

第 115 回 日本眼科学会総会 評議員会指名講演 I

緑内障研究の進歩

原発開放隅角緑内障(広義)への挑戦
—臨床的諸問題とその科学的解決—

杉山 和久

金沢大学医薬保健学域医学系視覚科学分野

共同研究者

東出 朋巳, 大久保真司, 新田 耕治, 武田 久, 奥田 徹彦, 桜井真由美
長田 敦, 斎藤代志明, 高橋 真美, 前田 有, 辻屋 壮介, 室谷 英治
若林 祐佳, 高 延琳, 中谷 雄介, 馬渡 嘉郎, 川口 一郎, 川口 千晶

(金沢大学医薬保健学域医学系視覚科学分野)

岡村 均(京都大学大学院薬学研究科医薬創成情報科学講座)

可児 一孝(九州保健福祉大学)

樋田 一徳(川崎医科大学解剖学)

岩瀬 愛子(たじみ岩瀬眼科)

川瀬 和秀(岐阜大学医学部眼科学教室)

兼子 博章, 福平由佳子(帝人株式会社新事業開発グループ融合技術研究所)

要 約

原発開放隅角緑内障(primary open-angle glaucoma : POAG)(広義)は, 我が国での有病率が 3.9% で緑内障全体(有病率 5%)の約 8 割を占める. POAG(広義)の臨床的問題点を病態, 眼圧, 薬物治療, 神経保護, 手術の各分野から抽出し, 科学的手法を用いて解決を試みた.

POAG(広義)の病態解明の糸口として, 網膜神経線維層欠損(nerve fiber layer defect : NFLD)と乳頭出血(disc hemorrhage : DH)の關係に着目した. NFLD を明瞭に確認できる正常眼圧緑内障(normal-tension glaucoma : NTG)を対象に, 経時的に NFLD 角度を測定し, 拡大群と不変群の長期経過の差異を, DH の出現, 視野障害の進行から解析した. その結果, NFLD 拡大群のほうが有意に DH の頻度が高く, 視野障害の進行を認めた. DH はそのほとんどが NFLD の境界近傍に生じ, NFLD は DH を来した方向に拡大し, しかも黄斑側に拡大しやすい. DH は NFLD が拡大する際に毛細血管網が破綻して境界線に沿って出現する可能性が高い. NFLD の境界線が早期緑内障での進行の Active site と考えられる.

病態の新しい評価法として, 三次元光干渉断層計(optical coherence tomography : OCT)と眼底像視野計を

組み合わせた OCT 対応眼底像視野計を考案し, 緑内障性視神経症の構造と機能の關係を検討した. 緑内障早期例では, NFLD の境界線付近で視野の感度が低下し, その部位の網膜神経線維層が薄く, DH の好発部位と一致する.

眼圧日内変動はなぜ生じるのかを解明するため, 時計遺伝子である *Cry 1*, *Cry 2* 遺伝子ダブルノックアウトマウスを作製し, 眼圧日内変動を測定した. Wild-type マウスは 12 時間明暗, 恒暗条件で眼圧の二相性の変動を示したが, *Cry 1*, *Cry 2* 遺伝子ダブルノックアウトマウスでは, 明暗, 恒暗のどちらの条件下でも有意な眼圧変動が認められなかった. マウス眼圧の日内変動が時計遺伝子による中枢時計の支配を受けている. また, 中枢時計のサーカディアンリズムは交感神経を介して眼圧日内変動に影響を与えることが報告されている.

患者の眼圧日内変動をある程度予測できないかと考え, 検査入院で連続 2 日間の眼圧日内変動を測定した NTG 患者において, 眼圧日内変動と交感神経 α および β 受容体遺伝子の多型の關係を解析した. 日内眼圧レベルが, $\alpha 2B$ の Del301-303, $\alpha 2C$ の Del322-325, $\beta 1$ の S49G の遺伝子型により有意に異なるという結果が得られた.

別刷請求先 : 920-8641 金沢市宝町 13-1 金沢大学医薬保健学域医学系視覚科学分野 杉山 和久
(平成 23 年 10 月 13 日受付, 平成 23 年 11 月 9 日改訂受理)

Reprint requests to : Kazuhisa Sugiyama, M. D. Department of Ophthalmology & Visual Science, Kanazawa University Graduate School of Medical Science. 13-1 Takara-machi, Kanazawa-shi, Ishikawa-ken 920-8641, Japan
(Received October 13, 2011 and accepted in revised form November 9, 2011)

薬物治療のテーラーメイド化を目指して、健常人のラタノプロストによる眼圧下降作用がプロスタグランジン FP 受容体遺伝子の一塩基多型 (single nucleotide polymorphism: SNP) と関連があるかどうかを解析した。プロモーター領域の rs3753380, および第 1 イントロンの rs3766355 において遺伝子型と眼圧下降作用の間に有意な関連がみられた。

ラタノプロストによる眼圧反応性に関して健常人を対象に片眼トライアルの有用性を検証した。その結果、両眼トライアルでは左右眼の眼圧は同様に変動するが、点眼前後の 1 日のみ眼圧測定を行う片眼トライアルでは他眼の眼圧反応を予測することは難しいことが判明した。そこで、POAG (広義) 患者で点眼前後にそれぞれ日を変えて 2 回の眼圧測定を行う片眼トライアルを実施したところ、他眼の眼圧反応と有意に相関した。

神経保護薬の評価系の確立を目指して、ラットの網膜神経節細胞、網膜神経線維層、網膜内層などの生体観察、定量的評価を行った。生体観察ラット網膜神経節細胞の細胞体は、蛍光色素で逆行染色した後に走査レーザー検眼鏡によって *in vivo* で観察可能であり、視神経挫滅モデルにおいて変化を定量的に評価した。同時にラット専用の OCT を開発し、視神経挫滅モデルにおいて網膜神

経線維層の変化を生体で経時的、定量的に観察した。OCT で測定した網膜神経線維層厚は同一眼の組織切片における網膜神経線維層厚と有意に相関した。

線維柱帯切除術では術中のマイトマイシン C (MMC) 使用が濾過胞存続のための標準術式となっているが、房水漏出や晩期濾過胞感染の原因となる無血管性濾過胞の形成が大きな問題となっている。そこで、新しい方法として片面にハニカム構造を持ち裏面は平滑面である生体適合性素材の乳酸カプロラクトン共重合体から作られたフィルムの有用性をウサギ全層濾過手術モデルで検討した。その結果、フィルムの単独使用の場合、ハニカム面が濾過胞内壁を裏打ちし、平滑面が濾過胞の癒着を防ぎ、MMC と同等の濾過胞維持効果を示した。(日眼会誌 116: 233-268, 2012)

キーワード：原発開放隅角緑内障 (広義), 正常眼圧緑内障, 乳頭出血, 網膜神経線維層欠損, スペクトラルドメイン光干渉断層計, 眼底像視野計, 眼圧日内変動, 時計遺伝子, テーラーメイド薬物治療, 片眼トライアル, 走査レーザー検眼鏡, ラット専用光干渉断層計, 緑内障濾過手術, ハニカムフィルム

A Review

A Challenge to Primary Open-angle Glaucoma including Normal-pressure —Clinical Problems and their Scientific Solution

Kazuhiya Sugiyama

Department of Ophthalmology & Visual Science, Kanazawa University Graduate School of Medical Science

Abstract

Primary open-angle glaucoma (POAG), including normal-tension glaucoma (NTG), is reported by the Tajimi Study to afflict 3.9% of the total population, and this represents about 80% of all total glaucoma cases which, in total, afflict 5.0% of the population. We tried to analyze the clinical problems relating to POAG by looking at the pathogenesis, intraocular pressure (IOP), therapy, neuroprotection and surgery of the disease.

To elucidate the pathogenesis of glaucoma progression, we measured retinal nerve fiber layer defect (RNFLD) angles, and divided the NTG cases into 2 groups, enlarged RNFLD and stable RNFLD. Disc hemorrhages were found to be significantly more frequent in the enlarged group than in the stable group. RNFLD was enlarged in the direction of disc hemorrhage in over 80% of the eyes. In the majority of the eyes of the enlarged group, the enlargement of RNFLD was toward the fovea. The enlargement of RNFLD in NTG was closely associated with disc

hemorrhage and the deterioration of the visual field.

We developed a simultaneous structure and function evaluation technique combining spectral-domain (SD) optical coherence tomography (OCT) and fundus-oriented perimeters for the detection of visual field abnormalities in the RNFLD area. We superimposed the ganglion cell complex map obtained by SD-OCT on the fundus-oriented perimeter image. We observed very early or preperimetric normal pressure glaucoma as well as disc hemorrhage adjacent to the borders of the RNFLD. The borderline of the RNFLD seemed to be the thinnest RNFL and had the lowest retinal sensitivity (Active site for RNFLD progression).

To clarify the role of the circadian clock genes in the generation of a 24-hour IOP rhythm, we used the microneedle method to measure the IOP at eight time points daily, both in wild type mice and *Cry*-deficient (*Cry1^{-/-}Cry2^{-/-}*) mice. In the wild-type mice living in light-dark conditions, the pressure measured in the

light phase was significantly lower than in the dark phase. This biphasic daily rhythm was maintained under dark-dark conditions. In contrast, the *Cry*-deficient mice did not show significant circadian changes in their IOP, regardless of the environmental light conditions. These findings demonstrate that clock genes are essential for the generation of the circadian rhythm of IOP.

We evaluated the relationship between the genetic polymorphisms of the adrenergic receptor (ADR) and the diurnal IOP in untreated NTG patients. For Del 301-303 in $\alpha 2B$ -ADR, Del322-325 in $\alpha 2C$ -ADR, and S 49G (A/G) in $\beta 1$ -ADR, the major homozygotes and minor carriers had parallel diurnal IOP curves, but significantly different diurnal IOP levels. Polymorphisms of the ADR gene may predict the diurnal IOP level of patients with NTG.

Looking toward the future, tailor-made medicine in glaucoma therapy, we evaluated the relationship between the polymorphisms of the prostaglandin $F_{2\alpha}$ receptor (FP receptor) gene and the effectiveness of topical latanoprost treatment in 100 normal volunteers. One SNP (rs3753380) was located in the promoter region of the FP receptor gene and was significantly correlated with % IOP reduction. Two SNPs, rs3753380 and rs3766355 (an SNP in intron 1), were associated with the degree of response to latanoprost. The genotype of these SNPs may be an important determinant of variability in response to latanoprost.

To investigate the predictability of IOP response of the fellow eye in a one-eye trials, we compared the correlation of the fellow-eye's IOP response in one-eye trials performed separately for each eye with that of bilateral treatment in 41 normal subjects. Correlation of mean diurnal IOP reduction between 2 one-eye trials was poor ($r^2=0.102$), even after subtracting the nontreated eye IOP fluctuations from the treated eye IOPs ($r^2=0.097$), but that between fellow eyes in bilateral treatment was excellent ($r^2=0.849$).

Therefore, we examined the effects of multiple IOP measurements on the correlation of response to glaucoma medication between fellow eyes. Latanoprost was applied to the first eye and then to both eyes of POAG or ocular hypertension patients. IOP measurements were performed twice on different days at baseline, during treatment of the first eye only and for both eyes. No significant correlations of

$\Delta IOP 1$ (IOP at baseline-IOP after treatment) between fellow eyes were found. $\Delta IOP 2$ ($\Delta IOP 1$ -IOP fluctuation of the contralateral eye) was significantly correlated between the fellow eyes using two post-treatment IOP measurements. Using multiple IOP measurements may improve the prediction of a fellow eye's response to glaucoma medication in one-eye trials.

We used a scanning laser ophthalmoscope (SLO) for *in vivo* imaging and counting of rat retinal ganglion cells (RGCs). RGC survival decreased gradually after crushing the optic nerve. RGC counts by SLO were comparable to those in retinal flat mounts. We developed OCT system for rat eyes. The mean retinal nerve fiber layer (RNFL) thicknesses in the circumpapillary OCT scans were unchanged 1 week after crushing the optic nerve, but then decreased significantly and progressively after the second week. RNFL thicknesses in OCT images correlated significantly with thicknesses determined histologically. SLO and OCT will be useful for evaluating the effects of neuroprotective drugs.

We developed a new glaucoma filtration surgery system using a thin honeycomb-patterned biodegradable film in rabbits. The film had a honeycomb-patterned surface that faced the subconjunctival Tenon tissue, while the other side was smooth. Postoperative IOPs of the film-treated eyes were significantly lower than those of the control eyes, but were not significantly different from those of the MMC-treated eyes. The thin honeycomb-patterned film that was attached to the inner bleb wall worked as an adhesion barrier in glaucoma filtration surgery in rabbits.

Nippon Ganka Gakkai Zasshi (J Jpn Ophthalmol Soc) 116 : 233-268, 2012.

Key words : Primary open-angle glaucoma, Normal-tension glaucoma, Disc hemorrhage, Retinal nerve fiber layer defect, Spectral-domain optical coherence tomography (Spectral-domain OCT), Fundus-oriented perimeter, Diurnal intraocular pressure rhythm, Circadian clock gene, Tailor-made medicine, One-eye trial, Scanning laser ophthalmoscope, OCT system for rat eye, Glaucoma filtration surgery, Honeycomb film

I 緒 言

従来までの狭義の原発開放隅角緑内障(primary open-angle glaucoma : POAG)は、緑内障性視神経乳頭変化

とそれに対応する緑内障性視野変化を有し、正常開放隅角、高眼圧(通常 22 mmHg 以上)であり、かつ視神経乳頭の緑内障様変化を惹起しうる局所的、全身的疾患がない状態と定義されていた。一方、正常眼圧緑内障(nor-

mal-tension glaucoma : NTG) は、高眼圧の存在を欠く以外は原発開放隅角緑内障とまったく同じ状態と定義されていた。原発開放隅角緑内障と正常眼圧緑内障の緑内障性視神経症には質的な相違はなく、また、原発開放隅角緑内障と正常眼圧緑内障の差異は眼圧のカットオフ値 (21 mmHg を超える、または 21 mmHg 以下) のみに依存し、しかも、眼圧自体が日内変動、日々変動、季節変動などにより値が変動しやすく^{1)~4)}、原発開放隅角緑内障と正常眼圧緑内障ともに眼圧が主要な危険因子であること^{5)~8)}などの事実により、両者は一連の疾患スペクトルに包括される同一の疾患群と考えるほうが妥当である。本稿では、日本緑内障学会の緑内障診療ガイドラインに準じて⁹⁾、POAG と NTG を一括した概念として POAG (広義) と定義した。なお多治見スタディ¹⁰⁾¹¹⁾によれば、POAG (広義) の 40 歳以上の日本人での有病率は 3.9% (うち NTG は 3.6%) で緑内障全体の有病率 5.0% のほぼ 8 割を占め、緑内障の中で最もメジャーな疾患である。

著者らのグループは、POAG (広義) の病態、眼圧、薬物治療、神経保護、手術において重要と思われる臨床的諸問題を抽出し、科学的アプローチにより問題点の本態を解明し、解決策を模索した。これは、日常診療で遭遇

する臨床的問題点を科学的手法によって解決する形で研究し、その成果を臨床に還元して「より良い臨床」を目指すという基本的理念に基づいた研究である。

II 緑内障性視神経症の進行のメカニズムとその評価

POAG (広義) の臨床所見の特徴は、「緑内障性視神経症 (glaucomatous optic neuropathy : GON) とそれに対応する視野変化」につきる。GON を引き起こす第一の原因は慢性的な眼圧上昇で、これによって視神経乳頭の篩状板は後方へ湾曲し、篩状板において網膜神経線維 (網膜神経節細胞の軸索) が周囲のグリアなどの支持組織や血管組織とともに障害され、軸索輸送障害などが起こり網膜神経節細胞の細胞死 (アポトーシス) を来すと考えられている。そして、網膜神経線維が進行性に脱落し、特徴的な視神経乳頭陥凹の拡大 (乳頭縁の菲薄化) や網膜神経線維層欠損が生じる。これが GON の病態であり、サル慢性高眼圧モデルで実験的に GON を再現することができる (図 1)。しかし、NTG においても高眼圧眼と同様の視神経の特徴的構造異常 (GON) が生じる。最近になり、NTG では脳脊髄圧が低い可能性が指摘され

正常視神経乳頭

緑内障性視神経乳頭

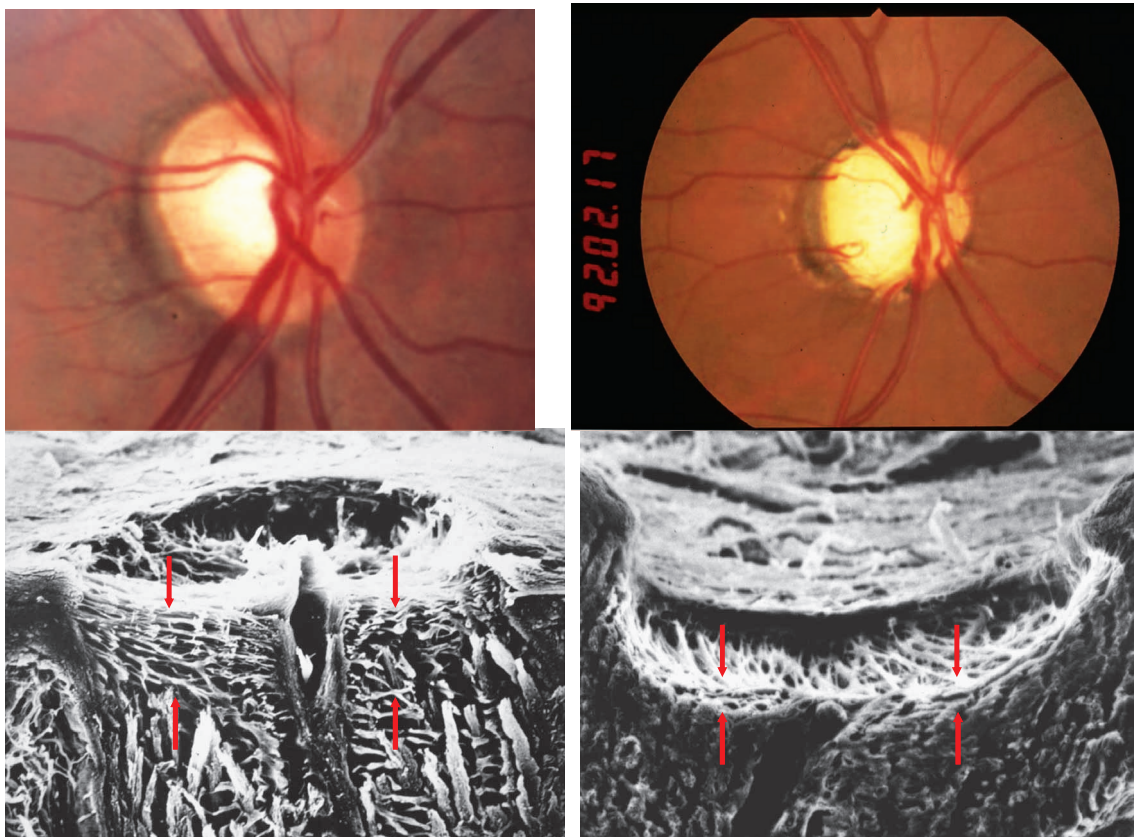


図 1 正常および緑内障性視神経乳頭。

正常視神経乳頭 (人) と緑内障性視神経乳頭 (人) の眼底写真およびサル眼のトリプシン消化標本の正常および実験緑内障を示す。実験緑内障サル眼では、篩状板が後方へ湾曲し、圧平された所見がみられる (矢印)。

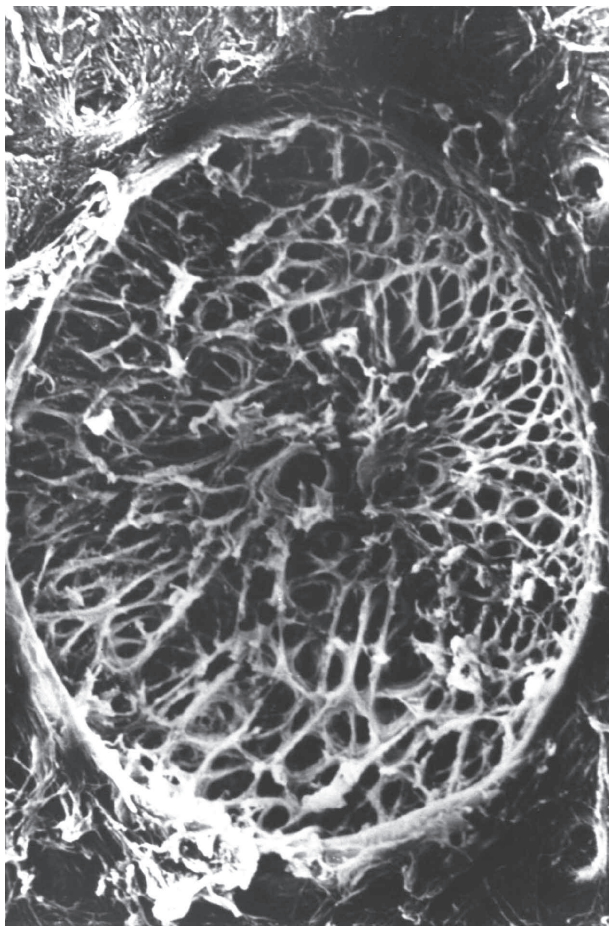


図 2 正常サル眼のトリプシン消化標本。

篩状板の上極および下極では篩状板孔の径が大きい。また、篩状板の水平方向では篩状板孔の径が小さい。

ており¹²⁾¹³⁾、篩状板での眼圧と脳脊髄圧の圧勾配(trans-laminar pressure difference)によって、眼圧が正常域でも GON が発症することが説明されている。

網膜神経線維層のなかで弓状神経線維の部位は、緑内障の早期から網膜神経線維の脱落、乳頭縁の菲薄化がみられることから、GON に対して最も脆弱な部位と考えられている。これには、乳頭の上下方向では篩状板孔がより大きいこと(図 2)、つまり篩状板の結合組織による支持構造が疎であることが関係していると考えられている。GON によって視神経乳頭の上下極付近に入る弓状神経線維がより早期から障害されることから、緑内障性視野障害はそれを反映した特徴(傍中心、鼻側階段状の視野欠損)を持つことになる。

1. 乳頭出血と網膜神経線維層欠損の拡大

NTG がどのように発症してくるか、すなわち、眼圧が正常でかつ正常の視神経乳頭がどのようにして緑内障性視神経乳頭に変化していくのかは、実験モデルもなくまったく解明されていないのが現状である。我々は正常眼から NTG をまさに発症しつつある無治療症例を経験した。視神経乳頭、視野も正常な眼が乳頭出血(disc hemorrhage: DH)を繰り返しながら、線上の網膜神経

線維層欠損(nerve fiber layer defect: NFLD)を形成していく過程を連続写真で捉えた(症例 1: 図 3)。その後 NFLD が観察されても Humphrey 自動視野計では異常を捉えることができず、preperimetric glaucoma の状態に移行した。さらにこの症例は DH を繰り返しながら preperimetric glaucoma から構造的異常(NFLD)に対応する機能的異常(視野欠損)が出現する NTG へと緑内障性視神経障害が進展していった。この症例から、NTG の発症に DH および NFLD が深く関与する可能性があると思われる。しかし、実際の臨床現場では初診時に既に NTG を発症した症例がほとんどであるので、DH や NFLD の NTG 発症における関与を検討することは困難である。De Moraes CG ら¹⁴⁾は、POAG を治療中眼圧 15 mmHg で 2 つのグループに分け、眼圧が 15 mmHg 以下の症例で、DH が視野障害進行と関連があったと報告している。また Kitazawa ら¹⁵⁾も、DH の頻度は NTG のほうが、狭義 POAG より有意に高率であると報告した。このように DH は眼圧が低くても出現することが多く、緑内障進行と強い関連性を認めるので、我々は NTG の進行における DH や NFLD のかわりについて検討した。

緑内障において機能的変化より先行するといわれる構造的変化の一つとしての NFLD を定量化するために、我々は NFLD の幅を角度として測定する方法を考案した¹⁶⁾。その方法は、カラー眼底写真を青成分のみを抽出した白黒写真に加工し、乳頭中心と中心窩を結ぶ線分の中点を求め、乳頭中心を中心とし乳頭中心からこの中点までの距離を半径とした円が NFLD と交差する 2 点と乳頭中心とのなす角を NFLD 角度とした(図 4)。NFLD を明瞭に確認できる初期～中期の NTG を対象に経時的に NFLD 角度を測定し、拡大群と不変群の長期経過の差異を DH の出現や視野障害の進行の面から解析した。NFLD 角度と視野障害の程度を検討した結果、NFLD 角度が拡大するにつれ mean deviation (MD) は悪化した($r = -0.761$, $p < 0.0001$) (図 5)。このことから初期～中期の NTG では、NFLD の角度を測定すれば緑内障により消失した視機能障害の程度を推定できるものと思われた。また、DH の発生頻度は NFLD 拡大群(63.6%)のほうが NFLD 不変群(15.8%)と比較して有意に高く、かつ DH 再発は NFLD 拡大群(38.2%)のほうが NFLD 不変群(7.9%)と比較して有意に高かった(表 1)。さらに、NFLD 拡大群($\Delta MD: -1.8$ dB)のほうが NFLD 不変群($\Delta MD: -0.2$ dB)と比較して有意に視野障害は進行した。DH の出現部位は下耳側が 26/41 (63.4%)と高頻度であった(図 6)。また、DH のうち 30/37 (81.1%)が NFLD の境界線上またはこれに接した部位に出現した(図 6)。DH の出現した方向に NFLD が拡大した症例は 21/25 (84.0%)と高頻度であり、NFLD が黄斑側に拡大した症例は 48/55 (87.3%)と高率であった(表 1)。Suh MH ら¹⁷⁾も光干渉断層計(optical coherence tomo-

