

## 網膜光凝固後の脈絡膜毛細血管板再形成過程への インターフェロン $\beta$ の効果

戸部 隆雄, 高橋 寛二, 岸本 直子, 大熊 紘, 宇山 昌延

関西医科大学眼科学教室

### 要 約

サル眼に実験的に行った網膜光凝固による脈絡膜毛細血管板の閉塞後の再形成過程に与えるインターフェロン $\beta$ の影響を、光学顕微鏡および電子顕微鏡により病理組織学的に、および血管鑄型標本により形態学的に調べた。サル眼の眼底に色素レーザーにより中等度凝固を行うと、脈絡膜毛細血管板は凝固部で凝固閉塞したが、光凝固後3日には凝固部周辺から幼弱な内皮細胞が増殖し、凝固中央部に向かって遊走を開始した。光凝固後7日には新しい血管腔が形成され、光凝固後14日には脈絡膜毛細血管板はほとんど再形成された。光凝固後にインターフェロン $\beta$ を全身投与すると、脈絡膜毛細血管の再形成

による修復過程は著しく抑制された。この結果から、インターフェロン $\beta$ は、生体で新生血管の血管内皮細胞の増殖および遊走に対して抑制効果を持つことが明らかになった。この血管内皮細胞増殖および遊走抑制作用によって、インターフェロン $\beta$ は、老人性円板状黄斑変性の薬物療法への応用が期待できると思われた。(日眼会誌 99:558-570, 1995)

キーワード：インターフェロン $\beta$ 、レーザー光凝固、脈絡膜毛細血管の閉塞、脈絡膜毛細血管の再形成、血管内皮細胞

### Effect of Human Interferon- $\beta$ on Reconstruction of the Choriocapillaris in Monkeys Following Laser Photocoagulation

Takao Tobe, Kanji Takahashi, Naoko Kishimoto,  
Hiroshi Ohkuma and Masanobu Uyama

Department of Ophthalmology, Kansai Medical University

### Abstract

We studied the effect of human interferon- $\beta$  on reconstruction of the choriocapillaris following laser photocoagulation in monkey eyes. Moderate dye laser photocoagulation caused the occlusion of the choriocapillaris by the intraluminal thrombus in the photocoagulated lesions on the retina. After 3 days, immature endothelial cells began to migrate towards the center from the edge of the lesions. After 7 days capillaries were newly formed, and after 14 days the choriocapillaris in the lesions was almost reconstructed. Systemic administration of interferon- $\beta$  after photocoagulation suppressed the

reconstruction of the choriocapillaris remarkably. These results suggest that interferon- $\beta$  inhibits proliferation and migration of the capillary endothelium on the retina. Interferon- $\beta$  may be effective as medication for the treatment of age-related macular degeneration. (J Jpn Ophthalmol Soc 99:558-570, 1995)

Key words: Interferon- $\beta$ , Laser photocoagulation, Blocking of choriocapillaris, Reconstruction of choriocapillaris, Capillary endothelium

### I 緒 言

最近、老人性円板状黄斑変性が急増し、高齢者の失明

の原因として注目されている<sup>1)</sup>。本症の原因である脈絡膜新生血管に対してはレーザー光凝固が行われるが、中心窩に近い脈絡膜新生血管や、蛍光眼底造影で不明瞭な

別刷請求先：570 大阪府守口市文園町10-15 関西医科大学眼科学教室 戸部 隆雄

(平成6年10月24日受付, 平成6年12月27日改訂受理)

Reprint requests to: Takao Tobe, M.D. Department of Ophthalmology, Kansai Medical University, 10-15 Fumizono-cho, Moriguchi-shi, Osaka-fu 570, Japan

(Received October 24, 1994 and accepted in revised form December 27, 1994)

脈絡膜新生血管への光凝固は困難であり、予後は不良である<sup>1)2)</sup>。このような光凝固が困難な症例に対して、本症に対する有効な薬物療法が待たれている。

一方、インターフェロン(IFN)が血管内皮細胞の増殖抑制作用を持つことが明らかにされ<sup>3)~5)</sup>、臨床的に血管腫を縮小し<sup>6)7)</sup>、実験的に虹彩新生血管を退縮させることが報告<sup>8)</sup>されている。Fung<sup>9)</sup>は、この作用に注目し、IFN- $\alpha$ を本症に用いて脈絡膜新生血管を縮小する作用があると報告した。この報告以降、IFNによる老人性円板状黄斑変性の治療が注目されている<sup>10)~13)</sup>。しかし、IFNの新生血管に対する作用は未だ不明な点が多く、その奏効機序は確定していない。

著者らは、既にサル眼において、色素レーザーの中等度凝固によりいったん凝固閉塞した脈絡膜毛細血管板が再形成される過程を、病理組織学的あるいは形態学的に検討し、この再形成過程に血管内皮細胞の増殖および遊走、基底膜様構造の形成、管腔形成がみられ、いわゆる新生血管の形成過程と同じであることを明らかにした<sup>14)~16)</sup>。

今回、著者らは、この実験研究を基にして、ヒト線維芽細胞由来の天然型IFNであるIFN- $\beta$ <sup>17)</sup>が、網膜の中等度光凝固によりいったん閉塞した脈絡膜毛細血管の修復、再形成過程に与える効果を実験的に評価し、IFNの生体での血管内皮細胞増殖および遊走に及ぼす効果と新生血管に対する作用を検討したので報告する。

## II 実験方法

実験動物として、体重4.1~5.8 kgの雄の成熟カニクイザル7匹14眼を用いた。

塩酸ケタミン(ケタラル®) 25 mg/kgの筋注により全身麻酔し、ミドリンP®で散瞳のうえ、眼底後極部へ、色素レーザー(Coherent Radiation社製Dye Laser System 920)の橙色波長(595 nm)を用いて光凝固を行った。凝固条件は、凝固径200  $\mu$ m、凝固時間0.2秒、凝固出力100 mWの中等度凝固とした。中心窩の周囲へ第1, 3, 5, 7, 8, 10, 12, 15日に、各日毎に5~8か所ずつ放射状に光凝固を行った。1つの眼については40~50か所に光凝固を行い、その凝固部を以下のごとく検討した。

5匹10眼に、ヒト線維芽細胞由来の天然型IFN- $\beta$   $3.0 \times 10^6$ 国際単位を光凝固開始の第8日から連続7日間筋注し(図1)、これをIFN投与群とした。また、2匹4眼にはIFN- $\beta$ を投与せず、これを対照群とした。IFN- $\beta$ は東レ株式会社から提供を受けた。

両群とも臨床経過を観察し、第15日に眼底検査と10%フルオレセインナトリウム(フルオレサイト®) 1 mlを静注して蛍光眼底造影を行った。その後、3匹5眼(対照群1匹2眼、IFN投与群2匹3眼)で、全身麻酔下に苦痛を与えずに眼球を摘出した。眼球摘出後、前眼部を



図1 インターフェロン投与群の実験スケジュール。光凝固は第1, 3, 5, 7, 8, 10, 12, 15日に行い、インターフェロン- $\beta$ は第8日から連続7日間筋注で全身投与し、第15日に眼底検査と蛍光眼底造影を行った後に眼球を摘出した(IU:国際単位)。

毛様体扁平部で切り取り、4%グルタルアルデヒド・リン酸緩衝液(pH 7.4)で前固定、1%四酸化オスミウム・リン酸緩衝液(pH 7.4)で後固定の後、光凝固を行った各病巣部を細切し、型のごとくエタノール系列で脱水してエポキシ樹脂に包埋した。凝固巣の中央部を確認するために、マイクロームで1  $\mu$ mの連続切片を作成し、トルイジンブルー染色をして、脈絡毛細血管の再形成過程を光学顕微鏡で観察した。また、マイクロームで超薄切片を作成し、酢酸ウラン・クエン酸鉛で二重染色した後、電子顕微鏡(日立H-500型)で観察した。

一方、5匹9眼(対照群1匹2眼、IFN投与群4匹7眼)で光凝固開始の第15日に、既報<sup>18)</sup>のごとく両側の総頸動脈からメルコックス樹脂(大日本インキ社製)を注入して脈絡膜血管鑄型標本を作成し、白金パラジウムを蒸着して、走査型電子顕微鏡(日本電子社製JSM T-200)で脈絡膜血管を三次元的に観察した。

## III 結果

### 1. 眼底所見

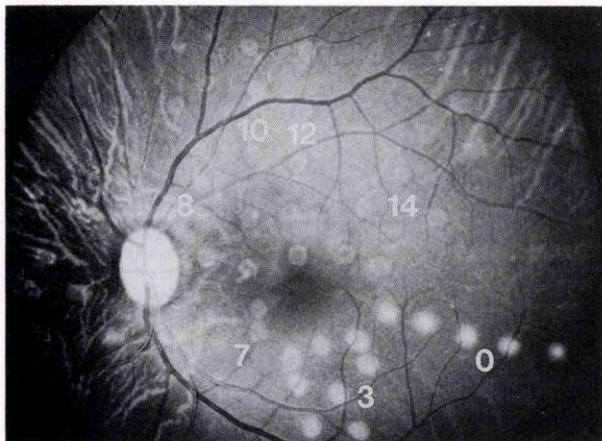
無処置の対照群では、光凝固直後の凝固斑は白色で、周囲に網膜浮腫を伴っていたが、光凝固後3日になると凝固斑は次第に灰白色となり、網膜浮腫は軽度になった。光凝固後7日以降は、凝固斑は灰白色で不鮮明となり、網膜浮腫は消失した(図2a)。

