

令和 2 年 5 月 11 日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11440

研究課題名(和文)重症未熟児網膜症に対する抗血管内皮増殖因子治療の検討

研究課題名(英文)Anti-VEGF treatment for severe retinopathy of prematurity

研究代表者

日下 俊次(KUSAKA, Shunji)

近畿大学・医学部・教授

研究者番号：60260387

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)：重症未熟児網膜症に対しranibizumab投与を行った22例43眼では20.9%で再燃がみられた。bevacizumab投与を行った21例37眼では13.5%の再燃率で、前者でやや再燃率がやや高い傾向がみられた(P=0.556)。多重ロジスティック解析で修正35週以下での抗VEGF治療(OR, 7.524; 95% CI, 1.494&#8211;37.89; p=0.014)と病型として aggressive posterior ROPであったこと(OR, 5.532; 95% CI, 1.049&#8211;29.17; p=0.044)の2つが有意な要因であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

未熟児網膜症は小児失明原因の第一位を占める重要な疾患である。治療法として従来から網膜光凝固が行われてきたが、治療後の近視化、視野狭窄などの欠点があった。これに対し、近年、これらの欠点がない薬物療法(抗VEGF治療)が薬剤の適応外使用として登場した。また、2019年11月に抗VEGF治療薬であるranibizumabが未熟児網膜症の治療薬として承認された。本研究は承認前の段階からranibizumab、それ以前に使用されていたbevacizumabの治療成績や再燃因子を多数例で詳細に検討したもので今後の抗VEGF治療の普及に際して参考となる価値の高い成果であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Anti-vascular endothelial growth factor (VEGF) therapy was performed for infants with severe retinopathy of prematurity (ROP). Reactivation was observed in 20.9% of 43 eyes of 22 infants after ranibizumab injection and 13.5% of 37 eyes of 21 infants after bevacizumab injection(P=0.556). Multivariate logistic regression analyses revealed that anti-VEGF therapy at 35 weeks or younger post-conceptual age (OR, 7.524; 95% CI, 1.494&#8211;37.89; p=0.014) and aggressive posterior ROP (OR, 5.532; 95% CI, 1.049&#8211;29.17; p=0.044) were the significant risk factors for reactivation.

研究分野：眼科 網膜硝子体疾患 小児網膜

キーワード：未熟児網膜症 血管内皮増殖因子 抗VEGF治療 VEGF 網膜光凝固 低出生体重児

## 1. 研究開始当初の背景

未熟児網膜症は初めて報告 (Terry TL, Am J Ophthalmol, 1942) されてからすでに 70 年以上を経ているが、現在でも小児失明原因の第一位を占める重要な疾患である (柿澤敏文ら、障害科学 31, 91-104, 2007)。1960 年代には低出生体重児への高濃度酸素投与を避けることで未熟児網膜症患者数が激減したが、その後の周産期医学の進歩により低出生体重児の生存率が向上したため、未熟児網膜症は再び増加に転じた。特に近年の日本では全体的には少子化傾向がみられるが、低出生体重児に関しては絶対数、割合ともに年々増加しており (田村正徳ら 第二回周産期医療と救急医療の確保と連携に関する懇親会資料 平成 20 年 厚生労働省ホームページ) 眼科医は未熟性の高い眼に発症する重症未熟児網膜症の治療に難渋する機会が増えている。未熟児網膜症による失明を防ぐには、疾患の病態理解を深め、その病態に応じた治療法を開発することが必要である。未熟児網膜症の病態に関して中でも、多くの研究がモデル動物を用いてなされており、多くのサイトカインの関与が示されてきた。これらの研究から血管内皮増殖因子 (VEGF) が最も重要であることが、我々の酸素誘導網膜症マウスを用いた研究 (Sato T, Kusaka S, et al. Br J Ophthalmol 2009) も含めていくつかの研究で示されている。また、臨床例でも未熟児網膜症では硝子体内 VEGF 濃度が上昇し、網膜症の活動性と相関すること (Sato T, Kusaka S, et al. Ophthalmology 2009) が示されている。このような背景もあり、近年、抗 VEGF モノクローナル抗体である bevacizumab を適応外使用として硝子体内投与する抗 VEGF 治療が開始され、その有効性が報告されている (Kusaka S, et al. Br J Ophthalmol 2008, Mintz-Hittner HA, et al. N Eng J M 2011)。しかし、bevacizumab を用いた抗 VEGF 治療では投与後に血清 VEGF 濃度が低下することが指摘され (Sato T, Kusaka S, et al. Am J Ophthalmol 2012, Wu WC, et al. JAMA Ophthalmol 2015) bevacizumab 投与による全身的な影響が懸念されている。これに対し、硝子体中や血清中の半減期がより短い抗 VEGF 薬である ranibizumab を用いる試みがなされ、良好な治療成績が報告されている。これまで Castellanos MA らの報告 (Br J Ophthalmol 2013) を含め、いくつかの報告があるが、いずれも少数例の臨床効果に関するものであり、血清 VEGF 濃度への影響や再燃率、再燃症例への療法に関して詳細に検討されたものはほとんどない。我々も昨年より重症未熟児網膜症に対する ranibizumab 投与を開始した (近畿大学医学部倫理委員会承認済)。まだ少数例での検討であるが、短期的には bevacizumab とほぼ同等の治療効果が得られるものの、bevacizumab 投与に比し、病状の再燃時期がやや早く、高頻度であったという preliminary な結果を得ている。今回の研究は以上のような背景があり計画したものである。

