(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号

特許第6526570号
(P6526570)

(45)発行日　令和1年6月12日(2019.6.12)　(24)登録日　令和1年5月17日(2019.5.17)

(51)Int.Cl.		F I		
A61K 31/336	(2006.01)	A61K	31/336	
A61P 9/10	(2006.01)	A61P	9/10	
A61P 35/00	(2006.01)	A61P	35/00	
A61P 27/02	(2006.01)	A61P	27/02	
A61P 43/00	(2006.01)	A61P	43/00	１０５

請求項の数 14　(全 46 頁)　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2015-552772 (P2015-552772)
(86)(22)出願日　平成26年1月9日 (2014.1.9)
(65)公表番号　特表2016-505016 (P2016-505016A)
(43)公表日　平成28年2月18日 (2016.2.18)
(86)国際出願番号　PCT/US2014/010880
(87)国際公開番号　WO2014/110261
(87)国際公開日　平成26年7月17日 (2014.7.17)
審査請求日　平成28年12月14日 (2016.12.14)
(31)優先権主張番号　61/751,617
(32)優先日　平成25年1月11日 (2013.1.11)
(33)優先権主張国　米国(US)

(73)特許権者　511140770
マサチューセッツ　アイ　アンド　イヤー　インファーマリー
アメリカ合衆国　マサチューセッツ　０２１１４，　ボストン，　チャールズ　ストリート　２４３
(74)代理人　100092783
弁理士　小林　浩
(74)代理人　100120134
弁理士　大森　規雄
(74)代理人　100104282
弁理士　鈴木　康仁

最終頁に続く

(54)【発明の名称】炎症及び血管形成を減少させるＣＹＰ４５０脂質メタボライト

(57)【特許請求の範囲】
【請求項１】
１７，１８－ＥＥＱおよび／または１９，２０－ＥＤＰを含む、対象者における血管新生の抑制あるいは血管新生のリスクの減少のための医薬組成物。
【請求項２】
血管後退を生じさせる、請求項１に記載の組成物。
【請求項３】
前記対象者が、血管新生に関連する眼の疾患を有する、請求項１または２に記載の組成物。
【請求項４】
前記眼の疾患が、角膜、網膜、脈絡膜、ブドウ膜あるいは虹彩の血管新生に関連する、請求項３に記載の組成物。
【請求項５】
前記血管新生に関連する眼の疾患が加齢性黄斑変性である、請求項３に記載の組成物。
【請求項６】
前記血管新生に関連する眼の疾患がシュタルガルト病である、請求項３に記載の組成物。
【請求項７】
前記血管新生に関連する眼の疾患が網膜疾患である、請求項３に記載の組成物。
【請求項８】

前記網膜疾患が、未熟児網膜症（ＲＯＰ）、糖尿病性網膜症、網膜静脈閉塞症、鎌状赤血球網膜症及び放射線網膜症からなる群から選択される、請求項７に記載の組成物。
【請求項９】
眼球への局所投与または非経口投与のための、請求項３に記載の組成物。
【請求項１０】
角膜、網膜、ガラス体液、ブドウ膜、眼球孔、眼瞼、結膜または虹彩への、あるいは、その近くへの局所注入のための、請求項９に記載の組成物。
【請求項１１】
１９，２０－ＥＤＰを含む、癌の治療のための医薬組成物。
【請求項１２】
１７，１８－ＥＥＱおよび／または１９，２０－ＥＤＰを含む、関節炎の治療のための医薬組成物。
【請求項１３】
１７，１８－ＥＥＱおよび／または１９，２０－ＥＤＰを含む、対象者における血管透過性の減少あるいは血管透過性上昇のリスクの減少のための医薬組成物。
【請求項１４】
１７，１８－ＥＥＱおよび／または１９，２０－ＥＤＰを含む、血管透過性上昇に関連する卒中の治療のための医薬組成物。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
連邦政府によって支援された研究または開発
本発明は、国立衛生研究所が付与したＧｒａｎｔＮｏｓ．Ｒ０１ＥＹ０２２０８４－０１／Ｓ１、Ｔ３２ＥＹ００７１４５及びＰ３０ＥＹ０１４１０４の下、政府の支援で行われた。政府は、本発明に特定の権利を持つ。
【０００２】
本発明は、例えば、オメガ３長鎖多価不飽和脂肪酸（ω－３ＬＣＰＵＦＡ）由来の一つ以上のエポキシメタボライトを含む医薬組成物を投与することによって、対象者における血管形成を抑制する、あるいは退行させる、炎症及び血管形成の抑制方法に関する。この医薬組成物は、例えば、エポキシドコサペンタエン酸（ＥＤＰ）の類似体（例えば、７，８－ＥＤＰ、１０，１１－ＥＤＰ、１３，１４－ＥＤＰ、１６，１７－ＥＤＰ、１９，２０－ＥＤＰ）を含むドコサヘキサエン酸（ＤＨＡ）のチトクロームＰ４５０（ＣＹＰ）誘導エポキシメタボライト、及び／またはエポキシエイコサカトラエン酸（ＥＥＱ）の類似体（例えば、８，９－ＥＥＱ、１１，１２－ＥＥＱ、１４，１５－ＥＥＱ、１７，１８－ＥＥＱ）、例えば、１７，１８－エポキシエイコサテトラエン酸（ＥＥＱ）及び１９，２０－エポキシドコサペンタエン酸（ＥＤＰ）の一方または両方を含むエイコサペンタエン酸（ＥＰＡ）のＣＹＰ誘導エポキシメタボライト、オプションとして医薬的に許容可能な担体を含む。この方法は、例えば加齢性黄斑変性、糖尿病性網膜症及び癌などの眼の病状、卒中や癌を含む血管透過性上昇に関連する病状、そして例えば関節炎などの炎症に関連する病状を含む、炎症や過剰血管形成または血管新生に関連する病状の治療に使用できる。

【背景技術】
【０００３】
加齢性黄斑変性（ＡＭＤ）は、先進工業国における初老の人々の、失明の主要な原因であり[1及び2]、２０２０年までに、５０％増加することが予測されている[3]。ＡＭＤの予防または治療に長期に渡って安全な、栄養学的な、あるいは薬理学的な新しい対策が緊急に必要である。
【発明の概要】
【０００４】

本発明は、炎症を鎮静化させるのに、新生血管後退を引き起こすのに、及び、血管からの漏れを減少させるのに、ω－３ＬＣＰＵＦＡ由来の生理活性脂質メタボライトが有効であるという発見に、少なくとも部分的に基づいている。

【０００５】

したがって、第一の態様における本発明は、対象者における血管新生に関連する疾患の治療方法、あるいはその疾患の危険性の抑制方法を提供する。この方法は、例えば表Ａにリストされた、例えば、１７，１８－ＥＥＱ及び／または１９，２０－ＥＤＰ等の、ドコサヘキサエン酸（ＤＨＡ）及びエイコサペンタエン酸（ＥＰＡ）の一つ以上のエポキシメタボライト及び医薬的に許容可能な担体を含む医薬組成物を、治療的に有効な量で投与することを含む。いくつかの実施形態における組成物は、１７，１８－ＥＥＱ及び／または１９，２０－ＥＤＰを含む。例えば、実質的に精製された１７，１８－ＥＥＱ及び／または１９，２０－ＥＤＰを含む。いくつかの実施形態における組成物は、唯一の活性成分として、ドコサヘキサエン酸（ＤＨＡ）及びエイコサペンタエン酸（ＥＰＡ）の一つ以上のエポキシメタボライト、例えば表Ａにリストされたもの、例えば、１７，１８－ＥＥＱ及び／または１９，２０－ＥＤＰ、から実質的になるか、または、からなり、例えば、他の活性成分を含まない。

【０００６】

いくつかの実施形態における疾患は、血管新生に関連する眼の疾患であり、例えば、角膜、網膜、脈絡膜、ブドウ膜または虹彩血管新生に関係する。いくつかの実施形態における血管新生に関連する眼の疾患は、例えば、血管新生ＡＭＤまたは萎縮性ＡＭＤ等の、加齢性黄斑変性であり、治療は血管後退を生ずる。いくつかの実施形態における血管新生に関連する眼の疾患は、網膜疾患またはシュタルガルト病である。いくつかの実施形態における網膜疾患は、未熟児網膜症（ＲＯＰ）、糖尿病性網膜症、網膜静脈閉塞症、鎌状赤血球網膜症及び放射線網膜症からなる群から選択される。いくつかの実施形態における投与は、眼球への局所投与、すなわち非経口投与である。いくつかの実施形態における投与は、角膜、網膜、ガラス体液、葡萄膜、眼球孔、眼瞼、結膜または虹彩への、または、その近くへの局所注入による。

いくつかの実施形態における疾患は、癌である。

【０００７】

もう一つの態様においては、本発明は、対象者における炎症に関連する疾患の治療方法、または、その危険性の抑制方法を提供する。この方法は、ω－３ＬＣＰＵＦＡの一つ以上のエポキシメタボライトを含む医薬組成物を、治療的に有効な量で投与することを含む。この医薬組成物は、例えば表Ａにリストされた、例えば、１７，１８－ＥＥＱ及び／または１９，２０－ＥＤＰ、及び医薬的に許容可能な担体を含む。いくつかの実施形態における組成物は、１７，１８－ＥＥＱ及び／または１９，２０－ＥＤＰを含む。例えば、実質的に精製された１７，１８－ＥＥＱ及び／または１９，２０－ＥＤＰを含む。いくつかの実施形態における疾患は、関節炎である。

【０００８】

さらにもう一つの態様においては、本発明は、対象者における血管からの漏れに関連する疾患の治療方法、または、そのリスクの抑制方法を提供する。この方法は、ω－３ＬＣＰＵＦＡの一つ以上のエポキシメタボライトを含む医薬組成物を、治療的に有効な量で投与することを含む。この医薬組成物は、例えば表Ａにリストされた、例えば、１７，１８－ＥＥＱ及び／または１９，２０－ＥＤＰ、及び医薬的に許容可能な担体を含む。いくつかの実施形態における疾患は、卒中である。

【０００９】

追加の態様において、本発明は、対象者における血管新生に関連する疾患を治療するために、対象者における血管新生に関連する疾患を治療するために、及び対象者における血

管新生に関連する疾患を治療するために、例えば表Ａにリストされた、例えば、１７，１８－ＥＥＱ及び／または１９，２０－ＥＤＰ等の、ドコサヘキサエン酸（ＤＨＡ）及びエイコサペンタエン酸（ＥＰＡ）のエポキシメタボライトの使用を提供する。いくつかの実施形態における組成物は、１７，１８－ＥＥＱ及び／または１９，２０－ＥＤＰを含み、例えば、実質的に精製された１７，１８－ＥＥＱ及び／または１９，２０－ＥＤＰを含む。

【００１０】

いくつかの実施形態における疾患は、血管新生に関連する眼の疾患であり、例えば、角膜、網膜、脈絡膜、ブドウ膜または虹彩血管新生に関連する。いくつかの実施形態における血管新生に関連する眼の疾患は、例えば、血管新生ＡＭＤまたは萎縮性ＡＭＤ等の、加齢性黄斑変性であり、治療は血管後退を生ずる。いくつかの実施形態における血管新生に関連する眼の疾患は、網膜疾患またはシュタルガルト病である。いくつかの実施形態における網膜疾患は、未熟児網膜症（ＲＯＰ）、糖尿病性網膜症、網膜静脈閉塞症、鎌状赤血球網膜症及び放射線網膜症からなる群から選択される。いくつかの実施形態における投与は、眼球への局所投与、すなわち非経口投与である。いくつかの実施形態における投与は、角膜、網膜、ガラス体液、葡萄膜、眼球孔、眼瞼、結膜または虹彩への、または、その近くへの局所注入による。

いくつかの実施形態における疾患は、癌、卒中または関節炎である。

【００１１】

本方法においては、例えば表Ａにリストされた、例えば、１７，１８－エポキシエイコサテトラエン酸（ＥＥＱ）及び１９，２０－エポキシドコサペンタエン酸（ＥＤＰ）の一方または両方の、オメガ３長鎖多価不飽和脂肪酸（ω－３ＬＣＰＵＦＡ）のエポキシメタボライトを「投与する」ことは、エポキシメタボライト自体を、対象者へ送達することを意味し、対象者内でのエポキシメタボライトへのω－３ＬＣＰＵＦＡの生体内変換を含まない。いくつかの実施形態における化合物は、例えば、少なくとも２０％の純度に、実質的に精製されるため、上記方法は、全活性化合物に対して重量比で少なくとも２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％または９０％の純度の医薬組成物を投与することを含むことができる。

【００１２】

特に別の方法で定義されない限り、本文中で用いるすべての技術的及び科学的な用語は、本発明が属する技術における当業者が一般に理解すると同じ意味を持つ。本発明に用いるものとして、方法及び物質を本文中に説明する。本技術において既知である他の、適切な方法及び物質を使用することもできる。物質、方法及び実施例は、説明目的のためだけのものであり、制限することを意図していない。本文中で言及するすべての公報、特許出願、特許、シーケンス、データベース・エントリと記載の他の参考文献は、参照により全文が援用される。矛盾がある場合、定義を含め本明細書が優先することになる。

【００１３】

本発明の他の特徴及び効果については、次の詳細説明及び図面から、また、請求項から明らかになる。

【図面の簡単な説明】

【００１４】

この特許または出願ファイルは、カラーで描いた少なくとも一枚の図面を含む。カラー図面を含むこの特許または特許出願公報のコピーは、特許庁へ要請し必要な料金を支払うことで得ることができる。

【図１Ａ】ω－３ＬＣＰＵＦＡの食餌摂取は、ＣＮＶを減衰させる。Ａ．ω－６ＬＣＰＵＦＡ（各々、ｎ＝６１及び６９の病変）またはω－３ＬＣＰＵＦＡ（各々、ｎ＝６３及び６５の病変）を高めた食餌を与えたマウスにおける、脈絡膜平坦マウント・プレパラートを蛍光イソレクチンＢ４で染色して査定した、ＣＮＶ誘発５日後及び７日後の病変サイズ。データは、平均値±標準誤差である。***Ｐ＜０．００１。

【図１Ｂ】ω－３ＬＣＰＵＦＡの食餌摂取は、ＣＮＶを減衰させる。Ｂ．Ａで定量化されたＣＮＶ病変の代表的な染色。スケール・バー、５０μｍ。
【図１Ｃ】ω－３ＬＣＰＵＦＡの食餌摂取は、ＣＮＶを減衰させる。Ｃ．ω－６ＬＣＰＵＦＡ食餌（各々、ｎ＝６０及び５３の病変）またはω－３ＬＣＰＵＦＡ食餌（各々、ｎ＝６４及び５５の病変）を与えたマウスにおける、ＣＮＶ誘発５日後及び７日後のＳＤ－ＯＣＴによって定量化した病変の断面積。データは、平均値±標準誤差である。***Ｐ＜０．００１。
【図１Ｄ】ω－３ＬＣＰＵＦＡの食餌摂取は、ＣＮＶを減衰させる。Ｄ．ｃで定量化された（赤い点線で境界を定めた）ＣＮＶ病変の代表的なＳＤ－ＯＣＴ画像。スケール・バー、５０μｍ。
【図１Ｅ】ω－３ＬＣＰＵＦＡの食餌摂取は、ＣＮＶを減衰させる。Ｅ．ω－６ＬＣＰＵＦＡ食餌（各日、ｎ＝７２病変）またはω－３ＬＣＰＵＦＡ食餌（各々、ｎ＝９６及び８０の病変）を与えられたマウスにおける、ＣＮＶ誘発５日後及び７日後の病変のフルオレセイン・アンジオグラフィー。病変は、フルオレセイン漏出の時空間的展開に基づき、順序尺度で等級分けした。
【図１Ｆ】ω－３ＬＣＰＵＦＡの食餌摂取は、ＣＮＶを減衰させる。Ｆ．Ｅで定量化された代表的なフルオレセイン血管造影画像。
【図２Ａ】血清中のモノエポキシドのプロフィールに対するω－３ＬＣＰＵＦＡ食餌摂取の影響。（Ａ～Ｃ）ＡＡ（Ａ）、ＥＰＡ（Ｂ）及びＤＨＡ（Ｃ）由来の脂肪酸プロフィールを、ω－６またはω－３ＬＣＰＵＦＡを高めた食餌を与えたマウスのＣＮＶ誘発後７日に、血清（ｎ＝８）に対して判定した。データは、平均値±標準誤差である。*Ｐ＜０．０５、**Ｐ＜０．０１、***Ｐ＜０．００１。（左パネル）ＣＮＶ解消を行うために使用した遺伝子学的及び薬理学的ツールの概略図。略語：ＤＨＥＴ、ジヒドロキシエイコサトリエン酸。ＥＥＴ、エポキシエイコサトリエン酸。ＤＨＥＱ、ジヒドロキシエイコサカトラエン酸。ＥＥＱ、エポキシエイコサテトラエン酸。ＤＨＤＰ、ジヒドロキシ・ドコサペンタエン酸。ＥＤＰ、エポキシドコサペンタエン酸。すべての量的データは、平均値±標準誤差である。
【図２Ｂ】血清中のモノエポキシドのプロフィールに対するω－３ＬＣＰＵＦＡ食餌摂取の影響。（Ａ～Ｃ）ＡＡ（Ａ）、ＥＰＡ（Ｂ）及びＤＨＡ（Ｃ）由来の脂肪酸プロフィールを、ω－６またはω－３ＬＣＰＵＦＡを高めた食餌を与えたマウスのＣＮＶ誘発後７日に、血清（ｎ＝８）に対して判定した。データは、平均値±標準誤差である。*Ｐ＜０．０５、**Ｐ＜０．０１、***Ｐ＜０．００１。（左パネル）ＣＮＶ解消を行うために使用した遺伝子学的及び薬理学的ツールの概略図。略語：ＤＨＥＴ、ジヒドロキシエイコサトリエン酸。ＥＥＴ、エポキシエイコサトリエン酸。ＤＨＥＱ、ジヒドロキシエイコサカトラエン酸。ＥＥＱ、エポキシエイコサテトラエン酸。ＤＨＤＰ、ジヒドロキシ・ドコサペンタエン酸。ＥＤＰ、エポキシドコサペンタエン酸。すべての量的データは、平均値±標準誤差である。
【図２Ｃ】血清中のモノエポキシドのプロフィールに対するω－３ＬＣＰＵＦＡ食餌摂取の影響。（Ａ～Ｃ）ＡＡ（Ａ）、ＥＰＡ（Ｂ）及びＤＨＡ（Ｃ）由来の脂肪酸プロフィールを、ω－６またはω－３ＬＣＰＵＦＡを高めた食餌を与えたマウスのＣＮＶ誘発後７日に、血清（ｎ＝８）に対して判定した。データは、平均値±標準誤差である。*Ｐ＜０．０５、**Ｐ＜０．０１、***Ｐ＜０．００１。（左パネル）ＣＮＶ解消を行うために使用した遺伝子学的及び薬理学的ツールの概略図。略語：ＤＨＥＴ、ジヒドロキシエイコサトリエン酸。ＥＥＴ、エポキシエイコサトリエン酸。ＤＨＥＱ、ジヒドロキシエイコサカトラエン酸。ＥＥＱ、エポキシエイコサテトラエン酸。ＤＨＤＰ、ジヒドロキシ・ドコサペンタエン酸。ＥＤＰ、エポキシドコサペンタエン酸。すべての量的データは、平均値±標準誤差である。
【図２Ｄ】網膜内におけるモノエポキシドのプロフィールに対するω－３ＬＣＰＵＦＡ食餌摂取の影響。（Ｄ～Ｆ）ＡＡ（Ｄ）、ＥＰＡ（Ｅ）及びＤＨＡ（Ｆ）由来の脂肪酸プロフィールを、ω－６またはω－３ＬＣＰＵＦＡを高めた食餌を与えたマウスのＣＮＶ誘発

後７日に、網膜（ｎ＝７）に対して判定した。*Ｐ＜０．０５、**Ｐ＜０．０１。すべての量的データは、平均値±標準誤差である。
【図２Ｅ】網膜内におけるモノエポキシドのプロフィールに対するω－３ＬＣＰＵＦＡ食餌摂取の影響。（Ｄ～Ｆ）ＡＡ（Ｄ）、ＥＰＡ（Ｅ）及びＤＨＡ（Ｆ）由来の脂肪酸プロフィールを、ω－６またはω－３ＬＣＰＵＦＡを高めた食餌を与えたマウスのＣＮＶ誘発後７日に、網膜（ｎ＝７）に対して判定した。*Ｐ＜０．０５、**Ｐ＜０．０１。すべての量的データは、平均値±標準誤差である。
【図２Ｆ】網膜内におけるモノエポキシドのプロフィールに対するω－３ＬＣＰＵＦＡ食餌摂取の影響。（Ｄ～Ｆ）ＡＡ（Ｄ）、ＥＰＡ（Ｅ）及びＤＨＡ（Ｆ）由来の脂肪酸プロフィールを、ω－６またはω－３ＬＣＰＵＦＡを高めた食餌を与えたマウスのＣＮＶ誘発後７日に、網膜（ｎ＝７）に対して判定した。*Ｐ＜０．０５、**Ｐ＜０．０１。すべての量的データは、平均値±標準誤差である。
【図３Ａ】ω－３由来のＣＹＰ－エイコサノイドは、レーザーによって誘発されたＣＮＶを抑制する。通常のＰｕｒｉｎａ固形飼料を与えたマウスに、ＣＮＶ誘発の直後から、１７，１８－ＥＥＱまたは１９，２０－ＥＤＰの腹腔内注射を毎日行った。（Ａ及びＥ）ω－６またはω－３ＬＣＰＵＦＡを高めた食餌を与えたマウスで、ＣＮＶ誘発後７日に、ＬＣ－ＭＳ／ＭＳによって判定した１７，１８－ＤＨＥＱ＋ＥＥＱ（Ａ）及び１９，２０－ＤＨＤＰ＋ＥＤＰ（Ｅ）の血清中濃度。データは、平均値±標準誤差である（ｎ＝８）。**Ｐ＜０．０１、***Ｐ＜０．００１。
【図３Ｂ】ω－３由来のＣＹＰ－エイコサノイドは、レーザーによって誘発されたＣＮＶを抑制する。通常のＰｕｒｉｎａ固形飼料を与えたマウスに、ＣＮＶ誘発の直後から、１７，１８－ＥＥＱまたは１９，２０－ＥＤＰの腹腔内注射を毎日行った。（Ｂ及びＦ、頂部）通常の食餌を与えて、（Ｂ）ビヒクル（ｎ＝２７）を、または１７，１８－ＥＥＱを、５μｇ／ｋｇ／日（ｎ＝２７）あるいは５０μｇ／ｋｇ／日（ｎ＝２６）、または（Ｆ）ビヒクル（ｎ＝３０）、または１９，２０－ＥＤＰを、５μｇ／ｋｇ／日（ｎ＝２６）または５０μｇ／ｋｇ／日（ｎ＝２５）腹膜内に注入したマウスに対する、脈絡膜平坦マウント・プレパラートを蛍光イソレクチンＢ４で染色して査定した、ＣＮＶ誘発後７日での病変サイズ。データは、平均値±標準誤差である。†††Ｐ＜０．００１。ＮＳは、ビヒクルを注入したマウスの対応値に比較して、有意なものではないことを示す。上部に定量化したＣＮＶ病変の代表的な染色（底部パネル）。スケール・バー、５０μｍ。
【図３Ｃ】ω－３由来のＣＹＰ－エイコサノイドは、レーザーによって誘発されたＣＮＶを抑制する。通常のＰｕｒｉｎａ固形飼料を与えたマウスに、ＣＮＶ誘発の直後から、１７，１８－ＥＥＱまたは１９，２０－ＥＤＰの腹腔内注射を毎日行った。（Ｃ及びＧ、頂部）通常の食餌を与えて、（Ｃ）ビヒクル（ｎ＝５２）、または１７，１８－ＥＥＱを、５μｇ／ｋｇ／日（ｎ＝５８）あるいは５０μｇ／ｋｇ／日（ｎ＝５０）、または（Ｇ）ビヒクル（ｎ＝５７）、あるいは１９，２０－ＥＤＰを、５μｇ／ｋｇ／日（ｎ＝５７）または５０μｇ／ｋｇ／日（ｎ＝５８）注入したマウスにおける、ＣＮＶ誘発後７日での、ＳＤ－ＯＣＴによって定量化した病変の断面積。データは、平均値±標準誤差であり、†Ｐ＜０．０５、†††Ｐ＜０．００１で、ビヒクルを注入したマウスの対応値に比較したものである。上部に定量化した（赤い点線で境界を定めた）ＣＮＶ病変の代表的なＳＤ－ＯＣＴ画像（底部パネル）。スケール・バー、５０μｍ。
【図３Ｄ】ω－３由来のＣＹＰ－エイコサノイドは、レーザーによって誘発されたＣＮＶを抑制する。通常のＰｕｒｉｎａ固形飼料を与えたマウスに、ＣＮＶ誘発の直後から、１７，１８－ＥＥＱまたは１９，２０－ＥＤＰの腹腔内注射を毎日行った。（Ｄ及びＨ、頂部）通常の食餌を与えて、（Ｄ）ビヒクル（ｎ＝７６）、または１７，１８－ＥＥＱを、５μｇ／ｋｇ／日（ｎ＝７２）あるいは５０μｇ／ｋｇ／日（ｎ＝６５）、または（Ｈ）ビヒクル（ｎ＝７６）、あるいは１９，２０－ＥＤＰを、５μｇ／ｋｇ／日（ｎ＝７３）または５０μｇ／ｋｇ／日（ｎ＝６４）腹膜内に注入したマウスにおける、ＣＮＶ誘発後７日での、病変のフルオレセイン・アンジオグラフィー。上部に定量化した代表的なフルオレセイン血管造影画像（底部パネル）。

