前の補助療法や光凝固に代わる治療法として期待されている。ただ、成長の著しい乳児に対して血管新生を阻害する薬剤を投与することに対する安全性評価はまだ不十分である。今回、我々は抗VEGF薬を投与した重症未熟児網膜症症例の血清中の薬物濃度と抗VEGF薬の濃度の検討を行った。

B. 研究方法

網膜光凝固を行ってもなお病状が沈静化せず、さらに進行して網膜剥離が発症した、あるいは網膜剥離が発症する可能性が極めて高いと判断された11例で、抗VEGF薬（アバスタチン®）を0.25-0.5mg/眼投与し、投与前、投与1, 7, 14日後に採血を行い、血清中のアバスタチン濃度とVEGF濃度をELISA法で測定した。

（倫理面への配慮）

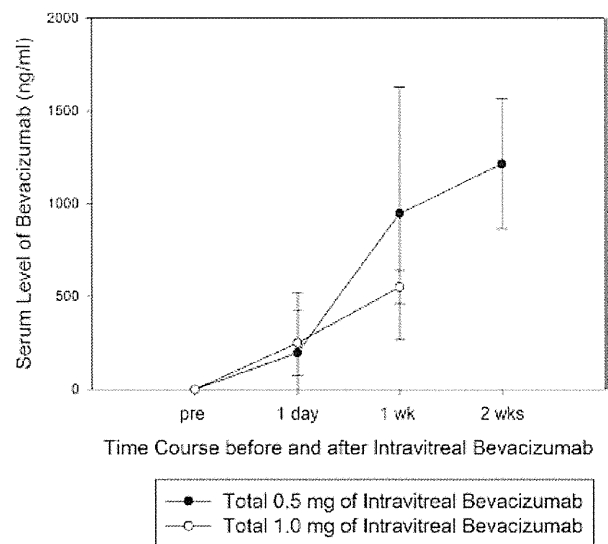
患児は通常の網膜光凝固治療に反応せず、さらに重症化した、あるいは重症化する可能性が極めて高い症例で、アバスタチン投与で病状が改善する可能性が高いと推定された。採血は通常の全身状態を把握するための採血となるべく同時に行うように、かつ少量（0.4ml以下）とし、患児の負担とならないようにした。なお、本研究は倫理審査

委員会の承認済みで、両親の書面によるインフォームドコンセントを得て行った。

C. 研究結果

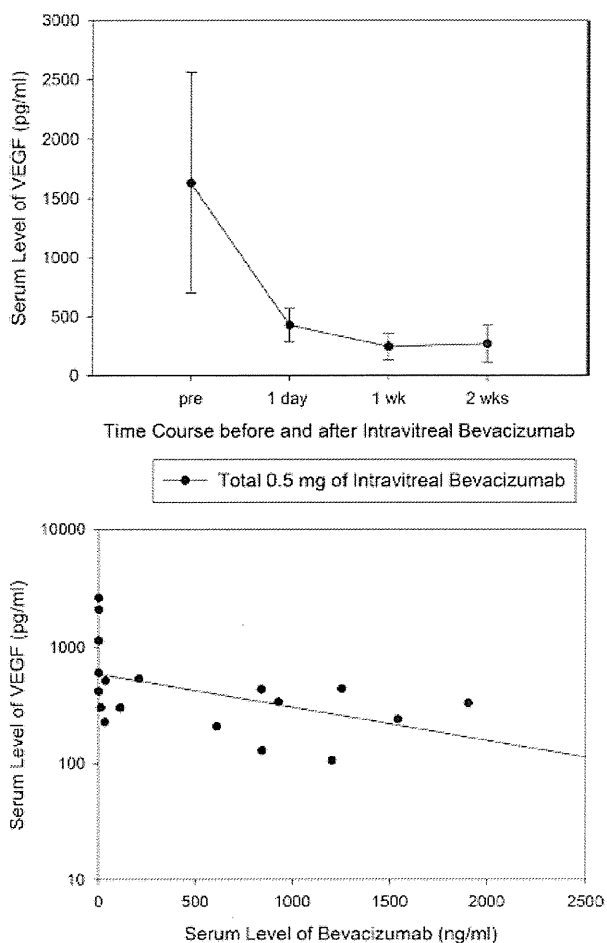
3例は片眼のみ、8例は両眼にアバスタチン投与を要した。症例の平均出生週数は25週、平均出生体重は660gであった。全例でアバスタチン投与前に網膜光凝固を無血管領域に施行されていた。アバスタチン投与は平均38修正週数、平均体重1,720gで施行されていた。

