

管に対する Ccr2 アンタゴニストの有用性と安全性. 第 116 回日本眼科学会総会、東京、2012.

3. Kamei M:tPA Assisted Vitrectomy, The 27th APAO Congress, Busan, 2012.

4. Kamei M:MCP-1 (Ccl-2) as a therapeutic target for AMD, The 27th APAO Congress, Busan, 2012.

5. Kamei M, et al : Efficacy of a CCR2 antagonist for treating choroidal neovascularization. The 2012 ARVO Annual Meeting, Fort Lauderdale, USA, 2012.

6. 瓶井資弘:加齢黄斑変性の病因解明と新治療開発. 第 68 回埼玉眼科講習会、川越、2012.

23. ラットにおけるアスタキサンチンの網膜光傷害抑制効果

山本篤志、湯澤美都子

(日本大)

研究要旨 目的: ラットにおける網膜光傷害に対するアスタキサンチンの予防効果の有無を明らかにする。

対象と方法: SD ラット 24 匹を無作為にアスタキサンチン(AST)高濃度投与群(1mg/kg)、AST 低濃度投与群(0.2mg/kg)、コントロール群の 3 群に分け、それぞれの群を 3000 lxの高照度環境下にて一日 12 時間、連続 7 日間飼育した。毎日の光曝露開始前に AST を、コントロール群においてはオリーブオイルを経口投与した。実験開始前後に網膜電図を記録した。眼球を摘出し、HE 染色にて外顆粒層(ONL)厚、TUNEL 染色にて ONL 中のアポトーシス陽性率を調べた。

結果: ERG の b 波振幅の残存率は高濃度投与群、低濃度投与群、コントロール群の順で有意に高かった。ONL 厚は、AST 投与群はコントロール群と比べ有意に厚かった。TUNEL 陽性率は高濃度投与群、低濃度投与群、コントロール群の順で有意に低かった。

結論: AST の経口投与はラットの網膜光傷害に対して予防的な効果がある。

A. 研究目的

ラットにおける網膜光傷害に対するアスタキサンチン(Astaxanthin:AST)の予防効果の有無を明らかにする。

出した。検体をホルマリンにて固定したのちヘマトキシリン・エオジン(HE)染色、TUNEL 染色し検鏡した。

(倫理面への配慮)

実験は全て日本大学動物実験運営内規に沿って行われた。

B. 研究方法

週齢 10~12 週の成熟した雌の SD ラット 24 匹を無作為に AST 高濃度投与群(1mg/kg)、AST 低濃度投与群(0.2mg/kg)、コントロール群の 3 群(各群 8 匹)にわけた。網膜電図(Electroretinogram: ERG)を記録したのち、6W 白色 LED 電球 2 灯を用い 3000 lxの高照度環境に 1 日 12 時間、連続 7 日間曝露させた。毎日の光曝露 1 時間前に AST を、コントロール群にはオリーブオイルを経口投与した。7 日間の曝露終了後の 24 時間以内に ERG を再記録し、速やかにラットを安楽死させ眼球を摘

C. 研究結果

ERG: 実験前の b 波振幅と実験後の b 波振幅の比率(b 波残存率)は AST 高濃度投与群、AST 低濃度投与群、コントロール群ではそれぞれ 41.4%(±16.1)、33.4%(±10.5)、22.5%(±6.1)であり(図 1)、すべての群で有意な低下が見られた(すべて $p < 0.05$)。b 波残存率の群間比較では、AST 高濃度投与群と AST 低濃度投与群($p = 0.016$)、AST 高濃度投与群(1mg/kg)とコントロール群($p = 0.004$)、低濃度

投与群とコントロール群(p=0.012)、においてそれぞれ有意差が認められた。

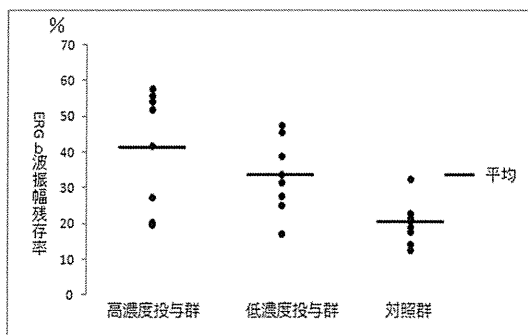


図 1:各群の ERG b 波残存率

HE 染色: 網膜外顆粒層 (ONL) の平均厚は AST 高濃度投与群、AST 低濃度投与群、コントロール群においてそれぞれ、 $14.4 \mu\text{m} (\pm 2.6)$ 、 $13.8 \mu\text{m} (\pm 2.0)$ 、 $11.4 \mu\text{m} (\pm 1.3)$ (図 2) であり AST 高濃度投与群とコントロール群 (p=0.014)、AST 低濃度投与群とコントロール群 (p=0.012) の間に有意差を認めたが、AST 高濃度投与群と AST 低濃度投与群間においては有意差を認めなかった。

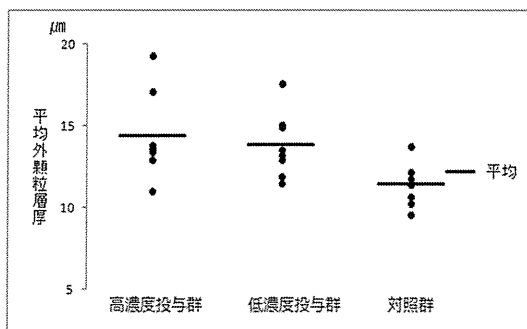


図 2:各群の平均 ONL 厚

TUNEL 染色: 網膜 ONL 中の TUNEL 陽性率の平均は AST 高濃度投与群、AST 低濃度投与群、コントロール群においてそれぞれ、7.1% (± 3.5)、12.8% (± 3.1)、21.6% (± 4.8) であった。(図 3) TUNEL 陽性率はコントロール群と比較して AST 高濃度投与群(p=0.002)、AST 低濃度投与群(p=0.005)において有意に低く、AST 高濃度投与群と AST 低濃度投与群

