

14. 網膜血管腫状増殖に対する ranibizumab 硝子体内注射併用

時間短縮 reduced fluence 光線力学的療法の短期治療成績

北橋正康¹⁾、梶田房江¹⁾、櫻井まどか¹⁾、横内裕敬¹⁾、窪田真理子¹⁾²⁾

馬場隆之¹⁾、山本修一¹⁾

(¹⁾千葉大、²⁾千葉医療センター)

研究要旨【目的】 網膜血管腫状増殖(RAP)に対する ranibizumab 硝子体内注射(IVR)併用時間短縮 reduced fluence 光線力学的療法(RF-PDT)の短期治療成績を報告する。

【対象と方法】 RAP に対し IVR 併用 RF-PDT を試行し術後6ヶ月経過観察できた 11 例 11 眼を対象とした。(Stage1:1 眼、Stage2:5 眼、Stage3:5 眼) ranibizumab を毎月連続 3 回硝子体内に投与し、RF-PDT は初回 IVR 後 1-2 日後に施行した。RF-PDT の条件は、照射エネルギー・ビスマイン投与量・波長は加齢黄斑変性に対する標準条件に準じ、照射時間を 42 秒に短縮して施行した。GLD 計測は indocyanine green ガイド下で行った。術前術後視力、光干渉断層計(OCT)による中心網膜厚(CRT)の比較検討を行った。

【結果】 前治療歴があったものは 5 眼(bevacizumab 併用 PDT1 眼、ranibizumab 単独投与 4 眼)であった。logMAR 視力は術前 0.76 ± 0.36 、6 ヶ月後 0.61 ± 0.08 と有意に改善した($P=0.030$)。logMAR 視力で 0.2 以上の改善は 4 眼(36.4%)、不変が 6 眼(54.5%)で、悪化は 1 眼(9.1%)であった。CFT は術前 $613.0 \pm 92.8 \mu\text{m}$ 、6 ヶ月後 $286.5 \pm 57.5 \mu\text{m}$ と有意に減少した($P=0.011$)。CFT が 20% 以上改善したのは 9 眼(81.8%)、不変が 1 眼(9.1%)で、悪化が 1 眼(9.1%)であった。追加治療を要しなかったのは 9 眼(81.8%)であった。1眼が術後 6 ヶ月で網膜下血腫を合併し SF6 によるガス血腫移動術を行い、1 眼が IVR 単独投与を行った。

【結論】 RAP に対する IVR 併用時間短縮 RF-PDT は、短期的には有意な視力改善および黄斑形態の改善をもたらし、再治療率の低い有効な治療であることが示された。

A. 研究目的

網膜血管腫状増殖(RAP)に対する ranibizumab 硝子体内注射(IVR)併用時間短縮 reduced fluence 光線力学的療法(RF-PDT)の短期治療成績を報告する。

B. 研究方法

RAP に対し IVR 併用 RF-PDT を試行し術後6

ヶ月経過観察できた 11 例 11 眼を対象とした。

(Stage1:1 眼、Stage2:5 眼、Stage3:5 眼)

ranibizumab を毎月連続 3 回硝子体内に投与し、RF-PDT は初回 IVR 後 1-2 日後に施行した。RF-PDT の条件は、照射エネルギー・ビスマイン投与量・波長は加齢黄斑変性に対する標準条件に準じ、照射時間を 42 秒に短縮して施行した。GLD 計測 indocyanine green ガイド

下で行った。術前術後視力、光干渉断層計(OCT)による中心網膜厚(CRT)の比較検討を行った。

C. 研究結果

術前因子を図 1 に示す。

年齢	77.9±6.6	(66~88)
log MAR 視力 (小数視力)	0.76±0.36(0.17)	(小数0.02~0.5)
CRT(μm)	613.1±307.8	(120~1040)
GLD(μm)	2369±1359	(666~3897)
Stage分類	Stage1: 1眼 Stage2: 5眼 Stage3: 5眼	
RRA	11眼(100%)	
CME	11眼(100%)	
PED	8眼(72.7%)	
前治療	IVB+ST-PDT 1眼 IVR単独(1回2眼 3回2眼)	

CRT: central retinal thickness GLD: greatest linear dimension

RRA:retinal-retinal anastomosis CME:cystoid macular edema PED: pigment epithelial detachment

図 1 術前因子

logMAR 視力は、術前 0.76 ±0.36 から術後 3ヶ月・6ヶ月ともに 0.61±0.28 と有意に改善した($P=0.011$ 、 0.030)。(図 2)

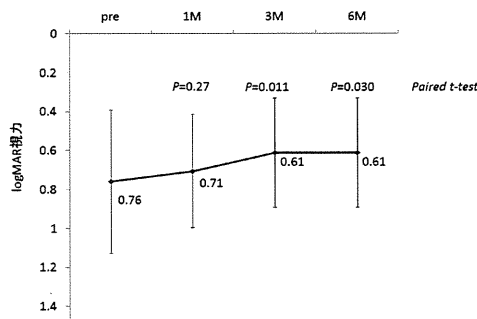


図2 logMAR 視力の経時変化

logMAR 視力で 0.2 以上の改善は 4 眼(36.4%)、不変が 6 眼(54.5%)で、悪化は 1 眼(9.1%)であった。

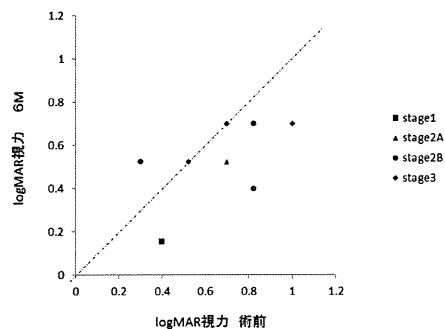


図 3 症例ごとの視力変化の内訳

Stage1 と Stage2 の症例では、おおむね視力改善が得られたが Stage3 の症例では視力改善を得られたものは 5 眼中 1 眼のみであった。(図 3)

中心窩網膜厚は術後 1 ヶ月から 6 ヶ月まで有意な減少を認めた。(図 4) CFT が 20%以上改善したのは 9 眼(81.8%)、不変が 1 眼(9.1%)で、悪化が 1 眼(9.1%)であった。

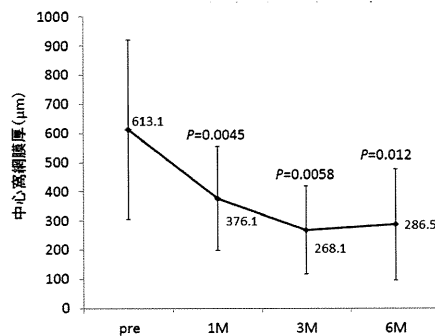


図 4 中心網膜厚の経時変化

造影所見にて網膜-網膜吻合(RRA)と嚢胞様黄斑浮腫(CME)は術前 11 眼(100%)に認められたが、RRA/CMEともに術後 3ヶ月で全例において消失し、6ヶ月では 1 眼のみ再燃を認めた。PED は術前 8 眼(72.7%)にみられたが、術後 6ヶ月では 6 眼(81.8%)で消失した。経過期間中 5ヶ月目に 1 眼で網膜下血腫を合併しガス血