IFN投与群では、ほぼ同様の経過を示したが、投与群に比べて、光凝固後3日には既に凝固斑の白色調が少なく、網膜浮腫が少なくなっていた(図2b)。

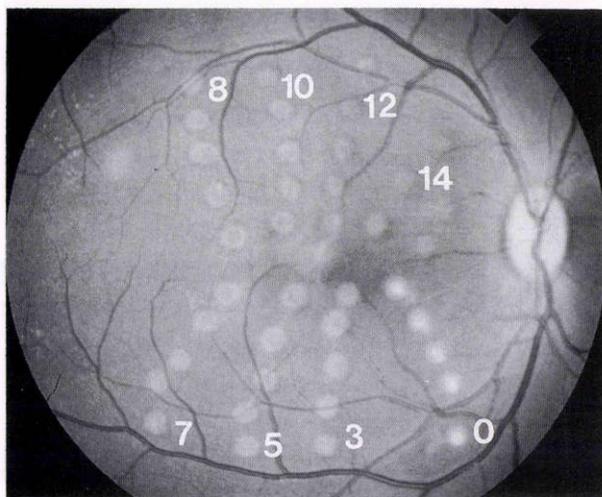
### 2. 蛍光眼底造影所見

対照群では、光凝固直後から光凝固後3日まで凝固斑から蛍光漏出がみられた。光凝固後7日以降になると蛍光漏出は止まり、凝固斑の中央部は背景蛍光の欠損によって低蛍光になり、辺縁は輪状に過蛍光を示した。凝固斑中央部の低蛍光と辺縁の輪状の過蛍光は光凝固後14日までみられた(図3a)。

IFN投与群では、光凝固直後には凝固斑から蛍光漏出



a



b

図2 光凝固後の眼底写真 (a: 対照群, b: インターフェロン投与群).

対照群では、光凝固直後と光凝固後3日の凝固斑は白色で、軽度の網膜浮腫がみられる。IFN投与群では、光凝固直後の凝固斑は白色であるが、光凝固後3日には凝固斑は灰白色となり、網膜浮腫もほとんどみられない。数字は光凝固後の日数を示す。

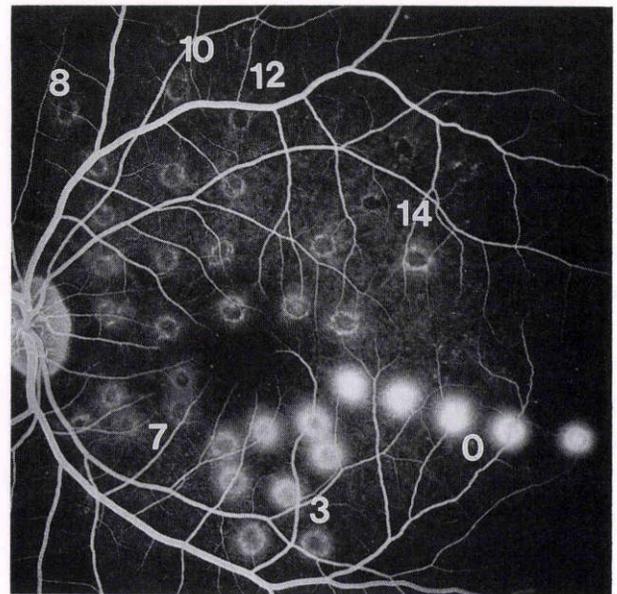
がみられたが、光凝固後3日には蛍光漏出は止まり、凝固斑の中央部に低蛍光がみられ、辺縁に輪状の過蛍光がみられた。この輪状の過蛍光は次第に弱くなった(図3b)。

### 3. 病理組織学的所見

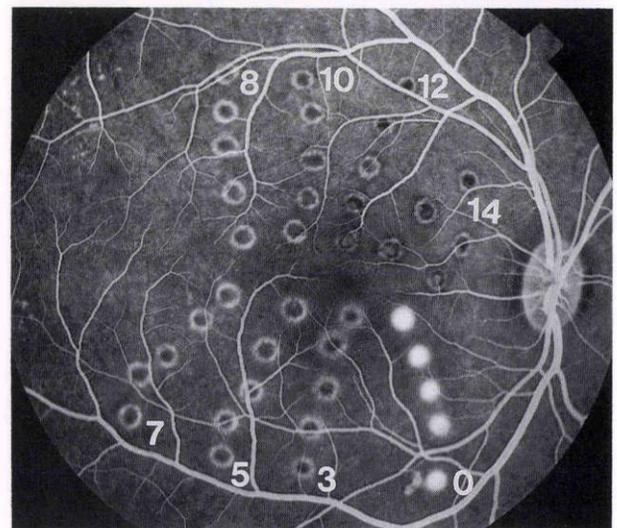
#### 1) 対照群

光凝固直後は光学顕微鏡(以下、光顕)では、光凝固の効果は網膜色素上皮と外顆粒層までみられ、その部分の細胞が凝固壊死に陥っていた。脈絡膜毛細血管は内腔に血栓が形成されて閉塞していた。Bruch膜に断裂はみられなかった(図4)。

光凝固後3日になると、凝固部周辺の脈絡膜毛細血管板から扁平な管腔の毛細血管が再形成され始めていたが、凝固部の大部分の毛細血管は未だ凝固閉塞したまま



a



b

図3 サル眼の蛍光眼底写真 (a: 対照群, b: インターフェロン投与群).

対照群では、光凝固後3日まで凝固斑からの蛍光漏出がみられるが、IFN投与群では、光凝固後3日には既に蛍光漏出は止まっている。数字は光凝固後の日数を示す。

であった。凝固部の網膜下腔には、崩壊壊死に陥った網膜色素上皮細胞と、その上に色素を保有したマクロファージ様の貪食細胞が多数みられた。凝固部周辺の網膜色素上皮細胞が増殖し、中央部に向かって遊走を開始するものがみられたが少数であった(図5)。

光凝固後7日には、凝固部周辺からの脈絡膜毛細血管の再形成は中央部付近まで達し、凝固閉塞したままの毛細血管は少なくなっていた。凝固部のBruch膜上には増殖して単層になった網膜色素上皮細胞が修復してBruch膜を覆っていた。その上には数層に重層した細胞がみられた(図6)。

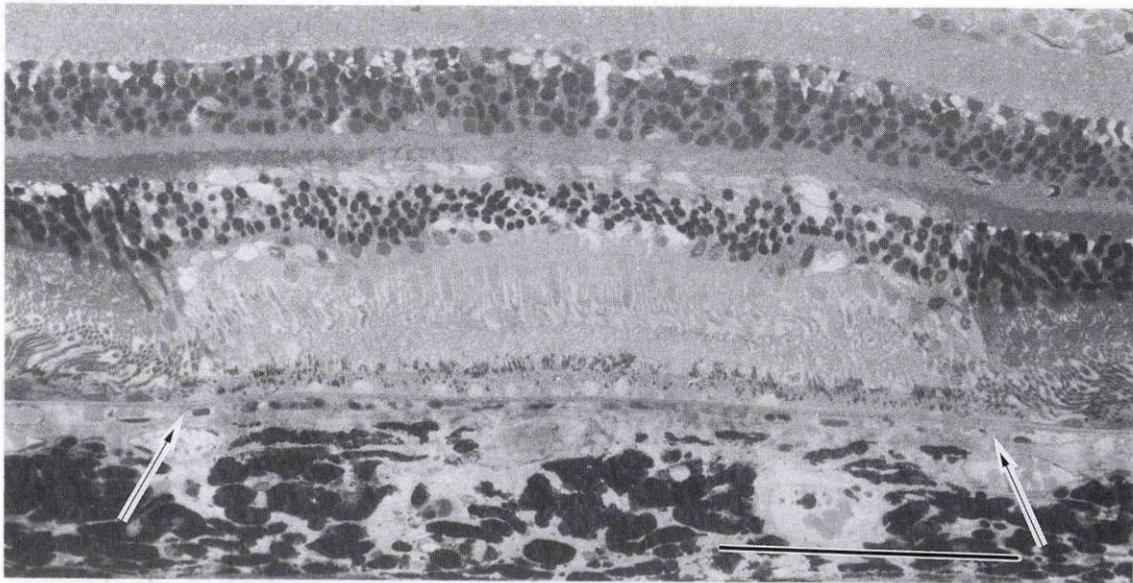


図4 光凝固直後の光学顕微鏡写真(トルイジンブルー染色)。

網膜の中等度光凝固によって、網膜色素上皮、錐体杆体層、外顆粒層が凝固されている。脈絡膜毛細血管は凝固部に一致して、内腔に血栓が形成され、完全に閉塞している(二本の矢印の間の部分)。バーは100 $\mu$ m

