

加齢黄斑変性における解糖系代謝の関連性と変化

生方 翔子

帝京大学医学部眼科学講座

学位申請論文 指導：溝田 淳 主任教授

Shoko Ubukata

Department of Ophthalmology, Teikyo University School of Medicine

キーワード：加齢黄斑変性（AMD），解糖系代謝，ピルビン酸塩，乳酸塩

Keyword : Age-related macular degeneration (AMD), Glycolytic metabolism, Pyruvate,
Lactic acid.

和文抄録

背景・目的 近年、加齢を進展させる要因に解糖系代謝が関与することが、明らかとなってきている。本研究では、加齢黄斑変性 (age-related macular degeneration, AMD) における解糖系代謝の関連性や変化を調べるために、解糖系代謝で生成されるピルビン酸塩と、その還元で生成される乳酸塩の尿中濃度を測定した。

対象・方法 対照者 25 例 (対照群), 白内障患者 25 例 (白内障群), 未治療の滲出型 AMD 患者 25 例 (AMD 群) を対象とした。空腹時に採取した尿中の 4 つの有機酸 (ピルビン酸塩, 乳酸塩, α -ヒドロキシ酪酸塩, β ヒドロキシ酪酸塩) およびクレアチニンの濃度を測定した。

結果 ピルビン酸塩濃度 ($\mu\text{g}/\text{mg}$ クレアチニン, 平均値 \pm 標準偏差) は対照群 (1.65 ± 0.85), 白内障群 (4.16 ± 3.74), AMD 群 (6.53 ± 3.94) で, 乳酸塩濃度は対照群 (1.12 ± 1.28), 白内障群 (6.57 ± 12.43), AMD 群 (11.47 ± 14.94) で 3 群間に有意差を認めた ($p<0.001$ および $p=0.009$)。 α -ヒドロキシ酪酸塩の濃度は対照群 (2.00 ± 2.72), 白内障群 (1.30 ± 1.37), AMD 群 (0.86 ± 0.96) で, β -ヒドロキシ酪酸塩の濃度は対照群 (1.21 ± 2.09), 白内障群 (0.53 ± 0.48), AMD 群 (0.27 ± 0.27) で, AMD 群で最も低かった。乳酸塩/ピルビン酸塩の比率は対照群 (1.1 ± 2.5), 白内障群 (2.7 ± 6.3), AMD 群 (3.8 ± 6.6) であり, AMD 群で有意に最も高かった ($P=0.045$)。

結論 AMD 患者では、解糖系代謝における最終的な ATP の生成低下が示唆され、AMD の発症や進展に関与している可能性が考えられた。

はじめに

近年、高齢化社会に伴い、メタボリック症候群、高血圧、高脂血症、糖尿病が増加している。これらの成人病は、糖尿病網膜症、網膜動脈/静脈閉塞症、加齢黄斑変性 (age-related macular degeneration, AMD) などを引き起こし、視機能を低下させる因子となりうる。網膜硝子体疾患は失明の最大の原因であり、その病態解明が急務となっている。AMDは、50歳以上で、中心窩を中心とする直径6000 μ m範囲に認める加齢に基づく黄斑部が障害される疾患であり、前駆病変、滲出型、萎縮型に大別される。原因として加齢や紫外線への曝露、代謝産物の蓄積の関与などが考えられているが、これまでに体内における代謝産物とAMDとの関係について検討した報告はない。近年、加齢を進展させる要因に、代謝経路のひとつである解糖系代謝(図1)が関与することが明らかになりつつあるが、網膜疾患との関連性についての報告は少ない[1, 2, 3, 4, 5]。これまでの主な研究としては、中国の研究において、25人のAMD患者を正常者と比較したところ、前房水中の乳酸濃度には差がなかったと報告されている (Han 2020) [1]。ベルギーの研究では、血清の乳酸濃度は46人の正常者と比べて、45人のactiveなAMD患者では上昇し、23人のinactiveな患者では減少していたと報告されている (Lambert 2020) [2]。更に、同研究者らはマウスを使ったレーザー誘発性脈絡膜血管新生モデルを作成したところ、眼内の乳酸濃度が上昇した後に、血清乳酸濃度が上昇することを証明した[2]。また日本の研究では、8人のAMDの患者において、尿中の乳酸が9人のポリープ状脈絡膜血管症患者と比較して上昇していることが報告されている (Yokosako 2016) [3] フランスからの総説論文によると、AMD患者の網膜における糖代謝では好気性解糖に引き続くTCA回路によるATP産生が行われず、乳酸が蓄積するメカニズムについて記載されている。これは、炎症性マクロファージなどの免疫細胞がTCA回路の中間代謝物から免疫活性物質を産生するため、TCA回路によるATP産生を止めるためである。(Leveillard 2019) [4]。更に別のフランスからの総説論文によると、滲出性AMDでは、高レベルの乳酸が、脈絡膜新生血管の血管新生因子であるVEGF発現の増

加と相関していることと、網膜は好気性解糖代謝を介して糖を代謝することにより、網膜細胞の光受容体を酸化的損傷から保護していると記載されている (Vallée 2017) [5]. これまでの報告によると糖代謝がAMDの病態に関与している可能性が示唆されるが、AMD患者とコントロールとなる健常者や白内障患者と比較検討した報告はない. 本研究では、AMDにおける解糖系代謝の変化や関連性を調べるために、解糖系代謝で生成されるピルビン酸塩とその還元で生成される乳酸塩、ならびにその派生で生じる α -ヒドロキシ酪酸塩と β -ヒドロキシ酪酸塩の尿中濃度を測定し、健常者、白内障患者、AMD患者の3群で比較した.