腫移動術とIVRの併用療法を行った。また、術後6ヶ月でCMEの再燃した症例に対してIVRを追加投与した。

PDTの弊害である脈絡膜毛細血管板の閉塞は7眼(70%)で確認できず、3眼(30%)できわめて軽度の閉塞を認めた。なお、標準PDTの既往のある1症例は除外して検討を行った。

D. 考察

RAPは加齢黄斑変性の特殊型に分類され各種治療に抵抗性を示し難治性である。

IVRとPDTの併用療法については、Saitoらが20例20眼に対し12ヶ月で有意な視力改善と網膜形態の変化を得たと報告している。

その中で12ヶ月における治療回数は、PDT2回、IVR3.8回であった。この結果はRAPの治療においては、IVRと標準PDTの併用療法でも複数回のPDTを含めた追加治療が必要であることを示している。

我々の検討では経過観察期間が6ヶ月と短期ではあるが、RRA/CMEをともに消失させ視力および網膜形態を有意に改善させることから、少なくとも十分な導入期の治療となり得る可能性を示した。

RAPの治療においては、IVRと標準PDTの併用療法をもってしても再治療は否めず、必然的に複数回の追加治療が必要となる。

そのため1回の治療においては、より低侵襲かつIVR併用標準PDTと同等もしくはそれ以上の治療が望ましく、IVR併用RFPDTはRAPの導入期治療の選択枝となりうると考えた。今後より多数例で長期の検討を要すると思われる。

E. 結論

RAPに対するIVR併用時間短縮RF-PDTは、

短期的には有意な視力改善および黄斑形態の改善をもたらし、再治療率の低い有効な治療であることが示された。

F. 研究発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

H. 参考文献

1. Saito M, et al : Combined intravitreal ranibizumab and photodynamic therapy for retinal angiomatous proliferation. Am J Ophthalmol, Nov 9, 2011. [Epub ahead of print]
2. Parodi MB, et al: Intravitreal bevacizumab versus ranibizumab for the treatment of retinal angiomatous proliferation. Acta Ophthalmol, Sep 22, 2011. [Epub ahead of print]
3. Reche FJ, et al : Ranibizumab in retinal angiomatous proliferation (RAP): influence of RAP stage on visual outcome. Eur J Ophthalmol 21:783-788, 2011.

I. 健康危険情報

1眼で黄斑下血腫の合併があったが、ガス血腫移動術およびIVRの併用療法で血腫は速やかに移動した。

15. 加齢黄斑変性初期病態に関する臨床研究報告

—異常眼底自発蛍光と網膜感度の変化—

安川 力¹⁾、森隆三郎²⁾、五味 文³⁾、石龍鉄樹⁴⁾、大島裕司⁵⁾：

JFAM スタディグループ

(¹⁾名古屋市大、²⁾日本大、³⁾大阪大、⁴⁾福島県医大、⁵⁾九州大)

研究要旨 加齢黄斑変性(AMD)は成人失明の主要原因であり、近年、増加傾向にある。加齢眼では、しばしばドルーゼンや網膜色素上皮の色素異常のような前駆病変を認め、AMD発症の危険因子であることが疫学調査でわかっている。最近の蛍光眼底造影機器の進歩で観察できるようになった異常眼底自発蛍光(FAF)も、AMDの発症や進展に先駆けて観察され注目されている。今回、5施設によりAMD初期病態における異常FAFパターン、AMD前駆病変、網膜感度の関連と自然経過をプロスペクティブに調査した。片眼発症の滲出型AMDの僚眼において異常FAFを認める68例68眼の矯正視力測定、カラー眼底写真撮影、網膜感度測定、FAF撮影を12ヶ月間定期的に行った。平均矯正視力1.02(0.4-1.5)、黄斑12度平均網膜感度は13.5 dB(6.7-19.7 dB)で、視力良好であるが網膜感度が低下している症例を認めた。32%に硬性ドルーゼン、84%に軟性ドルーゼン、41%に色素沈着、30%に脱色素・萎縮を認めた。欧米のFAMスタディグループの定義に基づいた異常FAFパターンの分類では、欧米と比較して、reticularパターンが少なかった。軟性ドルーゼン、色素沈着、脱色素・萎縮、異常FAFの近傍では、登録時の網膜感度が有意に低下していた。経過観察中、6眼(88%)で滲出型AMD発症を認めた。異常FAFの拡大や出現は32%で認めた。硬性ドルーゼン、軟性ドルーゼン、色素沈着、異常FAFの近傍では、12ヶ月間に網膜感度の有意な悪化傾向を認めた。眼底自発蛍光撮影と網膜感度測定は初期病態の評価に有用であると考えられた。

A. 研究目的

加齢黄斑変性(AMD)は欧米諸国における成人失明の主因であり、国内においても4位であり近年、生活様式の欧米化に伴って増加傾向にある重大な疾患である。光線力学的療法とラニビズマブなどの抗血管内皮増殖因子(VEGF)薬の硝子体内注射で一定の治療効

果が得られているが治療が困難な症例も多い。病態解明には数十年で蓄積する眼の加齢変化を理解する必要があり、加齢眼で認めるドルーゼンや網膜色素上皮の色素異常はAMDの危険因子として重要な眼底前駆病変である。近年、蛍光眼底造影機器の進歩により、眼底自発蛍光(FAF)の観察が可能となったが、異

常 FAF も AMD 発症や進展との関連が報告されており注目されている。しかし、国内での異常 FAF の頻度や視機能との関連、AMD 発症との関連についての報告がなかった。

そこで、AMD 初期病態としての異常 FAF に関して、異常 FAF パターン、AMD 前駆病変、網膜感度の関連と自然経過をプロスペクティブに調査する。

B. 研究方法

調査対象は、片眼発症の滲出型 AMD の僚眼において異常 FAF を認め、2006 年 12 月から 2008 年 7 月の間に名古屋市大を含む 5 大学で症例登録された 68 例 68 眼(男女比 50:18、平均年齢 73.8 歳)である。登録時、6 か月後、12 か月後に矯正視力測定、カラー眼底写真撮影、マイクロペリメータ MP-1®(Nidek)を用いた黄斑 12 度の網膜感度測定、Heidelberg Retina Angiograph (HRA)または HRA2 を用いた黄斑部自発蛍光撮影を行い、FAM-Study Group による定義 (IOVS 2005;46:3309)に基づく異常 FAF パターンの分類と経時的変化の評価を行った。また、AMD 前駆病変や異常 FAF 近傍における網膜感度の推移を解析した。