【図３Ｅ】ω－３由来のＣＹＰ－エイコサノイドは、レーザーによって誘発されたＣＮＶを抑制する。通常のＰｕｒｉｎａ固形飼料を与えたマウスに、ＣＮＶ誘発の直後から、１７，１８－ＥＥＱまたは１９，２０－ＥＤＰの腹腔内注射を毎日行った。（Ａ及びＥ）ω－６またはω－３ＬＣＰＵＦＡを高めた食餌を与えたマウスで、ＣＮＶ誘発後７日に、ＬＣ－ＭＳ／ＭＳによって判定した１７，１８－ＤＨＥＱ＋ＥＥＱ（Ａ）及び１９，２０－ＤＨＤＰ＋ＥＤＰ（Ｅ）の血清中濃度。データは、平均値±標準誤差である（ｎ＝８）。**Ｐ＜０．０１、***Ｐ＜０．００１。

【図３Ｆ】ω－３由来のＣＹＰ－エイコサノイドは、レーザーによって誘発されたＣＮＶを抑制する。通常のＰｕｒｉｎａ固形飼料を与えたマウスに、ＣＮＶ誘発の直後から、１７，１８－ＥＥＱまたは１９，２０－ＥＤＰの腹腔内注射を毎日行った。（Ｂ及びＦ、頂部）通常の食餌を与えて、（Ｂ）ビヒクル（ｎ＝２７）を、または１７，１８－ＥＥＱを、５μｇ／ｋｇ／日（ｎ＝２７）あるいは５０μｇ／ｋｇ／日（ｎ＝２６）、または（Ｆ）ビヒクル（ｎ＝３０）、または１９，２０－ＥＤＰを、５μｇ／ｋｇ／日（ｎ＝２６）または５０μｇ／ｋｇ／日（ｎ＝２５）腹膜内に注入したマウスに対する、脈絡膜平坦マウント・プレパラートを蛍光イソレクチンＢ４で染色して査定した、ＣＮＶ誘発後７日での病変サイズ。データは、平均値±標準誤差である。†††Ｐ＜０．００１。ＮＳは、ビヒクルを注入したマウスの対応値に比較して、有意なものではないことを示す。上部に定量化したＣＮＶ病変の代表的な染色（底部パネル）。スケール・バー、５０μｍ。

【図３Ｇ】ω－３由来のＣＹＰ－エイコサノイドは、レーザーによって誘発されたＣＮＶを抑制する。通常のＰｕｒｉｎａ固形飼料を与えたマウスに、ＣＮＶ誘発の直後から、１７，１８－ＥＥＱまたは１９，２０－ＥＤＰの腹腔内注射を毎日行った。（Ｃ及びＧ、頂部）通常の食餌を与えて、（Ｃ）ビヒクル（ｎ＝５２）、または１７，１８－ＥＥＱを、５μｇ／ｋｇ／日（ｎ＝５８）あるいは５０μｇ／ｋｇ／日（ｎ＝５０）、または（Ｇ）ビヒクル（ｎ＝５７）、あるいは１９，２０－ＥＤＰを、５μｇ／ｋｇ／日（ｎ＝５７）または５０μｇ／ｋｇ／日（ｎ＝５８）注入したマウスにおける、ＣＮＶ誘発後７日での、ＳＤ－ＯＣＴによって定量化した病変の断面積。データは、平均値±標準誤差であり、†Ｐ＜０．０５、†††Ｐ＜０．００１で、ビヒクルを注入したマウスの対応値に比較したものである。上部に定量化した（赤い点線で境界を定めた）ＣＮＶ病変の代表的なＳＤ－ＯＣＴ画像（底部パネル）。スケール・バー、５０μｍ。

【図３Ｈ】ω－３由来のＣＹＰ－エイコサノイドは、レーザーによって誘発されたＣＮＶを抑制する。通常のＰｕｒｉｎａ固形飼料を与えたマウスに、ＣＮＶ誘発の直後から、１７，１８－ＥＥＱまたは１９，２０－ＥＤＰの腹腔内注射を毎日行った。（Ｄ及びＨ、頂部）通常の食餌を与えて、（Ｄ）ビヒクル（ｎ＝７６）、または１７，１８－ＥＥＱを、５μｇ／ｋｇ／日（ｎ＝７２）あるいは５０μｇ／ｋｇ／日（ｎ＝６５）、または（Ｈ）ビヒクル（ｎ＝７６）、あるいは１９，２０－ＥＤＰを、５μｇ／ｋｇ／日（ｎ＝７３）または５０μｇ／ｋｇ／日（ｎ＝６４）腹膜内に注入したマウスにおける、ＣＮＶ誘発後７日での、病変のフルオレセイン・アンジオグラフィー。上部に定量化した代表的なフルオレセイン血管造影画像（底部パネル）。

【図４Ａ】ω－３ＬＣＰＵＦＡ食餌による、レーザーによって誘発されたＣＮＶにおけるＰＰＡＲγ発現及び活性のアップレギュレーション。（Ａ）ω－６またはω－３ＬＣＰＵＦＡを与えたマウスにおける、ＣＮＶ誘発後７日での、網膜及び脈絡膜内のＰｐａｒγｍＲＮＡのリアルタイムＰＣＲ分析。データは、平均値±標準誤差である（ｎ＝３）。*Ｐ＜０．０５。

【図４Ｂ】ω－３ＬＣＰＵＦＡ食餌による、レーザーによって誘発されたＣＮＶにおけるＰＰＡＲγ発現及び活性のアップレギュレーション。（Ｂ）ω－６またはω－３ＬＣＰＵＦＡを与えたマウスにおける、ＣＮＶ誘発後７日での、網膜及び脈絡膜内のＰＰＡＲγの免疫ブロット分析。

【図４Ｃ】ω－３ＬＣＰＵＦＡ食餌による、レーザーによって誘発されたＣＮＶにおけるＰＰＡＲγ発現及び活性のアップレギュレーション。（Ｃ）（Ｂ）のものに類似する免疫ブロット（ｎ＝６）におけるＰＰＡＲγの定量化。データは、豊富なβ－アクチン（ロー

ディング管理）に対して正規化されたものの平均値±標準誤差である。*Ｐ＜０．０５。
【図４Ｄ】ω－３ＬＣＰＵＦＡ食餌による、レーザーによって誘発されたＣＮＶにおけるＰＰＡＲγ発現及び活性のアップレギュレーション。（Ｄ）ω－６またはω－３ＬＣＰＵＦＡを与えたマウスにおけるＣＮＶ誘発後７日での網膜の核抽出物内のＰＰＡＲγ活性を、酵素結合免疫吸着測定法（ＥＬＩＳＡ）で判定した。データは、４５０ｎｍ（A_{450}）での吸光度として表現された平均値±標準誤差である（ｎ＝６）。***Ｐ＜０．００１。
【図４Ｅ】ω－３ＬＣＰＵＦＡ食餌による、レーザーによって誘発されたＣＮＶにおけるＰＰＡＲγ発現及び活性のアップレギュレーション。（ＥからＧ）マウスに、レーザーによってＣＮＶを誘発する前の２週間、高ω－３ＬＣＰＵＦＡまたは高ω－６ＬＣＰＵＦＡの食餌を与えた。（Ｅ）ＣＮＶ誘発から、ω－３ＬＣＰＵＦＡで処置し、ＰＰＡＲγ－阻害剤ＧＷ９６６２またはビヒクル（各々、ｎ＝５０及び５０の病変）のいずれかを注入したマウス、及び、対照標準（ｎ＝７３）としての役割を果たすω－６ＬＣＰＵＦＡを食べてビヒクル注入を受けたマウスにおける、ＣＮＶ誘発後７日での病変サイズを、脈絡膜平坦マウント・プレパラートを蛍光イソレクチンＢ４で染色することによって査定した。データは、平均値±標準誤差であり、††Ｐ＜０．０１で、ビヒクルを注入したω－６ＬＣＰＵＦＡでのマウスに対する対応値に比較したものである。§Ｐ＜０．０５で、ビヒクルを注入したω－３ＬＣＰＵＦＡでのマウスに対する対応値に比較したものである。上部に定量化したＣＮＶ病変の代表的な染色（底部パネル）。スケール・バー、５０μｍ。
【図４Ｆ】ω－３ＬＣＰＵＦＡ食餌による、レーザーによって誘発されたＣＮＶにおけるＰＰＡＲγ発現及び活性のアップレギュレーション。（ＥからＧ）マウスに、レーザーによってＣＮＶを誘発する前の２週間、高ω－３ＬＣＰＵＦＡまたは高ω－６ＬＣＰＵＦＡの食餌を与えた。（Ｆ）ＣＮＶ誘発から、ω－３ＬＣＰＵＦＡで処置し、ＰＰＡＲγ－阻害剤ＧＷ９６６２あるいはビヒクル（各々、ｎ＝３６及び５６の病変）のいずれかを注入したマウス、または、対照標準（ｎ＝６９）として用いたω－６ＬＣＰＵＦＡを食べビヒクルの注入を受けたマウスにおける、ＣＮＶ誘発後７日での、ＳＤ－ＯＣＴによって定量化された病変の断面積。データは、平均値±標準誤差であり、†††Ｐ＜０．００１で、ビヒクルを注入したω－６ＬＣＰＵＦＡでのマウスに対する対応値に比較したものである。§§§Ｐ＜０．００１で、ビヒクルを注入したω－３ＬＣＰＵＦＡでのマウスに対する対応値に比較したものである。底部に定量化した（赤い点線で境界を定めた）ＣＮＶ病変の代表的なＳＤ－ＯＣＴ画像。スケール・バー、５０μｍ。
【図４Ｇ】ω－３ＬＣＰＵＦＡ食餌による、レーザーによって誘発されたＣＮＶにおけるＰＰＡＲγ発現及び活性のアップレギュレーション。（ＥからＧ）マウスに、レーザーによってＣＮＶを誘発する前の２週間、高ω－３ＬＣＰＵＦＡまたは高ω－６ＬＣＰＵＦＡの食餌を与えた。（Ｇ）ＣＮＶ誘発から、ω－３ＬＣＰＵＦＡで処置し、ＰＰＡＲγ－阻害剤ＧＷ９６６２あるいはビヒクル（各々、ｎ＝５６及び５６の病変）のいずれかを注入したマウス、または対照標準（ｎ＝８０）として用いたω－６ＬＣＰＵＦＡを食べビヒクルの注入を受けたマウスにおける、ＣＮＶ誘発後７日での、病変のフルオレセイン・アンジオグラフィー。病変は、フルオレセイン漏出の時空間的展開に基づき、順序尺度で等級分けした。底部に定量化した代表的なフルオレセイン血管造影画像。
【図４Ｈ】ω－３ＬＣＰＵＦＡ食餌による、レーザーによって誘発されたＣＮＶにおけるＰＰＡＲγ発現及び活性のアップレギュレーション。（Ｈ）ＣＮＶ誘発から、ω－３ＬＣＰＵＦＡで処置し、ＰＰＡＲγ－阻害剤ＧＷ９６６２あるいはビヒクルのいずれかを注入したマウス、及び対照標準として用いたω－６ＬＣＰＵＦＡを食べビヒクル注入を受けたマウスにおける、ＣＮＶ誘発後７日での、網膜の核抽出物内のＰＰＡＲγ活性を、ＥＬＩＳＡで判定した。データは、４５０ｎｍ（A_{450}）での吸光度として表現された平均値±標準誤差である（ｎ＝６）。†Ｐ＜０．０５であり、ビヒクルを注入したω－６ＬＣＰＵＦＡでのマウスに対する対応値に比較したものである。§§§Ｐ＜０．００１であり、ビヒクルを注入したω－３ＬＣＰＵＦＡでのマウスに対する対応値に比較したものである。‡Ｐ＜０．０５であり、ビヒクルを注入したω－６ＬＣＰＵＦＡでのマウスに対する対

応値に比較したものである。
【図４Ｉ】接着分子のダウンレギュレーションは、レーザー誘発ＣＮＶの、ω－３ＬＣＰＵＦＡ食餌による抑制に関連している。（Ｉ及びＪ）ω－６またはω－３ＬＣＰＵＦＡ（ｎ＝３）を与えたマウスにおける、ＣＮＶ誘発後７日での、網膜及び脈絡膜内のＩｃａｍ－１（Ｉ）及びＥ－セレクチン（Ｊ）ｍＲＮＡのリアルタイムＰＣＲ分析。ｎ．ｄは、検出されないことを示す。
【図４Ｊ】接着分子のダウンレギュレーションは、レーザー誘発ＣＮＶの、ω－３ＬＣＰＵＦＡ食餌による抑制に関連している。（Ｉ及びＪ）ω－６またはω－３ＬＣＰＵＦＡ（ｎ＝３）を与えたマウスにおける、ＣＮＶ誘発後７日での、網膜及び脈絡膜内のＩｃａｍ－１（Ｉ）及びＥ－セレクチン（Ｊ）ｍＲＮＡのリアルタイムＰＣＲ分析。ｎ．ｄは、検出されないことを示す。
【図４Ｋ】接着分子のダウンレギュレーションは、レーザー誘発ＣＮＶの、ω－３ＬＣＰＵＦＡ食餌による抑制に関連している。（Ｋ及びＬ）ω－６またはω－３ＬＣＰＵＦＡを与えたマウス（ｎ＝３）における、ＣＮＶ誘発後７日での、網膜及び脈絡膜内のＶｃａｍ－１（Ｋ）及びＰ－セレクチン（Ｌ）ｍＲＮＡのリアルタイムＰＣＲ分析。すべてのデータは、平均値±標準誤差である。
【図４Ｌ】接着分子のダウンレギュレーションは、レーザー誘発ＣＮＶの、ω－３ＬＣＰＵＦＡ食餌による抑制に関連している。（Ｋ及びＬ）ω－６またはω－３ＬＣＰＵＦＡを与えたマウス（ｎ＝３）における、ＣＮＶ誘発後７日での、網膜及び脈絡膜内のＶｃａｍ－１（Ｋ）及びＰ－セレクチン（Ｌ）ｍＲＮＡのリアルタイムＰＣＲ分析。すべてのデータは、平均値±標準誤差である。
【図４Ｍ】接着分子のダウンレギュレーションは、レーザー誘発ＣＮＶの、ω－３ＬＣＰＵＦＡ食餌による抑制に関連している。（Ｍ及びＮ）ω－６またはω－３ＬＣＰＵＦＡを与えたマウス（ｎ＝４）における、ＣＮＶ誘発後の指定時間での、脈絡膜内のＩＣＡＭ－１（Ｍ）及びＥ－セレクチン（Ｎ）量のＥＬＩＳＡベースの分析。すべてのデータは、平均値±標準誤差である。*Ｐ＜０．０５、**Ｐ＜０．０１、***Ｐ＜０．００１。
【図４Ｎ】接着分子のダウンレギュレーションは、レーザー誘発ＣＮＶの、ω－３ＬＣＰＵＦＡ食餌による抑制に関連している。（Ｍ及びＮ）ω－６またはω－３ＬＣＰＵＦＡを与えたマウス（ｎ＝４）における、ＣＮＶ誘発後の指定時間での、脈絡膜内のＩＣＡＭ－１（Ｍ）及びＥ－セレクチン（Ｎ）量のＥＬＩＳＡベースの分析。すべてのデータは、平均値±標準誤差である。*Ｐ＜０．０５、**Ｐ＜０．０１、***Ｐ＜０．００１。
【図５Ａ】ω－６またはω－３ＬＣＰＵＦＡを与えたマウスに対する接着分子のダウンレギュレーション、流動状態下の白血球行動の定量分析、及び、細胞表面上へのＣＤ１１ｂ及びＣＤ１８発現。（Ａ）脈絡網膜セクションにおけるＣＮＶ病変の代表的なイソレクチンＢ４染色。赤破線は、レーザー・キャプチャー顕微解剖によって単離させる試料の境界を示す。スケール・バー、５０μｍ。
【図５Ｂ】ω－６またはω－３ＬＣＰＵＦＡを与えたマウスに対する接着分子のダウンレギュレーション、流動状態下の白血球行動の定量分析、及び、細胞表面上へのＣＤ１１ｂ及びＣＤ１８発現。（Ｂ及びＣ）ω－６またはω－３ＬＣＰＵＦＡを与えたマウスにおける、ＣＮＶ誘発後７日での、レーザー・キャプチャーされたＣＮＶ病変内のＩｃａｍ－１（Ｂ）及びＥ－セレクチン（Ｃ）ｍＲＮＡのリアルタイムＰＣＲ分析。データは、平均値±標準誤差である（ｎ＝３）。**Ｐ＜０．０１。
【図５Ｃ】ω－６またはω－３ＬＣＰＵＦＡを与えたマウスに対する接着分子のダウンレギュレーション、流動状態下の白血球行動の定量分析、及び、細胞表面上へのＣＤ１１ｂ及びＣＤ１８発現。（Ｂ及びＣ）ω－６またはω－３ＬＣＰＵＦＡを与えたマウスにおける、ＣＮＶ誘発後７日での、レーザー・キャプチャーされたＣＮＶ病変内のＩｃａｍ－１（Ｂ）及びＥ－セレクチン（Ｃ）ｍＲＮＡのリアルタイムＰＣＲ分析。データは、平均値±標準誤差である（ｎ＝３）。**Ｐ＜０．０１。
【図５Ｄ】ω－６またはω－３ＬＣＰＵＦＡを与えたマウスに対する接着分子のダウンレギュレーション、流動状態下の白血球行動の定量分析、及び、細胞表面上へのＣＤ１１ｂ

及びＣＤ１８発現。（Ｄ～Ｆ）ω－６（Ｄのためにｎ＝６、Ｆのためにｎ＝７）またはω－３（Ｄのためにｎ＝６、Ｆのためにｎ＝５）ＬＣＰＵＦＡを与えたマウスにおける、ＣＮＶ誘発後３日での、Ｐ－セレクチン及びＩＣＡＭ－１（Ｄ及びＥ、頂部）の両方で被覆したチャンバー、またはＰ－セレクチン被覆チャンバー（Ｆ、頂部）内における白血球回転速度の累積度数。ω－３ＬＣＰＵＦＡを与え、ＰＰＡＲγ－阻害剤ＧＷ９６６２（ｎ＝４）あるいはビヒクル（ｎ＝３）のいずれかを注入したマウスにおける、ＣＮＶ誘発後３日での、Ｐ－セレクチン及びＩＣＡＭ－１（Ｅ、頂部）で被覆したチャンバー内における白血球回転速度の累積度数。１０秒間に渡って追跡した個々の白血球の代表的なオーバレイ（Ｄ～Ｆ、底部）。

【図５Ｅ】ω－６またはω－３ＬＣＰＵＦＡを与えたマウスに対する接着分子のダウンレギュレーション、流動状態下の白血球行動の定量分析、及び、細胞表面上へのＣＤ１１ｂ及びＣＤ１８発現。（Ｄ～Ｆ）ω－６（Ｄのためにｎ＝６、Ｆのためにｎ＝７）またはω－３（Ｄのためにｎ＝６、Ｆのためにｎ＝５）ＬＣＰＵＦＡを与えたマウスにおける、ＣＮＶ誘発後３日での、Ｐ－セレクチン及びＩＣＡＭ－１（Ｄ及びＥ、頂部）の両方で被覆したチャンバー、またはＰ－セレクチン被覆チャンバー（Ｆ、頂部）内における白血球回転速度の累積度数。ω－３ＬＣＰＵＦＡを与え、ＰＰＡＲγ－阻害剤ＧＷ９６６２（ｎ＝４）あるいはビヒクル（ｎ＝３）のいずれかを注入したマウスにおける、ＣＮＶ誘発後３日での、Ｐ－セレクチン及びＩＣＡＭ－１（Ｅ、頂部）で被覆したチャンバー内における白血球回転速度の累積度数。１０秒間に渡って追跡した個々の白血球の代表的なオーバレイ（Ｄ～Ｆ、底部）。

【図５Ｆ】ω－６またはω－３ＬＣＰＵＦＡを与えたマウスに対する接着分子のダウンレギュレーション、流動状態下の白血球行動の定量分析、及び、細胞表面上へのＣＤ１１ｂ及びＣＤ１８発現。（Ｄ～Ｆ）ω－６（Ｄのためにｎ＝６、Ｆのためにｎ＝７）またはω－３（Ｄのためにｎ＝６、Ｆのためにｎ＝５）ＬＣＰＵＦＡを与えたマウスにおける、ＣＮＶ誘発後３日での、Ｐ－セレクチン及びＩＣＡＭ－１（Ｄ及びＥ、頂部）の両方で被覆したチャンバー、またはＰ－セレクチン被覆チャンバー（Ｆ、頂部）内における白血球回転速度の累積度数。ω－３ＬＣＰＵＦＡを与え、ＰＰＡＲγ－阻害剤ＧＷ９６６２（ｎ＝４）あるいはビヒクル（ｎ＝３）のいずれかを注入したマウスにおける、ＣＮＶ誘発後３日での、Ｐ－セレクチン及びＩＣＡＭ－１（Ｅ、頂部）で被覆したチャンバー内における白血球回転速度の累積度数。１０秒間に渡って追跡した個々の白血球の代表的なオーバレイ（Ｄ～Ｆ、底部）。

【図５Ｇ】ω－６またはω－３ＬＣＰＵＦＡを与えたマウスに対する接着分子のダウンレギュレーション、流動状態下の白血球行動の定量分析、及び、細胞表面上へのＣＤ１１ｂ及びＣＤ１８発現。（Ｇ及びＨ、左）ω－６（各々、ｎ＝６及び３）またはω－３（各々、ｎ＝６及び４）ＬＣＰＵＦＡを与えたマウスにおける、ＣＮＶ誘発後３日での、ＰＢＬ上のＣＤ１１ｂ（Ｇ）及びＣＤ１８（Ｈ）発現のフローサイトメトリー解析。（Ｇ及びＨ、右）代表的な幾何平均蛍光強度値（平均値±標準誤差）を示す。*Ｐ＜０．０５。

【図５Ｈ】ω－６またはω－３ＬＣＰＵＦＡを与えたマウスに対する接着分子のダウンレギュレーション、流動状態下の白血球行動の定量分析、及び、細胞表面上へのＣＤ１１ｂ及びＣＤ１８発現。（Ｇ及びＨ、左）ω－６（各々、ｎ＝６及び３）またはω－３（各々、ｎ＝６及び４）ＬＣＰＵＦＡを与えたマウスにおける、ＣＮＶ誘発後３日での、ＰＢＬ上のＣＤ１１ｂ（Ｇ）及びＣＤ１８（Ｈ）発現のフローサイトメトリー解析。（Ｇ及びＨ、右）代表的な幾何平均蛍光強度値（平均値±標準誤差）を示す。*Ｐ＜０．０５。

