

糖尿病網膜症における眼内 microRNA (miRNA) の解析

平形 明人 石田 均¹ 渡邊 卓²
廣田 和成

杏林大学医学部眼科学

¹ 杏林大学医学部第三内科学² 杏林大学医学部臨床検査医学

背景と目的

糖尿病合併症の一つである糖尿病網膜症は現在、我が国における失明原因の第2位を占めている。糖尿病網膜症に対する治療法は厳密な血糖管理、網膜光凝固術、硝子体切除術、さらに最近では抗 VEGF 抗体の眼内投与などが施行されているが、これらの治療を行っても眼内の血管新生、増殖性変化の進行を抑制できず、視力予後不良な転帰をたどる症例も存在する。

近年、蛋白質の翻訳に関与しない non-coding RNA が存在し、その中でも 18-25 塩基からなる microRNA (miRNA) が標的 mRNA の発現を制御することで発生・分化などの様々な生命現象の制御、悪性腫瘍の分化・進展、血管新生、線維化などに関与していることが明らかとなってきた。(Ambros. Nature 431:350-355, 2004, Bi et al. J. Cell. Physiol. 218:467-472, 2009)。miRNA は核内で stem 構造を持つ primary miRNA として転写され、pre-miRNA へと代謝された後、細胞質に運ばれ成熟型の mature-miRNA へとプロセスされる。この後 miRNA は RISC (RNA inducing silencing complex) と呼ばれる蛋白質複合体中に取り込まれ、蛋白質の翻訳抑制、mRNA の分解を促進する。

これまで糖尿病における miRNA の報告をみると、糖尿病性腎症の線維化の進行、特に TGF-beta を起点とした細胞外基質の蓄積に miRNA-21, 29, 93, 200 family などが関与することが報告されており、眼科領域では Streptozotocin 誘導ラット糖尿病モデルの網膜において miRNA-200 の発現が低下、さらに眼内に miRNA-200 を補充することで VEGF の発現が低下、網膜血管の透過性も改善したとの報告がある (Diabetes 60:1314-23, 2011)。ヒトの検体を用いた研究では糖尿病患者の剖検眼では正常眼に比べて miRNA-200 の発現が低下しているとの報

告はあるものの (Diabetes 60:1314-23, 2011)、糖尿病網膜症患者から術中に採取した網膜や眼内液 (硝子体) 中の miRNA の発現を検討した報告はない。また糖尿病網膜症以外の眼疾患における眼内の miRNA の発現に関する報告は少なく、眼組織における miRNA の生理的、病的機能の解析はほとんどなされていない。

本研究課題では non-coding RNA の観点から増殖糖尿病網膜症の病態機序を明らかにするため、microRNA panel PCR 法を用いて糖尿病患者硝子体液中の miRNA の遺伝子発現、および対照群として黄斑円孔患者の硝子体液中の miRNA の遺伝子発現について網羅的に解析し、miRNA と眼疾患との関連について検討した。

さらに本研究課題では硝子体液に加えて血清を採取し、眼内特異的な miRNA の発現プロファイルの有無について解析を行った。

方法

1) 対象

対象は黄斑円孔患者 4 名 (57 歳-75 歳, 平均年齢 66 歳, 男性 2 例, 女性 2 例), 増殖糖尿病網膜症患者 4 名 (40 歳-67 歳, 平均年齢 55 歳, 男性 2 例, 女性 2 例)。本研究について説明し、文書による同意を得た後、手術当日に採血、硝子体手術中に硝子体液 1ml を採取した。検体採取後、末梢血から血清を分離、硝子体液を遠心分離し、硝子体液中の細胞成分を除去したのち、解析まで -80℃ にて保存した。本研究課題は 2011 年に杏林大学倫理委員会の承認を得た。

2) 硝子体液、血清からの RNA の抽出

検体を氷上にて融解させ、完全に液状になった状態で再度遠心分離を行い、細胞成分などを除去し、上清部

表 1. 黄斑円孔患者および増殖糖尿病網膜症患者の年齢と性別

MH	年齢	性別	PDR	年齢	性別
case 1	57	F	case 1	67	M
case 2	74	M	case 2	66	M
case 3	60	M	case 3	40	F
case 4	75	F	case 4	47	F

MH: 黄斑円孔 PDR: 増殖糖尿病網膜症

表 2. 硝子体液および血清中で検出された miRNA の発現数

MH	硝子体液	血清	PDR	硝子体液	血清
case 1	67	164	case 1	117	149
case 2	69	167	case 2	89	160
case 3	55	161	case 3	76	115
case 4	62	159	case 4	65	146
平均	63.2	162.7	average	86.7	142.5

