

令和 4 年 4 月 21 日現在

機関番号：23903

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K18884

研究課題名（和文）網膜静脈閉塞症に伴う黄斑浮腫におけるアンジオポエチンの関与解明と臨床への応用

研究課題名（英文）Elucidation of involvement and clinical application of angiopoietin in retinal vein occlusion with macular edema

研究代表者

鈴木 識裕（Suzuki, Norihiro）

名古屋市立大学・医薬学総合研究院（医学）・研究員

研究者番号：10831258

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：網膜静脈閉塞症（retinal vein occlusion: RVO）の黄斑浮腫に対する治療法として、血管内皮増殖因子（vascular endothelial growth factor: VEGF）阻害療法は一定の効果을あげているが、治療抵抗例・再発例なども多い。VEGF以外の治療ターゲットとして、アンジオポエチン（angiopoietin: Ang）に着目した。RVOにおいてAngが関与しており、その制御が必要である可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

網膜静脈閉塞症（retinal vein occlusion: RVO）の視力低下の主因は黄斑浮腫である。その黄斑浮腫に対する血管内皮増殖因子（vascular endothelial growth factor: VEGF）阻害療法は一定の効果을あげているが、治療抵抗例・再発例、頻回の治療が必要であるなど、課題が多い。今回我々は、マウスで実験的RVOモデルを作成し、RVOの病態解明を行った。RVOにおいてアンジオポエチン（angiopoietin: Ang）が関与しており、その制御が必要である可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：Intravitreal injection of anti-vascular endothelial growth factor (VEGF) has been beneficial in improving the visual outcomes in patients with a retinal vein occlusion (RVO) with macular edema. However, there are still refractory cases or most patients need multiple injections of anti-VEGF agents. We focused on angiopoietin (Ang) as a new target in the treatment of RVO with macular edema. Ang is involved in RVO, suggesting that its control may be necessary.

研究分野：網膜静脈閉塞症

キーワード：網膜静脈閉塞症 黄斑浮腫 アンジオポエチン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

網膜静脈閉塞症 (retinal vein occlusion: RVO) の視力低下の主因は黄斑浮腫である。その黄斑浮腫に対する血管内皮増殖因子 (vascular endothelial growth factor: VEGF) 阻害療法は一定の効果をあげているが、治療抵抗例・再発例、頻回の治療が必要であるなど、課題が多い。

今回、マウスで実験的 RVO モデルを作成し、RVO の病態解明を行った。RVO においてアンジオポエチン (angiotensin: Ang) が関与しており、その制御が必要である可能性が示唆された。

2. 研究の目的

Ang1 は Tie2 受容体のリン酸化を引き起こし、血管を安定化させるが、対して Ang2 は、Ang1-Tie2 の血管安定化シグナルを遮断することで、血管を不安定化し、VEGF などの血管新生因子が血管新生を誘導できる環境を整える。このように、Ang2 は病的な血管新生の誘導に重要な役割を果たしている。さらに、Ang1-Tie2 シグナルは、VEGF による炎症反応および血管透過性の亢進を抑制することが知られている。このように RVO における、Ang の関与解明を目的とした。

3. 研究の方法

1. マウス実験的 RVO モデルでの生体ライブイメージングによる評価

C57BL/6 雄マウスの視神経乳頭にレーザーを行い、マウス実験的 RVO モデルを作成し、眼底画像、光干渉断層計 (optical coherence tomography: OCT) 画像、アクリジンオレンジ (acridine orange: AO) 蛍光染色法による画像、フルオレセイン蛍光眼底造影 (fluorescein angiography: FA) 画像を取得し経時的に評価を行った。さらに、Cx3cr1-GFP ノックインマウスを用いて、マウス実験的 RVO モデルを作成し、眼底画像、OCT 画像、アクリジンオレンジ蛍光染色法による画像、蛍光眼底造影画像を取得し経時的に評価を行った。また Day 7 に眼球摘出した後、フラットマウントを作成し、CD31 と GFP を免疫染色し共焦点顕微鏡で撮影し、CX3CR1-GFP +細胞 (マクロファージおよびミクログリア) の動態を評価した。