C. 研究結果

登録時の平均矯正視力 1.02 (0.4-1.5)、黄斑 12 度平均網膜感度は 13.3 dB (6.7-19.7 dB) で、視力良好であるが網膜感度が低下している症例を認めた。登録時の眼底自発蛍光が評価可能であった 57 眼の異常 FAF パターンは、patchy 22 眼 (39%)、focal increase 16 眼 (29%)、

linear 4 眼 (7%)、lace-like 4 眼 (7%)、reticular 3 眼 (5%)、その他 7 眼 (13%) であった。12 ヶ月後に異常 FAF の拡大や出現は 18 眼 (32%) で認めた。登録時の眼底所見が評価可能であった 63 眼のうち、20 眼 (32%) に硬性ドルーゼン、53 眼 (84%) に軟性ドルーゼン、26 眼 (41%) に色素沈着、19 眼 (30%) に脱色素・萎縮を認めた。12 ヶ月の間に 5 眼 (7%) で滲出型 AMD 発症を認めた。平均網膜感度は 12 ヶ月後に 13.9 dB と改善を認めたが、軟性ドルーゼン、色素沈着、脱色素・萎縮、異常 FAF の近傍では、登録時の網膜感度が有意に低下していた。また、硬性ドルーゼン、軟性ドルーゼン、色素沈着、異常 FAF の近傍では、12 ヶ月間に網膜感度の有意な悪化傾向を認めた。

D. 考察

欧米に比較して、reticular パターンが少なかったが、reticular パターンは萎縮型 AMD や網膜血管腫状増殖との関連が報告されていて、欧米に比較して、萎縮型 AMD が少ないことと一致していた。平均黄斑感度の改善は、五味らの報告のように AMD の予防効果が実証されている抗酸化ビタミンやミネラル含有サプリメント (例:オキュバイト、ルタックス15) 摂取による影響が考えられる。実際、本試験でもサプリメント摂取ありのグループで平均黄斑感度の有意な改善が確認できた。

E. 結論

AMD の僚眼に異常 FAF を認める場合、1 年以内に AMD 発症の可能性が 8.8% と高率であった。異常 FAF パターンに関して、欧米と比較し

て、萎縮型 AMD の頻度と同様、reticular パターンが少なかった。ドルーゼン、色素沈着、異常 FAF の近傍では網膜感度の低下が徐々に進行していることが示唆された。眼底自発蛍光撮影と網膜感度測定は初期病態の評価に有用であると考えられた。

F. 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

1. 森隆三郎、他：JFAM スタディグループ：加齢黄斑変性初期病態に関する臨床研究報告（1）-異常眼底自発蛍光と眼底所見-（加齢黄斑変性初期病態調査（1））。第 64 回日本臨床眼科学会、神戸、2010.
2. 安川 力、他：JFAM スタディグループ：加齢黄斑変性初期病態に関する臨床研究報告（2）-眼底異常所見と網膜感度の関連-（加齢黄斑変性初期病態調査（2））。第 64 回日本臨床眼科学会、神戸、2010.
3. 石龍鉄樹、他：JFAM スタディグループ：異常眼底自発蛍光を伴う加齢黄斑変性初期病態に関する臨床研究報告－日本人の異常眼底自発蛍光の特徴－。第 49 回日本網膜硝子体学会、大阪、2010.

4. 五味 文、他：JFAM スタディグループ：加齢黄斑変性初期病態に関する臨床研究報告－異常眼底自発蛍光と網膜感度の変化－。第 49 回日本網膜硝子体学会、大阪、2010.

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

H. 参考文献

1. Bindewald A, et al: Classification of fundus autofluorescence patterns in early age-related macular disease. Invest Ophthalmol Vis Sci 46:3309-3314, 2005.
2. Einbock W, et al : Changes in fundus autofluorescence in patients with age-related maculopathy. Correlation to visual function: A prospective study. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 243:300-305, 2005.
3. Kassoff A, et al : A randomized, placebo-controlled, clinical trial of high-dose supplementation with vitamins C and E, beta carotene, and zinc for age-related macular degeneration and vision loss: AREDS report no. Arch Ophthalmol 119:1417-1436, 2001.
4. Sasamoto Y, et al: Effect of 1-year lutein supplementation on macular pigment optical density and visual function. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 249:1847-1854, 2011.

16. 加齢黄斑変性発症と C2/CFB 領域の遺伝子多型との相関

仲田勇夫¹⁾、山城健児¹⁾、赤木由美子¹⁾、三宅正裕¹⁾、大石明生¹⁾、辻川明孝¹⁾、
大谷篤史¹⁾、大音壮太郎¹⁾、田村 寛¹⁾、齋藤昌晃²⁾、飯田知弘²⁾、吉村長久¹⁾
(¹⁾京都大、²⁾福島県医大)

研究要旨 加齢黄斑変性 (AMD) の発症に複数の遺伝子多型が強く関与することは知られており、CFH 遺伝子、ARMS2 遺伝子、C2/CFB 遺伝子の3領域は欧米においては主要な感受性遺伝子といえる。今回我々は未だアジアにおいて報告の少ない C2/CFB 領域の遺伝子多型と AMD・ポリープ状脈絡膜血管症 (PCV) 発症との相関について症例対照関連解析で検討した。その結果、C2 遺伝子に存在する rs547154 及び CFB 遺伝子に存在する rs541862 が AMD 発症、PCV 発症共に相関した。さらに、rs547154 の AMD/PCV 発症への関与を既知の危険因子の影響を考慮した多重ロジスティック回帰分析にて検討したところ、オッズ比 0.47(対 AMD)及び 0.53(対 PCV)と非常に強い相関を示した。この結果により、欧米人と同様に、C2/CFB 遺伝子多型は日本人の AMD 及び PCV 発症と関係することが示された。

A. 研究目的

C2/CFB 遺伝子多型が日本人の加齢黄斑変性 (AMD) 及びポリープ状脈絡膜血管症 (PCV) 発症と関係しているかどうかを検討する。

B. 研究方法

京都大学・福島県立医科大学・神戸市立医療センター中央市民病院の3施設で AMD と診断され、書面で同意を得た患者 1036 例 (典型 AMD:455 例、PCV:581 例) を症例群とした。対照群として、愛知県がんセンターで採血された一般健常日本人 865 例を用いた。

連結匿名化した末梢血から DNA を抽出し、6 番染色体に存在する C2/CFB 領域から、以下の4つの一塩基多型 (SNP) を選出し検討を行った。

・欧米人の AMD 発症に関与したと報告がある

3SNP (rs547154, rs2072633, rs4151672)。

・CFB 遺伝子内で日本人において比較的マイナーアレル頻度が高かった 1SNP (rs541862)。

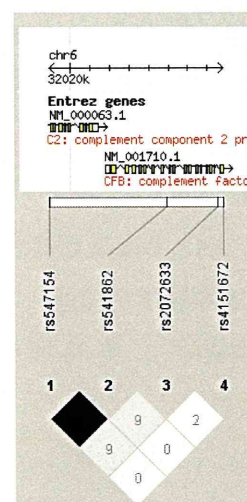


図1 検討した C2/CFB 領域の 4SNP

これらの 4SNP について TaqMan 法により遺伝子型を決定し、この結果を元に、症例群とコン

トロール群との遺伝子型頻度の違いを検討した。

(倫理面への配慮)

