

博士論文

論文題目 硝子体網膜癒着と脈絡膜血管透過性亢進所見に
着目した滲出型加齢黄斑変性の検討

氏 名 野村 陽子

目次

	頁
第1章 序論	
1-1 滲出型加齢黄斑変性の概要	7
1-2 今回の検討	13
第2章 硝子体網膜癒着とAMD	
2-1 背景	16
2-2 硝子体網膜癒着と治療成績	18
2-2-1 方法	
2-2-2 結果	
2-3 後部硝子体剥離と前房水中血管内皮増殖因子濃度	26
2-3-1 方法	
2-3-2 結果	
2-4 後部硝子体剥離と前房水中炎症性サイトカイン濃度	29
2-4-1 方法	
2-4-2 結果	
2-5 考察	33
第3章 脈絡膜透過性亢進所見とAMD	
3-1 背景	37
3-2 脈絡膜血管透過性亢進所見と脈絡膜厚	43
3-2-1 方法	
3-2-2 結果	
3-3 脈絡膜血管透過性亢進所見と治療成績	47
3-3-1 方法	
3-3-2 結果	
3-4 脈絡膜厚と前房水中炎症性サイトカイン濃度	51
3-4-1 方法	
3-4-2 結果	
3-5 免疫染色	56
3-5-1 方法	
3-5-2 結果	
3-6 周辺部網膜色素上皮異常の頻度	58
3-6-1 方法	

3-6-2 結果	
3-7 周辺部網膜色素上皮異常と脈絡膜血管透過性亢進所見	61
3-7-1 方法	
3-7-2 結果	
3-8 考察	65
第4章 総合討論	70
参考文献	77
謝辞	89

「要旨」

滲出型加齢黄斑変性(AMD) の病態解明は主に黄斑部に着目して行われてきたが、より広範囲の病態に着目して検討を行った。まず硝子体網膜癒着があると抗血管内皮増殖因子 (VEGF) 阻害薬による標準治療に抵抗性を示した。次に高深達光干渉断層計を用いて検討すると、AMD のうち脈絡膜透過性亢進(CVH) 所見のある症例では広範囲に脈絡膜厚が増大していた。さらに超広角走査レーザー検眼鏡を用いて調べると、CVH 所見を有する症例では眼底自発蛍光の異常蛍光所見が有意に多かった。CVH 所見を有する症例は抗 VEGF 阻害薬への抵抗性も示した。AMD の背景には硝子体網膜界面や脈絡膜全体にまで及ぶ病態が関与していると考えられた。

略語一覧

AMD: Age-related macular degeneration: 加齢黄斑変性

FAF: Fundus autofluorescence: 眼底自発蛍光

PCV: Polypoidal choroidal vasculopathy: ポリープ状脈絡膜血管症

CVH: choroidal vascular hyperpermeability: 脈絡膜血管透過性亢進

PVD: posterior vitreous detachment: 後部硝子体剥離

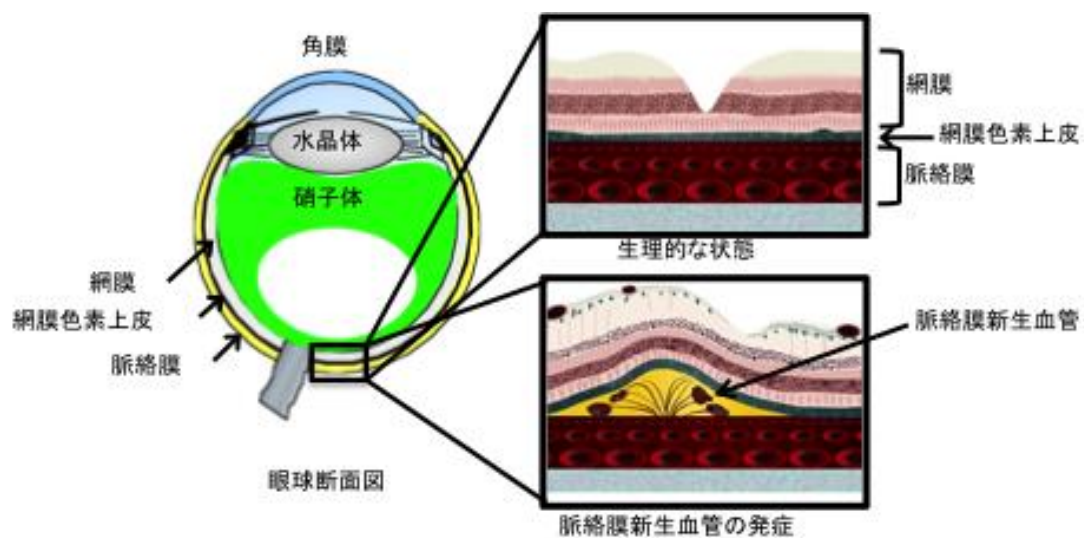
VEGF: vascular endothelial growth factor: 血管内皮増殖因子

第 1 章 序論

1-1 滲出型加齢黄斑変性の概要

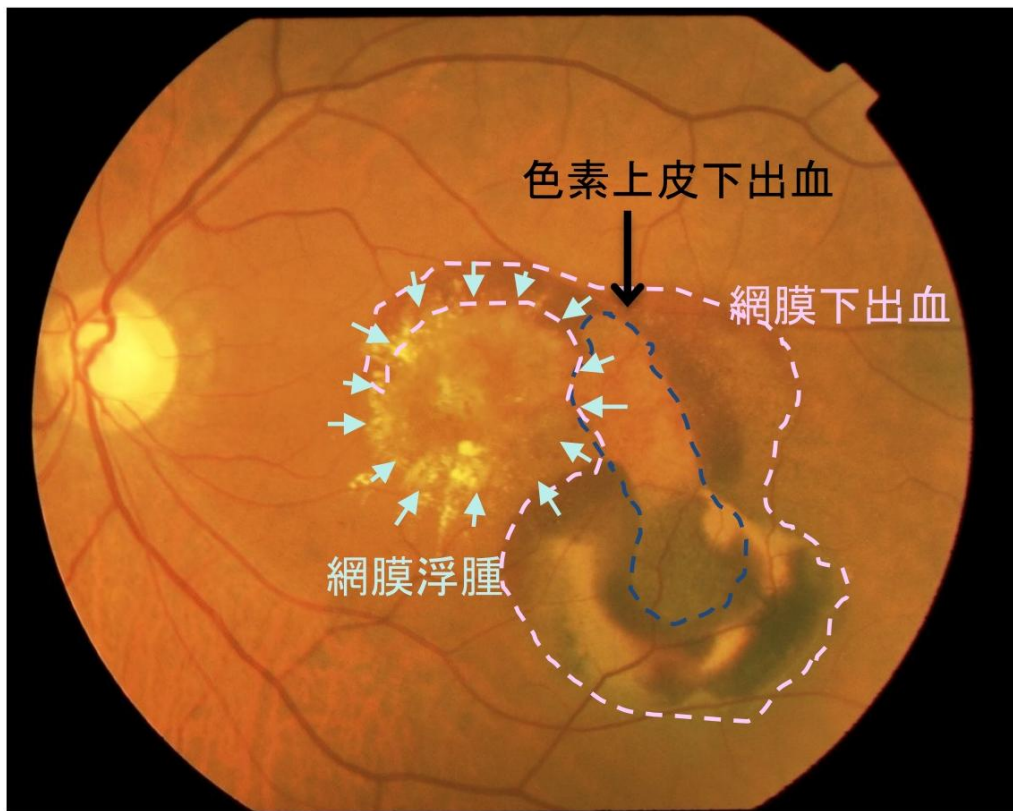
滲出型加齢黄斑変性（AMD）は、網膜中心部の黄斑部に生じる脈絡膜新生血管からの滲出性変化、出血を特徴とする進行性の疾患で[1]（図 1-1、1-2）、欧米では以前より中途失明の第一の原因である[2-4]。

図 1-1 眼球および網膜脈絡膜断層像



脈絡膜から新生血管を生じ、網膜色素上皮下および網膜下に進展する。

図 1-2 AMD 症例の眼底写真



黄斑部の網膜下および網膜色素上皮下に滲出液と出血を認める。

1番染色体の補体因子H遺伝子[5-7]や10番染色体上のARMS2/HTRA1遺伝子[8, 9]を始めとする様々な疾患感受性遺伝子が報告されている[10-14]ほか、発症の危険因子として加齢[15]、喫煙[16, 17]、肥満[18]、光線曝露[19]、心血管疾患の既往[17]、 ω 3不飽和脂肪酸摂取の不足[20]、ビタミンA、C、Eおよび亜鉛の摂取不足[21]などが知られており、本邦においても、超高齢化と食生活などの環境の変化により患者数が増大している。本邦の50歳以上の有病率は、AMDの前駆病変は22.8%、AMDは0.58%と報告されており[22]、2011年には中途失明原因の第4位を占め、さらに今後も高齢社会の進行に伴い患者数の増大が見込まれている（厚生労働省特定疾患 網膜脈絡膜・視神経萎縮症調査研究班2011年報告書）。2008年以前は視力改善をもたらす治療法は無かったが、近年、AMDに対する抗血管内皮増殖因子（vascular endothelial growth factor: VEGF）阻害薬の眼内投与を継続的に行うことで病巣の安定化を得ることが可能となった[23-25]。しかし、視力改善の程度は限定的であり、その効果を維持するためには頻回の眼内投与が必要であり[26, 27]、治療に対する反応性は様々である。AMDにおいては、脈絡膜新生血管を生じると視力回復に限界があるため、病態解明に基づき、本疾患に対して個別化医療を確立することが今後の重要課題である。

AMD の臨床および基礎研究は欧米において白人を対象とした研究が進んでいるが、欧米と日本を含む東アジアでは病態、臨床像において多くの差異があることがわかってきている。例えば、欧米では AMD は女性に多い疾患であるが[15]、本邦では男性の比率が有意に高い[22]。疾患感受性遺伝子についても、1番染色体の補体因子 H 遺伝子の関与は白人でも日本人でも報告されているが、その一塩基変異多型のうち、Y402H は白人、日本人ともに AMD の危険因子として報告されているのに対して[28, 29]、I62V については日本人では危険因子であるが[28]、白人では関連を認めなかったと報告されている[30]。臨床病型に関する差異も重要であり、欧米では一般的な典型加齢黄斑変性（典型 AMD）は本邦では全体の半数にとどまり、典型 AMD とは区別されるポリープ状脈絡膜血管症（polypoidal choroidal vasculopathy: PCV）の頻度が全体の 4 割から 5 割を占めると報告されている[31, 32]。PCV は、自然経過、治療への反応に関して典型 AMD と異なる点がある。すなわち、PCV は自然軽快する症例がある一方[33, 34]、重篤な網膜下出血を起し急激な視力低下を来す症例があり[34, 35]、治療に関しては光線力学療法の治療効果が典型 AMD より良好である[36, 37]。

興味深いことに本邦の AMD、中でも PCV においては、脈絡膜透過性亢進（choroidal vascular hyperpermeability : CVH）所見を認めることが多いと報

告されている[38-41]。このように、白人の AMD と本邦の AMD ではその病態に差異があると考えられ、白人症例を対象とした研究結果をそのまま本邦に当てはめることはできない。

AMD の診断および病態把握には眼底所見とともにフルオレセイン蛍光眼底造影検査において脈絡膜新生血管の存在部位に蛍光漏出が認められる所見が用いられてきた[42]。また、インドシアニングリーン造影検査は特に PCV の診断に有用であり[43]、本邦では多くの施設で両者の蛍光眼底造影検査が行われている。これらに加えて、近年は光干渉断層計、眼底自発蛍光 (fundus autofluorescence: FAF) 撮影装置、超広角走査レーザ検眼鏡などの画像解析装置の進歩が目覚ましい。これらの眼底画像撮影装置を用いることで、近年はこれまでは得られなかった知見が非侵襲的に得られるようになってきた。

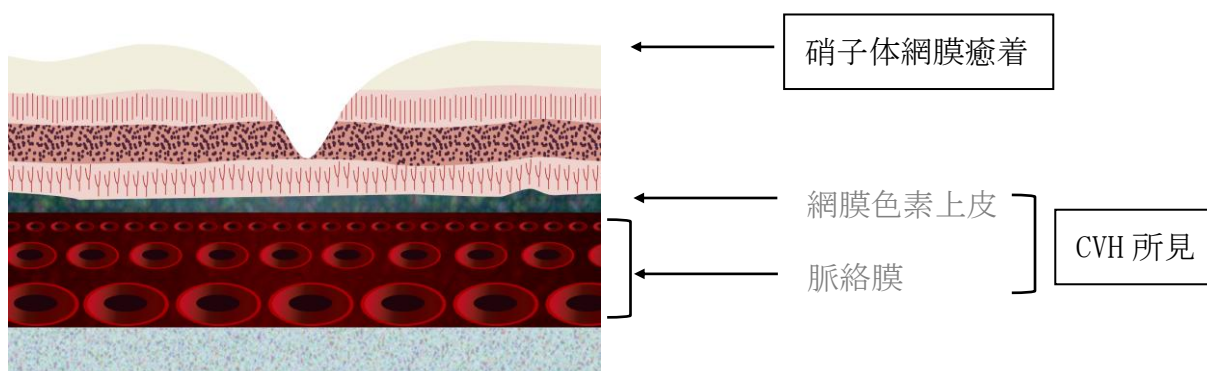
従来、AMD は、その臨床像から黄斑部に限局した病態として考えられ、黄斑部についての検討が多くなされてきた。しかしながら近年、前述の最新の画像解析装置を用いてより広い範囲、すなわち硝子体や脈絡膜にも特徴的な変化が認められることが海外より報告されてきている[44-47]。本邦の AMD 症例においては未だ明確な報告が存在しなかったため、我々は AMD を黄斑部局所のみならず眼球の広範囲にわたる異常ととらえ直し、その病態を、特に本邦での特

異性に着目し明らかにすることを目的として本検討を行った。

1-2 今回の検討

黄斑部外の所見として硝子体網膜癒着、脈絡膜透過性亢進所見の2点に着目してAMD症例の検討をおこなった(図1-3)。

図1-3 今回の検討で着目した2点のシェーマ

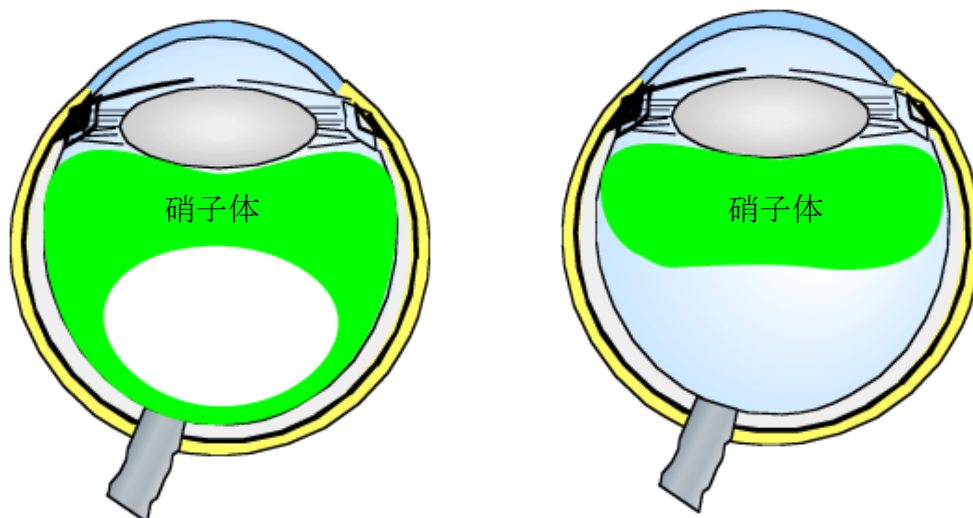


硝子体網膜癒着、脈絡膜透過性亢進所見の2点に着目して解析を行った。

CVH: choroidal vascular hyperpermeability

これまでに、我々は日本人AMD症例における硝子体網膜癒着(図1-4)の頻度を調べ、本邦でも典型AMDでは硝子体網膜癒着の頻度が高く、かつ硝子体網膜癒着がある症例は病巣が大きいことを報告した[48]。

図 1-4 硝子体網膜癒着ありと硝子体網膜癒着なしのシェーマ



硝子体網膜癒着あり

硝子体網膜癒着なし

硝子体が黄斑部周囲の網膜前面に接しているものを硝子体網膜癒着あり、硝子体が網膜前面より離れており、接していないものを硝子体網膜癒着なしと定義した。

この知見を発展させるために硝子体網膜癒着と治療成績の関連を後ろ向きに解析し、さらに眼内の VEGF 濃度、炎症性サイトカイン濃度と硝子体網膜癒着との関連について前向きに検討した。次に、CVH 所見に着目して、脈絡膜の広範な病態については報告がなかったことから、高深達光干渉断層計を用いて広範囲の脈絡膜厚について調べた。最後に超広角走査レーザ検眼鏡を用いて周辺部までの眼底自発蛍光画像を撮影し、網膜色素上皮異常について検討した。

第 2 章 硝子体網膜癒着と AMD

2-1 背景

硝子体は重量の 99%を占める水分と、コラーゲン線維、高分子ヒアルロン酸からなる透明なゲル構造をもつ組織であり、透光体として存在するとともに眼球形態を保持している[49, 50]。硝子体は出生時には網膜前面に広く接しているが、加齢に伴い 40 歳代頃から液状化し、網膜前面から剥離してくるのが生理的变化であり、後部硝子体剥離と呼ばれている[51]。硝子体は様々な網膜疾患の病態形成に寄与していることが知られているが[52-55]、近年、硝子体網膜界面の異常、とりわけ硝子体網膜癒着と AMD との関連が報告されている。まず、欧米の白人症例を対象に AMD の患者では硝子体網膜癒着の頻度が、対照群と比較して高いことが報告された[44-46, 56, 57]。そこで、我々は本邦の AMD 患者の硝子体網膜界面を調べ、典型 AMD においては既報と同様に硝子体網膜癒着の頻度が高いこと、かつ硝子体網膜癒着が存在すると病巣が有意に大きいことを報告した[48]。これらより、本邦の AMD 患者の病態にも硝子体網膜癒着が関与していると推測されたが、AMD の病態においてこの硝子体網膜癒着の存在がどのような影響を及ぼすのか、またそのメカニズムについては解明されていなかった。そこで、我々はまず、現在の標準治療である抗 VEGF 阻害薬の一つであり、多症例の長期経過観察が可能であったラニビズマブ（ルセンティス[®]、ノ

