

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 14 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23590638

研究課題名(和文) がん薬物療法における血管新生阻害薬の薬物効果予測因子としての眼底所見の探索的研究

研究課題名(英文) Ophthalmologic assessment of retinal vessels as a biomarker of the pharmacological response to antiangiogenic cancer chemotherapy

研究代表者

安藤 雄一 (ANDO, YUICHI)

名古屋大学・医学部附属病院・教授

研究者番号：10360083

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,300,000円、(間接経費) 1,290,000円

研究成果の概要(和文)：がん薬物療法における血管新生阻害薬のバイオマーカーの確立を目的に、がん薬物療法中の患者計137名を対象に探索的に眼底検査を行った。大腸癌において術前治療による腫瘍縮小効果が大きい被験者で眼底血管の縮小率が大きかった。多発性骨髄腫において眼底血管径の変化と治療効果との相関を認めた。転移再発大腸癌において治療効果を認めた被験者ではペバシズマブの投与前後の眼底血管径の変化が大きい傾向があった。

研究成果の概要(英文)：To explore biomarkers of the pharmacological response to cancer chemotherapy including angiogenic inhibitors, this research assessed ophthalmologic findings of retinal vessels of total 137 patients who receiving cancer chemotherapy. The retinal vessel diameters; were more likely to shrink in those who responded to the preoperative treatment of colorectal cancer; clearly reflected therapeutic efficacy in those with refractory multiple myeloma; and showed a marked reduction in those who obtained long-term stable disease during the treatment of metastatic colorectal cancer.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：境界医学・応用薬理学

キーワード：医薬品副作用 薬物相互作用 がん薬物療法 眼底所見

科学研究費助成事業 研究成果報告書

1. 研究開始当初の背景

がん薬物療法は分子標的治療薬の導入により治療効果が飛躍的に向上した。一方、分子標的治療薬には体内での薬理作用の検証、対象選択と個別化、多様化する副作用の評価や予測といった課題があり、そのためには薬物効果の生体内指標となるバイオマーカーの確立が重要である。血管新生阻害薬は、現在のがん薬物療法において重要な位置を占めており、腫瘍の血管新生を阻害することによって腫瘍を「兵糧攻め」にして効果を発揮するとされる。血管内皮細胞増殖因子に対するモノクローナル抗体ベバシズマブなどがすでに臨床で用いられている。しかし、血管新生阻害薬の薬物効果の有用なバイオマーカーは未だ確立されていない。

眼底はヒト体内の血管を直接的に観察できる唯一の部位であり、高血圧症、糖尿病など血管に影響する内科疾患に関しても重要な検査である。身体への侵襲がなく簡便であるため、健康診断でも行われる。一方、近年眼科領域では加齢黄斑変性や糖尿病性網膜症など網膜血管関連の治療に血管新生阻害薬の眼内投与が行われている (N Engl J Med, 363:1648, 2010)。

これまでには、加齢黄斑変性症の患者にベバシズマブ誘導体であるラニビズマブを眼内投与したところ、網膜動脈径が狭小化したという報告があった (Ophthalmology, 116:1755, 2009)。また、大腸癌患者にベバシズマブを全身投与したところ、フリッカー光刺激によって網膜動脈が拡張する現象が抑制されたという報告があった (J Clin Oncol, 28:3575, 2010)。さらに申請時点で応募者は治療目的にベバシズマブの全身投与を受けている大腸癌患者1名について眼底写真を撮影する機会があり、投与直後に網膜血管とくに網膜静脈の狭小化を観察した(図1)。以上より、全身投与された血管新生阻害薬は正常の網膜血管に影響を与えていると考えられた。

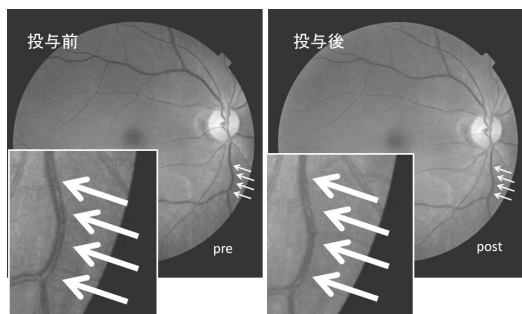


図1 ベバシズマブ投与前後の大腸癌患者の眼底網膜静脈に明らかな狭小化を認める(矢印)