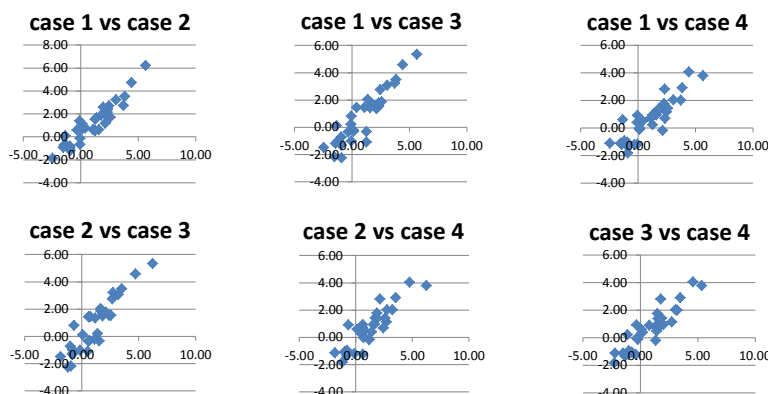
MH: 黄斑円孔 PDR: 増殖糖尿病網膜症

表 3 黄斑円孔4例における硝子体液中のmiRNAの発現

rank	case 1	dCp	Fold change	case 2	dCp	Fold change	case 3	dCp	Fold change	case 4	dCp	Fold change
1	hsa-miR-21	5.64	3.86	hsa-miR-21	6.23	2.29	hsa-miR-21	5.35	1.12	hsa-miR-223	4.05	0.04
2	hsa-miR-223	4.41	0.16	hsa-miR-223	4.73	0.16	hsa-miR-223	4.59	0.25	hsa-miR-21	3.78	0.76
3	hsa-miR-24	3.83	0.67	hsa-miR-24	3.53	0.45	hsa-miR-24	3.49	0.55	hsa-miR-24	2.9	0.21
4	hsa-miR-19b	3.72	0.09	hsa-miR-23a	3.23	0.59	hsa-miR-19b	3.22	0.09	hsa-miR-15a	2.8	0.17
5	hsa-miR-23a	3.08	0.55	hsa-miR-16	2.94	0.08	hsa-miR-16	3.08	0.05	hsa-miR-19a	2.63	6.64
6	hsa-miR-16	2.81	0.04	hsa-miR-19b	2.74	0.08	hsa-miR-23a	3.08	0.58	hsa-miR-140-3p	2.31	0.95
7	hsa-miR-210	2.58	6.44	hsa-miR-125b	2.69	5.79	hsa-miR-125b	2.76	5.61	hsa-miR-16	2.28	0.05
8	hsa-miR-125b	2.46	1.03	hsa-miR-320a	2.58	0.39	hsa-miR-320b	2.03	0.28	hsa-miR-23a	2.02	0.2
9	hsa-miR-27a	2.36	0.75	hsa-miR-27a	2.41	0.81	hsa-miR-210	1.88	4.47	hsa-miR-19b	2.01	0.06
10	hsa-miR-15a	2.32	0.09	hsa-miR-15a	2.13	0.09	hsa-miR-15a	1.78	0.05	hsa-miR-133b	1.96	0.07
11	hsa-miR-424	2.26	1.73	hsa-let-7b	1.88	0.32	hsa-let-7b	1.67	0.27	hsa-miR-424	1.77	0.45
12	hsa-miR-101	2.13	0.17	hsa-miR-424	1.85	1	hsa-miR-320a	1.56	0.21	hsa-miR-133a	1.52	2.93
13	hsa-miR-320a	1.97	0.19	hsa-miR-210	1.70	4.36	hsa-miR-27a	1.54	0.34	hsa-miR-210	1.42	3.84
14	hsa-let-7b	1.80	0.22	hsa-miR-320b	1.66	0.28	hsa-miR-424	1.50	0.63	hsa-miR-320a	1.39	0.23
15	hsa-miR-92a	1.58	0.04	hsa-miR-99a	1.54	1.91	hsa-miR-20a	1.45	0.06	hsa-let-7b	1.38	0.33
16	hsa-miR-320b	1.39	0.2	hsa-miR-221	1.39	0.78	hsa-miR-342-3p	1.44	0.66	hsa-miR-1	1.32	0.09
17	hsa-miR-93	1.27	0.06	hsa-miR-101	1.19	0.2	hsa-miR-92a	1.43	0.05	hsa-miR-125b	1.14	1.95
18	hsa-miR-99a	1.25	1.16	hsa-miR-29c	1.14	1.41	hsa-miR-101	1.35	0.14	hsa-miR-320b	0.95	0.23
19	hsa-miR-20a	1.08	0.03	hsa-miR-342-3p	0.77	0.59	hsa-miR-197	0.93	3.27	hsa-miR-99a	0.94	2.55
20	hsa-miR-142-3p	0.90	0.14	hsa-miR-181a	0.70	1.52	hsa-miR-106a	0.81	0.07	hsa-miR-92a	0.92	0.05

* 硝子体と血清との相対的な発現比

図 1 黄斑円孔 4症例のmiRNA発現の相関



	case 1/case 2	case 1/case 3	case 1/case 4	case 2/case 3	case 2/case 4	case 3/case 4
Pearson's correlation:	0.941129	0.917258	0.888053	0.913208	0.892665	0.91750
Spearman's correlation:	0.925455	0.899641	0.863279	0.924542	0.879993	0.92003