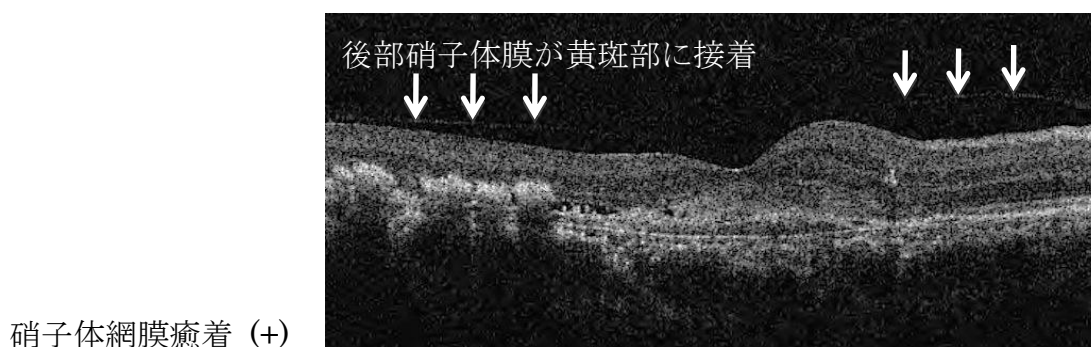
バルテイスファーマ、バーゼル、スイス) 治療の成績と硝子体網膜癒着との関連について診療録の情報を基に後ろ向きに解析した。次に、AMD 患者の前房水を採取し、VEGF 濃度を ELISA 法により測定し、硝子体網膜癒着との関連を検討した。さらに、AMD の病態に慢性炎症が関与していると考えられる[58-62]ことから、炎症性サイトカインと硝子体網膜癒着の関連についての検討も必要と考え、白内障手術症例を対象にさらに多くの標本数の前房水を採取し、下記の炎症性サイトカインの濃度と硝子体網膜癒着との関連を検討した。濃度を測定したサイトカインを以下に列挙する。C-C motif chemokine ligand 2 (CCL2) / monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), C-C motif chemokine ligand 11 (CCL11) / Eotaxin, C-X-C motif chemokine ligand 1 (CXCL1) / growth related oncogene α (GRO α), C-X-C motif chemokine ligand 10 (CXCL10) / interferon-inducible protein 10 (IP-10), C-X-C motif chemokine ligand 12 (CXCL12) / Stromal cell-derived factor 1 (SDF-1), C-X-C motif chemokine ligand 13 (CXCL13) / B cell-attracting chemokine 1 (BCA-1), interleukin-6 (IL-6), interleukin-10 (IL-10), and matrix metalloproteinase 9 (MMP-9)。なお、本検討では硝子体網膜癒着とは、光干渉断層計を用いて判定する硝子体黄斑癒着に加えて、後部硝子体剥離 (posterior vitreous detachment: PVD) を認めない状態 (超音波断層計検査を用いて判断する) を含めた。

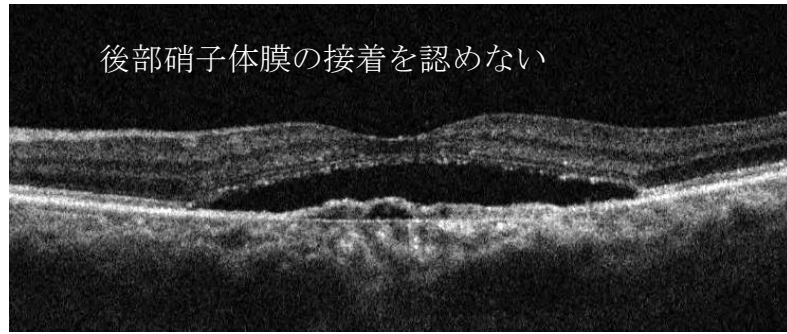
2-2 硝子体網膜癒着と治療成績

2-2-1 方法

東京大学医学部附属病院眼科黄斑外来に 2009 年 6 月から 2011 年 4 月に受診し、AMD の診断を受けたこれまで無治療の患者のうち、少なくとも 12 ヶ月以上経過観察を行うことができた 124 名の患者を対象とし、東京大学医学部倫理委員会の承認（審査番号 2217）を得て、後ろ向きに解析した。両眼に AMD を認める症例は右眼のみを対象とした。診察時に行われたスペクトラルドメイン光干渉断層計（3DOCT-1000; トプコン、東京、日本）を用いて硝子体網膜癒着所見の有無を判断した（図 2-1）。

図 2-1 硝子体網膜癒着(+)および (-)症例の典型写真



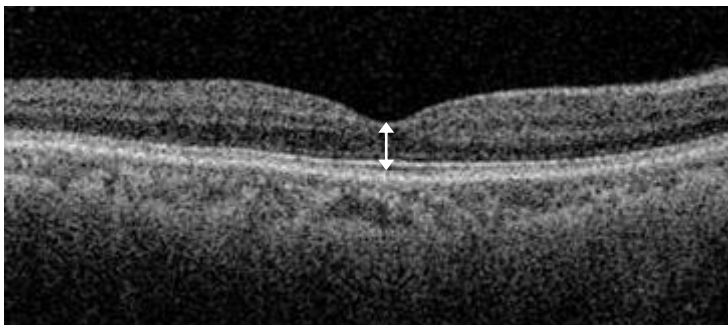


硝子体網膜癒着 (-)

後部硝子体膜が黄斑部周囲で網膜前面に接していることが確認できた症例を硝子体網膜癒着(+)、それ以外の症例を硝子体網膜癒着 (-)とした。

また、中心窩網膜厚を治療前、治療開始 3, 6, 12 ヶ月後に図 2-2 の如く測定した。

図 2-2 中心窩網膜厚の測定部位



中心窩の内境界膜から網膜色素上皮までを測定した。

治療方法は抗 VEGF 阻害薬のうちラニビズマブを 4 週間ごとに連続 3 回投与したのち、毎月経過観察を行い、滲出性変化を認めた場合にラニビズマブの投与を行った[63]。診療録の情報をもとに、治療前、治療開始 3, 6, 12 ヶ月後の最高矯正視力、中心窩網膜厚を調べ、硝子体網膜癒着の有無との関連を検討した。

最高矯正視力はランドルト環で測定した最小視角（minimum angle of resolution: MAR）の対数をとった logMAR 視力を用いて比較した。

統計処理は JMP ソフトウェア（SAS institute, ケーリー、米国）を用いた。

定性的データは χ^2 乗検定を、定量的データは t 検定を用いて解析した。視力および中心窩網膜厚の治療前との比較は paired t 検定を、群間の治療経過の比較は repeated ANOVA 検定を用いて行った。logMAR 視力変化と中心窩網膜厚の変化の相関はスピアマンの相関解析を行った。

2-2-2 結果

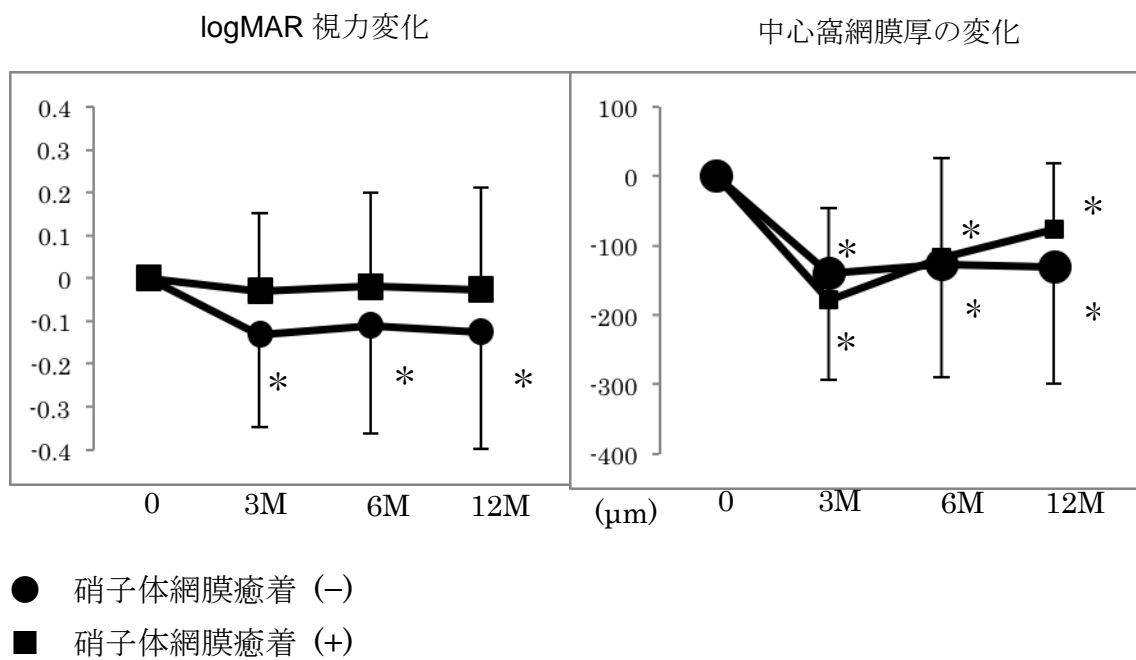
硝子体網膜癒着は 124 眼中、16 眼に認めた。そのうち 1 眼は、ラニビズマブ初回投与後 2 ヶ月時点で硝子体網膜癒着が完全に消失したため、解析から除外した。患者背景を表 2-1 に示すが、年齢、性別、治療前 logMAR 視力、治療前中心窩網膜厚について 2 群間に有意差は認めなかった（表 2-1）。

表 2-1 患者背景

	硝子体網膜癒着 (-)	硝子体網膜癒着 (+)	P 値
標本数	108	15	
性別 (男 : 女)	72 : 36	10 : 5	1.00
年齢 (平均±標準偏差)	69.8±20.9	67.7±20.7	0.71
治療前 logMAR 視力	0.41±0.35	0.42±0.39	0.98
治療前中心窩網膜厚 (μm)	326±158	370±149	0.30

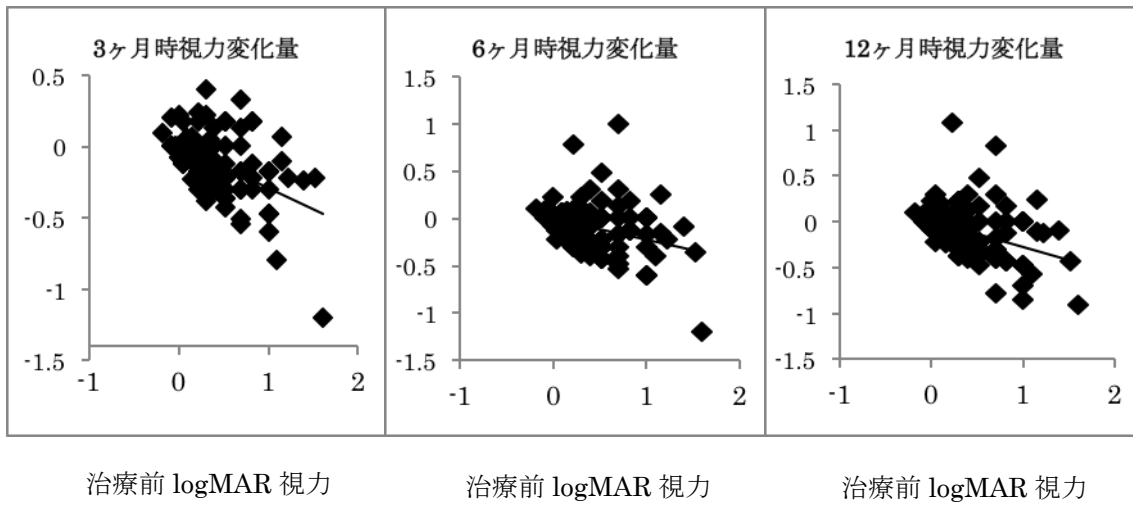
logMAR 視力変化と中心窩網膜厚の変化を図 2-3 に示す。

図 2-3 logMAR 視力変化と中心窩網膜厚の変化



硝子体網膜癒着 (-) 群では、治療前 logMAR 視力が 0.41 であり、治療開始 3, 6, 12 ヶ月時点で 0.28、0.30、0.29 と治療前と比較して有意に視力が改善した ($P < 0.0001$, $P < 0.0001$, $P < 0.0001$)。硝子体網膜癒着 (+) 群では、治療開始前 logMAR 視力は 0.42 であり、治療開始 3, 6, 12 ヶ月時点で 0.39, 0.40, 0.39 と治療前と比較して有意な改善を認めなかった ($P=0.53$, 0.75 , 0.67)。多重比較検定を用いて硝子体網膜癒着 (-) 群と硝子体網膜癒着 (+) 群の視力経過を比較すると有意に硝子体網膜癒着 (+) 群で視力経過不良であった ($P=0.012$, repeated ANOVA)。患者背景因子のうち、年齢、性別、治療前中心窩網膜厚は視力変化に関連がなかったが ($P=0.23$, 0.63 , 0.39)、治療前 logMAR 視力は治療 3, 6, 12 ヶ月時の視力変化量と有意に逆相関していた ($R=-0.49$, $P < 0.0001$, $R = -0.30$, $P=0.0006$, $R=-0.37$, $P < 0.0001$) (図 2-4)。

図 2-4 治療前 logMAR 視力と治療 3, 6, 12 ヶ月時の視力変化量



中心窩網膜厚は硝子体網膜癒着 (-) 群、硝子体網膜癒着 (+) 群ともに治療開始 3, 6, 12 ヶ月時点で治療開始前と比較して有意に減少していた。中心窩網膜厚は硝子体網膜癒着 (-) 群の治療開始前、治療開始 3, 6, 12 ヶ月時点でそれぞれ 326 μ m, 186 μ m, 199 μ m, 195 μ m ($P < 0.0001$, $P < 0.0001$, $P < 0.0001$)、硝子体網膜癒着 (+) 群ではそれぞれ 370 μ m, 191 μ m, 252 μ m, 293 μ m ($P = 0.0002$, 0.0095, 0.0070) であった。

視力変化量と中心窩網膜厚の変化量との関連は、硝子体網膜癒着 (-) 群では、治療開始 3, 12 ヶ月時点で有意に相関し ($R = 0.27$, $P = 0.0053$, $R = 0.26$, $P = 0.0073$)、治療開始 6 ヶ月時点でも相関する傾向にあったが ($R = 0.17$, $P = 0.075$) (図 2-5)、硝子体網膜癒着 (+) 群では、治療開始 3, 6, 12 ヶ月すべての時点で相関を認めなかった ($P = 0.46$, 0.92, 0.14) (図 2-6) [64]。

図 2-5 視力変化量と中心窩網膜厚の変化量（硝子体網膜癒着 (-)）

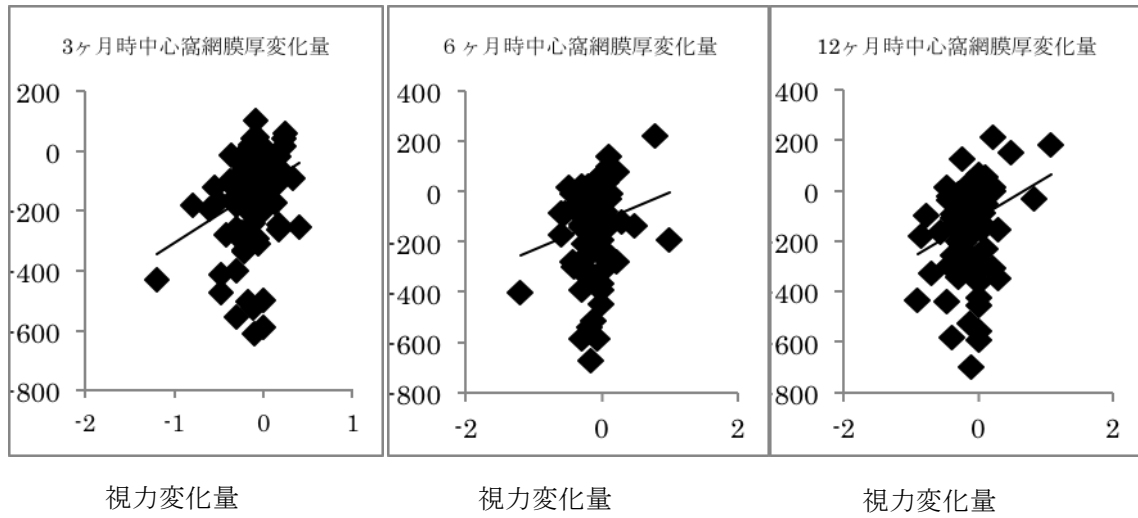
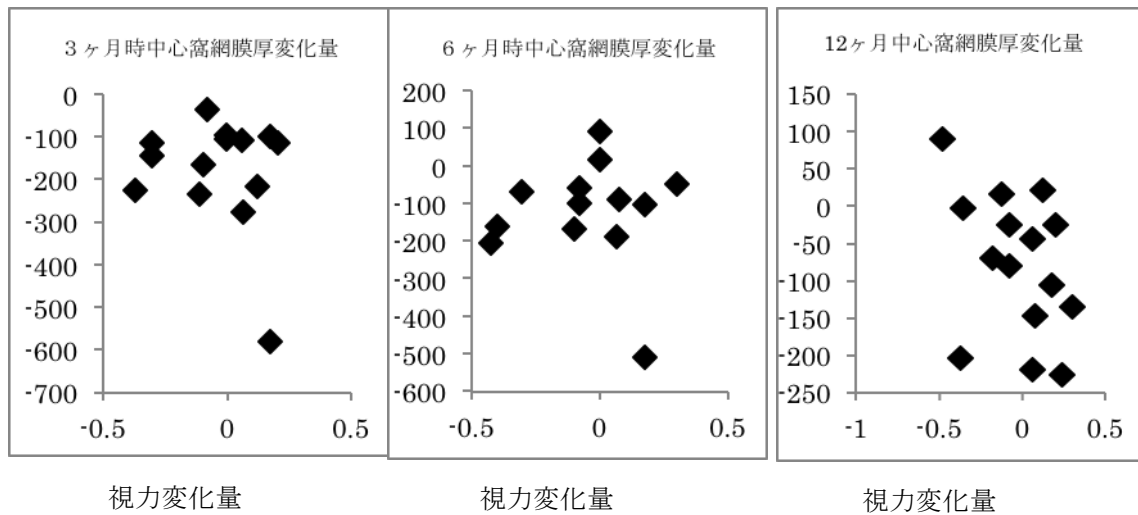


図 2-6 視力変化量と中心窩網膜厚の変化量（硝子体網膜癒着 (+)）



2-3 後部硝子体剥離と前房水中血管内皮増殖因子濃度

2-3-1 方法

共同研究者である自治医科大学眼科 川島秀俊教授、高橋秀徳講師、JCHO 東京新宿メディカルセンター眼科 藤野雄次郎主任部長の協力を得て、東京新宿メディカルセンター眼科外来に 2010 年 9 月から 2012 年 8 月に受診し、AMD の診断を受け、ラニビズマブ硝子体内注射を受けた患者のうち、研究参加への同意を得た 33 名 33 眼を対象とし、前向きに検討した。JCHO 東京新宿メディカルセンターの倫理委員会で本検討は承認され、全例から文書で同意を得た。これまでにラニビズマブを除く眼疾患に対する治療を受けた既往のある症例、他の網膜疾患がある症例、網膜硝子体手術の既往がある症例は除外した。屈折異常は±2 ジオプター以内を組み入れ条件とした。