【図５Ｉ】ω－６またはω－３ＬＣＰＵＦＡを与えたマウスに対する、流動状態下での白血球行動の定量分析。（Ｉ及びＪ）Ｐ－セレクチン（Ｉ）で、またはＰ－セレクチンとＩＣＡＭ－１との組合せ（Ｊ）で被覆したチャンバー内で、視野（ＦＯＶ）当たりの相互作用する白血球の数。データは、平均値±標準誤差である（ｎ＝１０）。

【図５Ｊ】ω－６またはω－３ＬＣＰＵＦＡを与えたマウスに対する、流動状態下での白血球行動の定量分析。（Ｉ及びＪ）Ｐ－セレクチン（Ｉ）で、またはＰ－セレクチンとＩＣＡＭ－１との組合せ（Ｊ）で被覆したチャンバー内で、視野（ＦＯＶ）当たりの相互作

用する白血球の数。データは、平均値±標準誤差である（ｎ＝１０）。
【図６Ａ】ω－３ＬＣＰＵＦＡ食餌処置は、ＣＮＶ病変内へのマクロファージ侵入を抑制する。（Ａ）ω－６またはω－３ＬＣＰＵＦＡを高めた食餌を与えたマウスにおける、ＣＮＶ誘発後７日での、網膜平坦マウント・プレパラート内の網膜の背面におけるＣＮＶ病変内へのマクロファージ（ＧＦＰ＋細胞）侵入の定量化。プレパラートは、特に単核細胞、樹状細胞及び小膠細胞内にＧＦＰを強調発現させる特徴のあるＣｘ３ｃｒ１$^{ＧＦＰ／＋}$マウスから準備し、内皮細胞を検出するために、イソレクチンＢ４で染色した（マゼンタ色の蛍光）。データは、ω－６またはω－３ＬＣＰＵＦＡを与えたマウス各々の、１５及び１３の病変に対する平均値±標準誤差である。***Ｐ＜０．００１。
【図６Ｂ】ω－３ＬＣＰＵＦＡ食餌処置は、ＣＮＶ病変内へのマクロファージ侵入を抑制する。（Ｂ）（Ａ）のように検査した、脈絡膜の平坦マウント・プレパラートのＣＮＶ病変内へのマクロファージ侵入の定量化。データは、ω－６またはω－３ＬＣＰＵＦＡを与えたマウス各々の、１５及び１３の病変に対する平均値±標準誤差である。**Ｐ＜０．０１。
【図６Ｃ】ω－６またはω－３ＬＣＰＵＦＡを与えたマウスに対する白血球の表現型分析。（Ｃ）ω－６（ｎ＝８）またはω－３（ｎ＝８）ＬＣＰＵＦＡを与えたマウスにおける、ＣＮＶ誘発後３日での、網膜あるいは脈絡膜内のＣｘ３ｃｒ１陽性細胞カウント。
【図６Ｄ】ω－６またはω－３ＬＣＰＵＦＡを与えたマウスに対する白血球の表現型分析。（Ｄ）ω－６（ｎ＝８）またはω－３（ｎ＝８）ＬＣＰＵＦＡを与えたマウスにおける、ＣＮＶ誘発後３日での、網膜あるいは脈絡膜内の炎症性マクロファージ（Ｍφ；ＣＤ１１５＋Ｌｙ－６Ｃ－）及びＬｙ－６Ｃ高単核細胞（ＣＤ１１５＋Ｌｙ－６Ｃ＋）に用いられるゲーティング戦略を図示するＦＡＣＳプロット。
【図６Ｅ】ω－６またはω－３ＬＣＰＵＦＡを与えたマウスに対する白血球の表現型分析。（Ｅ）ω－６（ｎ＝８）またはω－３（ｎ＝８）ＬＣＰＵＦＡを与えたマウスにおける、ＣＮＶ誘発後３日での、網膜あるいは脈絡膜内のＬｙ－６Ｃ低マクロファージ及びＬｙ－６Ｃ高単核細胞カウント。
【図６Ｆ】ω－６またはω－３ＬＣＰＵＦＡを与えたマウスに対する白血球の表現型分析。（Ｆ）ω－６（ｎ＝４）またはω－３（ｎ＝４）ＬＣＰＵＦＡを与えたマウスにおける、ＣＮＶ誘発後３日での、血液中のＣｘ３ｃｒ１陽性細胞カウント。
【図６Ｇ】ω－６またはω－３ＬＣＰＵＦＡを与えたマウスに対する白血球の表現型分析。（Ｇ）ω－６（ｎ＝４）またはω－３（ｎ＝４）ＬＣＰＵＦＡを与えたマウスにおける、ＣＮＶ誘発後３日での、血液中の炎症性マクロファージ（Ｍφ；ＣＤ１１５＋Ｌｙ－６Ｃ－）及びＬｙ－６Ｃ高単核細胞（ＣＤ１１５＋Ｌｙ－６Ｃ＋）に用いられるゲーティング戦略を図示するＦＡＣＳプロット。
【図６Ｈ】ω－６またはω－３ＬＣＰＵＦＡを与えたマウスに対する白血球の表現型分析。（Ｈ）ω－６（ｎ＝４）またはω－３（ｎ＝４）ＬＣＰＵＦＡを与えたマウスにおける、ＣＮＶ誘発後３日での、血液中のＬｙ－６Ｃ低マクロファージ及びＬｙ－６Ｃ高単核細胞カウント。
【図７Ａ】ω－３ＬＣＰＵＦＡ食餌処置は、網膜及び脈絡膜内のＶＥＧＦ発現を抑制する。（Ａ）ω－６またはω－３ＬＣＰＵＦＡを与えたマウスにおける、Ｖｅｇｆ－ａｍＲＮＡのリアルタイムＰＣＲ分析を、ＣＮＶ誘発後７日に行った。データは、平均値±標準誤差である（ｎ＝６）。
【図７Ｂ】ω－３ＬＣＰＵＦＡ食餌処置は、網膜及び脈絡膜内のＶＥＧＦ発現を抑制する。（Ｂ及びＣ）ω－６またはω－３ＬＣＰＵＦＡを与えたマウス（ｎ＝６）における、ＣＮＶ誘発後５日及び７日での、網膜（Ｂ）及び脈絡膜（Ｃ）内ＶＥＧＦレベルのＥＬＩＳＡ。データは、平均値±標準誤差である。**Ｐ＜０．０１。
【図７Ｃ】ω－３ＬＣＰＵＦＡ食餌処置は、網膜及び脈絡膜内のＶＥＧＦ発現を抑制する。（Ｂ及びＣ）ω－６またはω－３ＬＣＰＵＦＡを与えたマウス（ｎ＝６）における、ＣＮＶ誘発後５日及び７日での、網膜（Ｂ）及び脈絡膜（Ｃ）内ＶＥＧＦレベルのＥＬＩＳＡ。データは、平均値±標準誤差である。**Ｐ＜０．０１。

【図８】脈絡膜血管新生におけるＣＹＰ依存性脂質メタボライトの役割の提案。ＡＡ、ＤＨＡ及びＥＰＡは、ホスホリパーゼＡ２によって解放され、ヒドロキシラーゼまたはエポキシゲナーゼとして機能可能なＣＹＰ－ＮＡＤＰＨレダクターゼ複合体による変換を求めて競い合う。ＥＰＡ及びＤＨＡは、ＡＡを代謝させるＣＹＰイソ型及び還元されたＡＡ由来の１４，１５－ＥＥＴメタボライトに対する有効な代替サブストレートでありながら、ＥＰＡ由来の１７，１８－ＥＥＱ及びＤＨＡ由来の１９，２０－ＥＤＰメタボライトの両方を増加させる。ω－３ＬＣＰＵＦＡ由来のこれらのＣＹＰメタボライトは、炎症性病状及び脈管形成予兆病状を下方制御することによって、脈絡膜新生血管の溶解を促進する。
【図９Ａ】ＥＥＱ及びＥＤＰ由来のメタボライトは、これらの動物内における回転速度を増加させることによって、病変部位への動員を減少させる。（Ａ及びＣ）ＥＰＡ由来の１７，１８－ＥＥＱ及びＤＨＡ由来の１９，２０－ＥＤＰメタボライトは、回転を減少させた。
【図９Ｂ】ＥＥＱ及びＥＤＰ由来のメタボライトは、これらの動物内における回転速度を増加させることによって、病変部位への動員を減少させる。（Ｂ及びＤ）ＡＡ由来の８，９－ＥＥＴ、１１，１２－ＥＥＴ及び１４，１５－ＥＥＴメタボライトは、白血球回転を増加させた。
【図９Ｃ】ＥＥＱ及びＥＤＰ由来のメタボライトは、これらの動物内における回転速度を増加させることによって、病変部位への動員を減少させる。（Ａ及びＣ）ＥＰＡ由来の１７，１８－ＥＥＱ及びＤＨＡ由来の１９，２０－ＥＤＰメタボライトは、回転を減少させた。
【図９Ｄ】ＥＥＱ及びＥＤＰ由来のメタボライトは、これらの動物内における回転速度を増加させることによって、病変部位への動員を減少させる。（Ｂ及びＤ）ＡＡ由来の８，９－ＥＥＴ、１１，１２－ＥＥＴ及び１４，１５－ＥＥＴメタボライトは、白血球回転を増加させた。
【図９Ｅ】ＣＹＰメタボライトは、ＩＣＡＭリガンドに対して、異なる影響を及ぼす。（Ｅ～Ｈ）ＥＤＰは、末梢血白血球内のＣＤ１１ｂ（Ｅ及びＦ）を抑制するが、ＣＤ１８（Ｇ及びＨ）を抑制しない。
【図９Ｆ】ＣＹＰメタボライトは、ＩＣＡＭリガンドに対して、異なる影響を及ぼす。（Ｅ～Ｈ）ＥＤＰは、末梢血白血球内のＣＤ１１ｂ（Ｅ及びＦ）を抑制するが、ＣＤ１８（Ｇ及びＨ）を抑制しない。
【図９Ｇ】ＣＹＰメタボライトは、ＩＣＡＭリガンドに対して、異なる影響を及ぼす。（Ｅ～Ｈ）ＥＤＰは、末梢血白血球内のＣＤ１１ｂ（Ｅ及びＦ）を抑制するが、ＣＤ１８（Ｇ及びＨ）を抑制しない。
【図９Ｈ】ＣＹＰメタボライトは、ＩＣＡＭリガンドに対して、異なる影響を及ぼす。（Ｅ～Ｈ）ＥＤＰは、末梢血白血球内のＣＤ１１ｂ（Ｅ及びＦ）を抑制するが、ＣＤ１８（Ｇ及びＨ）を抑制しない。
【図９Ｉ】ＣＹＰメタボライトは、ＩＣＡＭリガンドに対して、異なる影響を及ぼす。（Ｉ～Ｌ）ＥＥＱは、末梢血白血球内のＣＤ１８（Ｋ及びＬ）を抑制するが、ＣＤ１１ｂ（Ｅ及びＦ）を抑制しない。
【図９Ｊ】ＣＹＰメタボライトは、ＩＣＡＭリガンドに対して、異なる影響を及ぼす。（Ｉ～Ｌ）ＥＥＱは、末梢血白血球内のＣＤ１８（Ｋ及びＬ）を抑制するが、ＣＤ１１ｂ（Ｅ及びＦ）を抑制しない。
【図９Ｋ】ＣＹＰメタボライトは、ＩＣＡＭリガンドに対して、異なる影響を及ぼす。（Ｉ～Ｌ）ＥＥＱは、末梢血白血球内のＣＤ１８（Ｋ及びＬ）を抑制するが、ＣＤ１１ｂ（Ｅ及びＦ）を抑制しない。
【図９Ｌ】ＣＹＰメタボライトは、ＩＣＡＭリガンドに対して、異なる影響を及ぼす。（Ｉ～Ｌ）ＥＥＱは、末梢血白血球内のＣＤ１８（Ｋ及びＬ）を抑制するが、ＣＤ１１ｂ（Ｅ及びＦ）を抑制しない。
【発明を実施するための形態】
【００１５】

前向き臨床試験は、ω－３長鎖不飽和脂肪酸（ＬＣＰＵＦＡ）の食餌摂取が、ＡＭＤに対する保護効果を持つ可能性を示唆している[4－7]。本文に示すように、ω－３ＬＣＰＵＦＡの食餌サプリメントは、血管新生ＡＭＤを明確に特徴づけたネズミ・モデルで、脈絡膜新生血管の溶解を促す。これらのマウスの血清脂質プロフィールは、抗炎症エイコサノイドドコサヘキサエン酸（ＤＨＡ）及びエイコサペンタエン酸（ＥＰＡ）、主要ω－３ＬＣＰＵＦＡが上昇している。チトクロームＰ４５０（ＣＹＰ）酵素は、これらのω－３ＬＣＰＵＦＡのエポキシ化に触媒作用を及ぼし、エイコサノイド、１７，１８－エポキシエイコサテトラエン酸（ＥＥＱ）及び１９，２０－エポキシドコサペンタエン酸（ＥＤＰ）を形成する。これらは、病気回復のキー脂質メディエーターとして識別されている。さらに、全身性炎症を弱めることで、ω－３ＬＣＰＵＦＡは、白血球ＣＤ１１ｂ及びＣＤ１８発現だけでなく内皮ＩＣＡＭ－１及びＥ－セレクチンをも下方制御することによって、疾患部位への白血球動員を抑制する。ω－３ＬＣＰＵＦＡ由来の生理活性脂質メタボライトは、ＡＭＤ病気回復に有望な治療的潜在能力を示す。

治療方法。

【００１６】

本文に説明する方法は、炎症及び／または血管形成、例えば血管新生に関連する疾患の治療方法を含む。いくつかの実施形態における疾患は、脈絡膜血管新生（ＣＮＶ）、例えば、ＡＭＤに関連する。いくつかの実施形態における疾患は、腫瘍血管新生、例えば、癌、眼球癌に関連する。加えて、本文に説明する方法は、炎症または「漏れやすい」脈管系、例えば、卒中あるいは関節炎に関連する疾患の治療方法を含む。概して、上記方法は、そのような治療を必要とする、あるいは必要であると診断された対象者へ、例えば、表Ａで示すように、本文で説明するω－３ＬＣＰＵＦＡのエポキシメタボライトを、治療的に有効な量で投与することを含む。いくつかの実施形態における方法は、そのような治療を必要とする、あるいは必要であると診断された対象者へ、治療に有効な量の１７，１８－ＥＥＱまたは１９，２０－ＥＤＰを投与することを含む。投与ルートの実施例は、例えば、静脈内、腹腔内、皮内、皮下などの非経口投与、局所的投与及び経口投与を含む。いくつかの実施形態においては、眼の病状の治療のために、眼内投与または、とりわけ、点眼液による投与を採用してもよい。

【００１７】

いくつかの実施形態における疾患は、血管の過度な形成から生じる。すなわち、不要部分への、例えば、網膜症などの眼球の無血管領域内への、または、例えば癌性あるいは良性腫瘍などの腫瘍内への血管形成である。例えば、眼の疾患は、網膜下に新しい血管が成長する加齢性黄斑変性（ＡＭＤ）、または網膜上に異常な血管が成長する例えば糖尿病性網膜症などの網膜疾患である。他の眼の疾患は、網膜疾患（例えば、未熟児網膜症（ＲＯＰ）、糖尿病性網膜症、網膜静脈閉塞、鎌状赤血球網膜症、シュタルガルト病、脈絡膜血管新生、放射線網膜症からなる群から選択）、微小血管障害、血管新生緑内障、角膜移植後拒絶反応、緑内障、疱疹性伝染性角膜炎、眼球虚血、血管新生緑内障、角膜、ブドウ膜及び虹彩血管新生、眼窩及び眼瞼腫瘍、スティーヴンズ・ジョンソン症候群、眼部瘢痕性類天疱瘡、創傷または他の傷害（例えば、刺激物、酸または塩基への曝露による化学的損傷）及び眼表面疾患を含む。疾患は、例えば、表面、角膜、網膜、脈絡膜、ブドウ膜または虹彩への血管新生に特徴づけることができる。

【００１８】

上記疾患は、例えば、原発癌または転移性癌あるいは良性腫瘍などの癌組織へ血液を送達する血管の形成から発症することもある。転移性腫瘍は、限定せずに、前立腺、大腸、肺、胸及び肝臓を起源とするものを含んで、多数の原発腫瘍タイプから発達する。

【００１９】

本文中で用いる用語「癌」、「高増殖性」及び「新生物形成」は、自律的増殖能力を持つ細胞に言及する。すなわち、急速に増殖する細胞増殖を特徴とする異常な状態または病状を意味する。高増殖性状態及び新生物疾患は、病状を特徴づける、あるいは構成する病的なものと、病状に関係のない、正常な状態からの逸脱である非病的なものとに分類して

もよい。上記用語は、転移組織または悪性形質転換細胞、組織あるいは器官、組織病理タイプまたは侵襲ステージに関係なく、すべてのタイプの癌性増殖または腫瘍形成プロセスを含むことを意図している。「病的高増殖性」細胞は、悪性腫瘍増殖を特徴とする病状において発生する。非病的高増殖性細胞の例は、創傷治癒に関連する細胞増殖を含む。したがって、上記方法は、創傷治癒中に無血管状態を維持するための、本文に説明する方法によって識別される化合物の投与を含む。この実施形態における疾患は、典型的に創傷であり、事故による創傷及び意図的な創傷（例えば、手術創）を含み、また、眼科的創傷及び傷害（例えば、刺激物、酸または塩基への曝露による化学的損傷）を含む。

【００２０】

いくつかの実施形態における疾患は、眼球の癌であり、例えば、眼瞼腫瘍、悪性眼瞼腫瘍、良性眼瞼腫瘍、基底細胞癌、扁平上皮癌、脂腺細胞癌、及び悪性黒色腫、結膜腫瘍、例えば、色素性結膜腫瘍、黒色腫及び異型性原発性後天性黒色症、鱗状結膜新形成、結膜リンパ腫、及びカポシ肉腫、虹彩腫瘍、例えば、虹彩黒色腫、虹彩着色上皮嚢胞、ブドウ膜前部転移、及び虹彩真珠嚢腫、浸潤性眼内腫瘍、例えば、多発性骨髄腫、リンパ腫及び白血病、脈絡膜腫瘍、例えば、脈絡膜黒色腫、脈絡膜転移、脈絡膜母斑、脈絡膜血管腫、脈絡膜骨腫、及び太田母斑、網膜腫瘍、例えば、網膜芽細胞腫、網膜色素上皮性腫瘍、網膜色素上皮肥大、フォン・ヒッペル血管腫、視神経腫瘍、例えば、褐色細胞腫、黒色腫、髄膜腫、乳頭周辺転移、眼窩腫瘍、例えば、リンパ管腫、海綿状血管腫、髄膜腫、粘液瘤、横紋筋肉腫、眼窩偽腫瘍、腺様嚢胞癌、幼児期の眼周囲血管腫、眼球付属器癌、例えば、腺様嚢胞癌や粘液表皮性上皮腫などの涙腺癌、及び転移性眼球腫瘍、例えば、転移性脈絡膜黒色腫、及び転移性網膜芽細胞腫である。

【００２１】

いくつかの実施形態における疾患は、例えば、脈管増殖眼球腫瘍（例えば、網膜毛細血管性血管腫などの新生物形成良性網膜脈管腫瘍、血管芽細胞腫、海綿状血管腫、蔓状血管腫（ワイバーン・メゾン症候群）、網膜血管増殖性腫瘍、及びフォン・ヒッペル・リンダウ（ＶＨＬ）病に関連する腫瘍、または限局性脈絡膜血管腫と散在性脈絡膜血管腫を含む脈絡膜脈管腫瘍）に関連する。例えば、Ｔｕｒｅｌｌ ａｎｄ Ｓｉｎｇｈ，Ｍｉｄｄｌｅ Ｅａｓｔ Ａｆｒ Ｊ Ｏｐｈｔｈａｌｍｏｌ．２０１０Ｊｕｌ－Ｓｅｐ；１７（３）：１９１－２００を参照。

【００２２】

この文脈で用いる「治療」は、血管新生を減少させることと、異常な血管形成に関連する少なくとも一つの症状を改善することを意味する。癌及び固形腫瘍の治療についての「治療」は、血管増殖を抑制することにより、腫瘍及び／または癌細胞に対して、腫瘍の増殖に必要な栄養分の欠乏に至らせることを含む。腫瘍及び増殖は、小さくなり、恐らく消失することになる。関節炎の症状を治療するための組成物の治療的に有効な量の投与は、軟骨、特に関節内の血管形成を減少させるため、これらの箇所における機動性及び柔軟性を向上させる。眼科的病状に対しては、本文で説明する組成物の治療的に有効な量の投与は、網膜内の無関係な血管形成を減少させるため、視野が遮られないことになる。癌などの疾患の治療においては、本文で説明する組成物の治療的に有効な量の投与は、血管の増殖及び／または更なる形成を抑制するため、発生する病変及び／または腫瘍の形成を妨げることになる。

【００２３】

加えて、疾患が卒中である場合、治療は、局所炎症の減少及び血管からの漏れを減少させる。疾患が関節炎である場合、治療は局所炎症を減少させる。

加齢性黄斑変性

【００２４】

進行型ＡＭＤは、「萎縮性」あるいは「血管新生」の特徴があり、前者は、外側網膜層の消失を示し、後者は、脈絡膜血管新生（ＣＮＶ）の存在を示す[8]。血管新生（または「湿った」）ＡＭＤは、ブルック膜の亀裂を通して外網膜の方へ、脈絡膜脈管系から成長する異常な血管の形成で定義される[1]。これらの血管は、本来、未熟であるため、網膜の下

に、または網膜内に流体を漏らす[9]。ＡＭＤの二つの形態は、一緒に生ずることもあり、細胞死及び線維神経膠置換の症状を共有することもある[10及び11]。血管新生ＡＭＤは、ＡＭＤケースの１０から１５％を占め、突然に発症し、急速に視力をかなりな程度奪ってしまう[9及び12]。成長因子が、血管新生ＡＭＤの進行の後期に重要な役割を演ずるように見えるが、それらは、疾患の遠因に寄与しているようではない。ＣＮＶを有する患者のケアの現在の標準は、親脈管形成及び浸透性分子、血管内皮成長因子Ａ（ＶＥＧＦ）を標的にすることを伴う[13から15]。しかし、抗ＶＥＧＦ療法は、血管透過及び血管形成を妨げるが、完全な血管後退には至らない[14]。さらに、ＶＥＧＦ拮抗剤の治療を受けた患者における相当な視野改善は、処置患者の３分の１のみに見られることで、６分の１は、未だに、法的に盲目と認められる状態へと進行する[13及び15]。したがって、ＡＭＤの治療と、理想的には予防のための、安全な栄養学的あるいは薬理学的処置の切迫した必要性がある。

血管透過性

【００２５】

図３Ｄ及び３Ｈに示すように、本文に説明するエポキシメタボライトは、血管透過性を減少させる。本文に説明する方法は、血管透過性を減少させるためにも使用できる。血管透過は、高度な血管癌及び卒中に関連していることが示されている。これらの病状に見られる血管からの漏れには、本文で説明するモデルに見られるものと類似の特徴がある。例えば、Ｌｅｅ ｅｔ ａｌ．，Ｓｔｒｏｋｅ．２００７；３８：３２８９－３２９１（卒中）、Ｌｉｎ ｅｔ ａｌ．，ＡＪＮＲ Ａｕｇｕｓｔ ２００７ ２８：１２９２－１２９８、Ｃａｏ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ Ｓｅｐｔｅｍｂｅｒ １，２００６ ６６（癌）、８９１２を参照。

炎症

【００２６】

図９Ａ～９Ｌに示すように、本文に説明するエポキシメタボライトの投与は、ＣＮＶ中、全体的な白血球動員を減少させて、炎症を減少させる。したがって、本文に説明する方法は、関節炎を含む炎症に関連する病状を治療するこれらの化合物の使用を含み、対象者の全体的な炎症を減少させる。