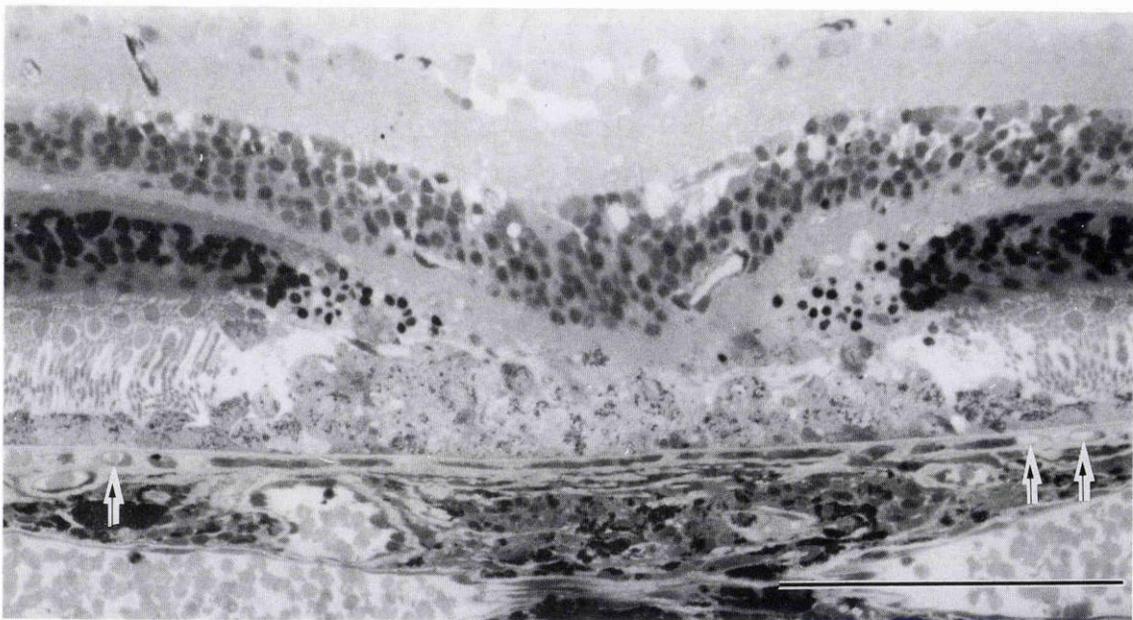


図5 対照群における光凝固後3日の凝固部の光学顕微鏡写真(トルイジンブルー染色)。

凝固部の周辺には、扁平な管腔をもつ毛細血管が再形成されはじめている(矢印)。中央の大部分の毛細血管は未だ閉塞している。バーは100 $\mu$ m

光凝固後14日には、Bruch膜の下を狭い内腔を持つ脈絡膜毛細血管が凝固部の中央まで再形成されていた。網膜色素上皮細胞はBruch膜上を単層となって覆っていた(図7)。電子顕微鏡(以下、電顕)でみると、凝固部のBruch膜下に一層の毛細血管網が再形成され、完成した毛細血管がみられた。また、光凝固により内腔は閉塞したが、その基底膜が残り、残った基底膜の内側へ新しい血管内皮細胞が遊走して、新しく狭い血管腔を再形成しつつある未熟な毛細血管もみられた。その上には再生

した扁平な単層の網膜色素上皮細胞がみられた(図8)。

## 2) IFN投与群

光凝固後3日には、脈絡膜毛細血管の再形成は凝固部の周辺の極く小範囲でみられたのみで、中央の大部分は閉塞していた。凝固部では網膜色素上皮細胞が多数増殖していたが、色素を保有したマクロファージ様の貪食細胞は少なかった(図9)。

光凝固後7日には、再形成した脈絡膜毛細血管は凝固部周辺でみられたのみで、中央の大部分は未だ閉塞して

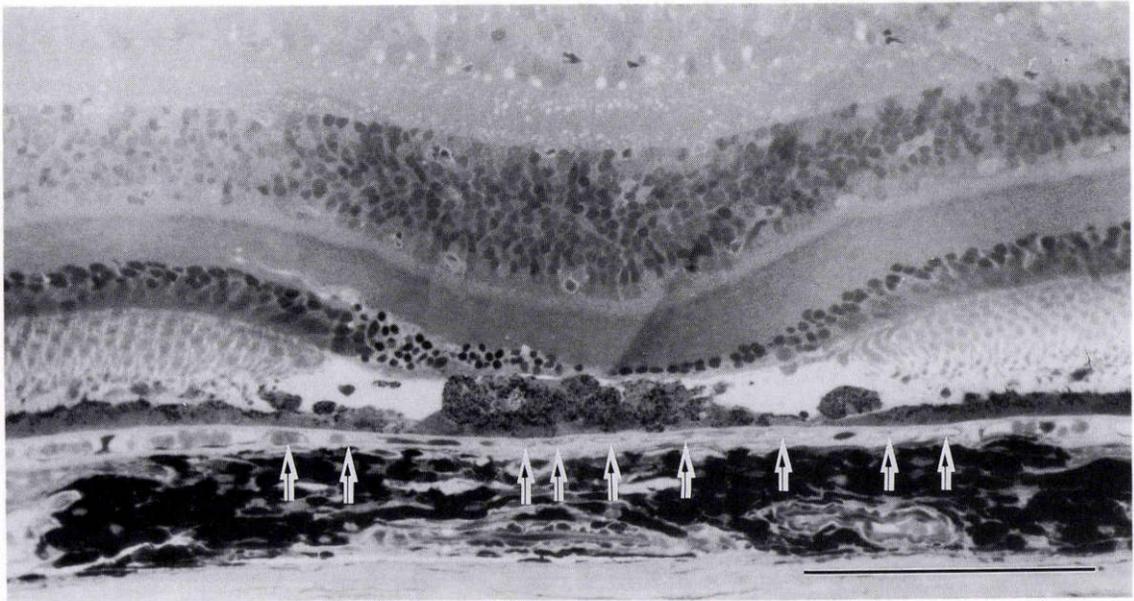


図6 対照群における光凝固後7日の凝固部の光学顕微鏡写真(トルイジンブルー染色)。  
脈絡膜毛細血管は周辺から再形成されて、中央まで達している(矢印)。管腔は開いているが、未だ小さく狭い。中央で毛細血管が閉塞した部分は小範囲である。バーは100  $\mu\text{m}$

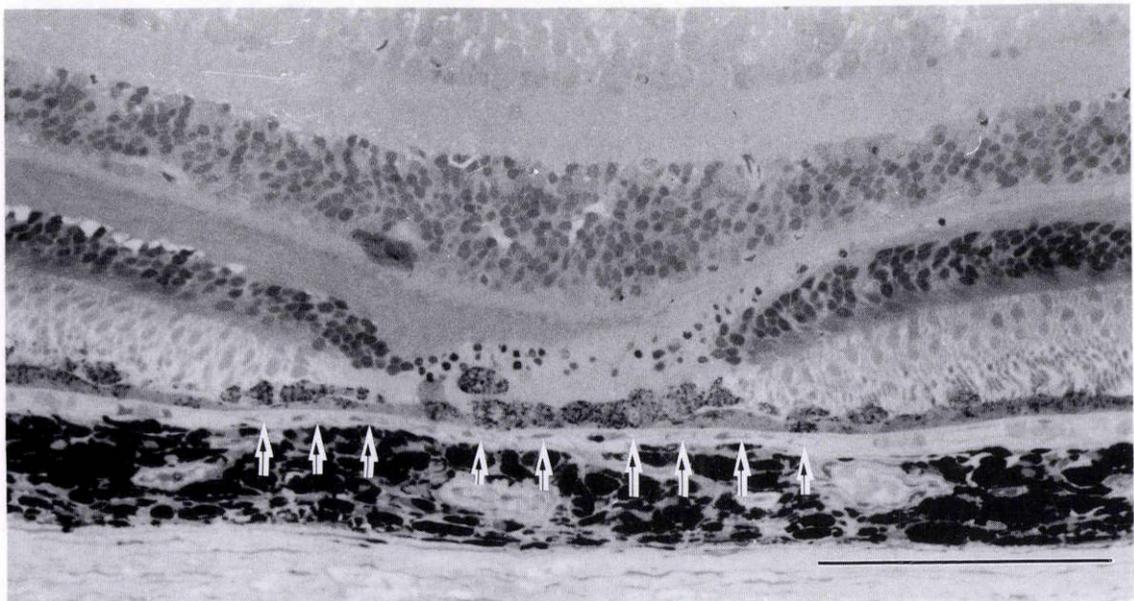


図7 対照群における光凝固後14日の凝固部の光学顕微鏡写真(トルイジンブルー染色)。  
脈絡膜毛細血管は凝固部の中央まで再形成されている(矢印)。バーは100  $\mu\text{m}$

いた。Bruch膜上には多数の紡錘型をした網膜色素上皮細胞が増殖し、数層に重層していた(図10)。

光凝固後14日には、凝固部の周辺部には管腔をもった毛細血管の再形成をみたが、中央では未だ広い範囲で脈絡膜毛細血管は閉塞したままであった。網膜色素上皮細胞は紡錘型で、Bruch膜上に数層に重層してみられた(図11)。電顕でみると、凝固部の中央のBruch膜下に幼弱な細長い血管内皮細胞の遊走をみたが、明瞭な管腔の形成をみなかった(図12)。

#### 4. 脈絡膜血管鑄型標本の所見

##### 1) 対照群

光凝固直後には、脈絡膜毛細血管板は直径約200  $\mu\text{m}$ の大きさで円形に欠損し、その辺縁は鮮明であった。その下の脈絡膜中血管も軽度狭窄していた(図13)。

