

平成 30 年 5 月 18 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K12890

研究課題名(和文)自己展開するインジェクタブル薬剤徐放シートの開発

研究課題名(英文)Development of a self-deploying and injectable drug release sheet

研究代表者

梶 弘和 (Kaji, Hirokazu)

東北大学・工学研究科・准教授

研究者番号：70431525

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：体内で自己展開し、バイオ医薬品を持続的に徐放可能な薬剤徐放シートの開発を検討した。モデル薬剤を含浸させたコラーゲン微粒子をPoly(ethylene glycol) dimethacrylate (PEGDM) から成るシートに包埋することで、初期バーストを低減させた持続的な薬剤徐放を可能にした。捲回状態の薬剤徐放シートをシリンジ針から水中に射出することで、水膨潤を利用した曲げ応力緩和による自己展開が可能であった。当薬剤徐放シートは、患部への低侵襲移植と局所薬剤徐放性に優れており、治療効果の向上と副作用の低減が見込め、特に網膜疾患治療に向けた展開が期待できる。

研究成果の概要(英文)：A sheet-type device capable of self-deployment and sustained release of protein type drugs. The device consisted of a thin photopolymerized polyethylene glycol dimethacrylate (PEGDM) sheet and collagen microparticles (COLs), which were embedded in the sheet as drug carriers and for increased drug permeation. Since protein type drugs electrostatically interacted with the COLs, a prolonged sustained release was possible. The PEGDM/COLs device was flexible enough to be rolled up. When the device was immersed in water, the attractive forces acting between the sheet surfaces were relieved by water. Subsequently, the device unfolded by bending-stress relaxation. Moreover, the rolled-up device could be injected through a conventional syringe needle into water to recover its original shape. The developed sheet-type device provides the possibility of minimally invasive transplantation into diseased tissues, and could provide better therapeutic outcomes and reduce possible side effects.

研究分野：バイオ工学

キーワード：薬物送達システム

1. 研究開始当初の背景

近年のバイオ医薬品の研究開発の進歩に伴い、多くのタンパク質製剤や核酸医薬品が開発され、従来では治療が困難であった様々な疾患の治療に利用されている。しかし、タンパク質製剤は分子量が非常に大きく、消化管で分解されてしまうために経口摂取することができない。また、核酸医薬品の場合は短時間のうちに酵素により分解されてしまう。そのため、バイオ医薬品においては患部への送達方法が課題として存在している。例えば、バイオ医薬品を搭載した DDS 微粒子は注射針による血管内への注入が可能であるが、局所徐放性が低いという問題がある。DDS シートは患部に直接貼り付けることができるため局所徐放性に優れるが、体内留置に際して切開・縫合が必要であり侵襲性が高いという課題を有する。

2. 研究の目的

本研究では、柔軟な薬剤徐放シートに自己展開機能を付与し、注射針等の細管で体内にインジェクション可能な DDS を開発する。薬剤徐放シートは、薬剤を含浸させた微粒子を生分解性高分子から成るシートに包埋することで作製する。これにより、初期バーストを低減させた長期間の薬剤徐放を可能とする。薬剤徐放シートに付与する自己展開機構としては、シートをハイドロゲルで作製し、乾燥した状態で体液中に射出することでゲルの膨潤力を利用してシートを展開させる。

3. 研究の方法

薬剤徐放シートは、生体適合性の高い材料として知られている Poly(ethylene glycol) dimethacrylate (PEGDM, Mn 750) と生体由来の高分子であるコラーゲンをを用いて作製した。PEGDM を薄膜とし、PEGDM 中に薬剤を含浸させたコラーゲンマイクロスフィア (COLs) を包埋した。PEGDM を薄膜にすることで柔軟性を付与し、生体組織に対する追従性及び吸着性を向上させている。本研究においては作製したシートをラットの強膜上に留置し、蛍光標識したアルブミンを徐放させることで眼科領域への応用を検討した。

