

令和 4 年 6 月 15 日現在

機関番号：32202
研究種目：若手研究
研究期間：2020～2021
課題番号：20K18356
研究課題名(和文) 糖尿病黄斑浮腫の抗VEGF無効例とステロイド無効例の判別およびそれぞれの病態解明

研究課題名(英文) Discrimination of anti-VEGF drug ineffective cases and steroid treatment ineffective cases of diabetic macular edema and elucidation of pathophysiology

研究代表者
坂本 晋一 (Sakamoto, Shinichi)

自治医科大学・医学部・助教

研究者番号：30721071
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：糖尿病黄斑浮腫(DME)は糖尿病網膜症が比較的軽い時期にも合併し視力低下を来す。炎症及び血管内皮増殖因子(VEGF)が関与し、ステロイドあるいは抗VEGF薬の硝子体内注射が行われる。しかし、一方のみ有効な症例が多く存在し、治療前にその判別はできない。本研究においてDME治療前眼房水中の各種サイトカイン濃度を測定し、治療反応性との関連を検討した。その結果、治療前の眼房水中のGM-CSFが高く、CXCL1が低いとステロイド治療方が抗VEGF薬と比較して治療効果が高い可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

糖尿病網膜症は本邦の後天性失明原因第一位である。糖尿病黄斑浮腫(DME)は糖尿病網膜症が比較的軽い時期にも合併し視力低下を来す。炎症及び血管内皮増殖因子(VEGF)が関与し、ステロイドあるいは抗VEGF薬の硝子体内注射で治療するが、そのどちらが有効か治療前に判別困難であった。本研究の結果、DME治療前に眼房水を採取してサイトカイン濃度測定を行うことで、眼房水中のGM-CSFが高く、CXCL1が低いとステロイド治療方が抗VEGF薬と比較して治療効果が高いと考えられ、有効な治療選択の一助になると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Diabetic macular edema (DME) is a disease that is associated with diabetic retinopathy even when it is relatively mild, resulting in decreased visual acuity. Inflammation and vascular endothelial growth factor (VEGF) are involved, and topical steroid administration or intravitreal injection of anti-VEGF drugs is performed. However, there are many cases in which only one treatment is effective, and it is not possible to distinguish between them before treatment. In this study, we measured the concentrations of various cytokines in the aqueous humor of the eye before DME treatment and investigated the relationship with treatment responsiveness. As a result, when GM-CSF was high and CXCL1 was low in the aqueous humor of the eye before treatment, it was shown that steroid treatment may be more effective than anti-VEGF drugs.

研究分野：網膜硝子体

キーワード：糖尿病黄斑浮腫 サイトカイン 眼房水 ステロイド 抗VEGF薬

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

糖尿病網膜症は本邦の後天性失明原因第一位である。糖尿病黄斑浮腫(DME)は糖尿病網膜症が比較的軽い時期にも合併し視力低下を来す。

DMEには炎症の関与が知られており、ステロイドの局所投与により抑制されることが報告されている。また、虚血に伴う VEGF の亢進も関与することが知られており、抗 VEGF 薬の硝子体内注射でも抑制されることが報告されている。

抗 VEGF 療法が有効である疾患として加齢黄斑変性と網膜静脈閉塞があるが、ステロイドの有効性が低く相対的に炎症の関与が弱いと考えられる。糖尿病は慢性炎症の関与が知られ DME も炎症の関与が高く、ステロイドの有効性が高い。しかし症例によってステロイド無効例と抗 VEGF 薬無効例があることが臨床的に知られている。それぞれの症例は VEGF が主要因の症例と、炎症が主要因の症例と考えられるが、事前に分からないため、過剰治療となりうる同時治療を行わない限り、効く方の治療が数週間遅れる可能性が高いことが問題である。

糖尿病黄斑浮腫(DME)の前房水中に増加するサイトカインとして、IL-1, IL-6, IL-8, MCP-1, IP-10, VEGF, ICAM-1, MMP-1, MMP-9, DKK-3 が報告されており、減少するサイトカインとして IL-10, IL-12 が報告されている。また、抗 VEGF 治療にて減少するサイトカインとして VEGF, APN が知られており、ステロイド治療にて減少するサイトカインとして IL-6, IP-10, MCP-1, PDGF-AA, VEGF が知られている。

しかし、DME におけるステロイド・抗 VEGF 薬それぞれの無効例でのサイトカインプロファイルの差異は分かっておらず、治療前にどちらの治療が有効かその判別はできていない。

2. 研究の目的

DME のステロイド・抗 VEGF それぞれの無効例の病態を明らかにして、治療前にその判別を可能にすることと、抗 VEGF 無効例に対する特異的新規治療標的を発見する事が目的である。