当院倫理委員会承認と患者の書面による同意の下に採血を行った。

C. 研究結果

検討した4つのSNPのうちC2遺伝子に存在する rs547154 及び CFB 遺伝子に存在する rs541862 が AMD 発症に相関を示した(それぞれ $P=0.018$ 、 0.016)。これら2つのSNPはPCV発症にも同様に相関した(それぞれ $P=0.010$ 、 0.010)。さらに、rs547154のAMD/PCV発症への関与を年齢・性別・喫煙歴・*ARMS2* A69S 多型・*CFH* I62V 多型それぞれの影響を考慮した多重ロジスティック回帰分析にて検討したところ、オッズ比 0.47(対AMD)及び 0.53(対PCV)と非常に強い相関を示した。

D. 考察

これまで、欧米人のAMD発症については様々な研究の結果、*CFH* 遺伝子、*ARMS2*/*HTRA1* 遺伝子、C2/CFB 遺伝子の3つの遺伝子領域の関与が示されており、その再現性は後の数多くのスタディで証明されている。その一方で、日本人を含むアジア民族ではこれら3つの遺伝子のうち、*CFH* 遺伝子(特に I62V 多型)と *ARMS2*/*HTRA1* 遺伝子(特に A69S 多型)の2つの遺伝子については、AMD発症との関連性が再現されているのに対し、C2/CFB 遺伝子については、未だ再現性が確認されておらず、1)2) それ故に、アジア人と欧米人でAMD/PCV発症の背景が異なるのではないかという推察がなされてきた。しかし、今回の検討において、欧米人と同様、日本人のAMD/PCV発症に対しC2/CFB領域遺

伝子多型が保護的に関与していることが示された。これまでの報告と異なる結果を本研究で得ることが出来た理由には、C2/CFB 領域の遺伝子多型は比較的その変異頻度が低いため、多数の症例を用いて検討する必要があり、今回比較的多数の症例を用いて検討したことが挙げられる。

E. 結論

欧米人と同様に、C2/CFB 遺伝子多型は日本人のAMD及びPCV発症と関係する。

F. 研究発表

1. 論文発表

Invest Ophthalmol Vis Sci に掲載予定

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

H. 参考文献

1. Liu X, Zhao P, Tang S, et al: Association study of complement factor H, C2, CFB, and C3 and age-related macular degeneration in a Han Chinese population. *Retina* 30:1177-1184, 2010.
2. Chu J, Zhou CC, Lu N, Zhang X, Dong FT: Genetic variants in three genes and smoking show strong associations with susceptibility to exudative age-related macular degeneration in a Chinese population. *Chin Med J (Engl)* 121: 2525-2533, 2008.

17. ゲノムワイド関連解析による日本人での

滲出型加齢黄斑変性の感受性遺伝子を同定

荒川 聡¹⁾²⁾、高橋 篤¹⁾、芦川享大¹⁾、碧井智美¹⁾、吉田茂生²⁾、江内田寛²⁾、
安田美穂²⁾、大島裕司²⁾、森 圭介³⁾、根木 昭⁴⁾、門之園一明⁵⁾、清原 裕⁶⁾、
鎌谷直之¹⁾、中村祐輔⁷⁾、久保充明¹⁾、石橋達朗²⁾

¹⁾ 理化学研究所横浜研究所ゲノム医科学研究センター、²⁾ 九州大、³⁾ 埼玉医大、
⁴⁾ 神戸大、⁵⁾ 横浜市立大学附属市民総合医療センター病院、⁶⁾ 九州大・環境医学、
⁷⁾ 東京大・医科学研究所ヒトゲノム解析センター)

研究要旨 加齢黄斑変性(AMD)は世界的に失明を引き起こす最大の原因であり、多くの環境的、
遺伝的リスク要因により起こる多因子疾患である。日本人における滲出型AMDの遺伝的要因を見つ
けるため、総計1,536人の滲出性AMD患者と18,894人の対照群についてゲノムワイド関連解析
(GWAS)及び追試研究を行った。その結果、8番染色体短腕上の *TNFRSF10A-LOC389641* 遺伝
子領域(rs13278062、統合P値=1.03×10⁻¹²、オッズ比=1.37)と、4番染色体長腕上の
*REST-C4orf14-POLR2B-IGFBP7*遺伝子領域(rs1713985、統合P値 = 2.34×10⁻⁸、オッズ比=
1.30)の2領域を関連遺伝子として同定した。*TNFRSF10A*遺伝子は、TRAILと結合すると、炎症や
アポトーシスを誘導する事が報告されており、この一塩基多形(SNP)のアレルの違いにより、
*TNFRSF10A*の発現量が変わる事で、発症に関与していると考えられた。

A. 研究目的

加齢黄斑変性(AMD)は、環境要因および遺伝
要因により起こる多因子疾患と考えられている。
これまでの AMD に対するゲノムワイド関連解
析(GWAS)の報告では、対象となる患者群は
萎縮型と滲出型の両型が混在した報告が主で
あった。今回、アジアでの有病率の高い滲出
型 AMD 患者のみを対象とし、日本人における
遺伝的要因を検討した。

B. 研究方法

GWAS では、滲出型 AMD 患者 827 人と対照
者 3,323 人を対象とした。遺伝子型の決定は、
イルミナ社の高密度ビーズチップアレイを用い

て行い、解析には約 45 万個の SNP を使用し
た。その結果、一定の基準を満たした 77 個の
SNP について、別の滲出型 AMD 患者 701 人
と対照者 15,565 人を対象とし、マルチプレク
ス PCR を併用したインベーター法を用いて追
試研究を実施した。

(倫理面への配慮)

全ての症例は、研究に参加するという、書面上
での説明と同意を得ている。この研究は、九州
大学、埼玉医科大学、神戸大学、横浜市大セ
ンター病院、東京大学医科学研究所および横
浜理化学研究所の倫理審査委員会により承
認されている。

C. 研究結果

GWAS および追試研究の結果、*CFH* (rs800292, P 値=4.23×10⁻¹⁵) および *ARMS2* (rs3750847, P 値=8.67×10⁻²⁹) の既報の領域に加えて、2 つの新規の滲出型 AMD 感受性領域を同定した。8 番染色体上の *TNFRSF10A-LOC389641* (rs13278062、統合 P 値 = 1.03 × 10⁻¹²、オッズ比=1.37)と、4 番染色体上の *REST-C4orf14-POLR2B-IGFBP7* (rs1713985、統合 P 値 = 2.34 × 10⁻⁸、オッズ比 = 1.30)の 2 領域が新規の関連領域として同定された(表 1、図 1)。さらに領域を特定するため詳細マッピングを行った結果、rs13278062 が 8 番染色体短腕領域で最も強い関連を持つことが示された。