間においても有意差を認めた(p=0.012)。

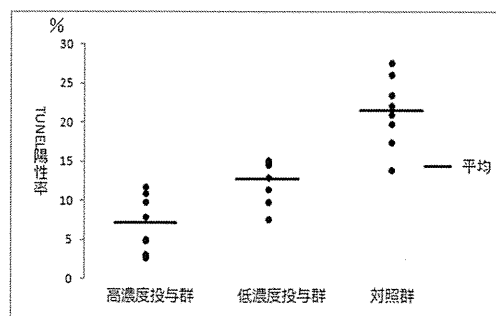


図 3:各群の TUNEL 陽性率

D. 考察

今回網膜に傷害を与えるための酸化ストレスの一つである光を用いて検討を行った。網膜は過度な光曝露により傷害が引き起こされ、特に ONL において顕著に層厚の薄化を認める¹⁾。今回の実験では特に傷害を受けやすい部位である ONL の厚みと ONL 中のアポトーシスについて検討した。また、網膜の機能評価のために ERG における実験前後の b 波の振幅の変化について検討した。b 波の振幅はすべての群において実験後に有意に低下した。b 波は全体的な視機能の評価に用いられる指標の一つであり、b 波の減弱は高照度環境に曝露された結果、網膜に機能低下が生じたと解釈できる。コントロール群と比較し AST 投与群では 2 群とも b 波は有意に残存しており、AST の投与により光傷害による機能低下を減弱出来たと考えられた。さらに、AST 投与群間に有意差を認めたことからその効果は用量依存性である可能性が示唆された。組織学的には、AST 投与群ではコントロール群と比べ光曝露後の ONL 厚が有意に厚く、TUNEL 陽性率も AST 投与群で有意に低かった。AST 投与により、光傷害により惹起されるアポトーシスが防がれた結果として ONL の厚みが比較的保たれ、ERG の b 波の残存率が高かったと考えられた。ERG、TUNEL 染色では AST 用量依

存性の有意差を認めたが、ONL厚に関してはASTの用量による差は認められなかった。今回の実験では、アポトーシスを確認するために光暴露終了後迅速に組織を摘出し固定している。そのため、アポトーシスを生じた細胞もある程度構造を保っていると考えられ、ONL厚においてはAST高濃度投与群と低濃度投与群で有意な差が認められなかった可能性がある。

ASTは日本でも入手できるサプリメントであり、ラットにおける急性毒性試験、亜慢性毒性試験²⁾ヒトにおける長期摂取の安全性の検討³⁾過剰摂取における安全性の検討⁴⁾において安全性は確認されており、また、日本の食品安全委員会において許容一日摂取量を制限されておらず安全性は高いと考えられる。市販されているサプリメントで含有量の多いものは一日10mg近く摂取できるものもある。今回の設定した低用量群であるAST0.2mg/kgは、体重50kgの人間に換算すると10mgであり、摂取に耐えうる用量である。今回の実験の対象はラットでありヒトに対して同様の効果を有するかは不明であるが、ASTを内服することにより網膜を光傷害という酸化ストレスから保護出来る可能性を示す事が出来た。

E. 結論

ASTの経口投与はラットの網膜光傷害に対して予防的な効果がある。

G. 研究発表

2. 学会発表

1. Yamamoto A, et al: Protective effect of astaxanthin against light-induced retinal damage in rats. The Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO), Fort

Lauderdale, 2012.

I. 参考文献

1. Albert DM, et al: Development of choroidal neovascularization in rats with advanced intense cyclic light-induced retinal degeneration. Arch Ophthalmol 128, 212-222, 2010.
2. 高橋二郎、他：ヘマトコッカス藻アスタキサンチンの毒性試験－Ames試験、ラット単回投与毒性試験、ラット90日反復経口投与亜慢性毒性試験. 臨床医薬 20、876-881、2004.
3. 塚原寛樹、他：アスタキサンチン含有ソフトカプセル食品の健常成人に対する長期摂取における安全性の検討. 健康・栄養食品研究 8、27-37、2005.
4. 梶田雅義、他：アスタキサンチン含有食品の過剰摂取における安全性の検討. 眼科臨床紀要 3、365-370、2010.

24. 極性を持つ網膜色素上皮細胞における

TNF- α の VEGF 分泌抑制作用

寺崎寛人、白澤 誠、大塚寛樹、園田祥三、坂本泰二
(鹿児島大)

研究要旨 生体内の環境を反映している極性をもつ網膜色素上皮細胞(極性 RPE)を用いて、腫瘍壊死因子(TNF- α)が極性 RPE の血管内皮増殖因子(VEGF)分泌に与える影響を検討し、脱分化した RPE(非極性 RPE)の結果と比較した。無刺激の状態では、極性 RPE の方が非極性細胞に比べ約 3 倍多くの VEGF を分泌していた。TNF- α は非極性 RPE の VEGF 分泌を 2 倍増加にしたが、極性 RPE の VEGF 分泌は 4 割減少させた。今回の結果は加齢黄斑変性症での初期段階での局所炎症により、脈絡膜萎縮が起きる原因のひとつである可能性がある。

A. 研究目的

生理的条件下では網膜色素上皮(RPE)細胞は、上皮側より基底側への VEGF 分泌量が多い¹⁾。従来、RPE を用いた実験で、TNF- α の VEGF 分泌促進作用が報告されているが²⁾、脱分化した極性の弱い細胞を用いており、生体を反映したものとは言えない。今回、極性を持つ分化 RPE 細胞の培養系を利用して、TNF- α の影響を検討し、従来の非極性 RPE の結果と比較した。

B. 研究方法

我々の過去の報告³⁾により、ブタ RPE 細胞を transwell 上で培養し、極性 RPE 細胞を作成した。一方では、通常の 12well chamber で培養し非極性 RPE を作成した。TNF- α (10ng/ml) で刺激を行い、ELISA 法で培養液中の VEGF 濃度を測定した。

C. 研究結果

極性 RPE は、非極性 RPE 細胞に比べ、約 3 倍の VEGF を分泌した。TNF- α (10ng/ml) は非極性 RPE の VEGF 分泌を約 2 倍に増加させ、極性 RPE では VEGF の分泌を約 40%減少させた。今回の TNF- α が与えた影響が細胞死によるものかを調べるために、様々な濃度の TNF- α で極性 RPE 細胞を刺激し、TUNEL 染色と MTT assay を行った。その結果、TNF- α 10ng/ml では、細胞死が見られず、今回の結果が細胞死によるものではないことがわかった。半定量 PCR も行ったが、ELISA 法による VEGF 分泌の結果と同様の結果を認めた。

D. 考察

過去の報告では、RPE に対して TNF- α は VEGF の分泌促進作用²⁾が報告されている。しかしこれらの報告の多くは極性をもたない RPE を用いた実験系を用いた報告である。我々は、極性 RPE を用いて、より生体内の環境に近い条件で TNF- α の影響を検討した。

その結果、TNF- α は極性 RPE に対し、VEGF 分泌抑制作用をもつことがわかった。一方で、幼若で未分化な非極性 RPE においては、過去の報告と同様に TNF- α は VEGF 分泌促進作用をもった。加齢黄斑変性の初期段階など RPE の極性が保たれている際に局所炎症が起こると、脈絡膜側への VEGF 分泌が低下し、脈絡膜萎縮が起こる可能性がある。

E. 結論

極性 RPE は非極性 RPE よりも、多くの VEGF を分泌する。TNF- α は非極性 RPE の VEGF 分泌を増加し、極性 RPE の VEGF 分泌を減少させた。この結果は、萎縮型加齢黄斑変性の初期の病態に、炎症が深く関与していることを示唆している可能性がある。

H. 参考文献

1. Blaauwgeers HG, et al: Polarized vascular endothelial growth factor secretion by human retinal pigment epithelium and localization of vascular endothelial growth factor receptors on the inner choriocapillaris evidence for a trophic paracrine relation. *Am J Pathol* 155, 421-428, 1999.
2. Bian ZM, Elner SG, Elner VM: Regulation of VEGF mRNA expression and protein secretion by TGF- β 2 in human retinal pigment epithelial cells. *Exp Eye Res* 84, 812-822, 2007.
3. Sonoda S, et al: A protocol for the culture and differentiation of highly polarized human retinal pigment epithelial cells. *Nat Protoc* 4, 662-673, 2009.

