

平成 30 年 5 月 21 日現在

機関番号：32202

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10899

研究課題名(和文) 眼内VEGF濃度の即時測定系開発と臨床応用

研究課題名(英文) Development and clinical application of rapid measurement of aqueous humor vascular endothelial growth factor

研究代表者

高橋 秀徳 (Takahashi, Hidenori)

自治医科大学・医学部・准教授

研究者番号：10361479

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：血管内皮増殖因子(VEGF)に結合するアプタマーを用いて、10 pg/mLまで測定できる系を開発した。このような極低濃度を短時間に測定できる系は今までになく、VEGF以外にも各種サイトカイン・腫瘍マーカー・細菌・腫瘍細胞・環境ホルモンなど様々な標的に対するアプタマーに応用でき、汎用性が非常に高い。様々な疾病マーカーや細菌を迅速に測定し、迅速かつ簡便に患者の状態を把握し、早期診断および適切な治療を患者に施すことが可能となる。医学以外の分野でも、環境ホルモンや化学一般など微量濃度測定の関係する全ての分野に有用である。眼科分野においては眼房水のサイトカイン濃度検討を行い、病態との関連を報告した。

研究成果の概要(英文)：We developed the ultra high sensitive measurement of vascular endothelial growth factor only 10 pg/mL. This measurement is a novel high sensitive measurement and has widely general purpose, such as other cytokines, tumor markers, bacteria, tumor cells, and environmental hormone. The measurement enables rapid measurement of disease markers and bacteria, grasps patients' condition rapidly and easily, and enable early diagnosis and appropriate treatment to the patients. Other than medicine, this study results are useful to wide scientific field which needs high sensitive measurements, such as environmental hormone and general chemistry. In the ophthalmic field, we measured aqueous inflammatory cytokine concentrations and reported the pathogenesis of age-related macular degeneration and retinal vein occlusion.

研究分野：眼科学

キーワード：超高感度測定 眼内炎症性サイトカイン

### 1. 研究開始当初の背景

加齢黄斑変性など眼内血管新生は先進国の失明原因の主因であり、その原因物質である血管内皮増殖因子(VEGF)の阻害薬で先進国の失明患者は減少していたが、臨床レベルで眼内 VEGF 濃度を測定する系はなく、測定に数時間を要するため抗 VEGF 薬を投与すべきか他の治療法を選択すべきかの判断には間に合わず診断的治療としてどちらか選ぶか併用するしかなかった。その場で判断するための迅速測定法は多数報告されていたが、研究室内での成功報告であって実用レベルではなかった。我々の事前検討では 15 分以内に 100 pg/mL まで測定できていた。

### 2. 研究の目的

VEGF に結合するアプタマーを改良して眼内 VEGF の迅速測定を実用化し、並行して眼内液の臨床データベースを構築して眼内サイトカインの測定による病態解明を進めること。

### 3. 研究の方法

試験管内進化法を用いてアプタマーを改良し、測定を繰り返した。臨床データベースのサンプルはマルチプレックスサイトカインアッセイで炎症性サイトカイン濃度を網羅的に測定した。

### 4. 研究成果

15 分以内に 10 pg/mL の VEGF を測定できるようになった。臨床データベースからは加齢黄斑変性抗 VEGF 治療導入期の炎症性サイトカイン濃度変動の報告を行った。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

#### [雑誌論文](計 11 件)

Sakamoto S, Takahashi H, Inoue Y, Arai Y, Inoda S, Kakinuma N, Fujino Y, Tanabe T, Kawashima H, Yanagi Y: Intravitreal Aflibercept for Exudative Age-Related Macular Degeneration with Good Visual Acuity: 2-Year Results of a Prospective Study. Clin Ophthalmol. 2018 in press