4. 研究成果

薬剤徐放シートは、高分子から成る厚さ数十ミクロンのシートに薬剤を含浸させた微粒子を包埋することで構成される。本研究で想定している薬剤は、抗 VEGF 抗体等の数十 kDa 以上の高分子医薬品であり、これらの薬剤分子の微粒子内での拡散係数がシート基材である高分子内での拡散係数より十分大きくなるようにデバイスを設計することで、薬剤分子はシート内でネットワークを形成した微粒子内を拡散して最終的にシート表面に露出した微粒子からシート外に放出される。まず、蛍光標識した COLs を包埋させた PEGDM シートの蛍光顕微鏡観察を行ったと

ころ、シート内に COLs が均一に分布している様子が観察され、拡大イメージから相互接続した COLs の存在が確認できた。また、シート断面のイメージから、Z 軸方向にも COLs が相互接続している様子が確認された。さらに、シート表面の電子顕微鏡イメージから、COLs が部分的にシート表面から露出していることが観察された。

次に、薬剤徐放シートの自己展開性を検討した。シートはピンセットで容易にハンドリングできる程度の機械的強度を備えており、また、捲回させるのに十分柔軟であり、シート表面間に作用するファンデルワールス力により捲回状態を維持することができた。ガラス棒に捲き付けたシートを水中に浸漬させると、時間の経過とともにシートがガラス棒から展開し元の形状に戻ることが観察された。これは水分子がシート高分子内に浸透して高分子が膨潤し、シート表面間に作用していたファンデルワールス力が解放されることで曲げ応力が緩和されることによるものである。また、二つ折りや四つ折りにしたシートも水中で元の形状に展開させることができ、捲回状態のシートをシリンジ針から水中に射出することで自己展開させることも可能であった。予備検討の段階であるが、ウサギ結膜下のスペースにシリンジ針からシート型デバイスを射出させ、強膜上に展開できることも確認している。

続いて、Ranibizumab (Lucentis) 等の抗 VEGF 抗体の薬剤徐放シートからの徐放性を検証するために、同程度の分子量を有するモデル薬剤 (FITC-albumin) を用いて徐放試験を行った。シート及び COLs 単独からのモデル薬剤の徐放プロファイルと比較すると、シートからの徐放プロファイルが初期バーストが低減されており、より線形的であることが確認できた。これは、モデル薬剤がシート内でネットワークを形成した微粒子内を拡散して最終的にシート表面に露出した微粒子からシート外に放出されるため、COLs 単独の場合に比べて平均拡散距離が長くなるためであると考えられる。さらに、モデル薬剤の 1 日当たりの徐放量であるが、シートにおいては 1 か月以上に渡って 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上であった。例えば、Ranibizumab の *in vitro* 及び *in vivo* での有効濃度は約 100 ng/mL と報告されており、薬剤徐放シートを患部に移植することで数か月に渡って局所的に有効濃度を維持することが可能であると示唆された。

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)

〔雑誌論文〕(計 15 件)

(1) Taro Kondo, Zhaleh Kashkouli Nezhad, Jin Suzuki, Nobuhiro Nagai, Matsuhiko Nishizawa, Toshiaki Abe, Hirokazu Kaji, "A self-deploying drug release device

