

氏名	安 川 力
学位(専攻分野)	博士 (医学)
学位記番号	医博第2231号
学位授与の日付	平成12年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	医学研究科外科系専攻
学位論文題目	Targeted Delivery of Anti-Angiogenic Agent TNP-470 Using Water-Soluble Polymer in the Treatment of Choroidal Neovascularization に関する研究 (新生血管抑制物質 TNP-470 への水溶性高分子修飾による脈絡膜血管新生に対するターゲティング療法に関する研究)

論文調査委員 (主査) 教授 北 徹 教授 橋本信夫 教授 本田孔士

### 論文内容の要旨

背景：加齢性黄斑変性症は、就労年齢における失明の主要原因となっている疾患である。失明に至る症例のほとんどは脈絡膜血管新生をその病態に含み、血管新生の抑制、形成された新生血管の退縮が治療目標となる。現在、光凝固、硝子体手術、放射線照射が行われているが、いずれも決定的な治療法にはなっていない。また、進行例において網膜は不可逆的に機能が障害されている場合が多く、これらの意味で、病初期の視力が良好な時期に積極的に施行出来る薬物療法の開発が望まれる。しかしながら、血管新生を抑制すると考えられるサリドマイドやインターフェロン $\alpha$ の全身投与についての米国の治験では良好な成績は得られていない。

目的：薬剤に水溶性高分子を修飾することにより、薬剤の血中半減期が延長されるだけでなく、透過性亢進した血管を持ち、かつ、リンパ系の幼弱な癌組織に集積されることが報告されている。本研究においては、網膜にはリンパ系が発達していないことから、網膜下に侵入した脈絡膜新生血管組織は癌組織と類似の環境を持つと考え、脈絡膜血管新生に対する薬剤の高分子修飾によるターゲティング療法の可能性について検討した。

方法：ジメチルアミノピリジンを触媒として、水溶性高分子であるポリビニルアルコール (PVA) (分子量22万) に血管新生抑制物質：TNP-470 を結合させたもの (TNP-470-PVA) を作製した。TNP-470-PVA の正常ヒトさい帯静脈血管内皮細胞 (HUVEC) とウシ網膜色素上皮細胞 (BRPEC) に対する細胞増殖抑制効果を XTT 法にて評価した。次に、塩基性線維芽細胞増殖因子 (bFGF) 含有ゼラチンマイクロスフェア (GM) を有色家兎の網膜下に注入して作成した脈絡膜血管新生モデルに対し、連続3日、TNP-470-PVA を静注することによる新生血管の抑制効果を蛍光眼底造影検査にて評価し、生食、PVA、TNP-470 をそれぞれ投与した群と比較した。また、組織への高分子の集積効果を見るために、TNP-470 の代わりにローダミン B イソチオシアネートを修飾した PVA (RITC-PVA) を作製し、モデル作成した家兎に静注して、24時間後に眼球を摘出し、アイカップを作成した上で、蛍光顕微鏡にて観察した。

結果：free の TNP-470 と同様に、TNP-470-PVA は、広い濃度範囲において、HUVEC の増殖抑制効果を示した。また、BRPEC の TNP-470-PVA に対する感受性は、HUVEC より低かった。この結果から、TNP-470-PVA は、TNP-470 の本来の特性を維持している TNP-470 のプロドラッグであることが示唆された。家兎脈絡膜血管新生モデルにおいて、bFGF 含有 GM 注入後2週目において、蛍光造影において認められた新生血管よりの蛍光漏出は、生食投与群、PVA 投与群においては、投与後2週においてもその程度は同じかやや増強する傾向が認められた。TNP-470 投与群はやや蛍光漏出が減弱したが有意差を認めるには至らず、それに比べ、TNP-470-PVA 投与群では有意に蛍光漏出の減少を認めた ( $P=0.001$ )。また、組織的に、新生血管組織の退縮、網膜色素上皮の増殖を認めた。RITC 単独投与群において、投与24時間後、脈絡膜新生血管組織周辺にほとんど残存していなかったが、RITC-PVA は滞留していた。

結論：今後、薬剤や高分子の体内動態や毒性を評価する必要があるが、TNP-470-PVA を初めとする高分子修飾薬剤によるターゲティング療法は、脈絡膜血管新生の治療の一手段となりうることが示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

水溶性高分子は新生血管を持つリンパ系の幼弱な腫瘍組織へ集積すると考えられている。その特性を利用し、加齢黄斑変性症に認められる脈絡膜由来の新生血管に対する薬物療法として、薬剤を結合した水溶性高分子によるドラッグターゲティングシステムを開発した。

申請者は、水溶性高分子であるポリビニルアルコールに新生血管抑制物質：TNP-470 を結合し、培養した血管内皮細胞と網膜色素上皮細胞に対する増殖抑制効果を調べた。その結果、高分子化薬剤は血管内皮細胞に、より強い増殖抑制効果を示し、TNP-470 本来の特性を保持していることが示唆された。

また、家兎の脈絡膜血管新生モデルに対する高分子化薬剤の効果を検討するために、モデル作成後2週目から連続3日間、以下の薬剤を静脈注射し、さらに2週後の眼底の変化を蛍光眼底造影と病理組織にて評価した。ポリビニルアルコールやTNP-470 単独投与群では抑制効果が得られなかったが、高分子化薬剤投与群において、有意に新生血管の退縮効果が認められた。また、脈絡新生血管組織への高分子化薬剤の集積効果は、蛍光標識した高分子にて投与24時間後でも確認できた。

以上の研究は、眼科領域においてパッシブターゲティングの概念を応用した初めての報告であり、失明の主要原因である加齢性黄斑変性症の新たな治療概念を提案し、早期からの治療法としての可能性を示したものである。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成12年2月9日実施の論文内容とそれに関連した研究分野の試問を受け、合格と認められたものである。