表 4 増殖糖尿病網膜症4例における硝子体液中のmiRNAの発現

rank	case 1	dCp	Fold* change	case 2	dCp	Fold* change	case 3	dCp	Fold* change	case 4	dCp	Fold* change
1	hsa-miR-21	8.15	11.36	hsa-miR-21	6.25	3.05	hsa-miR-451	9.71	0.96	hsa-miR-21	6.30	3.60
2	hsa-miR-451	5.89	0.02	hsa-miR-24	5.19	1.83	hsa-miR-16	5.59	1.18	hsa-miR-24	4.13	0.83
3	hsa-miR-24	5.24	2.82	hsa-miR-223	4.98	0.17	hsa-miR-21	5.58	3.19	hsa-miR-210	3.65	16.52
4	hsa-miR-125b	4.44	10.6	hsa-miR-23a	4.50	2.13	hsa-miR-19b	5.14	0.53	hsa-miR-23a	3.60	1.03
5	hsa-let-7b	4.29	1.61	hsa-miR-27a	4.19	2.35	hsa-miR-92a	4.26	0.41	hsa-miR-223	3.41	0.05
6	hsa-miR-23a	4.27	2.23	hsa-miR-210	3.58	15.78	hsa-miR-15a	3.98	0.61	hsa-miR-19b	2.54	0.06
7	hsa-miR-375	4.19	65.59	hsa-miR-15a	3.35	0.15	hsa-miR-20a	3.72	0.64	hsa-miR-15a	2.53	0.12
8	hsa-miR-29c	3.68	4.71	hsa-miR-19b	3.33	0.09	hsa-miR-486-5p	3.32	0.87	hsa-miR-320b	2.51	0.56
9	hsa-miR-16	3.64	0.06	hsa-miR-16	3.10	0.04	hsa-miR-320a	3.26	0.45	hsa-miR-320a	2.47	0.39
10	hsa-miR-19b	3.62	0.09	hsa-miR-424	2.93	1.17	hsa-miR-320b	3.09	0.76	hsa-miR-16	2.02	0.03
11	hsa-miR-15a	3.60	0.22	hsa-miR-125b	2.67	3.60	hsa-miR-223	2.98	0.19	hsa-miR-424	1.89	0.58
12	hsa-miR-101	3.54	0.73	hsa-miR-320a	2.52	0.45	hsa-miR-24	2.96	0.70	hsa-miR-451	1.72	0.00
13	hsa-miR-27a	3.54	3.15	hsa-miR-93	2.23	0.11	hsa-let-7b	2.95	1.70	hsa-miR-29c	1.62	1.39
14	hsa-miR-99a	3.48	9.35	hsa-let-7b	2.16	0.28	hsa-miR-93	2.85	0.52	hsa-miR-101	1.43	0.16
15	hsa-miR-223	3.45	0.14	hsa-miR-29c	2.02	1.04	hsa-miR-101	2.54	0.64	hsa-let-7b	1.34	0.24
16	hsa-miR-148a	3.25	5.05	hsa-miR-101	2.01	0.16	hsa-miR-106a	2.26	0.48	hsa-miR-103	1.29	0.24
17	hsa-miR-222	3.21	1.74	hsa-miR-23b	1.97	2.22	hsa-miR-23a	2.10	0.62	hsa-miR-125b	1.28	1.72
18	hsa-miR-320a	2.98	0.46	hsa-miR-27b	1.93	1.60	hsa-miR-144	1.42	0.51	hsa-miR-92a	1.14	0.04
19	hsa-miR-27b	2.63	3.45	hsa-miR-320b	1.85	0.43	hsa-miR-125b	1.39	1.69	hsa-miR-34a	1.09	6.26
20	hsa-miR-29a	2.52	2.98	hsa-miR-365	1.60	3.78	hsa-miR-185	1.16	1.03	hsa-miR-93	0.69	0.06

* 硝子体と血清との相対的な発現比

位を採取した後、Qiagen miRNeasy® Mini Kit を用いて miRNA を含めた total RNA の抽出を行った。

3) microRNA panel PCR 法を用いた miRNA の発現解析

2) で抽出した RNA(6ul) から cDNA を合成するために miRCURY LNA Universal RT microRNA PCR, Polyadenylation and cDNA synthesis kit (Exiqon) を用いた。合成した cDNA は 50 倍に希釈し、そのうち 10ul を用いて Human Serum/Plasma Focus microRNA PCR Panel 法により 168 個の miRNA の発現について定量 PCR を行った。得られたデータは GenEx software (ver.5) (Exiqon) を用いて解析した。dCp 値 (2nd derivative 法) には下記の計算式を基に算出した。

dCp 値 (normalized Cp 値) = 検出されたと判断された miRNA 全体の平均 Cp 値 - 個々の miRNA の Cp 値

また血清中の miRNA の発現量に対する硝子体液中の miRNA の発現量の相対比 (Fold change) については下記の計算式を基に算出した。

$$\text{Fold change} = 2^{(\text{硝子体液中 miRNA の dCp 値} - \text{血清中 miRNA の dCp 値})}$$

