

平成 22 年度日本眼科学会学術奨励賞 受賞論文総説

糖尿病網膜症における増殖組織の病理組織学的所見と視力予後の相関

加瀬 諭

北海道大学大学院医学研究科眼科学分野

要 約

増殖糖尿病網膜症 (proliferative diabetic retinopathy : PDR) は網膜新生血管を伴い、増殖組織の形成、結果的に牽引性網膜剥離へと進展する。他方、増殖組織の発生病理を研究することは、PDR の進展を抑制するメカニズムを知ることにもつながり、失明予防に重要な役割を果たす。これまで硝子体手術時に採取された増殖組織の免疫組織化学的検討により、多くの増殖因子、転写因子、細胞外基質蛋白質などの発現解析が行われ、増殖組織の発生メカニズムが明らかにされつつある。一方、PDR 増殖組織の病理組織学的所見と、その後の臨床経過の関連は不詳である。本総説では、増殖組織にお

けるリンパ球浸潤の程度が個々の症例で異なり、リンパ球浸潤が豊富な症例は増殖組織の線維化、および術後の最終視力予後が有意に不良であったことを示す。増殖組織の病理組織像と視力予後の相関の検討は、これまでの病態生理学的な観点とは異なり、病理組織が新たな視力予後因子を含み、将来的に個別化治療の判断材料にもなりうることを示唆された。(日眼会誌 115 : 998—1006, 2011)

キーワード：糖尿病網膜症，増殖組織，病理学，免疫組織化学，視力予後

A Review

Correlation with Histological Findings and Visual Prognosis in Epiretinal Membrane of Human Diabetic Retinopathy

Satoru Kase

Department of Ophthalmology, Hokkaido University Graduate School of Medicine

Abstract

Proliferative diabetic retinopathy (PDR) leads to retinal neovascularization, epiretinal membrane formation and subsequent traction retinal detachment. The study of the pathogenesis of the epiretinal membrane promotes the research on the underlying mechanisms of PDR progression, contributing to the suppression of visual loss. Immunohistochemical analyses had indicated the expression of various proteins, such as growth factors, transcription factors and extracellular matrices in the epiretinal membrane tissues obtained during vitrectomy. These results may clarify the molecular mechanisms underlying the pathogenesis of the epiretinal membrane. Yet the correlation with histological findings in the PDR epiretinal membrane and the patients' clinical course remains unknown. In this review, we demon-

strate that the degree of lymphocyte infiltration in the epiretinal membrane differs in each PDR case and that a lymphocyte-rich epiretinal membrane significantly correlates with epiretinal membrane fibrosis and subsequent poor visual prognosis. Therefore, histopathological research of the epiretinal membrane may not only develop further patho-physiological analyses of the membrane formation, but also provide significant information on individual-based additional treatment following vitrectomy.

Nippon Ganka Gakkai Zasshi (J Jpn Ophthalmol Soc 115 : 998—1006, 2011)

Key words : Diabetic retinopathy, Epiretinal membrane, Pathology, Immunohistochemistry, Visual prognosis

別刷請求先：060-8638 札幌市北区北 15 条西 7 北海道大学大学院医学研究科眼科学分野 加瀬 諭

(平成 23 年 3 月 17 日受付，平成 23 年 6 月 17 日改訂受理)

Reprint requests to : Satoru Kase, M. D., Ph. D. Department of Ophthalmology, Hokkaido University Graduate School of Medicine, Nishi 7, Kita 15, Kita-ku, Sapporo 060-8638, Japan

(Received March 17, 2011 and accepted in revised form June 17, 2011)

I はじめに

糖尿病網膜症は、重大な中途失明の原因になり得る。とりわけ増殖糖尿病網膜症 (proliferative diabetic retinopathy: PDR) は眼内の虚血により難治性の血管新生緑内障を合併したり、網膜新生血管、増殖組織の形成、結果的に牽引性網膜剥離へと進展する。他方、増殖組織の病態生理を研究することは、PDR の進展を抑制するメカニズムを知ることにもつながり、失明予防に重要な役割を果たす^{1)~4)}。その代表的な研究手法の一つが、硝子体手術時に採取された増殖組織を固定し、未染色標本作製し、標的蛋白質の発現を調べる免疫組織化学的検討といえる。免疫組織化学的検討について簡潔に述べると、薄切された増殖組織上に標的蛋白質に対する抗体を滴下し、その抗原抗体反応を用いて陽性シグナルの有無を確認する手法である。しかし免疫組織化学が可能であったとしても、その陽性シグナルがどこに局在しているのかを評価することが困難なら、研究が発展し難い。加えて、増殖組織の病理学的研究成果と臨床医学との関連は、十分に解析されていない。本総説では、まず PDR における増殖組織の病理組織学的所見をまとめる。加えて、これまでに明らかにされてきた PDR の増殖組織における免疫組織化学的検討の研究成果について紹介する。後半では、PDR の増殖組織の病理学的研究成果と臨床医学のかかわりについて、我々の研究成果を中心に最近の知見について報告する。

II PDR 増殖組織の病理組織像

はじめに PDR における増殖組織の病理組織学的所見について述べる。図 1 に代表的な増殖組織のヘマトキシリン-エオジン (HE) 染色像を示す。基本的にヘマトキシリン染色は細胞の核を紫色に、エオジン染色は細胞質をピンク色に染める。図 1 に示すように、増殖組織には紫色に染まる種々の細胞がみられることに気付く。この場合の種々とは、黒矢印で示すように円形の空間を伴う橢円形から紡錘形核を有する細胞や、白矢印に示すようにそれらを伴わず単独に存在している細胞のことである。形態学的に前者は管腔内に赤色に染まる赤血球が存在しており、血管であることが判明する。一方、後者は細胞質が不明瞭な裸核状の円形核を有する細胞と、類円形や橢円形核、紡錘形核、葉巻状の核を有する細胞に分けられる。形態学的に前者はリンパ球であると考えられ、後者はその他の種々の間葉系細胞などである。症例によっては色素を伴う細胞も混在している。過去の報告を踏まえてまとめると、PDR における増殖組織の病理組織学的所見の特徴は、新生血管と線維化であり、構成する細胞は血管内皮細胞、リンパ球、マクロファージ、(筋)線維芽細胞、グリア細胞、網膜色素上皮 (RPE) 細胞よりなる^{1)~4)}。

