

全施設にて各群 40 症例数を予定している、この数字については、期間中抗 VEGF 療法の硝子体投与の回数、2 回分の減少を投与回数の標準偏差 3.0 と予測した場合、検出力 80%、有意水準 0.05 のもとで Wilcoxon 順位検定にて検出できる症例数である。

当施設の目標はしたがって A*0201 群、A*2402 群それぞれ、40 例とするが共同研究施設を合わせて 40 に到達した時点でエントリー中止とすることができる。また、本施設において 1 群が 40 に到達したのちでも他群が到達するまでエントリー可能とする。

方法

文章にて同意取得後、HLA のタイピングのにより、患者を A*2402 群、A*0201 群、コントロール群に振り分ける。全患者に対して通常の抗 VEGF 薬ルセンティスの硝子体投与を 1 カ月ごと 3 回行う。A*2402、A0201 群に対してはこれと同時に、ペプチドそれぞれを 1mg づつをそれぞれ不完全フロイントアジュバント 1mL と混合し、患者腋下またはソケイ部の皮下に投与するペプチド療法を開始する。ペプチドを投与間隔は 2 週間ごとにおこなう。(詳細は実施計画書に記載) 繰り返しとなるが、行われる抗 VEGF 療法は通常の臨床で行われるものと変わりがなく、これにより患者は不利益を得ない設計になっている。

評価

有用性の評価

評価は、少なくともペプチドを 12 回投与(6 観察単位 (月) 終了)した患者を対象とする。

A*2402 群、A*0201 群、において、CTL が導入されたことが期待できる 3 観察単位 (月) 後から全行程終了までのルセンティス投与回数を記録し、12 観察単位 (1 年) 当たりの投与回数を記録する。対照群においても導入療法終了後からのルセンティス当初回数を記録し、1 年あたりの投与回数を記録する。ただし、ルセンティス投与が必要と判断されたにもかかわらず、患者が以後のルセンティス投与を希望しなかった場合、投与回数 1 回を記録し、以後の検討は行わないものとする。各群におけるルセンティス投与回数の差を統計学的に検討する。

安全性評価

安全性についてはワクチンを 1 回でも投与した患者を対象とする。

有害事象の有無と程度を National Cancer Institute-Common Toxicity Criteria,(NCI-CTC) (日本語訳 JCOG 版) version4 を基準に判定

C) する。また、関連性の推測も同時に行う。試験中、最終投与後 14 日以内に Grade4 以上の有害事象及び死亡、生命の危機、永久的な後遺症の発生が予想される重篤な有害事象が生じた際、責任医師あ

るいは副責任医師は、その事象の治療関連行為との関連性の有無の判定に関わらず、できるだけ速やかに、倫理委員会（委員長）に報告する。

免疫学的評価

本臨床試験の secondary endpoints の一つであり、ワクチン療法後でペプチド特異的免疫反応が惹起できるかどうかを検討する。少なくともワクチンを 3 観察単位（3 か月）投与した患者を対象とする。

ペプチド刺激による in vitro CTL 誘導能

末梢血単核球をワクチンしたペプチドにて 5 回刺激し、IFN- γ 産生能を ELISA にて測定する。観察項目として、1. ワクチン前後での IFN- γ 産生量・産生比の変化、2. CTL 前駆体の変化を解析する。HLA Tetramer による TCR の量的解析

ワクチン前後における CD8 陽性分画でのペンタマーによる CTL の量的解析を行う。

その他の免疫反応

上記で IFN- γ 産生を認めた細胞から CTL ラインを樹立する。

臨床的有効性の評価

これを行うための眼科学的検査には、矯正視力、精密眼底検査、眼底写真、蛍光眼底造影検査（フルオレスセイン、インドシアニングリーン）、光干渉断層計（OCT）が含まれる。これらは、新生血管

黄斑症の経過観察において本院で通常行われている検査である。

黄斑部の滲出性病変の変化および解剖学的変化

少なくとも本プロトコールで定める 1 コースを終了した患者が対象となる。眼底写真および、蛍光眼底造影検査、光干渉断層計（OCT）により判定する。

視力変化

試験前後の視力変化を検討する。

試験の完了、評価可能症例、試験中止基準

この試験は、各群共同研究施設を含め 160 例の評価可能症例を得た際に完了となる。評価可能症例とは、1 コース終了した症例、及び、1 コース終了前にワクチン投与に関連すると推定される有害事象により試験を中止した症例と、定義する。ただし、ワクチン投与に関連すると推定される有害事象が 2 例に認められた時点で試験は中止となる。

ヘルシンキ宣言、ICH-GCP ガイドラインにより、被験者はいついかなる時でも、いかなる理由であっても、以降の医療処置等に影響を与えることなく自由意思で試験を中止する権利を有する。中止した場合においても被験者への安全性の配慮から出来るだけ長期間観察し、少なくとも 30 日に 1 回の間隔で観察する。観察期間の画像診断も同様の間隔で施行する。

ワクチン投与の継続

有効性評価により患者の利益となる判定が得られた場合、患者の希望があれば、責任医師の判断によりその患者に対してさらなるコースを繰り返し実施しても良い。

D) 研究結果

新生血管黄斑症に対する VEGFR を標的とした HLA 拘束性エピトープペプチドによる維持療法第 II 相臨床試験を本学医学部付属病院臨床試験部にプロトコールの倫理承認の承認を得たうえで、予定通り患者に公開を開始した。

E) 考察

血管新生黄斑症の一つである加齢黄斑変性は先進諸国に多い難病である特定疾患で、本邦における高齢化、西欧化の影響で増加の一途をたどっている。この疾患に対しても有効治療が限られているが、その他の血管新生黄斑症においては罹病数も少なく、治療法についても未知である。また、これらは若年者に発症し進行すれば急激に社会的失明にいたることより、就労人口の低下、および、介護必要性の増加等より厚生労働問題において負の影響をきたす。これは本邦のみではなく西欧先進国においては共通の問題であり、この疾患に関する関心は非常に高い。よって、新規治療法の開発は臨床上の急務である。