対象と方法

1. 対象 本研究は「世界医師会ヘルシンキ宣言」及び「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」を遵守し、帝京大学倫理審査委員会（帝倫 18-228 号：眼疾患における生理活性物質および代謝産物の解析）の承認を得て行った. また、本研究を含めた一連の研究は、UMIN-CTR（医学情報 大学病院医療情報ネットワーク 臨床試験登録システム）に臨床試験の登録を行った（UMIN 登録番号：UMIN000013684）. 全ての対象患者において、本研究の目的について説明を行い、検査の前に同意を得てから行った. 対象は帝京大学医学部眼科に通院中の患者で、白内障手術を受ける予定の患者 25 例および未治療の滲出型 AMD を有する患者 25 例とした. また、眼鏡による視力矯正、結膜炎、あるいはドライアイ治療を目的に眼科を受診した患者から、25 例を対照群とした. 対照群の選択基準は AMD および白内障核グレード II 以上を有しないこと、（2）両眼の矯正視力が 0.20 logMAR（少数視力 0.6）以上とした. 年齢、性別、全身疾患、その他の患者の背景因子を表 1 に示す. 全対象者の除外基準は、（1）年齢 50 歳以下、（2）高度近視（ <-5.0 ジオプター）

とした。AMD 群に関しては (3) その他の網膜硝子体疾患 (硝子体黄斑牽引症候群, 網膜上膜, 黄斑円孔, 糖尿病性網膜症, 網膜静脈閉塞症), (4) 弱視, (5) Emery-Little 分類グレード 3 以上の核白内障 [6], (6) アルツハイマー病または認知症のある患者とした。

2. 尿中代謝産物の分析 尿中代謝レベルの測定は, US BioTek Laboratories (ワシントン州シアトル) のガスクロマトグラフィー/質量分析 (GC/MS) を使用して, 研究所の方法に従って施行した [7]。

試験日の朝は, 被験者の飲食を禁止した。また, 採尿前の薬やサプリメントの服用も禁止した。尿サンプルを紙コップに採取し, 採尿ストリップ (Dip'N Dry; US BioTek, Seattle, WA, USA) を入れ, 尿を浸透させた。ストリップは乾燥剤ゲルを含むアルミホイルバッグに封入して密封し, 室温乾燥条件下で保存した。そこから US BioTek Laboratories のプロトコルに従って, クロマト分離を行うガスクロマトグラフ (GC) と質量分離を行う質量分析計 (MS) という分離手法 (GC-MS 法) で有機酸の量を測定した。4 つの有機酸 (ピルビン酸塩, 乳酸塩, α -ヒドロキシ酪酸塩, β ヒドロキシ酪酸塩) およびクレアチニンの濃度を測定した。すべての酸濃度はクレアチニンレベルに対する比率として計算し, 正常健常者の標準基準値 (平均値) に対する割合を求めた。測定は, 患者のデータを知らない US BioTek Laboratories の研究員が測定した。

3. 統計解析 2 群間の平均値の比較は two-tailed unpaired Student' s t-test を用い, 3 群間の平均値の比較は一元配置分析を用いた。3 群間の中の 2 群間の比較には Scheffe の多重比較法 (Scheffe' s multiple comparison test) を用いた。2 つ以上の分類基準を持つクロス集計の独立性の検定にはカイ二乗検定を用いた。P < 0.05 を統計学的な有意水準とした。統計解析は SAS

System software version 9.1 (SAS Institute Inc. Cary, North Carolina, USA) およびエクセル統計 2012 年度版 (BellCurve, 東京) を使用した .

結果

全身合併症については、高血圧、糖尿病、高脂血症、心疾患、腎疾患、肝疾患のいずれも3群間に差はなかった (表 1)。尿中のピルビン酸塩の3群間の比較を図2に示す。ピルビン酸塩 ($\mu\text{g}/\text{mg}$ クレアチニン) の濃度は対照群 (1.65 ± 0.85)、白内障群 (4.16 ± 3.74)、AMD群 (6.53 ± 3.94) で3群間に有意差を認めた ($p < 0.001$)。基準値に対するピルビン酸塩濃度の増加率 (%) は対照群 (-2.2 ± 12.9)、白内障群 (42.8 ± 84.7)、AMD群 (77.3 ± 72.4) で3群間に有意差を認めた ($p < 0.001$)。

尿中の乳酸塩の3群間の比較を図3に示す。乳酸塩 ($\mu\text{g}/\text{mg}$ クレアチニン) の濃度は対照群 (1.12 ± 1.28)、白内障群 (6.57 ± 12.43)、AMD群 (11.47 ± 14.94) で3群間に有意差を認めた ($p = 0.009$)。

基準値に対する乳酸塩濃度の増加率 (%) は対照群 (20.5 ± 81.2)、白内障群 (78.4 ± 190.1)、AMD群 (320.8 ± 390.1) で3群間に有意差を認めた ($p < 0.001$)。尿中の α -ヒドロキシ酪酸塩の3群間の比較を図4に示す。

α -ヒドロキシ酪酸塩 ($\mu\text{g}/\text{mg}$ クレアチニン) の濃度は対照群 (2.00 ± 2.72)、白内障群 (1.30 ± 1.37)、AMD群 (0.86 ± 0.96) で3群間に有意差を認めなかった ($p = 0.102$)。基準値に対する α -ヒドロキシ酪酸塩の増加率 (%) は対照群 (-14.5 ± 45.5)、白内障群 (-20.1 ± 22.1)、AMD群 (-33.0 ± 23.6) で3群間に有意差を認めなかった ($p = 0.135$)。

α -ヒドロキシ酪酸塩の濃度ならびに増加率はともに、3群間に統計学的な有意差を認めないがAMD群に低い傾向を認めた。尿中の β -ヒドロキシ酪酸塩の濃度の3群間の比較を図5に示す。

β -ヒドロキシ酪酸塩 ($\mu\text{g}/\text{mg}$ クレアチニン) の濃度は対照群 (1.21 ± 2.09)、白内障群 (0.53 ± 0.48)、AMD群 (0.27 ± 0.27) で3群間に有意差を認めた ($p = 0.031$)。基準値に対する β -ヒドロキシ酪酸塩の増加率 (%) は対照群 (-8.6 ± 66.8)、白内障群 (-27.9 ± 18.0)、AMD群 (-37.8 ± 11.8) で3群間に有意差を認めた ($p = 0.045$)。乳酸塩/ピ

ルビン酸塩の比率は対照群 (1.1 ± 2.5), 白内障群 (2.7 ± 6.3), AMD群 (3.8 ± 6.6) であり, AMD群の乳酸塩/ピルビン酸塩の比率は白内障群よりも有意に高かった ($p=0.030$, two-tailed unpaired Student's t-test, 図6).

