

氏 名	柿木 雅志
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	博士 甲第 676 号
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位授与年月日	平成 2 5 年 3 月 7 日
学位論文題目	Effect of Vitrectomy on Aqueous Vascular Endothelial Growth Factor Concentration and Pharmacokinetics of Bevacizumab in Macaque Monkeys (カニクイザルの前房水血管内皮増殖因子濃度に対する硝子体手術の影響とベバシズマブの薬物動態)
審査委員	主査 教授 永田 啓 副査 教授 岡村 富夫 副査 教授 宇田川 潤

論文内容要旨

*整理番号	681	(ふりがな) 氏名	かきのき まさし 柿木 雅志
学位論文題目	Effect of Vitrectomy on Aqueous VEGF Concentration and Pharmacokinetics of Bevacizumab in Macaque Monkeys (カニクイザルの前房水 VEGF 濃度に対する硝子体手術の影響とベバシズマブの薬物動態)		
<p>【目的】 糖尿病網膜症や網膜静脈閉塞症による黄斑浮腫の治療には、硝子体手術やレーザー治療、抗血管内皮増殖因子 (vascular endothelial growth factor: VEGF)薬の硝子体内投与が行われている。抗 VEGF 薬であるベバシズマブは、VEGF に対する遺伝子組換え型ヒトモノクローナル抗体で、2004 年に未治療転移性大腸癌の治療薬としてアメリカ食品医薬局の承認を得た。VEGF が VEGF レセプターに結合することにより血管新生、血管透過性亢進、細胞増殖などを引き起こすが、ベバシズマブはヒト VEGF と特異的に結合することにより、VEGF レセプターとの結合を阻害する。眼科臨床の現場では、硝子体手術を施行した無硝子体眼へのベバシズマブ投与を行うことも少なくないが、ヒトに近いカニクイザルの無硝子体眼を用いたベバシズマブの VEGF 抑制効果持続期間に関する報告はない。本研究では、カニクイザルの無硝子体眼へベバシズマブを投与し、無硝子体眼での VEGF 抑制効果期間を解析する。</p> <p>【方法】 全身麻酔下に、オスのカニクイザル 6 匹の片眼に硝子体切除と水晶体摘出を施行した。手術による影響を除外するために術後 12 週間以上経過観察し、炎症のないことを確認後ベバシズマブ (1.25mg/50μl) を無硝子体眼へ投与した。手術前、ベバシズマブ投与直前および投与後 1, 3, 7 日、2, 4, 6, 8 週に両眼の前房水を各眼 150 μl、血液を 2 ml 採取した。検体は測定までの間 -80 度で凍結保存した。最終の検体採取後に前房水と血清の VEGF 濃度とベバシズマブ濃度を ELISA で測定した。</p> <p>【結果】 手術眼における前房水中の VEGF 濃度は、手術前平均 81.7 ± 27.0 pg/ml であったが、手術後 12 週では平均 51.4 ± 20.5 pg/ml と減少していた。6 眼とも投与後 1 日目には ELISA の測定感度限界 (9 pg/ml) 以下となり、7 日目までは全眼測定感度限界以下であった。4 眼は投与後 2 週で測定感度以上となった。4 週では残り 2 眼も測定感度以上となり、平均 40.4 ± 28.4 pg/ml であった。非投与眼においては実験期間を通して VEGF 濃度に有意な変化は認めなかった。</p>			

(備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等で印字すること。

前房水のベバシズマブ濃度は、投与翌日に $10.8 \pm 6.4 \mu\text{g/ml}$ となり、以後漸減した。非投与眼では実験期間中ベバシズマブは検出されなかった。無硝子体眼におけるベバシズマブの半減期は 1.5 ± 0.6 日であった。

血清中のベバシズマブ濃度は投与翌日に 34.0ng/ml で最大となり、以後漸減した。前房水ベバシズマブ濃度と比較して、血清中のベバシズマブ濃度の減少は緩やかで、4 週では血清中の濃度の方が高くなった。血清中のベバシズマブの半減期は 5.9 ± 2.0 日であった。

