

氏名	坂本 晋一
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	乙第 822 号
学位授与年月日	令和 4 年 2 月 25 日
学位授与の要件	自治医科大学学位規定第 4 条第 3 項該当
学位論文名	滲出性加齢黄斑変性に対するラニズマブ治療前後の前房中のサイトカイン濃度の変化
論文審査委員	(委員長) 教授 蕪 城 俊 克 (委員) 教授 佐 藤 浩二郎 講師 駒 田 敬 則

論文内容の要旨

1 研究目的

滲出型加齢黄斑変性(AMD)における血管新生と血管透過性亢進は血管内皮増殖因子(VEGF)とその他の炎症性サイトカインによって主に引き起こされていることが分かっている。ラニズマブをはじめとする抗 VEGF 療法は VEGF をブロックすることで、血管透過性と炎症の両方を阻害している。これまでの研究で、interferon- γ -induced protein10(IP-10)、monocyte chemoattractant protein 1(MCP-1)、C reactive protein(CRP)などの多くのサイトカイン濃度が AMD で上昇していると報告されているが、一部サイトカインは研究により結果が異なっていた。また、C-X-C motif chemokine ligand 1(CXCL1)などの CXC モチーフケモカインや matrix metalloproteinase 9(MMP-9)などの組織プロテアーゼも滲出型 AMD において重要な役割を果たすと考えられているが、これらの分子の眼内濃度に対する情報はほとんどなかった。さらに抗 VEGF 薬の投与方法も様々であり、研究された眼内サイトカイン濃度に影響している可能性が考えられた。そのため、今回我々は導入期 3 ヶ月連続投与という AMD に対する標準治療を行った患者での前房水濃度を調査することとした。AMD に対する治療開始前として 1 回目のラニズマブ注射前の前房水を採取し、治療後として 3 回目のラニズマブ硝子体注射前の前房水を採取して、各種サイトカイン濃度を比較することで、抗 VEGF 療法による治療効果とサイトカインの濃度を調査・検討することを目的とした。

2 研究方法

対象は 2010 年 11 月から 2012 年 8 月にかけて、JCHO 東京新宿メディカルセンターで毎月の 3 回連続ラニズマブ硝子体注射を受けた未治療の滲出型 AMD 患者 48 例 48 眼。コントロールは眼底疾患のない白内障手術患者の 80 例 80 眼。1 回目、3 回目のラニズマブ硝子体注射前に前房水を採取し、前房水中サイトカイン濃度を測定した。測定したサイトカインを以下に列挙する。

C-X-C motif chemokine ligand 1(CXCL1)、C-X-C motif chemokine ligand 10(CXCL10)/interferon- γ -induced protein10(IP-10)、C-X-C motif chemokine ligand

12(CXCL12)、C-X-C motif chemokine ligand 13(CXCL13)、monocyte chemoattractant protein 1(MCP-1)、C-C motif chemokine ligand11(CCL11)、interleukin-6(IL-6)、interleukin-10(IL-10) および matrix metalloproteinase 9(MMP-9)

3 研究成果

平均年齢はAMD患者で73歳、コントロールで75歳、男性がAMD患者で31例(65%)、コントロールで37例(46%)であった。AMDのうち27例(56%)が polypoidal choroidal vasculopathy(PCV)であり、典型AMDが21例(44%)であった。

治療前と2回連続ラニズマブ投与後の前房水のサイトカイン濃度の比較では、MMP-9を除いた、CXCL1、IP-10、CXCL12、CXCL13、MCP1、CCL11、IL-6、IL10で治療後に有意に減少した。IL-10を除き、治療前のサイトカイン濃度は治療後のものと相関していた。治療前のVEGFの濃度は他の治療前サイトカイン濃度と相関していなかった。

典型AMDとPCVで比較すると、サイトカイン濃度に有意差はなかったが、双方とも治療によりサイトカイン濃度はCXCL1、IP-10、CXCL12、CXCL13、MCP-1、CCL11、IL-6、IL-10で有意に減少した。