(1)何をどこまで明らかにしようとしたのか
本研究は「血管新生阻害薬による網膜血管の変化は、全身投与された血管新生阻害薬の薬物効果の予測に役立つ」という仮説のもと

に、抗悪性腫瘍薬の投与を受ける患者に眼底検査を行い、高血圧などとくに血管新生阻害薬に特徴的な副作用に注目して行った。眼底変化が血管新生阻害薬の薬物効果と関連することが明らかになれば、血管新生阻害薬の有用なバイオマーカーが確立され、がん薬物療法の治療効果を向上させることができる。

(2)学術的な特色・独創的な点

血管新生阻害薬はがん薬物療法における重要な分子標的治療薬であるにも関わらず、その薬物効果のバイオマーカーは確立されていない。本研究では体内の血管すなわち網膜血管を直接観察することに斬新性がある。がん薬物療法における眼底検査の有用性を科学的に検討した研究は現在までほぼ皆無である。

また、現在のがん薬物療法におけるバイオマーカーの探索は腫瘍からの生検組織や皮膚などの正常組織などを用いるため、その多くは身体に侵襲を与える。また、ゲノム遺伝子の解析やプロテオーム解析には特殊器材を必要とする。本研究は、将来の臨床応用も見据え、身体への侵襲がなく操作手技が簡便な眼底検査について検討する点も斬新的な着想がある。

本研究では網膜血管の血管径のわずかな変化を捉えるため、測定精度が研究成否のポイントとなる。そのため、従来と比較して高感度かつ低ノイズで撮影できる高画質眼底カメラ(ニデック社製 AFC-230)を使用した。

(3)予想される結果と意義

本研究により、網膜血管の変化と血管新生阻害薬の薬物効果との関連が解明されれば、血管新生阻害薬の有用なバイオマーカーの確立につながり、眼底検査によってその薬物効果を評価したり予測したりすることが可能となり、がん薬物療法における血管新生阻害薬の治療効果を向上させることができる。

2. 研究の目的

がん薬物療法に用いられる血管新生阻害薬の薬物効果の生体内指標(バイオマーカー)は未だ確立されていない。眼底は体内の血管を直接的に観察できる唯一の部位であり、高血圧症、糖尿病といった血管に影響する内科疾患においても重要な検査であるが、がん薬物療法における眼底検査の有用性を検討した研究は現在まで皆無である。本研究では、血管新生阻害薬の有用なバイオマーカーの確立を目的に、がん薬物治療中の患者を対象に探索的に眼底検査を行った。眼底変化が血管新生阻害薬の薬物効果と関連することが明らかになれば、血管新生阻害薬の有用なバイオマーカーが確立され、がん薬物療法の治療効果を向上させることができる。

3. 研究の方法

名大病院において、がんの治療目的に血管新生阻害薬を含む抗悪性腫瘍薬の全身投与を受けるがん患者を対象に、薬剤投与の前後に無散瞳眼底カメラにて眼底検査を実施した。網膜動静脈の血管径の変化は、コンピューターソフトを用いて眼底画像から定量的に解析した。観察した眼底変化と実際の抗腫瘍効果や副作用と比較することにより、薬物効果のバイオマーカーとしての眼底所見の有用性を探索した。とくに、血管新生阻害薬投与による網膜血管径の狭小化の発現と程度が、血管新生阻害薬の特徴的な副作用である血圧上昇、蛋白尿、出血、血栓症の発現や重症度に関連するかに注目した。眼底の観察にはオート無散瞳眼底カメラを使用した。

(1) 研究対象

名大病院外来化学療法室において、がんの治療目的に抗悪性腫瘍薬の点滴静注を受ける患者のうち、書面によるインフォームド・コンセントが得られた患者を対象とした。本研究が探索的な研究であることから、対照群を含めて治療薬の種類やがん腫は問わなかった。眼科疾患にて治療中の患者、および罹患者は除外した。

(2) がん薬物療法

ベバシズマブをはじめ血管新生阻害作用を有する薬剤と、対照群として他の抗悪性腫瘍薬も対象とした。ベバシズマブは転移・再発大腸がんに対して FOLFOX(フルオロウラシル、オキサリプラチン、レボホリナート)、FOLFIRI(フルオロウラシル、イリノテカン、レボホリナート)、CAPEOX(カペシタビン、オキサリプラチン)療法と併用することが多いため、ベバシズマブを投与せずにこれらの治療を受ける患者も対象とした。名大病院では、がん薬物療法はすべて登録された標準レジメンに従って行われており、薬剤、薬剤量、溶解液、投与順序、投与速度などすべて同一の方法で行われている。