ラニビズマブ投与前に無菌下で前房水を 0.2 mL 採取し、速やかに滅菌チューブに入れ、解析まで-80℃下で保存した。ELISA kit (R&D システムズ、ミネアポリス、米国)を用いて VEGF 濃度を測定した。測定は 2 回行い、平均値を比較に用いた。

既報に則り [44, 45, 56, 57]、超音波断層計 (UD-6000、トーマーコーポレーション、名古屋、日本) を用いて後部硝子体剥離 (PVD) の有無を調べ、PVD (+)

群、PVD (-) 群に分類して比較検討した。

統計処理は JMP ソフトウェア (SAS institute, ケーリー、米国) を用いた。

定性的データは χ 二乗検定を、定量的データは t 検定を用いて解析した。多変量

解析は最小二乗法による重回帰分析法を用い、VEGF 濃度の解析は実測値を対

数変換したものを用いた。

2-3-2 結果

PVD は 33 眼中 13 眼に認めた。患者背景を表 2-2 に示す。PVD (+) 群、PVD (-)

群の 2 群間に年齢、性別、眼軸長において有意な差は認めなかった。全例にお

いて、前房水採取時はラニビズマブの最終投与日より少なくとも 4 週間が経過

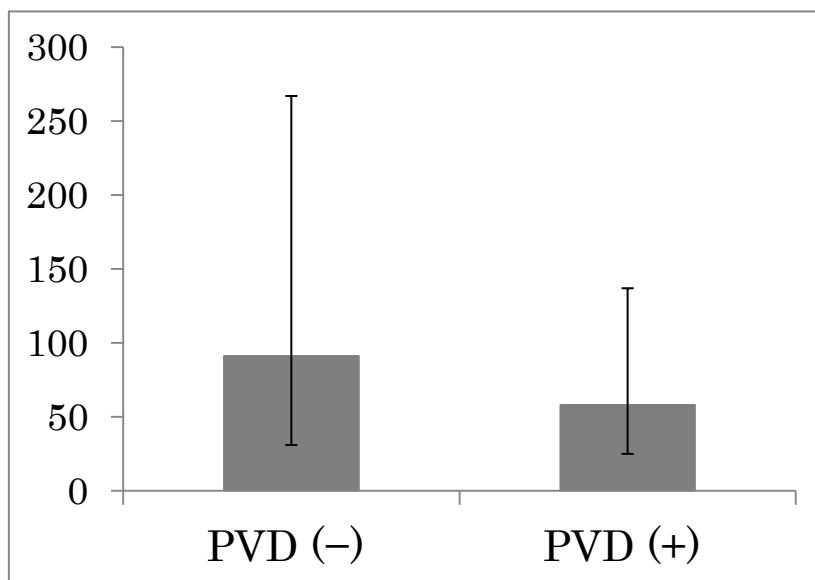
していた。

表 2-2 患者背景

	PVD (+)	PVD (-)	P 値
標本数	13	20	
性別 (男 : 女)	8 : 5	13 : 7	1.00
年齢 (平均 ± 標準偏差)	73.8 ± 8.5	76.8 ± 6.5	0.30
眼軸長 (mm) (平均 ± 標準偏差)	23.2 ± 0.8	22.7 ± 0.9	0.11

前房水中の VEGF 濃度は PVD (+) 群は平均 58 pg/ml (95%予測区間、25-137 pg/ml)、PVD (-) 群は平均 91 pg/ml (95%予測区間、31-267 pg/ml) であり、PVD (+) 群で前房内 VEGF 濃度は有意に低かった ($P=0.02$) (図 2-7)。患者背景因子の年齢、性別、眼軸長を含めて多変量解析を行うと、年齢、性別、眼軸長とは独立して PVD の有無は VEGF 濃度に関連していることが示された ($P=0.01$)。

図 2-7 前房水中の VEGF 濃度 (pg/ml)



2-4 後部硝子体剥離と前房水中炎症性サイトカイン濃度

2-4-1 方法

共同研究者である自治医科大学眼科 川島秀俊教授、高橋秀徳講師、JCHO 東京新宿メディカルセンター眼科 藤野雄次郎主任部長の協力を得て、JCHO 東京新宿メディカルセンター眼科外来に 2010 年 9 月から 2012 年 8 月に受診し、白内障に対する超音波乳化吸引術を受けた患者のうち、研究参加への同意を得た 80 名 80 眼を対象とし、前向きに検討した。JCHO 東京新宿メディカルセンターの倫理委員会で本検討は承認され、全例から文書で同意を得た。他の眼疾患を有する症例、眼疾患治療歴を有する症例、屈折異常が±2 ジオプター以上存在する症例を除外した。白内障手術前に全例で超音波断層計 (UD-6000、トーマコーポレーション、名古屋、日本) を用いて PVD の有無を調べ、PVD (+) 群、PVD (-) 群に分類した。白内障手術時に消毒後、無菌下で前房水を 0.2 mL 採取し、速やかに滅菌チューブに入れ、解析まで-80°C 下で保存した。マルチプルサイトカインアッセイキット (フィルジェン、名古屋、日本) を用いて下記のサイトカイン濃度を測定した。C-C motif chemokine ligand 2 (CCL2) / monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), C-C motif chemokine ligand 11 (CCL11) / Eotaxin, C-X-C motif chemokine ligand 1 (CXCL1) / growth related oncogene α (GRO α),

C-X-C motif chemokine ligand 10 (CXCL10) / interferon-inducible protein 10 (IP-10),
C-X-C motif chemokine ligand 12 (CXCL12) / Stromal cell-derived factor 1 (SDF-1),
C-X-C motif chemokine ligand 13 (CXCL13) / B cell-attracting chemokine 1 (BCA-1),
interleukin-6 (IL-6), interleukin-10 (IL-10), and matrix metalloproteinase 9 (MMP-9).
各サイトカインの測定限界は順に 0.95, 0.43, 1.25, 2.76, 2.87, 0.76, 0.41, 0.15,
0.57pg/mL であった。前房水中の各サイトカイン濃度と PVD の有無との関連を
解析した。

統計処理は JMP ソフトウェア (SAS institute, ケーリー、米国) を用いた。定
性的データは χ 二乗検定を、定量的データは t 検定を用いて解析した。多変量解
析は最小二乗法による重回帰分析法を用いた。標準最小二乗法により平均年齢
(75.0 歳)、平均眼軸長 (23.5 mm)、性別比 (37:43) における各サイトカイン濃
度の調整平均値を算出した。VEGF 濃度の解析は実測値を対数変換したものを
用いた。

2-4-2 結果

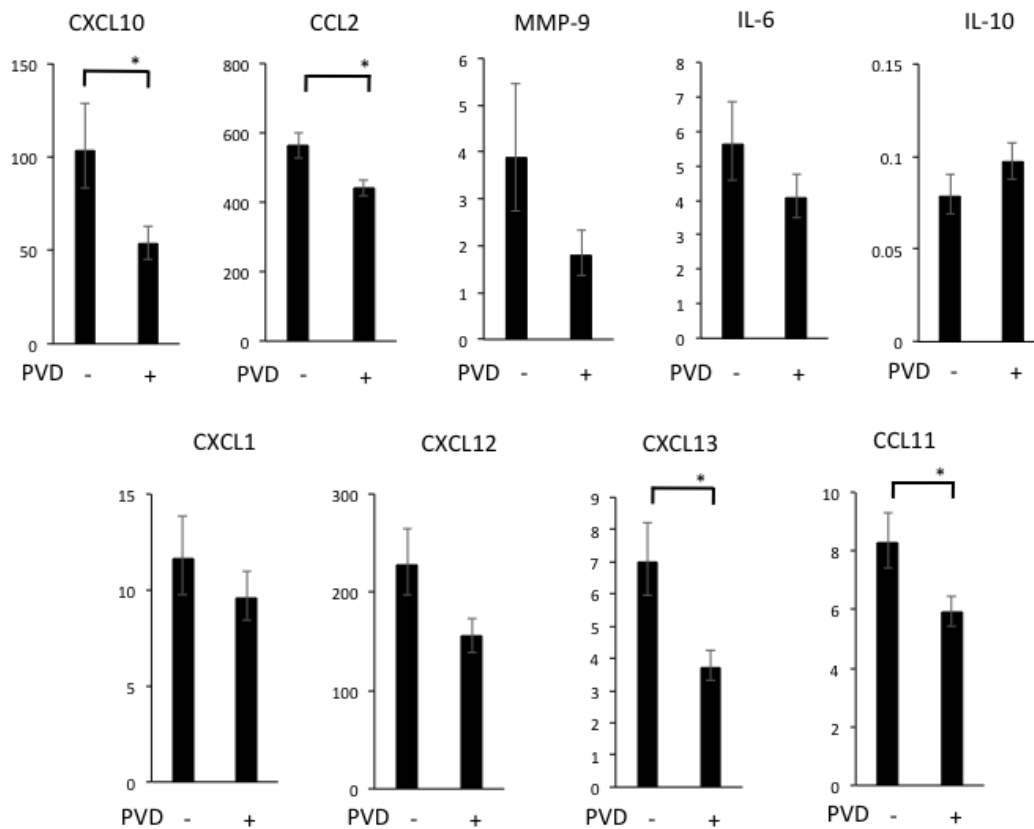
患者背景を表 2-3 に示す。年齢、性別、眼軸長に 2 群間で有意差は認めなかつ
た。

表 2-3 患者背景

	PVD (+)	PVD (-)	P 値
標本数	51	29	
性別 (男 : 女)	21 : 30	16 : 13	0.23
年齢 (平均±標準偏差)	75.5 ± 6.7	73.5 ± 6.4	0.21
眼軸長 (mm) (平均±標準偏差)	23.5 ± 1.2	23.4 ± 1.2	0.72

平均年齢 (75.0 歳)、平均眼軸長 (23.5 mm)、性別比 (37:43) に補正した各サイトカイン濃度を図 2-8 に示す。CCL2、CCL11、CXCL10、CXCL13 の濃度は、PVD (+) 群でそれぞれ 450、6.0、53、3.8 pg/ml であり、PVD (-) 群の 560、8.4、100、7.0pg/ml と比較して低く、年齢、性別、眼軸長とは独立して PVD の有無はこれらのサイトカイン濃度と有意に関連していた (順に $P = 0.009, 0.03, 0.002, 0.006$)[65]。

図 2-8 PVD の有無とサイトカイン濃度



CCL2、CCL11、CXCL10、CXCL13 の濃度は、PVD (+) 群で PVD (-) 群と比較して有意に低かった。

2-5 考察

AMD 症例に硝子体網膜癒着を高頻度に認めることは、これまでに海外からの報告があり [44-46, 56, 57]、我々も以前に典型 AMD 症例では、硝子体網膜癒着を認める頻度が高く、かつ硝子体網膜癒着があると病巣が有意に大きいことを報告している [48]。これらより硝子体網膜癒着が AMD の病態に関与している可能性が考えられてきた。日本人 AMD 症例を対象とした本検討で、硝子体網膜癒着が存在する症例では解剖学的改善は認めたものの視力予後が有意に不良であった。すなわち、硝子体網膜癒着が現在の標準治療であるラニズマブに対する治療抵抗性に関与していることが示された。解剖学的改善と機能的改善に乖離が認められた原因は明らかでないが、硝子体網膜癒着が存在する症例では感覚網膜や色素上皮に、より重度の機能的障害が起きている可能性がある。硝子体網膜癒着が AMD の病態に関与するメカニズムについては、網膜硝子体癒着が慢性炎症を助長させる、黄斑部への酸素や栄養の供給を阻害する、血管新生促進因子などの黄斑部への貯留を促す、などの仮説が提唱されている [66]。本検討で、PVD があると、すなわち硝子体網膜癒着がないと眼内の VEGF 濃度が有意に低値であることが示された。PVD を認める眼では、PVD を認めない眼に比較して網膜前の酸素濃度が高いことがこれまでに報告されている [67]。低酸

素が VEGF 産生を誘導すること [68, 69] を考え合わせると、硝子体網膜癒着を認める眼では網膜前の酸素濃度が相対的に低値であり、眼内の VEGF 濃度が相対的に高く、抗 VEGF 阻害薬による標準治療への抵抗性に寄与している可能性がある。また、白内障症例の検討で、PVD を認めない症例では、CXCL10, CCL2, CXCL13, CCL11 の前房水中濃度が高いことが示された。AMD とこれらのサイトカインとの関連はこれまでに以下の報告がある。すなわち、CXCL10 は AMD の疾患モデルマウスであるレーザ誘発性新生血管モデルにおいて発現が増加しており、血管新生促進作用が認められることを我々のグループが以前に報告している [70]。また、CXCL10 は CCL11 とともに AMD 患者の血液中では対照群と比較して上昇しているという報告がある [71]。CXCL13 はレーザ誘発性新生血管モデルにおける発現上昇が報告されている [70]。CCL2 はモデルマウスの新生血管膜の局在が報告されており [72]、AMD 患者の前房水中では対照群と比較して高濃度であることが報告されている [73]。白内障症例は、臨床的に明らかな炎症所見を呈していない症例であり、結果の解釈には注意が必要である。しかしながら、臨床的に明らかな炎症所見がない眼においても加齢に伴って潜在的な炎症反応は認められることがあり [74-76]、白内障症例でも硝子体網膜癒着と炎症性サイトカインの濃度に関連があること、AMD に慢性炎症が関与している

[58-62]ことを踏まえると、AMD 症例における硝子体網膜癒着が炎症性サイトカインの増減に関与し、AMD の病態に関与している可能性がある。また、本検討では症例数が比較的少数であり、上記の4つのサイトカイン以外にも硝子体網膜癒着と関連があるサイトカインの存在の可能性は否定できず今後の検討課題であると考えられる。さらに、AMD 症例を対象とした検討が必要である。

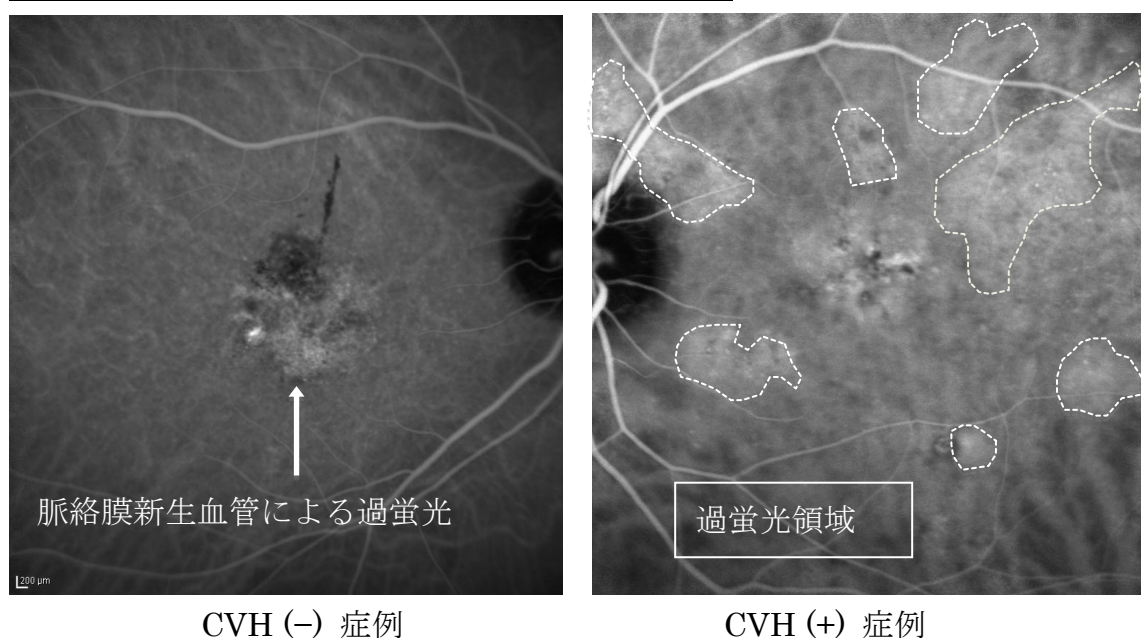
本検討では、硝子体網膜癒着が存在すると現在の標準治療である抗 VEGF 阻害薬（ラニビズマブ）に抵抗性を示すことを示し、硝子体網膜癒着が臨床上重要な因子の一つであることを示した。また、硝子体網膜癒着が存在すると VEGF および炎症性サイトカインのうち CXCL10, CCL2, CXCL13, CCL11 の眼内濃度が高いことを示した。硝子体網膜癒着が AMD の病態に関与するメカニズムは明らかでないが、少なくとも部分的にはこれらの濃度上昇が関連すると考えられ、今後のさらなる検討が重要である。

第 3 章 脈絡膜透過性亢進所見と AMD

3-1 背景

脈絡膜は、網膜色素上皮の外層に位置し、血管に富む組織で網膜の外層を栄養している。AMD は黄斑部に生じる脈絡膜新生血管からの滲出、出血性変化が視力低下をもたらす。新生血管は脈絡膜から生じるため、病態を理解する上では脈絡膜異常の理解が必須である。脈絡膜血管透過性亢進(choroidal vascular hyperpermeability: CVH) 所見はインドシアニングリーン蛍光造影検査の後期画像にて、境界不明瞭な過蛍光領域が一カ所または複数箇所認められることで判断される (図 3-1)。

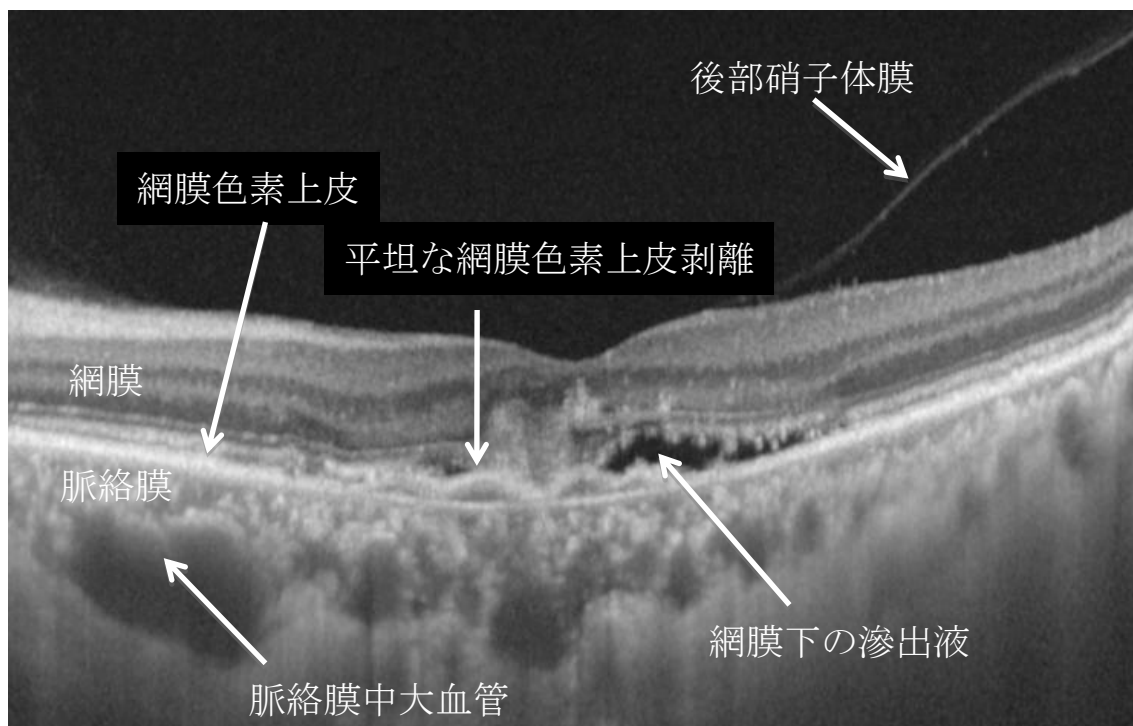
図 3-1 CVH (-) および CVH (+) 症例の典型画像



インドシアニングリーン蛍光造影検査の後期画像にて、境界不明瞭な過蛍光領域が一カ所または複数箇所認められる症例を CVH (+) 症例、その他の症例を CVH (-) 症例とした。