3. 研究の方法

糖尿病黄斑浮腫(DME)の患者でトリアムシノロンテノン嚢下注射(STTA)治療と抗 VEGF 薬硝子体内注射の両治療を施行した患者を抽出し、最終治療から2か月以上経過した、いずれかの治療前に前房水を採取した。前房水の採取は注射直前に約 0.2 ml を採取し、すぐに滅菌チューブに移し必要となるまで -80 で保存した。それぞれの治療後1か月後の中心窩網膜厚(CMT)を光干渉断層計(OCT)で測定した。STTA による CMT 菲薄化が大きかった群を STTA 有効群、抗 VEGF 薬による CMT 菲薄化が大きかった群を抗 VEGF 薬有効群として比較検討を行った。

測定したサイトカインや制御因子は以下の24種類である。

CCL2/MCP-1, CCL7/MCP-3, CCL11/Eotaxin, CXCL1/GRO, CXCL8/IL-8, CXCL10/IP-10, CXCL12/SDF-1, CXCL13/BLC/BCA-1, IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-12 p70, IL-15, G-CSF, GM-CSF, M-CSF, Galectin-1, MMP-1, MMP-9, TNF-, IFN-, PDGF-AA, VEGF-A
(CCL: C-C motif chemokine ligand, MCP: monocyte chemoattractant protein, CXCL: C-X-C motif chemokine ligand, GRO: growth regulated protein, IL: interleukin, IP: interferon-induced protein, SDF: stromal cell-derived factor, BLC: B lymphocyte chemoattractant, BCA: B cell-attracting chemokine, G-CSF: granulocyte colony stimulating factor, GM-CSF: granulocyte macrophage CSF, M-CSF: macrophage CSF, MMP: matrix metalloproteinase, TNF: tumor necrosis factor, IFN: interferon, PDGF: platelet derived growth factor, VEGF: vascular endothelial growth factor)

各種サイトカインを Multiplex cytokine assay にて測定し、サイトカイン濃度は対数変換して t 検定を行った。統計解析は JMP Pro software version 15 (SAS Institute, Cary, NC, USA) を用いた。

4. 研究成果

対象となった28例28眼の眼房水検体で網羅的サイトカイン濃度測定を実施した。28例のうち男性が11例、女性が17例で年齢は 62.4 ± 11 歳であった。患者背景を表1に示す。

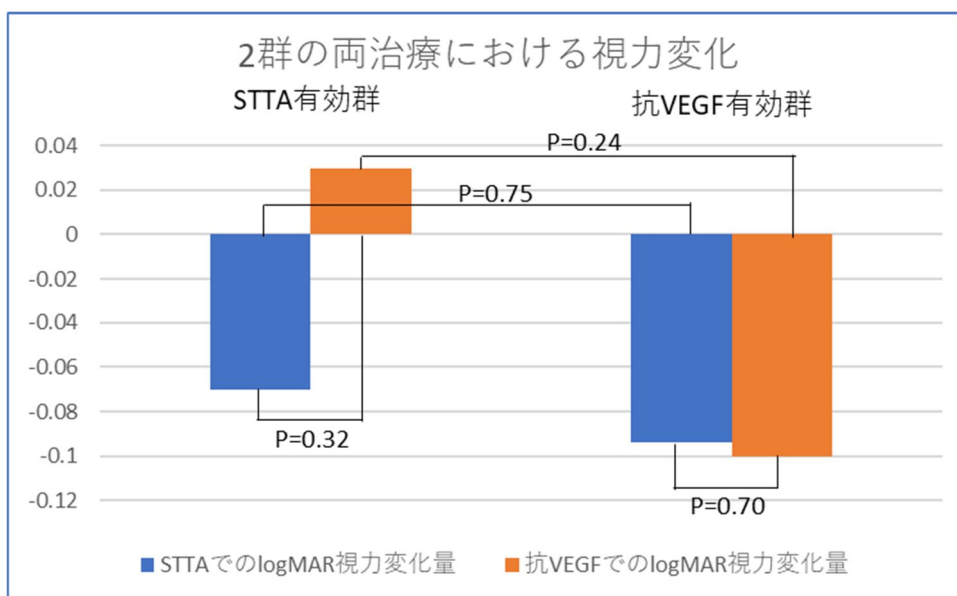
STTA 有効群が12例で、抗 VEGF 有効群が16例であった。STTA 有効群は治療前視力がやや良く、CMT は低値だったが、有意差は認めなかった。

