

平成 21 年度研究報告書

研究代表者

島根難病研究所老年医学研究部門

所属 島根大学医学部眼科学講座

氏名 大平 明弘

1. 研究テーマ

加齢に伴う眼底疾患の早期診断法の確立

2. 研究者氏名

大平明弘¹、谷戸正樹¹、松岡陽太郎¹

3. 研究概要

S町健診の眼底写真データ解析

(目的)

緑内障は、特徴的な視神経萎縮と視野欠損が徐々に進行する疾患であり、本邦の中途失明原因第1位となっている。多くの緑内障は、慢性に経過し、自覚症状に乏しいため、本邦における有病率は不明であった。最近になり、岐阜県多治見市で行われた、Tajimi Study により、緑内障有病率は40歳以上人口の5%と報告された(The prevalence of primary open-angle glaucoma in Japanese: the Tajimi Study. Iwase A. et al. Ophthalmology 111:1641-8, 2004)。しかし、緑内障有病率の地域差、あるいは人口構成比の違いによる差については、依然不明のままである。本研究では、過去に、島根難病研究所により島根県S町で実施された、生活習慣病予防検診の資料を解析することで、緑内障の有病率をはじめとする、種々の疫学データを収集することを目的とする。昨年度は、S町健診で得られた、5年分の眼底写真を含む全データ(約8000名分)について、電子ファイル化を行った。本年度は、新たに開発した眼底写真定量化ソフトウェアを用いて、眼底写真判定を進めることを単年度の目標とする。

(方法)

島根難病研究所で保管されている、S町健診データ(受診者名、受診番号、フィルム番号、身長、体重、血圧、血液検査、生活歴、眼底写真、眼圧、心電図等)について、個人情報利用申請の手続きを経た後利用する。全てのデータについて、新たに電子画像化した後、緑内障判定作業をおこなう。日本緑内障学会・緑内障診療ガイドライン第2版(緑内障の診断基準:眼底写真のみの場合:Fosterの基準:C/D比が0.9以上、R/Dが0.05以下、C/D比の左右差が0.3以上)に従って判定し、診断基準に該当するものを緑内障患者、基準に該当しないものを非緑内障者と判定する。身長、体重、血圧、血液検査、生活歴、眼圧、心電図等、

¹ 島根大学医学部眼科学講座

他のデータと眼底写真判定結果を比較することにより、年齢別、性別の緑内障有病率、および、緑内障に関連した全身因子について検討し、種々の疫学指標を得る。

(結果)

2年分の眼底写真(約3200眼)について、独自に開発した画像解析ソフトウェアを用いた解析を行った。

(考察)

本研究の遂行に必要なデータセットの電子化と、眼底写真による緑内障解析ソフトウェアの開発により、次年度以降の研究の発展が期待される。

緑内障患者の全身酸化ストレス計測

(背景)

・ 緑内障の組織・細胞傷害要因として種々の細胞活動や加齢に伴う全身および眼局所の酸化ストレスが関与する可能性(線維柱帯組織の変性に続発する房水流出抵抗増大要因、神経節細胞死・軸索変性の直接的、あるいは、眼圧上昇に伴う機械的ストレス、虚血ストレス、興奮毒性、炎症、自己免疫反応、神経栄養因子欠乏による組織傷害の下流エフェクター)となり得ることが実験的に推測されている。

・ 蛋白質チオールを介した細胞機能制御(レドックス制御)に中心的な役割を持つチオレドキシンは、グルタチオンと並んで、生体内の重要な抗酸化ストレス機構である。申請者らは、チオレドキシシステムが眼内の細胞防御機構として中心的な役割を有することを、ラットNMDA興奮毒性モデルにおけるチオレドキシシン蛋白の硝子体注射やチオレドキシシン高発現マウスを用いた基礎研究により明らかにしてきた。また、申請者らが報告した、スルフォラファンやゲラニルゲラニルアセトンといった低分子化合物投与によるチオレドキシシン誘導療法が、新規緑内障神経保護治療として注目されつつある。

・ 血圧・糖尿病・悪性新生物等の種々の疾患で、疾患修飾因子として加齢や喫煙に伴う酸化ストレス要因が関与することが大規模疫学調査や多数例の臨床検体研究により指摘されている。緑内障の発症・進行には、遺伝的要因、解剖・形態学的要因に加えて、上述の通り、加齢に伴う全身的な酸化ストレス亢進やチオールレドックス状態の変化を含む、複数の内的・外的要因が疾患修飾因子として関わる可能性があるが、臨床報告に乏しく、一定の見解は得られていない。

