

令和 2 年 6 月 29 日現在

機関番号：21601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11427

研究課題名(和文) 眼内補体因子および関連蛋白計測による加齢黄斑変性発症機構の解明

研究課題名(英文) The mechanism of age-related macular degeneration by measuring intraocular complement factors and related proteins

研究代表者

石龍 鉄樹 (Tetsuju, Sekiryu)

福島県立医科大学・医学部・教授

研究者番号：00216540

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：滲出型加齢黄斑変性における眼内補体因子が血管新生サイトカインに与える影響を検討する目的で、前房水中のアナフィラトキシン(C3a、C4a、C5a)濃度とVEGF、MCP-1を計測した。滲出型加齢黄斑変性では、C3a上昇、VEGF、MCP-1の上昇が見られた。C3a濃度とMCP-1濃度には相関性が見られたが、VEGF濃度との相関は低かった。脈絡膜新生血管のタイプ別では、ドルーゼンが多い典型的な滲出型加齢黄斑変性と脈絡膜肥厚が特徴であるPachychoroid Neovascuopathyでは、それぞれの因子の上昇パターンが異なっており、脈絡膜新生血管は異なる機序で形成され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

滲出型加齢黄斑変性における脈絡膜新生血管の形成には補体因子が関与していることが指摘されていた。今回の研究で、脈絡膜新生血管が補体因子を介さない発症機序で形成されることを前房内蛋白を解析することで生物学的に解明することができた。今後は、従来と異なる脈絡膜新生血管機序を明らかにすることで、新たな滲出型加齢黄斑変性の治療法の開発に結びつけることができると考えている。

研究成果の概要(英文)：To investigate the effect of intraocular complement factors on angiogenic cytokines in neovascular age-related macular degeneration, we measured anaphylatoxin (C3a, C4a, C5a) concentrations and VEGF, MCP-1 in the aqueous humor.

In neovascular age-related macular degeneration, the concentration of C3a, VEGF, and MCP-1 elevated. The concentration of C3a highly correlated to that of the MCP-1. In contrast, the correlation between the VEGF level and C3a level was low in pachychoroid neovascuopathy. The pathophysiology of pachychoroid neovascuopathy, which is characterized by choroidal thickening, may be different from that of typical neovascular age-related macular degeneration, which is characterized by soft drusen.

研究分野：黄斑、網膜硝子体

キーワード：滲出型加齢黄斑変性 補体 アナフィラトキシン サイトカイン VEGF MCP-1 Pachychoroid

1. 研究開始当初の背景

日本人の失明原因として加齢黄斑変性 (AMD) が増加している。AMD には滲出型と萎縮型が知られている。滲出型 AMD は、脈絡膜新生血管を特徴としている。脈絡膜新生血管は、サイトカインにより誘導されると考えられており、実際、血管新生に重要な役割を果たす血管内皮増殖因子 (VEGF) 阻害剤の投与により病変が縮小することが臨床的にも確かめられている。

近年、遺伝子の検索から補体が AMD 発症の一因として報告され、新たな治療標的として注目されている。この補体活性化が、血管新生サイトカインを刺激し、滲出型 AMD が発症すると考えられている。しかし、AMD 眼において眼局所の補体経路を計測した報告は殆どなく、また血管新生サイトカインとの関連も不明である。今回の研究では眼内補体活性化因子の計測とサイトカインの関連を解明したいと考えた。

2. 研究の目的

滲出型 AMD における眼内の補体の活性化と血管新生サイトカインの関連性を検討することを目的とする

3. 研究の方法

臨床的に眼内の補体活性化因子を計測するに当たっては、前房水中のアナフィラトキシン濃度を計測することが、簡便で良いと考えられたが、眼内のアナフィラトキシン濃度分布が明らかでなかったため、研究の最初に眼内のアナフィラトキシンの分布を明らかにする目的で、前房中と硝子体中のアナフィラトキシン濃度を網膜硝子体界面疾患 (特発性黄斑上膜、特発性黄斑円孔) で計測した。アナフィラトキシンの計測は、サイトメトリックビーズアレイを用いて行った。

次に、滲出型 AMD に対する硝子体内注射の際に前房水を採取し、前房水中の C3a、C4a、C5a および VEGF, MCP-1 濃度を計測した。対象として白内障手術時に採取した前房水を計測した。