結果

1) 黄斑円孔患者における miRNA の発現数, 発現プロファイル, 症例間の miRNA 発現の偏りについての検討

黄斑円孔患者 4 名の硝子体液中における miRNA の発現数は症例 1 : 67 個, 症例 2: 69 個, 症例 3: 55 個, 症例 4: 62 個であり, 平均発現数は 63.2 個, 血清中の miRNA の発現数は症例 1 : 164 個, 症例 2: 167 個, 症例 3: 161 個, 症例 4: 159 個であり平均発現数は 162.7 個となり, 硝子体液中の miRNA の発現数が血清中に比較して有意に少ないという結果となった (表 2)。硝子体液中には miR-21, miR-223, miR-24, miR-23a, miR-19b, miR-16, miR-15 が 4 症例に共通して高頻度に発現が認められた (表 3)。

特に miR-21, miR-223, miR-24 は全例において発現の上位を占めていた。各症例間の miRNA の発現について相関関係をみたところ, ピアソン, スピアマンの相関係数ともに 0.85 以上であり, 症例間の miRNA の発現の偏りは非常に少ないことが確認された (図 1)。硝子体液と血清中の miRNA の発現について比較したところ, 硝子体液にみられた miRNA が血清中にも多数存在し, かつ血清中のほうが発現量も高い傾向を示したが, miR-210 は全例において血清に比べて硝子体液において 2 倍以上の発現がみられた。

2) 糖尿病網膜症患者における miRNA の発現, 発現プロファイル, 症例間の miRNA 発現の偏りについての検討
糖尿病網膜症患者 4 名の硝子体液中における miRNA の発現数は症例 1 : 117 個, 症例 2: 89 個, 症例 3: 76 個, 症例 4: 65 個であり, 平均発現数は 86.7 個, 血清中の miRNA の発現数は症例 1 : 149 個, 症例 2: 160 個, 症例 3: 115 個, 症例 4: 146 個であり平均発現数は 142.5 個となり, 黄斑円孔症例と同様, 硝子体液中の miRNA の発現数が血清中に比較して有意に少ないという結果となった (表 2)。硝子体液の miRNA の発現をみると, 黄斑円孔症例とほぼ同様, miR-21, miR-223, miR-24, miR-23a, miR-19b, miR-16, miR-15 が 4 症例に共通して高頻度に発現が認められた (表 4)。特に miR-21, miR-24 は全例において発現の上位を占めていた。また症例 1 と 3 では, miR-451 の高い発現が確認された。

各症例間の miRNA の発現について相関関係をみたところ (図 2), ピアソンの相関係数が 0.54-0.89, スピアマンの相関係数が 0.62-0.86 であり, 症例間の miRNA の発現の偏りは少ないことが確認された。

硝子体液と血清中の miRNA に発現について比較したところ, 黄斑円孔の症例と同様, 硝子体液にみられた

図 2 増殖糖尿病網膜症 4症例のmiRNA発現の相関

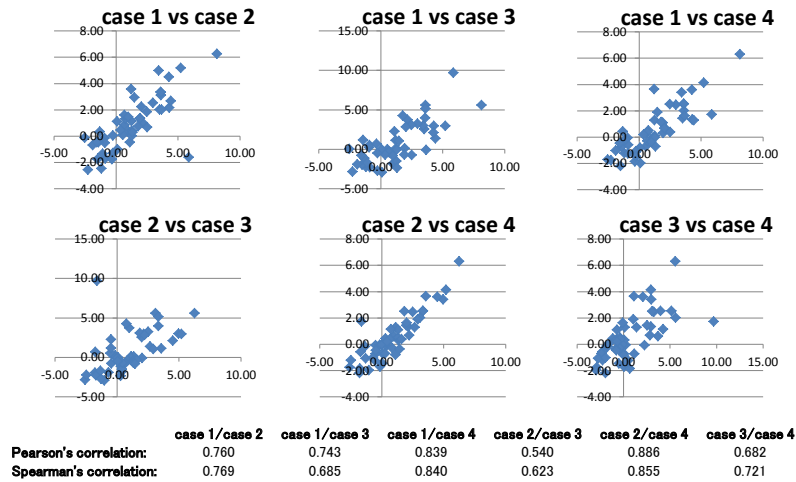
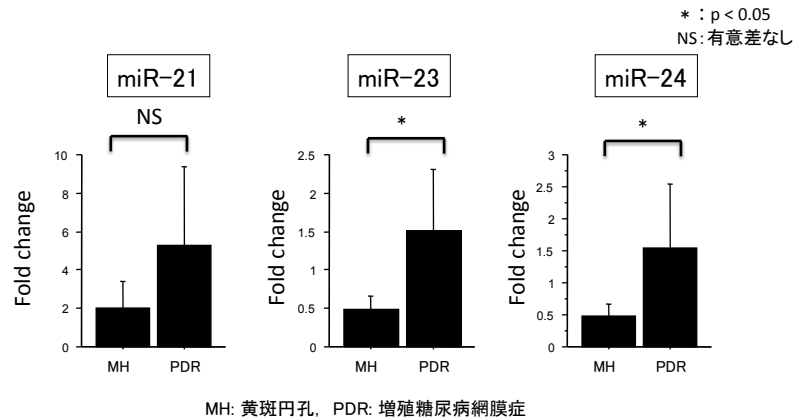