光凝固後3日になると、凝固部周辺の脈絡膜毛細血管から細い毛細血管が再形成を開始し、凝固部中央に向かって伸展していた(図14)。

凝固後7日には、凝固部に管腔の太い網目の大きな毛細血管網が凝固部周辺から中央に向かって再形成され、

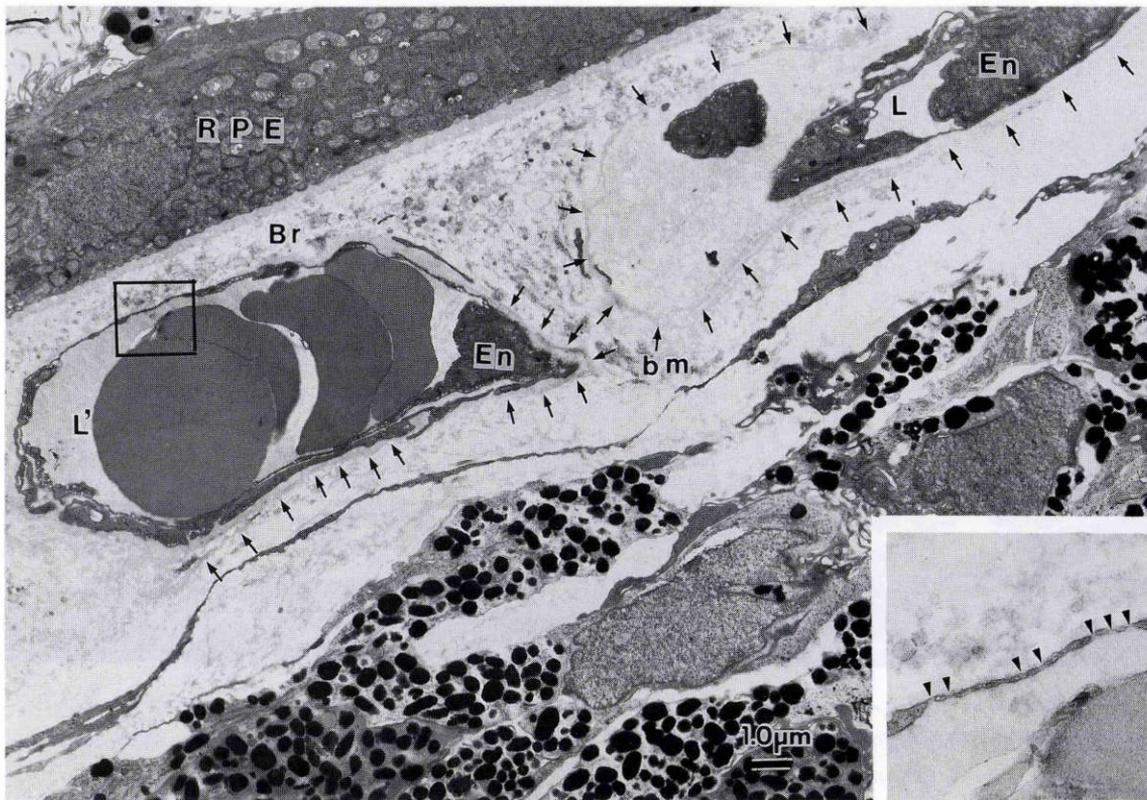


図8 対照群における光凝固後14日の凝固部中央の電子顕微鏡写真。

凝固部に残存した基底膜(bm: 矢印)の内側に、新しい血管内皮細胞(En)が遊走し、新しく小さい管腔(L)を再形成している。左側には完全に再形成され、完成した脈絡膜毛細血管がみられる。管腔(L')は大きく、赤血球を含んでいる。血管内皮細胞は胞体が薄く、fenestration(矢じり)を持つ。(RPE: 網膜色素上皮細胞, Br: Bruch膜)。

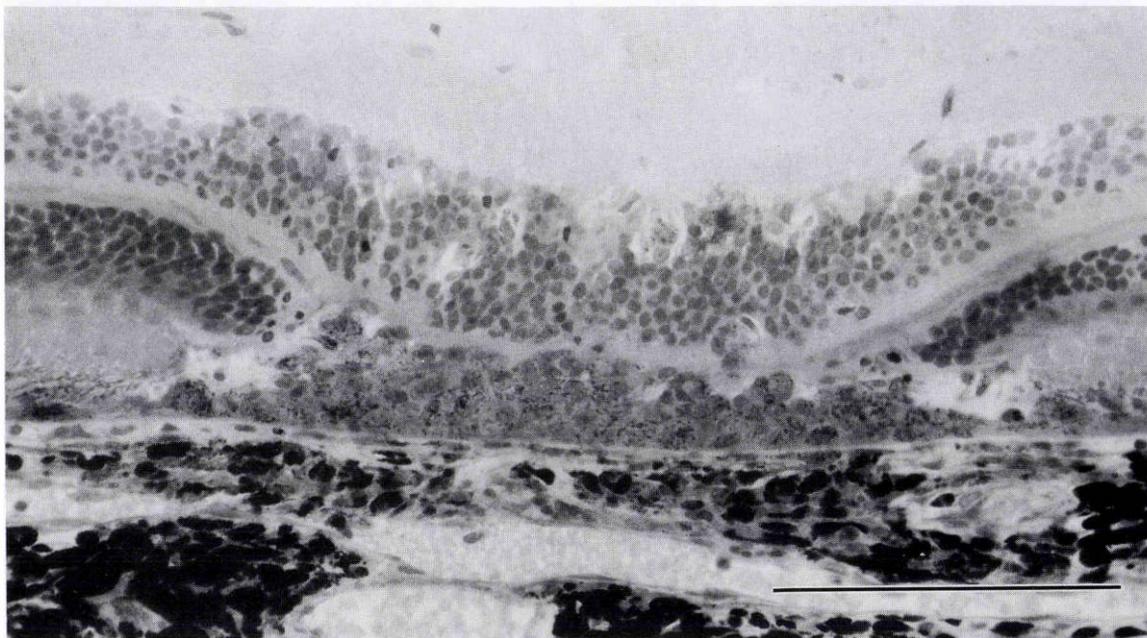


図9 インターフェロン投与群における光凝固後3日の凝固部の光学顕微鏡写真(トルイジンブルー染色)。脈絡膜毛細血管の再形成はほとんどみられず、大部分は凝固閉塞されたまま残っている。バーは100 μm

血管の欠損は小さくなっていった(図15)。

光凝固後14日には、管腔が太く網目の大きな毛細血管網が凝固部全体に再形成され、凝固によっていったん閉

塞した脈絡膜毛細血管板の欠損は全くなかった(図16)。

これらの所見は観察した2眼、同一日5病巣、計10病

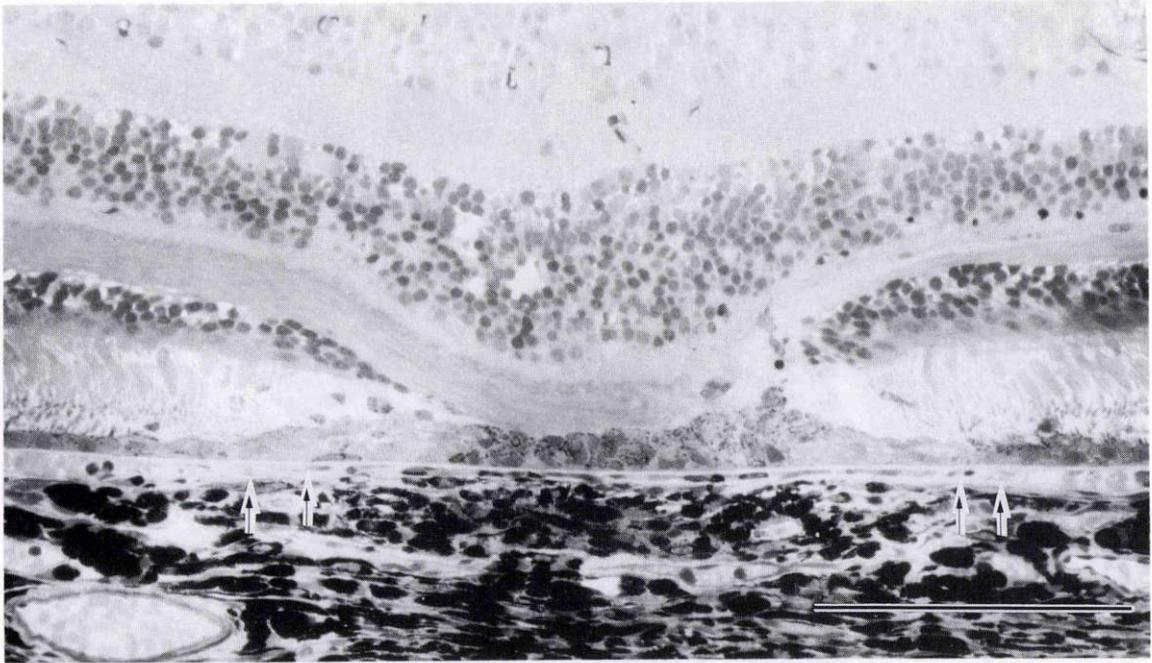


図10 インターフェロン投与群における光凝固後7日の凝固部の光学顕微鏡写真(トルイジンブルー染色). 脈絡膜毛細血管の再形成は凝固部の周辺で小範囲にみられるのみ(矢印)で, 中央の大部分は閉塞したままである. バーは100  $\mu\text{m}$

