

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 8 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24390392

研究課題名(和文) 後眼部DDS強膜リングを用いたレニン-アンジオテンシン系制御による失明疾患治療

研究課題名(英文) A novel device for drug delivery to the posterior segment of the eye

研究代表者

石田 晋 (Ishida, Susumu)

北海道大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：10245558

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,000,000円

研究成果の概要(和文)：新しいドラッグデリバリーシステムとして結膜(強膜)リングデバイスの開発を行い、その安全性および有効性について検討した。デキサメタゾンリン酸エステルナトリウム(DSP)を含有する結膜リングをマウスおよび家兎に装着させたが、DSP含有結膜リングによる重篤な眼障害は認められなかった。また、ヒト用結膜リングの安全性が確認出来たことから、今後眼科領域における新たなドラッグデリバリーシステムデバイスになり得ると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We evaluated the safety of conjunctival rings (CR), a novel device for drug delivery to the posterior segment of the eye. Our data demonstrated that CR is safe for use in vivo. The use of CR has the advantage of avoiding several side effects that are associated with the existing implant devices, since removing the device from the ocular surface easily discontinues the drug therapy. Therefore, CR could be a new drug delivery device and safe approach in the treatment of posterior segment diseases such as age-related macular degeneration, diabetic macular edema and uveitis.

研究分野：眼科学

キーワード：ドラッグデリバリーシステム レニン・アンジオテンシン系

### 1. 研究開始当初の背景

わが国の失明原因として重要な眼疾患には、糖尿病網膜症・加齢黄斑変性・緑内障があり、さらにベーチェット病などの網膜ぶどう膜炎による若年者の中途失明も深刻な問題となっている。これら重篤な眼疾患の共通の特徴は、(1)失明に直結する病変の主座が後眼部にあり網膜神経病態かつ/または血管病態を伴うこと、(2)長期に経過する慢性疾患であることから副作用の少ない局所投与による継続治療が要求されることである。これらの疾患病態として、炎症・血管新生・神経変性(細胞死)があげられる。

しかしながら現在、眼科領域において神経保護治療は未だ確立されていない。したがって、網膜神経節細胞アポトーシスをきたす緑内障には眼圧降下を目的とした薬物治療のみが適用されている。さらに、網膜神経組織の機能障害を合併する糖尿病網膜症や加齢黄斑変性にも、神経保護的なアプローチは現在のところ存在せず抗血管新生療法が展開されている。糖尿病網膜症と加齢黄斑変性はそれぞれ網膜と脈絡膜から血管新生をきたし、共通の分子病態として血管内皮増殖因子(vascular endothelial growth factor: VEGF)が関与することから、VEGF 阻害薬の硝子体局所への反復投与(注射)が盛んに行われている。しかし、臨床の現場における抗VEGF 療法の大きな問題点として、(1)VEGF が関与する進行期病態での介入のため不可逆的な神経変性により視力改善に限界があること、(2)慢性疾患であるため、感染性眼内炎などのリスクを伴う硝子体注射の反復投与に終わりがみえないことがあげられる。

したがって、これら有効性と安全性に関連する問題点を解決するための戦略としては、(1)VEGF 発現より上流の分子病態に対する早期介入であり、(2)この分子ターゲットが神経細胞死・血管新生・炎症病態の抑制を可能とし、さらに(3)注射手技に依存することなく、必要に応じて安全に後眼部に薬剤を到達させるドラッグデリバリーシステム(DDS)の開発が必須と考えられる。

### 2. 研究の目的

わが国における失明原因の上位を占める眼疾患には、糖尿病網膜症・加齢黄斑変性・緑内障、さらにベーチェット病などの網膜ぶどう膜炎があり、新規治療の確立は社会的急務である。これら失明疾患の共通の特徴として、(1)網膜神経・血管病態を伴う後眼部疾患であること、かつ(2)長期に経過する慢性疾患であることがあげられる。