この CVH 所見は、当初中心性漿液性脈絡網膜症で報告された所見であるが[77]、近年、AMD 症例でも一部の症例に認められることがわかってきた[38-41]。特に、本邦に多い PCV において CVH が高頻度に認められることが報告されており[38-41]、これまでの解析では PCV に伴った所見の一つと認識されており、PCV の病態を修飾する一因子と考えられていた。しかしながら、典型 AMD でも同様に CVH を認める症例が存在することが明らかになってきている[39]。従って、特定の病型のみならず AMD 全体でこの CVH 所見を有する症例の病態および特徴を明らかにすることが重要と考えられた。CVH 所見を有する症例では中心窩の脈絡膜が厚いことが報告されている[39, 40]。我々は CVH 所見を有する AMD 症例は、広範な脈絡膜異常を呈するのではないかとの仮説をたて、まず、高深達光干渉断層計を用いて広範な脈絡膜の厚さを測定した。高深達光干渉断層計 (DRI OCT-1; トプコン、東京、日本) (図 3-2) は、中心波長が 1050nm と超高波長の光源を用いており、これまでの光干渉断層計に比較して、100,000 A-scan/sec と高速に撮影することができる。かつ、深さによる信号低下が少ないので硝子体から脈絡膜まで前後方向に広がる組織や病変の全体像を縦方向 8 μm の分解能で高感度に描出することができるようになった[78, 79]。

図 3-2 高深達光干渉断層計による AMD 症例の水平断層像



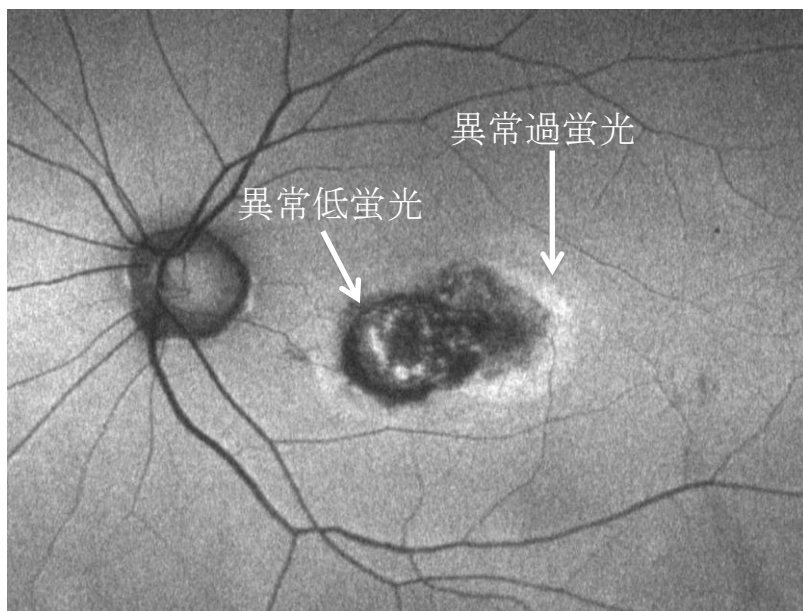
硝子体から脈絡膜までが高解像度に描出される。

このため、脈絡膜厚の測定には高深達光干渉断層計は特に優れていると考えられている[78, 79]。また、高速に撮影するため、眼球運動による信号低下が少なく、固視不良の症例でも撮影が可能である。この特性を活かして、本検討では正面視の画像のみならず、上方視、下方視、左方視、右方視の状態での眼底像を用いて眼底広範囲の解析を行った。

次に、CVHを有する症例の治療成績を後ろ向きに解析した。本研究では、これまで報告がなかった抗VEGF阻害薬であるアフリベルセプト（アイリーア[®]、バイエル薬品、大阪、日本）の投与症例について検討した。続いて、脈絡膜厚と関連する炎症性サイトカインを同定するため、白内障症例から前房水を採取し、炎症性サイトカイン濃度を測定し、検討した。前房水中のCXCL13濃度と脈絡膜厚との正の相関が認められたため、剖検眼を免疫染色し、CXCL13の眼における局在を調べた。

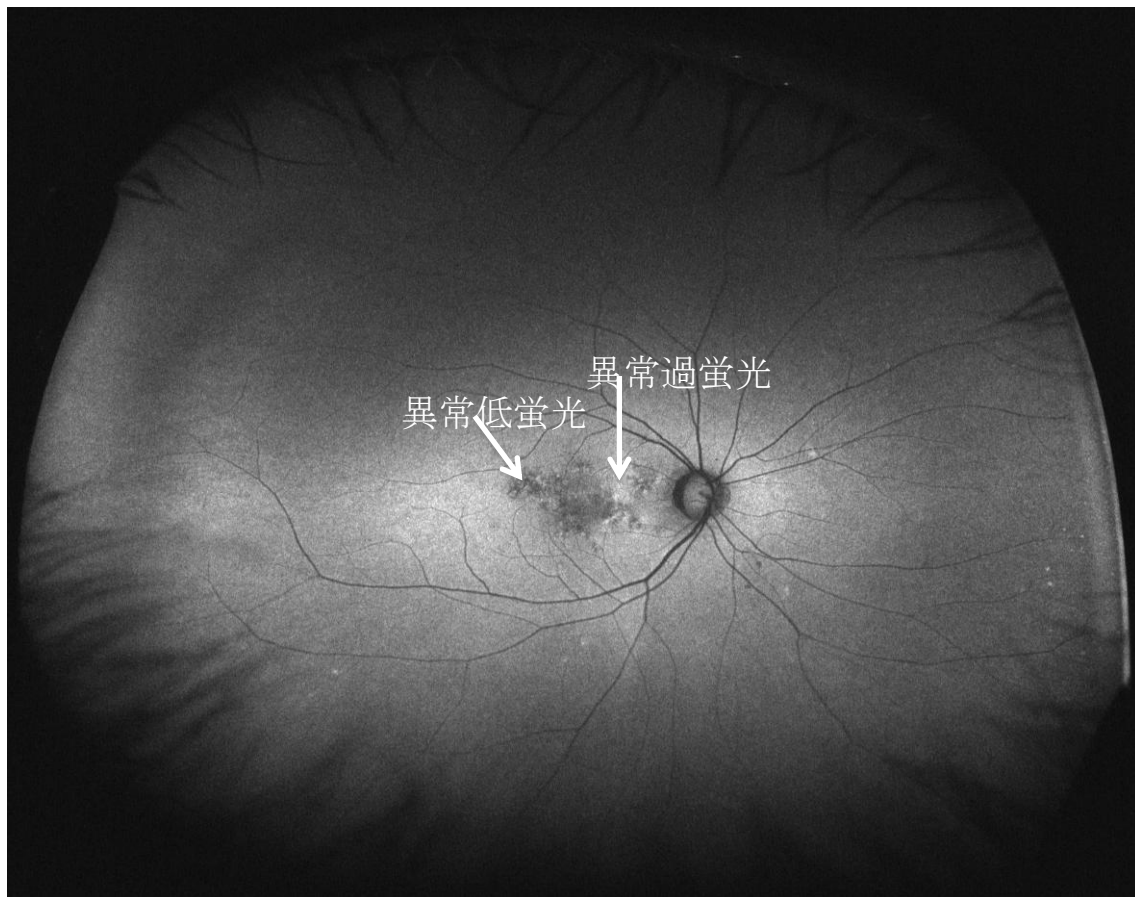
網膜色素上皮細胞は、網膜の最外層の単層の円柱上皮であり、視細胞の支持の他に、視細胞外節の貪食作用、視物質の還元作用、ポンプ機能などを有している。超広角走査レーザ検眼鏡の登場により、眼底のほぼ全体が一度に観察できるようになり、従来黄斑部に限局する病態と考えられていたAMD症例でも黄斑部から遠く離れた眼底周辺部においても網膜色素上皮異常所見が対照群と比較して高頻度に認められると報告されている[47]。眼底には、リポフスチンを主体とする自発蛍光物質が存在し、造影剤を使用せずに眼底を励起し、非侵襲的に自発蛍光による画像を得ることができる（図3-3）。

図 3-3 AMD 症例の眼底自発蛍光画像



リポフスチンは、網膜色素上皮細胞が視神経外節を貪食した際に生じる副産物であり、加齢や病的状態でこのリポフスチンが過剰に蓄積すれば自発蛍光は増し、網膜色素上皮細胞そのものが減少したり、過剰な色素が網膜色素上皮に蓄積したりした際に自発蛍光は減少する。つまり、異常過蛍光、異常低蛍光所見ともに網膜色素上皮を主体とした生理的状态からの変化を示している。眼底自発蛍光所見により、非侵襲的に網膜色素上皮異常について調べることができ、それを超広角走査レーザ検眼鏡で撮影することで眼底周辺部まで十分に検討することができる (図 3-4)。

図 3-4 AMD 症例の超広角走査レーザ検眼鏡を用いた自発蛍光画像



眼底の 80%以上を一視野におさめることができる。

そこで、我々は本邦の AMD 症例を対象として超広角走査レーザ検眼鏡を用いて周辺部網膜色素上皮異常所見の頻度について検討し、CVH 所見の有無に基づき、AMD 症例を 2 群に分類し、眼底周辺部異常所見について検討した。

3-2 脈絡膜透過性亢進所見と脈絡膜厚

3-2-1 方法

東京大学医学部附属病院眼科黄斑外来に 2013 年 5 月から 2013 年 7 月に受診し、AMD の診断を受けた 48 名の連続症例を対象として、東京大学医学部倫理委員会の承認（審査番号 2217）を得て、後ろ向きに解析した。両眼に AMD を認める症例は右眼のみを解析の対象とした。これまでにレーザ治療の既往のある患者、網膜硝子体手術の既往がある患者、他の網膜疾患の既往がある患者は除外した。既報に基づき[39-41, 80]、インドシアニングリーン蛍光眼底造影検査の後期画像を用いて CVH 所見の有無を判定した。すなわち、境界不明瞭な過蛍光領域が 1 カ所または複数箇所認められた場合に CVH 所見ありとし、その他は CVH 所見なしとした。二人の検者で独立して判定し、評価が異なった症例に関しては再評価して合意に至った。

診察時に撮影した高深達光干涉断層計（DRI OCT-1; トプコン、東京、日本）の 9 mm×12 mm の 3D ラスタースキャン画像を用いた。正面視の画像に加えて、上方視、下方視、左方視、右方視の 5 画像を確認した。ブルッフ膜から脈絡膜強膜境界までを脈絡膜厚とし、中心窩と中心窩から上方、下方、左方、右方にそれぞれ 3 乳頭径、4.5 乳頭径の部位の脈絡膜厚を測定した。診察時に行っ

たインドシアニンググリーン蛍光眼底造影検査の写真を後ろ向きに判定し、CVH所見の有無を判定し、CVH 亢進所見の有無と脈絡膜厚との関連を検討した。

統計処理は JMP ソフトウェア (SAS institute, ケーリー、米国) を用いた。

定性的データは χ^2 検定を、定量的データは t 検定を用いて解析した。多変量解析は最小二乗法による重回帰分析法を用いた。

3-2-2 結果

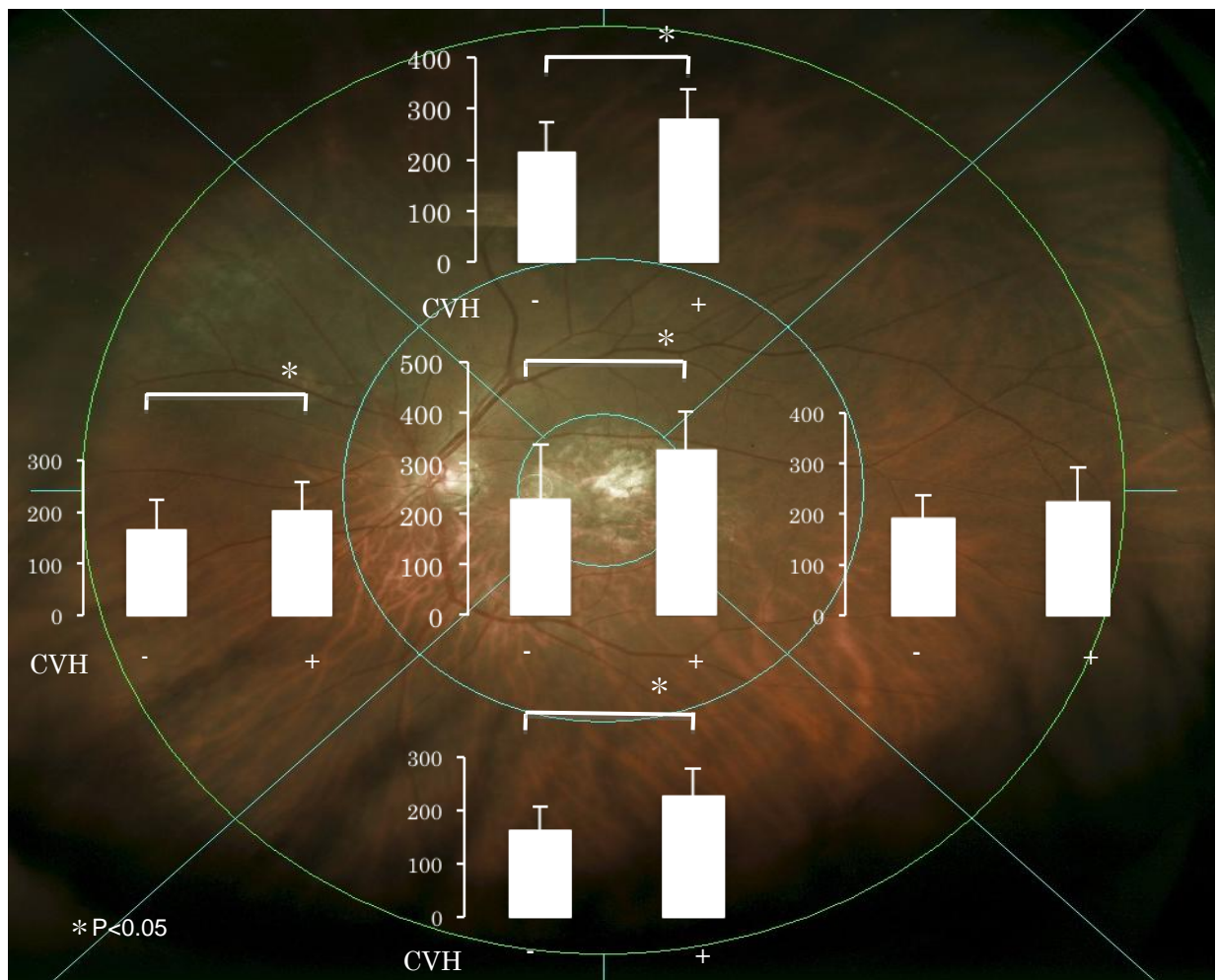
48 名中 17 名に脈絡膜透過性亢進所見 (CVH) を認めた。患者背景を図 3-1 に示す。CVH (-)、CVH (+) の 2 群間に年齢、性別、眼軸長において有意な差は認めなかったが、PCV が占める割合は CVH (+) 群で高かった。

表 3-1 患者背景

	CVH (-)	CVH (+)	P value
標本数	31	17	
性別 (男 : 女)	15:16	12:5	0.22
年齢 (平均±標準偏差)	74.8 ± 8.1	73.7 ± 6.6	0.60
PCV の割合, n (%)	13 (42)	15 (88)	0.0022
眼軸長 (mm) (平均±標準偏差)	23.3 ± 1.0	23.2 ± 0.7	0.58
未治療眼, n (%)	5 (16)	2 (12)	1.00
光線力学療法既往眼, n (%)	5 (16)	5 (29)	0.29
ラニビズマブ投与既往眼, n (%)	25 (81)	15 (88)	0.69

CVH (+) 群は、CVH (-) 群と比較して中心窩 (325 vs. 229 μm , $P=0.0010$, t -test)、上方 (277 vs. 215 μm , $P=0.0021$, t -test)、下方 (225 vs. 161 μm , $P=0.0002$, t -test), 鼻側(202 vs. 165 μm , $P=0.042$, t -test)において脈絡膜厚が有意に高かった (図 3-5) [81]。

図 3-5 CVH 所見の有無と脈絡膜厚 (μm)



典型 AMD、PCV に分けて比較すると、中心窩(290 vs. 225 μm , $P=0.037$, t -test)、
下方(203 vs. 158 μm , $P=0.0054$, t -test)では PCV で有意に脈絡膜厚が高かった
が、その他の部位では差が明らかでなかった。症例には未治療眼、光線力学療
法の既往眼、ラニビズマブ投与既往眼が含まれていたため、光線力学療法の既
往、ラニビズマブ投与の既往、年齢、眼軸長、CVH の有無を説明変数に、それ
ぞれの部位の脈絡膜厚を目的変数にして多変量解析を行った。結果は、中心窩
($P=0.0015$) 上方 ($P=0.0029$)、下方 ($P<0.0001$)、鼻側 ($P=0.039$) におい
て、CVH 所見は、光線力学療法の既往、ラニビズマブ投与の既往、年齢、眼軸
長とは独立して脈絡膜厚と有意に関連していた[81]。