- using polymeric films” *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.* 106, 780-786 (2018). 査読有
doi:10.1002/jbm.b.33887
- (2) Nobuhiro Nagai, Shinji Yamada, Junichi Kawasaki, Eri Koyanagi, Saaya Saijo, Hirokazu Kaji, Matsuhiko Nishizawa, Toru Nakazawa, Toshiaki Abe, “Pharmacokinetic and safety evaluation of a transscleral sustained unoprostone release device in monkey eyes” *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 59, 644-652 (2018). 査読有
doi:10.1167/iovs.17-22429
- (3) Kuniaki Nagamine, Hirotaka Sato, Hiroyuki Kai, Hirokazu Kaji, Makoto Kanzaki, Matsuhiko Nishizawa, “Contractile skeletal muscle cells cultured with a conducting soft wire for effective, selective stimulation” *Sci. Rep.* 8, 2253 (2018). 査読有
doi:10.1038/s41598-018-20729-y
- (4) Yuanhui Song, Nobuhiro Nagai, Saaya Saijo, Hirokazu Kaji, Matsuhiko Nishizawa, Toshiaki Abe, “In situ formation of injectable chitosan-gelatin hydrogels through double crosslinking for sustained intraocular drug delivery” *Mater. Sci. Eng. C* 88, 1-12 (2018). 査読有
doi:https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.02.022
- (5) Li-Jiun Chen and Hirokazu Kaji, “Modeling angiogenesis with micro- and nanotechnology” *Lab Chip* 17, 4186-4219 (2017). 査読有
doi: 10.1039/C7LC00774D
- (6) Shinji Yamada, Nobuhiro Nagai, Saaya Saijo, Hirokazu Kaji, Matsuhiko Nishizawa, Kozoe Imura, Masafumi Goto, Toshiaki Abe, “Controlled basic fibroblast growth factor release device made of poly(ethyleneglycol) dimethacrylates for creating a subcutaneous neovascular bed for cell transplantation” *J. Biomed. Mater. Res. A* 105A, 3017-3024 (2017). 査読有
doi:10.1002/jbm.a.36153
- (7) Hirokazu Kaji, Nobuhiro Nagai, Matsuhiko Nishizawa, Toshiaki Abe, “Drug delivery devices for retinal diseases” *Adv. Drug Deliv. Rev.* (Epub ahead of print, 2017). 査読有
doi:https://doi.org/10.1016/j.addr.2017.07.002
- (8) Li-Jiun Chen, Shuntaro Ito, Hiroyuki Kai, Kuniaki Nagamine, Nobuhiro Nagai, Matsuhiko Nishizawa, Toshiaki Abe, Hirokazu Kaji, “Microfluidic co-cultures of retinal pigment epithelial cells and vascular endothelial cells to investigate choroidal angiogenesis” *Sci. Rep.* 7, 3538 (2017). 査読有
doi:10.1038/s41598-017-03788-5
- (9) Jin Suzuki, Nobuhiro Nagai, Matsuhiko Nishizawa, Toshiaki Abe, Hirokazu Kaji, “Electrochemical manipulation of cell populations supported by biodegradable polymeric nanosheets for cell transplantation therapy” *Biomater. Sci.* 5, 216-222 (2017). 査読有
doi:10.1039/c6bm00852f
- (10) Nobuhiro Nagai, Yasuko Izumida, Yoshimasa Yamazaki, Hirokazu Kaji, Junichi Kawasaki, Matsuhiko Nishizawa, Toshiaki Abe, “Physicochemical and biological characterization of sustained isopropyl unoprostone-release device made of poly(ethyleneglycol) dimethacrylates” *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 28, 107 (2017). 査読有
doi:10.1007/s10856-017-5919-2
- (11) Serge Ostrovidov, Samad Ahadian, Javier Ramon-Azcon, Vahid Hosseini, Toshinori Fujie, S. Prakash Parthiban, Hitoshi Shiku, Tomokazu Matsue, Hirokazu Kaji, Murugan Ramalingam, Hojae Bae, Ali Khademhosseini, “Three-dimensional co-culture of C2C12/PC12 cells improves skeletal muscle tissue formation and function” *J. Tissue Eng. Regen. Med.* 11, 582-595 (2017). 査読有
doi:10.1002/term.1956
- (12) Nobuhiro Nagai, Eri Koyanagi, Yasuko Izumida, Junjun Liu, Aya Katsuyama, Hirokazu Kaji, Matsuhiko Nishizawa, Noriko Osumi, Mineo Kondo, Hiroko Terasaki, Yukihiko Mashima, Toru Nakazawa, Toshiaki Abe, “Long-term protection of genetically ablated rabbit retinal degeneration by sustained transscleral unoprostone delivery” *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 57, 6527-6538 (2016). 査読有
doi:10.1167/iovs.16-20453
- (13) Kuniaki Nagamine, Shun Chihara, Hiroyuki Kai, Hirokazu Kaji, Matsuhiko Nishizawa, “Totally shape-conformable electrode/hydrogel composite for on-skin electrophysiological measurements” *Sens. Actuator B-Chem.* 237, 49-53 (2016). 査読有
doi:https://doi.org/10.1016/j.snb.2016.06.076
- (14) Nobuhiro Nagai, Satoru Iwata, Hirokazu Kaji, Kaori Sampei, Yuki Katsukura, Hideyuki Onami, Matsuhiko Nishizawa, Toru Nakazawa, Yukihiko Mashima, Toshiaki Abe, “Protective effects of sustained unoprostone delivery against retinal degeneration in S334ter rhodopsin mutant rats” *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.* 104, 1730-1737

