

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 8 月 30 日現在

機関番号：17201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10897

研究課題名(和文)より安全な硝子体手術を目指した薬剤と器械開発のための包括的研究

研究課題名(英文) Comprehensive research for development of drugs and instruments aiming for safer vitrectomy surgery

研究代表者

江内田 寛 (Enaida, Hiroshi)

佐賀大学・医学部・教授

研究者番号：00363333

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)：かねてより開発をすすめているブリリアントブルーG(BBG)に関し、薬剤としては難治性白内障手術時の際の水晶体前嚢染色への適応の拡大を目的としたあらたな医師主導治験を企画し実施した。以前に実施した内境界膜染色の結果に加え今回の結果をあわせて総括報告書を作成し早急にPMDAへの申請を予定している。さらに非臨床研究としてBBGぶどう膜炎に対する消炎効果についての検討を行い良好な結果を得た。さらに器械開発に関してはBBGの術中視認性の改善効果の研究成果を発展させる形で、現行の広角観察システムと併用が可能な新たな観察システムを試作した。

研究成果の概要(英文)：We have planned and carried out a new doctor-initiated trial for Brilliant Blue G (BBG) aiming at expanding adaptation for staining of the anterior lens capsule during refractory cataract surgery. We will prepare a summary report together with the result of internal limiting membrane staining for this result and are planning to apply to PMDA as soon as possible. Furthermore, as a nonclinical study, we examined the anti-inflammatory effect of BBG for experimental uveitis and got good results. Regarding equipment development, we developed a new observation system that can be used in conjunction with the actual wide-viewing system by developing the research result of the improvement effect of BBG's intraoperative visibility.

研究分野：眼科学

キーワード：ブリリアントブルーG BBG 内境界膜染色 水晶体前嚢染色 視認性改善 消炎効果 医師主導治験  
器械開発

## 1. 研究開始当初の背景

申請者はこれまで眼科手術における補助剤（アジュバント）に関連した研究を一貫して行ってきた。その過程で Brilliant Blue G (BBG)を見出し、硝子体手術のより安全な内境界膜剥離術に必要な内境界膜染色のための新たなアジュバント候補として自主開発を行ってきた。ライセンスアウト後、本剤は EU での臨床応用に至っているが (ILM-BLUE™ the Dutch Ophthalmic Research Center (D.O.R.C.), Zuidland, The Netherlands) これまで本剤の日本国内導入にあたり医師主導治験をすすめている状況であった<sup>1</sup>。

これらアジュバントを用いた硝子体手術も、手術システムの変化に伴い、近年では高エネルギーキセノン光の観察下で行われることが一般的になってきている。より明るい環境で手術を行うことは術中の視認性確保の面から、ある程度必要なことではあるが、これらキセノン光源の波長ピークが網膜色素上皮細胞や視細胞における重要なタンパクのメラノプシンなどを障害する波長と一致しており、それに加え総エネルギー量も莫大であるため、時に術中に生じる光障害が問題となることがある。したがってアジュバントそのものの安全性以外にも、手術環境すなわち観察光からの患者や術者の術中の光障害回避など、まだまだ解決されるべき課題が多いのが現状でありその対応を講じてきた。

さらに BBG には本来の色素としての働きのほか、ATP 受容体である P2X7 のアンタゴニストとしての薬理作用を有している。ATP は細胞内化学反応のエネルギー供与体としてだけでなく、情報伝達物質としてもその役割を果たしている。そのイオンチャンネル型 ATP 受容体である P2X は現在 7 つのサブタイプが同定されており、下垂体、副腎皮質、膵臓などの内分泌臓器と神経系に存在し、そのひとつの P2X7 は神経系の組織を中心に、哺乳類の網膜では内顆粒層、内網状層や神経線

維層にも発現を認めているがその網膜内でののはたらきはほとんど不明である。さらに P2X7 のアンタゴニストとしての BBG にはこれまで様々な可能性が示唆されており、これまで我々も網膜の神経保護作用に関する研究を行ってきており、さらなる可能性へむけての研究を模索してきた。

## 2. 研究目的

我々はこれまで、より安全性の高い手術アジュバントである BBG を見出し、その臨床応用に成功した。そこで本研究では、本剤のさらなる可能性、安全性と有効性の確立を目指し、適応拡大を目的とした医師主導治験、硝子体手術用の画期的な観察系（システム）の開発を行うと同時に、BBG の薬理作用に着目した術中染色以外のさらなるあたらしい可能性の検討についての発展的研究を包括的に行うことを目的とした。