## 2. 研究の目的

### (1) 重症未熟児網膜症に対する ranibizumab 投与量の検討

既報で使用されている ranibizumab 投与量は成人での投与量の半分 (0.25mg/0.025ml) としたものがほとんどである。おそらく、この量は未熟児網膜症に対する既報での bevacizumab 投与量 (0.625mg/0.25ml) が成人のその半量であることを根拠にしたものと思われる。しかし、この bevacizumab 投与量は未熟児網膜症の眼内に存在する VEGF を中和するのに必要な量の数千倍にあたりと推定されている (Sears JE, Br J Ophthalmol, 2008)。ranibizumab の分子量が bevacizumab の 1/3 程度であることを考慮すると、やはり ranibizumab の 0.25mg という量も必要量を相当超えていると推定される。そこで今回の検討では ranibizumab の投与量を 0.25mg/0.025ml と薬剤を希釈できず投与できる最小量の 0.1mg/0.01ml との 2 群に分けて臨床効果を検討したい。

(2) 投与後の血清中の種々のサイトカインの変動 ranibizumab 投与を行う未熟児網膜症の患児から投与前後に採血を行う。これを種々の新生血管関連タンパクの測定が微量サンプル (12.5 µl) で行える Bio-Plex サスペンションアレイシステム (Bio-Rad 社) を用いて測定し、投与前後の新生血管関連タンパクの変動を比較検討する。主に血管新生に関与する VEGF, angiopoietin-2, follistatin, G-CSF, HGF, IL-8, leptin 等に的を絞って検討する予定である。これによって薬剤間での各タンパクの変動に差があるか、再燃に関与するタンパクがあるか等の検討を行う。

(3) 再燃時期と割合、再燃に関与する因子の検討 ranibizumab 投与を行った症例を経過観察し、再燃する時期と割合を検討する。また、これを 2012 年から 2015 年までに bevacizumab を用いて治療を行った症例 (14 例 26 眼) と比較する。具体的には抗 VEGF 治療後 4 ~ 8 週までは新生児集中治療室 (NICU) あるいは継続保育室 (GCU) で眼所見を定期的に観察する。その後、退院した児に関しては外来で定期的に経過観察を行う。抗 VEGF 治療前後に蛍光眼底撮影を行い、治療効果の判定を行う。必要に応じて再燃の有無も眼底検査だけでなく、蛍光眼底検査にて判断する。また、ranibizumab 投与後に再燃した症例と再燃しなかった症例について出生週数、出

生体重、光凝固の有無、光凝固施行できていない部位 (skip region) の有無、未熟児網膜症発症時期、ranibizumab 投与時の修正週数・体重、全身合併症 (呼吸切迫症候群、脳室内出血、壊死性腸炎など) の有無、程度、ranibizumab 投与量、血清中のサイトカインなどの因子について検討する。