(2016). 査読有

doi:10.1002/jbm.b.33522

(15)Yuina Abe, Kuniaki Nagamine, Mayu Nakabayashi, Hiroyuki Kai, Hirokazu Kaji, Takeshi Yamauchi, Kenshi Yamasaki, Matsuhiko Nishizawa,

“Minimally-invasive transepidermal potentiometry with microneedle salt bridge” *Biomed. Microdevices* 18, 55 (2016). 査読有

doi:10.1007/s10544-016-0080-0

〔学会発表〕(計 18 件)

(1)鈴木 仁, 永井展裕, 西澤松彦, 阿部俊明, 梶 弘和, “生分解性高分子を用いた細胞・ナノ薄膜複合体の電気学的マニピュレーション” 第 39 回日本バイオマテリアル学会大会, 船堀, 2017 年 11 月 20, 21 日

(2)佐藤悠人, 鈴木 仁, 永井展裕, 西澤松彦, 阿部俊明, 梶 弘和, “低侵襲な体内送達を可能とする多層構造を利用した自己展開型薬剤徐放シートの開発” 第 39 回日本バイオマテリアル学会大会, 船堀, 2017 年 11 月 20, 21 日

(3)鈴木 仁, 永井展裕, 西澤松彦, 阿部俊明, 梶 弘和, “細胞移植治療のための細胞・ナノ薄膜複合体の電気化学的マニピュレーション” 第 33 回日本 DDS 学会学術集会, 京都, 2017 年 7 月 6, 7 日

(4)Jin Suzuki, Nobuhiro Nagai, Matsuhiko Nishizawa, Toshiaki Abe, Hirokazu Kaji, “Electrochemical manipulation of living cells supported by biodegradable polymeric nanosheets for cell transplantation therapy” 2017 BMES Annual Meeting, Phoenix, Arizona, USA, Oct. 11-14, 2017.

(5)佐藤悠人, 鈴木 仁, 永井展裕, 西澤松彦, 阿部俊明, 梶 弘和, “多層構造を利用した自己展開型薬剤徐放デバイスの開発” 化学とマイクロ・ナノシステム学会第 35 回研究会, 東京工業大学, 2017 年 5 月 22, 23 日

(6)Hirokazu Kaji, Taro Kondo, Zhaleh Kashkouli Nezhad, Jin Suzuki, Nobuhiro Nagai, Toshiaki Abe, “Development of a self-deploying drug release device” 2017 Annual Meeting of the Society For Biomaterials, Minneapolis, MN, USA, Apr. 4-8, 2017.

(7)近藤太郎, Zhaleh Kashkouli Nezhad, 陳俐君, 鈴木 仁, 永井展裕, 西澤松彦, 阿部俊明, 梶 弘和, “自己展開型薬剤徐放シートの網膜疾患治療への応用” 日本バイオマテリアル学会シンポジウム 2016, 福岡国際会議場, 2016 年 11 月 21, 22 日

(8)梶 弘和, “マイクロ・ナノ技術の開発と眼科領域における医工連携”, *みちのく分析科学シンポジウム 2016*, 仙台, 2016 年 10 月 22 日

(9)Taro Kondo, Zhaleh Kashkouli Nezhad, Jin Suzuki, Nobuhiro Nagai, Matsuhiko Nishizawa, Toshiaki Abe, Hirokazu Kaji, “Drug delivery system using injectable polymeric nanosheets” PRiME 2016, Honolulu, Hawaii, USA, Oct. 2-7, 2016.