SNP	対立変異遺伝子	研究	症例数		対立変異遺伝子頻度		性年齢調整後	
			患者群	対照群	患者群	対照群	P値	オッズ比
rs13278062	T	ゲノムワイド関連解析	827	3,323	0.417	0.343	2.46 × 10 ⁻⁸	1.41
		追試研究	701	15,696	0.417	0.348	8.19 × 10 ⁻⁸	1.36
		統合					1.03 × 10 ⁻¹²	1.37
rs1713985	G	ゲノムワイド関連解析	827	3,323	0.333	0.286	9.03 × 10 ⁻⁸	1.34
		追試研究	708	15,598	0.329	0.282	5.71 × 10 ⁻⁸	1.27
		統合					2.34 × 10 ⁻⁸	1.30

表 1. ゲノムワイド関連解析および追試研究のまとめ
ゲノムワイド関連解析と追試研究を統合した結果、rs13278062のSNPではT アレルを持っていると、滲出性AMDの発症が持たない場合に比べて1.37倍になることが分かった。また、rs1713985のSNPでは、Gアレルを持つと、約1.3倍に高まる事が示された。

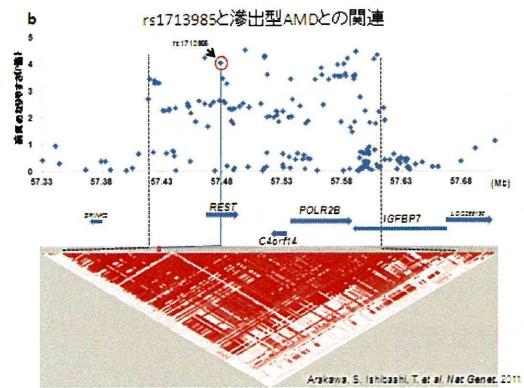
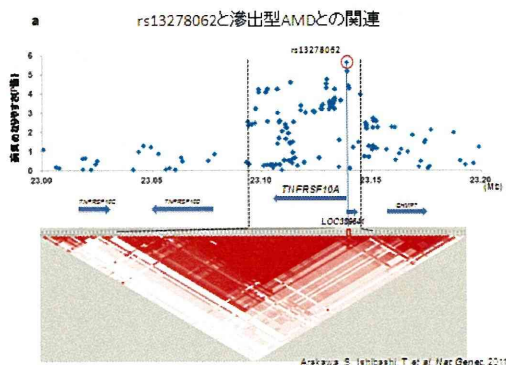


図1. *TNFRSF10A*遺伝子および*REST-C4orf14-POLR2B-IGFBP7*遺伝子周囲のSNPと滲出型AMDとの関連
*TNFRSF10A-LOC389641*領域 (a) および*REST-C4orf14-POLR2B-IGFBP7*領域 (b) の連鎖不平衡マップおよび遺伝子地図。候補領域は黒点線の間の領域で示してある。詳細なタイピングは8番染色体、4番染色体それぞれ、23.09から23.14メガベース、57.42から57.81メガベースの範囲で行った。青色の点はGWASおよび詳細なタイピングにより得られたP値の対数表示である。連鎖不平衡マップは3MA3で用いた症例群および対照群より抽出した。青線はマーカーSNP (rs13278062 (a), rs1713985 (b))の位置を示している。

D. 考察

rs13278062 は、*TNFRSF10A* 遺伝子の転写量を調節する領域(プロモーター領域)に存在していた。ルシフェラーゼアッセイを用いた過去の論文では、この SNP のアレルの違いにより、発現量の違いが生じると報告されている。また、*TNFRSF10A* 遺伝子は、TRAIL レセプター1 (TRAILR1) というタンパク質をコードする遺伝子であり、TRAILR1 は網膜色素上皮細胞を含む多くの組織に発現している。この TRAILR1 に TRAIL タンパク質が結合すると、カスパーゼを介したアポトーシス誘導経路の活性化や NF-κB を介した炎症性サイトカイン産生が誘導されると報告されている。よって、この SNP のアレルの違いにより TRAILR1 の発現量が変化し、滲出型 AMD 発症に関連していることが示唆された。

E. 結論

日本人における滲出型 AMD に対し、新規の 2 領域の疾患感受性遺伝子の同定に成功した。

F. 研究発表

1. 論文発表

Arakawa S, et al: Genome-wide association study identifies two susceptibility loci for exudative age-related macular degeneration in the Japanese population. Nat Genet 43 : 1001-1004, 2011.

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

国際特許出願(平成 23 年 9 月 2 日)

国際特許分類 C12N 15/09

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

18. 網膜色素変性に対する UF-021 投与終了後の視機能変化

菅原岳史、萩原 章、熊谷 健、木本龍太、山本修一
(千葉大)

研究要旨【目的】我々はすでに、網膜色素変性(RP)において 0.15%ウノプロストン点眼(UF-021)が用量依存性に網膜中心部感度を改善することを報告した。今回 UF-021 投与終了後の視機能変化を報告する。

【対象と方法】千葉大学病院眼科で 24 週間の UF-021 治験を行い、その後も経過観察可能であった RP 患者 22 名である。治験では無作為二重盲検により、1回2滴点眼の高濃度群(H)6名、1回1滴点眼の低濃度群(L)8名、プラセボ群(P)8名に割り付けられていた。治験開始時および終了時とそれから 48 週後のハンフリー視野(HFA)10-2 の中心4点平均網膜感度と mean deviation(MD 値)、マイクロペリメトリー(MP1)の中心2度と 10 度の平均網膜感度を調査した。

【結果】治験開始時に対する 72 週後の HFA 中心4点感度および MD 値の平均変化値(dB)は、H 群では進行は緩慢で、治験後の経過においては、H群はP群に対して有意差はないものの悪化が抑えられる傾向がみられた。MP1 でも同様の傾向であった。以上より UF-021 による視機能改善効果が確認された。

【結論】投与終了後も高濃度群で進行は緩やかで、UF-021 の視機能維持効果が持続している可能性があると思われた。

A. 研究目的

我々はすでに網膜色素変性(RP)において 0.15%ウノプロストン点眼(UF-021)が用量依存性に網膜中心部感度を改善することを報告している。今回 UF-021 投与終了後の視機能変化を報告する。

験終了後は全例で投薬は中止されている。今回、千葉大学のIRBの承認後に、治験開始時および終了時とそれから 48 週後のハンフリー視野(HFA)10-2 の中心4点平均網膜感度と mean deviation(MD 値)、マイクロペリメトリー(MP1)の中心2度と 10 度の平均網膜感度、矯正視力を調査した。

