

令和 5 年 6 月 16 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K18826

研究課題名（和文）脈絡膜血管新生における線維芽細胞増殖因子9の関与

研究課題名（英文）Involvement of Fibroblast Growth Factor 9 in Choroidal Neovascularization

研究代表者

董 震宇（DONG, ZHENYU）

北海道大学・大学病院・特任助教

研究者番号：00443945

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：申請者は本研究で線維芽細胞増殖因子(fibroblast growth factors, FGF)9が加齢黄斑変性（AMD）における脈絡膜血管新生（CNV）において血管新生促進因子として作用すること、FGF9がAMDにおいて新規の治療ターゲットとなりうることを示した。またその血管新生促進作用が直接血管内皮細胞に作用しない経路による可能性も示唆した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年抗血管内皮増殖因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)療法がCNVの治療成績を劇的に向上させたが、病変の再発が避けられず、頻回の通院・治療を要し、経済的にも身体的にも患者側の大きな負担となっている。さらに、抗VEGF療法抵抗性をしめす症例の存在も報告され、抗VEGF療法の限界も徐々に明らかになった。本研究によりFGF9がVEGF非依存的にCNVを抑制する治療ターゲットとなりうる事が明らかになり新たな創薬につながる可能性があると考えられ、さらにVEGFに依存しない抗血管新生の研究が活性化され、本邦の医療水準の向上に貢献することが期待される。

研究成果の概要（英文）：In this study, we indicated FGF9 might function as pro-angiogenic factor during the course of CNV formation in AMD. Our results also suggested FGF9 might prompt neovascularization in the way which does not directly target vascular endothelial cells.

研究分野：眼科学

キーワード：FGF9 neovascularization

## 1. 研究開始当初の背景

滲出型加齢黄斑変性(age-related macular degeneration、AMD)は脈絡膜新生血管(choroidal neovascularization、CNV)により網膜下出血と吸収を繰り返し、最終的に失明にいたる疾患である。本邦は高齢化に伴いAMDの患者が年々増加し、今や大きな社会問題になっている。近年血管内皮増殖因子(vascular endothelial growth factor、VEGF)がCNVの病態における中心的な責任因子であることが明らかになるにつれて、各種抗VEGF療法が臨床応用され、CNVに対する治療成績を劇的に向上させた。しかし、現在の抗VEGF療法では病変の再発が避けられず、頻回の通院・治療を要し、経済的にも身体的にも患者側の大きな負担となっている。さらに、抗VEGF療法抵抗性をしめず症例の存在も報告され、抗VEGF療法の限界も徐々に明らかになった。そのため、CNV形成におけるVEGF非依存性の経路を明らかにし、新規治療ターゲットを探索することが現在眼科における急務である。

線維芽細胞増殖因子(fibroblast growth factors、FGF)ファミリーは22のメンバーからなり、ヘパラン硫酸の存在下で細胞表面のFGFレセプター(FGFR)と結合することにより、細胞内シグナル伝達経路を活性化させ、血管新生、損傷治癒、胚発生などにおいて多様な生理活性を有している。従来、血管新生を促進するFGFとしてFGF2などが注目されてきたが、近年FGF9も血管新生を促進するFGFとして注目されるようになってきた。しかしながら、CNVにおけるFGF9の関与は依然不明である。

## 2. 研究の目的

本研究はCNVにおけるFGF9の関与を明らかにし、FGF9をCNV抑制における新たな治療ターゲットとなりうるかを探索することである。

## 3. 研究の方法

レーザー誘導CNVモデルマウスを作成し、レーザー照射直後FGF9と基剤あるいは抗FGF9中和抗体とIgG抗体を硝子体内に注射した。7日後に眼球摘出してフラットマウント標本を作製しCNV面積を測定した。同様にレーザー誘導モデルマウスを作成し、眼球摘出後OCT compoundに包埋し、Cryostatで組織切片を作成してCNVにおける血管内皮細胞、周皮細胞、マクロファージにおけるFGF9発現を免疫染色で調べた。また、血管新生の*ex vivo*モデルであるchoroidal spouting assayを使用し、FGF9による脈絡膜微小血管内皮細胞増殖効果を調べた。さらにタモキシフェン誘導ERCreを利用してFGF9遺伝子を血管内皮細胞において選択的にノックアウトしたFGF9コンディショナルノックアウトマウスを作成し、レーザー照射によりCNVを誘導しCNV面積を測定した。