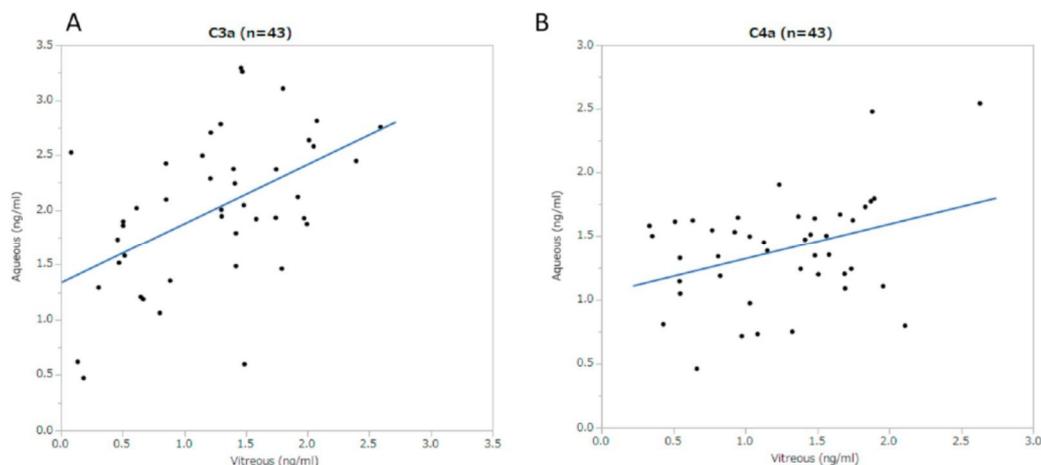
4. 研究成果

アナフィラトキシンの眼内分布を調べる研究では、前房水中のアナフィラトキシン濃度は、硝子体中濃度と中等度の相関性を示した。このことから、前房水中アナフィラトキシン濃度は、硝子体腔中アナフィラトキシン濃度を反映することが分かった (図 1 文献 1 Anaphylatoxin concentration in aqueous and vitreous humor in the eyes

with vitreoretinal interface abnormalities.

Oguchi Y, Sekiryu T, Omori T, Kato Y, Ogasawara M, Sugano Y, Itagaki K, Ojima A, Machida T, Sekine H. *Exp Eye Res.* 2020 Jun;195:108025.

doi: 10.1016/j.exer.2020.108025.)



文献 1 より

滲出型 AMD 全体では、C3a 上昇、VEGF、MCP-1 の上昇が見られた。C3a 濃度と MCP-1 濃度には相関性が見られたが、VEGF 濃度との相関は低かった。

滲出型 AMD のサブタイプとして典型的 AMD、ポリープ状脈絡膜血管症 (PCV)、網膜内血管新生とを特徴とする網膜血管腫状増殖 (RAP) がある。最近 PCV と類似の病像を示しながら、ポリープ状病巣が見られない pachychoroid neovascularization (PNV) が報告されている。本研究では、滲出型 AMD の 3 つの病型 (典型的 AMD、PCV、PNV) とコントロールとの間でアナフィラトキシンと VEGF、MCP-1 の比較をおこなった。病型別の解析では典型 AMD と PCV では C3a、VEGF、MCP-1 が上昇していた。PNV では VEGF のみが上昇していた。典型 AMD と PCV では補体活性化によるサイトカインの活性化が起きていると推定された。一方、PNV においては炎症の関与が少ないにも関わらず VEGF が産生されている可能性が推定された。

結論: 滲出型 AMD では補体第二経路の活性化とともに pro-angiogenic cytokine (VEGF, MCP-1) が上昇している。アナフィラトキシン上昇と VEGF の上昇の相関性は高くなく、むしろ MCP-1 上昇との相関性が高いことから、VEGF の活性化は MCP-1 の活性化を介して生じている可能性が示唆された。滲出型 AMD のサブタイプによりそれぞれの関与が異なることから、サブタイプにより脈絡膜新生血管の発症機序が異なる可能性があると考えられる。将来的には MCP-1 阻害による滲出型 AMD の治療の可能性が示唆された。また