類縁疾患である加齢黄斑変性に効果をもとめる抗 VEGF 療法等はこれらの疾患に対してもある程度の

効果が報告されているが、加齢黄斑変性に対してと同様、その効果は限定されたものである。また、これら治療薬は血管新生黄斑症に対しては保険が認められていないにもかかわらず、非常に高価である。本年認可されたルセンチス硝子体注は一回の薬価が 18 万円に相当し、長年に亘る繰り返しの投与が奨励されている。上記疾患の中には、網膜色素線条、網膜内血管増殖等、加齢黄斑変性に比しても明らかに再発率が高い疾患も含まれ、治療効果の面だけでなく、経済学的状況からも治療における抗 VEGF 療法のみでの解決は難しい。また、抗 VEGF 療法は知財を海外企業が有し、高齢化社会を迎えつつある本邦の医療経済において、医療費高騰による保険料負担増のみならず、海外へ資産流出は看過できない問題である。

以上より、新規治療の開発は国外で多く進められているが、やはり、VEGF を対象としたものが多く、

(可溶化レセプターや siRNA による発現抑制) VEGFR を対象とするものも、レセプター以下のシグナル抑制剤 (PKC 阻害) などであり、本療法のように理論的に VEGFR を発現する新生血管内非細胞を除去できるような治療ではない。本研究により、従来の治療が無効であった症例にも治癒の可能性が開けるだけでなく、眼科的に危険性の高い硝子体注入を回避し、安全な

治療法が確立されるのは、大きな意義を持つ。安価で副作用が少なく効果的な薬を、日本で開発することは、日本だけでなく世界の医療経済に大きく貢献するものと考ええる。

F) 健康危険情報
なし

G) 研究発表

(ア)論文発表

1. Yasuo Tano and Masahito Ohji, on behalf of the EXTEND-I Study Group. EXTEND-I: safety and efficacy of ranibizumab in Japanese patients with subfoveal choroidal neovascularisation secondary to age-related macular degeneration. *Acta Ophthalmologica* 2010 May;88(3):309-16.

2. Masanori Mizote, Tetsuya Baba, Kazuyuki Hirooka, Hidetaka Yamaji, Fumio Shiraga. Vascular endothelial growth factor concentrations in aqueous humor before and after subconjunctival injection of bevacizumab for neovascular glaucoma. *Jpn J Ophthalmol* 2010 May;54(3):242-4.

3. Kouki Fukuda, Kazuyuki Hirooka, Masanori Mizote, Takehiro Nakamura, Toshifumi Itano, Fumio Shiraga.

Neuroprotection Against Retinal Ischemia-Reperfusion Injury by Blocking the Angiotensin II Type 1 Receptor. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010 Jul;51(7):3629-38..

4. Hidetaka Yamaji, Fumio Shiraga, Chieko Shiragami, Hiroyuki Nomoto, Tomonori Fujita, and Kouki Fukuda
Reduction in dosage of intravitreal bevacizumab before vitrectomy for proliferative diabetic retinopathy. *Arch Ophthalmol* 2011; 129(1):106-107.

5. Yasuo Tano and Masahito Ohji on behalf of the EXTEND-I Study Group. Long-term efficacy and safety of ranibizumab administered pro re nata in Japanese patients with neovascular age-related macular degeneration in the EXTEND-I study. *Acta Ophthalmologica* in pres

(イ)学会発表

第 64 回日本臨床眼科学会
(2010年11月11日神戸)

H) 知的財産権の出願・登録状況
なし

I) 参考文献
なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

分担研究報告

血管新生黄斑症に対するペプチドワクチン療法に関する研究

分担研究者 高橋 寛二
関西医科大学医学部眼科学教室 教授

【研究要旨】

血管新生黄斑症は黄斑部網膜下に脈絡膜新生血管の発生とそれに伴う浸出性の変化により、視細胞を中心とした網膜神経細胞が非可逆的に障害され高度の視力低下をきたす疾患群である。中でも加齢黄斑変性はわが国において患者数が急増し中途失明者の原因疾患の上位を占めるに至って早急な対策が望まれる。その他、近視性脈絡膜新生血管および特発性脈絡膜新生血管も黄斑下の脈絡膜血管新生により同様の視機能障害を来す。これらに対する標準療法としては現在のところ、抗 VEGF 療法が行われている。抗 VEGF 療法には本学で高度先進医療として行っている Bevacizumab と昨年市販された Rabinizumab (商品名ルセンチス) がある。しかし、抗 VEGF 薬は 2 年間に約 10 回の硝子体投与が必要であり、これが患者の身体的、経済的負担となっている。(硝子体投与においては一定の頻度での発生が避けられず、失明も十分に考えられる眼内感染といった重篤な眼合併症が存在する。) 我々は「新生血管黄斑症に対する VEGFR を標的とした HLA 拘束性エピトープペプチドによる維持療法第 II 相臨床試験」を本研究の内容として企画している。本試験は通常の抗 VEGF 薬による導入のうち、VEGFR1 もしくは VEGFR2 由来の HLA 拘束性エピトープペプチドを Incomplete Freund's Adjuvant (IFA) と混和して患者皮下に投与し、病的血管新生の阻害による浸出性変化の軽快を期待するペプチドワクチン療法を行うことにより、以後維持期に必要な抗 VEGF 薬の硝子体投与の回数を減らすことを目的とした試験である。本試験において使用するペプチドワクチン療法を用いた第 I 相試験 (従来療法無効例に対するもの、大阪大学にて施行) において、16 例の症例に投与したが重篤な副作用を認めず、また、視力維持に関しては従来療法よりも有効性があると考えられた。現在、この「新生血管黄斑症に対する VEGFR を標的とした HLA 拘束性エピトープペプチドによる維持療法第 II 相臨床試験」について倫理委員会の承認を得たうえ、予定通り患者に公開を開始した。

A) 研究目的

新生血管黄斑症に対する VEGFR を標的とした HLA 拘束性エピトープペプチドによる維持療法第 II 相臨床試験をおこなうこと。

本臨床試験は加齢黄斑変性において標準療法となりつつある抗 VEGF 療法の欠点を補完することを目的として Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 1 (VEGFR1) および Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2 (VEGFR2/KDR) 由来の HLA-A*0201 拘束性もしくは HLA-A*2402 拘束性エピトープペプチドを Incomplete Freund's Adjuvant (IFA) と混和して患者皮下に投与し、必要とされる抗 VEGF 療法の治療回数を軽減させ、ペプチドワクチンの有用性を検証する事を主目的とした第 II 相臨床試験である。