25. siRNA は TLR3/IRF3 を介して網膜変性を誘導する

兼子裕規¹⁾、平野佳男²⁾、近藤峰生³⁾、寺崎浩子¹⁾、Jayakrishna Ambati⁴⁾

(¹⁾名古屋大、²⁾名古屋市大、³⁾三重大、⁴⁾ケンタッキー大)

A. 研究目的

マウス眼底にレーザー照射すると、脈絡膜新生血管(CNV)が作成される。過去の報告では、CNV 作成後に siRNA と投与すると、その塩基配列の内容に関係なく、CNV が抑制されることが報告されている。またこの short-interfering RNA (siRNA) による CNV 抑制効果は toll-like receptor 3 (TLR3) ノックアウトマウスでは確認されない。さらに、この CNV 抑制効果は 21 塩基対よりも長い siRNA では確認できたものの、19 塩基対よりも短い siRNA では確認されなかった。

一方別の報告では、非常に長い二重鎖 RNA である poly I:C をマウス眼球内に投与したところ、網膜色素上皮(RPE)の変性を誘導し、マウス眼底に網膜変性を生じた。そこで今回、21 塩基対・16 塩基対の siRNA をマウス眼球内に投与した場合、TLR3 を介した網膜変性が生じるかどうかを検討した。

また過去の報告では、siRNA によって CNV が抑制されなかったのは、TLR3 ノックアウトマウス、Trif ノックアウトマウス、Nf κ b ノックアウトマウスで、TLR3 の下流に位置する interferon regulatory factor 3 (IRF3)のノックアウトマウスに siRNA を投与しても CNV は野生型マウスと同様に抑制されたことから、siRNA による CNV 抑制作用に IRF3 が関与していないという結果を得た。そこで今回、siRNA による RPE 毒性のメカニズム解明の目的で、IRF3 の関与につい

でも検討した。

B. 研究方法

21 塩基対・16 塩基対の siRNA を、野生型マウス・TLR3 ノックアウトマウス・IRF3 ノックアウトマウスの眼球内に投与し、網膜変性の有無を、眼底写真・網膜組織像・網膜電図で検討した。

また、ヒト RPE 細胞に 21 塩基対 siRNA を投与した後の IRF3 発現を検討した。

動物実験に関しては、実験が行われたすべての施設において事前に倫理委員会から承認された後に行った。

C. 研究結果

21 塩基対の siRNA をマウス眼球内に投与したところ野生型マウスでは網膜変性を生じたが、TLR3 ノックアウトマウスでは網膜変性を生じなかった。網膜電図を用いた検討においても、21 塩基対 siRNA を頻回投与したマウス眼球の a 波・b 波は伴に抑制された。これらのことから、21 塩基対の siRNA によって、TLR3 を介した網膜変性が生じる可能性が考えられた。

一方 16 塩基対の siRNA を投与したマウス眼底には網膜変性を生じなかった。RPE の細胞骨格を確認することができる ZO-1 染色を使用して RPE のフラットマウントを作成すると、21 塩基対 siRNA を投与した眼球の RPE は著しく構造が乱れているのに対し、16 塩基対を投与したマ

ウス眼球から作成した RPE フラットマウントは正常の構造を示した。トルイジンブルー染色を用いた組織像と、電子顕微鏡での網膜構造の確認でも、21 塩基対を投与したマウス眼球では RPE に多数の空胞が観察され、basal infolding の変性が観察された。一方、16 塩基対の siRNA を投与したマウス眼球では、トルイジンブルー染色による組織像でも、電子顕微鏡でも網膜・RPE が正常に保たれていることが確認された。これらのことから、16 塩基対では、21 塩基対の siRNA 投与時にみられたような網膜変性を生じないことが確認された。

IRF3 ノックアウトマウスに、PBS、21 塩基対 siRNA と、非常に長い二重鎖 RNA である poly I:C を投与した結果、そのいずれにおいても網膜変性を確認しなかった。またヒト RPE 細胞に 21 塩基対を投与し、細胞質内・核内のそれぞれにおいて IRF3 の発現を調べたところ、核内 IRF3 の発現が時間とともに増加されることが確認できた。

D. 考察

上記の結果から 21 塩基対の siRNA が、TLR3 とその下流の IRF3 を介して RPE の変性を誘導することが示唆された。CNV 抑制作用を示す際は IRF3 は関与していなかったが、RPE 毒性を示すメカニズムとして IRF3 は重要な役割を持っていることが示唆された。

E. 結論

siRNA は TLR3/IRF3 を介して網膜変性を誘導する。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Kleinman ME, et al: Short-interfering RNAs

induce retinal degeneration via TLR3 and IRF3. Mol Ther 20, 101-108, 2012.

H. 参考文献

1. Kleinman ME, et al: Sequence- and target-independent angiogenesis suppression by siRNA via TLR3. Nature 452(7187), 591-597, 2008.
2. Yang Z, et al.: Toll-like receptor 3 and geographic atrophy in age-related macular degeneration. N Engl J Med 359, 1456-1463, 2008.