AMDの重症例と軽症例を比較するために視力不良群 ($n=9$, 視力が $0.01-0.09$), 視力中等度群 ($n=9$, 視力が $0.1-0.5$), 視力良好群 ($n=7$, 視力が $0.6-1.0$) の3群に分けた. 3群における尿中の乳酸塩の比較を図7に示す. 乳酸塩 ($\mu\text{g}/\text{mg}$ クレアチニン) の濃度は視力不良群 (16.28 ± 16.60), 視力中等度群 (13.28 ± 16.01), 視力良好群 (2.93 ± 2.48) であった. 3群間に有意差を認めなかったが ($p=0.205$) 視力不良群と視力良好群の間に有意差を認めた ($p=0.034$).

考察

解糖系代謝において, 好氣的条件下では, グルコースはピルビン酸塩に変換され, ピルビン酸塩はミトコンドリアで TCA 回路を介して ATP 生成に利用される. また, 経路内で生成された NADH は電子伝達系で ATP 生成に利用される [8]. 一方で嫌氣的条件下では, ピルビン酸塩は乳酸塩に変換される [8]. ピルビン酸塩が乳酸塩に変換される場合, ピルビン酸塩は TCA 回路に移行することはない. 一般的に, 正常な成熟した細胞は, 解糖系代謝において酸素依存性経路 (有酸素性エネルギー代謝) と酸素非依存性経路 (無酸素性エネルギー代謝) を介して ATP を獲得する. 嫌氣的条件下では, ピルビン酸塩は TCA 回路ではなく乳酸塩生成の方向に傾く (図 1). ここでは 1 分子のグルコースから 2 分子の ATP が産生されるが, TCA 回路などに移行する好氣的条件に比べると, 最終的な ATP 産生量は少なくなる. 解糖系代謝が AMD の発症と進展にどのように関与しているかは, いまだ明らかではないが, AMD は紫外線への曝露 [9] や加齢 [10] などの多因子が原因と考え

られており、加齢と解糖系代謝の関連性についてはいくつかの報告がある[11]. また、網膜における ATP も、主に解糖系代謝を経て産生されることが分かっている[12, 13, 14, 15, 16]. 従って、網膜が嫌氣的条件下にあると、ピルビン酸塩は TCA 回路に入ることができずに増加し、それらが乳酸塩に変換されるため、乳酸塩も増加する[17]. 今回の研究において、ピルビン酸塩と乳酸塩のレベルは、対照群や白内障群より AMD 群で有意に高く、基準値と比較して 77.3%と 320.8%の増加がみられた. AMD 群におけるピルビン酸塩の増加は、解糖系代謝でのグルコース利用の増加を、乳酸塩の増加は嫌氣的条件下になりやすい状況を反映している可能性がある. 乳酸-ピルビン酸比は、対照群の 1.1 より AMD 群では 3.8 と有意に高く、解糖系代謝が乳酸塩の生成に傾いていることを示唆し、TCA 回路への移行が AMD 群で抑制されていることが考えられる. 一方で β -ヒドロキシ酪酸塩のレベルは、対照群や白内障群より AMD 群で低く、基準値と比較して、37.8%の減少が見られた. 解糖系代謝下流のエネルギー生成反応(TCA 回路)が低下すると、 β ヒドロキシ酪酸塩のレベルは上昇する. 糖質の欠乏時には、 β 酸化によって脂肪酸からアセチル CoA が生成される. 酸素が十分ならば、アセチル CoA は TCA 回路に入るが、糖質の欠乏状態では、TCA サイクルが機能しないため、アセチル CoA の 2 分子が重合して、ケトン体（アセト酢酸）となり、次に β ヒドロキシ酪酸が生成される（図 1）. 図 5 において β ヒドロキシ酪酸塩は有意に低下したが、対照群に見られた 3 つのはずれ値が影響している可能性がある. 乳酸塩と違って、 β ヒドロキシ酪酸は日常的な状況で上昇することが知られている[18]. 糖質制限ダイエットで炭水化物をとらなかった場合、しばらく食事を抜いた場合などに β ヒドロキシ酪酸は上昇

する [18]. はずれ値が見られた 3 症例において乳酸塩が低かったことを考えると、乳酸塩の方が AMD の代謝状態を表す指標として、より優れていると考えられる。

本研究ではいくつかの欠点がある。まず、解糖系代謝に関与する分子を尿サンプルで測定し、3 群間の乳酸塩とピルビン酸塩を比較したが、尿サンプルがどの程度、眼内の病態を反映しているのかは不明である。このことについて文献的考察を加えると、成書の Harrison's Principles of Internal Medicine の Lactic Acidosis の項目における解説によると、血清乳酸濃度が上昇する乳酸アシドーシスは、組織灌流不良、ショックや心不全などの循環不全、重度の貧血などの全身状態の悪い患者に続発するとされる [19]。また悪性腫瘍、重症な糖尿病、肝不全、腎不全などの全身疾患を有する患者、アルコール中毒患者、ミトコンドリア酵素欠損症、および阻害剤（一酸化炭素、シアン化物）などで見られる [19]。本研究では、25 例の正常健常者ならびに 25 例の白内障患者において、いずれも血清乳酸濃度が上昇する重篤な疾患の合併例はなかった。また尿中の乳酸とピルビン酸が正常範囲内であったことも重篤な乳酸アシドーシスがなかったことを裏付けている。網膜自体は脳と並び、酸素消費量が多い組織として知られている [20, 21, 22]。AMD では酸素供給が低下し、血管新生が高まっている（吉村長久 2016） [23]。また、レーザー誘導脈絡膜血管新生を起こして作成したマウス AMD モデルでは、レーザーによる網膜の損傷後に、眼内の乳酸濃度が上昇し、その後に血清乳酸濃度が上昇するという興味深い報告もある [2]。また Retinal Oximetry によって網膜の酸素濃度を測定した研究によると、AMD では酸素供給が低下するが、病型で分けると非滲出型（萎縮型、ドライタイプ）AMD の患者で、網膜の酸素飽和度は動脈と静脈でそれぞれ $88.6 \pm 1.9\%$ と $34.1 \pm 7.0\%$ で、滲出型 AMD の患者では $100.0 \pm 0.0\%$ と