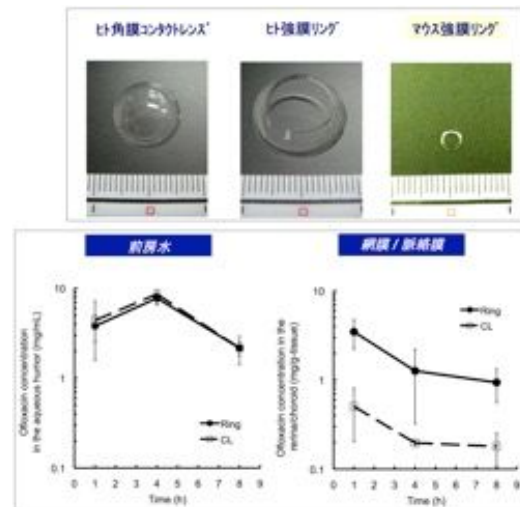
そこで本研究の目的は、(1)安全かつ有効な長期間にわたる後眼部への局所投与を実現するため、新しいドラッグデリバリーシステムとして結膜(強膜)リングデバイスを開発すること、(2)血管および神経病態の

双方に作用する薬剤としてステロイドを含有させた結膜リング療法の安全性および有効性につき前臨床試験を行うことである。

### 3. 研究の方法

(1)デキサメタゾンリン酸エステルナトリウム(DSP)を含有する結膜リングをマウスおよび家兔に装用させ、薬剤含有リングの眼局所における安全性について検討した。

C57BL/6J マウスに結膜リング(下図)を24時間装用させ、5%DSP群と基剤群(各群 n=6)の角膜フルオレセイン染色所見をMcDonald-Shadduck法を用いてスコアリングした。また白色家兔に結膜リングを1日12時間、8日間連日装用させ、2%DSP群、0.2%DSP群、基剤群およびデキサメタゾン点眼群(各群 n=4)について同様の方法で比較検討した。さらに、水晶体の変化および球結膜組織における炎症所見の有無を調べた。



(2)健常者に装用試験を行い、オキュラーサーフェスにおける安全性について検討した。

8例16眼を対象とし、内径と外径の規格が異なる2種類のヒト結膜リング(次項 図)をそれぞれ片眼に9時間連続装用した。装用前後でレフ・ケラト、視力、眼圧、角膜形状、角膜厚、角結膜上皮障害スコア、涙液層破砕時間(BUT)、シルマーテスト、涙液メニスカス、自覚症状について検討した。角結膜上皮障害スコアはドライアイ診断基準に基づいてスコアリングした。

### 4. 研究成果

(1)マウスの角膜染色スコアは全て2点以下であり、5%DSP群と基剤群に統計学的有意差を認めなかった。家兔の局所毒性スコアは1眼を除き全て1点以下であり、比較点眼群と差はなかった。また、結膜リン



グ装用した家兎において水晶体は全て正常所見を維持していた。球結膜組織においては、0.2%DSP群2眼に軽度炎症細胞浸潤が認められた。

DSP 含有結膜リングによる重篤な眼障害は生じず、安全性の高いDDDと考えられた。

(2) 2眼(12.5%)でリングの自然脱落が生じたが、14眼(87.5%)においては9時間連続装用が可能であった。異物感などが原因で装用不可となる症例はなかった。連続装用可能であった14眼においては、視力低下を来した例はなく、レフ・ケラト、眼圧、角膜形状、角膜厚、涙液メニスカスに有意な変化は認めなかった。フィッティングがフラットであった1眼においては角結膜上皮障害スコアが1点から4点、BUTが15秒から5秒と減少したが、翌日には改善していた。また、2眼(14.3%)でシルマー値が10秒以下に減少したが、数日後には改善していた。装用後に眼痛などを生じた例はなかった。