3-3 脈絡膜透過性亢進所見と治療成績

3-3-1 方法

東京大学医学部附属病院眼科黄斑外来に2013年3月から2013年6月に受診し、AMDに対し、抗VEGF阻害薬のうちアフリベルセプトの初回投与を受け、少なくとも12ヶ月以上の経過観察を行うことのできた26名26眼の患者を対象とし、診療録の情報をもとに、東京大学医学部倫理委員会の承認（審査番号2217）を得て、後ろ向きに解析した。レーザ治療、光線力学療法、網膜硝子体手術の既往のある症例、他の網膜疾患のある症例は除外した。アフリベルセプトを4週間ごとに連続3回投与したのち、光干渉断層計での滲出性変化の有無に応じて注射の投与間隔を延長したり短縮したりして投与を継続した。すなわち、2回の注射時に連続して滲出性変化を認めない場合には、次の注射までの間隔を2週間延長し（最長8週間）、注射時に滲出性変化を認めた場合には、次の注射までの間隔を2週間短縮した（最短4週間）。治療前、治療開始12ヶ月後の最高矯正視力、中心窩網膜厚を調べ、CVH所見の有無との関連を検討した。最高矯正視力はランドルト環で測定した最小視角（minimum angle of resolution: MAR）の対数をとったlogMAR視力を用いて比較した。12ヶ月間のアフリベルセプト投与回数とCVH所見との関連も検討した。

統計処理は JMP ソフトウェア (SAS institute, ケーリー、米国) を用いた。定性的データは χ^2 乗検定を、定量的データは t 検定を用いて解析した。視力変化量と治療前 logMAR 視力の相関はスピアマンの相関解析を行った。多変量解析は最小二乗法を用いた。

3-3-2 結果

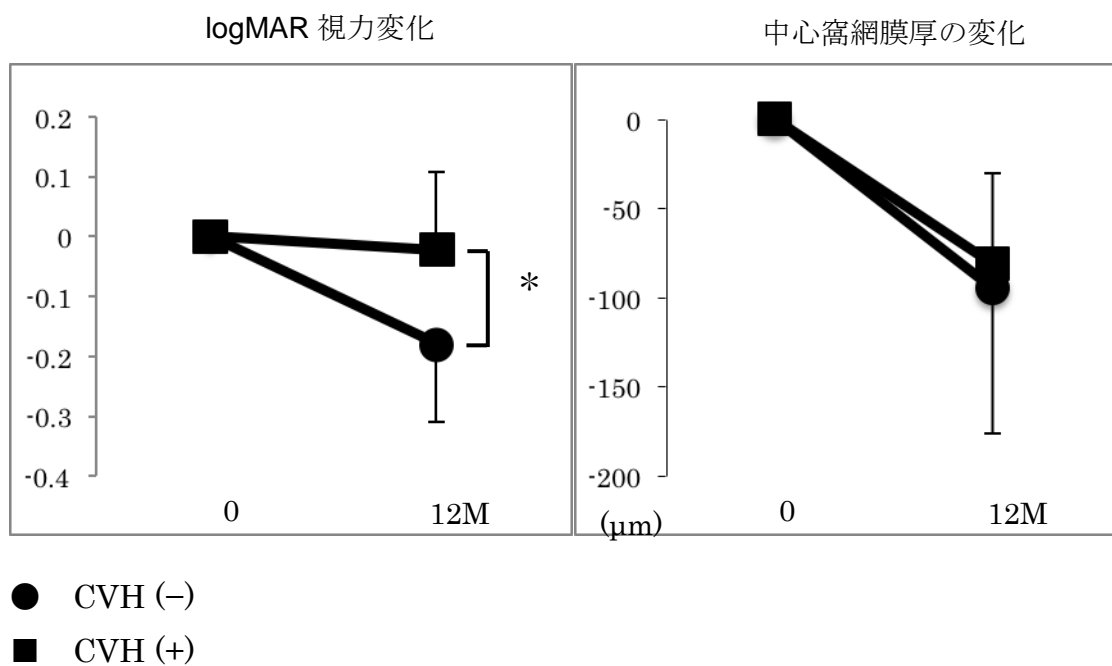
患者背景を表 3-2 に示す。年齢、性別、治療前 logMAR 視力、治療前中心窩網膜厚に両群で統計学的有意差は認めなかったが、PCV の割合は CVH (+) 群で高い傾向にあり、中心窩脈絡膜厚は CVH (-) 群で有意に高かった。

表 3-2 患者背景

	CVH (-)	CVH (+)	P value
標本数	16	10	
性別 (男 : 女)	9 : 7	8 : 2	0.22
年齢 (平均 ± 標準偏差)	73.6 ± 6.5	75.7 ± 9.8	0.56
PCV の割合, n (%)	9 (56)	9 (90)	0.07
治療前 logMAR 視力	0.32 ± 0.26	0.18 ± 0.23	0.19
治療前中心窩網膜厚 (mm) (平均 ± 標準偏差)	283 ± 119	302 ± 139	0.73
治療前中心窩脈絡膜厚 (mm) (平均 ± 標準偏差)	205 ± 58	298 ± 102	0.021

12ヶ月の中心窩網膜厚の減少量は両群で差がなかったが(CVH (+) 群:-81 μ m、CVH (-) 群 : -95 μ m, $P=0.67$, t -test)、logMAR 視力改善量は CVH (+) 群で有意に少なかった (CVH (+) 群 : -0.023、CVH (-) 群 : -0.18, $P=0.0044$, t -test) (図 3-6)。

図 3-6 logMAR 視力変化量と中心窩網膜厚の変化量



12ヶ月間のアフリベルセプト平均投与回数はCVH (+) 群が9.6回、CVH (-) 群が9.0回であり差がなかった ($P=0.40$, t -test)。治療前 logMAR 視力と視力変化量に有意な相関を認めたため ($R=-0.47$, $P=0.015$)、治療前 logMAR 視力と CVH の有無を説明変数に、視力変化量を目的変数にして多変量解析を行ったが、CVH の存在は治療前 logMAR 視力とは独立して視力変化量に関連していた ($P=0.014$)。PCV、典型 AMD の分類は視力変化量と関連はなかった ($P=0.91$)。

3-4 脈絡膜厚と前房水中炎症性サイトカイン濃度

3-4-1 方法

共同研究者である自治医科大学眼科 川島秀俊教授、高橋秀徳講師、JCHO 東京新宿メディカルセンター眼科 藤野雄次郎主任部長の協力を得て、JCHO 東京新宿メディカルセンター眼科外来に 2010 年 9 月から 2012 年 8 月に受診し、白内障に対する超音波乳化吸引術を受けた患者のうち、研究参加への同意を得た 76 名 76 眼を対象とし、前向きに検討した。JCHO 東京新宿メディカルセンターの倫理委員会で本検討は承認され、全例から文書で同意の確認を得た。他の眼疾患を有する症例、眼疾患治療歴を有する症例、屈折異常が±2 ジオプター以上存在する症例を除外した。白内障手術前にスペクトラルドメイン光干渉断層計 (Cirrus OCT, ツァイス、イエナ、ドイツ) を用いて脈絡膜厚を全例で測定した。白内障手術時に消毒後、無菌下で前房水を 0.2 mL 採取し、速やかに滅菌チューブに入れ、解析まで-80℃下で保存した。マルチプルサイトカインアッセイキット (フィルジェン、名古屋、日本) を用いて下記のサイトカイン濃度を測定した。C-C motif chemokine ligand 2 (CCL2) / monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), C-C motif chemokine ligand 11 (CCL11) / Eotaxin, C-X-C motif chemokine ligand 1 (CXCL1) / growth related oncogene α (GRO α), C-X-C motif

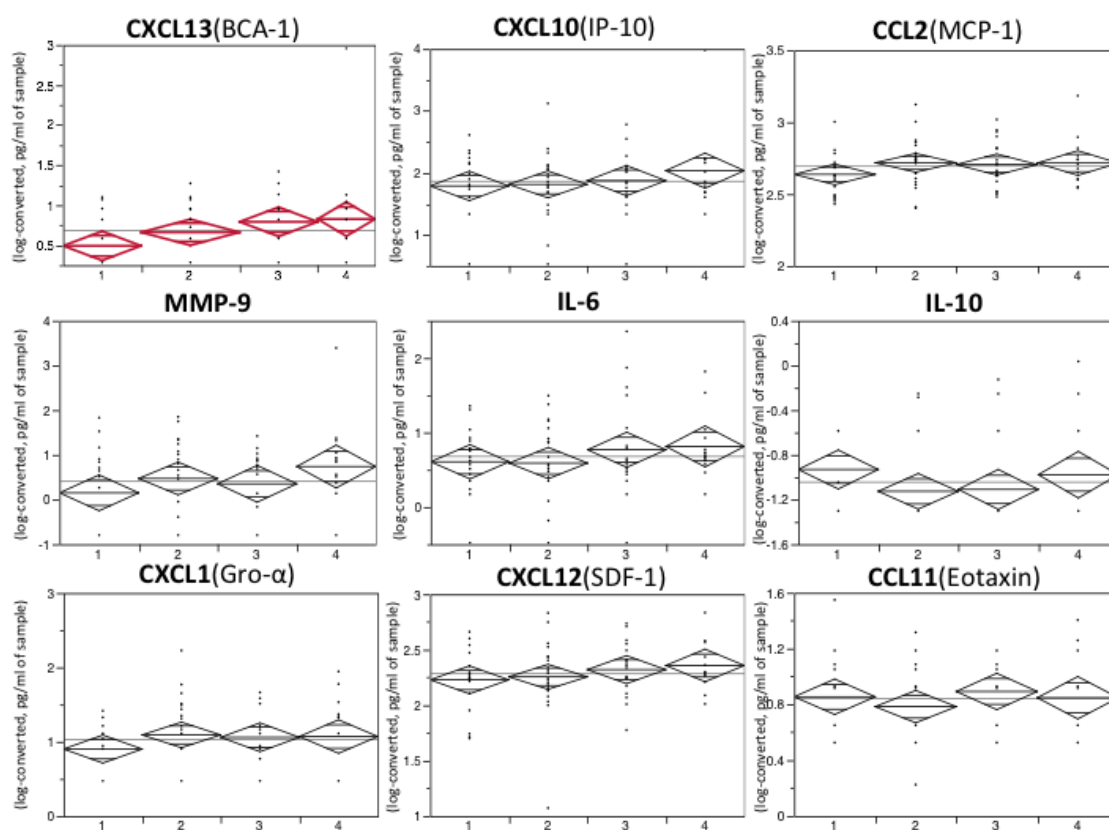
chemokine ligand 10 (CXCL10) / interferon-inducible protein 10 (IP-10), C-X-C motif
chemokine ligand 12 (CXCL12) / Stromal cell-derived factor 1 (SDF-1), C-X-C motif
chemokine ligand 13 (CXCL13) / B cell-attracting chemokine 1 (BCA-1), interleukin-6
(IL-6), interleukin-10 (IL-10), and matrix metalloproteinase 9 (MMP-9)。各サイトカイン
の測定限界は順に 0.95, 0.43, 1.25, 2.76, 2.87, 0.76, 0.41, 0.15, 0.57pg/mL で
あった。前房水中の各サイトカイン濃度と中心窩脈絡膜厚との関連を解析した。
統計処理は JMP ソフトウェア (SAS institute, ケーリー、米国) を用いた。中
心窩脈絡膜厚の 4 分位数を用いて 4 分位にわけ、各サイトカイン濃度を分散分
析を用いて比較し、ダネット法を用いて第 1 分位をコントロールとして比較し
た。さらに年齢、性別、眼軸長および測定した全てのサイトカイン濃度からス
テップワイズ法 (変数減少法) を用いて関連する因子の候補を選び、最小二乗
法を用いて多変量解析を行った。

3-4-2 結果

患者背景を以下に記す。76 人中 44 人が女性であり、年齢、眼軸長の平均お
よび標準偏差値はそれぞれ 74.2 ± 6.8 歳、 23.4 ± 1.2 mm であった。中心窩脈絡膜
厚の平均および標準偏差値は 210 ± 68 μ m であった。上位 4 分位値 (238 μ m)、
中央値 (204 μ m)、下位 4 分位値 (174 μ m) を用いて中心窩脈絡膜により 4 分位

(脈絡膜が最も薄い群から順に第1分位、第2分位、第3分位、第4分位)に
わけ、各サイトカイン濃度の結果を示す(図 3-7)。分散分析を用いて解析した
ところ、CXCL13の濃度のみが中心窩脈絡膜厚と関連しており(表 3-1)、ダネ
ット法をもちいて第1分位をコントロールにして比較すると、第3分位、第4
分位で有意にCXCL13の前房水内濃度は高値であった($P=0.041$, $P=0.046$)。
次に年齢、性別、眼軸長および測定した全てのサイトカイン濃度を候補に、中
心窩脈絡膜厚と関連する因子を特定するためにステップワイズ法を用いて解析
を行ったところ、眼軸長とCXCL13濃度が選択された。この2変量を説明変数
に、中心窩脈絡膜厚を目的変数にして最小二乗法を用いて多変量解析すると、
CXCL13濃度は眼軸長($P=0.049$)とは独立して中心窩脈絡膜厚に関連するこ
とが示された($P=0.001$)。

図 3-7 脈絡膜厚と前房内炎症性サイトカイン濃度



CXCL13 の前房水内濃度は脈絡膜厚と関連しており、その他のサイトカイン濃度は脈絡膜厚との関連を認めなかった。

表 3-3 各サイトカイン濃度と分散分析における *P* 値

脈絡膜厚	CXCL10 (pg/ml)	CCL2 (pg/ml)	MMP-9 (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	IL-10 (×10-2pg/ml)	CXCL1 (pg/ml)	CXCL12 (pg/ml)	CXCL13 (pg/ml)	CCL11 (pg/ml)
第1分位	61.8 (5.35-714)	434 (222-849)	1.42 (0.0187-108)	4.06 (0.624-26.4)	11.7 (2.33-59.2)	7.98 (1.65-38.6)	170 (48.0-600)	3.04 (0.784-11.8)	7.16 (2.25-22.8)
第2分位	65.5 (6.72-639)	523 (251-1090)	2.97 (0.0520-170)	3.89 (0.392-38.7)	7.49 (1.50-37.5)	12.4 (1.38-110)	181 (41.6-785)	4.60 (1.23-17.2)	6.09 (1.37-27.0)
第3分位	75.3 (8.44-672)	508 (245-1054)	2.26 (0.0808-63.1)	5.88 (0.298-116)	7.79 (1.31-46.3)	11.5 (2.78-47.5)	210 (70.6-623)	6.22 (1.48-26.1)	7.82 (2.68-23.1)
第4分位	109 (6.71-1770)	520 (239-1130)	5.50 (0.0575-527)	6.51 (0.974-43.5)	10.5 (1.22-90.8)	11.8 (1.13-123)	229 (89.0-588)	6.73 (0.308-147)	7.05 (1.88-26.4)
P 値*	0.56	0.34	0.3	0.46	0.31	0.47	0.5	0.046	0.65

CXCL13 の濃度は脈絡膜厚と有意に関連していた。平均値（95%予測区間）で標記した。

3-5 免疫染色

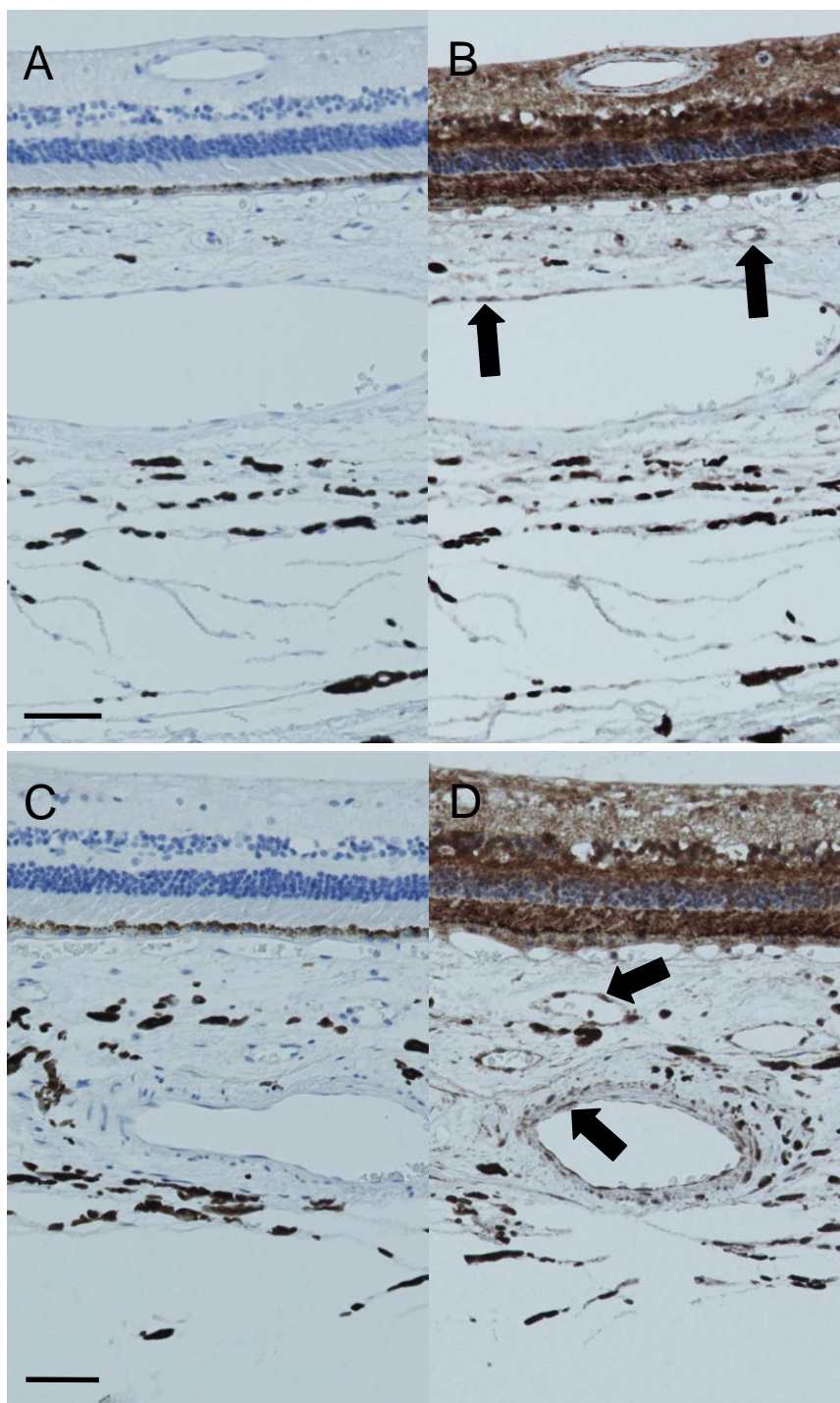
3-5-1 方法

剖検眼（2眼）から得た網膜脈絡膜の組織切片を免疫染色し、CXCL13の脈絡膜での局在を調べた。免疫染色は下記の手順で行った。パラフィン固定された眼球を眼軸と平行に厚さ4 μ mの切片とし、免疫賦活化、ブロッキング後、抗ヒトCXCL13抗体（ポリクローナルヤギIgG, R&Dシステムズ、ミネアポリス、米国）を25ng/ μ l、室温で2時間反応させたのち、ビオチン化された2次抗体で標識した。ネガティブコントロールはウシ血清を用い、対比染色はメイヤーズヘマトキシリン染色とした。