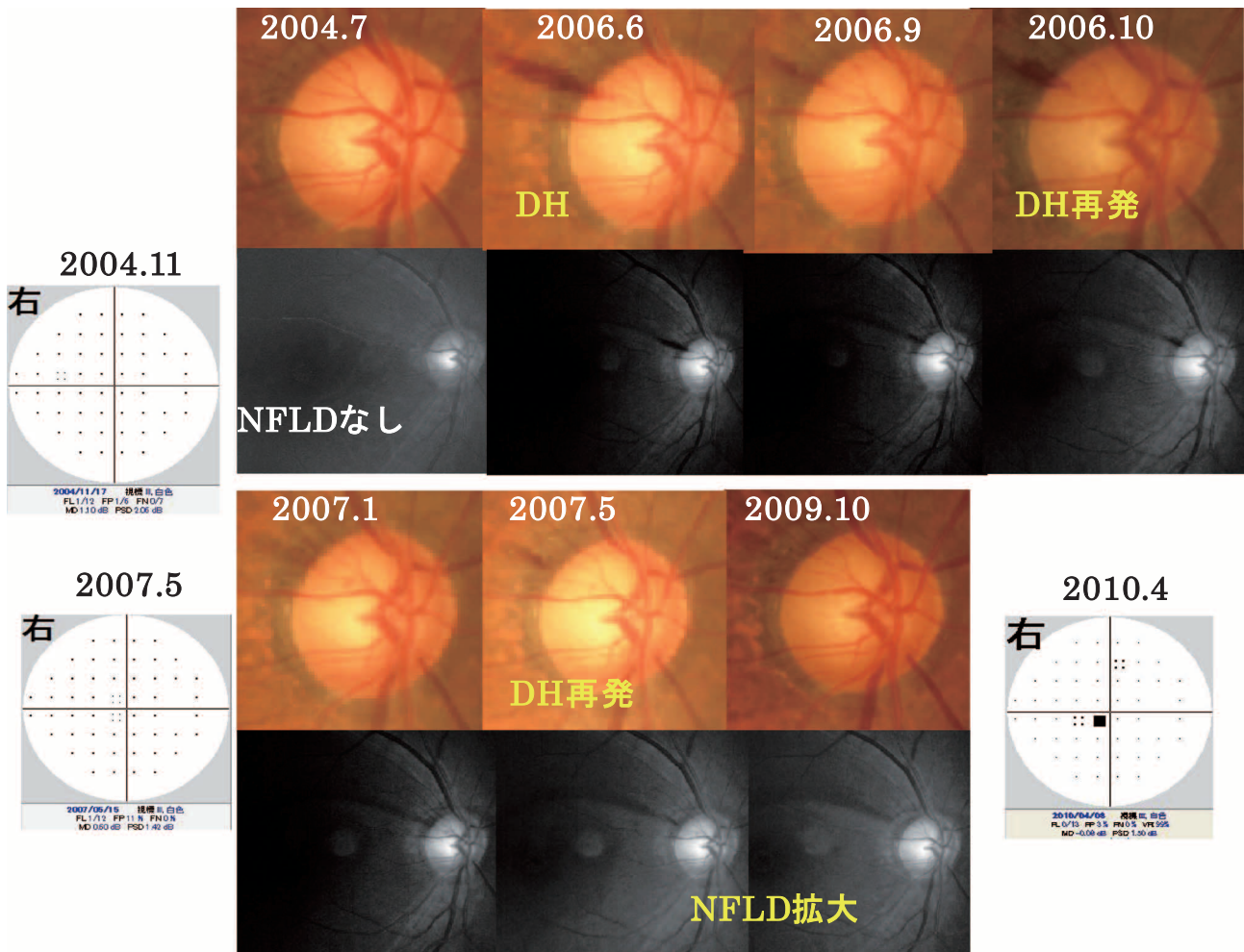


図 3 症例 1：網膜神経線維層欠損(NFLD)の形成過程を示す連続眼底写真。

正常眼から正常眼圧緑内障(NTG)をまさに発症しつつある症例を経験した。視神経乳頭出血(DH)を繰り返しながら、線上のNFLDを形成していく過程を連続写真で捉えた。2004年7月15日(2004.7)にはNFLDを認めなかったが、2006年6月8日(2006.6)にDHが出現すると同時に細い楔状のNFLDを認めた。2007年5月15日(2007.5)のHumphrey視野では緑内障性視野障害は検出されなかったが、さらなるDHの再発とともにNFLDの幅が拡大し、2010年4月8日(2010.4)のHumphrey視野にて中心4点のうち1点に感度低下が検出されるようになった。

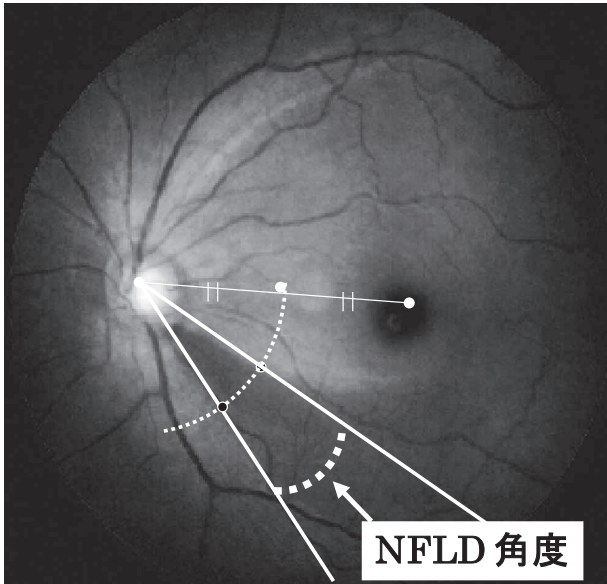
graphy：OCT)にて経時的な変化を観察し、片眼のみにDHが出現した症例の90.6%でDHが出現した部位の1 clock 以内の網膜神経線維層が平均38.8か月の間に非薄化したと報告した。緑内障進行における構造的変化、すなわちNFLDの出現や拡大と密接に関連して、DHがNFLDに近接して生じると考えられる。

また、著者らはDHを1回のみ認め、そのDH前後に5回以上の視野検査結果を有するNTGの視野障害進行速度の変化について検討した。DHが出現した部位に対応する半視野total deviation(TD) slopeがDH後に有意に急峻になった(DH前： 0.02 ± 1.22 , DH後： -1.28 ± 1.42)。一方、DHが出現しなかった半視野TD slopeは不変であった(表2)。De Moraes CGら¹⁸⁾もDH前後での局所的視野障害を視野障害進行率で評価しDH前後での視野障害進行率は平均で -0.6 dB/y vs -1.0 dB/y ($p=0.01$)と有意差があり、DHを起こしたセクターに

相当する部位はDHの前後で -2.0 dB/y vs -3.7 dB/y ($p<0.01$)であった。また、DHを起こしていない僚眼に比べ有意に進行が早く、最も進行したセクターは将来のDHの発症を85%の割合で予想していた。さらにDHがみられてからは92%の高率で同じセクターで最も早い視野障害進行がみられた。

次に、著者らはNFLDを明瞭に確認できるNTG(平均経過観察：9.1年)を対象にDHの頻度とNFLD拡大速度や視野障害進行との関連性についても検討した¹⁹⁾。DHの出現頻度は51/106眼(48.1%)であり、DH回数は 1.28 ± 1.99 回であった。MD slopeがDH群は -0.30 dB/年 で非DH群： -0.13 dB/年 より有意に速く、NFLD拡大速度がDH群は 1.90 度/年 で非DH群： 0.64 度/年 より有意に急速だった(表3)。DH回数が増加するにつれTD slope ($r = -0.263$, $p=0.0056$)とNFLD拡大速度($r=0.410$, $p<0.0001$)は有意に加速し

た. 境界明瞭な NFLD を有する NTG において, DH 眼は非 DH 眼よりも NFLD 拡大速度と視野障害進行速度が速く, かつ頻回に DH が出現した症例ほどその両者が加速したといえる.



NFLD 角度測定の再現性
 検者間信頼性 : $r=0.847, p<0.0001$
 検者内信頼性 : $r=0.930, p<0.0001$
 級内相関関係の検定 (by SPSS)

図 4 NFLD 角度の測定方法.

NFLD 角度の測定方法は, 乳頭中心と中心窩の midpoint を求め, 乳頭を中心とし midpoint までの距離を半径とした円を描き, NFLD と交差する 2 点を求め, その 2 点と乳頭中心とのなす角を NFLD 角度とした.

(文献 16 から許可を得て転載のうえ改変)

2. 乳頭出血の発症機序 (Active site 仮説)

DH は NFLD 拡大の過程で生じ, 拡大速度が速いほど生じやすく, DH を繰り返すと考えられる. また, DH は NFLD の境界線近傍に生じ¹⁶⁾²⁰⁾²¹⁾, DH 側に NFLD は拡大することから, 視神経乳頭の rim notch に続く NFLD の境界線が緑内障進行の活動部位 (Active site) と考えられる. Quigley²²⁾ らは, 緑内障の進行において消失する神経組織量に比例して周囲の血管組織も消失することを報告した. また, 正常サル眼²³⁾ に比較して実験緑内障サル眼においても, 視神経乳頭の毛細血管網は粗となり (未発表データ) (図 7), 緑内障進行においては, 乳頭 rim や網膜神経線維の消失とともに, それを栄養する毛細血管網 (radial peripapillary capillaries) も消失するものと考えられる. したがって, 緑内障進行の過程で拡大する乳頭の rim notch とそれに続く NFLD の境界線 (Active site) で rim 組織と網膜神経線維の消失とそれに伴う神経線維周囲の毛細血管網の退行変性が起こり, その過程で二次的に乳頭出血を生ずると著者らは推定している (Active site 仮説) (図 8)

3. 構造と機能の同時評価 (OCT 対応眼底像視野計)

緑内障における視野異常は GON の構造異常を反映するものであるが, GON のごく早期から末期に至る進行過程において必ずしも両者が直線的に相関するわけではなく, 早期には構造の変化が機能より大きく, 後期には構造より機能の変化が大きい²⁴⁾ (図 9). 視神経乳頭に緑内障性の変化がみられても通常の視野検査では異常が検出されないことはしばしば経験することであり, 視野異常が検出されるまでかなりの割合の網膜神経節細胞が既に消失していることが明らかにされている. Quigley らによると, Goldmann 動的視野計では視野異常の出現までに 50% の, 自動視野計では 5 dB の感度低下の出現

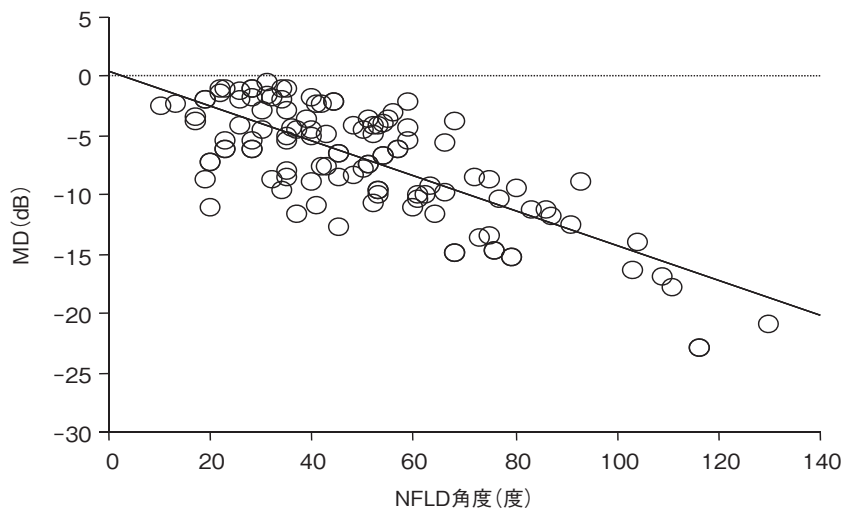


図 5 NFLD 角度と mean deviation (MD) の関係.

NFLD 角度と MD の散布図を示す. NFLD 角度が拡大するにつれ MD は有意に悪化した (Pearson 相関関係, $Y=0.386-0.147 X, r=-0.761, p<0.0001$)

(文献 19 から許可を得て転載のうえ改変)

表 1 NFLD 拡大と DH(明瞭な NFLD を有する NTG 93 例 93 眼)

	NFLD 拡大群	NFLD 不変群	p 値
DH(+)	35/55(63.6%)	6/38(15.8%)	<0.0001
DH 再発(+)	21/55(38.2%)	3/38(7.9%)	<0.0001
黄斑側に NFLD 拡大	48/55(87.3%)		
DH 方向に NFLD 拡大	21/25(84.0%)		

DH : disc hemorrhage(視神経乳頭出血), NFLD : nerve fiber layer defect (網膜神経線維層欠損).

(文献 16 から許可を得て転載のうえ改変)

DH部位	頻度
上耳側	12/41 (29.3%)
下耳側	26/41 (63.4%)
その他	3/41 (7.3%)

● NFLDと近接	30/37 (81.1%)
● NFLDと無縁	7/37 (18.9%)

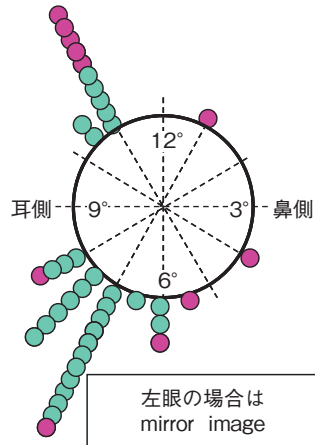


図 6 DH の出現好発部位と NFLD との関係.

DH の出現部位は下耳側が 26/41 (63.4%) と高頻度であった。また、DH のうち 30/37 (81.1%) が、NFLD の境界線上またはこれに接して出現した。

表 2 DH 前後の視野障害進行速度の変化(DH が 1 回のみ出現した NTG 13 例 13 眼)

	DH 前	DH 後	p 値
MD slope (dB/y)	0.15 ± 1.13	-0.73 ± 0.82	0.0091
DH が出現した半視野 TD slope (dB/y)	0.02 ± 1.22	-1.28 ± 1.42	0.0074
DH が出現しなかった半視野 TD slope (dB/y)	0.04 ± 0.75	0.07 ± 0.32	0.8844

MD : mean deviation, TD : total deviation.

表 3 DH(+)群と DH(-)群の視野と NFLD パラメーター(境界明瞭な NFLD を有する NTG 106 例 106 眼)

	DH(+)群 51 例 51 眼	DH(-)群 55 例 55 眼	p 値
経過観察期間(年)	8.7 ± 2.5	9.4 ± 2.6	0.13
ベースライン 眼圧(mmHg)	14.9 ± 2.7	15.6 ± 2.3	0.205
経過中 眼圧(mmHg)	12.2 ± 1.9	13.0 ± 1.8	0.052
IOP 下降率(%)	17.1 ± 11.2	15.8 ± 11.1	0.576
ベースライン MD (dB)	-5.16 ± 5.03	-4.95 ± 3.63	0.806
最終 MD (dB)	-7.77 ± 5.43	-6.10 ± 3.83	0.07
MD slope (dB/y)	-0.30 ± 0.33	-0.13 ± 0.23	0.003
NFLD 角度変化速度(度/y)	1.90 ± 1.67	0.64 ± 1.19	<0.0001

IOP : intraocular pressure(眼圧).

(文献 19 から許可を得て転載)

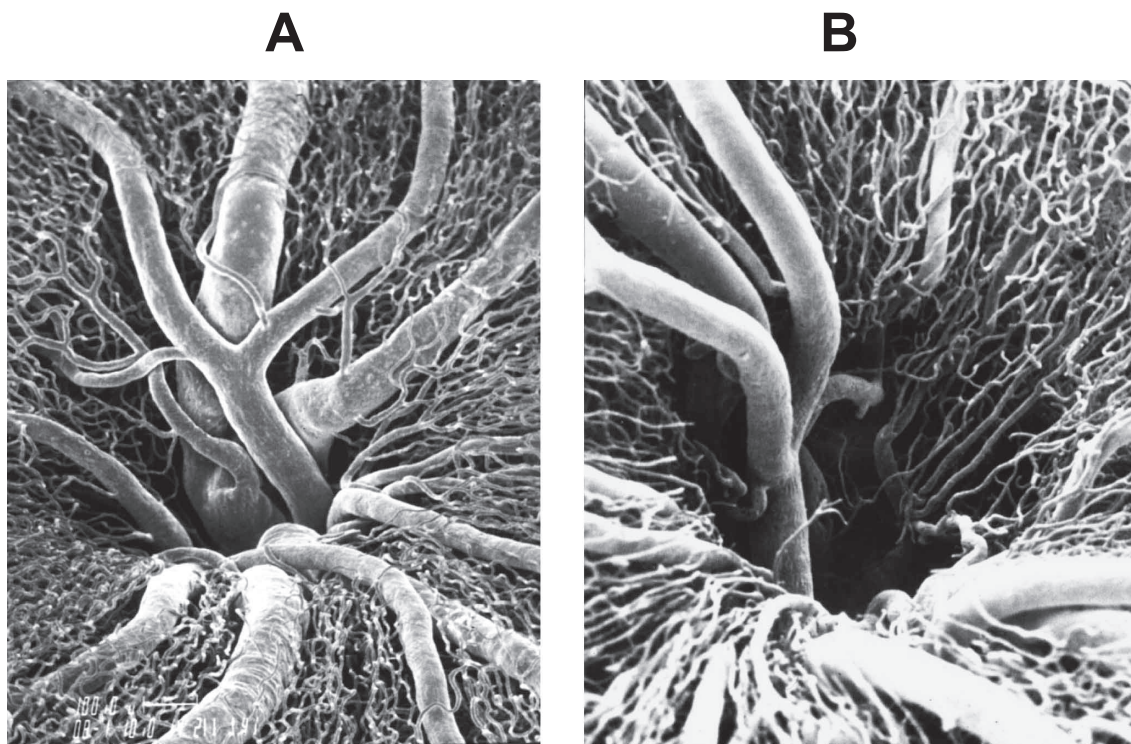


図 7 サル眼の血管鋳型標本.

- A : 正常サル眼の視神経乳頭血管鋳型. 視神経乳頭表層の毛細血管網(radial peripapillary capillaries)は放射状にきれいに配列している.
- B : 実験緑内障サル眼の視神経乳頭血管鋳型. 視神経乳頭表層の毛細血管網(radial peripapillary capillaries)は粗となり, 毛細血管が途中で途切れた所見が随所に認められる.

までに 20% の網膜神経節細胞の減少が生じている²⁵⁾²⁶⁾. 緑内障性視神経症の構造的異常が起こっていても, 通常の視野検査では検出できないために緑内障と診断されない時期が存在する. これを preperimetric glaucoma と呼んでいる(症例 2: 図 10 A, B).

早期視野変化を検出することを目的とした視野検査として frequency doubling technology (FDT) や short-wavelength automated perimetry (SWAP) などが開発され, その有用性が報告されている²⁷⁾²⁸⁾. また, 通常の静的視野計は 6 度間隔に検査点が配置されており, 極早期の緑内障では通常の検査点のみでは異常部位が検査点に含まれない可能性がある. Tuulonen ら²⁹⁾ は preperimetric glaucoma 症例に対して, 中心 10 度以内に 1 度間隔の視標をおいた Humphrey 視野検査と high-pass resolution perimetry を行い, NFLD に対応した視野異常がみられたと報告している. しかし, 検査点を密にすれば, 小さな異常を検出できる可能性が増えるが, 静的自動視野計ですべての領域を検査するには時間がかかるため, 検査点を限定する必要がある. Orzalesi ら³⁰⁾ は走査レーザー検眼鏡マイクロペリメトリを使用しての緑内障患者の NFLD 上に局所の感度低下を認めたと報告している. Kani ら³¹⁾ は赤外線によって眼底を観察しながら眼底の病変に刺激光を提示する眼底視野計を開発した. Nakatani, Kani ら³²⁾ がそれを簡略化し, 局所の視野を調べる

際に眼底像に対応させることによって, NFLD などの異常部位を, 小視標を用いて選択的に検査することを目的に開発されたものが眼底小視標対応視野計である. 眼底像対応視野計コーワ AP-6000 は, 眼底写真と視野を対応させることにより眼底所見から異常が疑われる部位を選択してより精密に検査を行うことにより, 症例 2 の preperimetric glaucoma のように通常の視野計では検出されない視野異常が検出可能であり, 視野と眼底の対応の把握も可能である(図 11).

近年, 眼科領域では画像診断装置が飛躍的に進歩してきているが, そのなかでも OCT の進歩が著しい. 特にスペクトルドメイン OCT (SD-OCT) が導入されてから, 解像度の向上により網膜内層の評価が可能になり, 撮影速度の向上により広範囲を面状に撮影することが可能になった. また, 三次元画像を構築することや, その画像から断面を切り出し, 観察することが可能になった. さらに, 撮影の高速化に伴い画像の加算平均する技術が市販の OCT にも導入され, その技術を用いれば, スペックルノイズが除去され, より鮮明な画像が得られるようになった.

我々は眼底像対応視野計(コーワ AP-6000)と SD-OCT を組み合わせることにより OCT 対応眼底像視野計を実用化すれば, 緑内障の詳細な構造的変化と視野変化の関係を同時に評価できると考え, 臨床応用を開始した. 症

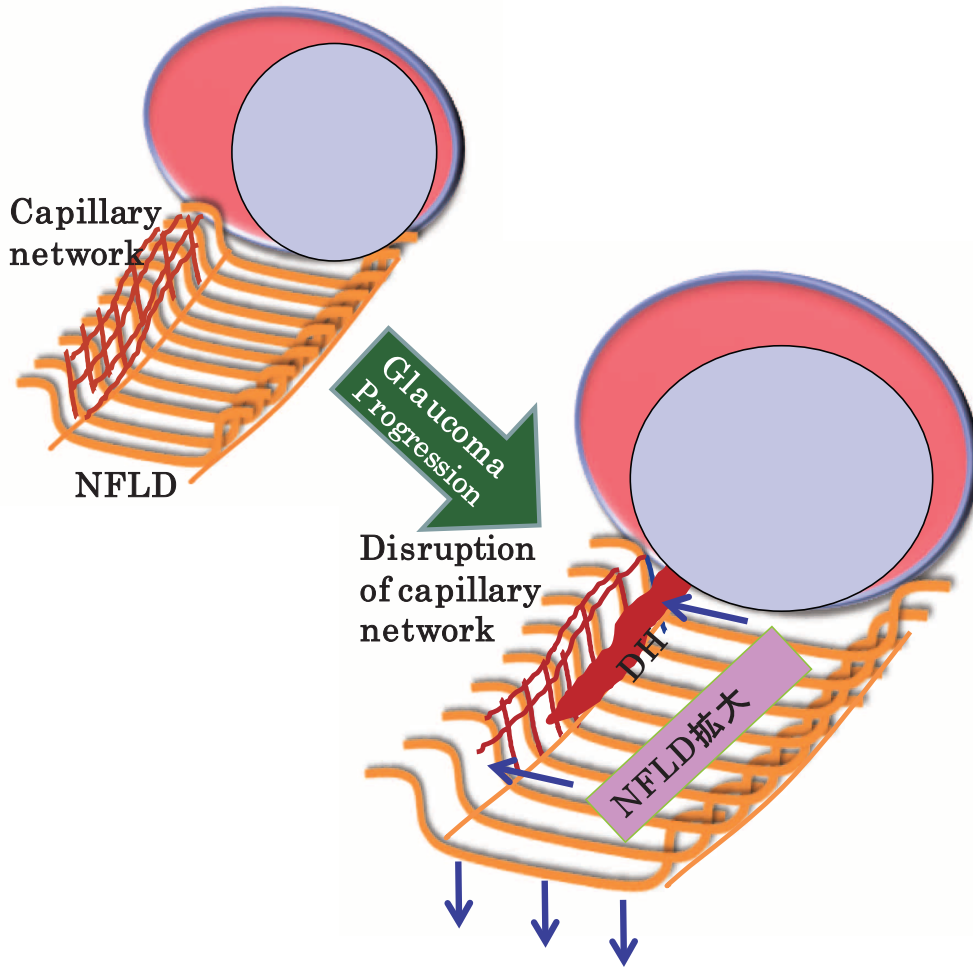


図 8 乳頭出血の発症機序 (Active site 仮説).

視神経乳頭の rim notch とそれに続く NFLD の境界線が、緑内障性視神経障害進行の最も活動性の高い Active site であり、緑内障進行の過程でこの境界線で rim 組織と網膜神経線維の消失とそれに伴う神経線維周囲の毛細血管網の退行変性が起こり、その過程で二次的に乳頭出血を生ずると考えられる。

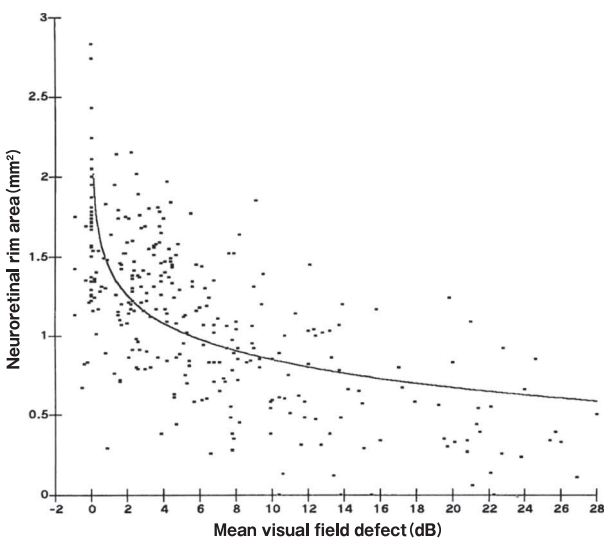
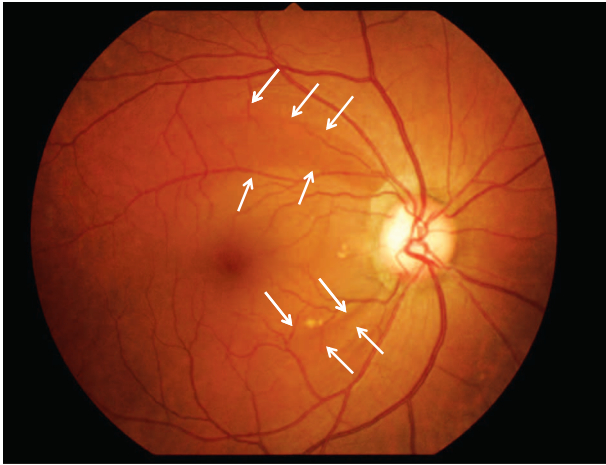


図 9 構造と機能の相関.

