

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 5 月 29 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K12640

研究課題名(和文) 拡張性DDSプラットフォームによる加齢黄斑変性治療法イノベーション

研究課題名(英文) Innovation of age-related macular disease treatment by a scalable DDS platform

研究代表者

永井 展裕 (Nagai, Nobuhiro)

東北大学・医学系研究科・助教

研究者番号：30400039

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は後眼部に容易に着脱可能で長期間持続的に薬剤投与が可能な薬剤徐放デバイスを開発し安全で確実な治療法を開発することを目的とした。5種類の候補薬の徐放化を検討し、そのうち長期の徐放化を達成した1種類の薬物について、In vitro細胞培養と動物実験による新生血管抑制評価を検討した。その結果、薬物徐放デバイスは血管内皮細胞の増殖をIn vitroで抑制した。しかし、ラット後眼部投与実験ではレーザー誘導脈絡膜新生血管を抑制することができなかった。ウサギ後眼部投与実験で網膜への薬物移行が不十分であることが示唆された。以上から、網膜への薬物移行を改善する薬物放出条件の探索が今後の課題である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高齢化長寿社会の到来とともに難治性網膜疾患の罹患者は世界的に増加の一途にあり、中でも加齢黄斑変性症は高齢化で将来の失明原因1位が予測されており治療法開発は喫緊の課題である。現状の治療法は眼内に侵襲的で、視力維持には毎月の眼内注射が必要なため通院や高額な医療費など患者への負担は大きい。本研究は眼内に長期間薬剤投与が可能な薬剤徐放デバイスを開発し安全で確実な治療法を開発することを目的とした。その結果、薬物徐放デバイスは完成し細胞培養レベルで有効性を認めたが、動物実験では有効性を得ることができなかった。網膜に薬物が到達するまでのバリアを理解し、薬物放出性の改善をすることが今後の課題である。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to develop a drug delivery device that can be easily placed or detached from the posterior segment of the eye, allowing for long-term sustained drug delivery without invasive procedures. Five candidate drugs with different mechanisms of action from conventional VEGF inhibitors were evaluated for their sustained release potential, and one drug that achieved long-term sustained release was selected for evaluation of its anti-angiogenic effect using in vitro cell culture and animal experiments. The results showed that the drug delivery device inhibited the proliferation of endothelial cells in vitro. However, in rat experiments, it was unable to inhibit laser-induced choroidal neovascularization. In rabbit experiments, insufficient drug transfer to the retina was suggested. Therefore, exploring drug release conditions to improve drug transfer to the retina is a future challenge.

研究分野：生体材料学、薬物送達学、眼科学

キーワード：薬物送達 網膜 後眼部 加齢黄斑変性症 新生血管 脈絡膜

1. 研究開始当初の背景

高齢化長寿社会の到来とともに難治性網膜疾患の罹患者は世界的に増加の一途にあり、視力低下や失明による QOL の低下や介護負担による経済的損失は大きくなっている。中でも加齢黄斑変性症は高齢化で将来の失明原因 1 位が予測されており治療法開発は喫緊の課題である。

現状の治療法である抗 VEGF 剤の硝子体注射は下記に列挙したように眼内へ侵襲性や毎月の注射のための通院や高額な医療費など患者への身体的負担や経済的負担が大きい。

- イ) 硝子体内 (眼内) への投与は施術に伴う感染症等、眼内への副作用リスクがある
- ロ) 視力を維持するためには毎月の抗 VEGF 剤の眼内投与が必要である
- ハ) 毎月の通院にかかる身体的負担や保険適用でも約 5 万円の医療費負担は大きい
- ニ) 抗 VEGF 剤に対してノンレスポonder がいる
- ホ) VEGF を完全に阻害すると血管の恒常性維持などに副作用を生じる
- ヘ) 抗 VEGF 剤のような生物学的製剤は低分子化合物と比較して長期の安定性が低い

本研究は、後眼部に容易に着脱可能で長期間持続的に薬剤投与が可能な薬剤徐放デバイスを開発し、眼内侵襲をなくした安全で確実な治療法を開発する。抗 VEGF 剤に代表される抗体医薬は高分子量でかつ薬物の安定性が悪いことから長期徐放化には不向きであるため、今後期待されている低分子治療薬を徐放化し、侵襲的な投与方法と網膜送達性を解決して治療法をイノベーションする。

2. 研究の目的

本研究は眼球上に留置する安全な投与方法で長期にわたり薬剤を徐放する薬物徐放デバイス (経強膜 DDS) を開発し、抗 VEGF 剤よりも安定性が高く網膜送達性の高い低分子治療薬を徐放化して、安全で確実な加齢黄斑変性症治療にイノベーションすることを目的とした。

基材は光硬化性樹脂のトリエチレングリコールジメタクリレート (TEGDM) とポリエチレングリコールジメタクリレート (PEGDM) を使用する。これらは歯科用材料として長年使用されており、生体分解性がなく安全で安定性が高い。分子鎖の長い PEGDM と短い TEGDM の混合比を変えることによって PEGDM/TEGDM ポリマーのメッシュサイズを変更して低分子化合物の放出量を制御できることをこれまでに見出している。この拡張性の高い薬物徐放プラットフォームを用いて、加齢黄斑変性症治療が期待されている低分子治療薬を徐放化する。

低分子治療薬は企業から MTA 提供されるもので、すでに細胞培養や動物実験レベルで治療効果が確認されているものである。従来 VEGF 阻害薬とは異なる作用機序を持ち、安定な低分子であることから長期の徐放化に向いており、網膜送達性も高分子の抗 VEGF 剤よりも優れているため、世界初の加齢黄斑変性症に対する低分子薬徐放剤の開発を目指す。