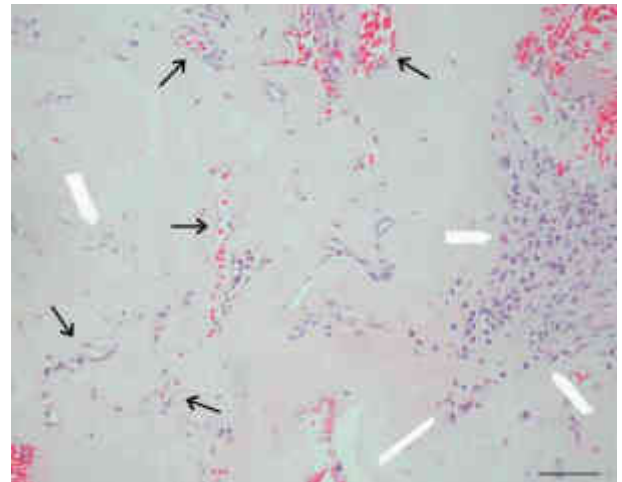


図 1 増殖糖尿病網膜症の増殖組織におけるヘマトキシリン-エオジン (HE) 染色標本。

ヘマトキシリン染色は、細胞の核を紫色に、エオジン染色は細胞質をピンク色に染める。増殖組織には紫色に染まる種々の細胞がみられることに気付く。この場合の種々とは、黒矢印で示すように円形の空間を伴う橢円形から紡錘形核を有する細胞と、白矢印に示すようにそれらを伴わず単独に存在している細胞のことである。円形の空間は血管腔であり、その証拠に管腔内に赤色に染まる赤血球が存在している。一方、後者は細かくみていくと、細胞質がはっきりしない完全に丸い核を有する細胞と、類円形や橢円形核を有する細胞に大まかに分けられる。バーは 50 μm を示す。

表 1 糖尿病網膜症の増殖組織における浸潤細胞と細胞表面マーカー

浸潤細胞	表面マーカー
血管内皮細胞	CD 34, CD 31, Factor VIII
リンパ球	LCA (CD 45)
グリア細胞 (Müller 細胞)	GFAP, Glutamine synthetase
グリア細胞 (アストロサイト)	GFAP
ミクログリア	HLA-DR, CD 45, CD 68
線維芽細胞	ビメンチン
筋線維芽細胞	α 平滑筋アクチン, ビメンチン
マクロファージ	CD 68, F 4/80
網膜色素上皮細胞	RPE 65, サイトケラチン

LCA: leucocyte common antigen (白血球共通抗原), GFAP: glial fibrillary acidic protein, HLA: human leucocyte antigen, RPE: retinal pigment epithelium.

増殖組織に浸潤する細胞の種類と、その細胞表面マーカーを表 1 に示す。HE 染色上にみられる細胞が何であるかを裏付けるには、形態観察のみならず細胞表面に発現している蛋白質発現を免疫組織化学にて確認することが必要である。例えば白血球共通抗原 (LCA) の発現にて、リンパ球を同定することが可能である。加えて、glial fibrillary acidic protein (GFAP) ではグリア細胞、retinal pigment epithelium (RPE) 65 では網膜色素上皮細胞

胞, CD 31/CD 34 では血管内皮細胞を同定することができる。さらに, 浸潤細胞のマーカーと標的蛋白質について連続切片を用いた検討や二重染色を行うことにより, その標的蛋白質が PDR の増殖組織のどの細胞に発現しているか, 明らかにすることが可能である。

Ⅲ 増殖組織の免疫組織化学的研究の概要

1990 年代初頭より, PDR の増殖組織を用いた免疫組織化学的検討にて, 主として増殖因子, 転写因子, 細胞外基質の解析が多数報告されてきた。増殖因子では, 今日脚光を浴びている血管内皮増殖因子(VEGF)が増殖組織の血管内皮に発現していることが明らかとなった^{5)~7)}。さらに, VEGF の受容体も血管内皮細胞に発現している⁸⁾。血管新生に関与する因子として他に, angiopoietin (Ang)-2, Ang-2 受容体, 線維芽細胞増殖因子(FGF)-5, エリスロポエチン受容体, インターロイキン-8(IL-8)の発現も確認されている^{5)9)~12)}。その他, 顆粒球-コロニー刺激因子(G-CSF), 結合組織増殖因子(CTGF), 肝細胞増殖因子(HGF), グリア細胞由来神経栄養因子受容体(GFR)-2, トランスフォーミング増殖因子(TGF)- β , TGF- β スーパーファミリーである activin の発現も, その特異抗体を用いた検討により明らかにされた^{13)~19)}。エンドセリン-1 は血管内皮細胞由来のペプチドで, 強力な血管収縮作用を有し, エンドセリン-1 およびその受容体が PDR 増殖組織に発現していることが確認された²⁰⁾。

転写因子の発現の報告は, 主として VEGF の転写因子, および炎症に関連する因子が報告されている。VEGF の転写因子である hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α), activator protein-1(AP-1), SP-1 が VEGF を発現する血管内皮細胞の核に発現している^{21)~23)}。PDR 増殖組織では, HIF-1 α がグリア細胞に陽性になることが報告されている²³⁾。Nuclear factor- κ B(NF- κ B)は主に炎症の誘導に関与する転写因子であり, PDR 増殖組織のグリア細胞や血管内皮細胞に発現し, VEGF や単球走化性蛋白質(MCP)-1 の発現を制御していることが示唆されている¹¹⁾¹²⁾²⁴⁾。

細胞外基質蛋白質の発現解析では, II 型およびIV型コラーゲン, 糖蛋白質であるフィブロネクチン, テナシン, ラミニンが PDR 増殖組織に発現し, 細胞外基質を構成している^{25)~29)}。フィブロネクチンは筋線維芽細胞に陽性であった¹⁸⁾。毛様体無色素上皮由来の細胞外基質蛋白質の存在も確認された³⁰⁾。酵素蛋白質の発現は, マトリックスメタロプロテイナーゼ(MMP)-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9, マトリックスメタロプロテイナーゼ阻害因子(TIMP)-1, TIMP-2, TIMP-3 が PDR 増殖組織で発現していた²⁵⁾³¹⁾。プラスミノゲンが血管周囲に発現していた³²⁾。他の酵素蛋白質の発現では, シクロオキシゲナーゼ(COX)-2 の発現の報告があり³³⁾, VEGF の発現