構造 (neuroretinal rim area) と機能 (mean deviation) の相関図を示す。両者は直線関係でなく、早期には構造の変化が機能より大きく、後期には構造より機能の変化が大きい。
(文献 24 から許可を得て転載)

例 3 は 58 歳女性の左眼で、耳下側に NFLD がみられ、対応する乳頭 rim の菲薄化がみられる (図 12 A)。図 12 B に症例 3 の OCT 対応眼底像視野検査の結果を示す。眼底写真に Nidek RS-3000 の黄斑マップで 9×9 mm の範囲を 512×128 で撮影し、網膜神経線維層 + 網膜神経節細胞層 + 内網状層 (内境界膜から、内網状層と内顆粒層の境界線まで) の厚みのデビエーションマップを貼り付け、眼底像対応視野検査を施行した。眼底写真 + OCT 画像は視野に合わせて上下反転してある。下耳側の NFLD (図では上方) の黄斑部側の境界線に -15 dB ~ -30 dB の感度低下 (数字に赤い下線) がみられる。OCT 画像の黒の点線の部位での OCT の断面図 (CS) では、感度低下のみられる NFLD の黄斑側境界線に網膜神経線維層の菲薄化が著明である。眼底像視野計にて感度低下のみられる部位は、対応する OCT にて網膜神経線維層および網膜内層が菲薄化していた。さらに、症例 3 の SD-OCT による黄斑ラジアル解析による網膜内層 (網膜神経線維層 + 網膜神経節細胞層 + 内網状層) の厚みを測定す

A



B

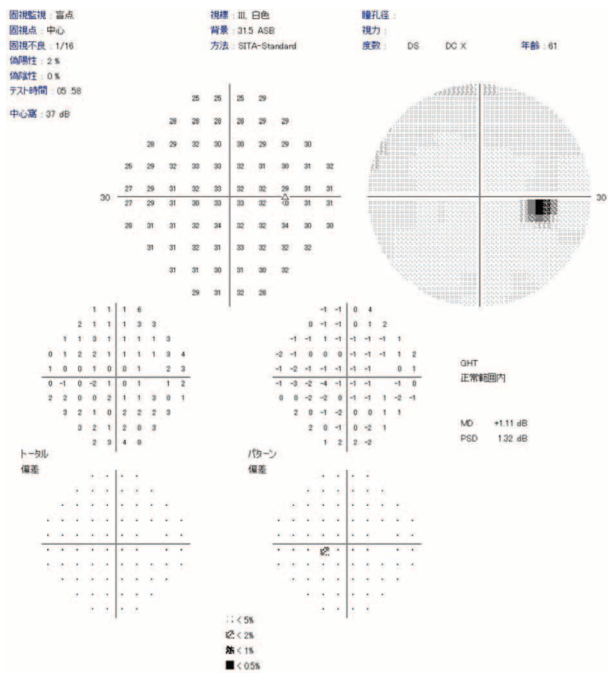


図 10 症例 2 : 61 歳女性の右眼.

A : 右極早期緑内障の眼底写真. 上下に NFLD(白矢印)がみられる. B : Humphrey 視野計全点閾値検査法 30-2 プログラム(Humphrey 30-2). 視野には, 異常はみられない.

ると, NFLD の黄斑側の境界線では $79 \mu\text{m}$ と, 対応する半視野の同じ部位の $133 \mu\text{m}$ に対して菲薄化し, 網膜感度も -30 dB と著明に低下していた. 一方, NFLD の非黄斑側境界線では, 網膜内層の厚みが $113 \mu\text{m}$ で, 対応する半視野の同じ部位の $125 \mu\text{m}$ と同程度であり, 網膜感度も -1 dB と正常であった(図 12 C).

症例 3 は, 経過観察中の 2005 年から 2008 年の間に NFLD の黄斑側への拡大を認め, Heidelberg Retina Tomograph-II も rim と NFLD の黄斑側への拡大を示した. この症例は途中の 2006 年の NFLD の黄斑側境界線上に DH が観察された(図 13). 前述のごとく DH を認

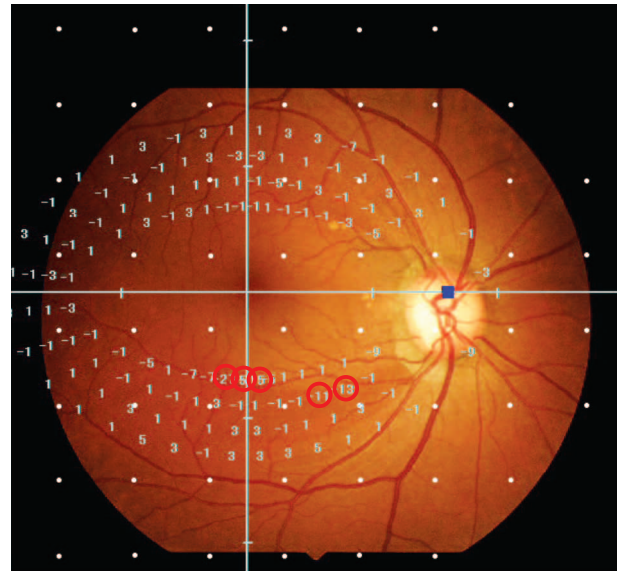


図 11 症例 2 の AP-6000 による眼底像対応視野検査の結果.

眼底写真は視野に合わせて上下反転してある. 上耳側の NFLD(図では下方)の黄斑部側の境界線に -27 dB , -5 dB , -15 dB の感度低下(赤丸で囲まれた数字)がみられる. 白点は, 6 度間隔ごとの Humphrey 30-2 の検査点に相当する. 感度低下のある部位は 6 度間隔の白い点の間にある. そのため Humphrey 30-2 では異常が検出できなかったことが分かる.

めた NFLD の黄斑側境界線付近は, OCT 対応眼底像視野検査にて網膜神経線維層の厚みが薄く, 網膜感度が低下し, かつ, この境界線が黄斑側に向かって拡大していることは, DH の生じた境界線が緑内障進行の活動部位(Active site)である可能性を示唆している.

III 眼圧 : 眼圧日内変動を解明する

1. なぜ眼圧日内変動が生じるのか?

ウサギやラット, マウス, チキン, マーモセットといった動物の眼圧が 12 時間明暗サイクル下で二相性の変動パターンを示すことが知られており, また, ウサギ, ラットにおいてはそれらの眼圧変動パターンが 24 時間恒暗条件下でも保たれることから, 眼圧の日内変動も生体内時計とかかわりがあると考えられている^{33)~37)}. 一方, 生体内のさまざまな生理的現象や生物の行動の日内リズムが視交叉上核を中枢とした生体内時計の制御を受けていることが分かっている. その中枢時計の核となる時計遺伝子として, *Period* 遺伝子(*Per 1*, *Per 2*, *Per 3*)や *Cryptochrome* 遺伝子(*Cry 1*, *Cry 2*), *Clock*, *Bmal 1*, *Casein Kinase*, *Dec 1*, *Dec 2* などが見つかっており, これらの時計遺伝子は転写と翻訳の促進と抑制のフィードバックループを形成して生体内で時を刻むというメカニズムが分かっている³⁸⁾³⁹⁾. 哺乳類における時計遺伝子の発振の中心となる振動分子は PER1 と

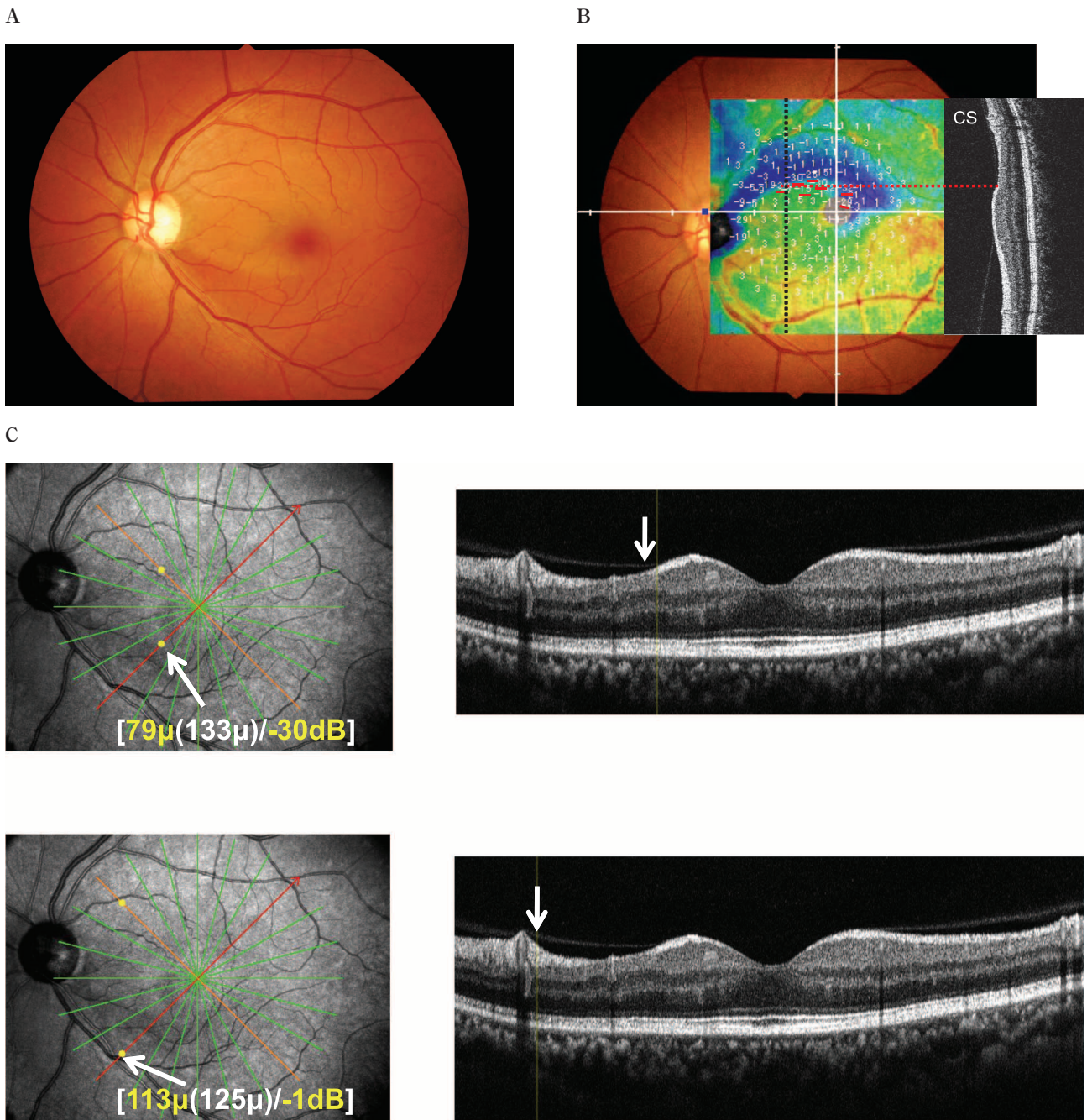


図 12 症例 3 : 58 歳女性の左眼.

- A : 眼底写真. 耳下側に NFLD と対応する rim の菲薄化がみられる.
- B : 光干渉断層計(OCT)対応眼底像視野検査結果. 眼底写真に Nidek RS-3000 の黄斑マップで 9×9 mm の範囲の網膜内層(網膜神経線維層 + 網膜神経節細胞層 + 内網状層)厚みのデビエーションマップを貼り付け, コーワ AP-6000 による眼底像対応視野検査を施行. 眼底写真 + OCT 画像は視野に合わせて上下反転. 下耳側の NFLD (図では上方) の黄斑部側の境界線に -15 dB ~ -30 dB の感度低下 (赤い下線). 黒の点線の部位での OCT の断面図 (CS) では, 感度低下のみられる NFLD の黄斑側に網膜神経線維層の菲薄化が著明.
- C : スペクトラルドメイン OCT (SD-OCT) による黄斑ラジアル解析. 網膜内層 (網膜神経線維層 + 網膜神経節細胞層 + 内網状層) の厚みが, NFLD の黄斑側境界線 (矢印) では $79 \mu\text{m}$ と, 対応する半視野の同じ部位の $133 \mu\text{m}$ に対して菲薄化し, 網膜感度も -30 dB と著明に低下. 一方, NFLD の非黄斑側境界線 (矢印) では, 網膜内層の厚みが $113 \mu\text{m}$ で, 対応する半視野の同じ部位の $125 \mu\text{m}$ と同程度であり, 網膜感度も -1 dB と正常.

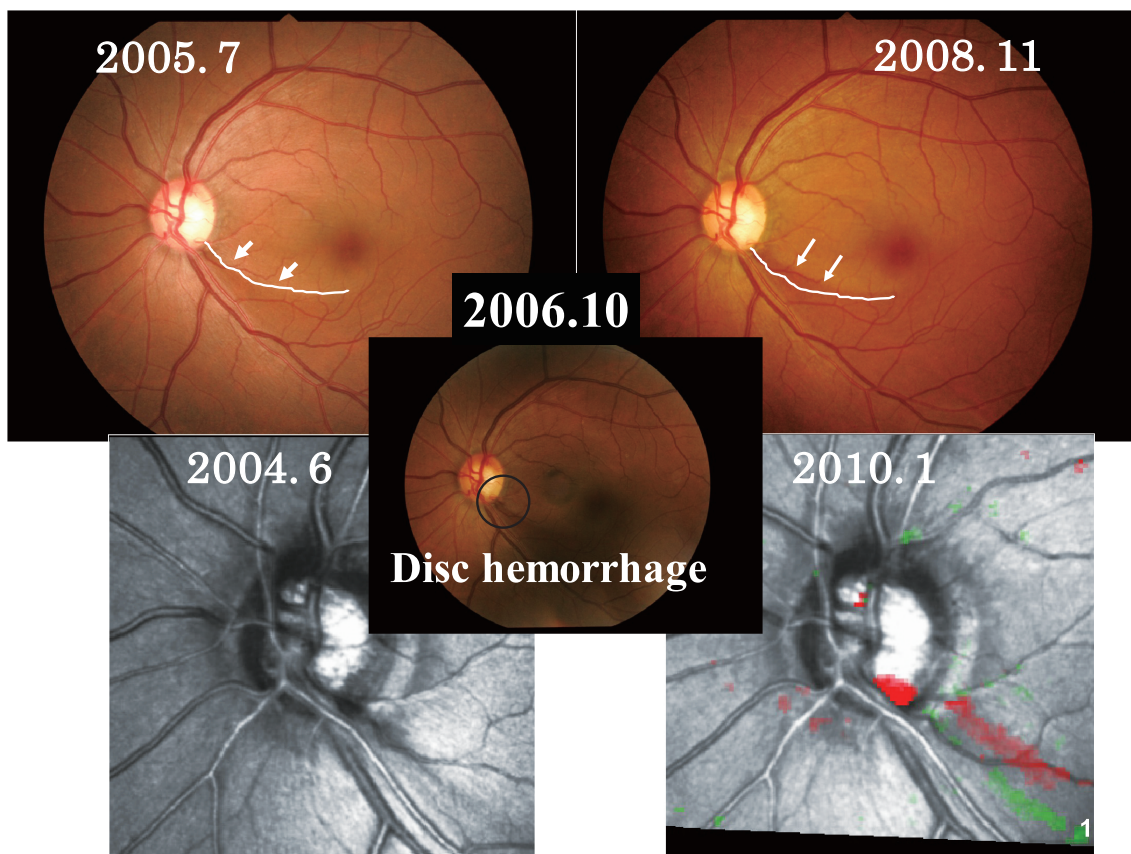


図 13 症例 3 の経過.

2005 年から 2008 年の間に NFLD の黄斑側への拡大を認め、Hidelberg Retina Tomograph-II も rim と NFLD の黄斑側への拡大を示した。途中の 2006 年の NFLD の黄斑側境界線上に DH が観察された。白線は 2005 年時の NFLD の黄斑側境界線を示す。

PER 2 で、BMAL1-CLOCK ヘテロ二量体が *Per* 遺伝子のプロモーターの E ボックスに結合することで転写が促進される⁴⁰⁾。この PER 1, PER 2 と CRY 1, CRY 2 などが結合してネガティブコンプレックスとなり、ネガティブコンプレックスが BMAL1-CLOCK ヘテロ二量体による *Per* 遺伝子の転写活性化を抑制する⁴¹⁾(図 14)。この二つの *Cry 1*, *Cry 2* 遺伝子をダブルノックアウトしたマウス [*Cry*-deficient (*Cry 1^{-/-}Cry 2^{-/-}*)] については行動や体温調節といったもののサーカディアンリズムが完全になくなるのが分かっている^{42)~44)}。

我々は *Cry 1*, *Cry 2* 遺伝子をダブルノックアウトした *Cry*-deficient マウスについて眼圧の日内変動の有無を調べ正常なマウスと比較し、生体内時計による眼圧日内変動の支配を明らかにする研究を行った⁴⁵⁾。

実験動物は *Cry*-deficient マウスと正常なマウスとして C57BL/6J マウス (wild-type) を用いた。グループ 1 と 3 を wild-type マウスとし、グループ 2 と 4 を *Cry*-deficient マウスとした 4 つのグループに分けた。それぞれの飼育時、および眼圧測定時の明暗条件をグループ 1, 2 は 12 時間明暗サイクル [circadian time (CT) 0 から CT 12 までを明, CT 12 から CT 24 までを暗] とし、グループ 3, 4 については 24 時間恒暗条件とした。すべ

てのマウスは、2 週間以上 12 時間明暗サイクルで飼育してから実験を行った。24 時間恒暗条件のマウスは、眼圧測定開始の 24 時間前から暗条件下で飼育した。

眼圧日内変動測定は、3 時間ごとの 8 ポイント (CT 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21) で行った。ケタミンとキシラジンの腹腔内投与による全身麻酔下において、圧トランスデューサとブリッジアンプを介してコンピュータに接続したガラス製のマイクロニードルを対象眼の角膜から前房内に刺入するマイクロニードル法³⁷⁾(図 15)にて眼圧測定した。全身麻酔と角膜穿孔の影響を避けるために同一個体に対する眼圧測定は 1 週間以上あけ、眼球を交互に使用した。眼圧変動の有意性については、ANOVA と Scheffe test にて解析した。グループ間の同時刻の眼圧の比較は Mann-Whitney test で行った。

グループ 1 の wild-type マウスは明暗条件下では、明期眼圧より暗期眼圧が有意に高値となる二相性の眼圧変動を示した(図 16)。この眼圧の日内変動は、グループ 3 の実験において恒暗条件下でも保たれていた(図 17)。一方、*Cry*-deficient マウスにおいては、明暗および恒暗どちらの条件下でも有意な眼圧日内変動は認められなかった(図 16, 17)。

明暗条件下では明期の CT 3, 6, 9 で wild-type マウ

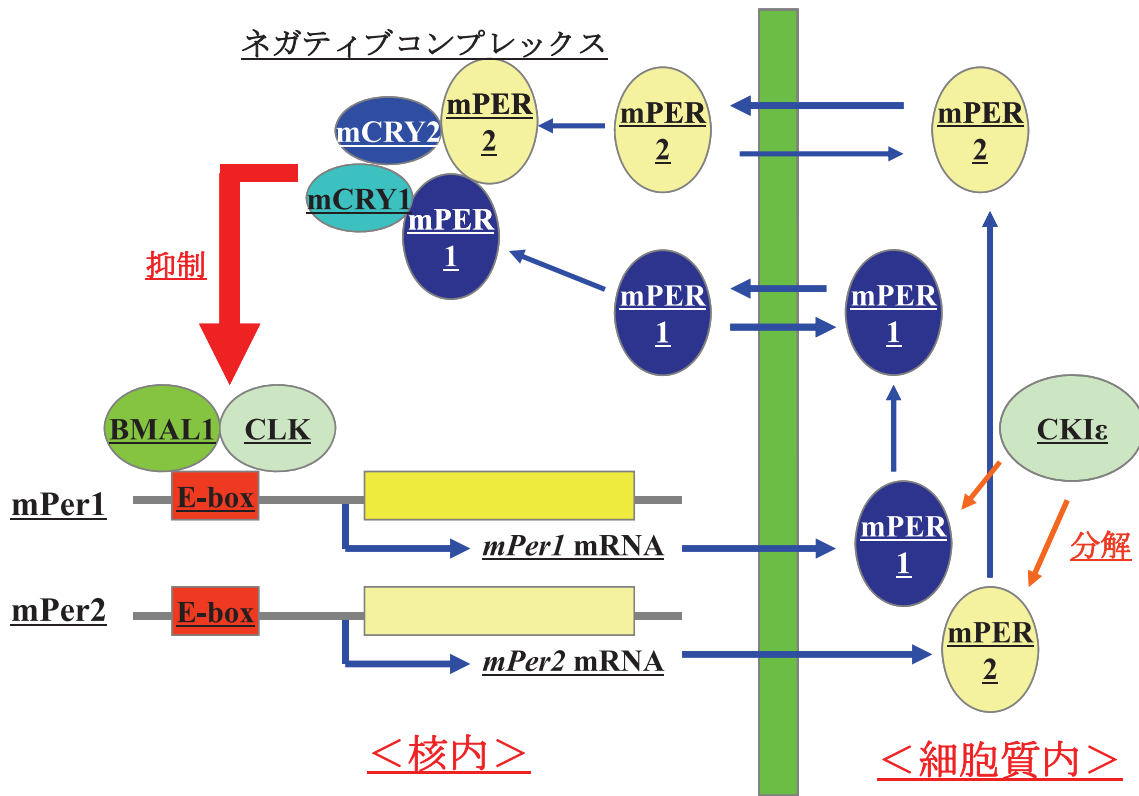


図 14 時計遺伝子のコアフィードバックループの模式図。

マウスにおける時計遺伝子の発振の中心となる振動分子は *Per 1*, *Per 2* である。BMAL1-CLOCK (CLK) のヘテロ二量体が *Period* 遺伝子のプロモータの E ボックスに結合することで転写が促進され、*Per 1* mRNA, *Per 2* mRNA が核外に出ていき、PER 1 蛋白質, PER 2 蛋白質が翻訳される。細胞質側にはカゼインキナーゼ Iε (CKIε) が存在し、これが PER 1, 2 を分解する。しかし CKIε の量も限られておりある程度 PER 1, 2 が蓄積されると、核内に移行する。この PER 1, 2 と *Cryptochrome* 遺伝子の産物である CRY 1, 2 が結合しネガティブコンプレックスを形成し BMAL1-CLK のヘテロ二量体による *Period* 遺伝子の転写活性化を解除し、時計遺伝子群自体の転写を抑制することによりループが解除される。この繰り返しが 24 時間の周期を作りだす。

(文献 41 から許可を得て転載のうえ改変)

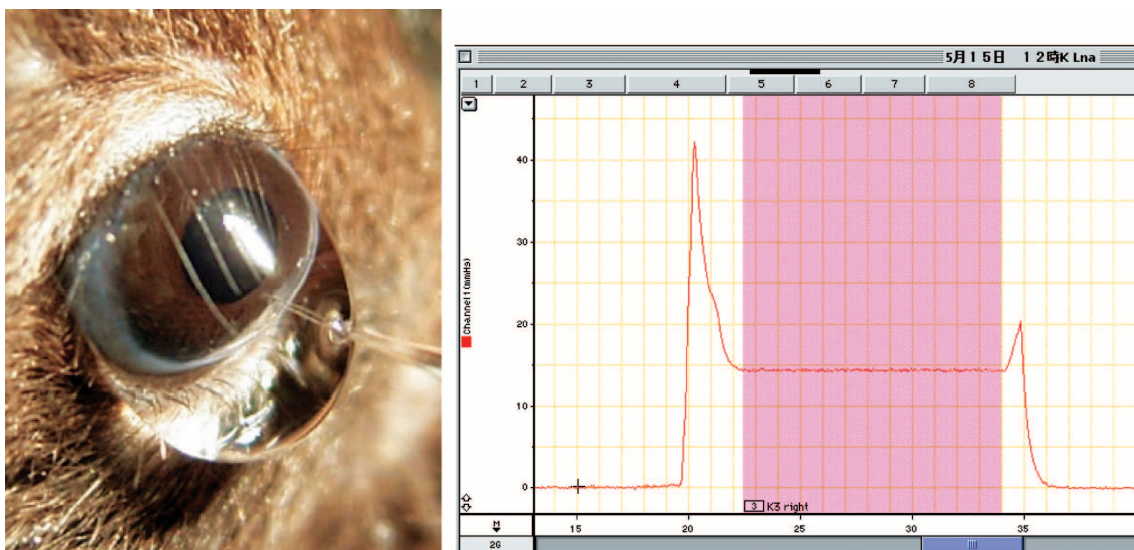


図 15 マイクロニードル法による眼圧測定写真。

角膜の表面には生理食塩水を滴下してから、マウスの前房にマイクロニードルを刺入する。眼圧測定時の波形は、最初のスパイクは刺入時に発生するもので、プラトー部分 10 秒以上を平均したものを測定データとした。後のスパイクはマイクロニードルを引き抜く際のもので引き抜いた後は基線がゼロに戻る。

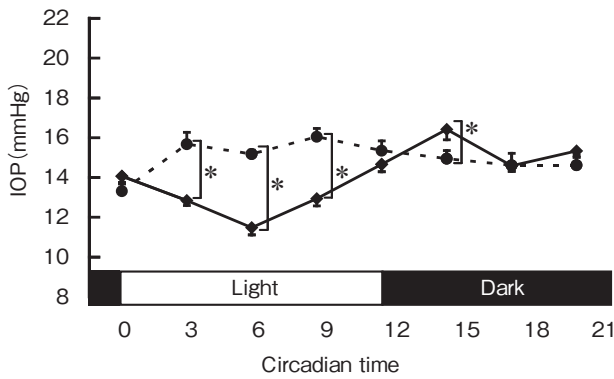


図 16 明暗条件下での眼圧日内変動 (*Cry*-deficient vs wild-type).