図 3 黄斑円孔患者と増殖糖尿病網膜症患者の血清に対する硝子体中のmiR-21, 23a, 24の発現比



miRNA が血清中に多数存在し、かつ発現量も血清の方が高い傾向を示したが、miR-21 は全例で血清に比べて硝子体液において 3 倍以上の発現がみられた (表 4)。

3) 黄斑円孔症例と糖尿病網膜症症例における miR-21, 23, 24 の発現量の比較

近年、血管新生促進に関与する miRNA として報告されている miR-21, 23, 24 の血清に対する硝子体液中の相対的な発現比について黄斑円孔症例と糖尿病網膜症症例との間で比較したところ、血清に対する硝子体液中の miR-23, 24 の発現比が黄斑円孔症例に比べ増殖糖尿病網膜症症例では有意に高値を示した (図 3)。

考 察

1) 黄斑円孔 vs 増殖糖尿病網膜症の miRNA の発現数の比較検討

本研究では糖尿病網膜症における眼内液 (硝子体液) の miRNA の発現について検討するために増殖糖尿病網膜症患者から硝子体液と血清を採取、対照として黄斑円

孔症例から採取した硝子体液、血清を用いて Panel PCR 法を用いて 168 個の miRNA の発現について解析を行った。その結果、黄斑円孔症例の硝子体液中の miRNA 発現数が平均 63 個であったのに対して、増殖糖尿病網膜症症例では平均 87 個であり、増殖糖尿病網膜症の症例において硝子体液中の miRNA 発現数が有意に高いという結果であった。今回の増殖糖尿病網膜症症例では全例で網膜面上の線維性血管膜が形成されており、黄斑円孔に比較して、眼内における著明な増殖性変化が認められた。これまでの報告では、増殖糖尿病網膜症の硝子体液中には vascular endothelial growth factor (VEGF) が高度に発現していることが判明しており、VEGF による血管内皮細胞の活性化、血管透過性亢進により血球細胞、血漿成分の血管外への漏出が硝子体液中の miRNA の発現数に影響した可能性が考えられる。また最近では培養網膜細胞や網膜色素上皮細胞において miRNA が産生されていることが報告されており、糖尿病網膜症の基本病態である網膜の虚血性変化がこれらの細胞からの miRNA の産生、分泌に影響している可能性も示唆される。

2) 黄斑円孔における硝子体、血清中の miRNA の発現プロフィールの検討

今回、黄斑円孔患者4例の硝子体液中の miRNA の発現を検討したところ miRNA の発現数は55個～69個とほぼ均一であり、症例間の硝子体液中の miRNA について相関係数を算出したところ、ピアソン、スピアマンの相関係数ともに0.85以上であったことから、miRNA の発現プロフィールは症例間でほぼ一致していると考えられる(図1)。中でも miR-21, miR-223, miR-24, miR-23a, miR-19b, miR-16, miR-15 は4例に共通して高発現していることが判明した(表3)。最近、Ragusaらは黄斑円孔の硝子体液を用いて miRNA の発現を検討したところ、miR-223, miR-24, miR-19b が高発現していることを報告しており、我々の結果と一致していた(Ragusa et al. Mol Vis. 19:430-440, 2013)。一方で我々の実験では検出されなかった miR-628-5p, miR-518f, miR-302c, miR-639 などの miRNA の発現が硝子体液中に高発現することも報告している。この要因として検出可能な miRNA 数が異なった他社の定量 PCR システムを用いていることが関係している可能性がある。今回発現の確認された miRNA が眼内のどの細胞、組織から産生されているのか、また眼球機能の維持にどのように関与しているのか多くの点が不明であり今後の検討が必要である。一方で硝子体液と血清中の miRNA の発現とを比較すると、多くの miRNA が硝子体液よりも血清中において高発現を示した。元来眼球には血液成分の血管外への漏出を防ぐ血液-眼バリアーが存在するが、miRNA は18-25塩基の低分子物質であることから血清中の miRNA がバリアーを超えて眼内に漏出している可能性も考えられる。一方で硝子体中に発現していた miRNA のなかでも miR-210 は血清に比べて硝子体液中に高発現していることが確認された。これまでのところ、低酸素状態において miR-210 の発現が誘導されること、miR-210 による細胞増殖抑制作用、血管新生促進作用、ミトコンドリア代謝制御作用などが報告されているが、眼内における miR-210 の作用についての報告はなく、今後の検討を要する。