・ 将来的に、抗酸化ストレス治療の緑内障眼圧外療法への応用を検討する場合、測定可能な酸化ストレス亢進が緑内障患者で確認されていることが重要な理論的背景となる。

(目的)

・ 研究課題では、複数の緑内障病型を含む、多数の緑内障症例について、血液中のチオレドキシシン発現量、血液酸化度・還元能を測定することで、酸化ストレス度合いと緑内障の発症・進行との関連について探索したい。本研究により、全身性酸化ストレス(眼局所酸化ストレスの上流イニシエーターとして、あるいは、眼局所酸化ストレスを推測するための疾患マーカーとし

て)と緑内障との関与について知見を得ることができる。また、チオールレドックス状態の変化が確認された緑内障病型では、将来的なチオール修飾療法のプライマリーターゲットとなり得る。

(方法)

- ・ 島根大学附属病院眼科を受診する者のうち、眼科諸検査により、狭義原発開放隅角緑内障(POAG)、正常眼圧緑内障(NTG)、偽落屑症候群(EXS)、落屑緑内障(EXG)の診断が確定している者を対象とする。軽度の白内障(視力 0.7 以上)以外に眼疾患を有しない者を対照とする。本研究課題は、H21年12月21日付で、島根大学医学部医の倫理委員会の審査・承認を得ている。POAG、NTG、EXS、EXG、対照群それぞれ120人以上、合計600人以上の測定を目標とする。
- ・ インフォームドコンセントを得た後、対象者から末梢静脈血採血を行い、血漿を分離保存する。採血時血圧、食後時間、喫煙歴、全身疾患(高血圧、脂質代謝異常、心疾患、脳血管疾患、肝疾患、腎疾患等)の既往歴について測定・聴取する。
- ・ 血漿の酸化・還元度合いを、脂質過酸化物量(dROMテスト)、鉄還元能(BAPテスト)で、血漿の蛋白レドックス状態を、チオール抗酸化能(SHテスト)、チオレドキシシン発現量で評価する。dROM、BAP、SHテストは、採決後72時間以内に、冷所保存した血漿サンプルで、フリーラジカル分析装置FREE(WisnerII社)を用いて生化学的に測定する。チオレドキシシンは、凍結保存した血漿サンプルで、TRX ELISAキット(RBS社)を用いて測定する。
- ・ 血漿検査値と緑内障病型、緑内障進行度の関係について統計学的に検討する。解析にあたっては、多変量解析を行うことで、測定結果に影響しうる因子(年齢、性、食後時間、喫煙歴、血圧、糖尿病の有無他)の影響について調節する。
- ・ 採血された対象のうち、内眼手術を行う者については、インフォームドコンセントを得た後、前房水を0.2ml採取し、チオレドキシシン発現量を測定する。前房水中のチオレドキシシン発現量と血漿中のチオレドキシシン発現量、dROM、BAP、SHテスト測定値を比較することで、眼局所のレドックス状態と全身酸化ストレス値の相関について検討する。

(結果)

200名の血液試料を採取し、dROMテスト、BAPテスト、SHテストのデータを終えた。

(考察)

緑内障患者の全身酸化ストレス度合いについての測定系を確立した。今後、目標症例数に達するまで、試料収集、測定を継続する予定である。

加齢に伴う黄斑変化に対する研究

(目的)

加齢黄斑変性症は欧米人に多くみられたが、近年、わが国でも患者が増加しており高齢者の眼疾患として非常に重要なものである。本症の発症原因は完全に解明はされていないが、組織の老化に加えて光による酸化ストレスが重要な一因であると推測され、それを抑制する黄

斑色素の役割が注目されている。2002年 Bernsteinらは共鳴ラマン分光法を用いて非侵襲的に人眼の黄斑色素密度(ルテイン及びゼアキサンチン含量に相当)を測定する方法を開発し、その測定結果を発表した。それによれば、黄斑部の色素密度は正常者でも加齢とともに低下し、また、加齢黄斑変性症患者の色素密度は正常者に比べ有意に低いことが判明した。一方、日本人における黄斑色素と加齢黄斑変性症の関係に関する研究はこれまでにない。我々は Bernsteinらの共鳴ラマン分光装置によって健常日本人成人男女の黄斑色素密度を測定し、加齢と共に色素密度が減少することを確認した。本研究では、加齢黄斑変性に対する光線力学療法前後での黄斑色素密度の変化を共鳴ラマン分光法で測定することを目的とする。