## 4. 研究成果

FGF9によるCNV血管新生促進を調べる実験では、レーザー誘導CNVモデルマウスにおいて基剤を投与されたコントロール群と比較して、FGF9がCNV形成を促進し、一方抗FGF9中和抗体はIgGを投与されたコントロール群と比較してCNV形成を抑制した。

しかし、Choroidal spouting assayではFGF9による血管新生促進がみられなかった。CNVにおけるFGF9の免疫局在を調べる免疫染色では、血管内皮細胞に免疫局在を認め、周皮細胞やマクロファージにも弱いながらFGF9の免疫局在を認めた(図1)。

さらにFGF9コンディショナルノックアウトマウスではコントロール群と比較して、CNV形成が有意に抑制されたことを確認した。

Choroidal spouting assayではFGF9による血管増殖促進作用がみられなかったが、Choroidal spouting assayでは周皮細胞がほとんど含まれていないと報告されており、また既報ではFGF9が直接血管内皮細胞に作用せず周皮細胞に作用し、あるいは平滑筋細胞を新生血管へ誘導するなど血管の成熟化を介して間接的に血管新生を促進することも報告されていることを考えると矛盾しない結果と考えられる。以上の結果からFGF9がCNVにおける血管新生を促進することが示唆され、CNV治療における新規治療ターゲットとなりうると思われる。