副次目的として、安全性の再確認、網膜の解剖学的、機能的変化、免疫学的変化を評価する。なお、本臨床試験は東京大学医科学研究所ヒトゲノム解析センター、滋賀医科大学医学部眼科、香川大学医学部眼科、関西医科大学医学部眼科、大阪大学医学部眼科との共同研究で実施する。

目的及び評価項目

主要目的 (primary endpoint)

有用性

必要であった抗 VEGF 療

法の回数の検討。

副次的目的 (secondary endpoints)

安全性

臨床検査値異常変動を含むすべての有害事象

免疫反応

ペプチド刺激による in vitro CTL 誘導能

HLA Tetramer による TCR の量的解析

臨床的有効性

Fluorescent Angiograph による滲出性の変化、視力変化、光干渉断層計による網膜の解剖学的変化、有害事象

を検討する。

B) 研究方法

新生血管黄斑症に対する VEGFR を標的とした HLA 拘束性エピトープペプチドによる維持療法第 II 相臨床試験の概要は以下のとおりである。

対象

新生血管黄斑症で今後、標準的な抗 VEGF 療法の硝子体注による導入療法と維持療法が必要である患者。

同意取得時の年齢が 40 歳以上 85 歳以下。

新生血管について何らかの治療を受けている場合、もしくは他の疾患により何らかの手術を受けている場合は、これら処置による影響から回復していること。もしくは、前治療から 4 週間以上が経過していること。

全施設にて各群 40 症例数を予定している、この数字については、期間中抗 VEGF 療法の硝子体投与の回数、2 回分の減少を投与回数の標準偏差 3.0 と予測した場合、検出力 80%、有意水準 0.05 のもとで Wilcoxon 順位検定にて検出できる症例数である。

当施設の目標はしたがって A*0201 群、A*2402 群それぞれ、40 例とするが共同研究施設を合わせて 40 に到達した時点でエントリー中止とすることができる。また、本施設において 1 群が 40 に到達したのちでも他群が到達するまでエントリー可能とする。

方法

文章にて同意取得後、HLA のタイピングのにより、患者を A*2402 群、A*0201 群、コントロール群に振り分ける。全患者に対して通常の抗 VEGF 薬ルセンティスの硝子体投与を 1 カ月ごと 3 回行う。A*2402, A0201 群に対してはこれと同時に、ペプチドそれぞれを 1mg づつをそれぞれ不完全フロイントアジュバント 1mL と混合し、患者腋下またはソケイ部の皮下に投与するペプチド療法を開始する。ペプチドを投与間隔は 2 週間ごとにおこなう。(詳細は実施計画書に記載) 繰り返しとなるが、行われる抗 VEGF 療法は通常の臨床で行われるものと変わりがなく、これにより患者は不利益を得ない設計になっている。

評価

有用性の評価

評価は、少なくともペプチドを 12 回投与(6 観察単位 (月) 終了)した患者を対象とする。

A*2402 群、A*0201 群、において、CTL が導入されたことが期待できる 3 観察単位 (月) 後から全行程終了までのルセンティス投与回数を記録し、12 観察単位 (1 年) 当たりの投与回数を記録する。対照群においても導入療法終了後からのルセンティス当初回数を記録し、1 年あたりの投与回数を記録する。ただし、ルセンティス投与が必要と判断されたにもかかわらず、患者が以後のルセンティス投与を希望しなかった場合、投与回数 1 回を記録し、以後の検討は行わないものとする。各群におけるルセンティス投与回数の差を統計学的に検討する。

安全性評価

安全性についてはワクチンを 1 回でも投与した患者を対象とする。有害事象の有無と程度を National Cancer Institute-Common Toxicity Criteria,(NCI-CTC) (日本語訳 JCOG 版) version4 を基準に判定する。また、関連性の推測も同時に行う。試験中、最終投与後 14 日以内に Grade4 以上の有害事象及び死亡、生命の危機、永久的な後遺症の発生が予想される重篤な有害事象が生じた際、責任医師あ

るいは副責任医師は、その事象の治療関連行為との関連性の有無の判定に関わらず、できるだけ速やかに、倫理委員会（委員長）に報告する。

免疫学的評価

本臨床試験の secondary endpoints の一つであり、ワクチン療法後でペプチド特異的免疫反応が惹起できるかどうかを検討する。少なくともワクチンを 3 観察単位（3 か月）投与した患者を対象とする。

ペプチド刺激による in vitro CTL 誘導能

末梢血単核球をワクチンしたペプチドにて 5 回刺激し、IFN- γ 産生能を ELISA にて測定する。観察項目として、1. ワクチン前後での IFN- γ 産生量・産生比の変化、2. CTL 前駆体の変化を解析する。HLA Tetramer による TCR の量的解析

ワクチン前後における CD8 陽性分画でのペンタマーによる CTL の量的解析を行う。

その他の免疫反応

上記で IFN- γ 産生を認めた細胞から CTL ラインを樹立する。

臨床的有効性の評価

これを行うための眼科学的検査には、矯正視力、精密眼底検査、眼底写真、蛍光眼底造影検査（フルオレスセイン、インドシアニングリーン）、光干渉断層計（OCT）が含まれる。これらは、新生血管

黄斑症の経過観察において本院で通常行われている検査である。

黄斑部の滲出性病変の変化および解剖学的変化

少なくとも本プロトコールで定める 1 コースを終了した患者が対象となる。眼底写真および、蛍光眼底造影検査、光干渉断層計（OCT）により判定する。

視力変化

試験前後の視力変化を検討する。

試験の完了、評価可能症例、試験中止基準

この試験は、各群共同研究施設を含め 160 例の評価可能症例を得た際に完了となる。評価可能症例とは、1 コース終了した症例、及び、1 コース終了前にワクチン投与に関連すると推定される有害事象により試験を中止した症例と、定義する。ただし、ワクチン投与に関連すると推定される有害事象が 2 例に認められた時点で試験は中止となる。

ヘルシンキ宣言、ICH-GCP ガイドラインにより、被試験者はいついかなる時でも、いかなる理由であっても、以降の医療処置等に影響を与えることなく自由意思で試験を中止する権利を有する。中止した場合においても被験者への安全性の配慮から出来るだけ長期間観察し、少なくとも 30 日に 1 回の間隔で観察する。観察期間の画像診断も同様の間隔で施行する。