病型別の滲出型 AMD 治療が、考慮されても良いと思われた。上記については、現在英文雑誌投稿中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Sugano Y, Sekiryu T, Furuta M, Tomita R, Shintake H, Maehara H, Ojima A.	4. 巻 5
2. 論文標題 Morphometrical evaluation of the choriocapillaris imaged by swept-source optical coherence tomography angiography.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Clin Ophthalmol	6. 最初と最後の頁 12
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2147/OPHTH.S179634. eCollection 2018.	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 Oguchi Y, Sekiryu T, Takasumi M, Hashimoto Y, Furuta M.	4. 巻 62
2. 論文標題 Near-infrared and short-wave autofluorescence in ocular specimens.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Jpn J Ophthalmol	6. 最初と最後の頁 5
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10384-018-0614-5. Epub 2018 Aug 2.	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 Ogasawara M, Koizumi H, Yamamoto A, Itagaki K, Saito M, Maruko I, Okada AA, Iida T, Sekiryu T.	4. 巻 62
2. 論文標題 Prognostic factors after aflibercept therapy for typical age-related macular degeneration and polypoidal choroidal vasculopathy.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Jpn J Ophthalmol	6. 最初と最後の頁 5
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10384-018-0605-6. Epub 2018 Jul 4.	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 森隆史, 松野希望, 比金真菜, 笠井彩香, 新田美和, 橋本禎子, 八子恵子, 石龍鉄樹	4. 巻 12
2. 論文標題 弱視治療年齢の調節麻痺下屈折値を眼軸長と角膜曲率半径から求める推測式	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 臨床眼科紀要	6. 最初と最後の頁 2
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
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 Yasuharu Oguchi , Tetsuju Sekiryu , Tomoko Omori , Yutaka Kato , Masashi Ogasawara , Yukinori Sugano , Kanako Itagaki , Akira Ojima , Takeshi Machida , Hideharu Sekine	4. 巻 195
2. 論文標題 Anaphylatoxin Concentration in Aqueous and Vitreous Humor in the Eyes With Vitreoretinal Interface Abnormalities	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Exp Eye Res	6. 最初と最後の頁 epub
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.exer.2020.108025	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 Omori T, Oguchi Y, Machida T, Kato Y, Ishida Y, Ojima A, Itagaki K, Shintake H, Tomita R, Kasai A, Sugano	4. 巻 63
2. 論文標題 Evidence for Activation of Lectin and Classical Pathway Complement Components in Aqueous Humor of Neovascular Age-Related Macular Degeneration.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Ophthalmic Res	6. 最初と最後の頁 252-258
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000503258	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8件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 加藤寛.
2. 発表標題 滲出型加齢黄斑変性の前房水中補体分解産物の検討.
3. 学会等名 第38回日本眼薬理学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大口泰治
2. 発表標題 前房水中および硝子体中の補体活性化産物濃度.
3. 学会等名 第72回日本臨床眼科学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yutaka Kato
2. 発表標題 Six-month result of anti-VEGF therapy with or without laser for macular edema secondary to branch retinal vein occlusion.
3. 学会等名 ARVO 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yutaka Kato
2. 発表標題 Complement activation product levels in aqueous humor of patients with age-related macular degeneration
3. 学会等名 ARVO 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大口泰治
2. 発表標題 硝子体界面症候群の 眼内アナフィラトキシン濃度
3. 学会等名 第73回日本臨床眼科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 加藤寛
2. 発表標題 ポリープ状脈絡膜血管症における脈絡膜厚と前房内アナフィラトキシン濃度
3. 学会等名 第73回日本臨床眼科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 加藤寛
2. 発表標題 滲出型加齢黄斑変性患者の前房水中における補体因子とサイトカインの関係
3. 学会等名 第58回日本網膜硝子体学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大口泰治
2. 発表標題 加齢黄斑変性のVEGF阻害薬治療前後でのanaphylatoxin濃度
3. 学会等名 第124回日本眼科学会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔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
研究分担者	関根 英治 (Sekine Hideharu) (40363759)	福島県立医科大学・医学部・教授 (21601)	
研究分担者	大口 泰治 (Oguchi Yasuharu) (90595331)	福島県立医科大学・医学部・助教 (21601)	
研究分担者	小島 彰 (Akira Ojima) (30528237)	福島県立医科大学・医学部・助教 (21601)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	菅野 幸紀 (Yukinori Sugano) (40644828)	福島県立医科大学・医学部・助教 (21601)	