MMP-9は典型AMDでは有意に増加したが、PCVでは有意差はなかった。

Type1CNVとType2CNVとの間にサイトカイン濃度の有意差はなかった。

2回の治療で滲出性変化が消退したdry群と滲出性変化が残存したwet群の間でサイトカイン濃度に有意差は認めなかった。

4 考察

AMDで上昇したサイトカインはすべて抗VEGF療法によって減少した。また、AMDで上昇しなかったサイトカインも抗VEGF療法によって減少したが、AMDで下降しているMMP-9だけは抗VEGF療法で増加した。この結果から、血管新生に関連するサイトカインの濃度が抗VEGF療法によって概ね減少することが示された。CXCL1、CXCL12、CXCL13、MCP-1、IL-6、IL-10は2回の抗VEGF療法にて対象よりも優位に低下することが分かり、これらのサイトカインは血管新生促進または抑制の役割があり、抗VEGF薬がそれらの発現を抑制する上で重要な役割を果たしていると考えられる。

2回の抗VEGF療法で滲出性変化が消退した群と残存した群でサイトカイン濃度に有意差はなく、抗VEGF療法によるサイトカイン濃度の変化の治療効果は短期的には明らかではなかった。抗VEGF療法の2回投与ではCNV活性を抑制するには不十分で、より長期間の抗VEGF治療によりVEGFが低レベルに維持されると他の炎症性サイトカインも低レベルに維持されCNVの活動性が抑制される可能性が示唆された。

異なるタイプのAMD間のサイトカインを調査し、典型AMDとPCVの間でサイトカインの濃度の有意差は認めず、典型AMDの1型CNVと2型CNVの間でもサイトカイン濃度の有意差はなかった。AMDのタイプが異なると治療効果が異なることがあるが、今回のAMDのタイプ別でサイトカイン濃度の違いがなかったことと治療効果の関連についてはさらなる研究が必要である。

5 結果

AMDで上昇したサイトカインであるIP-10、CXCL12、CXCL13、IL-10およびMCP-1の濃度

は、抗 VEGF 療法後に減少した。AMD では上昇しなかった CXCL1、CCL11、IL-6 の濃度も、抗 VEGF 療法後に減少した。AMD で減少した MMP-9 の濃度は、抗 VEGF 療法後に増加した。典型 AMD と PCV の間でサイトカイン濃度に差はなかった。Type1CNV と Type2CNV の間でサイトカイン濃度に差はなかった。

論文審査の結果の要旨

・研究目的：

本学位論文は加齢黄斑変性（AMD）における前房水中生理活性蛋白（サイトカイン）濃度と治療結果の相関を明らかにすることを目的とした研究である。滲出型 AMD では抗 VEGF 治療の有効性が大規模臨床試験で示され、治療の第一選択となっているが、効果不良例や多数の再注射が必要な症例が存在する。治療前と抗 VEGF 薬治療の導入期後の炎症性サイトカインの前房中濃度を用いて、滲出型 AMD に対する抗 VEGF 治療の治療効果が予測できるかを解析することを目的として本研究を行った。

・研究方法：

本研究では、未治療の滲出型 AMD 患者に 3 か月連続で抗 VEGF 薬（ranibizumab）硝子体注射した後、再燃時再注射（PRN 法）で治療を継続し 1 年以上治療した 48 例 48 眼について、抗 VEGF 薬硝子体投与直前に前房水を採取し、9 種類のサイトカインを測定した。