明暗条件下では wild-type マウス ($n=23$) (—◆—) は二相性の眼圧変動を示したが, *Cry*-deficient マウス ($n=10$) (---●---) では眼圧の有意な変動は起こらなかった. *: wild-type マウスと *Cry*-deficient マウスの眼圧に有意差の認められたポイント ($p<0.05$). グラフは平均値±標準誤差で示す.

(文献 45 から許可を得て転載)

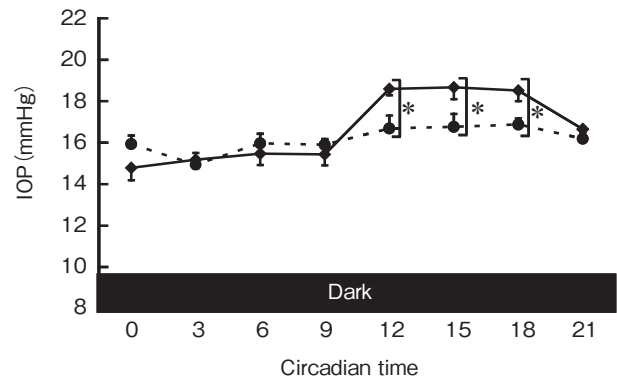


図 17 恒暗条件下での眼圧日内変動 (*Cry*-deficient vs wild-type).

恒暗条件下でも wild-type マウス ($n=13$) (—◆—) は二相性の眼圧変動を示したが, *Cry*-deficient マウス ($n=10$) (---●---) では眼圧の有意な変動は起こらなかった. *: wild-type マウスと *Cry*-deficient マウスの眼圧に有意差の認められたポイント ($p<0.05$). グラフは平均値±標準誤差で示す.

(文献 45 から許可を得て転載)

スに対して *Cry*-deficient マウスの眼圧が有意に高く, 暗期の CT 15 で有意に低かった(図 16). 恒暗条件下では暗期の時刻である CT 12, 15, 18 において wild-type マウスに対して *Cry*-deficient マウスの眼圧が有意に低くなっていた(図 17).

これらの結果から眼圧の日内変動は時計遺伝子によって発振される中枢時計による制御を受けて生じていることが示された⁴⁵⁾.

2. 中枢時計のサーカディアンリズムは交感神経を介して眼圧に影響するのか?

ウサギを用いた実験から, 中枢時計のサーカディアンリズムは交感神経を介して眼圧に影響を与えることが示唆されている. 夜行性であるウサギの眼圧は, マウスと同様, 日中低く夜間高い日内変動を示す. Braslow らは片側の頸部交感神経節前線維を部分切除することにより, 夜間の眼圧上昇が抑制されることを示した⁴⁶⁾. このことから, 眼圧日内変動には交感神経が関与している可能性がある. また Liu らは眼圧上昇と同期して, 房水中のカテコールアミン, メラトニン濃度が夜間に上昇することを示した⁴⁷⁾. 眼圧日内変動は, 交感神経ばかりでなく松果体ホルモン, 副腎皮質や髄質のホルモンなどさまざまな日内変動を示すホルモンとの関係もあるかもしれない. Yoshitomi らはフルオロフォトメトリを用いて交感神経節障害モデルと交感神経 β 遮断薬であるチモロールを点眼した正常ウサギの房水産生量測定を行った. 交感神経 β 遮断薬点眼により夜間の房水産生は低下したが昼間の房水産生量には変化がなく, 交感神経 β 受容体を介した房水産生量の変動が夜間の眼圧上昇に関与していることが示された⁴⁸⁾.

3. 緑内障患者の眼圧日内変動と交感神経受容体多型との関係

眼圧は NTG を含むすべての緑内障において最も重要な危険因子であるが, 眼圧の日内変動幅の大きさも緑内障の進行に関与すると報告されている⁴⁹⁾⁵⁰⁾. しかしながら, 眼圧日内変動には個人差が大きく, 眼圧日内変動の測定には時間と労力を要する. 個々人の眼圧日内変動をある程度予測することができれば, 臨床上きわめて有用と思われる. 緑内障診療では外来時間帯に正常な眼圧でも, 診療時間帯以外の時間帯に眼圧上昇を認める症例もしばしば存在する.

眼圧日内変動は中枢時計によって作り出され, 交感神経を介して眼圧変動が生じる可能性はある. 交感神経受容体遺伝子多型と眼圧については, Inagaki らが, $\beta 2$ 受容体の Gln27Glu(C/G) で G キャリアーが開放隅角緑内障と診断されたときの眼圧が, C/C の緑内障患者の眼圧より有意に高かったと報告している⁵¹⁾. また, Schwartz らは, 正常人で $\beta 1$ 受容体の R389G(C/G) の C/C は G キャリアーよりも眼圧が高く, ベタキソロールへの反応性が良いことを報告している⁵²⁾. 交感神経受容体には, $\alpha 1$, $\alpha 2$, β が知られており, $\alpha 1$ 受容体には $\alpha 1A$, $\alpha 1B$, $\alpha 1D$ が, $\alpha 2$ 受容体には $\alpha 2A$, $\alpha 2B$, $\alpha 2C$ が, β 受容体には $\beta 1$, $\beta 2$, $\beta 3$ が知られている. そこで, 日内眼圧と α , β 受容体遺伝子多型との間に関連があるかどうかを, NTG 患者において検討した⁵³⁾.

無治療の 92 人の NTG 患者を対象とした⁵³⁾(表 4). 両眼の眼圧を 2 日間, 6 時から 24 時まで 3 時間ごとに Goldmann 圧平眼圧計により測定し, より視野障害の進行した眼の眼圧について, 2 日間の同一時刻の眼圧値を平均し, 各時刻の眼圧値とした. 眼圧日内変動の測定の

結果, 8 名は 21 mmHg を超えることがあった. 解析した遺伝子多型は, $\alpha 1A$ の R347C, $\alpha 2A$ の G-1297C, R365R, $\alpha 2B$ の Del301-303, G391G, $\alpha 2C$ の Del322-325, A332A, $\beta 1$ の S49G, R389G, $\beta 2$ の T-47C, T-20C, R16G, Q27E, L84L, R175R, $\beta 3$ の W64R の 16

表 4 対象の背景

特徴	値
年齢(歳)	49.4±12.9(22~79)
性別(男性/女性)	53/39
対象眼(右/左)	39/53
平均眼圧(mmHg)	14.8±2.1(10.8~20.3)
最高眼圧(mmHg)	16.7±2.4(12.0~22.0)
最低眼圧(mmHg)	12.9±2.2(8.5~18.5)
眼圧変動幅(mmHg)	3.8±1.5(1.5~10.0)
MD 値(dB)	-9.0±6.2(-29.18~1.15)
角膜厚(μ m)	540.5±30.5(464.0~616.0)
眼灌流圧(mmHg)	44.1±6.9(33.2~69.5)
収縮期血圧(mmHg)	120.0±14.3(91.7~173.3)
拡張期血圧(mmHg)	72.8±8.9(55.2~106.2)
心拍数	69.0±8.4(49.2~94.3)

平均値±標準偏差. 1 人は角膜厚, 5 人は眼灌流圧, 収縮期血圧, 拡張期血圧, 心拍数の値を欠いている.
(文献 53 から許可を得て転載のうえ改変)

か所であった.

日内平均眼圧, 最高眼圧, 最低眼圧, 眼圧変動幅について, 各多型の遺伝子型に関して解析した⁵³⁾(表 5). $\alpha 2B$ の Del301-303 では, insertion/insertion(I/I)の日内平均眼圧(15.5±2.4 mmHg)は Deletion(D)キャリアー(14.4±1.9 mmHg)より有意に高く(p=0.017), 最高眼圧や最低眼圧も有意に高かった(p=0.038, p=0.046). $\alpha 2C$ の Del322-325 では, I/I の日内平均眼圧(14.6±2.1 mmHg)は D キャリアー(15.9±2.2 mmHg)より有意に低く(p=0.037), 最高眼圧も有意に低かった(p=0.029). $\beta 1$ の S49G では, A/A の日内平均眼圧(15.1±2.2 mmHg)は G キャリアー(14.0±1.8 mmHg)より有意に高く(p=0.023), 最高眼圧や最低眼圧も有意に高かった(p=0.019, p=0.014). 各多型の遺伝子型と一日の眼圧変動幅については, 有意な関連はなかった.

次に, 眼圧の日内変動曲線に関して解析した. 2 日間の同一時刻における平均眼圧値を継時的にプロットした. 全対象における眼圧の日内変動曲線⁵³⁾(図 18 A)は, 12 時に最高眼圧, 24 時に最低眼圧を示し, 反復測定分散分析により, 有意な日内変動がみられた. この変動は, 従来の報告によく合致していた⁵⁴⁾. 各多型の遺伝子型にお

表 5 交感神経受容体遺伝子多型と日内眼圧

遺伝子	多型	遺伝子型	人数 n=92(8)	平均眼圧	p 値†	最高眼圧	p 値†	最低眼圧	p 値†	眼圧変動幅	p 値†
$\alpha 1A$	R347C(C/T)	C/C	75(6)	14.8±2.1	0.856	16.7±2.4	0.873	12.8±2.1	0.903	3.9±1.4	0.411
		T carriers	17(2)	14.7±2.4		16.6±2.3		12.9±2.6		3.7±1.9	
$\alpha 2A$	G-1297C(G/C)	G/G	49(5)	15.1±2.2	0.165	17.0±2.4	0.166	13.0±2.4	0.379	4.0±1.8	0.825
		C carriers	43(3)	14.5±2.0		16.3±2.2		12.6±1.8		3.7±1.1	
		R365R(C/A)	C/C	40(2)	14.8±2.2	0.990	16.8±2.3	0.760	12.7±2.4	0.588	4.1±1.7
$\alpha 2B$	Del301-303(I/D) (G391G)	A carriers	52(6)	14.8±2.1		16.6±2.4		13.0±2.0		3.7±1.4	
		I/I	33(5)	15.5±2.4	0.017*	17.4±2.6	0.038*	13.5±2.5	0.046*	3.9±1.7	0.928
$\alpha 2C$	Del322-325(I/D)	D carriers	59(3)	14.4±1.9		16.3±2.1		12.5±1.9		3.8±1.4	
		I/I	78(6)	14.6±2.1	0.037*	16.5±2.3	0.029*	12.7±2.1	0.093	3.8±1.3	0.943
$\beta 1$	S49G(A/G)	D carriers	14(2)	15.9±2.2		18.0±2.2		13.8±2.5		4.2±2.4	
		A carriers	52(6)	14.8±2.1		16.6±2.4		13.0±2.0		3.7±1.4	
		A/A	65(6)	15.1±2.2	0.023*	17.1±2.4	0.019*	13.2±2.3	0.014*	3.9±1.6	0.726
$\beta 2$	R389G(C/G)	G carriers	27(2)	14.0±1.8		15.8±2.2		12.1±1.5		3.7±1.4	
		C/C	54(3)	14.7±2.0	0.395	16.5±2.3	0.332	12.6±1.9	0.142	3.9±1.7	0.952
		G carriers	38(5)	15.0±2.3		17.0±2.5		13.3±2.5		3.7±1.3	
$\beta 3$	T-47C(T/C) (T-20C)	T/T	72(6)	14.9±2.0	0.611	16.7±2.3	0.871	13.0±2.1	0.381	3.8±1.5	0.198
		C carriers	20(2)	14.6±2.5		16.6±2.5		12.5±2.5		4.2±1.5	
		A/A	23(2)	14.9±1.8	0.908	16.6±2.2	0.751	12.8±2.0	0.815	3.8±1.6	0.627
$\beta 3$	W64R(T/C)	G carriers	69(6)	14.8±2.2		16.7±2.4		12.9±2.2		3.9±1.5	
		C/C	77(6)	14.8±2.1	0.591	16.6±2.4	0.440	12.9±2.1	0.979	3.8±1.5	0.207
		G carriers	15(2)	15.1±2.4		17.1±2.4		12.9±2.5		4.3±1.6	
$\beta 3$	L84L(G/A)	A carriers	56(5)	14.9±2.1		16.8±2.4		13.0±2.1		3.8±1.5	
		G/G	36(3)	14.7±2.1	0.658	16.5±2.3	0.486	12.6±2.3	0.317	3.9±1.6	0.866
		C carriers	29(2)	15.1±2.0		16.8±2.4		13.0±2.1		3.8±1.5	
$\beta 3$	R175R(C/A)	A carriers	56(5)	14.9±2.1		16.8±2.4		13.0±2.1		3.8±1.5	
		C/C	36(3)	14.7±2.1	0.658	16.5±2.3	0.486	12.6±2.3	0.317	3.9±1.6	0.866
		T/T	63(6)	14.7±2.2	0.402	16.7±2.5	0.765	12.7±2.3	0.341	3.9±1.6	0.576
$\beta 3$	W64R(T/C)	C carriers	29(2)	15.1±2.0		16.8±2.1		13.2±2.0		3.6±1.3	

平均値±標準偏差, カッコ内は一度でも 21 mmHg を超えた患者の人数を表す.

† : Student's t-test. * : Mann-Whitney U test. * : p<0.05.

(文献 53 から許可を得て転載のうえ改変)

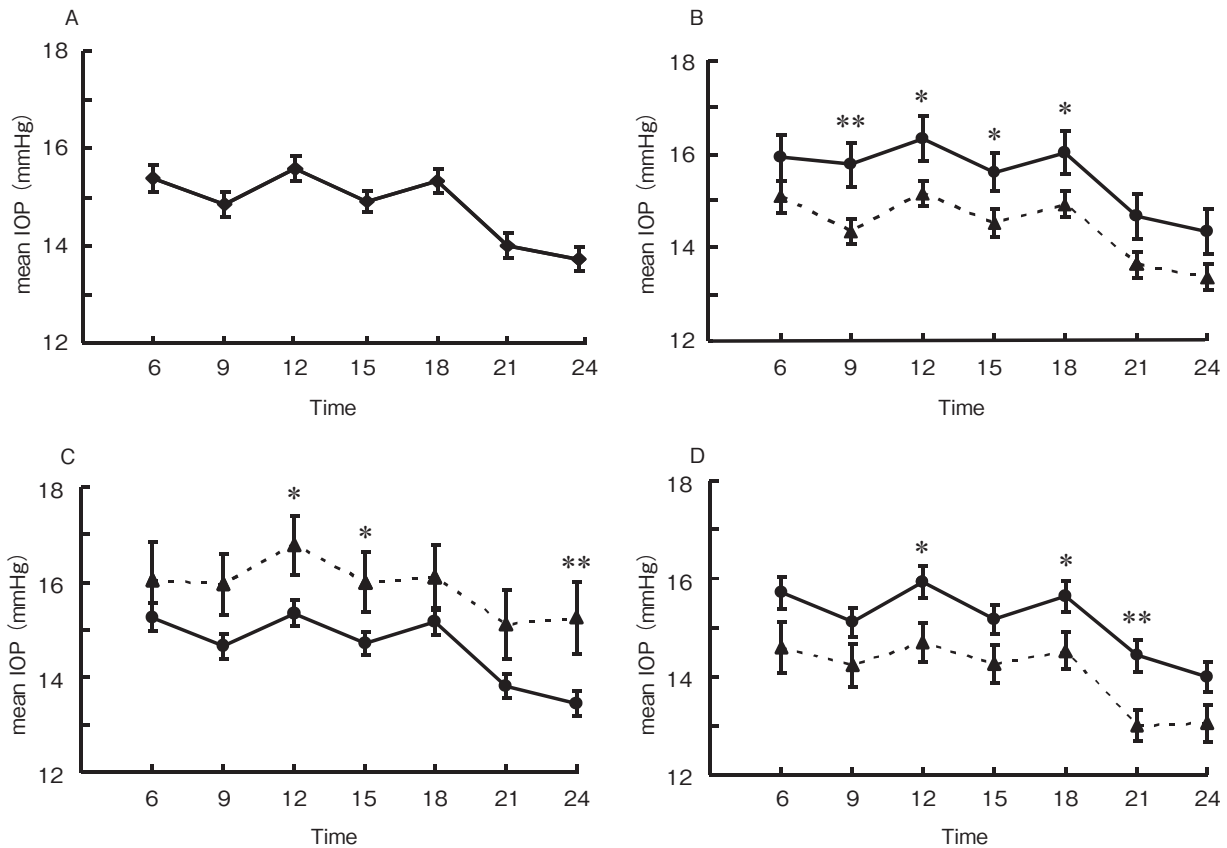


図 18 交感神経受容体遺伝子多型と眼圧の日内変動曲線.

A: 全対象における眼圧の日内変動曲線. B: $\alpha 2B$ の Del301-303 では, insertion/insertion (I/I) の眼圧の日内変動曲線が deletion (D) キャリアーより有意に高い. —●—: I/I (n=33), ---▲---: D キャリアー (n=59). C: $\alpha 2C$ の Del322-325 では, I/I の眼圧の日内変動曲線が D キャリアーより有意に低い. —●—: I/I (n=78), ---▲---: D キャリアー (n=14). D: $\beta 1$ の S49G では, A/A の眼圧の日内変動曲線が G キャリアーより有意に高い. —●—: A/A (n=65), ---▲---: G キャリアー (n=27). *: p < 0.05, **: p < 0.01.

(文献 53 から許可を得て転載)

ける日内変動曲線について反復測定分散分析を行うと, $\alpha 2B$ の Del301-303 (p=0.017), $\beta 1$ の S49G (p=0.024) のメジャーホモと $\alpha 2C$ の Del322-325 (p=0.040) のマイナーキャリアーは, それぞれ他の遺伝子型に比べて, 眼圧変動パターンは同じだったが, 眼圧レベルが有意に高かった⁵³⁾(図 18 B~D). 他の多型では有意ではなかった. この 3 つの多型について, 各時刻における眼圧を遺伝子型により Student's t-test すると, いくつかの時刻で有意な差が認められた.

以上のように, NTG 患者において, $\alpha 2B$ 受容体遺伝子の Del301-303, $\alpha 2C$ の Del322-325, $\beta 1$ の S49G において, 遺伝子型と日内変動の平均, 最高, 最低眼圧の間に有意な関連が認められた. しかし眼圧変動幅においては関連がみられなかった. また, 眼圧変動曲線の解析から, NTG 患者において交感神経受容体遺伝子の多型が日内変動の眼圧レベルに影響を与える可能性が示唆された. 交感神経受容体多型により眼圧日内変動の変動の大きさは予測できないが, 眼圧レベルがある程度予測できる可能性がある.

IV 薬物治療: 個々人に最適な治療の模索

1. 遺伝情報に基づくテーラーメイド治療

緑内障の治療薬としてはプロスタグランジン関連薬, 交感神経 β 遮断薬, 炭酸脱水酵素阻害薬など, 作用機序の異なる薬物が用いられる. 現在の第一選択薬としてはプロスタグランジン関連薬が多く用いられているが, 予想外に眼圧が下降しない症例をしばしば経験する. Aug ら⁵⁵⁾と Scherer⁵⁶⁾により, ラタノプロストにおけるノンレスポnderの存在が示唆されているが, その原因は明らかではない. 近年, 薬物治療における治療効果と副作用の個人差が遺伝子の一塩基多型 (single nucleotide polymorphism: SNP) と関連していることが明らかになりつつある. 例えば, 薬物代謝酵素遺伝子群である CYP (チトクローム P 450) に存在する SNP は, 循環器薬などの代謝に関与し, 副作用の強弱に関連することが知られている. この他にも, β -アドレナリンレセプター⁵⁷⁾⁵⁸⁾, angiotensin converting enzyme⁵⁹⁾, angiotensin II type 1 receptor⁶⁰⁾などの遺伝子多型が薬の反応性に関与してい

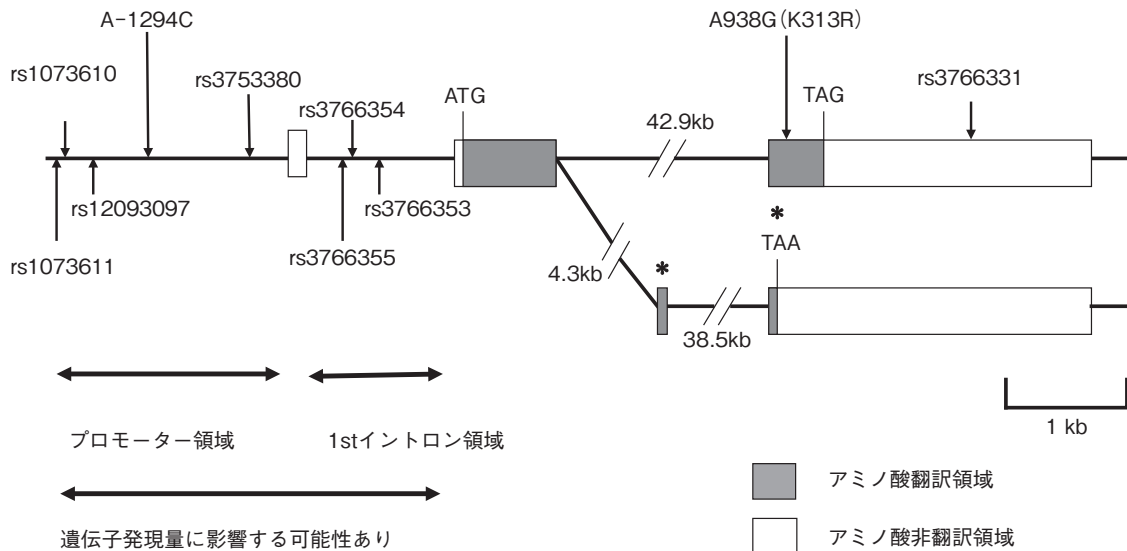


図 19 FP レセプター遺伝子の構造と一塩基多型 (SNP) の位置。

それぞれの SNP を NCBI (<http://www.ncbi.nih.gov/SNP>) の rs ナンバーにより表示した。エクソンを□で表し、アミノ酸をコードしている領域を■で示した。Alternative splicing によりコードされる部分と翻訳終止点を*で示した。
(文献 65 から許可を得て転載のうえ改変)

表 6 FP レセプター遺伝子における SNP の遺伝子型と平均眼圧下降率 ($\Delta\%$ IOP)

SNP ID	Major homo	Minor carrier	p 値 [‡]
rs1073611	17.5 ± 1.0 (86)	21.4 ± 2.9 (14)	0.295
rs1073610	17.5 ± 1.0 (86)	21.4 ± 2.9 (14)	0.295
rs12093097	17.9 ± 1.1 (88)	19.7 ± 2.5 (12)	0.494
A-1294C	17.6 ± 1.0 (90)	22.3 ± 2.9 (10)	0.173
rs3753380	20.3 ± 1.5 (52)	15.6 ± 1.2 (48)	0.0316
rs3766355	19.6 ± 2.4 (25)	17.6 ± 1.0 (75)	0.362
rs3766354	17.5 ± 1.3 (57)	18.8 ± 1.6 (43)	0.791
rs3766353	16.8 ± 1.3 (46)	19.2 ± 1.4 (54)	0.263
A938G	18.0 ± 1.0 (96)	19.8 ± 2.5 (4)	0.712
rs3766331	18.6 ± 1.2 (74)	16.7 ± 1.8 (26)	0.512

平均値 ± 標準誤差, () 内は人数. [‡]: Mann-Whitney U test.
(文献 65 から許可を得て転載のうえ改変)

るといふ報告がある。また、緑内障治療薬としては、交感神経β遮断薬であるベタキソロールに対する眼圧下降作用が健常人でβ1受容体の SNP, Arg389Gly と関連性があるという報告がある⁵²⁾。また、McCartyらは、交感神経β遮断薬に対する眼圧下降作用がβ2受容体遺伝子の SNP rs1042714 において CC であると有意に大きいと報告している⁶¹⁾。

ラタノプロストはプロスタグランジン F_{2α}(FP)レセプターに対する選択性が高く⁶²⁾、主に FP レセプターに作

用して眼圧下降を引き起こす。FP レセプターは角膜上皮、毛様体、虹彩の平滑筋などに発現している。ラタノプロストによる FP レセプターの活性化が、マトリックスメタロプロテアーゼを増加させ、毛様体のコラーゲンや細胞外マトリックスの分解を引き起こし、その結果ぶどう膜強膜流出路からの房水流出量が増加して眼圧が下降する⁶²⁾⁶³⁾と考えられている。

また、マウスで FP レセプター遺伝子をノックアウトすると、ホモ接合体ではラタノプロスト点眼による眼圧下降作用がみられない⁶⁴⁾ことから、FP レセプターがラタノプロストの眼圧下降作用に不可欠であることが示唆された。したがって、FP レセプター遺伝子が、ラタノプロスト点眼に対する眼圧下降作用を規定している可能性が考えられる。

著者らはラタノプロストによる眼圧下降作用が FP レセプターの SNP と関連があるかどうかを、健常人において解析した⁶⁵⁾。

100 人の健常被験者(男性 82 人, 女性 18 人)を対象に、0 日目の 9 時, 13 時半, 18 時に Goldmann 圧平式眼圧計で両眼の眼圧を測定した。1 日目より毎朝 9 時に片眼に 0.005% ラタノプロストを 7 日間, 点眼した。反対眼を対照眼とした。7 日目に 0 日目と同様に両眼の眼圧を測定した。各時刻の眼圧下降率 (%) = $\{(T_{pre} - T_{post}) - (C_{pre} - C_{post})\} / T_{pre} \times 100$ 。T は点眼側, C は非点眼側, “pre” は 0 日目, “post” は 7 日目の眼圧を表す。各眼圧測定時刻の眼圧下降率の平均を平均眼圧下降率 (% ΔIOP) とした。

FP レセプター遺伝子に 10 個の SNP が見出された(図 19)。この 10 個の SNP に関して被験者の遺伝子をタイ

表 7 rs3753380 の遺伝子型による特徴

遺伝子型		CC	CT+TT	p [†]
人数(女性)		52(10)	48(8)	0.74
年齢(歳)		24.3±0.3	24.3±0.4	1
点眼側眼圧	0 日目(mmHg)	13.7±0.3	14.3±0.3	0.16
	7 日目	10.9±0.3	12.0±0.3	0.0097
非点眼側眼圧	0 日目	13.2±0.3	13.9±0.3	0.11
	7 日目	13.2±0.3	13.8±0.3	0.17
点眼側角膜厚(μm)		557.2±4.8	558.5±4.0	0.84

平均値±標準誤差. †: Student's t-test

(文献 65 から許可を得て転載のうえ改変)

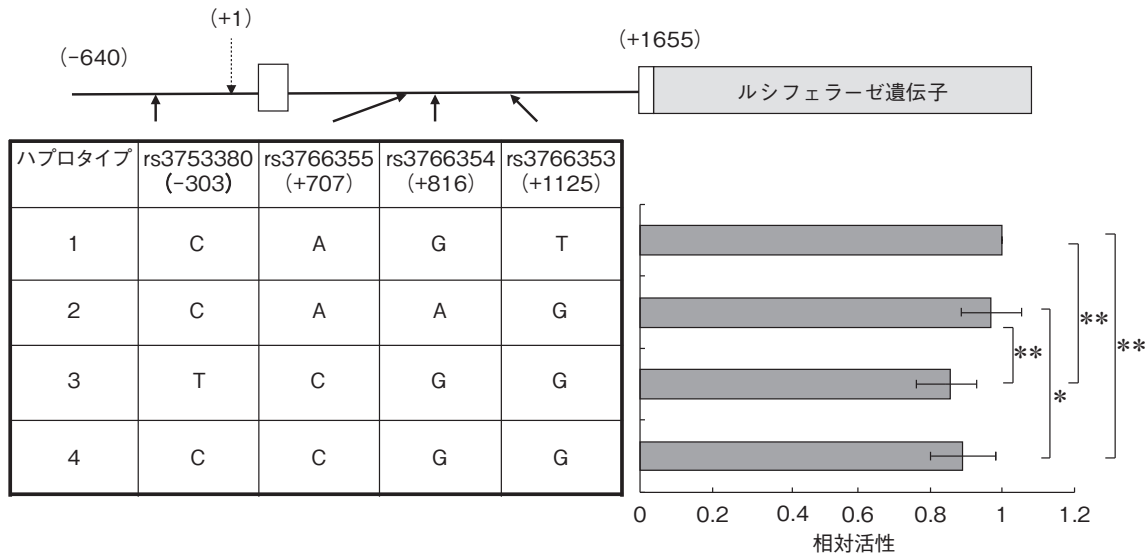


図 20 FP レセプター遺伝子 SNP の各ハプロタイプによるレポーターアッセイ.