(4) ranibizumab 投与症例の視機能および眼球形態の評価視力測定等の視機能検査が行えるようになるのは概ね3歳以上であり、今回の研究期間内に治療を開始した症例に対して評価が行えるのは少数例になると予想される。そこで、今回の検討では2015年からこれまで ranibizumab を用いて治療を行った症例 (10例20眼) について検討する予定である。また、2012年から2015年までに bevacizumab を用いて治療を行った症例 (14例26眼) についても検討したい。これらの症例の視機能評価 (視力、屈折状態、立体視機能、網膜電図) や形態評価 (光干渉断層計撮影) を行い、抗 VEGF 治療の視機能に与える影響について検討したい。当該分野におけるこの研究 (計画) の学術的な特色・独創的な点及び予想される結果と意義重症未熟児網膜症に対する抗 VEGF 治療に用いる薬剤として ranibizumab は全身への影響、特に血清 VEGF 抑制への懸念から今後、主流となる可能性が高いと考えられる。しかし、これまで至適投与量を検討した報告や、本治療法の長期成績を詳細な視機能評価を含めて検討した報告はない。また、我々が知る限り、抗 VEGF 治療による血清中の血管新生関連サイトカインの解析を行った報告もない。これらの点で本研究は極めて斬新であり、本研究によって多くの新しい有益な知見が得られるものと確信している。

### 3. 研究の方法

#### (1) 重症未熟児網膜症に対する ranibizumab 治療効果の検討

ranibizumab 投与の適応は網膜光凝固の治療時期として推奨されている type 1 網膜症 (ETROP cooperative group, Arch Ophthalmol 2003) あるいはすでに網膜光凝固が行われたが治療に抵抗性であると判断された未熟児網膜症の症例とする。投与量は2つ設定する。すなわち、既報で採用されている 0.25mg/0.025ml 投与に加え、0.1mg/0.01ml 投与を行う。2群への割り付けはランダムに行う。それぞれ12例ずつ投与を行い、投与前、投与1週後、2週後、3週後、4週後、6週後、8週後に眼底検査 (接触式広角デジタル眼底カメラ (RetCam 3) による眼底撮影含む) 前眼部検査 (水晶体血管膜、虹彩新生血管の状態、水晶体の状態) を行う。投与8週以降は4週毎の診察を52週まで続ける。また、投与前、投与1週後には蛍光眼底検査も施行する。投与翌日には眼内炎を含む異常の有無を調べるため前眼部検査を行うが、接触による眼内炎のリスクを考慮し RetCam 3 による眼底撮影は行わないこととする。

#### (2) 再燃時期と割合の検討、再燃に關与する因子の検討

ranibizumab 投与後に前述のスケジュールで経過観察を行い、再燃する時期と割合を検討する。なお、網膜新生血管の再活性化、網膜血管の拡張・蛇行の出現のどちらか、あるいは両者がみられた場合を未熟児網膜症の再燃と定義する。bevacizumab 投与による未熟児網膜症治療の既報 (BEAT-ROP study N Engl J Med, 2011) では投与から平均16週で再燃がみられたと報告されているので、少なくともそれまでの期間は注意深く観察を行う予定である。必要に応じて蛍光眼底撮影を行い、投与後1週の検査結果と比較するなどして、正確な判定を期す予定である。なお、(1)(2)の眼底写真、蛍光眼底撮写真を用いた治療効果、再燃の判定には RetCam 3 を用いて後極部、耳側、上方、鼻側、下方の5枚の撮影を行い、これらをマスクされた検者3名が読影して判定する方法を採る。また、ranibizumab 投与後の再燃例と非再燃例の2つの群間で再燃に有意に関連するものを統計学的に検討する。投与前の因子として出生週数、出生体重、光凝固の有無、光凝固非施行部位 (skip region) の有無、未熟児網膜症発症時期、ranibizumab 投与時の修正週数・体重、全身合併症 (呼吸切迫症候群、脳室内出血、壊死性腸炎など) の有無、程度、ranibizumab 投与量、解析予定の投与前後の血清中のサイトカインについて検討する。多変量解析での検討を計画しているが、統計学的検討にあたっては医療統計学の専門家 (近畿大学臨床研究管理センター) のアドバイスを受けて進める予定である。