・研究の学問的意義・新規性：

滲出型 AMD に対する抗 VEGF 治療前および治療開始後の前房中の炎症性サイトカイン前房中濃度を比較した研究報告は少なく、また定説がない。本研究では、滲出型 AMD に対する抗 VEGF 治療前および治療開始 2 ヶ月後の前房中を用いて、既報において AMD の病態への関与が報告されている 9 種類のサイトカイン濃度を測定し、治療効果や病型との関連性を検討した。CXCL12, CXCL13, IL-10, IP-10, MCP-1 は正常人と比べ治療前の AMD 患者で上昇し、抗 VEGF 抗体治療で下降していたが、CXCL11, CXCL1, IL-6 は正常人と AMD 患者で有意差を認めず、抗 VEGF 治療後には有意な低下がみられた。また MMP9 は正常人と比べ AMD 患者では下降しており、抗 VEGF 治療後上昇がみられた。一方、治療前の VEGF 濃度は他の炎症性サイトカインと関連していなかった。

病型による比較では典型 AMD と PCV ではサイトカイン濃度に有意差はなく、MMP-9 は典型 AMD では治療後に有意に増加したが、PCV では有意差は無かった。Type 1 CNV と Type 2 CNV ではサイトカイン濃度に有意さはなかった。また 2 回治療後に滲出性変化が消退した dry 群と残存した wet 群の間にサイトカイン濃度に有意差はなかった。

今回の研究により抗 VEGF 療法 2 回治療で多くの炎症性サイトカインが低下し、MMP9 は上昇することが明らかとなった。一方、抗 VEGF 療法で浸出性変化が残存した症例と消失した症例でサイトカイン濃度に差がなかったことは、2 回投与では CNV 活性を抑制するには不十分で、より長期間の抗 VEGF 治療により VEGF が低レベルに維持されると他の炎症性サイトカインも低レベルに維持され CNV の活動性が抑制される可能性が示唆された。AMD の病型とサイトカイン濃度については今回の検討では有意差は認めず、さらなる研究が必要であると考えた。

- ・問題点および改訂の指導内容（あった場合）
- ・紙での学位論文と比べてスライドでの発表では、各サイトカインの意義や血管新生に関する促進・抑制作用について言及され分かりやすくなっていた。本論文もスライドプレゼンテーションに従って改訂する必要がある。
- ・蕪城 委員から学位論文に関して以下の指摘があった。申請者からはそれぞれ修正すると返答があった。
- ・4 ページ目、3 行目。 「CNV, 漿液性の網膜色素上皮剥離」 → 「CNV, 1 乳頭径以上の漿液性の網膜色素上皮剥離」（下線部を追加）
- ・8 ページ目下から 3 行目： 「これらの分子の眼内濃度に関する情報は殆どなかった」は、「幾つかの報告があるものの研究によって結果が異なるなど十分に解明されていない」とするのがよい。
- ・9 ページ 1 - 4 行目。 文章の順番を変えた方がよい。 「Rezar らの研究では、ベバシズマブによるフレキシブルな 1 + PRN 治療レジメンを行った結果、血小板由来成長因子 AA VEGF 濃度の減少がみられた。」
- ・9 ページ 6 行目。 「ことを実証されている。」 → 「ことを明らかにした。」
- ・9 ページ 12-13 行目。 「よって、現在ではほとんどの医師は 毎月投与を行っており、我々の」（下線部を追加）
- ・10 ページ 9-11 行目。 「研究が必要と考えられた。またこれまでの研究は対象患者数が 28~37 例と多くはなかった。」（下線部に変更）
- ・14 ページ 5-6 行目。 「Wet であった群と dry となった群」 → それぞれの定義を方法で述べること。
- ・15 行目 4 行目・ 「再発」とあるが、再発の定義を方法のべること。抗 VEGF 注射開始前後にどのように定期的な検査を行い、何をもって再発と判断したかを方法に記載する。
- ・21 行目 1 - 2 行目および全体を通して。 サイトカイン濃度は平均値か中央値かを記載すること。また @@ ± @@ で記載されているサイトカイン濃度は、平均値 ± 標準偏差なのか平均値 ± 標準誤差なのかを方法に記載する。
- ・23 行目 2-3 行目。 「tAMD と PCV の間には、年齢、性別、眼軸長、PVD の有無、およびサイトカイン濃度に有意差はなかった。」 両郡の年齢、性別、眼軸長、PVD の有無の比較を表 7 の上の方に追加するべき。
- ・25 ページ目 2-4 行目。 「Type1CNV が 16 例、Type2CNV が 5 例であった。年齢、性別、眼軸長、PVD の有無、および Type1CNV と Type2CNV の間のサイトカイン濃度に有意差はなかった。」 両郡の年齢、性別、眼軸長、PVD の有無の比較を表 8 の上の方に追加するべき。
- ・27 ページ 1-3 行目。 再発の有無とサイトカイン濃度の比較の結果について新たに表をつくるべき。
- ・27 ページ 3-6 行目。 この多変量解析（ステップワイズ法）の結果について新たに表をつくるべき（それぞれの P 値がいくつだったか?）。

