

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 13 日現在

機関番号：13501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462682

研究課題名(和文) バイオナノシートを用いた新しい眼科ドラッグデリバリーシステムの開発

研究課題名(英文) Development of new drug delivery systems in ophthalmology using bionanosheet

研究代表者

柏木 賢治 (KASHIWAGI, KENJI)

山梨大学・総合研究部・准教授

研究者番号：30194723

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：以下のようなシート性状を持ったバイオナノシートを開発し、眼科応用の可能性について検討した。1. アニオン膜とカチオン膜の交互積層膜、2. ポリ乳酸を用いたバイオナノシート、3. 上記2つのハイブリッド。これらのシートを用い眼組織への貼付、担持薬剤の放出とそのプロファイルを検討した。主な担持薬剤は、ラタノプロスト、マイトマイシンC、抗菌剤とし、眼圧下降、濾過手術の補助剤、創部閉鎖において有用性と安全性を検討した。その結果、担持薬の一定で長期な放出プロファイルを確認した。さらに濾過手術の成績を向上すること、バイオナノシートのみで角膜創部の閉鎖が得られることが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：We developed various types of bionanosheets and investigated the possibility of these for the following subjects; layer-by-layer structured bionanosheet from anion membrane and cation membrane, constructed from poly-lactic acid, and hybrid of these two bionanosheet. We investigated adhesive strength to the ocular tissues and drug releasing profile, of these bionanosheet. We investigated these bionanosheet regarding usefulness and safety in clinically applicable three fields; sustained intraocular reduction, supplemental agent for filtering surgery, and no-suture wound closure.

In conclusions, we confirmed assembled bionanosheet could control reasonable drug release profile, improving filtering surgery results, and close corneal wound without suture.

研究分野：眼科学

キーワード：drug delivery system 緑内障

### 1. 研究開始当初の背景

眼球は体表面に存在し、その治療は主に点眼薬などの薬剤によって行われる。しかしながら点眼薬には臨床的に適切に点眼されない、有効時間が短い、副作用を発症するなどの課題が存在する。また眼部の損傷などの際には障害部を縫合するが、術後乱視の出現などによって視機能が低下することが知られている。バイオナノシートは厚さが数十から数百ナノメートルと非常に薄いにもかかわらず、平面長はセンチメートル程度まで作成が可能で特殊な構造を取ることが出来る。このため、接着剤などが不要で生体に高い生着性を有する、様々な物質を担持できるなどの特徴を有している。さらに生体適合性に優れた素材から出来ているなどの特徴を有している。このような特徴を持つバイオナノシートは眼科への応用が期待された。

### 2. 研究の目的

様々な構造を有するバイオナノシートを用いて、眼科応用への可能性を探求する。特に主要な領域は drug delivery system(DDS)への応用、外傷部などの組織閉鎖である。

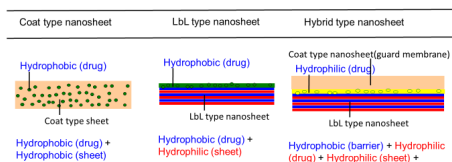
### 3. 研究の方法

早稲田大学で眼科応用を想定した様々なバイオナノシートを作成、目的とする薬剤などを担持する。作成したバイオナノシートについて山梨大学において、動物実験を行いその有効性や安全性を検討する。

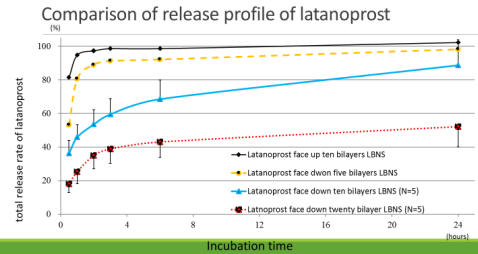
### 4. 研究成果

今回の研究機関においては、下図に示すような様々なシート性状を持ったバイオナノシートを開発した。1. アニオン膜とカチオン膜の交互積層膜、2. ポリ乳酸を用いたバイオナノシート、3. 上記2つのハイブリッドである。これらのシートについて眼表面への貼付性能、担持薬剤の放出プロファイルを検討した。担持薬剤としては、プロスタグランジン関連製剤、ミトマイシン C、抗菌剤について検討した。具体的応用としては、眼圧降薬、濾過手術の補助剤、創部の閉鎖薬の3つであり、これらについて有用性安全性を検討した。

Development of other structures of bio-nanosheet for manipulating release profile