上:それぞれの SNP の位置とレポーター遺伝子(ホタルルシフェラーゼ遺伝子)の構造. 下:各ハプロタイプを持つクローンの相対ルシフェラーゼ活性. ホタルルシフェラーゼ活性はトランスフェクションの効率を補正するため, ウミシイタケルシフェラーゼ活性で補正した. さらに相対ルシフェラーゼ活性はハプロタイプ 1 の活性を 1 として算出した. 値は平均値±標準偏差で, 15 回の独立実験を行った後 Student's t-test を行った. *: p<0.02, **: p<0.01.

(文献 65 から許可を得て転載のうえ改変)

ピングし, % ΔIOP との関係解析したところ(表 6), rs3753380 と % ΔIOP の間に有意な関連がみられた. CC ホモの % ΔIOP は 20.3±1.5%(平均値±標準誤差)であるのに対し, CT ヘテロ+TT ホモでは 15.6±1.2%(p=0.0316)であった. 7 日目の眼圧の値を見てみると, CC ホモの点眼側の平均眼圧は 10.9±0.3 mmHg であるのに対し, CT ヘテロ+TT ホモでは 12.0±0.3 mmHg (p=0.0097)と有意な差があった(表 7). % ΔIOP によってラタノプロストに対する反応性を, ローレスポonder (10% 未満), ミディアムレスポonder (10% 以上 25% 未満), ハイレスポonder (25% 以上)に分類し, この 3 群と FP レセプターの各 SNP, 遺伝子型について χ²検定を行った. その結果, rs3753380 と rs3766355 の SNP において有意な関連性(p<0.05)が見出された. ハイレスポonder と他の群において, rs3753380 で CC 対 CT+TT (p=0.013, オッズ比 3.82), rs3766355 で AA 対 AC

+CC (p=0.033, オッズ比 2.95), また, ローレスポonder と他の群において, rs3766355 で CC 対 AA+AC (p=0.019 オッズ比 3.48)であった. また, ローレスポonder, ミディアムレスポonder, ハイレスポonder において, rs3753380 で CC 対 CT+TT (p=0.030)であった.

FP レセプター遺伝子で眼圧下降作用と関連性のあった SNP, rs3753380, rs3766355 は翻訳開始点より上流に位置するため, これらの SNP が FP レセプターの発現に関与する可能性がある. そこで, 関連があった 2 つの SNP と近傍にある SNP, rs3766354 と rs3766353 のハプロタイプの頻度を, EM アルゴリズムを用いて予測した. 理論上は 2⁴(16 種)の組み合わせのハプロタイプが存在するはずが, 100 人の解析では 6 種しか存在せず, さらにこのうちの 4 種が 95% を占めていた. これらの SNP が FP レセプターの転写活性に影響するかどうかを調べるために, この 4 種のハプロタイプの遺伝子につい

て、-640 から +1655 までの領域をホタルルシフェラーゼ遺伝子の近位に組み込み、レポーターアッセイを行った。ホタルルシフェラーゼの相対活性はハプロタイプ 1, 2 に対し, 3, 4 で有意に減少していた(図 20)。すなわち, ルシフェラーゼの活性が rs3766355 に C を持つと低下することが明らかになった。また, レポーターアッセイの結果は, χ^2 検定の結果(rs3766355 に C があり, A がないとローレスポンスになりやすくなること)と一致する。また, 表 6 の結果から rs3753380 に関しては T を持つことが % Δ IOP の減少と関連したが, ハプロタイプの解析から, T を持つ個体は rs3766355 に低い転写活性を持つ C となる。このことから, rs3766355 の C と rs3753380 の T が FP レセプター遺伝子の発現の低下によってラタノプロストの反応性を低下させている可能性が示唆された。

薬剤応答性の遺伝的要因として, 薬剤受容体の SNP が関与する可能性がある。これは薬剤応答性の個人差と考えられるが, 各々の緑内障治療薬について受容体などの SNP と薬剤の応答性(眼圧下降作用)が明らかになれば, あらかじめ個人の特定の SNP を調べることにより, その人がどの緑内障治療薬に対して反応する(レスポンス)のかをあらかじめ予測することができる。これによって, 各個人に最適な治療薬を早期に提供する緑内障治療薬のテーラーメイド医療が実現する可能性がある。

2. 片眼トリアルによる治療効果の判定

眼圧日々変動が大きな人では治療開始した後の眼圧値が薬剤による眼圧下降効果によるものか, または日々変動なのかの判断が難しい。薬剤の治療効果は治療の前後での眼圧値の差から, 日々変動による眼圧変化分を差し引くことで真の薬剤による眼圧下降効果の判断ができる。これを実地臨床で可能にしたのが片眼トリアルである。緑内障診療ガイドライン⁹⁾では, 「点眼薬の導入に当たって, できれば片眼に投与してその眼圧下降効果や副作用を判定(片眼トリアル)し, 効果を確認の後両眼に投与を開始することが望ましい」と記載されている。また, American Academy of Ophthalmology の Preferred Practice Patterns for Open Angle Glaucoma⁶⁶⁾では, 「緑内障点眼薬の効果を判定する際に, 点眼による眼圧下降と日々変動による眼圧変化を分けて考える必要があり, 緑内障点眼薬を新しく開始する際にはまず片眼に投与し, その対側眼の眼圧変動も考慮するのがよい」と述べている。片眼トリアルに関してもその効果の判定のためにはいくつかの条件があるとされる。Smith ら⁶⁷⁾は以下の 3 つの条件を挙げている。① トリアル開始時の両眼の眼圧が一致していること, ② 両眼の眼圧日内変動が一致していること, ③ 点眼薬が非点眼側に影響しないことである。両眼の眼圧の一致性に関しては, Sit ら⁶⁸⁾が報告しており, 正常者では左右眼の眼圧はほぼ対称性であるが, 緑内障患者では眼圧の非対称性

がやや大きいとされる。つまり, 緑内障患者には片眼トリアルが不向きな症例(眼圧の左右差の大きい症例)が存在する。また, 点眼薬の影響が非点眼側に及ばないとの条件で考えると, 交感神経 β 遮断薬は, 非点眼側にも眼圧下降作用をもたらすため片眼トリアルに不向きである。OHTS study でも点眼側で -5.9 ± 3.4 mmHg の眼圧下降を示し, 非点眼側でも -1.5 ± 3.0 mmHg の眼圧下降を示したと報告されている⁶⁹⁾。

前提条件が満たされた理想的条件下で, 片眼トリアルが真の薬剤応答性を正しく評価できるかを著者らは検討した⁷⁰⁾。眼圧日内変動の左右差が小さいと考えられる健常者を被検者とし, 眼圧下降作用が最も大きく他眼への影響がないラタノプロスト⁷¹⁾を用いて, 左右眼に交互に片眼トリアルを行う群と両眼点眼を行う群の間で左右眼の眼圧下降の対称性を比較した。

41 人の正常眼圧の健常人をグループ 1(片眼トリアル群)とした。First trial として, Day 0 に日内眼圧を 9 時, 13 時半, 18 時の計 3 回測定し, Day 1 から 7 日間連続ラタノプロストを右眼に点眼した。左眼は非点眼対照とした。Day 7 に, Day 0 と同様に日内眼圧を 3 回測定した。2 か月以上の wash out 期間を置いて, 今度は右眼を非点眼対照, 左眼にラタノプロスト点眼とした Second trial を同様のプロトコールで行った。眼圧下降幅は, 式 1: 眼圧下降幅 (Δ IOP 1) = $T_{pre} - T_{post}$ (mmHg), 式 2: 眼圧下降幅 (Δ IOP 2) = $(T_{pre} - T_{post}) - (C_{pre} - C_{post})$ (mmHg)。T と C はそれぞれ点眼側眼圧, 非点眼側眼圧を表し, *pre* と *post* はそれぞれ Day 0 と Day 7 の平均眼圧を表す。

41 人の正常眼圧の健常人をグループ 2(両眼トリアル群)とした。ラタノプロストを両眼に 1 週間点眼し, グループ 1 と同じプロトコールで Day 0 と Day 7 に眼圧測定を行った。眼圧下降幅は Δ IOP 1 を用いて計算した。

片眼トリアルの First trial, Second trial とともにラタノプロストは点眼側の眼圧を有意に下降させ, 非点眼側の眼圧は変化させなかった(図 21)。2 回の片眼トリアル(First trial と Second trial)間での点眼側眼の眼圧下降幅の相関は有意ではあるが弱かった (Δ IOP 1, $r^2 = 0.102$, $p < 0.05$) (図 22 A)。また, 非点眼側眼の眼圧変動分を差し引いても, 相関はよくならなかった (Δ IOP 2, $r^2 = 0.097$, $p < 0.05$) (図 22 B)。それに対して, ラタノプロストの両眼トリアルでは, 両眼での眼圧下降は有意かつ非常によく相関した ($r^2 = 0.849$, $p < 0.0001$) (図 22 C)。

両眼点眼において, 左右眼の眼圧下降幅 (Δ IOP 1) が強い相関を示したことから, ラタノプロストに対する薬剤応答性のみならず眼圧変動にも高い左右対称性があったと考えられる。一方, 片眼トリアルでの眼圧下降幅 (Δ IOP 1) の左右眼の相関が悪く, 非点眼側の眼圧変動分を補正した Δ IOP 2 を用いてもまったく改善されなかつ

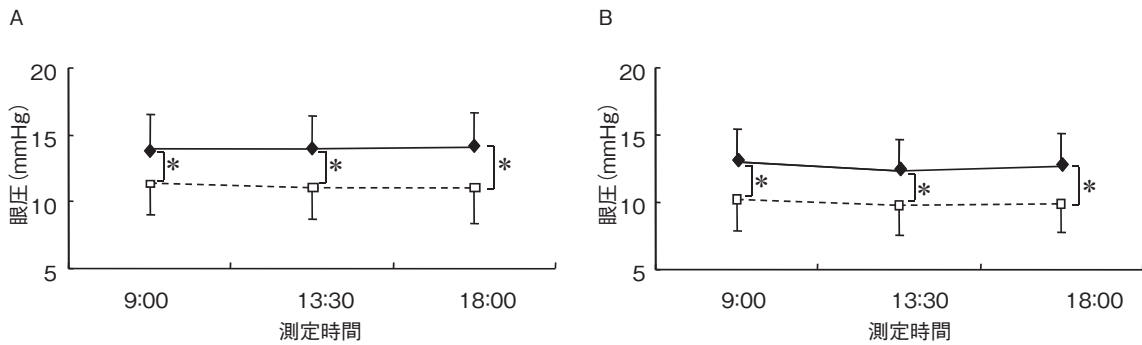


図 21 ラタノプロスト 1 週間連続点眼の眼圧日内変動に及ぼす影響(健康人).

A : First trial の点眼側. B : Second trial の点眼側. 点眼側では first eye, second eye ともに有意な眼圧下降を認めた. —◆— : 点眼前, —□— : 点眼後. グラフは平均値 ± 標準偏差で示す. * : $p < 0.0001$, paired t-test.

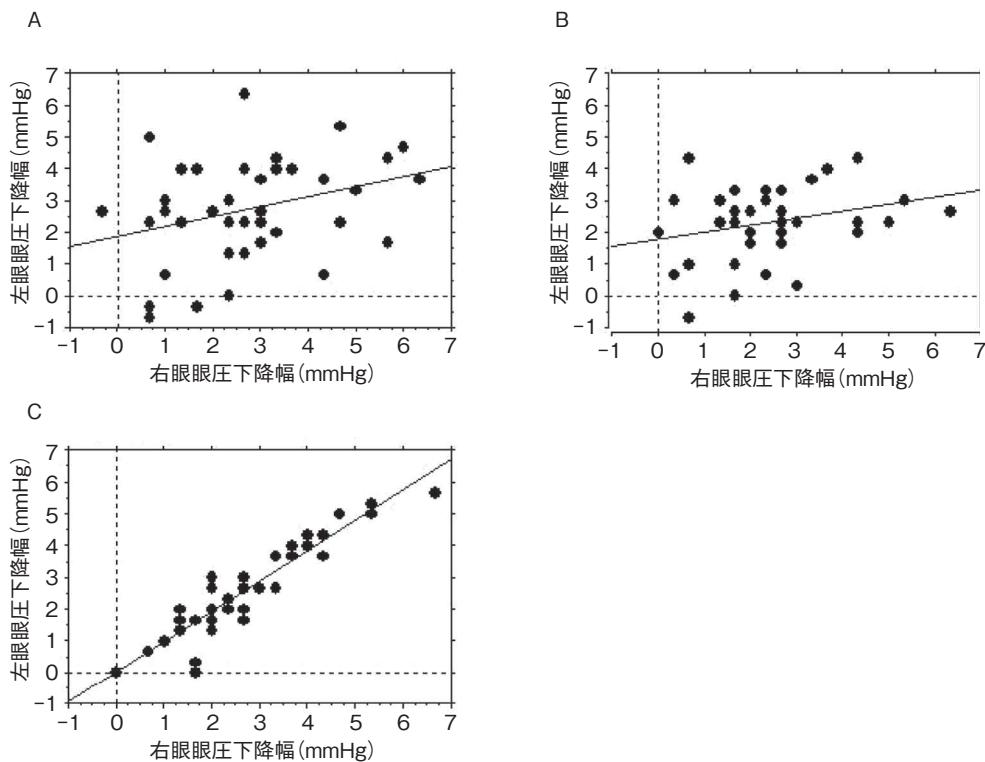


図 22 ラタノプロスト点眼による眼圧下降幅の左右対称性: 片眼トライアルと両眼トライアルとの比較. 健康者にラタノプロスト点眼を 7 日間行う片眼トライアルを, 2 か月の wash out 期間を設けて左右眼交互に行い, 点眼前後の眼圧下降幅の左右対称性を, 両眼点眼の場合と比較した. 図は日内平均眼圧によるプロット.

A : 片眼トライアル, $\Delta IOP 1$ (点眼側の眼圧下降幅). B : 片眼トライアル, $\Delta IOP 2$ ($\Delta IOP 1$ から非点眼側の眼圧変動分を差し引いたもの). C : 両眼点眼, $\Delta IOP 1$.

(文献 70 から許可を得て転載のうえ改変)

たことから, 眼圧の日々変動, 季節変動が相関の悪さの主因であったとは考えにくい. したがって, 2 回の片眼トライアルにおいて, ラタノプロストに対する真の薬剤応答性(眼圧下降幅)が異なっていたと考えざるを得ない. すなわち, 「薬剤応答性は日々変動する」可能性がある. したがって, 点眼前後の 1 日ずつの眼圧測定による片眼トライアルでは, その日の薬剤効果しか知り得ないこと

になり, それによってその後他眼に同じ薬剤を投与した際の眼圧応答を予測することは困難であると思われる.

対側眼の眼圧反応の予測を良くするには, 点眼前後にそれぞれ日を変えて複数回の眼圧測定を行うことが勧められる. そこで, 我々は POAG(広義)または高眼圧症の患者 16 人の片眼トライアル(片眼に点眼)とそれに続く両眼点眼で, 点眼前後にそれぞれ複数回(2 回)の眼圧

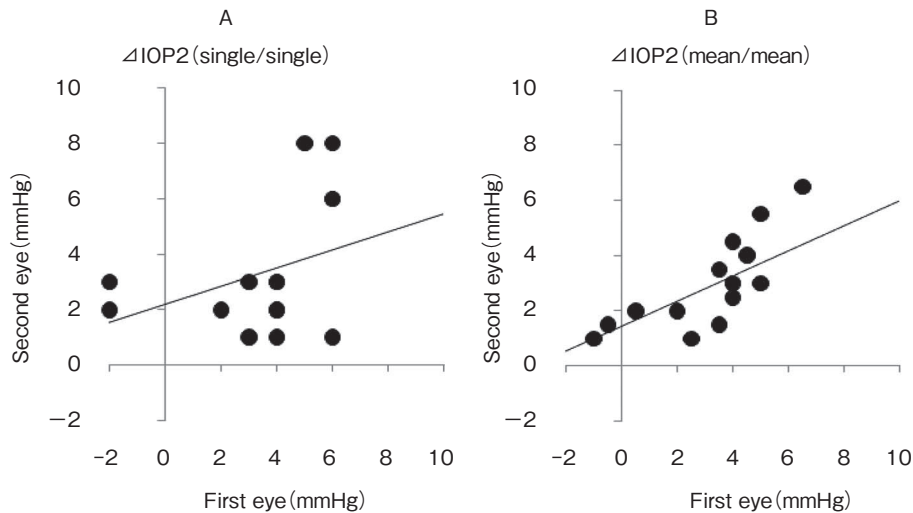


図 23 ラタノプロスト点眼による片眼トライアル(緑内障患者).

原発解放隅角緑内障(POAG)(広義)または高眼圧症の患者 16 人の片眼トライアル(片眼に点眼)とそれに続く両眼点眼で, 点眼前後にそれぞれ 1 回または 2 回の眼圧測定を行い, 左右の眼圧下降幅の相関を検討.

A: 片眼トライアルの点眼前後にそれぞれ 1 回の眼圧測定を行い, 左右眼の眼圧下降幅の相関を示した図. 左右眼の眼圧下降幅には有意な相関はない, $r^2=0.18$ ($p=0.099$).

B: 片眼トライアルの点眼前後にそれぞれ 2 回の眼圧測定を行い, 左右眼の眼圧下降幅の相関を示した図. 左右眼の眼圧下降幅には有意な相関がある, $r^2=0.57$ ($p<0.001$).

$\Delta IOP 2$: 点眼側の眼圧下降幅から非点眼側の眼圧変動分を差し引いたもの.

(文献 72 から許可を得て転載)

測定を行い, 左右の眼圧下降幅の相関を検討した⁷²⁾. その結果, 点眼後 1 回の眼圧測定では左右の眼圧下降幅は $r^2=0.18$ ($p=0.099$)と, 有意でなく相関が弱かったが(図 23 A), 点眼後複数回の眼圧測定を行うことで左右の眼圧下降幅は $r^2=0.57$ ($p<0.001$)と, 有意に相関した(図 23 B). 1 回の眼圧測定結果から薬剤効果を評価する場合には日内変動, 日々変動による誤差の影響を受けやすく, また, 薬剤反応性の変動にも影響される可能性がある. そのため, 点眼後複数回の眼圧測定を行いその平均をとることで左右の相関が上がったと考えられる. これらのことから, 点眼の片眼トライアルは, 処方前, 処方後の各 1 回の眼圧測定では薬剤の効果を判定せず, 処方前, 処方後それぞれ複数回の眼圧測定(2 回以上)で薬効を判断することが推奨される.

V 神経保護: 神経保護薬の評価法の確立

1. ラット網膜神経節細胞の生体内観察

日本人では正常眼圧緑内障が全緑内障の約 7 割を占め¹⁰⁾¹¹⁾, 治療法として唯一エビデンスのある眼圧下降療法によって進行が阻止できない症例が少なくない⁷⁾⁸⁾. そこで, 眼圧下降療法を補完するものとして, 薬剤などによる種々の神経保護療法が緑内障関連動物モデルを用いて検討されてきた. これらのモデルにおける視神経傷害の定量法は, 従来から網膜の伸展標本や組織切片などによる組織学的手法のみであった. この場合, 網膜神経節細胞の傷害程度の比較を傷害前後で行うことはでき

ず, 個体間あるいは左右眼で比較せざるを得ない. しかし, 網膜神経節細胞の密度や分布は, 個体間あるいは左右眼においてかなり不均一であると報告された⁷³⁾. したがって, 視神経傷害のわずかな差異を正確に定量するには, 膨大な個体数を設定する必要がある. これは, 従来の組織学的方法によって薬剤による網膜神経保護効果を正確に評価することが現実的には困難であることを示唆している. これを解決する唯一の方法は, 視神経傷害を生体内で経時的に定量評価する方法である.

一方, 緑内障関連動物モデルに使用されてきた動物としてサル, ラット, マウスが代表的であるが, ヒトとの類似性, 経済性や簡便性, モデル作製の難易度, 網膜神経節細胞の生体内評価の難易度などを考慮すると, ラットはいずれにおいても著しい欠点を持たない. そこで, 我々はラットを用いて網膜神経節細胞の生体内定量的評価法の確立を試みた. 過去の報告では, 蛍光色素による逆行染色によってラット網膜神経節細胞を標識し, 共焦点レーザー顕微鏡⁷⁴⁾, 蛍光顕微鏡⁷⁵⁾, 赤外眼底カメラ⁷⁶⁾によって生体内で網膜神経節細胞の細胞体を観察可能であったが, 緑内障関連モデルでの網膜神経節細胞の変化を正確に定量した報告はなかった.

そこで, 我々は眼科臨床に用いられている画像診断装置である走査レーザー検眼鏡(scanning laser ophthalmoscope: SLO)に着目し, 視神経傷害モデルとして頻用される視神経挫滅モデルを用いて網膜神経節細胞の変化を生体内で定量的に評価することを試みた⁷⁷⁾.