B. 研究方法

千葉大学病院眼科において、24 週間の UF-021 治験を行い、その後も経過観察可能であった RP 患者 22 名を対象とした。治験では無作為二重盲検により、1回2滴点眼の高濃度群(H)6名、1回1滴点眼の低濃度群(L)8名、プラセボ群(P)8名に割り付けられていた。治

C. 研究結果

治験開始時に対する 72 週後の HFA 中心4点感度および MD 値の平均変化値(dB)は、H 群では 1.52 ± 2.33 と -0.11 ± 1.17 、L 群では -2.05 ± 3.77 と -1.54 ± 3.04 、P 群では 0.11 ± 4.18 と -0.61 ± 2.55 であり、H 群では進行は

緩慢で治験開始時から計1年6ヶ月の経過においては、H群はP群に対して有意差はないものの悪化が抑えられる傾向がみられた。MP1でも同様の傾向であったが各群に逸脱症例が1例ずつあった。矯正視力には変化なかった。

D. 考察

UF-021 の投与終了後は視機能は悪化に転じたことより、UF-021 による視機能改善効果が確認された。しかし投与終了後も高濃度群で進行は緩やかであり、UF-021 による視機能維持効果が長期に持続している可能性があると思われた。

E. 結論

中止後の効果を確認することで、UF-021 による視機能改善効果が確認された。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

第116回日本眼科学会総会で講演予定

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

H. 参考文献

Hiramatsu A, Sugawara T, Ogata K, Hagiwara A, Yamamoto S: Improvement of central retinal sensitivity six months after topical isopropyl unoprostone in patients with retinitis pigmentosa. *Ind J Ophthalmol*, in press.

19. わが国における視覚障害の原因

佐藤里奈¹⁾、安川 力¹⁾、加藤亜紀¹⁾、大森豊緑²⁾、石橋達朗³⁾、小椋祐一郎¹⁾
(¹⁾名古屋市大、²⁾名古屋市大・医療健康政策科学、³⁾九州大)

研究要旨 視覚障害認定者数を調査し、視覚障害の原因や割合の変化を把握し、視覚障害の対策をたてる為、無作為に抽出した自治体において、平成19年～21年の3年間に新規に視覚障害認定を受けた4138名について調査を行った。原因順位と割合は、1位が緑内障で21.6%、以下2位が糖尿病網膜症、3位が網膜色素変性、4位が黄斑変性、5位が網膜・脈絡膜萎縮であった。前回調査の順位と変化はなく、緑内障の割合にも大きな変化がみられなかった。糖尿病網膜症の割合が減少しているのは、受診率の向上や治療、技術の進歩に伴い改善がみられたためと考えられる。

A. 研究目的

視覚障害認定者数を調査し、我が国の視覚障害の原因、実態を明らかにし、視覚障害の対策をたてる。

B. 研究方法

全国を6ブロックに分け、1ブロックから1県あるいは1都市の自治体を無作為に抽出した。これらの自治体において、平成19～21年の3年間に身体障害者診断書・意見書に基づいて新規に視覚障害認定を受けた18歳以上の視覚障害者4138名について調査した。

(倫理面への配慮)

個人の識別が不可能な状態で行われており、個人情報保護法に定める定義の個人情報に該当しない。

C. 研究結果

視覚障害の原因の第1位は緑内障21.6%であった。2位は糖尿病網膜症15.2%、3位は網膜色素変性11.9%、4位は黄斑変性9.0%、5位は網膜・脈絡膜萎縮8.2%であった(図1)。

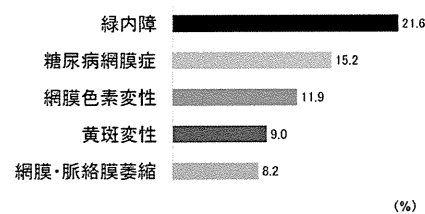


図1. 視覚障害の原因順位と割合 (%)

今回の検討と過去の検討を比較すると、今回と前回の上位の順位には変化がなかった。やはり緑内障が1位で約20%を超えた。生活習慣病である糖尿病の人口は増加傾向にあるが、糖尿病網膜症の割合が減少しているのは、受診率の向上や治療、技術の進歩に伴って改善がみられたためではないかと考えられる。網膜色素変性や、黄斑変性の割合には大きな変動はなかった。

疾患ごとの等級の割合については、緑内障は1級が25%、2級が35%と両方で約6割に至った。続いて5級が約20%で、高い等級と低い等級で二峰性を示した。

糖尿病網膜症は2級が25%で全体の4分の1を占め、最も高かったが、どの等級にもほぼ同

じ割合で認められた。

網膜色素変性は2級が半数を超えた。黄斑変性は5級が25%と最も高い数値を示した。網膜・脈絡膜萎縮は2級が28%、5級20%で、両者で半数となった(図2)。

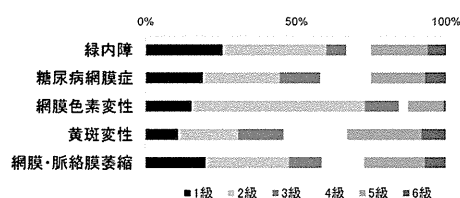


図2. 各疾患の等級割合

D. 考察

本検討は全数調査ではないため、抽出群による違いがあると思われるが、受診率の向上や治療の進歩により、疾患によって認定患者数に変化があるのではないかと考えられる。また、視覚障害者認定の際には身体障害者福祉法に基づく指定医師の診断書を添えて、福祉事務所を経由し、都道府県知事、指定都市市長に身体障害者手帳の交付申請をすることになっている。

認定に際し、判定項目となる視力や視野検査などの詳細な結果は、各地方自治体へ報告されるのみで 全国規模で集計されることはない。また、診断名はコード選択ではなく、判定医の裁量に委ねられており、現在の日本では、統計調査が困難な状況にある。

E. 結論

今回の原因疾患の順位は、1位の緑内障をはじめ、前回と同様の結果であった。今後、我が国の視覚障害者の現状を把握し、おのこの疾患に対する予防や早期治療対策を検討する必要があると思われる。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

佐藤里奈、他:わが国における視覚障害の原因. 第65回日本臨床眼科学会、東京、2011.

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

H. 参考文献

中江公裕、他:視覚障害の原因の変遷—現調査と1988年調査との比較、厚生労働省難治性疾患克服研究事業 網膜脈絡膜・視神経萎縮症に関する研究班平成19年度報告書. 99-103、2008.