図1にアバスタチン投与前後の血清中アバスタチン濃度の推移を示す。投与後2週まで血清中のアバスタチン濃度は徐々に上昇していたことがわかる。



また、図2には総量として0.5mgのアバスタチンを投与した症例の投与前後の血清中VEGF濃度の推移を示す。血清中のVEGF濃度は投与翌日には投与前の値に比し大きく低下し、投与2週後までこの傾向は続いていた。

図3に血清中のアバスチン濃度とVEGF濃度の関係を示す。両者は負の相関を示した ($r=-0.575$, $P=0.0125$, Spearman rank order correlation)。



D. 考察

今回の検討によって眼内に投与されたアバスチンは全身に移行し、血清中のアバスチン濃度が上昇し、逆にVEGF濃度は低下、また、両者には負の相関があることが示された。今回の検討では患児の入院期間の制約もあり、投与後2週までしか測定できていないが、より長期にわたってVEGF濃度が抑制されている可能性があり、今後さらに長期のアバスチンおよびVEGF濃度の推移を検討すべきであると思われた。

VEGFは生理的な新生血管に関しても重要な役割を果たすサイトカインであり、もし、これが強く抑制されるようであればアバスチンの眼内投与によって患児の生理的な新生血管が阻害される可能性が高くなる。今回の検討ではVEGF濃度が測定感度以下になるような症例は皆無であり、全症例の最低値は0.5mgを片眼に投与した症例で、投与1週後に106ng/ml (投与前は603ng/ml)であった。このレベルで生理的な新生血管が阻害されていないかどうかの知見は不十分

で今後の検討が必要であるが、今回の対象となった患児ではその後の新生児科医師の診察によって全身所見に特に異常はみられていない。

未熟児網膜症例の血清中のVEGF濃度に関しては未熟児網膜症を発症していない同年齢の低出生体重児より有意に高いとする報告と有意差がないという報告があり、統一した見解は得られていない。仮に未熟児網膜症例の血清VEGF濃度が正常より病的に高いとすれば、アバスチン投与によって多少VEGF濃度が低下しても全体的には悪影響が出ないとも考えられるであろう。ただし、この点に関しては今後、注意深い検討が必要である。

E. 結論

網膜光凝固に対する反応が不十分な重症未熟児網膜症に対して投与されたアバスチンは全身に移行し、血清中アバスチン濃度は上昇し、逆にVEGF濃度は低下、また、両者には負の相関があることが示された。未熟児網膜症に対して抗VEGF治療を行う際にはこの点に十分配慮すべきである。

F. 健康危険情報

該当する危険あり (詳細) なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Sato T, Shima C, Kusaka S. Vitreous Levels of Angiopoietin-1 and Angiopoietin-2 in Eyes with Retinopathy of Prematurity. *Am J Ophthalmol* 2011;151:353-357.
2. Kondo H, Kusaka S, Yoshinaga A, Uchio E, Tawara A, Hayashi K, Tahira T. Mutations in the TSPAN12 Gene in Japanese Patients with Familial Exudative Vitreoretinopathy. *Am J Ophthalmol*. 2011 18. [Epub ahead of print]
3. Sato T, Wada K, Arahori H, Kuno N, Imoto K, Iwahashi-Shima C, Kusaka S: Serum Concentrations of Bevacizumab (Avastin®) and Vascular Endothelial Growth Factor in Infants with Retinopathy of Prematurity. *Am J Ophthalmol* (in press)
4. Kitaguchi Y, Kusaka S, Yamaguchi T, Mihashi T, Fujikado T. Detection of photoreceptor disruption by adaptive optics imaging and Fourier-domain optical coherence tomography in eyes with occult macular dystrophy. *Clin Ophthalmol*. 2011;5:345-51.2.

2. 学会発表

1. 2011 American Academy of Ophthalmology Meeting (10月22-25日、Orlando, FL, USA)
Sato T, Wada K, Arahori H, Kuno N, Imoto K, Shima C, Kusaka S. Serum Levels of bevacizumab

and Vascular Endothelial Growth Factor in Infant With ROP

2. 2011 年中華民國眼科醫學會 100 年年會 Lunch Symposium (11 月 26~27 日、台北) Shunji Kusaka: Small-gauge (23g) vitrectomy with a New Generation Phaco & Vitrectomy System: Associate®
3. 第 50 会日本網膜硝子体学会総会 (12 月 2~4 日、東京) Sato T, Wada K, Arahori H, Kuno N, Imoto K, Iwahashi-Shima C, Kusaka S. Serum levels of bevacizumab (Avastin®) and vascular endothelial growth factors in infants with

retinopathy of prematurity.