3) 増殖糖尿病網膜症における硝子体中の miRNA の発現プロフィール、黄斑円孔との比較検討

糖尿病網膜症患者4例の硝子体液中の miRNA の発現を検討したところ miRNA の発現数は65個～117個と黄斑円孔と比較して症例ごとに発現数のばらつきがみられた。各症例間の miRNA の発現について相関関係をみたところ、ピアソン相関係数が0.54-0.89、スピアマン相関係数が0.62-0.86であり、症例間の miRNA の発現のばらつきは黄斑円孔の硝子体液と同様、比較的少ないことが確認された(図2)。硝子体液の miRNA の発現プロフィールをみると、症例1と3の硝子体液中で miR-451 が

高発現であった以外は miR-21, miR-223, miR-24, miR-23a, miR-19b, miR-16, miR-15 が4症例に共通して高頻度に発現しており、黄斑円孔の硝子体液とほぼ同様の傾向を示した(表4)。しかし硝子体液と血清中の miRNA の発現比について比較したところ、miR-21 については糖尿病網膜症患者全例で血清に比べて硝子体液において3倍以上の発現上昇がみられた。また miR-21 以外でも図3で示したとおり、増殖糖尿病網膜症例の硝子体液では血清に比べて miR-23 や miR-24 が高発現していることが判明した。最近の報告では、miR-21 は VEGF や HIF-1 α の発現を亢進させることで血管新生に関わっていることや(Liu et al. PLoS One 6:e19139, 2011)、mi-23 と mi-24 が共同して VEGF を介した脈絡膜新生血管の誘導に関与することが示されており(Zhou et al. PNAS 108: 8287-8292, 2011)、増殖糖尿病網膜症においてもこれらの miRNA が血管新生の誘導を促進している可能性が考えられる。

また糖尿病網膜症の1例目と3例目において miR-451 が高発現した理由については、硝子体における微細な出血の影響の可能性が挙げられる。以前から miR-451 は血液細胞に多く含まれていることが分かっていることから増殖糖尿病網膜症に硝子体出血が合併し、遠心分離後も硝子体液中に血球成分が混入していた可能性が考えられる。

総括

黄斑円孔、増殖糖尿病網膜症患者の硝子体液、血清中に miR-21, miR-223, miR-24, miR-23a, miR-19b, miR-16, miR-15 などの miRNA が症例間に共通して発現していることが確認された。特に増殖糖尿病網膜症患者の硝子体液において miR-21, miR-23, miR-24 などの血管新生の促進に関与する miRNA が黄斑円孔症例に比較して高発現していることが判明した。硝子体液中に存在する miRNA が眼内の生理的な機能、および増殖糖尿病網膜症の病態に関与する可能性が考えられた。

原著論文

1. Hirota K, Hirakata A, Inoue M, Hiraoka T: Bilateral exudative retinal detachment due to retinal pigment epithelial tears successfully treated by vitrectomy and scleral window surgery. *Acta Ophthalmol* 90:e325-6, 2012
2. Itoh Y, Inoue M, Rii T, Hiraoka T, Hirakata A: Correlation between Length of Foveal Cone Outer Segment Tips Line Defect and Visual Acuity after Macular Hole Closure. *Ophthalmology* 119:1438-46, 2012
3. Ohno-Matsui K¹, Akiba M², Moriyama M¹, Ishibashi T³, Hirakata A, Tokoro T¹ (¹Department of Ophthalmology and Visual Science, Tokyo Medical and Dental University, Tokyo, Japan, ²Topcon Corporation, Tokyo, Japan, ³Department of Ophthalmology, Kyushu University, Fukuoka, Japan): Intrachoroidal Cavitation in Macular Area of Eyes With Pathologic