3. 研究の方法

1 年目は、従来 VEGF 阻害薬とは異なる作用機序を持つ 5 種類の低分子候補薬の徐放化を検討した。光硬化性樹脂の組成比を TEGDM:PEGDM = 20 : 80 から 60 : 40 まで調整したブレポリマーと薬物を混合して、専用の鋳型にキャストして、紫外線照射で硬化してデバイスを作成した。また、2 剤を同時に搭載できる徐放デバイスプラットフォームを用いて、2 剤の同時徐放を検討した。薬物の放出性は高速液体クロマトグラフィーを用いて測定した。

2 年目は、1 年目に検討した 5 種類の候補薬からマルチキナーゼ阻害薬を選択して、長期徐放

性の安定性を3ロット以上確認することを検討した。徐放性は、TEGDMとPEGDMの組成比を変えた3パターンを作成した。また、保存安定性を確認するために、各ロットを加速条件の40/75%RHに1か月間保存後に徐放性を評価した。次に高放出口ット(約3.5 µg/day)を用いて、細胞培養実験によるIn vitro新生血管抑制評価を検討した。血管内皮細胞(HUVEC)を培養後、徐放デバイスをカルチャーインサートに入れて共培養し、7日後にCD31免疫染色によってHUVECのキャピラリー形成面積を画像解析ソフトによって定量した。

3年目は、2年目に検討したラット用のマルチキナーゼ阻害薬のDDS条件を用いて、ラットの網膜脈絡膜新生血管(CNV)に対するIn vivo新生血管抑制効果を検討した。埋植用のDDSの徐放条件は2年目に検討した約1 µg/day、約2 µg/day、約3.5 µg/dayの3種類を使用した。またネガティブコントロールとして薬剤を含まないプラセボDDS、ポジティブコントロールとしてベタメタゾンの硝子体注射を使用した。DDSをラットの強膜上に留置後14日目に眼底レーザー照射装置を用いて網膜下に脈絡膜新生血管を作成した。その2日後に眼球を摘出して網膜フラットマウントを作成し、蛍光ラベルした網膜血管の面積をイメージングソフトで解析した。また、ウサギを用いて薬剤の網膜への移行性を評価した。埋植16日後の網膜、脈絡膜/網膜色素上皮、強膜の各ホモジネートの薬物濃度を高速液体クロマトグラフィーで測定した。

4. 研究成果

1年目は、従来のVEGF阻害薬とは異なる作用機序を持つ5種類の低分子候補薬の徐放化を検討した。光硬化性樹脂の組成比をTEGDM:PEGDM=20:80から60:40まで調整した結果、TEGDM:PEGDMの組成によって、各候補薬物の放出性を様々にコントロールできることがわかった。PEGDM比が高いほど放出速度が速くなる傾向を示したが、放出性のバラつきも大きくなる傾向があった。最も放出速度を抑制できる条件では、6か月間以上にわたって放出が継続していた。また、2剤の同時徐放を検討した結果、脂溶性に近い候補薬を組み合わせることで2剤同時に放出する徐放デバイスを作成することができた。

2年目は、マルチキナーゼ阻害薬の長期徐放性の安定性を3ロット以上確認することを検討した。TEGDMとPEGDMの組成比を変えた3パターンを作成した結果、ラット埋植用の小型DDSにおいて、約1 µg/day、約2 µg/day、約3.5 µg/dayの3種類を3ロット以上安定して製造することができた。また、保存安定性を検討した結果、加速条件保存後においても保存前と同じ放出性を示した。次に高放出口ット(約3.5 µg/day)を用いて、細胞培養実験によるIn vitro新生血管抑制評価を検討した結果、徐放デバイス群ではVEGFで誘発されるHUVECのキャピラリー形成を抑制した。以上から、徐放デバイスの安定性とIn vitro薬効を評価した。

3年目は、ラット用のマルチキナーゼ阻害薬のDDSを用いて、In vivo新生血管抑制効果を検討した。その結果、ポジティブコントロールではCNV面積の低下が見られたが、DDS処置群ではプラセボDDS対比CNV面積の低下は見られなかった。そこで、ウサギを用いて薬剤の網膜への移行性を評価した結果、脈絡膜で薬物を認めたが、網膜では検出できなかった。以上から、網膜への薬物移行を改善するDDS条件の探索が必要と考えられた。

本研究では、新生血管抑制効果のある低分子薬物の徐放化に成功し、In vitro細胞培養では薬効を認めたが、動物実験では薬効を認めなかった。強膜を介して網膜に薬物が届くまでには、脈絡膜の血流による薬物クリアランスと、網膜色素上皮による薬物透過性のバリアが存在するため、経強膜投与による網膜への薬物到達率を詳細に計算して、DDSの薬物放出量を決める必要があると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Nobuhiro Nagai, Reiko Daigaku, Remi Motoyama, Hirokazu Kaji, Toshiaki Abe	4. 巻 34(1)
2. 論文標題 Release of ranibizumab using a porous poly(dimethylsiloxane) capsule suppressed laser-induced choroidal neovascularization via the transscleral route	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Materials Science: Materials in Medicine	6. 最初と最後の頁 1-8
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10856-022-06705-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Nobuhiro Nagai
2. 発表標題 Polymeric Device for Transscleral Drug Delivery to the Posterior Segment of the Eye
3. 学会等名 JAPAN KOREA HONG KONG ONLINE JOINT OPHTHALMOLOGY MEETING 2021（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 永井展裕、阿部俊明
2. 発表標題 後眼部疾患に対する低侵襲な持続投与デバイスの開発と臨床応用
3. 学会等名 バイोजパン2021セミナー
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------