に相関したとする報告もある³⁴⁾。細胞接着因子では, intercellular adhesion molecule-1(ICAM-1)と leukocyte function-associated antigen-1(LFA-1)の発現が重要である³⁵⁾。

免疫組織化学的検討により, 新たな増殖組織の解剖学的事実も明らかとなった。Glutamine synthetase の発現の証明により, Müller 細胞の存在が判明した³⁶⁾。浸潤マクロファージに HLA-DR が発現していることも明らかとなった³⁷⁾。増殖組織に存在する活性化したミクログリアは HLA-DR, CD 45, CD 68 を発現していることが確認された³⁸⁾。神経節細胞に由来するニューロフィラメント陽性の神経突起が, 増殖組織に存在することが判明した³⁹⁾。Tumor endothelial marker 7 が増殖組織の血管に発現していることから, いわゆる腫瘍新生血管と同様の性質を有することが示唆された⁴⁰⁾。

細胞死や増殖に関連する蛋白質では, 増殖活性マーカーである Ki-67 陽性細胞が PDR 増殖組織にみられた⁷⁾⁴¹⁾⁴²⁾。一方, カスパーゼ-3 や poly-ADP-ribose-polymerase(PARP)の発現がみられ, これらは主として増殖組織に浸潤した RPE 細胞に局在し, 同部にアポトーシス細胞が検出された⁴³⁾。さらに近年, GDP 結合蛋白質であるセプチンファミリーや high-mobility group box-1(HMGB1)複合体の発現, 糖化産物である carboxymethyl lysine(CML-AGE)の発現も確認された^{44)~46)}。

以上に示すように, 増殖組織を用いての免疫組織化学的検討により, 種々の蛋白質の発現がみられることが明らかとなってきた。これらの蛋白質発現は増殖組織の病態生理, 進展機序を考察する重要な情報であり, かつこれらの蛋白質が今後, 増殖組織の形成, 進展を阻止する治療標的となり得ることが報告されてきた。

Ⅳ 増殖組織の病理と視力予後

本総説の後半では, PDR 増殖組織の病理学的研究成果と臨床医学のかかわりについて紹介する。はじめに我々は, リンパ球浸潤の有無を PDR の増殖組織, 特発性網膜前膜, 近視性黄斑分離や黄斑円孔の硝子体手術の際に得られた内境界膜(ILM)を用いて解析した結果, PDR の増殖組織にのみ種々の程度でリンパ球浸潤があることを確認した(図 2)。また浸潤しているリンパ球は, CD 3 陽性 T リンパ球であった。表 2 に示すように, 硝子体手術時に行われた血液検査では, 全身の炎症を反映する CRP, 白血球数, リンパ球の比率と, 病理組織学的に増殖組織におけるリンパ球浸潤密度に相関はなかった。以上のことから, 増殖組織におけるリンパ球浸潤は, 眼局所での病態に重要な役割を果たすことが示唆された。さらにこの事実は, 少なくとも二つの臨床病理学的重要性を意味していると考えられる。一つは前述のごとく, 増殖組織におけるリンパ球浸潤が, その病態生理に関与している, という視点である。Tang らは過

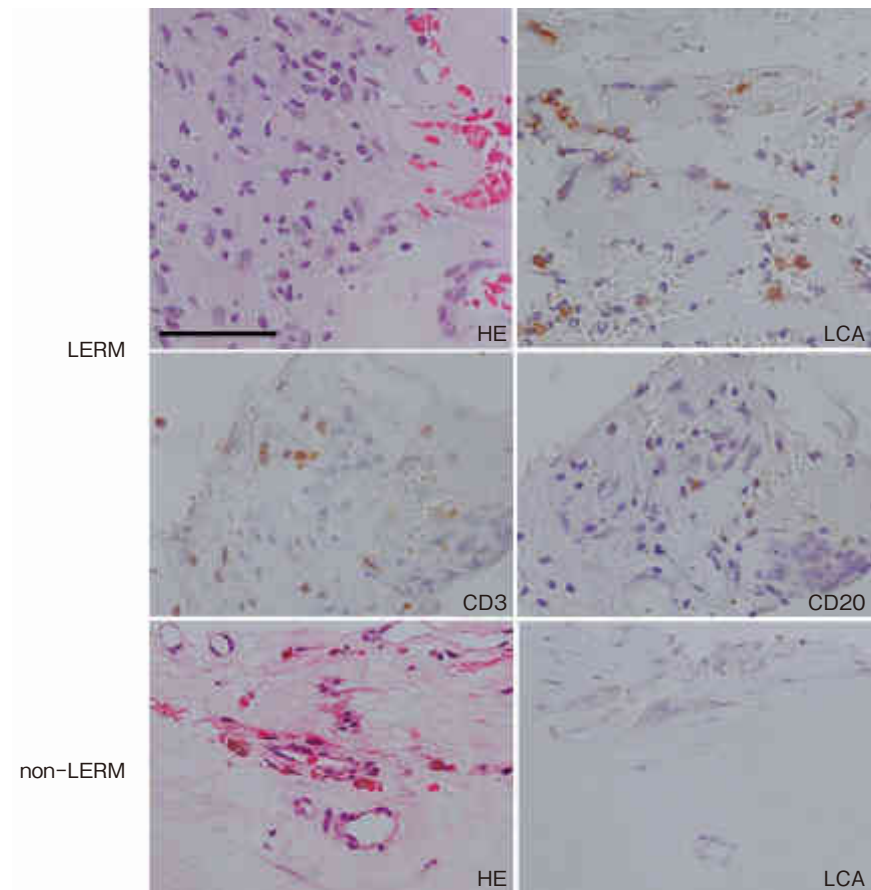


図 2 増殖糖尿病網膜症の増殖組織におけるリンパ球浸潤。

リンパ球浸潤豊富な増殖組織 (LERM) と非 LERM. LERM では組織切片上に血管腔を伴う新生血管と多数の裸核状の細胞浸潤がみられる. この細胞はリンパ球のマーカーである leucocyte common antigen (LCA) が細胞質に陽性になっている. LCA 陽性細胞は T 細胞のマーカーである CD 3 陽性であるが, 一方 B 細胞マーカーである CD 20 は陰性である. 非 LERM では, 組織切片上微小血管は観察されるが, LCA 陽性リンパ球浸潤は乏しい. バーは 50 μ m を示す.