ワクチン投与の継続

有効性評価により患者の利益となる判定が得られた場合、患者の希望があれば、責任医師の判断によりその患者に対してさらなるコースを繰り返し実施しても良い。

C) 研究結果

新生血管黄斑症に対する VEGFR を標的とした HLA 拘束性エピトープペプチドによる維持療法第 II 相臨床試験を本学医学部倫理委員会の承認を得たうえで、患者に公開を開始した。

D) 考察

血管新生黄斑症の一つである加齢黄斑変性は先進諸国に多い難病である特定疾患で、本邦における高齢化、西欧化の影響で増加の一途をたどっている。この疾患に対しても有効治療が限られているが、その他の血管新生黄斑症においては罹病数も少なく、治療法についても未知である。また、これらは若年者に発症し進行すれば急激に社会的失明にいたることより、就労人口の低下、および、介護必要性の増加等より厚生労働問題において負の影響をきたす。これは本邦のみではなく西欧先進国においては共通の問題であり、この疾患に関する関心は非常に高い。よって、新規治療法の開発は臨床上の急務である。

類縁疾患である加齢黄斑変性に効果をもとめる抗 VEGF 療法等はこれらの疾患に対してもある程度の効果が報告されているが、加齢黄

斑変性に対してと同様、その効果は限定されたものである。また、これら治療薬は血管新生黄斑症に対しては保険が認められていないにもかかわらず、非常に高価である。本年認可されたルセンチス硝子体注は一回の薬価が 18 万円に相当し、長年に亘る繰り返しの投与が奨励されている。上記疾患の中には、網膜色素線条、網膜内血管増殖等、加齢黄斑変性に比しても明らかに再発率が高い疾患も含まれ、治療効果の面だけでなく、経済学的状況からも治療における抗 VEGF 療法のみでの解決は難しい。また、抗 VEGF 療法は知財を海外企業が有し、高齢化社会を迎えつつある本邦の医療経済において、医療費高騰による保険料負担増のみならず、海外へ資産流出は看過できない問題である。

我々の研究班ではこの血管新生黄斑症の新規治療として、VEGFR に対するワクチン療法を開発している。すでに、共同研究者により、この療法の第 I 相試験が行われ、一定の効果を収めているが、この結果からワクチン療法の欠点も指摘される。ワクチン療法においては細胞障害性 T 細胞が誘導されるのに一定の月日が必要であるために療法開始から効果が得られるまで最低で 2 週間ほどかかる。

(多くの症例は 3 カ月ほど) したがって機能の保持が重要である眼科領域においては効果が得られる

までに時間がかかりすぎる。一方、抗 VEGF 療法は即効性はあるものの、効果を維持するためには高価で危険な硝子体注射を繰り返す必要がある。先行する研究では平均2年間で10回程度の硝子体注射が必要であるといわれている。我々はこの二つの療法の欠点を相補する形での第2相臨床試験を準備している。この試験ではまず定法通り月に1回、3か月の抗 VEGF 療法による導入と同時にワクチン療法の導入も開始する。その後の2年間において必要である抗 VEGF 療法の硝子体注射の回数を減らすことが目的である。現在、倫理委員会に申請をしており、来年度中の開始が見込まれている。本研究により、従来の治療が無効であった症例にも治癒の可能性が開けるだけでなく、眼科的に危険性の高い硝子体注入を回避し、安全な治療法が確立されるのは、大きな意義を持つ。安価で副作用が少なく効果的な薬を、日本で開発することは、日本だけでなく世界の医療経済に大きく貢献するものと考えらる。

E) 健康危険情報

なし

F) 研究発表

(ア) 論文発表

1. Matsuyama K, Ogata N, Matsuoka M, Wada M, Takahashi K, Nishimura T: Plasma levels of vascular endothelial growth factor and pigment epithelium-derived factor before and after intravitreal

injection of bevacizumab. Br J

Ophthalmol 94:1215-1218, 2010

2. Ikuno Y, Nagai Y, Matsuda S, Arisawa A, Sho K, Oshita T, Takahashi K, Uchihori Y, Gomi F: Two-Year Visual Results for Older Asian Women Treated with Photodynamic Therapy or Bevacizumab for Myopic Choroidal Neovascularization. Am J Ophthalmol 149:140-146, 2010

3. 佐々木奈々, 有澤章子, 永井由巳, 長央由里子, 高橋寛二, 松村美代: 傾斜乳頭症候群にポリーブ状脈絡膜血管症を合併した2症例, 眼科臨床紀要 3:785-789, 2010

4. 永井由巳, 有澤章子, 正健一郎, 尾辻剛, 西川真生, 津村晶子, 久保木香織, 長央由里子, 高橋寛二: 滲出型加齢黄斑変性におけるスペクトラルドメイン OCT 所見. 眼科臨床紀要 3:804-811, 2010

5. 正健一郎, 尾辻剛, 津村晶子, 有澤章子, 永井由巳, 高橋寛二: 加齢黄斑変性 occult 脈絡膜新生血管に対する光線力学療法. 臨床眼科 64:1921-1925, 2010