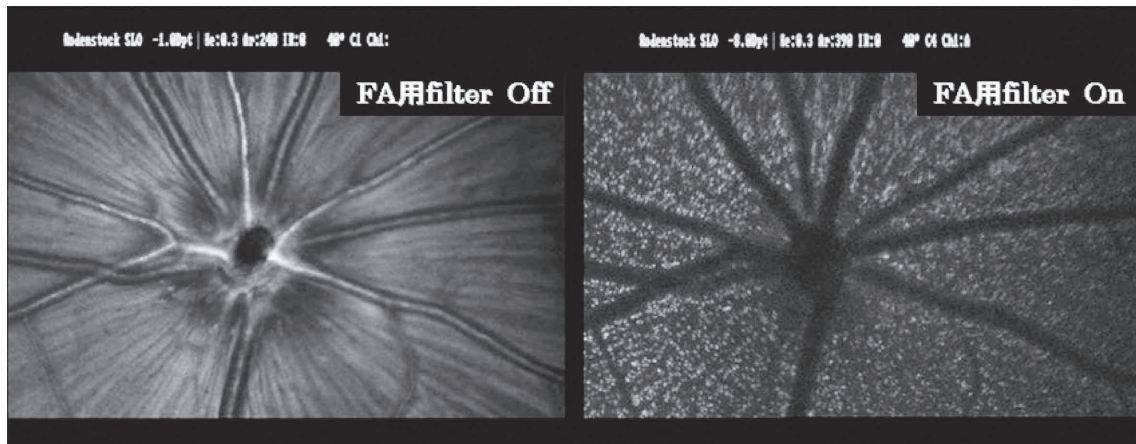


図 24 ラット網膜神経節細胞逆行染色後の走査レーザー検眼鏡(SLO)画像。
逆行染色された網膜神経節細胞は、波長 488 nm のアルゴンレーザーとフルオレセイン蛍光眼底造影用フィルターを使用して SLO によって明瞭に観察できた。

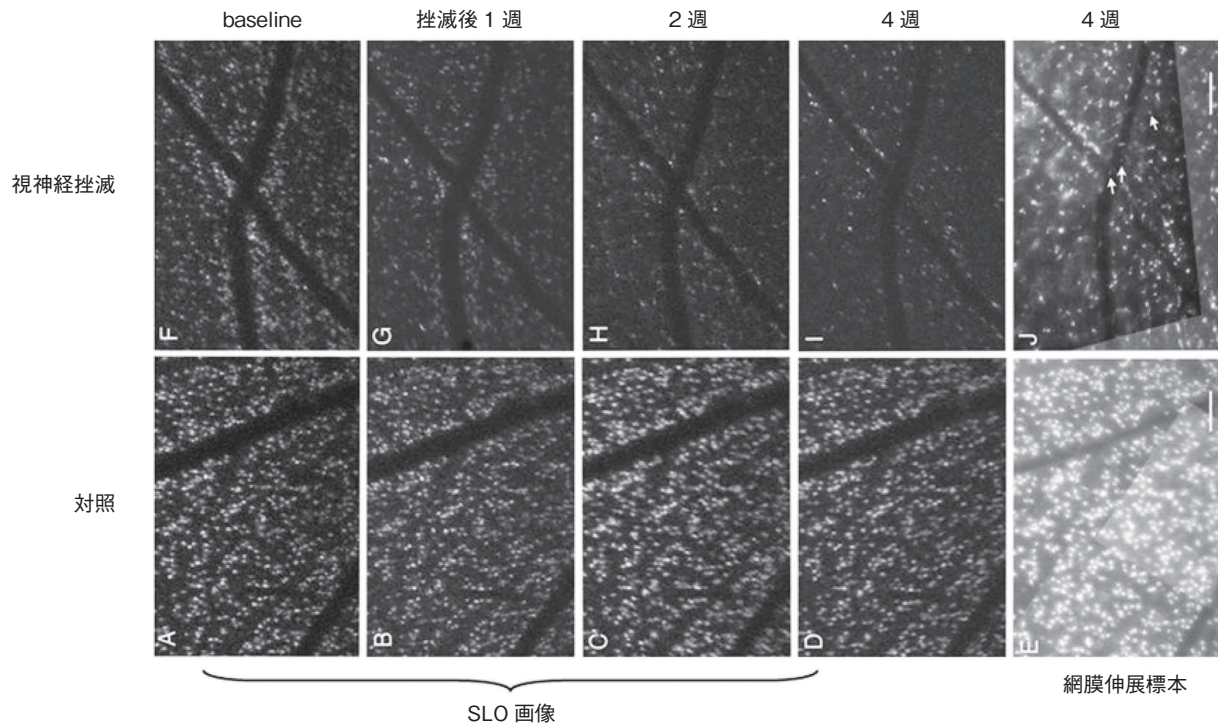


図 25 視神経挫滅による蛍光(+)細胞の経時変化：SLO 画像と網膜伸展標本の比較。
SLO にて蛍光(+)となった細胞数を経時的に計測したところ、視神経挫滅後 1 週目から有意に減少し、4 週目まで減少が進行した。

(文献 77 から許可を得て転載のうえ改変)

まず、Brown Norway ラットの上丘に DiA (4-(4-(di-hexadecylamino) styryl)-N-methylpyridinium iodine) を注入して、網膜神経節細胞を逆行染色した。その 2 か月後に微小血管用クリップによって眼窩内で視神経を挫滅した。逆行染色された網膜神経節細胞は、波長 488 nm のアルゴンレーザーとフルオレセイン蛍光眼底造影用フィルターを使用して SLO によって明瞭に観察できた(図 24)。SLO にて蛍光(+)となった細胞数を経時的に計測したところ、視神経挫滅後 1 週目から有意に減少

し、4 週目まで減少が進行した(図 25, 26)。視神経挫滅や切断後の網膜神経節細胞死の時間経過や程度は、傷害の強度⁷⁸⁾⁷⁹⁾や傷害部位と細胞体との距離⁸⁰⁾に依存することが知られている。眼窩内で視神経が傷害された場合、網膜神経節細胞死は数日後に始まり⁸¹⁾、1 週後に 30~50% に達し^{82)~84)}、その後さらに進行すると報告されている。我々の結果は従来の報告に一致するものであったが、標識された網膜神経節細胞の死後に蛍光色素を貪食したミクログリアが標識され蛍光(+)となる可能性があ

り^{85)~87)}、網膜神経節細胞数の定量にはこれを区別する必要があった。SLO 画像の解像度は形態学的にミクログリアを正確に区別しうるほど良好ではなかったが、視神経挫滅前の SLO 画像を白黒反転し、挫滅後の SLO 画

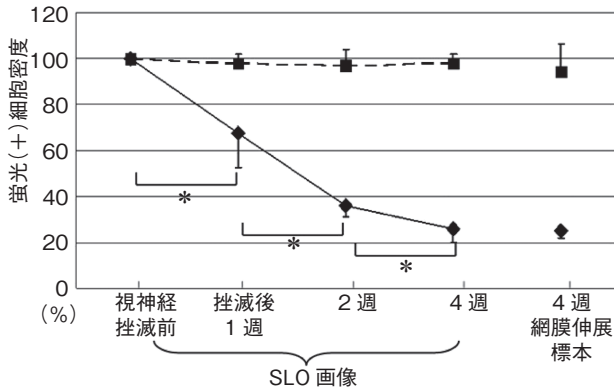


図 26 視神経挫滅による SLO の蛍光(+)細胞密度の経時的变化。
SLO にて蛍光(+)となった細胞数を経時的に計測したところ、視神経挫滅後 1 週目から有意に減少し、4 週目まで減少が進行した。グラフは平均値±標準偏差 (n=6) で示す。* : p<0.01, 対応のある Wilcoxon の符号付き順位検定。

像と重ね合わせることによって、新たに生じた蛍光点をミクログリアとして区別しうると考えられた(図 27)。この仮説は isolectin B4 によるミクログリアの蛍光染色によって裏付けられた。そこで、視神経挫滅後に SLO において新たに生じた蛍光点を差し引いて蛍光(+)の細胞数を定量したところ、網膜伸展標本での網膜神経節細胞数とよく一致した(図 28)。

以上の結果より、SLO はラット網膜神経節細胞の細胞体を生体内で定量的に観察するのに有用であることが明らかとなった。

2. ラット専用 OCT による網膜神経線維層の評価

前述の生体内での網膜神経節細胞の定量⁷⁷⁾は、視神経傷害モデル(視神経挫滅、高眼圧など)において有用であるが、実験には多大な時間と労力を要する。一方、臨床の場において OCT は生体内の網膜断層像を撮影でき、緑内障による網膜神経線維層(retinal nerve fiber layer: RNFL)の菲薄化を観察するのに非常に有用であることが知られている⁸⁸⁾⁸⁹⁾。そこで著者らは市販の OCT を改造し、ラット視神経挫滅モデルにおける RNFL の生体内経時的变化を定量的に観察する方法の開発を試みた⁹⁰⁾。

市販の OCT (EG SCANNER, マイクロトモグラフィ

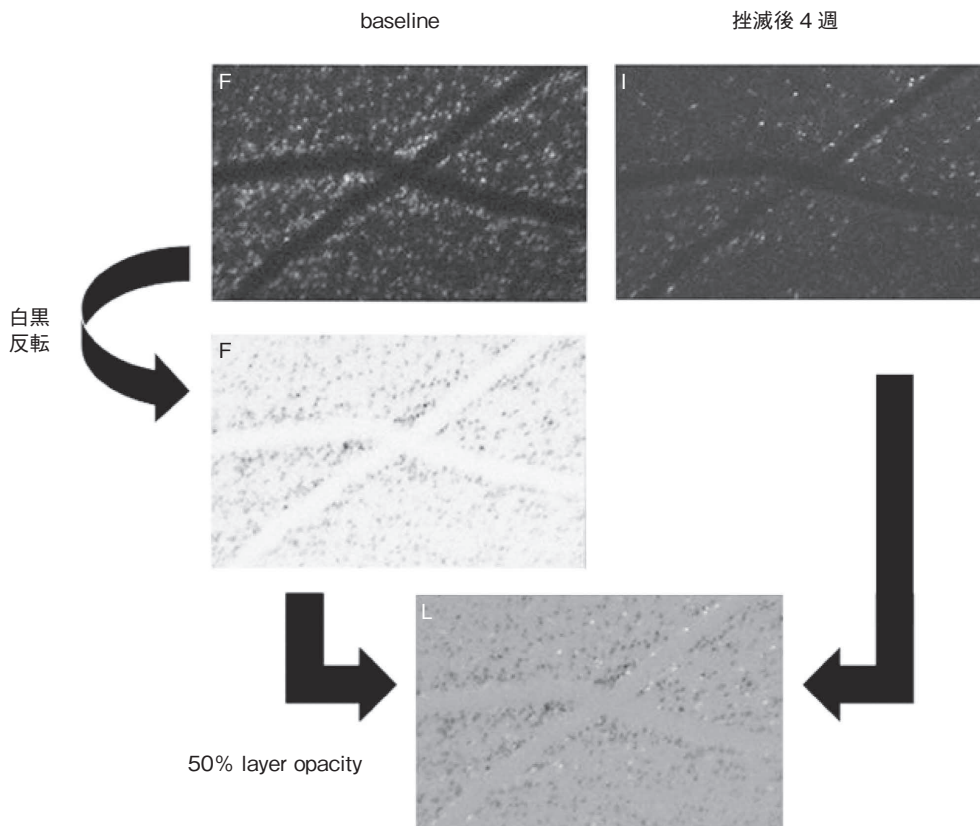


図 27 網膜神経節細胞と死滅した網膜神経節細胞を貪食したミクログリアとの識別 : SLO image overlay analysis.
視神経挫滅前の SLO 画像を白黒反転し、挫滅後の SLO 画像と重ね合わせることによって、新たに生じた蛍光点をミクログリアとして区別しうる。

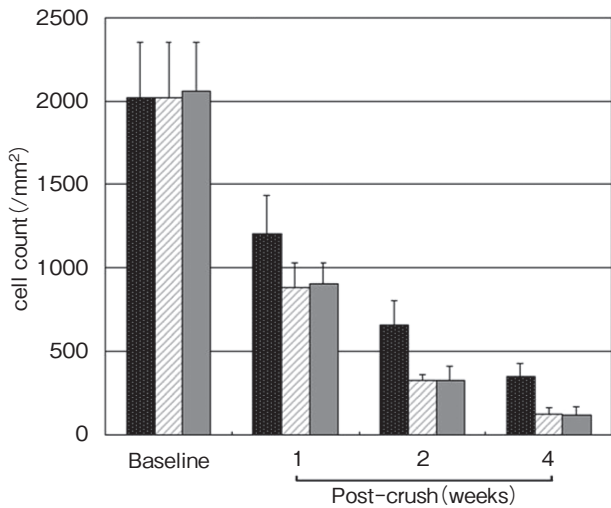


図 28 SLO と網膜伸展標本による網膜神経節細胞の定量：ミクログリアを区別すると、視神経挫滅後に SLO において新たに生じた蛍光点を差し引いて蛍光(+)の細胞数を定量したところ、網膜伸展標本での網膜神経節細胞数とよく一致した。
 ■：SLO での全細胞数，▨：SLO での網膜神経節細胞数，■：網膜伸展標本での網膜神経節細胞数。グラフは平均値±標準偏差(各 n=6)で示す。
 (文献 77 から許可を得て転載)

社製の光源を高解像度用スーパーミネッセントダイオード(SLD)(中心周波数=890 nm, バンド幅=150 nm, コヒーレンス長=4.5 μm, 空間分解能=2.2 μm, 出力=6 mW)に変更し, 光源とラット眼に応じた光学系の改造を行った。8 週齢の Brown-Norway ラットを用い, 十分な腹腔内麻酔下にて右眼視神経を脳外科用クリップにて 30 秒間把持し挫滅させ, 視神経挫滅モデルを作製した。左眼は無処置の対照とした。モデル作製前と作製後 1, 2, 4 週において OCT を用いて視神経乳頭周囲半径 500 μm のサークルスキャンを行い, RNFL 厚を測定した。OCT による測定結果の再現性も評価した。また視神経挫滅 4 週後に OCT にて視神経乳頭中心から 400, 500, 600 μm でのラインスキャンを行った後, 対応する部位の網膜組織切片の RNFL 厚を計測し比較検討した。

ラット眼の RNFL は改造した OCT にて明瞭に観察することが可能であった⁹⁰⁾(図 29)。視神経挫滅前と 1, 2, 4 週後の RNFL 厚は, 27.9±1.8, 29.2±2.4, 19.9±2.3, 4.5±3.6 μm(平均値±標準偏差)であった。RNFL 厚は視神経挫滅 1 週後では変化はなかったが, 2 週後より有意に進行性に減少した(p<0.01)。対照眼の RNFL 厚には実験期間中で変化はみられなかった(図 30, 31)。測定値の再現性(coefficients of repeatability and repro-

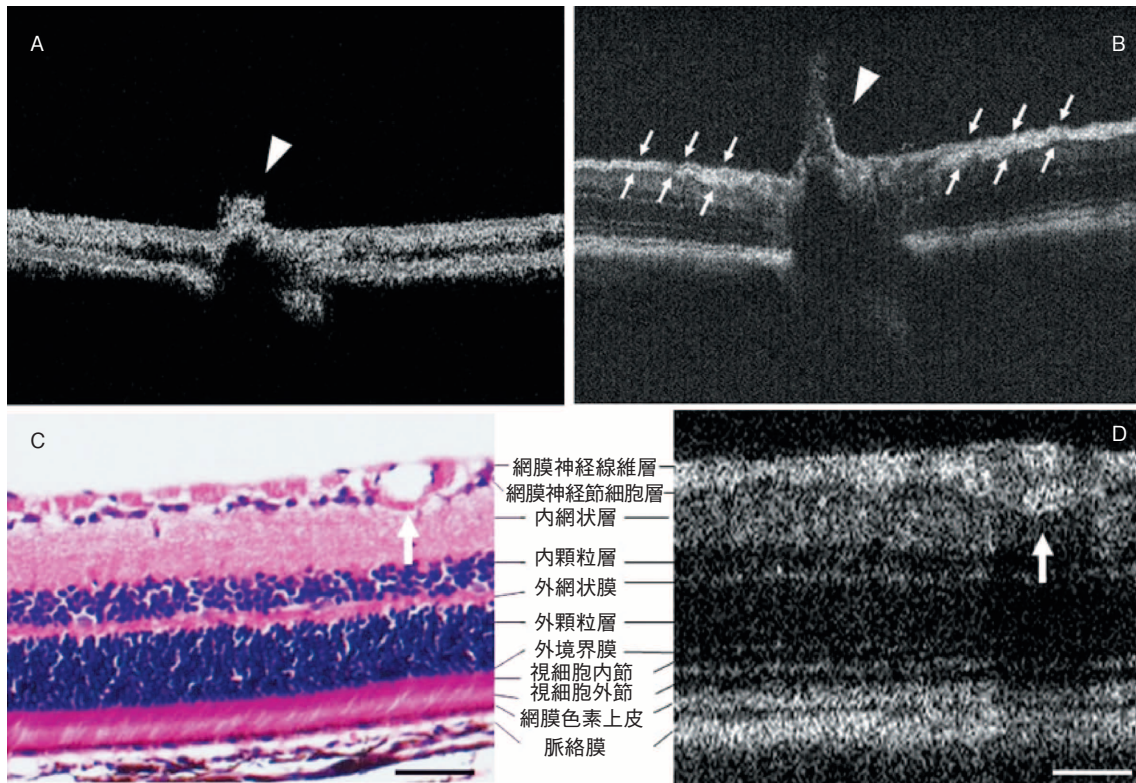


図 29 光源の変更と光学系を最適化することで高解像度化したラット用 OCT 像。
 A：市販のタイムドメイン OCT でのラット網膜断層像。矢頭は視神経乳頭。B：光源の変更と光学系を最適化した改良 OCT でのラット網膜断層像。矢頭は視神経乳頭。矢印は網膜神経線維層(RNFL)。C：OCT での撮影部位(D)と一致する部位の網膜組織像。矢印は大血管。D：B の拡大画像。矢印は大血管。スケールバー=50 μm。

(文献 90 から許可を得て転載のうえ改変)

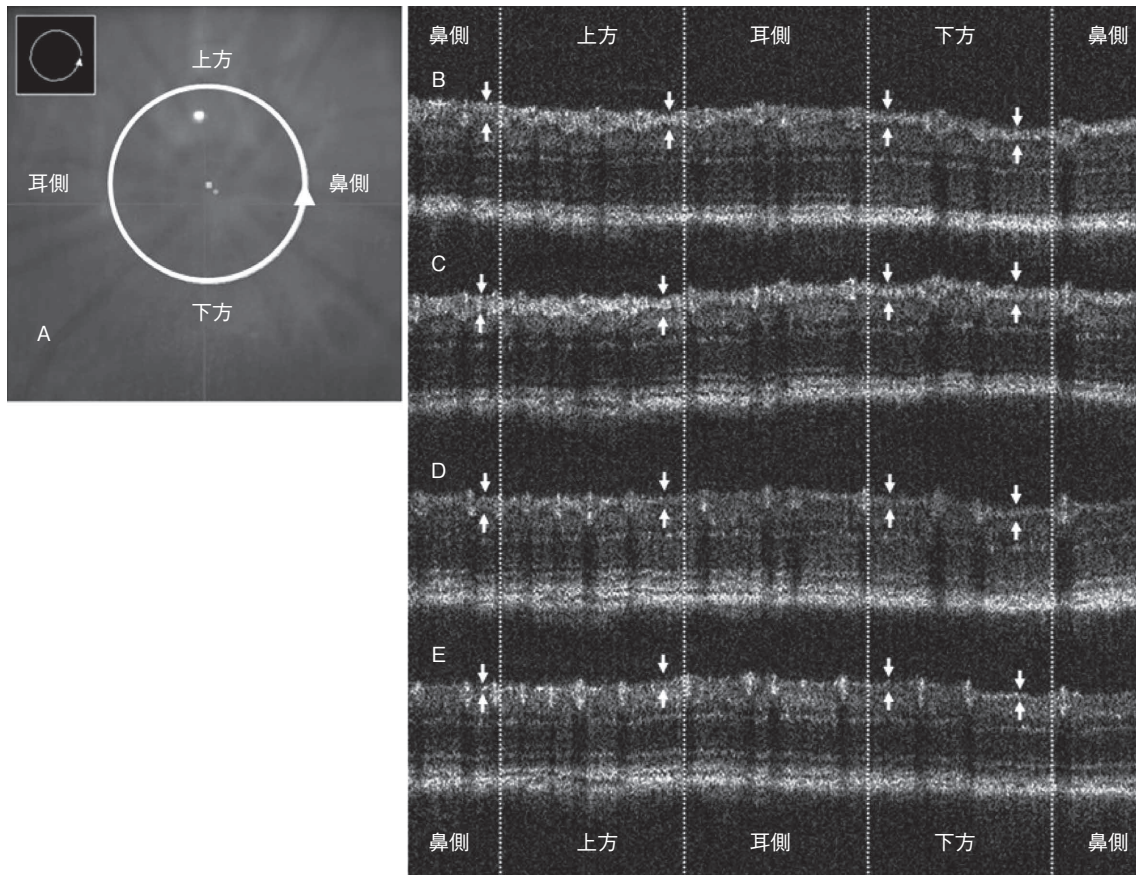


図 30 視神経挫滅後の経時的 RNFL の変化.

A : CCD カメラによる眼底像. 視神経乳頭を中心とした半径 500 μm のサークルスキャンを行った. 矢印はスキャン方向. B~E : 視神経乳頭周囲の OCT 像. B : 挫滅前. C : 視神経挫滅 1 週後. D : 2 週後. E : 4 週後. B~E の矢印は RNFL.

(文献 90 から許可を得て転載のうえ改変)

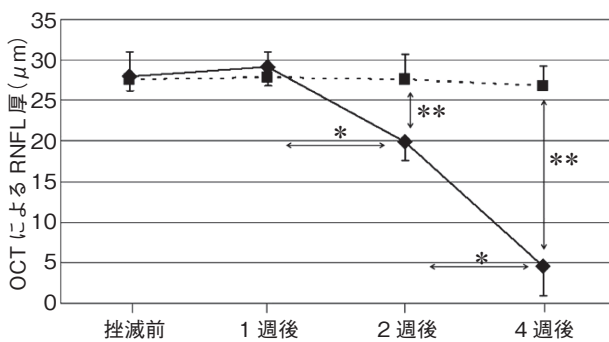


図 31 視神経挫滅後の視神経乳頭周囲サークルスキャンでの平均 RNFL 厚の変化.

—◆— : 挫滅眼, ---■--- : 対照眼. データは平均値 ± 標準偏差を示す (n=9). * : $p < 0.01$ (repeated-measures ANOVA). ** : $p < 0.001$ (paired t-test).

(文献 90 から許可を得て転載のうえ改変)

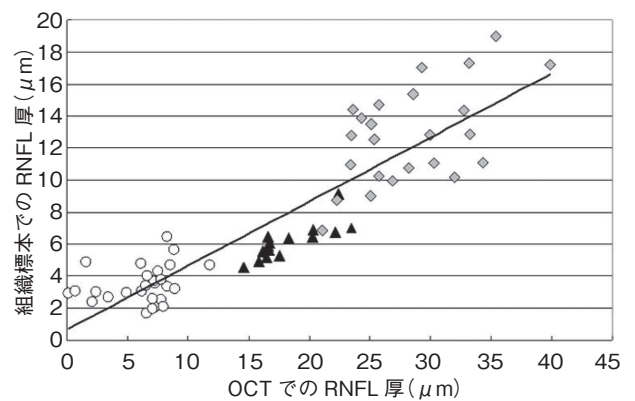


図 32 OCT 像と組織標本での各 RNFL 厚の相関.

OCT 像と組織標本での各 RNFL 厚は視神経挫滅 4 週後を除き Pearson's correlation coefficient analysis で有意な相関がみられた (全体 : $r = 0.90$, $p < 0.001$. 対照眼と 1 週後 : $r = 0.56$, $p < 0.01$. 2 週後 : $r = 0.80$, $p < 0.001$. 4 週後 : $r = 0.26$, $p = 0.19$). ◆ : 対照眼と 1 週後, ▲ : 2 週後, ○ : 4 週後.

(文献 90 から許可を得て転載のうえ改変)

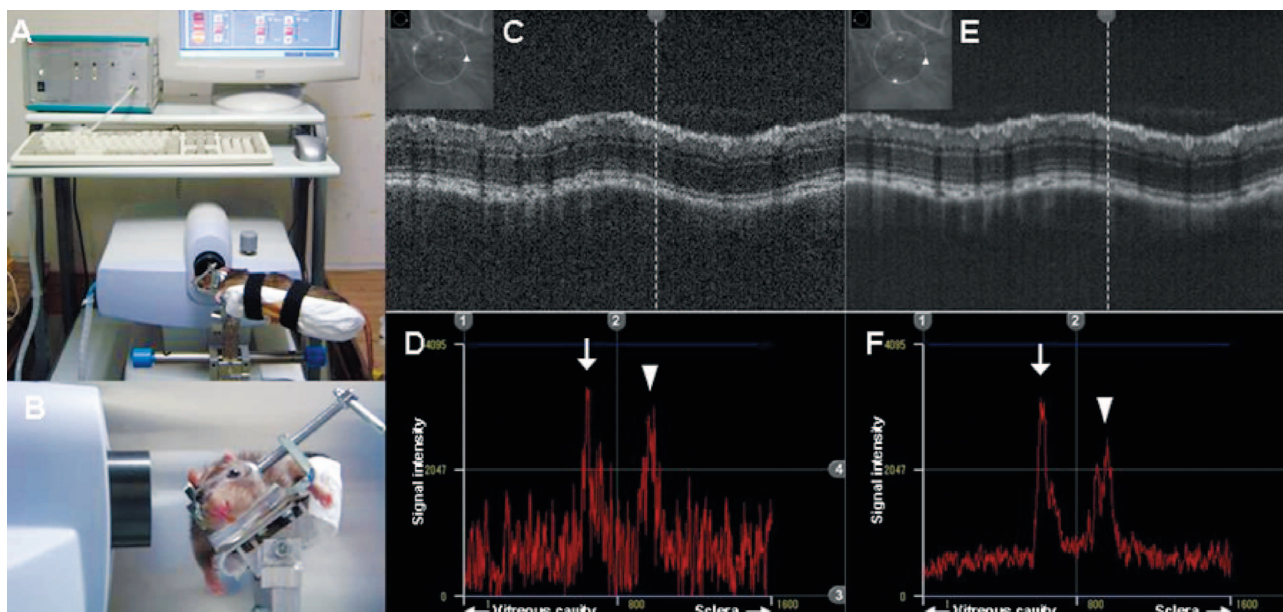


図 33 加算平均によって画質が改善した OCT 画像。

A : OCT システムの全体像. B : ラット頭部固定装置の拡大図. C : 視神経乳頭周囲 1 回スキャン画像.
E : 10 回加算平均画像. C と E での点線部位にあたる axial scan はそれぞれ D と F である. Axial scan profile の例 : 1 回スキャン (D), 10 回加算平均 (F) であり, シグナル/ノイズ比は加算平均により改善した. D と F における矢印は RNFL, 矢頭は網膜色素上皮/脈絡膜に相当する.