ヒト結膜リングは安全性が高く、今後眼科領域における新たなドラッグデリバリーシステムデバイスになり得ると考えられた。

##### 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22件)

- Dong Y, Dong Z, Kase S, Ando R, Fukuhara J, Kinoshita S, Inafuku S, Tagawa Y, Ishizuka ET, Saito W, Murata M, Kanda A, Noda K, Ishida S. Phosphorylation of alphaB-crystallin in epiretinal membrane of human proliferative diabetic retinopathy. *Int J Ophthalmol*. 査読有, in press
- Dong Y, Kase S, Dong Z, Fukuhara J, Tagawa Y, Ishizuka ET, Murata M, Shinmei Y, Ohguchi T, Kanda A, Noda K, Ishida S. Regulation of vascular endothelial growth factor-C by tumor necrosis factor- in the conjunctiva and pterygium. *Int J Mol Med*. 査読有, in press
- Dong Y, Noda K, Murata M, Yoshida S, Saito W, Kanda A, Ishida S. Localization of Acrolein-lysine adduct in fibrovascular tissues of proliferative diabetic retinopathy. *Curr Eye Res*. 査読有, in press
- Kinoshita S, Noda K, Saito W, Kanda A, Ishida S. Vitreous levels of vascular endothelial growth factor-B in proliferative diabetic retinopathy. *Acta Ophthalmol*. 査読有, Epub ahead of print, DOI:10.1111/aos.12969
- Inafuku S, Noda K, Amano M, Nishimura S, Ishida S. Increase of sialylated N-glycans in eyes with neovascular glaucoma secondary to proliferative diabetic retinopathy. *Curr Eye Res*. 査読有, 15巻, 2015, pp. 1-4, DOI:10.3109/02713683.2015.1068816
- Inafuku S, Noda K, Amano M, Ohashi T, Yoshizawa C, Saito W, Kanda A, Nishimura S, Ishida S. Alteration of N-glycan profiles in diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 査読有, 56巻, 2015, pp. 5316-5322, DOI:10.1167/iovs.15-16747
- Kanda A, Noda K, Ishida S. ATP6AP2/(pro) renin receptor contributes to glucose metabolism via stabilizing the pyruvate dehydrogenase E1  $\beta$  subunit. *J Biol Chem*. 査読有, 290巻, 2015, pp. 9690-9700, DOI:10.1074/jbc.M114.626713
- Kanda A, Noda K, Saito W, Ishida S. Aflibercept traps galectin-1, an angiogenic factor associated with diabetic retinopathy. *Sci Rep*. 査読有, 5巻, 2015, pp. 17946, DOI:10.1038/srep17946
- Morooka S, Hoshina M, Kii I, Okabe T, Kojima H, Inoue N, Okuno Y, Denawa M, Yoshida S, Fukuhara J, Ninomiya K, Ikura T, Furuya T, Nagano T, Noda K, Ishida S, Hosoya T, Ito N, Yoshimura N, Hagiwara M. Identification of a dual inhibitor of SRPK1 and CK2 that attenuates pathological angiogenesis of macular degeneration in mice. *Mol Pharmacol*. 88巻, 査読有, 2015, pp. 316-325, DOI: 10.1124/mol.114.097345
- Dong Z, Iwata D, Kitaichi N,