表 1

	n	男性	PVD	年齢 (才)	眼軸長 (mm)	矯正視力 (logMAR)	CMT (μm)
STTA有効群	12	3 (25)	あり 5 なし 1 不明 6	63 (10.6)	23.5 (1.0)	0.30 (0.18)	460 (130)
抗VEGF有効群	16	8 (50)	あり 3 なし 5 不明 8	62 (12.0)	23.2 (0.89)	0.53 (0.42)	579 (150)
p値(t検定)		0.18	0.086	0.83	0.40	0.079	0.056
		例(%)		平均(標準偏差)			

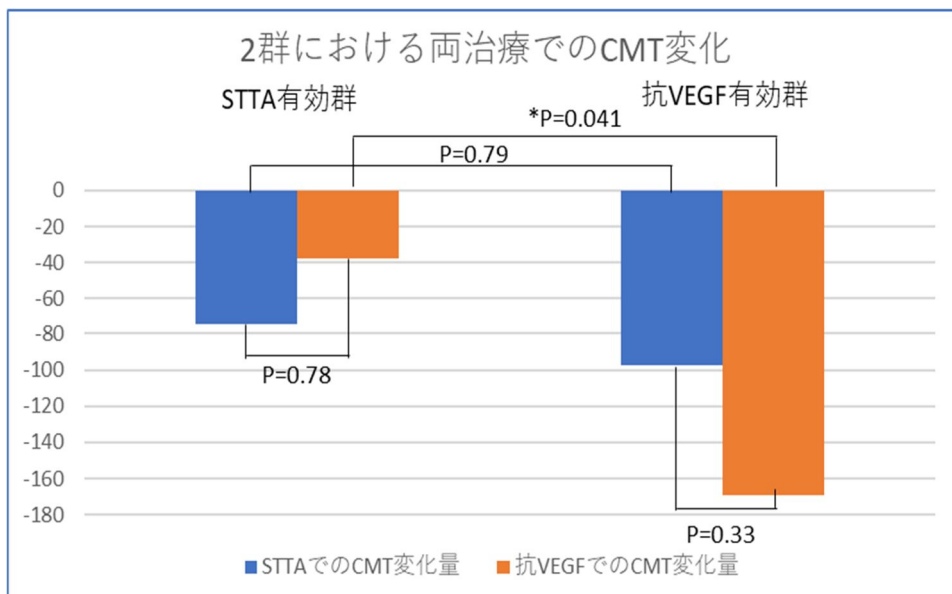
2群間の両治療における視力変化を図1に示す。STTA有効群における抗VEGF治療でのみ視力は悪化したが、その他では治療で視力の改善を示していた。各群間に有意差は認めなかった。

図 1



2群間の両治療におけるCMT変化を図2に示す。各群で治療によりCMTは改善を示していた。STTA有効群ではSTTAでのCMT変化量が抗VEGF薬と比べ、大きくなるものの有意差はなかった。また同様に抗VEGF有効群では抗VEGF療法でのCMT変化量がSTTAと比べ抗VEGF薬で大きくなるものの有意差は認めなかった。STTA治療によるCMT変化量は各群間に有意差はなかったが、抗VEGF薬では抗VEGF薬有効群で有意にCMTが改善していた。

図 2



2群間のサイトカイン濃度を図3および図4に示す。STTA有効群と抗VEGF有効群で有意差のついたサイトカインはなかった。そのうち比較的p値が低かったものを図3に示す。GM-CSF・MCP-1・CXCL12ではSTTA有効群で高めの傾向、IL-1・PDGF-AA・VEGFはVEGF有効群で高めの傾向であった。