ω－３ＬＣＰＵＦＡのエポキシメタボライト。

【００２７】

ω－３及びω－６ＬＣＰＵＦＡは、網膜内で高度に高められて、対抗性生理的影響を及ぼす２種類の食餌脂質である。ω－３ＬＣＰＵＦＡは、抗血栓性で抗炎症性を有し、ＣＹＰ、シクロオキシゲナーゼ及びリポキシゲナーゼ・レベルで、下流のエイコサノイド合成を、ω－６ＬＣＰＵＦＡと争う[16]。哺乳動物は、新規にこれらの分子を合成する酵素を欠いているので、ＬＣＰＵＦＡの食餌摂取に依存する。ω－６ＬＣＰＵＦＡは、西洋型の食事に見られる主要な多価不飽和脂肪酸である。ω－３ＬＣＰＵＦＡによる食餌富化は、癌及び網膜症で起こる病的血管新生に対する保護を提供することが示された[16～22]。前向き臨床試験は、ω－３ＬＣＰＵＦＡ食餌が、ＡＭＤからの保護を提供する可能性を示唆した[4及び5]。進行型ＡＭＤを発症するリスクが中から高程度の１８３７人の参加者に対する前向きコホート研究において、ω－３ＬＣＰＵＦＡの最高摂取量（中央値で全エネルギー摂取量の０．１１％）を報告した人々は、１２年間に渡って、彼らの仲間に比べ、３０％発症し難かった[7]。

栄養学的ＡＭＤ治療２（ＮＡＴ２）は、特に、ＤＨＡサプリメントと、ＣＮＶの病的進展におけるそれの役割を査定した。この二重盲検で、ランダムな、平行比較トライアルでは、一つの眼球内に血管新生ＡＭＤを有する患者が、３年に渡って経口ＤＨＡまたはプラセボの投与を受け、そして被験眼球におけるＣＮＶ発生時期の査定を受けた（Ｓｏｕｉｅｄ ｅｔ ａｌ．，ＯＰＨＴＨＡ，１２０（８）：１６１９－１６３１（２０１３））。高ＥＰＡプラスＤＨＡレベルを受けた患者では、その３年間、ＣＮＶ進展に関して有意な減少（－６８％）があることが観察された。これらのデータは、これらの分子が強力な抗血管新生特性を持つことを示す。網膜ＬＣＰＵＦＡ組織の状態は食餌摂取に依存し、また

、西洋型の食事ではω－３ＬＣＰＵＦＡ摂取量が比較的に低いことを考慮して、本発明者は、これらの栄養分が、血管新生ＡＭＤに対する合理的な治療的処置になると仮定した。

【００２８】

興味深いことには、ＮＩＨ主導の加齢性眼疾患研究２（ＡＲＥＤＳ２）は、ω－３ＬＣＰＵＦＡ食餌サプリメントからの、疾病進行に対する保護効果を発見しなかった（ＧＡ及びＣＮＶの両方）（Ｔｈｅ Ａｇｅ－Ｒｅｌａｔｅｄ Ｅｙｅ Ｄｉｓｅａｓｅ Ｓｔｕｄｙ２（ＡＲＥＤＳ２）Ｒｅｓｅａｒｃｈ Ｇｒｏｕｐ／Ｃｈｅｗ ｅｔ ａｌ．，ＪＡＭＡ：ｔｈｅ Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ ｔｈｅ Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｍｅｄｉｃａｌ Ａｓｓｏｃｉａｔｉｏｎ，３０９（１９）：２００５－２０１５（２０１３））。ＡＲＥＤＳ２における補足ＤＨＡ（網膜内の主要なω－３）の用量は、ＮＡＴ２研究のものよりも著しく低かった（Ｓｏｕｉｅｄ ｅｔ ａｌ．，（２０１３））。このことは、サプリメント用量がＣＮＶの結果に重要であることを示唆している。そのうえ、ＡＲＥＤＳ２におけるプラセボ群は、ＡＲＥＤＳ１調合物によっても補足されたので、本当のプラセボを与えられたとは言えない。最後に、ＡＲＥＤＳ２におけるＧＡ及びＣＮＶは、疾病進行の診断用マーカーとして使用された。ＣＮＶに対するこれらの脂質の影響は、直接的には研究されなかった４５。注釈として、ＮＡＴ２研究の患者は、また、サプリメントに関係なく、それでもＧＡが進行した（Ｓｏｕｉｅｄ ｅｔ ａｌ．，（２０１３））。全体的に最高レベルのＤＨＡ／ＥＰＡを持つＮＡＴ２の患者には、ＣＮＶへの進行に関して有意な減少（６８％）があった（Ｓｏｕｉｅｄ ｅｔ ａｌ．，（２０１３））。この興味深い発見は、これらの食餌脂質が脈管系に真に影響を及ぼす、という見解をサポートする。

【００２９】

本開示は、レーザー誘発ＣＮＶのマウス・モデルにおいて、ω－３ＬＣＰＵＦＡの食餌摂取が、脈絡膜新生血管の溶解を促進させる経路を明らかにして、ω－３ＬＣＰＵＦＡのエポキシメタボライトの投与が、ＡＭＤに特徴的な血管新生を治療するのに有用であるということを示す。

【００３０】

本文に説明する方法は、例えば表Ａにリストされた、例えば、１７，１８－エポキシエイコサテトラエン酸（ＥＥＱ）及び１９，２０－エポキシドコサペンタエン酸（ＥＤＰ）の一方または両方の、オメガ３長鎖多価不飽和脂肪酸（ω－３ＬＣＰＵＦＡ）の一つ以上のエポキシメタボライトを含む組成物を投与することを含む。好適実施形態における化合物は、生体外で合成される。例えば、ＤＨＡまたはＥＰＡからの組換えＣＹＰ４５０を使用して生合成される。例えば、Ｌｕｃａｓ ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ｌｉｐｉｄ Ｒｅｓ．２０１０Ｍａｙ；５１（５）：１１２５－１１３３を参照。

【００３１】

本文に説明する方法は、例えば表Ａにリストされた、ω－３ＬＣＰＵＦＡの一つ以上のエポキシメタボライトを含む医薬組成物の使用を含むことができる。エポキシメタボライトは、１７，１８－ＥＥＱ及び／または１９，２０－ＥＤＰであることが好ましい。このような組成物は、典型的に、有効成分と医薬的に許容可能な担体を含む。本文で使用する用語「医薬的に許容可能な担体」は、食塩水などの希釈液、溶媒、分散媒、コーティング、抗菌剤及び抗真菌剤、等張剤及び吸収遅延剤などを含み、医薬投与に適切なものである。上記組成物には、例えば、一つ以上の抗ＶＥＧＦ剤などの補足活性化合物を統合させることもできる。

【００３２】

医薬組成物は、典型的に、意図する投与ルートに適合するよう調製される。投与ルートの実施例は、非経口投与、例えば、静脈内、腹腔内、皮内、皮下、オーラル（例えば、吸入）、経皮あるいは局所、経粘膜、及び直腸投与を含む。眼の病状の治療には、眼内投与、または点眼液を使用してもよい。例えば、Ｕ．Ｓ．Ｐａｔｅｎｔ７，５８２，７８５を参照。非経口、皮内、皮下投与で使用する溶液または懸濁液は、次の構成要素を含んでも

よい。例えば、注射用蒸留水、塩水溶液、不揮発性油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコールまたは他の合成溶剤などの無菌希釈液、例えば、ベンジルアルコールまたはメチル・パラベンなどの抗菌剤、例えば、アスコルビン酸または亜硫酸水素ナトリウムなどの抗酸化剤、エチレンジアミン四酢酸などのキレート剤、例えば、酢酸塩、クエン酸塩またはリン酸塩などの緩衝液、及び例えば、塩化ナトリウムまたはデキストロースなどの浸透圧調整剤。ｐＨは、例えば塩酸または水酸化ナトリウムなどの、酸または塩基で調節できる。非経口調製物は、ガラスまたはプラスチック製のアンプル、使い捨てシリンジまたは多回投与バイアルに封入することができる。

【００３３】

注射使用に適切な医薬組成物は、（水溶性のものに対しては）滅菌水性溶液または散布剤、及び、無菌の注射可能な溶液または散布剤を即席に準備するための無菌粉末を含む。静脈内投与に適切な担体は、生理的塩水、静菌水、クレモホルＥＬ（商標）（ＢＡＳＦ、Ｐａｒｓｉｐｐａｎｙ、ＮＪ）、リポソームまたはリン酸緩衝食塩液（ＰＢＳ）を含む。すべてのケースにおける組成物は、無菌でなければならない。また、注射が容易な程度に流動的でなければならない。製造及び貯蔵条件下で安定であるべきであり、また、例えばバクテリアや真菌などの微生物に汚染されることのないよう保管されなければならない。担体は、例えば、水、エタノール、ポリオール（例えば、グリセリン、プロピレングリコール及び液体ポリエチレングリコール等）及び、これらの適切な混合物を含む溶媒または分散媒であってよい。例えばレシチンなどのコーティングを用いて、散布剤のケースでは必要な粒度を維持することによって、また、界面活性剤を用いて、妥当な流動性を維持することができる。微生物の活動は、種々の抗菌剤や抗真菌剤、例えばパラベン、クロロブタノール、石炭酸、アスコルビン酸、チメロサール等によって防止できる。多くのケースでは、組成物内に、等張化剤として、糖、例えばマンニトール、ソルビトールなどの多価アルコール、塩化ナトリウム等を含ませることが好ましい。注射可能組成物の長期間吸収は、組成物内に、例えばモノステアリン酸アルミニウムやゼラチン等の吸収遅延剤を組成物に含ませることによって達成可能である。

【００３４】

無菌の注射可能な溶液は、必要な量の上記活性化合物を、必要に応じて上記列挙した成分の一つ、あるいはそれらの組合せで、適切な溶剤内に統合し、フィルタ処理滅菌を行うことによって調製できる。概して、散布剤は、塩基性分散媒、及び上記列挙成分からの必要な他の成分を含む無菌ビヒクル内に、上記活性化合物を統合することによって調製される。無菌の注射可能な溶液を準備するための無菌粉末のケースでは、好適調整法は、上記活性成分と、予め無菌フィルタ処理した溶液からの追加の他の所望成分との粉末を産する真空乾燥及び凍結乾燥である。

【００３５】

経口組成物は、概して、不活性希釈液または食用の担体を含む。治療的経口投与のための活性化合物は、賦形剤で統合し、錠剤、トローチまたは、例えばゼラチン・カプセルなどのカプセルの形態で使用できる。薬学的に適合する結着剤及び／または補助剤は、組成物の一部として含むことができる。錠剤、丸剤、カプセル、トローチ等は、次の成分のいずれか、または類似の化合物を含んでもよい。例えば、微結晶性セルロース、タラカントガムまたはゼラチン等の結合剤。例えば、澱粉または乳糖、アルギン酸などの崩壊剤、プリモゲルまたはトウモロコシ澱粉などの賦形剤。例えば、ステアリン酸マグネシウムまたはＳｔｅｒｏｔｅｓ等の潤滑剤。コロイド状二酸化ケイ素などの滑走剤。例えば、ショ糖またはサッカリン等の甘味料。例えば、セイヨウハッカ、サリチル酸メチルまたはオレンジ香料などの香味剤。

【００３６】

吸入投与のための化合物は、適切な噴霧剤、例えば二酸化炭素などのガスを含む圧力容器またはディスペンサー、あるいはネビュライザーから、エアロゾル・スプレーの形態で送達される。そのような方法は、Ｕ．Ｓ．Ｐａｔｅｎｔ　Ｎｏ．６，４６８，７９８に説明されたものを含む。

【００３７】
本文に説明するポリペプチドまたは核酸化合物の投与は、経粘膜あるいは経皮の手段であってもよい。経粘膜または経皮投与には、浸透すべきバリアに対して適切な浸透剤を、調製中に使用する。そのような浸透剤は、概して、本技術において既知であり、例えば経粘膜投与には、洗剤、胆汁酸塩及びフシジン酸派生物を含む。経粘膜投与は、鼻スプレーまたは坐薬を用いることにより成就できる。経皮投与には、上記活性化合物を、本技術分野において一般に既知である軟膏、膏薬、ゲルまたはクリーム内に調合する。
【００３８】
上記化合物は、坐薬（例えば、カカオ脂や他のグリセリド等の従来の座薬基剤）または、直腸送達のための保留浣腸剤の形態でも調製できる。
【００３９】
いくつかの実施形態における組成物は、体外への迅速な除去に対して上記有効成分を保護する担体で調製される。それら担体は、例えば、インプラント及びマイクロカプセル送達システムを含む放出制御調合物である。生物分解可能な、生物学的適合性ポリマー、例えばエチレン酢酸ビニル、ポリ無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステル及びポリ乳酸を使用できる。そのような調合物は、標準技術を用いて調製できる。上記物質は、商業的に、例えばＡｌｚａ社またはＮｏｖａ医薬社から取得できる。医薬的に許容可能な担体として、（ウイルス抗原への単クローン抗体で感染させた細胞を標的とするリポソームを含む）リポソーム懸濁液を使用することもできる。これらは、例えば、Ｕ．Ｓ．Ｐａｔｅｎｔ　Ｎｏ．４，５２２，８１１に説明があるように、当業者に既知である方法によって調製できる。
【００４０】
化合物の投薬量、毒性及び治療有効性は、例えば、ＬＤ５０（集団の５０％に致命的な用量）及びＥＤ５０（集団の５０％で治療的に有効な用量）を判定する、細胞培養または実験動物での標準的な医薬プロシージャによって判定できる。毒性と治療性の影響間の用量比は、治療指数であり、比率ＬＤ５０／ＥＤ５０と表すことができる。高治療指数を示す化合物が好まれる。毒性副作用を示す化合物は使用してもよいが、非感染細胞への潜在的損傷を最小にするために、そのような化合物を患部組織部位へ向ける送達システムをデザインすることに注意を払うことによって、副作用を減少させるべきである。
【００４１】
細胞培養アッセイ及び動物実験から得られたデータは、ヒトで使用すべき用量範囲を考慮する際に採用できる。そのような化合物の投薬量は、ほぼ、あるいは全く毒性がないＥＤ５０を含む循環濃度の範囲内に留まることが好ましい。投薬量は、この範囲内で、採用投薬形態及び利用投与ルートに応じて異なってもよい。本発明の方法で使用される化合物に対しては、治療的に有効な用量は、最初は、細胞培養アッセイから推定できる。用量は、細胞培養において判定したＩＣ５０（すなわち、最大半分の症状抑制を達成するテスト化合物の濃度）を含む循環血漿濃度範囲を達成するよう、動物モデルで調節してもよい。そのような情報は、ヒトで、より正確に有用な用量を決定するために使用できる。血漿中のレベルは、例えば、高速液体クロマトグラフィーによって測定できる。例えば、Ｓｈｅａｒｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ　Ｌｉｐｉｄ　Ｒｅｓ．２０１０Ａｕｇ；５１（８）：２０７４－８１を参照。
【００４２】
「有効な量」とは、有益な、あるいは所望な結果を生じるのに十分な量である。例えば、治療的に有効な量は、所望の治療効果を達成するものである。この量は、疾患または症状の発症を妨ぐのに必要な量である予防的に有効な量と同じであっても、あるいは異なってもよい。有効な量は、１回以上の投与、適用または投薬量で投与できる。組成物の治療的に有効な量は、選択した組成物に依存する。組成物は、一日おきにを含んで毎日１回以上から、毎週１回以上まで投与できる。当業者は、対象者を効果的に治療するのに必要な投薬量及びタイミングは、限定せずに、例えば、病気または疾患の重症度、以前の治療、対象者の健康状態及び／または年齢、及び他の疾患の有無などの、特定な要因の影響を受

けることを認識するはずである。そのうえ、本発明の組成物の治療的に有効な量による対象者の治療は、単一の処置または一連の処置を含むことができる。いくつかの実施形態においては、全身的に投与される場合、治療的に有効な量は、少なくとも血漿濃度が、１７，１８－ＥＥＱについては１５０ｎＭあるいは１９，２０－ＥＤＰについては４００ｎＭを生じるのに十分な用量である。模範的な用量は、各エポキシメタボライトについて約５０ｎｇ／日を含んで、例えば、各エポキシメタボライト、例えば１７，１８－ＥＥＱ及び／または１９，２０－ＥＤＰの各々について、少なくとも５μｇ ｋｇ$^{-1}$日$^{-1}$、２５μｇ ｋｇ$^{-1}$日$^{-1}$、５０μｇ ｋｇ$^{-1}$日$^{-1}$、例えば、７５μｇ ｋｇ$^{-1}$日$^{-1}$、１００μｇ ｋｇ$^{-1}$日$^{-1}$、１２０μｇ ｋｇ$^{-1}$日$^{-1}$、１２５μｇ ｋｇ$^{-1}$日$^{-1}$、１５０μｇ ｋｇ$^{-1}$日$^{-1}$、２００μｇ ｋｇ$^{-1}$日$^{-1}$、２５０μｇ ｋｇ$^{-1}$日$^{-1}$、５００μｇ ｋｇ$^{-1}$日$^{-1}$、あるいは、より多量である。

【００４３】

医薬組成物は、投与の説明書と共に、容器、パックまたはディスペンサーに入れてもよい。

組合せ治療、抗ＶＥＧＦ剤

【００４４】

いくつかの実施形態における方法は、抗血管内皮成長因子（ＶＥＧＦ）剤を同時投与することを含む。いくつかの実施形態における抗ＶＥＧＦ剤は、ＶＥＧＦシグナリングを遮断する。現在までに使用されたＶＥＧＦシグナリングの遮断方法は、少なくとも三つある。第一の方法は、抗体を使用して、ＶＥＧＦ（例えば、ＶＥＧＦ－Ａ、－Ｂ、－Ｃ、－Ｄ、ＰＧＦ）及び／またはＶＥＧＦＲ（例えば、ＶＥＧＦＲ－１、－２、－３）を抑えることである。例えば、以下のものがある。アバスチン（ベバシズマブ）、ＶＥＧＦ－Ａに結合して、ＶＥＧＦＲ－１及びＶＥＧＦＲ－２へのＶＥＧＦ－Ａの相互作用を妨げる組換えヒト化モノクローナル抗体（例えば、Ｐｒｅｓｔａ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．５７：４５９３－４５９９（１９９７）（癌研）、Ｈｕｒｗｉｔｚ ｅｔ ａｌ．，Ｎ．Ｅｎｇｌ．Ｊ．Ｍｅｄ．３５０：２３３５－２３４２（２００４）参照）。２Ｃ３、ＶＥＧＦ－Ａに対するマウス・モノクローナル抗体（Ｚｈａｎｇ ｅｔ ａｌ．，Ａｎｇｉｏｇｅｎｅｓｉｓ．５：３５－４４（２００２）（血管形成）、Ｂｒｅｋｋｅｎ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．５８：１９５２－９（１９９８）（癌研））。ＩＭＣ－１１２１Ｂ、ＶＥＧＦＲ－２に対するヒト・モノクローナル抗体（Ｒｏｃｋｗｅｌｌ ａｎｄ Ｇｏｌｄｓｔｅｉｎ，Ｕ．Ｓ．Ｐａｔｅｎｔ Ｎｏ．６，８１１，７７９）。ＣＤＰ－７９１、ＶＥＧＦＲ－２に結合するペグ化ヒト化ジＦａｂフラグメント（Ｔｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｃｌｉｎ．Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．１３：７１１３－７１１（２００７）（癌研））。ルセンティス（ラニビズマブ）は、ＶＥＧＦ－Ａに結合する組換えヒト化モノクローナル抗体であるが、その使用は、血管新生加齢性黄斑変性を有する患者への治療のために承認されている（ジェネンテクから入手可能）。

【００４５】

第二の方法は、ＶＥＧＦＲ（例えばＶＥＧＦＲ－１、－２、－３）を抑制するためにプロテインキナーゼ阻害剤を使用する。少なくとも二つの既知のＦＤＡ承認小型分子阻害剤が市場に出ている。Ｓｕｔｅｎｔ（スニチニブ）（Ｇｏｏｄｍａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｃｌｉｎ．Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．１３：１３６７－１３７３（２００７）（癌研））及びＮｅｘａｖａｒ（ソラフェニブ）（Ｋａｎｅ ｅｔ ａｌ．，Ｃｌｉｎ．Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．１２：７２７１－８（２００６）（癌研））。他のキナーゼ阻害剤は、以下を含むが、これらに限定されない。ＶＥＧＦＲ－１、－２及び－３を抑制するバタラニブ（ＰＴＫ７８７／ＺＫ２２２５８４）（Ｗｏｏｄ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．６０：２１７８－２１８９（２０００）（癌研））。ＣＥＰ－７０５５、ＶＥＧＦＲ－１、－２及び－３の阻害剤（Ｒｕｇｇｅｒｉ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．６３：５９７８－５９９１（２００３）（癌研））。ＣＰ－５４７，６３２、ＶＥＧＦＲ－２及びＦＧＦの阻害剤（Ｂｅｅｂｅ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．６３：７３０１－７３０９（２００３）（癌研））。

【００４６】
第三の方法は、いわゆる「ＶＥＧＦ－トラップ」、すなわち、ＶＥＧＦリガンドに結合してＶＥＧＦＲへの結合を妨げる可溶性ハイブリッドＶＥＧＦ受容体を使用する（Ｈｏｌａｓｈ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．９９：１１３９３－１１３９８（２００２））。
【００４７】
いくつかの実施形態における抗ＶＥＧＦ剤は、例えばアバスチン（商標）（ベバシズマブ）などのＫＤＲ及び／またはｆｌｔ受容体へのＶＥＧＦ結合を阻止する抗ＶＥＧＦ抗体または、それの抗原結合部分（例えば、Ｆｖ、ＦａｂまたはｓｃＦｖ部分）である。アバスチンは、インビトロ及びインビボの両方で、結合してヒトＶＥＧＦの生物活性を妨げる組換えヒト化単一クローン系ＩｇＧ１抗体である。ベバシズマブは、ＶＥＧＦに結合するヒト・フレームワーク領域とネズミ抗体の相補性決定領域を含む（Ｐｒｅｓｔａ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ５７：４５９３－９１９９７（癌研））。アバスチンは、ジェネンテク（南サンフランシスコ、ＣＡ）から入手可能である。以下も参照のこと。Ｓｃｈｌａｅｐｐｉ ａｎｄ Ｗｏｏｄ，Ｃａｎｃｅｒ ａｎｄ Ｍｅｔａｓｔａｓｉｓ Ｒｅｖ．１９９９；１８：４７３－４８１（癌と転移）、Ｕ．Ｓ．Ｐａｔ．Ｎｏ．７，１６９，９０１、７，０５６，５０９及び７，２９７，３３４、Ｕ．Ｓ．Ｐａｔ．Ｐｕｂ．Ｎｏ．２００２００３２３１５、２００８０１８７９６６及び２００９００１０８８３、及びＰＣＴＮｏ．ＷＯ９４／１０２０２。いくつかの実施形態における抗体は、特にＶＥＧＦに結合して、ＶＥＧＦＲ１への、あるいはＶＥＧＦＲ２への結合を阻止、またはＶＥＧＦＲ１及びＶＥＧＦＲ２の両方への結合を阻止する。
【００４８】
他の抗ＶＥＧＦ剤は、ＫＤＲ及び／またはｆｌｔ受容体への結合をＶＥＧＦと争うことが可能なＶＥＧＦ拮抗剤（例えば、ＷＯ９４／２１６７９に説明されている、ＶＥＧＦに結合する可溶性欠失型ｆｌｔ受容体）及びチロシンキナーゼ阻害剤を含む。
【００４９】
いくつかの実施形態における抗ＶＥＧＦ剤は、ＶＥＧＦまたはＶＥＧＦＲを標的とする小さな干渉ＲＮＡ（ｓｉＲＮＡ）である。例えば、Ｂｅｖａｓｉｒａｎｉｂ（Ｃａｎｄ５；ＯＰＫＯヘルス、すべてのＶＥＧＦ－Ａスプライス・フォームを標的とする修飾ｓｉＲＮＡ）またはＡＧＮ－７４５（Ｓｉｒｎａ－０２７、メルク、ＶＥＧＦＲ－１を標的とする化学修飾ｓｉＲＮＡ）、例えば、ｄｅ Ｆｏｕｇｅｒｏｌｌｅｓ，Ｈｕｍａｎ Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒａｐｙ１９：１２５－１３２（２００８）（ヒト遺伝子治療）を参照。また、抗ＶＥＧＦアプタマー（例えば、マクジェン（ペガプタニブ、ＯＳＩファーマシューティカルズ社、ペグ化抗ＶＥＧＦ－Ａアプタマー）、例えば、Ｔｒｅｍｏｌａｄａ ｅｔ ａｌ．Ａｍ．Ｊ．Ｃａｒｄｉｏｖａｓｃ．Ｄｒｕｇｓ７：３９３－３９８（２００７）（循環器薬剤）を参照）。
【００５０】
いくつかの実施形態における抗ＶＥＧＦ剤は、本文に説明の化合物と同じ治療法の一部として投与される。いくつかの実施形態における抗ＶＥＧＦ剤は、例えば、上記説明の同じ医薬組成物の一部として同時投与される。
【実施例】
【００５１】
本発明は、以下の実施例でさらに説明するが、実施例は、請求項で説明される本発明の範囲を制限するものではない。
物質及び方法
【００５２】
次の方法は、下記の実施例１～９で使用されたものである。
マウス。本研究は、視力及び眼科学研究協会の眼科視力研究における動物の使用規範に従い、また、マサチューセッツ目耳診療所の動物ケア委員会の承認を受けて行われた。生後６週目の雄Ｃ５７ＢＬ／６マウス（ストック番号０００６６４）を、ジャクソン実験室