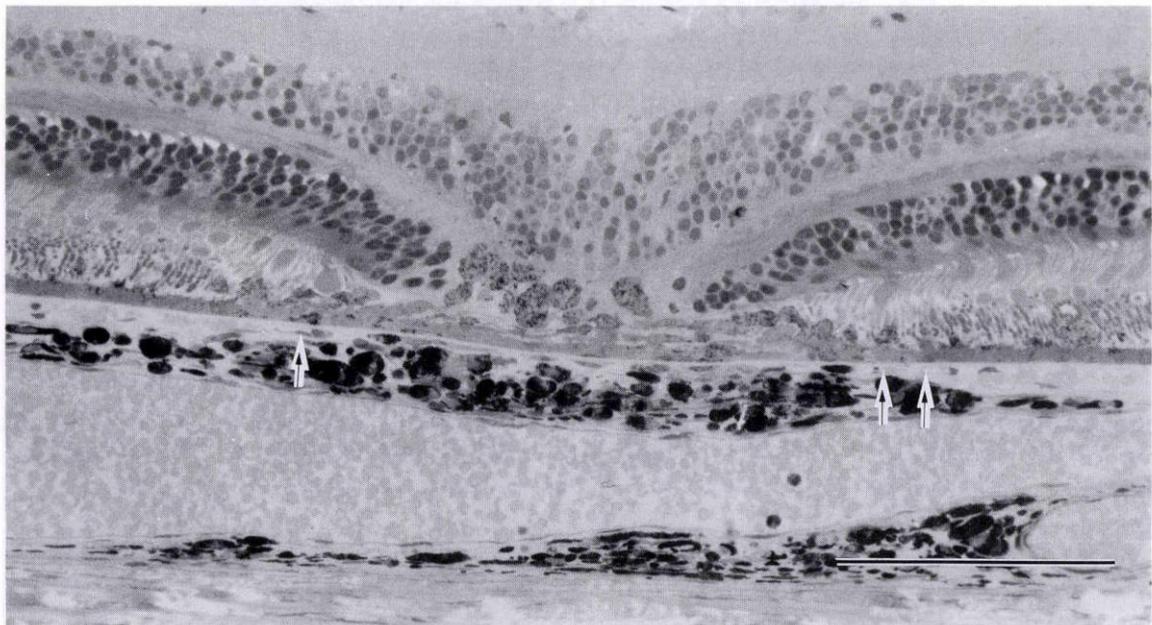


図11 インターフェロン投与群における光凝固後14日の凝固部の光学顕微鏡写真(トルイジンブルー染色). 脈絡膜毛細血管の再形成は不良で, 凝固部の Bruch 膜下に, 凝固部周辺には小範囲で狭い管腔をもつ小さい毛細血管がみられるが(矢印), 中央部では未だ広い範囲で閉塞し, 再形成をみない. バーは100  $\mu\text{m}$

巢の全体に通じて同様であった。

## 2) IFN 投与群

光凝固後3日には, 凝固部の状態は凝固直後と殆ど変わりなかった. すなわち, 毛細血管の再形成は殆どなく, 中央部には大きい血管の欠損が残っていた(図17).

光凝固後7日には, 脈絡膜毛細血管は中央部付近まで再形成されていたが, 再形成された血管は途中から細く

なり, 途切れ, 中央部にはなお大きい欠損が残っていた(図18).

光凝固後14日では, 凝固部周辺からの毛細血管の再形成が行われ, 凝固部全体に再形成されたが, その血管は細く, 粗く, 網目形成は不完全であった(図19).

これらの所見は観察した7眼, 同一日5病巣, 計35病巣の全体に通じて同様であった。

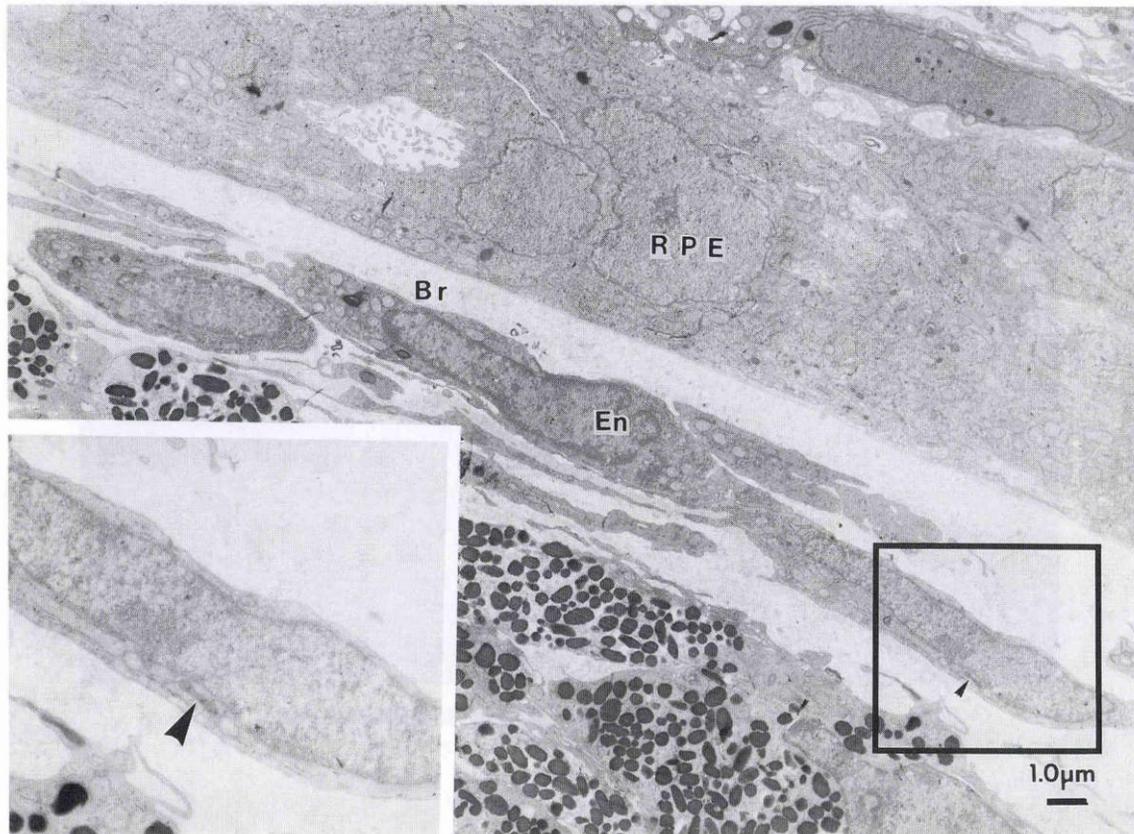


図12 インターフェロン投与群における光凝固後14日の凝固部中央の電子顕微鏡写真。Bruch膜(Br)下に、幼弱な細長い血管内皮細胞(En)がみられるが、管腔の形成をみない。血管内皮細胞の細胞質にはWeibel-Palade小体(矢印の先および拡大図)がみられる(RPE:網膜色素上皮細胞)。

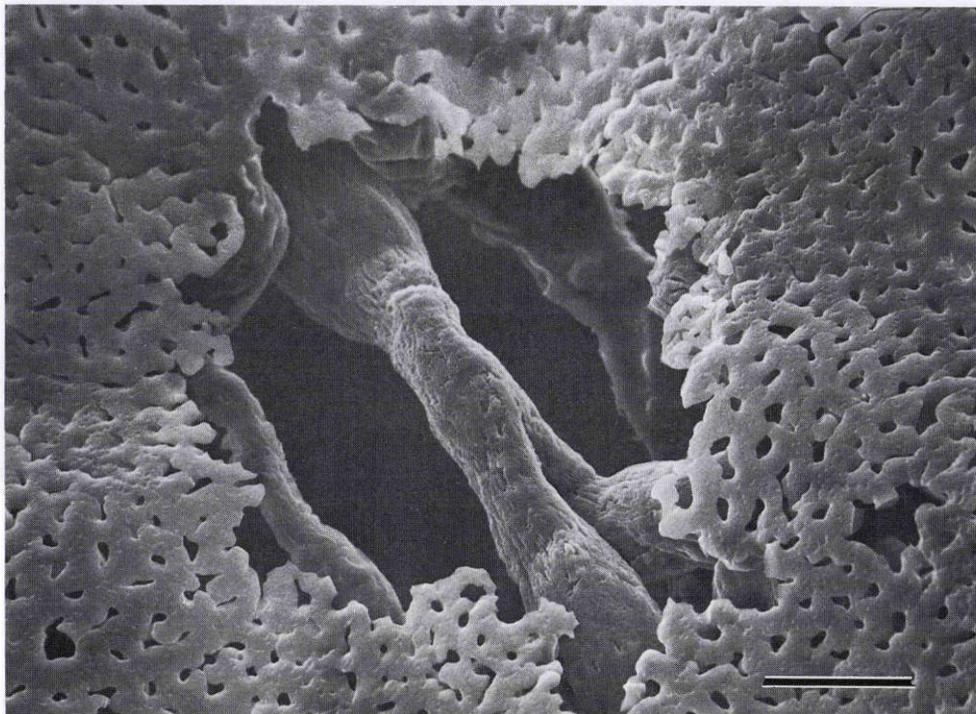


図13 光凝固直後の光凝固部の脈絡膜毛細血管鑄型標本。脈絡膜毛細血管板は直径約200 $\mu\text{m}$ の大きさで、樹脂の注入が円形に欠損し、毛細血管の凝固による閉塞が示されている。その辺縁は鮮明である。その下の脈絡膜中血管も軽度狭窄している。バーは100 $\mu\text{m}$