(文献 50 より許可を得て転載のうえ改変)

表 2 本研究における増殖糖尿病網膜症患者の臨床病理学的背景

症例	年齢	性別	眼	VH	TRD	術前視力	術後視力	経過観察 (月)	LD/HPF	線維化	CRP	WBC ($\times 10^3/\mu$ l)	Lymph (%)	HbA1c (%)
1	58	男	左	+	+	0.3	LP	35	52	3+	0.24>	8.3	43.6	6.2
2	59	男	左	+	+	0.2	LP	20	38	3+	0.24>	7.8	37.3	9.2
3	36	女	左	+	+	0.1	0.02	6	9	3+	0.24>	9.4	17.5	7.5
4	45	男	右	+	+	0.02	CF	19	6	3+	0.24>	9.5	38.8	6.7
5	63	女	左	+	+	0.06	0.04	31	5	2+	0.24>	8.4	28.4	8.5
6	58	男	左	+	-	0.03	0.4	15	2	1+	0.24>	14.5	35	8.6
7	73	男	右	+	-	0.01	0.05	30	2	1+	0.24>	5.1	39.6	8.6
8	66	男	右	-	-	0.4	0.7	29	1	1+	N.D.	9.2	N.D.	7.5
9	69	男	右	+	+	0.1	0.3	5	1	3+	0.24>	6.3	23.9	7.4
10	67	男	右	+	-	0.2	0.2	30	2	1+	0.24>	5.2	N.D.	7.1
11	50	男	左	+	+	0.06	0.9	33	2	2+	0.24>	7.3	20	6.9
12	70	女	右	+	-	0.1	0.5	24	2	2+	0.24>	7.4	16	6.9
13	64	男	右	+	-	HM	1	8	1	2+	0.24>	6.1	33.9	6.9

VH:硝子体出血, TRD:牽引性網膜剥離, HM:手動弁, CF:指数弁, LP:光覚弁, LD/HPF:リンパ球密度/強拡大, 3+:重度, 2+:中等度, 1+:軽度, CRP:C-反応性蛋白質, WBC:白血球数, Lymph:リンパ球, N.D.:検討せず.

表 3 増殖糖尿病網膜症の増殖組織におけるリンパ球浸潤密度と視力予後の相関

リンパ球密度	症例数		合計
	改善	悪化/不変	
高密度(5/強拡大視野≤)	0	5	5
低密度(5/強拡大視野>)	7	1	8
合計	7	6	13*

* : $p < 0.001$

去に、免疫により誘導される過程や炎症反応が、増殖組織の形成に重要な役割を果たしていることを示してきた⁴⁷⁾。実際、眼内の虚血により組織障害や壊死が起こり、マクロファージや他の免疫担当細胞の浸潤が誘導された⁴⁸⁾。PDR 増殖組織の進展は、さらに瘢痕形成に伴う修復過程で誘導される可能性も明らかにした⁴⁸⁾。加えて、硝子体腔は免疫特権を有する部位であるが、PDR においてはこの特権が障害されている⁴⁹⁾。増殖組織にみられる免疫担当細胞の浸潤は、血液網膜関門の破綻の結果、二次的に起こる現象であると考えられている⁴⁸⁾。したがって、PDR の増殖組織におけるリンパ球浸潤は、増殖組織の病態生理に深く関与していることは明らかである。

一方、もう一つの臨床病理学的重要性は、増殖組織の病理組織学的所見と術後の視力予後や臨床経過に関連している、という視点である。我々の研究では、PDR 増殖組織におけるリンパ球浸潤の程度により、増殖組織症例を 2 群に分類した。リンパ球浸潤の豊富な増殖組織では、一症例の切片において強拡大視野(対物レンズ：40×)にて平均 5 個以上のリンパ球が確認され、lymphocyte-rich epiretinal membrane(LERM)と名付けた。一方、非 LERM におけるそれは、表 2 に示すように 4 個以下であった。本研究ではいずれの症例においても、術中にトリウムシノロンアセトニドを硝子体内注射し、残存硝子体皮質を可視化しこれを除去した。ILM 剝離は施行しなかった。表 3 に示すように硝子体手術時に採取された PDR 増殖組織におけるリンパ球浸潤密度が高い LERM 症例では、臨床的には術後の増殖組織の再増殖を来し、有意に視力予後が不良であった⁵⁰⁾(表 3, $p < 0.001$)。我々の知りうる範囲内で PDR の病理組織学的所見と臨床経過の関連を示した、初めての報告と思われる。

V リンパ球浸潤と線維化

リンパ球浸潤の豊富な LERM において、結果的に著明な再増殖を来し、視力予後が不良であった考察として、PDR 増殖組織における線維化について検討した。病理組織学的に線維化の証明としては、組織におけるコラーゲン蛋白質を特殊染色あるいは免疫組織化学的検討にて明らかにすることが挙げられる。代表的な特殊染色

としては、コラーゲンを青色に染色するマッソントリクローム染色が知られている。図 3 に PDR の増殖組織における線維化を病理組織学的に示す。マッソントリクローム染色にて、PDR 組織中の膠原線維が青く染色されている。したがって、PDR 増殖組織における線維化の程度を把握するには、マッソントリクローム染色が有用であることも示唆された。

次に PDR 増殖組織を用いてマッソントリクローム染色を行い、個々の症例の線維化の程度を観察すると、表 2 に示すように評価することが可能であった。LERM では、濃厚な青色に染色され、強い線維化が示唆される傾向があった(図 3 a)。一方非 LERM では、LERM に比較し青色染色像が強くなく、線維化は乏しかった(図 3 b)。本研究により、硝子体手術時に採取された PDR 増殖組織における LERM 症例では、有意に PDR 増殖組織における線維化が高度であることが判明した。加えて LERM 症例では、有意に術中に牽引性網膜剝離(TRD)を伴っていることも明らかとなった(表 2, CHI-TEST, $p < 0.01$)。これらの事実により、LERM 症例では増殖組織の再増殖を来しやすい背景があり、結果的に視力予後が不良であったことと関連した。他方、硝子体手術後のリンパ球浸潤に伴う再増殖の機序は不詳である。過去には、虚血-再灌流モデルにおいては、活性化された T リンパ球が誘導され、炎症性サイトカインの産生が誘導され、結果的に組織障害や線維化を誘導することが報告されている⁵¹⁾⁵²⁾。これらの結果は、眼内血流の変化が T 細胞の活性化および線維化を誘導する可能性を示唆する。実際、糖尿病網膜症における硝子体手術後は、眼内血流量が有意に低下することが示されてきた⁵³⁾。以上のことから、リンパ球浸潤の豊富な LERM において、結果的に著明な再増殖を来す機序の一つとして、PDR 増殖組織に高密度に浸潤したリンパ球が硝子体手術後の眼内血流の変化に伴い活性化され、比較的線維化の強い増殖組織の症例において再増殖を来したことが示唆された。