3-5-2 結果

脈絡膜血管内皮細胞にCXCL13が明瞭に認められた（図3-8）。

図 3-8 CXCL13 の免疫染色



2眼とも脈絡膜血管内皮細胞にCXCL13が明瞭に認められた(B,D)。ネガティブコントロール(A,C)には染色は認めない。図表中の黒棒は50 μ mを示す。

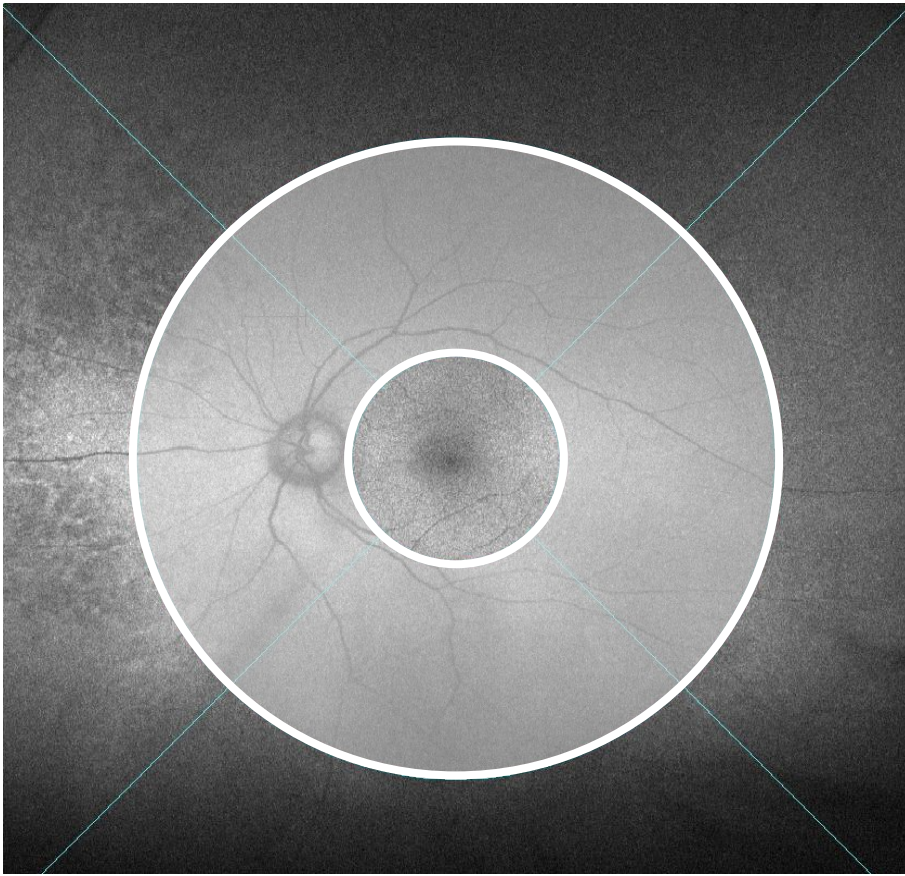
3-6 周辺部網膜色素上皮異常の頻度

3-6-1 方法

東京大学医学部附属病院眼科黄斑外来に 2013 年 5 月から 2013 年 7 月に受診し、AMD の診断を受けた 48 名の患者を対象とし、東京大学医学部倫理委員会の承認（審査番号 2217）を得て、後ろ向きに解析した。これまでにレーザ治療の既往のある患者、網膜硝子体手術の既往がある患者、他の網膜疾患の既往がある患者は除外した。同時期に受診した片眼性の黄斑円孔、黄斑前膜、網膜静脈閉塞症症例の僚眼をコントロールとした。超広角走査レーザ検眼鏡（Optos 200^{Tx}、オプトス社、ダンファームリン、英国）を用いて眼底自発蛍光（fundus autofluorescence: FAF）画像を撮影した。中心窩を中心とした直径 3 乳頭径の円と直径 9 乳頭径の円に囲まれた領域を中間周辺部と定義し（図 3-9）、この範囲の FAF 異常所見の有無を調べた。

統計処理は JMP ソフトウェア（SAS institute, ケーリー、米国）を用いた。定性的データは χ 二乗検定を、定量的データは t 検定を用いて解析した。

図 3-9 中間周辺部



中心窩を中心とし、直径 3 乳頭径の円と直径 9 乳頭径の円に囲まれた領域を中間周辺部と定義した。

3-6-2 結果

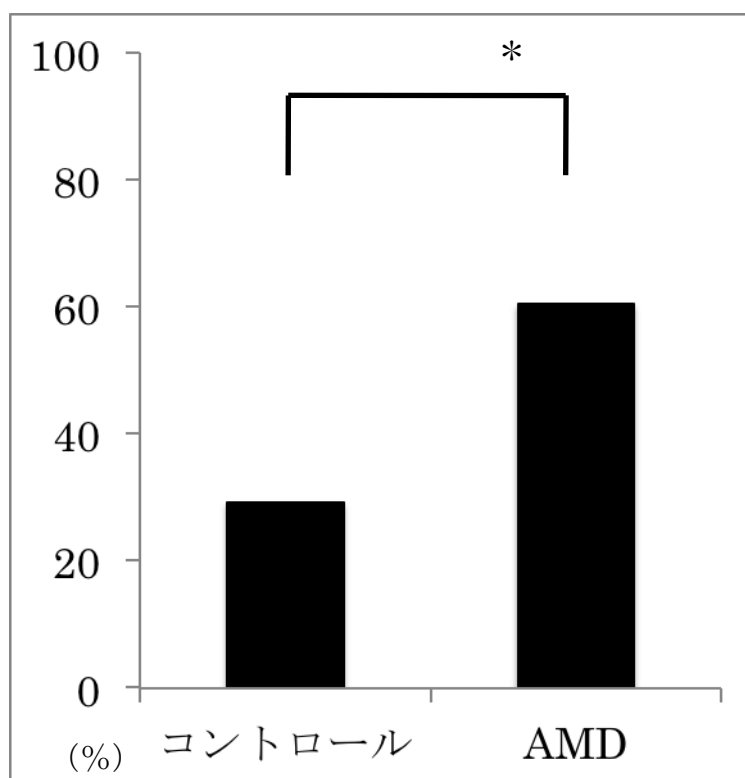
患者背景を図 4-1 に示す。年齢、性別、眼軸長に 2 群間で差は認めなかった。

表 4-1 患者背景

	コントロール	AMD	P value
標本数	24	48	
性別 (男 : 女)	11 : 13	27 : 21	0.46
年齢 (平均±標準偏差)	72.7 ± 7.2	74.4 ± 7.5	0.34
眼軸長 (mm, 平均±標準偏差)	23.4 ± 0.9	23.3 ± 0.9	0.47

中間周辺部に FAF 異常所見を認める頻度はコントロールで 29.2%、AMD 群で 60.4%であり、AMD 群で有意に高かった ($P=0.023$, t -test) (図 3-10)。

図 3-10 中間周辺部の FAF 異常の頻度



3-7 周辺部網膜色素上皮異常と脈絡膜透過性亢進所見

3-7-1 方法

前項目で述べた 48 名の AMD 患者を対象とした。東京大学医学部倫理委員会の承認（審査番号 2217）を得て、診察時に行ったインドシアニングリーン蛍光眼底造影検査の写真を後ろ向きに判定し、CVH 所見の有無を判定し、CVH 所見の有無と周辺部網膜色素上皮異常所見との関連を検討した。

統計処理は JMP ソフトウェア（SAS institute, ケーリー、米国）を用いた。定性的データは χ^2 乗検定を、定量的データは t 検定を用いて解析した。多変量解析は最小二乗法を用いて行った。

3-7-2 結果

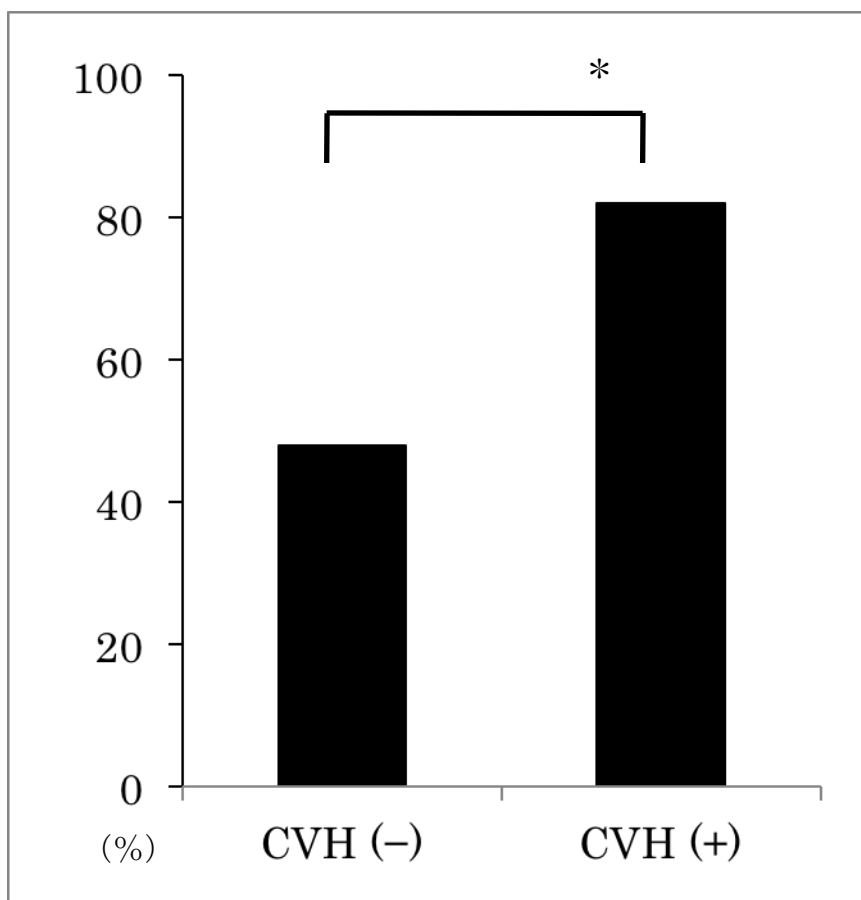
48 名中 17 名に脈絡膜透過性亢進所見（CVH）を認めた。患者背景を図 4-2 に示す。CVH (-)、CVH (-) の 2 群間に年齢、性別、眼軸長において有意な差は認めなかったが、PCV が占める割合は CVH (+) 群で高かった。

表 4-2 患者背景

	CVH (-)	CVH (+)	P value
標本数	31	17	
性別 (男 : 女)	15:16	12:5	0.22
年齢 (平均±標準偏差)	74.8 ± 8.1	73.7 ± 6.6	0.60
PCV の割合, n (%)	13 (42)	15 (88)	0.0022
眼軸長 (mm, 平均±標準偏差)	23.3 ± 1.0	23.2 ± 0.7	0.58
未治療眼, n (%)	5 (16)	2 (12)	1.00
光線力学療法既往眼, n (%)	5 (16)	5 (29)	0.29
ラニビズマブ投与既往眼, n (%)	25 (81)	15 (88)	0.69

中間周辺部に FAF 異常所見を認める頻度は、CVH (+) 群で 82 %、CVH (-) 群で 48 %であり、CVH (+) 群で有意に高かった ($P=0.031$, t -test) (図 3-11) [81]。

図 3-11 中間周辺部の FAF 異常の頻度と CVH 所見の有無



PCV と典型 AMD に分けて比較すると、FAF 異常所見を認める頻度は CVH (+) 典型 AMD 群で 100 %、CVH (+) PCV 群で 80.0 %、CVH (-) 典型 AMD 群で 39%、CVH (-) PCV 群で 62%であり、CVH (+) 典型 AMD 群と CVH (+) PCV 群に差は認めなかった。症例には未治療眼、光線力学療法の既往眼、ラニビズマブ投与既往眼が含まれていたため、光線力学療法の既往、ラニビズマブ投与の既往、年齢、眼軸長、CVH の有無を説明変数に、FAF 異常所見の有無を目的

変数にして最小二乗法を用いて多変量解析を行った。CVH 所見は、光線力学療法
の既往、ラニビズマブ投与の既往、年齢、眼軸長とは独立して FAF 異常所見
の頻度に関連していた ($P=0.025$) [81]。

3-8 考察

本検討で、CVH 所見を呈する AMD 症例は広範囲に脈絡膜が厚いこと、抗 VEGF 阻害薬（アフリベルセプト）に抵抗性であることが示された[40]。CVH を認める割合は、PCV で多く、これは既報と同様の傾向であったが、典型 AMD においても CVH を認める症例はまれではなかった。脈絡膜厚については PCV、典型 AMD にわけて比較すると中心窩と下方では PCV の方が厚いという差が認められたが、CVH の有無で比較する方がより脈絡膜厚の差が明瞭であった。これらより、表現型は典型 AMD あるいは PCV であっても、CVH を有する症例には共通した脈絡膜広範囲にわたる病態が関与していると考えられる。実際、CVH を有する症例は抗 VEGF 阻害薬であるアフリベルセプトに対する視力予後が不良であったが、典型 AMD、PCV では視力予後に差はなかった。CVH を有する症例で解剖学的には改善を得られているにも関わらず、機能的改善に乏しかった原因は不明であるが、CVH を有する症例では感覚網膜や網膜色素上皮により重度の機能障害が起きていると推察される。今後の AMD の診療および病態解明においては、CVH の有無に着目することが重要と考えられる。

中心性漿液性脈絡網膜症に関して、広範囲のインドシアニングリーン造影検査をもとにした報告では、CVH 所見を呈する部位に一致して脈絡膜中大血管の

拡張所見が認められ、これらの流出静脈である渦静脈の拡張も認められることから、脈絡膜内の静脈の鬱滞が存在しているのではないかと推測されている[82]。本検討では、広範囲のインドシアニングリーン蛍光眼底造影検査を行う器機を所有していなかったため、同様の所見を確認することはできなかったが、黄斑部周囲の CVH 所見に関しては中心性漿液性脈絡網膜症と同様の所見であり、CVH 所見を有する AMD 症例では少なくとも部分的にはこういった静脈系の鬱滞が存在し、病態に関与している可能性がある。

白内障症例において脈絡膜が厚い症例では前房水中の CXCL13 濃度が高く、正常剖検眼の染色標本で脈絡膜血管内皮細胞に CXCL13 が明瞭に認められた。CXCL13 は濾胞樹状細胞が産生し、B 細胞や CD 4 陽性 T 細胞の遊走に関与することが知られており、リンパ球が関係する疾患、すなわち、MALT 型リンパ腫[83]、関節リウマチ[84, 85]、シェーングレン症候群[86, 87]での関与が報告されている。眼内の CXCL13 の生理的局在および役割についてはほとんど知られておらず、今回初めて正常眼の脈絡膜血管内皮細胞に CXCL13 が存在することが示された。脈絡膜が厚い症例では中大血管が拡張していることが多く、血管内皮細胞そのものが増えるために CXCL13 の存在量が多く、そのことが前房水の濃度上昇に寄与しているにすぎないという可能性もあり、さらに本検討で

は白内障症例を対象としているため、今後は疾患眼で検討および機序を解明するために実験的検討が必要である。しかし、炎症性サイトカインと脈絡膜厚に関する報告はこれまでになく、脈絡膜厚と眼内 CXCL13 濃度が正の相関をすること、正常眼の脈絡膜血管内皮細胞に CXCL13 が豊富に存在することを示した本検討は、脈絡膜厚を規定するメカニズムの解明に向けた一つの前進であるといえる。

本検討では、本邦の AMD 症例の約 4 割弱を占める CVH 所見を有する症例は、脈絡膜が広範に肥厚しており、抗 VEGF 阻害薬に抵抗性を示した。また、白内障症例において脈絡膜厚と眼内の CXCL13 濃度は正の相関を示し、剖検眼で脈絡膜血管内皮細胞に明瞭に CXCL13 が認められた。今後、AMD 症例は CVH 所見の有無にも着目して分類することが必要であるとともに、脈絡膜厚を規定するメカニズムについてさらなる検討が必要である。

これまで本邦の AMD 患者を対象として、FAF を用いて周辺部網膜色素上皮異常を調べた検討はなかったが、本邦の AMD 症例において対照群と比較して周辺部網膜色素上皮異常所見を高頻度に認められること、かつ CVH 所見を有する AMD 症例は、CVH 所見を有さない AMD 症例と比較して有意に周辺部網膜色素上皮異常が多いことが示された。CVH 所見を有する AMD 症例では、黄斑

部のみならず眼底周辺部の色素上皮細胞にまで及ぶ病態が関与していると考えられる。つい最近になって、**pachychoroid pigment epitheliopathy : PPE** と呼ばれる病態が報告された。これは 18 例のケースレポートであるが、黄斑部周囲に **FAF** で確認される網膜色素上皮異常所見と肥厚した脈絡膜を特徴とし、中心性漿液性脈絡網膜症の前病変と述べられている [88]。中心性脈絡網膜症は、脈絡膜の動脈の灌流遅延が生じ、その後静脈の拡張と透過性亢進所見を認めることが報告されている [89-91]。PPE では中心性脈絡網膜症で認める滲出性変化は明らかでないものの、このような脈絡膜循環障害は非常によく似ており、脈絡膜が肥厚している箇所では網膜色素上皮の **FAF** 異常が高頻度に認められている [88]。PPE は何らかの要因により脈絡膜循環の異常が起こった結果、脈絡膜血管の拡張、肥厚が起こり、同時に網膜色素上皮の異常を引き起こしていると考えられている。我々の症例ではより眼底の広範囲にわたって同様の網膜色素上皮異常所見を認め、前章の脈絡膜厚の結果をあわせて考えれば、この **PPE** と同様の病態が **CVH** を有する **AMD** の背景に存在すると推測される。すなわち、**AMD** の中でも特に **CVH** 所見を有する **AMD** に関しては黄斑部に限局した病態ではなく、広範な脈絡膜循環障害と網膜色素上皮異常を背景とした病態である