6. 長央由里子, 平本裕盛, 高橋寛二: 網膜血管腫状増殖を合併した網膜色素変性の1例, 日眼会誌 115:147-150, 2011

7. 高橋寛二: 加齢黄斑変性の治療戦略, 日本の眼科 81:608-613, 2010

8. 高橋寛二: 加齢黄斑変性—治療の進歩, 総合臨床 59:1633-1634, 2010

9. 高橋寛二: 加齢黄斑変性の分類と診断, あたらしい眼科 28:157-163, 2011

G) 学会発表

なし

I) 参考文献

H) 知的財産権の出願・登録状況

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Tano Y and Ohji M, on behalf of the EXTEND-I Study Group	Long-term efficacy and safety of ranibizumab administered pro re nata in Japanese patients with neovascular age-related macular degeneration in the EXTEND-I Study.	Acta Ophthalmol		In press	2011
Sawada O, Miyake T, Kakinoki M, Sawada T, Kawamura H, Ohji M.	Negative Correlation between Aqueous Vascular Endothelial Growth Factor Levels and Axial Length.	Jpn J Ophthalmol.		In press	2011
Sawada O, Kawamura H, Kakinoki M, Sawada T, Ohji M.	Vascular Endothelial Growth Factor in the aqueous humor in eyes with myopic choroidal neovascularization.	Acta Ophthalmol		In press	2011
Sawada O, Miyake T, Kakinoki M, Sawada T, Kawamura H, Ohji M.	Aqueous Vascular Endothelial Growth Factor after Intravitreal Injection of Pegaptanib or Ranibizumab in Patients with Age-Related Macular Degeneration.	Retina	30	1034-1038	2010
Tano Y and Ohji M, on behalf of the EXTEND-I Study Group.	EXTEND-I: safety and efficacy of ranibizumab in Japanese patients with subfoveal choroidal neovascularisation secondary to age-related macular degeneration.	Acta Ophthalmol	88	309-16	2010
Sasamoto Y, Gomi F, Sawa M, Tsujikawa M, Hamasaki T.	Macular Pigment Optical Density in Central Serous Choroidopathy.	Invest Ophthalmol Vis Sci	51	2519-25	2010
Wakabayashi T, Sawa M, Gomi F, Tsujikawa M.	Correlation of fundus autofluorescence with photoreceptor morphology and functional changes in eyes with retinitis pigmentosa.	Acta Ophthalmol	88	177-83	2010

Yamamoto T, Kamiyama M, Sayama K, Matsumura N, Nishida K, Sakaguchi H, Tsujikawa M, Tano Y.	Simultaneous intravitreal injection of triamcinolone acetonide and tissue plasminogen activator for central retinal vein occlusion: a pilot study	Br J Ophthalmol	95	69-73	2011
Gomi F, Sawai M, Wakabayashi T, Sasamoto Y, Suzuki M, Tsujikawa M.	Efficacy of intravitreal bevacizumab combined with photodynamic therapy for polypoidal choroidal vasculopathy.	Am J Ophthalmol	150	48-54	2010
Sasamoto Y, Gomi F, Sawa M, Sakaguchi H, Tsujikawa M, Nishida K	Effect of Cataract in Evaluation of Macular Pigment Optical Density Using Autofluorescence Spectrometry.	Invest Ophthalmol Vis Sci		In press	2011
M. Mizote, T. Baba, K. Hirooka, H. Yamaji, F. Shiraga	Vascular endothelial growth factor concentrations in aqueous humor before and after subconjunctival injection of bevacizumab for neovascular glaucoma.	Jpn J Ophthalmol	54	242-4	2010
J. Fukuda, K. Hirooka, M. Mizote, T. Nakamura, T. Itano, F. Shiraga.	Neuroprotection Against Retinal Ischemia-Reperfusion Injury by Blocking the Angiotensin II Type 1 Receptor	Invest Ophthalmol Vis Sci	51	3629-38	2010
H. Yamaji, F. Shiraga, C. Shiragami, H. Nomoto, T. Fujita, K. Fukuda	Reduction in dosage of intravitreal bevacizumab before vitrectomy for proliferative diabetic retinopathy	Arch Ophthalmol	129	106-7	2011
Matsuyama K, Ogata N, Matsuo M, Wada M, Takahashi K, Nishimura T	Plasma levels of vascular endothelial growth factor and pigment epithelium-derived factor before and after intravitreal injection of bevacizumab	Br J Ophthalmol	94	1215-18	2010
Ikuno Y, Nagai Y, Matsuda S, Arisawa A, Shino K, Oshita T, Takahashi K, Uchihori Y, Gomi F	Two-Year Visual Results for Older Asian Women Treated with Photodynamic Therapy or Bevacizumab for Myopic Choroidal Neovascularization.	Am J Ophthalmol	149	140-6	2010

佐々木奈々, 有澤章子, 永井由巳, 長央由里子, 高橋寛二, 松村美代	傾斜乳頭症候群にポリープ状脈絡膜血管症を合併した2症例	眼科臨床紀要	3	785-9	2010
永井由巳, 有澤章子, 正健一郎, 尾辻剛, 西川真生, 津村晶子, 久保木香織, 長央由里子, 高橋寛二	滲出型加齢黄斑変性におけるスペクトラルドメインOCT所見	眼科臨床紀要	3	804-11	2010
正健一郎, 尾辻剛, 津村晶子, 有澤章子, 永井由巳, 高橋寛二	加齢黄斑変性occult脈絡膜新生血管に対する光線力学療法	臨床眼科	64	1921-5	2010
長央由里子, 平本裕盛, 高橋寛二	網膜血管腫状増殖を合併した網膜色素変性の1例	日眼会誌	115	147-50	2011
高橋寛二	加齢黄斑変性の治療戦略	日本の眼科	81	608-13	2010
高橋寛二	加齢黄斑変性・治療の進歩	総合臨床	59	1633-4	2010
高橋寛二	加齢黄斑変性の分類と診断	あたらしい眼科	28	157-163	2011

IV. 研究成果の刊行物・別刷

Long-term efficacy and safety of ranibizumab administered *pro re nata* in Japanese patients with neovascular age-related macular degeneration in the EXTEND-I study

Yasuo Tano¹ and Masahito Ohji² on behalf of the EXTEND-I Study Group*

¹Department of Ophthalmology, Osaka University Medical School, Osaka, Japan

²Department of Ophthalmology, Shiga University of Medical Science, Shiga, Japan

ABSTRACT.

Purpose: To evaluate the long-term efficacy and safety of ranibizumab administered *pro re nata* (PRN) in Japanese patients with choroidal neovascularization secondary to age-related macular degeneration during the extension phase of the EXTEND-I study.

Methods: EXTEND-I, an open-label, multicenter, Phase I/II study comprised: a single-injection (Group A); a multiple-injection (Groups A and B; the latter consisted of patients who did not participate in the single-injection phase); and an extension phase. In the extension phase, a PRN regimen of ranibizumab (0.3 or 0.5 mg) guided by monthly best-corrected visual acuity (BCVA) score and other ophthalmic examinations was employed. The efficacy variables included the mean BCVA change from Month 12 to the last visit in Group B. Safety was assessed in all patients.

Results: In the extension phase, efficacy was assessed only in Group B patients. The number of ranibizumab injections per year in the 0.3 and 0.5 mg Group B patients was 4.19 and 4.27, respectively. The mean BCVA change (SD) from Month 12 to the last visit was -3.6 (14.82) letters for 0.3 mg ($n = 28$) and -2.2 (7.92) letters for 0.5 mg groups ($n = 33$) in Group B. Conjunctival haemorrhage and nasopharyngitis were the most commonly reported adverse events. Of the 13 serious adverse events reported, cerebral infarction (two incidences) was suspected to be study-drug related.

