

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 2 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25861617

研究課題名(和文) 増殖糖尿病網膜症の病態解明と分子メカニズムの解析

研究課題名(英文) Analysis of pathogenesis and molecular mechanisms of proliferative diabetic retinopathy

研究代表者

白矢 智靖 (Shiraya, Tomoyasu)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：60572394

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)：血管内皮増殖因子(vascular endothelial growth factor:VEGF)は増殖糖尿病網膜症への進展において重要なサイトカインのひとつである。本研究では黄斑部浮腫に着目し、抗VEGF薬の硝子体内注射を施行した患者の前房水を採取し、投与前後において前房水中のVEGF濃度および各炎症性サイトカインの変動と、黄斑部浮腫の形態を光干渉断層計を用いた画像診断により評価した。ある特定のサイトカインが上昇している場合に抗VEGF薬によって効果的に黄斑浮腫を軽減させる結果が示された。

研究成果の概要(英文)：Vascular endothelial growth factor (VEGF) is one of the most important angiogenic factors that is involved in the induce proliferative diabetic retinopathy. The present study focused on the diabetic macular edema (DME) and evaluated changes in aqueous inflammatory cytokines and VEGF levels after intravitreal injection of anti-VEGF agent against patients with DME. A form of macular edema was measured by optical coherence tomography. This study showed that anti-VEGF agent improved the macular edema effectively when a particular cytokine increased.

研究分野：糖尿病網膜症

キーワード：糖尿病網膜症 糖尿病黄斑浮腫 血管内皮増殖因子 サイトカイン

1. 研究開始当初の背景

(1) 糖尿病網膜症の増悪因子としては血糖コントロールの他に罹患期間、年齢、他の全身疾患の既往などが関係しており、眼局所の因子としては網膜虚血の程度や硝子体の性状、個人差など多岐にわたり関係する。糖尿病網膜症の主な病態は浮腫・虚血・血管新生の3つがあり、各病態は臨床病期の単純期・前増殖期・増殖期に対応している。単純期は眼底にしみ状の出血や血管外への脂質の漏出のみであり、視力は正常に維持されるものの、さらに進展していくと網膜血管からの血管透過性がさらに亢進し、糖尿病黄斑浮腫を発症して、視力低下の原因となる。特に増殖期の新生血管に続発する増殖膜による牽引性網膜剥離、さらに血管新生緑内障は網膜光凝固術や硝子体手術が進歩した現在においても難治病態であることは間違いない。

(2) 近年、糖尿病網膜症の進展および増悪について VEGF (vascular endothelial growth factor: 血管内皮増殖因子) および各種サイトカインが注目されている。これまで加齢黄斑変性症の治療薬として広く普及していた抗 VEGF 薬が糖尿病網膜症に合併する糖尿病黄斑浮腫の治療として認可され、この治療法が選択肢のひとつとなった。このことにより、糖尿病網膜症の治療は従来の網膜光凝固術、ステロイドの眼局所投与、硝子体手術に加え、抗 VEGF 薬の硝子体内投与が加わった。

(3) 抗 VEGF 薬による治療が可能となり、治療選択の幅は広がったものの、通常この薬剤は効果持続期間が短く、導入期においては複数回の注射が推奨されている。硝子体注射は比較的簡便な処置であるものの、感染のリスクや、複数回施行するにつれ、患者の精神的負担も大きくなることは否めない。効率よく治療を行うには、抗 VEGF 薬の特性を把握することが非常に重要と考えられる。

糖尿病黄斑浮腫による視力が低下した患者の眼内 VEGF 濃度を評価すること、さらにこの他に多種のサイトカインから糖尿病黄斑浮腫の改善に結びつくものが見出せれば、早期に適切な治療方法を選択することができるように考えた。

2. 研究の目的

(1) VEGF は糖尿病網膜症の進展において重要なサイトカインのひとつであることはすでに疑いの余地はないが、VEGF を含む各種サイトカイン濃度を網羅的に測定し、糖尿病網膜症を増悪させる因子を分子レベルで病態解明することが目的である。さらに、本研究では糖尿病網膜症における視力低下の主な原因のひとつである黄斑部浮腫に着目し、黄斑部浮腫に対する治療薬としての眼科用 VEGF 阻害剤の硝子体内注射の前後で変動するサイトカインを解析し、浮腫の形態から薬剤効果を検討する。

(2) 糖尿病黄斑浮腫を生じている患者へ抗 VEGF 薬を投与した際に得られる前房水を用いて VEGF 濃度やその他黄斑浮腫を引き起こす関連サイトカイン濃度を測定、評価する。

3. 研究の方法

(1) 糖尿病黄斑浮腫を合併した糖尿病網膜症患者に対して抗 VEGF 薬を施行した患者の前房水を最大で 0.2ml 程度採取する。前房水で検討、評価を行う根拠としては前房と硝子体とは靭帯や水晶体で隔てられているものの、一部は交通しており、硝子体-前房水はほぼ同等の組成と考えられているため、実際に硝子体中から採取するよりも簡便で効率的な採取方法であると考えた。前房水の採取にあたっては特に複雑な行程はなく、1cc シリンジ付きの 30G 鋭針で針先を虹彩や水晶体に接触しないように角膜輪部からアプローチし、前房へ進め、前房水をシリンジ内へ吸引するのみである。

