

氏 名	かみづるひろし 上水 流 広 史
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2593 号
学位授与の日付	平 成 15 年 3 月 24 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	Monoclonal antibody-mediated drug targeting to choroidal neovascularization in the rat (モノクローナル抗体を用いたラット実験的脈絡膜新生血管に対する能動的ドラッグターゲティングに関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 乾 賢 一 教 授 長 澤 丘 司 教 授 本 田 孔 士

論 文 内 容 の 要 旨

目的：腫瘍血管内皮細胞に対するモノクローナル抗体を用いた、能動的ドラッグターゲティングが癌治療において応用されている。インテグリン $\alpha\beta3$ は観血的に採取された脈絡膜新生血管板に強く発現していると報告されており、モノクローナル抗体を用いた、脈絡膜新生血管（以下 CNV）に対する能動的ドラッグターゲティングの有力な抗原になり得ると考えられる。そこで本研究ではラット CNV モデルに対する、抗インテグリン $\alpha\beta3$ モノクローナル抗体（以下 mAb）を用いた能動的ドラッグターゲティングの有効性を評価した。

方法：マイトマイシン C（以下 MMC）とデキストランの複合体（以下 MMCD）をカルボジイミドを触媒とする反応により合成し、さらに MMCD に mAb を結合させた複合体（以下 MMCD-mAb）を合成した。mAb を用いた能動的ドラッグターゲティングの *in vitro* の有効性を評価するために、ヒト臍帯静脈内皮細胞（HUVECs）の増殖能に対する MMCD-mAb の抑制効果を研究した。実験的 CNV は牡のブラウンノルウェイラットの右眼眼底にレーザー光凝固することにより作成した。インテグリン $\alpha\beta3$ の実験的 CNV における発現は、抗フォンウィルブランド抗体を内皮細胞マーカーとして免疫組織化学的に評価した。mAb を用いた能動的ドラッグターゲティングの *in vivo* の有効性を評価するために、実験的 CNV 作成後14日目から3日間連続して静脈注射により、生食水（ $n=7$ ）、mAb 1mg/日（ $n=7$ ）、MMC 100 μ g/kg/日（ $n=7$ ）、無関係な抗体と結合させた MMCD（ $n=7$ ）、結合させていない MMCD と mAb（ $n=7$ ）、MMCD-mAb（ $n=8$ ）の6群（MMC は同等量）に分けて各々投与した。CNV からの蛍光漏出は4段階で評価した。浴療後14日目に右眼球を摘出して、CNV の組織学的な検討を行った。

結果：MMCD-mAb の HUVECs の増殖能抑制が認められた。インテグリン $\alpha\beta3$ は CNV 内皮細胞に強い免疫活性を示した。治療後の CNV からの蛍光漏出は MMCD-mAb 治療群のスコアが 1.25 ± 0.09 （平均値 $\pm$ 標準誤差）で他の5群に比べて有意に減少していた（ $P < 0.01$ ）。さらに CNV の厚みは MMCD-mAb 治療群で有意に小さかった（ $P < 0.01$ ）。

結論：mAb を用いた能動的ドラッグターゲティングは CNV の治療において有効である可能性が示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

加齢黄斑変性は、網膜色素上皮下に発生した脈絡膜新生血管（choroidal neovascularization; CNV）から黄斑部の網膜色素上皮下や神経網膜下に出血、滲出が発生し、中心視機能の障害を来す疾患である。近年患者数が急増し、高齢者の中途失明の高頻度疾患として重要である。現在、薬物治療、放射線療法、レーザー光凝固、手術療法が行われているが、いずれも臨床的に満足な治療効果は得られていない。

そこで申請者は、新生血管内皮細胞に発現することが知られているインテグリン $\alpha\beta3$ に対するモノクローナル抗体（mAb）を用い、実験的に発生させたラット CNV に対する能動的ドラッグターゲティングによる同疾患に対する新しい治療法の開発を試みた。

申請者は、まず実験的ラット CNV において、インテグリン $\alpha v \beta 3$ が CNV 内皮細胞に強い免疫活性を持つことを示した。次に、デキストランとマイトマイシン C を結合させた conjugate (MMCD) を合成し、更に MMCD に mAb を結合させた immunoconjugate (MMCD-mAb) を合成し、ヒト臍帯静脈内皮細胞に対して細胞増殖抑制効果を持つことを示した。次に、MMCD-mAb を静脈注射投与することにより、実験的ラット CNV からの蛍光漏出を有意に抑制したり、CNV の厚みを有意に減少させたりして、生体内での CNV 発育を有意に抑制できることを示した。

本論文はモノクローナル抗体を用いた能動的ドラッグターゲティングが実験的 CNV の治療に有効であることを示唆しており、加齢黄斑変性に対する新しい治療法として臨床応用の可能性が大きい。

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15年2月21日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。