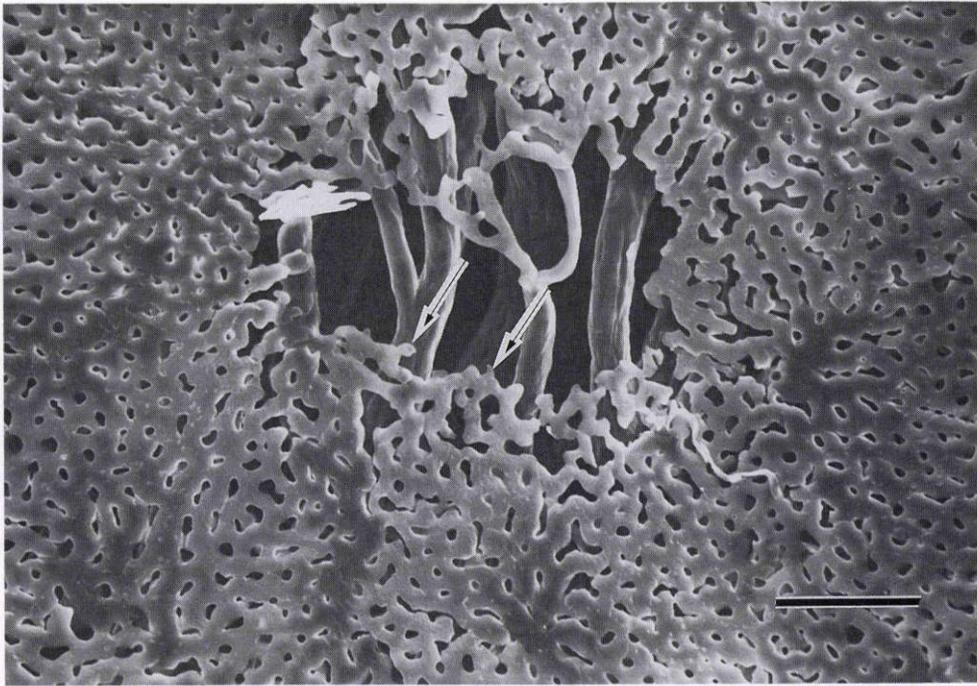


図14 対照群における光凝固後3日の光凝固部の脈絡膜毛細血管鑄型標本。  
凝固部の周辺の脈絡膜毛細血管から細い毛細血管が中央に向かって再形成を開始し、伸展している(矢印)。  
バーは100  $\mu\text{m}$

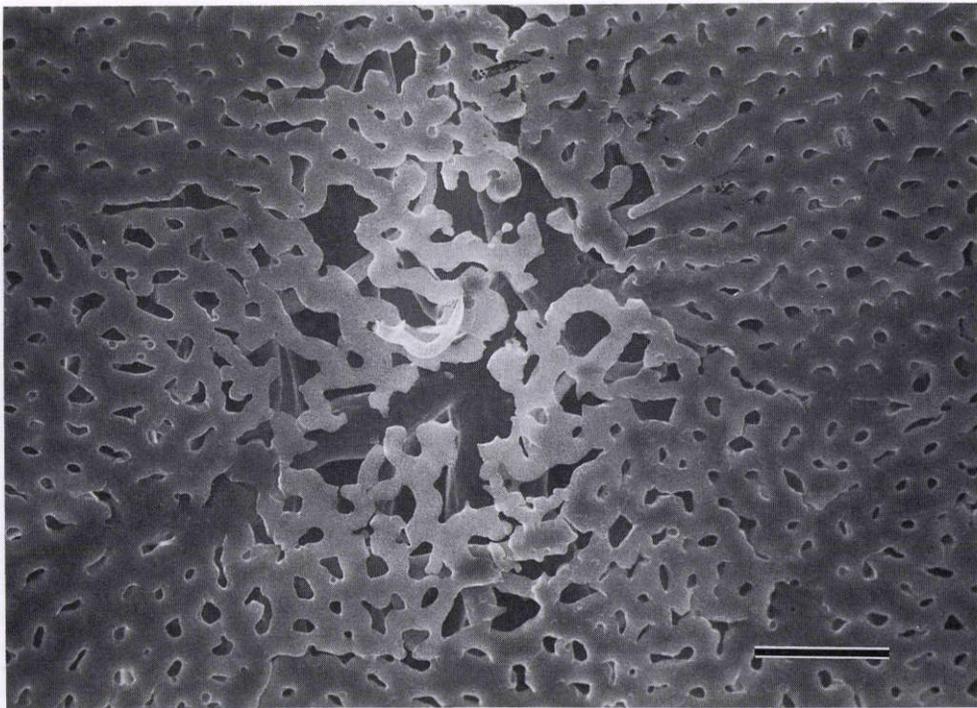


図15 対照群における光凝固後7日の光凝固部の脈絡膜毛細血管鑄型標本。  
凝固部の周辺から網目の粗い毛細血管網が再形成され、樹脂の注入欠損部は小さくなっている。バーは100  $\mu\text{m}$

#### IV 考 按

IFN は元来、ウイルス抑制因子として発見され、その分子構造の違いにより、 $\alpha$  型、 $\beta$  型、 $\gamma$  型の3種類に分類

される<sup>17)</sup>。このうち、今回使用した IFN- $\beta$  は、ヒト線維芽細胞を合成二本鎖 DNA(ポリイノシン酸ポリシチジル酸複合体)で刺激したときに産生されるもので、線維芽細胞型 IFN とも呼ばれる。白血球が産生する IFN- $\alpha$  (白

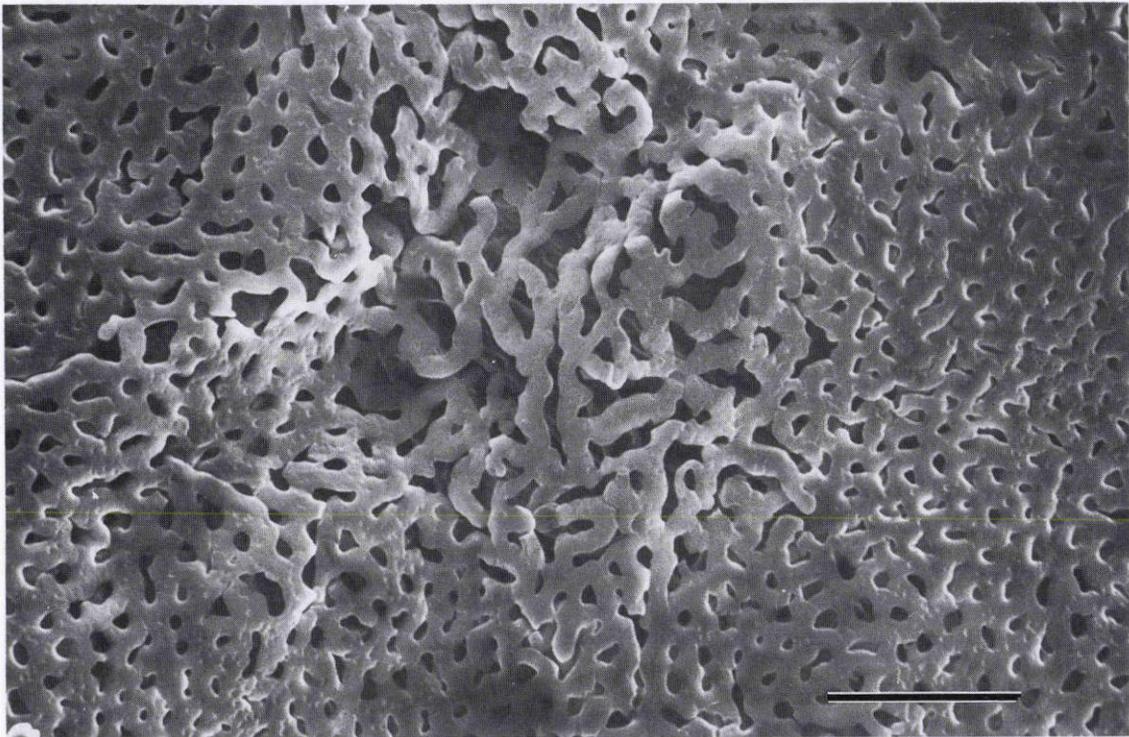


図16 対照群における光凝固後14日の光凝固部の脈絡膜毛細血管鑄型標本。  
凝固部全体に網目が粗くて、不完全な毛細血管網が凝固部全体に再形成され、樹脂の注入欠損部はみられない。バーは100 $\mu$ m

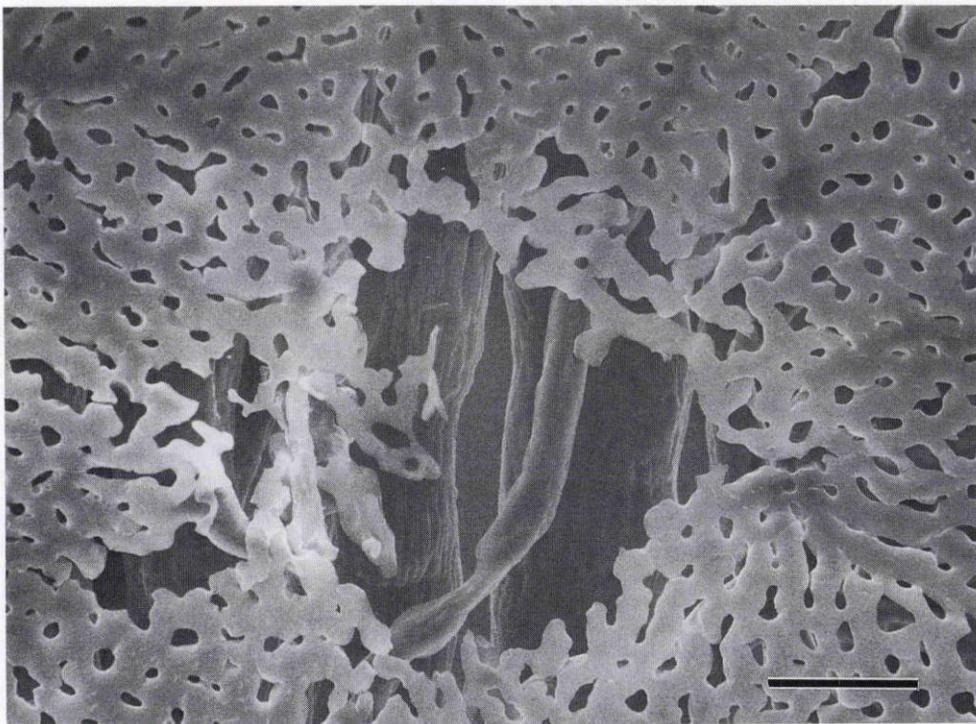


図17 インターフェロン投与群における光凝固後3日の光凝固部の脈絡膜毛細血管鑄型標本。  
毛細血管網の再形成は殆どみられない。中央には大きな樹脂の注入欠損部が残っている。バーは100 $\mu$ m