50.4%±8.2%であり、萎縮型 AMD において酸素飽和度が、より低下していると報告されている [24]. また Retinal Oximetry によって、健常者と滲出型 AMD の網膜細静脈の酸素飽和度を比較した研究では、酸素飽和度は滲出性 AMD 患者では年齢とともに増加し ($0.45 \pm 0.19\%/年$; $p = 0.026$), 健康な人では年齢とともに減少する ($-0.13 \pm 0.03\%/年$; $p = 0.0002$) [25]. 提示されたグラフから判断すると、80 歳以下においては、細動脈における酸素飽和度は健常者よりも滲出型 AMD 患者において低い傾向があることが分かる [25]. 更に興味深いことに、酸素飽和度の動静脈差については逆のことが当てはまり、AMD 患者では年齢とともに減少し ($-0.29 \pm 0.16\%/年$; $p = 0.065$), 健康な人では増加する ($0.12 \pm 0.03\%/年$; $p < 0.0001$) [25]. 80 歳の滲出型 AMD 患者は、健康な人よりも静脈酸素飽和度が 2.7%高い一方で、動静脈差が 4.2%減少している [25]. これらの結果から総合的に網膜の酸素代謝について考察すると、滲出型 AMD 患者では、網膜において動脈と静脈の酸素飽和度の差が少ないということは、網膜において酸素が消費されていないことを意味している。すなわち網膜における酸素代謝が低下していることを示唆している。今回の 25 人の AMD 患者において重症度と乳酸濃度を比較したところ、視力不良例は視力良好例よりも尿中乳酸濃度が高かった。これらの結果を総合的に判断すると、尿中の乳酸濃度が眼内の病態を反映している可能性があると考えられる。

また、眼内液は量が少ないため、採取するには倫理的な問題があった。今回は代謝産物の測定という観点から、尿サンプルを用いたが、今後は血液や眼内液でも測定が可能な手法を検討する必要がある。そして、3 群間の患者背景因子に差は認めなかったが、眼内だけでなく、体内の他の代謝経路の差の影響も考える必要がある。年齢に関しては 3 群間に差はないが、乳酸塩/ピルビン

酸塩のバランスは加齢に伴い変化する可能性がある。線虫を用いた研究では加齢とともに減少することが報告されている[26, 27]。今後、加齢に伴う乳酸塩/ピルビン酸塩の比率の変化についても検討する必要がある。

結論

本研究ではAMD患者において、解糖系代謝で生成されるピルビン酸塩と、その還元で生成される乳酸塩が尿中で増加していた。また、乳酸塩/ピルビン酸塩の比率が高くなっており、好気性の解糖系代謝が抑制されていることが示唆された。好気性の解糖系代謝の抑制はTCA回路を介したATPの生成低下につながるため、AMDの発症や進展に解糖系代謝の変化が関係している可能性がある。

謝辞

直接ご指導を賜りました帝京大学医学部眼科学講座 溝田淳主任教授に深く感謝致します。またデータの収集に関するご協力を頂きました帝京大学医学部眼科学講座 三村達哉准教授に深く感謝致します。