・ 27 ページ 7-8 行目。 この多変量解析（ステップワイズ法）の結果について新たに表をつくるべき（それぞれの P 値がいくつだったか？）。

・ 28 ページ目 2 行目から 29 ページ目 5 行目。 今回の結果の要約が記載されているが、分かりにくい。「今回の検討の結果、①治療前の前房水中サイトカイン濃度について、②治療前と治療 3 回目直前の前房水中サイトカイン濃度の比較について、③AMD 病型や治療効果、再発の有無とサイトカイン濃度の関連について、」の順に簡潔に述べる。

・ 29 行目下から 1-2 行目。 「これらの明らかな不一致は、AMD 患者の不均一性による可能性がある。」 不均一性とは具体的に何のことかを書くこと。

・ 30 ページ 3-5 行目。 「IL-6 および IL-8 は抗 VEGF 製剤硝子体注射の直後に一時的に上昇して、数ヶ月後に下がる可能性が示唆されている。」（下線部のように変更）

・ 30 ページ目 6 行目。 「各種サイトカインやケモカインが AMD において異なる役割」（下線部のように変更）

・ 30 行目 8-9 行目。 「炎症性サイトカインで、TNF- α は白血球などから産生され、初期の炎症反応を引き起こして生体防御に広く関連する」（下線部のように変更）

・ 30 ページ下から 2-4 行目。 「この研究の主な発見は・・・アップレグレーションされたことである。」 この文章は日本語としておかしく、何を言いたいのか分からない。「前房水中 IP-10 濃度が滲出型 AMD の前房水中で上昇していることを明らかにした」と言いたいのか？それならば既報があり（文献 18）、今回の発見ではない。

・ 30 ページ下から 2 行目、31 ページ 6 行目、32 ページ目 2 行目。 ここは「アップレグレーション」と言う言葉よりも、「発現上昇」と書いた方がよい。

・ 31 ページ目 9-10 行目。 「これらの結果は、IP-10、CCL11,CXCL13,および MCP-1 の血管新生促進の役割を裏付けており、」 この文章は間違っています。IP-10(CXCL10)と CXCL13 は CXC ケモカインのうち ELR モチーフを持たないケモカインであり、血管新生抑制のほうに働くケモカインです（藤村先生の学位論文など参照）。

CXC ケモカインで ELR モチーフあり（血管新生↑）： IL-8、GRO- α 、 β 、ENA-78、bFGF

CXC ケモカインで ELR モチーフなし（血管新生↓）： IP-10、PF4、MIG

この部分は書き直す必要あり。

・ P30 のサイトカインの役割に関する記載で誤りがある。まず IL-1b はインフラマソームの活性化を通じて産生されるが IL-2, IL-6 はそうではない。IL-1b の主な産生細胞は単球/マクロファージである。IL-6 の産生も「主に T リンパ球によって産生される」とは言えず免疫担当細胞だけでなく各種線維芽細胞など色々な種類の細胞から産生される。それらを修正すべきである。