2. マウス実験的 RVO モデルで黄斑浮腫抑制効果を検証

C57BL/6 雄マウスの視神経乳頭にレーザーを行い、その直後に血管内皮増殖因子 (vascular endothelial growth factor: VEGF) 阻害療法 (aflibercept) 単独投与群、Ang2 阻害抗体単独投与群、Aflibercept + Ang2 阻害抗体併用投与群、PBS 投与群にわけて硝子体内注射を施行した。Day 3、Day 7 で OCT 画像取得し網膜厚を測定した。

4. 研究成果

1. 経時的な生体ライブイメージングによりマウス実験的 RVO モデルで網膜出血、網膜浮腫、側副血管、網膜毛細血管瘤 (microaneurysms: MAs)、網膜無灌流領域 (nonperfused area: NPA)、および新生血管形成 (neovascularization: NV) を観察することができた。さらに FA により、NPA が細動脈側に沿って広がっていることが明らかになった。さらに Cx3cr1-GFP ノック

クインマウスでは、細動脈壁に沿った CX3CR1-GFP +細胞の蓄積を認めた部位に、その後、無灌流域 (nonperfused area: NPA) の形成を引き起こした。また、A0 で染色された白血球の遊走は、レーザー後 7 日後に最大に検出された。

フラットマウントの免疫染色では、軽度の網膜虚血領域の CX3CR1-GFP +細胞数が有意に多い結果であった。また、NPA では A0 で染色された白血球は観察されなかったが、CX3CR1-GFP +細胞は NPA にも存在を確認できた。ミクログリアとマクロファージは NPA で検出された。CX3CR1-GFP +細胞の数は、軽度の虚血領域で有意に多かった。

2. aflibercept 単独投与群、Ang2 阻害抗体単独投与群、Aflibercept + Ang2 阻害抗体併用投与群、PBS 投与群、すべての群において、Day3 で網膜浮腫を認め、Day7 で網膜浮腫の改善を認めた。その網膜浮腫の改善効果は aflibercept 単独投与群と Aflibercept + Ang2 阻害抗体併用投与群は同程度に高く、Ang2 阻害抗体単独投与群はこれらの群と比較して網膜浮腫改善効果は劣っていることが確認できた。