- Myopia. *Am J Ophthalmol* 154:382-93, 2012
4. Rii T, Hirakata A, Inoue M: Comparative findings in childhood-onset versus adult-onset optic disc pit maculopathy. *Acta Ophthalmol* 2012 May [Epub ahead of print]
 5. Nakayama M, Keino H, Hirakata A, Okada AA, Terado Y: Exudative retinal astrocytic hamartoma diagnosed and treated with pars plana vitrectomy and intravitreal bevacizumab. *Eye* 26:1272-3, 2012
 6. Itoh-Tanimura M, Hirakata A, Itoh Y, Sano ME, Inoue M, Ishida H¹(¹Third Department of Internal Medicine, Kyorin University School of Medicine, Tokyo, Japan): Relationship between compliance with ophthalmic examinations preoperatively and visual outcome after vitrectomy for proliferative diabetic retinopathy. *Jpn J Ophthalmol* 56:481-7, 2012
 7. 城下哲夫, 柴田朋宏, 利井東昇, 井上真, 平形明人: 裂孔原性網膜剥離を合併した Peters 奇形の一例. *眼科* 54:939-944, 2012.
 8. 久須見有美, 堀江大介, 今野公士, 井上真, 平形明人: ベバシズマブ硝子体内投与が有効であった血管新生緑内障をきたした放射線網膜症の1例. *眼科* 54:1825-1830, 2012.
 9. 柴田朋宏, 井上真, 廣田和成, 平岡智之, 平形明人, 大槻勝紀¹, 宇多重員¹ (¹二本松眼科): 眼内レンズ縫着術後に生じた後眼部合併症の臨床的特徴. *日眼会誌* 117:19-26, 2013.
 10. Hirakata A, Inoue M, Hiraoka T, McCuen II BW: Auther Reply. *Ophthalmology* 120: 878-879, 2013.
- 演
1. 中山京子, 井上真, 平形明人: 脈絡膜骨腫の自発蛍光所見の有用性. 第116回日本眼科学会総会, 東京, 2012.4.5-8.
 2. Hirakata A: Complications of vitrectomy for traction maculopathy in high myopic eyes. The 27th Asia Pacific Academy of Ophthalmology Congress, Busan Korea, 2012.4.13-16.
 3. Konno K, Hirakata A, Joshita T, Okisaka S¹ (¹Ophthalmic Pathology Education Laboratory): Clinical and pathological analysis of malignant melanoma of lacrimal sac. The 27th Asia Pacific Academy of Ophthalmology Congress, Busan Korea, 2012.4.13-16.
 4. Inoue M, Kawamura R¹, Shinoda K^{1,2}, Noda T³, Hirakata A (¹Department of Ophthalmology, Keio Univ School of Med, ²Department of Ophthalmology, Teikyo Univ School of Med, ³Departement of Ophthalmology, National Hosp Organization Tokyo Medical Center): Reproducing subjective visual sensations experienced during vitreous surgery. The 27th Asia Pacific Academy of Ophthalmology Congress, Busan Korea, 2012.4.13-16.
 5. Nakayama K, Inoue M, Hirakata A, Keino H, Okada AA: Fundus autofluorescence findings in case of Choroidal Osteoma. The 27th Asia Pacific Academy of Ophthalmology Congress, Busan Korea, 2012.4.13-16.
 6. Hirakata A, Taniuchi S, Inoue M, Hirota K: Myopic traction maculopathy. *Duke Eye Center 17th Advanced Vitreous Surgery Course*, Durham USA, 2012.5.3-5.
 7. Hirakata A: Vitrectomy without laser treatment or gas tamponade for optic disc pit maculopathy. *Duke Eye Center 17th Advanced Vitreous Surgery Course*, Durham USA, 2012.5.3-5.
 8. Ito Y, Inoue M, Rii T, Hirakata A: Significant correlation between the repair of cone outer segment and visual recovery after surgery for epiretinal membrane. the Association for Research in Vision and Ophthalmology 2012, Faut Lauderdale USA, 2012.5.6-10.
 9. 平形明人: 乳頭形態異常に伴う網膜剥離における眼内液と脳脊髄液の交流の可能性. 第57回山陰眼科集談会, 第86回鳥取大学眼科研究会, 米子市, 2012.5.13.
 10. Hirakata A, Ohno-Matsui K¹, Inoue M, Ishibashi T² (¹Department of Ophthalmology and Visual Science, Tokyo Medical and Dental University, Tokyo, Japan, ²Department of Ophthalmology, Kyushu University, Fukuoka, Japan): Swept Source Optical Coherence tomography findings for evaluation of abnormal structure of optic disc pits. the 28th Meeting of the Clus Jules Gonin, Reykjavik Iceland, 2012.6.20-23.
 11. 平形明人: 乳頭 Pit の Swept Source OCT 所見. 第14回 Japan Macula Club, 蒲郡, 2012.8.18-19.
 12. Inoue M, Itoh Y, Watanabe N, Hirakata A: Wound closure evaluated with two different types of optical coherence tomography. the 30th ASRS Annual Meeting 2012, 2012.8.25-29.
 13. 平形明人: 糖尿病網膜症治療の現状. 第10回記念南多摩糖尿病教育研究会, 多摩市, 2012.9.6.
 14. 満川忠宏, 柳沼重晴, 今野公士, 松崎淳, 渡邊敏樹, 気賀澤一輝, 平形明人: 水痘帯状ヘルペスウイルス感染を契機とした右眼窩先端症候群の1例. 第55回東京多摩地区眼科集談会, 三鷹市, 2012.10.13.
 15. 斎藤恒浩, 廣田和成, 井上真, 平形明人, 野村昌弘¹ (¹共済立川病院): von Hippel Lindau 病の傍乳頭血管腫に対する治療経験. 第55回東京多摩地区眼科集談会, 三鷹市, 2012.10.13.
 16. 大槻勝紀¹, 鈴木直洋¹, 藤井澄¹, 土ヶ内建史¹, 宇田重員¹, 平形明人 (¹二本松眼科): 網膜静脈閉塞症の他眼における超広角走査レーザ蛍光眼底造影所見. 第66回日本臨床眼科学会, 京都, 2012.10.25-28.
 17. 横田怜二, 平形明人, 廣田和成, 利井東昇, 伊東裕二, 國田大輔, 折原唯史, 井上真: 強度近視性牽引性黄斑症の摘出内境界膜の組織学的検討. 第66回日本臨床眼科学会, 京都, 2012.10.25-28.
 18. 今野公士, 柳沼重晴, 平形明人, 近藤義之¹ (¹近藤眼科): 慢性涙嚢炎に対する涙道内視鏡観察下シリコンチューブ挿入術の治療経験. 第66回日本臨床眼科学会, 京都, 2012.10.25-28.
 19. 安藤良将, 久須見有美, 柴田朋宏, 井上真, 平形明人, 大野京子¹ (¹東京医歯科・眼科): 非強度近視眼の intrachoroidal cavitation に合併した黄斑剥離の治療経験. 日本強度近視眼底研究会, 第66回日本臨床眼科学会, 京都, 2012.10.25-28.
 20. 折原唯史, 廣田和成, 国田大輔, 伊東裕二, 横田怜二, 利井東昇, 村井秀樹, 柴田朋宏, 平岡智之, 井上真, 平形明人: 杏林アイセンターの強度近視眼の裂孔原性網膜剥離の統計. 日本強度近視眼底研究会 第66回日本臨床眼科学会, 京都, 2012.10.25-28.
 21. 新井千賀子, 尾形真樹, 小田浩一¹, 井上真, 岡野芝子, 平形明人, 石田均² (¹東京女子大, ²杏林大・糖尿病・内分泌・代謝内科): 糖尿病網膜症患者の Quality of Life の分析. 第27回日本糖尿病合併症学会第18回日本糖尿病眼学会総会, 福岡, 2012.11.2-3.
 22. 伊東裕二, 伊東真知子, 井上真, 勝田秀紀¹, 石田均¹, 平形明人 (¹杏林大・糖尿病・内分泌・代謝内科): 増