から取得した。Ｃｘ３ｃｒ１$^{ＧＦＰ／＋}$マウス（ストック番号００５５８２）を、ジャクソン実験室から取得した。このマウスは、特に単核細胞、樹状細胞及び小膠細胞内に緑色蛍光タンパク質（ＧＦＰ）を発現させるものである。Ｃ５７ＢＬ／６マウスと同じ食餌を投与した。

【００５３】

動物には、前述のとおり、ω－３ＬＣＰＵＦＡを全く含まない２％のω－６ＬＣＰＵＦＡ（ＡＡ）、あるいはω－６ＬＣＰＵＦＡを全く含まない２％のω－３ＬＣＰＵＦＡ（ＡＡなしで１％のＤＨＡ及び１％のＥＰＡ）のいずれかを含む１０％（ｗ／ｗ）のサフラワー油を含有する規定齧歯動物餌を与えた[17]。これらの食餌は、レーザーＣＮＶ誘発の２週前に与えた。合衆国においては、ω－３ＬＣＰＵＦＡの典型的な摂取量（１００から２００ｍｇ／日）が、総カロリーの約０．０５から０．１％を提供することを考慮すると、実験食餌内のこれらの脂肪酸の量は、生理的に患者が達成できるものである。

【００５４】

ＬＣＰＵＦＡ食餌は、ＤＳＭ栄養食品から商品名ＲＯＰＵＦＡ、ＡＲＡＳＣＯ及びＤＨＡＳＣＯの下で取得した。飼料は、リサーチ・ダイエット社が製造したものである。ＣＸ３ＣＲ１－ＧＦＰマウス（ストック番号００５５８２）は、特に単核細胞、樹状細胞及び小膠細胞内にＧＦＰを発現させるものであるが、ジャクソン実験室から取得し、Ｃ５７ＢＬ／６マウスと同じ食餌を投与した。

【００５５】

１７，１８－ＥＥＱ及び１９，２０－ＥＤＰは、カイマン・ケミカルから取得した。マウスは、ＣＮＶ誘発の直後から開始して毎日、腹膜内へ１７，１８－ＥＥＱ、１９，２０－ＥＤＰまたは、ビヒクル対照標準としてリン酸塩緩衝食塩水（ＰＢＳ）を注入した。用量は、ＣＮＶ解消のためのＣＹＰメタボライトの必須最小定常レベル（５μｇ／ｋｇ／日）として、ω－３ＬＣＰＵＦＡを与えたマウスにおける１９，２０－ＥＨＤＰ＋ＥＤＰの血清中濃度から計算した（図２Ｃ）。循環血液量としては、体重の７％（２３から２５ｇ）と概算した。

【００５６】

ＧＷ９６６２、ナノモル抑制剤を含む特異的ＰＰＡＲγ－拮抗剤を、ＣＮＶ誘発（２０μＬ中１ｍｇ／ｋｇ）の直後に開始して毎日、ω－３ＬＣＰＵＦＡ食餌のものにＩＰ注入した。ビヒクル対照標準は、ＰＢＳ／ＤＭＳＯが、１：１であった。

【００５７】

ＣＮＶのレーザー誘発モデル。ω－３またはω－６ＬＣＰＵＦＡ食餌の給餌を開始した２週後、細隙灯に取り付けた５３２ｎｍレーザー（Ｏｃｕｌｉｇｈｔ ＧＬｘレーザー・システム、ＩＲＩＤＥＸ）を使用して、レーザー光凝固を実行した。このとき、カバーグラスを使用して、眼球の後極を観察できるよう角膜を広げた。視神経を中心にして３、６、９及び１２時子午線に位置する四つの病変（サイズ及び漏出試験）または１０の病変（タンパク質及びｍＲＮＡ分析）を、同じ設定で両眼に誘発した。１００μｍのスポットサイズ、０．１秒のパルス持続時間、及び１００ｍＷのレーザー・パワーを用いた[25]。病変は、視神経から二つまたは三つのディスク直径に位置した。ブルック膜のレーザー誘発損傷は、光凝固の部位への泡の出現によって確認した。泡の形成に至らなかったレーザー・スポットは、試験から除外した。１人の研究者が、すべてのレーザー光凝固を実行した。

【００５８】

脈絡膜平坦マウント・プレパラート。ＣＮＶ病変サイズの評価のために、マウスは、レーザー光凝固後５日または７日にアベルチン（シグマ）で麻酔し、頚椎脱臼によって犠牲にした。眼球を取り出し、室温で６０分間、４％のパラホルムアルデヒド内に固定した。角膜及びレンズを除去し、網膜全体を、アイカップから慎重に解剖した。放射状カット（平均、８）を、アイカップの端から赤道へ入れ、それからプレパラートを、０．３％のトゥイーン２０を含む氷冷ＰＢＳで洗浄した[41]。血管の視覚化のために、アイカップは、室温で一晩中、１：１００の希釈のアレクサ・フルオル４８８共役グリフォニア（Ｂａｎ

ｄｅｉｒａｅａ）ｓｉｍｐｌｉｃｉｆｏｌｉａイソレクチンＢ４（インヴィトロゲン）で染色した。アイカップは、ＳｌｏｗＦａｄｅ　Ａｎｔｉｆａｄｅ試薬（インヴィトロゲン）内のＳｕｐｅｒｆｒｏｓｔ／Ｐｌｕｓ顕微鏡スライド（フィッシャー）上に、強膜を下向きに脈絡膜を上向きにして平坦マウントした。脈絡膜平坦マウントの蛍光画像を、Ｚｅｉｓｓ　ＡｘｉｏＣａｍ　ＭＲｍカメラ及びＺｅｉｓｓ　ＡｘｉｏＯｂｓｅｒｖｅｒ．Ｚ１顕微鏡でキャプチャした。ＣＮＶ面積を、イメージＪソフトウェアを使用して測定した。

【００５９】

スペクトル・ドメイン光干渉断層法（ＳＤ－ＯＣＴ）。レーザー光凝固後５日及び７日に、ＢｉｏｐｔｉｇｅｎシステムでＳＤ－ＯＣＴを実行した。マウスをアベルチン（シグマ）で麻酔し、撮像のために３次元自由回転で眼の心合わせを可能にするカスタム・カセット上に配置した。角膜の明瞭さを維持するために、通常の食塩水での水和を行った。Ｂ－スキャンは、１００本の水平線（ラスター）で実行した。連続的なＢ－スキャン・ラインの各々は、１０００のＡ－スキャンから構成された。領域サイズは、１．４ｘ１．４ｍｍであった。ソフトウェアは、ＯＣＴセクション（体積強度投影）から得た反射率情報で正面基底部画像を生成することができたので、ＯＣＴと基底部位置と間をポイント・ツー・ポイントで相互に関連づけることが可能であり、それは正確であった。ＯＣＴ画像内の各病変の断面サイズを評価するために、ＣＮＶの中心を通過しているセクションを選択した。病変の中心は、網膜色素上皮及びブルック膜の破断領域を通過する正中線として定義した。この点は、Ｂｉｏｐｔｉｇｅｎ・ＳＤ－ＯＣＴシステムに付属の正面基底部再構築ツールを使用することによって、一貫して識別した。このソフトウェア・ツールは、各単一ＯＣＴ・Ａ－スキャンからの平均反射率を用いての、基底部画像の生成を可能にする。この再構築を生成するために使用されるＯＣＴ画像の軸間隔は、カスタマイズ可能である。私たちは、それを、網膜色素上皮・脈絡膜複合体のレベルにまで狭く設定したので、網膜色素上皮・ブルック膜の破断領域は、基底部画像内に低反射スポットとして容易に識別可能であった[25]。

フルオレセイン・アンジオグラフィー。レーザー光凝固後５日及び７日に、カメラ及びイメージング・システム（ＴＲＣ５０ＶＴカメラ及びＩＭＡＧＥｎｅｔ１．５３システム、トプコン）で、フルオレセイン・アンジオグラフィーを実行した。写真は、０．１ｍＬの２％フルオレセインナトリウム（Ａｋｏｒｎ）を腹腔内注射後、眼底カメラ・レンズに接触した２０－ジオプトリー・レンズでキャプチャした。レーザー光凝固またはアンジオグラフィーには関わらなかった２人の網膜専門医（Ｊ．Ｓ．及びＤ．Ｇ．Ｖ）が、覆面方式で、１回の作業として蛍光血管造影図を評価した。病変は、予め既定したスキームに従って、以下の通りに等級分けした。０（漏れない）、漏出のない、かすかな過蛍光か、まだら蛍光。１（疑わしい漏出）、サイズまたは強度に漸進的増加がない過蛍光病変。２Ａ（漏れやすい）、サイズではなく強度が増加している過蛍光。２Ｂ（臨床的に有意な漏出）、強度及びサイズにおいて増加している過蛍光[42]。

ＣＹＰエイコサノイド及び脂肪酸分析。ω－６及びω－３ＬＣＰＵＦＡを与えたマウスから、ＣＮＶ誘発後７日に、組織及び血清サンプルを採集し、前述したＣＹＰ－エイコサノイド・プロフィールのＬＣ－ＭＳ／ＭＳ分析のために準備した[28]。手短に、サンプルを、内部標準（カイマン・ケミカルからの、２０－ＨＥＴＥ－ｄ６、１４，１５－ＥＥＴ－ｄ８及び１４，１５－ＤＨＥＴＥ－ｄ１１の各々１０ｎｇ）と混合し、アルカリ加水分解させてから、アジレント・ボンド溶出認証ＩＩコラムを使用して、メタボライトの固相抽出を行った。メタボライトは、水性蟻酸（０．１％）及びアセトニトリルの溶媒系を使用して、Ｐｈｅｎｏｍｅｎｅｘ　Ｋｉｎｅｔｅｘ－Ｃ１８コラム（２．６μｍ、２．１ｘ１５０ｍｍ）上のアジレント１２００ＨＰＬＣシステムで分析した。勾配溶離を、５％のアセトニトリルで開始し、１０分以内に９０％へ増加し、１０分間そこに維持した。流速は、０．３ｍＬ／分に設定した。ＨＰＬＣは、エレクトロスプレー・イオン化源を持つアジレント６４６０三連四重質量スペクトロメータに結合した。ＣＹＰエイコサノイドの分析は、ネガティブ・モードにある多重反応モニタリングで、前述の通り実行した[28]。結

果は、アジレント質量ハンター・ソフトウェアを使用して計算した。メタボライト濃度は、ローリー法で測定されるままの、血清に対するｎｇ／ｍＬで、また、網膜タンパク質に対するｎｇ／ｍｇで示す。

【００６０】

脂肪酸分析は、アルカリ加水分解後のサンプルのアリクォットを使用して実行した。サンプルは中和し、内部標準（Ｃ１５：０、Ｃ２１：０　５０μｇ、Ｃ２０：４－ｄ８、Ｃ１８：２－ｄ４　５μｇ、Ｃ２０：５－ｄ５及びＣ２２：６－ｄ５　１μｇ）を含むメタノールで１：１０に希釈し、上記の通りの同じ測定機能を使用して計量した。溶剤勾配は、３０％のアセトニトリルで開始し、０．４ｍＬ／分の流速で、１１分に渡って９８％まで上昇させた。質量スペクトロメータは、以下の脂肪酸イオンを検出するために、ネガティブ単一イオン・モニタリング・モードで作動させた。Ｃ１２：０（ｍ／ｚ１９９）、Ｃ１４：０（２２７）、Ｃ１４：１ｎ－９（２２５）、Ｃ１５：０（２４１）、Ｃ１６：０（２５５）、Ｃ１６：１ｎ－９（２５３）、Ｃ１８：１ｎ－９（２８１）、Ｃ１８：２ｎ－６（２７９）、Ｃ１８：２ｎ－６（２７９）、Ｃ１８：２－ｄ４（２８３）、Ｃ１８：３ｎ－３（２７７）、Ｃ１８：３ｎ－６（２７７）、Ｃ２０：３ｎ－６（３０５）、Ｃ２０：４ｄ８（３１１）、Ｃ２０：４ｎ－３（３０３）、Ｃ２０：４ｎ－６（３０３）、Ｃ２０：５ｎ－３（３０１）、Ｃ２０：５－ｄ５（３０６）、Ｃ２２：５ｎ－３（３２９）、Ｃ２２：５ｎ－６（３２９）、Ｃ２２：６ｎ－３（３２７）及びＣ２２：６－ｄ５（３３２）。

【００６１】

ＲＮＡ単離及びｃＤＮＡ製剤。全ＲＮＡを、網膜または脈絡膜から抽出した。６～１０の眼球からのものをプールし、生物学的変動を減少させた。組織は、ＲＮＡｌａｔｅｒ（アンビオン）を含む溶液内で乳鉢及び乳棒を使用して溶解した。溶解物は、ＱｉａＳｈｒｅｄｄｅｒコラム（Ｑｉａｇｅｎ）を通過させ、それから、ＲＮｅａｓｙミニ・キット（Ｑｉａｇｅｎ）を使用して全ＲＮＡを抽出した。汚染ゲノムＤＮＡを除去するために、ＲＮＡ（１μｇ）の一部分を、ＲＮａｓｅフリーＤＮａｓｅセット（Ｑｉａｇｅｎ）で処理し、それから、ランダム・ヘキサマー・プライマー及びスーパースクリプトＩＩＩ逆転写酵素（インヴィトロゲン）を使用してＲＴを受けさせた。生じたｃＤＮＡサンプルは、－８０℃で、更なる分析まで保管した。

【００６２】

リアルタイムＰＣＲ分析。リアルタイムＰＣＲ分析は、ステップ・ワン・リアルタイムＰＣＲシステム（アプライド・バイオシステムズ）及び以下のマウスＴａｑＭａｎ遺伝子発現アッセイ（アプライド・バイオシステムズ）を用いて実行した。Ｉｃａｍ－１（Ｍｍ００５１６０２３_ｍ１）、Ｖｃａｍ－１（Ｍｍ０１３２０９７０_ｍ１）、ＩＬ－６（Ｍｍ００４４６１９０_ｍ１）、Ｉｌ－１β（Ｍｍ００４３４２２８_ｍ１）、ＩＬ－１０（Ｍｍ０１２８８３８６_ｍ１）、Ｔｎｆ－α（Ｍｍ００４４３２５８_ｍ１）、Ｃｃｌ２（Ｍｍ００４４１２４２_ｍ１）、Ｃｓｆ－１ｒ（Ｍｍ０１２６６６５２_ｍ１）、Ｖｅｇｆ－ａ（Ｍｍ０１２８１４４９_ｍ１）、Ｅ－セレクチン（Ｍｍ００４４１２７８_ｍ１）、Ｐ－セレクチン（Ｍｍ０１２９５９３１_ｍ１）、Ｐｐａｒγ（Ｍｍ０１１８４３２２_ｍ１）、Ｇｐｒ１２０（Ｍｍ００７２５１９３_ｍ１）、ｓＥＨ（Ｍｍ００５１４７０６_ｍ１）、及びβ－アクチン（Ｍｍ００６０７９３９_ｓ１）。すべてのデータは、β－アクチンｍＲＮＡの対応する豊度によって正規化した。

【００６３】

レーザー・キャプチャー顕微解剖。眼球は、摘出直後にＯＣＴ化合物に封埋し、急速に冷凍した。それらを、ＲＮａｓｅフリー状態下で１６μｍの厚さに凍結切断した。それらセクションを、ＲＮａｓｅフリー・ポリエチレンナフタレート・ガラススライド（ライカ）上に採集し、５０、７５及び１００％のエタノール洗浄で乾操させて、（１ｍＭのＣａＣｌ$_2$で１：５０に希釈した）イソレクチンＢ４で染色した。ライカＬＭＤ７０００システムを使用して、ＣＮＶ病変内の脈絡網膜血管を顕微解剖し、ＲＮｅａｓｙマイクロ・キット（Ｑｉａｇｅｎ）からのＲＮＡ安定化緩衝液内へ直接採集した[16,19]。それから

、このキットを使用して、顕微解剖組織からＲＮＡを抽出し、それを、上述のようにリアルタイムＰＣＲ分析にかけた。

【００６４】

マクロファージ浸潤の蛍光顕微鏡法。ヘテロ接合ＣＸ３ＣＲ１－ＧＦＰマウスの網膜または脈絡膜内のマクロファージ（または小膠細胞）を視覚化した。レーザー火傷後７日にマウスを安楽死させ、眼球を取り出して、６０分間４％のパラホルムアルデヒド内に固定した。角膜及びレンズを除去し、そして網膜全体をアイカップから慎重に分離した。放射状カット（平均、８）を、アイカップの端から赤道へ入れ、それから、冷緩衝液（ＰＢＳ内に０．３％のトゥイーン２０）で洗浄し、そして１：１００希釈のアレクサ・フルオル６４７共役イソレクチンＢ４（インヴィトロゲン）で染色した。網膜及び脈絡膜平坦マウントの蛍光画像を、４０ｘ対物レンズを備えたライカＳＰ２共焦点顕微鏡で視覚化した。多くの光学的セクションを、０．５０μｍ間隔で採集した。データは、各々、ω－６またはω－３ＬＣＰＵＦＡを与えたマウスの、１５及び１３の病変からのものである。

【００６５】

免疫ブロット分析。網膜及び脈絡膜をマウスから単離し、生物学的変動を減少させるために、別個にプールした（ｎ＝６から１０）。組織は、プロテアーゼ阻害剤（ロシュ・ダイアグノスティクス）を含む溶解緩衝液（ロシュ・ダイアグノスティクス）で均質化した。そのホモジェネートを、１０分間４℃、１６，２００×ｇで遠心分離した。生じた上澄みのタンパク質濃度を、ＤＣ（洗剤互換性）タンパク質アッセイ（バイオラド）で測定した。サンプル（２０μｇのタンパク質）は、それから、４から２０％の勾配ゲル（インヴィトロゲン）上のＳＤＳポリアクリルアミドゲル電気泳動によって細分した。分離されたタンパク質は、二フッ化ポリビニリデン膜（ミリポア）へ移し、それから、スターティングブロック・ブロッキングバッファー（サーモ・フィッシャー・サイエンティフィック）で温置した後、４℃で一晩、ＰＰＡＲγ（１：２００希釈、サンタ・クルーズ・バイオテクノロジー）へのウサギ・ポリクローナル抗体へ、ｓＥＨ（１：１００、カイマン・ケミカル）へ、またはβ－アクチン（１：２０００、セル・シグナリング）へ曝露させた。それから、０．５％のトゥイーン２０を含むトリス緩衝食塩水で、薄膜を３度（１回５分間）洗浄した後、室温で２０分間、ウサギ免疫グロブリンＧへのホースラディッシュペルオキシダーゼ共役ヤギ抗体（１：２，０００、セル・シグナリング）で温置した。上記薄膜を再び、同じ洗浄液で３度（１回５分間）洗浄し、その後、ＥＣＬ試薬（ＧＥヘルスケア）を使用して免疫複合体を視覚化し、そしてイメージＪを使用するデンシトメトリーによって数量化した。

【００６６】

ＰＰＡＲγ活性の測定。生物学的変動を減少させるために、マウスの網膜（ｎ＝８）をプールし、核分画の準備のために、氷冷低浸透圧緩衝液（アクティヴ・モチーフ）内で均質化した。ＥＬＩＳＡベースのトランザム・キット（アクティヴ・モチーフ）を使用して、核抽出物（２０μｇのタンパク質）を、ＰＰＡＲγ活性に関して分析した。

【００６７】

ＩＣＡＭ－１、Ｅ－セレクチン及びＶＥＧＦのためのＥＬＩＳＡ。網膜及び脈絡膜をマウスから単離し、生物学的変動を減少させるために、別個にプールした（ｎ＝６から１０）。上記免疫ブロット分析に関して説明したように、組織ホモジェネートを準備して遠心分離した。それから、上澄みタンパク質の複数の等量を、ＥＬＩＳＡシステムを使用して、ＩＣＡＭ－１、Ｅ－セレクチンまたはＶＥＧＦに関して分析した（ＩＣＡＭ－１はＮｏｖｕｓＢｉｏｌｏｇｉｃａｌｓ、Ｅ－セレクチン及びＶＥＧＦはR&DＳｙｓｔｅｍｓ）。各アッセイは、３個ずつ最低３度実行した。

【００６８】

自動灌流微小流チャンバー・アッセイ。自動灌流微小流チャンバー・アッセイを使用して、白血球回転速度を分析した[33及び43]。手短に、半透明マイクロチャンバー（０．４×０．０４×５０ｍｍ、ビトロコム）を、４℃で一晩、各々５μｇ／ｍＬ濃度の組換えネズミＰ－セレクチン、あるいは組合せＰ－セレクチン及びＩＣＡＭ１（R&DＳｙｓｔ

ｅｍｓ）のいずれかで被覆した。それから、マイクロチャンバーの両端を、生物学的適合性ポリエステル・チュービング（ＰＥ１０、ベクトン・ディキンソン）に結合した。その後、チュービング及びマイクロチャンバーは、それらの内面と非特異性白血球との相互作用を阻止するために、０．１％のウシ血清アルブミン（シグマ・アルドリッチ）で１時間温置した。それから、チュービングの自由端を、顕微手術で、麻酔したマウスの右頸動脈及び左頸静脈に結合した。このシステムでは、血液は、頸動脈から生物学的適合性インレット・チュービングへ流れ、マイクロチャンバーを通過し、アウトレット・チュービングを介して頸静脈へと、再び動物の体へ入る。血流の速度は、ネジ弁で、インレット・チュービングの直径を調節することによって制御する。マイクロチャンバーの前後に組み込んだスリーウェイ・コネクタによってチャンバーに取り付けたマイクロトランスデューサ（ハーヴァード・アパラタス）が、血圧の連続測定を可能にする。マイクロトランスデューサ・ユニットのアナログ出力は、チャートＶ７ソフトウェア（ＡＤインストルメント）を実行するＰＣコンピュータへ結合されたＡ／Ｄコンバータ（ＭＬ７８５パワー・ラブ／８ＳＰ、ＡＤインストルメント）でデジタル化された。マイクロチャンバーのインレット及びアウトレットの測定値は、圧力降下（ΔＰ）を計算するために使用した。以前に説明したように、ΔＰから剪断応力（τ）を計算した[33及び43]。固定化付着分子上の白血球回転は、直立型固定ステージ生体内顕微鏡（ライカ）で観察し、以降の分析のために、単彩デバイス・カメラ（ＤＦＣ３６０ＦＸ、ライカ・マイクロシステム）を使用してビデオテープに録画した。１０の異なる視野を、少なくとも３０秒間記録した。白血球回転速度は、経時的にチャンバー面と相互作用する個々の細胞の変位（Δｄ／Δｔ）から決定した。白血球の変位は、イメージＪソフトウェア１．４６（ＮＩＨ）を使用して測定した。フラックスは、視野毎の相互作用白血球の数として定義し、１０の個々の視界に対して平均値をとった。チャンバー内での血流力学的状態を明らかにするため、チャンバーのインレット前とアウトレット後の血圧を測り、そこから、圧力降下Δｐと剪断応力を計算した。