20. 全身感染症と加齢黄斑変性

—LPS 全身投与が実験的脈絡膜新生血管に及ぼす影響

瓶井資弘、松村永和、辻川元一、謝 平、鈴木三保子、坂口裕和、西田幸二
(大阪大)

研究要旨 加齢黄斑変性 (AMD) の病因と全身感染症の関係を調べるため、実験的脈絡膜新生血管 (CNV) モデルに対する低容量リポポリサッカライド (LPS) 投与の影響を検討した。LPS 事前投与により CNV は抑制され、それはマクロファージによる IL-10 を介する作用であることがわかった。また、LPS 投与マウスの腹腔マクロファージを移入したマウスにおいても CNV が抑制された。眼局所に限らず、全身における何らかの感染の既往は、CNV を生じにくくする可能性がある。

A. 研究目的

加齢黄斑変性の発症には、加齢、喫煙、SNPs など様々な関与が報告されているが、発症メカニズムの全貌はいまだ不明である。補体などの免疫系の異常や肺炎クラミジアなどの全身感染症の関与も報告されているので、我々は、微生物感染によって引き起こされる全身の免疫系の変化が、AMD 発症に関与しないかどうかを、実験的脈絡膜新生血管 (CNV) モデルを用い、グラム陰性菌の細胞壁外膜の主要成分であるリポポリサッカライド (LPS) の事前腹腔内投与の影響を検討した。

B. 研究方法

C57BL/6 マウスを用い、レーザー照射による CNV モデルを作成した。レーザー照射の 1~4 日前に低用量 (20ug/0.2ml) の LPS を腹腔内投与した。レーザー照射の 10 日後に眼球摘出し、脈絡膜フラットマウントにて CNV サイズを測定した。また、LPS 投与後の血中 IL-10 濃度を ELISA にて、LPS 投与 2 日後の腹腔マクロ

ファージ・眼内の IL-10 発現を定量的 RT-PCR にて測定した。さらに、LPS を事前投与したマウスにおいて、レーザー光凝固と同時に IL-10 中和抗体の硝子体内投与を行い、CNV サイズの変化をみた。また、LPS 事前投与マウスから腹腔マクロファージ移入を行なった無処置マウスに対してレーザー照射し、CNV サイズを評価した。

(倫理面への配慮)

大阪大学医学部動物実験倫理委員会に許可されたプロトコールで行った。

C. 研究結果

レーザー照射の 1, 2, 3, 4 日前に LPS 事前投与を行ったマウスの CNV サイズは、それぞれ 16241、14781、15876、16606 μm^2 であり、コントロール (21350 μm^2) と比較して有意に減少した ($p < 0.05$)。LPS 投与後の血中 IL-10 濃度、腹腔マクロファージ・眼内の IL-10 発現は有意に上昇した ($p < 0.05$)。また、IL-10 中和抗体の投与により LPS による CNV 縮小効果は

抑制された。さらに、LPS 投与マウスからの腹腔マクロファージ移入により、無処置マウスにおいても CNV は抑制された。

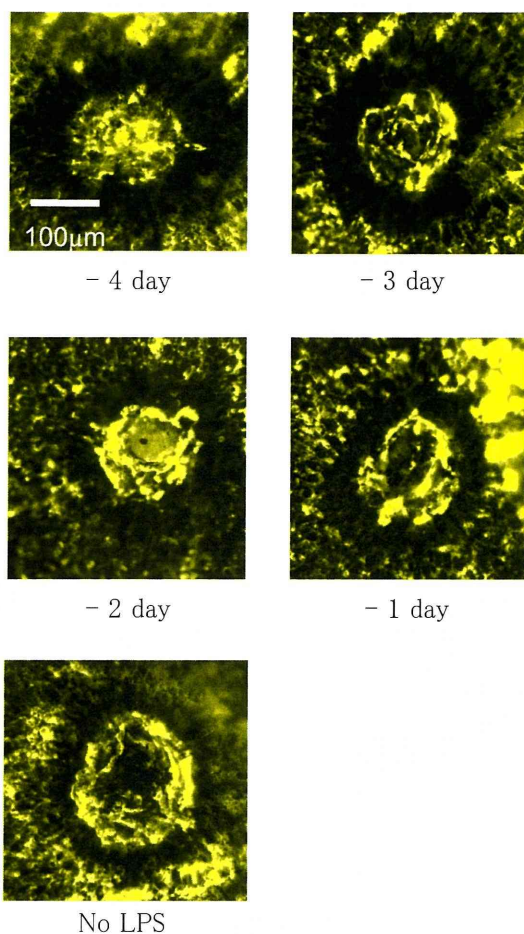


図:LPS 投与時期による CNV 形成の違い

D. 考察

加齢黄斑変性では肺炎クラミジアの血中抗体価が高いという報告が複数あることより、当初われわれは、LPS 腹腔内投与により CNV 形成が促進されるだろうと予測していた。しかし、実験結果は反対に、低容量の LPS 事前腹腔内投与により、実験的 CNV は有意に抑制された。

われわれは、そのメカニズムとして、LPS トレルランスが関与しているのではないかと考えた。そこで、LPS トレルランスに関与する主要な分子とし

て報告されている抑制性サイトカイン・IL-10 に注目した。検討の結果、低容量の LPS 腹腔内投与により腹腔のマクロファージに IL-10 産生が誘導され、それが CNV の抑制に関与していることを示した。

明らかな自覚症状がなくても、subclinical な微生物感染が、全身の免疫系に様々な変化を起こしうることは様々な報告がある。実際に、多くの自己免疫疾患やアレルギー疾患、ある種の悪性腫瘍などは、何らかの微生物感染による免疫系の異常・攪乱が、疾患発症に関与する可能性があるとして報告されている。

これらのことより、眼局所に限らず、全身における何らかの感染の既往は、CNV を生じにくくする可能性があると考えられる。

E. 結論

低用量 LPS の事前投与は、マクロファージの IL-10 発現上昇を介して CNV 形成を抑制する。

F. 研究発表

1. 論文発表

投稿中

2. 学会発表

1. Matsumura N, Tsujikawa M, Xie P, Nakai K, Saishin Y, Suzuki M, Sakaguchi H, Kamei M: Lipopolysaccharide pretreatment suppresses choroidal neovascularization. Annual meeting of the Association for Research in Vision and Ophthalmology, 2010.

2. 松村永和、瓶井資弘、辻川元一、謝平、鈴木三保子、坂口裕和、西田幸二:低用量リポポリサッカライドの事前投与は、脈絡膜新生血管を抑制する。第 115 回日本眼科学会総会、東京、2011.