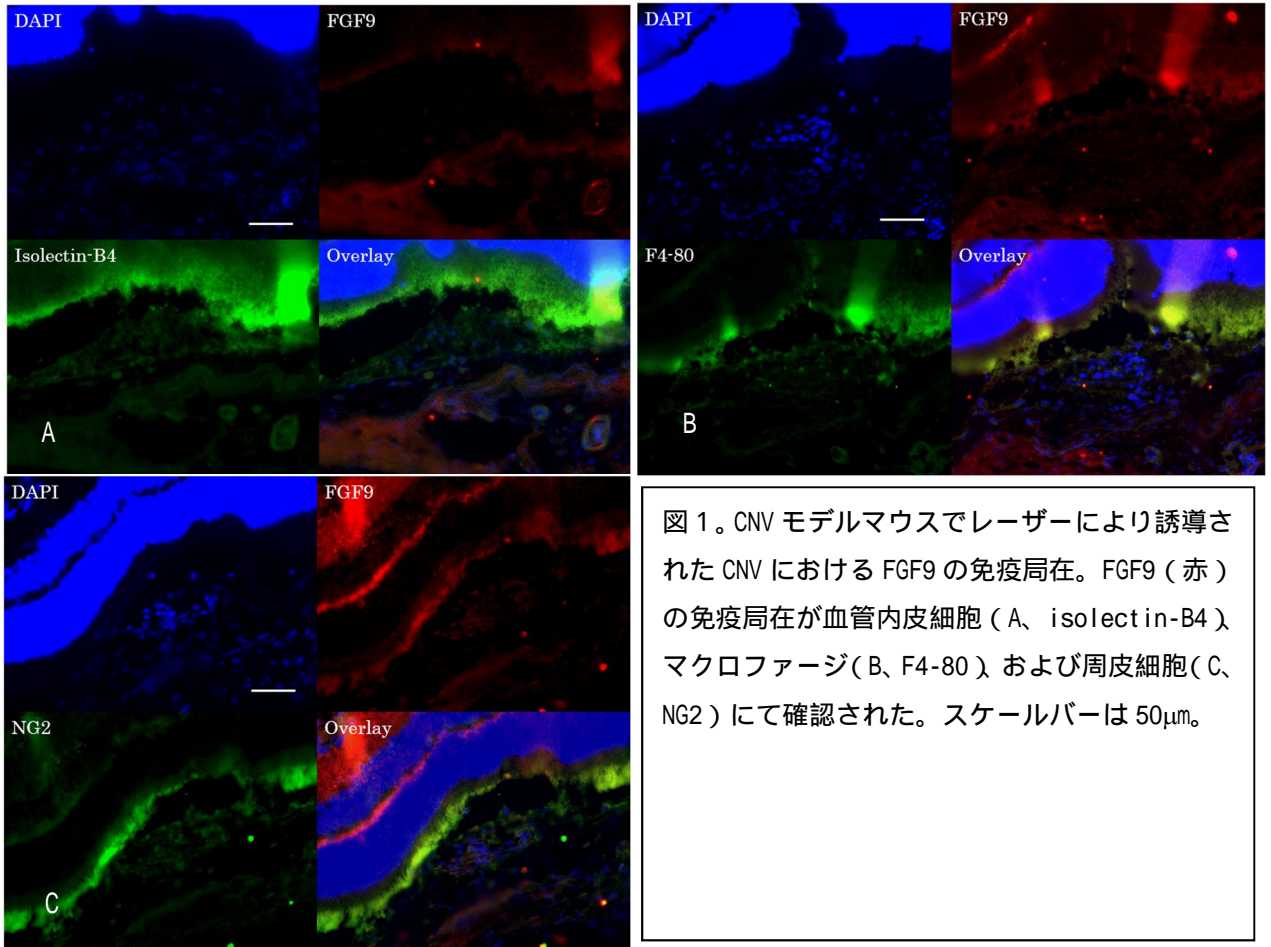


図1。CNV モデルマウスでレーザーにより誘導された CNV における FGF9 の免疫局在。FGF9 (赤) の免疫局在が血管内皮細胞 (A、isolectin-B4)、マクロファージ (B、F4-80) および周皮細胞 (C、NG2) にて確認された。スケールバーは 50 $\mu$ m。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2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 Mitamura Mizuho, Endo Hiroaki, Kase Satoru, Dong Zhenyu, Takahashi Mitsuo, Katsuta Satoshi, Kase Manabu, Ishida Susumu	4. 巻 261
2. 論文標題 Peripapillary circulatory dysfunction precedes structural loss in treatment-naive diabetic retinopathy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology	6. 最初と最後の頁 85～95
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00417-022-05773-9	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 Kikuchi Kasumi, Dong Zhenyu, Shinmei Yasuhiro, Murata Miyuki, Kanda Atsuhiko, Noda Kosuke, Harada Takayuki, Ishida Susumu	4. 巻 2020
2. 論文標題 Cytoprotective Effect of Astaxanthin in a Model of Normal Intraocular Pressure Glaucoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Ophthalmology	6. 最初と最後の頁 1～6
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1155/2020/9539681	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 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Tetsuya Tanimukai, Zhenyu Dong, et al
2. 発表標題 A case of pachychoroid GA induced by brolocizumab administration for PED
3. 学会等名 Fujiretina2023（国際学会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 三田村 瑞穂, 齋藤 理幸, 廣岡 季里子, 大田 翔一郎, 董 震宇, 安藤 亮, 加瀬 諭, 野田 航介, 石田 晋
2. 発表標題 治療抵抗性糖尿病黄斑浮腫の硝子体手術における嚢胞切開併施の有無での治療成績の比較
3. 学会等名 第28回日本糖尿病眼学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 谷向哲矢、董震宇、田中孝幸、齋藤理幸、安藤亮、石田晋
2. 発表標題 プロルシズマブ投与後にpachychoroid GAが誘発されたPEDの一例
3. 学会等名 第61回日本網膜硝子体学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 酒井 正人、董 震宇、谷向 哲矢、七戸 夏子、坂口 貴鋭、高橋 光生、勝田 聡、加瀬 学、石田 晋
2. 発表標題 Posterior polar annular choroidal dystrophyが疑われる1例
3. 学会等名 第60回日本網膜硝子体学会総会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 董 震宇、野田 航介	4. 発行年 2019年
2. 出版社 メディカル葵出版	5. 総ページ数 2
3. 書名 抗VEGF治療セミナー 脈絡膜血管新生に対する抗VEGF製剤の使い分け	

〔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
---------	---------