

令和元年5月16日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K20313

研究課題名(和文) VEGF非依存性脈絡膜血管新生制御機構の解明

研究課題名(英文) The Mechanisms of VEGF-independent Choroidal Neovascularization

研究代表者

片岡 恵子 (Kataoka, Keiko)

名古屋大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：30760516

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、加齢黄斑変性における血管内皮増殖因子(VEGF)に依存しない脈絡膜新生血管のメカニズムについて検討することを目的とした。まず、光干渉断層血管撮影を用いた脈絡膜新生血管の血管分枝密度や血管面積の評価方法を独自に確立した。抗VEGF薬の毎月連続投与下であっても脈絡膜新生血管の面積が増大すること、血管分枝密度の低下は一時的であり、血管分枝密度の高いCNVが新たに生じることを発見し、論文発表を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、現在加齢黄斑変性の治療の主流となっている抗VEGF薬治療の治療抵抗性のメカニズムを明らかとし、より効果的な治療方法を模索するものである。加齢黄斑変性は年々増えており、失明に至る疾患であることから本研究の果たす役割は大きいと考える。

研究成果の概要(英文)：Choroidal neovascularization (CNV) is known to be mainly regulated by vascular endothelial growth factor (VEGF). However, anti-VEGF treatments are not able to regress CNV completely. This study aimed to investigate the mechanisms of VEGF-independent CNV. We established our original method to evaluate the density of vascular branches (vessel junction) and vessel area. Our data revealed that choroidal neovascularization developed under the presence of anti-VEGF drugs, although the vessel junction density and the vessel area of CNV have decreased in response to the first anti-VEGF intravitreal injection.

研究分野：網膜

キーワード：網膜 加齢黄斑変性 OCT angiography

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

加齢黄斑変性 (Age-related macular degeneration: AMD) は、推定 69 万人の日本人が罹患している失明原因として最重要な疾患である。AMD では病的な脈絡膜新生血管 (choroidal neovascularization: CNV) により網膜剥離 (神経網膜の網膜色素上皮からの剥離) や網膜浮腫、網膜下出血等の滲出性変化が引き起こされることで、視細胞および網膜色素上皮が障害され失明に至る。抗血管内皮増殖因子 (VEGF) 薬の硝子体内投与により視力の維持がある程度可能になったが根治は未だ難しく、抗 VEGF 薬抵抗症例も少なくないのが現状であり、新規の治療薬の開発は必要不可欠である。研究代表者は 2012 年から 2015 年の米国留学中、神経網膜が網膜色素上皮より剥離する際に引き起こされる視細胞死のメカニズムを研究し、CD11b 陽性細胞中で Inflammasome と呼ばれる炎症カスケードが誘導された結果、IL-1 が分泌され、それにより視細胞死が増悪することを報告した (Kataoka K, et al. Cell death and disease 2015)。この際、CD11b 陽性細胞は、網膜剥離後早期より網膜下に集積することを確認している。これらの結果から、私は骨髄由来血球系細胞による網膜疾患の病態への関与に注目している。一方で、*in vitro* の実験や癌における血管新生で CD11b 陽性細胞の中に Gr1 陽性細胞が存在し、これが抗 VEGF 治療に対する抵抗性に関与しているという報告がある。さらに、この CD11b 陽性 Gr1 陽性細胞から分泌される Bv8 / プロキネチシン 2 蛋白がさらなる骨髄由来血球系細胞を動員し、それと同時に VEGF 非依存性に血管新生を促進することが最近報告された。しかし、AMD における CD11b 陽性 Gr1 陽性細胞の存在および Bv8 / プロキネチシン 2 蛋白の病態への関与は未だ明らかではない。

### 2. 研究の目的

本研究では、VEGF 非依存性の血管新生因子である Bv8 / プロキネチシン 2 蛋白に注目し、脈絡膜新生血管の伸展に対する作用とその機序を動物モデルおよびヒトのサンプルを用いて解明し、VEGF 非依存性の CNV 伸展メカニズムを明らかにし、加齢黄斑変性の新規薬剤としての可能性を検討する事を目的とした。