(3) 眼底検査と画像処理



外来化学療法室に設置した眼底カメラ

眼底検査はオート無散瞳眼底カメラ（ニデック社製 AFC-230）を用い、点滴静注の投与前後に、経口薬の場合は治療開始後に定常状態に達した時点（約 1-2 週間後）に、半暗室にてそれぞれ 10-15 分程度をかけて行った。眼底カメラ AFC-230 は撮影前の散瞳を必要とせず、血管径の計測に適した高画質画像を自動撮影できるという特長がある。眼底写真に何らかの異常所見が観察された患者は本研究から除外した。

(4) 臨床情報と解析

薬物効果の情報として抗腫瘍効果および副作用を診療情報記録から抽出した。併用薬剤や併存症、治療経過も調査した。検査値や血圧値以外の数値化されない副作用は、日常臨床で用いられている有害事象共通用語規準に基づいてグレード分類を行い半定量化した。観察された抗腫瘍効果や副作用を眼底変化と比較し、眼底所見のバイオマーカーとしての有用性を探索した。

(5) 研究者の役割

安藤（代表者）および満間（分担者）は対象選択と同意取得、眼底検査、各症例の臨床情報の収集、データ解析を担当した。寺崎（分担者）および伊藤（分担者）は眼底所見の画像処理と解析を担当した。

4. 研究成果

学内倫理委員会より本研究の承認を得たのちに、外来化学療法室に無散瞳眼底カメラを設置して、文書による参加同意が得られた外来化学療法中の被験者に眼底所見の記録を行った。眼底所見の撮影は平成 23~25 年度までの 3 年間で累計 137 名（中央値 64 才、範囲 28~86 才）に行い、測定回数はそれぞれ 456 回、429 回、202 回、1 名あたり 1~25 回であった。大腸癌が大半であった。治療は CAPEOX 療法 25 名（術前 14 名のうち解析可能であった 7 名を計測）、CAPEOX+ベバシズマブ療法 41 名（術前 16 名→解析可能であった 10 名を計測）、その他に FOLFOX, FOLFIRI, SOX など 24 レジメンであった。なお、本研究で撮影した眼底所見をきっかけとして、漿液性網膜剥離を 1 名、軽度網膜変化 1 名を偶然に発見した。

これまでの解析により、①大腸癌術前治療例では腫瘍縮小効果が大きい被験者で眼底網膜血管の変化がより大きい傾向がある、②多発性骨髄腫において眼底網膜血管径の変化が治療効果と相関する、③転移再発大腸癌の治療期間が長い被験者ではベバシズマブの投与前後の眼底網膜血管径の変化がより大きい傾向があることを認めた。これらの知見は、仮説のとおり、ベバシズマブの投与前後の網膜血管の変化が治療効果の予測のバ

バイオマーカーとなりうることを示唆していると考えられる。現在、これらの研究成果を英文論文としてまとめている

(1) 眼底写真の撮像条件

市販ソフト (Adobe Photoshop CS5.1) を用いて画像上の血管径または血管面積を計測した。典型的には、一画像当たり 8 点で測定を行い、視神経乳頭径により距離補正した。

過去の論文では眼底動脈の血管径で比較していたが、本研究での被験者の眼底静脈では静脈と動脈で同様の変化が起きており、また一般に静脈の血管壁のほうが清明であるので静脈で測定を行った。

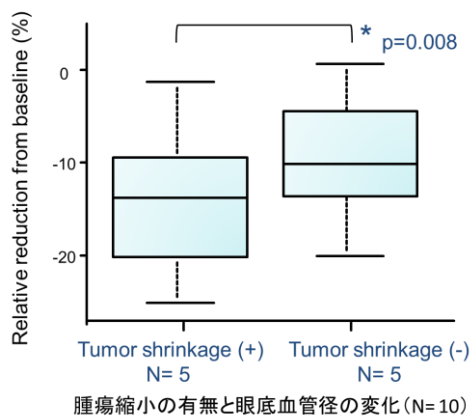
健常人男女各 3 名、計 6 名の検討では食事や歩行後など日常動作での眼底血管の有意な変化は認めなかった。また血管径の変化はベバシズマブ投与終了後の数時間にわたり持続するがその後は回復することを観察した。