## 3. 研究の方法

(1) 白内障手術時の水晶体前嚢染色を目的とした医師主導治験

本研究では、これまで行ってきた内境界膜染色の医師主導治験の結果をふまえ<sup>1</sup>、難治性白内障への適応拡大を目的として、新たな医師主導治験を構築する。白内障手術のうち、成熟白内障、水晶体皮質の混濁の高度な白内障、角膜混濁を有する白内障、硝子体出血や混濁を伴う白内障など徹照法などの通常の術式では水晶体前嚢の視認が困難な白内障を有し、白内障手術の際に染色性手術補助剤を用いた前嚢染色による前嚢切開が必要な 20 歳以上の男性あるいは閉経後 2 年以上の女性を対象とし、BBG250 による染色の有効性を評価する非対照単群オープン多施設共同医師主導治験を実施する。主要評価項目は、効果判定委員会による染色前後の映像による可視化の程度の中央評価とし、参加施設は 7 施設、30 症例、観察期間術後 7 日間とした。

( 2 ) あたらしい硝子体手術用観察系の開発  
これまでの研究を基盤に、既存の広角観察システムとの併用が可能な各種フィルターの組み合わせからなる手術中の観察に用いるシステムユニットの設計と試作を行う。試作機を用い手術のシミュレーションを行い、機器の改良を行うと同時に医療機器の承認を目指す。

#### ( 3 ) BBG の薬理作用の探究

BBG の P2X7 アンタゴニストとしての可能性を検証する目的で、ぶどう膜炎に対する消炎効果の可能性に関して、P2X7KO マウスを含む実験的ぶどう膜炎モデル ( EAU ) を作製し、BBG による網膜の消炎効果の検討を行う。

EAU の病勢については臨床スコアと病理学的評価にて検討を行い、所属リンパ節由来 CD4+T 細胞の IRBP による増殖については BrdU ELISA にて検討を行った。Th1 と Th17 細胞への分化については所属リンパ節由来 CD4+T 細胞の IRBP 特異的 IFN- $\gamma$ 、IL-17 の産生をマーカーとした ELISA を行い、CD4+CD25+Foxp3+制御性 T 細胞の誘導の観察は ELISA と Flow cytometry を用いて行った。また BBG 投与による消炎効果は EAU の臨床スコアと IFN- $\gamma$  および IL-17 産生能の定量にて検討した<sup>2</sup>。

## 4 . 研究成果

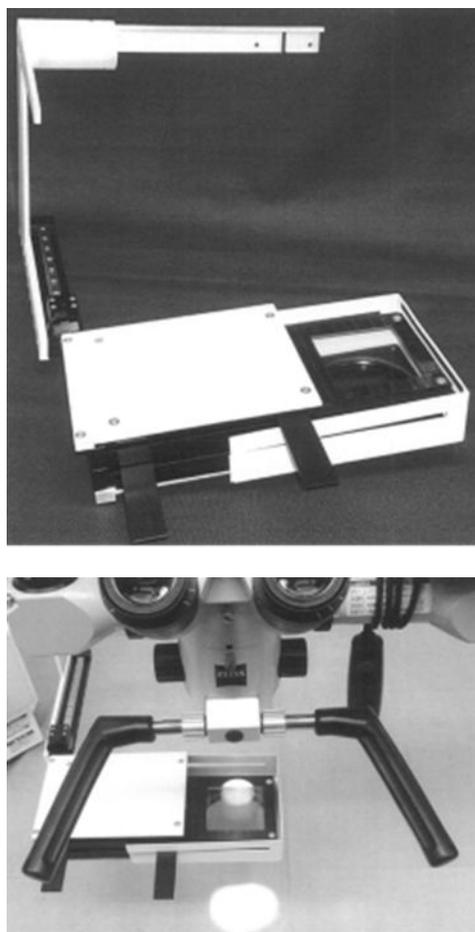
### ( 1 ) 白内障手術時の水晶体前囊染色を目的とした医師主導治験

本治験に関する企画・推進と治験実施における調整業務を行った。2017 年 5 月に PMDA 対面助言を完了し、治験実施計画書を最終化した。2017 年 7 月より順次各施設の治験審査委員会への申請・承認を経て 8 月に治験届を提出し、10 月より第 1 症例被験者が登録され、2018 年 4 月に全 30 症例の観察が完了した。今後は、2018 年 7 月までにデータ固定し、7 月に治験終了届、12 月に治験総括報告書完成を目指す。本剤については、すでに企業への導出

を完了しており、内境界膜染色と合わせ 2019 年の製造販売承認申請を目標とする。

( 2 ) あたらしい硝子体手術用観察系の開発  
既存の広角観察システムと共存可能な新たな観察システムの試作機を作製した ( 図 1 )。現在同機器を実験用手術顕微鏡に取り付け、様々な状況下において術中の視認性向上が得られる条件をその光学特性を含め検討を行っている。