血球型 IFN) とはよく似た性状をし、アミノ酸配列で 29%、遺伝子の塩基配列で 45% の相似性 (homology) があり、物理化学的性状も類似している。これに対して、

IFN- $\gamma$  (免疫型 IFN) は T-リンパ球が産生する一種のリ  
ンホカインで、IFN- $\alpha$ 、 $-\beta$  に比べて免疫調節作用が強い。  
IFN には、抗ウイルス作用、抗腫瘍作用、免疫調節作

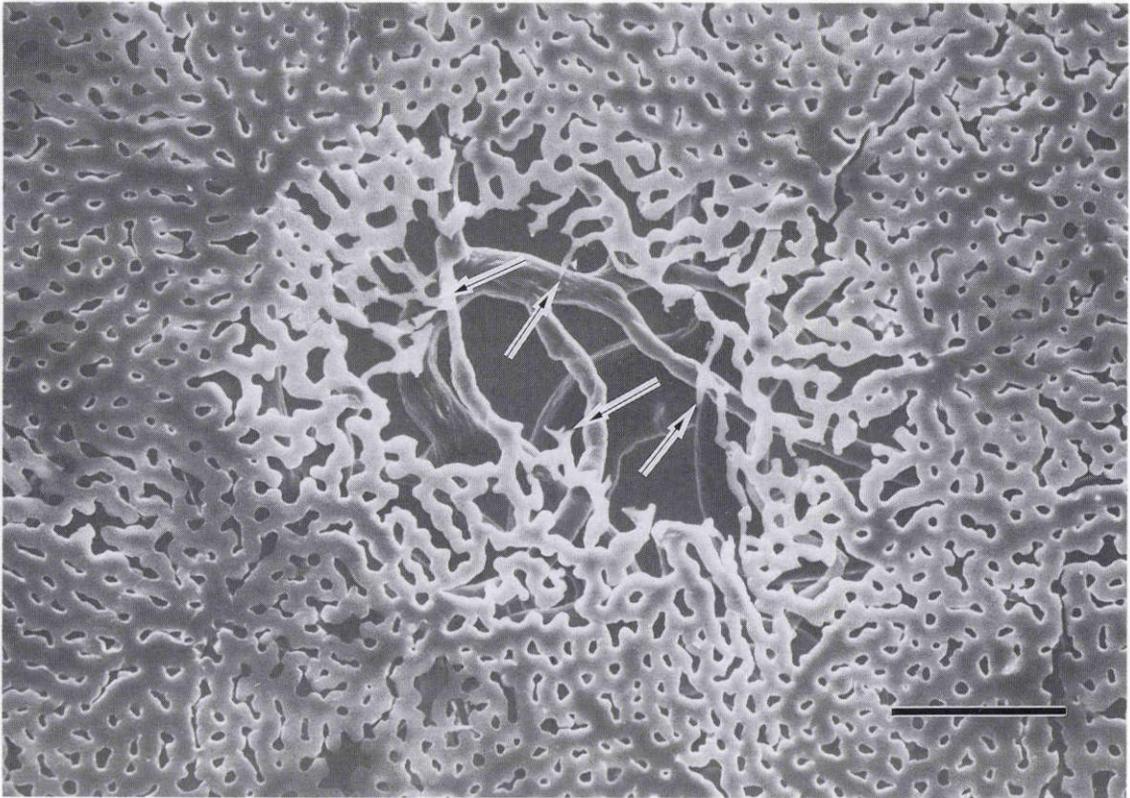


図18 インターフェロン投与群における光凝固後7日の光凝固部の脈絡膜毛細血管鑄型標本。脈絡膜毛細血管は凝固部の周辺から中央へ向かって再形成されつつあるが、途中から血管は細くなり途切れ(矢印)、中央にはなお樹脂の注入欠損部は大きい。バーは100  $\mu\text{m}$

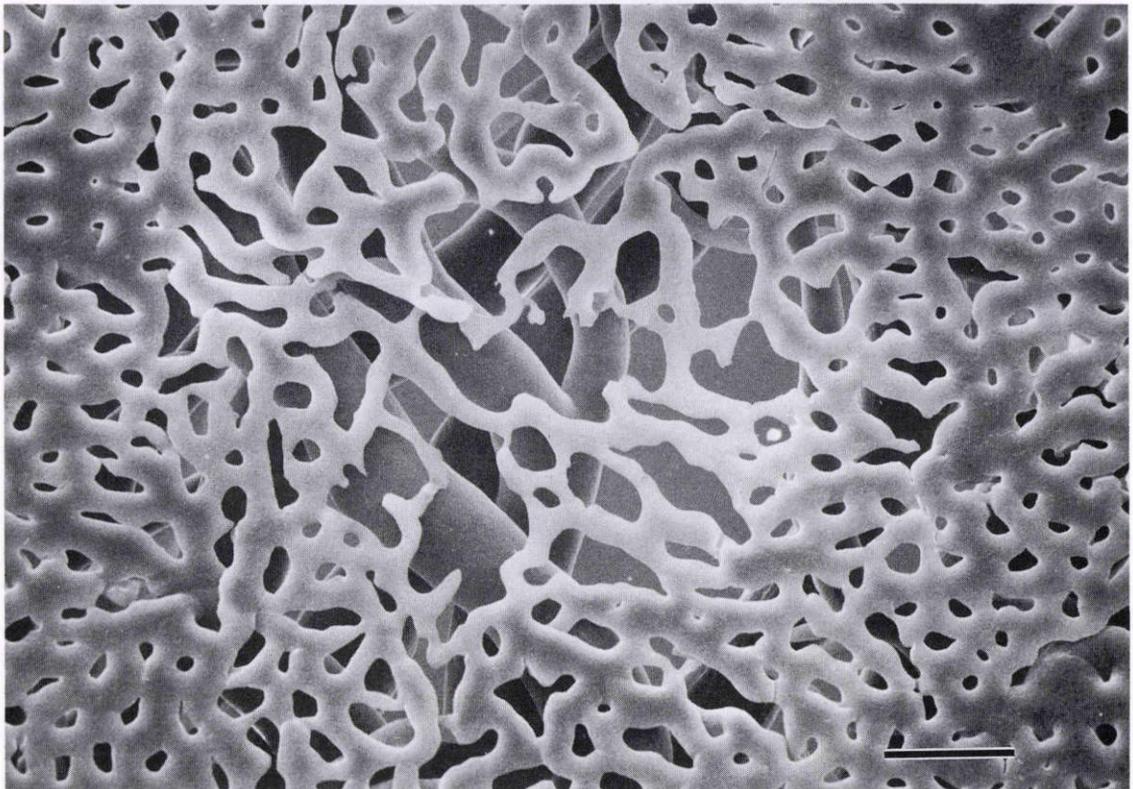


図19 インターフェロン投与群における光凝固後14日の光凝固部の脈絡膜毛細血管鑄型標本。脈絡膜毛細血管は中央まで再形成されているが、血管網は全体的に網目が粗で、不規則である。バーは100  $\mu\text{m}$

用,細胞増殖抑制作用など,多面的な作用があり,C型肝炎などのウイルス感染症や,皮膚悪性腫瘍,多発性骨髄腫,慢性骨髄性白血病など,様々な治療に用いられている<sup>10)</sup>.また,IFNが血管内皮細胞の増殖抑制作用を持つことが明らかにされ<sup>3)~5)</sup>,血管腫の治療にも用いられている<sup>6)7)</sup>.

この血管内皮細胞増殖抑制作用が注目され,IFNによる眼内新生血管の治療が試みられた.Millerら<sup>8)</sup>は,カンクイザルに作成した実験的虹彩新生血管がIFN- $\alpha$ の全身投与により,8眼中8眼(100%)で退縮したと報告した.組織学的には,新生血管の血管内皮細胞,周皮細胞に変性がみられ,新生血管の管腔が閉塞していたが,その他の血管内皮細胞には影響はなく,IFN- $\alpha$ の血管内皮細胞に対する効果が選択的にみられた.臨床的には,Fung<sup>9)</sup>が脈絡膜新生血管によって発症する老人性円板状黄斑変性にIFN- $\alpha$ を全身投与し,7例中5例に有効であったと報告し,その後,欧米でも追試が行われている<sup>10)11)</sup>.我が国では現在,老人性円板状黄斑変性に対してIFN- $\beta$ を用いた試験が行われている<sup>12)13)</sup>.