(10)Jin Suzuki, Taro Kondo, Nobuhiro Nagai, Matsuhiko Nishizawa, Toshiaki Abe, Hirokazu Kaji, “Electrochemical manipulation of living cells supported by polymeric nanosheets” PRiME 2016, Honolulu, Hawaii, USA, Oct. 2-7, 2016.

(11)梶 弘和, “高分子デバイスを用いる薬剤・細胞デリバリー”, 日本バイオマテリアル学会東北地域講演会, 仙台, 2016 年 9 月 26 日

(12)Hirokazu Kaji, Jin Suzuki, Matsuhiko Nishizawa, Nobuhiro Nagai, Toshiaki Abe, “Injectable polymeric nanosheets for subretinal cell delivery” IEEE NANO 2016, Sendai, Japan, Aug. 22-25, 2016.

(13)近藤太郎, Zhaleh Kashkouli Nezhad, 陳俐君, 鈴木 仁, 永井展裕, 西澤松彦, 阿部俊明, 梶 弘和, “自己展開型薬剤徐放シートの眼科領域への応用” 第 32 回日本 DDS 学会学術集会, 静岡, 2016 年 6 月 30 日, 7 月 1 日

(14)Hirokazu Kaji, Taro Kondo, Jin Suzuki, Nobuhiro Nagai, Toshiaki Abe, “Cell delivery system using injectable polymeric films” 10th World Biomaterials Congress, Montreal, Canada, May 17-22, 2016.

(15)Taro Kondo, Zhaleh Kashkouli Nezhad, Li-Jiun Chen, Jin Suzuki, Nobuhiro Nagai, Matsuhiko Nishizawa, Toshiaki Abe, Hirokazu Kaji, “Development of self-deployment and drug release polymeric film device” 10th World Biomaterials Congress, Montreal, Canada, May 17-22, 2016.

(16)梶 弘和, “マイクロ・ナノ技術を用いた細胞操作と医工領域への展開” 化学とマイクロ・ナノシステム学会第 33 回研究会, 東京, 2016 年 4 月 25, 26 日

(17)近藤太郎, Zhaleh Kashkouli Nezhad, 鈴木 仁, 陳俐君, 永井展裕, 西澤松彦, 阿部俊明, 梶 弘和, “インジェクション可能な薬剤徐放シートの眼科領域への応用” 化学とマイクロ・ナノシステム学会第 33 回研究会, 東京, 2016 年 4 月 25, 26 日

(18)Hirokazu Kaji, “Cell and drug delivery systems for retinal diseases” EMN Meeting on Biomaterials, Phuket, Thailand, April 4-7, 2016.

〔図書〕(計 1 件)

(1)Nobuhiro Nagai, Hirokazu Kaji, Matsuhiko Nishizawa, Toru Nakazawa, Toshiaki Abe, “Transscleral controlled

delivery of geranylgeranylacetone using a polymeric device protects rat retina against light injury” In Retinal Degenerative Diseases, Advances in Experimental Medicine and Biology, vol 854. C. B. Rickman, M. M. LaVail, R. E. Anderson, C. Grimm, J. G. Hollyfield, J. D. Ash, Eds. (Springer, 2016), pp. 471-477.

〔産業財産権〕

出願状況（計 1 件）

名称：細胞・薄膜複合体の製造技術
発明者：梶 弘和，鈴木 仁，永井展裕，阿部俊明
権利者：国立大学法人東北大学
種類：特許
番号：特願 2016-086455
出願年月日：2016 年 4 月 22 日
国内外の別：国内

6. 研究組織

(1)研究代表者

梶 弘和 (KAJI, HIROKAZU)
東北大学・大学院工学研究科・准教授
研究者番号：70431525

(2)研究分担者

阿部 俊明 (ABE, TOSHIAKI)
東北大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号：90191858