さらに、血管径の変化では血管壁の誤差が反映される可能性があるため面積での計測を行った。その結果、測定のばらつきを最小にすることができたが、最終的な結果は血管径を測定した場合と同じであった。

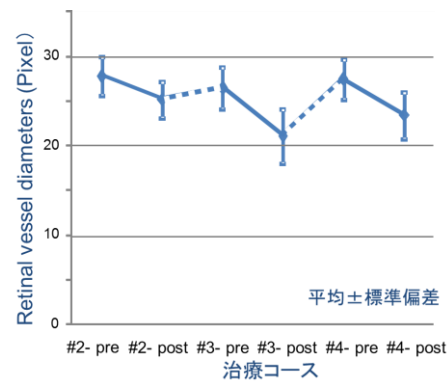
同一画像を用いて血管面積の計測を 5 名の測定者によって行ったが、測定者間での有意なばらつきは認めなかった。

(2) 大腸癌患者におけるベバシズマブと眼底血管径との関連

大腸癌患者の術前化学療法 (カペシタビン + オキサリプラチン + ベバシズマブ) において、30% 以上の腫瘍縮小効果を認めた 5 名 ($14.5 \pm 6.5\%$) とそれ以外の 5 名 ($8.8 \pm 6.2\%$) の間で、化学療法前後の血管径の縮小程度に差を認めた (学会発表①, ④)。これらの知見は、仮説のとおり、ベバシズマブの投与前後の網膜血管の変化が治療効果の予測のバイオマーカーとなりうることを示唆している。成果は英文論文としてまとめている。



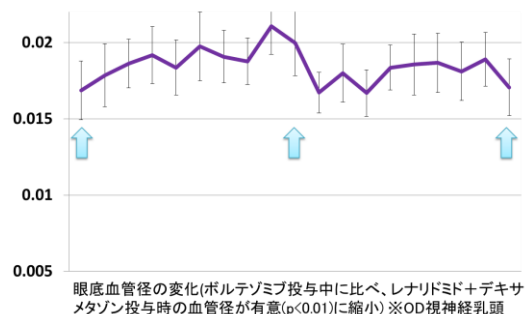
術前治療3コース目 治療前後の眼底写真(例)



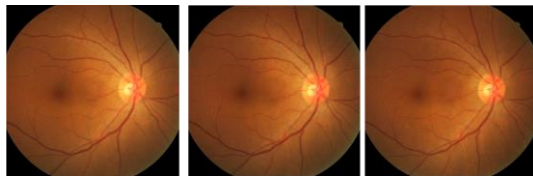
上記患者の血管径推移 (化学療法の前後で血管径は縮小し、次コース前までに血管径は回復している)

(3) 多発性骨髄腫患者における新規分子標的治療薬の治療効果と眼底血管径との関連

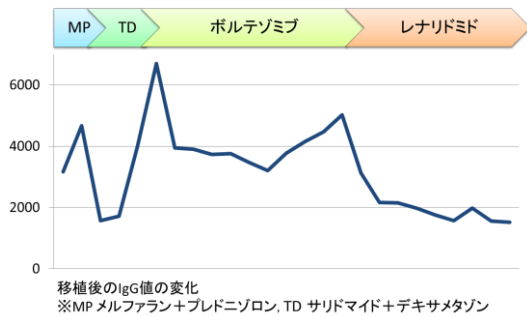
多発性骨髄腫の 8 名に対して眼底血管の経時的に観察を行った。そのうち造血細胞移植後の再燃症例 1 名については、プロテアソーム阻害薬ボルテゾミブから血管新生阻害作用を有するレナリドミド + デキサメサゾンへの変更により治療効果が得られ、レナリドミド変更によって網膜静脈血管径は有意に縮小していた。さらに、その縮小効果は血液検査から確認される治療効果、すなわち IgG 低下に先行していた (学会発表③)。多発性骨髄腫に対する新規抗がん薬の作用機序には血管新生阻害作用が含まれるため、眼底血管径の変化は薬剤の感受性と関連する可能性がある。