・ 31 ページ目 7 行目。 「(FGF-2) の効果を抑制し [38]、血管新生抑制に働く。」（下線部のように変更）

・ 32 ページ目 9 行目・ VEGF 依存性走化性も遮断し [27・36・38・39] この引用文

献は間違っていると思います。抗 VEGF 抗体の単球・マクロファージの走化性に関しては何も言及していない論文です。

・ 32 行目 12 行目 「サイトカイン濃度の変化の治療効果への影響は、」 (下線部を追加)

・ 32 行目 13 - 17 行目。 この部分の記載がわかりにくい。「この研究では、・・・有意差はなかった。この結果は、抗 VEGF 療法の 2 回投与では CNV 活性を抑制するには不十分で、より長期間の抗 VEGF 治療により VEGF が低レベルに維持されると他の炎症性サイトカインも低レベルに維持され CNV の活動性が抑制される可能性が示唆された。」、と言ったほうが分かりやすい。

・ 33 ページ、下から 3 - 5 行目。 「我々が使用したマルチプレックスプラットフォームは・・・過大評価しているようにみえた。」とあるが、その理由がどこにも記載されていない。過去の報告と比較して数値が高かったから、など理由を述べるべき、と指摘があった。申請者からはその記載を削除すると返答があった。

以上。

・ 本学学位論文としての可否の判断結果およびその理由

本研究では、滲出型 AMD に対する抗 VEGF 治療前および治療開始 2 ヶ月後の前房中を用いて、既報において AMD の病態への関与が報告されている 9 種類のサイトカイン濃度を測定し、治療効果や病型との関連性を検討した。その結果、CXCL12, CXCL13, IL-10, IP-10, MCP-1 は正常人と比べ治療前の AMD 患者で上昇し、抗 VEGF 抗体治療で下降していたが、CXCL11, CXCL1, IL-6 は正常人と AMD 患者で有意差を認めず、抗 VEGF 治療後には有意な低下がみられた。また MMP9 は正常人と比べ AMD 患者では下降しており、抗 VEGF 治療後上昇がみられた。一方、治療前の VEGF 濃度は他の炎症性サイトカインと相関していなかった。

また、病型による比較では典型 AMD と PCV ではサイトカイン濃度に有意差はなく、MMP-9 は典型 AMD では治療後に有意に増加したが、PCV では有意差は無かった。Type 1 CNV と Type 2 CNV ではサイトカイン濃度に有意さはなかった。また 2 回治療後に滲出性変化が消退した dry 群と残存した wet 群の間にサイトカイン濃度に有意差はなかった。

今回の研究により抗 VEGF 療法 2 回治療で多くの炎症性サイトカインが低下し、MMP9 は上昇することが明らかとなった。このことは AMD の病態において VEGF の下流にこれら多くの炎症性サイトカインが位置する可能性を示唆する。一方、AMD の病型や治療開始 2 ヶ月後の時点での治療効果（浸出性変化の消退の有無）とサイトカイン濃度の関連性は明らかにはできず、さらなる検討が必要と考えられた。

これらの結果は新知見を含んでおり、滲出型 AMD の病態および抗 VEGF 治療の奏功機序を考える上で重要な情報を有すると考えられる。よって本論文を本学学位論文として認めることを 3 名の審査委員の満場一致で決定した。なお、学位審査において指摘された修正事項に関しては、審査委員長 蕪城の責任で論文の修正を進め、各審査委員の先生にも修正後の論文を確認して頂き、合格と判定した。