21. 強い生理光による VEGF の誘導と脈絡膜血管新生の促進

上田高志¹⁾、井上達也¹⁾、湯田健太郎¹⁾、古川貴久²⁾、柳 靖雄¹⁾、玉置泰裕¹⁾

(¹⁾ 東京大、²⁾大阪バイオサイエンス研究所・発生生物学部門)

研究要旨 光線暴露が滲出型加齢黄斑変性(AMD)の発症に寄与するという概念は広く認知されているが、そのメカニズムは明らかではない。我々はマウスにとって生理的な強度の可視光を用いて、光暴露が網膜色素上皮(RPE)からの vascular endothelial growth factor (VEGF)の発現上昇をもたらすことを見出した。強い可視光線によって先ず RPE による視細胞外節(OS)の貪食が亢進し、OS の負荷が増大した RPE では peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator-1 α (PGC-1 α)/estrogen-related receptor- α (ERR- α) 依存性に VEGF を誘導した。マウスを強い可視光へ暴露させると、laser-induced choroidal neovascularization (CNV)モデルで CNV サイズが増大することが分かった。

A. 研究目的

光線暴露が AMD 発症リスクを高めることは良く認知され議論されている事項ではあるが、そのメカニズムは未だ不明である。本研究の目的はマウスにおいて強い生理光照射モデルを確立し、RPE や脈絡膜への影響を検討することで、光線暴露と滲出型 AMD の関係について理解を深めることを目的とした。

B. 方法

先ず、マウスにとって生理光と思われる範囲内(20 lx 以下)でマウスが退避行動をとる強度の光を「強い生理光」と定義した。光照射による RPE による OS の貪食の程度を強い生理光と、より弱い光とで比較した。比較方法は RPE 中に含有される rhodopsin タンパク量を Western blotting で定量した。光照射によって RPE/choroid 組織中で VEGF タンパクレベルが上昇

するかを ELISA 法にて検討した。VEGF レベルの上昇に OS の貪食が寄与しているかどうかを検討するため、解剖学的に OS 構造を持たないマウス(*rd1/rd1* マウス、*Crx* ノックアウトマウス)を使用した。OS 貪食による RPE での VEGF 誘導のメカニズムを ARPE-19 cell line で検討した。光による RPE での VEGF 誘導に PGC-1 α /ERR- α pathway が関わっているかを in vivo で検討するため、PGC-1 α や ERR- α のノックアウトマウスを使用した。さらに、光の CNV への作用をマウス laser-induced CNV モデルを用いて検討した。

(倫理面への配慮)

実験動物の取り扱いに関しては、ARVO の動物取り扱いガイドラインを遵守した。

C. 研究結果

10 lx 以上の可視光にマウスが退避行動を取っ

たことから、本研究では 15 lx の可視光を「強い生理光」と定義した。15 lx 可視光により RPE/choroid での rhodopsin タンパクレベルと VEGF タンパクレベルが上昇した。OS 構造を持たないマウス (*rd1/rd1* マウス、*Crx* ノックアウトマウス) では VEGF タンパクレベルの上昇が見られなかったことから、可視光による VEGF タンパクレベルの上昇は RPE による OS 貪食に依存していると考えられた。ARPE-19 細胞に OS を付加すると VEGF の転写誘導が観察された。同時に、HIF-1 α タンパクレベルに変化はなかったが、PGC-1 α の発現上昇が認められた。PGC-1 α や ERR- α をノックダウンすると OS による VEGF の誘導は妨げられた。PGC-1 α や ERR- α のノックアウトマウスでは正常な OS 層が認められたが、光による VEGF の上昇は認められなかった。マウス CNV モデルでは WT マウスでは強い生理光による CNV の拡大が見られたが、PGC-1 α や ERR- α のノックアウトマウスでは CNV の拡大は見られなかった。

D. 考察

強い生理光による VEGF の発現上昇と CNV 促進作用が *in vivo* で示された。そのメカニズムの背景には RPE による OS 貪食の亢進があり、PGC-1 α /ERR- α pathway を介することが明らかとなった。本研究によって、従来には無かった、マウスでの強い生理光の照射モデルが確立された。また、これまでに提唱されてきた光線暴露による CNV 促進作用の理論的な仮説は A2E を含む bisretinoids と呼ばれる visual cycle の副産物を介するものであったが、生理的な妥当性は不明であった。しかし、OS

の貪食と visual cycle は密接な関係があると考えられるため、本研究で示されたメカニズムは従来の仮説と関連がある可能性が考えられた。

E. 結論

強い生理光による RPE での VEGF の発現上昇と CNV 促進効果をマウスで初めて明らかにした。

F. 研究発表

1. 論文発表

現在投稿中

2. 学会発表

なし

22. CCR3 拮抗剤による脈絡膜新生血管抑制

水谷武史¹⁾、野崎実穂¹⁾、芦苺正幸¹⁾、所真由美²⁾、小椋祐一郎¹⁾

(¹⁾名古屋市大、²⁾愛知厚生連尾西病院)

研究要旨 CCR3 は、好酸球のケモカインレセプターとして知られている。その拮抗剤は気管支喘息やアトピー性皮膚炎といったアレルギー疾患の治療ターゲットとして研究されてきた。近年、CCR3 は加齢黄斑変性 (AMD) の脈絡膜新生血管 (CNV) の血管内皮細胞に特異的に発現しており、CCR3 拮抗剤の CNV を抑制する作用が発見され、AMD の新たな治療標的の可能性が示唆されている。今回、我々は、選択的低分子 CCR3 拮抗剤 YM-344031 による CNV 抑制について、マウス実験的レーザーCNVモデルを用いて検討した。YM-344031 強制経口投与および硝子体内投与群において、無治療群と比較して、有意に CNV 容積が抑制された。レーザー網膜光凝固後の無治療群、YM-34403 硝子体内投与群ともに有意に VEGF 蛋白の発現が増加しており、無治療群と YM-34403 硝子体内投与群間では有意な差は認められなかった。免疫染色では YM-34403 硝子体内投与群では、Ki67 陽性細胞の発現が抑制されており、CNV 抑制の機序として、レーザー網膜光凝固後の細胞増殖抑制が関与していると考えられた。CCR3 拮抗剤は今までアレルギー性疾患治療薬として開発されてきたが、今回の結果から CCR3 拮抗剤による VEGF 抑制を介さない新たな加齢黄斑変性治療の可能性が考えられた。

A. 研究目的

加齢黄斑変性 (AMD) に対する治療は、抗 VEGF 薬の硝子体内投与が主流となっているが、硝子体内投与にまつわる眼内炎のリスクなど問題がある。CCR3 拮抗剤 YM-34403¹⁾は、CCR3 は、好酸球のケモカインレセプターとして知られている。その拮抗剤は気管支喘息やアトピー性皮膚炎といったアレルギー疾患の治療ターゲットとして研究されてきた。近年、CCR3 は加齢黄斑変性 (AMD) の脈絡膜新生血管 (CNV) の血管内皮細胞に特異的に発現しており、CCR3 拮抗剤の CNV を抑制する作用が発見され、AMD の新たな治療標的の可

能性が示唆されている²⁾。今回、我々は、選択的低分子 CCR3 拮抗剤 YM-344031 (アステラス製薬株式会社提供) による CNV 抑制について、マウス実験的レーザーCNVモデルを用いて検討した^{3), 4)}。

B. 研究方法

実験動物は、雄の生後約 8 週の C57BL/6J マウスを用い、CNV はレーザー網膜光凝固により誘導し、7 日目にレーザー共焦点顕微鏡で CNV 容積を測定した。また同じく7日目に CNV からの血管漏出を蛍光眼底造影により評価した。レーザー網膜光凝固後1時間と 24 時