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。) なし

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他

未熟児網膜症 3 期に対する抗 VEGF 抗体の有効性に関する研究

研究分担者 白神 史雄 香川大学医学部眼科学講座 教授

研究要旨：未熟児網膜症の3期中期から後期における抗血管内皮増殖因子（VEGF）抗体ベバシズマブ（アバスタチン®、Genentech 社）硝子体内注入の有効性を検討した。現在までに5例10眼に投与した。いずれもレーザー光凝固の適応と考えられたが、レーザー光凝固を施行せず、10眼ともにベバシズマブ 0.625mg/0.25ml を硝子体内に注入した。治療後10眼ともに、新生血管は退縮し、網膜血管は周辺部まで伸び、牽引性網膜剥離に至らず、したがって、いずれの症例にもレーザー光凝固は不要であった。全身的にも局所的にも副作用は見られなかった。

A. 研究目的

未熟児網膜症は予後不良な疾患である。従来3期中期以降の症例に対してまずレーザー光凝固が行われ、それでも進行が止まらず、牽引性剥離が生じた症例では硝子体手術が行われてきた。また進行が停止してもレーザー凝固瘢痕の後極への拡大や裂孔原性網膜剥離の発生などが将来生じる可能性がある。そこで、抗血管内皮増殖因子抗体ベバシズマブの硝子体注入（IVB）の3期の症例に対する有用性を検討した。

B. 研究方法

未熟児網膜症3期中期から後期における症例でレーザー光凝固の適応と考えられた症例5例10眼を対象とした。これら10眼に対して、レーザー光凝固は施行せず、ベバシズマブ0.625mg/0.25mlを硝子体に注入した。治療後眼底の経過を観察した。（倫理面への配慮）

香川大学医学部附属病院医薬品等臨床研究審査委員会の承認を受け、患者の両親に対して詳細な説明を行った後、同意を得て治療を施行した。

C. 研究結果

5例10眼全てにおいて、病態の進行は停止し、牽引性網膜剥離を生じることなく新生血管は退縮した。したがって、レーザー光凝固や硝子体手術を行う必要は全例でなかった。なお、経過観察期間は1か月から12か月（中央値4か月）にわたっている。安全性に関しては、全身的にも局所的にもこの治療に関連する副作用はみられなかった。

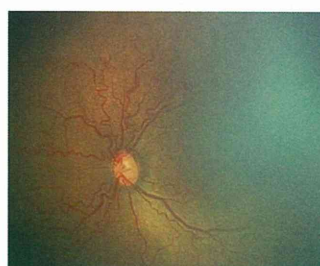


図1 3期, Zone I , plus disease 治療前

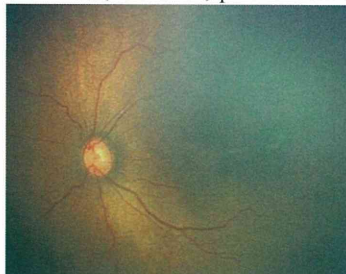


図2 ベバシズマブ硝子体内注入後3週。血管は周辺部まで伸び、血管の拡張、蛇行は消失した。

D. 考察

この結果から、未熟児網膜症の病態にVEGFが大きく関与し、抗VEGF抗体によって病態の進行が停止し、血管の成長が正常化に向かうことが明らかになった。過去の報告においても、今回の結果からも、全身的にも局所的にも有害事象は見られず、安全である可能性が高いと思われる。レーザーや硝子体手術が不要になったことで、このIVBが、将来的に良好な予後が約束される治療となる可能性が示唆された。

E. 結論

未熟児網膜症に対してIVBは有効で安全である可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

該当する危険なし

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
(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

未熟児網膜症の治療に使用する抗 VEGF 剤と無灌流領域

研究分担者 近藤 峰生 三重大学大学院医学系研究科神経感覚医学講座眼科学

研究要旨：未熟児網膜症（ROP）に対する新たな治療法として、抗 VEGF 剤の硝子体内注射が注目されている。これまでの報告では、抗 VEGF 剤の硝子体内注射は眼内新生血管の活動を低下させることによって ROP の治療として有用であるとされている。しかし最近になり、抗 VEGF 剤の注射によって網膜での無灌流領域（NPA）が拡大するのではないかという報告がなされた。もしそうであれば、この治療法は ROP の治療薬として望ましくない一面があることになる。そこで今回我々は、網膜静脈分枝閉塞（BRVO）の患者 58 名 58 眼において抗 VEGF 剤であるベバシズマブ（アバスチン®）の硝子体内注射（IVB）と注射後 1 か月における NPA の面積を計測した。その結果、NPA の面積は IVB によって拡大していないことがわかった。今回の研究は ROP の網膜で計測したものではないが、少なくとも BRVO においては IVB は網膜の NPA を拡大させることはないことがわかった。