26. 中心窩下脈絡膜新生血管に対する強膜短縮による

黄斑移動術の長期経過

岩瀬 剛、石川浩平、大島久明、植谷留佳、大岩和博、牛田宏明、寺崎浩子

(名古屋大)

研究要旨 広義加齢黄斑変性症(AMD)に伴う脈絡膜新生血管(CNV)に対して、強膜短縮による黄斑移動術(LMT)を20例20眼に行い、5年以上経過を観察した。術後1年では9眼で視力が向上、9眼で不変、2眼で悪化し、術前に比べて有意に視力が向上した($p=0.032$)。5年においても術前に比べると有意に視力が向上しており($p=0.031$)、術後長期間良好な視力が維持された。7眼においてCNVの再発がみられたが、視力が不変あるいは悪化した症例には再発を生じた症例が多く含まれていた。これらのことから、黄斑部網膜下以外の網膜色素上皮(RPE)の上でも、黄斑部の感覚網膜は機能し、一度獲得された解剖学的形態や視力は長期間持続すると考えられた。再生医療の機運の中、iPS細胞をRPEに分化させ移植するとの報告がされてきているが、今回の研究結果とあわせると、それらの加療によっても感覚網膜の機能は回復し、長期的にも黄斑機能は維持される可能性があると考えられた。

A. 研究目的

広義加齢黄斑変性症(AMD)や高度近視に伴う脈絡膜新生血管(CNV)に対して、抗血管新生治療が一般的となり多くの患者に恩恵をもたらしている。最近の再生医療の機運の中、手術療法にも再び目が注がれている。我々は全周切開黄斑移動術の長期経過の報告を行い(Eye, 2012)、再び視力が得られれば、新しい網膜色素上皮(RPE)上の新たな黄斑部で長期的に視力が維持されることを報告した。今回、比較的小さい新生血管を対象にした強膜短縮による黄斑移動術(LMT)において、視力の長期成績、抜去後のRPE欠損部および周囲の萎

縮の進行について検討した。

B. 研究方法

2001年7月から2003年11月に、名古屋大学病院で比較的小さい中心窩CNVを有する症例に対してLMTを行った36眼のなかで、術後5年以上経過を観察できたAMD20例20眼(65±10歳:男性13例、女性7例)を対象とし、術後の黄斑の移動の程度、視力の推移、および合併症(CNV抜去後のRPE欠損部および周囲の萎縮の進行についても)についてレトロスペクティブに検討を行った。LMTの術式としては、初回手術として、硝子体切除を行った後、人工的

網膜剥離を作成、耳上側でクリッピングによる強膜短縮を行い、液-空気置換を行うことにより黄斑を移動させた。二回目の手術として、CNVを初回手術から10日から24日の間に抜去した。

(倫理面への配慮)

個人情報取り扱いとして、連結不可能匿名化を行った後に統計学的処置を行い、個人情報の保護をした。

C. 研究成果

平均観察期間は8年(5-11年)、平均CNV径は1.24 mm(±0.48 mm)、LMTによる平均回転角は9.8° (±5.4°)であった。

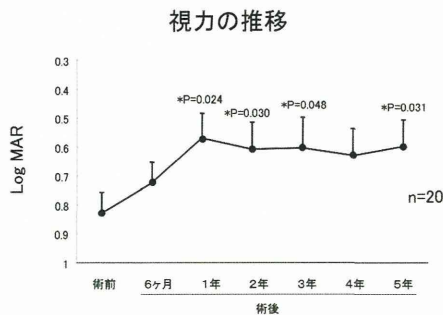


図1 視力の推移

術前視力logMAR 0.14(0.04~0.5)に比べ、術後視力は1年ではlogMAR 0.27 (0.04~0.8)と有意に向上し(p=0.032)、5年においても0.25(0.04~1.0)と有意であった(p=0.031)。

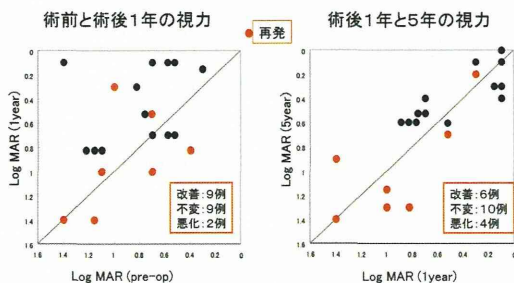


図2 視力の散布図

術後1年で視力が向上したのは9眼、不変が9眼、悪化が2眼で、視力が不変あるいは悪化した症例は再発を生じた症例であった。術後5年においても低い視力に留まっている症例には再発を生じた症例が多く含まれていた。

術後合併症として、7眼(35%)において術後早期に再発がみられ、放射線治療を行った。



図3 CNV抜去後の萎縮巣の推移

また、再発がみられなかった症例でRPE欠損部を経時的に眼底写真で観察した所、RPE欠損部は術後早期に拡大する傾向がみられたが(平均25%拡大)、術後後期には大きな拡大傾向はみられなかった。

D. 考察

視力に関しては、LMTにより術後視力が向上し、しばらく同様の視力が得られたことにより、黄斑部網膜下以外のRPEの上でも、黄斑部の感覚網膜は機能し、一度獲得された解剖学的形態や視力は長期間持続すると考えられた。近年、中心窩にCNVを擁する症例において、周辺部のRPEを黄斑部へ移植する、あるいはiPS細胞をRPEに分化し、移植するとの報告があるが、今回の研究結果とあわせると、それらの加療により感覚網膜の機能は回復し、長期的にも黄斑機能は維持される可能性があると考えられた。

LMTにおけるCNVの再発率は35%であり、我々が同時期に行った全周網膜切開による黄

斑移動術における再発率に比べてやや高かった。このことから、LMTにおいてはCNV抜去の際の残存血管膜に対する処理により注意を払う事や、抗炎症に努めることが必要であると考えられた。

E. 結論

AMDに伴うCNVに対して、強膜短縮によるLMTをおこなった、術前視力に比べ術後1年では有意に視力が向上し、術後5年まで良好な視力が維持された。このことから、黄斑部網膜下以外のRPEの上でも、黄斑部の感覚網膜は機能し、一度獲得された解剖学的形態や視力は長期間持続すると考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Takeuchi K, Kachi S, Iwata E, Ishikawa K, Terasaki H: Visual function 5 years or more after macular translocation surgery for myopic choroidal neovascularisation and age-related macular degeneration. Eye 26, 51-60, 2012.

2. 学会発表

1. 竹内紀一朗、石川浩平、鈴木俊光、大島久明、寺崎 浩子：中心窩下脈絡膜新生血管に対する網膜全周切開黄斑移動術の長期経過. 第46回日本網膜硝子体学会総会、2007.
2. 石川浩平、鈴木俊光、鈴木聡、金沢匡高、寺崎浩子、三宅養三：脈絡膜新生血管に対する黄斑移動術 360° 切開法と強膜短縮法. 第403回東海眼科学会、2002.