(文献 90 から許可を得て転載)

ducibility) は視神経挫滅眼 4 週後を除き 10% 未満であった. また, OCT と網膜組織切片での RNFL 厚には有意な相関があった ($r=0.90$, $p<0.001$)⁹⁰⁾ (図 32).

我々は市販のタイムドメイン OCT をラット用に改良し, 視神経挫滅モデルで RNFL の経時的変化を評価することに成功した⁹⁰⁾. 以前, 当教室の川口らが SLO を用いてラットの RNFL 厚を生体内評価, 計測し報告している⁹¹⁾. しかし, SLO で評価した RNFL 厚は組織標本とよい相関を示したが, SLO は網膜断層を撮影しているわけではなく測定値も相対値でしかなかった. この点から SLO より OCT のほうが RNFL 厚測定に適していた. 既報ではタイムドメイン OCT で網膜変性⁹²⁾⁹³⁾, 脈絡膜新生血管⁹⁴⁾, 網膜移植⁹⁵⁾ を評価したものがあるが, これらの報告で使用された OCT の深さ分解能はラット眼に適したものではなかった. 深さ分解能を改善させるため我々は, 市販製品より広いバンド幅の SLD を使用し RNFL および各網膜層を撮影することができた. 画質は高速, 高解像度であるスペクトラルドメイン OCT に近づいた⁹⁶⁾⁹⁷⁾. Srinivasan ら⁹⁶⁾ はスペクトラルドメイン OCT での正常 Long-Evans ラットを撮影し, 視神経乳頭近傍の RNFL 厚は約 $30 \mu\text{m}$ と報告しており我々の結果もほぼ同様であった. しかしながら OCT による RNFL 厚は, 網膜組織標本による RNFL 厚より明らかに厚かった. この測定値の乖離は, 組織固定時の収縮や切片作製時の圧迫などによる組織標本作製に伴うアーチファクトによる可能性が考えられた⁹⁸⁾⁹⁹⁾.

我々が知る限り, ラット視神経傷害モデルの RNFL 厚変化を OCT で初めて評価することができたが, 今回の OCT システムは改良すべき点がいくつかあった. その一つは RNFL 厚測定で高い再現性を示したが, dynamic range やシグナル/ノイズ比が低いため segmentation をコンピュータで自動化することができず, 手動で行わなければならないであった. 明らかに手動測定は煩雑であり, 測定者の主観も入りやすい. この点から我々はシグナル/ノイズ比を改善させるため画像の加算平均¹⁰⁰⁾を試みた. シングルスキャンに 4.5 秒かかっていたが, ラットの頭部固定台 (図 33 B) を作製することで少なくとも数分間は安定して加算平均に必要な撮影を行えるようになった⁹⁰⁾ (図 33). シグナル/ノイズ比が改善した結果, auto segmentation が可能になった.

OCT によってラット RNFL の生体内経時的定量的評価が可能であり, 今後の緑内障の病態解明および種々の薬剤の神経保護効果の評価などにおいて有用な解析手段となると考えられる.

VI 手術治療：濾過手術を進化させる

1. 緑内障濾過手術の問題点

POAG (広義) の手術は, 進行例では主に濾過手術を選択することになる. 濾過手術の代表である線維柱帯切除術の術後平均眼圧は, 15 mmHg 以下になることが多く, 10 mmHg 以下を目標とすることも可能である. 濾過手術は原理的にすべての病型が適応となる. しかし, 線維

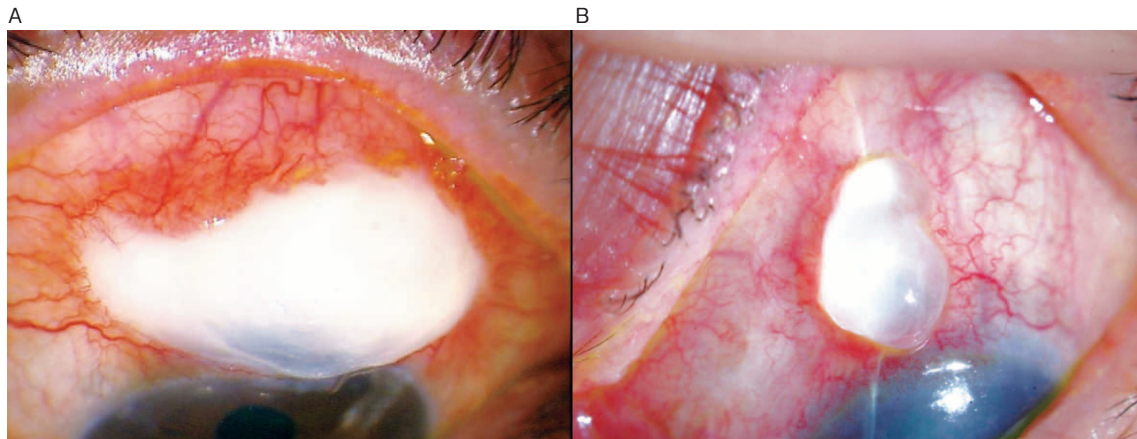


図 34 無血管の濾過胞.

A : マイトマイシン C(MMC)併用線維柱帯切除術(輪部基底)術後の無血管の濾過胞.
 B : 無血管の濾過胞が局限して濾過胞内圧が上昇し, 房水漏出を認める.

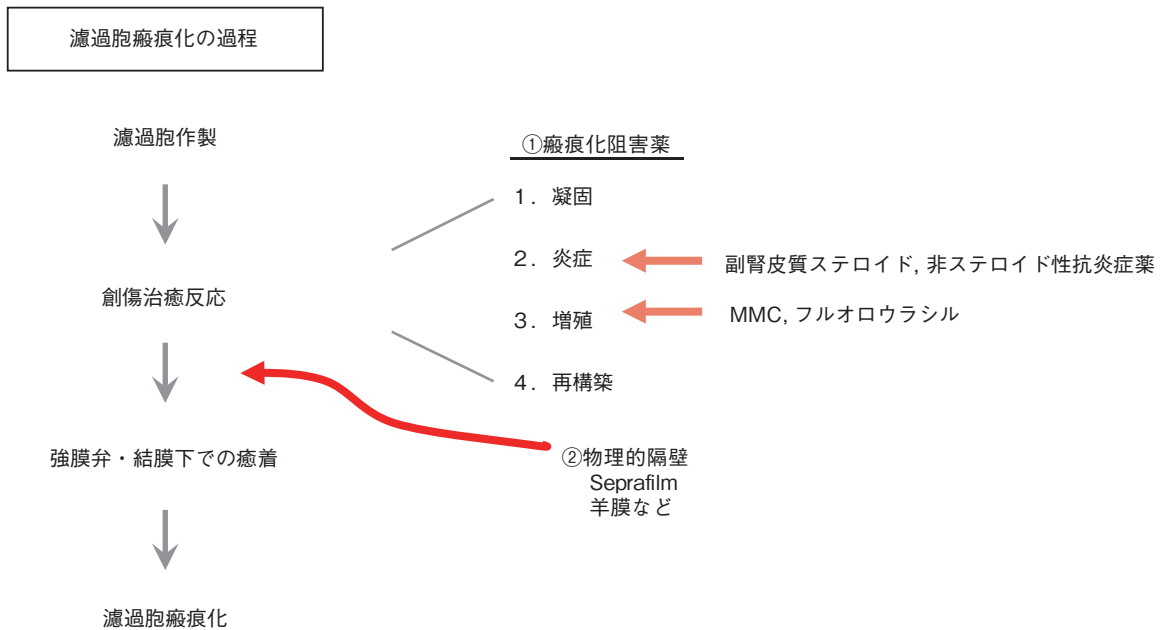


図 35 濾過胞癒着の過程とその抑制戦略.

柱帯切除術では角膜輪部付近に濾過胞が形成されるため、濾過胞感染が術後合併症として問題となる。濾過胞感染は重篤な場合には、眼内炎に進展し失明に至る。本邦では代謝阻害薬であるマイトマイシン C(MMC)の術中結膜下塗布が術後の濾過胞癒着抑制のためにルーチンで使用されている。これによって、線維柱帯切除術の手術成績が飛躍的に向上した反面、無血管性の脆弱な濾過胞(図 34)の形成を促進し、濾過胞感染の発生が増加した。最近、日本緑内障学会主導の濾過胞感染症調査の中間報告では、MMC 併用線維柱帯切除術後の濾過胞炎発症率は 1.5%/2.5 年であった¹⁰¹⁾。その他、房水漏出や過剰濾過による低眼圧黄斑症、濾過胞の癒着による眼圧の再上昇などの合併症があるが、線維柱帯切除術術後合併症の多くは濾過胞に起因している。線維柱帯切除

術をより安全確実な手術にするには、癒着化が起こらず、かつ感染に強い丈夫な濾過胞を作ることが求められてきた。

2. ハニカムフィルムを用いた実験的緑内障濾過手術
 図 35 に示すように創傷治癒反応として生ずる線維芽細胞の増殖を抑制する目的で MMC を線維柱帯切除術中に使用するが、それによって逆に図 34 に示すような無血管の濾過胞を形成してしまう症例が急増した。この MMC と訣別するための戦略として、創傷治癒反応の結果生じる濾過胞結膜や強膜弁の癒着を防止する目的で、物理的隔壁を手術中に設置することが考えられてきた。濾過手術における物理的隔壁としての術後癒着防止の試みでは、Gelfilm¹⁰²⁾, Seprafilm¹⁰³⁾, 架橋ヒアルロン酸ゲル¹⁰⁴⁾, collagen matrix¹⁰⁵⁾, Gore-Tex¹⁰⁶⁾を使用した報

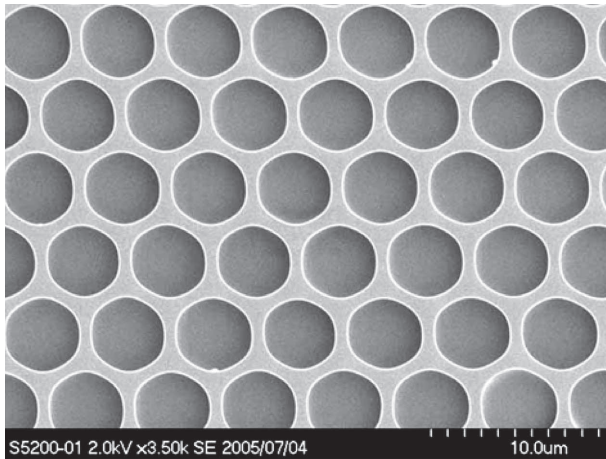


図 36 走査型電子顕微鏡によるハニカムフィルムの構造。

ハニカムの直径は約 $5\mu\text{m}$ であり、この特徴的な構造により組織や細胞に容易に接着する。

告があるが、いずれも効果が一時的で臨床で汎用させるには至っていない。著者らは、濾過手術における物理的隔壁として理想的な癒着防止フィルムを求めていたところ、帝人が開発したハニカムフィルムにゆきあつた。

ハニカムフィルムは片面に直径約 $5\mu\text{m}$ のハニカム構造を有する、乳酸カプロラクトン共重合体(バイクリル, モノクリルなどの吸収性縫合糸の材料)から構成される生分解性ポリマーフィルムである¹⁰⁷⁾(帝人社製, 図 36)。膜厚は $7\mu\text{m}$ で、ハニカム構造を有する面は容易に細胞と吸着し、反対に表面平滑な構造を有する面は細胞との吸着を阻害する。本フィルムは約 1 年かけてゆっくりと生体組織に分解吸収される。我々は家兎を用い、本フィルムのハニカム構造を有する面をテノン囊と吸着させ、強膜とテノン囊の癒着を防止することにより濾過胞を存続させる効果があるかを検討した¹⁰⁸⁾。

著者らは、家兎 12 匹を使用し、2 グループに分けて両眼に緑内障濾過手術を行った。グループ 1 では片眼は濾過手術のみ(対照)、他眼にはハニカムフィルムを置いた濾過手術を行った。グループ 2 では片眼にハニカムフィルムを置いた濾過手術を、他眼には MMC を用いた濾過手術を行った。基本術式として輪部基底結膜切開、 $3\times 3\text{mm}$ の強膜半層弁作製、線維柱帯切除、強膜半層弁切除、結膜縫合を行った。ハニカムフィルムを置いた群では、強膜半層弁を切除した後に $6\times 6\text{mm}$ のハニカムフィルムを、ハニカム面を上にして強膜半層弁切除施行部位を覆うように置き 3 所強膜に縫合した。グループ 2 で MMC を使用した眼では強膜半層弁作製後、0.04% MMC を 3 分間強膜上に留置し、その後 wash out した。これら 2 つのグループに対し術後 4 週間の経過観察を行った。点眼麻酔下でトノペン(Mentor 社, USA)による眼圧測定を行い、その後全身麻酔下で超音波生体顕微鏡(UBM: UD-6000, TOMEY 社, 名古屋)

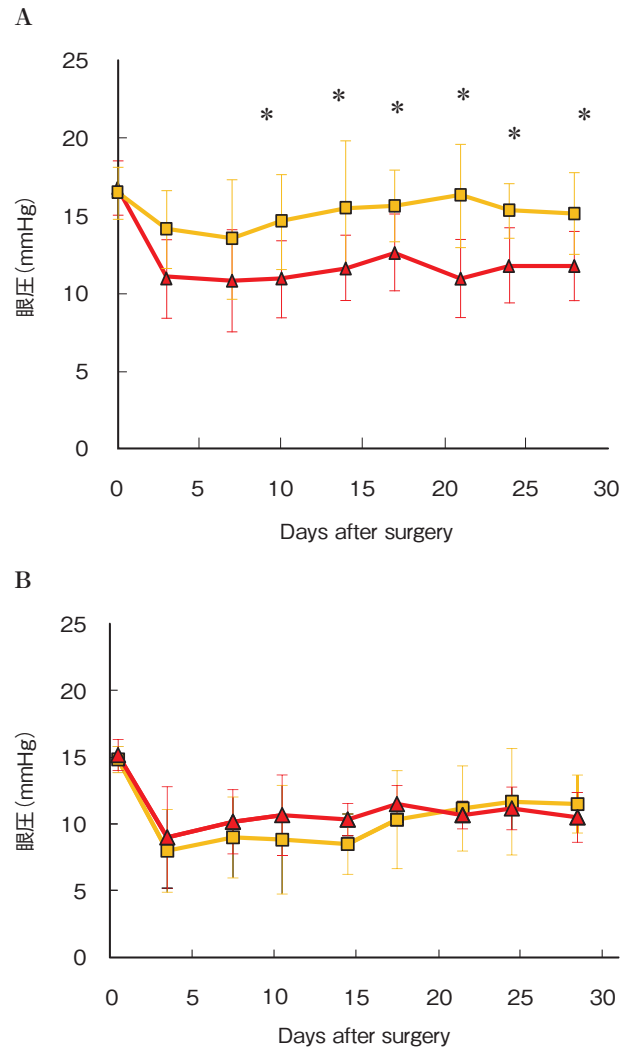


図 37 濾過手術後の眼圧経過。

A: 術後 10 日から 28 日までハニカムフィルム眼(—▲—)では対照眼(—■—)より有意に平均眼圧は低く経過した(*: $p < 0.05$, グループ 1)。B: ハニカムフィルム眼(—▲—)と MMC 眼(—■—)の術後眼圧には有意差はみられなかった(グループ 2)。

を用いて濾過胞を観察した。眼圧測定は術前と術後週 2 回、UBM は術後のみ週 1 回行った。最終経過観察後に組織学的検討を行った。UBM では結膜下に濾過内腔のスペースがなくなった場合を濾過胞消失、眼圧値では術前との眼圧比(術後眼圧/術前眼圧)が 2 回以上連続して 0.8 を超えた場合を濾過胞消失と定義し、濾過胞の生存期間を決定した。

その結果、ハニカムフィルム眼のほうが対照眼に比し術後 10 日目から 28 日目まで有意に眼圧は低く経過した($p < 0.05$, 図 37 A)。ハニカムフィルム眼と MMC 眼の眼圧経過には有意差はみられなかった(図 37 B)。また、対照眼で 5 眼、MMC 眼では 1 眼濾過胞が消失した。ハニカムフィルムを使用した全 12 眼で濾過胞は存続し、ハニカムフィルム眼のほうが対照眼に比し有意に濾過胞存続期間は長かった($p < 0.05$)。合併症としては、MMC

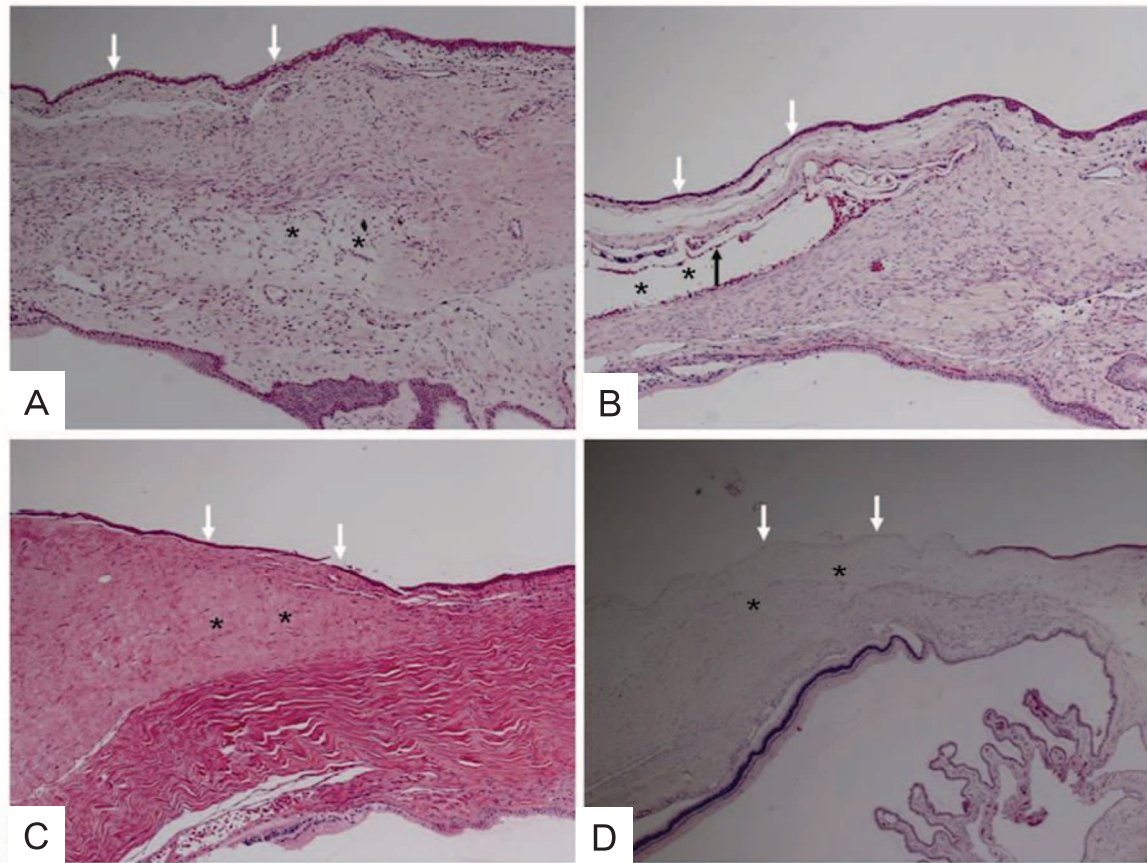


図 38 濾過胞の組織学的所見.

対照眼(A)とハニカムフィルム眼(B)では健全な結膜上皮を示しているのに対し、房水漏出のみられない MMC 眼(C)では結膜上皮が脆弱化している。また房水漏出のみられた MMC 眼(D)では著しい結膜上皮欠損を認める。白矢印は結膜上皮、B の黒矢印は濾過胞内壁に沿って存在するハニカムフィルムを示す。* は濾過胞内腔を示す。

(文献 108 から許可を得て転載)

眼の 5 眼で無血管性濾過胞を形成し、そのうち 2 眼に術後房水漏出がみられた。ハニカムフィルムを使用したことによる合併症はみられなかった。組織学的所見ではハニカムフィルムはテノン嚢を裏打ちするかのよう吸着していた。また、炎症反応は軽微であり組織毒性は認めなかった。MMC 眼では結膜上皮の脆弱化または部分的欠損がみられた(図 38)。

ハニカムフィルムには家兎の濾過手術において癒着防止隔壁として濾過胞を存続させる効果がみられ、その効果は MMC を使用した場合と同等と考えられた。また、薄くて生分解性である本フィルムの結膜への障害は軽微な炎症反応以外は観察されなかった。

VII おわりに

原発開放隅角緑内障(広義)の現時点での臨床的諸問題を解決することによって、近未来の緑内障診療の可能性がみえてくる。本研究によって導かれた結果から、近未来の緑内障診療を考えてみた。

1. 緑内障進行のメカニズムとその評価: Rim not-

ch, NFLD の境界線は進行の Active site と考えられる。そして、進行の過程で NFLD の境界線に乳頭出血が出現する(Active site 仮説)。より早期の症例には、構造と機能を同時評価する OCT 対応眼底像視野計が近未来の検査になる可能性がある。

2. 眼圧日内変動のメカニズムとその予測: 眼圧日内変動は時計遺伝子に支配されることが明らかになった。交感神経受容体遺伝子多型で個々人の日内変動の眼圧レベルを予測することが可能になるかもしれない。
3. 個々人に最適な緑内障薬物治療: PG 薬の FP 受容体遺伝子多型によるテーラーメイド治療の可能性がある。また、複数回眼圧測定による片眼トライアルで個々人に最適な薬物治療を提供できると考えられる。
4. 神経保護薬の評価法の確立: ラット専用の OCT によって、緑内障動物モデルによる神経保護薬の経時的な評価が容易にできると考えられる。

5. 緑内障濾過手術の合併症の克服：ハニカムフィルムを利用した線維柱帯切除術が臨床応用されれば、より安全確実な緑内障手術が可能となるかもしれない。

我々眼科医は、疾患の臨床的問題点を解決すべく研究し近未来のより良い診療を目指す。問題点が克服されるとまた新たな問題点が見つかり、それを解明すべく研究する。その連続的な積み重ねこそが臨床医学の進歩であり、臨床医の行うべき研究と考える。

稿を終えるにあたり、長年に亘り緑内障診療、研究のご指導をいただきました北澤克明名誉教授(岐阜大学)に心より感謝申し上げます。また、評議員会指名講演の機会を与えていただきました日本眼科学会評議員の先生方、第 115 回日本眼科学会総会長の望月 學教授、座長の労をお執りいただきました新家 眞先生、多大なご支援を賜りました金沢大学眼科同門会の諸先生と金沢大学眼科学教室の諸先生に厚く御礼申し上げます。本研究は文部科学省科学研究費補助金などで行われました。

利益相反：利益相反公表基準に該当なし

文 献

- 1) **Blumenthal M, Blumenthal R, Peritz E, Best M** : Seasonal variation in intraocular pressure. *Am J Ophthalmol* 69 : 608-610, 1970.
- 2) **Kitazawa Y, Horie T** : Diurnal variation of intraocular pressure in primary open-angle glaucoma. *Am J Ophthalmol* 79 : 557-566, 1975.
- 3) **Horie T, Kitazawa Y** : The clinical significance of diurnal pressure variation in primary open-angle glaucoma. *Jpn J Ophthalmol* 23 : 310-333, 1978.
- 4) **Ido T, Tomita G, Kitazawa Y** : Diurnal variation of intraocular pressure in normal-tension glaucoma. Influence of sleep and arousal. *Ophthalmology* 98 : 296-300, 1991.
- 5) **Cartwright MJ, Anderson DR** : Correlation asymmetric damage with asymmetric intraocular pressure in normal-tension glaucoma (low-tension glaucoma). *Arch Ophthalmol* 106 : 888-890, 1988.
- 6) **Araie M, Sekine M, Suzuki Y, Koseki N** : Factors contributing to the progression of visual field damage in eyes with normal-tension glaucoma. *Ophthalmology* 101 : 1440-1444, 1994.
- 7) **Collaborative normal-tension glaucoma study group** : Comparison of glaucomatous progression between untreated patients with normal-tension glaucoma and patients with therapeutically reduced intraocular pressure. *Am J Ophthalmol* 126 : 487-497, 1998.
- 8) **Collaborative normal-tension glaucoma study group** : The effectiveness intraocular pressure reduction in the treatment of normal-tension glaucoma. *Am J Ophthalmol* 126 : 498-505, 1998.
- 9) 日本緑内障学会緑内障診療ガイドライン作成委員会：緑内障診療ガイドライン(第 2 版). *日眼会誌* 110 : 777-814, 2006.
- 10) **Iwase A, Suzuki Y, Araie M, Yamamoto T, Abe H, Shirato S, et al ; Tajimi Study Group, Japan Glaucoma Society** : The prevalence of primary open-angle glaucoma in Japanese : the Tajimi Study. *Ophthalmology* 111 : 1641-1648, 2004.
- 11) **Yamamoto T, Iwase A, Araie M, Suzuki Y, Abe H, Shirato S, et al ; Tajimi Study Group, Japan Glaucoma Society** : The Tajimi Study Report 2, Prevalence of primary angle closure and secondary glaucoma in a Japanese population. *Ophthalmology* 112 : 1661-1669, 2005.
- 12) **Berdahl JP, Fautsch MP, Stinnett SS, Allingham RR** : Intracranial pressure in primary open angle glaucoma, normal tension glaucoma, and ocular hypertension : a case-control study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 49 : 5412-5418, 2008.
- 13) **Ren R, Jonas JB, Tian G, Zhen Y, Ma K, Li S, et al** : Cerebrospinal fluid pressure in glaucoma : a prospective study. *Ophthalmology* 117 : 259-266, 2010.
- 14) **De Moraes CG, Juthani VJ, Liebmann JM, Teng CC, Tello C, Susanna R Jr, et al** : Risk factors for visual field progression in treated glaucoma. *Arch Ophthalmol* 129 : 562-568, 2011.
- 15) **Kitazawa Y, Shirato S, Yamamoto T** : Optic disc hemorrhage in low-tension glaucoma. *Ophthalmology* 93 : 853-857, 1986.
- 16) **Nitta K, Sugiyama K, Higashide T, Ohkubo S, Tanahashi T, Kitazawa Y** : Does the enlargement of retinal nerve fiber layer defects relate to disc hemorrhage or progress visual field loss in normal-tension glaucoma? *J Glaucoma* 20 : 189-195, 2011.
- 17) **Suh MH, Park KH, Kim H, Kim TW, Kim SW, Kim SY, et al** : Glaucoma progression after the first-detected optic disc hemorrhage by optical coherence tomography. *J Glaucoma* 2011 ; doi : 10.1097/IJG.0b013e3182120700.
- 18) **De Moraes CG, Prata TS, Liebmann CA, Tello C, Ritch R, Liebmann JM** : Spatially consistent localized visual field loss before and after disc hemorrhage. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 50 : 4727-4733, 2009.
- 19) 新田耕治, 杉山和久, 棚橋俊郎 : 境界明瞭な網膜神経線維層欠損を有する正常眼圧緑内障における乳頭出血出現や網膜神経線維層欠損拡大と視野障害進行との関連. *日眼会誌* 115 : 839-847, 2011.
- 20) **Sugiyama K, Tomita G, Kitazawa Y, Onda E, Shinohara H, Park KH** : The association of optic disc hemorrhage with retinal nerve fiber layer