試問の結果の要旨

- ・申請者による発表の具体的内容：

学位審査では、申請者から加齢黄斑変性（AMD）の説明、および滲出型 AMD では抗 VEGF 治療が現在第一選択となっているが、投与間隔のレジメンにはまだ議論の余地があり、現在主流になっている導入後 3 ヶ月間毎月投与により眼内のサイトカイン濃度がどのように変化するか、またサイトカイン濃度は治療効果とどのような関連性があるかについては分かっていないという現状が述べられた。そこで、本研究では滲出型 AMD における抗 VEGF 療法前後の前房水中サイトカイン濃度と AMD の病型および治療結果との相関を明らかにすることを目的とした研究であることの説明があった。研究方法としては未治療の滲出型 AMD 患者に 3 か月連続で抗 VEGF 薬（ranibizumab）硝子体注射した 48 例 48 眼について、抗 VEGF 薬硝子体投与直前に前房水を採取し、凍結保存の後、9 種類のサイトカインを測定したことが説明された。

続いて本研究の具体的な結果が提示された。今回検討した 9 種類のサイトカインのうち CXCL12, CXCL13, IL-10, IP-10, MCP-1 は正常人と比べ治療前の AMD 患者の眼内で上昇し、抗 VEGF 抗体治療で下降していた。それに対し CXCL11, CXCL1, IL-6 は正常人と AMD 患者で有意差を認めず、抗 VEGF 治療後には有意な低下がみられた。また MMP9 は正常人と比べ AMD 患者では下降しており、抗 VEGF 治療後上昇がみられた。一方、治療前の VEGF 濃度は他の炎症性サイトカインと相関していなかった。また、病型による比較では典型 AMD と PCV ではサイトカイン濃度に有意差はなく、MMP-9 は典型 AMD では治療後に有意に増加したが、PCV では有意差は無かった。Type 1 CNV と Type 2 CNV ではサイトカイン濃度に有意さはなかった。また 2 回治療後に滲出性変化が消退した dry 群と残存した wet 群の間にサイトカイン濃度に有意差はなかった。

最終的に、今回の研究により抗 VEGF 療法 2 回治療で多くの炎症性サイトカインが低下し、MMP9 は上昇することが明らかとなった。このことは AMD の病態において VEGF の下流にこれら多くの炎症性サイトカインが位置する可能性を示唆する。一方、AMD の病型や治療開始 2 ヶ月後の時点での治療効果（浸出性変化の消退の有無）とサイトカイン濃度の関連性は明らかにすることはできず、今後さらなる検討が必要と考えられた。

- ・審査員の質疑の具体的な内容、およびそれに対する応答

- ・蕪城委員からは、紙面で提出された学位論文と比べて本日スライドで提示された結果は分かりやすくなっているの、本日スライドで提示された結果に従って学位論文を修正するとよいと、指摘があった。

- ・佐藤委員から、新生血管促進作用または抑制作用をもつケモカインがすべて治療後に低下していたことをどう考えるか、と指摘があった。今回検討したケモカインは VEGF の上流か下流かを議論すべきと指摘があった。申請者からは文献検索を行った上で修正すると返答があった。

- ・佐藤委員から今回治療後に上昇した MMP9 はどのような働きが知られているのかとの質問があった。申請者から MMP9 はブルッフ膜のリモデリングや脈絡膜新生血管（CNV）の基底膜の分解に関与し、CNV を促進するとの報告があるとの返答があった。そのことを考按に記載する。

- ・佐藤委員から 14 ページ 14-17 行目、「これは AMD とサイトカインの間の可能な関連を特定することを目的とした仮説生成研究であったため、ボンフェローニの補正は行われなかった。」とあ

るが、仮説生成研究の割には統計学的検討を多数行い、結果を記載しているとの指摘があった。

- ・佐藤委員から29ページ目15行目、「IL12p」はpの後に40や70などの数値が付くべきなのではないかと指摘があった。申請者から確認して修正するとの返答があった。

- ・佐藤委員から、p30の10-11行目の「L-12は、Tリンパ球によって主に産生されるTリンパ球刺激因子である。」は完全に誤りであり、Tリンパ球はほとんどIL-12を産生しないとされているはずで、クロファージや受容細胞から産生されると指摘があった。申請者から確認して修正するとの返答があった。