### 4. 研究成果

ranibizumab 投与を行った22例43眼では全例で未熟児網膜症の活動性低下がみられたが、20.9%で再燃がみられた。bevacizumab 投与を行った21例37眼では13.5%の再燃率で、ranibizumab 群でやや再燃率がやや高い傾向がみられたが、有意差はなかった ( $P=0.556$ )。投与から再燃までの期間は ranibizumab 群、bevacizumab 群でそれぞれ  $8.3 \pm 5.2$  週、 $7.3 \pm 1.9$  週であり、これに関しても両者で有意差はなかった ( $P=0.947$ )。多重ロジスティック解析で再燃

に関連する因子を検討したが、修正 35 週以下での抗 VEGF 治療 (OR, 7.524; 95% CI, 1.494-37.89; p = 0.014) と病型として aggressive posterior ROP であったこと (OR, 5.532; 95% CI, 1.049-29.17; p = 0.044) の 2 つが有意なリスク因子であった。ranibizumab 投与後の血清 VEG 濃度は投与前に比し、投与翌日、1 週後で有意に低下したが、2 週後には投与前のレベルまで回復した。

< 引用文献 >

- Terry TL. Extreme Prematurity and Fibroblastic Overgrowth of Persistent Vascular Sheath Behind Each Crystalline Lens: I. Preliminary report. *Am J Ophthalmol.* 2018
- Sato T, Kusaka S, Hashida N, Saishin Y, Fujikado T, Tano Y. Comprehensive gene-expression profile in murine oxygen-induced retinopathy. *Br J Ophthalmol.* 2009
- Sato T, Kusaka S, Shimojo H, Fujikado T. Vitreous levels of erythropoietin and vascular endothelial growth factor in eyes with retinopathy of prematurity. *Ophthalmology.* 2009
- Kusaka S, Shima C, Wada K, Arahori H, Shimojyo H, Sato T, Fujikado T. Efficacy of intravitreal injection of bevacizumab for severe retinopathy of prematurity: a pilot study. *Br J Ophthalmol.* 2008
- Mintz-Hittner HA, Kennedy KA, Chuang AZ; BEAT-ROP Cooperative Group. Efficacy of intravitreal bevacizumab for stage 3+ retinopathy of prematurity. *N Engl J Med.* 2011
- Sato T, Wada K, Arahori H, Kuno N, Imoto K, Iwahashi-Shima C, Kusaka S. Serum concentrations of bevacizumab (avastin) and vascular endothelial growth factor in infants with retinopathy of prematurity. *Am J Ophthalmol.* 2012
- Wu WC, Lien R, Liao PJ, Wang NK, Chen YP, Chao AN, Chen KJ, Chen TL, Hwang YS, Lai CC. Serum levels of vascular endothelial growth factor and related factors after intravitreal bevacizumab injection for retinopathy of prematurity. *JAMA Ophthalmol.* 2015
- Castellanos MA, Schwartz S, García-Aguirre G, Quiroz-Mercado H. Short-term outcome after intravitreal ranibizumab injections for the treatment of retinopathy of prematurity. *Br J Ophthalmol.* 2013
- Sears JE. Anti-vascular endothelial growth factor and retinopathy of prematurity. *Br J Ophthalmol.* 2008