- defect and peripapillary atrophy in normal-tension glaucoma. *Ophthalmology* 104 : 1926-1933, 1997.
- 21) **Sugiyama K, Uchida H, Tomita G, Sato Y, Iwase A, Kitazawa Y** : Localized wedge-shaped defects of retinal nerve fiber layer and disc hemorrhage in Glaucoma. *Ophthalmology* 106 : 1762-1767, 1999.
 - 22) **Quigley HA, Hohman RM, Addicks EM, Green WR** : Blood vessels of the glaucomatous optic disc in experimental primate and human eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 25 : 918-931, 1984.
 - 23) **Sugiyama K, Cioffi GA, Bacon DR, Van Buskirk EM** : Optic nerve and peripapillary choroidal microvasculature in the primate. *J Glaucoma* 3 : S 45-S 54, 1994.
 - 24) **Jonas JB, Gründler AE** : Correlation between mean visual field loss and morphometric optic disk variables in the open-angle glaucomas. *Am J Ophthalmol* 124 : 488-497, 1997.
 - 25) **Quigley HA, Addicks EM, Green WR** : Optic nerve damage in human glaucoma. III. Quantitative correlation of nerve fiber loss and visual field defect in glaucoma, ischemic neuropathy, papilledema, and toxic neuropathy. *Arch Ophthalmol* 100 : 135-146, 1982.
 - 26) **Quigley HA, Dunkelberger GR, Green WR** : Retinal ganglion cell atrophy correlated with automated perimetry in human eyes with glaucoma. *Am J Ophthalmol* 107 : 453-464, 1989.
 - 27) **Medeiros FA, Sample PA, Weinreb RN** : Frequency doubling technology perimetry abnormalities as predictors of glaucomatous visual field loss. *Am J Ophthalmol* 137 : 863-871, 2004.
 - 28) **Johnson CA, Adams AJ, Casson EJ, Brandt JD** : Blue-on-yellow perimetry can predict the development of glaucomatous visual field loss. *Arch Ophthalmol* 111 : 645-650, 1993.
 - 29) **Tuulonen A, Lehtola J, Airaksinen PJ** : Nerve fiber layer defects with normal visual fields. Do normal optic disc and normal visual field indicate absence of glaucomatous abnormality? *Ophthalmology* 100 : 587-597, 1993.
 - 30) **Orzalesi N, Miglior S, Lonati C, Rosetti L** : Microperimetry of localized retinal nerve fiber layer defects. *Vision Res* 38 : 763-771, 1998.
 - 31) **Kani K, Ogita Y** : Fundus controlled perimetry. *Doc Ophthalmol Proc Ser* 19 : 341-350, 1979.
 - 32) **Nakatani Y, Ohkubo S, Higashide T, Iwase A, Kani K, Sugiyama K** : Detection of visual field defects using fundus-oriented small-target perimetry in preperimetric glaucoma. *Jpn J Ophthalmol* 2011 (in press).
 - 33) **Rowland JM, Potter DE, Reiter RJ** : Circadian rhythm in intraocular pressure : a rabbit model. *Curr Eye Res* 1 : 169-173, 1981.
 - 34) **Moore CG, Johnson EC, Morrison JC** : Circadian rhythm of intraocular pressure in the rat. *Curr Eye Res* 15 : 185-191, 1996.
 - 35) **Nickla DL, Wildsoet C, Wallman J** : The circadian rhythm in intraocular pressure and its relation to diurnal ocular growth changes in chicks. *Exp Eye Res* 66 : 183-193, 1998.
 - 36) **Nickla DL, Wildsoet CF, Troilo D** : Diurnal rhythms in intraocular pressure, axial length, and choroidal thickness in a primate model of eye growth, the common marmoset. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 43 : 2519-2528, 2002.
 - 37) **Aihara M, Lindsey JD, Weinreb RN** : Twenty-four-hour pattern of mouse intraocular pressure. *Exp Eye Res* 77 : 681-686, 2003.
 - 38) **Takahashi JS** : Finding new clock components : past and future. *J Biol Rhythms* 19 : 339-347, 2004.
 - 39) **Okamura H** : Clock genes in cell clocks : roles, actions, and mysteries. *J Biol Rhythms* 19 : 388-399, 2004.
 - 40) **Gekakis N, Staknis D, Nguyen HB, Davis FC, Wilsbacher LD, King DP, et al** : Role of the CLOCK protein in the mammalian circadian mechanism. *Science* 280 : 1564-1569, 1998.
 - 41) **岡村 均** : 哺乳類時計システムの外観. 岡村 均, 深田吉孝(編) : 時計遺伝子の分子生物学. シュプリンガー・ジャパン, 東京, 49-64, 2004.
 - 42) **van der Horst GT, Muijtjens M, Kobayashi K, Takano R, Kanno S, Takao M, et al** : Mammalian Cry 1 and Cry 2 are essential for maintenance of circadian rhythms. *Nature* 398 : 627-630, 1999.
 - 43) **Vitaterna MH, Selby CP, Todo T, Niwa H, Thompson C, Fruechte EM, et al** : Differential regulation of mammalian period genes and circadian rhythmicity by cryptochromes 1 and 2. *Proc Natl Acad Sci USA* 96 : 12114-12119, 1999.
 - 44) **Nagashima K, Matsue K, Konishi M, Iidaka C, Miyazaki K, Ishida N, et al** : The involvement of Cry 1 and Cry 2 genes in the regulation of the circadian body temperature rhythm in mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 288 : R 329-R 335, 2005.
 - 45) **Maeda A, Tsujiya S, Higashide T, Toida K, Todo T, Ueyama T, et al** : Circadian intraocular pressure rhythm is generated by clock genes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 47 : 4050-4052, 2006.
 - 46) **Braslow RA, Gregory DS** : Adrenergic decentralization modifies the circadian rhythm of intraocular pressure. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 28 : 1730-1732, 1987.
 - 47) **Liu JH, Dacus AC** : Endogenous hormonal changes and circadian elevation of intraocular pressure. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 32 : 496-500, 1991.
 - 48) **Yoshitomi T, Gregory DS** : Ocular adrenergic nerves contribute to control of the circadian rhythm of aqueous flow in rabbits. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 32 : 523-528, 1991.
 - 49) **Asrani S, Zeimer R, Wilensky J, Gieser D, Vitale S, Lindenmuth K** : Large diurnal fluctuations in

- intraocular pressure are an independent risk factor in patients with glaucoma. *J Glaucoma* 9 : 134-142, 2000.
- 50) **Lee PP, Walt JW, Rosenblatt LC, Siegartel LR, Stern LS ; Glaucoma Care Study Group** : Association between intraocular pressure variation and glaucoma progression : data from a United States chart review. *Am J Ophthalmol* 144 : 901-907, 2007.
- 51) **Inagaki Y, Mashima Y, Fuse N, Funayama T, Ohtake Y, Yasuda N, et al** : Polymorphism of β -adrenergic receptors and susceptibility to open-angle glaucoma. *Mol Vis* 12 : 673-680, 2006.
- 52) **Schwartz SG, Puckett BJ, Allen RC, Castillo IG, Leffler CT** : β 1-adrenergic receptor polymorphisms and clinical efficacy of betaxolol hydrochloride in normal volunteers. *Ophthalmology* 112 : 2131-2136, 2005.
- 53) **Gao Y, Sakurai M, Takeda H, Higashide T, Kawase K, Sugiyama K** : Association between genetic polymorphisms of adrenergic receptor and diurnal intraocular pressure in Japanese normal-tension glaucoma. *Ophthalmology* 117 : 2359-2364, 2010.
- 54) **Henkind P, Leitman M, Weitzman E** : The diurnal curve in man : new observations. *Invest Ophthalmol* 12 : 705-707, 1973.
- 55) **Aung T, Chew PT, Yip CC, Chan YH, See JL, Khng CG, et al** : A randomized double-masked crossover study comparing 0.005% latanoprost with unoprostone 0.12% in patients with primary open-angle glaucoma and ocular hypertension. *Am J Ophthalmol* 131 : 636-642, 2001.
- 56) **Scherer WJ** : A retrospective review of non-responders to latanoprost. *J Ocul Pharmacol Ther* 18 : 287-291, 2002.
- 57) **Sofowora GG, Dishy V, Muszkat M, Xie HG, Kim RB, Harris PA, et al** : A common β 1-adrenergic receptor polymorphism (Arg389Gly) affects blood pressure response to β -blockade. *Clin Pharmacol Ther* 73 : 366-371, 2003.
- 58) **Brodde OE, Stein CM** : The Gly389Arg β 1-adrenergic receptor polymorphism : a predictor of response to β -blocker treatment? *Clin Pharmacol Ther* 74 : 299-302, 2003.
- 59) **Baudin B** : Angiotensin II receptor polymorphisms in hypertension. *Pharmacogenomic considerations*. *Pharmacogenomics* 3 : 65-73, 2002.
- 60) **Miller JA, Thai K, Scholey JW** : Angiotensin II type I receptor gene polymorphism predicts response to losartan and angiotensin II. *Kidney Int* 56 : 2173-2180, 1999.
- 61) **McCarty CA, Burmester JK, Mukesh BN, Patchett RB, Wilke RA** : Intraocular pressure response to topical β -blockers associated with an ADRB2 single-nucleotide polymorphism. *Arch Ophthalmol* 126 : 959-963, 2008.
- 62) **Stjernschantz J, Selen G, Sjoquist B, Resul B** : Preclinical pharmacology of latanoprost, a phenyl-substituted PGF 2α analogue. *Adv Prostaglandin Thromboxane Leukot Res* 23 : 513-518, 1995.
- 63) **Toris CB, Camras CB, Yablonski ME** : Effects of PhXA 41, a new prostaglandin $F_{2\alpha}$ analog, on aqueous humor dynamics in human eyes. *Ophthalmology* 100 : 1297-1304, 1993.
- 64) **Crowston JG, Lindsey JD, Aihara M, Weinreb RN** : Effect of latanoprost on intraocular pressure in mice lacking prostaglandin FP receptor. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 45 : 3555-3559, 2004.
- 65) **Sakurai M, Higashide T, Takahashi M, Sugiyama K** : Association between genetic polymorphisms of the prostaglandin $F_{2\alpha}$ receptor gene and response to latanoprost. *Ophthalmology* 114 : 1039-1045, 2007.
- 66) **Glaucoma Panel, Preferred Practice Patterns Committee** : Primary open-angle glaucoma. *American Academy of Ophthalmology (AAO), CA*, 13, 2005.
- 67) **Smith J, Wandel T** : Rationale for the one-eye therapeutic trial. *Ann Ophthalmol* 18 : 8, 1986.
- 68) **Sit AJ, Liu JH, Weinreb RN** : Asymmetry of right versus left intraocular pressures over 24 hours in glaucoma patients. *Ophthalmology* 113 : 425-430, 2006.
- 69) **Piltz J, Gross R, Shin DH, Beiser JA, Dorr DA, Kass MA, et al** : Contralateral effect of topical beta-adrenergic antagonists in initial one-eyed trials in the ocular hypertension treatment study. *Am J Ophthalmol* 130 : 441-453, 2000.
- 70) **Takahashi M, Higashide T, Sakurai M, Sugiyama K** : Discrepancy of the intraocular pressure response between fellow eyes in one-eye trials versus bilateral treatment : verification with normal subjects. *J Glaucoma* 17 : 169-174, 2008.
- 71) **Lee PY, Shao H, Xu L, Qu CK** : The Effect of prostaglandin $F_{2\alpha}$ on intraocular pressure in normotensive human subjects. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 29 : 1474-1477, 1988.
- 72) **Wakabayashi Y, Higashide T, Sugiyama K** : Improved prediction of fellow-eye response in one-eye trials using multiple intraocular pressure measurements. *Jpn J Ophthalmol* 55 : 480-485, 2011.
- 73) **Danias J, Shen F, Goldblum D, Chen B, Ramos-Esteban J, Podos SM, et al** : Cytoarchitecture of the retinal ganglion cells in the rat. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 43 : 587-594, 2002.
- 74) **Sabel BA, Engelmann R, Humphrey MF** : *In vivo* confocal neuroimaging (ICON) of CNS neurons. *Nat Med* 3 : 244-247, 1997.
- 75) **Thanos S, Indorf L, Naskar R** : *In vivo* FM : using conventional fluorescence microscopy to monitor retinal neuronal death *in vivo*. *Trends Neurosci* 25 : 441-444, 2002.

- 76) **Paques M, Genevois O, Regnier A, Tadayoni R, Sercombe R, Gaudric A, et al** : Axon-tracing properties of indocyanine green. *Arch Ophthalmol* 121 : 367-370, 2003.
- 77) **Higashide T, Kawaguchi I, Ohkubo S, Takeda H, Sugiyama K** : *In vivo* imaging and counting of rat retinal ganglion cells using a scanning laser ophthalmoscope. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 47 : 2943-2950, 2006.
- 78) **Berkelaar M, Clarke DB, Wang YC, Bray GM, Aguayo AJ** : Axotomy results in delayed death and apoptosis of retinal ganglion cells in adult rats. *J Neurosci* 14 : 4368-4374, 1994.
- 79) **Gellrich NC, Schimming R, Zerfowski M, Eysel UT** : Quantification of histological changes after calibrated crush of the intraorbital optic nerve in rats. *Br J Ophthalmol* 86 : 233-237, 2002.
- 80) **Villegas-Perez MP, Vidal-Sanz M, Rasminsky M, Bray GM, Aguayo AJ** : Rapid and protracted phases of retinal ganglion cell loss follow axotomy in the optic nerve of adult rats. *J Neurobiol* 24 : 23-36, 1993.
- 81) **Levkovitch-Verbin H, Quigley HA, Martin KRG, Zack DJ, Pease ME, Valenta DF** : A model to study differences between primary and secondary degeneration of retinal ganglion cells in rats by partial optic nerve transection. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 44 : 3388-3393, 2003.
- 82) **Barron KD, Dentinger MP, Krohel G, Easton SK, Mankes R** : Qualitative and quantitative ultrastructural observations on retinal ganglion cell layer of rat after intraorbital optic nerve crush. *J Neurocytol* 15 : 345-362, 1986.
- 83) **Mansour-Robaey S, Clarke DB, Wang YC, Bray GM, Aguayo AJ** : Effects of ocular injury and administration of brain-derived neurotrophic factor on survival and regrowth of axotomized retinal ganglion cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 91 : 1632-1636, 1994.
- 84) **Selles-Navarro I, Ellesam B, Fajardo R** : Retinal ganglion cell and nonneural cell responses to a microcrush lesion of adult rat optic nerve. *Exp Neurol* 167 : 282-289, 2001.
- 85) **Naskar R, Wissing M, Thanos S** : Detection of early neuron degeneration and accompanying microglial responses in the retina of a rat model of glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 43 : 2962-2968, 2002.
- 86) **Streit WJ** : An improved staining method for rat microglial cells using the lectin from *Griffonia simplicifolia* (GSA I-B4). *J Histochem Cytochem* 38 : 1683-1686, 1990.
- 87) **Thanos S, Kacza J, Seeger J, Mey J** : Old dyes for new scopes : the phagocytosis-dependent long-term fluorescence labeling of microglial cells *in vivo*. *Trends Neurosci* 17 : 177-182, 1994.
- 88) **Chang R, Budenz DL** : New developments in optical coherence tomography for glaucoma. *Curr Opin Ophthalmol* 19 : 127-135, 2008.
- 89) **Costa RA, Skaf M, Melo LA Jr, Calucci D, Cardillo JA, Castro JC, et al** : Retinal assessment using optical coherence tomography. *Prog Retin Eye Res* 25 : 325-353, 2006.
- 90) **Nagata A, Higashide T, Ohkubo S, Takeda H, Sugiyama K** : *In vivo* quantitative evaluation of the rat retinal nerve fiber layer with optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 50 : 2809-2815, 2009.
- 91) **Kawaguchi I, Higashide T, Ohkubo S, Takeda H, Sugiyama K** : *In vivo* imaging and quantitative evaluation of the rat retinal nerve fiber layer using scanning laser ophthalmoscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 47 : 2911-2916, 2006.
- 92) **Horio N, Kachi S, Hori K, Okamoto Y, Yamamoto E, Terasaki H, et al** : Progressive change of optical coherence tomography scans in retinal degeneration slow mice. *Arch Ophthalmol* 119 : 1329-1332, 2001.
- 93) **Li Q, Timmers AM, Hunter K, Gonzalez-Pola C, Lewin AS, Reitze DH, et al** : Noninvasive imaging by optical coherence tomography to monitor retinal degeneration in the mouse. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 42 : 2981-2989, 2001.
- 94) **Fukuchi T, Takahashi K, Shou K, Matsumura M** : Optical coherence tomography (OCT) findings in normal retina and laser-induced choroidal neovascularization in rats. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 239 : 41-46, 2001.
- 95) **Thomas BB, Arai S, Ikai Y, Qiu G, Chen Z, Aramant RB, et al** : Retinal transplants evaluated by optical coherence tomography in photoreceptor degenerate rats. *J Neurosci Methods* 151 : 186-193, 2006.
- 96) **Srinivasan VJ, Ko TH, Wojtkowski M, Carvalho M, Clermont A, Bursell SE** : Noninvasive volumetric imaging and morphometry of the rodent retina with high-speed, ultrahigh-resolution optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 47 : 5522-5528, 2006.
- 97) **Ruggeri M, Wehbe H, Jiao S, Gregori G, Jockovich ME, Hackam A, et al** : *In vivo* three-dimensional high-resolution imaging of rodent retina with spectral-domain optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 48 : 1808-1814, 2007.
- 98) **Frenkel S, Morgan JE, Blumenthal EZ** : Histological measurement of retinal nerve fibre layer thickness. *Eye* 19 : 491-498, 2005.
- 99) **Hatton WJ, von Bartheld CS** : Analysis of cell death in the trochlear nucleus of the chick embryo : calibration of the optical dissector counting method reveals systematic bias. *J Comp Neurol* 409 : 169-186, 1999.
- 100) **Sander B, Larsen M, Thrane L, Hougaard JL**,

- Jørgensen TM** : Enhanced optical coherence tomography imaging by multiple scan averaging. *Br J Ophthalmol* 89 : 207-212, 2005.
- 101) **Yamamoto T, Kuwayama Y ; Collaborative Bleb-related Infection Incidence and Treatment Study Group** : Interim clinical outcomes in the collaborative bleb-related infection incidence and treatment study. *Ophthalmology* 118 : 453-458, 2011.
- 102) **LAVAL J** : The use of absorbable gelatin film (gelfilm) in glaucoma filtration surgery. *AMA Arch Ophthalmol* 54 : 677-682, 1955.
- 103) **Akyol N, Aydogan S, Akpolat N** : Effects of membrane adhesion barriers on wound healing reaction after glaucoma filtration surgery : a comparative study with Interceed and Seprafilm. *Eur J Ophthalmol* 15 : 591-597, 2005.
- 104) 庄司信行, 清水公也, 高橋勝哉, 根本理香, 河合裕美, 富岡敏也 : 架橋ヒアルロン酸ゲルの線維柱体切除術への応用. *日眼会誌* 108 : 277-282, 2004.
- 105) **Chen HS, Ritch R, Krupin T, Hsu WC** : Control of filtering bleb structure through tissue bioengineering : An animal model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 47 : 5310-5314, 2006.
- 106) **Cillino S, Zeppa L, Di Pace F, Casuccio A, Morreale D, Bocchetta F**, et al : E-PTFE (Gore-Tex) implant with or without low-dosage mitomycin-C as an adjuvant in penetrating glaucoma surgery : 2 year randomized clinical trial. *Acta Ophthalmol Scand* 86 : 314-321, 2008.
- 107) **Fukuhira Y, Kitazono E, Hayashi T, Kaneko H, Tanaka M, Shimomura M**, et al : Biodegradable honeycomb-patterned film composed of poly(lactic acid) and dioleoylphosphatidylethanolamine. *Biomaterials* 27 : 1797-1802, 2006.
- 108) **Okuda T, Higashide T, Fukuhira Y, Sumi Y, Shimomura M, Sugiyama K** : A thin honeycomb-patterned film as an adhesion barrier in an animal model of glaucoma filtration surgery. *J Glaucoma* 18 : 220-226, 2009.
-

Comment : 岩田 和雄

昔流に言えば、今回は、36年ぶりの緑内障に関する待望の宿題報告となる。

緑内障の諸問題解明については、具体的な進歩を続けてきたために既に身近なものとなってしまい、敢えて宿題報告でもなかろうということに36年の空白を生んだようだ。学問的には、しかし、未解決な問題が山積している。著者はそこであらたに諸問題を解決すべく挑戦、という勇ましいテーマを掲げたものであろう。

まず手始めに病態解明の糸口として、著者の積年のテーマである乳頭出血(DH)の病態を追究。網膜神経線維層欠損(NFLD)は出血を来した方向に拡大し、しかも黄斑側に出血しNFLDがさらに拡大しやすいことを確認している。光干渉断層計(OCT)と眼底視野計による計測などから、これまで出血はNFLDの原因とみなしてきた著者自身の説を翻さざるを得なくなり、出血はNFLDが拡大する際にその境界線に沿って毛細血管網が破綻しているに過ぎないと考えを改めており、出血で示されたNFLDの境界線が進行のActive siteを示しているものと述べている。

出血がNFLDの原因ではなく、欠損のメカニズムが働いていることを示すシンボルで、欠損の原因ではなくて結果に過ぎないことを既に私が蛍光撮影や電子顕微鏡所見から実証し、永年主張してきたことで、このたびの著者の結論は、私の見解を支持するものと理解した。残された最大の難問は、だから、網膜神経線維層ダメージの真のメカニズムの解明ということになる。

次に、著者は臨床上重要な眼圧日内変動に挑戦、マウスの日内変動は時計遺伝子による中枢時計の支配を受けることを明らかにしている。眼圧日内変動の測定は手間暇がかかるうえに、病人にとっても大変な負担となるので、臨床的に簡単に予測する方法がないか、過去にいろいろ探索されてきたが、不発に終わっている。著者はそこに着目し、原発開放隅角緑内障(POAG)患者で眼圧日内変動を予測する目的で検索、交感神経 α 、 β 受容体の遺伝子多型を解析し、眼圧日内変動レベルが遺伝子型によって有意に異なることを明らかにしている。POAGの眼圧の日内変動にはその他のいろいろのファクターが関係するので、未だに予測は困難と思われるが、一つの基本が示されたと言えよう。

プロスタグランジン薬に対してノンリスポンダーの存在が知られているが、著者はラタプロストによる眼圧下降作用が、FP受容体遺伝子の一塩基多型が感受性に有意に関連していることを発見している。将来、これがテーラーメイド治療への足掛かりとなることが期待される。

緑内障の治療に視神経保護が叫ばれて久しいが、未だに確固たる方法も治療薬もないのが現状である。その原因に、有効性を確認できる量的表示法がないことも関係している。著者はラットの網膜神経節細胞、網膜神経線維層、網膜内層の生体観察、定量的評価などを試みたが、既発表の逆行蛍光染色と走査レーザー検眼鏡で神経節細胞体の量定が可能となり、一般に用いられている視神経クラッシュ(押しつぶす)法による下行性細胞体アポトーシスの量的評価に成功している。またラット用のOCTを開発し、網膜神経線維層の厚みを測定し、組織切片のそれと有意に相関することから、有用性を見出したものである。細胞体と神経線維の萎縮における時間的乖離の解明や治療法の開発に重要なデータを提示してくれることであろう。

最後は線維柱帯切除術に挑戦。合併症に悩まされながらも、確実なものはこれしかないという現状から脱出しようとの試みである。合併症が減り、効果が長期にわたり持続するのが理想であるが、著者は生体適合材料で作られたハニカム構造フィルムを実験的にウサギの濾過手術に用い、マイトマイシンCと同等の有効性を認めている。30日足らずの観察であるが、テノンと強膜との癒着瘢痕化が避けられたことが組織学的にも証明できたという。刺激や反応も軽く、人体応用が期待されるが、永続効果にはさらなる工夫が必要なのではあるまいか。

以上、基礎から臨床にまたがる著者の意欲的な挑戦の戦果を通覧したが、着実な臨床応用に見事な実を結ぶように、さらなる期待をかけたい。