27. 照射困難な病変に対する光線力学的療法

(アイロニング PDT)の長期成績

尾辻 剛、正健一郎、津村晶子、小池直子、津田メイ、西村哲哉、高橋寛二
(関西医大)

研究要旨 滲出型加齢黄斑変性(AMD)には抗血管内皮増殖因子薬(抗 VEGF 薬)への無反応例が約 10%ある。これらの症例に対して、現状では光線力学的療法(PDT)の適応が考慮されるが、病変サイズが大きすぎると病変全体に照射できない場合がある。このような症例に対する照射方法について、長期的にも経過良好であったので報告する。関西医科大学附属滝井病院眼科で AMD にて治療適応と診断された症例のうち、抗 VEGF 療法無反応や全身血栓症のため PDT が選択され、乳頭周囲病変や大きすぎる病変のため通常の PDT が困難な症例に対して、規定の 83 秒の間、病変全域に一定速度で均一に照射スポットを移動させる PDT(アイロニング PDT)を行った。アイロニング PDT 施行後 24 か月以上経過観察できた 9 例 9 眼について後ろ向きに検討した。抗 VEGF 薬の併用を行ったものは除外した。PDT24 か月後、9 眼中 7 眼で滲出は停止したが PCV の 1 眼に硝子体出血を来たした。平均治療回数は 1.6 回で、小数換算平均視力は PDT 前 0.11、24 か月後 0.09 と有意差なく維持されていた。log MAR 視力 0.3 以上の変化で判定すると、不変 7 眼、悪化 2 眼であった。アイロニング PDT は、過剰照射を避けつつ病変全域にレーザー照射することができ、PDT を選択せざるをえない症例の PDT の変法として有用と思われた。

A. 研究目的

現在、滲出性加齢黄斑変性(AMD)の治療の第一選択は、抗 VEGF 薬の硝子体内投与であるが、抗 VEGF 薬に対する無反応例、あるいは反応不良例と呼ばれる症例が存在する。また脳血管障害や心疾患などの血栓症の既往のある症例には抗 VEGF 薬の投与には慎重を期さなくてはならない。これらの症例に対して、現状では光線力学的療法(PDT)の適応が考慮されるが、病変サイズが大きすぎたり視神経乳頭周囲の病変であると病変全体に照射できない場合がある(図1)。このような症例に対する照射方法として、規定の 83 秒の間、病変全域に

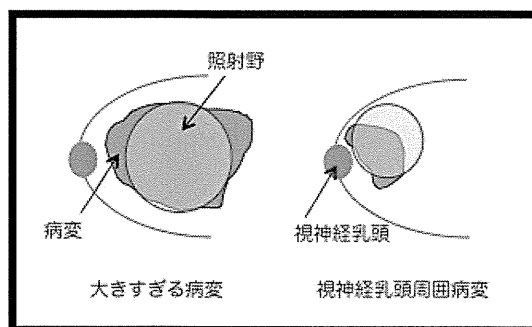


図1 PDT困難な症例

一定速度で均一に照射スポットを移動させる PDT(アイロニング PDT)について第 63 回日本臨床眼科学会にて報告を行ったが、2 年以上

にわたって長期的にも経過良好であったので報告する。

B. 研究方法

対象は関西医科大学附属滝井病院眼科で AMD にて治療適応と診断された症例のうち、抗 VEGF 療法無反応や全身血栓症のため PDT が選択され、乳頭周囲病変や大きすぎる病変のため通常の PDT が困難な症例とした。このような症例に対して、アイロニング PDT を行った。バルテポルフィン¹⁾の投与量とレーザー条件は眼科 PDT 研究会のガイドライン¹⁾に従い決定した。照射に際しては規定の 83 秒の間、病変全域に一定のゆっくりした速度で、できるだけ均一に照射スポットを動かした(図 2)。

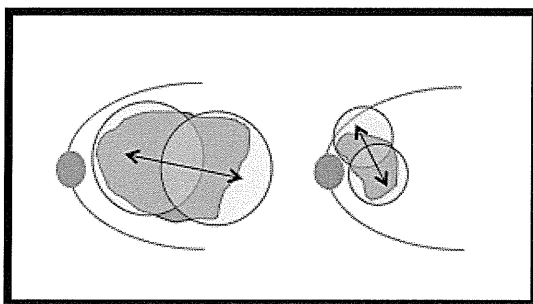


図2 アイロニング PDT

アイロニング PDT 施行後 24 か月以上経過観察できた 9 例 9 眼について後ろ向きに検討した。症例の内訳は、男性 7 眼、女性 2 眼。平均年齢 74.9 歳。病型は典型 AMD4 眼、ポリープ状脈絡膜血管症(PCV)5 眼。平均病変サイズ 8088 μm であった。初回のアイロニング PDT の際に抗 VEGF 薬を併用したものは除外した。

(倫理面への配慮)

PDT は AMD の通常の治療であり、安全性は問題ない。本研究については関西医科大学倫理委員会の承認を受け、十分な説明を行い、同意を得た上で施行した。

C. 研究結果

アイロニング PDT 前の小数換算平均視力は、0.11 で、アイロニング PDT24 か月後の平均視力は 0.09 と有意差はなかった($p=0.765$: paired t test)。アイロニング PDT24 か月後の視力変化は log MAR 視力 0.3 以上の変化で判定すると改善 0 眼、不変 7 眼、悪化 2 眼と 78%の症例で視力維持が可能であった。アイロニング PDT 後 24 か月では 9 眼中 7 眼(78%)で滲出は停止し癒痕化した。

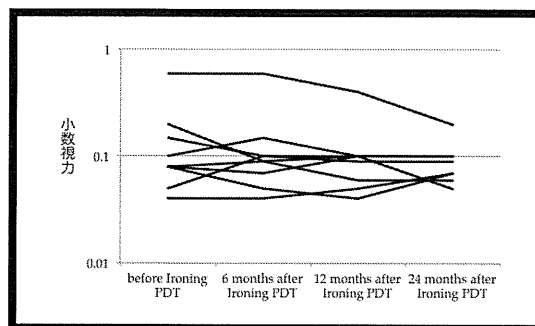


図3 視力経過

9 眼中 3 眼で再治療を要し、再治療の回数は 1 回、2 回、3 回がそれぞれ 1 眼ずつで、アイロニング PDT 後 24 か月間の平均治療回数は 1.6 回であった。また PCV の 1 眼で、アイロニング PDT 後 23 か月で硝子体出血をきたしたため、硝子体手術を施行し病変は癒痕化した。

D. 考察

Yamashita ら²⁾は、PCV に対してレーザー照射エネルギーを半量に減らした Reduced-fluence PDT を施行し、2 年の経過観察で 95%の症例で視力は改善もしくは維持できたと報告している。アイロニング PDT は病変部位あたりの照射時間が短縮されているが、Reduced-fluence PDT と同様に効果は期待できると考える。また乳頭周囲の病変に対する PDT の変法として、Rosenblatt ら³⁾は、30 秒ずつ 3 回に分割し

て照射し、重なる部位は最小限とする方法を報告している。ただこの方法では全ての病変に照射はできない。

また疾患は異なるが、我々のアイロニング PDT に類似した手法として、Wachtlin ら⁴⁾は巨大な脈絡膜血管腫に対する PDT の変法を報告している。これは病変全体に照射できるように、一定の速度で「刷毛で塗る」要領で偏心的に動かすというものであり、良好な結果を得ている。

E. 結論

照射スポットを動かすことで病変各所への照射時間は短くなるが、長期にわたり滲出抑制効果が得られた。アイロニング PDT では、過剰照射を避けつつ病変全域にレーザー照射することができ、PDT を選択せざるをえない症例の PDT の変法として有用と思われた。

F. 研究発表

2. 学会発表

1. 尾辻剛、他: Long-term results of modified PDT procedure (Ironing PDT) for AMD patients with large lesion. 第 51 回日本網膜硝子体学会総会、甲府、2012.