Sakamoto S, Takahashi H, Tan X, Inoue Y, Nomura Y, Arai Y, Fujino Y, Kawashima H, Yanagi Y: Changes in Multiple Cytokine Concentrations in the Aqueous Humor of Neovascular Age-related Macular Degeneration after Two Months of Ranibizumab Therapy. Br J Ophthalmol 102: 448-445, 2018  
DOI: 10.1136/bjophthalmol-2017-310284

Takahashi H, Inoue Y, Tan X, Inoda S, Sakamoto S, Arai Y, Yanagi Y, Fujino Y, Kawashima H: Visual acuity loss associated with excessive “dry macula” in exudative age-related macular degeneration. Clin Ophthalmol 12: 369-375, 2018  
DOI:10.2147/OPHTH.S151999

Takahashi H, Tampo H, Arai Y, Inoue Y, Kawashima H: Applying artificial intelligence to disease staging: Deep learning for improved staging of diabetic retinopathy. PLoS One 12: e0179790, 2017  
DOI: 10.1371/journal.pone.0179790

Tsubota Y, Takahashi H, Sugisaki K, Tanabe T, Fujino Y: Effective Intravitreal Injections of Bevacizumab in a Case of Serous Macular Detachment from the Superior Border of Posterior Staphyloma. Case Rep Ophthalmol 8: 49-54, 2017  
DOI:10.1159/000453605

Soeta M, Arai Y, Takahashi H, Fujino Y, Tanabe T, Inoue Y, Kawashima H: Novel Preretinal Hair Pin-Like Vessel in Retinal Astrocytic Hamartoma with Vitreous Hemorrhage. Retin Cases Brief Rep Aug 6, 2016 [Epub ahead of print]  
DOI: 10.1097/ICB.0000000000000457

Takahashi H, Nomura Y, Nishida J, Fujino Y, Yanagi Y, Kawashima H: Vascular endothelial growth factor (VEGF) concentration is underestimated by enzyme-linked immunosorbent assay in the presence of anti-VEGF drugs. Invest Ophthalmol Vis Sci 57: 462-466, 2016  
DOI: 10.1167/iovs.15-18245

Nomura Y, Takahashi H, Fujino Y, Kawashima H, Yanagi Y: Association between aqueous humor C-X-C motif chemokine ligand 13 levels and subfoveal choroidal thickness in normal older subjects. Retina 36:192-198, 2016  
DOI: 10.1097/IAE.0000000000000668

Nomura Y, Takahashi H, Tan X, Fujino Y, Kawashima H, Yanagi Y: Effect of posterior vitreous detachment on aqueous humor level of vascular endothelial growth factor in exudative age-related macular degeneration patients. Graefes Arch Clin Exp

Ophthalmol 254:53-57, 2016  
DOI 10.1007/s00417-015-3006-2

Sakamoto S, Arai Y, Takahashi H, Fujino Y, Obata R, Yanagi Y, Kawashima H: Two Cases of Rapid Thinning of the Choroid Prior to Appearance of Polypoid Lesions. JSM Ophthalmology 3:1033, 2015  
<https://www.jscimedcentral.com/Ophthalmology/ophthalmology-3-1033.pdf>

Takahashi H, Nomura Y, Tan X, Fujino Y, Kawashima H, Yanagi Y: Effects of posterior vitreous detachment on aqueous humour levels of VEGF and inflammatory cytokines. Br J Ophthalmol 99:1065-1069, 2015  
DOI:  
10.1136/bjophthalmol-2014-306051

[学会発表](計10件)

伊野田悟、高橋秀徳、新井悠介、坂本晋一、井上裕治、藤野雄次郎、川島秀俊、柳靖雄：視力良好な加齢黄斑変性に対するアフリベルセプトの視力維持の条件検討。第56回日本網膜硝子体学会総会 2017年

新井悠介、高橋秀徳、伊野田悟、坂本晋一、井上裕治、藤野雄次郎、川島秀俊、柳靖雄：視力良好ポリープ状脈絡膜血管症に対するアフリベルセプト：タイプ別解析。第71回日本臨床眼科学会 2017年