図1

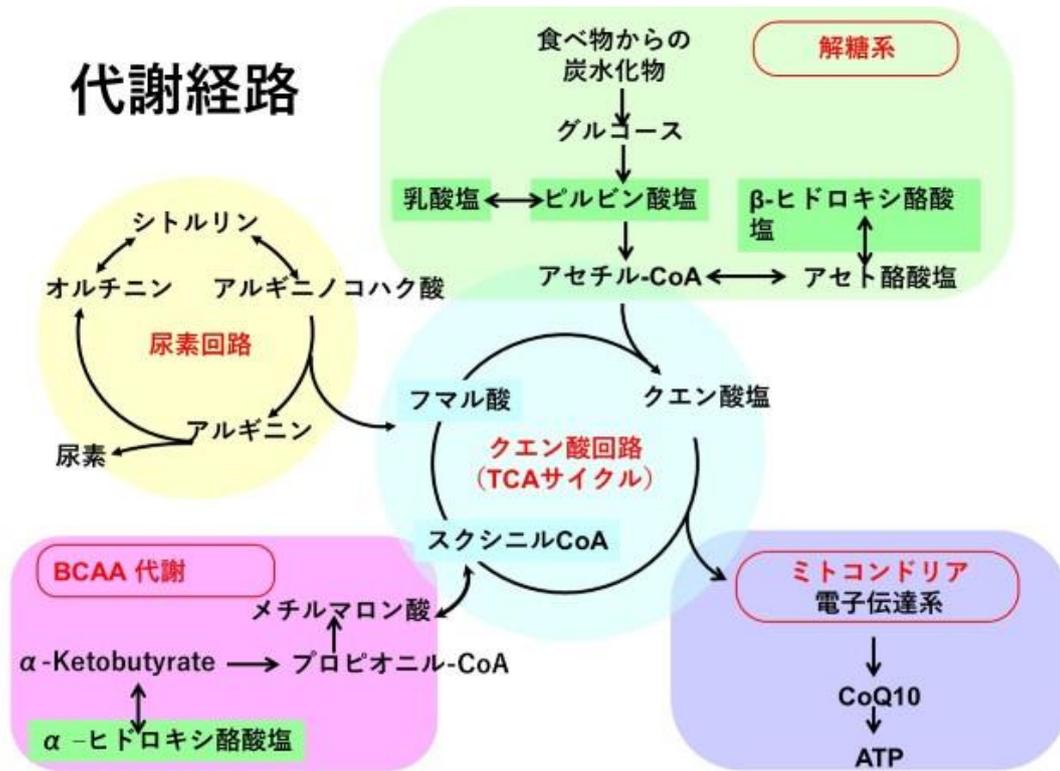


図2

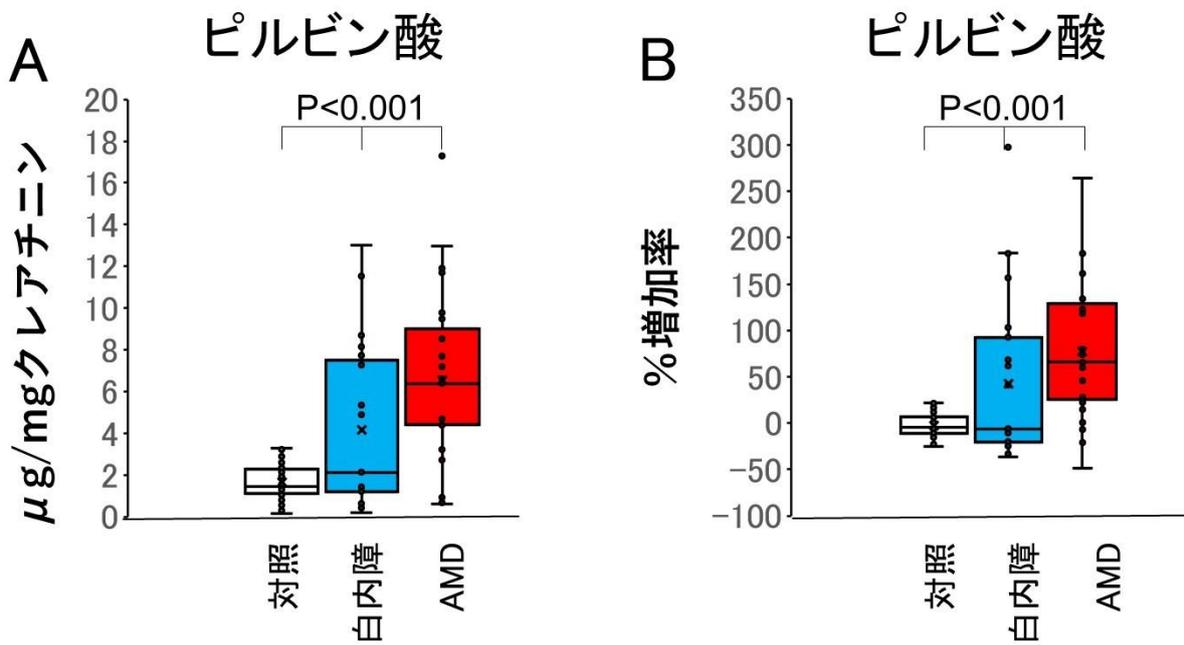


図3

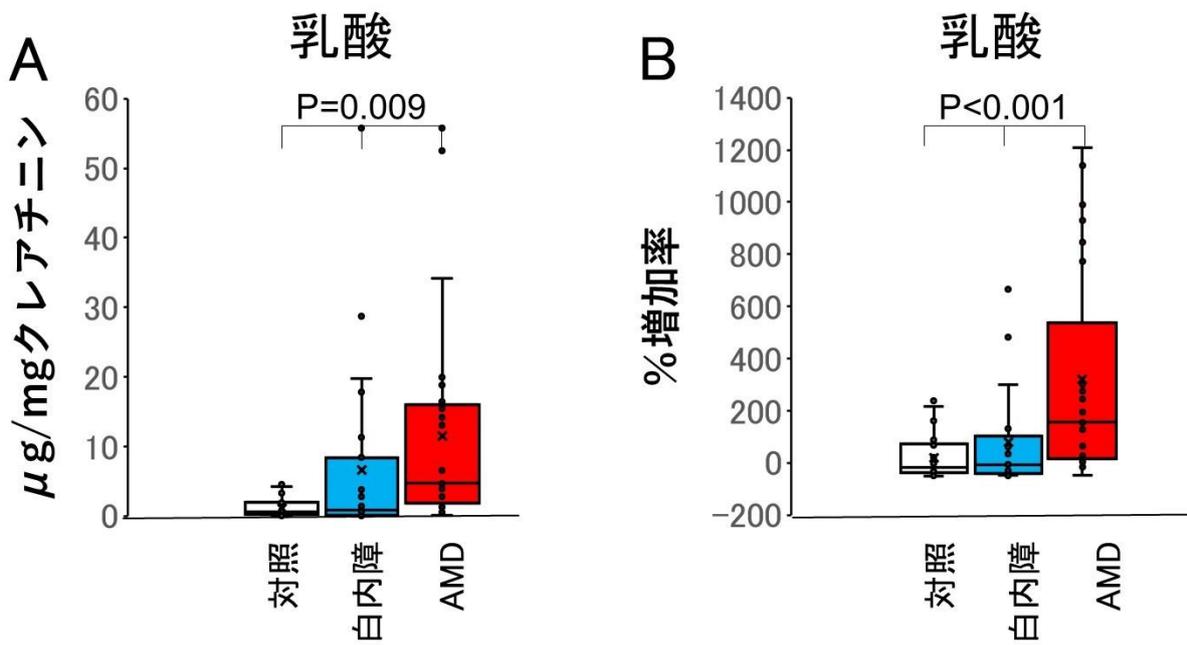


図4