H. 参考文献

1. 眼科 PDT 研究会. 加齢黄斑変性症に対する光線力学的療法のガイドライン. 日眼会誌 108, 234-236, 2004.

2. Yamashita A, Shiraga F, Shiragami C, et al: Two-year Results of reduced-fluence photodynamic therapy for polypoidal choroidal vasculopathy. AJO 155, 95-102, 2013.

3. Rosenblatt BJ, Shah GK, Blinder K: photodynamic therapy with verteporfin for

peripapillary choroidal neovascularization. Retina 25, 33-37, 2005.

4. Wachtlin J, Spyridaki M, Stroux A, et al: Therapy for peripapillary located and large choroidal haemangioma with PDT 'paint-brush technique'. Klin Monbl Augenheilkd 226, 933-938, 2009.

28. 視力良好なポリープ状脈絡膜血管症に対する

ラニビズマブ硝子体内投与2年の効果

森隆三郎、湯澤美都子、春山美穂、田中公二
(日本大)

研究要旨 光線力学的療法が推奨されない治療前視力 0.6 以上の視力良好なポリープ状脈絡膜血管症に対するラニビズマブ硝子体内投与の 2 年の効果を検討した。2 年間で視力の維持はできるが、1 年以降も漿液性網膜剥離の残存および再発を認めることから、継続的な経過観察、追加治療が必要である。

A. 研究目的

中心窩に異常血管網あるいはポリープ状病巣を伴うポリープ状脈絡膜血管症 (Polypoidal choroidal vasculopathy; PCV) に対する主な治療として血管内皮増殖因子阻害薬 (anti-vascular endothelial growth factor (VEGF)) である ranibizumab の硝子体注射 (Intravitreal injection of ranibizumab; IVR)、光線力学的療法 (photodynamic therapy: PDT) あるいは両者の併用療法が行われている。しかし、PDT は、治療後に視力低下を生じることがあり、矯正視力が 0.6 以上の症例には推奨されていないため、PCV の視力良好症例に対しては IVR 単独療法が行われている。視力良好な PCV に対する IVR の単独療法の 1 年の効果について、Saito らの 18 眼¹⁾、著者らの 50 眼²⁾ の検討では、いずれも視力は有意に改善している。しかし、著者らの検討では、中心窩網膜厚は有意に減少し、漿液性網膜剥離 (Serous retinal detachment; SRD) の non responder と出血の non responder は少なく、

PCV の IVR の反応は良好であるが、12 か月の時点で SRD は 42% 認めることから、持続及び反復する SRD の視機能への影響を含め長期の検討が必要となる。

本研究目的は、2 年の長期の効果について検討した。

B. 研究方法

対象は、当施設にて、以下の適応を満たした PCV 45 例 45 眼 (男性 36 例 女性 9 例 平均年齢 66.5 歳)。1 年の報告では 50 例 50 眼であったが²⁾、5 例は 1 年以降に脱落した。(脱落理由は、死亡、体調不良、受診拒否が各 1 名、不明が 2 名。) 適応は、術前視力が 0.6-1.0、PCV の診断基準の確診例、中心窩下に異常血管網あるいはポリープ状病巣を認める、中心窩に出血あるいは SRD や網膜浮腫などの滲出性所見を認める、過去に PCV の治療を行っていない、脳梗塞の既往がない、の全てを満たす症例である。

方法は、導入期は 1 か月に 1 回計 3 回の IVR

を施行し、維持期は、1 か月毎の診察で再治療の適応所見を認めれば IVR を施行した。また、再発なく安定している場合は、3か月毎の診察も可能とした。維持期の再治療の適応は、視力に関わらず、中心窩に出血を認める、あるいは光干渉断層計 (optical coherence tomography: OCT) で SRD などの滲出性所見を認めた場合である。ただし、6 か月以降は、滲出性所見が残存するも、1 か月前より不変、減少していて、視力低下がなければ、IVR を行わないこととした。さらに、12 か月以降で、矯正視力 0.5 以下の場合 PDT の併用も可能とした。

検討項目は、平均視力の変化 (Wilcoxon signed-rank test)、視力の推移 (logMAR 0.3 以上の変化を改善および悪化)、中心窩網膜厚の変化 (Wilcoxon signed-rank test)、1、2 年後の SRD の有無、Tachyphylaxis (治療開始から 3 か月 (導入期終了 1 か月時) に SRD は消失したが、再発し、IVR を追加するも SRD が減少しない病態) の頻度、維持期の治療回数、PDT 併用症例数である。

(倫理面への配慮)

患者に IVR を行うことに関して書面によるインフォームドコンセントを得た。

C. 研究結果

平均視力は治療前 logMAR 0.11、1 年 0.07 ($p < 0.01$)、2 年 0.11 ($p = 0.22$) で、2 年では有意に改善しなかった (図 1)。視力の推移は改善 1 眼 (2%)、不変 39 眼 (87%)、悪化 5 眼 (11%) であった。中心窩網膜厚は治療前 273 μm 、1 年 187 ($p < 0.01$)、2 年 196 μm ($p < 0.01$) で有意に改善した (図 2)。中心窩の SRD は治療前 37 眼 (82%)、3 か月 9 眼 (20%)、12 か月 20 眼 (44%)、24 か月 16 眼 (36%) であった。12

か月で SRD を認めた 20 眼中 11 眼は 24 か月で SRD は認めず、12 か月で SRD を認めなかった 25 眼中 7 眼は 24 か月で SRD を認めた (図 3)。Tachyphylaxis は、12 か月で 7 眼 (15%)、12 か月以降に 1 眼認めた。24 か月の平均総治療回数 5.9 回 (3-13 回)、14 眼 (31%) で再治療を施行しなかった。平均再治療回数は、3-11 か月 1.6 回 (0-6 回)、12-23 か月 1.2 回 (0-5 回) であった。3-11 か月の再治療回数と 12-23 か月の再治療率の関連は、3-11 か月の再治療を施行しなかった 17 眼では 12-23 か月の再治療率 3 眼 (18%)、1 回施行した 6 眼では、2 眼 (33%)、2 回以上施行した 22 眼では 20 眼 (91%) であった。PDT 併用症例数は 4 眼 (9%) であった。