網膜の中等度光凝固によりいったん凝固閉塞した脈絡膜毛細血管板は,その後,修復されて再形成する.著者らは既に,この再形成過程に,①凝固部周辺からの幼若な内皮細胞の増殖や凝固部中央に向かう遊走,②幼弱な内皮細胞による基底膜様構造の形成および管腔形成がみられ,いわゆる新生血管の形成過程と同じであることを明らかにした<sup>14)~16)</sup>.今回の実験でもIFNを投与しなかった対照群は,従来報告<sup>14)~16)</sup>した再形成過程と同様の経過を示した.すなわち,網膜光凝固の直後には脈絡膜毛細血管内に血栓が形成されて,凝固部の脈絡膜毛細血管はほぼ凝固斑の大きさに一致して閉塞した.凝固された毛細血管内皮細胞は崩壊し消失したが,脈絡膜毛細血管の基底膜は残り,光凝固後3日には凝固部周辺から残った基底膜の管腔側に沿って,凝固部の中央に向かって幼弱な内皮細胞が増殖し,遊走を開始した.その後,血管内皮細胞は増殖,遊走し,管腔を形成した.光凝固後7日には,凝固部周辺には新しい血管腔でできた粗い毛細血管網が再生されたが,凝固部中央の毛細血管はまだ閉塞し,再形成をみなかった.光凝固後14日になると,凝固部はBruch膜の下にほぼ全体に新しい毛細血管網が再形成され,この部の脈絡膜毛細血管板は修復された.

IFN投与群には,①IFN投与を光凝固と同時に連続投与したもの(光凝固後3,5,7日を観察)と,②光凝固後,血管内皮細胞が増殖を開始し,脈絡膜毛細血管がある程度再形成された後に連続投与したもの(光凝固後1,3,5,7日からIFN- $\beta$ の投与を開始し,光凝固後8,10,12,14日を観察)の2つの実験が含まれている.後者の実験は,ある程度再形成,修復した脈絡膜毛細血管に対するIFN- $\beta$ の影響を検討するために行った.実験結果に示したIFN投与群の光凝固後14日の凝固斑は,光凝固後

7日間経過した後にIFN- $\beta$ を7日間連日投与した状態を観察した. IFN投与群の光凝固後7日の凝固斑は,光凝固直後からIFN- $\beta$ を7日間連日投与した状態を観察し,光凝固後3日の凝固斑はIFN- $\beta$ を4日間前投与した後に光凝固を行い,その後,さらに3日間連日投与した状態を観察した.

実験に使用したIFN- $\beta$ の1日投与量は,体重1kg当たり $5.0 \times 10^5 \sim 7.0 \times 10^5$ 国際単位で,これは体重50kgのヒトに換算すると1日当たり $2.5 \times 10^7 \sim 3.5 \times 10^7$ 国際単位となり,臨床に用いられている約10倍の投与量であった.しかし,IFNには種特異性があり,ヒトのIFN- $\beta$ はサルには約12%の交差性があるとされている<sup>20)</sup>.このことから,今回使用したIFN- $\beta$ の1日投与量は,ヒトの臨床1日投与量とほぼ等しい効果があったと思われる.また,IFN- $\beta$ の投与経路は,臨床的には静脈注射であるが,筋肉注射でも同等の効果が得られるとされている<sup>21)</sup>ので,本実験では投与の容易な筋肉注射で行った.

このような投与量,投与方法,投与経路でIFN- $\beta$ を投与すると,光凝固後7日には脈絡膜毛細血管の再形成は不十分で,光凝固後14日でも完全には再形成されず,再形成された毛細血管は対照群に比べて粗く,細く,脈絡膜毛細血管の再形成過程は著しく抑制された.電顕でみると,IFN投与群の光凝固後3日の凝固部周辺では血管内皮細胞の増殖および遊走はみられず,光凝固後7日の凝固部中央の血管内皮細胞は未だ細長く,幼弱で,管腔形成がみられなかった.光凝固後14日の凝固部中央でも,残った基底膜に沿って幼弱な細長い血管内皮細胞が遊走しているのがみられたが,管腔形成はみられなかった.このことから,IFN- $\beta$ は血管内皮細胞の増殖および遊走を抑制し,閉塞した脈絡膜毛細血管の修復,再形成過程を著しく抑制することが明らかになった.

今回の実験で,IFN- $\beta$ は生体で血管内皮細胞の増殖および遊走を抑制する効果があり,脈絡膜毛細血管の修復,再形成過程が著明に抑制されたことから,IFN- $\beta$ は脈絡膜新生血管の発症過程に対しても抑制的に働き,老人性円板状黄斑変性の薬物療法として期待できると思われた.

また,IFN投与群では,対照群と比べると網膜色素上皮細胞の修復過程や,マクロファージの遊走にも差がみられ,IFN- $\beta$ は網膜色素上皮細胞,マクロファージにも影響すると思われたが,これについては現在さらに詳しく検討中であり,別の機会に報告する.

本稿の要旨は第59回日本中部眼科学会(平成5年9月18日,松江)において戸部が口演した.

また,本研究は平成5年度文部省科学研究費補助金奨励研究(A)05771452(高橋),平成6年度文部省科学研究費補助金奨励研究(A)06771556(高橋)および厚生省特定疾患網膜脈絡膜萎縮症調査研究班の援助を受けた.記して謝意を表します.

## 文 献

- 1) 宇山昌延: 脈絡膜新生血管, 基礎と臨床, 日眼会誌 95: 1145-1180, 1991.
- 2) 竹内正光, 大熊 紘, 高橋寛二, 宇山昌延: 老人性円板状黄斑変性症の中心窩下脈絡膜新生血管に対するレーザー光凝固. 臨眼 47: 945-948, 1993.
- 3) Brouty-Boye D, Zetter BR: Inhibition of cell motility by Interferon. Science 208: 516-518, 1980.
- 4) Friesel R, Komoriya A, Maciag T: Inhibition of endothelial cell proliferation by gamma-interferon. J Cell Biol 104: 689-696, 1987.
- 5) Tsuruoka N, Sugiyama M, Tawaragi Y, Tsujimoto M, Nishihara T, Goto T, et al: Inhibition of *in vitro* angiogenesis by lymphotoxin and interferon- $\gamma$ . Biochem Biophys Res Commun 155: 429-435, 1988.
- 6) White CW, Sondheimer HM, Crouch EC, Wilson H, Fan LL: Treatment of pulmonary hemangiomas with recombinant interferon alfa-2a. N Engl J Med 320: 1197-1200, 1989.
- 7) Ezekowitz RAB, Phil CBD, Mulliken JB, Folkman J: Interferon alfa-2a therapy for life-threatening hemangiomas of infancy. N Engl J Med 326: 1456-1463, 1992.
- 8) Miller JW, Stinson WG, Forkman J: Regression of experimental iris neovascularization with systemic alpha-interferon. Ophthalmology 100: 9-14, 1993.
- 9) Fung WE: Interferon alpha 2a for treatment of age-related macular degeneration. Am J Ophthalmol 112: 349-350, 1991.
- 10) Poliner LS, Tornambe PE, Michelson PE, Heitzman JG: Interferon Alpha-2a for subfoveal neovascularization in age-related macular degeneration. Ophthalmology 100: 1417-1424, 1993.
- 11) Thomas MA, Ibanez HE: Interferon alpha-2a in the treatment of subfoveal choroidal neovascularization. Am J Ophthalmol 115: 563-568, 1993.
- 12) 松井瑞夫: 老人性円板状黄斑変性症の臨床. 臨眼 48: 163-170, 1994.
- 13) 松井瑞夫: インターフェロンと眼. 日眼会誌 98: 511-512, 1994.
- 14) Katoh N, Takahashi K, Itagaki T, Yamagishi K, Ohkuma H, Uyama M: Choroidal vascular repair following organe dye laser photocoagulation. Jpn J Ophthalmol 33: 166-172, 1989.
- 15) 加藤直子, 高橋寛二, 板垣 隆, 大熊 紘, 宇山昌延: レーザー光凝固による脈絡膜毛細血管板の閉塞と修復過程についての実験的研究. 日眼会誌 94: 141-151, 1990.
- 16) 岸本直子, 宇山 昌延: レーザー網脈絡膜光凝固後の網膜色素上皮と脈絡膜毛細血管の修復過程. 玉井信, 上野聡樹(編): 眼科 Mook, 49, 眼科手術と眼組織. 金原出版, 東京, 209-227, 1992.
- 17) Pesta S, Langer JA, Zoon KC, Samuel CE: Interferons and thier actions. Ann Rev Biochem 56: 727-777, 1987.
- 18) 糸田川誠也, 福味陽次, 土井治道: 脈絡膜血管構築の立体的観察. 第1報. 脈絡膜血管の正常形態について, とくに黄斑部脈絡膜血管の構築について. 日眼会誌 81: 678-687, 1977.
- 19) Gutterman JU: Cytokine therapeutics: Lesson from interferon  $\alpha$ . Proc Natl Sci USA 91: 1198-1205, 1994.
- 20) Bannai H, Tatsumi M, Kohase M, Onishi E, Yamazaki S: Pharmacokinetic study of a human recombinant interferon (Re-IFN- $\alpha$ A) in cynomolgus monkeys by 2',5'-oligoadenylate synthetase assay. Jpn J Med Sci Biol 38: 113-124, 1985.
- 21) Merritt JA, Ball LA, Sielaff KM, Meltzer DM, Borden EC: Modulation of 2',5'-oligoadenylate synthetase in patients treated with alpha-interferon: Effects of dose, schedule, and route of administration. J Interferon Res 6: 189-198, 1986.