【００６９】

フローサイトメトリー解析のためのＰＢＬの単離。ＥＤＴＡ処理シリンジでマウス心臓から新たに採取した血液を、３０分間氷上に、全細胞の1×10^{6}につき１μｇの比率の、ＣＤ１１ｂ（Ｍ１／７０、ＢＤバイオサイエンセズ）あるいはＣＤ１８（Ｃ７１／１６、ＢＤバイオサイエンセズ）へのフィコエリトリン共役ネズミ・モノクローナル抗体、またはアイソタイプ・コントロール抗体で温置した。赤血球はＥａｓｙ－Ｌｙｓｅ（レインコ・テクノロジーズ）を使用して溶解し、残留細胞は遠心によって単離してから、即時のフローサイトメトリー解析のために、氷上のＰＢＳで再懸濁した。ＰＢＬは、サイトミクスＦＣ５００インストルメント（ベックマン・コウルター）を使用して、それらの特徴的な前方及び側方散乱に従ってゲート制御し、データを、フローＪｏ１０．０ソフトウェア（ベックマン・コウルター）で分析した。

【００７０】

眼球浸透細胞とフローサイトメトリー解析のための血液の準備。表現型を調べるため、以前に説明したように、血液及び眼球浸透細胞を準備した（Ｇａｕｔｉｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ．２０１２；１８９：２６１４－２６２４；Ｔｓｕｔｓｕｍｉ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｌｅｕｋｏｃ．Ｂｉｏｌ．２００３；７４：２５－３２）。ＣＮＶ誘発後３日に、マウス血液を、非終端顎下穿刺または終端心臓穿刺によって採集し、即時のフローサイトメトリー解析のために、赤血球をＥａｓｙ－Ｌｙｓｅ（レインコ）を使用して溶解した。眼球を摘出し、強膜、脈絡膜及び網膜を含む眼球の後部セグメントを、ハサミで崩壊させた。それから、４０分間３７℃で、０．５ｍｇ／ｍＬのコラゲナーゼ・タイプＤ（ベーリンガー・マンハイム、ドイツ）で補足した溶媒中で振とうした。塩基性溶媒として、私たちは、１０％のウシ胎児血清（ギブコ・ラボラトリーズ）、１００Ｕ／ｍＬのペニシリン、１００μｇ／ｍＬのストレプトマイシン、５ｘ１０－５Ｍの２－メルカプトエタノール、及び５ｍｇ／ｍＬのＨＥＰＥＳ緩衝液と一緒に、ＲＰＭＩ１６４０（ギブコ・ラボラトリーズ、ＧｒａｎｄＩｓｌａｎｄ、ＮＹ）を使用した。上澄みを採集し、金属メッシュを通過させてから、３度洗浄して、生細胞を取得した。Ｆｃ－ブロッキングＡ

ｂ（２．４Ｇ２）の存在下で、表面染色を実行した。ＰＥ－Ｃｙ７共役抗ＣＤ１１５ｍＡｂ（ＡＦＳ９８）は、ｅバイオサイエンスから購入した。ＡＰＣ共役抗Ｌｙ－６Ｇ／Ｌｙ－６ＣｍＡｂ（ＲＢ６－８Ｃ５）は、バイオレジェンドから購入した。データは、フロー・サイトメーターＬＳＲＩＩ（ＢＤバイオサイエンセズ）を使用して取得し、フローＪｏソフトウェア（ツリー・スター、アシュランド、ＯＲ）で分析した。

【００７１】

統計分析。データは、平均値±標準誤差または標準偏差として表し、（２群間の比較については、シンボル＊で示す）スチューデントｔ検定で、あるいは（２を超える群間の比較に対しては、シンボル†で示す）ダネットの検定で分析した。Ｐ値＜０．０５は、統計学的に有意であると考察した。

［実施例１］ω－３長鎖多価不飽和脂肪酸のチトクロームＰ４５０依存エポキシメタボライトは、脈絡膜新生血管の溶解を促進する。

【００７２】

ＣＮＶへのω－３ＬＣＰＵＦＡの影響を試験するために、マウスには、二つの実験食餌のうちの一方を与えた。前述のとおり、１）ω－３ＬＣＰＵＦＡを含む食餌［アラキドン酸（ＡＡ）なしの、１％のＤＨＡと１％のＥＰＡ］、または２）ω－３を欠くが、ω－６ＬＣＰＵＦＡ（２％のＡＡ）を含む食餌[17]。これらの食餌は、レーザーＣＮＶ誘発の２週前に与えた。合衆国においては、ω－３ＬＣＰＵＦＡの典型的な摂取量（１００～２００ｍｇ／日）が、総カロリーの約０．０５～０．１％を提供することを考慮すると、実験食餌内のこれらの脂肪酸の量は、生理的に患者が達成できるものである。ＣＮＶ形成に対するＬＣＰＵＦＡの影響を評価するために、ＣＮＶ誘発後の血管に対するレクチン染色後、脈絡膜平坦マウント・プレパラートを第一に調べた[23,24]。（先に、サイズ及び重症度がピークになる時期と示された[25]）光凝固後５日の病変サイズは、ω－３またはω－６ＬＣＰＵＦＡを与えたマウス間で、有意なほどには違わなかったのに対し、７日のサイズは、ω－３ＬＣＰＵＦＡを与えた動物で、有意なほど小さかった（図１Ａ及び１Ｂ）。このことは、ω－３ＬＣＰＵＦＡが、レーザー誘発ＡＭＤモデルで病気解消を促進することを示す。

【００７３】

スペクトル・ドメイン光干渉断層法（ＳＤ－ＯＣＴ）は、インビボでの網膜アーキテクチャの、詳細で非侵襲性の評価を可能にする。それによって、ＡＭＤ中は、網膜の形態学的変化が反映されることが発見されている[22,26]。したがって、ω－３あるいはω－６ＬＣＰＵＦＡのいずれかを与えたマウスにおけるＣＮＶ病変の断面積を測定するために、ＳＤ－ＯＣＴを使用した。ＣＮＶ誘発後５日に、どちらの実験食餌を与えたマウスにも病変サイズの違いはなかった。しかし、ＣＮＶ誘発後７日には、ω－６ＬＣＰＵＦＡを与えたマウスに比べ、ω－３ＬＣＰＵＦＡを与えたマウスにおける病変領域は有意に小さかった（図１Ｃ及び１Ｄ）。このことは、ＣＮＶ病変解消におけるω－３ＬＣＰＵＦＡの役割をさらにサポートする。

【００７４】

血管新生ＡＭＤ眼球の血管からの漏れは、視覚障害及び失明に関連する網膜下あるいは網膜内水腫と共に、網膜色素上皮の剥離に至る可能性がある。ＣＮＶ病変から生じる血管からの漏れへの、ω－３ＬＣＰＵＦＡ食餌摂取の影響を査定した。フルオレセイン・アンジオグラフィーは、ＣＮＶ誘発後５日及び７日の両日における新しい（病的な）脈絡膜血管からの漏出の程度が、ω－６を与えたマウスに比べ、ω－３ＬＣＰＵＦＡを与えたマウスではより小さいことを明らかにした（図１Ｅ及び１Ｆ）。したがって、光凝固後７日での臨床的に有意な（等級２Ｂ）ＣＮＶ病変の存在は、ω－３ＬＣＰＵＦＡを受けたマウスの３０．０％のみに対して、ω－６ＬＣＰＵＦＡを与えたマウスでは５８．３％であった。

【００７５】

ＣＮＶサイズに対するω－３ＬＣＰＵＦＡ食餌の影響に関する推定機構を得るために、ＣＮＶ誘発後７日に、いずれの食餌を受けたマウスにおける網膜及び血清の両方の液体クロマトグラフィー質量スペクトロメトリー／質量スペクトロメトリー（ＬＣ－ＭＳ／ＭＳ

）によって、脂質プロフィールを分析した。主要なω－３ＬＣＰＵＦＡ（ＥＰＡ及びＤＨＡ）及び全ω－３ＬＣＰＵＦＡの濃度、ならびに、ＤＨＡ／ω－６ドコサペンタエン酸（ＤＰＡ）比率が有意に増加したのに対し、相対物を与えたω－６マウスに比べ、ω－３マウスの血清中のω－６／ω－３ＬＣＰＵＦＡ比率は有意に低下した（表１）。また、ω－３ＬＣＰＵＦＡ食餌を与えたマウスの網膜では、ＥＰＡレベル及びＤＨＡ／ω－６ＤＰＡ比率が有意に増加したのに対し、ＡＡ及びω－６ＤＰＡの量は減少した。

【表１】

表１。ω-６またはω-３ＬＣＰＵＦＡを高めた食餌を与えたマウスにおける、ＣＮＶ誘発後７日の血清及び網膜の脂肪酸構成（重量による総脂肪酸に対する%）。

	血清					網膜				
	ω-６ＬＣＰＵＦＡ食餌		ω-３ＬＣＰＵＦＡ食餌		P	ω-６ＬＣＰＵＦＡ食餌		ω-３ＬＣＰＵＦＡ食餌		P
飽和ＦＡ										
PAC16:0	11.10	(4.47)	14.00	(1.31)	0.43	12.06	(0.66)	12.61	(1.77)	0.67
SAC18:0	7.18	(4.31)	9.13	(1.03)	0.49	9.23	(1.42)	7.18	(4.78)	0.37
合計	18.28	(8.63)	23.13	(2.28)	0.45	21.87	(1.93)	20.59	(3.58)	0.43
ω-６ＬＣＰＵＦＡ										
LAC18:2n-6	16.82	(6.67)	17.89	(1.25)	0.76	2.49	(0.21)	4.70	(2.42)	0.16
AAC20:4n-6	27.58	(9.01)	9.90	(1.03)	0.07	12.18	(0.67)	9.40	(0.84)	0.0033
DPAC22:5n-6	0.50	(0.17)	0.06	(0.01)	**0.044**	0.23	(0.01)	0.04	(0.01)	0.0006
合計	44.90	(15.37)	27.85	(2.10)	0.16	14.90	(0.77)	14.14	(2.72)	0.53
ω-３ＬＣＰＵＦＡ										
ALAC18:3n-3	0.80	(0.13)	0.69	(0.05)	0.15	0.11	(0.06)	0.08	(0.06)	0.47
EPAC20:5n-3	0.13	(0.07)	2.85	(0.11)	**0.0006**	0.25	(0.04)	1.29	(0.11)	0.0006

DHA C22:6 n−3	5.71	(0.88)	13.56	(0.65)	**0.013**	53.47	(1.71)	52.32	(3.43)	0.62
合計	9.31	(3.62)	16.52	(0.74)	**0.044**	53.82	(1.74)	53.68	(3.46)	0.98
DHA/ ω−6DPA の比率	19.81	(0.38)	235.84	(36.73)	**0.0087**	230.18	(17.20)	1335.91	(365.04)	0.01
ω−6/ ω−3 の比率	5.46	(0.05)	1.63	(0.06)	**0.0002**	0.27	(0.02)	0.23	(0.02)	0.73

データは、３匹のマウスに対する平均値（標準偏差）である。文中で定義されていない略語：ＰＡ、パルミチン酸。ＳＡ、ステアリン酸。ＬＡ、リノール酸。ＡＬＡ、α－リノレン酸。Ｐ値は、スチューデントｔ検定で判定したものであり、＜０．０５のものを太字で示す。

［実施例２］ω－３あるいはω－６ＬＣＰＵＦＡ食餌を与えたマウスにおける、ＬＣ－ＭＳ／ＭＳによって有意に規制されたＣＹＰメタボライトの識別。

【００７６】

ＥＰＡ及びＤＨＡは、ＡＡを代謝させるＣＹＰイソ型の有効な代替基質であり、それらのω－３二重結合で優勢にエポキシ化させ、主生成物として１７，１８－エポキシエイコサテトラエン酸（１７，１８－ＥＥＱ）及び１９，２０－エポキシドコサペンタエン酸（１９，２０－ＥＤＰ）を産する[27～29]。これらは、ＣＮＶを改善する潜在能力を持つ。ω－３またはω－６ＬＣＰＵＦＡを与えたマウスにおける、ＣＮＶ誘発後７日での血清及び網膜で内在性ＣＹＰ－エポキシエイコサノイドの量を計量するために、ＬＣ－ＭＳ／ＭＳを使用した。試験したＡＡ由来の１４，１５－ジヒドロキシエイコサトリエン酸（ＤＨＥＴ）＋エポキシエイコサトリエン酸（ＥＥＴ、５，６－８、９－、１１，１２－及び１４，１５－）の血清レベルは、有意に減少していた（図２Ａ）のに対し、ＥＰＡ由来のＥＥＱ（８，９－、１１，１２－、１４，１５－及び１７，１８－ＥＥＱ）及びＤＨＡ由来のＥＤＰ（７，８－、１０，１１－、１３，１４－、１６，１７－及び１９，２０－ＥＤＰ）は、ω－３ＬＣＰＵＦＡを与えたマウスで有意に増加した（図２Ｂ及び２Ｃ）。血清とは異なり、ＡＡ及びＤＨＡ由来のエポキシエイコサノイドの網膜レベルは不変だった（図２Ｄ及び２Ｆ）。ω－３を与えたマウスでは、ＥＰＡ由来のＥＥＱのみが有意に増加した（図２Ｅ）。これらの結果は、短期食餌療法を受けたマウスでは、全体的なＣＹＰメタボライトの血清レベルが、網膜内で見つかるものに比べ、病気解消への寄与が大きいことを示す。

［実施例３］ω－３ＬＣＰＵＦＡ由来のチトクロームＰ４５０脂質メタボライトは、ＣＮＶ病変サイズを減少させる。

【００７７】

脈絡膜血管新生に対するω－３ＬＣＰＵＦＡ由来のＣＹＰ脂質メタボライトの影響を査定するために、レーザー誘発ＡＭＤモデルにおいて、１７，１８－ＥＥＱ及び１９，２０－ＥＤＰを評価した。ω－３食餌マウスにおいてＬＣ－ＭＳ／ＭＳによって確認した血清中濃度に相当するレベルで、外因性１７，１８－ＥＥＱまたは１９，２０－ＥＤＰを投与した（図３Ａ及び３Ｅ）。１７，１８－ＥＥＱの腹腔内注射は、脈絡膜平坦マウント及びＳＤ－ＯＣＴの査定によれば、レーザー誘発ＣＮＶに対する有意な用量依存的保護を提供した（図３Ｂ及び３Ｃ）。加えて、１７，１８－ＥＥＱは、ＣＮＶ誘発後の血管からの漏

れを有意に減少させた（図３Ｄ）。同等な影響は、ＤＨＡ由来の１９，２０－ＥＤＰメタボライトでも観察された。この場合、１９，２０－ＥＤＰの腹腔内投与は、ＣＮＶ形成と血管からの漏れとの両方に対する有意な保護を提供した（図３Ｆ～３Ｈ）。このデータは、ω－３ＬＣＰＵＦＡ由来のＣＹＰ経路エイコサノイドには、レーザー誘発ＣＮＶを制限して病気解消を促進するキー脂質メディエーターとしての重要な役割があることを示唆する。

［実施例４］ＰＰＡＲγ発現及び活性は、ω－３ＬＣＰＵＦＡを与えたマウスで上昇する。

【００７８】

ω－３ＬＣＰＵＦＡ食餌摂取が病気解消をもたらす作用様式をさらに明らかにするために、ペルオキシゾーム増殖因子活性受容体γ（ＰＰＡＲγ）経路（Ｂｅｎｓｉｎｇｅｒ ａｎｄ Ｔｏｎｔｏｎｏｚ，Ｎａｔｕｒｅ．２００８；４５４：４７０－４７７）を調査した。以前の研究は、ω－３ＬＣＰＵＦＡが、ＰＰＡＲγ、内在性ω－３ＬＣＰＵＦＡ受容体の活性化を伴うメカニズムを介して、網膜血管新生を減衰させることを示している（Ｓｔａｈｌ ｅｔ ａｌ．，Ｃｉｒｃ Ｒｅｓ．２０１０；１０７：４９５－５００）。ＰＰＡＲγ発現に対する各食餌の寄与を、レーザー誘発ＣＮＶを有するマウスで試験した。ＣＮＶ誘発後７日におけるリアルタイムＰＣＲは、脈絡膜内のＰＰＡＲγの量が、ω－６を与えたマウスに比べ、ω－３を与えたマウスで有意に増加することを示した（図４Ａ）のに対し、免疫ブロット分析は、ＰＰＡＲγタンパク質の豊度が、ω－３を与えたマウスでは、網膜と脈絡膜との両方で有意に増加することを明らかにした（図４Ｂ及び４Ｃ）。網膜核抽出物内のＰＰＡＲγのトランス活性化作用も、ω－３を与えたマウスでは、有意に大きかった（図４Ｄ）。これらの研究結果は、ω－３ＬＣＰＵＦＡ食餌摂取が、ＰＰＡＲγシグナリングを促進させると共に、レーザー誘発ＣＮＶの解消に関わることを示唆する。ＣＮＶ後退に関して、ω－３を与えたマウスにおけるＰＰＡＲγシグナリングの影響を査定するために、ＣＮＶ病変に対して、強力なＰＰＡＲγ阻害剤の有無を試験した。特異的阻害剤ＧＷ９６６２によるＰＰＡＲγの薬理学的抑制（Ａｍｂａｔｉ ａｎｄ Ｆｏｗｌｅｒ，Ｎｅｕｒｏｎ．２０１２；７５：２６－３９）は、ＣＮＶサイズ（図４Ｅ及び４Ｆ）及び漏出（図４Ｇ）に対するω３－ＬＣＰＵＦＡの保護効果を有意に減少させる。顕著に、ＰＰＡＲγの薬理学的抑制は、また、ω－３を与えたマウスの網膜におけるＰＰＡＲγの活性を有意に減少させる（図４Ｈ）。これらの結果は、ＰＰＡＲγが、ω－３ＬＣＰＵＦＡがＣＮＶ後退に関して有益な影響を及ぼす主要な経路となっていることを示唆する。

［実施例５］ω－３ＬＣＰＵＦＡ食餌摂取は、ＣＮＶ病変におけるＩＣＡＭ－１及びＥ－セレクチン発現を抑制する。

【００７９】

既に、ω－３を与えたマウスが、ＰＰＡＲγに依存的な様式で、網膜新血管内のキー接着分子を下方制御することが示されている（Ｓｔａｈｌ ｅｔ ａｌ．，Ｃｉｒｃ Ｒｅｓ．２０１０；１０７：４９５－５００；Ｉｍ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｇ Ｌｉｐｉｄ Ｒｅｓ．２０１２；５１：２３２－２３７（脂質研））。接着分子発現に対するω－３ＬＣＰＵＦＡ食餌の影響を、レーザー誘発ＣＮＶモデルで試験した。ＣＮＶの誘発後の７日に、ω－３ＬＣＰＵＦＡを与えたマウスは、ω－６ＬＣＰＵＦＡ食餌を与えたマウスに比べ、網膜と脈絡膜との両方におけるＩｃａｍ－１及びＥ－セレクチンのレベルが有意に減少した（図４Ｉ及び４Ｊ）。対照的に、二つの治療群のいずれの網膜または脈絡膜でも、Ｖｃａｍ－１またはＰ－セレクチンの量に違いは全くなかった（図４Ｋ及び４Ｌ）。ＣＮＶ誘発後２日から７日間に、ω－３を与えたマウスでは、脈絡膜内のこれらの接着分子のタンパク質レベルも有意に減少した（図４Ｍ及び４Ｎ）。ＣＮＶ病変のレーザー・キャプチャー顕微解剖によって、ω－３を与えたマウスにおけるＩｃａｍ－１及びＥ－セレクチンのレベル降下が、これらの病変箇所に特定されることを確証した（図５Ａ－Ｃ）。これらのデータは、ω－３ＬＣＰＵＦＡ食餌が、接着分子発現を規制し、そして以降の、ＣＮＶ病変への全体的な白血球の動員を規制することを意味する。

［実施例６］内皮細胞へのＩＣＡＭ－１と白血球表面へのＩＣＡＭ－１リガンドの両方の機能的な下方制御は、ω－３ＬＣＰＵＦＡ摂取によって仲介される。

【００８０】

ＣＮＶ病変への全体的な白血球動員は、疾患を悪化させると仮定されている（Ｉｓｈｉｄａ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔ Ｍｅｄ．２００３；９：７８１－７８８）。ＣＮＶ部位への全体的な白血球動員に対するω－３ＬＣＰＵＦＡの影響を査定するために、（このモデルにおける免疫細胞浸潤が最大になる（Ｎｏｄａ ｅｔ ａｌ．，Ｆａｓｅｂ Ｊ．２００８；２２：２９２８－２９３５））ＣＮＶ誘発後３日での末梢血白血球（ＰＢＬ）の回転速度を、Ｐ－セレクチンまたは Ｐ－セレクチン及びＩＣＡＭ－１の組合せで被覆した自動灌流微小流チャンバーを使用して計測した。Ｐ－セレクチン及びＩＣＡＭ－１被覆チャンバー上のＰＢＬの回転速度は、ＰＰＡＲγ依存様式で（図５Ｅ）、ω－６ＬＣＰＵＦＡ食餌を与えたマウス（１．２４±０．０７μｍ／ｓ）に比べ、ω－３ＬＣＰＵＦＡを与えたマウス（１．８７±０．１８μｍ／ｓ）の方が有意に大きかった（図５Ｄ）。食餌を与えたマウスの両群からのＰＢＬは、固定化Ｐ－セレクチン上では同程度の速度で転がった（図５Ｆ）。

【００８１】

チャンバー内の血流力学的状態を解明するために、チャンバーのインレット前及びアウトレット後の血圧を計測し、それらから、圧力降下Δｐ及び剪断応力を導き出した。平均剪断値は、すべての実験群間で安定だった（表２）。２群間には、Ｐ－セレクチン、Ｅ－セレクチン、またはＰ－セレクチン及びＩＣＡＭ－１組合せ被覆チャンバーのいずれにおいても、視野毎の相互作用する白血球の数に、全く違いが見られなかった（図５Ｉ及び５Ｊ）。したがって、これらのデータは、ω－３ＬＣＰＵＦＡ食餌を与えたマウスにおける、内皮細胞へのＩＣＡＭ－１と白血球表面へのＩＣＡＭ－１リガンドの両方に関わる機能的下方制御を連想させるものである。

【００８２】

ω－３ＬＣＰＵＦＡを与えたマウスからのＰＢＬのＩＣＡＭ－１に依存する回転速度の増加をさらに調査するために、ＩＣＡＭリガンド、ＣＤ１１ｂ及びＣＤ１８の発現を、循環白血球に関して計量した。フローサイトメトリーは、ＰＢＬ上のＣＤ１１ｂ及びＣＤ１８の表面発現レベルが、ω－６ＬＣＰＵＦＡ食餌を与えたマウスに比べ、ω－３ＬＣＰＵＦＡを与えたマウスの方が有意に低いことを明らかにした（図５Ｇ及び５Ｈ）。これは、ω－３ＬＣＰＵＦＡを与えたマウスからの白血球の回転速度の増加が、ＣＤ１１ｂ及びＣＤ１８の下方制御に少なくとも部分的に起因するとの見解に一貫している。

【表２】

表２。代表的な流れチャンバー実験に対する圧力降下（ΔＰ）及び剪断応力（τ）値。

	Ｐセレクチン		Ｐ	Ｅセレクチン		Ｐ	Ｐセレクチン＋ＩＣＡＭ－１		Ｐ	Ｐセレクチン＋ＩＣＡＭ－１		Ｐ
	ω－６	ω－３		ω－６	ω－３		ω－６	ω－３		ω－３	ω－３＋ＧＷ	
ΔＰ（mmHg）	26.46	25.23	0.34	25.58	25.36	0.77	25.70	25.11	0.32	21.82	24.44	0.70
τ（ダイン/cm2）	14.10	13.45	0.34	13.64	13.52	0.77	13.70	13.39	0.32	11.63	13.03	0.70