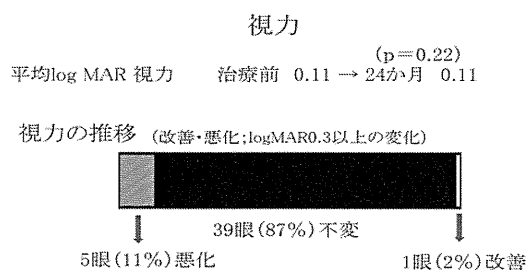


図 1 平均視力と視力の推移

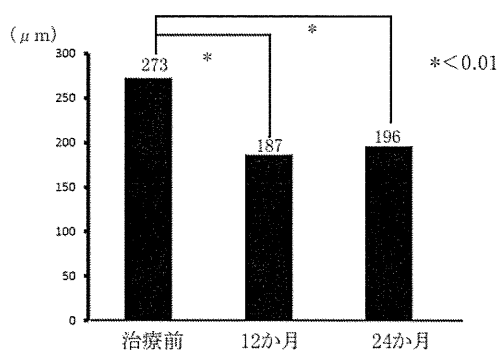


図 2 中心窩網膜厚

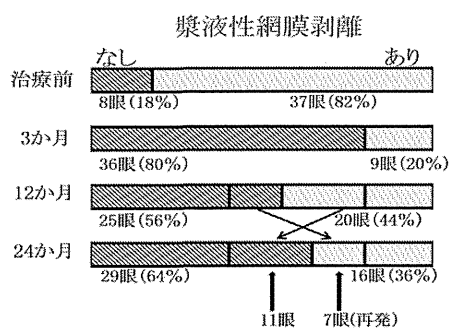


図3 漿液性網膜剥離

D. 考察

PCVに対するIVR単独療法では、Hikichiらの視力不良例を含めた82眼では、1年で視力の有意な改善が得られる³⁾。PDTが推奨されない矯正視力が0.6以上の症例でも、有意な改善が得られている^{1,2)}。しかし、本研究から2年では、視力の有意な改善とならない。1年の時点で認めなかったSRDが、13か月以降に再発、あるいは、1年未満でTachyphylaxisをきたしSRDが残存する症例や矯正視力が0.5以下となりPDTを行う症例もあり、平均視力は治療前からの改善は得られない。しかし、1年で認めたSRDが2年で消失する症例もあり、また中心窩網膜厚は、2年でも治療前より有意に減少し、視力は89%で不変・改善する。3-11か月に2回以上再治療を施行した場合12-23か月の再治療率が9割であることから、1年以内の再治療が多い場合は、1年以降も継続的な経過観察と追加治療が必要である。ポリープ状病巣の消失については、2年でIAを施行したものが半数であったため検討しなかった。

E. 結論

視力良好なPCVに対するIVRは、2年間で視力の維持はできるが、1年以降も漿液性網膜

剥離の残存および再発を認めることから、継続的な経過観察、追加治療が必要である。

H. 参考文献

1. Saito M, et al: Intravitreal ranibizumab for exudative age-related macular degeneration with good baseline visual acuity. *Retina* 32, 1250-1259, 2012.
2. 森隆三郎、他:ポリープ状脈絡膜血管症に対するランビズマブ硝子体内投与の1年の効果. 厚生労働省難治性疾患克服研究事業網膜脈絡膜・視神経萎縮調査研究班 平成23年度研究報告書、40-42、2012.
3. Hikichi T, et al: One-year results of three monthly ranibizumab injections and as-needed reinjections for polypoidal choroidal vasculopathy in Japanese patients. *Am J Ophthalmol* 154, 117-124, 2012.

29. 滲出型加齢黄斑変性に対するラニズマブ治療の治療反応の検討

大島裕司、塩瀬聡美、安田美穂、吉田綾子、狩野久美子、石川桂二郎、納富昭司、
吉田茂生、石橋達朗
(九州大)

研究要旨 滲出型加齢黄斑変性に対するラニズマブ治療1年後における治療反応を検討し、視力改善・維持に関わる治療前因子を検討したので報告する。平成21年4月から平成24年8月までに九州大学病院でラニズマブ硝子体投与を行い、初回投与後1年以上経過観察できた滲出型加齢黄斑変性およびその特殊型337眼(男性214例、女性123例)を対象として、後ろ向きに治療反応に影響を与える因子について検討した。病型の内訳は、典型加齢黄斑変性(AMD)183眼、ポリープ状脈絡膜血管症(PCV)141眼、網膜血管腫状増殖(RAP)13眼であった。治療導入期終了時に視力改善が得られた症例のうち、1年後に0.1logMAR以上の視力低下が認められた群を改善・維持不可群、それ以外を改善・維持群、導入期終了時に視力改善が得られなかった群を非改善群と分類した。改善・維持群は140眼(42%)、改善・維持不可群は80眼(24%)、非改善群は117眼(35%)であった。視力改善・維持の治療前因子として有意な関連があったのは治療前GLD(多変量調整後 $P=0.0006$)であった。治療前GLDが小さな症例はラニズマブ治療に対する反応が良好であると考えられた。

A. 研究目的

近年、滲出型加齢黄斑変性(age-related macular degeneration: AMD)に対して抗VEGF療法が主流になってきている。今回、滲出型加齢黄斑変性、およびその特殊型(ポリープ状脈絡膜血管症 polypoidal choroidal vasculopathy: PCV、網膜血管腫状増殖 retinal angiomatous proliferation: RAP)に対し、ラニズマブ(0.5mg/0.05mL)硝子体内投与を行い、1年以上経過観察できた症例の治療反応を検討し、視力改善・維持に関わる治療前因子を検討した。

B. 研究方法

平成21年4月から平成24年8月までに九州大学病院でラニズマブ(ルセンティス®)硝子体投与(0.5mg/0.05mL)を1ヶ月ごと連続3回の投与を行い、初回投与後1年以上経過観察できた滲出型加齢黄斑変性およびその特殊型337眼(男性214例、女性123例)を対象とした。典型加齢黄斑変性183眼(AMD)、ポリープ状脈絡膜血管症141眼(PCV)、網膜血管腫状増殖(RAP)13眼であった。初回投与時をベースラインとして、治療導入期終了時に視力改善が得られた症例のうち、1年後に

0.1logMAR以上の視力低下が認められた群を改善・維持不可群、それ以外を改善・維持群、導入期終了時に視力改善が得られなかった群を非改善群と分類し、以下の因子に対して治療反応との関連を解析した(性別、年齢、病型、糖尿病、高血圧の有無、喫煙歴、GLD、CNV サイズ、治療前視力、中心窩網膜厚、投与回数)。初回投与3ヶ月後以降(維持期)における追加投与はラニズマブ治療指針策定委員会の基準に従い施行した¹⁾。

(倫理面への配慮)