と考えられる。今後は、AMD の病態解明にあたっては、CVH の有無にも着目
することが必要である。

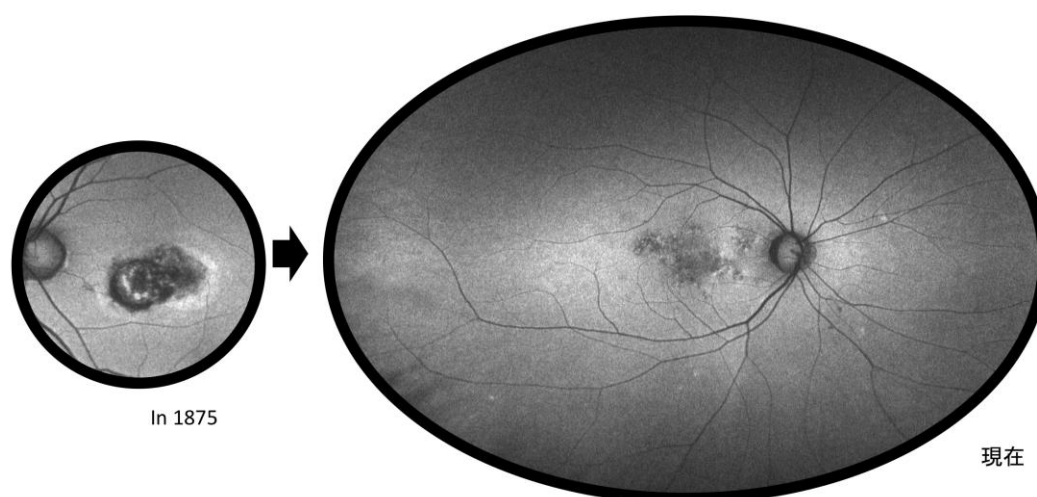
第 4 章 総合討論

本研究では、本邦の AMD 症例において硝子体網膜癒着が現在の標準治療である抗 VEGF 阻害薬（ラニビズマブ）の治療抵抗性に関連していること、硝子体網膜癒着のある症例では、眼内の VEGF 濃度が有意に高いことを示した。硝子体網膜癒着が AMD 症例に高頻度に認められることはまず海外から報告があり[45, 46, 92, 93]、本邦でも典型 AMD では硝子体網膜癒着の頻度が高いことを我々が報告していた[48]。加えて硝子体網膜癒着が存在すると抗 VEGF 阻害薬（ラニビズマブ）に抵抗性を示すと報告されたが[94, 95]、本邦の症例では報告がなく今回検討を行った。その結果、本邦の AMD 症例においても硝子体網膜癒着の存在は単独で抗 VEGF 阻害薬（ラニビズマブ）に対する治療的抵抗性に関連していることが明らかとなった。脈絡膜から生じる新生血管が AMD の病態の本態ではあるが、硝子体網膜界面での変化も臨床上重要な因子の一つであることがわかった。硝子体網膜癒着が AMD の病態に関与するメカニズムはいまだ不明である。実験的に後部硝子体剥離のある眼では網膜前酸素濃度が高いこと[67]が報告されており、硝子体網膜癒着がある眼では相対的に網膜前の酸素濃度が低いことが主要な血管促進因子である VEGF の産生を促進させ、AMD の増悪に関連しているという仮説が有力なもの1つである[66]。本検討で硝子体網膜癒着がある症例では眼内の VEGF 濃度が有意に高かったことはこの仮説

を支持するものと考えられる。硝子体網膜癒着がある症例では、1年に6回のラニズマブ固定投与では視力予後が不良であるが、1年に12回毎月投与すると硝子体網膜癒着がない症例と同程度の視力改善を得ることができるという報告もあり[94]、今後は硝子体網膜癒着の有無に応じて治療戦略を考える必要があると考えられる。

高深達光干渉断層計および超広角走査レーザ検眼鏡を用いた脈絡膜、網膜色素上皮の検討では、CVH所見を有する症例では脈絡膜が広範囲に厚いこと、周辺部網膜色素上皮異常所見を高頻度に呈することが明らかとなり、このCVHを有するAMD症例は黄斑部に限局した病態ではなく、脈絡膜色素上皮の広範囲な異常を背景とする病態ということが示された(図5-1)。

図 4-1 CVH を有する AMD 症例の疾患概念



AMD は 1875 年に報告されて[96]以来、黄斑部に限局した疾患と捉えられてきたが、眼底周辺部まで広がる脈絡膜、網膜色素上皮異常も病態に関与している。

CVH 所見はもともと中心性漿液性脈絡網膜症で報告された所見であるが[77]、中心性漿液性脈絡網膜症においては脈絡膜動脈の流入遅延[89, 90]や脈絡膜中大血管の拡張所見[91]とともに認められることが多い。これらは総じて脈絡膜の循環異常を示していると考えられている。超広角走査レーザ検眼鏡を用いて中心性漿液性脈絡網膜症症例に対してインドシアニングリーン蛍光眼底造影検査を行った報告では、CVH 所見を呈する部位に一致して脈絡膜中大血管の拡張所見が認められ、これらの流出静脈である渦静脈の拡張も認められた[82]。これら

の症例では脈絡膜内の静脈の鬱滞が存在しているのではないかと推測されている。今回の検討では、超広角走査レーザ検眼鏡を用いてインドシアニンググリーン造影検査を行うことはできなかつたため、CVH 所見の部位に一致して脈絡膜が厚くなっているか、または脈絡膜中大血管が拡張しているかなどの検討は十分には行えなかつた。中心性漿液性脈絡網膜症の既往は PCV で頻度が高く [97]、中心性漿液性脈絡網膜症、PCV とともに CVH 所見の頻度が高いことを考え合わせると、CVH 所見を有する AMD 症例のうち多くの症例は中心性漿液性脈絡網膜症と同様の脈絡膜循環異常を背景としていると推察される。AMD 症例の広範囲なインドシアニンググリーン蛍光造影検査を用いた脈絡膜循環のさらなる解析が、CVH 所見を有する AMD 症例の背景病態への解明に重要と考えられた。治療反応に関しては CVH 所見を有する AMD 症例は、抗 VEGF 阻害薬（アフリベルセプト）に抵抗性を示した。これまでに CVH 所見を認める PCV に関しては抗 VEGF 阻害薬のうちラニビズマブに対して治療抵抗性を示すことが報告されていたが [41]、本検討で、PCV に限らず CVH 所見を認める AMD 症例は抗 VEGF 阻害薬（アフリベルセプト）に抵抗性を示すことが明らかとなった。現在臨床使用されている中では最も遅くに使用可能となったアフリベルセプトに関しては CVH 所見と治療成績に関する報告は存在しなかつたが、本検討は

CVH 所見の抗 VEGF 阻害薬への抵抗性をアフリベルプトまで広げる結果となった。今回検討した AMD 症例のうち、実に 4 割弱が CVH を有する症例であり、今後の AMD 診療および病態解明においては CVH の有無に着目し、区別してあたる必要がある。網膜に疾患を有さない白内障症例を用いた検討では、炎症性サイトカインのうち CXCL10、CCL2、CXCL13、CCL1 の濃度が後部硝子体剥離眼では低いこと、脈絡膜厚と眼内 CXCL13 濃度が正の相関を示すことが明らかとなった。また正常剖検眼の組織標本で脈絡膜血管内皮細胞に CXCL13 の局在が認められた。非 AMD 症例での検討であり、結果が AMD での病態解明に結びつけられるものではないが、硝子体網膜癒着および脈絡膜厚と炎症性サイトカインとの関連について初めて明らかにしたものであり、今後の機序の解明に繋がる成果と考えられる。

本研究では、次の 2 点に焦点をあてて検討を重ねてきた。すなわち、1 点目は AMD をこれまでのように黄斑部に限局した疾患としてとらえるのではなく、硝子体網膜界面、広範な脈絡膜および網膜色素上皮異常を背景とした広い範囲の病態ととらえ直すこと、そして、2 点目は研究が進んでいる欧米の白人症例とは様々な点で異なる本邦の AMD 症例の特徴に着目することである。その結果、硝子体網膜癒着は、単独で治療抵抗性に関与することがわかった。日本人 AMD

患者の4割弱を占めるCVH所見を有するAMDはこれまで考えられてきたような黄斑部に限局した疾患ではなく、眼底周辺部まで広がる網膜色素上皮異常、脈絡膜異常を背景とすることが明らかとなった。加えてCVH所見を有するAMD症例は現在の標準治療である抗VEGF阻害薬に抵抗性を示すことが明らかとなり、今後はCVH所見の有無に応じて治療方針も変更する個別化医療への取り組みが必要と考えられる。2008年に抗VEGF療法が承認されて以降、AMD診療は新たな時代に入ったが、依然として病態の完全な制御は難しく、患者のQOLの低下は著しい。欧米での研究成果をそのまま本邦に当てはめるのではなく、また、AMDを眼球広範囲にわたる病態ととらえ直すことで、さらなる病態理解、新たな治療開発につなげるよう今後も継続して研究を続けていきたい。

参考文献

1. Takahashi, K., Ogura, Y., Ishibashi, T., Shiraga, F. and Yuzawa, M. [Treatment guidelines for age-related macular degeneration]. *Nihon Ganka Gakkai Zasshi*. 116,1150-5,2012. [In Japanese]
2. Lim, L. S., Mitchell, P., Seddon, J. M., Holz, F. G. and Wong, T. Y. Age-related macular degeneration. *Lancet*. 379,1728-38,2012.
3. Pascolini, D., Mariotti, S. P., Pokharel, G. P., Pararajasegaram, R., Etya'ale, D., Negrel, A. D. and Resnikoff, S. 2002 global update of available data on visual impairment: a compilation of population-based prevalence studies. *Ophthalmic Epidemiol*. 11,67-115,2004.
4. Congdon, N., O'colmain, B., Klaver, C. C., Klein, R., Munoz, B., Friedman, D. S., Kempen, J., Taylor, H. R. and Mitchell, P. Causes and prevalence of visual impairment among adults in the United States. *Arch Ophthalmol*. 122,477-85,2004.
5. Klein, R. J., Zeiss, C., Chew, E. Y., Tsai, J. Y., Sackler, R. S., Haynes, C., Henning, A. K., Sangiovanni, J. P., Mane, S. M., Mayne, S. T., Bracken, M. B., Ferris, F. L., Ott, J., Barnstable, C. and Hoh, J. Complement factor H polymorphism in age-related macular degeneration. *Science*. 308,385-9,2005.
6. Edwards, A. O., Ritter, R., 3rd, Abel, K. J., Manning, A., Panhuysen, C. and Farrer, L. A. Complement factor H polymorphism and age-related macular degeneration. *Science*. 308,421-4,2005.
7. Haines, J. L., Hauser, M. A., Schmidt, S., Scott, W. K., Olson, L. M., Gallins, P., Spencer, K. L., Kwan, S. Y., Noureddine, M., Gilbert, J. R., Schnetz-Boutaud, N., Agarwal, A., Postel, E. A. and Pericak-Vance, M. A. Complement factor H variant increases the risk of age-related macular degeneration. *Science*. 308,419-21,2005.
8. Yang, Z., Camp, N. J., Sun, H., Tong, Z., Gibbs, D., Cameron, D. J., Chen, H., Zhao, Y., Pearson, E., Li, X., Chien, J., Dewan, A., Harmon, J., Bernstein, P. S., Shridhar, V., Zabriskie, N. A., Hoh, J., Howes, K. and Zhang, K. A variant of the HTRA1 gene increases susceptibility to age-related macular degeneration. *Science*. 314,992-3,2006.
9. Dewan, A., Liu, M., Hartman, S., Zhang, S. S., Liu, D. T., Zhao, C., Tam, P. O., Chan, W. M., Lam, D. S., Snyder, M., Barnstable, C., Pang, C. P. and Hoh, J. HTRA1 promoter polymorphism in wet age-related macular

- degeneration. *Science*. 314,989-92,2006.
10. Maller, J. B., Fagerness, J. A., Reynolds, R. C., Neale, B. M., Daly, M. J. and Seddon, J. M. Variation in complement factor 3 is associated with risk of age-related macular degeneration. *Nat Genet*. 39,1200-1,2007.
 11. Fagerness, J. A., Maller, J. B., Neale, B. M., Reynolds, R. C., Daly, M. J. and Seddon, J. M. Variation near complement factor I is associated with risk of advanced AMD. *Eur J Hum Genet*. 17,100-4,2009.
 12. Reynolds, R., Rosner, B. and Seddon, J. M. Serum lipid biomarkers and hepatic lipase gene associations with age-related macular degeneration. *Ophthalmology*. 117,1989-95,2010.
 13. Neale, B. M., Fagerness, J., Reynolds, R., Sobrin, L., Parker, M., Raychaudhuri, S., Tan, P. L., Oh, E. C., Merriam, J. E., Souied, E., Bernstein, P. S., Li, B., Frederick, J. M., Zhang, K., Brantley, M. A., Jr., Lee, A. Y., Zack, D. J., Campochiaro, B., Campochiaro, P., Ripke, S., Smith, R. T., Barile, G. R., Katsanis, N., Allikmets, R., Daly, M. J. and Seddon, J. M. Genome-wide association study of advanced age-related macular degeneration identifies a role of the hepatic lipase gene (LIPC). *Proc Natl Acad Sci USA*. 107,7395-400,2010.
 14. Chen, W., Stambolian, D., Edwards, A. O., Branham, K. E., Othman, M., Jakobsdottir, J., Tosakulwong, N., Pericak-Vance, M. A., Campochiaro, P. A., Klein, M. L., Tan, P. L., Conley, Y. P., Kanda, A., Kopplin, L., Li, Y., Augustaitis, K. J., Karoukis, A. J., Scott, W. K., Agarwal, A., Kovach, J. L., Schwartz, S. G., Postel, E. A., Brooks, M., Baratz, K. H., Brown, W. L., Complications of Age-Related Macular Degeneration Prevention Trial Research, G., Brucker, A. J., Orlin, A., Brown, G., Ho, A., Regillo, C., Donoso, L., Tian, L., Kaderli, B., Hadley, D., Hagstrom, S. A., Peachey, N. S., Klein, R., Klein, B. E., Gotoh, N., Yamashiro, K., Ferris Iii, F., Fagerness, J. A., Reynolds, R., Farrer, L. A., Kim, I. K., Miller, J. W., Corton, M., Carracedo, A., Sanchez-Salorio, M., Pugh, E. W., Doheny, K. F., Brion, M., Deangelis, M. M., Weeks, D. E., Zack, D. J., Chew, E. Y., Heckenlively, J. R., Yoshimura, N., Iyengar, S. K., Francis, P. J., Katsanis, N., Seddon, J. M., Haines, J. L., Gorin, M. B., Abecasis, G. R. and Swaroop, A. Genetic variants near TIMP3 and high-density lipoprotein-associated loci influence susceptibility to age-related macular degeneration. *Proc*

- Natl Acad Sci U S A.* 107,7401-6,2010.
15. Smith, W., Assink, J., Klein, R., Mitchell, P., Klaver, C. C., Klein, B. E., Hofman, A., Jensen, S., Wang, J. J. and De Jong, P. T. Risk factors for age-related macular degeneration: Pooled findings from three continents. *Ophthalmology.* 108,697-704,2001.
 16. Seddon, J. M., Willett, W. C., Speizer, F. E. and Hankinson, S. E. A prospective study of cigarette smoking and age-related macular degeneration in women. *JAMA.* 276,1141-6,1996.
 17. Chakravarthy, U., Wong, T. Y., Fletcher, A., Piau, E., Evans, C., Zlateva, G., Buggage, R., Pleil, A. and Mitchell, P. Clinical risk factors for age-related macular degeneration: a systematic review and meta-analysis. *BMC Ophthalmol.* 10,31,2010.
 18. Seddon, J. M., Cote, J., Davis, N. and Rosner, B. Progression of age-related macular degeneration: association with body mass index, waist circumference, and waist-hip ratio. *Arch Ophthalmol.* 121,785-92,2003.
 19. Mitchell, P., Smith, W. and Wang, J. J. Iris color, skin sun sensitivity, and age-related maculopathy. The Blue Mountains Eye Study. *Ophthalmology.* 105,1359-63,1998.
 20. Merle, B. M., Delyfer, M. N., Korobelnik, J. F., Rougier, M. B., Malet, F., Feart, C., Le Goff, M., Peuchant, E., Letenneur, L., Dartigues, J. F., Colin, J., Barberger-Gateau, P. and Delcourt, C. High concentrations of plasma n3 fatty acids are associated with decreased risk for late age-related macular degeneration. *J Nutr.* 143,505-11,2013.
 21. Chew, E. Y., Clemons, T. E., Agron, E., Sperduto, R. D., Sangiovanni, J. P., Kurinij, N. and Davis, M. D. Long-term effects of vitamins C and E, beta-carotene, and zinc on age-related macular degeneration: AREDS report no. 35. *Ophthalmology.* 120,1604-11 e4,2013.
 22. Nakata, I., Yamashiro, K., Nakanishi, H., Akagi-Kurashige, Y., Miyake, M., Tsujikawa, A., Matsuda, F. and Yoshimura, N. Prevalence and characteristics of age-related macular degeneration in the Japanese population: the Nagahama study. *Am J Ophthalmol.* 156,1002-1009 e2,2013.
 23. Rosenfeld, P. J., Brown, D. M., Heier, J. S., Boyer, D. S., Kaiser, P. K.,

- Chung, C. Y., Kim, R. Y. and Group, M. S. Ranibizumab for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med.* 355,1419-31,2006.
24. Brown, D. M., Kaiser, P. K., Michels, M., Soubrane, G., Heier, J. S., Kim, R. Y., Sy, J. P., Schneider, S. and Group, A. S. Ranibizumab versus verteporfin for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med.* 355,1432-44,2006.
25. Gragoudas, E. S., Adamis, A. P., Cunningham, E. T., Jr., Feinsod, M., Guyer, D. R. and Group, V. I. S. I. O. N. C. T. Pegaptanib for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med.* 351,2805-16,2004.
26. Group, C. R., Martin, D. F., Maguire, M. G., Ying, G. S., Grunwald, J. E., Fine, S. L. and Jaffe, G. J. Ranibizumab and bevacizumab for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med.* 364,1897-908,2011.
27. Investigators, I. S., Chakravarthy, U., Harding, S. P., Rogers, C. A., Downes, S. M., Lotery, A. J., Wordsworth, S. and Reeves, B. C. Ranibizumab versus bevacizumab to treat neovascular age-related macular degeneration: one-year findings from the IVAN randomized trial. *Ophthalmology.* 119,1399-411,2012.
28. Hayashi, H., Yamashiro, K., Gotoh, N., Nakanishi, H., Nakata, I., Tsujikawa, A., Otani, A., Saito, M., Iida, T., Matsuo, K., Tajima, K., Yamada, R. and Yoshimura, N. CFH and ARMS2 variations in age-related macular degeneration, polypoidal choroidal vasculopathy, and retinal angiomatous proliferation. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 51,5914-9,2010.
29. Kondo, N., Bessho, H., Honda, S. and Negi, A. Complement factor H Y402H variant and risk of age-related macular degeneration in Asians: a systematic review and meta-analysis. *Ophthalmology.* 118,339-44,2011.
30. Yuan, D., Yang, Q., Liu, X., Yuan, S., Xie, P. and Liu, Q. Complement factor H Val62Ile variant and risk of age-related macular degeneration: a meta-analysis. *Mol Vis.* 19,374-83,2013.
31. Obata, R., Yanagi, Y., Kami, J., Takahashi, H., Inoue, Y. and Tamaki, Y. Polypoidal choroidal vasculopathy and retinochoroidal anastomosis in Japanese patients eligible for photodynamic therapy for exudative age-related macular degeneration. *Jpn J Ophthalmol.* 50,354-60,2006.
32. Maruko, I., Iida, T., Saito, M., Nagayama, D. and Saito, K. Clinical characteristics of exudative age-related macular degeneration in

