

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 10 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26560232

研究課題名(和文) バイオ燃料電池で自己発電するイオントフォレシス網膜DDSの開発

研究課題名(英文) Development of biofuel cell-based iontophoresis DDS for intraocular drug delivery

研究代表者

永井 展裕 (Nagai, Nobuhiro)

東北大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：30400039

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)：バイオ燃料電池を搭載するためのリザーバー形状をCADでデザインし、CAM微細加工機でアクリル板を切削し熱硬化性樹脂PDMSをキャストしてデバイスの鋳型を作成した。In vitroウサギ強膜チャンバーを用いて電気刺激による薬剤の強膜通過促進性を検討した結果、定電流(0.1mA)下でAcceptor側に薬剤移行を認めた。薬剤徐放デバイスをウサギ眼に埋植し血漿中の薬剤代謝物濃度をLC/MS/MSで測定した結果、薬剤放出量と血漿中薬剤代謝物濃度に相関関係を認めた。今後デバイスの安定した発電性を得ることができれば、In vivoにおける発電の薬剤移行促進効果を血漿中薬剤代謝物濃度から推定する予定である。

研究成果の概要(英文)：The mold for device preparation was fabricated using CAD/CAM-based microprocessing and polydimethylsiloxane. An in vitro chamber model using rabbits sclera showed that constant electric stimulation (0.1mA) facilitate drug permeation through the sclera. Measurement of drug concentration in the plasma after device implantation on the rabbit sclera showed that there was a correlation between drug release profile of the device and drug concentration in the plasma. In the future work, electric generation in the device should be improved and the effect of the iontophoresis using the device on intraocular drug delivery would be evaluated by measuring the drug concentration in the plasma.

研究分野：ドラッグデリバリー

キーワード：ドラッグデリバリー 網膜 イオントフォレシス

1. 研究開始当初の背景

網膜は視覚に関わる神経組織であり網膜色素変性症等の疾患で傷害されると著しい視力障害を来す。難治性が多い網膜疾患は薬物投与によってその進行を遅らせる以外に根本的な治療法がない。網膜へ至適薬剤濃度を送達するためには点眼では不十分で、硝子体注射や眼内インプラントが有効であるがいずれも外科的な眼内操作に伴う重大な副作用リスクがある。以上から眼内に手を付けない低侵襲な方法で網膜に薬剤を持続的に送達するデバイスを検討してきた。

我々は強膜を介して眼内に非侵襲に薬物を徐放する経強膜ドラッグデリバリーシステム (DDS) を開発した (*Biomaterials*, 32,1950-1956,2011、図1、)。徐放膜の構造によって年単位の徐放が可能である。また血管新生抑制剤の経強膜 DDS によって網膜新生血管を抑制することを報告した (*PLoS ONE*, 8(3), e58580, 2013)。これはデバイスと眼内の濃度差を利用した単純な薬剤拡散メカニズムによる放出であるが、より効率よく眼内へ送達する新しいシステムの構築が今後必要である。

電気エネルギーを利用した能動輸送 (イオントフォレシス) は有効な DDS の1つである。しかし過去の報告では、外付けの電源を必要とするため一時的な利用しか望めず、さらに角膜に電極を当てるため電極周辺部 (前眼部) にしか薬剤を送達できない。過去に我々は体液中のグルコースと酸素を燃料としたバイオ燃料電池を報告した (*Energy Environ Sci*, 4, 5008-5012, 2011)。このバイオ燃料電池を DDS に搭載することができれば (図1、)、強膜中の体液から持続的に自家発電し、電気仕掛けで電気エネルギーによって薬剤を眼内へ効率よく送達できる可能性がある。