(方法)

島根大学附属病院で加齢黄斑変性の診断の元に、光線力学療法を受ける者。光線力学療法前と後の経過観察時に共鳴ラマン分光法で黄斑色素密度を経時的に測定する。

(結果)

昨年度に引き続き、視力眼圧、黄斑色素密度測定、optical coherence tomography、フルオレセイン蛍光眼底造影検査結果を収集した。

(考察)

加齢黄斑変性患者の黄斑色素密度及びその他の検査について、光線力学療法前療法後の臨床データを得ることができた。今後、最終的なデータ解析、論文作成を進める予定である。

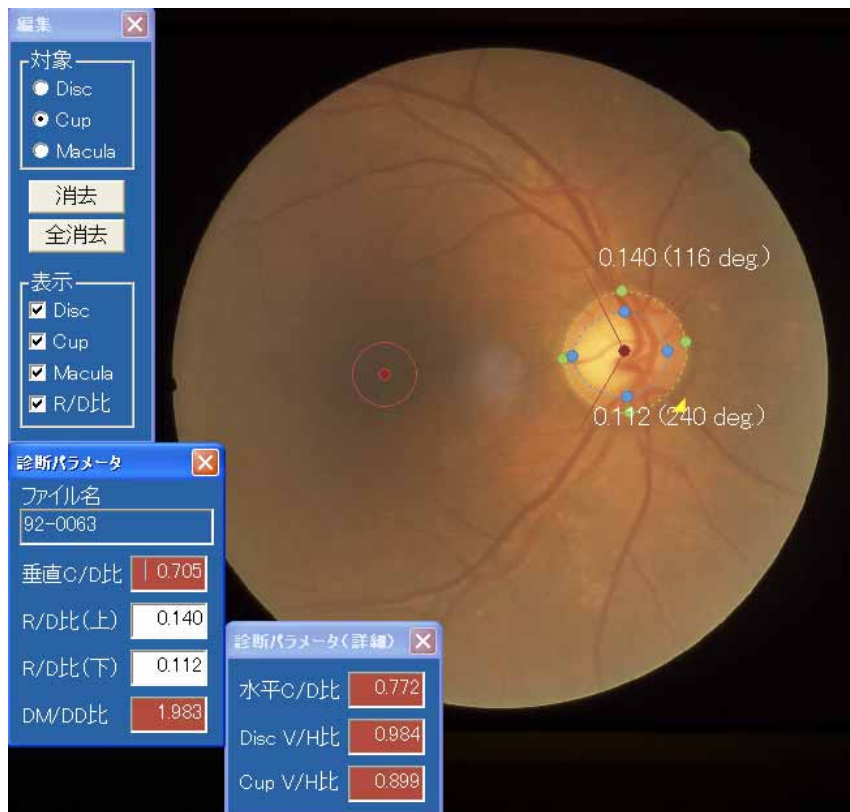


図1:新たに開発した、眼底写真判定用ソフトウェアの画面

4. 学会機関誌もしくは学会への関連論文(演題)発表状況

- (1) 小山泰良, 松岡陽太郎, 谷戸正樹, 野々山深, 高井保幸, 大平明弘: 島根大における加齢黄斑変性に対する光線力学的療法の治療成績 第11回島根眼科冬期学術講演会・第28回島根医大眼科学教室同門会、松江市(2010.2.7)
- (2) Obana A, Tanito M, Gohto Y, Ohira A, Gellermann W: Macular pigment changes in pseudophakic eyes quantified with resonance Raman spectrophotometry. *ARVO 2009 Annual Meeting*, Fort Lauderdale, FL, May 3-7, 2009.
- (3) Tanito M, Obana A, Okazaki S, Ohira A, Gellermann W: Change of macular pigment density quantified with resonance Raman spectrophotometry and autofluorescence imaging in normal subjects supplemented with oral lutein or zeaxanthin. *ARVO 2009 Annual Meeting*, Fort Lauderdale, FL, May 3-7, 2009.