VI 増殖組織におけるリンパ球浸潤と硝子体との関連

我々は、非糖尿病眼における ILM や特発性網膜前膜では、リンパ球浸潤がみられないことを明らかにしてきた³³⁾⁵⁰⁾。対照的に、すべての PDR 増殖組織では、種々の程度においてリンパ球浸潤がみられた。Cantón らは、フローサイトメトリーを用いて、検索した全症例の PDR 患者において硝子体中にリンパ球浸潤がみられたと報告した⁵⁴⁾。この結果は、我々の示した PDR 増殖組織における病理組織学的検討結果と矛盾しない。実際、硝子体内の細胞浸潤は、PDR における血液網膜関門の破綻による末梢血中の血液を反映していることが示唆されている⁵⁴⁾。しかしながら彼らは、硝子体中に浸潤するリンパ球は、PDR 患者における視力予後良好と相関すると報

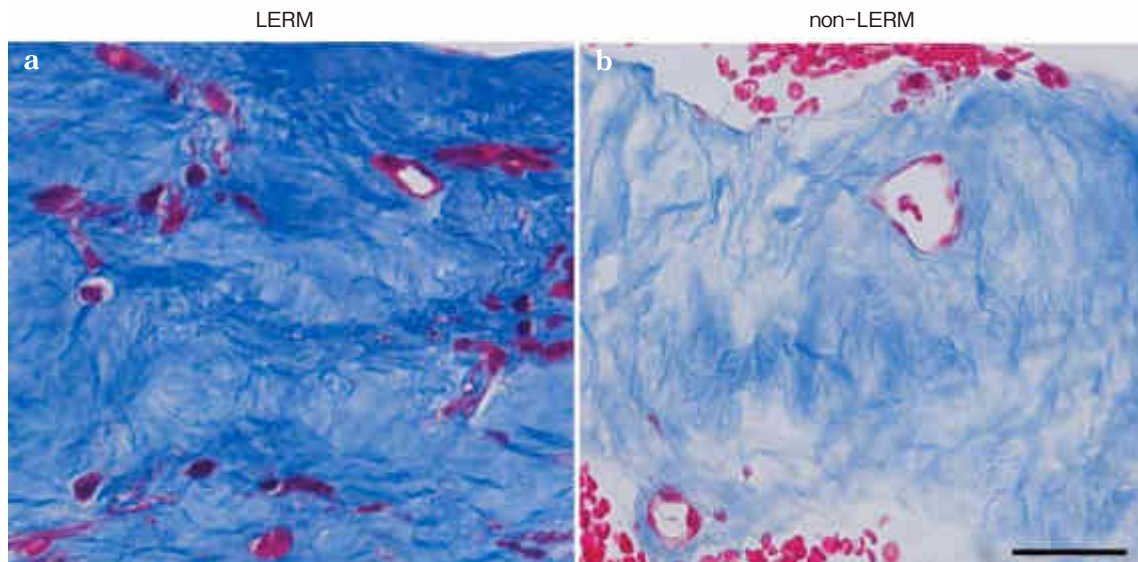


図 3 増殖糖尿病網膜症の増殖組織における線維化。

マッソントリクローム染色にて、膠原線維が青く染色されている。LERM では、濃厚な青色に染色され、強い線維化が示唆される(a)。一方非 LERM では、LERM に比較し青色染色像が強くなく、線維化は乏しい(b)。バーは 50 μ m を示す。

(文献 50 より許可を得て転載のうえ改変)

告した⁵⁴⁾。一方、我々は病理組織学的に PDR 増殖組織における高密度のリンパ球浸潤は視力予後不良と関連したことを示した。これらの結果は、過去の報告と相反している可能性がある⁵⁴⁾。我々はさらに、末梢血中の白血球数、およびリンパ球の比率と PDR 増殖組織におけるリンパ球浸潤密度を比較したが、いずれにおいても有意な相関はみられなかった。加えて、PDR 増殖組織の病理組織では、リンパ球浸潤は主として間質にみられ、増殖組織の微小血管内にはほとんどみられないことも確認した。これらの結果は、硝子体中のリンパ球の浸潤程度や分布が、必ずしも PDR 増殖組織とは一致しないことを示唆している。同一個体における硝子体および増殖組織におけるリンパ球の関連についての検討が、今後の課題である。

VII PDR 増殖組織における微小血管

図 1 に示すように、組織切片上、多数の血管内皮細胞の分布、微小血管の存在は、PDR の増殖組織における代表的な病理組織学的所見である。これらは表 1 に示すように、抗 CD 34 抗体を用いた免疫組織化学的検討にて検出可能である。前述のリンパ球浸潤豊富な増殖組織 (LERM) と非 LERM における血管内皮細胞マーカーである CD 34 の免疫活性を図 4 に示す。両者とも、茶色に発色される微小血管を同定することが可能である。一方、特発性網膜前膜や ILM には、CD 34 陽性微小血管は存在しなかった。実際、糖尿病網膜症における増殖組織の形成には、虚血と眼内で産生される血管新生因子が関与していることが報告されている³⁾。これまで、PDR

増殖組織における微小血管の血管内皮細胞には、VEGF をはじめとする種々の液性因子が発現していることが明らかにされており、PDR 増殖組織の発生や進展に関与する⁸⁾⁹⁾³³⁾。このことから、網膜血管新生が PDR の増殖組織の病態生理に重要な役割を果たしていることは自明の理である。他方、各症例における増殖組織における CD 34 陽性微小血管密度を算出し、リンパ球浸潤密度との相関を検定したが、相関はなかった〔図 4、相関係数 (r) = 0.02〕。加えて、今回の我々の検討では、PDR 増殖組織における微小血管密度と、視力予後の相関も見出されなかった⁵⁰⁾。このことは、増殖組織の病理学的研究は、病態生理学的な観点と、臨床的な視力予後の結果とで異なった意味を示す代表的な事例と考えられる。