実用化されれば煩わしい点眼やリスクの

高い眼内操作に頼る医療を改革し、より安全で確実な網膜疾患治療の開発につながる。また眼疾患以外にも経皮ワクチンや癌治療への応用など他の疾患に対して応用可能な

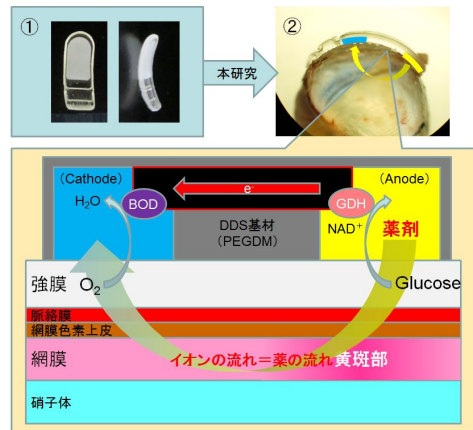


図1. グルコース酸化型バイオ燃料電池駆動の経強膜イオントフォレシスDDS

汎用性を有している。

2. 研究の目的

我々は過去に後眼部 (網膜黄斑部) への DDS として、強膜を介して眼内に非侵襲に薬剤を送達する経強膜 DDS を開発した。これは濃度勾配を利用した単純な薬剤拡散メカニズムによる放出であるが、本研究は、電気力を利用して能動的に薬物を眼内へ安全に持続的に確実に送達するシステム開発を検討した。

3. 研究の方法

(1) デバイスの調製

バイオ燃料電池を搭載するためのリザーバー形状を CAD でデザインし、CAM 微細加工機でアクリル板を切削し、熱硬化性樹脂のポリジメチルシロキサン (PDMS) をキャストして 80 °C で硬化して鋳型を作成した。

トリエチレングリコールジメタクリレート (TEGDM) を PDMS 鋳型にキャストして UV 照射してリザーバーを作成した。リザーバー内にバイオ燃料電池の搭載を検討した (*Energy Environ Sci*, 4, 5008-5012,

2011)。

(2) In vitro ウサギ強膜チャンパー

摘出したウサギ眼から強膜を慎重に分画し、リン酸バッファー (PBS) で洗浄後、チャンパーの間に挟んだ。5% Tween20 含有水 5mL を Donor 側と Acceptor 側に入れた。強膜を挟んだ部位から液漏れがないことを確認した。銀/塩化銀電極とスターラーを Donor 側と Acceptor 側にいれて通電しながら撈拌した。Donor 側にウノプロストン (UNO) 徐放デバイスを入れて2週間、37 °C でインキュベーションした。定期的に Tween 含有水を回収し、新しい Tween 水を入れた。回収した Tween 水中の UNO 濃度を高速液体クロマトグラフィーで測定した。

(3) ウサギ強膜上デバイス埋植

ウサギ用デバイスをウサギ強膜上に埋植した。デバイスは高徐放タイプ (約 10 μ g/day) と低徐放タイプ (約 1 μ g/day) の2種類を埋植した。定期的に耳静脈から採血し、血漿中の薬物代謝物 M1 体濃度を LC/MS/MS で測定した。

4. 研究成果

リザーバーの形状は、一般的なヒト眼球サイズの平均値を文献で算出し、幅は 4.4mm、厚みは 1mm、長さは 19mm で規格化した。ウサギ用には、幅は 3.6mm、厚みは 0.7mm、長さは 12mm で規格化した。TEGDM リザーバーに燃料電池システムを小型化して組み込む検討を実施してきたが、安定した発電を得ることが難しかった。一方、薬剤の電気刺激による In vitro ウサギ強膜通過促進の検討から、定電流 (0.1mA) 下で Donor 側から Acceptor 側へ薬剤が移行することを確認した。しかし、1週間の持続的通電中に電流が安定しない問題が見られた。今後は銀/塩化銀電極から白金電極に変更し電流の安定化を図るととも

に、溶液中で予期せずに発生する化学反応や pH の変化をモニタリングする必要がある。

眼内薬物動態を評価するために、薬物徐放デバイスをウサギ眼に埋植し、血漿中の薬物代謝物濃度を LC/MS/MS で測定した。薬剤徐放性を高徐放タイプと低徐放タイプの2種類で検討した結果、薬剤放出性と相関して血漿中の薬物代謝物濃度が相関する傾向にあった。この結果から、眼球を摘出することなくウサギに侵襲性の低い血液採取の方法で薬剤移行性を評価できると考えられる。デバイスの安定した発電性を得ることができたら、In vivo 発電による薬剤移行促進効果を血漿中薬物濃度から推定する検討を予定している。