- Takeuchi M, Sato M, Endo N, Iwabuchi K, Ando R, Fukuhara J, Kinoshita S, Lennikov A, Kitamura M, Mizuuchi K, Kanda A, Noda K, Namba K, Yamagishi S, Ohno S, Ishida S. Amelioration of experimental autoimmune uveoretinitis by inhibition of glyceraldehyde derived- advanced glycation end product formation. *J Leukoc Biol*, 査読有, 96 巻, 2014, pp. 1077-1085, DOI: 10.1189/ jlb.3A0513-288RRR
11. Ishizuka ET, Kanda A, Kase S, Noda K, Ishida S. Involvement of the receptor-associated prorenin system in the pathogenesis of human conjunctival lymphoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 査読有, 56 巻, 2014, pp. 74-80, DOI: 10.1167/ iovs.14- 15743
  12. Ando R, Noda K, Namba S, Saito W, Kanda A, Ishida S. Aqueous humor levels of placental growth factor in diabetic retinopathy. *Acta Ophthalmol*. 査読有, 92 巻, 2014, pp. e245-246, DOI: 10.1111/aos.12251
  13. Fukuhara J, Kase S, Ohashi T, Ando R, Dong Z, Noda K, Ohguchi T, Kanda A, Ishida S. Expression of vascular endothelial growth factor C in human pterygium. *HistochemCell Biol*. 査読有, 139 巻, 2013, pp.381-389, DOI:10.1007/s00418-012-1019-z
  14. Fukuhara J, Noda K, Murata M, Namba S, Kinoshita S, Dong Z, Ando R, Lennikov A, Kanda A, Ishida S. Tissue kallikrein attenuates choroidal neovascularization via cleavage of vascular endothelial growth factor. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 査読有, 54 巻, 2013, pp.274-279, DOI:10.1167/ iovs.12-10512
  15. Kanda A, Ishida S. Vitreous renin-angiotensin system is mediated by soluble (pro)renin receptor in diabetic retinopathy: New implication of receptor-associated prorenin system. *Tw J Ophthalmol*. 査読有, 33 巻, 2013, pp. 51-53.
  16. Kanda A, Noda K, Saito W, Ishida S. Vitreous renin activity correlates with vascular endothelial growth factor in proliferative diabetic retinopathy. *Br J Ophthalmol*. 査読有, 97 巻, 2013, pp.666-668, DOI:10.1136/bjophthalmol-2012-302680
  17. Kanda A, Noda K, Yuki K, Ozawa Y, Furukawa T, Ichihara A, Ishida S. Atp6ap2/ (pro)renin receptor interacts with Par3 as a cell polarity determinant required for laminar formation during retinal development in mice. *J Neurosci*. 査読有, 33 巻, 2013, pp. 19341-19351, DOI:10.1523/JNEUROSCI.1362-13.2013.
  18. Kase S, Rao NA, Yoshikawa H, Fukuhara J, Noda K, Kanda A, Ishida S. Expression of vascular endothelial growth factor in eyes with Coats disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 査読有, 54 巻, 2013, pp. 57-62, DOI: 10.1167/ iovs.12-10613
  19. Noda K, Ishida S. Role of chronic inflammation in diabetic retinopathy. *Inflamm Regen*. 査読有, 33 巻, 2013, pp.230-237, <http://doi.org/10.2492/inflammregen.33.230>
  20. Ohguchi T, Kojima T, Ibrahim OM, Nagata T, Shimizu T, Shirasawa T, Kawakita T, Satake Y, Tsubota K, Shimazaki J, Ishida S. The effects of 2% rebapimide ophthalmic solution on the tear functions and ocular surface of the superoxide dismutase- 1 (Sod1) knockout mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 査読有, 54 巻, 2013, pp. 7793- 7802, DOI: 10.1167/ iovs.13-13128
  21. Dong Z, Kase S, Ando R, Fukuhara J, Kinoshita S, Dong Y, Takashina S, Kanda A, Noda M, Noda K, Ishida S. M Expression of alphaB- crystallin and vascular endothelial growth factor in conjunctival squamous cell carcinoma. *Anticancer Res*. 査読有, 33 巻, 2013, pp. 3745-3751, <http://ar.iiarjournals.org/content/33/9/3745.long>
  22. Dong Z, Noda K, Kanda A, Fukuhara J, Ando R, Murata M, Saito W, Hagiwara M, Ishida S. Specific inhibition of serine/ arginine- rich protein kinase attenuates choroidal neovascularization. *Mol Vis*. 査読有, 19 巻, 2013, pp. 536-543, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3611948/>
- [学会発表](計4件)
- Kinoshita S, Noda K, Atsumi I, Obata H, Matsunaga T, Ohguchi T, Kanda A, Ishida S. Evaluation of safety and tolerability of conjunctival ring. *Asia- ARVO2015*. 2015年02月16日～2015年02月19日. パシフィコ横浜(神奈川県・浜市) 田川義晃、大口剛司、野田航介、岩田

大樹、水内一臣、田川義継、石田 晋. BUT短縮型ドライアイの寒冷刺激によるシルマー試験の検討. 第 68 回日本臨床眼科学会. 2014 年 11 月 13 日～2014 年 11 月 16 日. 神戸ポートピアホテル(兵庫県神戸市)

Kinoshita S, Noda K, Takashina S, Dong Y, Atsumi I, Obata H, Matsunaga T, Ohguchi T, Kanda A, Ishida S. Safety evaluation of novel drug delivery device, the conjunctival ring. ARVO. 2014 年 05 月 04 日～2014 年 05 月 08 日. Florida(USA)

大口剛司、野田航介、木下哲志、神田敦宏、安枝真一、福島 努、石田 晋. ヒト結膜リングのオキュラーサーフェスにおける安全性の検討. 第 118 回日本眼科学会総会. 2014 年 04 月 02 日～2014 年 04 月 06 日. 東京国際フォーラム(東京都千代田区)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

石田 晋 (ISHIDA Susumu)

北海道大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：10245558

### (2) 研究分担者

小澤 洋子 (OZAWA, Yoko)

慶應義塾大学・医学部・講師

研究者番号：90265885

### (3) 連携研究者 なし