

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 8 日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462654

研究課題名(和文) 未熟児網膜症におけるperiostinの役割と2種の抗血管内皮増殖因子治療の検討

研究課題名(英文) The role of periostin in the pathogenesis of retinopathy of prematurity (ROP) and the effect of 2 anti-vascular endothelial growth factors in the treatment of ROP

研究代表者

日下 俊次 (KUSAKA, Shunji)

近畿大学・医学部附属病院・教授

研究者番号：60260387

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：重症未熟児網膜症に対してranibizumab(0.25mg)を硝子体内投与し、その効果、再燃割合、血清中血管内皮増殖因子(VEGF)への影響を14例27眼で検討した。投与後2、3日以内に全例で網膜血管の拡張蛇行の改善、水晶体血管膜の退縮、増殖膜白鞘化が認められ、治療効果があったと判定された。7眼に治療後平均7.3週で再燃が認められた。投与前の血清VEGF濃度に比し、投与翌日のそれのみ有意に減少したが、投与1、2、4週後では有意差を認めず、ranibizumabの血清VEGF濃度抑制効果は一過性であると思われた。

研究成果の概要(英文)：Intravitreal injection of ranibizumab (IVR) was performed in 27 eyes of 14 patients with severe retinopathy of prematurity (ROP). In each eye, improvement of vascular dilatation and tortuosity, regression of tunica vasculosa lentis, and/or whitening of fibrovascular membranes was observed. Thus, IVR seemed to be effective in reducing disease activity in all eyes. However, reactivation was seen in 7 eyes at 7.3 weeks (mean) after IVR. Suppression of serum vascular endothelial growth factor was observed only at one day, but not 1, 2, and 4 weeks after IVR, compared with that of pre-IVR.

研究分野：未熟児網膜症

キーワード：未熟児網膜症 抗血管内皮増殖因子(VEGF)抗体 Periostin 硝子体

## 1. 研究開始当初の背景

未熟児網膜症は1942年に初めて報告されたが、70年以上を経た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、障害科学研究 31, 91-104, 2007)。高濃度酸素投与を避けることで60年代には未熟児網膜症患者数は激減した。しかし、周産期医学の進歩によってより低体重の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ている。特に日本では低出生体重児の絶対数、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)未熟性が極めて強い眼に発症する重症未熟児網膜症が増加している。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深く関与するものとして血管内皮増殖因子(VEGF)が挙げられる。我々は以前、未熟児網膜症のモデルマウス(酸素誘導網膜症マウス)を用いて包括的遺伝子プロファイル解析を行い、VEGFが種々のサイトカインの中でも網膜症の程度と最も強く相関していることを報告した(Sato T, Kusaka S, et al. Br J Ophthalmol 2009; 93:96-103)。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; 116: 1599-603)も示した。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治療が有効であることが報告されている(Kusaka S, et al. Br J Ophthalmol 2008; 92: 1450-5. Mintz-Hittner HA, et al. N Eng J M 2011 17; 364(7): 603-615。)。しかし、抗VEGF治療を行うと増殖膜の線維化による収縮により牽引性網膜剥離が悪化する問題がある(Kusaka S, et al. Br J Ophthalmol 2008; 92:1450-5。)ため、抗VEGF治療に加えて、増殖膜線維化を抑制する治療法の開発も必要である。Periostinは分泌型細胞外マトリックスでフィブロネクチン、コラーゲンタイプIとV、ヘパリンなどと相互に作用し、骨、歯、心臓弁などの発生、アトピー性皮膚炎の遷延化に重要な役割を果たしていることが知られている。最近、糖尿病網膜症の増殖膜形成にperiostinが強く関与していることが報告(Yoshida S, et al. Invest Ophthalmol Vis Sci 2011; 52: 5670-8。)され、眼内血管新生への関与が注目されている。我々の予備的検討でも未熟児網膜症の硝子体液中periostin濃度が高いことが明らかとなっている。今回の研究でperiostinの未熟児網膜症病態への関与を明らかにしたい。また、未熟児網膜症にbevacizumabを用いると、我々が示した通り、血清中VEGF濃