以上より、RV0 におけるミクログリアおよびマクロファージの動態を解明することができた。また、Ang2 阻害抗体単独では、抗 VEGF 阻害療法の網膜浮腫改善効果に劣ることが確認できた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Kato Aki, Fujishima Keiichiro, Takami Kazuhisa, Inoue Naomi, Takase Noriaki, Suzuki Norihiro, Suzuki Katsuya, Kuwayama Soichiro, Yamada Akiko, Sakai Katsuhisa, Horita Ryosuke, Nozaki Miho, Yoshida Munenori, Hirano Yoshio, Yasukawa Tsutomu, Ogura Yuichiro	4. 巻 177
2. 論文標題 Remote screening of diabetic retinopathy using ultra-widefield retinal imaging	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Diabetes Research and Clinical Practice	6. 最初と最後の頁 108902 ~ 108902
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.diabres.2021.108902	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Inagaki Miho, Hirano Yoshio, Yasuda Yusuke, Kawamura Mihoko, Suzuki Norihiro, Yasukawa Tsutomu, Yoshida Munenori, Ogura Yuichiro	4. 巻 36
2. 論文標題 Twenty-Four Month Results of Intravitreal Ranibizumab for Macular Edema after Branch Retinal Vein Occlusion: Visual Outcomes and Resolution of Macular Edema	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Seminars in Ophthalmology	6. 最初と最後の頁 482 ~ 489
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/08820538.2021.1890147	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hirano Yoshio, Suzuki Norihiro, Tomiyasu Taneto, Kurobe Ryo, Yasuda Yusuke, Esaki Yuya, Yasukawa Tsutomu, Yoshida Munenori, Ogura Yuichiro	4. 巻 10
2. 論文標題 Multimodal Imaging of Microvascular Abnormalities in Retinal Vein Occlusion	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Medicine	6. 最初と最後の頁 405 ~ 405
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/jcm10030405	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Yuguchi Takaaki, Ogura Shuntaro, Hirano; Yoshio, Suzuki Norihiro, Yasukawa Tsutomu, Ogura Yuichiro	4. 巻 Publish Ahead of Print
2. 論文標題 Autologous posterior capsule flap transplantaion in the management of refractory macular hole in a pseudophakic eye.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 RETINAL Cases & Brief Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/ICB.0000000000001128	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Esaki Yuya, Hirano Yoshio, Kurobe Ryo, Yasuda Yusuke, Tomiyasu Taneto, Suzuki Norihiro, Yasukawa Tsutomu, Yoshida Munenori, Ogura Yuichiro	4. 巻 Volume 14
2. 論文標題 Morphologic Classifications and Locations of Microaneurysms and Clinical Relevance in Branch Retinal Vein Occlusion	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Clinical Ophthalmology	6. 最初と最後の頁 1909 ~ 1919
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2147/OPHTH.S258958	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tomiyasu Taneto, Hirano Yoshio, Suzuki Norihiro, Esaki Yuya, Yasuda Yusuke, Uemura Akiyoshi, Yasukawa Tsutomu, Yoshida Munenori, Ogura Yuichiro	4. 巻 61
2. 論文標題 Structural and Functional Analyses of Retinal Ischemia in Eyes with Retinal Vein Occlusion: Relationship with Macular Edema or Microaneurysm Formation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Ophthalmic Research	6. 最初と最後の頁 218 ~ 225
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000493489	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yasuda Yusuke, Hirano Yoshio, Esaki Yuya, Tomiyasu Taneto, Suzuki Norihiro, Yasukawa Tsutomu, Yoshida Munenori, Ogura Yuichiro	4. 巻 61
2. 論文標題 Peripheral Microvascular Abnormalities Detected by Wide-Field Fluorescein Angiography in Eyes with Branch Retinal Vein Occlusion	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Ophthalmic Research	6. 最初と最後の頁 107 ~ 114
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000488496	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件(うち招待講演 0件/うち国際学会 1件)

1. 発表者名 鈴木 識裕
2. 発表標題 OCT angiographyを用いた網膜静脈分枝閉塞症の毛細血管瘤の評価
3. 学会等名 第5回 RVO Network Conference
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木 識裕、平野佳男、吉田宗徳、小椋祐一郎
2. 発表標題 網膜静脈閉塞症における網膜内層浮腫と網膜虚血との関連
3. 学会等名 第58回日本網膜硝子体学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木識裕、江崎雄也、平野佳男、黒部亮、安田優介、富安胤太、吉田宗徳、小椋祐一郎
2. 発表標題 OCT angiographyを用いた網膜静脈閉塞症の側副血行路の評価
3. 学会等名 第4回関西眼科画像研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Suzuki N, Hirano Y, Yasukawa T, Yoshida M, Ogura Y
2. 発表標題 Multimodal imaging of an experimental retinal vein occlusion mouse model
3. 学会等名 The 34th congress of Asia-Pacific Academy of Ophthalmology (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Suzuki N, Hirano Y, Tomiyasu T, Kurobe R, Yasuda Y, Esaki Y, Yasukawa T, Yoshida M, Ogura Y
2. 発表標題 Collateral Vessels on Optical Coherence Tomography Angiography in Eyes with Branch Retinal Vein Occlusion
3. 学会等名 第44回日本微小循環学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木識裕
2. 発表標題 難治性ぶどう膜炎に対する生物学的製剤の現状
3. 学会等名 第14回桜山病診連携フォーラム
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 鈴木識裕	4. 発行年 2021年
2. 出版社 メディカ出版	5. 総ページ数 5
3. 書名 眼瞼下垂（特集 "ゼッター"に必要な知識だけを押さえる 眼科1年生の疾患&治療ノート：結膜炎、白内障、加齢黄斑変性など13の疾患がバッチリ!） 眼科ケア 23(3): 453-457	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------