### 3. 研究の方法

まず、実際に AMD 患者において抗 VEGF 薬連続投与下で CNV に変化がありうるのかを検証するべく、最新機器である光干渉断層血管撮影 (OCTA) による CNV の動的变化の検討をまず行った。未治療 AMD 患者で、抗 VEGF 薬であるアフリベルセプトの 3 回毎月導入治療を施行され、かつ治療前、治療中 (1、2、4 か月目) に OCTA の撮影が施行された患者のデータを取得した。OCTA の画像に対し、オープンアクセスソフトウェアである AngioTool をもちいた血管面積、血管分子密度を定量する方法を独自に確立し、その方法を用いて解析を行った。

### 4. 研究成果

未治療の典型 AMD と診断された 15 例 15 眼について解析を行ったところ、CNV の血管面積はベースラインから 1 か月の時点でベースラインよりも 33.4% 縮小し ( $p = 0.0015$ )、アフリベルセプトに良好に反応した。しかしながら、2 か月目、4 か月目ではベースラインとの面積に有意差がなくなり、4 か月での CNV の面積は 1 か月目の CNV より有意に拡大した結果となった (図 1)。つまり、アフリベルセプトを連続して投与しているにもかかわらず、CNV を縮小し維持する効果はなく、むしろ CNV は拡大していることが示された。血管分枝密度は血管の成熟度の指標となり、未熟な血管ほど VEGF 依存性の血管であるが成熟するにつれ VEGF 非依存性の血管となることが知られている。そこで血管の分枝に着目して CNV の変化を解析したところ、アフリベルセプトの 1 回目の投与の後の 1 か月目では血管分枝は有意に減少し、未熟な VEGF 依存性の CNV が剪定されたことが示唆されたが、その後 2、4 か月の時点で血管分枝は再度上昇し、ベースラインの血管分枝密度と差がない結果となった (図 1)。抗 VEGF 薬の存在下であっても、血管新生が進行している可能性が示唆された。詳細な CNV の検討を行うと、1 か月目に細かい血管が消失したにもかかわらず、2 か月目にはループ状の血管が出現し、さらに 4 か月目には新たな CNV が出現している様子

図 1

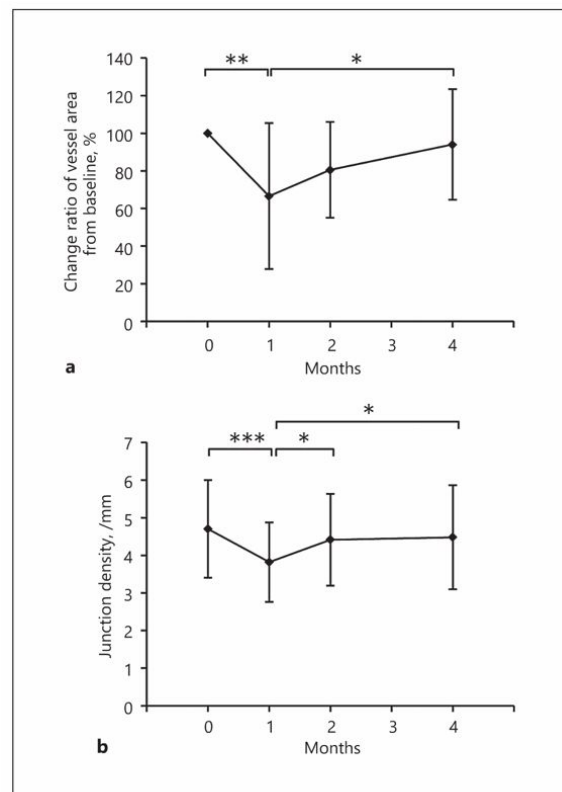
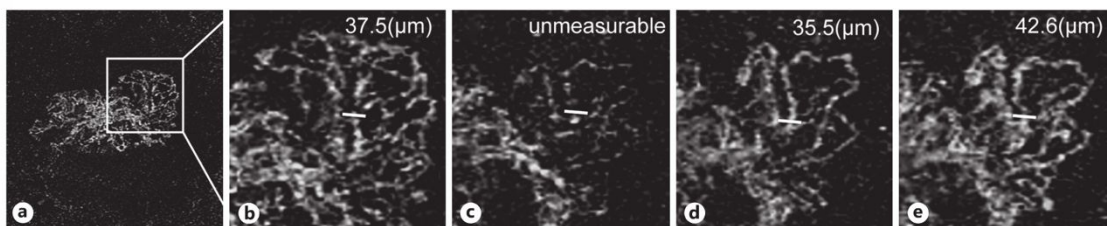


Fig. 4. Mean changes in vessel area (%) and junction density (/mm) from baseline. Data are presented as mean  $\pm$  standard deviation. \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$ .