Conclusions: *Pro re nata* regimen of ranibizumab guided by monthly BCVA and other ophthalmic examinations appears effective in sustaining the BCVA gained with 12 monthly injections while reducing the number of injections during the extension phase. Ranibizumab was well tolerated during the extension phase.

Key words: age-related macular degeneration – best-corrected visual acuity score – efficacy – individualized flexible interval regimen – Japanese patients – PRN – ranibizumab – safety – subfoveal choroidal neovascularization

Acta Ophthalmol.

© 2011 The Authors

Acta Ophthalmologica © 2011 Acta Ophthalmologica Scandinavica Foundation

doi: 10.1111/j.1755-3768.2010.02065.x

*The EXTEND-I study group: Tomohiro Iida (Fukushima Medical University Hospital), Tatsuro Ishibashi (Kyushu University Hospital), Susumu Ishida (Hokkaido University Hospital), Shoji Kishi (Gunma University Hospital), Masahito Ohji (Shiga University of Medical Science Hospital), Annabelle A Okada (Kyorin University Hospital), Yukihiro Sato (Jichi Medical University Hospital), Fumio Shiraga (Kagawa University Hospital), Kunihiro Shiraki (Osaka City University Medical School Hospital), Yasuo Tano (Osaka University Hospital), Hiroko Terasaki (Nagoya University Hospital), and Mitsuko Yuzawa (Surugadai Nihon University Hospital).

Introduction

Age-related macular degeneration (AMD) is a leading cause of vision loss in the elderly population. Of the two types of AMD, the wet form caused by choroidal neovascularization (CNV) is mainly responsible for AMD-related vision loss (Bressler 2004). According to the Hisayama study (prospective cohort study in Japan), the prevalence of neovascular AMD in residents aged 50 years or older was 0.67% in 1998, which was lower than that observed in the Caucasians (Oshima et al. 2001). However, another recent study (The Funagata study) in Japanese residents aged 35 years or older suggested that the prevalence of neovascular AMD in Japanese men was similar to that seen in the Caucasian men (Kawasaki et al. 2008).

Current evidence points to the role of vascular endothelial growth factor (VEGF) in CNV proliferation, and hence agents that block its activity are considered as a suitable therapeutic intervention in the management of this form of AMD (Ferrara et al. 2006; Waisbourd et al. 2007). Ranibizumab (Lucentis[®]; Novartis Pharma AG, Basel, Switzerland and Genentech Inc, South San Francisco, CA, USA) is a humanized monoclonal antibody

fragment that inhibits active forms of VEGF-A, the main factor responsible for CNV proliferation and vascular permeability (Ferrara et al. 2006, 2007). Benefits of ranibizumab treatment in improving best-corrected visual acuity (BCVA) have been shown in the Caucasian population (Brown et al. 2006, 2009; Rosenfeld et al. 2006; Mitchell et al. 2010). Ranibizumab is currently approved in the United States, European Union, Japan and several other countries. EXTEND-I was the first study in Japanese patients that showed the safety and efficacy of monthly ranibizumab treatment (12-month results) during multiple-injection phase in terms of BCVA gain, reduction in total area of leakage from CNV plus retinal pigment epithelium staining and foveal retinal thickness, which were consistent with the pivotal studies performed in the Caucasian population (Tano & Ohji 2010). After the patients had completed the 12-month multiple-injection phase, all patients who provided written consent and were eligible based on the inclusion and exclusion criteria of the extension phase had the opportunity to continue to receive the 'individualized flexible interval regimen' [namely, *pro re nata* (PRN), as needed] until the approval of ranibizumab in Japan. This also provided a means to assess its long-term safety and efficacy. The PRN regimen was expected to maintain the improved visual acuity (VA) with less frequent injections in the extension phase. Current treatment guidelines in Europe recommend three initial monthly dosing followed by a maintenance phase, wherein the ranibizumab administration is decided based on monthly BCVA observation (Holz et al. 2010; Mitchell et al. 2010). This recommendation is based mainly on the results of the ranibizumab pivotal randomized phase III studies, namely MARINA (Rosenfeld et al. 2006) and ANCHOR (Brown et al. 2006) with monthly ranibizumab treatment. In these studies, the improvement of the BCVA score had stabilized (almost reached a plateau) by Month 3, and further increase in BCVA was minimal during the subsequent monthly treatments. On the other hand, in another pivotal randomized Phase IIIb study, PIER, quarterly treatment regimen could not maintain the

improvement in BCVA score that was obtained by the three initial monthly injections (Regillo et al. 2008). However, there were also patients who maintained their gain in BCVA score during the quarterly regimen.

The extension phase of this study was initiated, therefore, to investigate whether ranibizumab administered PRN based on monthly BCVA scores and other ophthalmic examinations at two consecutive visits could maintain the improvement in BCVA scores. The reduction in dosing frequency was expected to reduce the risk of adverse events (AEs) associated with the intravitreal injection procedure in the elderly population as well as to address the difficulties in treating AMD through monthly injection of ranibizumab in a clinical setting.

Based on the 6-month interim results of the extension phase with PRN regimen as well as the 6- and 12-month interim analyses of monthly multiple-injection phase of this study, and the results of pivotal studies in the Caucasian population, ranibizumab was approved in Japan in January 2009. This paper presents the

final data on long-term efficacy (in terms of BCVA) and safety of ranibizumab with PRN regimen from whole period of the extension phase of EXTEND-I.