図3

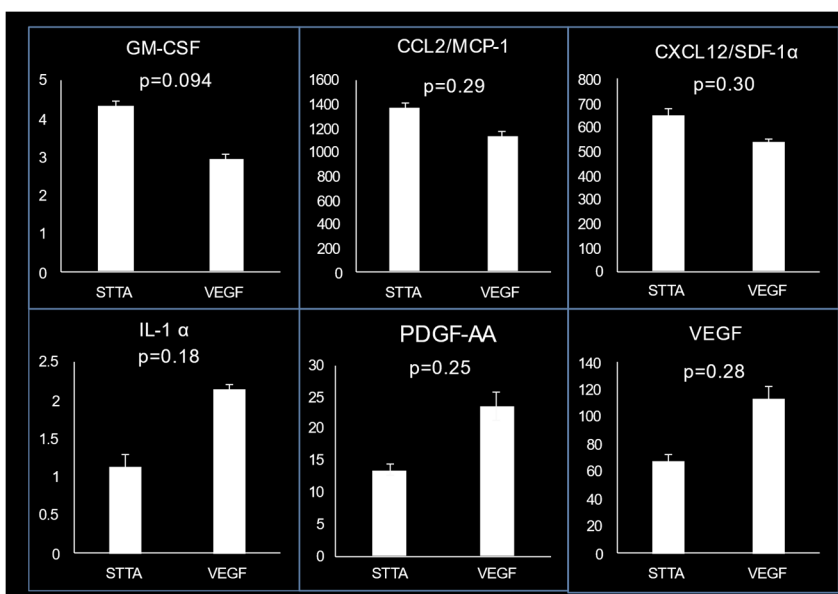
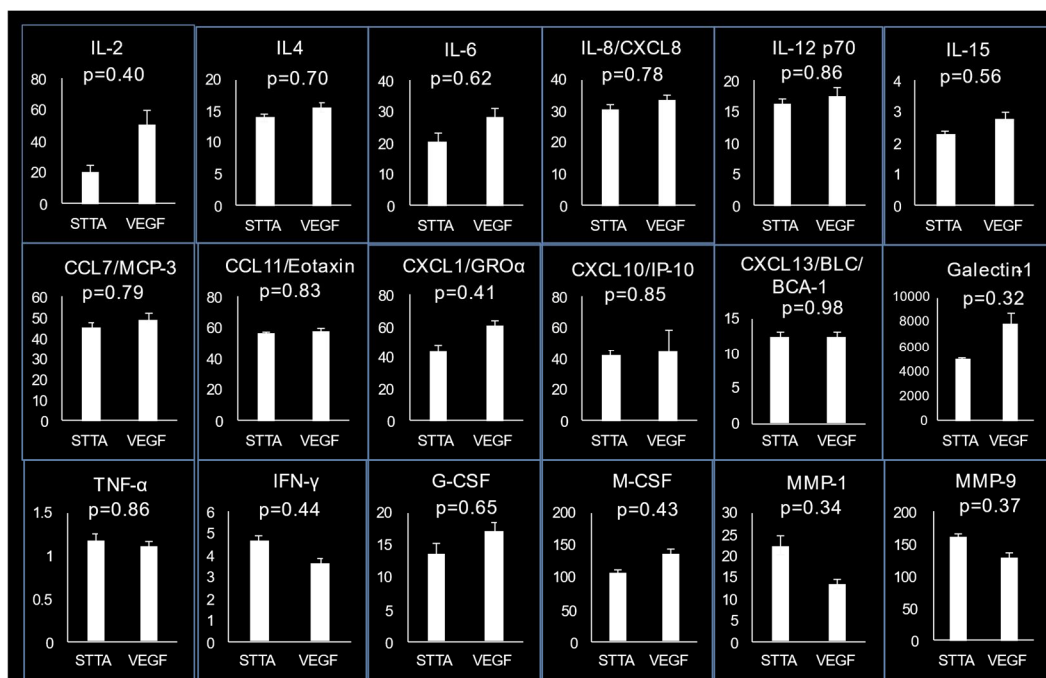


図4



STTA 有効を目的変数とした名義ロジスティック解析を行ったところ、CXCL1(p=0.037)、GM-CSF (p = 0.012)が有意な変数として選択され、予測モデルのROC 曲線におけるAUCは0.86であった。GM-CSFが高く、CXCL1が低いとSTTAの方で治療効果が高い結果であった。

今回の研究の限界として、サンプルサイズが小さいことや前房水の採取時期の統一がされていないことなどが考えられた。引き続き、前房水の採取を継続して、サンプルサイズを拡大して検討を行っていく。また、初期治療患者から検体を収集し、治療前の前房水サンプルでの検討を行いサイトカインプロファイルの差異があるか検討を行い、DMEのステロイド・抗VEGFそれぞれの無効例の病態を明らかにしていきたいと考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kimura Natsuka, Takahashi Hidenori, Sakamoto Shinichi, Yanagi Yasuo, Maeshima Nozomi, Minamimoto Ayaka, Iwamoto Noriko, Shimada Takashi, Nagai Ryoza, Aizawa Kenichi	4. 巻 11
2. 論文標題 Microvolume Analysis of Aflibercept in Aqueous Humor Using Mass Spectrometry	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Translational Vision Science & Technology	6. 最初と最後の頁 7~7
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1167/tvst.11.6.7	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2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 橋本悠人、伊野田悟、高橋秀徳、吉田花、高橋良太、坂本晋一、新井悠介、川島秀俊、柳靖雄
2. 発表標題 プロルシズマブ切替後内眼炎の投与前前房水中タンパク質濃度プロファイル
3. 学会等名 第125回日本眼科学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 坂本晋一、長岡広祐、高橋秀徳、新井悠介、伊野田悟、間山千尋、柳靖雄、川島秀俊
2. 発表標題 糖尿病黄斑浮腫に対する薬物療法の前房水中サイトカインの検討
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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------