(2) 今回の対象については、当科で糖尿病

網膜症のため加療を行っている症例のうち、抗 VEGF 薬の硝子体内注射の適応となる糖尿病黄斑浮腫を有する症例である。

この糖尿病黄斑浮腫を有する対象症例について抗 VEGF 薬の注射を行う。この際 1 回目の抗 VEGF 薬注射時、その 1 ヶ月後に 2 回目の硝子体内注射を行う際とで合計 2 回において、眼圧補正によって得られた前房水を解析する（倫理委員会承認済）。

この得られたサンプルのうち、解析可能であった 13 眼からの抗 VEGF 薬注射 1 回目および同眼 2 回目の前房水のサンプルで解析を行った。サンプルについて VEGF 量の他に、過去の知見を含め、黄斑浮腫に影響すると予測される炎症性サイトカインにおいて、マルチプレックスサスペンションアレイにより有意に上昇している各炎症性サイトカインを検出し、VEGF 以外の各種サイトカインの眼内濃度の測定を網羅的に行った。今回検索したサイトカイン EGF,FGF-2,Eotaxin, TGF- α , G-CSF, Flt-3L, GM-CSF, Fractalkine, IFN α 2, IFF γ , GRO, IL-10, MCP-3, IL-12P40, MDC, IL-12p70, IL-13, IL-15, IL-17A, IL-1RA, IL-1 α , IL-9, IL-18, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IP-10, MCP-1, MIP-1 α , MIP-1 β , TNF α , TNF β , VEGF についての 37 種類である。

これらの各種サイトカインの中で、11 種類について抗 VEGF 薬治療前後のサイトカイン量の評価が可能であった。

抗 VEGF 薬の効果については、投与前後の視力変化の他に、光干渉断層計での計測を行った。抗 VEGF 薬による黄斑浮腫改善を判断するうえで、光干渉断層計での評価は必須であり、黄斑部浮腫の形態評価についてはこの装置を用いて行った。今回は視力に直結する中心窩での評価のほか、map モードによる撮影を行い、黄斑部について中心窩を含む直径 1mm, 3mm, 6mm の円周上から計 8 ヶ所の領域に分け、これらの各領域の平均

網膜厚で検討を行った。

①黄斑浮腫の形態としてはびまん性浮腫と嚢胞様浮腫に大別されるが、今回の症例についても光干渉断層計によって分類し、中心にある領域を基準としてすべての領域が $\pm 30\%$ 以内に入る場合をびまん性と定義して、この 2 群において抗 VEGF 薬によって網膜厚の変化率に差が生じるかを検討した。

②治療効果と今回得られた各種サイトカインに関する検討項目としては、初回注射時に治療前として得られた前房水の各種サイトカイン濃度および各領域における黄斑浮腫に対する効果の相関関係を求めた。

③初回注射時および 2 回目注射時に得られた前房水サイトカイン濃度の変化と、VEGF 阻害剤が黄斑浮腫に与える効果について相関関係を求めた。

4. 研究成果

(1) これまでの研究の成果としては、13 眼から得られたサンプルを用いて、抗 VEGF 薬注射 1 回目および同眼 2 回目について解析を行った。

糖尿病網膜症に合併する黄斑浮腫 37 種の各サイトカインについて評価を行い、これらの中から 11 種類の有用なサイトカインについて検討を行った。

①黄斑浮腫の形態および定義したものからびまん性浮腫と嚢胞様浮腫に分類したものを、この 2 群において抗 VEGF 薬の効果に差が出るかを検定したが、今回の症例では有意な差は得られなかった。

②初回注射時に治療前として得られた前房水の各種サイトカイン濃度および各領域における黄斑浮腫に対する効果の相関関係については、特定のサイトカインが上昇している場合に抗 VEGF 薬によって効果的に黄斑浮腫を軽減させることが分かった。

③また、初回注射時および 2 回目注射時に得られた前房水サイトカイン濃度の変化と、抗 VEGF 薬が黄斑浮腫に与える効果について

て相関関係を求め、黄斑浮腫が改善された場合に特定のサイトカインが有意に影響を受けている結果が示された。

(2) 今後は本研究をさらに発展、充実させ、より臨床の場で応用できる形にしたいと考えている。今回は主として視力と光干渉断層計による黄斑形態で評価を行っていたが、これに加えて今回治療を行った症例についての血糖および全身コントロールの状態、さらに糖尿病網膜症の程度について個体差を含めて検討する。この新たに加えた検討項目についても結果をまとめ、学会発表および論文執筆を行う予定である。

5. 主な発表論文等

記載事項なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

白矢 智靖 (SHIRAYA, Tomoyasu)
東京大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：60572394

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

加藤 聡 (KATO, Satoshi)
東京大学・医学部附属病院・准教授
研究者番号：20214372

荒木 章之 (ARAKI, Fumiyuki)
東京大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：20724652