Methodology

Study design

EXTEND-I was an open-label, multi-centre, Phase I/II study comprising three phases: a single-injection phase, a multiple-injection phase and an extension phase (Fig. 1). The single-injection phase (Group A) was designed to sequentially evaluate the safety of intravitreal injections of 0.3 and 0.5 mg ranibizumab (six patients treated with each dose). The patients who successfully completed the single-dose phase (i.e., did not experience a Grade-3 targeted AE) could enter a multiple-injection phase wherein they received the same dose for an additional 11 months. The 12-month multiple-injection phase (Groups A and B; the latter consisted of patients who did not participate in the single-injection phase)

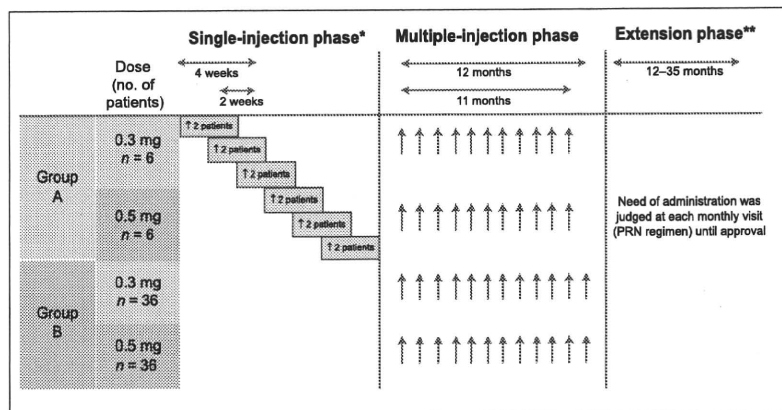


Fig. 1. EXTEND-I treatment schedule. *Upon completion of the single-dose phase, patients in Group A were eligible to enter the multiple-injection phase, which began ≥ 4 weeks after the final visit of the single-injection phase. Multiple injections did not begin until both doses were shown to be well tolerated in all cohorts. **Upon completion of the multiple dose phase, based on prespecified inclusion/exclusion criteria, patients could enter the extension phase. For the extension phase, treatment as per *pro re nata* regimen; dose same as core phase; retreatment at the monthly visit if loss of >5 letters in best-corrected visual acuity (BCVA) on two consecutive visits (except unscheduled visits), considering other ophthalmic examinations, such as slit-lamp examination, ophthalmoscopy, fundus photography, fluorescein angiography and optical coherence tomography, the investigator decided whether ranibizumab treatment would be performed. Similarly, if the BCVA score decreased on two consecutive visits (except unscheduled visits) by ≤ 5 letters using ETDRS-like visual acuity chart, a decision was taken whether treatment could be withheld. In any case, other ophthalmic examinations were taken into consideration. For the extension phase, the number of patients for Group A was 3 in the 0.3 mg group and 6 in the 0.5 mg group; the number of patients for Group B was 28 in the 0.3 mg group and 33 in the 0.5 mg group.

evaluated the safety and efficacy of both doses administered as monthly intravitreal injections in two parallel groups of 0.3 mg dose and 0.5 mg dose (Tano & Ohji 2010). The multiple-injection phase was followed by an extension phase in which the ranibizumab (0.3 or 0.5 mg) administration was on a PRN basis, but assessments were carried out on a monthly basis. If the BCVA score decreased at two consecutive visits (except unscheduled visits) by >5 letters, considering other ophthalmic examinations, such as slit-lamp examination and ophthalmoscopy for safety, fundus photography, fluorescein angiography and optical coherence tomography for efficacy, the investigator decided whether ranibizumab treatment would be administered although no specific retreatment criteria were provided for fundus photography, fluorescein angiography and optical coherence tomography and were at the discretion of the investigators. Similarly, if the BCVA score decreased at two consecutive visits (except unscheduled visits) by ≤ 5 letters, in conjunction with other ophthalmic examinations, a decision was taken whether the treatment could be withheld.

This study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki, International Conference on Harmonization Good Clinical Practice (GCP) guidelines and Japanese GCP. The study was approved by Institutional Review Boards at each study centre. All patients provided written informed consent before participating in the study and the extension. The trial is registered with clinicaltrials.gov (NCT00275821).

Inclusion and exclusion criteria

All patients with subfoveal CNV secondary to AMD who completed the multiple-injection phase in either of the ranibizumab groups (Groups A or B), provided written consent and met all of the inclusion criteria set at the beginning of the study (Tano & Ohji 2010) were eligible to enrol in the extension phase. Patients were allowed to participate in the extension phase regardless of the time elapsed between the exit visit of the multiple-injection phase and the participation in the extension phase.

Patients were excluded from the extension phase if they had received any anti-angiogenic drugs (bevacizumab, pegaptanib, ranibizumab, anecortave acetate, corticosteroids or protein kinase C inhibitors) or participated in any other clinical study of an investigational drug during the period from the exit visit of the multiple-injection phase to participation in the extension phase. However, as the extension phase was not started on the day of the exit visit from the multiple-injection phase, photodynamic therapy with verteporfin was allowed for the study eye during the transition period.

Efficacy assessments

The efficacy variables of the extension phase included mean change from Month 12 in BCVA score of the study eye using ETRDS chart (at a starting distance of 2 m) at the last visit of the extension phase for Group B patients only. Group A patients were not included as they were not assessed for efficacy, but only for safety throughout the study. The other efficacy variables included the proportion of patients at the last visit with a BCVA score loss <15 letters, and ≥ 30 letters, or a BCVA score gain of ≥ 15 letters in the study eye. Proportion of patients with BCVA <34 letters, approximate Snellen equivalent of 20/200 or worse, were also evaluated (ETDRS charts at a starting distance of 2 m). In the extension phase, colour fundus photography, fluorescein angiography and optical coherence tomography were performed in accordance with the routine procedures specified at each study site.

Safety assessments

All safety evaluations were based on the enrolled population (Groups A and B) of the extension phase. Safety assessments consisted of recording the frequency of the treatment collecting all AEs, serious adverse events (SAEs), with their severity, and relationship to study drug. It also included monitoring of haematology, serum chemistry, urinalysis and regular assessments of vital signs. Grade 3 targeted AEs (Tano & Ohji 2010), intraocular inflammation, myocardial infarction and stroke and AEs poten-

tially related to systemic VEGF inhibition were analysed separately. Serum samples for the evaluation of immunoreactivity to ranibizumab (antiranibizumab antibodies) were obtained from patients prior to study administration at Month 23 and the last visit for Group A patients, and Month 24 and the last visit for Group B patients. At the last visit as well as at early termination, the assessments were performed if at least 6 months had passed since the previous measurement, on or after Month 11 for Group A patients and Month 12 for Group B patients. The last measurement in the multiple-injection phase of the study was performed at Month 11 for Group A and Month 12 for Group B.

Statistical analysis

The patient population included all enrolled patients in the extension phase. This population was used for all analyses in Groups A and B. All efficacy data presented were for observed cases without the last observation carried forward method.