図 1 試作した新たな観察系



新たなシステムは複数のフィルタユニットの組み合わせからなり、既存の広角観察システムに干渉せず手術用顕微鏡への取り付けが可能で、さらに折りたたみが可能なシステムとなっている。

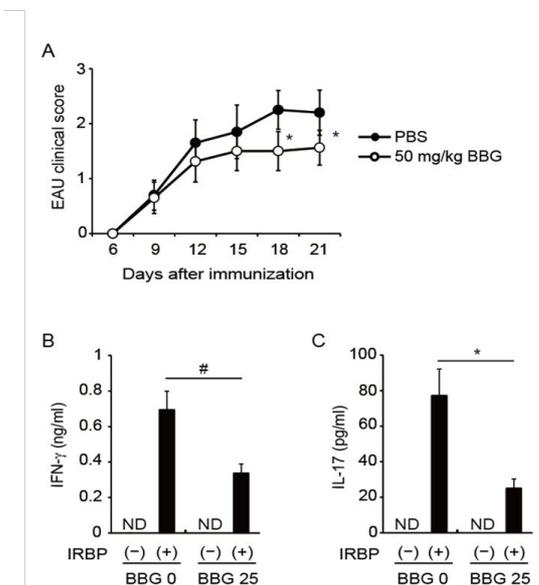
### ( 3 ) BBG の薬理作用の探究

P2X7+/+ ( Control ) と P2X7-/- マウスを用い EAU を誘導した。P2X7 受容体による EAU における CD4 陽性 T 細胞の増殖および Foxp3

陽性制御性 T 細胞の誘導を検討したがいずれも P2X7 受容体による関与は認められなかった。

P2X7 受容体は Th1 及び Th17 細胞の分化ではなく、活性化に関与した。また P2RX7 阻害薬である BBG は EAU を抑制したことから P2X7 受容体の活性化抑制がぶどう膜炎治療の標的となる可能性が示唆された<sup>2</sup>。

図 2 BBG による実験的 EAU の抑制効果



A: BBG 投与による EAU 所見の経時変化

B, C: BBG 投与により IFN-γ および IL-17 産生は抑制される

(文献 2 を改編)

### 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) 本研究に関連したもののみ

[雑誌論文](計 5 件)

- 1) Takeda A, Yamada H, Hasegawa E, Arima M, Notomi S, Myojin S, Yoshimura T, Hisatomi T, Enaida H, Yanai R, Kimura K, Ishibashi T, Sonoda KH. Crucial role of P2X7 receptor for effector T cell activation in experimental autoimmune uveitis. Jpn J Ophthalmol. 62:398-406, 2018 査読有り

- 2) 江内田寛 組織可視化のための硝子体手術補助剤の変遷と現状 日本眼科学会雑誌 121: 789-802, 2017 総説

- 3) 江内田寛 網膜硝子体手術の新しいスタイル「補助剤(アジュバント)の進化」臨床眼科 71: 1840-1848, 2017 総説

- 4) 江内田寛, 平形 明人, 大路 正人, 西田 幸二, 久保田 敏昭, 緒方 奈保子, 園田 康平, 内山 麻希子, 岸本 淳司, 戸高 浩司, 中西 洋一, 石橋 達朗.

A0001(プリリアントブルー-G250)の内境界膜染色と剝離に対する有効性と安全性の検討 多施設共同第 III 相医師主導試験. 日眼会誌. 120: 439-448, 2016 査読有り

- 5) 石橋達朗, 江内田寛 トランスレーショナルリサーチの実践と問題点 日本白内障学会誌. 1: 76-78, 2016 総説

[学会発表](計 2 件)

- 1) 江内田寛 プリリアントブルー-G(BBG250)による内境界膜染色・剝離術 革新的医療技術創出拠点プロジェクト平成 28 年度成果報告会 東京 3. 3, 2017
- 2) 江内田寛 より安全な硝子体手術実現のために～研究開発の実践と研究支援体制～: 第 185 回埼京眼科学術集会特別講演 川越市 4.4, 2015

[図書](計 3 件)

- 1) 江内田寛 「飛蚊症」 今日の治療指針 2017, 1447-1448, 2017. 医学書院
- 2) 江内田寛 黄斑上膜 眼科疾患最新の治療 2016-2018 後眼部疾患 201 南江堂. 東京 2016
- 3) 江内田寛 自身の研究成果を臨床応用(実用化)するには: 眼科研修ノート 改定第 2 版, 454-457 診療と治療社. 東京 2015

### 6. 研究組織

(1) 研究代表者

江内田 寛 (ENAIIDA, Hiroshi)  
佐賀大学医学部眼科学講座・教授  
研究者番号: 00363333

(2) 連携研究者

石橋 達朗 (ISHIBASHI, Tatsuro)  
九州大学病院・病院長  
研究者番号: 30150428