度が少なくとも2週間は低下する(Sato T, et al. Am J Ophthalmol 2012; 153(2): 327-333)ため、全身への影響が懸念される。これに対し、加齢黄斑変性などにすでに臨床使用されているranibizumabでは血清VEGF濃度低下作用が軽微であることが報告されている(IVAN Study, Ophthalmology 2012; 119(7): 1399-411。)。したがって、もし未熟児網膜症に対する両者の効果が同等なら、全身への影響を考慮し、ranibizumabを用いる方が良いのではないかと思われるが、未熟児網膜症に対するranibizumabの効果、眼局所、全身への影響を検証した報告はほとんどない。

## 2. 研究の目的

未熟児網膜症の新しい治療として眼内に抗血管内皮増殖因子(VEGF)抗体を投与する治療法が広まりつつあるが、本治療には増殖膜の収縮で病態が悪化する症例があるなどの欠点がある。これはVEGF以外にも未熟児網膜症の病態、特に増殖膜収縮に関与する病態の解明とその対策が不十分なことによる。今回、我々は増殖糖尿病網膜症の増殖膜に関与することが最近明らかにされたperiostinに着目し、未熟児網膜症の病態、特に増殖膜の収縮への関与について検討したい。また、全身への影響が懸念されるbevacizumabに代わり、ranibizumabを用いることで全身への影響、特に血清VEGF濃度への影響を軽減できるかどうかとも検討したい。

## 3. 研究の方法

(1)未熟児網膜症患者の硝子体中および増殖膜におけるperiostin発現の検討  
硝子体手術中に採取された硝子体液中のperiostin濃度を測定する。また、同時にVEGF, TGF

、bFGFの濃度測定も行う。手術時に採取された増殖膜では前記の因子の発現を免疫組織化学的手法にて検討する。

(2)未熟児網膜症に対するranibizumab, bevacizumab硝子体内投与の治療効果、薬物動態の検討

重症未熟児網膜症に対してbevacizumabあるいはranibizumab投与を行い、その治療効果、投与前後の両薬物の血清中の濃度、血清中VEGF濃度を経時的に検討する。

## 4. 研究成果

光凝固治療が必要なtype1未熟児網膜症に対してranibizumabを硝子体内投与し、その治療効果、再燃の割合、血清中の血管内皮増殖因子(VEGF)への影響を14例27眼で検討した。患者の平均出生週数±標準偏差は

24.8±2.0 週、同体重は 684.3±223.7g であった。前医で光凝固治療を受けたが、病状が進行したもの（光凝固抵抗性）が 23 眼、光凝固治療が水晶体血管膜によって困難と判断されたものが 4 眼であった。全眼に ranibizumab 0.25mg を投与した。その結果、投与後 2、3 日以内に全例で網膜血管の拡張蛇行の改善、水晶体血管膜の退縮、増殖膜白鞘化が認められ、治療効果があったと判定された。治療後、7 眼で 7.3±2.0 週で再燃が認められ、光凝固あるいは抗 VEGF 治療のいずれかを要した。投与前の血清 VEGF 濃度に比し、投与翌日のそれは有意に減少したが、投与後 1、2、4 週の血清 VEGF 濃度は投与前の値と有意差を認めなかった。

ranibizumab によって未熟児網膜症の病勢は抑えることが可能であるが、投与後 7 週程で再燃する症例が 25% 程あることに注意を要すると思われた。また、ranibizumab の血清 VEGF 濃度に与える影響は一過性で、投与後 1 週ではその抑制効果は消失していると考えられた。