A. 研究目的

血管内皮増殖因子（Vascular endothelial growth factor: VEGF）は ROP における新生血管発生と増殖変化の主たる因子と考えられている。この VEGF を抑制する抗 VEGF 療法は、未熟児網膜症（ROP）に対する新たな治療法として注目されており、実際に良好な臨床成績が報告されてきている[参考文献1,2]。これまでの報告では、抗 VEGF 剤の硝子体内注射は眼内新生血管の活動を低下させることによって ROP の治療として有用であるとされている。

しかしながら最近になり、主に血管閉塞性疾患に使用した場合、抗 VEGF 剤の注射によって網膜での無灌流領域（NPA）が拡大するのではないかという報告がなされた [参考文献3-7]。もしそうであれば、この治療法は ROP の治療薬として望ましくない一面があることになる。

そこで今回我々は、網膜静脈分枝閉塞（BRVO）の患者 58 名 58 眼において抗 VEGF 剤であるベバシズマブ（アバスチン®）の硝子体内注射（IVB）前と注射後 1 か月における NPA の面積を計測した。

B. 研究方法

BRVO による黄斑浮腫による治療目的で IVB を施行した 58 名 58 眼（男性 25 名、女性 55 名：年齢 41-89 歳、平均 66.2 歳）を対象とした。IVB 施行前と施行後 1 か月の時点で蛍光眼底造影を施行し、NPA の面積を ImageNet 1024®（Topcon）を使用して測定した。NPA の面積は、視神経乳頭的面積で除することによって乳頭面積（DA）で表した。出血によるブロックと NPA を鑑別するために、常に眼底写真と対比して NPA の領域のみを計測するようにした（図1）。

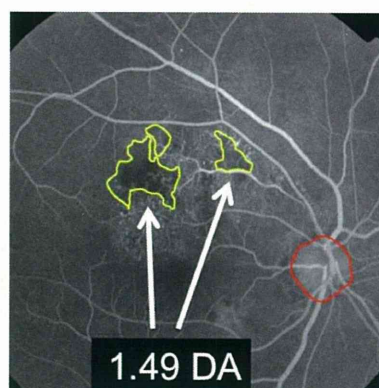


図1：NPAの計測方法。NPAの面積をデジタル計測し、乳頭面積で除してDAで表した。

（倫理面への配慮）

本研究は、名古屋大学医学部の倫理委員会の承認を得て行った。患者には今回の研究について十分説明の後に書面による承諾を得て行った。

C. 研究結果

58眼中37眼はIVB前にNPAが存在しなかった。この37眼では、IVB後にNPAが出現したものが3眼あった。それらの面積は、0.13, 0.47, 0.60 DAであった。

58眼中21眼ではIVB前にNPAが存在しており、その面積は 3.45 ± 4.66 DAであった。これら21眼のIVB後1か月のNPA面積は、 3.45 ± 5.19 DAであった。両者には統計学的に有意な差はなかった ($P=0.36$)。

この21眼のIVB前後のNPA面積の変化を図2に示す。21眼で、IVB前後でNPA面積が1DA以上増加したものは1眼のみ（赤線）であった。一方で、IVB前後でNPA面積が1DA以上低下したものは4眼（青線）であった。

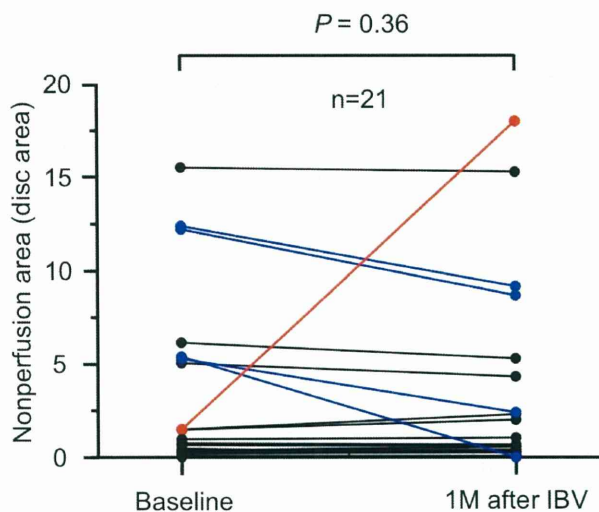


図2: BRVOでIVB施行前にNPAが存在した21眼におけるIVB前後のNPA面積の変化

図3にNPAがIVB前後に減少した症例の蛍光眼底造影検査の結果を示す。この症例は61歳の男性であり、NPA面積が12.4 DAから1か月の間に9.18 DAに減少した。