坂本晋一、高橋秀徳、富永聡子、佐藤彩、竹澤美貴子、井上裕治、藤野雄次郎、田邊樹郎、川島秀俊：滲出型加齢黄斑変性の視力良好例に対するアフリベルセプト計画的投与。第55回日本網膜硝子体学会総会 2016年

伊野田悟、反保宏信、高橋秀徳、井上裕治、佐藤彩、竹澤美貴子、川島秀俊：脈絡膜新生血管を伴わない網膜色素上皮剥離のペルテポルフイン半量光線力学療法の検討。第70回日本臨床眼科学会 2016年

Sakamoto S, Takahashi H, Inoue Y, Yanagi Y, Sato A, Takezawa M, Tanabe T, Fujino Y, Kawashima H: Effects of central macular thickness on visual and anatomical outcomes in age-related macular degeneration patients: comparison between ranibizumab and aflibercept. The Association for Research in Vision and Ophthalmology, 2016

坂本晋一、高橋秀徳、井上裕治、柳靖雄、佐藤彩、竹澤美貴子、田邊樹郎、藤野雄次郎、川島秀俊：加齢黄斑変性に対するラニビズマブとアフリベルセプト短期予後の差と中心網膜厚の関連。第120回日本眼科学会総会 2016年

坂本晋一、高橋秀徳、富永聡子、佐藤彩、竹澤美貴子、井上裕治、藤野雄次郎、田邊樹郎、川島秀俊：滲出型加齢黄斑変性の視力良好例に対するアフリベルセプト計画的投与。第54回日本網膜硝子体学会総会 2015年

添田めぐみ、新井悠介、高橋秀徳、井上裕治、藤野雄次郎、田邊樹郎、川島秀俊：硝子体側に血管進展があり硝子体出血を繰り返す Retinal astrocytic hamartoma の特殊例。第69回日本臨床眼科学会 2015年

Inoda S, Takahashi H, Tan X, Kakinuma N, Nomura Y, Sakamoto S, Arai Y, Fujino Y, Kawashima H, Yanagi Y: Aqueous humor inflammatory cytokine levels in chronic retinal vein occlusion. The Association for Research in Vision and Ophthalmology, 2015

伊野田悟、高橋秀徳、譚雪、垣沼奈津子、野村陽子、坂本晋一、新井悠介、富永聡子、佐藤彩、藤野雄次郎、川島秀俊、柳靖雄：網膜静脈閉塞症慢性期における前房中炎症性サイトカイン濃度。第119回日本眼科学会総会 2015年

[図書](計0件)

[産業財産権]

出願状況(計1件)

名称：糖尿病網膜症の病期判定支援システムおよび糖尿病網膜症の病期の判定を支援する方法  
発明者：高橋秀徳  
権利者：自治医科大学  
種類：診断;手術;個人識別(生物学的材料の分析 G01N, 例. G01N33/48)  
番号：特開 2018-27273(P2018-27273A)  
出願年月日：2016.8.19  
国内外の別：国内

取得状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：

番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等  
<https://researchmap.jp/hidenori-takahashi/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

高橋 秀徳 (TAKAHASHI, Hidenori)  
自治医科大学・医学部・准教授  
研究者番号：10361479

### (2) 研究分担者

吉田 淳 (YOSHIDA, Atsushi)  
自治医科大学・医学部・講師  
研究者番号：10420944

井上 裕治 (INOUE, Yuji)  
自治医科大学・医学部・講師  
研究者番号：10436488

川島 秀俊 (KAWASHIMA, Hidetoshi)  
自治医科大学・医学部・教授  
研究者番号：30169718

富永 聡子 (TOMINAGA, Satoko)  
自治医科大学・医学部・助教  
研究者番号：50748093

池袋 一典 (IKEBUKURO, Kazunori)  
東京農工大学・工学部・教授  
研究者番号：70251494