#### 5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計 8 件）

1. Matsushita I, Nagata T, Hayashi T, Kimoto K, Kubota T, Ohji M, Kusaka S, Kondo H. Foveal hypoplasia in patients with Stickler syndrome. *Ophthalmology* 2017 Mar 7. pii: S0161-6420(16)32453-8. DOI: 10.1016/j.ophtha.2017.01.046. (査読有)
2. Hotta F, Eguchi H, Nishimura K, Kogiso M, Ishimaru M, Kusaka S, Shimomura Y and Yaguchi T. A super-infection in the cornea caused by *Stemphylium*, *Acremonium*, and *-Streptococcus*. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2017 Mar 9;16 (1):11. DOI: 10.1186/s12941-017-0187-z. (査読有)
3. Yonekawa Y, Wu WC, Kusaka S, Robinson J, Tsujioka D, Kang KB, Shapiro MJ, Padhi TR, Jain L, Sears JE, Kuriyan AE, Berrocal AM, Quiram PA, Gerber AE, Paul Chan RV, Jonas KE, Wong SC, Patel CK, Abbey AM, Spencer R, Blair MP, Chang EY, Papakostas TD, Vavvas DG, Sisk RA, Ferrone PJ, Henderson RH, Olsen KR, Hartnett ME, Chau FY, Mukai S, Murray TG, Thomas BJ, Meza PA, Dreenser KA, Trese MT, Capone A Jr. Immediate Sequential Bilateral Pediatric Vitreoretinal Surgery: An International Multicenter Study. *Ophthalmology.* 2016 Aug;123 (8) :1802-8. DOI: 10.1016/j.ophtha.2016.04.033. (査読有)
4. Eguchi H, Kusaka S, Arimura-Koike E, Tachibana K, Tsujioka D, Fukuda M, Shimomura Y. Intraoperative optical coherence tomography (RESCAN® 700) for detecting iris incarceration and iridocorneal adhesion during keratoplasty. *Int Ophthalmol.* 2016 Aug 11. [Epub ahead of print] DOI: 10.1007/s10792-016-0322-4. (査読有)
5. Kuniyoshi K, Sakuramoto H, Sugioka K, Matsumoto C, Kusaka S, Shimomura Y. Long-lasting, dense scotoma under light-adapted conditions in patient with multiple evanescent white dot syndrome. *Int Ophthalmol.* 2016 Aug; 36 (4) :601-5. DOI:10.1007/s10792-015-0163-6. (査読有)
6. Kondo H, Matsushita I, Nagata T, Hayashi T, Kakinoki M, Uchio E, Kondo M, Ohji M, Kusaka S. Novel mutations in the COL2A1 gene in Japanese patients with Stickler syndrome. *Hum Genome Var.* 2016 Jul 7;3:16018. DOI: 10.1038/hgv.2016.18. (査読有)

7. Kondo H, Matsushita I, Tahira T, Uchio E, Kusaka S. Mutations in ATOH7 gene in patients with nonsyndromic congenital retinal nonattachment and familial exudative vitreoretinopathy. *Ophthalmic Genetics*. 2016 Dec;37(4):462-464. Epub 2016 Mar 2. DOI: 10.3109/13816810.2015.1120316. (査読有)
8. Imaizumi A, Kusaka S, Takaesu S, Sawaguchi S, Shimomura Y. Subretinal Fluid Drainage and Vitrectomy Are Helpful in Diagnosing and Treating Eyes with Advanced Coats' Disease. *Case Rep Ophthalmol*. 2016 Apr 29;7(1):223-9. DOI: 10.1159/000445795. (査読有)

[学会発表](計 29 件)

