

研究種目：基盤研究（C）  
 研究期間：2007～2008  
 課題番号：19592015  
 研究課題名（和文）脈絡膜毛細血管板における局所循環動態評価法の確立・・・光線力学療法  
 の副作用の評価  
 研究課題名（英文） Methodology to examine the local choroidal circulation in the  
 choriocapillaris—evaluation of the adverse effect of the photodynamic therapy  
 研究代表者  
 辻川 明孝 (TSUJIKAWA AKITAKA)  
 京都大学・医学研究科・助教  
 研究者番号：40402846

研究成果の概要：温度感受性リポソームにフルオレセインを封入し、脈絡膜の循環動態を解析  
 できるシステムを確立した。さらに、一定の作成効率で温度感受性リポソームの作成が可能と  
 なり、定量的な評価が可能となった。また、verteporfin を用いた光線力学療法の脈絡膜循環へ  
 の影響を評価するため、ラット等の実験動物に対して通常ヒトに対して用いられる量のビスダ  
 インを注射後、レーザーを照射し、光線力学療法を施行したが、脈絡膜毛細血管の狭小化や閉  
 塞などの器質的な循環障害や、流入遅延などの機能的な変化も見られなかった。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2008 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学、眼科学

キーワード：加齢黄斑変性、光線力学療法、脈絡膜循環、リポソーム

## 1. 研究開始当初の背景

リポソームを眼科的に応用しようとする  
 試みはこれまでも数多く存在する。温度感受  
 性リポソームによる眼底造影、治療への取り  
 組みは Johns Hopkins 大学の Zeimer 教授ら  
 が精力的に行ってきた。当研究室では、彼ら  
 のシステムを更に発展させ、ラット、サルの  
 正常脈絡膜毛細血管の局所循環動態の研究

(Hirata Y, et al. IOVS 2003;44:3103-9.  
 Hirata Y, et al. IOVS 2004;45:1954-62.) を  
 行ってきた。これまでの成果から、脈絡膜毛  
 細血管板には生理的な小葉構造があること、  
 脈絡膜動脈の支配領域は互いに重なり合わ  
 ないこと、脈絡膜毛細血管板の循環動態は黄  
 斑部と周辺部で異なることを報告したてき  
 た。今後、生理的な状態での治験をふまえて、

脈絡膜新生血管という病的な状態での、新生血管での循環動態の解析、治療への応用研究を行う。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、脈絡膜新生血管モデルを用いて、脈絡膜新生血管の循環動態を解析できるシステムを確立し、評価することである。そして、そのシステムを利用して、verteporfin を用いた光線力学療法による脈絡膜毛細血管の循環への影響を経時的に評価し、網膜機能、組織学的変化と比較検討する。本邦でも光線力学療法は近年盛んに行われているが、施行後に蛍光眼底造影を行うと、レーザー照射領域が低蛍光となる症例がある。脈絡膜毛細血管板の一時的な閉塞によるものと考えられている。この低蛍光は術後数ヶ月持続する症例もあり、脈絡膜から栄養されている外層神経網膜に与える影響が懸念されている。本システムを利用して、verteporfin を用いた光線力学療法後のレーザー照射領域における脈絡膜毛細血管の循環への影響を評価することで、光線力学療法の安全性についてより深い検討が可能となると考えられる。

## 3. 研究の方法

正常脈絡膜毛細血管の選択的造影システムは確立しつつあるが、更に改良し、脈絡膜新生血管の選択造影を行うためのモデル、システムを確立する。また、定量的評価を可能とするため、fluorescein sodium を封入した温度感受性リポソームの作成効率を一定に保つことができる様に、作成技術を改善する必要がある。そして、そのモデルを用いて、脈絡膜新生血管、脈絡膜毛細血管板の血流動態を評価した上で、通常の方法でverteporfin を用いて光線力学療法を行い、

脈絡膜毛細血管の循環動態への影響を評価する。その後、網膜電図を用いて網膜の機能を評価し、循環動態の結果と比較検討する。更に、摘出組織の組織学的、生化学的な解析を行う。

### ① 脈絡膜新生血管モデルの作成

アルゴンレーザーを用いて網膜色素上皮の過凝固を行うことにより、脈絡膜新生血管を作成する。

### ② 温度感受性リポソームを用いた脈絡膜循環動態解析システムの改良

新生血管は正常脈絡膜に比べて血流速度が非常に遅い点や、血管からの漏出がある点などの特徴があるので、温度感受性リポソームの投与量、投与方法などを改良し、至適なシステムを構築する。更に、そのシステムを用いて、脈絡膜新生血管、流入動脈の循環動態の評価を行う。

### ③ fluorescein sodium 内包温度感受性リポソームの作成方法を確立する

定量的評価を可能とするため、fluorescein sodium を封入した温度感受性リポソームの作成効率を一定に保つことができる様に、作成技術を改善する。

### ④ 光線力学療法の施行

細隙灯顕微鏡には温熱用のダイオードレーザー（波長 810nm）と眼底観察用のアルゴンレーザー（波長 488nm）の他に、光線力学療法用のダイオードレーザー（波長 695nm）が既に組み込まれている。Verteporfin を静注後、ダイオードレーザーを照射し、光線力学療法を施行する。