- ・駒田委員からは今回の検討は前房水を用いているが、前房水で硝子体中サイトカイン濃度を反映していると考えられるか、との指摘があった。申請者からは前房水では硝子体液よりも希釈されるものの、硝子体中サイトカイン濃度を反映すると返答があった。

- ・駒田委員からは表9は表7,8と同様にサイトカイン濃度の減少率で論じるべきと指摘があった。申請者からはそのように修正すると返答があった。

- ・駒田委員から図の縦軸の数値の位置に軸目盛りをつけるように指摘があった。申請者からはそのように修正すると返答があった。

- ・駒田委員から@@±@@で記載されているサイトカイン濃度は、平均値±標準偏差なのか平均値±標準誤差なのかを方法に記載するよう指摘があった。申請者から標準誤差であることを記載するとの返答があった。

- ・駒田委員から、図3などは3群での比較なのでANOVAで検定後Post Hocで多重検定すべきではないかと指摘があった。申請者から持ち帰って検討するとの返答があった。

- ・Type 1 CNVの記載で、Typeと1の間にスペースがあつたり、無かつたりしているので統一するように指摘があった。申請者からそのように修正すると返答があった。

- ・駒田委員から30行目7列目、「IL-1β、IL-2,IL-6はTリンパ球によって、またはインフラマゾームの活性化によって産生されるサイトカインであり」との記載は誤りである。インフラマゾームによるものはIL-1βのみであり、IL-1β、IL-2,IL-6は主に単球、マクロファージ、Tリンパ球などによって産生される、とすべきであると指摘があった。申請者からそのように修正すると返答があった。

- ・申請者の応答とそれに対する評価

申請者は審査委員の指摘に対して適切に回答していた。3人の審査委員からも今回の学位審査のプレゼンテーションおよび試問への回答は適切であると認められた。

- ・試問の合否の判断結果及びその理由

学位審査では、滲出型AMDに対する抗VEGF治療前および治療開始2ヵ月後の前房中を用いて、既報においてAMDの病態への関与が報告されている9種類のサイトカイン濃度を測定し、治療効果や病型との関連性を検討したことが述べられた。そしてその結果、CXCL12, CXCL13, IL-10, IP-10, MCP-1は正常人と比べ治療前のAMD患者で上昇し、抗VEGF抗体治療で下降していたが、CXCL11, CXCL1, IL-6は正常人とAMD患者で有意差を認めず、抗VEGF治療後には有意な低下がみられた。またMMP9は正常人と比べAMD患者では下降しており、抗VEGF治療後上昇がみられた。一方、治療前のVEGF濃度は他の炎症性サイトカインと相関していなかったことが明らかとなった。また、病型による比較では典型AMDとPCVではサイトカイン濃度に有意

差はなく、MMP-9 は典型 AMD では治療後に有意に増加したが、PCV では有意差はみられなかったこと、Type 1 CNV と Type 2 CNV ではサイトカイン濃度に有意さはなかったこと、2 回治療後に滲出性変化が消退した dry 群と残存した wet 群の間にサイトカイン濃度に有意差はなかったことが提示された。

以上の結果より、抗 VEGF 療法 2 回治療で多くの炎症性サイトカインが低下し、MMP9 は上昇することが明らかとなり、AMD の病態において VEGF の下流にこれら多くの炎症性サイトカインが位置する可能性を示唆すると考えられること、しかし AMD の病型や治療開始 2 ヶ月後の時点での治療効果（浸出性変化の消退の有無）とサイトカイン濃度の関連性は明らかにはできず、さらなる検討が必要である、と結論付けた。

これらの結果は新知見を含んでおり、滲出型 AMD の病態および抗 VEGF 治療の奏功機序を考える上で重要な情報を有すると考えられる。よって本論文を本学学位論文として認めることを 3 名の審査委員の満場一致で決定した。なお、学位審査において指摘された修正事項に関しては、審査委員長 蕪城 の責任で論文の修正を進め、各審査委員の先生にも修正後の論文を確認して頂くこととした。