【考察】

硝子体手術後に糖尿病黄斑症の黄斑部網膜厚が減少したいくつかの報告がみられる。Yamamoto らは 63 例 65 眼の糖尿病黄斑浮腫に対して硝子体手術を施行し、術後に黄斑部網膜厚が改善したと報告している。彼らは毛様体から供給される高濃度の酸素が網膜の血管収縮に作用し、網膜厚を減少させるのではないかと検討した。Yanyari らは、糖尿病黄斑浮腫の 27 例 27 眼に内境界膜剥離を併用した硝子体手術を施行し、網膜厚の改善を認めたと報告した。彼らは内境界膜剥離を併施することで、網膜にかかる牽引力が軽減し黄斑部網膜厚の改善を認めたと検討した。これまでの報告に加え、本研究から術後の網膜厚の改善には、硝子体手術後の VEGF 濃度の減少が関与している可能性が示唆された。

過去に我々は、カニクイザルの有硝子体眼にベバシズマブを投与し、少なくとも 4 週間は前房水中の VEGF 濃度を減少させることができることを報告している。本研究では少なくとも 2 週間の抑制効果であったので、無硝子体眼ではベバシズマブの VEGF 抑制効果期間は短くなっていることがわかった。

本研究では、前房水中のベバシズマブの半減期は 1.5 ± 0.6 日であったが、過去に報告した有硝子体眼における前房水中のベバシズマブの半減期は 2.8 ± 0.6 日であった。Doft らは $10 \mu\text{g}$ のアンホテリシン B をウサギの無硝子体眼と有硝子体眼へ投与し、それぞれ半減期を 1.4 日と 9.1 日と報告した。Chin らは 0.3mg のトリアムシノロンをウサギの無硝子体眼と有硝子体眼へ投与し、それぞれ半減期を 1.57 日と 2.89 日と報告した。本研究でも、無硝子体眼に対するベバシズマブ投与後の VEGF 抑制効果期間が短くなっていたが、無硝子体眼では有硝子体眼に比べてベバシズマブの半減期が短くなっていたためと考えられる。

以上からベバシズマブのクリアランスが速くなっていることが、ベバシズマブの VEGF 抑制効果作用期間を短縮していると考えられた。

【結論】

硝子体手術前に比べ硝子体手術後では、VEGF 濃度は減少していた。

無硝子体眼へのベバシズマブの硝子体内投与では、VEGF 濃度抑制作用やベバシズマブの半減期は有硝子体眼への硝子体投与と比較して短くなっていた。

学位論文審査の結果の要旨

整理番号	681	氏名	柿木 雅志
論文審査委員			
<p>(学位論文審査の結果の要旨) (明朝体 11ポイント、600字以内で作成のこと。)</p> <p>臨床の場で、糖尿病網膜症や網膜静脈閉塞症による黄斑浮腫に対する治療として、硝子体切除術やベバシズマブなどの抗血管内皮増殖因子 (VEGF) 薬の硝子体内投与が行われているが、実験動物での硝子体切除による薬物動態の影響に関する基礎実験は行われていない。</p> <p>本研究では、カニクイザルへ硝子体切除と水晶体摘出を行う前後の眼内 VEGF 濃度を測定し、硝子体手術による眼内 VEGF への影響につき検討した。さらに術後無硝子体眼でのベバシズマブの VEGF 抑制効果期間について、過去に発表者らが報告したカニクイザルの有硝子体眼における同薬の薬物動態との比較・検討を行い、以下の点を明らかにした。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 硝子体切除術施行後の黄斑浮腫改善の機序として、硝子体切除によって眼内からの VEGF のクリアランスが短くなり、VEGF 濃度が低下した結果、浮腫が軽減すると考えられること 2) 無硝子体眼は有硝子体眼に比し、ベバシズマブが VEGF を抑制している期間が短縮しており、無硝子体眼への抗 VEGF 薬投与の際には、効果持続期間の短縮に注意する必要があること <p>本論文は、硝子体手術による血管内皮増殖因子 (VEGF) および抗 VEGF 薬の動態への影響について新しい知見を与えたものであり、最終試験として論文内容に関連した試問を受け合格したので、博士 (医学) の学位論文に値するものと認められた。</p> <p style="text-align: right;">(総字数 576 字)</p> <p style="text-align: right;">(平成 25 年 2 月 1 日)</p>			