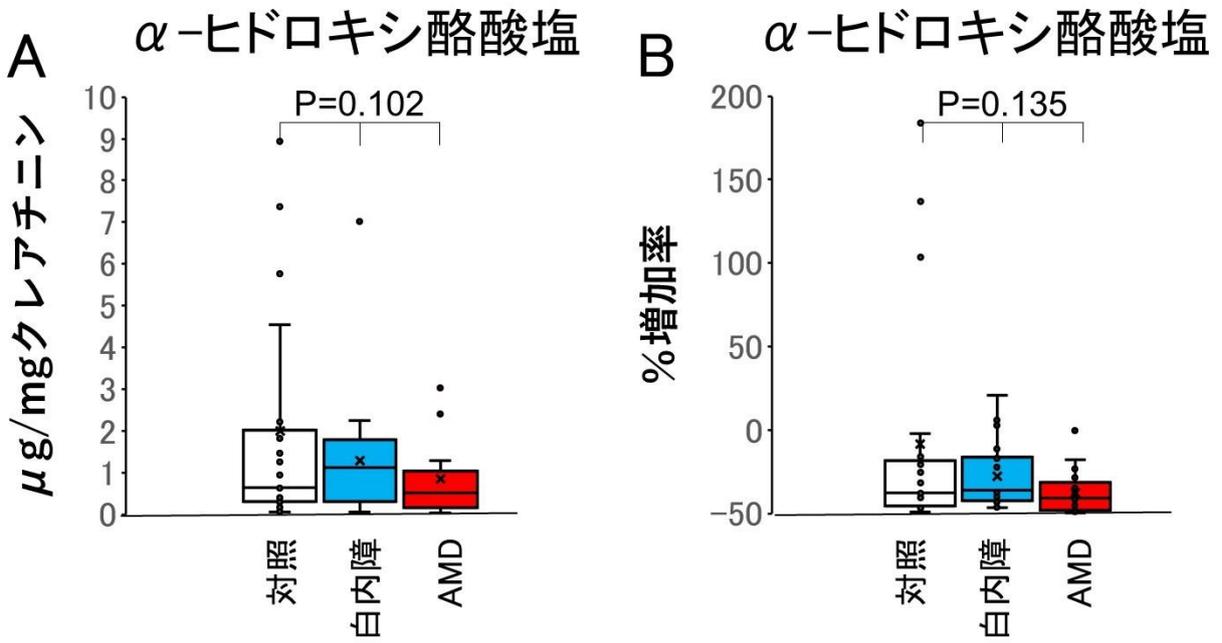


図5

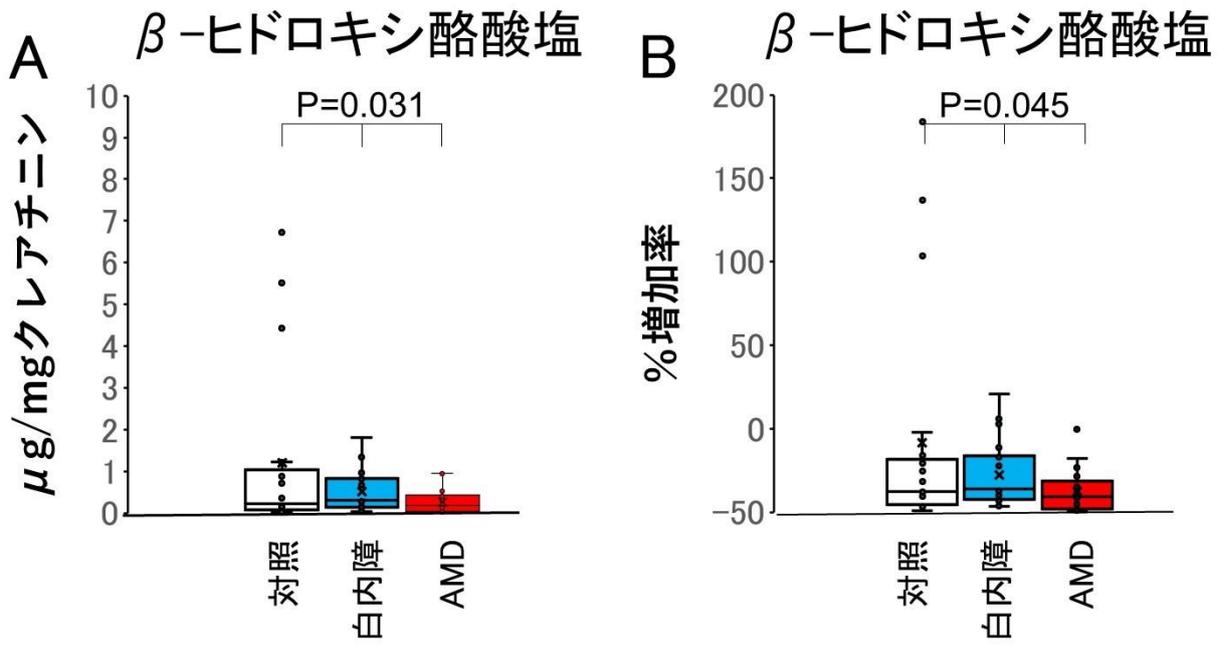


図6

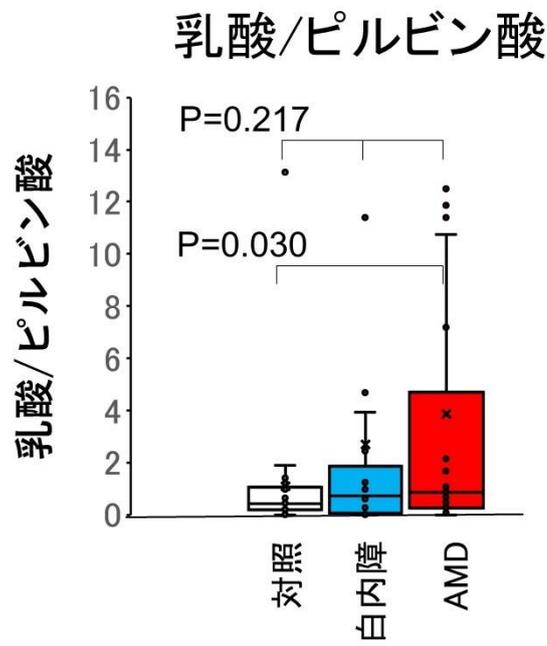
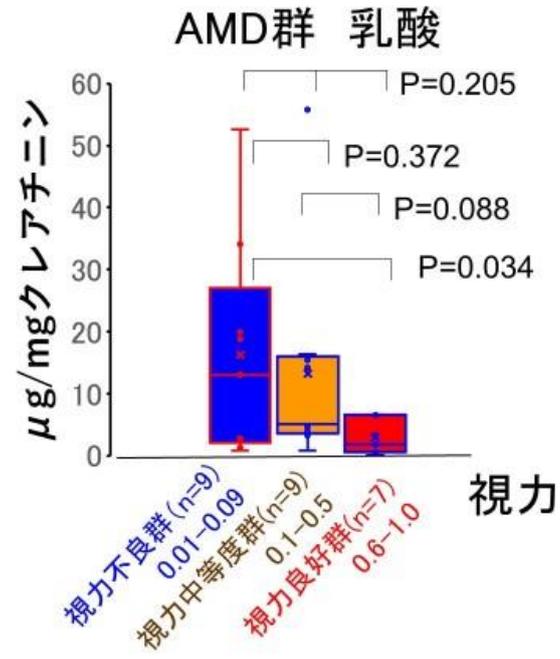