VIII 増殖組織の病理組織学的所見と臨床医学

我々は、増殖組織のリンパ球浸潤は、術後の視力予後を推定するマーカーになることを示した⁵⁰⁾。これまで、PDR 増殖組織における病理組織学的研究は、前述のようにその増殖組織形成のメカニズムの解明に貢献してきた。しかし、増殖組織の病理組織学的所見と、PDR 患者の視力予後との相関を示した報告はこれまでになかった。今後、術中に採取された増殖組織の病理所見や、硝子体液の解析と視力予後や血管新生緑内障の発症などとの相関の報告が期待される。したがって、増殖組織の病理組織像と視力予後の相関の検討は、これまでの病態生理学的な観点とは異なり、病理組織が新たな視力予後因子を含み、付加的な治療標的の材料にもなるかもしれない。一つの可能性としては、リンパ球浸潤の豊富な増殖

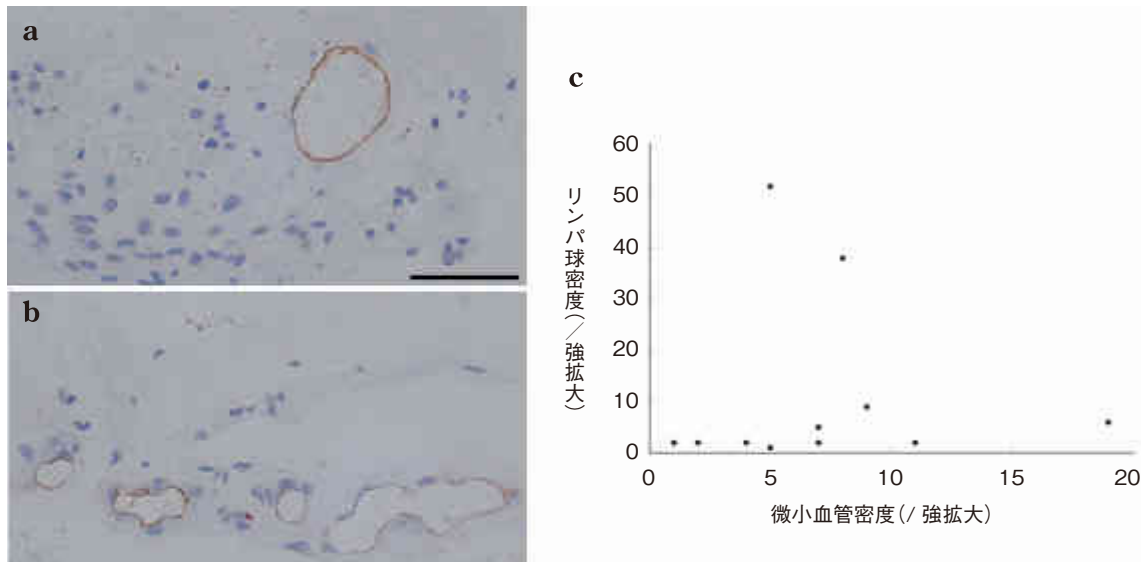


図 4 増殖糖尿病網膜症の増殖組織における微小血管。

リンパ球浸潤豊富な増殖組織(LERM)(a)と非 LERM(b)における血管内皮細胞マーカーである CD 34 の免疫活性を示す。両者とも、茶色に発色される微小血管を同定することが可能である。増殖組織における微小血管密度とリンパ球浸潤密度には関連はない(c)。相関係数(r)=0.02。バーは 50 μ m を示す。

(文献 50 より許可を得て転載のうえ改変)

組織を有する PDR 症例と副腎皮質ステロイド薬の関連である。なかでもトリアムシロロンアセトニドは長時間作用性の薬剤であり、これまでに糖尿病黄斑症や PDR において硝子体注射による一定の治療効果が確認されてきた⁵⁵⁾⁵⁶⁾。重要なことに副腎皮質ステロイド薬の抗炎症効果は、一つには T 細胞における炎症に対する反応を制御することによることが報告されている⁵⁷⁾。我々の報告は、硝子体手術中に採取された PDR 増殖組織における高密度のリンパ球浸潤を示す症例に、術後の線維化、再増殖の予防のための局所副腎皮質ステロイド薬投与という新たな付加的個別化治療の可能性を示唆した。

IX おわりに

眼科医が増殖組織の病理像を把握することは、単に病理学的研究の発展に貢献するのみならず、術後の PDR 患者において付加的個別化治療の可能性を示唆する有益な情報を得ることにつながるかもしれない。

本研究および総説の執筆にあたり、北海道大学眼科学教室 石田 晋教授、齋藤 航特任講師、大野重昭特任教授、および網膜硝子体グループ担当医に多大なご協力を賜りました。ここに深謝いたします。

利益相反：利益相反公表基準に該当なし

文 献

- 1) 青山玲子：眼内増殖膜の形態学的研究 増殖性糖尿

病性網膜症(PDR)と増殖性硝子体網膜症(PVR)について。日眼会誌 94：383—393, 1990。

- 2) 横井匡彦, 加藤秀夫, 高村真理子, 古館直樹, 加瀬学, 長嶋和郎：増殖糖尿病網膜症の再増殖膜の組織像。日眼会誌 14：489—492, 2001。
- 3) Snead DR, James S, Snead MP：Pathological changes in the vitreoretinal junction 1：epiretinal membrane formation. Eye 22：1310—1317, 2008。
- 4) 小幡博人, 平形明人：網膜・網膜前膜と網膜下組織 糖尿病網膜症 vs 未熟児網膜症。石橋達朗(編)：眼科プラクティス 8 いますぐ役立つ眼病理。文光堂, 東京, 192—195, 2006。
- 5) Schneeberger SA, Hjelmeland LM, Tucker RP, Morse LS：Vascular endothelial growth factor and fibroblast growth factor 5 are colocalized in vascular and avascular epiretinal membranes. Am J Ophthalmol 124：447—454, 1997。
- 6) Tsanou E, Ioachim E, Stefanidou M, Gorezis S, Charalabopoulos K, Bagli H, et al：Immunohistochemical study of angiogenesis and proliferative activity in epiretinal membranes. Int J Clin Pract 59：1157—1161, 2005。
- 7) Abu El-Asrar AM, Missotten L, Geboes K：Expression of hypoxia-inducible factor-1 α and the protein products of its target genes in diabetic fibrovascular epiretinal membranes. Br J Ophthalmol 91：822—826, 2007。
- 8) Ishida S, Shinoda K, Kawashima S, Oguchi Y, Okada Y, Ikeda E：Coexpression of VEGF receptors VEGF-R2 and neuropilin-1 in proliferative diabetic retinopathy. Invest Ophthalmol Vis Sci 41：1649—1656, 2000。