1. The 10th Congress of the Asia-Pacific Vitreo-retina Society (Dec 10, 2016, Bangkok, Thailand)  
Shunji Kusaka. Coats Disease in Children—Do We Have Effective Strategies to Improve the Visual Outcome?
2. The 10<sup>th</sup> Congress of the Asia-Pacific Vitreo-retina Society (Dec 9, 2016, Bangkok, Thailand)  
Shunji Kusaka. Surgery for Coats Disease.
3. 第 55 回日本網膜硝子体学会総会 (平成 28 年 12 月 2 日～4 日、ベルサール渋谷ガーデン、東京)  
平木翔子、日下俊次、杉岡孝二、國吉一樹、小西悠平、南方俊祐、和田紀久、松本長太、下村嘉一：重症未熟児網膜症に対する ranibizumab 硝子体内投与
4. 第 55 回日本網膜硝子体学会総会 (平成 28 年 12 月 2 日～4 日、ベルサール渋谷ガーデン、東京)  
辻岡大志、日下俊次、立花都子、初川嘉一、今泉綾子、兒玉達夫、下村嘉一：滲出性網膜剥離を来した Coats 病に対する手術成績
5. 第 70 回日本臨床眼科学会(平成 28 年 11 月 5 日、国立京都国際会館・グランドプリンスホテル京都、京都市)  
杉岡孝二、日下俊次、齋藤昭夫、國吉一樹、下村嘉一：2 次元電気泳動法による未熟児網膜症患者の硝子体中タンパク質のプロテオーム解析
6. 第 70 回日本臨床眼科学会(平成 28 年 11 月 5 日、国立京都国際会館・グランドプリンスホテル京都、京都市)  
松下五佳、永田竜朗、林 孝彰、木許賢一、久保田敏昭、大路正人、日下俊次、近藤寛之：Stickler 症候群では高率に黄斑低形成を合併する
7. 第 70 回日本臨床眼科学会(平成 28 年 11 月 3 日、国立京都国際会館・グランドプリンスホテル京都、京都市)  
西田功一、江口 洋、堀田芙美香、辻岡大志、立花都子、日下俊次、福田昌彦、下村嘉一：無虹彩・無硝子体眼での内皮移植片縫着 DSAEK の早期成績
8. 第 6 回山形眼科フォーラム (平成 28 年 10 月 22 日、山形国際ホテル、山形市)  
特別講演：日下俊次：チャレンジ！小児網膜硝子体疾患
9. American Academy of Ophthalmology (AAO) 2016 (15-18, Oct, 2016, Chicago, USA)

- Matsushita I, Hayashi T, Kimoto K, Kubota T, Ohji M, Kusaka S, Kondo H. Foveal Hypoplasia in Patients with Stickler Syndrome.
10. 16th Euretina Congress ( Sep 8-11, 2016, Copenhagen, Kingdom of Denmark )  
Shunji Kusaka, Kuniko Tachibana, Yoshikazu Shimomura. New device to prevent moisture condensation on non-contact wide-field viewing system.
  11. The Second International Pediatric Vitreoretinal Diseases Summit Forum (6 Aug. 2016, Shanghai, China)  
Shunji Kusaka. How to Deal with FEVR.
  12. The Second International Pediatric Vitreoretinal Diseases Summit Forum (6 Aug. 2016, Shanghai, China)  
Shunji Kusaka. Lens Clarity after Lens-sparing Vitrectomy for ROP.
  13. The Second International Pediatric Vitreoretinal Diseases Summit Forum (5 Aug. 2016, Shanghai, China)  
Shunji Kusaka. Ultra-Wide Field FA by Orel Fluorescein Administration in Pediatric Patients.
  14. The Second International Pediatric Vitreoretinal Diseases Summit Forum (5 Aug. 2016, Shanghai, China)  
Shunji Kusaka. Intraoperative OCT Findings in Pediatric VR Surgry.
  15. 第41回日本小児眼科学会総会 第72回日本弱視斜視学会総会 (平成28年6月24日~25日、パシフィコ横浜、横浜市)  
辻岡大志、日下俊次、國吉一樹、杉岡孝
- 二、下村嘉一：小児網膜疾患に対する両眼同日手術
16. 第41回日本小児眼科学会総会 第72回日本弱視斜視学会総会 (平成28年6月24日、パシフィコ横浜、横浜市)  
立花都子、日下俊次、阿部孝助、辻岡大志、小池英子、江口 洋、下村嘉一：小児白内障に対するトーリック眼内レンズ挿入眼の術後視機能
  17. 第41回日本小児眼科学会総会 第72回日本弱視斜視学会総会 (平成28年6月24日、パシフィコ横浜、横浜市)  
教育セミナー：日下俊次：眼底検査
  18. 13th International Congress of the Middle East Africa Council of Ophthalmology (8 May, 2016, Manama, Bahrain)  
Shunji Kusaka: ROP Treatment
  19. The Annual Meeting of the Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO) 2016(1-5 May, 2016, Seattle, USA)  
Kondo H, Uchio E, Hayashi T, Nishina S, Azuma N, Kusaka S. Roles of Genes in Phenotypic Diversity and Intraocular Asymmetry in Patients with Familial Exudative Vitreoretinopathy.
  20. 第65回愛媛県眼科集談会 (平成28年4月24日、愛媛県医師会館、松山市)  
特別講演：日下俊次：難治性網膜硝子体疾患の治療
  21. 3rd Intra-Operative OCT Science Day (16, April, 2016, Paris, France)  
Shunji Kusaka: Intra-operative OCT in