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Iwata Akiko, Kusaka Shunji, Ishimaru Mayumi, Kondo Hiroyuki, Kuniyoshi Kazuki	4. 巻 15
2. 論文標題 Early vitrectomy to reverse macular dragging in a one-month-old boy with familial exudative vitreoretinopathy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 American Journal of Ophthalmology Case Reports	6. 最初と最後の頁 100493 ~ 100493
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ajoc.2019.100493	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 Kondo H, Oku K, Katagiri S, Hayashi T, Nakano T, Iwata A, Kuniyoshi K, Kusaka S, Hiyoshi A, Uchio E, Kondo M, Oishi N, Kameya S, Mizota A, Naoi N, Ueno S, Terasaki H, Morimoto T, Iwaki M, Yoshitake K, Iejima D, Fujinami K, Tsunoda K, Shinoda K, Iwata T.	4. 巻 6
2. 論文標題 Novel mutations in the RS1 gene in Japanese patients with X-linked congenital retinoschisis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Human Genome Variation	6. 最初と最後の頁 3 ~ 3
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41439-018-0034-6	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 Fukushima Yoko, Fujino Takahiro, Kusaka Shunji, Hatsukawa Yoshikazu, Nishida Kohji	4. 巻 11
2. 論文標題 Favorable outcomes of adequate laser photocoagulation and salvage bevacizumab treatment for aggressive posterior retinopathy of prematurity	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 American Journal of Ophthalmology Case Reports	6. 最初と最後の頁 66 ~ 71
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.1016/j.ajoc.2018.05.006">https://doi.org/10.1016/j.ajoc.2018.05.006</a>	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 Kondo Hiroyuki, Uchio Eiichi, Kusaka Shunji, Higasa Koichiro	4. 巻 39 (3)
2. 論文標題 Risk allele of the FZD4 gene for familial exudative vitreoretinopathy	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Ophthalmic Genetics	6. 最初と最後の頁 405 ~ 406
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.1080/13816810.2017.1401090">https://doi.org/10.1080/13816810.2017.1401090</a>	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 Matsushita Itsuka, Nagata Tatsuo, Hayashi Takaaki, Kimoto Kenichi, Kubota Toshiaki, Ohji Masahito, Kusaka Shunji, Kondo Hiroyuki	4. 巻 124(6)
2. 論文標題 Foveal Hypoplasia in Patients with Stickler Syndrome	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Ophthalmology	6. 最初と最後の頁 896 ~ 902
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.opthta.2017.01.046	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 Kusaka Shunji	4. 巻 8(4)
2. 論文標題 Current concepts and techniques of vitrectomy for retinopathy of prematurity	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Taiwan Journal of Ophthalmology	6. 最初と最後の頁 216 ~ 221
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4103/tjo.tjo_102_18	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 Kusaka Shunji	4. 巻 7(3)
2. 論文標題 Surgical Management of Coats Disease	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Asia-Pacific Journal of Ophthalmology	6. 最初と最後の頁 156 ~ 159
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.22608/APO.201867	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 Kusaka Shunji	4. 巻 10
2. 論文標題 Vitrectomy for Retinopathy of Prematurity.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Turkiye Klinikeri Journal of Ophthalmology	6. 最初と最後の頁 134 ~ 138
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 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 Kusaka S, Spandau U, Tomic Z, Ruize-Casas D (Eds.)	4. 巻 Springer
2. 論文標題 PVR Detachment :My Surgical Approach.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Retinal Detachment Surgery and Proliferative Vitreoretinopathy: From Scleral Buckling to Small Gauge Vitrectomy. U, Tomic Z, Ruize-Casas D (Eds.) Springer	6. 最初と最後の頁 269 ~ 273
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 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 1件 / うち国際学会 7件)

1. 発表者名 Shunji Kusaka
2. 発表標題 Intravitreal ranibizumab: serum VEGF concentration change and recurrence rate (as compared with bevacizumab)
3. 学会等名 Vietnam ROP Workshop
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shunji Kusaka
2. 発表標題 Intravitreal ranibizumab: serum VEGF concentration change and recurrence rate (as compared with bevacizumab)
3. 学会等名 Vietnam ROP Workshop (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shunji Kusaka
2. 発表標題 Surgical Intervention in ROP: Indications and Outcomes
3. 学会等名 The 11th APVRS/Congress of APVRS 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Shunji Kusaka
2. 発表標題 Current treatment for complex retinal detachment
3. 学会等名 2019 Sino-Japan Ocular Fundus Disease Forum (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shunji Kusaka
2. 発表標題 Surgery for Congenital X-linked Retinoschisi. In Pediatric Panel on June 27.
3. 学会等名 19th European Vitreoretinal Society Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shunji Kusaka
2. 発表標題 Instructional Course: Vitrectomy and/or Anti-VEGF for ROP (presentation on Sep. 7)
3. 学会等名 19th Euretina Congress (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shunji Kusaka
2. 発表標題 Instructional Course: Surgical Treatment of Coats Disease (presentation on Sep. 7)
3. 学会等名 19th Euretina Congress (国際学会)
4. 発表年 2019年



1. 発表者名 Shunji Kusaka
2. 発表標題 Invited lecture: Vitrectomy for ROP
3. 学会等名 2019 Korean Retina Society Annual Meeting (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019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	國吉 一樹  (KUNIYOSHI Kazuki)  (30234470)	近畿大学・医学部・准教授    (34419)	
研究分担者	杉岡 孝二  (SUGIOKA Koji)  (50399119)	近畿大学・大学病院・准教授    (34419)	