- 9) Kase S, Saito W, Ohgami K, Yoshida K, Furudate N, Saito A, et al : Expression of erythropoietin receptor in human epiretinal membrane of proliferative diabetic retinopathy. *Br J Ophthalmol* 91 : 1376—1378, 2007.
- 10) Takagi H, Koyama S, Seike H, Oh H, Otani A, Matsumura M, et al : Potential role of the angio-poietin/tie 2 system in ischemia-induced retinal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 44 : 393—402, 2003.
- 11) Harada C, Harada T, Mitamura Y, Quah HM, Ohtsuka K, Kotake S, et al : Diverse NF- κ B expression in epiretinal membranes after human diabetic retinopathy and proliferative vitreoretinopathy. *Mol Vis* 10 : 31—36, 2004.
- 12) Mitamura Y, Harada T, Harada C, Ohtsuka K, Kotake S, Ohno S, et al : NF- κ B in epiretinal membranes after human diabetic retinopathy. *Diabetologia* 46 : 699—703, 2003.
- 13) Abu El-Asrar AM, Struyf S, Opdenakker G, Van Damme J, Geboes K : Expression of stem cell factor/c-kit signaling pathway components in diabetic fibrovascular epiretinal membranes. *Mol Vis* 16 : 1098—1107, 2010.
- 14) Abu El-Asrar AM, Van den Steen PE, Al-Amro SA, Missotten L, Opdenakker G, Geboes K : Expression of angiogenic and fibrogenic factors in proliferative vitreoretinal disorders. *Int Ophthalmol* 27 : 11—22, 2007.
- 15) Harada T, Harada C, Mitamura Y, Akazawa C, Ohtsuka K, Ohno S, et al : Neurotrophic factor receptors in epiretinal membranes after human diabetic retinopathy. *Diabetes Care* 25 : 1060—1065, 2002.
- 16) Abu El-Asrar AM, Missotten L, Geboes K : Expression of advanced glycation end products and related molecules in diabetic fibrovascular epiretinal membranes. *Clin Experiment Ophthalmol* 38 : 57—64 : quiz 87, 2010.
- 17) Briggs MC, Grierson I, Hiscott P, Hunt JA : Active scatter factor (HGF/SF) in proliferative vitreoretinal disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 41 : 3085—3094, 2000.
- 18) Bochaton-Piallat ML, Kapetanios AD, Donati G, Redard M, Gabbiani G, Pournaras CJ : TGF- β 1, TGF- β receptor II and ED-A fibronectin expression in myofibroblast of vitreoretinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 41 : 2336—2342, 2000.
- 19) Yamamoto T, Takeuchi S, Suzuki K, Yamashita H : Expression and possible roles of activin A in proliferative vitreoretinal diseases. *Jpn J Ophthalmol* 44 : 221—226, 2000.
- 20) Roldan-Pallares M, Rollin R, Martinez-Montero JC, Fernandez-Cruz A, Bravo-Llata C, Fernandez-Durango R : Immunoreactive endothelin-1 in the vitreous humor and epiretinal membranes of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Retina* 27 : 222—235, 2007.
- 21) Yoshida-Hata N, Mitamura Y, Oshitari T, Namekata K, Harada C, Harada T, et al : Transcription factor, SP 1, in epiretinal membranes of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Diabetes Res Clin Pract* 87 : e 26—28, 2010.
- 22) Mitamura Y, Okumura A, Harada C, Namekata K, Nakamura K, Tashimo A, et al : Activator protein-1 in epiretinal membranes of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Diabetologia* 49 : 209—211, 2006.
- 23) Lim JJ, Spee C, Hinton DR : A comparison of hypoxia-inducible factor- α in surgically excised neovascular membranes of patients with diabetes compared with idiopathic epiretinal membranes in nondiabetic patients. *Retina* 30 : 1472—1478, 2010.
- 24) Harada C, Okumura A, Namekata K, Nakamura K, Mitamura Y, Ohguro H, et al : Role of monocyte chemotactic protein-1 and nuclear factor κ B in the pathogenesis of proliferative diabetic retinopathy. *Diabetes Res Clin Pract* 74 : 249—256, 2006.
- 25) Ioachim E, Stefanidou M, Gorezis S, Tsanou E, Psilas K, Agnantis NJ : Immunohistochemical study of extracellular matrix components in epiretinal membranes of vitreoproliferative retinopathy and proliferative diabetic retinopathy. *Eur J Ophthalmol* 15 : 384—391, 2005.
- 26) Hosoda Y, Okada M, Matsumura M, Ogino N, Honda Y, Nagai Y : Epiretinal membrane of proliferative diabetic retinopathy : an immunohistochemical study. *Ophthalmic Res* 25 : 289—294, 1993.
- 27) Immonen I, Tervo K, Virtanen I, Laatikainen L, Tervo T : Immunohistochemical demonstration of cellular fibronectin and tenascin in human epiretinal membranes. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 69 : 466—471, 1991.
- 28) Hagedorn M, Esser P, Wiedemann P, Heimann K : Tenascin and decorin in epiretinal membranes of proliferative vitreoretinopathy and proliferative diabetic retinopathy. *Ger J Ophthalmol* 2 : 28—31, 1993.
- 29) Hiscott P, Larkin G, Robey HL, Orr G, Grierson I : Thrombospondin as a component of the extracellular matrix of epiretinal membranes : comparisons with cellular fibronectin. *Eye* 6 : 566—569, 1992.
- 30) Pattwell DM, Sheridan CM, Le Goff M, Bishop PN, Hiscott P : Localisation of opticin in human proliferative retinal disease. *Exp Eye Res* 90 : 461—464, 2010.
- 31) Salzmann J, Limb GA, Khaw PT, Gregor ZJ, Webster L, Chignell AH, et al : Matrix metalloproteinases and their natural inhibitors in fibrovascular membranes of proliferative diabetic retinopathy. *Br J Ophthalmol* 84 : 1091—1096, 2000.
- 32) Esser P, Heimann K, Bartz-Schmidt KU, Walter P, Krott R, Weller M : Plasminogen in proliferative vitreoretinal disorders. *Br J Ophthalmol* 81 : 590—594, 1997.