- Japanese patients. *Am J Ophthalmol.* 144,15-22,2007.
33. Sho, K., Takahashi, K., Yamada, H., Wada, M., Nagai, Y., Otsuji, T., Nishikawa, M., Mitsuma, Y., Yamazaki, Y., Matsumura, M. and Uyama, M. Polypoidal choroidal vasculopathy: incidence, demographic features, and clinical characteristics. *Arch Ophthalmol.* 121,1392-6,2003.
 34. Uyama, M., Wada, M., Nagai, Y., Matsubara, T., Matsunaga, H., Fukushima, I., Takahashi, K. and Matsumura, M. Polypoidal choroidal vasculopathy: natural history. *Am J Ophthalmol.* 133,639-48,2002.
 35. Bessho, H., Honda, S., Imai, H. and Negi, A. Natural course and fundusoscopic findings of polypoidal choroidal vasculopathy in a Japanese population over 1 year of follow-up. *Retina.* 31,1598-602,2011.
 36. Honda, S., Kurimoto, Y., Kagotani, Y., Yamamoto, H., Takagi, H. and Uenishi, M. Photodynamic therapy for typical age-related macular degeneration and polypoidal choroidal vasculopathy: a 30-month multicenter study in Hyogo, Japan. *Jpn J Ophthalmol.* 53,593-7,2009.
 37. Gomi, F., Ohji, M., Sayanagi, K., Sawa, M., Sakaguchi, H., Oshima, Y., Ikuno, Y. and Tano, Y. One-year outcomes of photodynamic therapy in age-related macular degeneration and polypoidal choroidal vasculopathy in Japanese patients. *Ophthalmology.* 115,141-6,2008.
 38. Sasahara, M., Tsujikawa, A., Musashi, K., Gotoh, N., Otani, A., Mandai, M. and Yoshimura, N. Polypoidal choroidal vasculopathy with choroidal vascular hyperpermeability. *Am J Ophthalmol.* 142,601-7,2006.
 39. Jirarattanasopa, P., Ooto, S., Nakata, I., Tsujikawa, A., Yamashiro, K., Oishi, A. and Yoshimura, N. Choroidal thickness, vascular hyperpermeability, and complement factor H in age-related macular degeneration and polypoidal choroidal vasculopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 53,3663-72,2012.
 40. Koizumi, H., Yamagishi, T., Yamazaki, T. and Kinoshita, S. Relationship between clinical characteristics of polypoidal choroidal vasculopathy and choroidal vascular hyperpermeability. *Am J Ophthalmol.* 155,305-313 e1,2013.
 41. Cho, H. J., Kim, H. S., Jang, Y. S., Han, J. I., Lew, Y. J., Lee, T. G., Kim, C. G. and Kim, J. W. Effects of choroidal vascular hyperpermeability on anti-vascular endothelial growth factor treatment for polypoidal choroidal

- vasculopathy. *Am J Ophthalmol.* 156,1192-1200 e1,2013.
42. Argon laser photocoagulation for neovascular maculopathy. Three-year results from randomized clinical trials. Macular Photocoagulation Study Group. *Arch Ophthalmol.* 104,694-701,1986.
 43. Yannuzzi, L. A. Indocyanine green angiography: a perspective on use in the clinical setting. *Am J Ophthalmol.* 151,745-751 e1,2011.
 44. Quaranta-El Maftouhi, M. and Mauget-Faysse, M. Anomalous vitreoretinal adhesions in patients with exudative age-related macular degeneration: an OCT study. *Eur J Ophthalmol.* 16,134-7,2006.
 45. Krebs, I., Brannath, W., Glittenberg, C., Zeiler, F., Sebag, J. and Binder, S. Posterior vitreomacular adhesion: a potential risk factor for exudative age-related macular degeneration? *Am J Ophthalmol.* 144,741-746,2007.
 46. Robison, C. D., Krebs, I., Binder, S., Barbazetto, I. A., Kotsolis, A. I., Yannuzzi, L. A., Sadun, A. A. and Sebag, J. Vitreomacular adhesion in active and end-stage age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol.* 148,79-82 e2,2009.
 47. Tan, C. S., Heussen, F. and Sadda, S. R. Peripheral autofluorescence and clinical findings in neovascular and non-neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmology.* 120,1271-7,2013.
 48. Nomura, Y., Ueta, T., Iriyama, A., Inoue, Y., Obata, R., Tamaki, Y., Yamaguchi, T. and Yanagi, Y. Vitreomacular interface in typical exudative age-related macular degeneration and polypoidal choroidal vasculopathy. *Ophthalmology.* 118,853-9,2011.
 49. Bishop, P. The biochemical structure of mammalian vitreous. *Eye (Lond).* 10 (Pt 6),664-70,1996.
 50. Hikichi, T., Akiba, J., Ueno, N., Yoshida, A. and Chakrabarti, B. Cross-linking of vitreous collagen and degradation of hyaluronic acid induced by bilirubin-sensitized photochemical reaction. *Jpn J Ophthalmol.* 41,154-9,1997.
 51. Sebag, J. Anomalous posterior vitreous detachment: a unifying concept in vitreo-retinal disease. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 42,690-8,2004.
 52. Avunduk, A. M., Cetinkaya, K., Kapicioglu, Z. and Kaya, C. The effect of posterior vitreous detachment on the prognosis of branch retinal vein

- occlusion. *Acta Ophthalmol Scand.* 75,441-2,1997.
53. Kado, M., Jalkh, A. E., Yoshida, A., Takahashi, M., Wazen, N., Trempe, C. L. and Schepens, C. L. Vitreous changes and macular edema in central retinal vein occlusion. *Ophthalmic Surg.* 21,544-9,1990.
54. Ebato, K. and Kishi, S. Spontaneous closure of macular hole after posterior vitreous detachment. *Ophthalmic Surg Lasers.* 31,245-7,2000.
55. Nasrallah, F. P., Jalkh, A. E., Van Coppenolle, F., Kado, M., Trempe, C. L., Mcmeel, J. W. and Schepens, C. L. The role of the vitreous in diabetic macular edema. *Ophthalmology.* 95,1335-9,1988.
56. Weber-Krause, B. and Eckardt, U. [Incidence of posterior vitreous detachment in eyes with and without age-related macular degeneration. An ultrasonic study]. *Ophthalmologe.* 93,660-5,1996.
57. Ondes, F., Yilmaz, G., Acar, M. A., Unlu, N., Kocaoglan, H. and Arsan, A. K. Role of the vitreous in age-related macular degeneration. *Jpn J Ophthalmol.* 44,91-3,2000.
58. Chen, M., Forrester, J. V. and Xu, H. Dysregulation in retinal para-inflammation and age-related retinal degeneration in CCL2 or CCR2 deficient mice. *PLoS One.* 6,e22818,2011.
59. Chen, M., Hombrebueno, J. R., Luo, C., Penalva, R., Zhao, J., Colhoun, L., Pandi, S. P., Forrester, J. V. and Xu, H. Age- and light-dependent development of localised retinal atrophy in CCL2(-/-)CX3CR1(GFP/GFP) mice. *PLoS One.* 8,e61381,2013.
60. Cruz-Guilloty, F., Saeed, A. M., Echegaray, J. J., Duffort, S., Ballmick, A., Tan, Y., Betancourt, M., Viteri, E., Ramkhellawan, G. C., Ewald, E., Feuer, W., Huang, D., Wen, R., Hong, L., Wang, H., Laird, J. M., Sene, A., Apte, R. S., Salomon, R. G., Hollyfield, J. G. and Perez, V. L. Infiltration of proinflammatory m1 macrophages into the outer retina precedes damage in a mouse model of age-related macular degeneration. *Int J Inflam.* 2013,503725,2013.
61. Hollyfield, J. G., Bonilha, V. L., Rayborn, M. E., Yang, X., Shadrach, K. G., Lu, L., Ufret, R. L., Salomon, R. G. and Perez, V. L. Oxidative damage-induced inflammation initiates age-related macular degeneration. *Nat Med.* 14,194-8,2008.
62. Ma, W., Zhao, L. and Wong, W. T. Microglia in the outer retina and their

- relevance to pathogenesis of age-related macular degeneration. *Adv Exp Med Biol.* 723,37-42,2012.
63. Tano, Y., Ohji, M., Ishibashi, T., Shiraga, F., Tokoro, T., Yuzawa, M. and Yoshimura, N. [Re-treatment guideline of ranibizumab (genetical recombination) in the maintenance phase]. *Nihon Ganka Gakkai Zasshi.* 113,1098-103,2009. [In Japanese]
64. Nomura, Y., Takahashi, H., Tan, X., Fujimura, S., Obata, R. and Yanagi, Y. Effects of vitreomacular adhesion on ranibizumab treatment in Japanese patients with age-related macular degeneration. *Jpn J Ophthalmol.* 58,443-7,2014.
65. Takahashi, H., Nomura, Y., Tan, X., Fujino, Y., Kawashima, H. and Yanagi, Y. Effects of posterior vitreous detachment on aqueous humor levels of VEGF and inflammatory cytokines. *Br J Ophthalmol.* 2015 in press.
66. Simpson, A. R., Petrarca, R. and Jackson, T. L. Vitreomacular adhesion and neovascular age-related macular degeneration. *Surv Ophthalmol.* 57,498-509,2012.
67. Quiram, P. A., Leverenz, V. R., Baker, R. M., Dang, L., Giblin, F. J. and Trese, M. T. Microplasmin-induced posterior vitreous detachment affects vitreous oxygen levels. *Retina.* 27,1090-6,2007.
68. Shweiki, D., Itin, A., Soffer, D. and Keshet, E. Vascular endothelial growth factor induced by hypoxia may mediate hypoxia-initiated angiogenesis. *Nature.* 359,843-5,1992.
69. Aiello, L. P., Avery, R. L., Arrigg, P. G., Keyt, B. A., Jampel, H. D., Shah, S. T., Pasquale, L. R., Thieme, H., Iwamoto, M. A., Park, J. E. and Et Al. Vascular endothelial growth factor in ocular fluid of patients with diabetic retinopathy and other retinal disorders. *N Engl J Med.* 331,1480-7,1994.
70. Fujimura, S., Takahashi, H., Yuda, K., Ueta, T., Iriyama, A., Inoue, T., Kaburaki, T., Tamaki, Y., Matsushima, K. and Yanagi, Y. Angiostatic effect of CXCR3 expressed on choroidal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 53,1999-2006,2012.
71. Mo, F. M., Proia, A. D., Johnson, W. H., Cyr, D. and Lashkari, K. Interferon gamma-inducible protein-10 (IP-10) and eotaxin as biomarkers in age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci.*

- 51,4226-36,2010.
72. Yamada, K., Sakurai, E., Itaya, M., Yamasaki, S. and Ogura, Y. Inhibition of laser-induced choroidal neovascularization by atorvastatin by downregulation of monocyte chemoattractant protein-1 synthesis in mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 48,1839-43,2007.
73. Agawa, T., Usui, Y., Wakabayashi, Y., Okunuki, Y., Juan, M., Umazume, K., Kezuka, T., Takeuchi, M., Yamauchi, Y. and Goto, H. Profile of intraocular immune mediators in patients with age-related macular degeneration and the effect of intravitreal bevacizumab injection. *Retina.* 34,1811-8,2014.
74. Holtkamp, G. M., Kijlstra, A., Peek, R. and De Vos, A. F. Retinal pigment epithelium-immune system interactions: cytokine production and cytokine-induced changes. *Prog Retin Eye Res.* 20,29-48,2001.
75. Xu, H., Chen, M. and Forrester, J. V. Para-inflammation in the aging retina. *Prog Retin Eye Res.* 28,348-68,2009.
76. Bhutto, I. A., Baba, T., Merges, C., Juriasinghani, V., McLeod, D. S. and Lutty, G. A. C-reactive protein and complement factor H in aged human eyes and eyes with age-related macular degeneration. *Br J Ophthalmol.* 95,1323-30,2011.
77. Piccolino, F. C. and Borgia, L. Central serous chorioretinopathy and indocyanine green angiography. *Retina.* 14,231-42,1994.
78. Copete, S., Flores-Moreno, I., Montero, J. A., Duker, J. S. and Ruiz-Moreno, J. M. Direct comparison of spectral-domain and swept-source OCT in the measurement of choroidal thickness in normal eyes. *Br J Ophthalmol.* 98,334-8,2014.
79. Ikuno, Y., Maruko, I., Yasuno, Y., Miura, M., Sekiryu, T., Nishida, K. and Iida, T. Reproducibility of retinal and choroidal thickness measurements in enhanced depth imaging and high-penetration optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 52,5536-40,2011.
80. Miyake, M., Tsujikawa, A., Yamashiro, K., Ooto, S., Oishi, A., Tamura, H., Nakata, I., Matsuda, F. and Yoshimura, N. Choroidal neovascularization in eyes with choroidal vascular hyperpermeability. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 55,3223-30,2014.
81. Nomura, Y., Takahashi, H., Tan, X., Obata, R. and Yanagi, Y. Widespread

- choroidal thickening and abnormal mid-peripheral fundus autofluorescence characterize exudative age-related macular degeneration with choroidal vascular hyperpermeability. *Clin Ophthalmol.* 2015 in press.
82. Pang, C. E., Shah, V. P., Sarraf, D. and Freund, K. B. Ultra-widefield imaging with autofluorescence and indocyanine green angiography in central serous chorioretinopathy. *Am J Ophthalmol.* 158,362-371 e2,2014.
83. Mazzucchelli, L., Blaser, A., Kappeler, A., Scharli, P., Laissue, J. A., Baggiolini, M. and Ugucioni, M. BCA-1 is highly expressed in Helicobacter pylori-induced mucosa-associated lymphoid tissue and gastric lymphoma. *J Clin Invest.* 104,R49-54,1999.
84. Shi, K., Hayashida, K., Kaneko, M., Hashimoto, J., Tomita, T., Lipsky, P. E., Yoshikawa, H. and Ochi, T. Lymphoid chemokine B cell-attracting chemokine-1 (CXCL13) is expressed in germinal center of ectopic lymphoid follicles within the synovium of chronic arthritis patients. *J Immunol.* 166,650-5,2001.
85. Takemura, S., Braun, A., Crowson, C., Kurtin, P. J., Cofield, R. H., O'fallon, W. M., Goronzy, J. J. and Weyand, C. M. Lymphoid neogenesis in rheumatoid synovitis. *J Immunol.* 167,1072-80,2001.
86. Amft, N., Curnow, S. J., Scheel-Toellner, D., Devadas, A., Oates, J., Crocker, J., Hamburger, J., Ainsworth, J., Mathews, J., Salmon, M., Bowman, S. J. and Buckley, C. D. Ectopic expression of the B cell-attracting chemokine BCA-1 (CXCL13) on endothelial cells and within lymphoid follicles contributes to the establishment of germinal center-like structures in Sjogren's syndrome. *Arthritis Rheum.* 44,2633-41,2001.
87. Salomonsson, S., Larsson, P., Tengner, P., Mellquist, E., Hjelmstrom, P. and Wahren-Herlenius, M. Expression of the B cell-attracting chemokine CXCL13 in the target organ and autoantibody production in ectopic lymphoid tissue in the chronic inflammatory disease Sjogren's syndrome. *Scand J Immunol.* 55,336-42,2002.
88. Warrow, D. J., Hoang, Q. V. and Freund, K. B. Pachychoroid pigment epitheliopathy. *Retina.* 33,1659-72,2013.
89. Prunte, C. Indocyanine green angiographic findings in central serous

- chorioretinopathy. *Int Ophthalmol.* 19,77-82,1995.
90. Kitaya, N., Nagaoka, T., Hikichi, T., Sugawara, R., Fukui, K., Ishiko, S. and Yoshida, A. Features of abnormal choroidal circulation in central serous chorioretinopathy. *Br J Ophthalmol.* 87,709-12,2003.
91. Imamura, Y., Fujiwara, T., Margolis, R. and Spaide, R. F. Enhanced depth imaging optical coherence tomography of the choroid in central serous chorioretinopathy. *Retina.* 29,1469-73,2009.
92. Lee, S. J., Lee, C. S. and Koh, H. J. Posterior vitreomacular adhesion and risk of exudative age-related macular degeneration: paired eye study. *Am J Ophthalmol.* 147,621-626 e1,2009.
93. Mojana, F., Cheng, L., Bartsch, D. U., Silva, G. A., Kozak, I., Nigam, N. and Freeman, W. R. The role of abnormal vitreomacular adhesion in age-related macular degeneration: spectral optical coherence tomography and surgical results. *Am J Ophthalmol.* 146,218-227,2008.
94. Mayr-Sponer, U., Waldstein, S. M., Kundi, M., Ritter, M., Golbaz, I., Heiling, U., Papp, A., Simader, C. and Schmidt-Erfurth, U. Influence of the vitreomacular interface on outcomes of ranibizumab therapy in neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmology.* 120,2620-9,2013.
95. Uney, G. O., Unlu, N., Acar, M. A., Hazirolan, D., Altiparmak, U. E., Yalniz-Akkaya, Z. and Ornek, F. Role of posterior vitreous detachment on outcome of anti-vascular endothelial growth factor treatment in age-related macular degeneration. *Retina.* 34,32-7,2014.
96. Nomura, Y., Tamaki, Y. and Yanagi, Y. Vitreopapillary traction diagnosed by spectral domain optical coherence tomography. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging.* 41,S74-6,2010.
97. Ueta, T., Obata, R., Inoue, Y., Iriyama, A., Takahashi, H., Yamaguchi, T., Tamaki, Y. and Yanagi, Y. Background comparison of typical age-related macular degeneration and polypoidal choroidal vasculopathy in Japanese patients. *Ophthalmology.* 116,2400-6,2009.

謝辞

研究の機会を与えてくださり、終始御懇意なる御指導、御鞭撻を賜った東京大学大学院医学系研究科 外科学専攻感覚運動機能医学講座 眼科学分野 天野史郎前教授および加藤聡准教授に心より感謝申し上げます。

研究は主に東京大学大学院医学系研究科外科学専攻感覚運動機能医学講座眼科学にて行いました。本研究において東京大学大学院医学系研究科 外科学専攻感覚運動機能医学講座 眼科学分野 柳靖雄講師には終始御懇意なる御指導、有益な助言、御鞭撻を賜り厚く感謝申し上げます。

また共同研究を快く引き受けてくださった自治医科大学 眼科学講座 川島 秀俊教授、高橋秀徳講師、JCHO 東京新宿メディカルセンター 眼科 藤野 雄次郎主任部長に深謝致します。

本研究に際して数々の御助言、御協力をいただきました東京大学大学院医学系研究科外科学専攻感覚運動機能医学講座眼科学分野 小畑 亮先生、藤村 茂人先生、譚 雪先生を始め御指導下さいました皆様に厚く御礼申し上げます。