［実施例７］ω－３ＬＣＰＵＦＡを与えたマウスにおけるＣＮＶ病変の脈絡膜及び網膜内では、Ｃｘ３Ｃｒ１陽性細胞の侵入が抑制される。

【００８３】

マクロファージ及び白血球は、例えば、脈絡膜新血管発症の原因となるＶＥＧＦ等の炎症性サイトカイン及び新血管形成分子の源である（Ｇｒｏｓｓｎｉｋｌａｕｓ　ｅｔ　ａｌ．，Ｍｏｌ　Ｖｉｓ．２００２；８：１１９－１２６）。以前の研究は、死後のＣＮＶ眼球における、また、ＡＭＤ患者から外科的に切除したＣＮＶ病変における炎症性細胞の侵入を報告している（Ｎｏｄａ　ｅｔ　ａｌ．、上記）。ω－３ＬＣＰＵＦＡ処置中の白血球接着分子の下方制御が、眼球内への白血球浸潤に影響を及ぼすかどうかを調査するために、Ｃｘ３ｃｒ１$^{ＧＦＰ／＋}$マウスを使用して、ＣＮＶ誘発後に、網膜及び脈絡膜内の白血球数を定量化した（Ｉｓｈｉｄａ　ｅｔ　ａｌ、上記）。ω－３食餌を与えたＣｘ３ｃｒ１$^{ＧＦＰ／＋}$マウスは、ω－６を与えたＣｘ３ｃｒ１$^{ＧＦＰ／＋}$マウスに比べ、網膜（図６Ａ）及び脈絡膜（図６Ｂ）内に有意に少ない白血球を示した。これらのデータは、ω－３ＬＣＰＵＦＡが、網膜及び脈絡膜内のＣＮＶ病変への免疫細胞の動員を抑制するのに重要であることを示唆する。ＣＮＶ疾患におけるＣｘ３ｃｒ１陽性細胞の表現型の識別を開始するために、網膜あるいは脈絡膜において、ならびにω－３を与えたマウスの循環器において、ＦＡＣＳ分析により、Ｌｙ－６Ｃの発現を調べた。網膜あるいは脈絡膜へのＣｘ３ｃｒ１陽性細胞、Ｌｙ－６Ｃ^{低}マクロファージ及びＬｙ－６Ｃ^{高}単核細胞の蓄積は、ω－６を与えたマウスに比べ、ω－３ＬＣＰＵＦＡ食餌を与えたマウスで有意に減少した（図６Ｃ～６Ｅ）。対照的に、血液Ｃｘ３ｃｒ１陽性、Ｌｙ－６Ｃ^{低}マクロファージ及びＬｙ－６Ｃ^{高}単核細胞は、ω－３を与えたマウスでも、ω－６を与えたマウスでも違わなかった（図６Ｆ～６Ｈ）。これらの結果は、ω－３ＬＣＰＵＦＡ食餌摂取が、ＣＮＶ病変へのマクロファージ侵入を抑制することを示す。

［実施例８］ω－３ＬＣＰＵＦＡ食餌は、網膜及び脈絡膜内のＶＥＧＦ発現を抑制する。

【００８４】

浸透するマクロファージ及び白血球は、炎症性サイトカイン（Ｉｓｈｉｄａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔ　Ｍｅｄ．２００３；９：７８１－７８８）、及びＣＮＶ発病の原因となるＶＥＧＦ等の新血管形成分子（Ｎｏｄａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｆａｓｅｂ　Ｊ．２００８；２２：２９２８－２９３５）の源になり得る。ＶＥＧＦがＣＮＶ解消に関わっているかどうかを調査するために、ｍＲＮＡ及びタンパク質レベルで、ＶＥＧＦ発現を試験した。ＣＮＶ誘発後７日での網膜または脈絡膜内のＶｅｇｆ－ａ・ｍＲＮＡ量は、ω－３またはω－６ＬＣＰＵＦＡ食餌を与えたマウス間で違わなかった（図７Ａ）。ＣＮＶ誘発後（５日ではなく）７日の網膜及び脈絡膜内のＶＥＧＦタンパク質の豊度は、ω－６を与えたマウスに比べ、ω－３を与えたマウスで有意に減少した（図７Ｂ及び７Ｃ）。ＶＥＧＦ発現のこのパターンは、ＣＮＶサイズと血管からの漏れとに密接に相関していた（図１）。このことは、ω－３ＬＣＰＵＦＡによる眼球血管形成及び免疫細胞浸潤の調整が、ＣＮＶに対する保護効果に寄与することを示す。

［実施例９］メタボライトによるサプリメントは、炎症を減少させる。

【００８５】

ω－３ＬＣＰＵＦＡ食餌は、ＶＥＧＦ発現を減少させ、ＣＮＶからの保護を提供するのに有効であるが、メタボライトの投与は、より強力な治療効果を提供するかもしれない。したがって、白血球回転に対するＥＥＱ及びＥＤＰ由来のメタボライトの影響を、先に述べたように評価した。

【００８６】

本文で説明のＥＥＱ及びＥＤＰ由来のメタボライトは、これらの動物における回転速度を増加させることによって、病変部位への白血球動員を減少させた（図９Ａ及び９Ｂ）。したがって、抗炎症性であるが、オメガ－６由来のＥＥＴは、そうではなかった。対照的に、オメガ－６由来のＥＥＴは、ＥＥＱ及びＥＤＰ由来のメタボライトに比べ、ＩＣＡＭ

被覆流れチャンバー上での回転速度をさらに減少させた（図９Ｃ及び９Ｄ）。免疫細胞動員に関わると共に、炎症誘発性表現型になっている。したがって、１７，１８－ＥＥＱ及び１９，２０－ＥＤＰの投与は、ＣＮＶ中の全身的な白血球動員を減少させる。

【００８７】

接着分子発現に対するω－３ＬＣＰＵＦＡ食餌メタボライトの影響を、レーザー誘発ＣＮＶモデルにおいて試験した。各メタボライトは、特異的ＩＣＡＭリガンドに対して、異なる影響を及ぼすようであった。ＥＤＰは、末梢血白血球内のＣＤ１１ｂを抑制する（図９Ｅ及び９Ｆ）が、ＣＤ１８を抑制しない（図９Ｇ及び９Ｈ）。これに対し、ＥＥＱは、末梢血白血球内のＣＤ１８を抑制する（図９Ｋ及び９Ｌ）が、ＣＤ１１ｂを抑制しない（図９Ｉ及び９Ｊ）。

参考文献。

【００８８】

１．Ｌｉｍ，Ｌ．Ｓ．　ｅｔ　ａｌ．Ａｇｅ－ｒｅｌａｔｅｄ　ｍａｃｕｌａｒ　ｄｅｇｅｎｅｒａｔｉｏｎ．Ｌａｎｃｅｔ．３７９，１７２８－１７３８（２０１２）（加齢性黄斑変性、ランセット）。

２．Ｚｈａｎｇ，Ｋ．，Ｚｈａｎｇ，Ｌ．&Ｗｅｉｎｒｅｂ，Ｒ．Ｎ．Ｏｐｈｔｈａｌｍｉｃ　ｄｒｕｇ　ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ：ｎｏｖｅｌ　ｔａｒｇｅｔｓ　ａｎｄ　ｍｅｃｈａｎｉｓｍｓ　ｆｏｒ　ｒｅｔｉｎａｌ　ｄｉｓｅａｓｅｓ　ａｎｄ　ｇｌａｕｃｏｍａ．Ｎａｔ．Ｒｅｖ．Ｄｒｕｇ　Ｄｉｓｃｏｖ．１１，５４１－５５９（２０１２）（眼科薬剤の発見：網膜疾患及び緑内障の新規標的及びメカニズム）。

３．Ｆｒｉｅｄｍａｎ，Ｄ．Ｓ．　ｅｔ　ａｌ．Ｐｒｅｖａｌｅｎｃｅ　ｏｆ　ａｇｅ－ｒｅｌａｔｅｄ　ｍａｃｕｌａｒ　ｄｅｇｅｎｅｒａｔｉｏｎ　ｉｎ　ｔｈｅ　Ｕｎｉｔｅｄ　Ｓｔａｔｅｓ．Ａｒｃｈ．Ｏｐｈｔｈａｌｍｏｌ．１２２，５６４－５７２（２００４）（合衆国における加齢性黄斑変性の流行）。

４．ＳａｎＧｉｏｖａｎｎｉ，Ｊ．Ｐ．　ｅｔ　ａｌ．Ｔｈｅ　ｒｅｌａｔｉｏｎｓｈｉｐ　ｏｆ　ｄｉｅｔａｒｙ　ｌｉｐｉｄ　ｉｎｔａｋｅ　ａｎｄ　ａｇｅ－ｒｅｌａｔｅｄ　ｍａｃｕｌａｒ　ｄｅｇｅｎｅｒａｔｉｏｎ　ｉｎ　ａ　ｃａｓｅ－ｃｏｎｔｒｏｌ　ｓｔｕｄｙ：ＡＲＥＤＳ　Ｒｅｐｏｒｔ　Ｎｏ．２０．Ａｒｃｈ．Ｏｐｈｔｈａｌｍｏｌ．１２５，６７１－６７９（２００７）（症例コントロール研究における食餌脂質摂取量と加齢性黄斑変性の関係）。

５．ＳａｎＧｉｏｖａｎｎｉ，Ｊ．Ｐ．　ｅｔ　ａｌ．Ｔｈｅ　ｒｅｌａｔｉｏｎｓｈｉｐ　ｏｆ　ｄｉｅｔａｒｙ　ｏｍｅｇａ－３　ｌｏｎｇ－ｃｈａｉｎ　ｐｏｌｙｕｎｓａｔｕｒａｔｅｄ　ｆａｔｔｙ　ａｃｉｄ　ｉｎｔａｋｅ　ｗｉｔｈ　ｉｎｃｉｄｅｎｔ　ａｇｅ－ｒｅｌａｔｅｄ　ｍａｃｕｌａｒ　ｄｅｇｅｎｅｒａｔｉｏｎ：ＡＲＥＤＳ　ｒｅｐｏｒｔ　ｎｏ．２３．Ａｒｃｈ．Ｏｐｈｔｈａｌｍｏｌ．１２６，１２７４－１２７９（２００８）（食餌のオメガ－３長鎖不飽和脂肪酸摂取と加齢性黄斑変性発症の関係）。

６．Ｃｈｅｗ，Ｅ．Ｙ．Ｆａｔｔｙ　ａｃｉｄｓ　ａｎｄ　ｒｅｔｉｎｏｐａｔｈｙ．Ｎ．Ｅｎｇｌ．Ｊ．Ｍｅｄ．３６４，１９７０－１９７１（２０１１）（脂肪酸と網膜疾患）。

７．Ｓａｎｇｉｏｖａｎｎｉ，Ｊ．Ｐ．　ｅｔ　ａｌ．ω－３Ｌｏｎｇ－ｃｈａｉｎ　ｐｏｌｙｕｎｓａｔｕｒａｔｅｄ　ｆａｔｔｙ　ａｃｉｄ　ｉｎｔａｋｅ　ａｎｄ　１２－ｙ　ｉｎｃｉｄｅｎｃｅ　ｏｆ　ｎｅｏｖａｓｃｕｌａｒ　ａｇｅ－ｒｅｌａｔｅｄ　ｍａｃｕｌａｒ　ｄｅｇｅｎｅｒａｔｉｏｎ　ａｎｄ　ｃｅｎｔｒａｌ　ｇｅｏｇｒａｐｈｉｃ　ａｔｒｏｐｈｙ：ＡＲＥＤＳ　ｒｅｐｏｒｔ３０，ａ　ｐｒｏｓｐｅｃｔｉｖｅ　ｃｏｈｏｒｔ　ｓｔｕｄｙ　ｆｒｏｍ　ｔｈｅ　Ａｇｅ－Ｒｅｌａｔｅｄ　Ｅｙｅ　Ｄｉｓｅａｓｅ　Ｓｔｕｄｙ．Ａｍ．Ｊ．Ｃｌｉｎ．Ｎｕｔｒ．９０，１６０１－１６０７（２００９）（ω－３長鎖不飽和脂肪酸摂取と血管新生加齢性黄斑変性の１２－ｙ発生、及び中央地図状萎縮：加齢性眼疾患試験からの前向きコホート試験）。

８．Ｂｈｕｔｔｏ，Ｉ．&Ｌｕｔｔｙ，Ｇ．Ｕｎｄｅｒｓｔａｎｄｉｎｇ　ａｇｅ－ｒｅ

lated macular degeneration（AMD）：relationships between the photoreceptor／retinal pigment epithelium／Bruch’s membrane／choriocapillaris complex. Mol. Aspects Med. 33, 295－317（2012）（加齢性黄斑変性（AMD）の理解：光レセプター／網膜色素上皮／ブルッフ膜／脈絡毛細管複合体の関係）。
9. Guyer, D. R. et al. Subfoveal choroidal neovascular membranes in age－related macular degeneration. Visual prognosis in eyes with relatively good initial visual acuity. Arch. Ophthalmol. 104, 702－705（1986）（加齢性黄斑変性の中心窩下脈絡膜血管新生膜。比較的に良い初期視力を有する眼の視覚予測）。
10. Wang, L. et al. Abundant lipid and protein components of drusen. PLoSOne. 5, e10329（2010）（ドルーゼンの大量な脂質及びタンパク質要素）。
11. Curcio, C. A., Rudolf, M. &Wang, L. Histochemistry and lipid profiling combine for insights into aging and age－related maculopathy. Methods Mol. Biol. 580, 267－281（2009）（組織化学と脂質プロファイリングとの組合せが、エージングと加齢性黄斑症への洞察をもたらす）。
12. Wong, T. Y. et al. Prevalence and causes of low vision and blindness in an urban Malay population：the Singapore Malay Eye Study. Arch. Ophthalmol. 126, 1091－1099（2008）（マレー半島都市部に住む人々の低視力及び失明の罹患及び原因：シンガポール・マレー眼研究）。
13. Gragoudas, E. S., Adamis, A. P., Cunningham, E. T., Jr., Feinsod, M. &Guyer, D. R. Pegaptanib for neovascular age－related macular degeneration. N. Engl. J. Med. 351, 2805－2816（2004）（血管新生加齢性黄斑変性に対するペガプタニブ）。
14. Ng, E. W. &Adamis, A. P. Anti－VEGF aptamer（pegaptanib） therapy for ocular vascular diseases. Ann. N. Y. Acad. Sci. 1082, 151－171（2006）（眼球血管疾患に対する抗ＶＥＧＦアプタマー（ペガプタニブ）療法）。
15. Rosenfeld, P. J. et al. Ranibizumab for neovascular age－related macular degeneration. N. Engl. J. Med. 355, 1419－1431（2006）（血管新生加齢性黄斑変性に対するラニビズマブ）。
16. Sapieha, P. et al. 5－Lipoxygenase metabolite4－HDHA is a mediator of the antiangiogenic effect of omega－3 polyunsaturated fatty acids. Sci. Transl. Med. 3, 69ra12（2011）（5－リポキシゲナーゼ・メタボライト４－ＨＤＨＡは、オメガ－３多価不飽和脂肪酸の抗血管新生効果のメディエーターである）。
17. Connor, K. M. et al. Increased dietary intake of omega－3－polyunsaturated fatty acids reduces pathological retinal angiog

enesis. Nat. Med. 13, 868－873（2007）（オメガ－3－多価不飽和脂肪酸の食餌摂取の増加が、病的網膜血管形成を減少させる）。
18. Bazan, N. G. Homeostatic regulation of photoreceptor cell integrity：significance of the potent mediator neuroprotectin D1 biosynthesized from docosahexaenoic acid：the Proctor Lecture. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 48, 4866－4881（2007）（光受容細胞健全性のホメオスタシス規制：ドコサヘキサエン酸から生合成した強力なメディエーター・ニューロプロテクチンＤ１の有意性）。
19. Stahl, A. et al. Short communication：PPAR gamma mediates a direct antiangiogenic effect of omega3－PUFAs in proliferative retinopathy. Circ. Res. 107, 495－500（2010）（コミュニケーションの短絡：ＰＰＡＲガンマは、増殖網膜疾患におけるオメガ３－ＰＵＦＡの直接的な抗血管新生効果を媒介する）。
20. Kang, J. X. et al. The role of the tissure omega6／omega－3 fatty acid ratio in regulating tumor angiogenesis. Cancer Metast. Rev. In press （腫瘍血管形成を規制する組織オメガ６／オメガ－３脂肪酸の比率の役割）。
21. Sheets K. G. et al. Neuroprotectin D1 attenuates laser－induced choroidal neovascularization in mouse. Mol Vis. 16, 320－329（2010）（ニューロプロテクチンＤ１は、マウスでレーザー誘発された脈絡膜血管新生を減衰させる）。
22. SanGiovanni, J. P. &Chew, E. Y. The role of omega－3 long－chain polyunsaturated fatty acids in health and disease of the retina. Prog. Retin. Eye Res. 24, 87－138（2005）（網膜の健康及び疾患におけるオメガ－３長鎖不飽和脂肪酸の役割）。
23. Montezuma, S. R., Vavvas, D. &Miller, J. W. Review of the ocular angiogenesis animal models. Semin. Ophthalmol. 24, 52－61（2009）（眼球血管形成動物モデルのレビュー）。
24. Afzal, A. et al. Targeting retinal and choroid neovascularization using the small molecule inhibitor carboxyamidotriazole. Brain Res. Bull. 81, 320－326（2010）（小型分子阻害剤カルボキシアミドトリアゾールを使用して、網膜及び脈絡膜血管新生を標的とする）。
25. Giani, A. et al. Spectral－domain optical coherence tomography as an indicator of fluorescein angiography leakage from choroidal neovascularization. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 52, 5579－5586（2011）（脈絡膜血管新生からのフルオレセイン・アンジオグラフィー漏出の指標としてのスペクトル・ドメイン光干渉断層法）。
26. Sulzbacher, F. et al. Correlation of SD－OCT features and retinal sensitivity in

neovascular age-related macular degeneration. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 53, 6448-6455（2012）（血管新生加齢性黄斑変性におけるＳＤ－ＯＣＴ機能と網膜感度の相関関係）。
27. Arnold, C., Konkel, A., Fischer, R. &Schunck, W. H. Cytochrome P450-dependent metabolism of omega-6 and omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids. Pharmacol. Rep. 62, 536-547（2010）（オメガ－６及びオメガ－３長鎖不飽和脂肪酸のチトクロームＰ４５０依存代謝）。
28. Arnold, C. et al. Arachidonic acid-metabolizing cytochrome P450 enzymes are targets of ω-3 fatty acids. J. Biol. Chem. 285, 32720-32733（2010）（アラキドン酸代謝チトクロームＰ４５０酵素は、ω－３脂肪酸の標的である）。
29. Konkel, A. &Schunck, W. H. Role of cytochromeP450enzymesinthebioactivation of polyunsaturated fatty acids. Biochim. Biophys. Acta1814, 210-222（2011）（多価不飽和脂肪酸の生理活性におけるチトクロームＰ４５０酵素の役割）。
30. Serhan, C. N. &Devchand, P. R. Novel antiinflammatory targets for asthma. A role for PPARgamma? Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. 24, 658-661（2001）（喘息のための新規消炎性標的。ＰＰＡＲガンマの役割？）。
31. Ambati, J. &Fowler, B. J. Mechanisms of age-related macular degeneration. Neuron75, 26-39（2012）（加齢性黄斑変性のメカニズム）。
32. Noda, K. et al. Vascular adhesion protein-1 blockade suppresses choroidal neovascularization. FASEBJ. 22, 2928-2935（2008）（血管付着タンパク質－１封鎖は、脈絡膜血管新生を抑制する）。
33. Almulki, L. et al. Surprising up-regulation of P-selectin glycoprotein ligand-1（PSGL-1） in endotoxin-induced uveitis. FASEBJ. 23, 929-939（2009）（エンドトキシンによって誘発されたブドウ膜炎におけるＰ－セレクチン・グリコプロテイン・リガンド－１（ＰＳＧＬ－１）の驚くべき上方制御）。
34. Cherepanoff, S., McMenamin, P., Gillies, M. C., Kettle, E. &Sarks, S. H. Bruch's membrane and choroidal macrophages in early and advanced age-related macular degeneration. Br. J. Ophthalmol. 94, 918-925（2010）（初期型及び進行型加齢性黄斑変性におけるブルック膜及び脈絡膜マクロファージ）。
35. Zarbin, M. A. Current concepts in the pathogenesis of age-related macular degeneration. Arch. Ophthalmol. 122, 598-614（2004）（加齢性黄斑変性発病の最新概念）。
36. Ishida, S. et al. Leukocytes mediate retinal vascular remodeling during develop

ment and vaso-obliteration in disease. Nat. Med. 9, 781-788（2003）（白血球は、疾患の進行及び脈管遮断中の、網膜血管リモデリングを媒介する）。
37. Daviglus, M. L. et al. Fish consumption and the 30-year risk of fatal myocardial infarction. N Engl J Med. 336, 1046-1053（1997）（魚の消費と、致命的な心筋梗塞の30年リスク）。
38. Berson, E. L., Rosner, B., Sandberg, M. A., Weigel-DiFranco, C. &Willett, W. C. ω-3 intake and visual acuity in patients with retinitis pigmentosa receiving vitamin A. Arch. Ophthalmol. 130, 707-711（2012）（ビタミンAを受ける色素性網膜炎患者におけるω-3摂取及び視力）。
39. Miles, E. A. &Calder, P. C. Influence of marine n-3 polyunsaturated fatty acids on immune function and a systematic review of their effects on clinical outcomes in rheumatoid arthritis. Br. J. Nutr. 107（suppl. 2), S171-S184（2012）（免疫機能へのマリーンn-3多価不飽和脂肪酸の影響と、それらの、リウマチ様関節炎における臨床結果に対する影響の系統的なレビュー）。
40. Simopoulos AP. Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. J Am. Coll. Nutr. 21, 495-505（2002）（炎症及び自己免疫疾患におけるオメガ-3脂肪酸）。
41. Nakai, K. et al. Dendritic cells augment choroidal neovascularization. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 49, 3666-3670（2008）（樹状細胞は脈絡膜血管新生を増大させる）。
42. Marneros, A. G. Endogenous endostatin inhibits choroidal neovascularization. FASEB J. 21, 3809-3818（2007）（内在性エンドスタチンは、脈絡膜血管新生を阻止する）。
43. Hafezi-Moghadam, A., Thomas, K. L. &Cornelssen, C. A novel mouse-driven ex vivo flow chamber for the study of leukocyte and platelet function. Am. J. Physiol. Cell Physiol. 286, C876-C892（2004）（白血球及び血小板機能の試験のための、新規なマウス駆動生体外フローチャンバー）。
他の実施形態。

【0089】

本発明を詳細説明と合わせて説明したが、前述の説明は、例示を目的とするもので、添付の、請求項の範囲によって定義される本発明の範囲を制限しないことを理解すべきである。他の態様、利点及び修正は、次の請求項の範囲内にある。

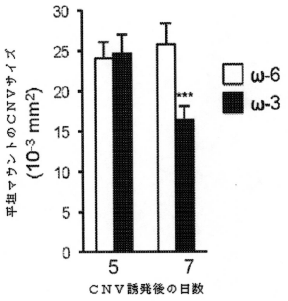
また、本発明は以下を提供する。

［1］　対象者における血管新生に関連する疾患の治療方法あるいはリスクの減少方法であって、ドコサヘキサエン酸（DHA）またはエイコサペンタエン酸（EPA）の一つ以上のエポキシメタボライトと医薬的に許容可能な担体を含む医薬組成物を治療的に有効な量で、それを必要とする対象者へ投与することを含む、前記方法。

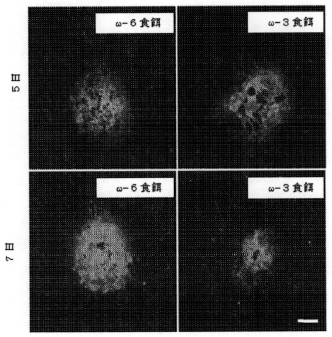
［2］　対象者における血管新生に関連する疾患の治療方法への、ドコサヘキサエン酸（