- 33) **Kase S, Saito W, Ohno S, Ishida S** : Cyclo-oxygenase-2 expression in human idiopathic epiretinal membrane. *Retina* 30 : 719—723, 2010.
- 34) **El-Asrar AM, Missotten L, Geboes K** : Expression of cyclo-oxygenase-2 and downstream enzymes in diabetic fibrovascular epiretinal membranes. *Br J Ophthalmol* 92 : 1534—1539, 2008.
- 35) **Heidenkummer HP, Kampik A** : Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) and leukocyte function-associated antigen-1 (LFA-1) expression in human epiretinal membranes. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 230 : 483—487, 1992.
- 36) **Guidry C, King JL, Mason JO, 3rd** : Fibrocontractive Müller cell phenotypes in proliferative diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 50 : 1929—1939, 2009.
- 37) **Tang SB, Scheiffarth OF** : Expression of HLA-DR antigen in epiretinal and vitreous membranes. *Yan Ke Xue Bao* 5 : 28—31, 59, 1989.
- 38) **Zeng HY, Green WR, Tso MO** : Microglial activation in human diabetic retinopathy. *Arch Ophthalmol* 126 : 227—232, 2008.
- 39) **Lewis GP, Betts KE, Sethi CS, Charteris DG, Lesnik-Oberstein SY, Avery RL, et al** : Identification of ganglion cell neurites in human subretinal and epiretinal membranes. *Br J Ophthalmol* 91 : 1234—1238, 2007.
- 40) **Yamaji Y, Yoshida S, Ishikawa K, Sengoku A, Sato K, Yoshida A, et al** : TEM 7 (PLXDC 1) in neovascular endothelial cells of fibrovascular membranes from patients with proliferative diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 49 : 3151—3157, 2008.
- 41) **Heidenkummer HP, Kampik A, Petrovski B** : Proliferative activity in epiretinal membranes. The use of the monoclonal antibody Ki-67 in proliferative vitreoretinal diseases. *Retina* 12 : 52—58, 1992.
- 42) **Heidenkummer HP, Kampik A** : Proliferative activity and immunohistochemical cell differentiation in human epiretinal membranes. *Ger J Ophthalmol* 1 : 170—175, 1992.
- 43) **Zhang X, Barile G, Chang S, Hays A, Pachydaki S, Schiff W, et al** : Apoptosis and cell proliferation in proliferative retinal disorders : PCNA, Ki-67, caspase-3, and PARP expression. *Curr Eye Res* 30 : 395—403, 2005.
- 44) **Xin X, Pache M, Zieger B, Bartsch I, Prunte C, Flammer J, et al** : Septin expression in proliferative retinal membranes. *J Histochem Cytochem* 55 : 1089—1094, 2007.
- 45) **El-Asrar AM, Missotten L, Geboes K** : Expression of high-mobility groups box-1/receptor for advanced glycation end products/osteopontin/early growth response-1 pathway in proliferative vitreoretinal epiretinal membranes. *Mol Vis* 17 : 508—518, 2011.
- 46) **Swamy-Mruthinti S, Miriam KC, Kumar SK, Biswas J, Ramakrishnan S, Nagaraj RH, et al** : Immunolocalization and quantification of advanced glycation end products in retinal neovascular membranes and serum : a possible role in ocular neovascularization. *Curr Eye Res* 25 : 139—145, 2002.
- 47) **Tang S, Le-Ruppert KC** : Activated T lymphocytes in epiretinal membranes from eyes of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 233 : 21—25, 1995.
- 48) **Tang S, Scheiffarth OF, Thurau SR, Wildner G** : Cells of the immune system and their cytokines in epiretinal membranes and in the vitreous of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Ophthalmic Res* 25 : 177—185, 1993.
- 49) **Jiang LQ, Jorquera M, Streilein JW** : Subretinal space and vitreous cavity as immunologically privileged sites for retinal allografts. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 34 : 3347—3354, 1993.
- 50) **Kase S, Saito W, Ohno S, Ishida S** : Proliferative diabetic retinopathy with lymphocyte-rich epiretinal membrane associated with poor visual prognosis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 50 : 5909—5912, 2009.
- 51) **Ascon M, Ascon DB, Liu M, Cheadle C, Sarkar C, Racusen L, et al** : Renal ischemia-reperfusion leads to long term infiltration of activated and effector-memory T lymphocytes. *Kidney Int* 75 : 526—535, 2009.
- 52) **Bresser P, Jansen HM, Weller FR, Lutter R, Out TA** : T-cell activation in the lungs of patients with systemic sclerosis and its relation with pulmonary fibrosis. *Chest* 120 : 66 S—68 S, 2001.
- 53) **Krepler K, Polska E, Wedrich A, Schmetterer L** : Ocular blood flow parameters after pars plana vitrectomy in patients with diabetic retinopathy. *Retina* 23 : 192—196, 2003.
- 54) **Cantón A, Martínez-Cáceres EM, Hernández C, Espejo C, García-Arumí J, Simó R** : CD 4-CD 8 and CD 28 expression in T cells infiltrating the vitreous fluid in patients with proliferative diabetic retinopathy : a flow cytometric analysis. *Arch Ophthalmol* 122 : 743—749, 2004.
- 55) **Margolis R, Singh RP, Bhatnagar P, Kaiser PK** : Intravitreal triamcinolone as adjunctive treatment to laser panretinal photocoagulation for concomitant proliferative diabetic retinopathy and clinically significant macular oedema. *Acta Ophthalmol* 86 : 105—110, 2008.
- 56) **Jonas JB, Hayler JK, Sofker A, Panda-Jonas S** : Intravitreal injection of crystalline cortisone as adjunctive treatment of proliferative diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol* 131 : 468—471, 2001.
- 57) **Almawi WY, Beyhum HN, Rahme AA, Rieder MJ** : Regulation of cytokine and cytokine receptor expression by glucocorticoids. *J Leukoc Biol* 60 : 563—572, 1996.