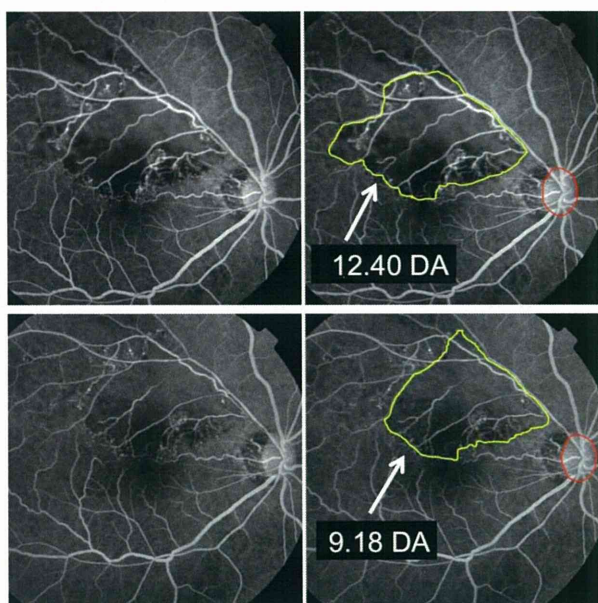


図3: BRVOでIVB施行前にNPAが減少した症例。61歳の男性で、NPA面積が12.4 DAから1か月の間に9.18 DAに減少した。

次に、図4にNPAがIVB前後で急激に増加した1眼（赤線）の蛍光眼底造影検査の結果を示す。この症例は67歳の女性であり、NPA面積が3.0 DAから18.0 DAに1か月の間に急激に増加した。

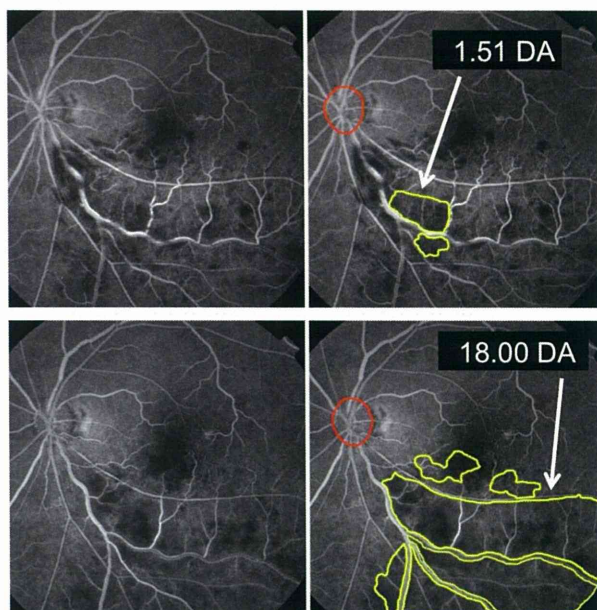


図4: BRVOでIVB施行前にNPAが増加した症例。67歳の女性で、NPA面積が1.51 DAから1か月の間に18.00 DAに増加した。

D. 考察

最近になり、IVB後に網膜に虚血性変化が生じたという報告がいくつかみられる。Kimらは、CRVOの症例でIVB後に非虚血型が虚血型に変化した1例を報告している[参考文献6]。また、Papadopoulouらは、抗VEGF剤注射後に網膜血管径が減少したことを報告している[参考文献4]。

その一方で、IVBは網膜における虚血性変化をおこさないという報告もある。CRVOとBRVOの29眼における定性的検討を行ったPragerらは、NPA面積はIVB前後で変化なかったと報告しているし、Kookらも糖尿病網膜症の129眼におけるNPAの検討により、その面積は増加していないことを報告している。

もしもIVBによって網膜に急激な虚血変化が引き起こされるのであれば、IVB後1か月の時点でNPAが増加する症例が多くみられるはずであると仮定して今回の研究を行った。その結果今回の我々のBRVO58眼の結果では、IVB前とIVB後で有意なNPA面積の変化はみられなかった。しかも、58眼中、IVB後にNPAが1DA以上増加したのはたったの1眼のみであった。以上により、IVBがNPAを促進させる可能性は低いと結論した。

それでは、なぜ我々の1眼で急激なNPAの増加がみられたのであろうか。Hayrehは、65歳以上のBRVOでは、発症から6か月の経過観察中に約16%の症例において、非虚血型から虚血型に移行することを報告している[参考文献7]。図3に示した症例は、そのような非虚血型から虚血型への移行症例であり、IVBとの関連で生じたものではなかつ