眼底血管径の変化 (ボルテゾミブ投与中に比べ、レナリドミド + デキサメサゾン投与時の血管径が有意 (p<0.01) に縮小) ※OD視神経乳頭

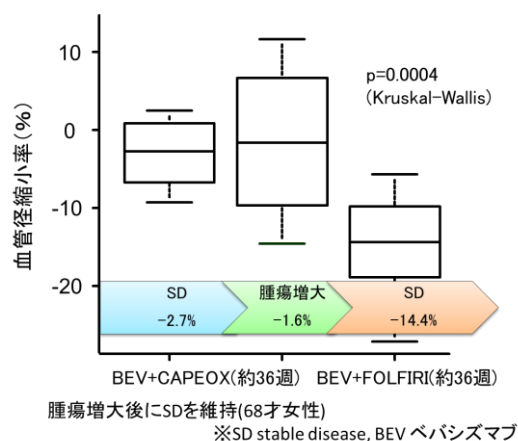


① ボルテゾミブ奏効(開始) 血管径: 0.0169±0.0019
 ② ボルテゾミブ無効 血管径: 0.0200±0.0021
 ③ レナリドミド奏効 血管径: 0.0170±0.0018



(4) 転移再発大腸癌におけるベバシズマブと眼底血管径との関連

2011年3月より2012年6月まで、当院においてベバシズマブ併用化学療法を受けた70例の転移再発大腸癌患者の眼底写真を撮影した。うち5例(男性2例、女性3例)は1年以上化学療法の継続により、腫瘍コントロールが保たれていた。その5名について解析したところ、化学療法前後で網膜静脈血管径は左右眼底とも平均15%縮小していた(縮小率平均値; 右眼: $-15.06 \pm 7.21\%$, 左眼: $-15.98 \pm 5.66\%$)。一方、早期に腫瘍が増大となった患者では、ベバシズマブ投与前後の血管径の明らかな変化を認めなかった。さらに、この網膜静脈血管径の縮小効果は病勢が安定している期間は持続したが、腫瘍が増大となった場合には減少し、治療効果との関連が示唆された。1例でベバシズマブの特徴的な有害事象である血圧上昇グレード2を認めたが、血圧上昇と関連した網膜静脈血管径の有意な変化は認めなかった(学会発表②)。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 2件)

- ① Yoshioka Y, Uehara K, Ebata T, Yokoyama Y, Mitsuma A, Ando Y, and Nagino M. Postoperative complications following neoadjuvant bevacizumab treatment for advanced colorectal cancer. Surg Today 査読有, in press, 2014
 DOI 10.1007/s00595-013-0686-2
- ② Morita S, Uehara K, Nakayama G, Inoue M, Mitsuma A, Shimokata T, Sugishita M, Shibata T, Oguri T, and Ando Y. Association between bevacizumab related hypertension and VEGF gene polymorphisms in Japanese patients with metastatic colorectal cancer. Cancer Chemother Pharmacol 査読有 71: 405-11, 2013
 DOI 10.1007/s00280-012-2028-2

〔学会発表〕(計 4件)

- ① 満間綾子, 伊藤逸毅, 寺崎浩子, 安藤雄一, 他 5名. Relationship between diameter of retinal vessels and anti-tumor effect of bevacizumab containing chemotherapy. 第11回日本臨床腫瘍学会学術集会. 2013年8月29日-31日, 仙台国際センター(仙台市)
- ② 満間綾子, 伊藤逸毅, 寺崎浩子, 安藤雄一, 他 7名. 転移再発大腸がん患者におけるベバシズマブ投与と眼底網膜血管径との関連. 第33回日本臨床薬理学会学術誌総会. 2012年11月29日-12月01日, 沖縄コンベンションセンター(那覇市)
- ③ 満間綾子, 伊藤逸毅, 寺崎浩子, 安藤雄一, 他 10名. 多発性骨髄腫患者における新規抗がん薬の治療効果と眼底血管径との関連. 第50回日本癌治療学会学術集会. 2012年10月25日-27日, パシフィコ横浜(横浜市)
- ④ 満間綾子, 伊藤逸毅, 寺崎浩子, 安藤雄一, 他 6名. ベバシズマブ投与と大腸がん患者における眼底血管径の変化と臨床的効果の検討. 第71回日本癌学会学術総会. 2012年09月20日, ロイトン札幌(札幌市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

安藤 雄一 (ANDO, Yuichi)

名古屋大学・医学部附属病院・教授

研究者番号: 10360083

(2)研究分担者

満間 綾子 (MITSUMA, Ayako)

名古屋大学・大学院医学系研究科・特任講師
研究者番号：10467326

伊藤 逸毅 (ITO, Yasuki)

名古屋大学・大学院医学系研究科・准教授
研究者番号：10313991

寺崎 浩子 (TERASAKI, Hiroko)

名古屋大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号：40207478