図7



引用文献

1. Han G, Wei P, He M, Teng H. Glucose Metabolic Characterization of Human Aqueous Humor in Relation to Wet Age-Related Macular Degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2020 Mar 9;61(3):49.
2. Lambert V, Hansen S, Schoumacher M, Lecomte J. Pyruvate dehydrogenase kinase/lactate axis: a therapeutic target for neovascular age-related macular degeneration identified by metabolomics. *J Mol Med (Berl)*. 2020 Dec;98(12):1737-1751.
3. Yokosako K, Mimura T, Funatsu H, Noma H. Glycolysis in patients with age-related macular degeneration. *Open Ophthalmol J*. 2014 Jul 23;8:39-47.
4. Lèveillard T, Philp NJ, Sennlaub F. Is Retinal Metabolic Dysfunction at the Center of the Pathogenesis of Age-related Macular Degeneration? *Int J Mol Sci*. 2019 Feb 11;20(3):762.
5. Vallée A, Lecarpentier Y, Guillevin R, Vallée JN. Aerobic Glycolysis Hypothesis Through WNT/Beta-Catenin Pathway in Exudative Age-Related Macular Degeneration. *J Mol Neurosci*. 2017 Aug;62(3-4):368-379.
6. Thygefors B, Chylack LT Jr, Konyama K, Sasaki K, et al. West S; WHO Cataract Grading Group. A simplified cataract grading system. *Ophthalmic Epidemiol*. 2002 Apr;9(2):83-

95.

7. Salmi H, Kuitunen M, Viljanen M, Lapatto R. Cow's milk allergy is associated with changes in urinary organic acid concentrations. *Pediatr Allergy Immunol.* 2010 Mar;21(2 Pt 2): e401-6.
8. Lehninger AL (1982) Principles of biochemistry. Worth, New York.
9. Chalam KV, Khetpal V, Rusovici R, Balaiya S. A review: role of ultraviolet radiation in age-related macular degeneration. *Eye Contact Lens.* 2011 Jul;37(4):225-32.
10. Chakravarthy U, Wong TY, Fletcher A, et al. Clinical risk factors for age-related macular degeneration: a systematic review and meta-analysis. *BMC Ophthalmol.* 2010 Dec 13;10:31.
11. Chiu CJ, Taylor A. Dietary hyperglycemia, glycemic index and metabolic retinal diseases. *Prog Retin Eye Res.* 2011 Jan;30(1):18-53.
12. Cohen LH, Noell WK. Glucose catabolism of rabbit retina before and after development of visual function. *J Neurochem.* 1960 May;5:253-76.
13. Krebs HA. The Pasteur effect and the relations between respiration and fermentation. *Essays Biochem.* 1972;8:1-34.
14. Winkler BS. Glycolytic and oxidative metabolism in relation to retinal function. *J Gen Physiol.* 1981 Jun;77(6):667-92.

15. Ames A 3rd, Li YY, Heher EC, Kimble CR. Energy metabolism of rabbit retina as related to function: high cost of Na⁺ transport. *J Neurosci.* 1992 Mar;12(3):840–53.
16. Wang L, Kondo M, Bill A. Glucose metabolism in cat outer retina. Effects of light and hyperoxia. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1997 Jan;38(1):48–55.
17. Winkler BS, Arnold MJ, Brassell MA, Puro DG. Energy metabolism in human retinal Muller cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 41(10) : 3183–3190, 2000
18. Perissiou M, Borkoles E, Kobayashi K, Polman R. The Effect of an 8 Week Prescribed Exercise and Low-Carbohydrate Diet on Cardiorespiratory Fitness, Body Composition and Cardiometabolic Risk Factors in Obese Individuals: A Randomised Controlled Trial. *Nutrients.* 2020 Feb 14;12(2):482.
19. Harrison's Principles of Internal Medicine, 20th. ed. Author: Jameson, et. al. Publisher: McGraw-Hill. Publish Year: 2018. ISBN 978-1259644030
20. Jarrett SG, Boulton ME. Consequences of oxidative stress in age-related macular degeneration. *Mol Aspects Med.* 2012;33(4):399–417.
21. Li X, Cai Y, Wang YS, Shi YY. Hyperglycaemia exacerbates choroidal neovascularisation in mice via the oxidative stress-induced activation of STAT3 signalling in RPE cells. *PLoS One.* 2012;7(10):e47600.
22. Tokarz P, Kaarniranta K, Blasiak J. Role of antioxidant enzymes and small molecular

weight antioxidants in the pathogenesis of age-related macular degeneration (AMD).
Biogerontology. 2013 Oct;14(5):461–82.

23. 吉村長久. 加齡黃斑變性 第2版 医学書院 2016年03月 ISBN, 978-4-260-02448-8

24. Dwight JG, Weng CY, Coffee RE, Pawlowski ME, Tkaczyk TS. Hyperspectral Image Mapping Spectrometry for Retinal Oximetry Measurements in Four Diseased Eyes. *Int Ophthalmol Clin*. 2016;56(4):25–38.

25. Geirsdottir A, Hardarson SH, Olafsdottir OB, Stefánsson E. Retinal oxygen metabolism in exudative age-related macular degeneration. *Acta Ophthalmol*. 2014 Feb;92(1):27–33.

26. Yanase S, Suda H, Yasuda K, Ishii N. Impaired p53/CEP-1 is associated with lifespan extension through an age-related imbalance in the energy metabolism of *C. elegans*. *Genes Cells*. 2017 Dec;22(12):1004–1010.

27. Yanase S, Yasuda K, Ishii N. Monitoring Age-Related Changes in the Lactate/Pyruvate Ratio Using a Colorimetric Assay in a *C. elegans* Model of Increased Life Span. *Methods Mol Biol*. 2019;1916:123–132.

図の説明

図 1. 解糖系代謝と TCA 回路の模式図.

文献 8 より改変.

図 2. 尿中のピルビン酸塩濃度 ($\mu\text{g}/\text{mg}$ クレアチニン)

対照群 (25 例), 白内障群 (25 例), AMD 群 (25 例) の 3 群間での比較をボックスプロットにて表示する. (A) は平均濃度, (B) は基準値 (正常値) に対する増加率を示す. エラーバーの長さは最大値から最小値の範囲を表す. ボックスの下側が第一四分位数, 上側が第三四分位数, ボックスの上から下までの範囲は四分位範囲を示す. ボックス外の値は外れ値を示す. (X) は平均値を示す. 尿中のピルビン酸塩濃度は AMD 群で最も高く, 次に白内障群, 対照群の順番である. 3 群間に有意差を認める.