⑤ 光線力学療法後の新生血管、周囲健常脈絡膜毛細血管の循環動態の経時的解析  
光線力学療法直後から、温度感受性リポソームを用いて経時的に脈絡膜毛細血管板および新生血管の循環動態を解析し、光線力学療法の脈絡膜毛細血管板への影響を評価

する。

#### ⑥ 光線力学療法後の網膜電図を用いた網膜機能の評価

光線力学療法を施行後の網膜機能を網膜電図を用いて計測する。

#### 4. 研究成果

温度感受性リポソームの作成時には、作成条件により作成効率にばらつきが生じやすいばらつきが大きいと、投与量に定量性がなくなり、実験に支障が生じる可能性がある。実験動物を用いた脈絡膜循環障害の程度の定量的な評価を可能にするため、また、その後 verteporfin を封入した温度感受性リポソームを用いた、脈絡膜新生血管の治療を行うためにも、必須のステップであると考えられる。作成効率を一定にするために温度感受性リポソームの作成実験を行い、比較的作成効率が均等にすることが可能となった。また、verteporfin を用いた光線力学療法の脈絡膜循環への影響を評価するため、ラット等の実験動物に対して通常ヒトに対して用いられる量のビスダインを注射後、レーザーを照射し、光線力学療法を施行した。施行後の実験動物の眼底の透見性は良好で、光線力学療法は問題なく行うことができた。そこで、その後、フルオレセイン蛍光眼底造影などの脈絡膜循環動態の評価実験を行ったところ、脈絡膜毛細血管の狭小化や閉塞などの器質的な循環障害を確認することはできなかった。さらに、循環動態の解析を行ったが、流入遅延などの機能的な変化も見られなかった。verteporfin を用いた光線力学療法は実験で動物の健常脈絡膜に対して大きな循環障害を及ぼすことはなく、加齢黄斑変性に伴う中心窩下脈絡膜新生血管に対して広く施行されているビスダインを用いた光線力学療法は副作用の少ない比較的安全な治療である

ことが示唆された。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計8件)

- ① Yamashiro K, Tsujikawa A, Nishida A, Mandai M, Kurimoto Y. Recurrence of polypoidal choroidal vasculopathy after photodynamic therapy. Jpn J Ophthalmol. 2008;52:457-462.
- ② Iwama D, Otani A, Sasahara M, Yodoi Y, Gotoh N, Tamura H, Tsujikawa A, Yoshimura N. Photodynamic therapy combined with low-dose intravitreal triamcinolone acetonide for age-related macular degeneration refractory to photodynamic therapy alone. Br J Ophthalmol. 2008;92:1352-1356.
- ③ Kurashige Y, Otani A, Sasahara M, Yodoi Y, Tamura H, Tsujikawa A, Yoshimura N. Two-year results of photodynamic therapy for polypoidal choroidal vasculopathy. Am J Ophthalmol. 2008;146:513-519.
- ④ Yodoi Y, Tsujikawa A, Otani A, Aikawa H, Yoshimura N. Chorioretinal anastomosis after photodynamic therapy for polypoidal choroidal vasculopathy : CRA after PDT for PCV. Int Ophthalmol 2008;28:297-299.
- ⑤ Yodoi Y, Tsujikawa A, Kameda T, Otani A, Tamura H, Mandai M, Yoshimura N. Central retinal sensitivity measured with the micro perimeter 1 after photodynamic therapy for polypoidal choroidal

vasculopathy. Am J Ophthalmol  
2007;143:984-994.

⑥Yamashiro K, Tsujikawa A, Nishida A,  
Kurimoto Y. Determinants of patient  
satisfaction with photodynamic therapy  
for neovascular age-related macular  
degeneration or polypoidal choroidal  
vasculopathy. Jpn J Ophthalmol  
2007;51:368-374.

⑦Otani A, Sasahara M, Yodoi Y, Aikawa H,  
Tamura H, Tsujikawa A, Yoshimura N.  
Indocyanine green angiography: guided  
photodynamic therapy for polypoidal  
choroidal vasculopathy. Am J Ophthalmol  
2007;144:7-14.

⑧Hirami Y, Tsujikawa A, Otani A, Yodoi Y,  
Aikawa H, Mandai M, Yoshimura N.  
Hemorrhagic complications after  
photodynamic therapy for polypoidal  
choroidal vasculopathy. Retina  
2007;27:335-341.

[学会発表] (計1件)

①林寿子, 山城健児, 辻川明孝, 太田将文, 田  
村寛, 大谷篤史, 吉村長久. 光線力学療法  
を施行し長期経過観察した加齢黄斑変性  
の網膜断層所見と視力の相関. 第62回  
日本臨床眼科学会. 2008. 10. 26. 東京

[その他]

ホームページ等

## 6. 研究組織

(1)研究代表者

辻川明孝 (TSUJIKAWA AKITAKA)  
京都大学・医学研究科・助教  
研究者番号: 40402846

(2)研究分担者

大谷篤史 (OTANI ATSUSHI)  
京都大学・医学研究科・助教  
研究者番号: 30314222  
田村 寛 (TAMURA HIROSHI)  
京都大学・医学研究科・助教  
研究者番号: 40418760