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 1 件)

1. Nobuhiro Nagai, Yasuko Izumida, Remi Motoyama, Eri Koyanagi, Aya Katsuyama, Shinji Yamada, Hirokazu Kaji, Matsuhiko Nishizawa, Toshiaki Abe “Polymeric device based on UV-cured poly(ethyleneglycol) dimethacrylates for controlled intraocular drug delivery” Pacificchem2015 abstract, HLTH316、査読有 (2015 年)

[学会発表](計 9 件)

1. 永井展裕、泉田泰子、梶弘和、勝山綾、西澤松彦、山田慎二、眞島行彦、阿部俊明「網膜色素変性症治療を目指した薬剤徐放デバイスの開発」第 15 回日本再生医療学会総会、大阪国際会議場、大阪府大阪市(2016 年 3 月 17 日-19 日)
2. Shinji Yamada, Nobuhiro Nagai, Hirokazu Kaji, Aya Katsuyama,

- Matsuhiko Nishizawa, Toshiaki Abe
 “Controlled drug release device fabricated with PDMS mold-based UV curing of polyethyleneglycol dimethacrylates”
BMES 2015 annual meeting, Tampa, Florida, USA(October 7-10,2015)
3. **永井展裕**、泉田泰子、**梶弘和**、勝山綾、西澤松彦、山田慎二、眞島行彦、阿部俊明「ウノプロストン経強膜持続投与デバイスの開発」第35回日本眼薬理学会、ソラシティカンファレンスセンター、東京都千代田区(2015年9月5日~6日)
 4. **永井展裕**：「低侵襲で持続的な後眼部DDSの開発」第1回東北ドラッグデリバリーシステム研究会、東北大学学際科学フロンティア研究所1階セミナー室、宮城県仙台市(2015年8月10日)招待講演
 5. **Nobuhiro Nagai**, Toshiaki Abe : 「Polymeric Device for Transscleral Drug Delivery to the Posterior Segment of the eye」ソウル大学・香港大学・東北大学 Joint Conference in Sendai 2015、仙台ウェスティンホテル、宮城県仙台市(2015年8月5-6日)
 6. **永井展裕**、泉田泰子、**梶弘和**、本山玲美、西澤松彦、中澤徹、眞島行彦、阿部俊明「ウノプロストン徐放デバイスによる網膜内局所持続投与の評価」第31回日本 DDS 学会学術集会、京王プラザホテル新宿、東京都新宿区(2015年7月2日~3日)
 7. **Nobuhiro Nagai**, Yasuko Izumida, Eri Koyanagi, **Hirokazu Kaji**, Matsuhiko Nishizawa, Takahito Imagawa, Akiko Morikawa, Toru Nakazawa, Yukihiko Mashima, and Toshiaki Abe
 “Pharmacokinetic and Safety Evaluation of a Transscleral Sustained Unoprostone Release Device” *2015 ARVO annual meeting, 4153, Denver, Colorado, USA* (May 3-7, 2015)
 8. **Nobuhiro Nagai**, **Hirokazu Kaji**, Matsuhiko Nishizawa, Toru Nakazawa, Toshiaki Abe “Episclera Implantable Device fabricated with PDMS mold-based UV curing” *BIT's 1st Annual World Congress of Smart Materials 2015, Busan, Korea* (March 23-25, 2015)
 9. **永井展裕**、**梶弘和**、西澤松彦、中澤徹、眞島行彦、阿部俊明：「光硬化性樹脂を利用した網膜ドラッグデリバリーシステムの開発」第66回日本生物工学会大会、札幌コンベンションセンター、北海道札幌市(2014年9月9日~11日)
- 〔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 永井展裕(Nagai, Nobuhiro)
 東北大学・大学院医学系研究科・助教
 研究者番号：30400039
- (2)研究分担者 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