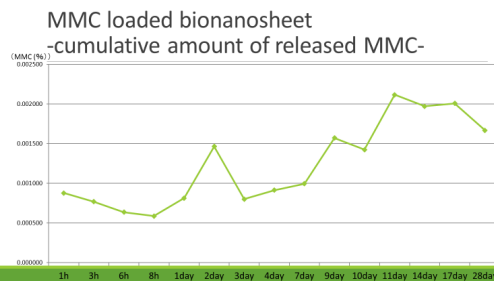


研究の結果、担持薬の放出プロファイルのコントロールが膜構造の調整によって右上図のように可能なことが確認された。緑内障治療点眼薬として最も広く使用されているラタノプロストを様々な構成物でなるバイオ



ナノシートに担持してその放出を検討したところ、シート形状によって薬剤の放出が十分にコントロールされること、また DDS の課題である初期大量放出もコントロールができることが確認された。

続いて、緑内障手術として世界的に最も広く行われている濾過手術への応用を検討した。濾過手術の場合、術後の創部の癒着によって手術成績が低下する。これを予防するために、ミトマイシン C(MMC)を術中に用いるが、この投与によって組織が脆弱化する。このため術後長期間にわたって感染症の危険性がある。一方、一部の症例においては MMC の有効性が術後低下するため癒着が進行し眼圧のコントロールが低下する。このような MMC を用いた濾過手術の成績と安全性を向上させることを目的として、MMC を担持したバイオナノシートを作成、実験を行った。その結果、in vitro 実験では MMC 担持バイオナノシートからの MMC の放出は低濃度で長期間であることが確認された(下図)。



臨床投与量に比べはるかに微量で細胞増殖を長期間抑制することが可能であることが判明した。予備的実験を行った後ウサギを用いて濾過手術を施行、MMC 担持バイオナノシートの濾過量の維持や組織状態について検討を行った。この結果、MMC 担持バイオナノシートは従来の方法に比べ組織損傷が小さく、より長期間眼圧を有効にコントロールすることが判明した。

次いで、縫合なしでの創部接着の可能性について検討した。眼表面、特に角膜は透明で不正の少ない球面を生理的に有している。外傷などで角膜障害を受けた際には創部閉鎖のために縫合が必要となるが、その結果不整乱視を来したり、縫合部の混濁が残るなどによって、視機能の低下につながることもある。バイオナノシートは接着剤なしでも強い接着力があるため、このような障害眼の創部閉鎖が期待できる。本研究では角膜組織を欠損

させ、無処置とバイオナノシートによる組織閉鎖を比較した。その結果、バイオナノシートによって障害部は合併症をより少なく閉鎖されることが明らかとなった。

#### 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14件)

1.(査読有)Aoki S, Murata H, Fujino Y, Matsuura M, Miki A, Tanito M, Mizoue S, Mori K, Suzuki K, Yamashita T, Kashiwagi K, Hirasawa K, Shoji N, Asaoka R. Investigating the usefulness of a cluster-based trend analysis to detect visual field progression in patients with open-angle glaucoma. Br J Ophthalmol. 2017 Apr 27.

2.(査読有)Asaoka R, Murata H, Fujino Y, Hirasawa K, Tanito M, Mizoue S, Mori K, Suzuki K, Yamashita T, Kashiwagi K, Miki A, Shoji N; Japanese Archive of Multicentral Databases in Glaucoma (JAMDIG) construction group.. Effects of ocular and systemic factors on the progression of glaucomatous visual field damage in various sectors. Br J Ophthalmol. 2016 Dec 9.

3.(査読有)Kashiwagi K, Kogure S, Mabuchi F, Chiba T, Yamamoto T, Kuwayama Y, Araie M; Collaborative Bleb-Related Infection Incidence and Treatment Study Group.. Change in visual acuity and associated risk factors after trabeculectomy with adjunctive mitomycin C. Acta Ophthalmol. 2016 Nov;94(7):e561-e570.

4.(査読有)Fujino Y, Asaoka R, Murata H, Miki A, Tanito M, Mizoue S, Mori K, Suzuki K, Yamashita T, Kashiwagi K, Shoji N; Japanese Archive of Multicentral Databases in Glaucoma (JAMDIG) Construction Group.. Evaluation of Glaucoma Progression in Large-Scale Clinical Data: The Japanese Archive of Multicentral Databases in

Glaucoma (JAMDIG). Invest Ophthalmol Vis Sci. 2016 Apr 1;57(4):2012-20.