ＤＨＡ）及びエイコサペンタエン酸（ＥＰＡ）のエポキシメタボライトの使用。
［３］　前記治療が血管後退に至る、［１］の方法または［２］の使用。
［４］　前記疾患が、血管新生に関連する眼の疾患である、［１］の方法または［２］の使用。
［５］　前記眼の疾患が、角膜、網膜、脈絡膜、ブドウ膜あるいは虹彩の血管新生に関連する、［３］の方法または使用。
［６］　前記血管新生に関連する眼の疾患が加齢性黄斑変性である、［５］の方法または使用。
［７］　前記血管新生に関連する眼の疾患がシュタルガルト病である、［５］の方法または使用。
［８］　前記血管新生に関連する眼の疾患が網膜疾患である、［５］の方法または使用。
［９］　前記網膜疾患が、未熟児網膜症（ＲＯＰ）、糖尿病性網膜症、網膜静脈閉塞症、鎌状赤血球網膜症及び放射線網膜症からなる群から選択される、［８］の方法または使用。
［１０］　前記投与が、眼球への局所投与、すなわち非経口投与である、［４］の方法または使用。
［１１］　前記投与が、角膜、網膜、ガラス体液、葡萄膜、眼球孔、眼瞼、結膜または虹彩への、あるいは、その近くへの局所注入による、［１０］の方法または使用。
［１２］　前記疾患が癌である、［１］の方法または［２］の使用。
［１３］　対象者における炎症に関連する疾患の治療方法あるいはリスクの減少方法であって、ω－３ＬＣＰＵＦＡの一つ以上のエポキシメタボライトと医薬的に許容可能な担体を含む医薬組成物を、治療的に有効な量で投与することを含む、前記方法。
［１４］　対象者における炎症に関連する疾患の治療方法への、ドコサヘキサエン酸（ＤＨＡ）及びエイコサペンタエン酸（ＥＰＡ）のエポキシメタボライトの使用。
［１５］　前記疾患が関節炎である、［１３］の方法または［１４］の使用。
［１６］　対象者における血管からの漏れに関連する疾患の治療方法あるいはリスクの減少方法であって、ω－３ＬＣＰＵＦＡの一つ以上のエポキシメタボライトと医薬的に許容可能な担体を含む医薬組成物を、治療的に有効な量で投与することを含む、前記方法。
［１７］　対象者における血管からの漏れに関連する疾患の治療方法への、ドコサヘキサエン酸（ＤＨＡ）及びエイコサペンタエン酸（ＥＰＡ）のエポキシメタボライトの使用。
［１８］　前記疾患が卒中である、［１６］の方法または［１７］の使用。
［１９］　前記ω－３ＬＣＰＵＦＡの一つ以上のエポキシメタボライトが、表Ａにリストされている、［１］、［２］、［１３］、［１４］、［１６］または［１７］のいずれかの方法または使用。
［２０］　前記組成物が、ω－３ＬＣＰＵＦＡを含み、１７，１８－ＥＥＱ及び／または１９，２０－ＥＤＰである、［１］、［２］、［１３］、［１４］、［１６］または［１７］のいずれかの方法または使用。
［２１］　前記１７，１８－ＥＥＱ及び／または１９，２０－ＥＤＰが実質的に精製される、［２０］の方法または使用。
［２２］　前記ω－３ＬＣＰＵＦＡの一つ以上のエポキシメタボライトが、表Ａにリストされている、［３］から［１２］、［１５］または［１８］のいずれかの方法または使用。
［２３］　前記組成物が、ω－３ＬＣＰＵＦＡを含み、１７，１８－ＥＥＱ及び／または１９，２０－ＥＤＰである、［３］から［１２］、［１５］または［１８］のいずれかの方法または使用。
［２４］　前記１７，１８－ＥＥＱ及び／または１９，２０－ＥＤＰが実質的に精製される、［２３］の方法または使用。

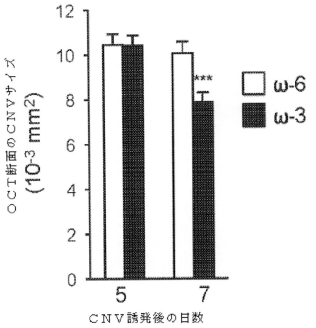
【図１Ａ】



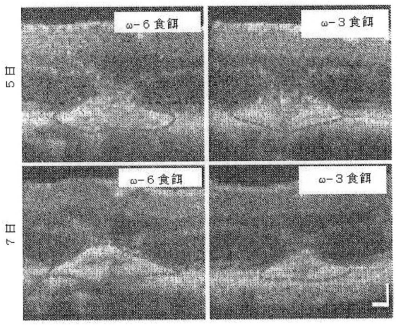
【図１Ｂ】



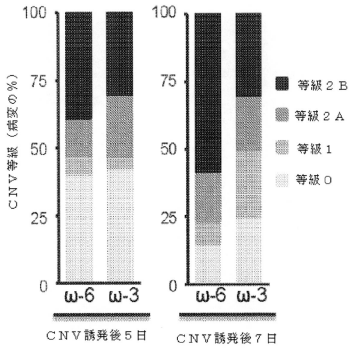
【図１Ｃ】



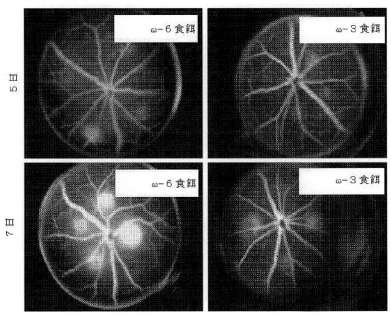
【図１Ｄ】



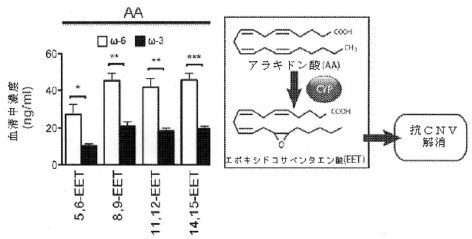
【図１Ｅ】



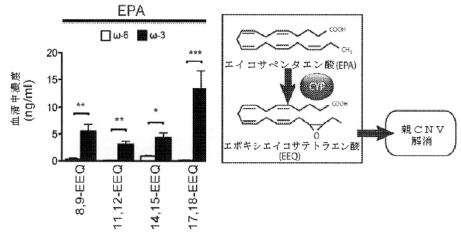
【図１Ｆ】



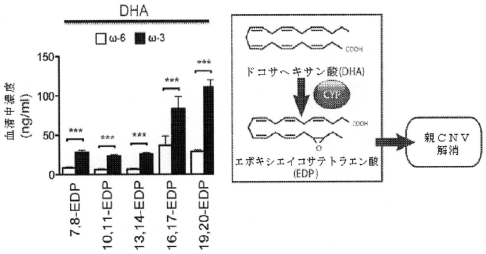
【図２Ａ】



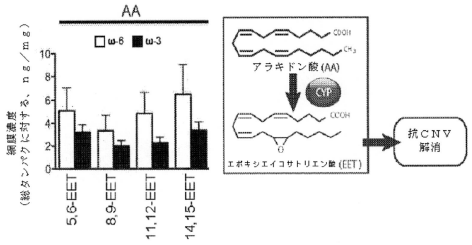
【図２Ｂ】



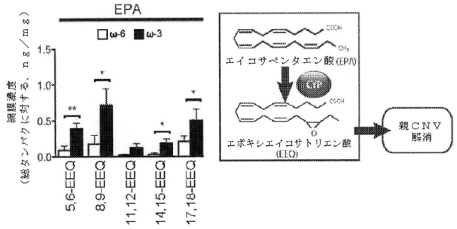
【図２Ｃ】



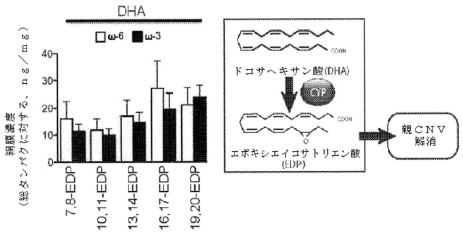
【図２Ｄ】



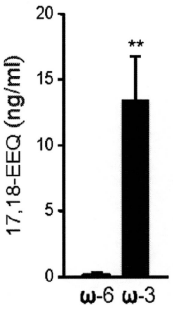
【図２Ｅ】



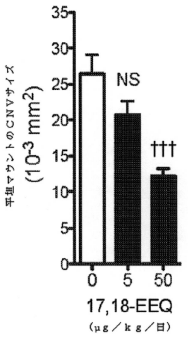
【図２Ｆ】



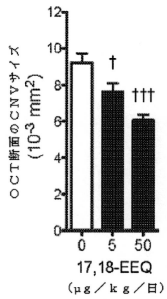
【図３Ａ】



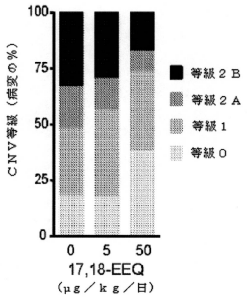
【図３Ｂ】



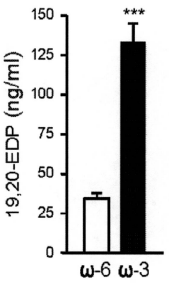
【図３Ｃ】



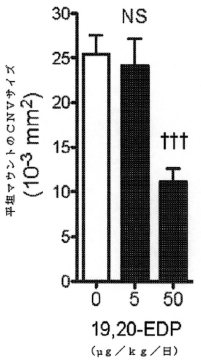
【図３Ｄ】



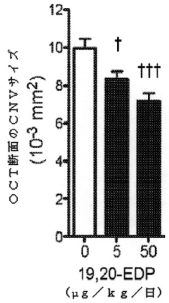
【図３Ｅ】



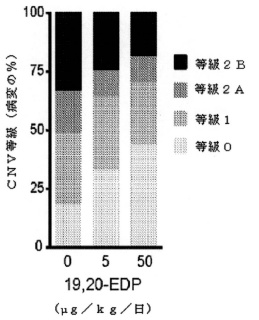
【図３Ｆ】



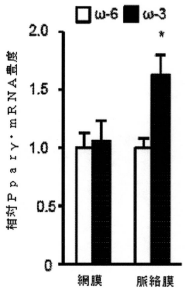
【図３Ｇ】



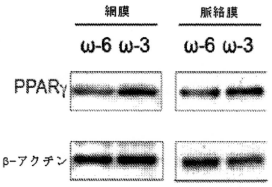
【図３Ｈ】



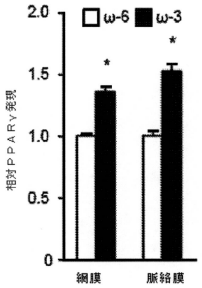
【図４Ａ】



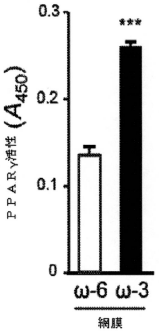
【図４Ｂ】



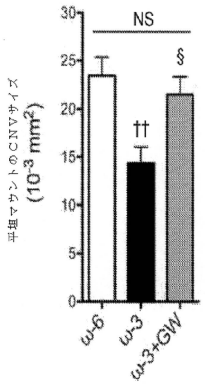
【図４Ｃ】



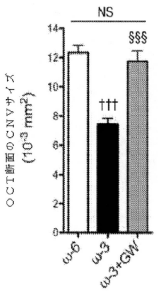
【図４Ｄ】



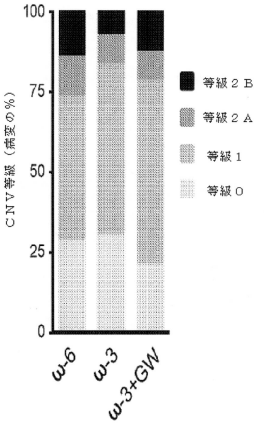
【図４Ｅ】



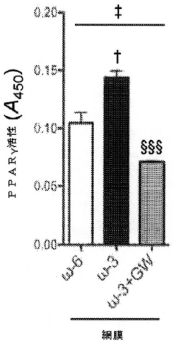
【図４Ｆ】



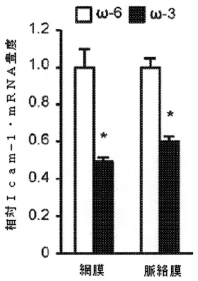
【図４Ｇ】



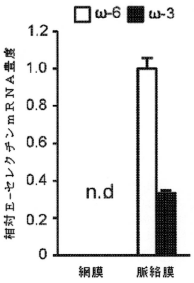
【図４Ｈ】



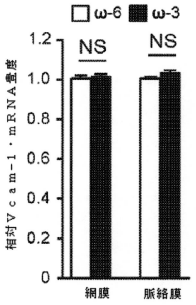
【図４Ｉ】



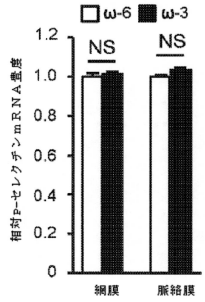
【図４Ｊ】



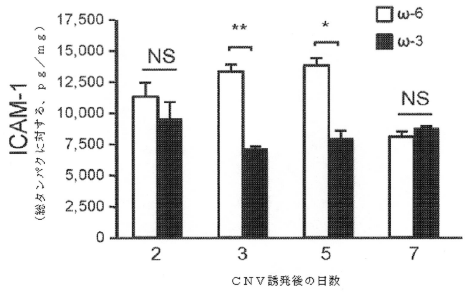
【図４Ｋ】



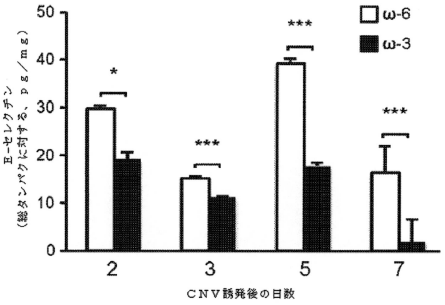
【図４Ｌ】



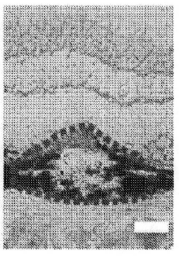
【図４Ｍ】



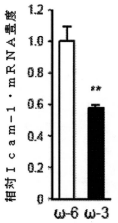
【図４Ｎ】



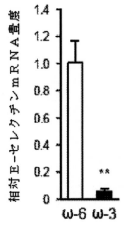
【図５Ａ】



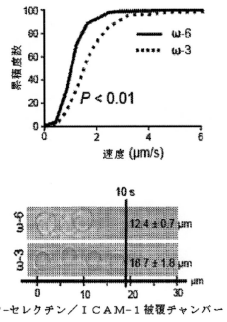
【図５Ｂ】



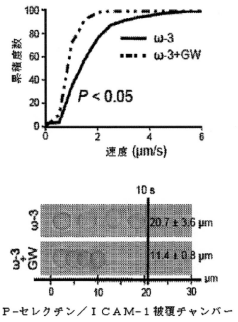
【図５Ｃ】



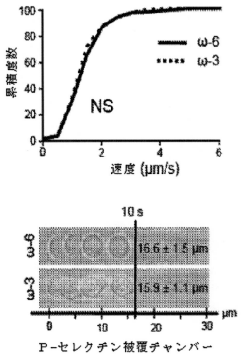
【図５Ｄ】



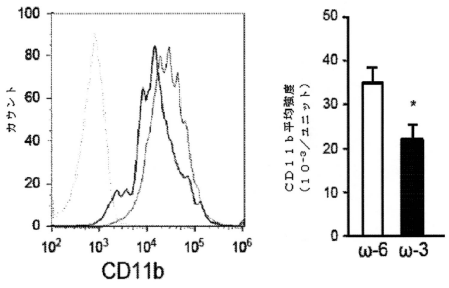
【図５Ｅ】



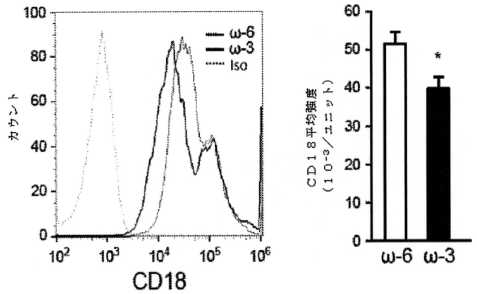
【図５Ｆ】



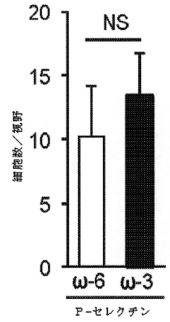
【図５Ｇ】



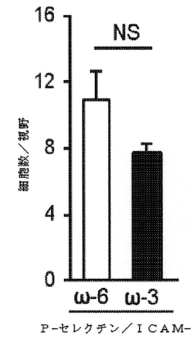
【図５Ｈ】



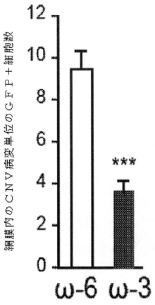
【図５Ｉ】



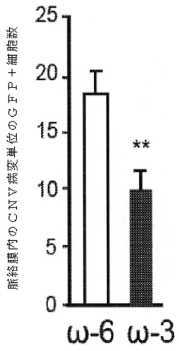
【図５Ｊ】



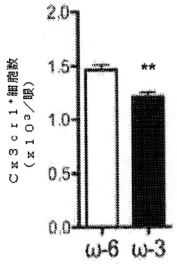
【図６Ａ】



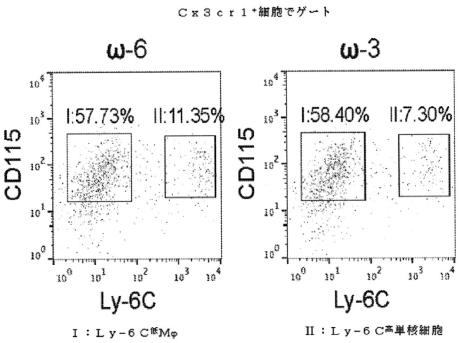
【図６Ｂ】



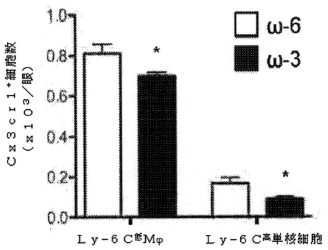
【図６Ｃ】



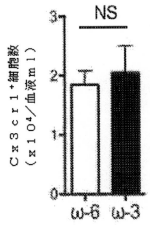
【図６Ｄ】



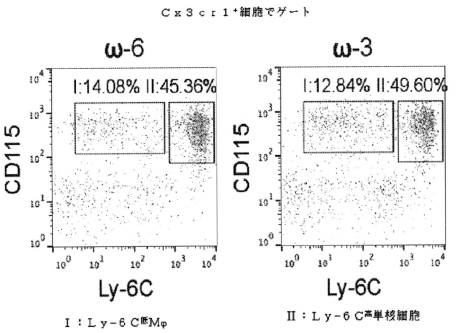
【図６Ｅ】



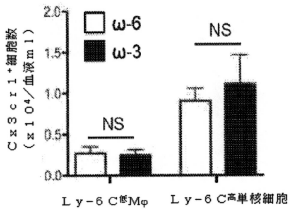
【図６Ｆ】



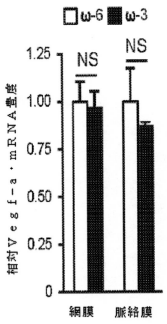
【図６Ｇ】



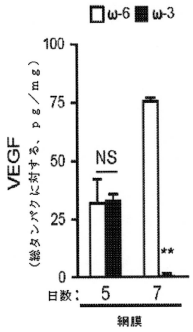
【図６Ｈ】



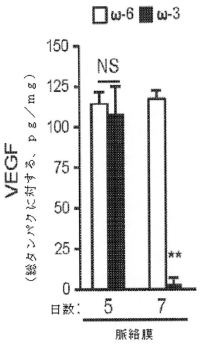
【図７Ａ】



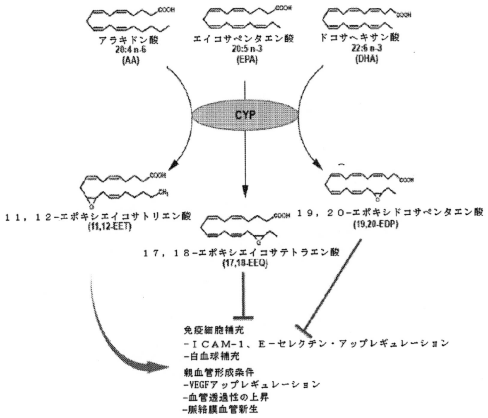
【図７Ｂ】



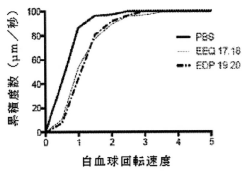
【図７Ｃ】



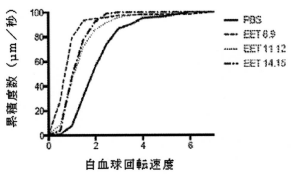
【図８】



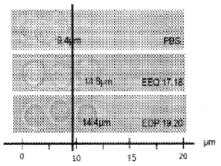
【図９Ａ】



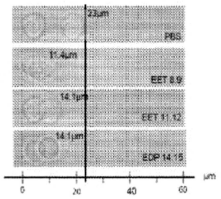
【図９Ｂ】



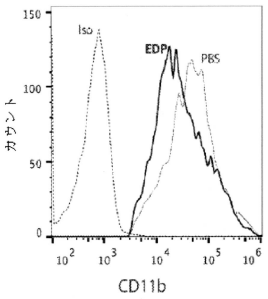
【図９Ｃ】



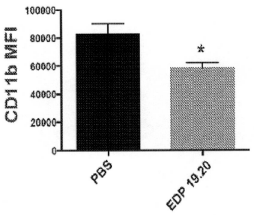
【図９Ｄ】



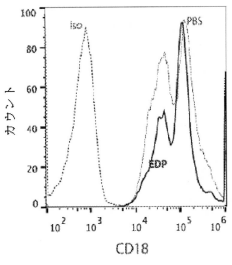
【図９Ｅ】



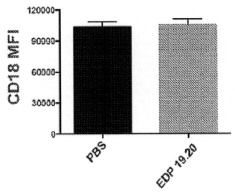
【図９Ｆ】



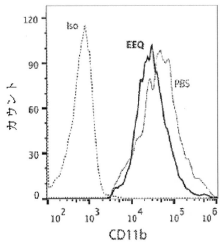
【図９Ｇ】



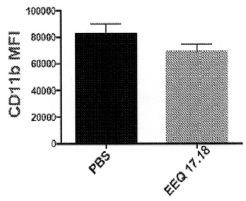
【図９Ｈ】



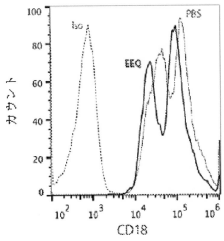
【図９Ｉ】



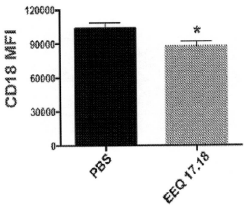
【図９Ｊ】



【図９Ｋ】



【図９Ｌ】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.			FI	
A61P	***29/00***	***(2006.01)***	A61P	29/00
A61P	***19/02***	***(2006.01)***	A61P	19/02
A61P	***9/14***	***(2006.01)***	A61P	9/14
A61P	***9/00***	***(2006.01)***	A61P	9/00

(72)発明者 コナー, キップ エム.
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 ０２４６５, ニュートン, ワシントン ストリート １６６９
(72)発明者 柳井 亮二
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 ０２１４２, ケンブリッジ, サード ストリート ３５０ アパートメント １００９

審査官 鶴見 秀紀

(56)参考文献 特表２００８－５２０７３９（ＪＰ, Ａ）
特開平０５－２８６９５６（ＪＰ, Ａ）
Proc. Nati. Acad. Sci. USA, ２０１３年, Vol.110,No.16, pp.6530-6535, abstract,Fig.1-3
日本眼科学会雑誌, ２００３年, Vol.107, p.199, 130
American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology, ２０１０年, Vol.43,No.5, pp.564-575, abstract
Circulation Research, ２０１０年, Vol.107,No.4, pp.495-500, abstract,Fig.4
Current Atherosclerosis Reports, ２００４年, Vol.6,No.6, pp.461-467
British-Journal of Pharmacology, ２０１１年, Vol.162,No.5, pp.1143-1155
Clinical Hemorheology and Microcirculation, ２０１２年, Vol.52, pp.403-416
Toxicology and Applied Pharmacology, ２０１２年, Vol.264,No.3, pp.351-360

(58)調査した分野(Int.Cl., ＤＢ名)
Ａ６１Ｋ ３１／００－３１／８０
Ａ６１Ｐ ９／００
Ａ６１Ｐ ９／１０
Ａ６１Ｐ ９／１４
Ａ６１Ｐ １９／０２
Ａ６１Ｐ ２７／０２
Ａ６１Ｐ ２９／００
Ａ６１Ｐ ３５／００
Ａ６１Ｐ ４３／００
ＪＳＴＰｌｕｓ／ＪＭＥＤＰｌｕｓ／ＪＳＴ７５８０（ＪＤｒｅａｍＩＩＩ）
ＣＡｐｌｕｓ／ＭＥＤＬＩＮＥ／ＥＭＢＡＳＥ／ＢＩＯＳＩＳ（ＳＴＮ）