図 3. 乳酸塩濃度 ($\mu\text{g}/\text{mg}$ クレアチニン)

対照群 (25 例), 白内障群 (25 例), AMD 群 (25 例) の 3 群間での比較をボックスプロットにて表示する. (A) は平均濃度, (B) は基準値 (正常値) に対する増加率を示す. エラーバーの長さは最大値から最小値の範囲を表す. ボックスの下側が第一四分位数, 上側が第三四分位数, ボックスの上から下までの範囲は四分位範囲を示す. ボックス外の値は外れ値を示す. (X) は平均値を示す. 尿中の乳酸塩濃度は AMD 群で最も高く, 次に白内障群, 対照群の順番である. 3 群間に有意差を認める.

図 4. α -ヒドロキシ酪酸塩濃度 ($\mu\text{g}/\text{mg}$ クレアチニン)

対照群 (25 例), 白内障群 (25 例), AMD 群 (25 例) の 3 群間での比較をボックスプロットにて表示する. (A) は平均濃度, (B) は基準値 (正常値) に対する増加率を示す. 図の表記は図 2 と同様. 尿中の α -ヒドロキシ酪酸塩濃度は対照群で最も高く, 次に白内障群, AMD の順番である. 3 群間に有意差は認めない.

図 5. β -ヒドロキシ酪酸塩濃度 ($\mu\text{g}/\text{mg}$ クレアチニン)

対照群 (25 例), 白内障群 (25 例), AMD 群 (25 例) の 3 群間での比較をボックスプロットにて表示する. (A) は平均濃度, (B) は基準値 (正常値) に対する増加率を示す. 図の表記は図 2 と同様. 尿中 β -ヒドロキシ酪酸塩濃度は対照群で最も高く, 次に白内障群, AMD 群の順番である. 3 群間に有意差を認める.

図 6. 乳酸塩/ピルビン酸塩の比率の 3 群間での比較.

対照群 (25 例), 白内障群 (25 例), AMD 群 (25 例) の 3 群間での比較をボックスプロットにて表示する. 図の表記は図 2 と同様. 乳酸塩/ピルビン酸塩の比率は AMD 群で最も高く, 次に白内障群, 対照群の順番である. 3 群間に有意差を認める.

図 7. AMD 群における乳酸塩濃度 ($\mu\text{g}/\text{mg}$ クレアチニン) の比較.

AMD 群を視力不良群 (n=9, 視力 : 0.01-0.09), 視力中等度群 (n=9, 視力 : 0.1-0.5), 視力良好群 (n=7, 視力 : 0.6-1.0) の 3 群に分けた. 3 群間での比較をボックスプロットにて表示する.

図の表記は図 2 と同様。尿中の乳酸塩濃度は視力不良群で最も高く，次に視力中等度群，視力良好群の順番である。視力不良群は視力良好群よりも有意に乳酸塩濃度が高い。

英文抄録

Background: Glycolytic metabolism is involved in oxidative stress that induces and progresses aging. In this study, the urinary concentrations of lactate and pyruvate produced by glycolysis were measured to investigate glycolytic metabolism in age-related macular degeneration (AMD).

Methods: The subjects were 25 controls, 25 patients with cataract, and 25 patients with untreated AMD. The concentrations of 4 organic acids (pyruvate, lactate, α -hydroxybutyrate, β -hydroxybutyrate) and creatinine in the urine sample collected on an empty stomach were measured.

Results: The pyruvate concentration ($\mu\text{g}/\text{mg}$ creatinine, mean \pm standard deviation) was highest in the AMD group (6.53 ± 3.94), followed by the cataract group (4.16 ± 3.74) and the control group (1.65 ± 0.85). The lactate concentration was also highest in the AMD group (11.47 ± 14.94), followed by the cataract group (6.57 ± 12.43) and the control group (1.12 ± 1.28). There were significant differences among the 3 groups (pyruvate, $p < 0.001$ and lactate, $p = 0.009$). The concentration of α -hydroxybutyrate was in the control group (2.00 ± 2.72), cataract group (1.30 ± 1.37), and AMD group (0.86 ± 0.96), and the concentration of β -hydroxybutyrate was in the control group (1.21 ± 2.09), cataract group (0.53 ± 0.48), and AMD group (0.27 ± 0.27), which was the

lowest in the AMD group. The lactate / pyruvate ratio was in the control group (1.1 ± 2.5), cataract group (2.7 ± 6.3), and AMD group (3.8 ± 6.6), which was highest in the AMD group.

Conclusions: In the urine of AMD patients, there was an increase in pyruvate and lactate produced by the reduction of pyruvate. A high rate of lactate / pyruvate suggests a decrease in ATP production in glycolysis. The suppression of glycolytic metabolism may be involved in the onset and progression of AMD.

表 1 患者の背景因子

	対照群	白内障群	AMD 群	p 値
症例数	25	25	25	
年齢 (年)	74.7 ± 8.4	72.0 ± 8.8	74.4 ± 9.4	0.519
性別 (女性/男性)	12/13	10/15	10/15	0.804
屈折値 (D)	-0.9 ± 2.2	-0.6 ± 1.7	0.4 ± 1.9	0.079
LogMAR 視力	0.11 ± 0.13	0.32 ± 0.17	0.67 ± 0.62	<0.001
全身疾患				
高血圧 (%)	12 (48.0%)	11 (44.0%)	12 (48.0%)	0.948
糖尿病 (%)	4 (16.0%)	5 (20.0%)	1 (4.0%)	0.223
高脂血症 (%)	4 (16.0%)	5 (20.0%)	2 (8.0%)	0.474
心疾患 (%)	2 (8.0%)	4 (16.0%)	1 (4.0%)	0.332
腎疾患	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	-
肝疾患	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	-
脳疾患	0 (0.0%)	1 (4.0%)	0 (0.0%)	0.363
日常的なアルコール摂取				
喫煙	5 (20.0%)	8 (32.0%)	5 (20.0%)	0.518
眼疾患				
緑内障	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	-
糖尿病網膜症	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	-