5.(査読有)Imasawa M, Tanabe J, Kashiwagi F, Kashiwagi K. Efficacy and Safety of Switching Latanoprost Monotherapy to Bimatoprost Monotherapy or Combination of Brinzolamide and Latanoprost. Open Ophthalmol J. 2016 Mar 7;10:94-102.

6.(査読有)Yokomichi H, Kashiwagi K, Kitamura K, Yoda Y, Tsuji M, Mochizuki M, Sato M, Shinohara R, Mizorogi S, Suzuki K, Yamagata Z. Evaluation of the associations between changes in intraocular pressure and metabolic syndrome parameters: a retrospective cohort study in Japan. BMJ Open. 2016 Mar 24;6(3):e010360.

7.(査読有)Kume A, Ohshiro T, Sakurada Y, Kikushima W, Yoneyama S, Kashiwagi K. Treatment Patterns and Health Care Costs for Age-Related Macular Degeneration in Japan: An Analysis of National Insurance Claims Data. Ophthalmology. 2016 Jun;123(6):1263-8.

8.(査読有)Nishisako M, Meguro A, Nomura E, Yamane T, Takeuchi M, Ota M, Kashiwagi K, Mabuchi F, Iijima H, Kawase K, Yamamoto T, Nakamura M, Negi A, Sagara T, Nishida, T, Inatani M, Tanihara H, Aihara M, Araie M, Fukuchi T, Abe H, Higashide T, Sugiyama K, Kanamoto T, Kiuchi Y, Iwase A, Chin S, Ohno S, Inoko H, Mizuki N.

SLC1A1 Gene Variants and Normal Tension Glaucoma: An Association Study. Ophthalmic Genet. 2016 Jun;37(2):194-200.

9.(査読有)Mabuchi F, Sakurada Y, Kashiwagi K, Yamagata Z, Iijima H, Tsukahara S. Involvement of genetic variants associated with primary open-angle glaucoma in pathogenic mechanisms and

family history of glaucoma. Am J Ophthalmol. 2015 Mar;159(3):437-44.e2.

10. (査読有)Taguchi M, Shinozaki Y, Kashiwagi K, Shigetomi E, Robaye B, Koizumi S. Müller cell-mediated neurite outgrowth of the retinal ganglion cells via P2Y(6) receptor signals. J Neurochem. 2015 Nov 12.

11. (査読有)柏木 賢治, 相原 一, 稲谷 大, 岩瀬 愛子, 川瀬 和秀, 杉山 和久, 中澤 徹, 中村 誠, 福地 健郎, 吉富 健志, 新家 眞: 緑内障診療データの管理と共通化の現状とデータ共通化に向けての取り組み: 日本眼科学会雑誌 (0029-0203)120 巻 8 号 Page540-547(2016.08)

12. (査読無)柏木 賢治, 眼科医の手引 線維柱帯切除手術後 白内障: 日本の眼科 (0285-1326)87 巻 8 号 Page1097-1098(2016.08)

13. (査読有)坂本 雅子, 中込 友美, 櫻田 庸一, 地場 達也, 柏木 賢治, 飯島 裕幸 抗結核治療が奏効した結核性網膜静脈炎の1例眼科 (0016-4488)58 巻 2 号 Page215-221(2016.02)

14. (査読有)田辺 譲二, 河野 恭子, 津村 豊明, 花田 斉久, 遠藤 勝久, 柏木 ふみ子, 加藤 圭一, 榎窪 のりこ, 相田 幸子, 柏木 賢治: ビジョンバンを用いた眼科検診の意義と課題 山梨県中央市における事例: 日本の眼科 (0285-1326)87 巻 2 号 Page167-170(2016.02)

〔学会発表〕(計2件)

柏木賢治 新しい緑内障治療に向けたDDSの在り方、第121回日本眼科学会総会、2017年4月6日、東京

柏木賢治 点眼薬治療からの脱却、日本緑内障学会、2016年9月19日、横浜

柏木賢治 眼圧下降薬のドラックデリバリー、第119回日本眼科学会総会、2016年4月16日、札幌

6. 研究組織

(1)研究代表者

柏木 賢治 (KASHIWAGI, Kenji) 山梨大学・

総合研究部・准教授

研究者番号: 30194723

(2)研究分担者

武岡 真司 (TAKEOKA, Shinji)

早稲田大学・理工学術院・教授

研究者番号: 20222094