Descriptive statistics of the number of injections, duration of exposure and reason of injection were presented for the enrolled population. The duration of treatment varied for each patient in the extension phase. To reduce a possible bias because of the patients who discontinued early without injection, the number of injections per year was calculated as $365.25 \times$ sum of total number of injections in the group/duration of the PRN regimen for the respective group. The number of injections per year was calculated for the respective group and not per patient. Duration of the PRN regimen was the date of the last potential treatment visit minus the date of Month 11 visit (the last treatment visit of multiple-injection phase) plus 1.

All efficacy analyses were based on the study eye. Descriptive statistics (mean, median, standard deviation, standard error, minimum and maximum) of the change from baseline (the single-injection phase of Group A and the multiple-injection phase of Group B), Month 11 and Month 12 in Group B were performed by treatment and visit. The 95% confidence intervals based on *t*-distributions and

p-values based on paired *t*-tests were determined for the change from baseline. Exact 95% confidence intervals were calculated for the proportion of patients with the specified response rates.

Results

Patients

Overall, 70 patients at 11 sites participated in the extension phase from 20 March 2007 to 20 January 2009: 9 in Group A (3 and 6 in the 0.3 and 0.5 mg dose groups, respectively) and 61 in Group B (28 and 33 in the 0.3 and 0.5 mg dose groups, respectively) as shown in Table 1. In Group A, a total of seven patients were not discontinued in the extension phase. Two patients in the 0.3 mg dose group withdrew from the study, as their con-

dition did not further require the study drug. In Group B, 22 patients in the 0.3 mg dose group and 21 patients in the 0.5 mg dose groups were not discontinued in the extension phase. Six patients in the 0.3 mg dose group and 12 patients in the 0.5 mg dose group withdrew from the extension study. The maximum number of patients discontinued as they did not require the study drug because of improvement in VA (*n* = 9, two in the 0.3 mg dose group and seven in the 0.5 mg dose group); other reasons being AEs (*n* = 4, two in each dose group), withdrawal of consent (*n* = 4, one in the 0.3 mg dose group and three in the 0.5 mg dose group) and protocol violation (*n* = 1, one in the 0.3 mg dose group). None of the AEs leading to study discontinuation was thought to be related to the study drug.

The mean duration of treatment (standard deviation, SD) during the extension phase was 1.70 (0.35) years in the 0.3 mg group and 1.93 (0.09) years in the 0.5 mg dose group in Group A (Table 1). In Group B patients, the mean duration of treatment was 1.45 (0.33) years and 1.36 (0.39) years in the 0.3 and 0.5 mg dose groups, respectively.

The baseline demographic and ocular characteristics of enrolled patients at the start of the extension phase are given in Table 2. The mean (SD) BCVA score of the study eye at the start of the extension phase was 59.1 (11.69) letters and 59.8 (15.07) letters in the 0.3 and 0.5 mg dose groups of Group B, respectively. Overall, approximate Snellen equivalent VA of almost all patients was better than 20/200 except for two patients in the 0.5 mg dose group.

Of the 61 patients in Group B, approximately 90% (25/28 and 27/33 in the 0.3 mg and the 0.5 mg dose groups, respectively, Table 3) completed Month 24 from the baseline of the multiple-injection phase of the study, i.e., these patients received treatment of ranibizumab with PRN for 12 months in the extension phase. The duration of treatment of each patient in the extension phase varied with respect to the study entry and the longest was 35 months from baseline for the 0.3 mg dose group (*n* = 1). For the 0.5 mg dose group, the longest was 34 months (*n* = 1), as shown in Fig. 2.

The exposure to ranibizumab in the extension phase of Group B is shown

Table 1. Patient disposition in the extension phase.

Disposition/patients studied	Group A	Group A	Group B	Group B
	Ranibizumab 0.3 mg	Ranibizumab 0.5 mg	Ranibizumab 0.3 mg	Ranibizumab 0.5 mg
Patients (<i>n</i> %)				
Enrolled	3 (100.0)	6 (100.0)	28 (100.0)	33 (100.0)
Not discontinued	1 (33.3)	6 (100.0)	22 (78.6)	21 (63.6)
Discontinued	2 (66.7)	0 (0.0)	6 (21.4)	12 (36.4)
Main cause of discontinuation				
Adverse event (s)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (7.1)	2 (6.1)
Patient's condition does not require study drug	2 (66.7)	0 (0.0)	2 (7.1)	7 (21.2)
Protocol violation	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (3.6)	0 (0.0)
Patient withdrew consent	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (3.6)	3 (9.1)
Mean duration, years, of the extension phase (SD)	1.70 (0.35)	1.93 (0.09)	1.45 (0.33)	1.36 (0.39)

Table 2. Baseline demographics of enrolled patients and ocular characteristics (study eye) at the start of the extension phase.

Characteristic	Category/statistic	Group A	Group A	Group B	Group B
		Ranibizumab 0.3 mg <i>N</i> = 3	Ranibizumab 0.5 mg <i>N</i> = 6	Ranibizumab 0.3 mg <i>N</i> = 28	Ranibizumab 0.5 mg <i>N</i> = 33
Gender - <i>n</i> (%)	Male	3 (100.0)	5 (83.3)	19 (67.9)	28 (84.8)
	Female	0 (0.0)	1 (16.7)	9 (32.1)	5 (15.2)
Age, years	Mean (SD)	68.0 (10.15)	72.0 (4.82)	69.8 (8.72)	70.2 (7.83)
Race (%)	Asian	3 (100.0)	6 (100.0)	28 (100.0)	33 (100.0)
Best-corrected visual acuity score	Mean (SD)	72.0 (4.58)	58.5 (15.66)	59.1 (11.69)	59.8 (15.07)
	Range	68-77	42-77	39-80	36-85
Approximate Snellen equivalent <i>n</i> (%)	Median	40.0	70.0	71.5	63.0
	20/200 or worse	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (6.1)
	Better than 20/200 but worse than 20/40	1 (33.3)	3 (50.0)	20 (71.4)	20 (60.6)
Intraocular pressure (mmHg)	20/40 or better	2 (66.7)	3 (50.0)	8 (28.6)	11 (33.3)
	Mean (SD)	13.3 (1.53)	14.2 (3.06)	13.5 (2.92)	13.7 (3.09)
	Range	12-15	9-18	8-20	9-23

Data of ocular characteristics are based on Month 11 visit in Group A and Month 12 visit in Group B. *N* = number of enrolled patients, *n* = number of patients.