患者に ranibizumab 硝子体投与による治療を行うことに関して十分なインフォームドコンセントを行い、書面による同意を得た。

C. 研究結果

病型別に治療前背景を比較すると性別、前治療の有無に関してはAMD、PCV、RAPの3群間に有意な差は認められなかったが、治療前平均年齢は、AMD:74.7歳、PCV:72.7歳、RAP:80.3歳とRAP群が他群より有意に高かった(P=0.034)。治療前平均小数視力は、AMD:0.35、PCV:0.46、RAP:0.23とPCV群が一番良好であった(P=0.0006)(図1)。

		AMD (n=183)	PCV (n=141)	RAP (n=13)	Total (n=337)	P value
性別	男性	118 (64%)	89 (63%)	7 (54%)	214	0.7381
	女性	65 (36%)	52 (37%)	6 (46%)	123	
年齢		74.7	72.7	80.3	74.1	0.001*
視力 (logMAR)		0.35 (0.5924)	0.46 (0.4360)	0.23 (0.7702)	0.39 (0.5338)	<0.0001*
治療歴	PDT	14 (7.7%)	16 (11.4%)	4 (30.7%)	35 (10.3%)	0.1426
	PC	3 (1.6%)	7 (5.0%)	0	10 (3.0%)	
	Radiation	0	0	1 (7.8%)	1 (0.3%)	
	Other anti-VEGF	3 (1.6%)	1 (0.7%)	0	4 (1.2%)	

図1 治療前背景

1年後の視力変化は全症例で改善80眼(23.7%)、不変214眼(63.5%)、悪化43眼(12.8%)であった。病型別に比較するとAMD、PCV、RAP群の間で有意な差は認められず、ラニズマブ硝子体注射による視力改善効果は3群間で同等であった(P=0.1339)(図2)。

	1年視力変化 [n (%)]			P
	>0.3 logMAR VA 改善	+/- 0.3 logMAR VA 不変	>0.3 logMAR VA 悪化	
AMD	49 (26.8%)	107 (58.5%)	27 (14.7%)	0.1339
PCV	26 (18.4%)	100 (70.9%)	15 (10.7%)	
RAP	5 (38.4%)	7 (53.9%)	1 (7.7%)	
Total	80 (23.7%)	214 (63.5%)	43 (12.8%)	

(Chi-square test)

図2 治療1年後の視力変化

治療導入期終了時に視力改善が得られた症例のうち、1年後に0.1logMAR以上の視力低下が認められた群を改善・維持不可群、それ以外を改善・維持群、導入期終了時に視力改善が得られなかった群を非改善群と分類した。改善・維持群は140眼(42%)、改善・維持不可群は80眼(24%)、非改善群は117眼(35%)であった。約4割の症例は導入期終了時改善した視力を維持することができたが、約25%の症例では視力維持することができなかった。また35%の症例ではラニズマブ治療にて視力改善が得られなかった。(図3)

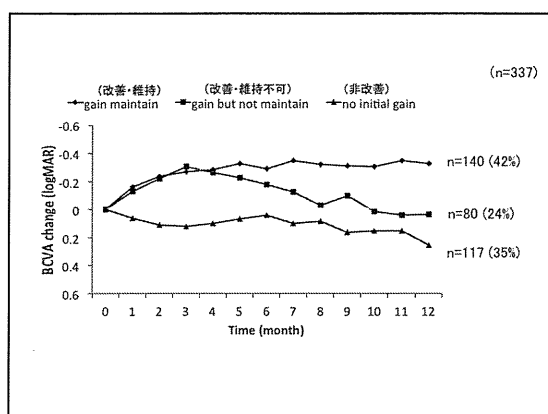


図3 治療反応別視力変化

ラニビズマブ治療に対する治療反応因子を検討するために、3 群間で性別、年齢、病型、糖尿病、高血圧の有無、喫煙歴、GLD、CNV サイズ、治療前視力、中心窩網膜厚、1 年回の投与回数にて解析を行ったところ、治療前 GLD (P<.0001)、治療前病変サイズ (P=0.0114)、治療前視力 (P=0.0124)で有意な関連が示唆された(ANOVA) (図 4)。更に、視力改善・維持の治療前因子を検討するために、上記 3 因子と年齢、性別を加えてサブ解析を行ったところ治療前 GLD が独立した有意な危険因子であった(オッズ比、42.13; 95%信頼区間 5.652-410.01; P=0.0001)(多変量解析)。(図 5)

	改善・維持	改善・維持不可	非改善	P
年齢	73.5	75.0	74.1	0.4034
性別 (male)	66%	62.5%	60.7%	0.8203
Type of AMD				
AMD	80 (57.1%)	46 (57.5%)	57 (48.7%)	0.3991
PCV	53 (37.9%)	31 (38.8%)	57 (48.2%)	
RAP	7 (5.0%)	3 (3.7%)	3 (2.6%)	
高血圧	57 (46%)	28 (38%)	51 (49%)	0.3132
糖尿病	22 (18%)	13 (18%)	16 (16%)	0.8748
喫煙歴	18 (16%)	9 (14%)	14 (15%)	0.9949
GLD (μm)	3713.2	5575.0	5272.9	<.0001*
Size of CNV (mm^2)	2.71	4.86	3.59	0.0114*
視力 (logMAR)	0.542	0.624	0.462	0.0124*
CMT (μm)	351.9	359.5	362.1	0.7658
注射回数(/year)	4.86	4.85	4.60	0.6319

図 4 治療反応別背景因子

Risk factor	OR	95% CI	P value
年齢 (per 1 year)	3.452	0.579-21.73	0.1740
性別 (female)	1.292	0.593-2.863	0.5191
治療前GLD	42.132	5.652-410.01	0.0001*
治療前病変サイズ	1.451	0.159-15.51	0.7452

(Multiple logistic regression analysis. *P<.05)

図5 視力改善・維持の治療前因子

治療前 GLD を 5400 μm 以上、3500 から 5400 μm 、1800 から 3500 μm 、1800 μm 以下の 4 群に分けて視力改善・維持に対するオッズ比を検討したところ、治療前 5400 μm 以上の群に比して治療前 GLD が 1800~3500 μm と 1800 μm の群が有意であった(1800-3500 μm 群:オッズ比、6.98; 95%信頼区間 2.39-22.2; P=0.0003、1800 μm 以下群:オッズ比、10.29; 95%信頼区間 1.63-90.4; P=0.0125)(図 6)。

治療前GLD	オッズ比	95%信頼区間	P
5400 μm 以上	1.00		
3500 - 5400 μm	2.39	0.91 - 6.64	0.0765
1800 - 3500 μm	6.98	2.39 - 22.2	0.0003*
1800 μm 以下	10.29	1.63 - 90.4	0.0125*

(名義ロジスティック解析 *P<.05)

図 6 視力改善・維持に対する治療前 GLD のオッズ比

D. 考察

滲出型加齢黄斑変性に対するラニビズマブをはじめとする抗 VEGF 療法は近年治療の主流となってきており、海外においてもその有用性