- 殖糖尿病網膜症に対する硝子体手術の予後と術前眼科通院のコンプライアンスとの関係. 第27回日本糖尿病合併症学会第18回日本糖尿病眼学会総会, 福岡, 2012.11.2-3.
23. 小沼裕寿¹, 高橋和人¹, 勝田秀紀¹, 田中利明¹, 西田進¹, 犬飼浩一¹, 石田均¹, 國田大輔, 折原唯史, 廣田和成, 平岡智之, 井上真, 平形明人 (杏林大・糖尿病・内分泌・代謝内科): インクレチン関連薬投与における糖尿病網膜症進展抑制に関する観察研究. 第27回日本糖尿病合併症学会第18回日本糖尿病眼学会総会, 福岡, 2012.11.2-3.
24. 平形明人: 糖尿病網膜症の現状と病診連携. 第18回日本糖尿病眼学会総会, 福岡, 2012.11.3.
25. 伊東裕二, 井上真, 平形明人: 眼底画像診断機器の進歩. 第14回西東京眼科フォーラム, 武蔵野市, 2012.11.21.
26. 平形明人: バックリング手術の実際. 第51回日本網膜硝子体学会総会, 甲府市, 2012.11.30.
27. 平形明人: 進化しつづける MIVS. 第51回日本網膜硝子体学会総会, 甲府市, 2012.12.1.
28. 平形明人: 網膜疾患の治療方針 最新情報 一高度近視・黄斑分離症・黄斑円孔網膜剥離一. 第34回城南眼科集談会, 東京, 2012.12.13.
29. 平形明人: 糖尿病網膜症治療の現状と課題. 東京保険医協会糖尿病症例研究談話会, 東京, 2013.2.13.
30. 平形明人: 眼底自発蛍光 (FAF) の臨床. 第60回静岡県眼科医会集談会, 静岡市, 2013.2.23.
31. 平形明人: 乳頭ピット及び強度近視に合併する黄斑分離様形態の比較. 第2回名大OCT勉強会, 名古屋市, 2013.3.2.
32. 平形明人: 脈絡膜腫瘍の診断と対応. 新・眼科診療アップデートセミナー2013 in Kyoto, 京都市, 2013.3.2-3.
33. 平形明人: 乳頭ピット黄斑症候群における眼内液と脳脊髄液の交流の可能性. Retina Glaucoma Club 2013, 大阪市, 2013.3.9.
34. 平形明人: 視神経乳頭部先天異常に伴う網膜剥離～髄液と眼内液の交流の可能性～. 第35回大阪医科大眼科セミナー, 高槻市, 2013.3.23.
35. 平形明人: 糖尿病網膜症治療の現状と課題. 目黒区医師会学術講演会, 東京, 2013.3.27.
36. 平形明人: 糖尿病網膜症治療の現状と課題. 北小諸佐久学術講演会, 小諸市, 2013.3.29.