- Various Complex Vitreous Surgery
22. 第 120 回日本眼科学会総会 (平成 28 年 4 月 10 日、仙台国際センター・東北大学百周年記念会館、仙台市)  
日下俊次: 小児裂孔原性網膜剥離
23. 第 120 回日本眼科学会総会 (平成 28 年 4 月 8 日、仙台国際センター・東北大学百周年記念会館、仙台市)  
 江口 洋、小池英子、立花都子、辻岡大志、日下俊次、福田昌彦、下村嘉一: 角膜移植術における術中 real-time OCT (RESCAN 700)
24. 第 120 回日本眼科学会総会 (平成 28 年 4 月 7 日、仙台国際センター・東北大学百周年記念会館、仙台市)  
 松下五佳、内尾英一、日下俊次、近藤寛之: 先天性網膜接着不全症候群および FEVR 患者における ATOH7 遺伝子異常
25. 第 120 回日本眼科学会総会 (平成 28 年 4 月 7 日、仙台国際センター・東北大学百周年記念会館、仙台市)  
 立花都子、日下俊次、阿部考助、森本 壮、國吉一樹、杉岡孝二、岩橋千春、不二門尚、下村嘉一: 未熟児網膜症に対する水晶体温存硝子体術後の水晶体透明性
26. Association of Pediatric Retinal Surgeons Meeting 2016 (31 March, 2016, Los Cabos, Mexico)  
Shunji Kusaka: Early Surgical Treatment of FEVR
27. Aasia-Pacific Academy of Ophthalmology Meeting 2016 (26 March, 2016, Taipei, Taiwan)  
Shunji Kusaka: Late Complications of Vitrectomy for ROP
28. Frankfurt Retina Meeting 2016 (19 March, 2016, Frankfurt, Germany)  
Shunji Kusaka: the Congress Centrum
29. Vail Vitrectomy Meeting 2016 (21 February, 2016, Colorado, USA)  
Shunji kusaka: Surgical Results of FEVR
- [図書](計 6 件)
1. 日下俊次、南江堂、未熟児網膜症 眼科疾患 最新の治療、2016-2018、2016 年、2 頁
  2. 日下俊次、メディカル ビュー社、未熟児網膜症 症例から学ぶ 周産期診療ワークブック 改訂第 2 版、2016 年、5 頁
  3. 日下俊次、日本医師会、小児の網膜症 - 未熟児網膜症・白色瞳孔 日本医師会雑誌、2015 年、4 頁
  4. 日下俊次、医学書院、重症未熟児網膜症には光凝固? それとも抗 VEGF 治療? 臨床眼科、2015 年、1 頁
  5. 日下俊次、医学書院、前部増殖硝子体網膜症 網膜剥離と極小切開硝子体手術 眼科臨床エキスパート、2015 年、9 頁
  6. 日下俊次、三輪書店、網膜剥離の管理 小児眼科学、2015 年、7 頁
6. 研究組織
- (1) 研究代表者  
 日下 俊次 (KUSAKA, Shunji)  
 近畿大学 医学部附属病院・教授  
 研究者番号: 60260387
  - (2) 研究分担者  
 國吉 一樹 (KUNIYOSHI, Kazuki)  
 近畿大学 医学部附属病院・講師  
 研究者番号: 30234470  
 杉岡 孝二 (SUGIOKA, Koji)  
 近畿大学 医学部附属病院・講師  
 研究者番号: 50399119
  - (3) 連携研究者  
 なし
  - (4) 研究協力者  
 なし