が見て取れる(図2)。また、1か月の時点で細くなった血管も2か月、4か月で血管径が増大したことから、CNVに対する抗VEGF薬のアフリベルセプトの効果は一時的かつ部分的であり、連続投与にもかかわらず血管新生の進行とループ状の血管の形成や血管径の増大が生じることが示され、本研究により、実際のヒトのAMDにおいてもVEGF非依存性の血管新生の存在が明らかとなった。(Optical Coherence Tomography Angiography to Quantify Choroidal Neovascularization in Response to Aflibercept. Ophthalmologica 2017.) ヒトのAMDにおけるCNVの動的な変化を継続的に観察し、抗VEGFを連続投与したにもかかわらず再燃することは新しい発見であり、この反応の違いや血管の成熟度に着目することは新しいAMDの治療戦略となりうるものである。次なる研究として、未治療AMDの抗VEGF薬反応性の違いと血管の成熟度の差に関連性について検討し、抗VEGF薬に抵抗性を示す傾向にあると言われるType1 CNVは抗VEGF薬への反応が良好とされるType2 CNVよりも血管の分枝が少なくより血管が成熟している可能性を明らかとした。この結果は、海外の学会発表(EURETINA 2018)で発表し、現在論文投稿中である。

本研究期間中に、以上のヒトのAMDにおけるCNVの重要な知見を得ることができたが、当初予定していたBv8/プロキネチシン2蛋白の評価までは行うことが出来なかった。

図 2



## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計24件)

- 1) Optical Coherence Tomography Angiography to Quantify Choroidal Neovascularization in Response to Aflibercept. Takeuchi J, **Kataoka K\***, Ito Y, Takayama K, Yasuma T, Kaneko H, Terasaki H. Ophthalmologica. 2018;240(2):90-98. doi: 10.1159/000487611. Epub 2018 May 8. (査読あり。\*: Corresponding author)

〔学会発表〕(計4件)

- 1) 2019年9月21日 EURETINA 2018 口頭発表 Follow up of type 3 neovascularization with Bscan flow optical coherence tomography angiography. **Keiko Kataoka**, Jun Takeuchi, Yuyako Nakano, Ai Fujita, MD, Yasuki Ito, Hiroko Terasaki,
- 2) 2018年12月9日 第57回日本網膜硝子体学会総会 教育セミナー 網膜硝子体疾患に重要な検査のコツと読み方 **片岡恵子**
- 3) 2018年7月21日 第35回眼循環学会総会 シンポジスト OCT angiographyによる加齢黄斑変性の評価 **片岡恵子**
- 4) 2017年2月5日 ARVO-Asia 2017 口頭発表 Optical Coherence Tomography Angiography in Retinal Angiomatous Proliferation. **Keiko Kataoka**, Takeuchi J, Takayama K, Fukukita H, Hattori K, Yasuma T, Ito T, Terasaki H

〔図書〕(計6件)

- 1) 今後の加齢黄斑変性治療-新しい薬剤の開発や新しい治療について(解説/特集) **片岡恵子** あたらしい眼科 (221-227)36巻2号 Page91-97(2019.02)
- 2) ガイドラインに準拠 硝子体内注射の臨床手技】その他の術後眼合併症と対策(解説/特集) **片岡恵子** 眼科グラフィック (2187-2422)7巻3号 Page307-310(2018.06)
- 3) 抗VEGF治療セミナー OCT アンギオグラフィー所見と抗VEGF療法(解説) **片岡恵子** あたらしい眼科 (0910-1810)35巻3号 Page359-360(2018.03)
- 4) 難渋症例にチャレンジ!眼科診断トレーニング Alport 症候群(解説) **片岡恵子** 眼科グラフィック (2187-2422)6巻6号 Page610-612(2017.12)
- 5) 【OCTA 私の使い方】AMD/PCVの診断における私の使い方(解説/特集) **片岡恵子**(名古屋大学医学部附属病院 眼科) 眼科グラフィック (2187-2422)6巻5号 Page473-477(2017.10)
- 6) 【眼科治療の現在】OCT angiographyの臨床応用(解説/特集) **片岡恵子**(名古屋大学医学部附属病院 眼科) Medical Photonics 24号 Page17-20(2017.07)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

無

取得状況（計 0 件）

無

〔その他〕

ホームページ等

無

## 6 . 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名：無

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8 桁）：

### (2)研究協力者

研究協力者氏名：無

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。